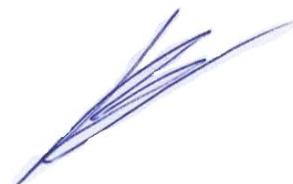


МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи



Иванов Владимир Николаевич

**Ингибиторы матриксных металлопротеиназ на основе
производных 5-арилизатинов: синтез и изучение взаимосвязи
структура-активность**

1.4.16. Медицинская химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:

кандидат химических наук, доцент

Куркин Александр Витальевич

Москва – 2024

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. Обзор литературы	11
1.1 Матриксные металлопротеиназы	12
1.2. Тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ	35
1.3 Стандартные методы синтеза производных изатина.	39
1.3.1. Реакция Зандмейера	39
1.3.2. Реакция Штолле	42
1.3.3. Реакция Мартинэ	43
1.3.4. Реакция Гассмана	44
1.3.5. Прямое о-металлирование производных N-пивалоил и N-третбутоксикарбонил-анилинов	46
1.3.6. Синтез изатинов с использованием реакции окисления индолов	48
1.4. Альтернативные методы синтеза производных изатина.	51
1.4.1. Металл-катализируемые реакции	51
1.4.2. Синтезы спиро-производных изатина методом [3+2] циклоприсоединения	58
Глава 2. Обсуждение результатов	63
2.1 Фенотипический скрининг библиотеки малых молекул, содержащих в своей структуре фрагменты азотистых гетероциклов, способных образовывать связи с ионами цинка Zn^{2+}	
2.2 Синтез 5-арилизатинов и их производных, и их биологические испытания	71
2.2.1 Синтез арилборных кислот	72
2.2.2 Синтез 5-арилизатинов с использованием реакции Сузуки	75
2.2.3 Химическая модификация изатиновых структур	84
2.2.4 Синтез 5-арилизатинов с использованием реакции Стилле	94
2.2.5 Синтез биарильных производных изатина	100
2.2.6 Синтез бензо[d][1,3]диоксоловых производных.	103
2.2.7 Синтез производных спиро[индолин-3,3'-пирролидин]-2-она.	108
2.3 Соединения - лидеры	113
Глава 3. Экспериментальная часть	115
3.1 Синтез арилборных кислот	119
3.2 Синтез производных изатина	130
3.3 Синтез биарильных производных	161
3.4 Синтез бензо[d][1,3]диоксоловых производных.	165
3.5 Синтез производных спиро[индолин-3,3'-пирролидин]-2-она.	176

Глава 4. Заключение.....	191
Глава 5. Список литературы.....	194

ВВЕДЕНИЕ

Синтез селективных ингибиторов матриксных металлопротеиназ (ММП) является актуальной задачей медицинской химии, поскольку данные протеазы играют важную роль в регуляции многочисленных физиологических процессов, вовлечены в патофизиологию сердечно-сосудистых заболеваний, играют существенную роль в гемодинамических и сосудистых изменениях. Участие ММП в опухолевой трансформации, а также в процессах инвазии и метастазирования доказано *in vitro* и *in vivo*. Металлопротеиназы участвуют в процессах канцерогенеза, воздействуя на различные пути передачи сигнала в клетке, на межклеточные взаимодействия, а также продуцируя различные биологически активные молекулы. У больных с бронхоальвеолярной карциномой выявлен значительный уровень экспрессии ММП-2 и ММП-9 опухолевыми клетками, что обуславливает высокую инвазивность и подвижность опухоли. Высокая активность ММП-9 обнаружена при раке желудка и находится в строгой корреляционной зависимости со степенью опухолевой прогрессии, сопутствующего ангиогенеза и малигнизации. Кроме ММП-9 опухолевые клетки желудка экспрессируют ММП-2, которая не определяется в нормальной ткани. Важно также отметить, что уровень мРНК ММП-2 значительно выше при низкодифференцированных формах рака и метастазировании, чем при высокодифференцированных формах злокачественных опухолей.

ММП-8 вовлечена в различные патологические процессы, протекающие в костной и мышечной тканях (заболевания пародонта, опорно-двигательного аппарата и др.). ММП-8, как и ММП-3, найдены в клетках карциномы молочной железы. Было доказано, что ММП-8 оказывает существенное влияние на процессы, связанные с развитием рака молочной железы. Для ММП-9 выявлена прямая корреляционная зависимость с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, гиперфункция фермента может приводить к: инфаркту миокарда, сердечной недостаточности, развитию ишемической болезни сердца (ИБС). Положительная корреляционная связь выявлена также между ММП-2 и кортизолом. ММП-7 - протеолитический фермент, повышенная экспрессия которого способна приводить к онкологическим заболеваниям желудочно-кишечного тракта, а также ускорять их метастазирование и ангиогенез.

К настоящему моменту не известно ни одного полностью синтетического селективного ингибитора ММП, одобренного в качестве лекарственного препарата Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов

(FDA) и Европейским агентством лекарственных средств (EMA). В первую очередь, это связано с нежелательными побочными эффектами, проявляемыми данными ингибиторами: низкой селективностью и способностью хелатировать большое количество металл-зависимых ферментов, что может приводить к непоправимым последствиям. Хотя большинство экспериментальных и клинических испытаний ингибиторов ММП пока не продемонстрировали значительного прогресса, последние исследования, связанные с появлением новых генетических и фармакологических данных, вселяют надежду, что в ближайшем будущем будут разработаны эффективные лекарственные препараты на основе ингибиторов ММП.

Батимастат (BB-94) (экспериментальный противоопухолевый препарат - ингибитор коллагеназы типа IV) - первый и наиболее известный ингибитор ММП, содержащий в своей структуре фрагмент гидроксамовой кислоты. Его испытания были начаты тридцать лет назад, но он так и не получил клинического одобрения. В настоящий момент известен только один ингибитор ММП - Доксициклин, который был одобрен FDA для лечения заболеваний пародонта. Однако, эту молекулу никак нельзя рассматривать в качестве направленной медхимической разработки, поскольку изначально Доксициклин использовали в качестве антибиотика широкого спектра действия.

При комплексообразовании Доксициклина с ионом Zn^{2+} происходит связывание лиганда с активным сайтом фермента, что приводит к прекращению каталитической активности. Интересно, что связывание Батимастата и других ингибиторов ММП, содержащих остаток гидроксамовой кислоты, демонстрирует заметное сходство в эффективности с ингибированием ММП тканевыми ингибиторами матричных металлопротеиназ (ТИММП). Определение того, что в разработке ИММП также используют прямую координацию лигандов с металлами как ключевое взаимодействие для ингибирования ММП еще больше подчеркивает важность связывания металлов в разработке новых ингибиторов металлоферментов, однако, данная особенность приводит к существенному понижению селективности в отношении целевых металлопротеиназ, что в свою очередь, является фактором для возникновения нежелательных побочных эффектов. Таким образом, принципиально важным условием, для селективного ингибирования ММП, является отсутствие хелатирующего действия на ион цинка, входящего в состав ММП.

Актуальной задачей является поиск и синтез новых селективных ингибиторов ММП, содержащих в своей структуре, различные фармакофорные фрагменты (остатки гидроксамовой кислоты, гидроксильных групп и фосфорных кислот, производные

гетероциклов и др.), позволяющие заполнять полости в структуре фермента и хелатировать ион цинка.

В частности, такими молекулами могут быть производные ароматических азотсодержащих гетероциклов, например, изатина [1], поскольку данные молекулы способны образовывать устойчивые комплексы с ионами металлов и взаимодействовать с поверхностью белка. Сочетание в структуре лиганда фармакофорных групп, которые способны осуществлять взаимодействие с поверхностью белка (образование водородных связей или использование структурных особенностей белка) и структурного фрагмента гетероцикла может усилить биологическую активность и увеличить селективность.

Таким образом, настоящая работа направлена на получение новых производных азотсодержащих гетероциклов, сочетающих в себе остатки фармакофорных групп (изатиновый цикл), и различные по своей природе функциональные заместители, изучению их в качестве потенциальных ингибиторов матриксных металлопротеиназ.

Целями работы являлись синтез и изучение ингибирующей активности по отношению к белкам семейства ММП производных изатина, построение на их основе библиотеки малых молекул, поиск соединения лидера и построение на его основе сфокусированной библиотеки малых молекул и анализ взаимосвязи структура-активность (SAR).

Для достижения поставленных целей решались следующие **задачи**: 1) синтез ряда производных 5-арилизатина; 2) синтез ряда 5-арил-3-аминоиндолин-2-онов; 3) синтез ряда замещенных производных антраниловой кислоты; 4) анализ ингибирующей активности полученных азотсодержащих гетероциклических соединений по отношению к различным по своему строению ММП; 5) синтез различных производных спиро[индолин-3,3'-пирролидин]-2-она; 6) синтез бензо[d][1,3]диоксоловых производных изатина и изучение их цитотоксичности; 7) оценка перспективности использования полученных соединений в качестве потенциальных лекарственных препаратов; 8) построение сфокусированных библиотек малых молекул и анализ взаимосвязи структура-активность (SAR).

Объект и предмет исследования. Объект исследования – реакции кросс-сочетаний, а также реакции формирования гетероциклических соединений, с целью получения биологически активных молекул. Предмет исследования – взаимосвязь строения производных изатинового ряда с их биологической активностью в отношении ММП-2, и ММП-8.

Методология и методы исследования

В исследовании использовались основные приемы медицинской химии, включая направленный синтез гетероциклических соединений, поиск молекул-хитов, установление взаимосвязи структура-активность (SAR), основные подходы к оптимизации новых биологически активных молекул. Синтез гетероциклических соединений проводили с использованием классических методов и приемов органического синтеза. Для выделения и очистки синтезированных соединений использовались методы препаративной хроматографии и перекристаллизации. Структуру и чистоту полученных соединений устанавливали с помощью комплекса физико-химических методов: ^1H , ^{13}C ЯМР и ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и рентгеноструктурного анализа, ВЭЖХ-МС.

Научная новизна

Впервые проведен анализ данных молекулярного моделирования и составлены фармакофорные модели ингибиторов ММП на основе азотсодержащих гетероциклов ряда 5-арилизатинов. Производные изатина и оксоиндолина с ароматическими и гетероароматическими заместителями в 5-м положении гетероциклического кольца предложены в качестве новых структурных типов селективных ингибиторов ММП-2, -и -13. Установлено, что наличие в ароматическом заместителе карбоксиэтильного фрагмента является важным структурным элементом, отвечающим за активность ингибиторов, а увеличение селективности ингибирования вызвано структурными особенностями синтезированных ингибиторов.

Проведен дизайн и последующий синтез ингибиторов ММП на основе 5-арил(гетарил)изатинов, полученных с использованием с использованием реакций кросс-сочетания Стилле и Сузуки, катализируемых комплексами палладия. Показано, что для синтеза сфокусированной библиотеки 5-арил(гетарил)изатинов лучше всего использовать 5-трибутилстаннилизатин, не содержащий в своей структуре защитных групп. Разработан синтез граммовых количеств 5-трибутилстаннилизатина, показана принципиальная возможность получения на его основе неописанных ранее в научной литературе 5-гетарилизатинов.

Синтезирована серия производных 5-арил(гетарил)-3-амино-2-оксоиндолов, содержащих в положении С3 индолинового фрагмента различные по своей природе заместители, для которой впервые был проведен систематический анализ биологических

характеристик, выявлены основные закономерности зависимости структура-активности по отношению к ММП.

Найдены перспективные азотсодержащие гетероциклические соединения, проявляющие активность в микромолярном диапазоне концентраций с высокой селективностью к ММП-2 и ММП-13. Установлена противоопухолевая цитотоксичность на культуре опухолевых клеток НСТ116 для ряда производных изатина, содержащих в своей структуре 1,2-метилendioксибензолный фрагмент.

Теоретическая и практическая значимость

Получены экспериментальные данные по ингибирующей активности по отношению к ММП новых азотсодержащих гетероциклов ряда изатина. Предложен препаративный метод синтеза неизвестных ранее производных 5-арил(гетарил)изатина и 5-арил-3-аминоиндолин-2-онов с различными по своей природе заместителями в ароматическом фрагменте, показано, что с помощью химической модификации С3-положения 5-арилизатинов удастся улучшить селективность по отношению к ММП-2 и ММП-13, а производные 5-арил-3-амино-2-оксоиндолины, являются перспективным молекулами для поиска селективных ингибиторов ММП-13.

Разработан новый метод синтеза 5-арил(гетарил)изатинов на основе палладий катализируемой реакции кросс-сочетания с участием 5-трибутилстаннилизатина, который представляет интерес для получения сфокусированной библиотеки 5-арил(гетарил)изатинов.

Разработан подход к синтезу 5-трибутилстаннилизатина, позволяющий его получать с высокими выходами в граммовых количествах. Для большой серии неизвестных производных 5-арил(гетарил)-2-оксоиндолинов проведено систематическое изучение зависимости биологической активности от их строения, осуществлено построение SAR, показано, что для ряда производных 5-арил(гетарил)изатинов и 5-арил(гетарил)-2-оксоиндолинов активность по отношению к ММП находится в микромолярном диапазоне концентрации, установлены структуры соединений, обладающих селективностью по отношению к ММП-2 и ММП-13, которые представляют интерес для дальнейшей оптимизации структур 5-арилизатинов. Установлена противоопухолевая цитотоксическая активность *in vitro* в наномолярном диапазоне для производных изатина, содержащих в своей структуре 1,2-метилendioксибензолный фрагмент.

Положения, выносимые на защиту

1) Синтез новых ингибиторов ММП, содержащих в своей структуре фрагменты 5-арил(гетарил)изатина, может быть успешно осуществлен с использованием реакций кросс-сочетания Сузуки и (или) Стилле, катализируемых комплексами палладия.

2) 5-Арил(гетарил)изатины могут быть использованы в качестве исходных молекул для химической модификации С3-положения и получения на их основе производных 5-арил-3-амино-2-оксоиндолина.

3) Spiro[индолин-3,3'-пирролидин]-2-оны могут быть получены в результате последовательности химических превращений, включающих в себя: ацилирование 4-арил-2-йоданилина хлорангидридом акриловой кислоты, алкилирование атома азота анилина, тандем реакций – реакция кросс-сочетания по Хеку и реакция [3+2]-циклоприсоединения, что приводит к образованию диастереомерных производных, содержащих спиросочлененные фрагменты пирролидина и оксоиндолинона.

4) Полученные данные по ингибирующей активности производных изатина демонстрируют эффективность производных 5-арилизатина и 5-арил-3-амино-2-оксоиндолина в качестве селективных ингибиторов ММП 2 и ММП 13, в сравнении с эффективностью по отношению к другим эндопептидазам семейства ММП.

5) Полученные данные SAR показывают увеличение цитотоксической активности при введении фрагмента бензо[d][1,3]диоксола в 5-е положение изатина, что может быть использовано при дальнейшей разработке активных фармацевтических субстанций.

Личный вклад автора состоял в сборе и анализе литературных данных по тематике исследования. Автор принимал участие в составлении плана исследований. Автором осуществлен дизайн и синтез целевых соединений, анализ и интерпретация полученных результатов, подготовка материалов исследования к публикации в научных изданиях совместно с соавторами. Во всех опубликованных в соавторстве работах по теме диссертационной работы вклад Иванова В.Н. является основополагающим.

Публикации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 3 статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по

специальности 1.4.16. Медицинская химия и тезисы докладов на российских и международной конференциях.

Апробация результатов

Основные результаты диссертационной работы были представлены на международных и российских конференциях: Всероссийская научная школа-конференция «Марковниковские чтения» (Московская область, Красновидово, 2024), The Fourth International Scientific Conference «Advances in Synthesis and Complexing» (Москва, Россия, 2017); IV Всероссийская с международным участием конференция по медицинской химии (Екатеринбург, Россия, 2019); XXVI National Meeting in Medicinal Chemistry (Милан, Италия, 2019).

Структура и объем работы

Работа состоит из шести разделов: введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 214 листах машинописного текста, содержит 95 схем, 30 рисунков, 16 таблиц. Список литературы включает 211 наименований.

Благодарности

Отдельные части работы выполнены при поддержке гранта РФФИ (№ 20-33-90131). Автор выражает благодарности сотрудникам ИНЭОС РАН им. А.Н. Несмеянова: д.х.н. Годовикову И.А.; МГУ имени М.В.Ломоносова: н.с. Алтиери А., м.н.с. Новоселову А.М., м.н.с. Юсупову И.Р., профессору, д.х.н. Лысенко К.А.; ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Научно-исследовательского института канцерогенеза: профессору, д.м.н. Штилю А.А.; Университета «Габриэле д'Аннунцио» в г. Кьети (Италия): профессору Агаменнон М.; Университета «Альдо Моро» в г. Бари (Италия): профессору Торторелла П.

Глава 1. Обзор литературы

Матриксные металлопротеиназы (ММП) — это кальций-зависимые цинксодержащие эндопептидазы, способные разрушать пептидную связь между аминокислотами в белках внеклеточного матрикса, в том числе коллагена, эластина, желатина, матричных гликопротеинов и протеогликанов. В организме человека содержится 28 основных типов ММП, которые делятся на коллагеназы, желатиназы, стромелизины, матрилузины, мембранозные ММП и другие. ММП участвуют в расщеплении рецепторов клеточной поверхности, высвобождении апоптотических лигандов (таких как лиганд FAS) и инактивации хемокинов/цитокинов [2]. Установлено, что ММП играют важную роль в жизненном цикле клеток, таких как пролиферация, миграция (адгезия/дисперсия), дифференцировка, ангиогенез, апоптоз.

Впервые они были описаны во второй половине 20 века [3], когда ученые обнаружили коллагеназу во время изучения деградации тройного спирального коллагена при метаморфозе хвоста головастика, позже ферменты были найдены у позвоночных, насекомых, растений и в организме человека [4].

1.1 Матриксные металлопротеиназы

В конце 20-го века, при помощи рентген-кристаллографии были определены трёхмерные структуры каталитических сайтов связывания ММП-2 и ММП-8 [5]. Позже с применением рентгеновской кристаллографии была установлена полная кристаллическая структура молекулы ММП-1. Спустя еще несколько лет, удалось доказать трёхмерную структуру комплекса каталитического сайта связывания ММП-3 с ТИММП-1 [6].

В настоящее время, благодаря современным методам анализа, удалось определить структуры ММП-1, ММП-2, ММП-3, ММП-7, ММП-8, ММП-9, ММП-10, ММП-11, ММП-12, ММП-13, ММП-14 и ММП-16. Помимо вышесказанного, удалось частично определить структуры про-ММП-1, про-ММП-2, про-ММП-3 и про-ММП-9, а определить механизм ингибирования и катализа ферментов, необходимый при поиске новых активных фармацевтических субстанций (АФС), помогло изучение взаимодействия комплексов про-ММП-2 совместно с тканевым ингибитором матриксной металлопротеиназы-2 (ТИММП-2) [5].

Продомен (PRO)

Продоменом является структура, которую можно разделить на два составляющих фрагмента (весьма условно): N-концевую последовательность аминокислот, которая является сигнальным доменом и состоит из 18–20 аминокислотных остатков, которые отщепляются при активации фермента, состоящего из порядка 80 аминокислотных остатков, и пропептида. В пропептиде находится важная аминокислотная последовательность, PRCGxPD (пролин – аргинин – цистеин – глицин – остаток любой аминокислоты – пролин – остаток любой аминокислоты). Остаток цистеина, находящийся в этой последовательности, осуществляет взаимодействие с ионом Zn^{2+} в каталитическом сайте связывания [7]. Как результат данного взаимодействия, образуется связь координационного типа, которая препятствует связыванию иона металла с молекулой воды, и, как следствие, фермент может существовать в инактивированной форме [8].

Каталитический домен связывания (CAT)

Каталитический домен связывания состоит из 170 аминокислотных остатков и включает в себя активный Zn-связывающий сайт, в котором три остатка аминокислоты гистидина выполняют связывание с ионом металла. Затем, после этого сайта связывания следует стабилизирующая структура на основе аминокислоты метионина, восемь остатков

которого формируют «метиониновую петлю», поддерживающую структуру, которая осуществляет фиксацию активного центра вокруг иона цинка [7, 9].

Шарнирная область (LINKER)

Данную область зачастую называют линкерным пептидом, основная задача которого заключается в осуществлении взаимодействия САТ домена с гемопексиноподобным доменом.

Линкерная часть может состоять из произвольного набора и количества аминокислотных остатков, расположенных в произвольном порядке [9].

Гемопексиноподобный домен (НРХ).

Гемопексиноподобный домен (НРХ) представляет собой последовательность из 200 аминокислотных остатков, который отвечает за специфичность взаимодействия с заданным белком. Данный домен, осуществляет расплетание спирали в молекуле коллагена, а также осуществляет определение её пространственного положения в отношении фермента [7]. Именно на гемопексиноподобном сайте осуществляется взаимодействие с ТИММП [9].

Классификация матриксных металлопротеиназ

В конце 20-го века были определены все наиболее важные ферменты семейства ММП и возник вопрос о необходимости их классификации. Поначалу, ММП были классифицированы в зависимости от их субстратной специфичности (внеклеточный матрикс) [10]. По этой причине, для того чтобы отнести фермент к семейству ММП, должен соблюдаться ряд требований: 1) протеолиз как минимум одного компонента внеклеточного матрикса; 2) катализ, с ионом Zn^{2+} в активном сайте фермента; 3) активация протеиназами; 4) ингибирование ЭДТА, 1,10-фенантролином и одним из ТИММП; 5) комплементарная ДНК (сDNA) фермента должна быть гомологична с сDNA ММП-1 [7].

Таким образом, на данный момент существуют две классификации белков семейства ММП [7]:

- 1) Представляет собой пять подсемейств: стромелизины, желатиназы, коллагеназы, мембранносвязанные ММП и митрилизины.
- 2) Недостаточно изученные белки, относящиеся к группе “иные ферменты” [11].

В таблице 1, перечислены все белки семейства ММП (известные к настоящему моменту), а также указана их функция в организме человека.

Таблица 1. Список ММП и их функции в организме [12].

ММП	Функция в организме человека	Патологии, связанные с гиперфункцией фермента.
ММП-1	Активна в отношении коллагенов (I, II, III, VII, VIII, X)	Болезни суставов, заболевания хрящей.
ММП-2	Активна в отношении коллагена IV	Болезни сердечно-сосудистой системы, онкологические заболевания.
ММП-3	Активна в отношении коллагенов (II, IV, IX, XI)	Болезни сердечно-сосудистой системы, болезни почек.
ММП-7	Связывание с мембраной клеток	Артрит, остеоартрит.
ММП-8	Активна в отношении агрекана и желатина	Нарушения регенерации костной ткани и мышечных волокон.
ММП-9	Активна в отношении желатина	Метастазирование раковых заболеваний, болезни сердечно-сосудистой системы
ММП-10	Активна в отношении ламинина, фибронектина	Ангиогенез и метастазирование раковых заболеваний.
ММП-11	Активна в отношении ламинина, фибронектина и агрекана.	Различные заболевания опорно-двигательной системы.
ММП-12 и 14	Активна в отношении эластина и фибронектина	Заболевания мышечной ткани
ММП-13	Активна в отношении коллагена III, желатина	Метастазирование раковых заболеваний, заболевания хрящевой ткани.
ММП-15-17 и 23-25	Трансмембранная ММП	Не установлено
ММП-18-21 и 26-28	Не установлено	Не установлено

Иссечение злокачественных опухолей является терапией первой линии при раке твердых тканей, однако эта процедура зачастую не затрагивает небольшие фрагменты опухоли, которые способны к метастазированию, чаще пролиферируют в довольно отдаленных местах, где вызывают большую часть онкопатологий. ММП помогают обеспечить рост этих метастаз, они также участвуют в формировании новых кровеносных сосудов, которые питают инвазивные клеточные массы. Возможность селективного ингибирования ферментов семейства ММП позволяет существенно снизить риск метастазирования опухолевых заболеваний и приводит к прекращению ангиогенеза, что позволяет рассматривать ИММП как перспективные лекарственные препараты для лечения онкологических заболеваний на ранних стадиях заболевания.

Как известно, развитие онкологических заболеваний включает в себя следующие стадии: рост опухоли, многоступенчатые процессы инвазирования, метастазирование и ангиогенез. Во всех этих процессах непосредственное участие принимают ферменты семейства ММП. В частности, ММП-2, ММП-7-9 и ММП-13 оказывают протеолитическую активность и способствуют нарушению целостности мембранной оболочки клеток, тем самым облегчая инвазирование, ангиогенез и метастазирование. Рост опухоли зависит от наличия сигнальных молекул, которые подают организму сигнал на выработку ферментов семейства ММП, что влечет за собой их гиперсекрецию. Поскольку одна из основных функций пептидаз семейства ММП заключается в расщеплении коллагена, именно это помогает опухолевым клеткам активно делиться, что приводит к образованию и росту метастаз [13].

Согласно литературным данным [14], наиболее высокие результаты, при лечении онкологических заболеваний и заболеваний сердечно сосудистой системы, демонстрируют соединения, ингибирующие ММП-2,-7,-8,-9 и 13, по этой причине, дальнейшая часть настоящей работы, будет посвящена селективным ингибиторам ММП-2, ММП-7-9 и ММП-13.

Матриксная металлопротеиназа-2 (*ММП-2*) – цинк-зависимая эндопротеаза человека. Её гиперфункция вызывает деградацию коллагена IV, который является связующим элементом базальной мембраны клеток. На рисунке 1, представлена структура протеазы ММП-2 [15].

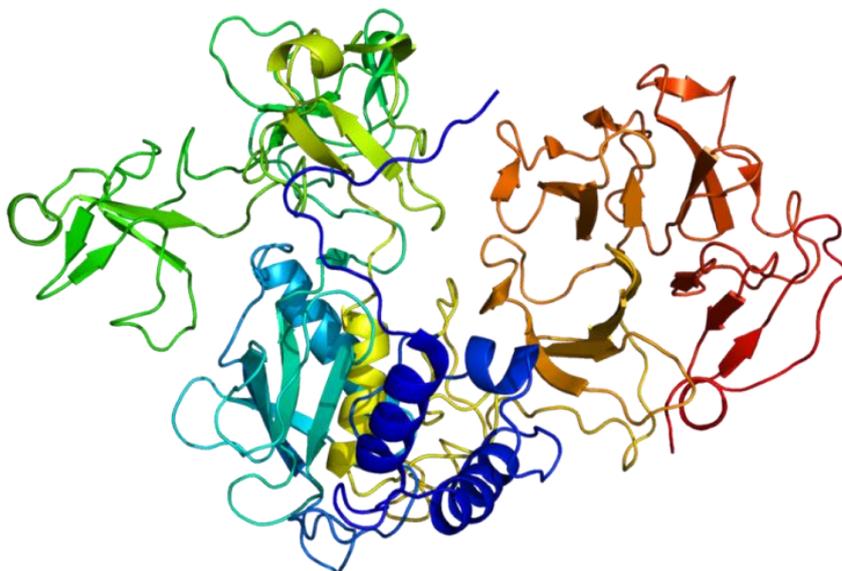


Рисунок 1. Структура ММП-2 человека [15].

При нормальном функционировании клетки, протеаза ММП-2 [16] не вызывает патологических изменений в организме человека, и играет важную роль во многих естественных физиологических процессах (эмбриональном развитии, морфогенезе, репродукции и тканевом ремоделировании) [17]. Механизм действия ММП-2 при его стандартном функционировании приведен на рисунке 2 [18]. Эндопротеаза способна приводить к разрушению нитей коллагена, для сохранения абсолютной целостности клеточной мембраны и сохранения гомеостаза. ММП-2 широко экспрессируется во время развития различных заболеваний, её уровень повышается в местах воспаления, повреждения тканей и в стромальных клетках, окружающих орган, пораженный метастазами [19]. В этих условиях, уровень ММП-2 повышен во многих физиологических жидкостях организма [17].



Рисунок 2. Действие ММП-2 при нормальном функционировании [18].

Гиперфункция ММП-2 в организме человека приводит к развитию онкологических заболеваний: раку молочной железы [20], раку предстательной железы [21], раку поджелудочной железы [22], раку желудочно-кишечного тракта [23], раку лёгких [24, 25], а также может приводить к развитию: нейродегенеративных заболеваний (болезни Альцгеймера [26], рассеянному склерозу [27]), заболеваний опорно-двигательной системы [28] и заболеваний сердечно-сосудистой системы [29].

Данная взаимосвязь между эндопротеазой и вызываемыми ей заболеваниями, была выявлена путем определения повышенной концентрации ММП-2 в поражённых органах [30]. На основании этого факта, было сделано заключение, что ингибирование ММП-2, позволяет существенно снизить или полностью исключить риск возникновения и развития заболеваний, вызванных гиперсекрецией ММП-2.

Поскольку ММП-2 играет значительную роль в развитии злокачественных опухолей центральной нервной системы, она представляет собой потенциальную мишень для лечения онкологических заболеваний головного мозга. Важно отметить, что ММП-2 способна преодолевать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), и, как следствие, данный тип протеазы играет значимую роль в онкогенезе и метастазировании раковых опухолей в головной мозг человека. Метастазирование в головной мозг дают различные опухоли, и они встречаются у 20–40% больных онкологическими заболеваниями. Лечение в основном паллиативное, и неспособность большинства АФС проникать в мозг представляет собой

одну из самых больших проблем в разработке медикаментозной терапии метастазирования [31]. Также, в группе риска развития онкологических заболеваний мозга, находятся пациенты с онкологией: груди, лёгких и почек; именно по этой причине, возникает острая необходимость в поиске эффективных ингибиторов ММП-2 [32].

Долгое время ММП считались многообещающими мишенями для терапии рака на основании их мощной активизации в злокачественных тканях и уникальной способности разрушать все компоненты внеклеточного матрикса. Доклинические исследования, проверяющие эффективность подавления ММП на моделях опухолей, были настолько убедительными, что синтетические ингибиторы матриксных металлопротеиназ (ИММП) были достаточно быстро определены и синтезированы, а затем были направлены на клинические испытания, к сожалению, результаты этих испытаний оказались неутешительными [33].

Основной подход к разработке ИММП был основан на взаимодействии ингибиторов, построенных на основе малых органических молекул, с ионом цинка, входящего в состав ММП, однако, в силу того, что в организме человека существуют иные металл-зависимые ферменты и процессы, соединения, проявляющие высокую активность к ММП, так же ингибировали и другие белки, содержащие в своей структуре двухвалентные катионы металлов.

На рисунке 3 представлены структуры ИММП, разработанные в научных лабораториях крупных фармацевтических компаний, которые, к сожалению, не смогли пройти клинические испытания [34].

Батимастат (рисунок 3) - антиметастатический препарат, принадлежащий к семейству препаратов, являющихся ингибиторами ангиогенеза. Ингибирующая активность батимастата основана его пептидомиметичности, и именно батимастат стал первым ИММП, прошедшим две фазы клинических испытаний.

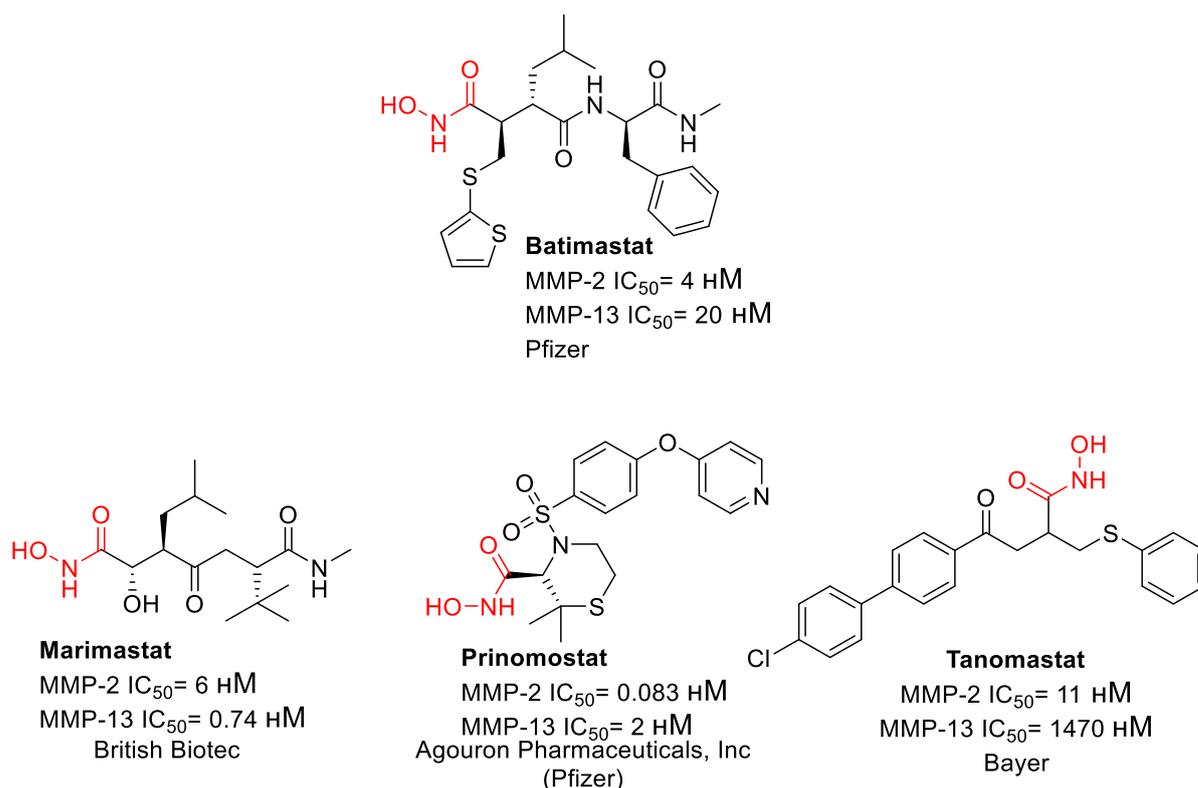


Рисунок 3. Запатентованные структуры соединений, не прошедшие 3-ю стадию клинический испытаний.

Важно отметить, что все соединения, представленные на рисунке 3, содержат в своей структуре фрагмент гидроксамовой кислоты, отвечающий за взаимодействие с ионом цинка. Гидроксаматный фрагмент связывается с ионом цинка ММП как бидентантный лиганд, таким же образом, как и остальные гидроксаматы. При проведении клинических испытаний было обнаружено, что гидроксаматные ингибиторы являются метаболически лабильными, могут разрушаться до гидроксилamina (канцероген) и, в случае пептидных гидроксамовых ингибиторов, плохо усваиваются в ЖКТ, а также вызывают скелетно-мышечные боли в качестве побочного эффекта. Однако эти соединения доказали свою эффективность *in vivo*, поэтому их продолжают изучать.

Кроме фрагмента гидроксамовой кислоты, использующейся в качестве хелатирующей функции применяются альтернативные кислородосодержащие группы (гидроксильные группы, карбоксильные группы, карбонильные группы, лактамные группы) [35], остатки фосфорных кислот [13], а также фрагменты, содержащие amino/амидо-функцию (AM-15, GI-129471) [36]. Список соединений (соединения лидеры), содержащих данные фрагменты приведён на рисунке 4.

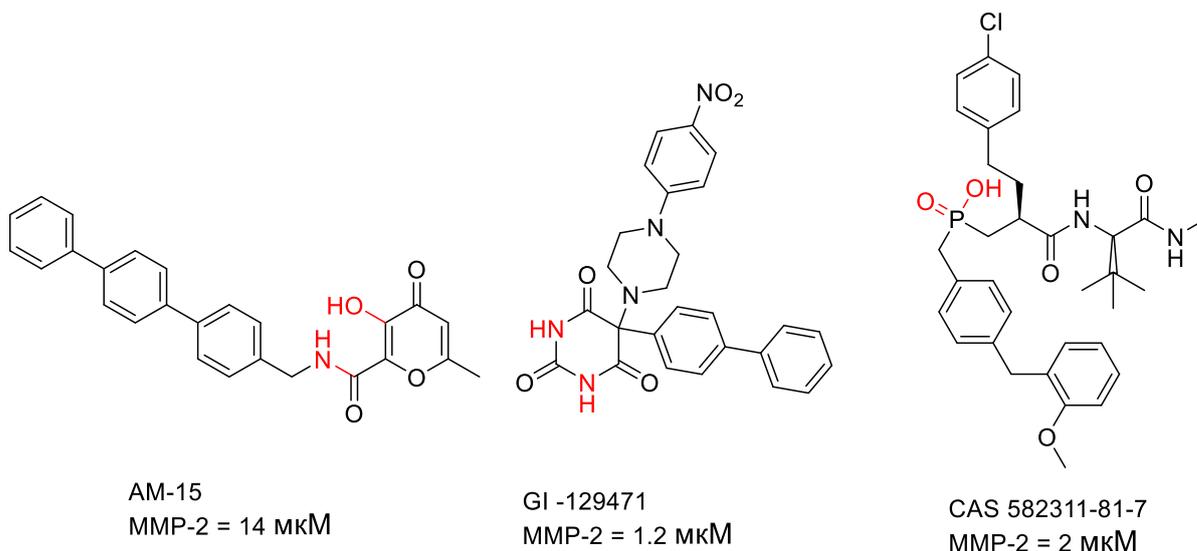


Рисунок 4. Альтернативные ингибиторы ММП, содержащие хелатирующие ион цинка группы.

Структуры, представленные на рисунках 3 и 4, являются пептидомиметиками копирующими структуру коллагена и принадлежат к ингибиторам ММП 1-го поколения. К сожалению, ни одно из данных веществ не прошло клинические испытания в силу их низкой осмолальности и ограниченной скелетно-мышечной дозировки, увеличение которой, приводит к нарушению работы многих систем организма [34].

На рисунке 5 представлены структуры, находящиеся в настоящий момент на стадии доклинических испытаний, ингибирующая активность которых основана на использовании структурных особенностей мишени – заполнении пространства в полости протеиназы. Именно данный механизм воздействия на ММП приводит к их полному и селективному ингибированию [36, 37]. Преимуществом данных соединений, в сравнение с молекулами, представленными на рисунке 4, является их высокая селективность. По причине отсутствия в соединениях **1** и **3** комплексообразующих групп, данные вещества не координируются по иону цинка и не хелатируют его, а используют структурные особенности ММП-2 для её ингибирования.

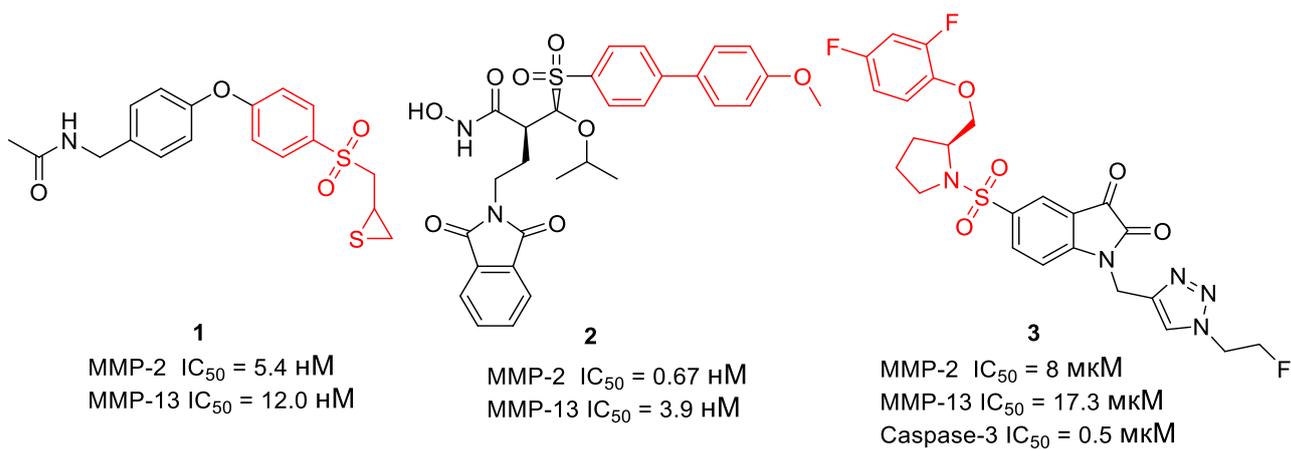


Рисунок 5. Структуры соединений 1-3, находящиеся в доклинических испытаниях.

Матриксная металлопротеиназа 7 (*ММП-7*) - протеолитический фермент, секретирующий эндопептидазы цинка и кальция. ММП-7 способна разрушать различные субстраты внеклеточного матрикса и играет существенную регуляторную роль во многих патофизиологических процессах в организме человека. ММП-7 является белком участвующим в процессах заживления ран, роста и ремоделирования костей. Позднее стало известно, что ММП-7 регулирует возникновение и развитие онкологических заболеваний и опосредует пролиферацию, дифференцировку, метастазирование и инвазию нескольких типов раковых клеток [38].

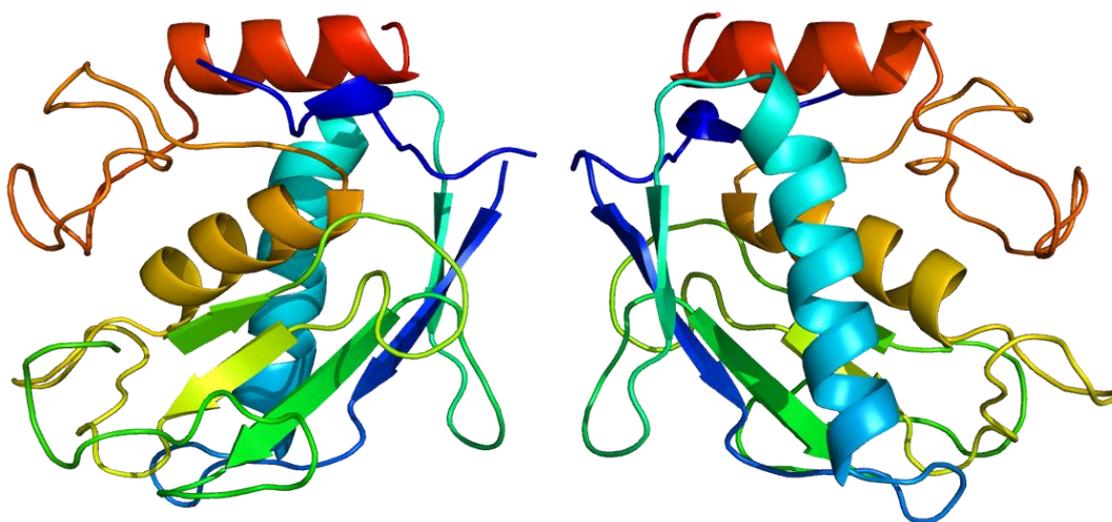


Рисунок 6. Структура ММП-7 человека [39].

Таким образом, ММП-7 является перспективным биомаркером опухоли и потенциальной терапевтической мишенью, экспрессия которой коррелирует с клиническими проявлениями онкологических заболеваний. Таким образом, манипулирование секрецией ММП-7 может стать потенциальной стратегией лечения и диагностики различных онкологических заболеваний.

Злокачественные опухоли желудочно-кишечного тракта являются наиболее распространенными типами рака во всем мире [40] и одной из самых частых причин смерти от рака [41, 42]. Несмотря на многочисленные достижения в диагностике и лечении рака желудочно-кишечного тракта, ранняя диагностика и точное лечение являются весьма трудновыполнимыми задачами [43]. Поэтому механизмы, лежащие в основе развития злокачественных опухолей пищеварительной системы, требуют детального изучения для улучшения терапевтических результатов, используемых в клинической практике.

ММП-7 сверхэкспрессируется в инвазивных опухолях пищевода [44], желудка [45, 46] поджелудочной железы [47], колоректальном раке [48] и печени [49]. Таким образом, сверхэкспрессированная ММП-7 представляет собой прораковый фактор, участвующий в развитии различных опухолей пищеварительной системы. По причине того, что онкология ЖКТ является первой по распространённости причиной смертности от онкологических заболеваний [50, 51], а уровень экспрессии ММП-7, особенно в опухолях желудочно-кишечного тракта, значительно коррелирует с трансформацией опухолевых клеток, приобретением инвазивного фенотипа рака и прогрессией опухоли, необходимо более детальным образом изучить взаимосвязь ММП-7 и онкологических заболеваний ЖКТ. Известно [46] о значительном повышении экспрессии ММП-7 в онкологических клетках по сравнению с прилегающими здоровыми тканями желудка. Сверхэкспрессированная ММП-7 способствует пролиферации и канцерогенезу клеток рака желудка *in vitro*, а также инвазии, метастазированию и опухолевому ангиогенезу раковых клеток. В начале 21 века была доказана зависимость [52] сверхэкспрессии ММП-7 в злокачественных новообразованиях желудка, по сравнению с нормальной слизистой оболочкой. Сверхэкспрессия ММП-7 ассоциируется с метастазированием в лимфатические узлы, отдаленным метастазированием и низким показателем 5-ти летней выживаемости. Матриксная металлопротеиназа-7 также сверхэкспрессируется в поражениях желудка, предшествующих раковым и в большинстве опухолей поджелудочной железы [53, 54].

Наиболее интересной является структура синтезированная в 2022 году, обладающая высокой активностью по отношению к ММП-7 [55], представленная на рисунке 7.

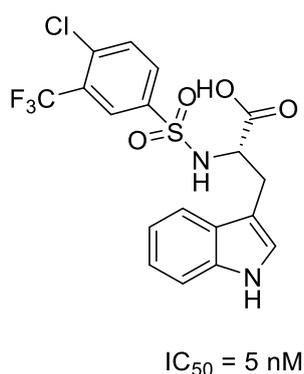


Рисунок 7. Структура ингибитора ММП-7

К сожалению, производное триптамина не показало высокой селективности к ММП-7, что можно объяснить наличием карбоксильной и сульфамидной групп, которые хелатируют иона цинка.

В заключение следует отметить, что ММП-7 является важным фактором прогрессирования рака молочной железы, участвует в его возникновении и развитии, следовательно, данная ММП она может быть использована в качестве независимого прогностического онкомаркера молочной железы.

Матриксная металлопротеиназа 8 (*ММП-8*) - один из видов коллагеназы (коллагеназа-2 или нейтрофильная коллагеназа) [56]. Впервые ММП-8 была описана, как коллагеназа нейтрофилов, в конце 20-го века, когда она была клонирована из нейтрофилов, полученных от пациентов с гранулоцитарной лейкемией. Позднее была обнаружена экспрессия мРНК ММП-8 в хондроцитах, а также в ревматоидных синовиальных фибробластах человека и активированных макрофагах, гладкомышечных клетках и эндотелиальных клетках.

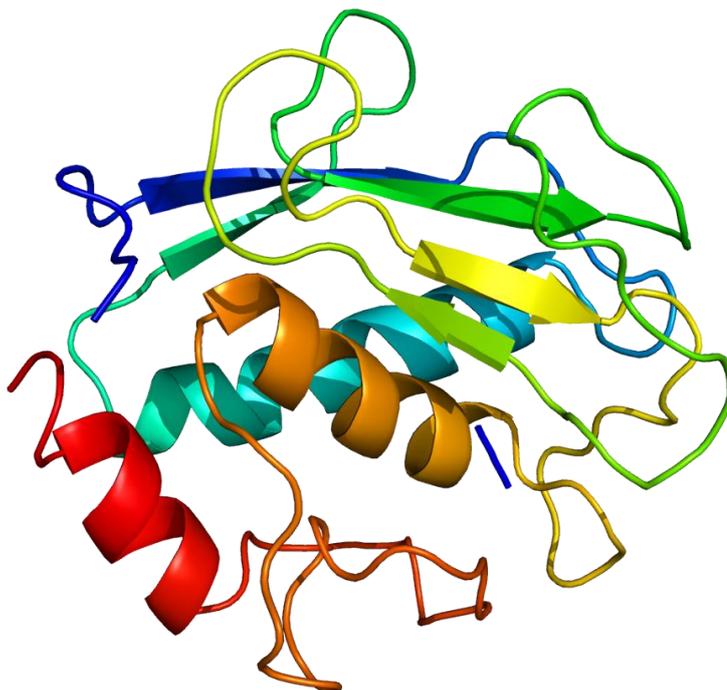


Рисунок 8. Структура ММП-8 человека [56].

Ферменты семейства ММП, в частности ММП-8, обладают каталитическими свойствами, отвечающими за ремоделирование тканей и деградацию структурных компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ), включая коллагены, эластины, желатин, матричный гликопротеин и протеогликаны. Наиболее часто ассоциированным с ММП-8 заболеваниями являются заболевания пародонта (пародонтит). Пародонтит — это многофакторное заболевание, которое приводит к потере мягких тканей и костной ткани. Тяжелый пародонтит поражает 740 миллионов человек во всем мире и является шестым по распространенности заболеванием. Диагноз ставится на основании оценки стандартных клинических параметров [57]. Основным инициатором этого хронического воспалительного заболевания является взаимодействие между патогенной биопленкой в поддесневой области и aberrantным иммунным ответом хозяина [58]. Данные свидетельствуют о том, что ММП и их тканевые ингибиторы (ТИММП) играют важную

роль в ремоделировании и разрушении тканей в целом и в тканях зубов как тканях пародонта в частности [59]. Воспаление пародонта связано с нарушением баланса между ММП и ТИММП [60].

Стимуляция клеток организма хозяина патогенами из зубного налета, является одним из видов непрямого механизма разрушения тканей при пародонтите [61]. Такие патогены, как *Treponema denticola* (*T. denticola*), *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) и *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), которые являются основными компонентами патогенной биопленки, обнаруженной в десневой щелевой жидкости и зубном налете, вызывают бактериальный каскад, который приводит к повышению уровня активной формы нескольких ММП [62, 61, 63]. Несколько исследований показали, что эти патогены активируют секрецию ММП-2 и ММП-9 и особенно активацию ММП-8 как под действием бактериальных протеаз (протеаз серинового типа), так и под действием окислительного стресса и высвобождения миелопероксидазы (МПО), вызванного респираторным штормом во время фагоцитоза нейтрофилов.

При заболеваниях пародонта особое внимание уделяется трем коллагеназам (ММП-1, ММП-8 и ММП-13) и желатиназам (ММП-2 и ММП-9). Остальные металлопротеиназы (ММП-7, -12, -14) оказывают относительно умеренное влияние при пародонтите.

В последнее время ММП-8 рассматривается как один из наиболее перспективных биомаркеров для раннего выявления пародонтита, его прогрессирования и прогноза лечения [62, 57].

Повышенный уровень ММП-8 в слюне и десневой щелевой жидкости (ДЩЖ) отмечается у пациентов с начальным и хроническим периодонтитом, а также у пациентов с периодонтитом, связанным с диабетом [64], в то время как лечение антибиотиками и/или скалирование и планирование корней, а также применение ингибирующих ММП адьювантных препаратов приводит к снижению уровня ММП-8 [65, 66, 67].

ММП-8, зачастую, играет весьма важную роль при изучении опухолей молочной железы.

Была обнаружена прямая зависимость между опухолями и уровнем белка ММП-8 [68], позже было определено снижение количества ММП-8 в миоэпителиальных клетках в процессе канцерогенеза [69]. Также было доказано, что экспрессия гена ММП-8 отрицательно коррелирует с поражением лимфатических узлов [70]. Аналогичные

исследования рака молочной железы показали взаимосвязь между уровнем ММП-8 и уровнем тканевого ингибитора металлопротеиназы 1 (ТИММП-1), а также ММП-9 с тканевым активатором плазминогена, урокиназой или их ингибитором (ПАИ-1) [71, 72]. На рисунке 9, представлен предполагаемый механизм действия ММП-8 при опухолевых заболеваниях.

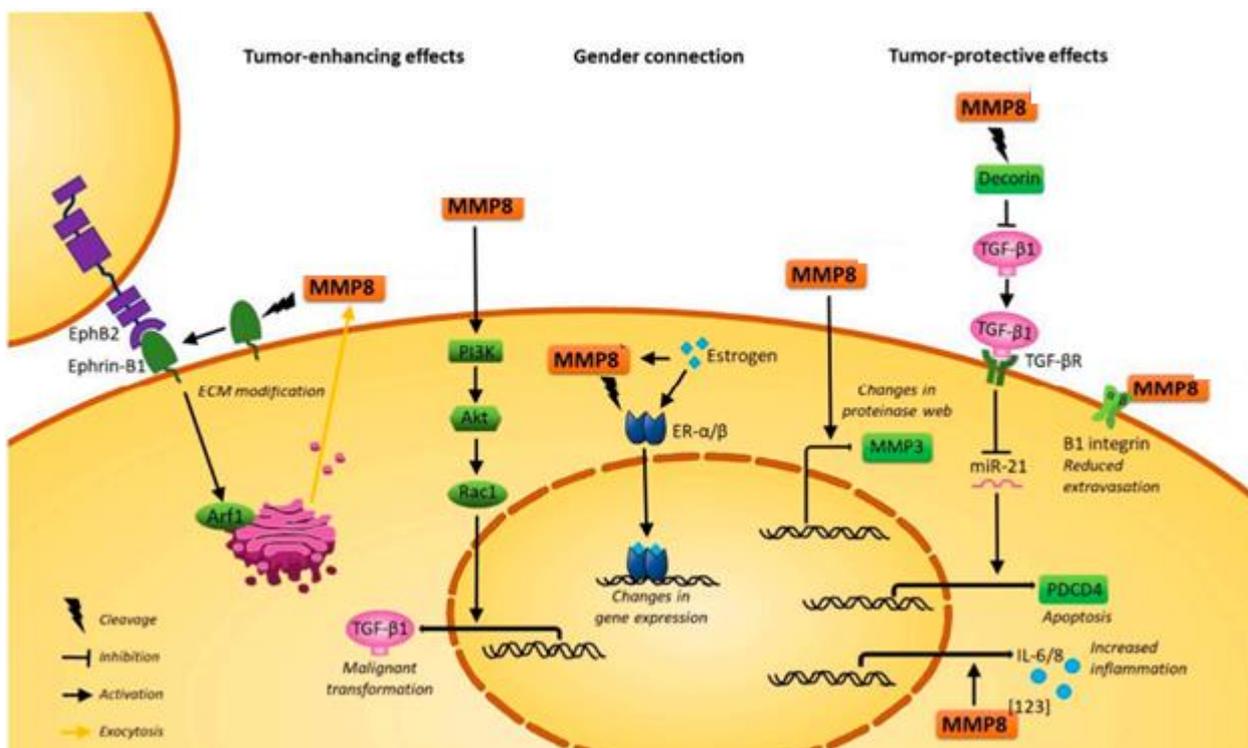


Рисунок 9. Предполагаемый молекулярный механизм действия ММП-8 при опухолевых заболеваниях [71].

Матриксная металлопротеиназа-9 (ММП-9) [73], одна из наиболее широко изученных ММП, регулирует процессы патологического ремоделирования, включающие воспаление и фиброз при сердечно-сосудистых заболеваниях. ММП-9 вызывает деградацию белков внеклеточного матрикса и активирует цитокины и хемокины для регулирования степени ремоделирования тканей.

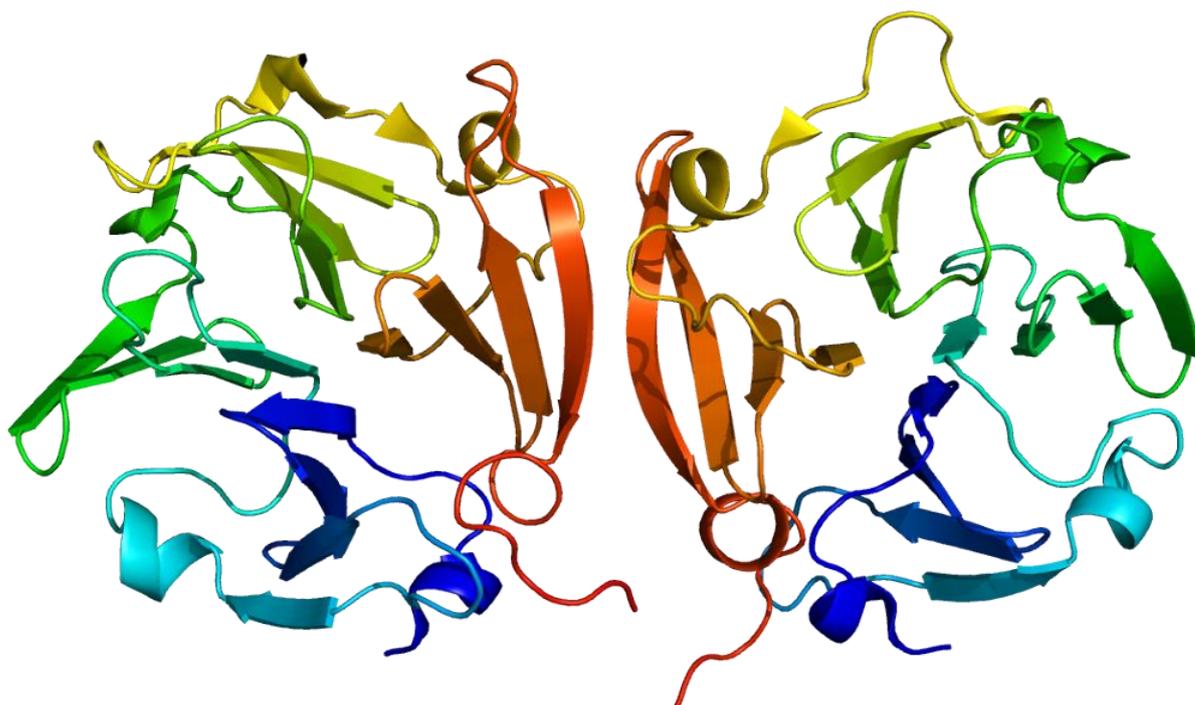


Рисунок 10. Структура ММП-9 человека [73].

ММП-9 относится к подгруппе желатиназ и известна как желатиназа В, из-за своей способности разрушать желатин. Человеческая ММП-9 состоит из -NH_2 -концевого продомена, каталитического домена, линкерного домена и -COOH -концевого гемопексин-подобного домена, которые объединяются в 92-кДа проактивный и 88-кДа активный фермент у человека [74].

Каталитический домен ММП-9 содержит два иона цинка, пять ионов кальция и три повтора, гомологичных модулю II-го типа фибронектина. Один из двух ионов цинка каталитического домена и цистеиновый переключающий сайт продомена, структурно скоординированы так, что ММП-9 остается неактивной [75], а в свою очередь, каталитический домен необходим для регулирования протеолитической активности. ММП-9 имеет уникальный домен, называемый фибронектиноподобным доменом, который состоит из трех повторов фибронектина типа II состоящего из 58 аминокислот. Этот домен

сильно О-гликозилирован и содержит удлиненный линкер между каталитическим и гемопексиноподобным доменами [76]. Фибронектиноподобный домен необходим для связывания с денатурированным коллагеном или желатином [77]. Гемопексин-подобный домен имеет сходство с гемопексином плазмы и присутствует в ММП-9.

В про-ММП-9 гемопексин-подобный домен образует плотный комплекс с ТИММП-1 и ТИММП-3 через их -СООН-концевые домены [78], и непосредственно перед секрецией про-ММП-9 образует комплекс с ТИММП-1 в аппарате Гольджи клетки [79]. ТИММП-1 связывается с про-ММП-9 через -СООН терминальный домен, оставляя NH₂-конец, способный ингибировать другие ММП.

Гиперсекрецию ММП-9 связывают с заболеваниями сердечно сосудистой системы, такими как: гипертензия, атеросклероз, спонтанный сердечный приступ, инфаркт [80]. Схематично, данная взаимосвязь проиллюстрирована на рисунке 11.

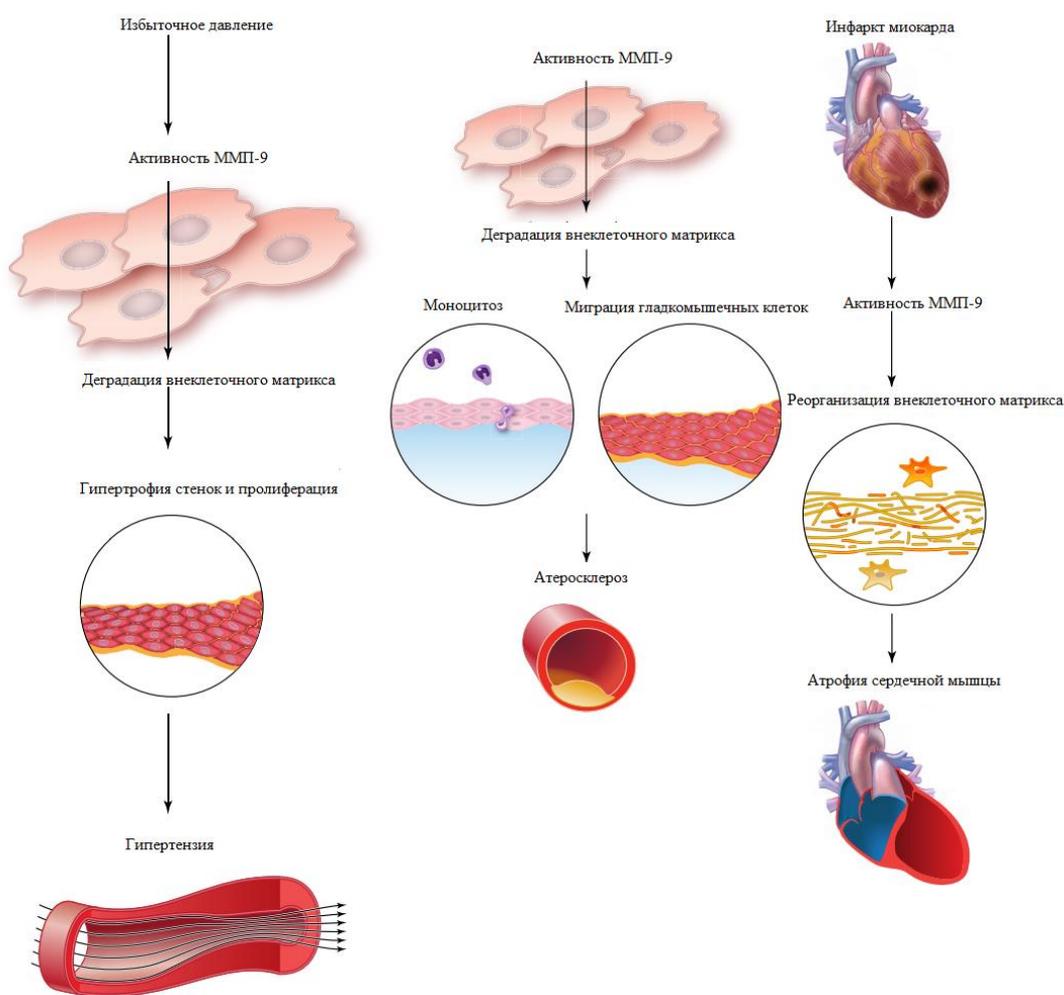


Рисунок 11. Взаимосвязь ММП-9 и заболеваний сердечно-сосудистой системы [80]

Некоторые важные процессы канцерогенеза, включая, в частности, миграцию, инвазию, метастазирование и ангиогенез, тесно связаны с внеклеточной средой [81]. Поскольку ММП-9 играет важную роль в ремоделировании внеклеточного матрикса и расщеплении мембранных белков, она широко ассоциируется с онкологическими патологиями [82, 83, 84, 85]. Например, установлено, что ММП-9 играет роль в инвазии, метастазировании и ангиогенезе опухолей, а также является посредником в формировании опухолевого микроокружения [86, 87]. В большинстве случаев ММП-9 способствует развитию и прогрессированию рака, а в некоторых специфических случаях, например при раке толстой кишки, вызванном колитом, она может играть супрессивную роль [88, 89].

Поскольку ММП-9 является важной мишенью для ряда раковых и некоторых других заболеваний, связанных с ММП-9, таргетная терапия ММП-9 имеет очень большое значение. Разработка ингибитора ММП-9 является важным направлением исследований для достижения этой цели. На сегодняшний день не существует успешного специфического ингибитора ММП-9, который бы использовался в клинической практике. Из-за сходства различных ММП важно сосредоточиться на достижении селективности их ингибиторов (в том числе ингибитора ММП-9), чтобы избежать внецелевого воздействия на другие ММП. Также, исследования выявили значение ММП-9 как потенциального биомаркера при различных видах рака [90, 91].

Матриксная металлопротеиназа-13 (*ММП-13*) – цинк-зависимая эндопротеаза человека, кодируемая геном ММП-13. Гиперфункция данного фермента приводит к возникновению заболеваний хрящевой ткани. На рисунке 12, представлена структура протеазы ММП-13 зарегистрированная при использовании рентгеноструктурного анализа [92].



Рисунок 12. Структура ММП-13 [92].

ММП-13 способна приводить к деструкции коллагена типа II [93]. Меланома и онкологические заболевания желудочно-кишечного тракта имеют прямую корреляцию с функционированием ММП-13 [94, 95, 96, 97].

В 2016 году, был синтезирован ряд структур, показывающих активность и селективность по отношению к ММП-13 (рисунок 13). Взаимодействие соединений **4**, **5** и **6** с ММП-13 представлено на рисунке 14 [98].

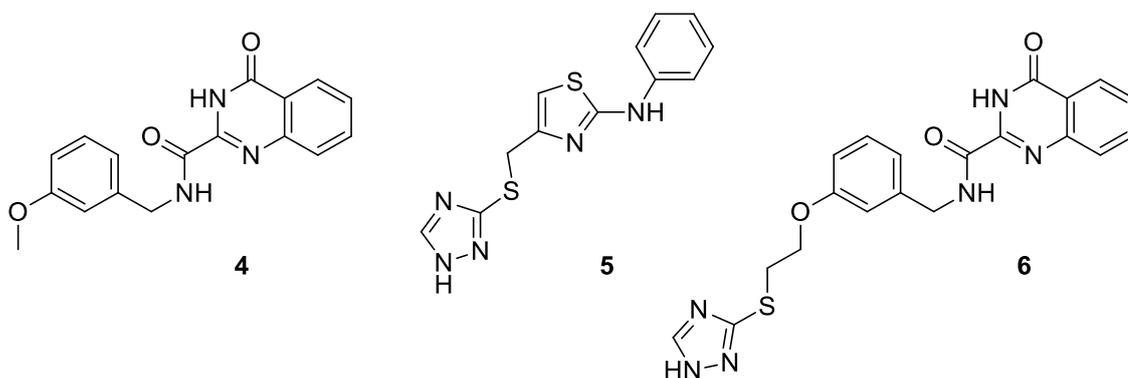


Рисунок 13. Структуры, показавшие активность как ингибиторы ММП-13.

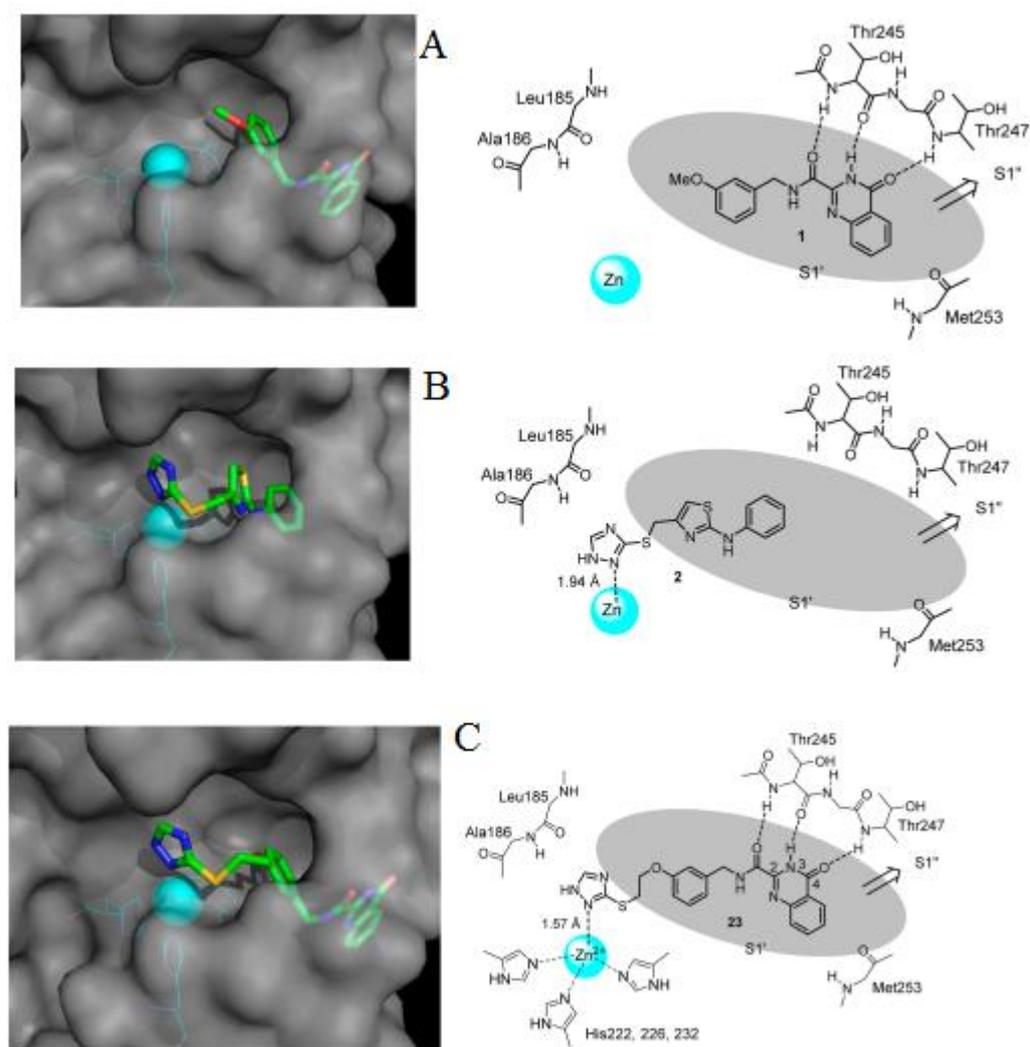


Рисунок 14. Модель взаимодействия веществ **4**, **5** и **6** с белком [98].

Кристаллические структуры комплекса хиназолина **4** (PDB код 3WV2) и триазола **5** с каталитическим доменом ММП-13 человека.

(А) Поверхность ММП-13 и полость её связывания, в которой ион цинка показан синей сферой, а фермент выделен серым цветом. Три остатка, His222, 226 и 232, в которых имидазол-5-ил связывается с ионом цинка, представлены в модели синей линией. Хиназолин **4** глубоко зарыт в карман S1'. Водородные связи показаны пунктирными линиями.

(В) Схема молекулярной поверхности ММП-13, иллюстрирующая полость связывания. Триазол **2** связывается с каталитическим ионом цинка и занимает часть кармана S1'. Взаимодействие между триазолом **2** и ионом цинка показано пунктирной линией.

(С) Схема молекулярной поверхности ММП-13, иллюстрирующая полость связывания. Каталитический ион цинка показан синей сферой, а фермент выделен серым цветом. Три остатка His222, 226 и 232, которым имидазол-5-ил группы координируются с ионом цинка, представлены в виде синей линейной модели. Триазол **6** связывается с ионом цинка и глубоко зарывается в карман S1'. Водородные связи и взаимодействие между триазольным кольцом **6** и ионом цинка показаны пунктирными линиями.

IC_{50} молекулы **4** для ММП-13 = 12 нмоль, IC_{50} молекулы **5** для ММП-13 = 1900 нмоль, IC_{50} молекулы **6** для ММП-13 = 0.036 нмоль, Для ММП-1, -2, -3, -7, -9, -12, -14 величины $IC_{50} > 100000$ нмоль, что говорит, о высокой селективности данного способа ингибирования [21].

Хочется отметить, что соединение **6** (рисунок 13), проявило высокий уровень активности, помимо этого, его преимуществом, в сравнении с соединениями **4** и **5**, является большее число потенциальных точек варьирования. Наличие гетероциклического фрагмента (изатинового или хиназолинового) в структурах молекул **3** и **6**, также необходимо для успешного осуществления взаимодействия с центрами связывания белка [18, 20].

Протеазы семейства ММП, как было указано выше, способны приводить к онкогенезу в организме человека, [99] механизм данного процесса представлен на рисунке 15.

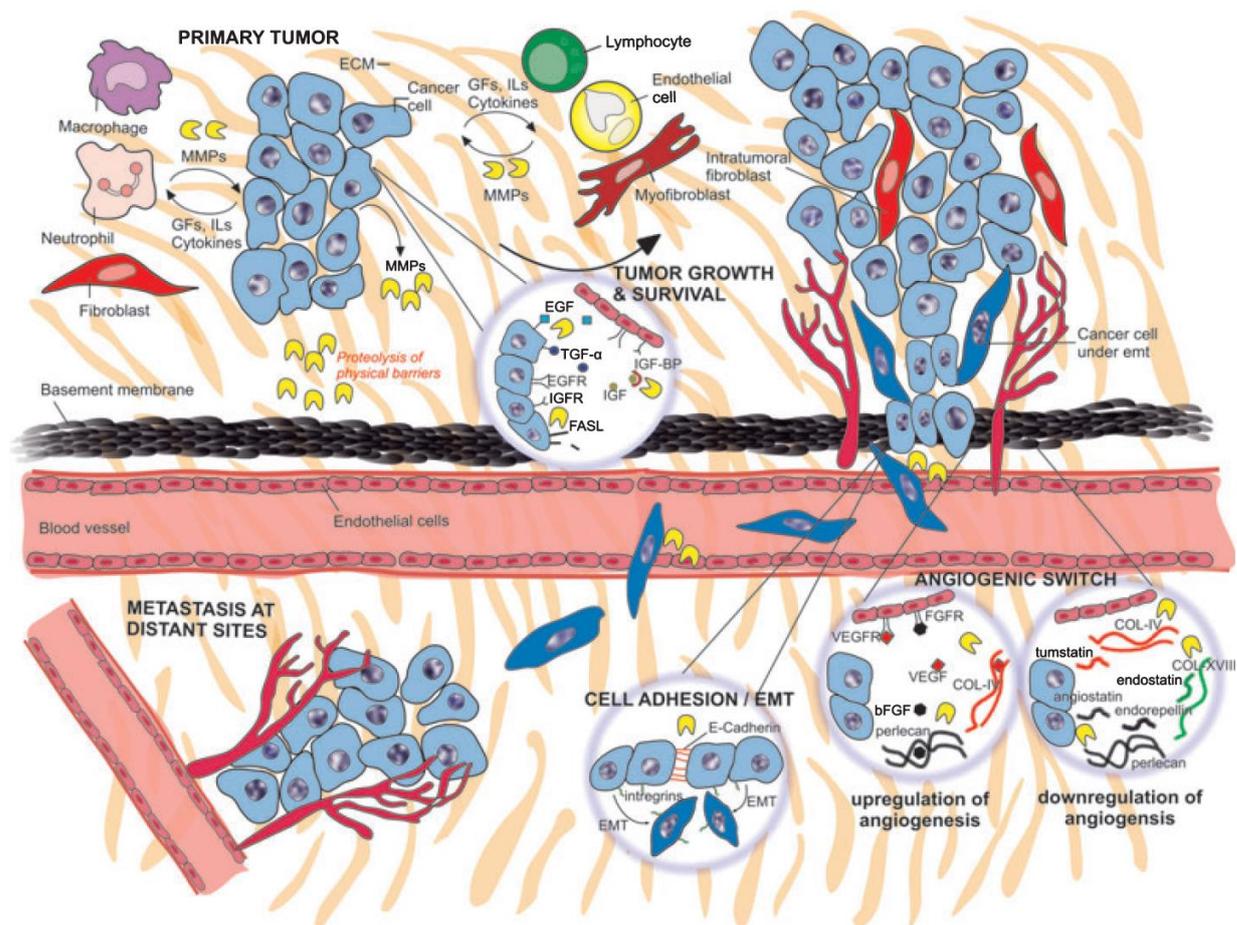


Рисунок 15. Механизм онкогенеза в организме человека [81].

1.2. Тканевые ингибиторы матричных металлопротеиназ

Тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИММП) — семейство молекул, ингибирующих активность ММП в случае их гиперфункции. Для человека известно четыре ТИММП — ТИММП-1, ТИММП-2, ТИММП-3, ТИММП-4.

ТИММП человека состоят из 184-194 аминокислот, образующих N-домен и C-субдомен, которые стабилизированы шестью дисульфидными связями. ТИММП на 40 % идентичны и обладают перекрывающимися способностями ингибировать отдельные ММП. Их концевой аминокислотный домен является ингибирующим доменом и связывается с активным участком ММП.

ММП не образуют ковалентных связей и не расщепляют ТИММП, но образуют с ними плотные комплексы в соотношении 1:1, с константами ингибирования в субнанолярном диапазоне. Зимогены ММП, про-ММП-2 и про-ММП-9 представляют собой секретируемые латентные формы ММП, в которых в каталитический сайт встроен расщепляемый пропептид. Эти проферменты связываются с ТИММП при взаимодействии между карбокси-концевым не ингибирующим доменом ТИММП и карбокси-концевым гемопексиновым доменом про-ММП, комплексы которых действуют как ингибиторы ММП, поскольку аминоконцевой ингибирующий домен ТИММП не блокируется. В свою очередь, N-домен имеет характерную "олигонуклеотидно-олигосахаридную складку, состоящую из пяти β -цепочек, расположенных в виде скрученного β -бочонка и трех α -спиралей (рисунок 16 а).

Способность этих белков ингибировать ММП во многом обусловлена взаимодействием клиновидного гребня на N-домене, который связывается в кармане активного сайта связывания целевой ММП (рисунок 16 б). C-домен имеет две параллельных β -спирали, которые соединены α -спиралью с двумя антипараллельными β -спиралями. Такая структура обеспечивает способность ТИММП взаимодействовать с гемопексиновым доменом некоторых ММП, включая проформы некоторых ММП, и может играть стабилизирующую роль [100].

Человеческие ТИММП-1 и ТИММП-3 — это гликопротеины, имеющие сложные полисахаридные цепи, не играющие существенной роли в ингибирующей активности белков, но важные для взаимодействия с клеточной средой. Примечательно, что ТИММП-3 включается во внеклеточный матрикс тканей за счет зарядовых взаимодействий с

сульфированными гликозаминогликанами и может быть классифицирован как "матрицеллярный" белок.

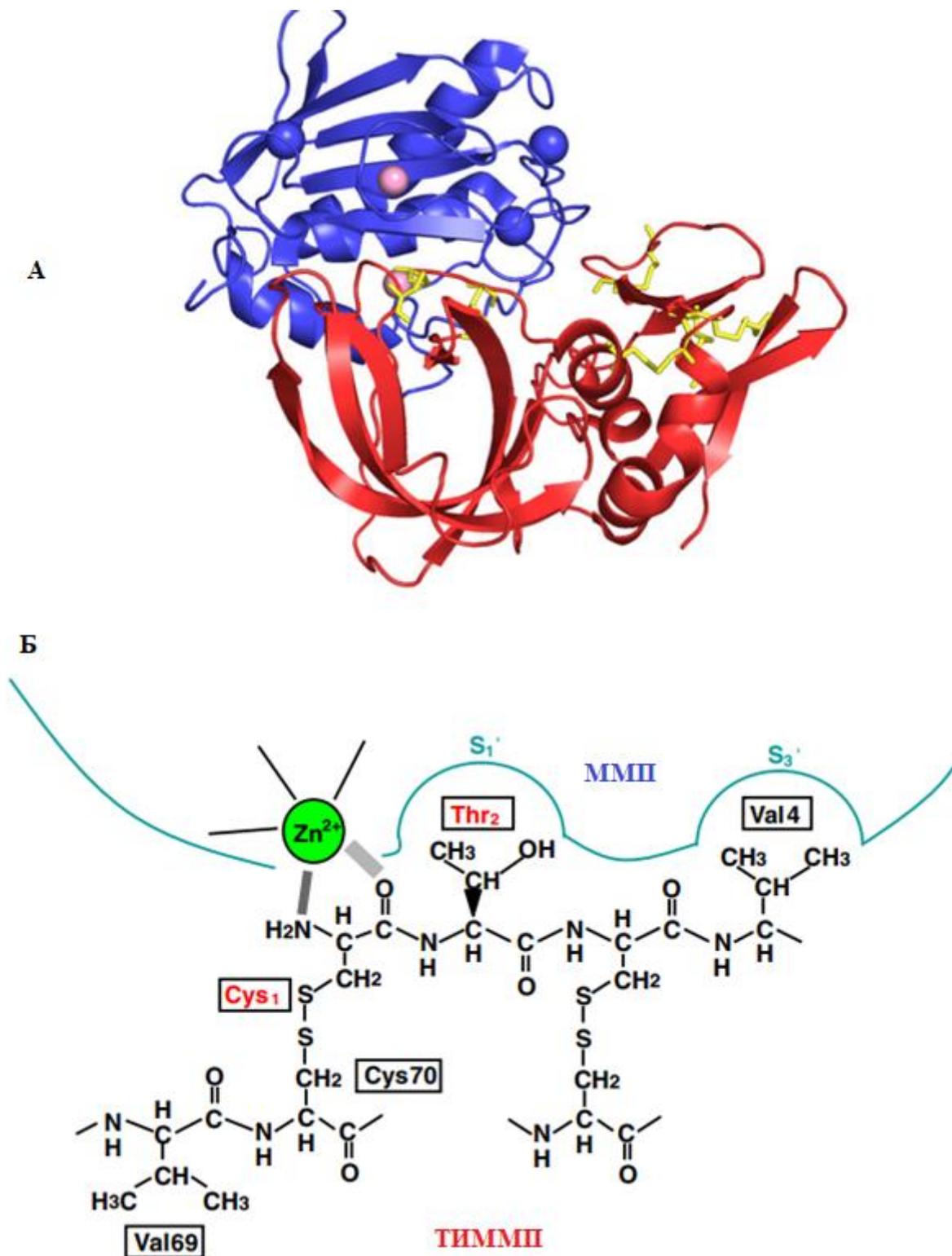


Рисунок 16. Механизм ингибирования ТИММ I ММП [100]

ТИММ I демонстрируют тканеспецифичную или индуцированную экспрессию, которая регулируется на транскрипционном уровне различными цитокинами и факторами

роста. ТИММП-1 широко экспрессируется во многих тканях млекопитающих, в частности, в репродуктивных органах, а в центральной нервной системе экспрессия ТИММП-1 ограничена областями с устойчивой пластичностью нейронов, такими как гиппокамп, обонятельная луковица и мозжечок [101]. ТИММП-2 экспрессируется в большинстве тканей, но не индуцируется обычными факторами роста. ТИММП-3 экспрессируется во многих тканях и зачастую может быть определён в виде матриксного белка в глазах и почках. Относительно ограниченное тканевое распределение ТИММП-4 (в сердце, почках, яичниках, поджелудочной железе, толстой кишке, яичках, мозге и жировой ткани) позволяет предположить, что он играет роль в тканеспецифических физиологических функциях [102], однако роль этого белка остается относительно малоизученной [100].

Роль ТИММП как в нормальной физиологии, так и в патологических процессах была изучена с помощью исследований генов мышей. Данные исследования показали, что существует определенная функциональная избыточность ТИММП, и у мышей с нулевой экспрессией ТИММП-1 не наблюдается многих врожденных аномалий, кроме изменений в репродуктивном цикле и ухудшения обучения и памяти, если только животные не подвергаются патологическому воздействию. ТИММП-2-нулевые мыши имеют неврологические и двигательные аномалии, но у них проявляются только те фенотипы, которые связаны с ремоделированием матрикса [103]. Аблиция ТИММП-3 вызывает эмфиземоподобное повреждение альвеол легких [104] и ускоренный апоптоз эпителиальных клеток молочной железы [105]. Это позволяет предположить, что ТИММП-3 является основным регулятором активности ММП *in vivo*, кроме того, ТИММП-3 играет ключевую роль во врожденном иммунитете, регулируя переработку фактора некроза α -опухоли с помощью ADAM17 [106].

Отдельные гены ТИММП, регулируются довольно по-разному: так, ТИММП-1и ТИММП -3 повышаются *in vitro* в ответ на трансформирующий фактор роста β , тогда как экспрессия ТИММП-2 понижается.

Все промоторы ТИММП имеют сайты для связывания транскрипционного фактора SP1. Промоторы ТИММП-1, ТИММП-2 и ТИММП-3 имеют общие элементы, такие как AP1 и PEA3, которые также присутствуют в промоторах нескольких ММП [107]. В остальном общие структурные особенности в промоторах ТИММП практически не сохраняются. Как и многие "гены домашнего хозяйства", то есть гены, которые всегда экспрессируются, поскольку кодируют постоянно необходимые белки, ТИММП-1, ТИММП-2 и ТИММП-4 не имеют очевидных ТАТА-боксов.

Промотор ТИММП-1 имеет несколько сайтов начала транскрипции и GC-боксы.

Промотор ТИММП-2, который имеет ТАТА-бокс и несколько сайтов начала транскрипции, содержит сайты связывания MEF2 и NF-IL6 в своем промоторе.

Промотор ТИММП-3 уникальным образом содержит сайты связывания транскрипционных факторов NF-κB, c-MYC и p53 и имеет промоторную проксимальную GC-богатую область, которая обеспечивает его базовую экспрессию, в области, которые обеспечивают индукцию сывороткой. ТИММП-3 регулируется метилированием генов, что может приводить к снижению его регуляции во многих раковых клетках [100].

Промотор ТИММП-4 не имеет ТАТА-бокса, но содержит инициаторную последовательность и несколько точек старта транскрипции и также содержит сайт связывания миогенина, который, важен для его специфической экспрессии в скелетных мышцах, и сайт связывания фактора транскрипции AP4 [108]. ТИММП-опосредованное ингибирование активности ММП является важным фактором, определяющим функционирование клеток, но концепция независимой от ММП регуляции ТИММП поведения клеток в настоящее время поддерживается идентификацией, как специфических партнеров по связыванию клеток для членов семейства ТИММП, так и специфических явлений, в которых участвуют эти белки [109]. Было показано, что ТИММП-1 и ТИММП-2 опосредованные сигнальные механизмы, способствуют клеточной пролиферации, хотя рецепторно-опосредованные процессы, в которых они участвуют, изучены недостаточно хорошо [100, 109].

ТИММП-1 оказывает антиапоптотическое действие на некоторые типы клеток, усиливая активность факторов выживания и дифференцировки в сигнальной сети, которая опосредована тетраспанином CD63 и киназой фокальной адгезии, фосфоинозитид-3-киназой и ERK.

ТИММП-2 связывается с $\alpha\beta 1$ -интегрином, что приводит к остановке роста в фазе G1 и усилению экспрессии *de novo* ингибитора циклин-зависимой киназы p27Kip1.

ТИММП-3 обладает неоднозначной активностью, зависящей от типа клеток. В некоторых клетках он, по-видимому, способствует развитию трансформированного фенотипа, также ТИММП-3 способствует апоптозу в нескольких линиях опухолевых клеток, а также гладкомышечных клетках, но это, связано с модуляцией активности металлопротеиназ [110].

1.3 Стандартные методы синтеза производных изатина.

1.3.1. Реакция Зандмейера

Метод, открытый Зандмейером в 1884 году, до сих пор является наиболее часто используемым в синтезе самых разнообразных производных изатина. Суть данного метода заключается в реакции анилина с хлоральгидратом и гидрохлоридом гидроксиламина в водном растворе сульфата натрия, что приводит к образованию изонитрозоацетанилида, который далее обрабатывают концентрированной серной кислотой, что приводит к образованию изатина **7** с выходом 75% (схема 1) [111].

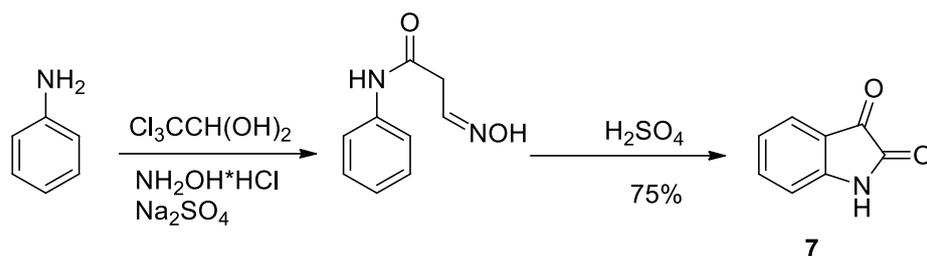


Схема 1. Реакция Зандмейера

Причиной широкого распространения этого подхода к синтезу изатинов безусловно являются дешевизна и доступность исходных реагентов, а также высокие выходы реакции. Однако, в случае использования гетероциклических аминов, или анилинов, содержащих электроноакцепторные группы, выход реакций значительно снижается [112].

Часто в синтезе используют модифицированный вариант этой, в котором в качестве растворителя используют этанол. Данный подход необходим в том случае, если исходный анилин и его продукты взаимодействия с хлоральгидратом и гидрохлоридом гидроксиламина имеют плохую растворимость в воде.

Так, например, простая модификация метода Зандмейера позволила получить 4,6-дибромизатин из 4,6-диброманилина, являющийся ключевым интермедиатом для синтеза природного соединения *Convolutamydine A* с выходом 85% [113].

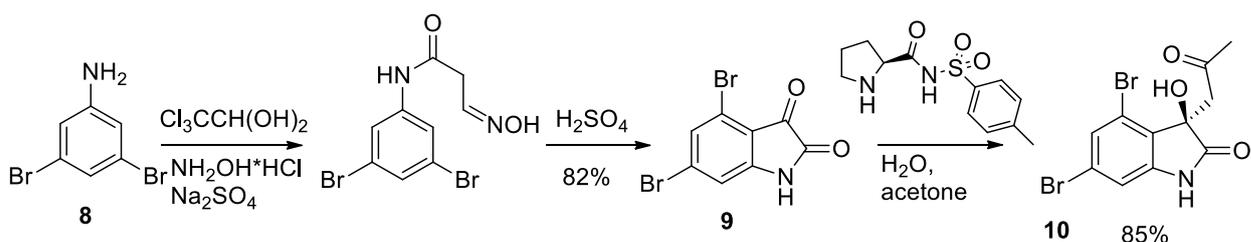


Схема 2. Структура *Convolutamydine A*

Для получения изатина из изонитрозоацетанилида, помимо использования серной кислоты, можно использовать некоторые кислоты Льюиса, например, эфират трёхфтористого бора ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) при 90 °С [112]. После добавления воды к этой реакции, происходит выделение целевого изатина в виде труднорастворимого осадка. Данный метод наиболее хорошо применим в случае наличия кислородосодержащих заместителей в бензольном кольце, которые могут подвергаться деструкции в серной кислоте.

Исходная модификация синтеза Зандмейера оказалась неприменимой в случае о-гидрокси и о-алкокси анилинов [112], по этой причине была предложена альтернативная схема синтеза ключевого изонитрозоацетанилида **14** в результате взаимодействия хлороацетамида **12** с N,N-диметил-4-нитрозоанилином, что позволило синтезировать **14** с выходом 63 %.(схема 3.)

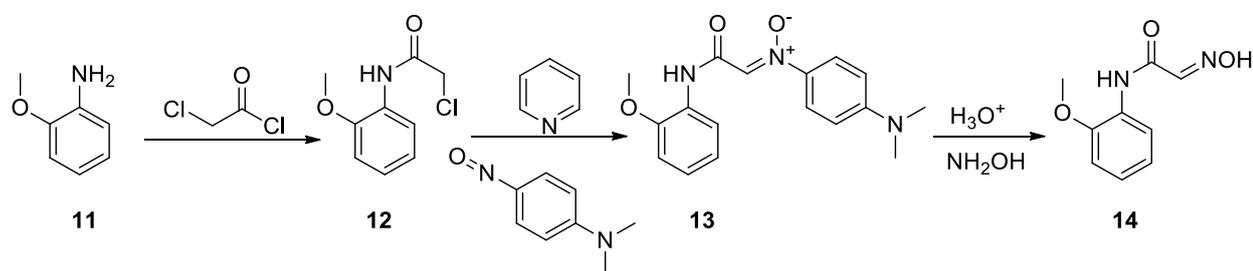


Схема 3. Альтернативный метод синтеза изонитрозоацетанилида

Необходимо отметить, что синтез изатинов по Зандмейеру не лишен недостатков: во-первых, при использовании N-алкиланилинов, для получения соответствующих N-алкил изатинов выходы реакции не превышают 20% [114]; во-вторых, при использовании в синтезе мета-замещенных анилинов образуется смесь двух изомерных 4- и 6- замещенных изатинов [114]. Существуют различные возможности разделения полученных изомеров, однако они все приводят к существенной потере целевых продуктов на стадии выделения. Разделить изомеры можно, например, химическим путем обрабатывая смесь концентрированным раствором щелочи, что приводит к образованию смеси натриевых солей, которые можно трансформировать в тот или иной изомер изатина, обрабатывая их кислотой, контролируя pH, так как при различных показателях кислотности среды будут генерироваться различные изатины (схема 4).

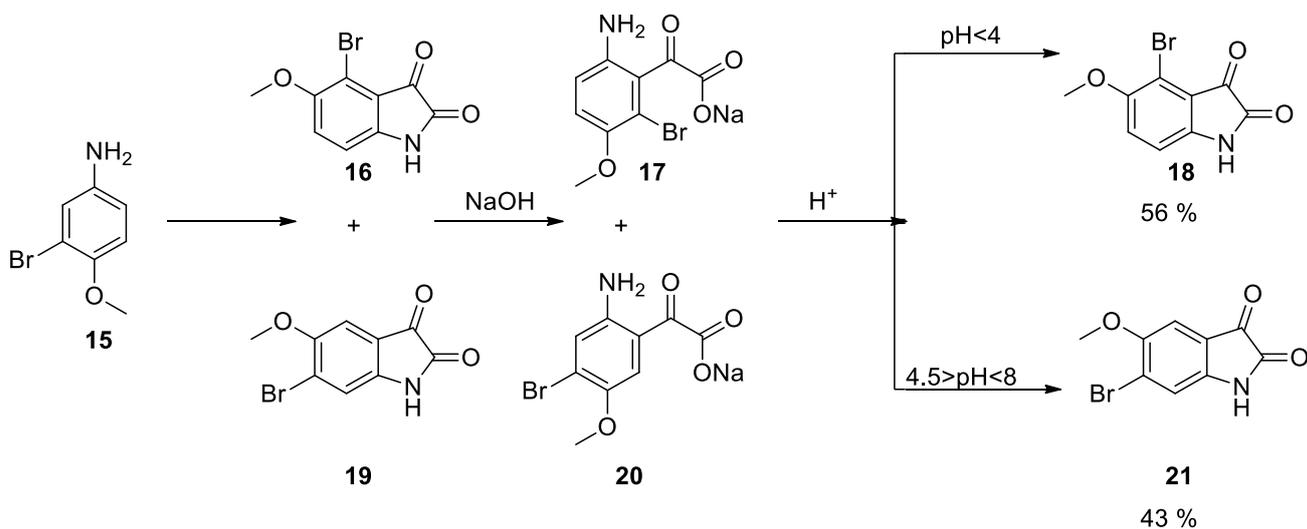


Схема 4. Разделение изомерных изатинов

В результате реакции, предположительно, может происходить образование циановодородной кислоты [111], механизм её образования представлен на схеме 5.

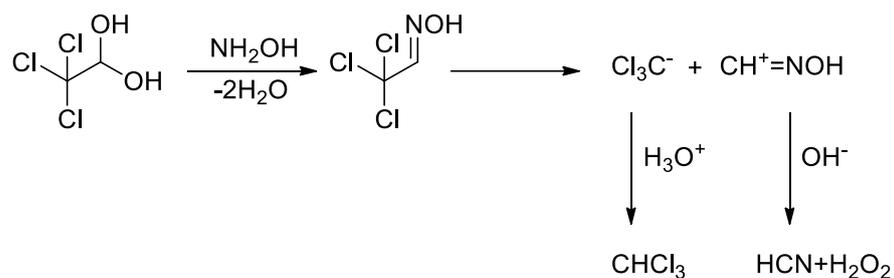


Схема 5. Механизм образования синильной кислоты

1.3.2. Реакция Штолле

Реакция синтеза изатинов по Штолле основана на ацилировании анилина оксалилхлоридом и последующей внутримолекулярной реакцией электрофильного замещения в присутствии кислоты Льюиса, она представляет собой хорошую альтернативу реакции Зандмейера [115]. Ключевой стадией данного метода является взаимодействие исходной молекулы анилина с оксалилхлоридом, как правило, его используют с большим избытком – до 5 экв., что приводит к образованию промежуточного хлорооксалиланилида, который в присутствии кислот Льюиса (AlCl_3 , $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, TiCl_4) превращается в соответствующий изатин [115].

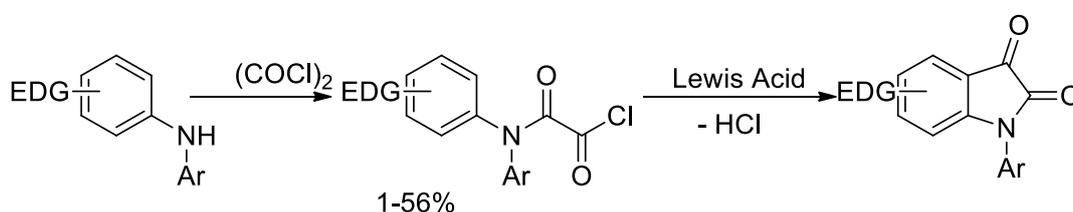


Схема 6. Синтеза изатинов по Штолле в общем виде

Описанный метод используется для синтеза N-замещенных молекул изатина, а также полициклических изатинов. В случае различных диметоксианилинов наблюдается самопроизвольная циклизация в соответствующие анилины при отсутствии кислоты Льюиса.

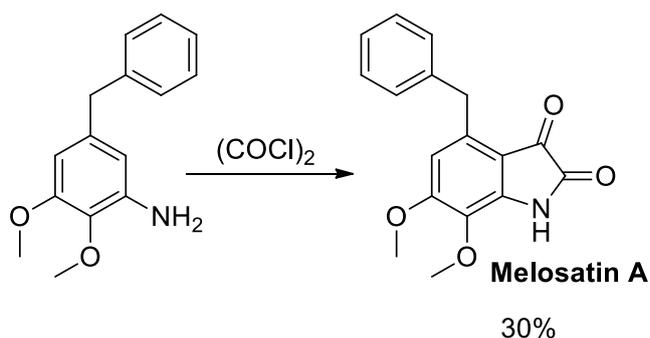


Схема 7. Синтез Melosatin A [116]

Как правило, в качестве растворителей в реакции Штолле используется сероуглерод или толуол, а саму реакцию проводят при непосредственном нагревании до температуры кипения растворителей. Выходы для данной реакции находятся в интервале от 30 до 60%, а сама реакция очень чувствительна к природе заместителей в бензольном кольце. Так, например, в реакцию Штолле не вступают субстраты, содержащие электроноакцепторные группы [115].

1.3.3. Реакция Мартинэ

Синтез изатинов с помощью реакции Мартинэ подразумевает под собой взаимодействие ариламина с диэтиловым эфиром мезоксалевой кислоты, с получением в качестве интермедиата третичной карбоновой кислоты, которая далее путем окислительного декарбоксилирования превращается в соответствующий изатин [117] (схема 8).

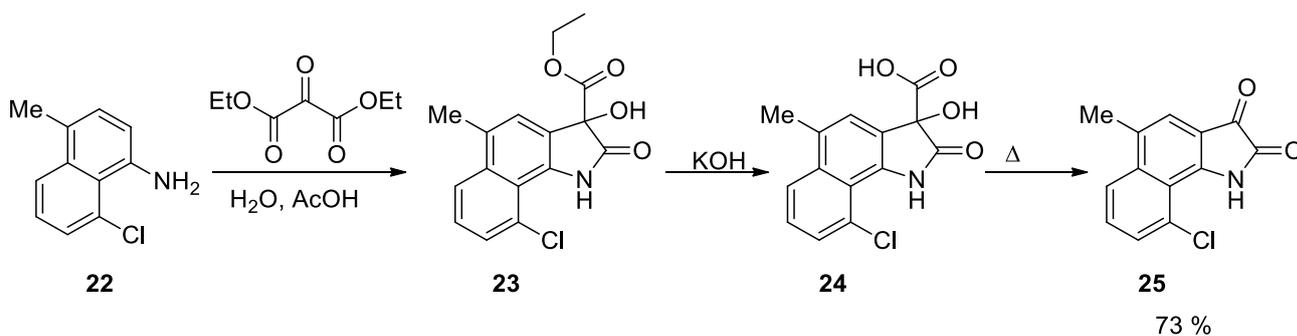


Схема 8. Синтез изатинов по Мартинэ

Отличием данного метода от синтеза изатинов по Зандмейеру заключается в возможности использовать полиароматические анилины, с сохранением умеренных выходов реакции (~50%), что является невозможным в случае использования реакции Зандмейера для тех же субстратов. Также, данный метод используется для синтеза труднодоступных арилированных молекул изатина [118] (схема 9)

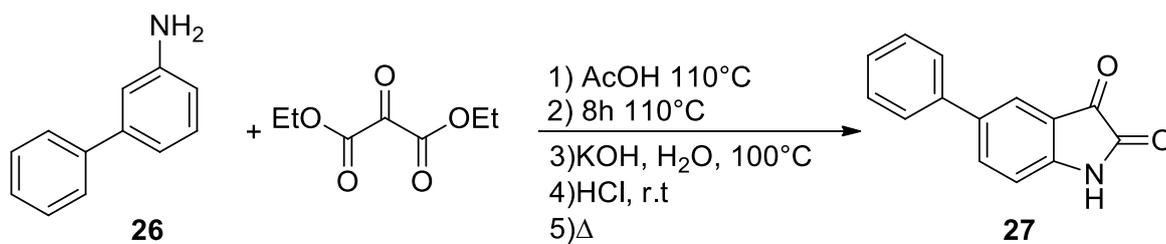


Схема 9. Синтез 5-фенилизатина по реакции Мартинэ

1.3.4. Реакция Гассмана

Принципиально отличающимся методом синтеза различных производных изатина, является метод их получения по Гассману. Суть данной реакции заключается в образовании в качестве промежуточного интермедиата 3-метилтиоиндола, с последующим его превращением в соответствующий изатин, с выходами, варьирующимися в интервале от 40 до 80% [119]

Существует два различных подхода [120, 121] для синтеза необходимых 3-метилтио-2-оксоиндолов. Выбор между ними обуславливается различной электронной структурой субстратов, а также количеством и влиянием заместителей в ароматическом кольце:

1) В случае наличия в молекуле анилина электроноакцепторных групп, рекомендуется осуществлять синтез через N-хлоранилиновый интермедиат, который реагирует с метилтиоацетатом с образованием аза-сульфониевой соли и последующей её перциклизации в ариленамин, и дальнейшей циклизации в 3-метилтиоиндол (схема 10).

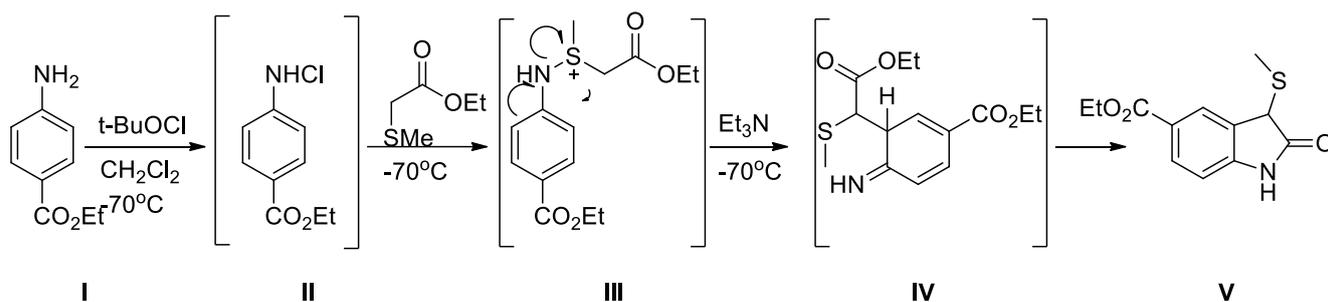


Схема 10. Способ А синтеза тиюиндола по реакции Гассмана

2) Для случая с наличием электронодонорных заместителей, способных дестабилизировать N-хлоранилиновый интермедиат, уменьшая тем самым выходы аза-сульфониевой соли, существует второй метод генерации соответствующего тиюиндола (схема 11).

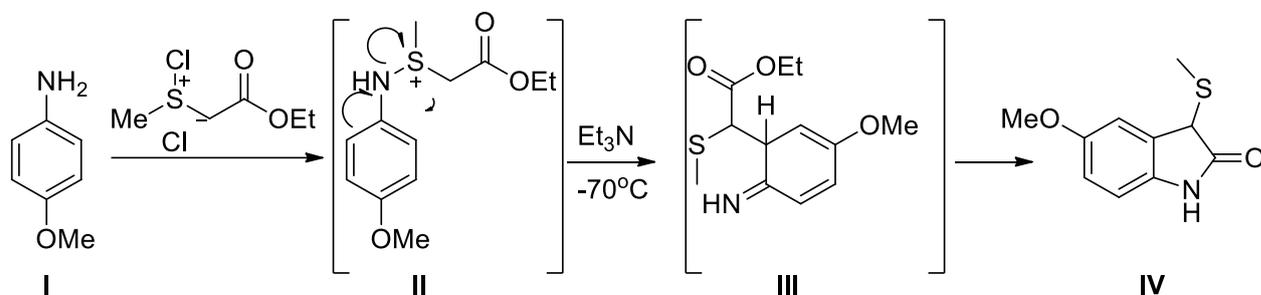


Схема 11. Способ В синтеза тиюиндола по реакции Гассмана

Дальнейший синтез изатинов по методу Гассмана осуществляется с образованием нестабильного 3-хлор-3-тиометил-2-оксоиндольного интермедиата, который гидролизуется до соответствующего изатина [122] (схема 12).

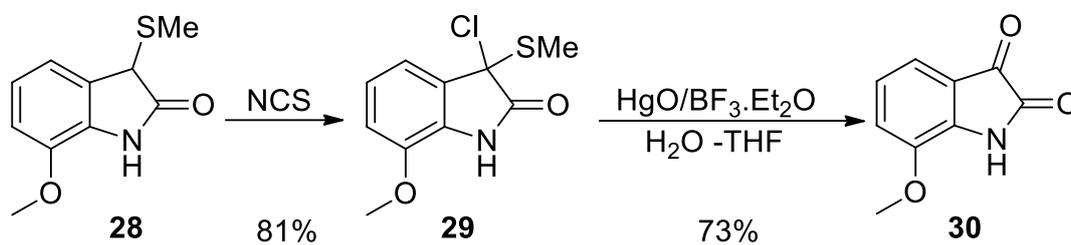


Схема 12. Синтез изатина с использованием методики Гассмана

1.3.5. Прямое о-металлирование производных N-пивалоил и N-третбутоксикарбонил-анилинов

Ещё одним интересным способом получения изатинов является синтез, основанный на о-металлировании N-пивалоил и N-третбутоксикарбонил-анилинов. Соответствующий дианион обрабатывается диэтилоксалатом с последующим удалением защитных групп и циклизацией промежуточных α -кетоэфиров в изатины. Этот метод синтеза используется при необходимости проведения региоселективного синтеза 4-замещенных изатинов [123].

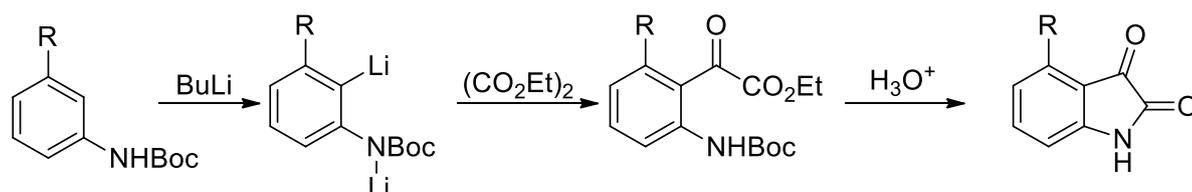


Схема 13. Синтез изатина с использованием реакции металлирования

Важно отметить, что использование данного метода, позволяет синтезировать различные гетероциклические производные изатина, например, 5-аза-изатин (схема 14) [124].

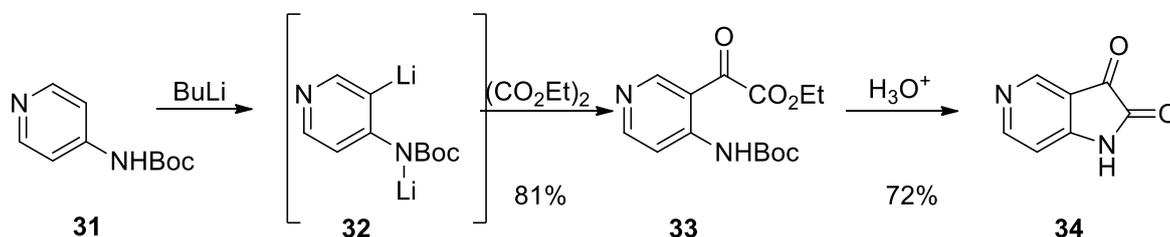
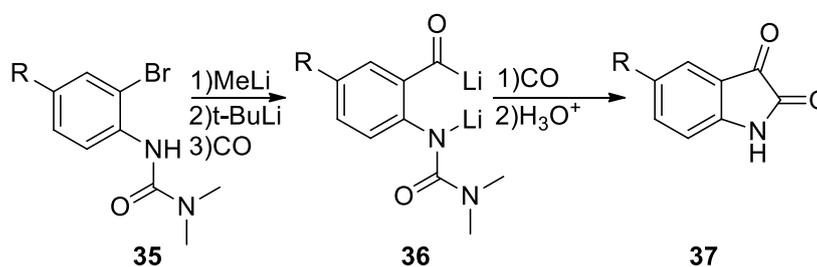


Схема 14. Синтез 5-аза-изатина с использованием реакции металлирования



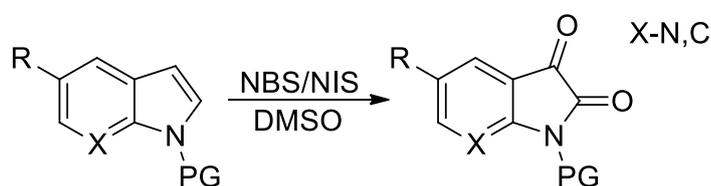
R - EDG
R: Me - 65%
R: Cl - 71%
R: F - 77%

Схема 15. Синтез изатина из соответствующего бромпроизводного

Помимо этого, описано множество примеров обмена металл-галоген, с последующей циклизацией полученного соединения в целевой изатин, выход данного синтеза составляет 70-80% (схема 15) [125].

1.3.6. Синтез изатина с использованием реакции окисления индолов

Одним из наиболее часто встречающихся способов синтеза различных производных изатина), является окисление соответствующего индола или его производных, с использованием различных окисляющих реагентов такие как: SeO_2 , NCS, NBS, NIS, IBX, ИВА, I_2 [126, 127]. Таким способом можно осуществлять синтез производных изатина, содержащих в бензольном кольце молекулы, как электронодонорные, так и электроноакцепторные группы, а также осуществить синтез аза-производных изатина. Единственным ограничением данного метода, является использование методик с применением защитных групп, поскольку атом азота индольного фрагмента затрагивается в процессе окисления (схема 16) [126].



73-88%

R: Me, Cl, Br, I, F, CN, OMe, CO_2Me , CO_2Et , C(O)Et

PG: Me, H, Bn

Схема 16. Синтез изатина окислением индола

В литературе описан способ окисления индола и его производных до молекулы изатина с использованием в качестве окислителя молекулы кислорода, в качестве катализатора в данной реакции используют краситель – бенгальский розовый (схема 17) [128]. Примечательно, что данный подход можно использовать для синтеза изатинов из индолов, не содержащих защитную группу у атома азота (схема 17).

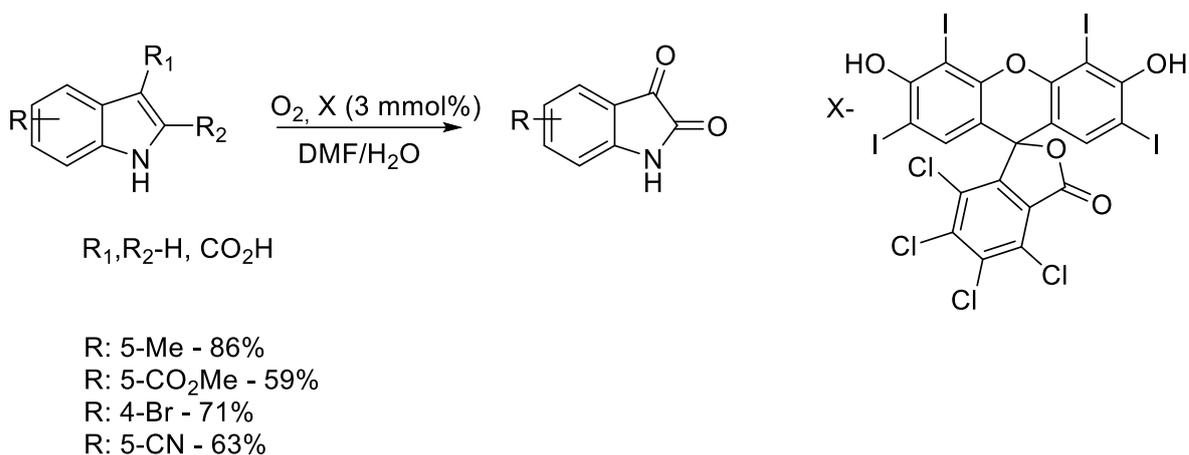


Схема 17. Синтез изатина окислением индола с использованием красителя

Важно отметить, что данный подход также позволяет использовать в реакции окисления индолы, содержащие различные по своей природе заместители в ароматическом кольце, как донорные, так и акцепторные [128].

Помимо окисления различных производных индола, известны подходы к синтезу различных изатинов из соответствующих 2-оксоиндолов, в которых окислению подвергается метиленовая компонента 2-оксоиндольного фрагмента под действием различных по своей природе соединений поливалентного йода (IBA, IBX, DMP и др.) (схема 18) [129].

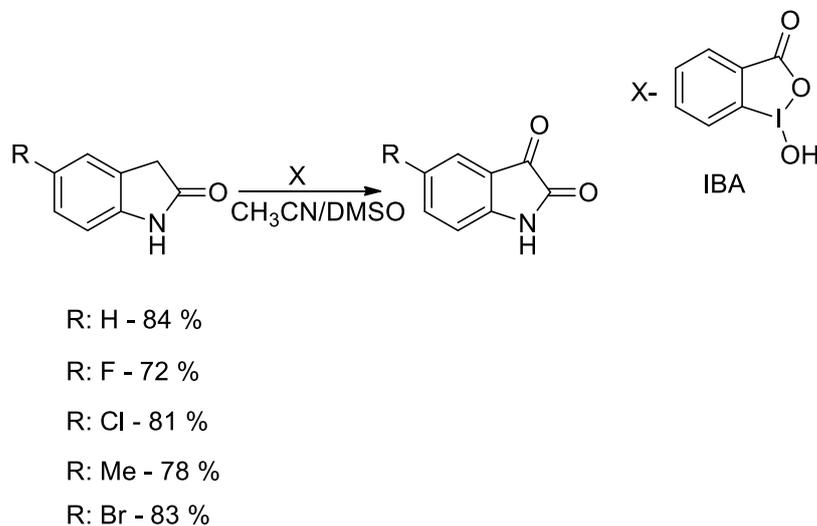


Схема 18. Синтез изатина окислением 2-оксоиндола

Еще одним примером получения изатинов является подход, основанный на использовании каскада реакций, в которых из о-виниланилинов, о-аминостиролов и 2-(о-аминофенил)-β-кетозэфиров под действием различных окислителей без выделения промежуточных продуктов можно с высоким выходом получить целевые изатины [130].

Очевидным преимуществом данного синтеза является отсутствие применения металлов и их производных в качестве катализаторов (схема 19).

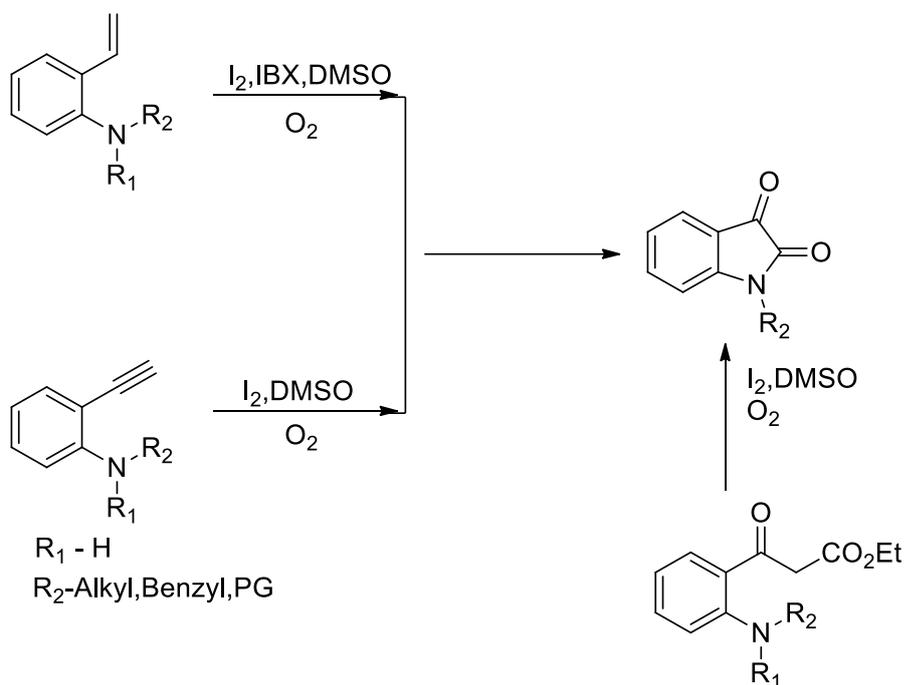


Схема 19. Йодоактивированная C-H функционализация

1.4. Альтернативные методы синтеза производных изатина.

1.4.1. Металл-катализируемые реакции

Описанные выше способы синтеза изатинов являются наиболее часто используемыми в синтетической практике, однако, в случае специфических и нетривиальных задач приходится использовать альтернативные методы синтеза, которые, как правило, представляют собой металл-катализируемые реакции [123].

С другой стороны, существуют относительно простые превращения, которые также позволяют с высоким выходом (до 97%) получать целевые изатины, например, их можно получить из 3,3-дибромпроизводных 2-оксоиндолов, которые в свою очередь можно получить из 4- и 6-замещенных оксоиндолов путем их бромирования бромид-пербромидом пиридиния (схема 20) [131]. Важно отметить, что исходные 4- и 6-замещенные 2-оксоиндолы можно легко получить в две стадии из коммерчески доступных о-хлорнитробензолов.

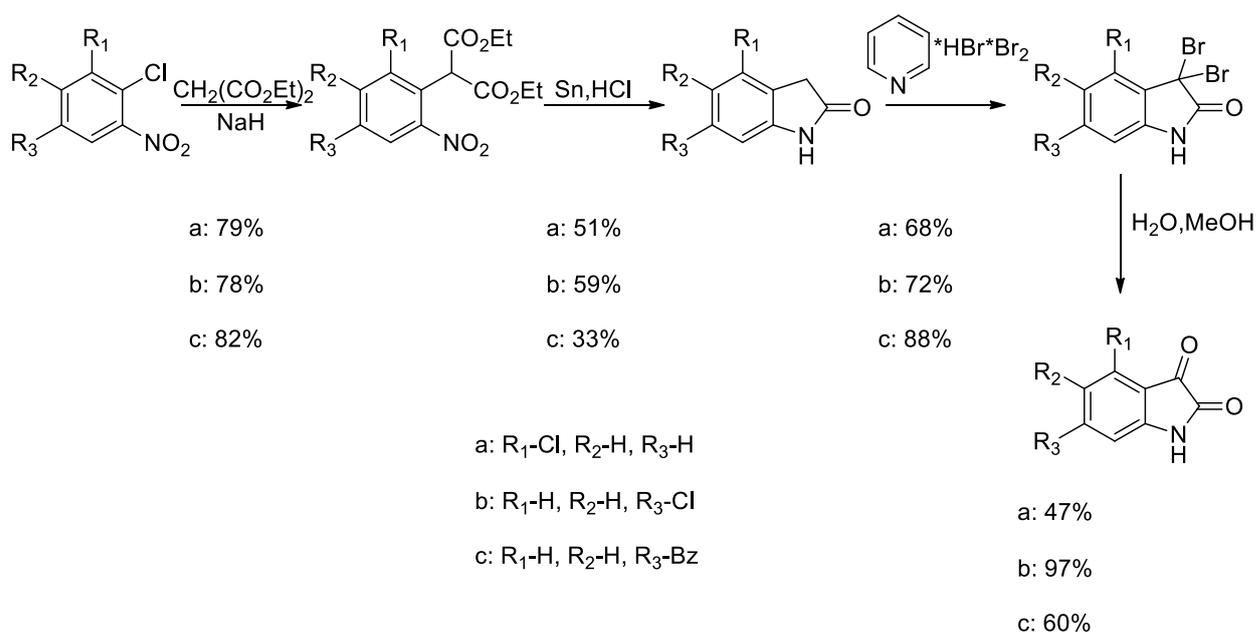


Схема 20. Синтез изатинов из о-хлорнитробензолов

Несмотря на то, что данный метод ограничен использованием субстратов, содержащих электроноакцепторные группы, проявляющих средние или более сильные акцепторные свойства (в противном случае происходит бромирование ароматического кольца, а не третьего положения оксоиндола), данный метод хорошо подходит для региоселективного синтеза 4- и 6-замещенных изатинов.

На схеме 21, представлен метод синтеза изатина, в основе которого лежит Pd-катализируемое двойное карбонилирование *o*-галогенацетанилидов в присутствии диэтиламина. Полученный с выходом 82 % амид фенилглиоколевой кислоты **39** гидролизуется в присутствии соляной кислоты до соответствующего изатина. Выход целевого изатина 93 % [132].

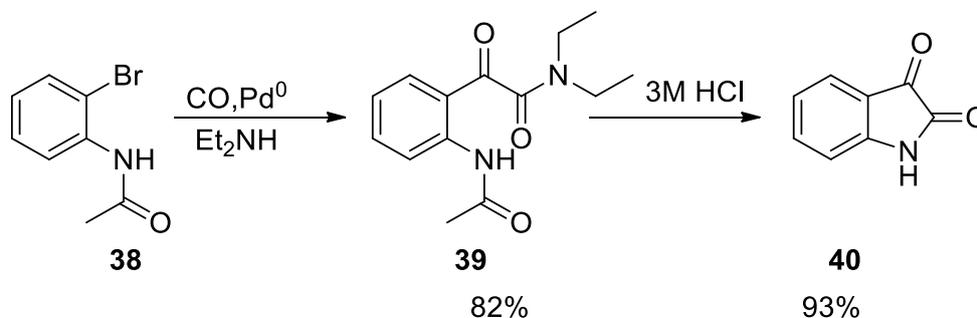


Схема 21. Синтез изатина из *o*-бромацетанилида

Был также разработан принципиально новый подход к синтезу производных изатина, основанный на металл-катализируемых реакциях *N*-гетероаннелирования производных *o*-нитростиролов и *o*-нитрофенилацетиленов в присутствии монооксида углерода, который был выбран в качестве восстановительного агента (схема 22) [133].

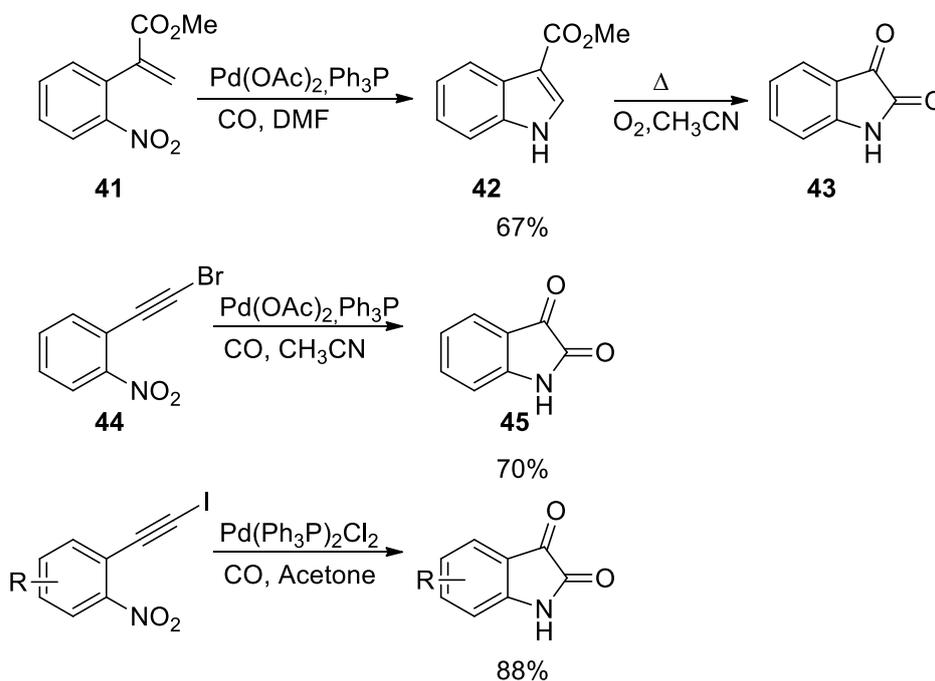


Схема 22. Синтез изатинов из *o*-нитростиролов и *o*-нитрофенилацетиленов

Несколько интересных одностадийных подходов к синтезу производных изатинов приведены на схеме 23 [134].

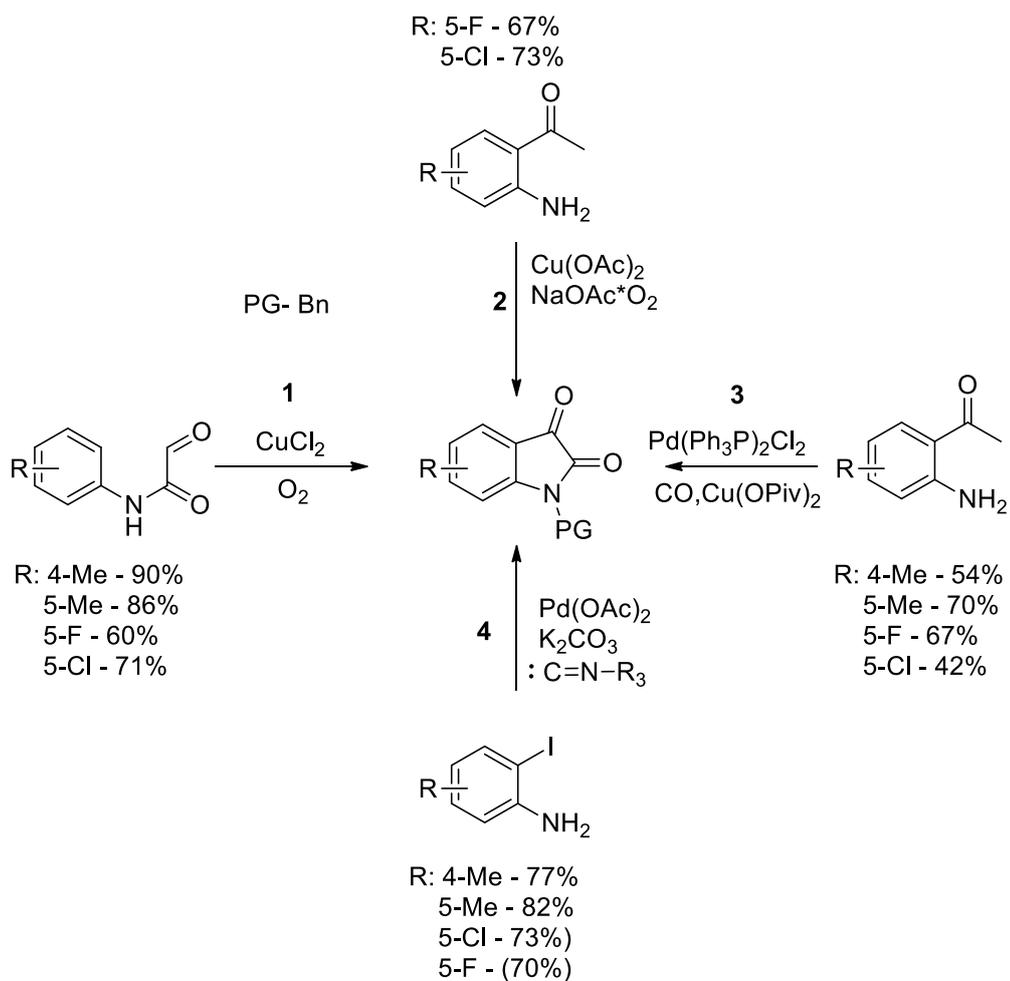


Схема 23. Альтернативный способ синтеза производных изатина

Метод **1** представляет собой внутримолекулярное, медь-катализируемое СН-окисление/ацилирование N-форманилидов. [135] Предполагаемый механизм данной реакции представлен на схеме 24 [136].

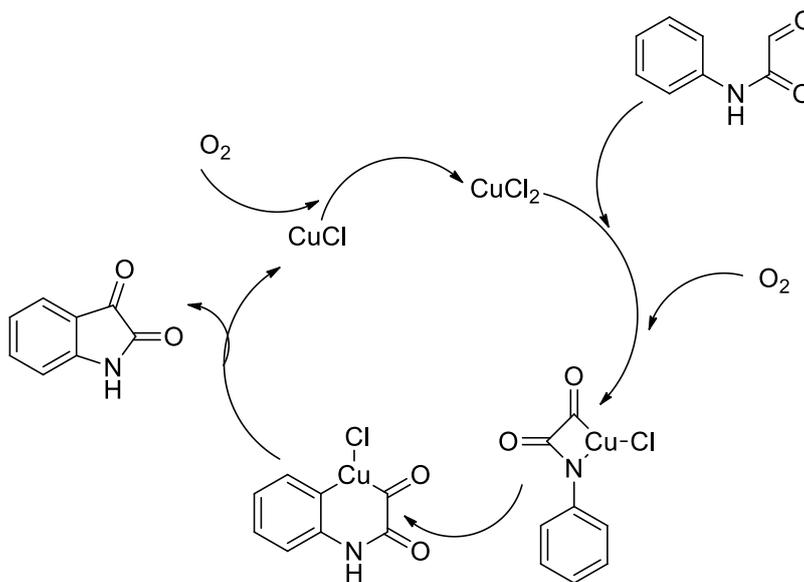


Схема 24. Каталитический цикл протекания реакции

Метод **2**, основан на каскаде каталитических реакций, которые начинаются с активации ацетатом меди (II) о-аминацетофенона, далее следует медь-катализируемая C-H функционализация и завершается процесс получения изатина, за счет образования в присутствии катализатора связи C-N. Предполагаемый механизм данного процесса приведен на схеме 25 [137].

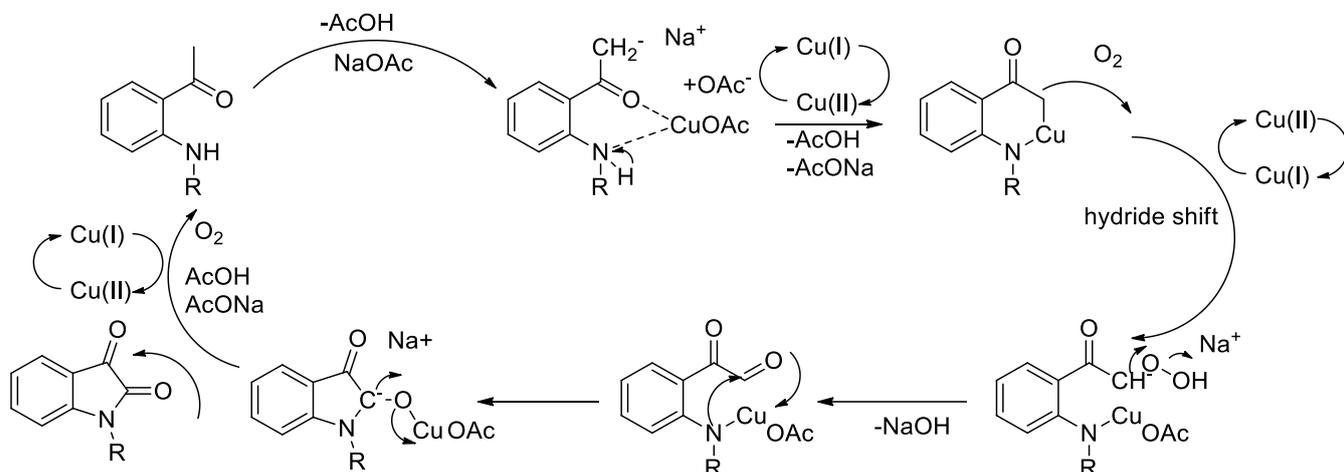


Схема 25. Механизм протекания каталитической реакции

Способ **3** – палладий катализируемое двойное карбонилирование C-H связи для синтеза изатинов из доступных анилинов. Данную реакцию проводят при атмосферном давлении, важно также отметить, что для реакции характерна высокая региоселективность. Предполагаемый механизм данной реакции представлен на схеме 26 [138].

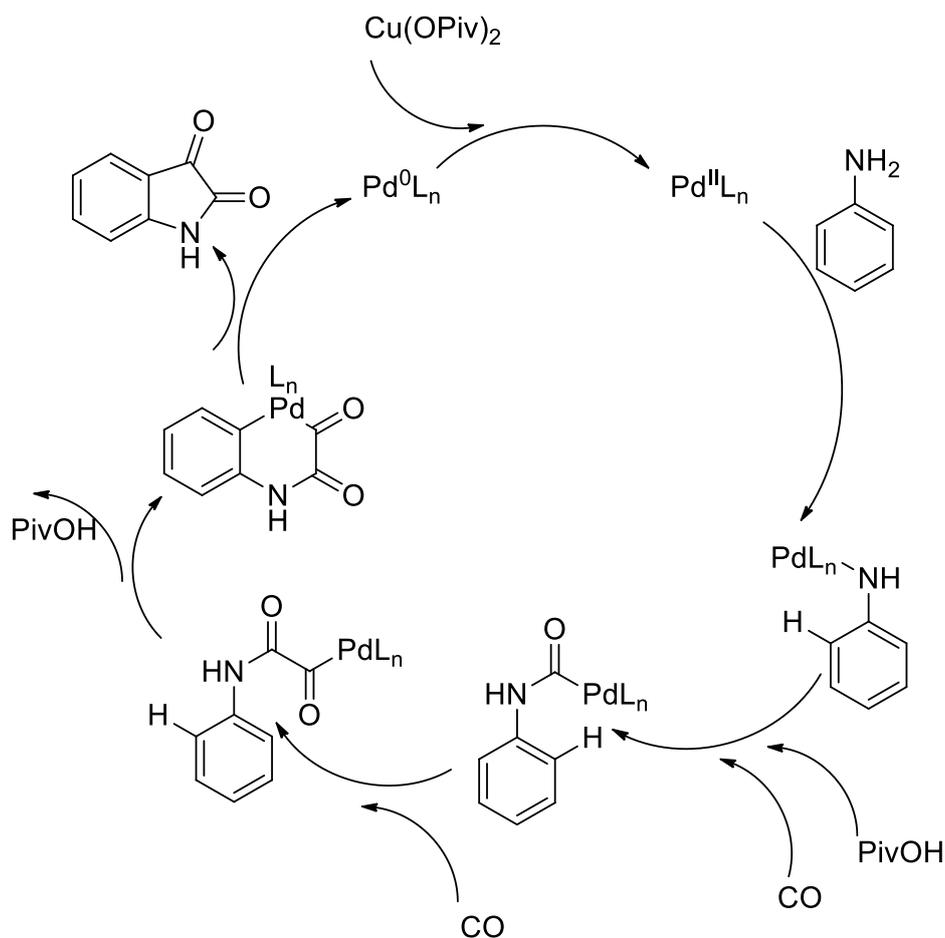


Схема 26. Каталитический цикл реакции

К преимуществам данной реакции можно отнести возможность использования самых разнообразных по своей природе анилинов и высокие выходы реакции (до 75%), к существенным недостаткам относятся - использование палладиевых катализаторов и необходимость использования монооксида углерода.

Метод 4 представляет собой каскадный палладий-катализируемый процесс [139]: на первом этапе происходит окислительное присоединение о-иоданилина к палладию, приводящее к образованию металлорганического соединения **G**, далее происходит последовательное включение в **G** двух молекул изонитрила, что приводит к образованию интермедиата **I**, далее за счет протекания палладий-катализируемого аминирования образуется интермедиат **J**, который на этой стадии выводится из каталитического цикла за счет гидролиза. Ключевой особенностью данного метода является возможность использования широкого ряда гетероциклических соединений для синтеза аналогов изатина и отсутствие необходимости использования фосфиновых лигандов. Недостатком, безусловно, является использование в ходе синтеза изонитрила и его производных.

Механизм данного процесса, представлен на схеме 27

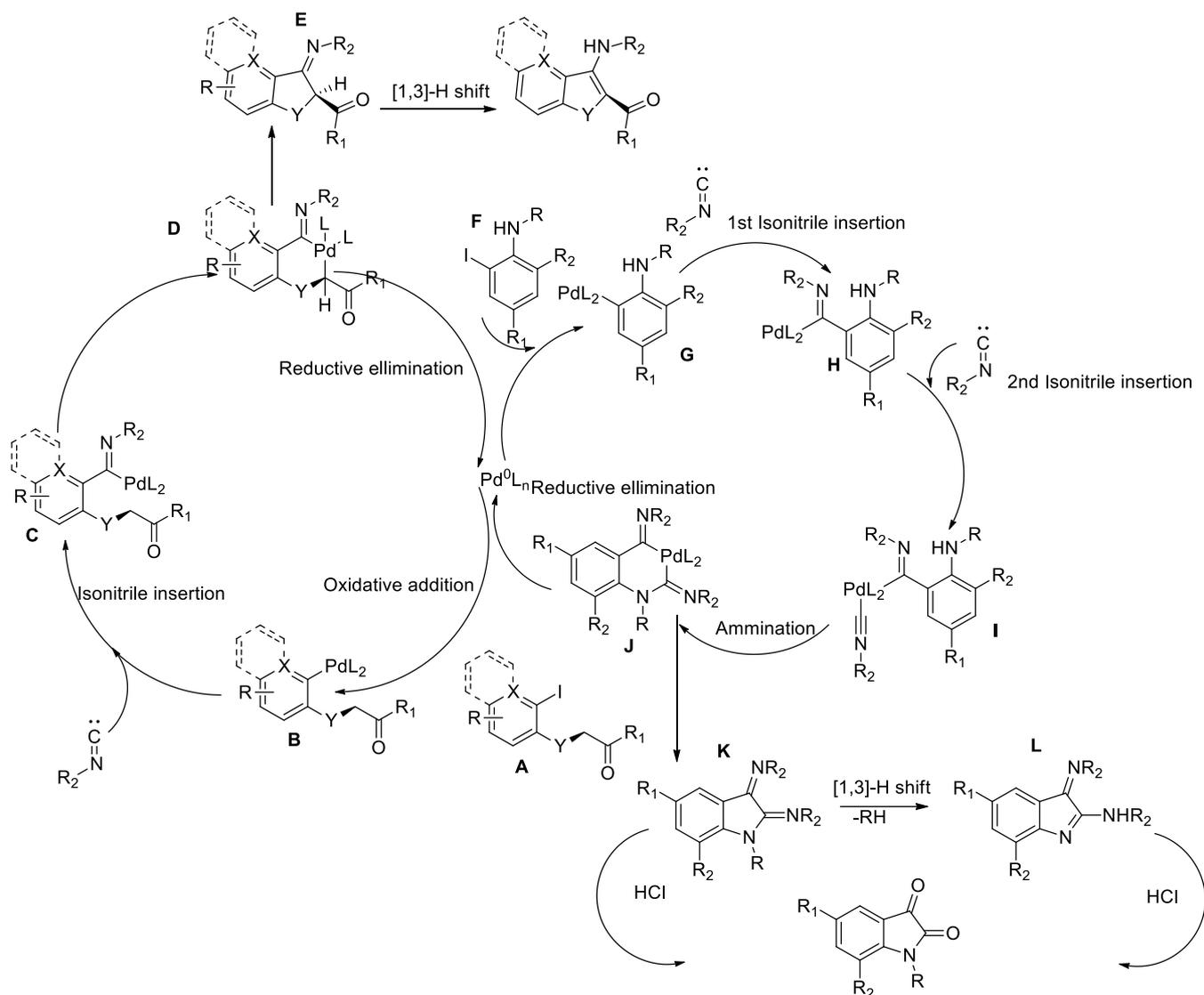


Схема 27. Каталитический цикл реакции

Еще одним интересным способом синтеза изатинов является подход (схема 28), основанный на генерации арина из 2-(триметилсилил)фенил трифторметансульфоната *in situ* с использованием фторида цезия и гидрокарбоната натрия с последующим его взаимодействием с 2-метокси-2-ариламиноацетатом [140].

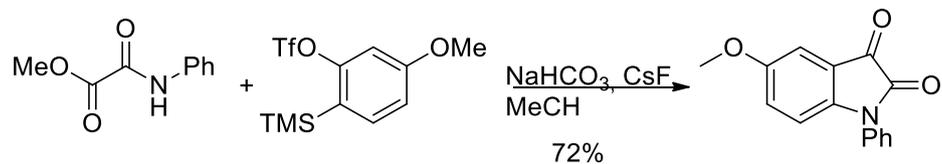


Схема 28. Ариновый синтез изатинов

Механизм данной реакции в общем виде, приведён на схеме 29.

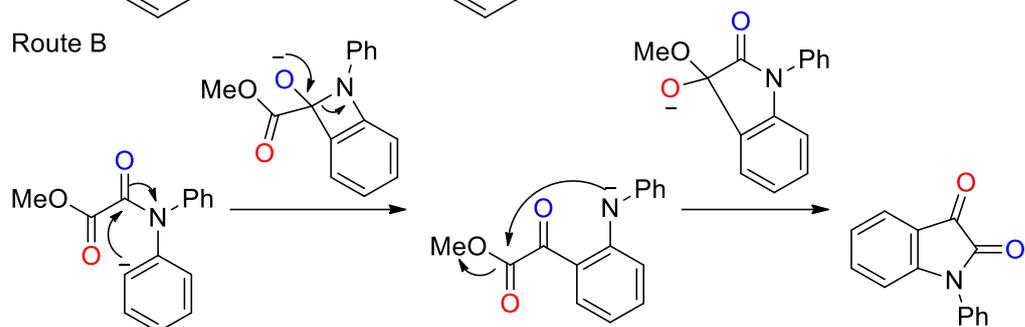
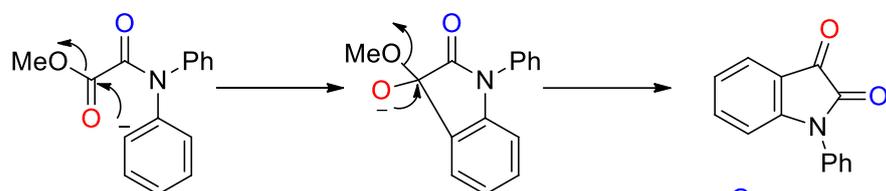
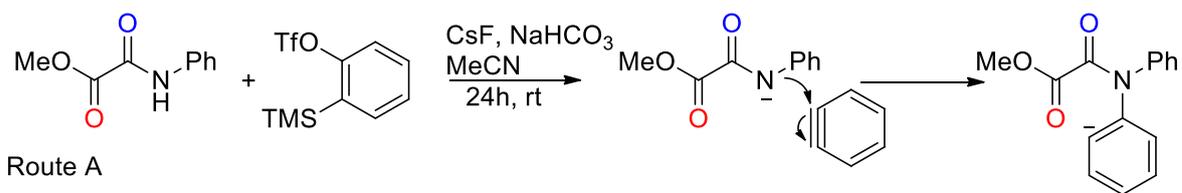


Схема 29. Механизм реакции аринового синтеза изатинов

1.4.2. Синтезы спиро-производных изатина методом [3+2] циклоприсоединения

Спиро-оксоиндольный мотив, является одной из наиболее важных структурных особенностей для ряда биологически активных соединений, например спиротрипростатины **46** и **47**, выделенные из *Aspergillus fumigatus* [141] и гемитерпеновые спиро-оксоиндольные алкалоиды элакомин **48** [142] и изоэлакомин **49**, проявляющие высокую противораковую активность [143]. Соответственно, в настоящее время значительный интерес вызывает разработка эффективных синтетических подходов к синтезам соединений данного класса. [144] В частности, соединения **50** и **51** являются синтетическими аналогами спиротриптостатинов и показывают существенно более высокую активность по сравнению со спиротриптостатинами **46** и **47**.

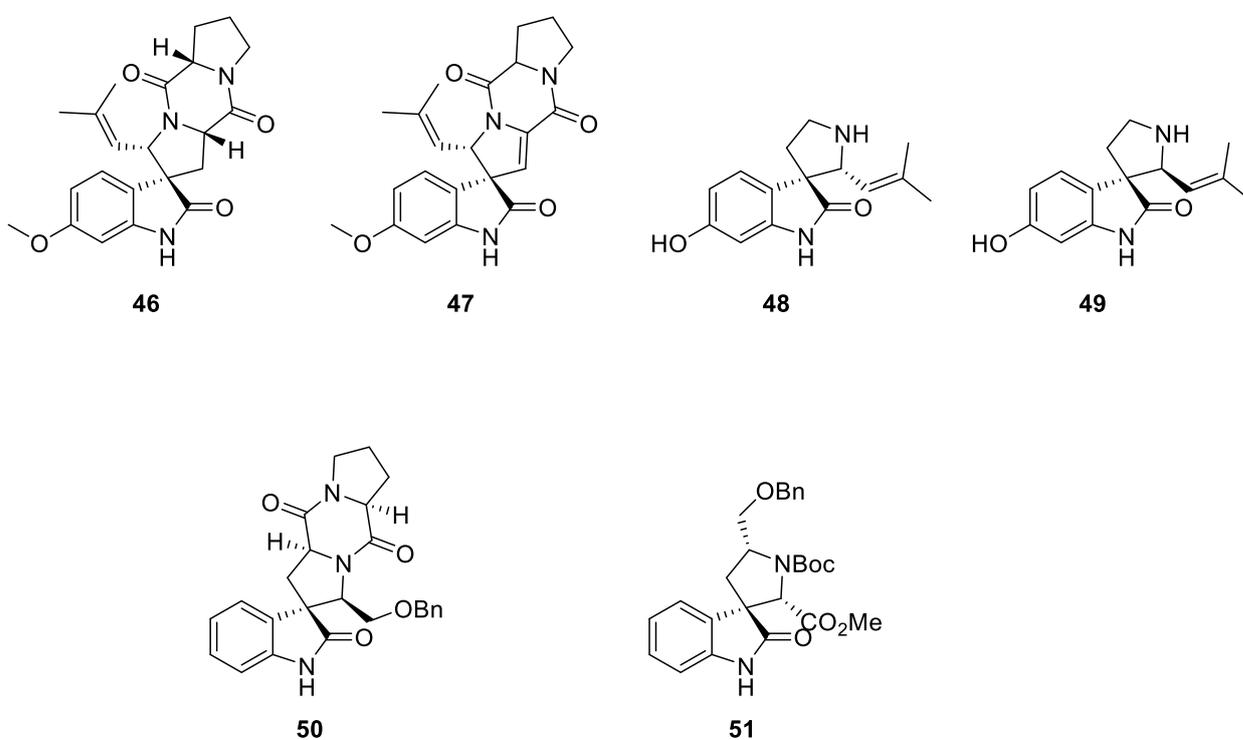


Рисунок 17. Некоторые активные спиро-оксоиндолы

Синтез данного рода структур, может быть осуществлен по схеме, представленной ниже [143].

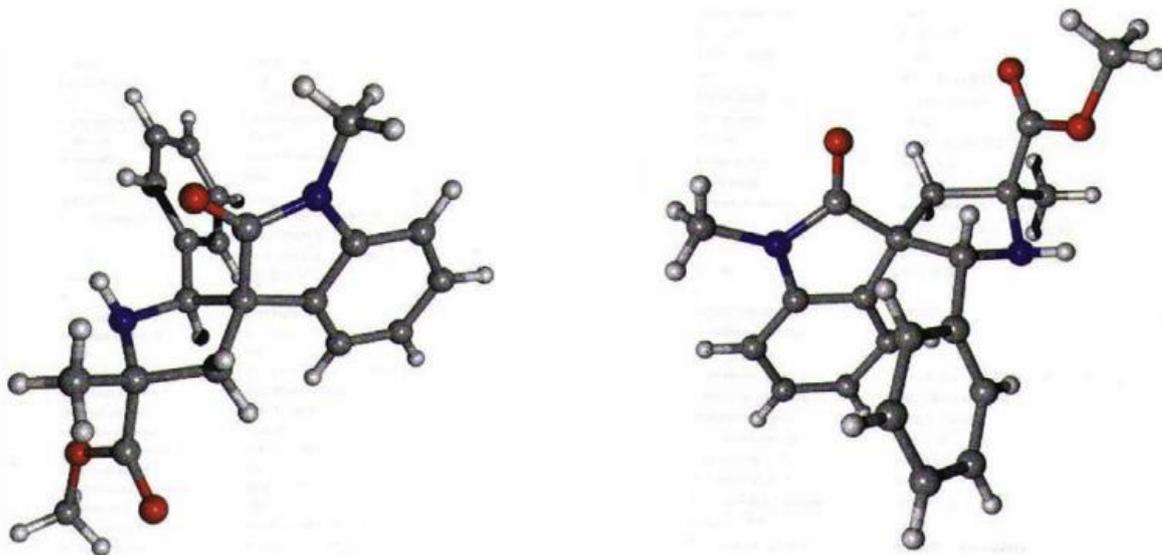


Рисунок 18. Рентгенографические данные синтеза по Петтерсону [145]

Причина, по которой происходит образование двух диастереомерных пар заключается в том, что комплекс имида с серебром может образовываться в син- и анти-дипольном состоянии (рисунок 18), которые в дальнейшем и дают два получаемых продукта [145].

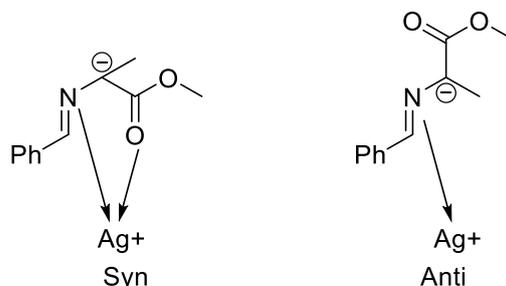


Рисунок 19. Син- и анти- конформация комплекса имида с ионом серебра

Однако, олефинирование по Петтерсону (схема 32) имеет ряд ограничений, в основном связанных с наличием групп, лабильных к использованию реактива Гриньяра. Таким образом, для синтеза модифицированных производных спиро-оксоиндола, необходимо использовать протокол синтеза с использованием реакции Хека.

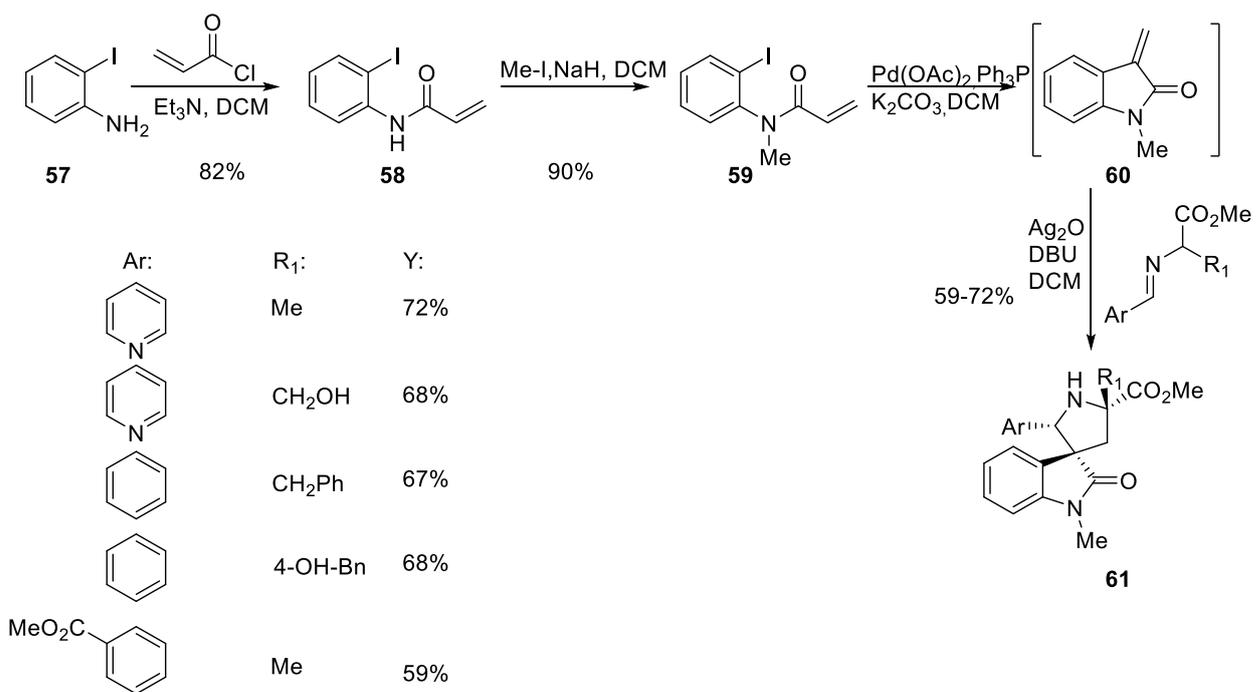


Схема 32. Синтез спиро-оксоиндолов с использованием реакции Хека

Рентгеноструктурный анализ одного из синтезированных соединений представлен на рисунке 20

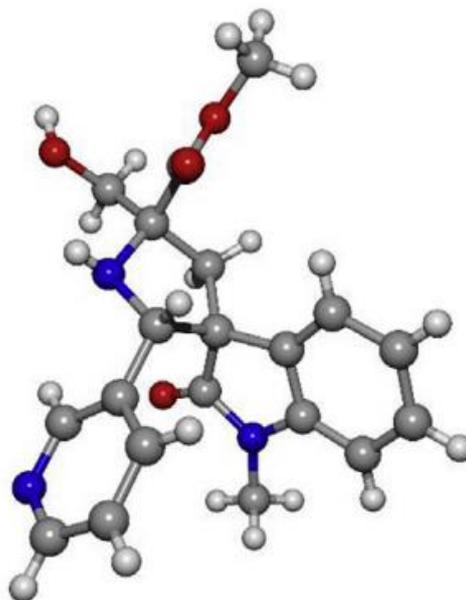


Рисунок 20. Рентгенографические данные синтеза по Хеку [145]

На основании литературного обзора можно сделать вывод, что современный органический синтез, располагает большим числом самых разнообразных подходов к синтезу производных изатина. Выбор оптимального подхода к синтезу искомого изатина напрямую зависит от сложности целевой структуры, природы заместителей в бензольном кольце, доступности исходных реагентов, выходов целевых продуктов на ключевых стадиях превращений. Варьируя, заместители в изатиновом фрагменте, можно получать высокоэффективные ингибиторы ММП с заданными свойствами или новые гетероциклические молекулы, обладающие противоопухолевой активностью.

Глава 2. Обсуждение результатов¹

2.1 Фенотипический скрининг библиотеки малых молекул, содержащих в своей структуре фрагменты азотистых гетероциклов, способных образовывать связи с ионами цинка

На протяжении последних десятилетий ученые разных стран занимались разработкой, поиском и синтезом высокоэффективных, селективных ингибиторов ММП [146]. Несмотря на то, что исследователями была проведена колоссальная работа в этом направлении, задача до сих пор является нерешенной. Так, весьма незначительное число малых органических молекул дошло до клинических испытаний, и только несколько молекул прошли 1-ю фазу клинических испытаний, в итоге, только одно соединение было одобрено FDA как ингибитор матриксной металлопротеиназы (ИММП) (см. раздел введение). Однако, отрицательный результат данных исследований, не делает эту тематику менее актуальной и менее востребованной, по причине того, что разработка новых селективных ингибиторов матриксных металлопротеиназ, делает возможным открытие новых лекарственных препаратов для лечения различных заболеваний, в частности онкологических, поскольку одной из основных причин гиперфункции ММП является опухоль-индуцированный ангиогенез.

Таким образом, учитывая имеющиеся литературные данные и наработки нашей лаборатории, на первом этапе работы было предложено провести подробное изучение

¹ При работе над данным разделом диссертации использованы материалы следующих публикаций автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

- 1) Mariangela Agamennone, Dmitry S. Belov, Antonio Laghezza, Vladimir N. Ivanov, Anton M. Novoselov, Ivan A. Andreev, Nina K. Ratmanova, Andrea Altieri, Paolo Tortorella, Alexander V. Kurkin. Fragment-Based Discovery of 5-Arylisatin-Based Inhibitors of Matrix Metalloproteinases 2 and 13. // ChemMedChem. – 2016. – V.11. – P. 1892 - 1898.
- 2) Vladimir N. Ivanov, Mariangela Agamennone, Ildar R. Iusupov, Antonio Laghezza, Anton M. Novoselov, Ekaterina V. Manasovaa, Andrea Altieria, Paolo Tortorella, Alexander A. Shtila, Alexander V. Kurkin. Het(aryl)isatin to het(aryl)aminoindoline scaffold hopping: A route to selective inhibitors of matrix metalloproteinases. // Arabian Journal of Chemistry. – 2022. – V. 15. – P. 103492.
- 3) Gorodnova Anastasia, Ivanov Vladimir N., Kurkin Alexander V., Dmitrienko Artem. Crystal structure of 5-(3-methoxyphenyl)indoline-2,3-dione // Powder Diffraction. – 2023. – V. 38, № 3. – P. 201 - 206..

ингибирования ММП азотсодержащими гетероциклическими молекулами - производными индола, пиридина, изатина, изоксазола, пиперидина, бензотиазола, пиррола и др. Исследование включало создание фармакофорной модели активного сайта фермента, дизайн и синтез потенциальных ингибиторов, тестирование биологической активности, компьютерное моделирование и анализ полученных результатов, изучение взаимосвязи между структурой описанных веществ и проявляемой биологической активностью. Безусловно, все поставленные задачи не могли бы быть решены без привлечения специалистов в области медицинской химии, биохимии, компьютерного моделирования – этот фрагмент диссертационной работы проводился совместно с учеными Университета «Габриэле д’Аннунцио» (г. Къети, Италия) и Университета «Альдо Моро» (г. Бари, Италия).

По причине того, что на биологические исследования большого массива малых органических молекул требуются существенные временные и материальные затраты, для поиска новых селективных ИММП, среди большой библиотеки различных гетероциклических соединений, синтезированных в нашей научной группе, был использован стандартный подход, заключающийся в первичном виртуальном скрининге всех синтезированных молекул и дальнейшем биологическом тестировании выбранных в результате скрининга соединений на возможность связываться и ингибировать матриксные металлопротеиназы. Первоначальным этапом нашего исследования стала задача, основанная на правильном формировании библиотеки исходных соединений. Для первичного скрининга было выбрано около 3 500 гетероциклических соединений. После этого, на основании описанных в современной научной литературе алгоритмов были отсеяны структуры (с предварительной низкой биологической активностью или являющиеся сложно синтезируемыми или сложно модифицируемыми) с использованием фильтра REOS[147] в приложении Canvass [148], что практически в два раза уменьшило размеры библиотеки (до 1 900 молекул). Важно отметить, что выбранные для скрининга молекулы являлись “структурными фрагментами”, а их молекулярные веса находились в диапазоне от 150 Да до 400 Да, что открывало в будущем возможность их целенаправленной химической модификации и получения на их основе сфокусированных библиотек малых молекул. Использование фрагментного скрининга обусловлено меньшей затратой ресурсов в силу его возможного виртуального проведения, в отличие от высокопроизводительного скрининга (high throughput screening), который является исключительно экспериментальной методологией.

Биологические испытания синтезированных соединений, были проведены коллегами из Италии по методикам, описанным в их статьях. [149, 150, 151, 152].

Для получения структурной информации о взаимодействии белков ММП и низкомолекулярных гетероциклических соединений, был проведён молекулярный докинг в структуру протеиназы при помощи программы Glide [148]. Первоначально была создана фармакофорная модель потенциальных ингибиторов ММП-2 и ММП-13 на основе анализа базы данных Protein Data Bank (PDB) (рисунок 1, [153]). Для расчетов были использованы РСА-модели ММП-2, сокристаллизованной с ингибитором SC-74020 и РСА-модели ММП-13, сокристаллизованной с соединением **1** - производным пиримидин-4,6-дикарбоновой кислоты.

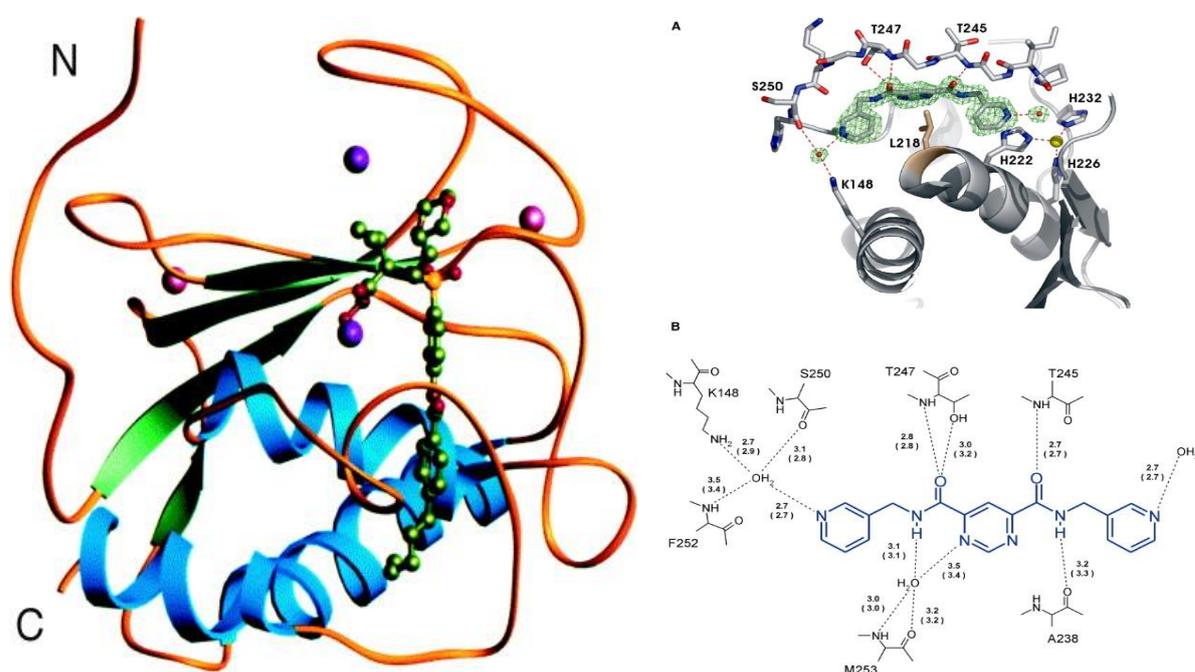


Рисунок 1. Примеры ингибиторов ММП-2 и ММП-13. Фармакофорная модель взаимодействия ингибитора SC-74020 с каталитическим центром ММП-2 и взаимодействие ингибитора **1**, не содержащего цинк-связывающую группу, с ММП-13.

Результаты моделирования были тщательно проанализированы, нами была проведена визуальная оценка, в частности, на предмет наличия π - π стекинга между низкомолекулярным лигандом и His201 (нумерация ММП-2), которая является консервативной аминокислотой в семействе металлопротеиназ. Дополнительно, мы проводили оценку возможности синтеза большого набора аналогов для дальнейшего анализа взаимосвязи структура-активность.

На предварительном этапе работы мы отобрали 12 азотсодержащих гетероциклических соединений (схема 1), имеющих молекулярные массы более 200 Да и представляющих собой рацематы. Данные соединения были подвергнуты тестированию на

активность по отношению ко всем металлопротеиназам, биологическая значимость которых известна, однако ввиду того что ММП-2,-8 и -13, являются наиболее эффективными мишенями при терапии онкологических заболеваний, большее внимание уделено именно этим видам ММП. Необходимо отметить, что для соединений **1**, **2** и **9** и **12**, представляющих собой рацематы, моделирование проводилось для каждого из энантиомеров отдельно [153]. Для веществ, показавших ингибирование более 50% металлопротеиназ, проводили измерение IC₅₀.

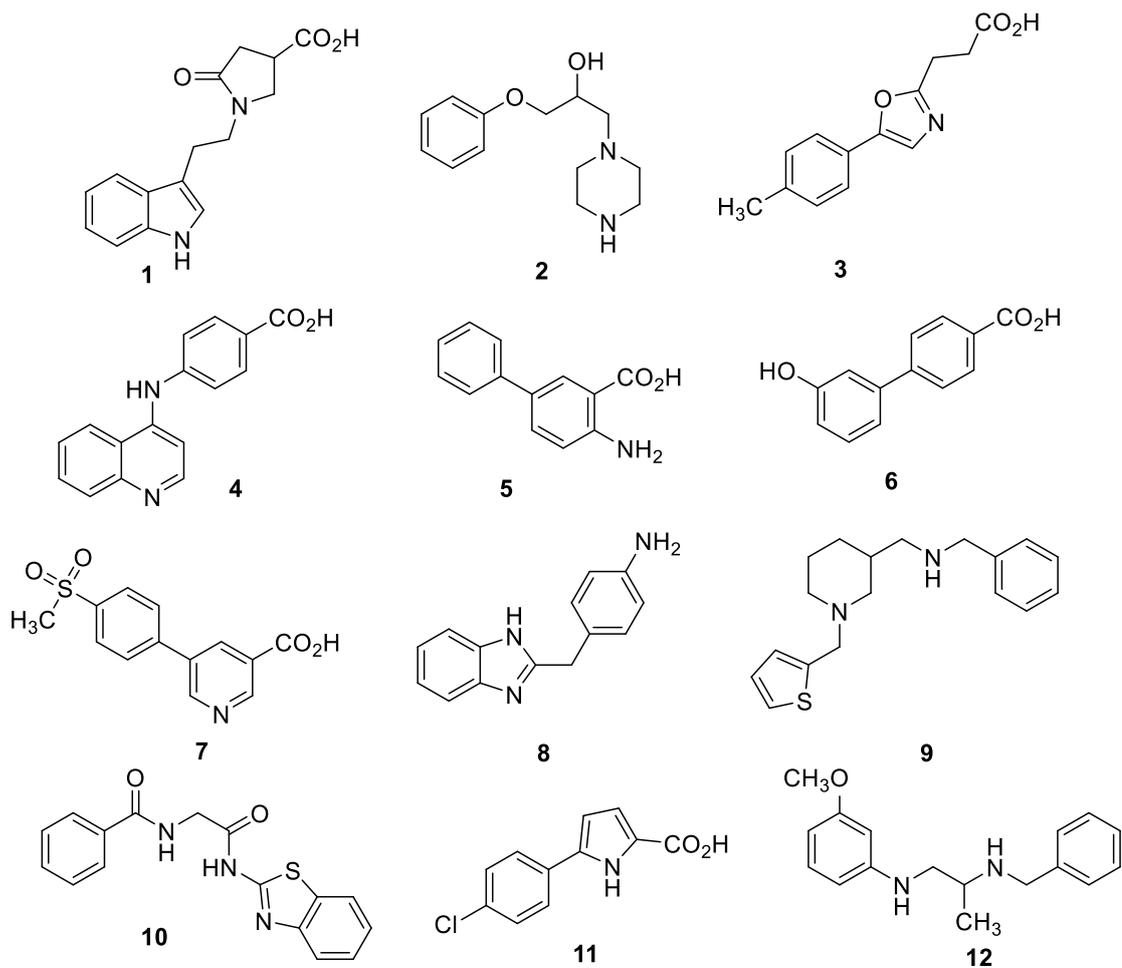


Схема 1. Финальный список соединений, выбранных для биологического тестирования

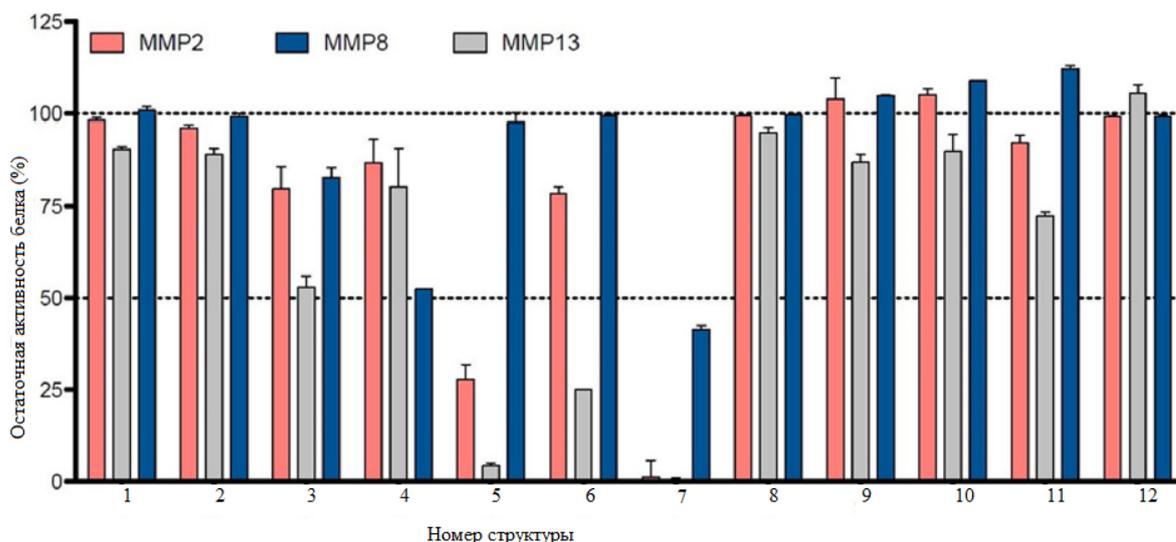


Схема 2. Ингибирование соединениями 1-12 ММП-2,-8 и -13

В ходе анализа полученных результатов, представленных на схеме 2, было установлено, что в присутствии двух соединений - производного антраниловой кислоты (**5**) и производного никотиновой кислоты (**7**) – наблюдается низкий (менее 50%) уровень остаточной активности ММП-2 и ММП-13.

На основании полученных результатов, а также в виду наличия в нашей научной группе соединений, близких по своей структуре к производным антраниловой кислоты **5** и никотиновой кислоты **7**, для дальнейших исследований нами были выбраны 15 соединений, структуры которых представлены на схеме 3 (красные – аналоги никотиновой кислоты **7**, синие – производные антраниловой кислоты **5**). Производные антраниловой кислоты можно рассматривать в качестве производных изатина, поскольку антраниловые кислоты легко могут быть получены из соответствующих изатинов.

Для выбранных веществ была изучена биологическая активность по отношению к ММП-2,-8 и -13.

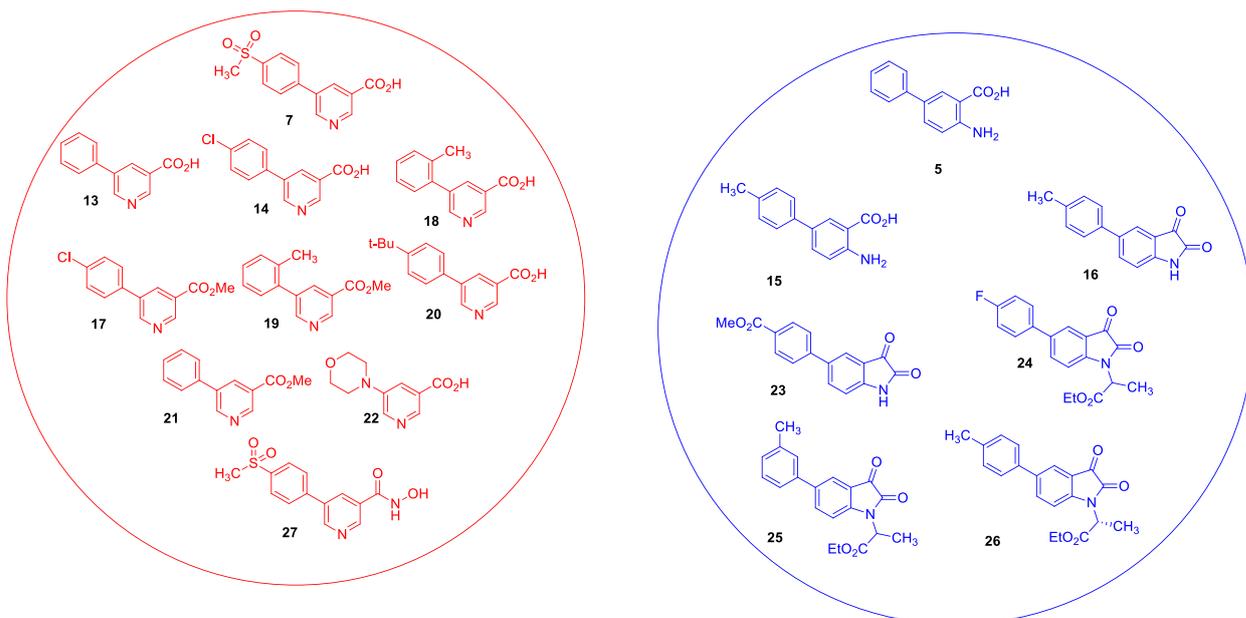


Схема 3. Структуры соединений, являющихся структурно близкими аналогами соединений 5 и 7, для которых были проведены биологические исследования.

Для представленных выше соединений (13-27), также были измерены величины остаточной активности по отношению к протеиназам ММП-2,-8 и -13, как к наиболее эффективным при терапии онкологических процессов, а также для других протеиназ семейства ММП, для определения селективности ингибирования.

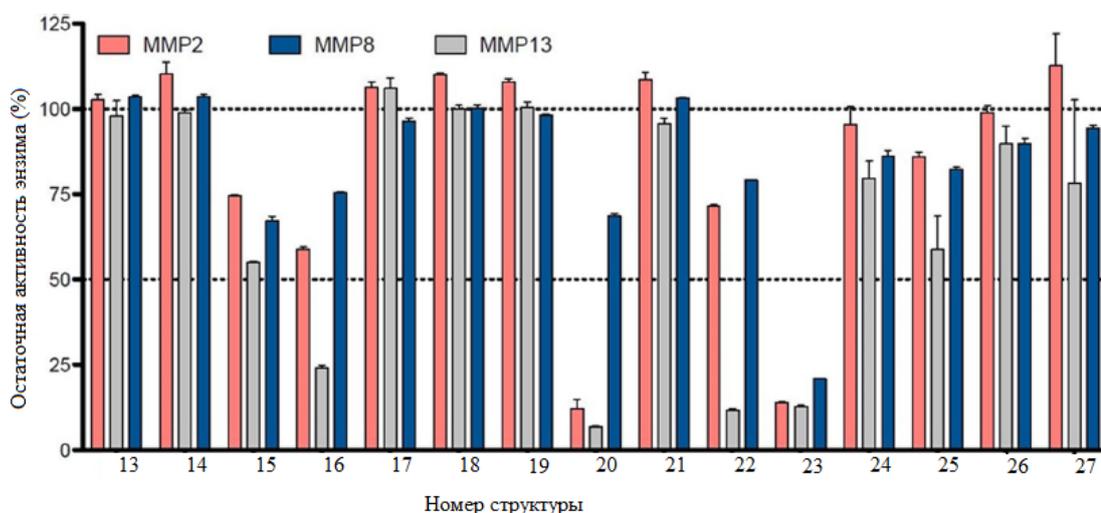


Схема 4. Ингибирование соединениями 13-27 ММП-2,-8 и -13

Для веществ, в присутствии которых, наблюдался низкий уровень остаточной активности ферментов (менее 50%) проводилось измерение IC_{50} для вышеуказанных

ферментов семейства ММП, а также для других видов металлопротеиназ, чтобы подтвердить селективность синтезированных соединений. (табл. 1).

Таблица 1. Результаты ферментативного анализа, синтезированных соединений.

Соединение	IC ₅₀ (ММП-1) мкМ	IC ₅₀ (ММП-2) мкМ	IC ₅₀ (ММП-7) мкМ	IC ₅₀ (ММП-8) мкМ	IC ₅₀ (ММП-9) мкМ	IC ₅₀ (ММП-13) мкМ	IC ₅₀ (ММП-14) мкМ
5	>100	54±9.0	>100	>100	58±3	19.8±2.5	>100
7	>100	2.8±0.9	>100	84±11	9±0.4	1.14±0.5	41±6
15	>100	>100	>100	>100	>100	79±7	>100
16	>100	>100	>100	>100	>100	16±1.0	>100
20	>100	20±3	>100	>100	86±2	10.3±0.4	>100
22	>100	>100	>100	>100	>100	23.1±1.5	>100
23	>100	6.1±0.7	4.7±0.1	56±9.0	13.2±0.9	6.2±0.6	52±6

Следует отметить, что производные антраниловой кислоты (**15**) обладают меньшей активностью по сравнению с производными изатина (**16** и **23**), но большей, в сравнении с производными никотиновой кислоты (**7** и **20**).

На основании полученных данных, было принято решение о дальнейшей оптимизации соединений **16** и **23**, являющихся представителями одного класса химических соединений. Соединения **7** и **20**, обладающее активностью по отношению к ММП-2 и ММП-13, мы исключили из рассмотрения, поскольку по данными молекулярного докинга карбоксильная группа молекулы **7**, координируется по иону цинка в активном центре ММП (рисунок 2). Как было подробно описано в литературном обзоре, ингибиторы ММП, содержащие цинк-хелатирующие группы менее интересны для дальнейшей разработки, по причине отсутствия селективности их воздействия на ММП.

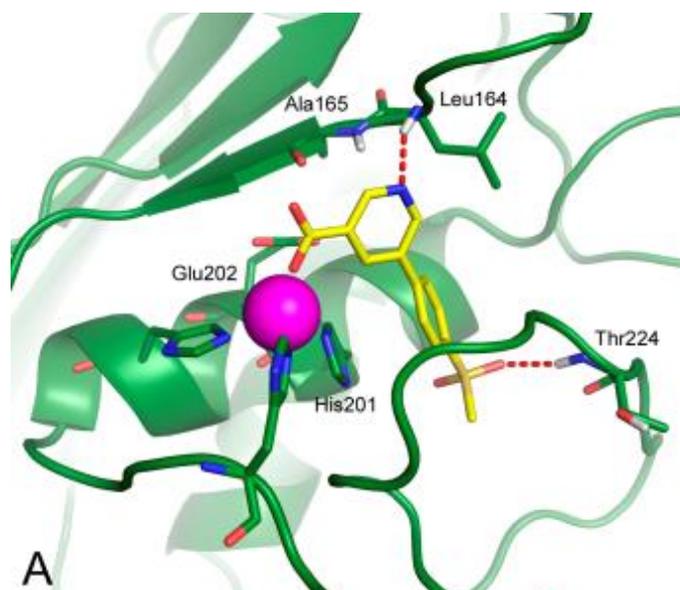


Рисунок 2. Способ взаимодействия вещества 7 и ММП-2.

Таким образом, на основании полученных результатов биологических исследований и методов компьютерного моделирования, за исходный фрагмент для последующей модификации было решено использовать различные 5-арил замещённые производные молекулы изатина, для лучшего понимания и изучения взаимосвязи между структурой лиганда и биологической активностью по отношению к металлопротеиназам.

2.2 Синтез 5-арилизатинов и их производных, и их биологические испытания

Для дальнейшего изучения взаимосвязи структура–активность для соединений изатинового ряда, была предпринята попытка варьирования различных заместителей в исходном изатиновом каркасе. Все модификации, представленные ниже, были выбраны в соответствии с современными литературными данными о противоопухолевой активности подобных производных изатина.

Для синтеза необходимой для длиннейшего исследования сфокусированной библиотеки структур, на основе 5-арилзамещенных производных изатина, было рассмотрено несколько синтетических подходов:

1) Палладий-катализируемая реакция кросс-сочетания 5-бромизатина с различными борными кислотами по реакции Сузуки [153] (схема 5).

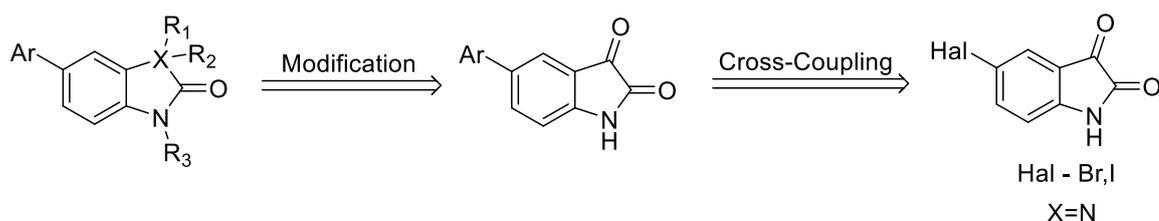


Схема 5. Ретросинтетическая схема синтеза целевых структур.

Ключевой стадией в синтезе необходимых структур, является палладий-катализируемая реакция кросс-сочетания. Существует несколько ключевых особенностей для данной реакции, таких как: природа катализатора, строение молекулы, растворителя, основания, температуры и времени проведения реакции, которые оказывают влияние на ход реакции. Поэтому, варьируя данные параметры, можно добиться высокого выхода для реакции. Прежде всего, нами было принято решение использования классической реакции Сузуки, для получения необходимых молекул.

2) Химические модификации 3-го положения изатинового ядра, позволяющие осуществить синтез, производных 3-амино-5-арил-2-оксиндола, 2-оксоиндола или производных бензимидазола (X=N).

3) Модификации 1-го положения молекулы изатина, такие как: алкилирование, ацилирование.

2.2.1 Синтез арилборных кислот

По причине коммерческой недоступности многих исходных соединений, на первом этапе синтетической части работы был осуществлен синтез библиотеки различных арилборных кислот. Для синтеза арилборных кислот использовали два описанных в литературе подхода [154]. Первый подход был основан на синтезе борных кислот с использованием реактива Гриньяра (схема 6) [155].

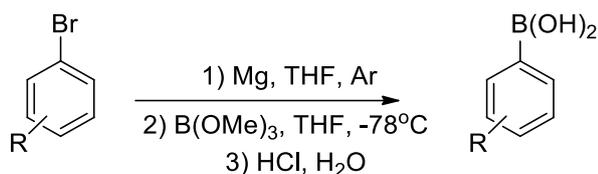


Схема 6 Синтез арилборных кислот (способ I).

Второй подход, основан на использовании литийорганических соединений, которые получают из соответствующих арилбромидов [156].

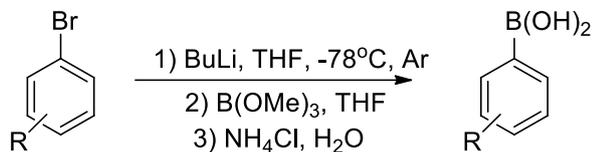
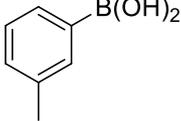
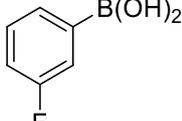
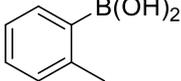
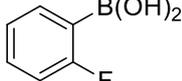
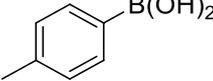
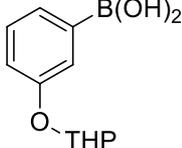
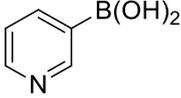
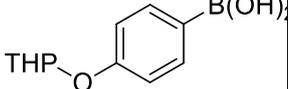
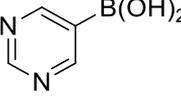
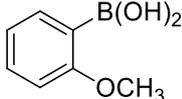
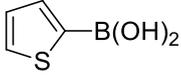
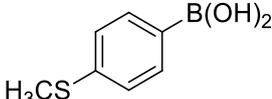
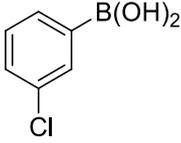
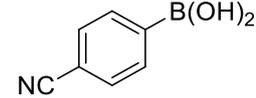
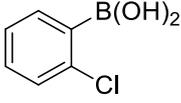
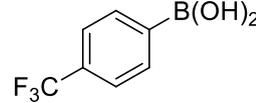
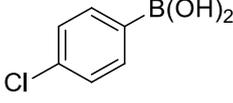
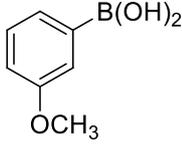
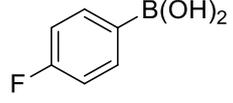
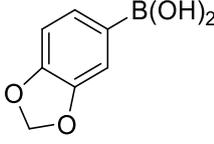


Схема 7 Синтез арилборных кислот (способ II).

Список полученных борных кислот и способы их синтеза представлены в таблице 2.

Таблица 2. Список синтезированных арилборных кислот.

№	Борная кислота	Метод синтеза	Выход реакции (%)	№	Борная кислота	Метод синтеза	Выход реакции (%)
28		I	90	38		I	84
29		I	88	39		II	81
30		I	90	40		I	51
31		II	71	41		I	65
32		II	47	42		I	90
33		I	72	43		I	55
34		I	82	44		II	77
35		II	67	45		I	72
36		I	56	46		I	62
37		I	92	47		I	89

Также следует отметить, что ряд арилборных кислот был получен в результате тривиальных химических превращений в арилборных кислотах, например, фрагмент бензойной кислоты был получен в результате окисления метильной группы в толилборной

кислоте, а амиды были получены за счет проведения реакции амидизации соответствующих карбоксиарилборных кислот (схема 8) [157]-[158].

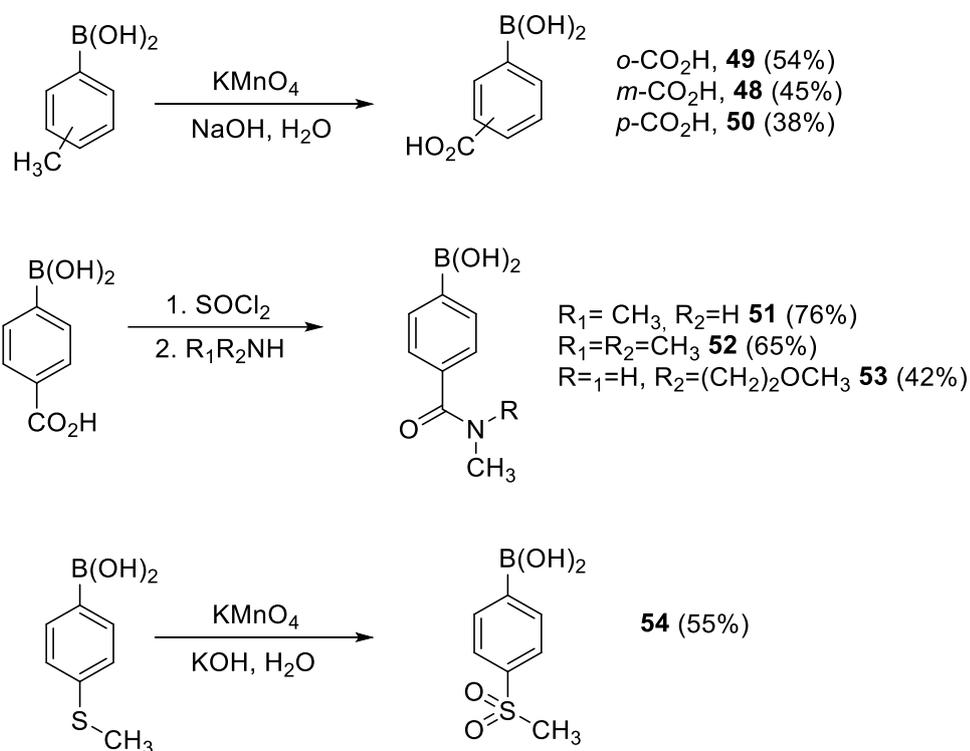


Схема 8. Модификация готовых арилборных кислот

Для синтеза тиофенборной кислоты **55**, был использован модифицированный подход с применением диизопропиламида лития (LDA) и триизопропилбората (схема 9) [159].

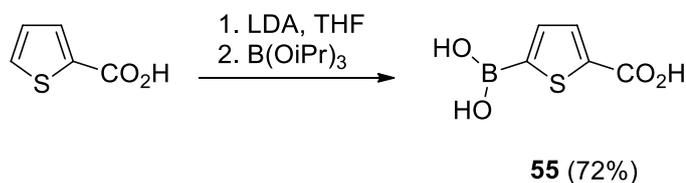


Схема 9. Синтез 5-боротиофен-2-карбоновой кислоты

2.2.2 Синтез 5-арилизатинов с использованием реакции Сузуки.

Ключевой задачей следующего этапа исследования, стал синтез различных 5-арил(гетарил)изатинов. В литературе большое внимание уделяется синтезу примитивных по своей структуре 5-арилизатинов, в которых в качестве заместителя в 5-ом положении молекулы изатина выступают или фенильный радикал, или различные толильные радикалы [160], однако, примеры синтеза более сложных молекул в литературе отсутствуют. Палладий-катализируемая реакция кросс-сочетания 5-бромизатинов по реакции Сузуки [161] хорошо изучена, однако, при синтезе различных 5-гетарилизатинов мы столкнулись с рядом синтетических проблем, которые требовали решения.

При синтезе 5-арилизатинов с использованием реакций кросс-сочетания [162] в присутствии оснований мы наблюдали низкий выход продуктов реакции, однако, этот факт можно объяснить лабильностью изатинов в щелочной среде, о чем также сообщается в литературе [163]. По этой причине особенно важно осуществлять тщательный pH контроль реакционной среды при проведении реакции, не допуская образования соответствующих анионов антраниловых кислот [164, 165]. При проведении реакции кросс-сочетания мы наблюдали характерные изменения цвета реакционной массы, цветовые переходы соответствовали определённой стадии превращения (схема 10).

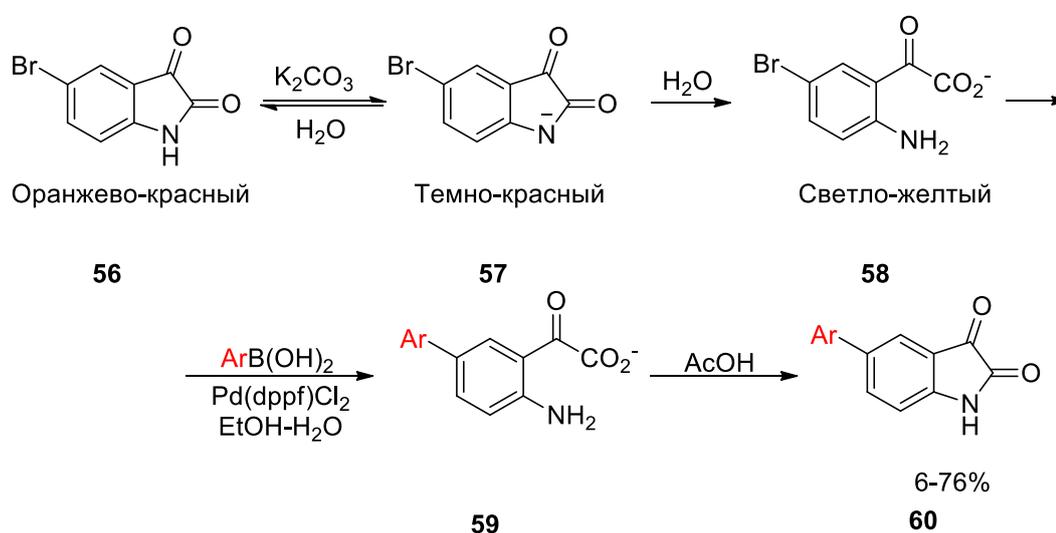


Схема 10. Реакции кросс-сочетания по Сузуки [163].

Раствор 5-бромизатина в этаноле окрашен в красно-оранжевый цвет, после добавления к раствору водного карбоната калия, раствор сначала приобретает более интенсивную темно-красную окраску, за счет образования аниона, а затем медленно, по мере гидролиза изатинового цикла приобретает светло-желтую и далее почти бесцветную

окраску. На этом этапе мы добавляли в реакционную смесь соответствующую борную кислоту и палладиевый катализатор. После прохождения реакции к реакционной массе добавляли кислоту до pH=5. Было показано, что использование сильных кислот (например, соляной) приводит к хроматографически неразделимым смесям целевых изатинов и побочных продуктов (предположительно продукта декарбоксилирования аниона **59**). Оптимальным для успешного завершения процесса синтеза 5-арилизатинового фрагмента является использование большого избытка уксусной кислоты. Для увеличения выходов целевых продуктов также требовалось многочасовое кипячение реакционной массы.

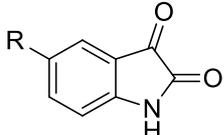
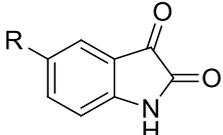
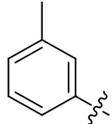
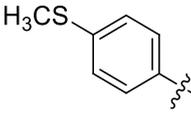
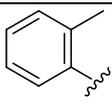
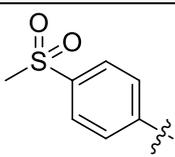
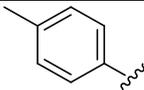
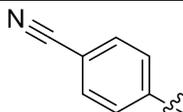
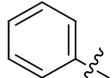
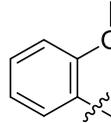
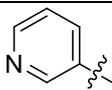
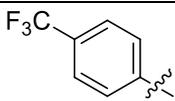
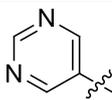
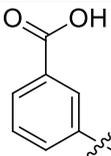
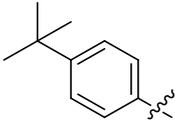
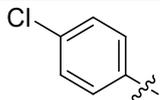
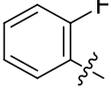
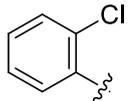
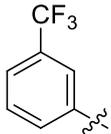
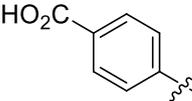
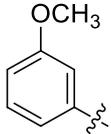
С целью увеличения выхода продукта реакции кросс-сочетания, нами были исследованы условия проведения реакции, были определены оптимальные составы смесей растворителей (таблица 3). В качестве модельной реакции, была взята реакция кросс-сочетания с м-толилборной кислотой с 5-бромизатином, которую проводили в системе этанол-вода при кипячении. Реакции проводили одинаковое количество времени при температуре 100 °С. Нами также была предпринята попытка использовать в качестве соразтворителя ДМФА, поскольку это позволило бы существенно расширить область применения реакции и использовать в реакции кросс-сочетания малорастворимые в водном этаноле субстраты. Попытка использовать толуол в качестве растворителя позволила бы нам использовать в синтезе борные кислоты, склонные к протодеборированию (например, пиридинборные кислоты). К сожалению, оба этих варианта показали худший, по сравнению с этиловым спиртом результаты, а выходы целевых изатинов существенно снизились.

Таблица 3. Варьирование условий проведения реакции.

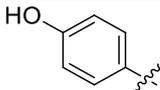
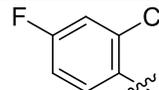
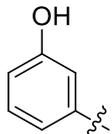
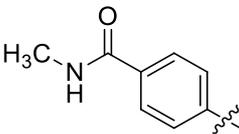
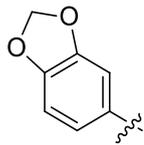
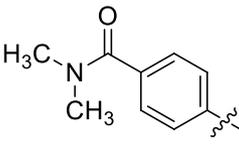
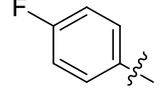
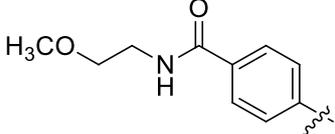
	Растворитель	Время (ч)	Выход (%)
1	Толуол-Вода (1:1)	12	18
2	ДМФ-Вода (1:1)	12	31
3	Этанол-Вода (10:1)	12	27
4	Этанол-Вода (1:1)	12	52

Список синтезированных производных изатина с использованием реакции кросс-сочетания по Сузуки, представлен в таблице 4.

Таблица 4. Список синтезированных производных 5-арлизатина с использованием реакции кросс-сочетания по Сузуки.

Соединение	Заместитель	Выход (%)	Соединение	Заместитель	Выход (%)
					
61		52	75		35
62		23	76		46
63		48	77		21
64		26	78		37
65		36	79		54
66		56	80		75
67		26	81		15
68		39	82		47
69		43	83		67
70		75	84		12

Продолжение Таблицы 4

71		14	85		0
72		6	86		56
73		37	87		39
74		76	88		5

Структура 5-(3-метоксифенил)изатина (**78**) была подтверждена данными порошковой рентгеновской дифракции и оптимизирована с использованием методов функционала плотности (рисунок 3) [166].

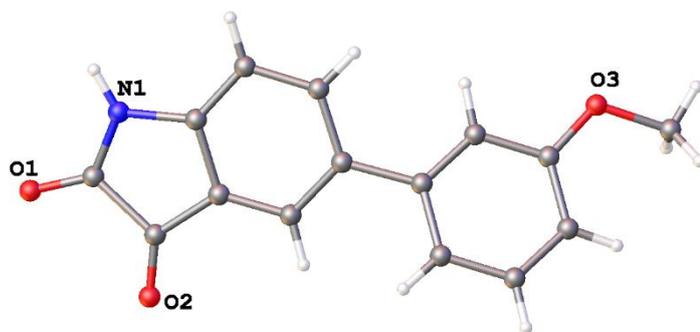


Рисунок 3. Общий вид молекулы **78** (CCDC 2223458) [166].

Для всех синтезированных соединений (**61-88**) были определены величины IC_{50} по отношению к ферментам ММП -2, -8, -9, -13, данные ферментативного анализа, синтезированных соединений, представлены в таблице 5.

Таблица 5. Результаты ферментативного анализа соединений 61-88

Структура	IC ₅₀ (ММП-2) мкМ	IC ₅₀ (ММП-8) мкМ	IC ₅₀ (ММП-9) мкМ	IC ₅₀ (ММП-13) мкМ
61	>100	>100	>100	>100
62	>100	>100	>100	>100
63	>100	>100	>100	16 ± 1.0
64	>100	>100	>100	62 ± 0.6
65	>100	>100	>100	32.5 ± 0.8
66	>100	>100	>100	29.7 ± 0.24
67	13.6 ± 0.6	>100	31.1 ± 0.7	2.7 ± 0.3
68	59.5 ± 2.4	>100	>100	15.3 ± 2.6
69	28 ± 2.2	>100	63 ± 1.5	4.3 ± 0.5
70	>100	>100	>100	27.4 ± 1.1
71	>100	>100	>100	>100
72	>100	>100	>100	>100
74	10.2 ± 2.4	>100	>100	0.78 ± 0.19
75	14 ± 3	>100	>100	3.8 ± 2.1
76	>100	>100	>100	>100
77	29.1 ± 1.1	>100	>100	20.0 ± 2.0
78	>100	>100	>100	>100
79	>100	>100	>100	20.4 ± 0.4
80	>100	>100	>100	>100
81	>100	>100	>100	87 ± 9.0
82	>100	>100	>100	>100
83	>100	>100	>100	18.6±1.5
84	>100	>100	>100	>100
85	>100	>100	>100	>100
86	14.6 ± 0.8	>100	41.2 ± 2.9	2.2 ± 0.3
87	>100	>100	>100	>100
88	33 ± 3.0	>100	>100	48 ± 7.0

Как видно из таблицы 5, величины IC₅₀, для синтезированных соединений существенно отличаются друг от друга. Полученные данные биологического скрининга

библиотеки, состоящей из 27 уникальных структур, позволили нам провести анализ взаимосвязи структуры и биологической активности, выявить определённые закономерности.

Во-первых, донорные заместители, располагающиеся в орто- и мета-положениях бензольного фрагмента в изатине (область А, схема 11), не оказывают существенного влияния на активность (схема 12). Увеличение активности наблюдается только при введении акцепторных групп в бензольное кольцо молекулы.

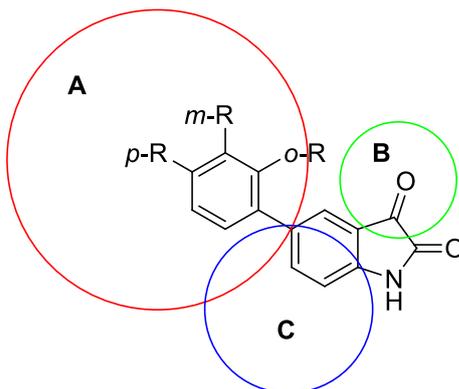


Схема 11. Области химических модификаций 5-арилизатинов.

Так, например, наличие атома хлора в орто-положении ароматического кольца, оказывает существенное влияние на увеличение активности, однако при этом снижается селективность (схема 12).

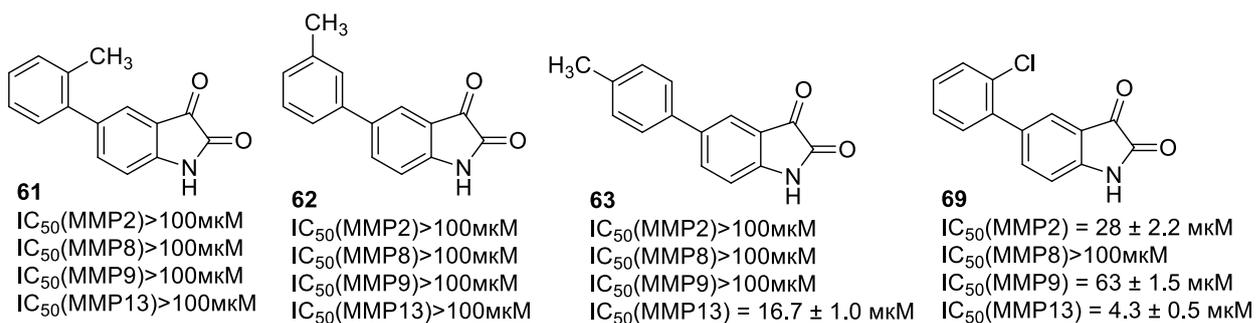


Схема 12. Сравнение активностей изатинов, содержащих донорный заместитель в разных положениях бензольного фрагмента.

Нами была установлена активность изатинов, содержащих акцепторные заместители в пара-положении арильного фрагмента (область А), было также показано, что биологическая активность 5-арилизатинов зависит от пространственного объема заместителей, находящихся в пара-положении ароматического заместителя (схема 13).

Увеличение пространственного объема акцепторного заместителя в пара-положении бензольного фрагмента приводит к критическому уменьшению биологической активности (соединения **76**, **87** и **88**, серия А и В на схеме 13).

5-(4-Фторфенил)изатин (**74**) оказался наиболее активным ингибитором по отношению к ММП-13. Важно также отметить, что соединение **74** демонстрировало более чем 15-кратную селективность для ММП-13 ($IC_{50} = 0.78 \pm 0.19$ мкМ) по сравнению с ММП-2 ($IC_{50} = 10.2 \pm 2.4$ мкМ) (схема 13).

Исследование ингибиторов ММП с цинк-связывающими группами на основе фосфора привело к разработке соединения CAS №582311-81-7 (рисунок 4. Глава Введение) прошедшего I фазу клинических исследований в качестве противоопухолевого средства, а также препарата против артрита [9]. Важной особенностью данной структуры является наличие в молекуле алкильной изопропильной группы, замедляющей метаболизм цинк-связывающего гидроксаматного участка ингибитора. Авторы полагают, что именно пространственно большая гидрофобная группа связывается с подсайтом S1. Более громоздкая бифенильная группа, присутствующая в структуре, вероятно, связывается с карманом S2 [9]. Эти данные побудили нас синтезировать изатин **81**, содержащий в своей структуре объемный трет-бутилфенильный фрагмент. В отличие от изатинов **86** и **88**, содержащих в своей структуре объемные акцепторные группы, изатин **81** с трет-бутильным фрагментом не показал значимой активности ($IC_{50} = 87 \pm 9.0$ мкМ).

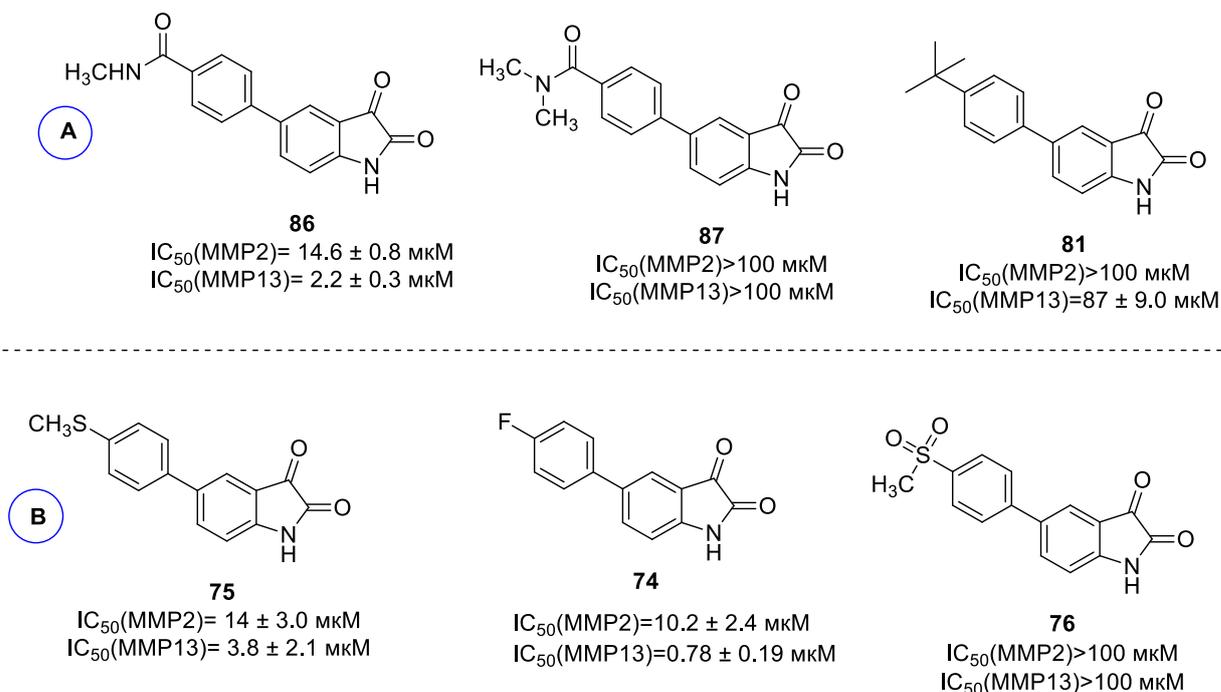


Схема 13 Данные биологической активности по отношению к ММП-2 и ММП-13 соединений **86-87** и **74-76**.

Важно отметить, что для серии изатинов, содержащих в 5-м положении изатинового ядра гетероциклические фрагменты (пиридин, пиримидин и тиофен), значимую активность показал только изатин **67**, содержащий в своем составе тиофеновый фрагмент ($IC_{50}(\text{ММП-2}) = 13.6 \pm 0.6 \text{ мкМ}$ и $IC_{50}(\text{ММП-13}) = 2.7 \pm 0.3 \text{ мкМ}$). Однако сложность синтеза данного изатина, низкие выходы реакции кросс-сочетания (26%), существенно ограничивают возможность использования данного изатина в качестве исходного соединения для дальнейших химических модификации, необходимых для улучшения ингибирующей активности и селективности.

В результате тщательного анализа первичных биологических данных мы смогли определить природу заместителей, наличие которых в 5-арилизатинах имеет существенное влияние на величину ингибирующей активности и селективности по отношению к ММП. Мы определили, что наличие акцепторных заместителей в фенильном заместителе, находящимся в 5-м положении изатинового фрагмента (область **A**) оказывает решающее значение для активности синтезированных нами изатинов, крайне желательно введение в фенильный радикал карбоксильной, трифторметильной или амидной групп, наличие атомов галогенов также увеличивает уровень активности.

На основании перспективных данных предварительных испытаний и единой методологии синтеза 5-арилизатинов, включающей синтез арил(гетарил)борных кислот и

5-галогензамещенных изатинов, было решено синтезировать библиотеку аналогов хитов (**74** и **86**), содержащих акцепторную группу в бензольном ядре. Основные направления химических модификаций состояли в: 1) поиске оптимального акцепторного заместителя в фенильном радикале, находящемся в 5-м положении изатинового ядра; 2) замене карбоксильной функции на сложноэфирную группу и введение карбоксильной группы в гетероциклические фрагменты; 3) модификация положения C₍₃₎ изатинового ядра (область **B**); 4) введение акцепторных заместителей в положения 6 и/или 7 изатинового фрагмента (область **C**); 5) варьировании заместителей при атоме азота.

2.2.3 Химическая модификация изатиновых структур

Для расширения массива исследуемых структур и увеличения количества потенциально возможных точек варьирования был осуществлен синтез близких аналогов производных 5-арилизатинов, полученных нами ранее, с использованием тривиальных химических превращений (схема 14).

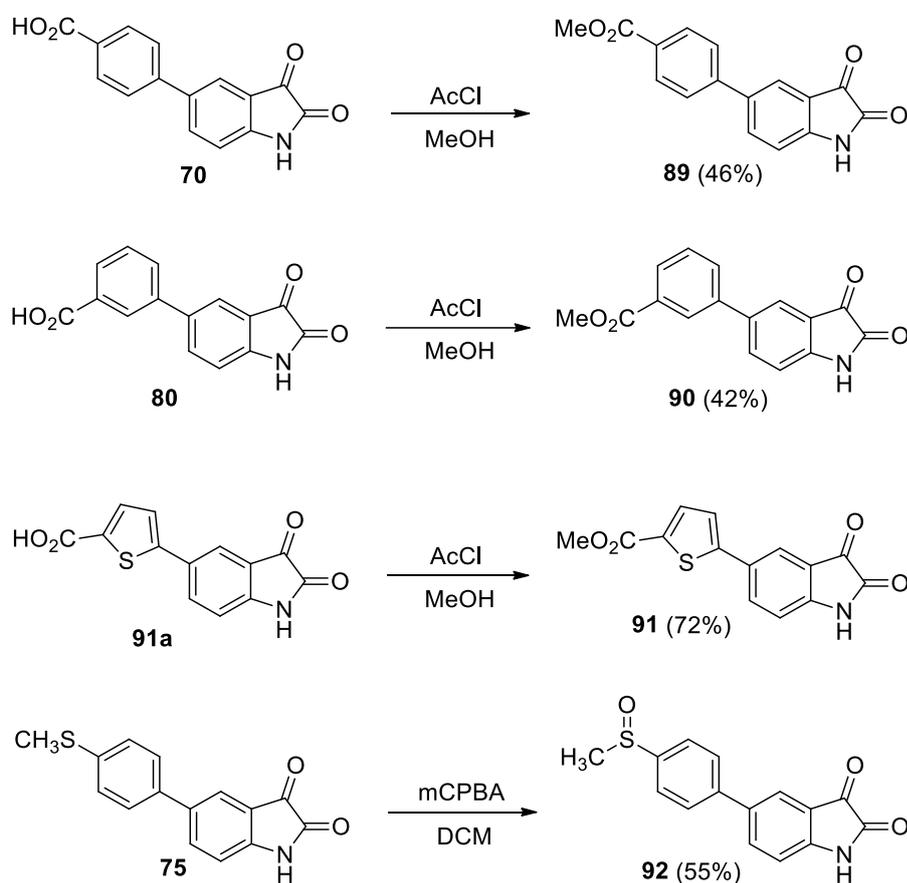
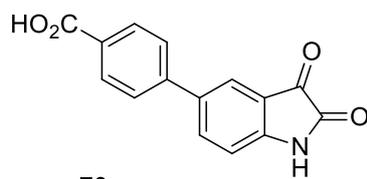


Схема 14. Модификации 5-арилизатинов.

В таблице 6, приведены результаты биологических испытаний для соединений **89-92**

Таблица 6. Результаты ферментативного анализа соединений **89-92**.

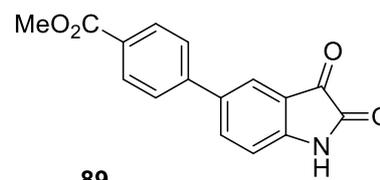
Структура	IC ₅₀ (ММП-2) мкМ	IC ₅₀ (ММП-8) мкМ	IC ₅₀ (ММП-9) мкМ	IC ₅₀ (ММП-13) мкМ
89	6.1 ± 0.7	57.0 ± 9.0	94.8 ± 1.5	6.2 ± 0.6
90	>100	>100	>100	52.2 ± 0.9
91	12 ± 6.0	14.5 ± 2.5	13 ± 3.0	3.1 ± 0.3
92	15 ± 5.0	>100	>100	6.0 ± 3.0



70

$IC_{50}(\text{MMP2}) > 100 \text{ мкМ}$

$IC_{50}(\text{MMP13}) = 27.4 \pm 11.1 \text{ мкМ}$



89

$IC_{50}(\text{MMP2}) = 6.1 \pm 0.7 \text{ мкМ}$

$IC_{50}(\text{MMP13}) = 6.2 \pm 0.6 \text{ мкМ}$

Схема 15. Сравнение активностей соединений 70 и 89

Данные биологических испытаний, которые мы получили для серии изатинов **89-92** позволяют сделать вывод о том, что замена карбоксильной группы на сложноэфирную функцию оказывает существенное влияние на ингибирующую активность 5-арилизатинов. Так, для эфира **89** ингибирующая активность по отношению к ММП-2 увеличилась в 20 раз ($IC_{50}(\text{ММП-2}) = 6.1 \pm 0.7 \text{ мкМ}$) по сравнению с карбоксильным аналогом, а активность по отношению к ММП-13 увеличилась в 4 раза ($IC_{50}(\text{ММП-13}) = 6.2 \pm 0.6 \text{ мкМ}$) (схема 15). Необходимо отметить и отрицательный момент замены карбоксильной группы на сложноэфирный фрагмент, при проведении мы наблюдали существенное снижение селективности к ММП. Также важно отметить, что перемещение сложноэфирной группы из пара-положения фенильного ядра в мета-положение существенно снижает уровень активности 5-арилизатинов (Таблица 6, изатин **90** ($IC_{50}(\text{ММП-13}) = 52.2 \pm 0.9 \text{ мкМ}$)).

Метил 5-(2,3-диоксоиндолин-5-ил)тиофен-2-карбоксилат (**91**) оказался наиболее активным ингибитором по отношению к ММП-13 ($IC_{50}(\text{ММП-13}) = 3.1 \pm 3.0$), интересно отметить, что в виде сложного эфира этот изатин оказался активен по отношению и к ММП-2 ($IC_{50} = 12 \pm 6.0 \text{ мкМ}$), и к ММП-8 ($IC_{50} = 14.5 \pm 2.5 \text{ мкМ}$), и к ММП-9 ($IC_{50} = 13 \pm 3.0 \text{ мкМ}$).

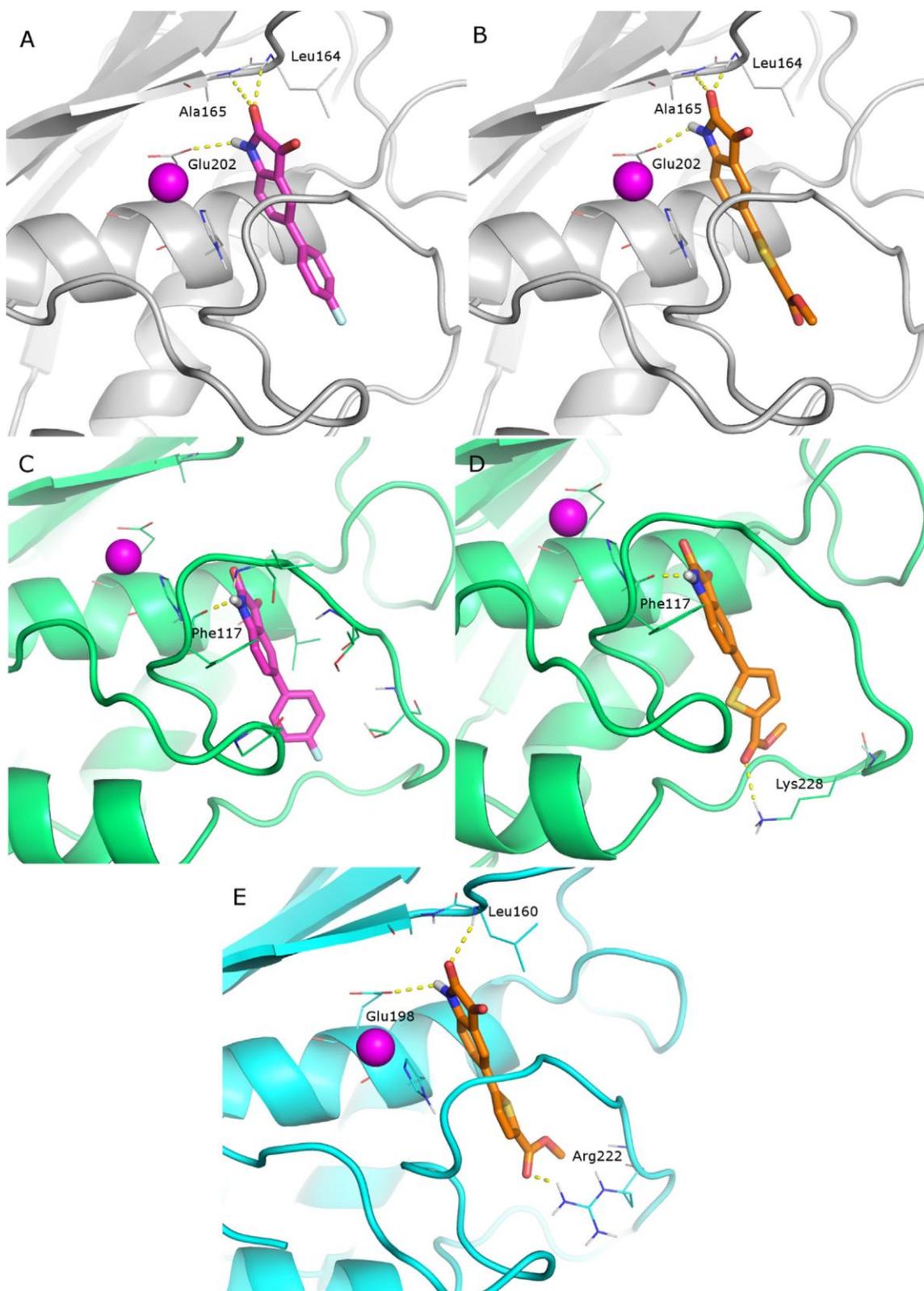


Рисунок 4. Модель взаимодействия италинов **16** (IC_{50} (ММП-13) = 16.7 ± 1.0 мкМ) и **91** (IC_{50} (ММП-13) = 3.1 ± 3.0 мкМ) с ММП (А и В - взаимодействие 5-арлизатинов с ММП-2, С и D - взаимодействие 5-арлизатинов с ММП-13, Е - взаимодействие арилизатина **91** с ММП-8)

Анализ соответствия структур новых 5-арилизатинов с разработанной фармакофорной моделью показал, что существует заметная корреляция между биологической активностью соединений и наличием в их структуре трех акцепторов электронной плотности, которые могут быть расположены в пространстве активного сайта белка. Как видно на рисунке 4, гидрофобная толильная группа соединения **16** может компактно размещаться в кармане S1 ММП, а при наличии в ароматическом фрагменте карбоксильной группы (изатин **91**) появляются дополнительные возможности взаимодействия с фрагментами аминокислот Lys228 (для ММП-13) и Arg222 (для ММП-8).

Для всех наиболее активных производных 5-арилизатина обязательным является наличие в структуре акцептора, которому соответствует карбонильная группа в положении C₍₂₎ изатина, отвечающая за взаимодействие с фрагментами Leu164 и Ala165 (для ММП-2 и ММП-13). Наличие незамещенного атома азота изатинового ядра позволяет молекулам 5-арилизатина образовывать водородные связи с фрагментами аминокислот Glu202 (для ММП-13), Phe117 (ММП-2) и Glu198 (для ММП-8). Особенно наглядно это проявляется при сравнении пар соединений, имеющих и не имеющих заместители у атома азота и существенно отличающихся по биологической активности (**16/26** и **24/37**). Это важнейший вывод, который позволяет объяснить экспериментальные результаты и может лежать в основе разработки/оптимизации следующих поколений ингибиторов, полученных на основе 5-арилизатинов.

Фармакофорной особенностью молекул, проявивших выраженную ингибирующую активность к ММП в микромолярных концентрациях, является наличие в структуре двух акцепторов электронной плотности, что позволяет молекулам занимать наиболее выгодное положение вблизи каталитического домена, содержащего ион цинка. Поэтому следующим шагом данного научного исследования стало изучение возможности химической модификации молекулы 5-арилизатина за счет введения новых заместителей в изатиновый мотив при сохранении структурного целевых соединений к изатину.

Химические трансформации 5-арилизатинов были разделены на две основные группы: 1) модификация положения C₍₃₎ изатинового ядра; 2) введение заместителей в ароматический фрагмент 5-арилизатина. Схемы синтеза и выходы реакции представлены на схемах 16 и 17.

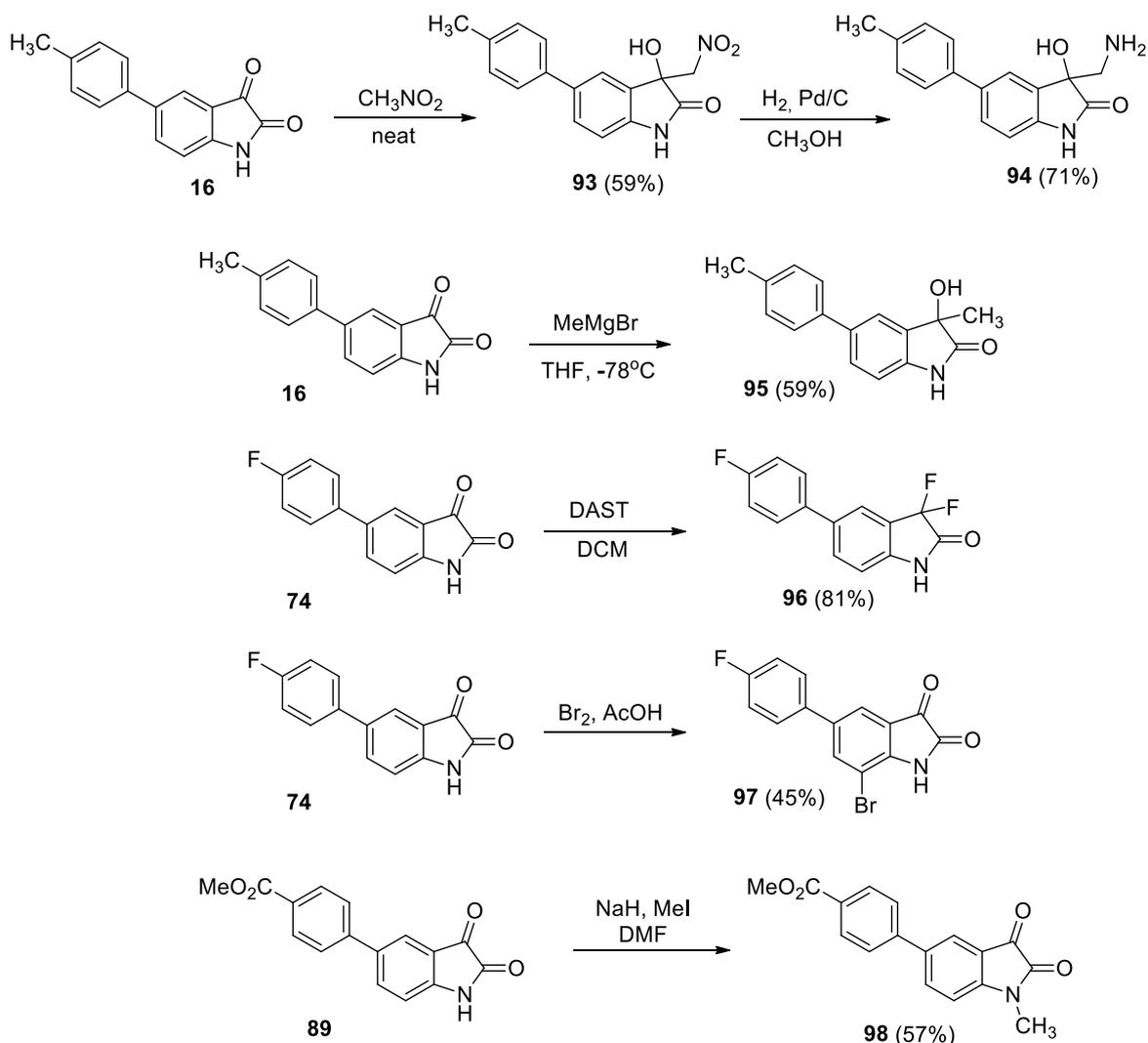


Схема 16. Химические модификации структур 5-арилизатинов.

Выбор субстратов **96** и **97** к синтезу (схема 16), был обусловлен полученными нами данными биологических испытаний для вещества **74** (IC_{50} (ММП-2) = 10.2 ± 2.4 мкМ, IC_{50} (ММП-13) = 15.8 ± 1.6 мкМ), введение акцепторных заместителей в положение $\text{C}_{(3)}$ и $\text{C}_{(7)}$ изатина **74**, по нашему мнению, должно было привести к увеличению активности и улучшению селективности. Синтезы, представленные на схемах 15-16 тривиальны и основаны на простейших трансформациях: нуклеофильном замещении, реакциях конденсации или нуклеофильного присоединения к карбонильной группе (схема 17).

Данные, представленные в таблице 7, показывают, что химические модификации хитов **16**, **74** и **89**, не привели к улучшению результатов, наоборот, введение новых функциональных групп оказало негативное влияние на биологическую активность соединений - все синтезированные соединения **93-98** оказались неактивны. На основании полученных биологических данных мы сделали вывод, что введение дополнительных акцепторных групп в ароматическое ядро 5-арилизатина нецелесообразно, а модификация положения $\text{C}_{(3)}$

изатина требует более глубокого и осмысленного подхода с привлечением молекулярного моделирования.

Таблица 7. Результаты ферментативного анализа соединений **94-98**.

Структура	IC ₅₀ (ММП-2) мкМ	IC ₅₀ (ММП-8) мкМ	IC ₅₀ (ММП-9) мкМ	IC ₅₀ (ММП-13) мкМ
94	>100	>100	>100	>100
95	>100	>100	>100	>100
96	>100	>100	>100	>100
97	>100	>100	>100	>100
98	>100	>100	>100	>100

Также, следует отметить, что в рамках данного этапа работы, был осуществлен синтез рацемических 3-аминооксоиндолов, которые были получены в две стадии из соответствующих 5-арилизатинов (схема 17) [167]. Интересно отметить, что синтез оксимов и их каталитическое восстановление в присутствии 10% Pd/C до соответствующих аминов возможно контролировать визуально по изменению окраски. Исходный изатин сначала растворяют в этиловом спирте, затем добавляют требуемое количество карбоната калия и гидрохлорида гидроксиламина (см. экспериментальную часть), реакционную смесь кипятят в течение 8 часов, затем после выделения и очистки оксима, продукт растворяют в метаноле, насыщенном HCl, добавляют каталитическое количество 10% Pd/C и гидрируют в атмосфере водорода в автоклаве [168].

При этом раствор изатина, окрашенный в красно-оранжевый цвет, при обработке избытком гидроксиламина в течение нескольких минут меняет свою окраску и становится светло-желтым. Последующее гидрирование водородом в присутствии 10% Pd/C приводит к образованию прозрачного раствора (для оксоиндолов **99-104**). Важно отметить, что при гидрировании не происходит гидрогенолиз связи углерод-хлор (оксоиндол **99**), а также не подвергается различным побочным трансформациям тиофеновый цикл (оксоиндол **100**), сложноэфирная группа в оксоиндоле **103** также сохраняется.

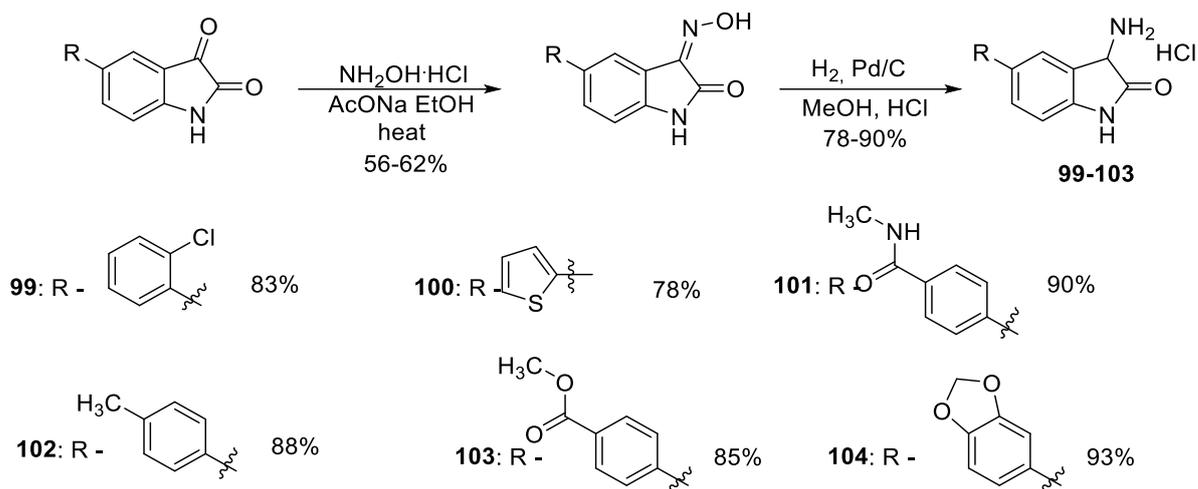


Схема 17. Модификации изатина по положению С-3

Результаты биологических испытаний, для синтезированных соединений **99-104**, представлены в таблице 8

Таблица 8. Результаты ферментативного анализа соединений **99-104**.

Структура	IC ₅₀ (ММП-2) мкМ	IC ₅₀ (ММП-8) мкМ	IC ₅₀ (ММП-9) мкМ	IC ₅₀ (ММП-13) мкМ
99	20 ± 3.0	>100	64 ± 7.0	3.2 ± 2.0
100	>100	>100	>100	19 ± 5.0
101	31 ± 4.0	>100	>100	49 ± 1.2
102	23.7 ± 2.7	97 ± 8.0	50 ± 4.0	3.4 ± 0.6
103	14.3 ± 1.4	>100	79 ± 0.7	3.4 ± 1.0
104	>100	>100	>100	>100

Данные, представленные в таблице 8, показывают, что химические модификации хитов при замене атома кислорода в положении С₍₃₎ изатина на аминогруппу, в целом, не привели к значительному улучшению результатов, но, для двух соединений (**102** и **103**) удалось улучшить ингибирующую активность по отношению к ММП-13 и селективность (схема 18). Также, необходимо отметить, что в научной литературе отсутствовала информация о возможности использования 3-амино-оксоиндолинов в качестве ингибиторов ММП. Наша работа была первой научной публикацией, в которой были приведены эти данные [167].

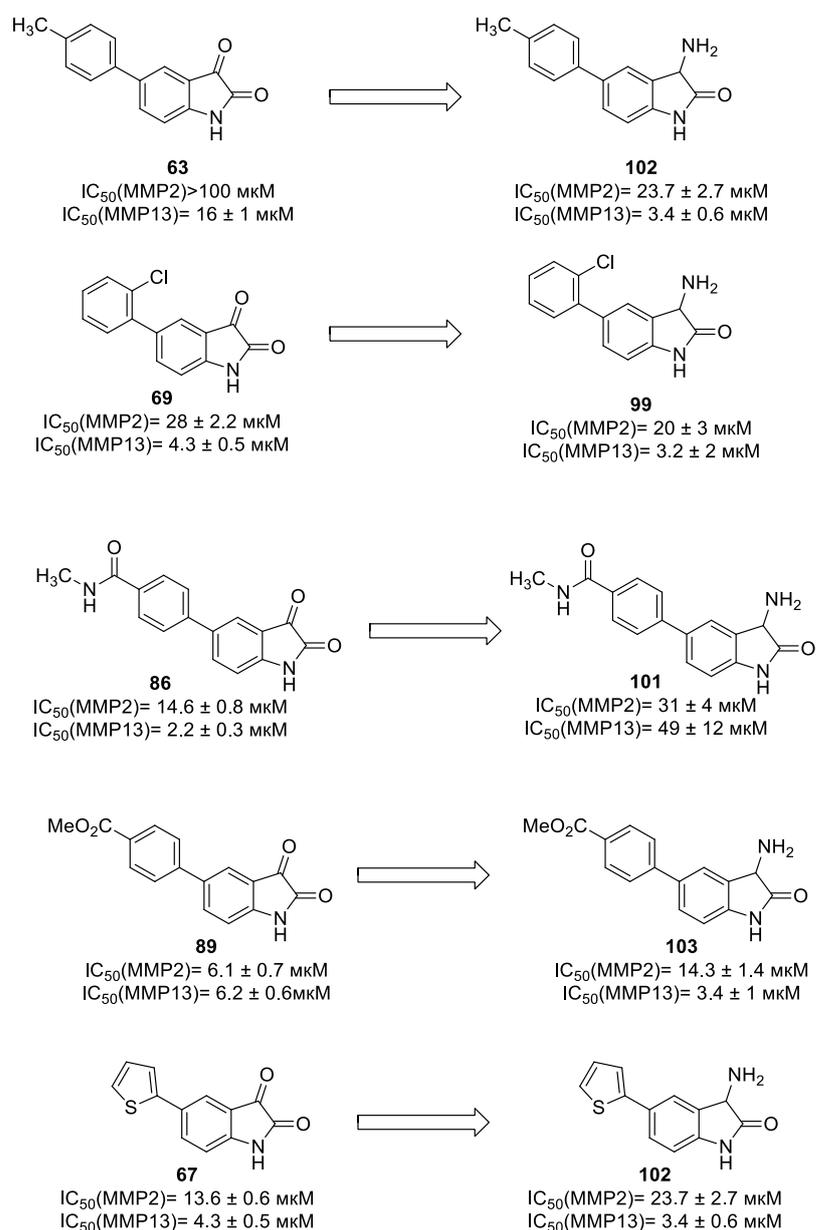


Схема 18. Изучение взаимосвязи структура-активность

Наблюдаемое улучшение активности можно объяснить с использованием молекулярного докинга, который позволяет установить новое взаимодействие в соединениях **103** и **89** с ММП за счет образования новой водородной связи (рисунок 5). Однако наличие хирального атома углерода в положении С-3 изатинового кольца, добавляется сложностей, связанных с разделением энантимеров.

Молекулярный докинг соединений **89** и **103** позволяет сделать предположение о способе связывания синтезированных низкомолекулярных ингибиторов на основе 3-аминооксиндолина с ММП (рисунок 5). Важно отметить, что согласно данным компьютерного моделирования ингибиторы на основе 3-амино-5-арилоксиндолина, также

как и 5-арлизатины не способны (по стерическим причинам) координироваться с атомом цинка.

Фрагмент амидной группы в положении $C_{(2)}$ изатина **103** является акцептором водородной связи от Leu164 и Ala165. Амидный протон (N-H) является донором водородной связи к карбоксилату Glu202, а оксиндолиновое ядро участвует в π - π стекинге с His201 (для ММП-2 и ММП-13). Дополнительное связывание возникает также за счет донорных свойств аминогруппы (водородная связь с C=O -группой Pro221).

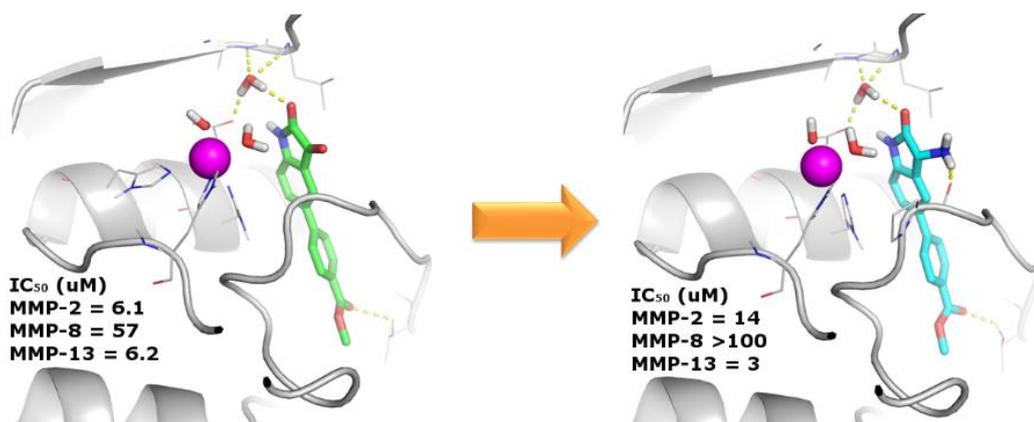


Рисунок 5 Молекулярный докинг соединений **89** (слева) и **103** (справа)

В то время как амидный фрагмент C=O в изатине **89** дает только водородную связь с OH группой Thr247, а амидный фрагмент N-H является донором водородной связи к C=O - группе Phe241.

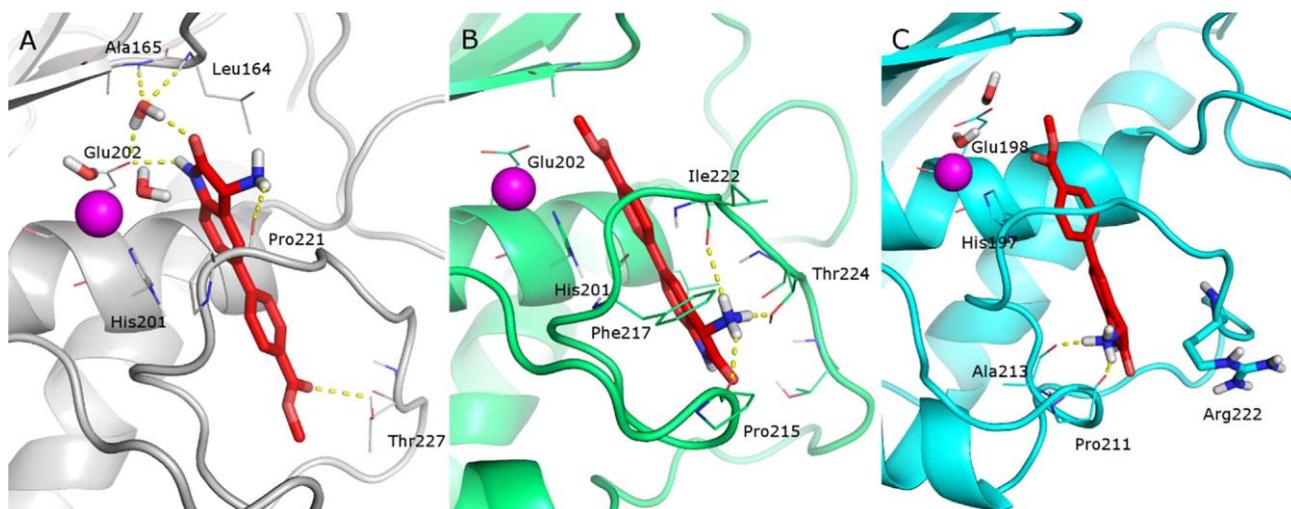


Рисунок 6. Геометрия связывания соединения **103** в: А) сайте связывания ММП-2 как наиболее репрезентативном для расчета молекулярной динамики (МД); В) — сайт связывания ММП-13 после стыковки; С) сайт связывания ММП-8 как наиболее репрезентативный для расчета МД.

Также на рисунке 6 (ММП-2) видно, что карбонильный фрагмент сложноэфирной группы оксоиндолина **103** образует водородные связи с остатками аминокислоты Thr227, в то время как карбонильный фрагмент сложноэфирной группы этого же соединения в сайте ММП-13 образует водородные связи с остатками аминокислоты Glu202, также, как и исходный изатин **89**, при этом карбонильный фрагмент амидной группы (NHCO) не участвует в образовании водородных связей. Однако, при этом расположении ингибитора **103** в сайте ММП-13 возникают новые взаимодействия аминокислот в C₍₃₎ положении изатина с фрагментами кислот Pro215, Thr224 и Pe222, а также наблюдаются ван-дер-ваальсовы взаимодействия ароматических фрагментов молекулы с His201 и Phe217, также изатиновое ядро участвует в π - π стекинге с His201. Для сайта связывания 3-оксоиндола **103** с ММП-8 можно наблюдать лишь образование ван-дер-ваальсовых взаимодействий и донорную водородную связь от атома азота, находящегося в C₍₃₎ положении индолинового фрагмента с остатками кислот Ala213 и Pro211.

Для структуры **103** и ряда схожих структур можно сделать вывод о том, что наличие свободной амино группы в C₍₃₎ положении оксоиндолинового фрагмента, улучшает связывание с каталитическим сайтом ММП, что в итоге приводит к увеличению ингибирующей активности. В случае ММП-8 мы наблюдаем образование только водородной связи с остатком аминокислоты Ala165 и фиксируем ван-дер-ваальсовы взаимодействия с остатком кислоты His201.

2.2.4 Синтез 5-арилизатинов с использованием реакции Стилле

Как отмечалось ранее, основной целью работы являлся эффективный синтез сфокусированной библиотеки 5-арилизатинов, содержащих в своем составе различные по своей природе заместители, и проведение глубокого анализа взаимосвязи структура-активность полученных соединений. Анализ биологических данных привел нас к выводу, что синтезированная нами на предыдущих этапах работы библиотека малых молекул требует расширения и, в первую очередь, требуется получить новые 5-арилизатины, содержащие в своем составе максимально разнообразные арил(гетарил)фрагменты с целью продолжения поиска среди синтезированных соединений соединения лидера.

К сожалению, реакция кросс-сочетания по Сузуки, помимо всех очевидных достоинств, таких как: высокие выходы, нечувствительность к присутствию воды, а также простота постановки эксперимента, имеет ряд существенных ограничений, связанных с коммерческой недоступностью ряда арилборных кислот, сложностью их синтеза, неустойчивостью в ходе проведения процесса кросс-сочетания. Как правило все эти недостатки существенно снижают область использования реакции и требуют нахождения более универсальных подходов к синтезу 5-арилизатинов. В данной диссертационной работе, нами было предложено использовать в синтезе 5-арилизатинов альтернативный подход, основанный на использовании реакции кросс-сочетания по Стилле [169, 170].

Реакцию кросс-сочетания по Стилле можно использовать в двух различных подходах: 1) первоначальный синтез арилстананов и их дальнейшее использование в палладий-катализируемой реакции кросс-сочетания с 5-йодизатином (схема 19); первоначальный синтез 5-трибутилстаннилизатина **105** и его дальнейшее использование в качестве исходного реагента с арил(гетарил) бромидами. (схема 20). Первый подход серьезно ограничивает возможности быстрой наработки библиотеки 5-арилизатинов, поскольку требуется осуществить синтез индивидуальных арилстананов, что влечет за собой выполнение большой экспериментальной работы.

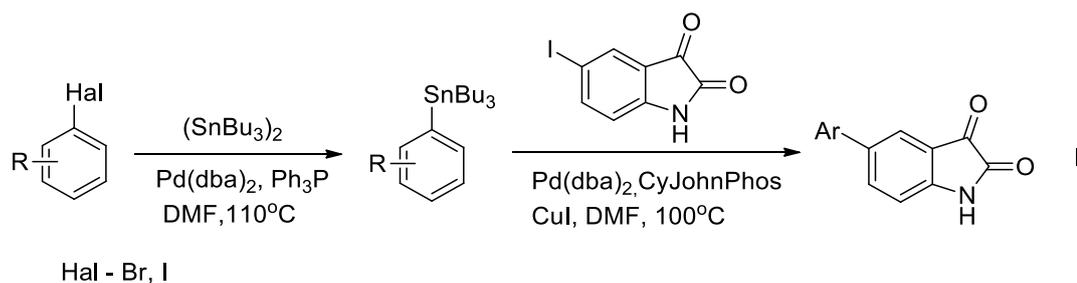


Схема 19. Способ синтеза целевых молекул по реакции Стилле.

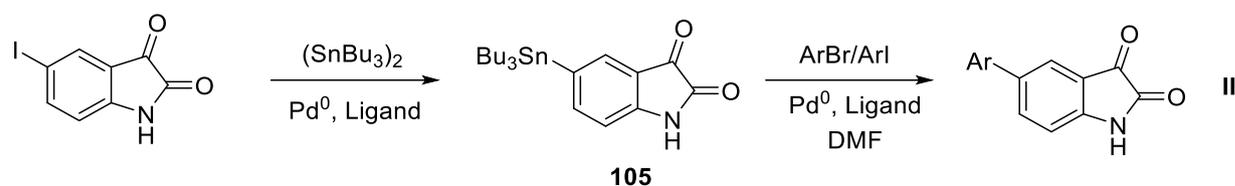


Схема 20. Синтеза 5-арлизатинов по реакции Стилла.

Второй способ более удобен для синтеза библиотек малых органических молекул, так в этом случае синтезируется одно общее исходное соединение – трибутилстанатизатина (**105**) и его использование в реакциях кросс-сочетания с различными арил(гетарил)бромидами или иодидами.

Для осуществления синтеза соединения **105** мы проанализировали литературные данные [171]. Модификация условий проведения реакции (катализатора, растворителя и лигандов) позволило найти условия, в которых удалось успешно осуществить синтез металлоорганического соединения **105** (таблица 9).

Таблица 9. Варьирование условий проведения реакций при синтезе соединения **105**

	Растворитель	Катализатор	Лиганд	Температура °C	Время (ч)	Выход реакции (%)
1	ДМФ	Pd(dba) ₂	dppf	50/90/110	12	0/10/15
2	ДМФ	Pd(dba) ₂	Ph ₃ P	50/90/110	12	9/20/35
4	ДМФ	Pd(Ph ₃ P) ₄	-	50/90/110	12	0/0/0
5	Толуол	Pd(dba) ₂	dppf	50/90/110	12	0/0/7
6	Толуол	Pd(dba) ₂	Ph ₃ P	50/90/110	12	0/9/15
8	Толуол	Pd(Ph ₃ P) ₄	-	50/90/110	12	0/0/0
9	Этанол	Pd(dba) ₂	dppf	50/78	12	0/0/2
10	Этанол	Pd(dba) ₂	Ph ₃ P	50/78	12	0/0/5
11	Этанол	Pd(Ph ₃ P) ₄	-	50/78	12	0/0/0
12	Диоксан	Pd(dba) ₂	dppf	50/80/100	12	0/4/10
13	Диоксан	Pd(dba) ₂	Ph ₃ P	50/80/100	12	0/4/10
15	Диоксан	Pd(Ph ₃ P) ₄	-	50/80/100	12	0/0/0

Были найдены оптимальные, на наш взгляд, условия проведения реакции, в ходе которых удалось синтезировать граммовые количества изатина **105** с выходом 27% (схема 21). Следует отметить, что нами впервые был осуществлен синтез соединения **105**.

Принимая во внимание тот факт, что исходный 5-йодизатин является коммерчески доступным реагентом, а полученное соединение **105** может быть использовано в синтезе сфокусированных библиотек малых молекул, нами было принято решение, что данный подход является наиболее оптимальным для синтеза ряда целевых молекул.

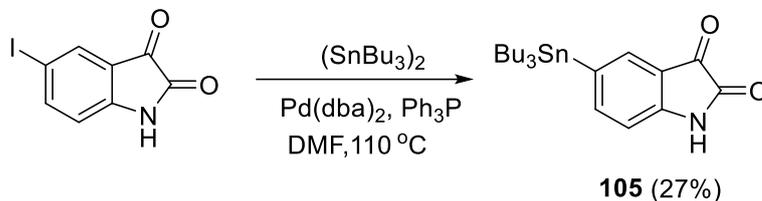


Схема 21. Синтез соединения **105**.

Следующим этапом оптимизации процесса синтеза 5-арилизатинов, стало определение наиболее оптимальных условий проведения реакции кросс-сочетания по Стилле (схема 22) изатина **105** и метилового эфира 4-бромбензойной кислоты (данный бромид был выбран в качестве модельного арилгалогенида). Варьирование условий проведения реакции представлено в таблице 10.

Таблица 10. Варьирование условия проведения реакции Стилле.

	Катализатор	Растворитель	Лиганд	Температура °C	Выход %
1	$\text{Pd}(\text{dba})_2$	ДМФ	CyJohnPhos	100	54
2	$\text{Pd}(\text{dba})_2$	ДМФ	XantPhos	100	23
3	$\text{Pd}(\text{dba})_2$	ДМФ	dppf	100	12
4	$\text{Pd}(\text{dba})_2$	ДМФ	XPhos	100	20
5	$\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2$	Этанол-Вода (1-1)	-	Т.кип.	0
6	$\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2$	ДМФ	-	100	0
7	$\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$	Этанол-Вода (1-1)	-	Т.кип.	0
8	$\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$	ДМФ	-	100	0

Исходя из полученных данных, была определена наиболее оптимальная методика синтеза 5-арилизатинов с использованием в качестве ключевой каталитической системы: катализатора трис(дибензилиденацетон)дипалладий(0) ($\text{Pd}(\text{dba})_2$) и лиганда 2-(Дициклогексилфосфино)бифенила (CyJohnPhos) (схема 22). Важно отметить, что лиганд

CyJohnPhos устойчив на воздухе из-за своей уникальной структуры, которая предотвращает его окисление до оксидов фосфина. Каталитическая система, состоящая из **CyJohnPhos** и **Pd(dba)₂**, эффективно катализирует реакции кросс-сочетания широкого спектра арилгалогенидов с арилборными кислотами, аминами и арилкетонами в условиях реакции Сузуки-Мияуры, реакции Бухвальда-Хартвига и реакции Стилле.

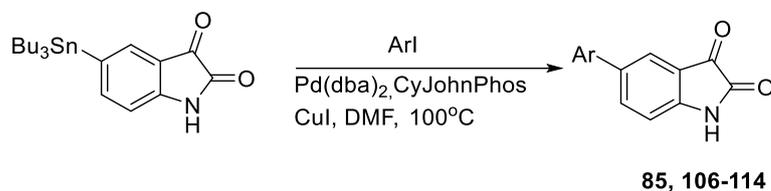


Схема 22. Реакция кросс-сочетания по Стилле.

В таблице 11 представлена библиотека соединений, синтезированная с использованием реакции Стилле.

Таблица 11. Список синтезированных производных 5-арилизатина с использованием реакции Стилле.

Номер	Радикал	Выход, %	Номер	Радикал	Выход, %
85		54	110		34
106		58	111		30
107		12	112		12
108		43	113		28
109		59	114		39

Следует отметить, что молекула **119** была получена двумя разными способами, с использованием реакции Сузуки (из 5-тиазолбороновой кислоты) и с использованием подхода, представленного на схеме 23.

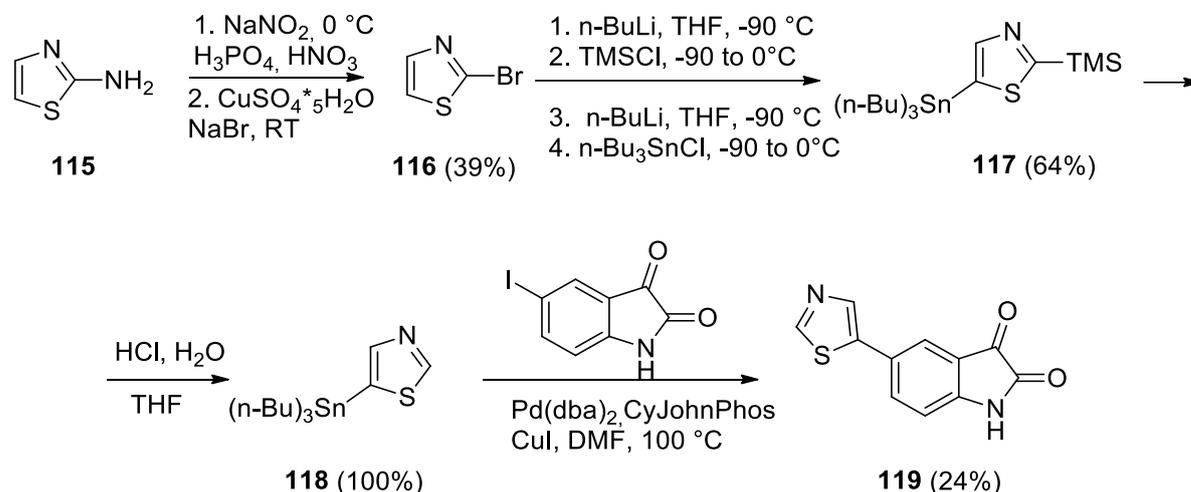


Схема 23. Синтез 5-(5-тиазол-ил)изатина.

Таблица 12. Результаты ферментативного анализа соединений **85**, **106-114**.

Структура	IC ₅₀ (ММП-2) мкМ	C ₅₀ (ММП-8) мкМ	C ₅₀ (ММП-9) мкМ	C ₅₀ (ММП-13) мкМ
85	>100	>100	>100	>100
106	18.7 ± 0.5	>100	>100	>100
107	>100	>100	>100	>100
108	26.9 ± 1.0	>100	>100	>100
109	>100	>100	>100	>100
110	55.3 ± 3.7	>100	>100	>100
111	21.1 ± 1.6	>100	>100	>100
112	>100	>100	>100	>100
113	>100	>100	>100	>100
114	>100	>100	>100	>100

Как видно из таблицы 12, попытка объединения фрагментов, отвечающих за высокую ингибирующую активность в 5-арилизатинах, ни привела повышению биологической активности (схема 24).

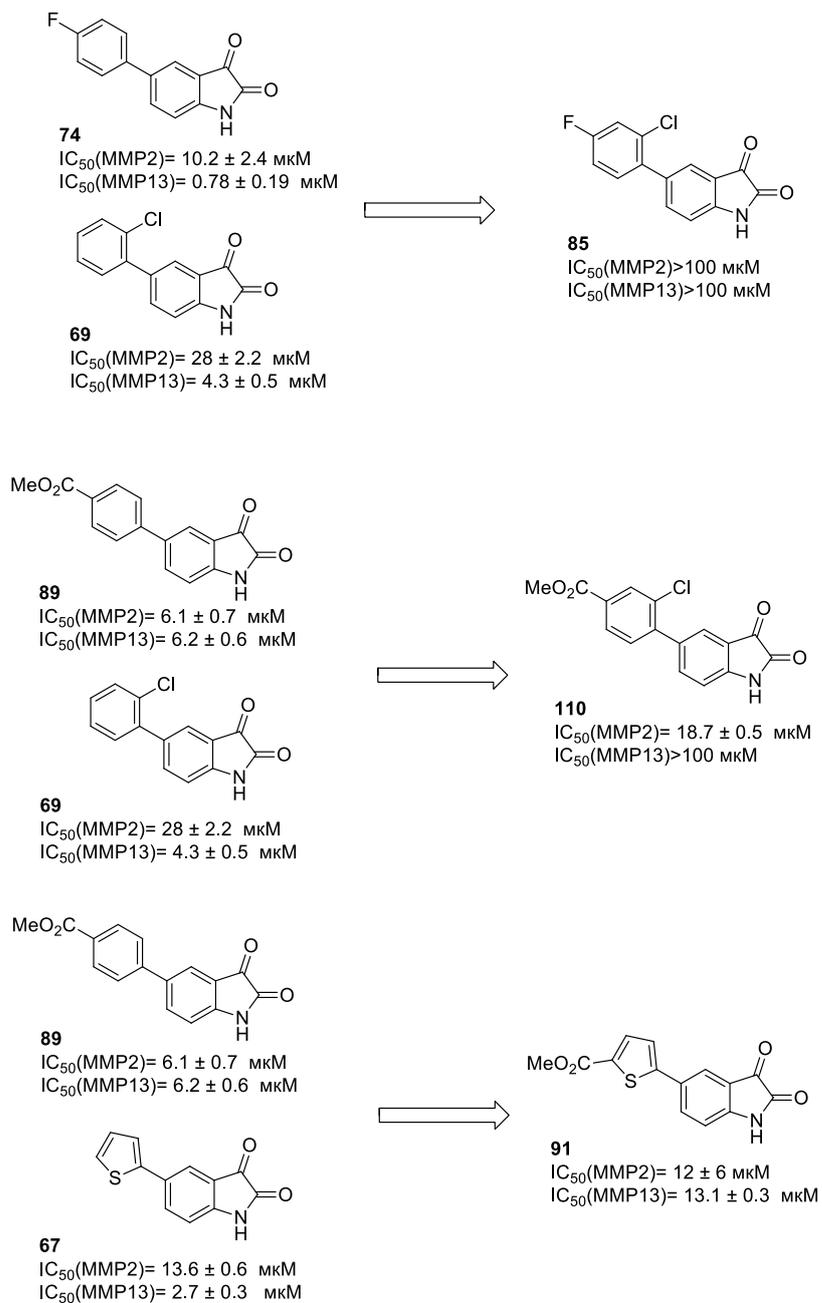


Схема 24. Анализ взаимосвязи структура-активность.

2.2.5 Синтез биарильных производных изатина

Как известно, некоторые изатины могут проявлять выраженную цитотоксичность, кроме того, наличие кетогруппы в положении C₍₃₎ молекулы изатина может существенно сказываться на биологической активности и снижать общую медхимическую ценность молекулы лидера, так как наличие потенциально реакционноспособной кетогруппы в пролекарствах является нежелательным [172]. Руководствуясь этими соображениями, был синтезирован ряд аналогов соединения **63**, не содержащих изатинового ядра (схема 25). Для синтеза мы использовали хорошо известные в литературе превращения [173], которые не требуют дополнительных комментариев и разъяснений. В таблице 13, приведены величины IC₅₀, для синтезированных соединений.

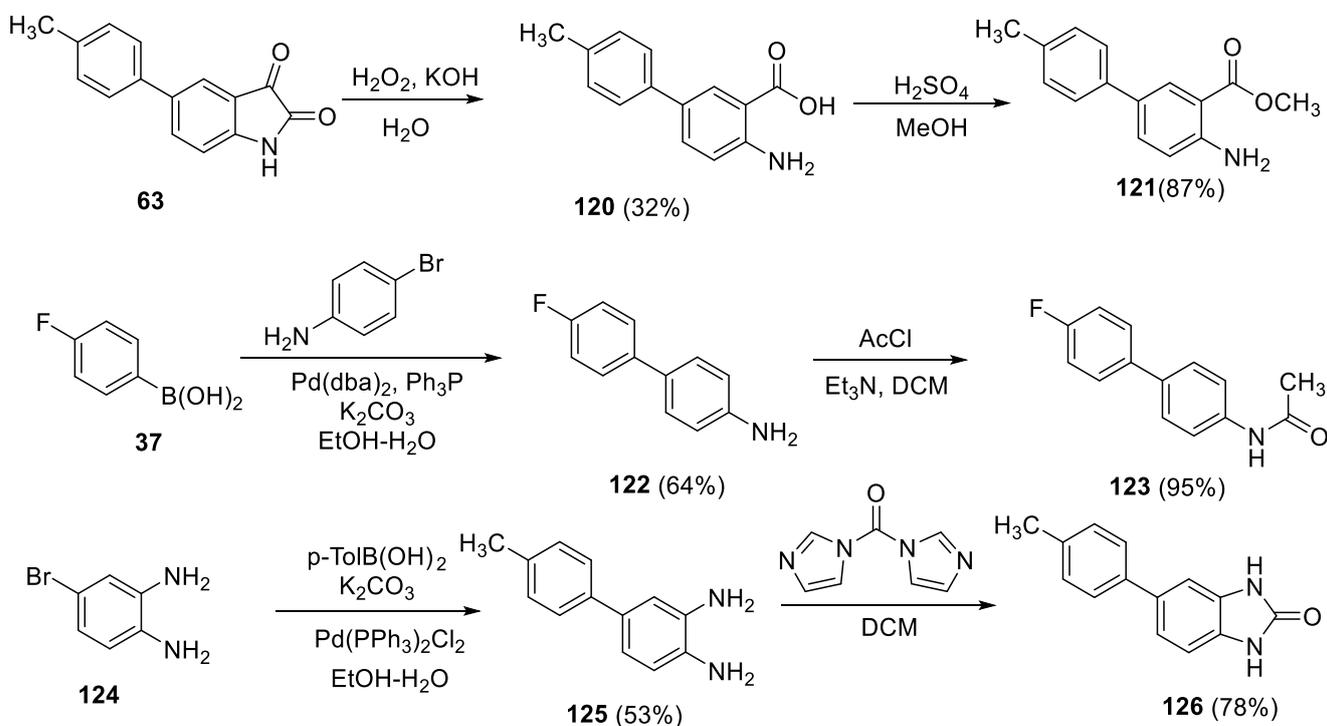


Схема 25. Аналоги соединения **23**, не содержащие изатинового фрагмента

Таблица 13. Результаты ферментативного анализа соединений 120 – 121, 126.

Структура	IC ₅₀ (ММП-2) мкМ	IC ₅₀ (ММП-8) мкМ	IC ₅₀ (ММП-9) мкМ	IC ₅₀ (ММП-13) мкМ
120	>100	>100	>100	>100
121	11.0 ± 2.0	50.0 ± 0.5	>100	3.0 ± 0.3
122	>100	>100	>100	>100
125	>100	>100	>100	>100
126	>100	>100	>100	>100

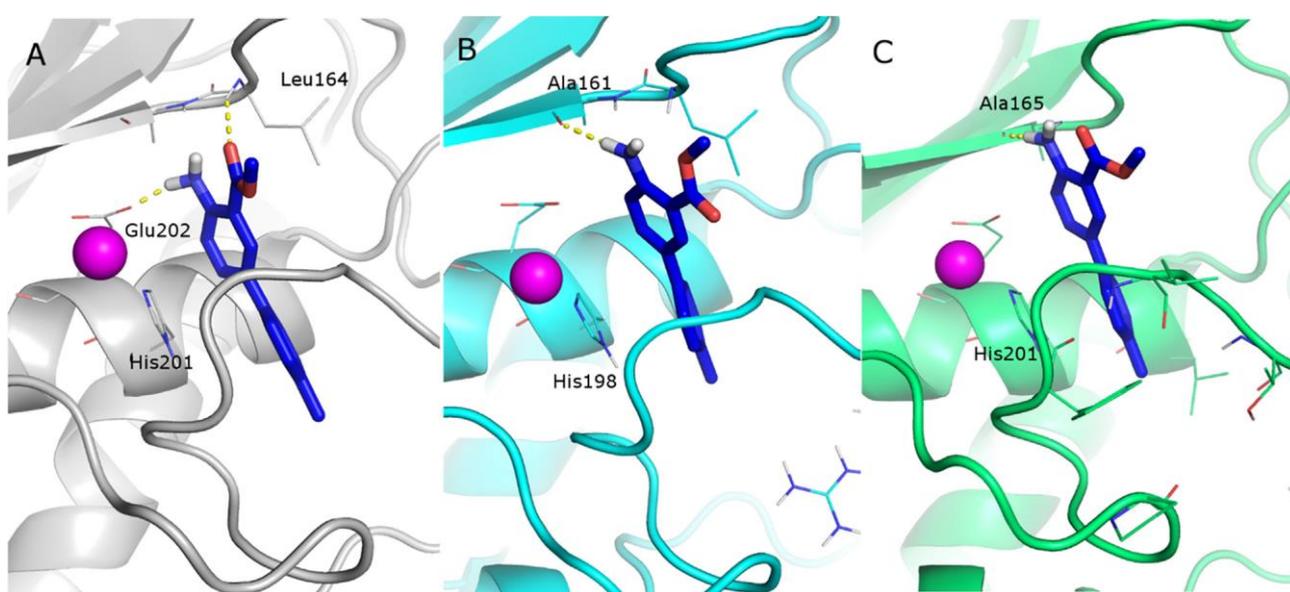


Рисунок 7. Молекулярный докинг соединений 121: А-ММП-2, В-ММП-13, С-ММП-8

Как видно на рисунке 7 (фрагмент А, активный сайт ММП-2) карбонильный фрагмент сложноэфирной группы соединения 121 образует водородную связь с фрагментом аминокислоты Leu164, атом азота, в свою очередь, образует водородную связь с остатком аминокислоты Glu202, также наблюдается ван-дер-ваальсовы взаимодействия с His201. Для сайта связывания в ММП-13 мы наблюдаем только образование водородной связи с остатком аминокислоты Ala161 и ван-дер-ваальсовы взаимодействия с His198. Для сайта связывания в ММП-8 мы наблюдаем образование водородной связи с остатком аминокислоты Ala165 и ван-дер-ваальсовы взаимодействия с His201.

Исходя из данных моделирования и данных биологических испытаний, можно сделать предположение, что взаимодействие структурных фрагментов эфира 121 в сайте

связывания ММП-13 существенно превосходит взаимодействие этих фрагментов в сайте связывания ММП-2, что объясняет увеличение ингибирующей активности по отношению к ММП-13.

Замена сложноэфирной группы на аминогруппу (фенилендиамин **125**) приводит к полной потере биологической активности, попытка трансформировать фенилендиаминовый фрагмент в бензоимидазол **126** также не приводит к желаемому результату – производные арилбензимидазола, в отличие от 5-арилизатинов и 3-амино-3-ариллиндолинов оказались неактивны по отношению к ММП-2, ММП-8 и ММП-13.

Нахождение в рамках выполнения работы нового класса соединений – производных 5-арилизатина и 3-амино-2-оксоиндолин-2-она, обладающих активностью по отношению к ММП, представляет собой отправную точку для разработки селективных цинк не связывающих ингибиторов, направленного действия на ММП-2 и ММП-13, связанных с прогрессированием опухоли. Параллельно с этим необходимы дополнительные исследования для выяснения точного механизма действия новых ингибиторов.

Анализ данных литературы, посвящённых матриксным металлопротеиназам и их ингибиторам, анализ данных взаимосвязи структура-активность полученных в результате выполнения данной работы свидетельствует о том, что вышеупомянутые ферменты в настоящее время являются перспективными мишенями при поиске лекарственных средств, применяемых при различных сердечно-сосудистых заболеваниях, а также для лечения различных злокачественных образований, а дальнейшая разработка данной тематики по поиску клинически эффективных соединений является важной и актуальной задачей, поскольку в клиническую практику, на сегодняшний день, не введено ни одного ингибитора ММП.

2.2.6 Синтез бензо[d][1,3]диоксоловых производных.

С целью расширения данных о биологической активности производных изатина нами были синтезированы производные 5-арилизатинов, содержащих в своей структуре диоксолановый фрагмент, который часто встречается во многих противоопухолевых препаратах [174, 175, 176]. Нами было принято решение о проведении альтернативного исследования по изучению противоопухолевой цитотоксичности производных **73** и **104** на культуре опухолевых клеток НСТ116 (аденокарцинома толстой кишки человека). При проведении исследования были получены данные о высокой противоопухолевой активности 5-арилизатина **73** ($IC_{50} = 5.58 \pm 0.2$ мкМ).

Литературный поиск выявил среди описанных производных изатина, во-первых, серию изатинов, содержащих в своей структуре 5,7-дибромизатиновый фрагмент, для многих из которых была доказана способность ингибировать полимеризацию клеточного белка тубулина, причем, судя по результатам комбинированной терапии этих соединений с известными тубулин-направленными агентами, это происходит за счет взаимодействия с колхициновым сайтом белка [177]. Кроме того, в литературе описан 5-арилизатин с алкильным заместителем у атома азота изатинового фрагмента, проявивший высокую противоопухолевую активность, способный вызывать изменение морфологии опухолевых клеток и обладающий антиангиогенным действием [178]. Вдохновленные этими сведениями и первичными биологическими результатами, мы решили осуществить синтез библиотеки малых молекул, содержащих в своей структуре бензо[d][1,3]диоксоловый фрагмент (схема 26).

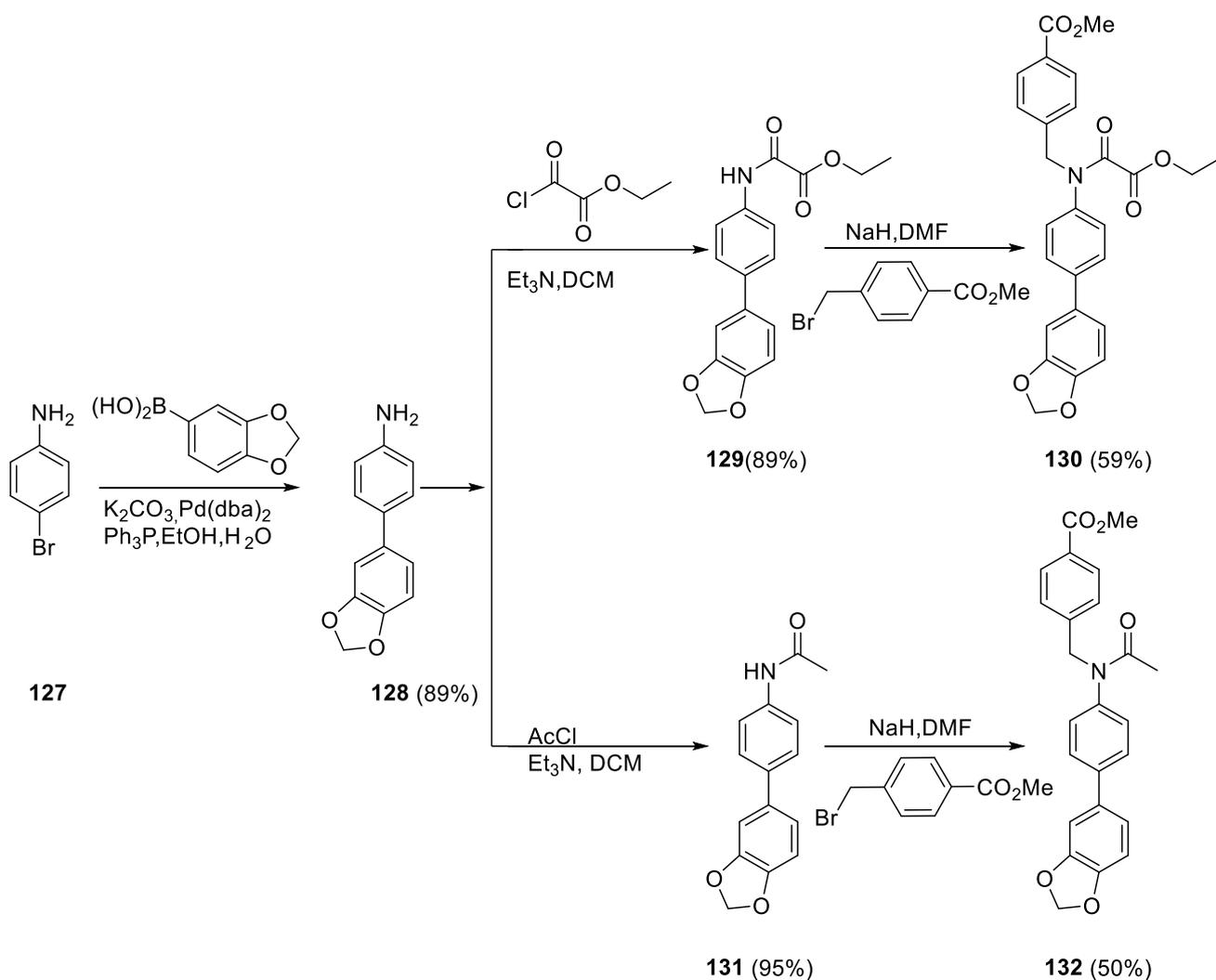


Схема 26. Синтез бензо[*d*][1,3]диоксоловых производных соединения **73**.

Первым шагом данного этапа работы стала попытка синтеза более простых по своей структуре органических молекул, содержащих в своей структуре бензо[*d*][1,3]диоксоловый фрагмент. Мы успешно осуществили синтез биарильных анилинов **129-132** с использованием двух и трехстадийных превращений (схема 26). Также нами были получены производные изатина **73** и 3-аминооксиндолина **104**, содержащих при атоме азота гетероциклического ядра остатки бензойной кислоты (схема 27).

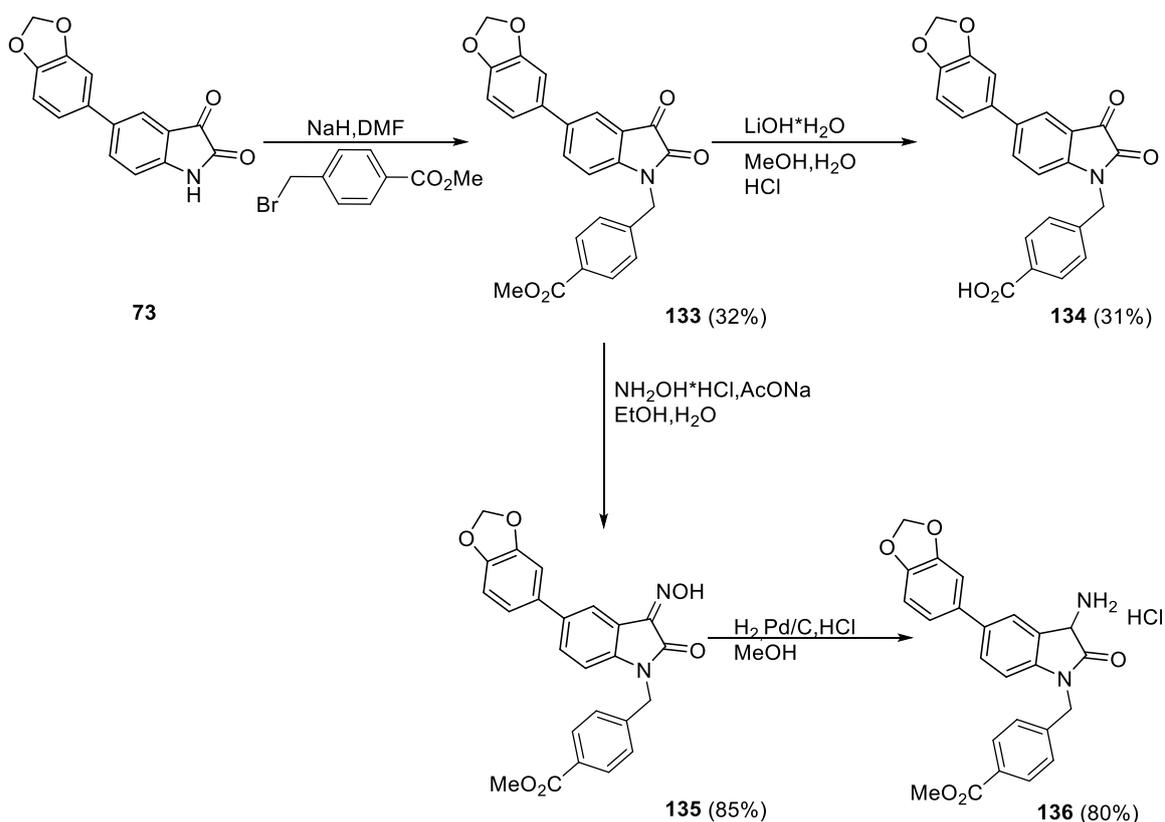


Схема 27. Химические модификации изатина **73** по положению $C_{(3)}$ и $N_{(1)}$ изатинового ядра

Как известно, оптимизация химической структуры новых классов химических соединений при отсутствии информации о мишени, должна проводиться на клеточных моделях с наибольшей чувствительностью к химическим классам изучаемых молекул. В этом случае, разница в уровнях цитотоксичности в чувствительных и нечувствительных клеточных моделях позволяет выбрать правильное направление модификации химической молекулы и подтвердить (или опровергнуть) гипотезу о механизме действия и выборе мишени. Тестирование биологически активных малых молекул на культурах опухолевых клеток *in vitro* является необходимым этапом отбора перед тестированием на лабораторных животных *in vivo*, таким образом, тестирование *in vitro* – необходимый этап на пути, который проходят новые противоопухолевые препараты-кандидаты от стадии дизайна до стадии введения в клиническую практику. Жизнеспособность клеток при скрининговых исследованиях определяется калориметрическими методами, в основе которых лежит способность митохондриальных оксидоредуктаз к восстановлению молекул с изменением их оптических характеристик. Два таких метода (МТТ тест для прикрепленных клеток и тест с использованием резазурина для суспензионных клеток) мы использовали в нашей работе для измерения цитотоксичности соединений, содержащих в своей структуре бензо[d][1,3]диоксоловый фрагмент (**63**, **73**, **103**, **133**, **134**, **91** и **121**).

Цитотоксическое действие соединений проводили на культуре клеток НСТ116 (в силу распространённости колоректального рака) в МТТ-тесте (по восстановлению желтой соли 3-4,5-диметилтиазол-2-ил-2,5-дифенилтетраразола в темно-синий кристаллический формазан митохондриальной оксидоредуктазой (NADH) живых клеток). По результатам исследования цитотоксичности построены кривые выживаемости и определены значения IC_{50} . Процент клеток, выживших при действии каждой дозы соединения, подсчитывали как частное от деления средней оптической плотности в лунках после инкубации с данной дозой к средней оптической плотности контрольных лунок (значения последних приняты за 100%).

Из семи соединений цитотоксичностью обладают всего лишь четыре соединения: **73** (BB0281163), **103** (BB0281164), **133** (BB0281165), **134** (BB0281166). Результаты представлены на рисунке 8 и в таблице 14.

MTT, 72 hours comp. 2-5, Doxorubicin

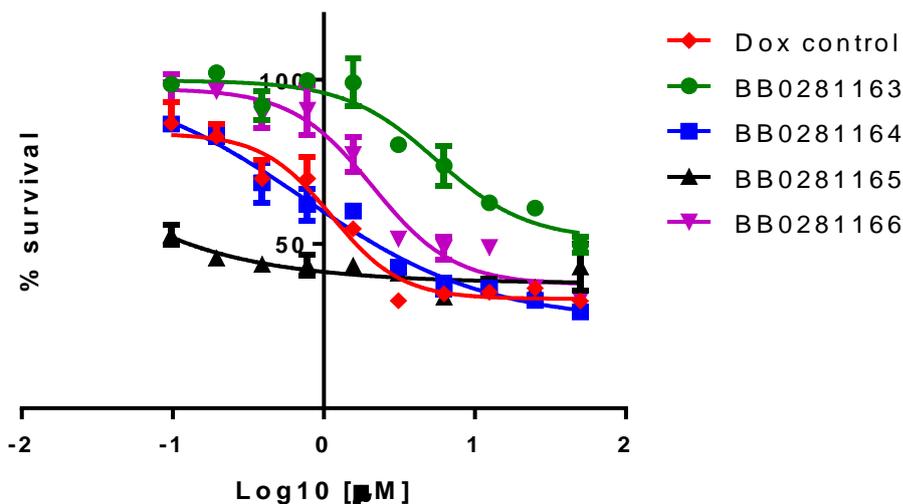


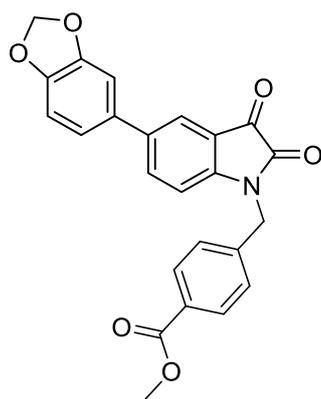
Рисунок 8. Кривые выживаемости клеток НСТ116 при действии исследуемых соединений и контрольного соединения – доксорубицина.

Таблица 14. Данные противоопухолевой цитотоксичности.

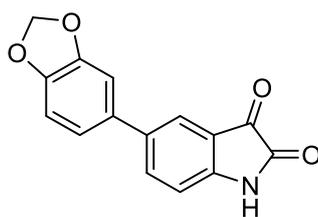
Соединение	IC ₅₀ (HCT116) мкМ	Соединение	IC ₅₀ (HCT116) мкМ
63	19.16 ± 1.0	134	2.11 ± 0.6
73	5.58 ± 0.2	91	9.54 ± 0.9
103	0.74 ± 0.2	121	24.51 ± 1.1
133	0.34 ± 0.8	Doxorubicin	1.13 ± 0.2

В дальнейшем мы планируем нами планируется определить механизм действия.

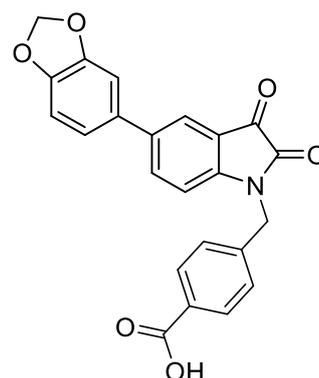
Нами был выявлен ряд неописанных в литературе 5-ариллизатинов с бензо[d][1,3]диоксоловым фрагментом, обладающих высоким уровнем противоопухолевой цитотоксичностью (схема 28). Отдельно необходимо отметить соединение **133**, проявляющего наномолярную активность по отношению к клеткам HCT 116.



133
IC₅₀=0.34 ± 0.1 мкМ



73
IC₅₀= 5.58 ± 0.2 мкМ



134
IC₅₀=2.11 ± 0.6 мкМ

Схема 28. Структуры, проявившие активность

2.2.7 Синтез производных спиро[индолин-3,3'-пирролидин]-2-она.

В рамках следующего этапа данной работы, нами было принято решение о модификации карбонильного положения молекулы изатина **73**. Ранее нами было показано, что модификация этого положения может привести к существенному увеличению уровня биологической активности за счет введения в молекулу аминогруппы. В литературе известны модификации данного положения за счет трансформации изатинов в соответствующие спироиндолины, построение спироцикла на основе изатина перспективно, поскольку наличие хирального центра приводит к улучшению избирательности, селективности и безопасности. Более того, введение спироцикла увеличивает возможности по функционализации молекулы, что может способствовать увеличению межмолекулярных взаимодействий с мишенью.

Для создания спироциклов, помимо классических [3,3]-сигматропных перегруппировок [177], в органическом синтезе активно используются различные реакции циклоприсоединения (3+2, 4+2 и т.д) [179, 180]. Выбор метода синтеза зависит от размера спироцикла, который требуется получить. Мы остановили свой выбор на синтезе пятичленного спироцикла, который основан на использовании тандема реакций [3+2]-циклоприсоединения и реакции Хека (схема 29).

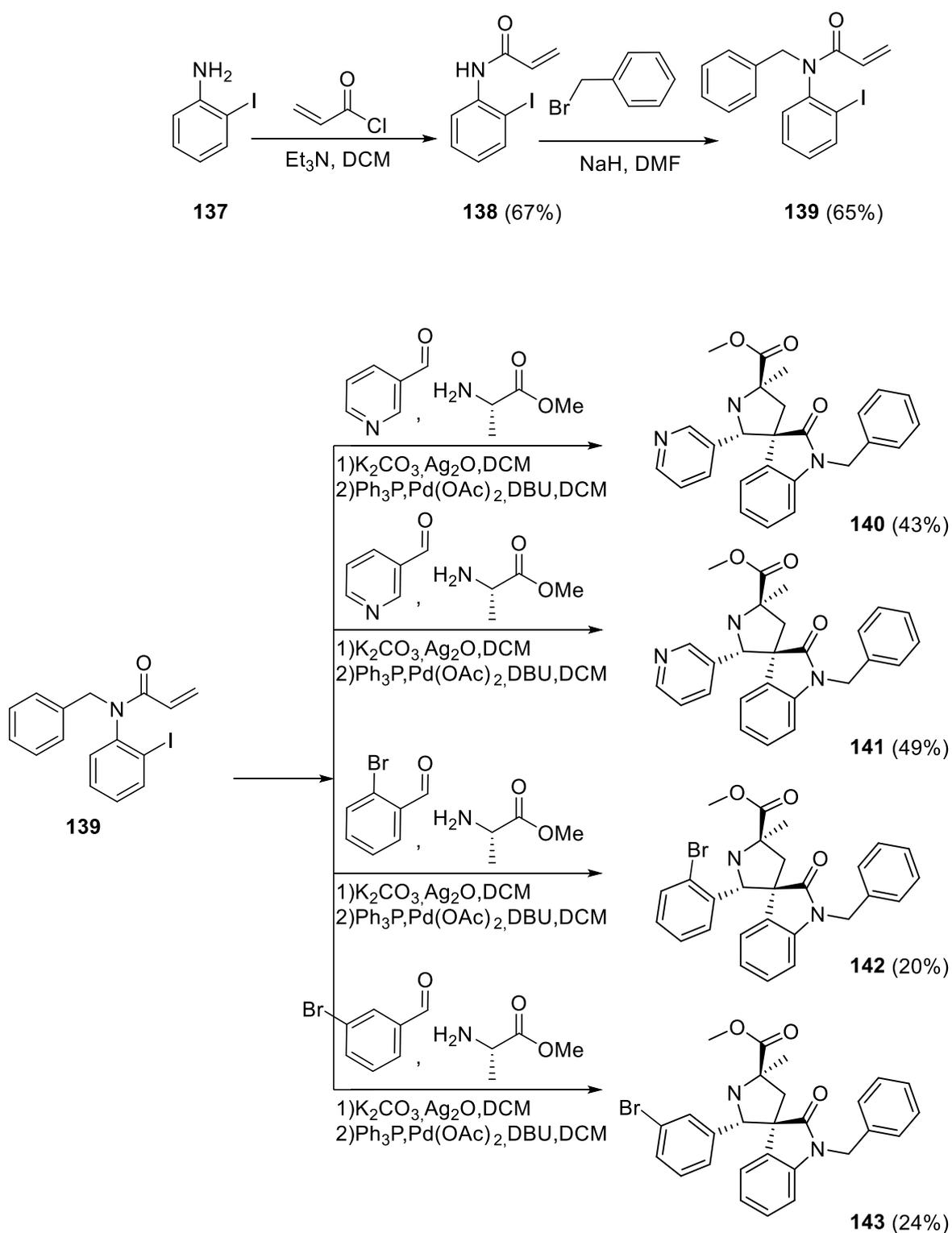


Схема 29. Синтез спироциклических производных.

На первом этапе, нами был осуществлен синтез модельных соединений и были найдены наиболее удобные и эффективные подходы к синтезу спирооксиндолинов **140-143**.

Стереохимия полученных соединений и взаимное расположение групп в целевых молекулах была приписана на основании литературных данных [177]. Данные РСА для

полученного нами кристалла соединения **142** (рисунок 9) подтвердили предполагаемую стереохимию.

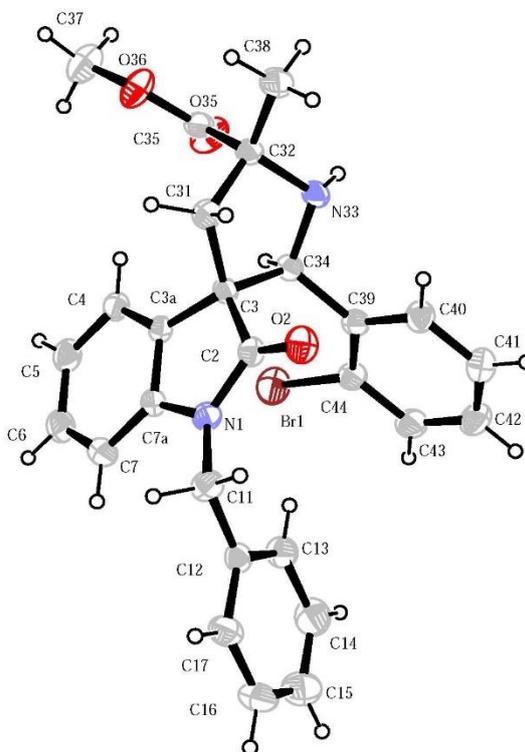


Рисунок 9. Молекулярная структура спирооксиндолина **142** (согласно данным РСА). Неводородные атомы показаны в виде тепловых эллипсоидов с вероятностью 50%.

Следует также отметить, что использование в синтезе рацемических аминокислот приводит к образованию четырех диастереомерных пар спирооксиндолина **142**, хроматографическое разделение и подтверждение строения которых представляет собой сложную задачу. Для синтеза спироцикла **140** нами был взят гидрохлорид метилового эфира L-аланина. Как видно из рисунка 10, данное вещество представляет собой индивидуальную диастереомерную пару. Зелёным цветом выделены характерные сигналы атомов водорода, сформированного спиро-цикла.

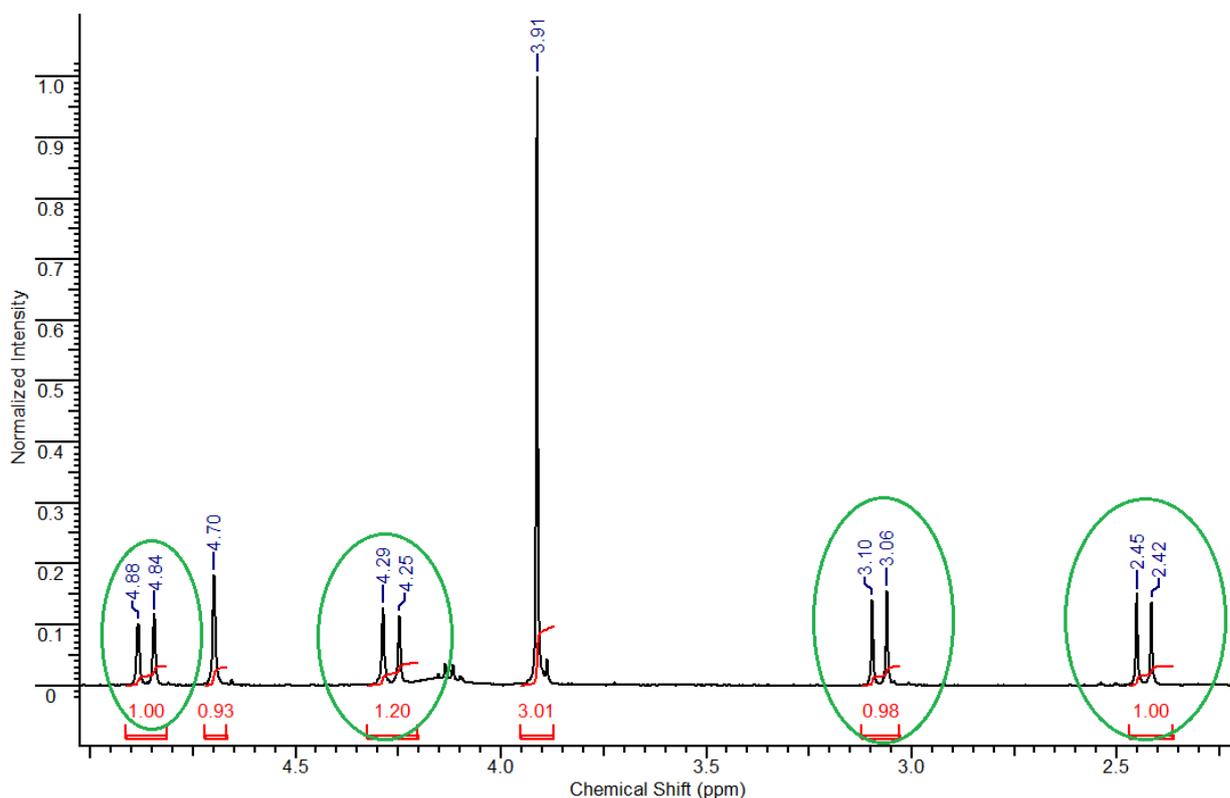


Рисунок 10. Фрагмент ^1H ЯМР спектр соединения **140**

Нами был осуществлен синтез спироцикла **147**, полученного из изатина **73**. Так как наибольшую биологическую активность можно наблюдать при наличии в структуре фрагмента никотиновой кислоты [177], то в этой реакции в качестве альдегида нами был взят 3-пиридинкарбальдегидом (схема 30). К сожалению, нам не удалось синтезировать целевые соединения **140-143** по описанном в литературе методикам, в связи с этим мы предприняли попытки изменения некоторых параметров реакции и добились необходимого результата. Так, для эффективного проведения реакции кросс-сочетания в синтезе спироцикла **147** вместо трифенилфосфина нами был использован CyJohnPhos, что позволило значительно повысить выход продукта реакции, упростить выделение продукта и увеличить загрузки.

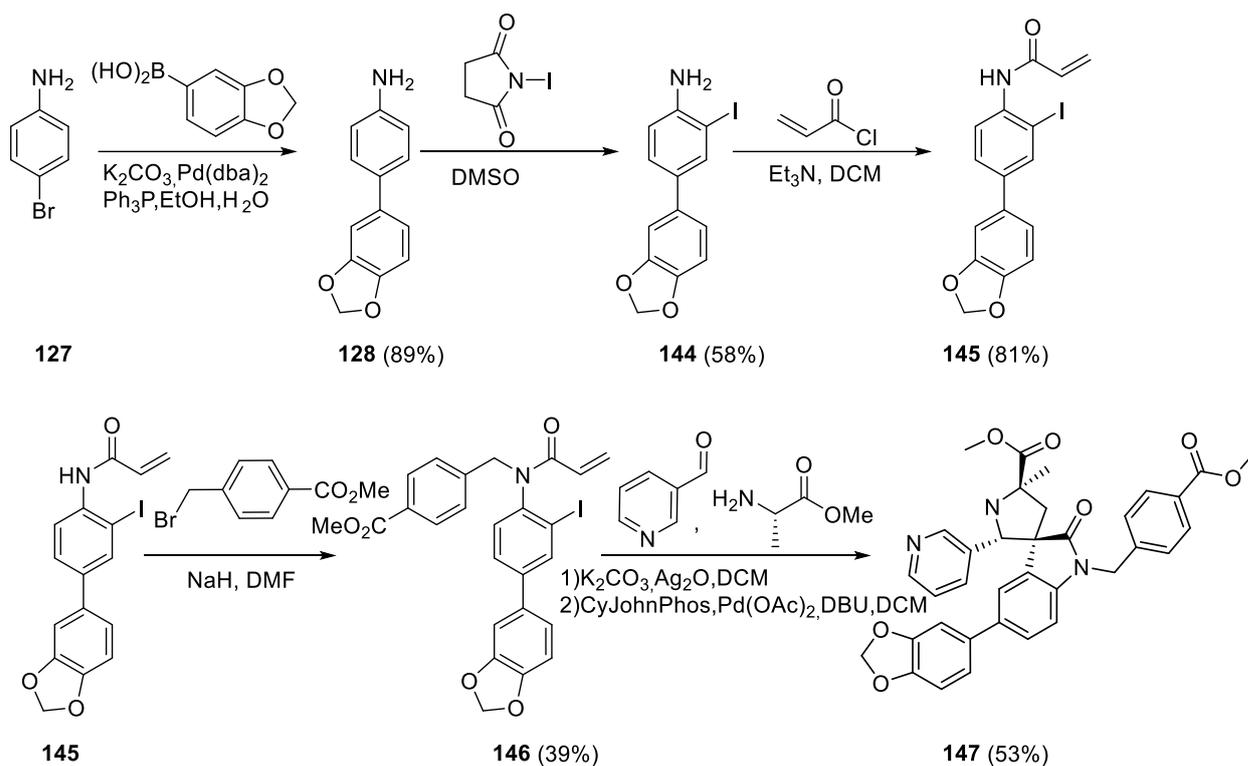


Схема 30. Синтез соединения **147**.

В синтезе соединения **147** мы также использовали гидрохлорид метилового эфира L-аланина, целевая молекула **147** представляла собой неразделимую смесь двух диастереомерных пар.

2.3 Соединения - лидеры

В результате выполнения работы нами была синтезирована серия производных 5-арил(гетарил)-2-оксоиндолов, содержащих в положении С₍₃₎ индолинового фрагмента различные по своей природе заместители, для которой впервые был проведен систематический анализ зависимости биологической активности по отношению к ММП от природы заместителей и их расположения в изатиновом цикле (более 70 соединений). Нами была изучена ингибирующая активность и селективность (в сравнении с другими ферментами семейства ММП) в отношении ММП-2, -8 и -13, неописанных ранее производных 5-арил(гетарил)-3-амино-2-оксоиндола и установлено, что соединение **103** продемонстрировало двукратное увеличение активности в отношении ММП-2 по сравнению с первоначальным соединением лидером, а замена атома кислорода на аминогруппу в положении С₍₃₎ изатинового ядра приводит к улучшению селективности (схема 31). Идентификация производных 5-арил(гетарил)изатинов в качестве хемотипа, проявляющих ингибирующее действие по отношению к ММП, носит пионерский характер. Несмотря на то, что нам не удалось получить наномолярную активность и высокую селективность в ряду ММП, данный перспективный класс соединений открывает широкие возможности для их дальнейшей модификации и проведения медико-химических испытаний.

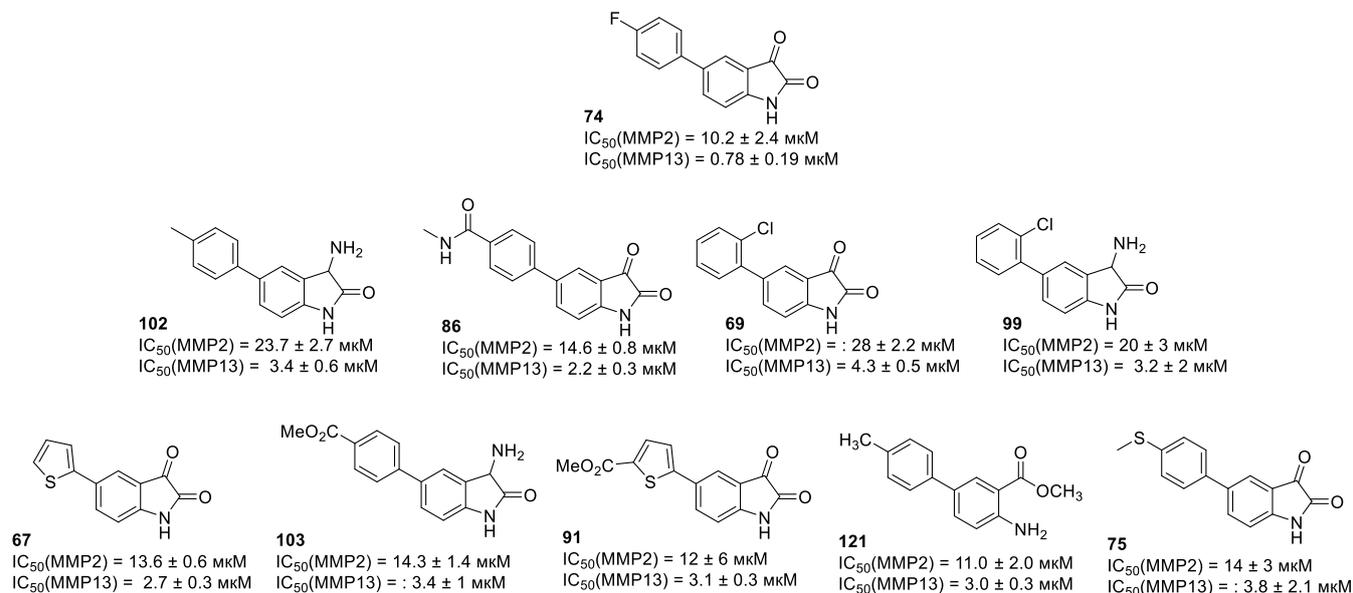


Схема 31. Список соединений, проявивших значимую биологическую активность по отношению к ММП

Получено производное 5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)изатина (**133**), проявляющее наномолярную цитотоксическую активность по отношению к клеткам рака толстого кишечника (HCT 116). Анализ SAR показывает, что целевая модификация молекулы: введение фрагмента бензо[d][1,3]диоксола в 5-е положение изатина и алкильного заместителя к атому азота гетероциклического ядра приводит к стократному увеличению активности по сравнению с другими заместителями, в то же время спиро-модификация по С(3) положению производных 5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)изатина не приводит к заметному увеличению биологической активности соединений.

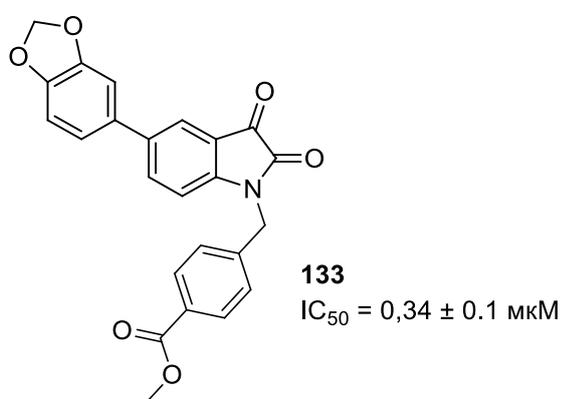


Схема 32. Соединение лидер **133**

Глава 3. Экспериментальная часть²

В работе использовались реагенты и растворители производства Acros Organics, Alfa Aesar, Lancaster, Merck, Sigma–Aldrich и EDASA Scientific максимальной высокой степени очистки. Контроль за ходом реакций и чистотой выделяемых хроматографическими методами продуктов осуществлялся посредством тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах Merck (силикагель 60 F₂₅₄, алюминиевая подложка) системами растворителей петролейный эфир (гексан) – EtOAc, бензол – EtOAc, CHCl₃ – MeOH и CH₂Cl₂ – MeOH в различных соотношениях. Для визуализации ТСХ использовали УФ излучение с длинами волн 254 и 365 нм, пары иода и/или раствор перманганата калия. Очистка продуктов методом флэш-хроматографии проводилась с использованием силикагеля 60 (размер частиц 0.040 – 0.063 мм, Merck).

Температуры плавления (**Т. пл.**), определенные в открытых капиллярах, приведены без исправления. Хроматомасс-спектральные исследования проводили с применением газожидкостного хроматографа Agilent 1200 с флуориметрическим и диодно-матричным детекторами, на колонках: Chiralpak AD-RH (4.6 мм × 150 мм), Chiralcel OD-RH (4.6 мм × 150 мм), ProntoSIL-120-5-C18 AQ DB-2003, детектирование УФ 250 нм, подвижная фаза: вода–ацетонитрил в различных соотношениях, 1 мл/мин.

Спектры ядерно-магнитного резонанса (¹H, ¹³C), регистрировались на приборе Bruker Avance 400 с частотой 400 МГц и 400 МГц соответственно. В качестве дейтерорастворителей, использовались **DMSO-d₆** (диметилсульфоксид гексадейтерированный), **CDCl₃** (монодейтерированный хлороформ) и D₂O (дейтерированная вода). Химические сдвиги измеряли в миллионных долях (м.д.) относительно остаточного

² При работе над данным разделом диссертации использованы материалы следующих публикаций автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

- 1) Mariangela Agamennone, Dmitry S. Belov, Antonio Laghezza, Vladimir N. Ivanov, Anton M. Novoselov, Ivan A. Andreev, Nina K. Ratmanova, Andrea Altieri, Paolo Tortorella, Alexander V. Kurkin. Fragment-Based Discovery of 5-Arylisatin-Based Inhibitors of Matrix Metalloproteinases 2 and 13. // ChemMedChem. – 2016. – V.11. – P. 1892 - 1898.
- 2) Vladimir N. Ivanov, Mariangela Agamennone, Ildar R. Iusupov, Antonio Laghezza, Anton M. Novoselov, Ekaterina V. Manasovaa, Andrea Altieria, Paolo Tortorella, Alexander A. Shtila, Alexander V. Kurkin. Het(aryl)isatin to het(aryl)aminoindoline scaffold hopping: A route to selective inhibitors of matrix metalloproteinases. // Arabian Journal of Chemistry. – 2022. – V. 15. – P. 103492

недейтерированного CHCl_3 ($\delta\text{H} = 7.26$ м.д.) и CDCl_3 ($\delta\text{C} = 77.16$ м.д.), или остаточного недейтерированного ДМСО ($\delta\text{H} = 2.50$ м.д.) и ДМСО- d_6 : ($\delta\text{C} = 39.52$ м.д.). Для описания мультиплетностей сигналов использованы следующие сокращения: с – синглет, д – дублет, т – триплет, кв – квадруплет, м – мультиплет, уш. – уширенный. Значения констант спин-спинового взаимодействия (J) приведены в герцах (Гц).

ИК спектры были зарегистрированы на приборе Thermo Nicolet IR200 в таблетках KBr, вазелиновом масле или в неразбавленном виде в диапазоне $400 - 4000 \text{ см}^{-1}$. Следующие сокращения использовались для описания интенсивностей сигналов: с = сильная, ср = средняя, сл = слабая, уш. = уширенный.

Масс-спектры высокого разрешения (HRMS) были зарегистрированы на приборе Thermo Scientific LTQ Orbitrap: ионизация наноэлектрораспылением (нано-ESI), орбитальная ионная ловушка в качестве масс-анализатора. **Масс-спектры** низкого разрешения были зарегистрированы с использованием детектора ITD-700 (Finnigan MAT): ионизация электронным ударом, энергия ионизирующих электронов 70 эВ, диапазон масс m/z 35 – 400.

Методика анализа ингибирования ММП [149]:

Рекомбинантная человеческая желатиназа А (ММП-2) и ферменты, состоящие из каталитического домена ММП-9 и ММП-14, производства Calbiochem. Каталитический домен ММП-8 - производства Biomol.

ММП-2 активируют непосредственно перед использованием с помощью п-аминофенилмеркурацетата (2 мМ) в течение 1 ч при температуре 37°C .

Биологические испытания проводят в трех повторах в общем объеме 100 мкл на лунку в 96-луночных микро-титровальных планшетах (Corning). Для проведения измерений исходные растворы ингибиторов (ДМСО, 10 мМ) разводят до шести различных концентраций (0,1 нМ - 100 мкМ) в буфере для флюорометрического анализа (50 мМ Трис- HCl , рН = 7,5, 200 мМ NaCl , 1 мМ CaCl_2 , 1 мкМ ZnCl_2 , 0,05% NaN_3 , 0,05% Brij-35, 9% CH_3CN и 1% ДМСО). Активированные растворы ферментов и ингибиторов инкубируют в буфере в течение 30 мин при температуре 25°C перед добавлением раствора флюорогенного субстрата (Mca-Pro-Leu-Gly Leu-Dpa-Ala-Arg- NH_2 , Calbiochem, конечная концентрация 2,5 мМ).

После инкубации в течение 2-4 ч (при температуре 37°C), процесс останавливают добавлением 3%-го раствора уксусной кислоты и измеряют флуоресценцию (340 нм) с помощью планшетного ридера PERKIN-ELMER Victor V3. В контрольных лунках ингибитор отсутствует. Активность ингибирования ММП выражают в относительных флуоресцентных единицах. Процент ингибирования рассчитывают по сравнению с контрольными лунками с ферментом без ингибитора, а значения IC₅₀ определяют с помощью программы GraphPad PRISM версии 5.0.

Методики компьютерного моделирования [149].

Все расчеты проводятся на рабочей станции Fujitsu Siemens Celsius R550, оснащенной двумя процессорами Intel Quad-Core Xeon E5410 2,33 ГГц. Все соединения построены вручную в программе Maestro версии 9.0, с использованием функции Built. Конформационный поиск с применением смешанной торсионной выборки и протокола автоматической настройки проводят для всех структур лигандов с целью получения глобальной геометрии каждой молекулы, которая затем используется в качестве начальной конформации для докинг-расчетов с помощью Glide.

Трехмерные координаты ММП-2, ММП-8, ММП-9 и ММП-14 взяты из банка белковых данных. Структуры всех ММП накладывают друг на друга, чтобы выровнять сайты связывания по одной и той же системе координат, используя инструмент наложения Maestro. Все структуры были подвергнуты процедуре Protein Preparation в Maestro, которая позволяет фиксировать структуры рецепторов, удалять молекулы воды и возможные лиганды, фиксировать порядок связей, добавлять атомы водорода, ионизировать остатки лизина, аргинина, глутамата и аспарагиновой кислоты. Для оптимизации сети водородных связей были предсказаны таутомеры гистидина и их состояния ионизации, также назначен терминальный угол вращения 180° для остатков аспарагина, глутамина и гистидина, а также выбраны гидроксильные и тиоловые атомы водорода. Для каждой структуры была проведена краткая релаксация с использованием всеатомной минимизации с ограничениями, для уменьшения стерических столкновений, которые могут существовать в исходных структурах. Минимизация прекращалась, когда величины энергии сходились или когда среднеквадратичное отклонение достигало максимального значения 0.3 Å. Для каждого из подготовленных белков были сгенерированы энергетические сетки глайдов. Генерация рецепторной решетки выполнялась для прямоугольной коробки с центром в центроиде кристаллографического лиганда. Размер ячейки определялся автоматически.

Глобальная геометрия лигандов и сетки ММП-2/ММП-8/ММП-9/ММП-14 была использована для последующих исследований докинга. Та же процедура применялась для всех лигандов в каждом белке. Ван-дер-Ваальсовы радиусы для неполярных атомов лигандов масштабировались в 0,8 раза, что уменьшало штрафы за тесные контакты. Атомы рецепторов не масштабировались. Первый докинг был проведен с использованием настроек Glide "Стандартная точность". Десять позиций были сохранены и повторно отправлены на докинг с настройками Extra Precision; одна позиция была сохранена во втором повторе. Функция оценки Extra Precision содержит ряд дополнительных условий, помимо тех, что присутствуют в GlideScore, включая условия для гидрофобного ограждения и большие штрафы за десольватацию, что приводит к лучшему предсказанию позиций докинга и более тесной корреляции с экспериментальными результатами. Для последующего анализа рассматривалась лучшая позиция для каждого лиганда в каждом белке.

3.1 Синтез арилборных кислот

Общая методика 1 (синтез арилборных кислот с использованием реактива Гриньяра).

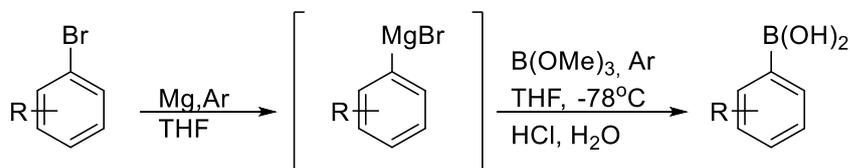
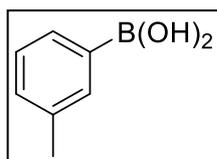


Схема 1. Общая методика 1

В трёх-горлую колбу, снабжённую обратным холодильником, через которую пропускают ток инертного газа, помещают 1.1 экв. магния. Затем часть приготовленного заранее 1М раствор в ТГФ арилбромида (1 экв) добавляют к металлическому магнию для активации реакции Гриньяра, если активация не происходит добавляют кристаллы йода. После того, как активное пенообразование и нагрев прекращаются, к реакционной смеси, по каплям, добавляют оставшуюся часть раствора арилбромида. После добавления, реакцию перемешивают в течении 30 минут, затем при -78°C полученный реактив Гриньяра по каплям, при наличии тока аргона, добавляют к 1М раствору в ТГФ 3 экв. триметилбората. После реакцию отогревают до комнатной температуры и выливают в 2М HCl (3 экв.). Затем водный раствор экстрагируют диэтиловым эфиром 5x100 мл и промывают насыщенным раствором хлорида натрия (2x100 мл). Органический слой, выдерживают над сульфатом натрия и упаривают на ротаторном испарителе при пониженном давлении. Полученный твёрдый остаток перекристаллизовывают из воды. Вещества на анализ методом ядерно-магнитного резонанса, готовят с использованием в качестве дейтерорастворителя смеси **DMSO-d₆** и капли **D₂O**.

Список синтезированных борных кислот с использованием данной методики и их аналитические данные приведены ниже.

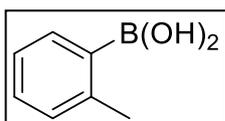
Синтез 3-толил-борной кислоты (28)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 3-бромотолуола (35 г, 200 ммоль). $M = 25.0$ г. Выход = 90% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [181].

ЯМР ^1H (DMSO-d₆, D₂O), δ м.д.: 8.06-8.01 (м, 2H), 7.42-7.38 (м, 2H), 2.47 (с, 3H).

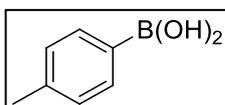
Синтез 2-толил-борной кислоты (29)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 2-бромотолуола (20 г, 120 ммоль). М = 13.6 г. Выход = 88% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [182].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 8.22 (дд, $J = 7.0$ Гц, 1H), 7.459 (дт, $J = 1.5, 7.0$ Гц, 1H), 7.27 (м, 2H), 2.82 (с, 3H).

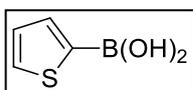
Синтез 4-толил-борной кислоты (30)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 4-бромотолуола (21 г, 124 ммоль). М = 15.2 г. Выход = 90% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [183].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 8.12 (д, $J = 7.6$ Гц, 2H), 7.31 (д, $J = 7.6$ Гц, 2H), 2.44 (с, 3H).

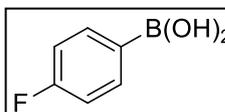
Синтез тиофен-2-борной кислоты (33)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 2-бромотиофена (5.6 г, 35 ммоль). М = 3.2 г. Выход = 72% Вещество представляет собой оранжевый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [184].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 7.75 (д, $J = 5.0$ Гц, 1H), 7.69 (д, $J = 3.5$ Гц, 1H), 7.18 Гц (м, t, $J = 4.0$ Гц, 1H).

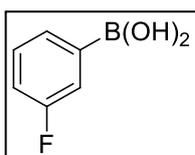
Синтез 4-фторфенил-борной кислоты (37)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 4-бромфторбензола (44.4 г, 250 ммоль). М = 32.7 г. Выход = 92% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [185].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 7.38 (дд, $J = 7.5, 7.0$ Гц, 2H), 6.86 (дд, $J = 7.5, 7.0$ Гц, 2H).

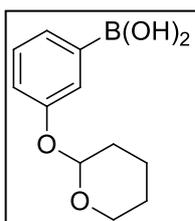
Синтез 3-фторфенил-борной кислоты (38)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 3-бромфторбензола (8.8 г, 50 ммоль). М = 5.9 г. Выход = 84% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [186].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 7.20 (м, 1H), 7.38 (м, 1H), 7.63 (м, 2H), 8.21 (уш.с, 2H).

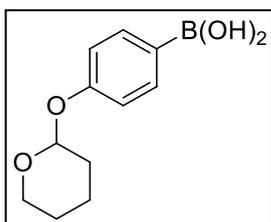
Синтез (3-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)фенил)борной кислоты (40)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 3-2-(3-бромфенокси)тетрагидро-2H-пирана (5.5 г, 20 ммоль). М = 2.4 г. Выход 51% Вещество представляет собой жёлтый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [186].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 7.91 (д, $J = 6.9$ Гц, 1H), 7.23-7.41 (м, 3H), 7.23-7.41 (м, 3H), 5.61 (с, 1H), 3.82 (м, 1H), 3.63 (м, 1H) 1.61-2.22 (м, 8H).

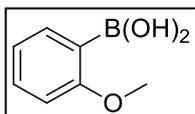
Синтез (4-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)фенил)борной кислоты (41)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 3-2-(3-бромфенокси)тетрагидро-2H-пирана (6.6 г, 25 ммоль). М = 3.7 г. Выход = 65% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [186].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 8.2 (с, 2H), 7.69-7.74 (д, 2H), 7.01-7.08 (д, 2H), 5.40-5.46 (т, 1H), 3.83-3.89 (м, 1H), 3.58-3.63 (м, 1H) 1.54-2.00 (м, 6H).

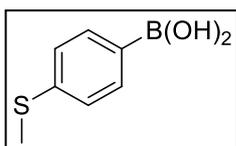
Синтез 2-метоксифенил-борной кислоты (42)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 2-бromoанизола (7 г, 37 ммоль). М = 5.1 г. Выход = 90% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [187].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 7.84 (д, 1H, $J = 7.3$ Гц), 7.44 (т, 1H, $J = 7.8$ Гц), 7.02 (т, 1H, $J = 7.3$ Гц), 6.90 (д, 1H, $J = 8.3$ Гц), 6.26 (с, 2H), 3.90 (с, 3H).

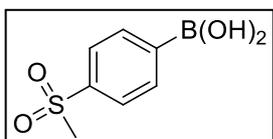
Синтез 4-метилтиофенил-борной кислоты (43)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 4-бромфенилметилсульфида (18 г, 90 ммоль). $M = 8.2$ г. Выход = 55% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [188].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 7.95 (уш.с, 2H) 7.70 (д, $J = 8$ Гц, 2H), 7.18 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H), 2.5 (с, 2H).

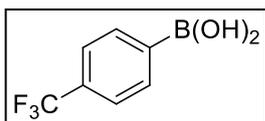
Синтез (4-(метилсульфонил)фенил)борной кислоты (54)



В стакан, снабженный магнитной мешалкой помещают соединение **43** (1,21 г, 7,2 ммоль, 1 экв.) в 10 мл воды, после добавляют KOH (404 мг, 7.2 ммоль, 1 экв.), затем небольшими порциями добавляют перманганат калия (1.6 г, 10 ммоль, 1.4 экв.), смесь нагревают в течение часа, отфильтровывают от осадка и подкисляют до кислой среды. Выпавшую борную к-ту отфильтровывают, промывают эфиром. $M = 1.1$ г. Выход = 55% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [189].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 3.20 (с, 3 H), 7.88 (д, $J = 8.2$ Hz, 2 H), 8.01 (д, $J = 8.1$ Hz, 2 H), 8.37 (уш. с., 2 H)

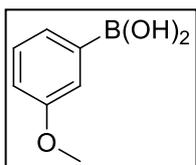
Синтез 4-трифторметилфенил-борной кислоты (45)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 1-бromo-4-трифторметилбензола (28.8 г, 130 ммоль). $M = 17.4$ г. Выход = 72% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [190].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 8.31 (уш.с, 2H), 8.00 (д, $J = 8.1$ Гц, 2H), 7.68 (д, $J = 8.1$ Гц, 2H).

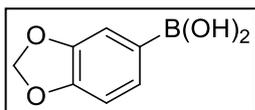
Синтез 3-метилтиофенил-борной кислоты (46)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 3-бromoанизола (26.5 г, 140 ммоль). $M = 13.4$ г. Выход = 62% Вещество представляет собой жёлтый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [191].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 8.03 (уш.с, 2H), 7.38-7.32 (м, 2H), 7.24 (т, $J = 8.0$ Гц, 1H), 6.94 (м, 1H), 3.74 (с, 3H).

Синтез Бензо[1,3]диоксол-1-5-ил-борной кислоты (47)



Вещество было синтезировано по общей методике 1 из 5-бромбензолдиоксолана (5.85 г, 30 моль). $M = 4.3$ г. Выход = 89%

Вещество представляет собой жёлтый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [186].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 6.87 (с, 1H), 6.86 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H), 6.64 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H), 5.66 (с, 2H).

Общая методика 2 (синтез арилборных кислот с использованием литийорганических соединений.)

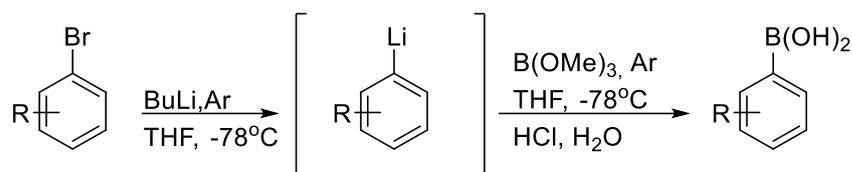
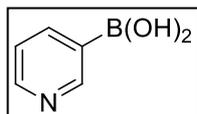


Схема 2. Общая методика 2

В трёх-горлую колбу, через которую пропускают инертный газ, помещают раствор 1 экв. арилгалогенида ТГФ (1М). Затем при -78°C и наличии тока инертного газа, к раствору по каплям добавляют бутиллитий (1.1 экв.), контролируя, чтобы температура не поднималась выше -70°C . После окончания добавления бутиллития, реакционную смесь перемешивают в течении часа, затем, также при -78°C и наличии тока инертного газа, к полученному литийорганическому соединению, по капля добавляют раствор триметилбората (2 экв.) в ТГФ (1М). После полного добавления реакционную смесь отогревают до комнатной температуры и выливают в водный раствор (2М) соляной кислоты (3 экв.). Затем, водный раствор экстрагируют этилацетатом 3×100 мл, а органический слой промывают насыщенным раствором хлорида натрия. Органический слой выдерживают над сульфатом натрия и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. После (если необходимо), упаренное твердое вещество перекристаллизовывают из воды. Вещества на анализ методом ядерно-магнитного резонанса, готовят с использованием в качестве дейтерорастворителя смеси **DMSO-d6** и капли **D2O**.

Список синтезированных борных кислот с использованием данной методики и их аналитические данные приведены ниже.

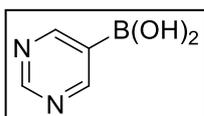
Синтез 3-пиридил-борной кислоты (31)



Вещество было синтезировано по общей методике 2 из 3-бромопиридина (8.5 г, 54 ммоль). $M = 4.7$ г. Выход = 71% Вещество представляет собой серый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [192].

ЯМР ^1H (DMSO-d6, D2O), δ м.д.: 8.64 (уш.с, 1H), 8.50 (м, 1H), 8.38 (уш.с, 1H), 7.65 (уш.с, 1H).

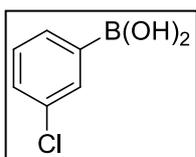
Синтез пириимидил-5-борной кислоты (32)



Вещество было синтезировано по общей методике 2 из 3-бромопириимидина (9 г, 57 ммоль). М = 3.3 г. Выход = 47% Вещество представляет собой жёлтый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [193].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 9.14 (с, 1H), 8.98 (с, 2H);

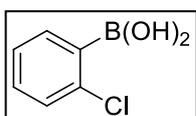
Синтез 3-хлорфенил-борной кислоты (34)



Вещество было синтезировано по общей методике 2 из 3-бромохлорбензола (8.5 г, 45 ммоль). М = 5.7 г. Выход = 82% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [193].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 8.3 (уш.с, 2H), 7.8(с, 1H), 7.7 (д, $J = 6.8$ Гц, 1H), 7.3-7.5 (м, 2H).

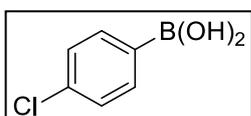
Синтез 2-хлорфенил-борной кислоты (35)



Вещество было синтезировано по общей методике 2 из 2-бромохлорбензола (11.3 г, 60 ммоль). М = 6.2 г. Выход = 67% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [194].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 8.2 (уш.с, 2H), 7.1-7.7 (м, 4H);

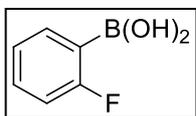
Синтез 4-хлорфенил-борной кислоты (36)



Вещество было синтезировано по общей методике 2 из 2-бромохлорбензола (8.5 г, 45 ммоль). Масса 3.9 г, выход 56% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [195].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 8.19 (уш.с, 2H), 7.8 (д, $J = 8.4$ Гц, 2H), 7.40 (д, $J = 8.4$ Гц, 2H).

Синтез 2-фторфенил-борной кислоты (39)

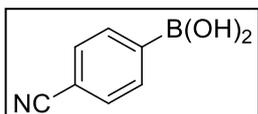


Вещество было синтезировано по общей методике 2 из 2-бромфторбензола (7.0 г, 40 ммоль). М = 4.5 г. Выход = 81% Вещество

представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [196].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 8.40 (уш.с, 1H), 7.21 (м, 1H), 6.96 (м, 1H), 6.87 (м, 1H), 2.30 (м, 2H).

Синтез 4-цианофенил-борной кислоты (44)



Вещество было синтезировано по общей методике 2 из 2-бромоцианобензола (11.25 г, 62 ммоль). $M = 7.0$ г. Выход = 77%

Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [193].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 8.35 (уш.с, 2H), 7.93 (д, $J = 8.1$ Гц, 2H), 7.78 (д, $J = 8.1$ Гц, 2H).

Синтез 3-карбоксифенил-борной кислоты (48)

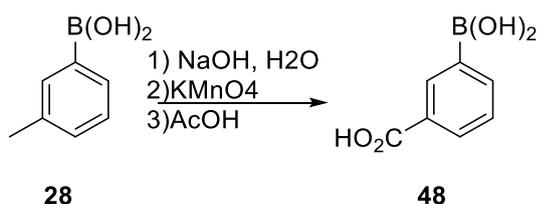


Схема 3. Синтез 3-карбоксифенил-борной кислоты (48)

3-Толилборную кислоту (6,8 г, 50 ммоль, 1 экв.) растворяют в воде (250 мл), добавляют NaOH (10 г, 250 ммоль, 5 экв.). Затем реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и порциями добавляют KMnO_4 (11.85 г, 75 ммоль, 1,5 экв.). Реакцию перемешивают в течении 5 часов, затем подкисляют уксусной кислотой до $\text{pH} = 8$. Образовавшийся осадок MnO_2 отфильтровывают и промывают горячей водой. Затем фильтрат подкисляют до $\text{pH} = 2$, происходит частичное выпадение осадка. Затем на роторном испарителе частично упаривают растворитель, а образовавшийся осадок отфильтровывают. $M = 4.2$ г. Выход = 45% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [197].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: 8.4 (с, 1H) 8.07 (м, 1H), 7.99 (м, 1H), 7.51 (м, 1H).

Синтез 2-карбоксифенил-борной кислоты (49)

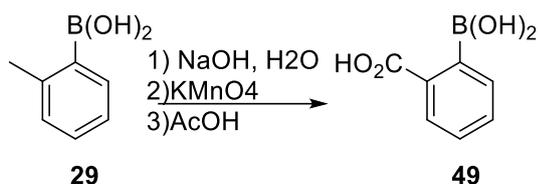


Схема 4. Синтез 2-карбоксифенил-борной кислоты (49)

2-Толилборную кислоту (6,8 г, 50 ммоль, 1 экв.) растворяют в воде (250 мл), добавляют NaOH (10 г, 250 ммоль, 5 экв.). Затем реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и порциями добавляют KMnO₄ (11.85 г, 75 ммоль, 1,5 экв.). Реакцию перемешивают в течении 5 часов, затем подкисляют уксусной кислотой до pH = 8. Образовавшийся осадок MnO₂ отфильтровывают и промывают горячей водой. Затем фильтрат подкисляют до pH = 2, происходит частичное выпадение осадка. Затем на роторном испарителе частично упаривают растворитель, а образовавшийся осадок отфильтровывают. М = 5.1 г. Выход = 54% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [198].

ЯМР ¹H (DMSO-d₆, D₂O), δ м.д.: 7.69 (д, J = 7.5 Гц, 1 H), 7.28 (дд, J = 7.2, 7.2 Гц, 1 H), 7.41 (д, J = 7.2 Гц, 1 H), 7.35 (дд, J = 7.2, 7.5 Гц, 1 H).

Синтез 4-карбоксифенил-борной кислоты (50)

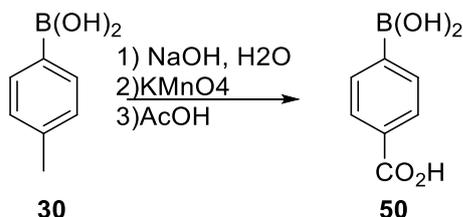


Схема 5. Синтез 4-карбоксифенил-борной кислоты (50)

3-Толилборную кислоту (6,8 г, 50 ммоль, 1 экв.) растворяют в воде (250 мл), добавляют NaOH (10 г, 250 ммоль, 5 экв.). Затем реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и порциями добавляют KMnO₄ (11.85 г, 75 ммоль, 1,5 экв.). Реакцию перемешивают в течении 5 часов, затем подкисляют уксусной кислотой до pH = 8. Образовавшийся осадок MnO₂ отфильтровывают и промывают горячей водой. Затем фильтрат подкисляют до pH = 2, происходит частичное выпадение осадка. Затем на роторном испарителе частично упаривают растворитель, а образовавшийся осадок отфильтровывают. М = 3.9 г. Выход = 38% Вещество представляет собой белый порошок. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [199].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , D_2O), δ м.д.: δ 7.92 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H), 7.90 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H).

Синтез 2-(3-брофенокси)тетрагидро-2H-пирана (51)

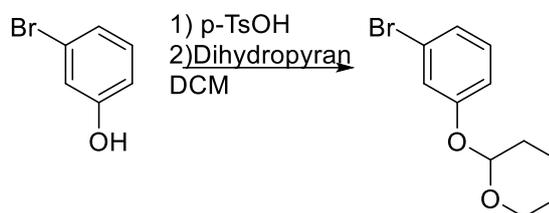


Схема 6. Синтез 2-(3-брофенокси)тетрагидро-2H-пиран (51)

Фенол (8.65 г, 50 ммоль, 1 экв.) растворяют в хлористом метиле (50 мл). Добавляют к раствору p-TsOH (0.86 г, 5 ммоль, 0.1 экв.) и затем добавляют дигидропиран (4.7 мл, 55 ммоль, 1.1 экв.). Реакцию перемешивают в течении 8 часов, затем промывают насыщенным раствором карбоната натрия и выдерживают над сульфатом натрия. Органический слой упаривают на роторном испарителе и используют без дальнейшей очистки. $M = 7.8$ г. Выход = 86% Вещество представляет собой оранжевое масло. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [193].

ЯМР ^1H (CDCl_3), δ м.д.: 1.57(м, 2H), 1.84(м, 2H), 1.97(м, 2H), 3.59(м, 1H), 3.84(м, 1H), 5.39(м, 1H), 6.96(м, 1H), 7.09(м, 1H), 7.12(м, 1H), 7.24(м, 1H).

Синтез 2-(4-брофенокси)тетрагидро-2H-пирана (52)

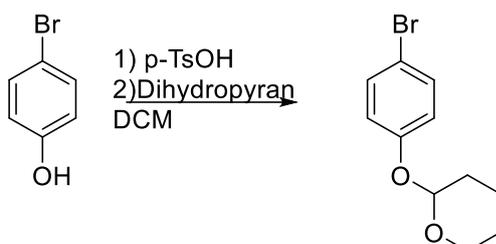


Схема 7. Синтез 2-(4-брофенокси)тетрагидро-2H-пиран (52)

Фенол (8.65 г, 50 ммоль, 1 экв.) растворяют в хлористом метиле (50 мл). Добавляют к раствору p-TsOH (0.86 г, 5 ммоль, 0.1 экв.) и затем добавляют дигидропиран (4.7 мл, 55 ммоль, 1.1 экв.). Реакцию перемешивают в течении 8 часов, затем промывают насыщенным раствором карбоната натрия и выдерживают над сульфатом натрия. Органический слой упаривают на роторном испарителе и используют без дальнейшей очистки. $M = 6.2$ г. Выход = 72% Вещество представляет собой оранжевое масло. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [193].

ЯМР ^1H (CDCl_3), δ м.д.: 1.74- 1.58 (м, 1H), 1.85-1.83 (м, 1H), 2.03-1.94 (м, 1H), 3.61-3.57 (м, 1H), 3.90-3.84 (м, 1H), 5.37 (т, $J = 3.2$ Гц, 1H), 6.94 (д, $J = 8.8$ Гц, 2H), 7.37 (д, $J = 8.8$ Гц, 2H).

3.2 Синтез производных изатина

Общая методика 3 (Синтез 5-арилизатинов реакцией Сузуки).

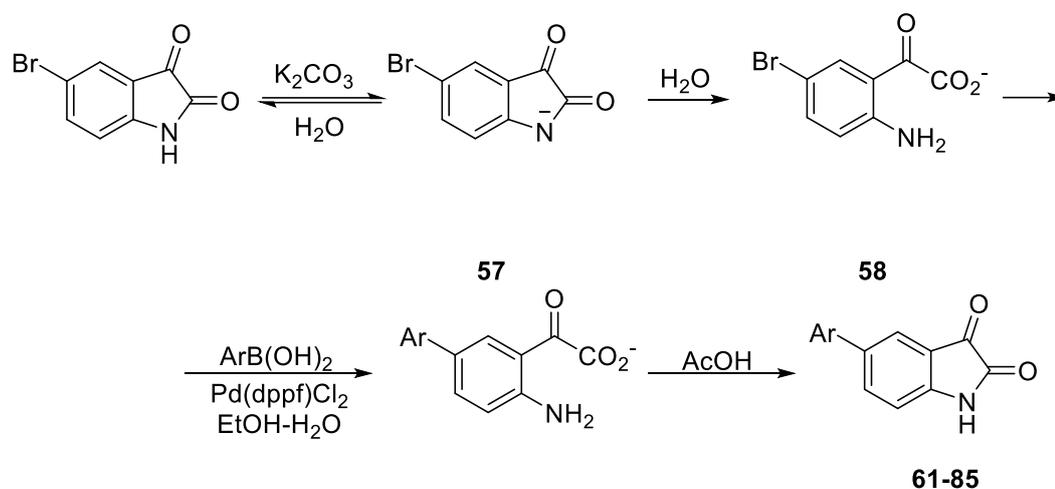


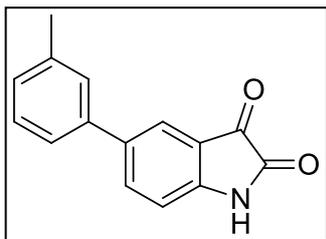
Схема 8. Общая методика 3

В колбу, снабжённую обратным холодильником, через которую пропускают ток инертного, газа помещают 5-бромизатин (1 экв). Его суспендируют в смеси этанол (1М) и вода (1М), в соотношении 1:1. Затем, к реакционной смеси, добавляют 3 экв. карбоната калия и кипятят смесь до её обесцвечивания. После, охлаждают реакционную смесь до комнатной температуры. Затем к реакционной смеси добавляют 2 эквивалента арилборной кислоты, 4 эквивалента карбоната калия и 5% (по молям) дифенилфосфинферроцен палладия дихлорида. Реакционную смесь кипятят в течение 8 часов, затем охлаждают до комнатной температуры и выливают в уксусную кислоту. После этого, раствор уксусной кислоты кипятят в течение 10 минут и охлаждают до комнатной температуры. Образовавшийся осадок отфильтровывают. При необходимости осадок перекристаллизовывают из этилового спирта.

В других случаях, в раствор уксусной кислоты добавляют воду и экстрагируют этилацетатом. Затем выдерживают над сульфатом натрия, упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении, а упаренный остаток хроматографируют. В качестве подвижной фазы используют систему гексан: этилацетат (1:1 или 0:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Если требуется, в дальнейшем вещество перекристаллизовывают из этанола.

Список синтезированных структур с использованием данной методики приведен ниже.

Синтез 5-(3-толил)индол-2,3-диона (61)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.84 г, 3.7 ммоль). М = 540 мг. Выход = 52%, $T_{пл.} = 240-244^{\circ}\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1), и дальнейшей перекристаллизации из этанола. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [200].

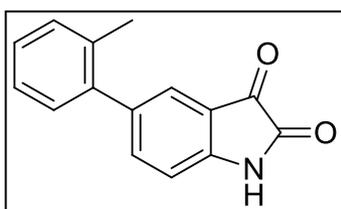
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 2.37 (с, 3H), 7.00 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.17 (д, $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.34 (т, $J = 7.6$ Гц, 1H), 7.44 (д, $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.48 (с, 1H), 7.75 (д, $J = 1.7$ Гц, 1H), 7.89 (дд, $J = 8.2, 1.8$ Гц, 1H), 11.12 (с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 20.6, 112.7, 118.4, 122.1, 126.0 (2C), 129.6 (2C), 134.8, 135.8, 136.2, 136.8, 149.8, 159.6, 184.4.

IR ν_{max} (nujol): 3253(br), 2947, 2922, 2854, 1745, 1716, 1620, 1462, 1377, 1286, 1207, 652 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано для $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 260.0682; Найдено $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 260.0682.

Синтез 5-(2-толил)индол-2,3-диона (62)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.84 г, 3.7 ммоль). М = 231 мг. Выход = 23%, $T_{пл.} = 232-235^{\circ}\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1) и дальнейшей перекристаллизации из этанола. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [200].

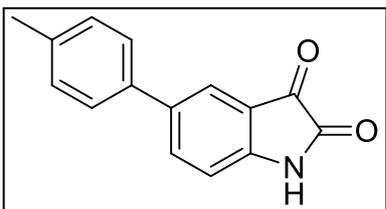
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 2.23 (с, 3H), 6.99 (д, $J = 8.1$ Гц, 1H), 7.16 - 7.20 (м, 1H), 7.21 - 7.31 (м, 3H), 7.42 (д, $J = 1.7$ Гц, 1H), 7.55 (дд, $J = 8.1, 2.0$ Гц, 1H), 11.12 (с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 20.1, 112.1, 117.8, 124.6, 126.1, 127.6, 129.4, 130.5, 134.8, 135.7, 138.9, 139.7, 149.6, 159.5, 184.4.

IR ν_{max} (nujol): 3257 (уш), 2954, 2924, 2854, 1765, 1728, 1620, 1475, 1379, 1207, 746 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано для $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 260.0682; Найдено $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 260.0683.

Синтез 5-(4-толил)индол-2,3-диона (63)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.84 г, 3.7 ммоль). М = 424 мг. Выход = 48%, $T_{пл.} = 248-250^{\circ}\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием перекристаллизации из уксусной кислоты. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [162].

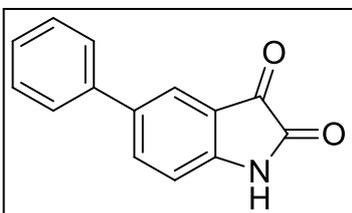
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 2.33 (с, 3H), 6.98 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.24 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H), 7.52 (д, $J = 8.1$ Гц, 2H), 7.71 (д, $J = 1.6$ Гц, 1H), 7.85 (дд, $J = 8.2, 2.0$ Гц, 1H), 10.43- 11.69 (уш. с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 20.6, 112.7, 118.4, 122.1, 126.0 (2C), 129.6 (2C), 134.8, 135.8, 136.2, 136.8, 149.8, 159.6, 184.4.

IR ν_{max} (nujol): 3257 (уш.), 2925, 2852, 1732, 1616, 1460, 1377 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано для $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 260.0682; Найдено $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 260.0683.

Синтез 5-фенил-индол-2,3-диона (64)

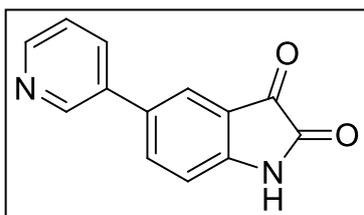


Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (1.2 г, 5.4 ммоль). М = 311 мг. Выход = 26%, $T_{пл.} = 208-211^{\circ}\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1) и дальнейшей перекристаллизации из этанола. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [201].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 7.00 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.36 (т, $J = 7.3$ Гц, 1H), 7.45 (т, $J = 7.6$ Гц, 2H), 7.64 (д, $J = 7.7$ Гц, 2H), 7.75 (д, $J = 1.2$ Гц, 1H), 7.90 (дд, $J = 8.2, 1.8$ Гц, 1H), 11.13 (с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 112.7, 118.4, 122.4, 126.2 (2C), 127.4, 129.0 (2C), 134.9, 136.4, 138.7, 149.9, 159.5, 184.3.

Синтез 5-(пиридин-3-ил)индол-2,3-диона (65)

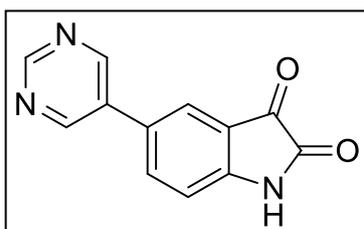


Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.92 г, 4.0 ммоль). $M = 329$ мг. Выход = 36%, $T_{пл.} = 221-223^{\circ}C$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием перекристаллизации из уксусной кислоты. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [202].

ЯМР 1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 7.02 (д, $J = 8.1$ Гц, 1H), 7.45 (дд, $J = 7.2, 5.0$ Гц, 1H), 7.85 (с, 1H), 7.96 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 8.07 (д, $J = 8.1$ Гц, 1H), 8.55 (д, $J = 4.2$ Гц, 1H), 8.87 (с, 1H), 11.17 (с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 112.8, 118.6, 122.8, 123.8, 131.7, 133.7, 134.3, 136.6, 147.2, 148.4, 150.4, 159.5, 184.2.

Синтез 5-(пиримидин-5-ил)индол-2,3-диона (66)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.75 г, 3.3 ммоль). $M = 412$ мг. Выход = 56%, $T_{пл.} = 288-292^{\circ}C$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (1:1).

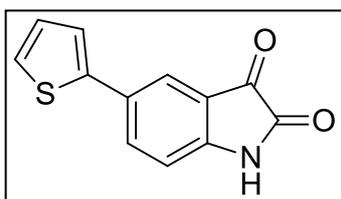
ЯМР 1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 7.05 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.99 (д, $J = 1.6$ Гц, 1H), 8.03 (дд, $J = 8.2, 1.8$ Гц, 1H), 9.13 (с, 2H), 9.16 (с, 1H), 11.21 (с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 112.9, 118.6, 123.1, 128.3, 132.0, 136.6, 151.0, 154.3 (2C), 157.1, 159.4, 184.0.

IR ν_{max} (nujol): 2964, 2949, 2929, 2906, 2846, 1726, 1618, 1464, 1377, 719 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано для $C_{12}H_8N_3O_2Na$ $[M+Na]^+$, 226.0611; Найдено $[M+Na]^+$ 226.0608.

Синтез 5-(тиофен-2-ил)индол-2,3-диона (67)



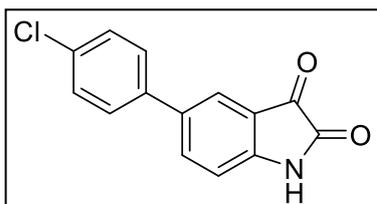
Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (1.56 г, 7.0 ммоль). $M = 412$ мг. Выход = 26%, $T_{пл.} = 218-220^{\circ}C$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в

качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1). Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [162].

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 6.97 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.13 (дд, $J = 4.9, 3.8$ Гц, 1H), 7.52 (с, 1H), 7.53 - 7.54 (м, 1H), 7.75 (д, $J = 2.0$ Гц, 1H), 7.86 (дд, $J = 8.2, 2.1$ Гц, 1H), 11.14 (с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 112.8, 118.4, 121.0, 123.6, 125.4, 128.5, 128.7, 134.9, 141.9, 149.6, 159.4, 184.2.

Синтез 5-(4-хлорфенил)индол-2,3-диона (68)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бромоизатина (0.33 г, 1.5 ммоль). $M = 212$ мг. Выход = 39%, $T_{\text{пл.}} = 300-302^\circ\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено

перекристаллизацией из этанола. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [203].

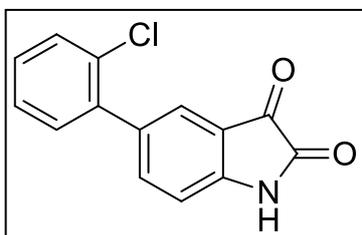
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 7.00 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.48 (д, $J = 8.6$ Гц, 2H), 7.66 (д, $J = 8.6$ Гц, 2H), 7.76 (д, $J = 1.8$ Гц, 1H), 7.88 (дд, $J = 8.2, 2.0$ Гц, 1H) 11.17 (с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 112.7, 118.4, 122.5, 128.0 (2C), 128.9 (2C), 132.3, 133.5, 136.4, 137.5, 150.2, 159.5, 184.2.

IR ν_{max} (nujol): 3462, 3209 (уш), 2945, 2925, 2852, 1747, 1716, 1460, 1377, 1311, 1211, 823, 742 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано для $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{ClNO}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 280.0136; Найдено $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 280.0137.

Синтез 5-(2-хлорфенил)индол-2,3-диона (69)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бромоизатина (1.12 г, 5.0 ммоль). $M = 550$ мг. Выход = 43%, $T_{\text{пл.}} = 304-310^\circ\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии в качестве неподвижной фазы

использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

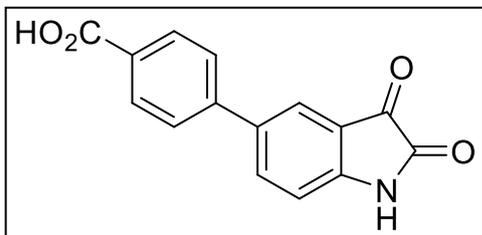
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 7.02 (д, $J = 8.1$ Гц, 1H), 7.37 - 7.44 (м, 3H), 7.52 (д, $J = 1.8$ Гц, 1H), 7.53 - 7.57 (м, 1H), 7.66 (дд, $J = 8.1, 2.0$ Гц, 1H), 11.16 (с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 112.0, 117.6, 125.0, 127.6, 129.3, 129.8, 131.2 (2C), 133.0, 138.1, 139.0, 150.1, 159.4, 184.0.

IR v_{max} (nujol): 3237, 1769, 1738, 1728, 1716, 1620, 1465, 1456, 1201, 836, 741 см⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано для C₁₄H₈ClNO₂Na [M+Na]⁺, 280.0136; Найдено [M+Na]⁺ 280.0139.

Синтез 4-(2,3-диоксииндол-5-ил)фенил формата(70)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.81 г, 3.6 ммоль). М = 718 мг. Выход = 75%, T_{пл.} = 290-292°C. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием

перекристаллизации из уксусной кислоты.

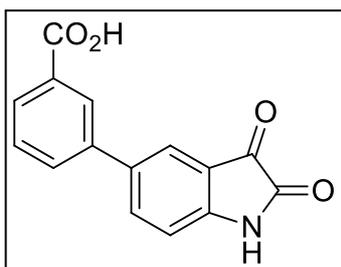
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 1.91 (с, 3H), 7.04 (д, J = 8.2 Гц, 1H), 7.79 (д, J = 8.2 Гц, 2H), 7.86 (с, 1H) 7.96 - 8.03 (м, 3H) 11.21 (уш. с., 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 21.1, 112.8, 118.5, 122.8, 126.2 (2C), 129.96 (2C), 130.03, 133.7, 136.7, 142.6, 150.5, 159.5, 167.2, 172.0, 184.2.

IR v_{max} (nujol): 3261 (уш.), 2931, 2920, 2854, 1770. 1734, 1697, 1621, 1608, 1462, 1377, 1302 см⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано для C₁₅H₉NO₄Na [M+Na]⁺ 290.0424; Найдено [M+Na]⁺ 290.0422.

Синтез 3-(2,3-диоксииндол-5-ил)фенил формата (80)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.92 г, 4.0 ммоль). М = 810 мг. Выход = 75%, T_{пл.} = 282-290°C. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено перекристаллизацией из уксусной кислоты

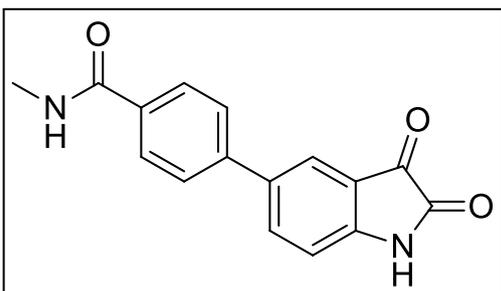
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 7.00 (д, J = 8.2 Гц, 1H), 7.56 (т, J = 7.7 Гц, 1H), 7.76 (с, 1H), 7.87 (д, J = 7,6 Гц, 1H), 7.89 - 7.96 (м, 2H), 8.12 (с, 1H), 11.14 (с, 1H), 13.00 (уш. с, 1H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 112.8, 118.5, 122.6, 126.9, 128.3, 129.4, 130.6, 131.6, 134.0, 136.6, 139.1, 150.3, 159.5, 167.2, 184.2.

IR v_{max} (nujol): 3623, 2922, 2854, 1745, 1711, 1622, 1460, 1377, 1315, 756 см⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано для C₁₅H₉NO₄Na [M+Na]⁺, 290.0424; Найдено [M+Na]⁺ 290.0424.

Синтез 4-(2,3-диоксоиндол-5-ил)-N-метилбензамида (86)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.33 г, 1.4 ммоль). $M = 228$ мг. Выход = 56%, $T_{пл.} = 310^{\circ}C$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено перекристаллизацией из уксусной кислоты

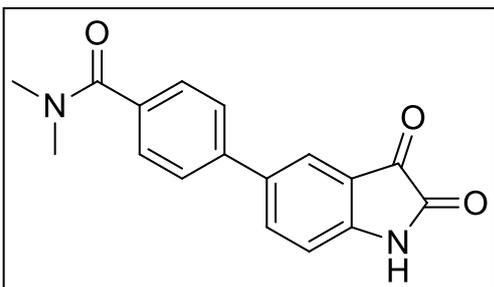
ЯМР 1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 2.80 (с, 3H), 7.00 (д, $J = 7.0$ Гц, 1H), 7.74 (д, $J = 6.2$ Гц, 2H), 7.82 (с, 1H), 7.87 - 7.99 (м, 3H), 8.47 (с, 1H), 11.17 (уш. с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 26.3, 112.7, 118.5, 122.7, 126.0 (2C), 127.8 (2C), 133.3, 133.8, 136.6, 141.1, 150.3, 159.6, 166.2, 184.3.

IR ν_{max} (nujol): 3394, 2924, 2858, 1752, 1739, 1624, 1603, 1541, 1464, 1377, 1306 cm^{-1}

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $C_{16}H_{13}N_2O_3$ $[M+H]^+$, 281.0921; Найдено $[M+Na]^+$ 281.0925.

Синтез 4-(2,3-диоксоиндол-5-ил)-N,N-диметилбензамида (87)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.63 г, 2.7 ммоль). $M = 319$ мг. Выход = 39%, $T_{пл.} = 320-324^{\circ}C$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено перекристаллизацией из уксусной кислоты

ЯМР 1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 2.97 (с, 3H), 2.99 (с, 3H), 7.02 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.48 (д, $J = 8.3$ Гц, 2H), 7.71 (д, $J = 8.3$ Гц, 2H), 7.81 (д, $J = 1.7$ Гц, 1H), 7.94 (дд, $J = 8.2, 2.0$ Гц, 1H), 11.17 (уш. с., 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 34.8, 112.8, 118.5, 122.5, 126.0 (2C), 127.7 (2C), 134.0, 135.4, 136.5, 139.6, 150.4, 159.6, 169.8, 184.4.

IR ν_{max} (nujol): 3421(уш), 3163(уш), 2929, 2918, 2854, 1751, 1624, 1462, 1377, 1261 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $C_{17}H_{14}N_2O_3Na$ $[M+Na]^+$, 317.0897; Найдено $[M+Na]^+$ 317.0891.

Синтез 4-(2,3-диоксоиндол-5-ил)-N-(2-метоксиэтил)бензамид (88)

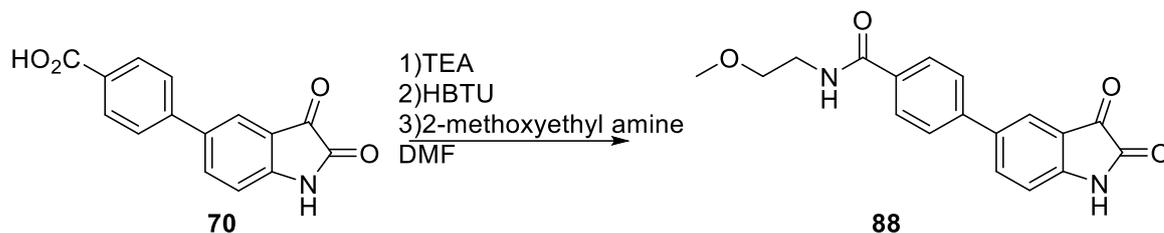


Схема 9. Синтез 4-(2,3-диоксоиндол-5-ил)-N-(2-метоксиэтил)бензамид (88)

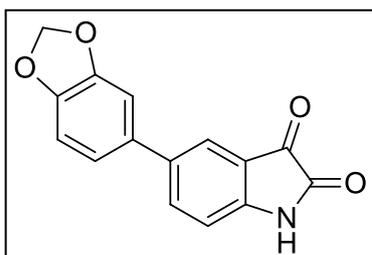
Навеску вещества **70** (648 мг, 2 ммоль, 1 экв.), растворяют в 4 мл ДМФ, затем к раствору добавляют триэтиламин (0.556 мл, 4 ммоль, 2 экв.), через 5 минут, к реакционной смеси добавляют ХБТУ (758 мг, 4 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивают в течение 10 минут. Затем добавляют 2-метоксиэтиламин (0.478 мл, 4 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивают в течение 6 часов. Затем добавляют насыщенный раствор гидрокарбоната натрия и полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x 10 мл). Органический слой выдерживают над сульфатом натрия и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Затем твердый остаток был подвергнут очистке методом препаративной хроматографии, с использованием в качестве подвижной фазы градиент системы ацетонитрил: трифторуксусная кислота (до 100%), а в качестве неподвижной фазы, агарозного сорбента. Масса вещества 35 мг, выход реакции 5%. Вещество представляет собой красный порошок.

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 3.41 - 3.50 (м, 4 H), 7.01 (д, $J = 8.3$ Гц, 1 H), 7.76 (д, $J = 7.9$ Гц, 2 H), 7.83 - 7.87 (м, 1 H), 7.92 (д, $J = 8.1$ Гц, 2 H), 7.97 (д, $J = 8.4$ Гц, 1 H), 8.56 (уш. с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 34.8, 112.8, 118.5, 122.5, 126.0 (2C), 127.7 (2C), 134.0, 135.4, 136.5, 139.6, 150.4, 159.6, 169.8, 184.4.

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 324.3306; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 324.3302.

Синтез 5-(бензо[1,3]диоксол-5-ил)индол-2,3-диона (73)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бромозатина (1.17 г, 5.2 ммоль). $M = 511$ мг. Выход = 37%, $T_{\text{пл.}} = 254^\circ\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено перекристаллизацией из уксусной кислоты

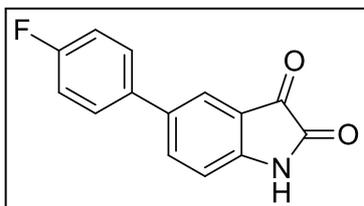
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 6.05 (с, 2 H), 6.95 (дд, $J = 8.1, 3.9$ Гц, 2 H), 7.10 (дд, $J = 8.1, 1.6$ Гц, 1 H), 7.22 (д, $J = 1.2$ Гц, 1 H), 7.67 (д, $J = 1.5$ Гц, 1 H), 7.81 (дд, 1 H), 11.22 (уш. с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 101.5, 107.1, 109.0, 112.9, 118.6, 120.1, 122.6, 133.3, 135.1, 136.5, 147.2, 148.3, 150.0, 159.9, 184.8.

IR ν_{max} (nujol): 3237, 1769, 1738, 1728, 1716, 1620, 1465, 1456, 1201, 836, 741 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 268.0604; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 268.0560.

Синтез 5-(4-фторфенил)индол-2,3-диона (74)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бромоизатина (11.7 г, 52 ммоль). $M = 9.5$ г. Выход = 76%, $T_{\text{пл.}} = 220^\circ\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено перекристаллизацией из

уксусной кислоты

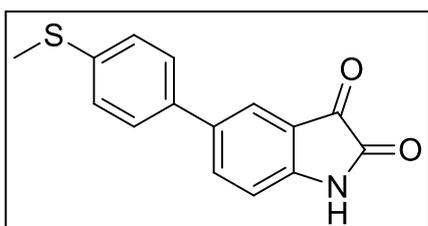
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 7.00 (д, $J = 8.3$ Гц, 1 H), 7.27 (т, $J = 8.7$ Гц, 2 H), 7.70 (дд, $J = 8.6, 5.4$ Гц, 2 H), 7.75 (с, 1 H), 7.88 (дд, $J = 8.1, 1.7$ Гц, 1 H), 11.14 (с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 113.3, 116.2 (д, $J = 21.2$ Гц, 2 C), 118.8, 122.8, 128.7 (д, $J = 8.1$ Гц, 2 C), 134.2, 135.7 (д, $J = 2.9$ Гц), 136.8, 150.9, 160.2, 162.3 (д, $J = 244.4$ Гц), 174.0, 185.1.

IR ν_{max} (nujol): 3237, 1769, 1738, 1728, 1716, 1620, 1465, 1456, 1201, 836, 741 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{FNO}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 264.0431; Найдено $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 264.0430.

Синтез 5-(4-(метилтио)фенил)индол-2,3-диона (75)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бромоизатина (3.36 г, 15 моль). $M = 1.4$ г. Выход = 35%, $T_{\text{пл.}} = 212^\circ\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено перекристаллизацией из уксусной кислоты

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 2.49 (с, 3 H), 6.97 (д, $J = 8.2$ Гц, 1 H), 7.31 (д, $J = 8.1$ Гц, 2 H), 7.59 (д, $J = 7.9$ Гц, 2 H), 7.74 (с, 1 H), 7.87 (д, $J = 7.8$ Гц, 1 H), 11.11 (уш. с., 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 14.30, 111.7, 114.9, 127.3, 129.4 (2 C), 129.5, 130.1 (2 C), 137.2, 138.3, 139.5, 140.3, 160.3 180.5.

IR ν_{max} (nujol): 2841, 1817, 1659, 1601, 1543, 1420, 1360, 1300 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 270.0583; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 270.0582.

Синтез 5-(4-(метилсульфинил)фенил)индол-2,3-диона (92)

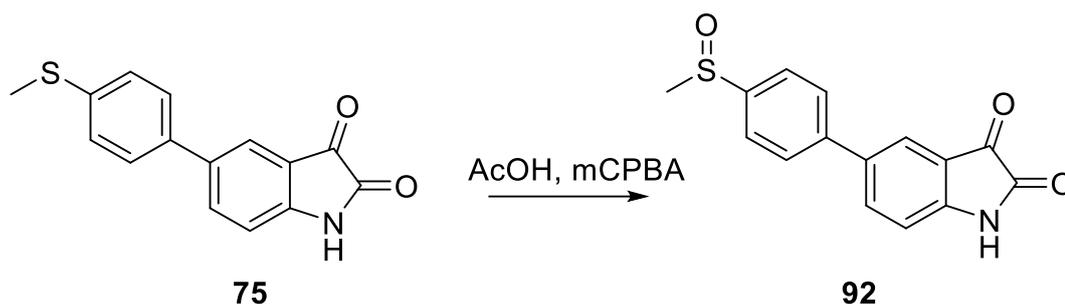


Схема 10. Синтез 5-(4-(метилсульфинил)фенил)индол-2,3-диона (92)

Вещество **75** (538 мг, 2 ммоль, 1 экв.) растворяют в 7.4 мл уксусной кислоте, после добавляют м-хлорпербензойную кислоту (674 мг, 2 ммоль, 1 экв.). После доводят смесь до кипения, а затем, охлаждают до комнатной температуры. Реакционную смесь выливают в воду, а после экстрагируют этилацетатом 3x50 мл, выдерживают над сульфатом магния и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Затем, остаток разделяют методом колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы используют систему гексан: этилацетат (1:1 или 0:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.8. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Масса = 233 мг. Выход = 55%. Вещество представляет собой порошок красного цвета, с T_{пл.} 210°C.

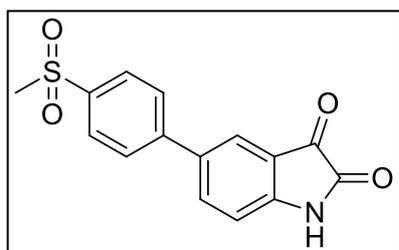
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 2.77 (с, 3 H), 7.01 (д, J = 8.1 Гц, 1 H), 7.74 (д, J = 8.1 Гц, 2 H), 7.82 - 7.89 (м, 3 H), 7.95 (д, J = 7.0 Гц, 1 H), 11.16 (с, 1 H), 11.94 (уш. с., 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 21.5, 113.2, 119.0, 123.2 124.8, 127.5 (2 C), 134.1, 137.2 (2 C), 141.5, 150.9, 160.0, 171.4, 183.0

IR ν_{max} (nujol): 3421(br), 2929, 2918, 2854, 1624, 1462, 1377, 1261 см⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано C₁₅H₁₁NO₃S [M+H]⁺, 286.0532; Найдено [M+H]⁺ 286.0530.

Синтез 5-(4-(метилсульфонил)фенил)индол-2,3-диона (76)



уксусной кислоты

ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 3.24 (с, 3 H), 7.02 (д, J = 8.2 Гц, 1 H), 7.87 (с, 1 H), 7.91 - 8.01 (м, 5 H), 11.20 (с, 1 H).

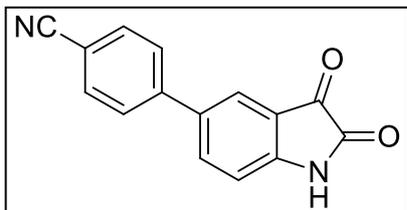
Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бромизатина (0.32 г, 1.4 ммоль), представляет собой тёмно-красный порошок. М = 192 мг. Выход = 46%. Вещество представляет собой порошок красного цвета, с T_{пл.} 258°C. Вещество было выделено перекристаллизацией из

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 44.0, 113.3, 119.0, 123.5, 127.50 (2 C), 128.1, 133.3, 137.3 (2 C), 139.9, 144.0, 151.3, 160.0, 184.6.

IR ν_{max} (nujol): 3418, 2872, 2850, 1772, 1730, 1518, 1400, 1382, 1225 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 301.3171; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 301.3170.

Синтез 5-(4-цианофенил)индол-2,3-диона (77)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.6 г, 2.6 ммоль). $M = 135$ мг. Выход = 21%, $T_{\text{пл.}} = 198\text{-}200^\circ\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

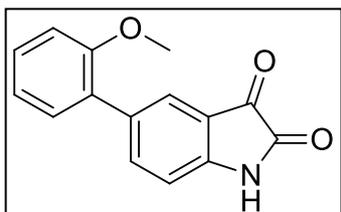
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 6.86 (д $J = 8.3$ Гц, 2 H), 7.61 - 7.66 (м, 2 H), 7.68 - 7.75 (м, 2 H), 7.92 - 8.03 (м, 1 H), 11.18 (уш. с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 110.4, 113.3, 119.0, 119.3, 123.5, 127.5 (2 C), 132.8 (2 C), 137.2, 140.8, 143.6, 151.3, 160.0, 184.5.

IR ν_{max} (nujol): 3280, 2611, 1822, 1719, 1694, 1627, 1500, 1427 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{15}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 249.0659; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 249.0660.

Синтез 5-(2-метоксифенил)индол-2,3-диона (78)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.53 г, 2.3 ммоль). $M = 218$ мг. Выход = 37%, $T_{\text{пл.}} = 236^\circ\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1)

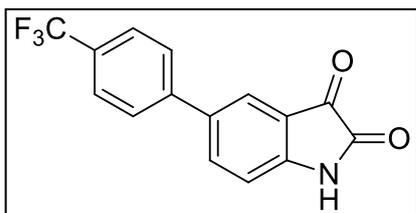
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 3.78 (с, 3 H), 6.94 - 7.00 (м, 1 H), 7.00 - 7.06 (м, 1 H), 7.09 - 7.15 (м, 1 H), 7.27 - 7.32 (м, 1 H), 7.32 - 7.39 (м, 1 H), 7.57 (с, 1 H), 7.66 - 7.72 (м, 1 H), 10.99 - 11.13 (м, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 55.8, 112.6, 121.1, 123.5, 126.9, 130.2, 133.4, 138.8, 147.3, 149.4, 154.9, 156.9, 158.9, 180.6, 185.3.

IR ν_{max} (nujol): 2858, 1952, 1754, 1624, 1604, 1541, 1443, 1377, 1306 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 254.0812; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 254.0812.

Синтез 5-(4-трифторметилфенил)индол-2,3-диона (79)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (1.14 г, 5.0 ммоль). М = 793 мг. Выход = 54%, Т_{пл.} = 204°C. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием перекристаллизации из уксусной кислоты

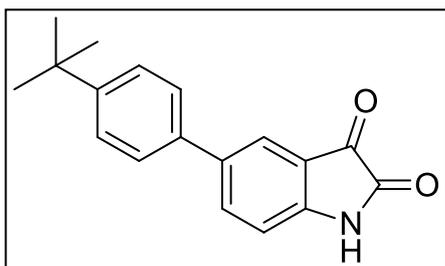
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 7.03 (д, J = 8.1 Гц, 1 H), 7.78 (д, J = 8.3 Гц, 2 H), 7.84 - 7.90 (м, 3 H), 7.97 (дд, J = 8.3, 1.9 Гц, 1 H), 11.19 (с, 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 113.2, 119.0, 123.4, 126.2 (д, J = 3.7 Гц, 2 C), 127.4 (2 C), 128.4 (д, J = 32.9 Гц), 133.6, 137.2, 143.1, 151.1, 160.0, 184.6.

IR ν_{max} (nujol): 3364, 2872, 1841, 1740, 1688, 1603, 1540, 1488, 1379 см⁻¹

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано C₁₅H₈F₃NO₂ [M+H]⁺, 292.0604; Найдено [M+H]⁺ 292.0607.

Синтез 5-(4-третбутилфенил)индол-2,3-диона (81)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.6 г, 2.7 ммоль). М = 112 мг. Выход = 15%, Т_{пл.} = 182°C. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием перекристаллизации из уксусной кислоты.

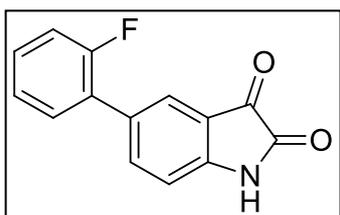
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 1.29 (с, 9 H), 6.98 (д, J = 8.1 Гц, 1 H), 7.44 (д, J = 8.1 Гц, 2 H), 7.55 (д, J = 8.3 Гц, 2 H), 7.72 (с, 1 H), 7.80 - 7.89 (м, 1 H), 11.11 (с, 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 31.1 (3 C), 33.7, 111.9, 114.8, 124.4 (2 C), 127.9 (2 C), 134.4, 137.1, 138.8, 149.6, 158.8, 159.6, 182.9, 185.0.

IR ν_{max} (nujol): 3394, 2924, 2858, 1752, 1739, 1624, 1603, 1541, 1464, 1377, 1306 см⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано C₁₈H₁₇NO₂ [M+H]⁺, 280.3331; Найдено [M+H]⁺ 280.3333.

Синтез 5-(2-фторфенил)индол-2,3-диона (82)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (1.17 г, 5.0 ммоль). М = 560 мг. Выход = 47%, Т_{пл.} = 212°C. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием перекристаллизации из уксусной кислоты.

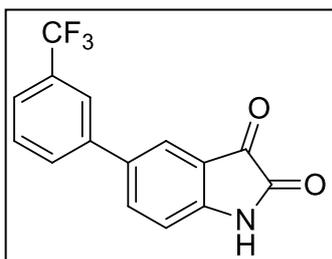
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 7.02 (д, $J = 8.3$ Гц, 1 H), 7.16 - 7.34 (м, 2 H), 7.35 - 7.45 (м, 1 H), 7.51 (т, $J = 7.6$ Гц, 1 H), 7.61 (уш. с., 1 H), 7.75 (д, $J = 7.9$ Гц, 1 H), 11.18 (уш. с., 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 112.9, 116.5(д, $J = 22.69$ Гц), 118.5, 124.9 (д, $J = 2.93$ Гц), 125.4 (д, $J = 2.93$ Гц), 127.1, 127.2, 129.9, 130.0 (д, $J = 8.05$ Гц), 130.7, 138.9, 150.6, 159.4 (д, $J = 245.90$ Гц), 159.9, 184.6.

IR ν_{max} (nujol): 3237, 1769, 1738, 1728, 1716, 1620, 1465, 1456, 1201, 836, 741 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_4\text{H}_8\text{FNO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 242.0612; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 242.0612.

Синтез 5-(3-трифторметилфенил)индол-2,3-диона (83)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (0.252 г, 1.1 ммоль). $M = 218$ мг. Выход = 67%, $T_{\text{пл.}} = 242^\circ\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался

SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

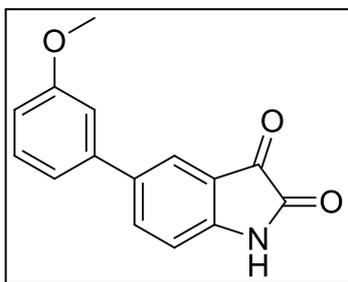
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 7.01 (д, $J = 8.19$ Гц, 1 H), 7.62 - 7.70 (м, 2 H), 7.86 (д, $J = 1.83$ Гц, 1 H), 7.93 - 7.97 (м, 3 H), 11.18 (с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 113.2, 118.9, 123.2 (д, $J = 3.66$ Гц), 123.4, 124.4 (д, $J = 3.66$ Гц), 126.0, 130.1, 130.4, 130.5, 130.8, 136.9 (д, $J = 665, 24$ Гц), 137.2, 151.0, 160.0, 184.6

IR ν_{max} (nujol): 3421(уш.), 3163(уш.), 2929, 2918, 2854, 1751, 1624, 1462, 1377, 1261 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{15}\text{H}_8\text{F}_3\text{NO}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 314.0424; Найдено $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 314.0416.

Синтез 5-(3-метоксифенил)индол-2,3-диона (84)



Вещество было синтезировано по общей методике 3 из 5-бromoизатина (1.17 г, 5.2 ммоль). $M = 157$ мг. Выход = 12%, $T_{\text{пл.}} = 210^\circ\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. Вещество было выделено перекристаллизацией из уксусной кислоты. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [204].

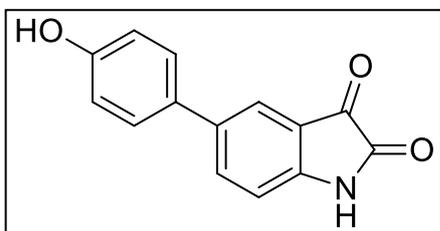
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 3.83 (с, 3 H), 6.71 - 6.85 (м, 1 H), 6.96 - 7.08 (м, 2 H), 7.15 - 7.25 (м, 2 H), 7.32 - 7.44 (м, 1 H), 7.89 (д, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 55.6, 112.0, 112.8, 113.6, 119.0, 123.0, 130.5, 133.3, 137.1, 139.4, 149.3, 158.5, 162.2, 183.3, 186.

IR v_{max} (nujol): 3623, 2922, 2854, 1745, 1711, 1622, 1460, 1377, 1315, 756 см⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано C₁₅H₁₁NO₃Na [M+Na]⁺, 276.0631; Найдено [M+Na]⁺ 276.0632.

Синтез 5-(4-гидроксифенил)индол-2,3-диона (71)



Данная структура была синтезирована с использованием методики синтеза 3, за исключением того, что реакционная смесь в уксусной кислоте выдерживалась при комнатной температуре в течение суток (для удаления тетрагидропиранильной защиты),

затем экстрагировалась и упаривалась на роторном испарителе при пониженном давлении. Затем остаток очищали методом колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы используют систему гексан: этилацетат (3:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.5. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. M = 108 мг. Выход = 14%, T_{пл.} = 182°C. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок.

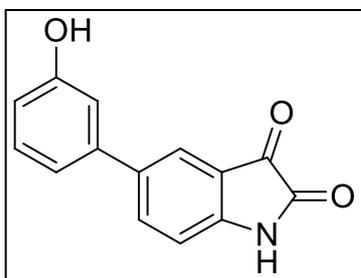
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 6.84 (д, J = 8.6 Гц, 2H), 6.95 (д, J = 8.2 Гц, 1H), 7.46 (д, J = 8.6 Гц, 2H), 7.65 (д, J = 1.6 Гц, 1H), 7.80 (дд, J = 8.2, 2.0 Гц, 1H), 9.56 (уш. с, 1H), 11.06 (с, 1H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 112.6, 115.8 (2C), 118.3, 121.7, 127.4 (2C), 129.5, 135.2, 135.7, 149.1, 157.2, 159.6, 184.5.

IR v_{max} (nujol): 2964, 2949, 2929, 2906, 2846, 1726, 1618, 1464, 1377, 719 см⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано C₁₄H₉NO₃Na [M+Na]⁺, 262.0476; Найдено [M+Na]⁺ 262.0477.

Синтез 5-(3-гидроксифенил)индол-2,3-диона (72)



Данная структура была синтезирована с использованием методики синтеза 3, за исключением того, что реакционная смесь в уксусной кислоте выдерживалась при комнатной температуре в течение суток (для удаления тетрагидропиранильной защиты), затем экстрагировалась и упаривалась на роторном испарителе. Затем остаток очищают

методом колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы используют систему гексан: этилацетат (3:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. M = 92 мг. R_f = 0.3. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Выход = 6%, T_{пл.} = 188°C.

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 6.77 (д, $J = 7.2$ Гц, 1H), 6.94 - 7.01 (м, 2H), 7.03 (д, $J = 7.1$ Гц, 1H), 7.24 (т, $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.65 (с, 1H), 7.82 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H), 9.53 (с, 1H), 11.11 (с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 112.6, 113.0, 114.5, 117.0, 118.3, 122.2, 130.0, 135.1, 136.4, 140.2, 149.9, 157.9, 159.5, 184.4.

IR ν_{max} (nujol): 2960, 2940, 2900, 2715, 1645, 1610, 1553, 1324, 887 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 262.0476; Найдено $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 262.0476.

Общая методика 4 (Синтез сложных эфиров)

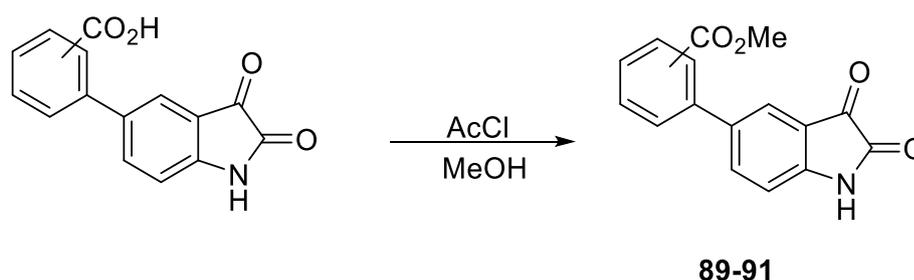
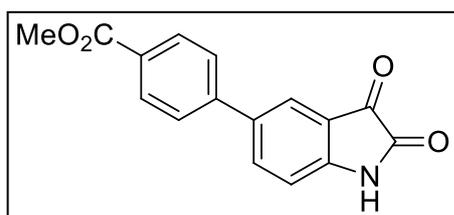


Схема 11. Общая методика 4

Карбоновую кислоту (1 экв.) растворяют в метаноле (1 М), затем по каплям добавляют 2 эквивалента AcCl. Полученную реакционную смесь кипятят в течение 5 часов с обратным холодильником. Через 5 часов реакционную смесь упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении.

Ниже приведены структуры, синтезированные с использованием данной методики

Синтез метил 4-(2,3-диоксоиндол-5-ил)бензоата (89)



Вещество было синтезировано по общей методике 4 из соединения **70** (0.52 г, 2.0 ммоль). М = 250 мг. Выход = 46%, $T_{пл.}$ = 308-310°C. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. В дальнейшем для достижения требуемой чистоты вещество было очищено перекристаллизацией из уксусной кислоты.

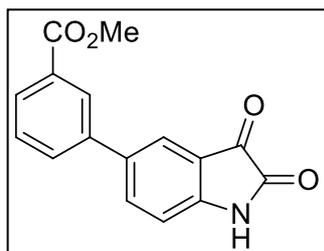
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 3.87 (с, 3H), 7.02 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.77-7.85 (м, 3H), 7.94-8.02 (м, 3H), 11.19 (с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 52.1, 112.7, 118.5, 122.8, 126.4 (2C), 128.3, 129.8 (2C), 133.3, 136.6, 143.1, 150.6, 159.5, 165.9, 184.1.

IR ν_{max} (nujol): 3271, 2920, 2856, 1766, 1734, 1716, 1624, 1462, 1296 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано для $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 282.0761; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 282.0762.

Синтез метил 3-(2,3-диоксоиндол-5-ил)бензоата (90)



Вещество было синтезировано по общей методике 4 из соединения **80** (0.47 г, 1.8 ммоль). Масса = 211 мг. Выход = 42%, $T_{пл.} = 320^{\circ}\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. В дальнейшем для достижения требуемой чистоты вещество было очищено перекристаллизацией из уксусной

кислоты.

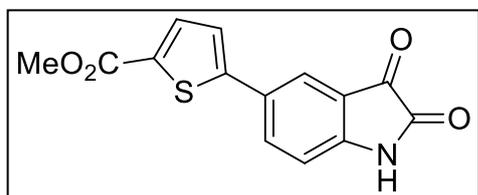
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 3.88 (с, 3H), 7.01 (д, $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.59 (т, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.78 (с, 1H), 7.92 (д, $J = 7.3$ Гц, 3H), 8.12 (с, 1H), 11.17 (уш. с, 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 52.3, 112.8, 118.5, 122.6, 126.6, 128.1, 129.5, 130.4, 131.0, 133.7, 136.6, 139.2, 150.3, 159.5, 160.1, 184.2.

IR ν_{max} (nujol): 3303(уш), 2952, 2929, 2854, 1751, 1734, 1689, 1616, 1458, 1377, 1290, 760 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 304.0580; Найдено $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 304.0586.

Синтез метил 5-(2,3-диоксоиндо-5-ил)тиофен-2-карбоксилата (91)



Вещество было синтезировано по общей методике 4. $M = 808$ мг. Выход = 72%, $T_{пл.} = 254^{\circ}\text{C}$. Вещество представляет собой тёмно-красный порошок. В дальнейшем для достижения требуемой

чистоты вещество было очищено перекристаллизацией из уксусной кислоты.

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 3.82 (с, 3H), 6.98 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.50 - 7.71 (м, 1H), 7.77 (д, $J = 3.7$ Гц, 1H), 7.81 - 7.88 (м, 1H), 7.93 (д, $J = 7.8$ Гц, 1H), 11.21 (уш. с., 1H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 49.1, 113.4, 118.3, 122.1, 125.0, 127.1, 130.8, 135.4, 135.9, 145.9, 152.7, 161.3, 182.4.

IR ν_{max} (nujol): 3623, 2922, 2854, 1745, 1711, 1622, 1460, 1377, 1315, 756 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_4\text{SNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 310.2798; Найдено $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 310.2799.

Синтез 3-гидрокси-3-(нитрометил)-5-(4-толил)индолин-2-она (93)

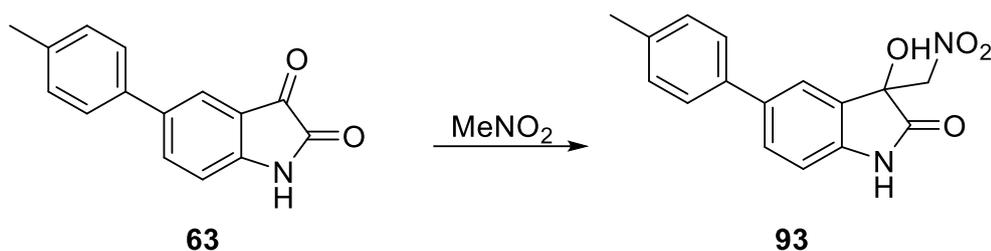


Схема 12. Синтез 3-гидрокси-3-(нитрометил)-5-(4-толил)индолин-2-она (93)

Соединение **63** (1.0 г, 4.2 ммоль, 1 экв.) растворяют в нитрометане (12.2 мл, 42 ммоль, 10 экв.) и перемешивают в течение 18 часов. Затем реакционную смесь заливают водой и экстрагируют этилацетатом (3x100 мл). После этого, органический слой выдерживают над сульфатом натрия, а затем упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Затем остаток очищают методом колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы используют систему гексан: этилацетат (5:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.6. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой белый порошок с T_{пл.} = 238°C. M = 712 мг. Выход = 59%.

ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 2.32 (уш. с., 3 H), 4.91 - 5.22 (м, 2 H), 6.78 (м, 1 H), 6.84 - 6.98 (м, 1 H), 7.24 (д, J = 6.2 Гц, 2 H), 7.48 (д, J = 6.5 Гц, 2 H), 7.51 - 7.59 (м, 1 H), 7.64 - 7.76 (м, 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 21.1, 73.3, 78.7, 110.8, 123.4 (2 C), 126.4, 128.7 (2 C), 129.2, 130.0, 134.4, 136.7, 137.5, 142.3, 176.5.

IR ν_{max} (nujol): 2858, 1952, 1754, 1624, 1604, 1541, 1443, 1377, 1306 см⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано C₁₆H₁₄N₂O₄ [M+H]⁺, 299.1026; Найдено [M+H]⁺ 299.1026.

Синтез 3-(аминометил)-3-гидрокси-5-(4-толил)индолин-2-она (94)

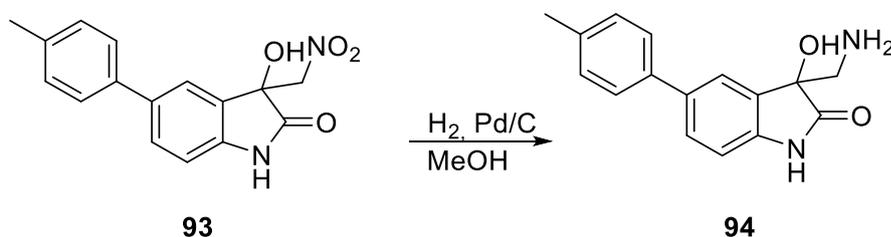


Схема 13. Синтез 3-(аминометил)-3-гидрокси-5-(4-толил)индолин-2-онf (94)

Соединение **93** (298 мг, 1.0 ммоль, 1 экв.) растворяют в метаноле (10 мл), затем при наличии тока инертного газа, добавляют 10% Pd/C (30 мг, 10% по массе). Колбу с реакционной смесью дегазируют и заполняют водородом (давление водорода 1 атм.) после

чего, реакционную смесь перемешивают в течение 5 часов. Затем, реакционную смесь фильтруют через слой селита, остаток промывают метанолом, а фильтрат упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Вещество представляет собой белый порошок, с $T_{пл.} = 238^{\circ}\text{C}$. $M = 185$ мг. Выход = 71%.

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 2.31 (с, 3 H), 2.72 - 2.94 (м, 2 H), 6.86 (д, $J = 8.1$ Гц, 1 H), 7.23 (д, $J = 7.9$ Гц, 2 H), 7.43 - 7.53 (м, 3 H), 7.56 (м, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 19.7, 45.1, 80.6, 115.2, 124.9, 127.9, 129.3, 130.4(2 C), 131.4, 134.6 (2 C), 139.7, 140.7, 178.0, 181.2.

IR ν_{max} (nujol): 3421(уш), 3163(уш), 2929, 2918, 2854, 1751, 1624, 1462, 1377, 1261 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 269.1285; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 269.1281.

Синтез 3-гидрокси-3-метил-5-(4-толил)иднол-2-она (95)

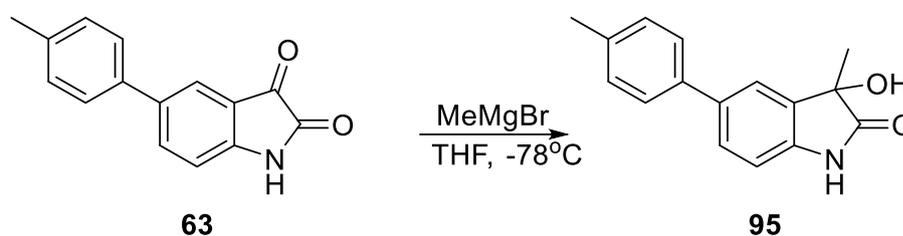


Схема 14. Синтез 3-гидрокси-3-метил-5-(4-толил)иднол-2-она (95)

Соединение **63** (996 мг, 4.0 ммоль, 1 экв.) растворяют в ТГФ (40 мл), затем при наличии тока инертного газа, при -78°C , по каплям добавляют MeMgBr (4.36 мл, 16 ммоль, 4 экв.). Реакционную смесь отогревают до комнатной температуры и выливают в соляную кислоту (40 мл, 8 экв. 1M). Водный раствор экстрагируют этилацетатом (3x100 мл), органический слой выдерживают над сульфатом натрия и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы используют систему гексан: этилацетат (3:1), в качестве неподвижной фазы SiO_2 40-60. $R_f = 0.4$. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой белую “пенку”, с $T_{пл.} 112^{\circ}\text{C}$. $M = 512$ мг. Выход = 59%.

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 1.40 (с, 3 H), 2.31 (с, 3 H), 5.90 (с, 1 H), 6.87 (д, $J = 8.1$ Гц, 1 H), 7.22 (д, $J = 7.9$ Гц, 2 H), 7.44 - 7.50 (м, 3 H), 7.55 (д, $J = 1.6$ Гц, 1 H), 10.31 (с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 21.1, 25.0, 73.2, 110.4, 122.1, 126.5 (2 C), 127.4, 129.9 (2 C), 134.4, 134.8, 136.4, 137.9, 140.8, 180.2.

IR ν_{max} (nujol): 3237, 1769, 1738, 1728, 1716, 1620, 1465, 1456, 1201, 836, 741 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 254.2958; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 254.3960.

Синтез 3,3-дифтор-5-(4-фторфенил)индол-2-она (96)

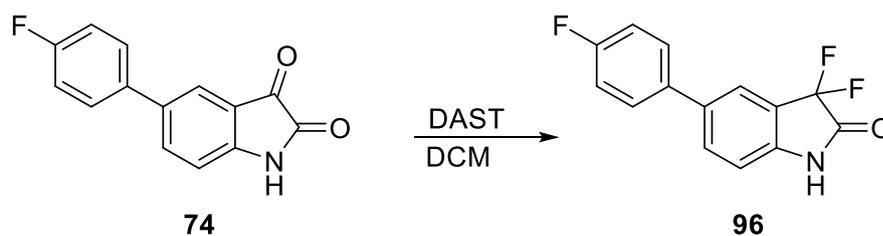


Схема 15. Синтез 3,3-дифтор-5-(4-фторфенил)индол-2-она (96)

Соединение **74** (482 мг, 2.0 ммоль, 1 экв.) растворяют в хлористом метиле (40 мл). Затем к реакционной смеси при -25°C по каплям добавляют DAST (1.82 мл, 5.0 ммоль, 2.5 экв.). Реакцию выдерживают при этой температуре 20 минут, затем отогревают до комнатной температуры и промывают водой. Органический слой выдерживают над сульфатом натрия и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Твердый остаток “затирают” в хлористом метиле. Вещество представляет собой белый порошок, с $T_{\text{пл.}} = 224^{\circ}\text{C}$. $M = 398$ мг. Выход реакции 81%.

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 7.06 (д, 1 H), 7.27 (т, $J = 8.8$ Гц, 2 H), 7.71 (дд, $J = 8.6, 5.4$ Гц, 2 H), 7.80 (д, $J = 8.1$ Гц, 1 H), 7.96 (с, 1 H), 11.29 (уш. с., 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 110.5 (д, $J = 249.0$ Гц), 115.4 (д, $J = 247.4$ Гц), 116.2 (д, $J = 20.9$ Гц, 2 C), 116.5 (д, $J = 21.7$ Гц), 120.4 (т, $J = 22.5$ Гц), 123.6, 128.9 (д, $J = 8.0$ Гц, 2 C), 132.9, 135.1, 135.7 (д, $J = 2.4$ Гц), 142.3 (т, $J = 7.2$ Гц), 162.3 (д, $J = 244.9$ Гц), 166.3 (т, $J = 29.7$ Гц).

IR ν_{max} (nujol): 3253(br), 2947, 2922, 2854, 1745, 1716, 1620, 1462, 1377, 1286, 1207, 652 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{F}_3\text{NO}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 264.0631; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 264.0632.

Общая методика 5 (Синтез 3-амино изатинов)

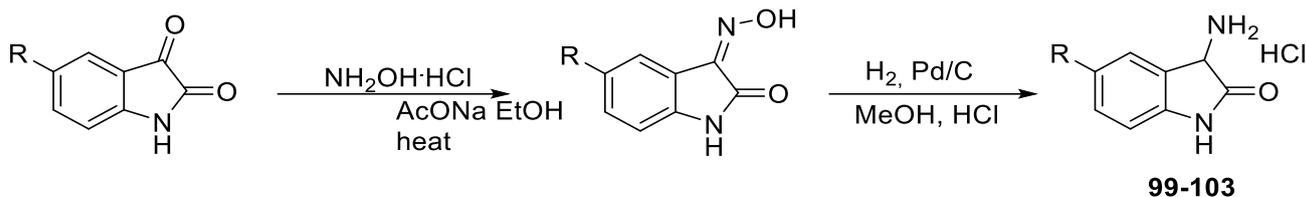


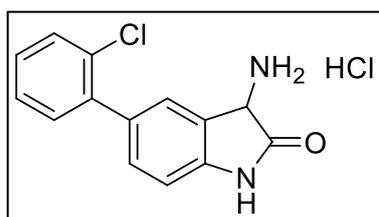
Схема 16. Общая методика 5

Изатин (1 экв.) растворяют в этиловом спирте (0.1 М), затем добавляют 2 эквивалента ацетата натрия и 1.5 эквивалента гидроксилмин гидрохлорида. Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 8 часов. Затем упаривают растворитель на роторном испарителе при пониженном давлении. Твердый остаток заливают водой и экстрагируют этилацетатом (3x100 мл). После этого, органический слой выдерживают над сульфатом натрия и упаривают на роторном испарителе. Далее без очистки вещество используют в следующей стадии.

Оксим (1 экв.) растворяют в метаноле (0.1 М), затем добавляют 1.5 эквивалента соляной кислоты (12М). При наличии тока инертного газа, добавляют 10% Pd/C (10% по массе). Колбу с реакционной смесью дегазируют и заполняют водородом (давление водорода 1 атм.) после чего, реакционную смесь перемешивают в течение 12 часов. Затем, реакционную смесь фильтруют через слой селита, остаток промывают горячим метанолом, а фильтрат упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении.

Список синтезированных с использованием данной методики структур приведен ниже.

Синтез гидрохлорида 3-амино-5-(2-хлорфенил)индол-2-она (99)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 5 из соединения **69** (0.4 г, 1.5 ммоль). М = 319 мг. Выход = 83 %. Вещество представляет собой порошок белого цвета. $T_{пл.} = 286^{\circ}\text{C}$

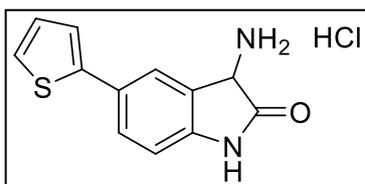
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 4.99 (с, 1 H), 6.98 - 7.08 (м, 1 H), 7.34 - 7.42 (м, 4 H), 7.51 - 7.66 (м, 1 H), 7.91 (с, 1 H), 9.32 (уш. с., 2 H), 10.93 - 11.28 (м, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 51.2, 110.3, 123.8, 127.6, 128.1, 129.6, 130.4, 131.7, 131.8, 131.9, 132.8, 139.9, 143.2, 173.5.

IR ν_{max} (nujol): 3237, 1769, 1738, 1728, 1716, 1620, 1465, 1456, 1201, 836, 741 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClN}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 259.0633; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 259.0626.

Синтез гидрохлорида 3-амино-5-(тиофен-2-ил)индол-2-она(100)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 5 из соединения **67** (0.54 г, 1.8 ммоль). М = 418 мг. Выход = 78 %. Вещество представляет собой порошок белого цвета. $T_{пл.} = 243^{\circ}\text{C}$

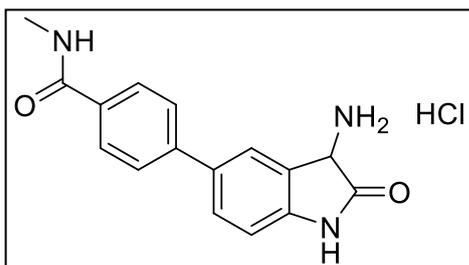
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 5.01 (с, 1 H), 6.95 (д, $J = 8.2$ Гц, 1 H), 7.12 (дд, $J = 5.1, 3.6$ Гц, 1 H), 7.29 - 7.40 (м, 1 H), 7.44 - 7.54 (м, 1 H), 7.59 - 7.71 (м, 1 H), 8.00 (с, 1 H), 9.10 (уш. с., 3 H), 11.02 (с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 51.1, 109.7, 122.4, 123.5, 124.4, 125.1, 127.4, 129.8, 140.6, 143.3, 170.6, 175.0.

IR ν_{max} (nujol): 2817, 1788, 1702, 1665, 1518, 1432, 1311, 1272, 880 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 231.0587; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 231.0587.

Синтез гидрохлорида 4-(3-амино-2-оксоиндолин-5-ил)-*N*-метилбензамида (101)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 5 из соединения **86** (0.57 г, 2.0 ммоль). М = 511 мг. Выход = 90 %. Вещество представляет собой порошок белого цвета. $T_{пл.} = 300^{\circ}\text{C}$

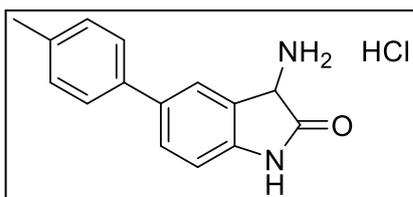
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 2.78 (д, $J = 4.4$ Гц, 3 H), 5.02 (уш. с., 1 H), 7.01 (д, $J = 8.2$ Гц, 1 H), 7.57 - 7.77 (м, 3 H), 7.93 (д, $J = 8.3$ Гц, 2 H), 8.26 (с, 1 H), 8.58 (д, $J = 3.9$ Гц, 1 H), 9.31 (уш. с., 3 H), 11.13 (с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 26.7, 51.2, 111.0, 124.7, 125.2, 126.2 (2 C), 128.4 (2 C), 129.1, 133.4, 133.4, 142.6, 143.5, 166.7, 173.6.

IR ν_{max} (nujol): 3394, 2924, 2858, 1752, 1739, 1624, 1603, 1541, 1464, 1377, 1306 cm^{-1}

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 282.1237; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 282.1232.

Синтез гидрохлорида 3-амино-5-(4-толил)индол-2-она (102)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 5 из соединения **63** (0.45 г, 2.0 ммоль). М = 401 мг. Выход = 88 %. Вещество представляет собой порошок белого цвета. $T_{пл.} = 287^{\circ}\text{C}$

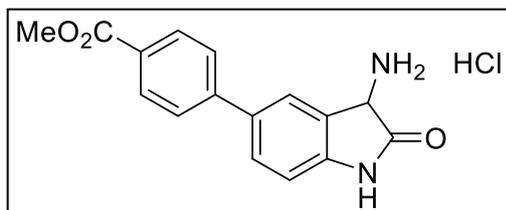
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 2.34 (с, 3 H), 6.99 (д, $J = 8.2$ Гц, 1 H), 7.27 (д, $J = 7.9$ Гц, 2 H), 7.50 (д, $J = 8.1$ Гц, 2 H), 7.61 (дд, $J = 8.1, 1.1$ Гц, 1 H), 8.15 (с, 1 H), 9.28 (уш. с., 3 H), 11.03 (с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 21.1, 51.3, 110.9, 124.6, 124.8, 126.4 (2 C), 128.5, 130.1 (2 C), 134.5, 136.8, 137.4, 142.6, 173.5.

IR ν_{max} (nujol): 2858, 1952, 1754, 1624, 1604, 1541, 1443, 1377, 1306 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 261.0998; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 261.1002.

Синтез гидрохлорида метил 4-(3-амино-2-оксоиндолин-5-ил)бензоата (103)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 5 из соединения **89** (0.43 г, 1.5 ммоль). $M = 371$ мг. Выход = 85 %. Вещество представляет собой порошок белого цвета.

$T_{\text{пл.}} = 308^\circ\text{C}$

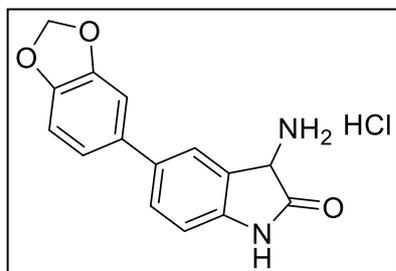
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 3.71 - 4.01 (м, 3 H), 5.00 (уш. с., 1 H), 7.04 (д, $J = 8.1$ Гц, 1 H), 7.62 - 7.79 (м, 3 H), 8.01 (д, $J = 8.1$ Гц, 2 H), 8.34 (с, 1 H), 9.41 (уш. с., 3 H), 11.24 (с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 50.9, 52.6, 110.1, 124.0, 125.1, 126.6 (2 C), 128.1, 128.7, 130.4 (2 C), 132.1, 142.1, 144.0, 163.9, 173.5.

IR ν_{max} (nujol): 3511, 3302, 2987, 2932, 2810, 1935, 1717, 1525, 1367, 1303, 1110 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 283.1077; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 283.1072.

Синтез гидрохлорида 3-амино-5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)индолин-2-она (104)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 5 из соединения **73** (0.96 г, 3.6 ммоль). $M = 0.9$ г. Выход = 93%. Вещество представляет собой белый порошок с $T_{\text{пл.}} = 281^\circ\text{C}$.

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 4.99 (д, $J = 5.6$ Гц, 1 H), 6.06 (с, 2 H), 6.95 (д, $J = 8.1$ Гц, 1 H), 6.99 - 7.03 (м, 1 H), 7.03 - 7.10 (м, 1 H), 7.10 - 7.21 (м, 2 H), 7.30 (с, 1 H), 7.43 (с, 1 H), 7.57 (д, $J = 6.9$ Гц, 1 H), 8.06 (с, 1 H), 9.22 (уш. с., 2 H), 11.00 (с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 60.4, 101.5, 102.0, 107.7, 111.5, 123.2, 123.6, 126.3, 127.3, 131.1, 134.5, 137.4, 147.2, 147.4, 177.0.

LCMS m/z : Рассчитано $[\text{M}+\text{H}]^+ - 268.27$, Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+ - 269.30$

Синтез 5-йод-индол-2,3-диона (a)

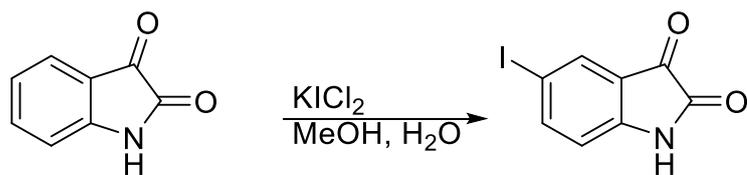


Схема 17. Синтез 5-йод-индол-2,3-диона (a)

ICl (16.2 г, 100 ммоль, 1 экв.) порциями добавляют к водному раствору хлорида калия (22.3 г, 300 ммоль, 3 экв., 3 М). Реакционную смесь перемешивают в течение получаса, затем к реакционной смеси по каплям добавляют раствор изатина (14.7 г, 100 ммоль, 1 экв.) в метаноле (1М). Реакцию перемешивают в течение 8 часов. Затем фильтруют и остаток промывают ацетоном. М = 15.3 г. Выход = 72%. Химические сдвиги совпадают с приведенными в литературе [205]

ЯМР 1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 6.76 (д, 1 H), 7.73 (д, $J = 1.6$ Гц, 1 H), 7.86 (дд, $J = 8.2, 1.8$ Гц, 1 H), 11.19 (с, 1 H).

Синтез 5-трибутилстанил-индол-2,3-диона (105)

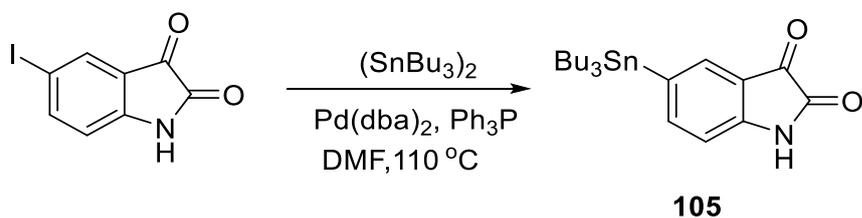


Схема 18. Синтез 5-трибутилстанил-индол-2,3-диона (105)

Вещество **a** (5.46 г, 20 ммоль, 1 экв.) растворяют в ДМФ (50 мл) в трёх-горлой колбе, снабжённой током аргона и обратным холодильником. К реакционной смеси добавляют (262 мг, 10% по молям) трифенилфосфина и (287 мг, 5 % по молям) дибензилиденацетон палладия. Реакционную смесь нагревают до $100^\circ C$ и охлаждают до комнатной температуры. Затем добавляют бис-трибутил олово (17.75 г, 300 ммоль, 1.5 экв.). Реакционную смесь греют при температуре $100^\circ C$ в течение 12 часов. Затем охлаждают до комнатной температуры, разбавляют водой и экстрагируют этилацетатом (3x100мл). Органический слой промывают насыщенным раствором хлорида натрия и выдерживают над осушителем. После упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении и очищают при помощи колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы используют систему гексан: этилацетат (5:1), в качестве неподвижной фазы SiO_2 40-60. $R_f = 0.4$. Фракции,

содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. М = 1.56 г. Выход = 27%

ЯМР ^1H (CDCl_3), δ м.д.: 0.86 - 0.93 (м, 11 H), 1.04 - 1.10 (м, 5 H), 1.28 - 1.37 (м, 8 H), 1.48 - 1.55 (м, 3 H), 6.92 (д, $J = 7.5$ Гц, 1 H), 7.53 - 7.73 (м, 2 H), 8.57 (уш. с., 1 H).

Общая методика 6 (Синтез 5-арилизатинов с использованием реакции Стилле)

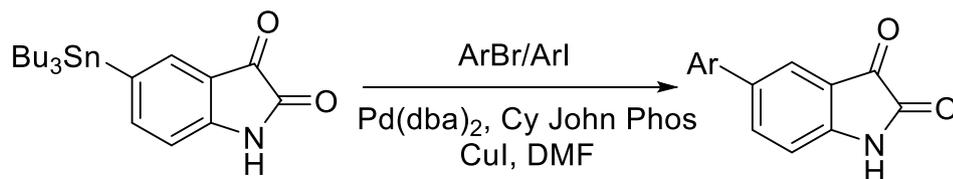
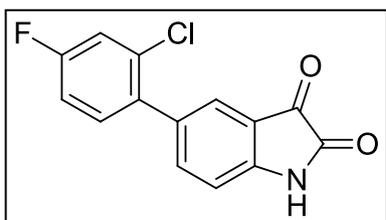


Схема 19. Общая методика 6

Вещество **105** (1.5 экв.) растворяют в ДМФ (1М). Раствор помещают в трёх-горлую колбу, снабженную обратным холодильником и током аргона. Затем к раствору добавляют арилгаллогенид (1 экв.). Смесь перемешивают в течение 5 минут. Затем в строгом порядке добавляют дибензилиденацетон палладий (2 % по молям), CyJohnPhos (4% по молям) и йодид меди (I) (4% по молям). Реакционную смесь перемешивают при 100°C в течение 8 часов. Затем добавляют воду и экстрагируют этилацетатом (3x100мл). Органический слой промывают насыщенным раствором хлорида натрия и выдерживают над сульфатом натрия. Очистку производят методом колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы используют градиент растворителей от гексан:этилацетат (20:1) до гексан:этилацетат (0:1), в качестве неподвижной фазы SiO_2 40-60. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Затем продукт затирают в хлористом метиле.

Список структур, синтезированных с использованием данной методики приведен ниже.

Синтез 5-(2-хлор-4-фторфенил)индол-2,3-диона (85)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 6 из соединения **105** (0.9 г, 2.0 ммоль). $M = 312$ мг. Выход = 54 %. Вещество представляет собой порошок красного цвета. $T_{\text{пл.}} = 208-214^\circ\text{C}$. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

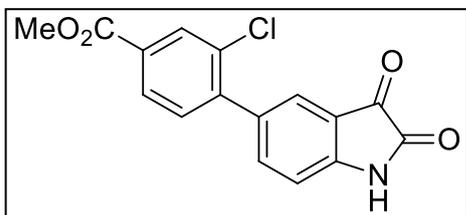
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 6.99 (м, 1 H), 7.31 (тд, $J = 8.4, 2.7$ Гц, 1 H), 7.47 (дд, $J = 8.6, 6.3$ Гц, 1 H), 7.52 (д, $J = 1.2$ Гц, 1 H), 7.57 (дд, $J = 8.9, 2.5$ Гц, 1 H), 7.63 (дд, $J = 8.1, 1.8$ Гц, 1 H), 11.16 (с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 112.5, 115.3 (д, $J = 20.9$ Гц), 117.5 (д, $J = 24.9$ Гц), 118.2, 125.7, 132.6, 132.7 (д, $J = 11.2$ Гц), 133.1 (д, $J = 8.8$ Гц), 135.4 (д, $J = 4.0$ Гц), 139.6, 150.7, 159.9, 161.8 (д, $J = 248.2$ Гц), 184.5.

IR v_{max} (nujol): 2970, 2901, 2883, 2817, 1711, 1673, 1435, 1371, 1208 cm⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано C₁₄H₈ClFNO₂ [M+H]⁺, 276.0222; Найдено [M+H]⁺ 276.0221.

Синтез метил 3-хлор-4-(2,3-диоксииндолин-5-ил)бензоата (106)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 6 из соединения **105** (0.9 г, 2.0 ммоль). М = 374 мг. Выход = 58 %. Вещество представляет собой порошок красного цвета. T_{пл.} = 240-242°C.

Вещество было выделно с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO₂ (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

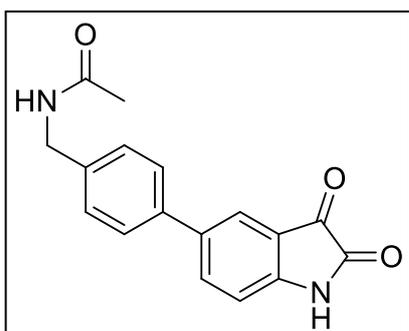
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 3.88 (с, 3 H), 7.02 (д, J = 8.2 Гц, 1 H), 7.55 - 7.63 (м, 2 H), 7.70 (дд, J = 8.1, 1.9 Гц, 1 H), 7.95 (дд, J = 8.0, 1.7 Гц, 1 H), 8.03 (д, J = 1.5 Гц, 1 H), 11.21 (уш. с., 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 53.0, 112.6, 118.2, 125.5, 128.6, 129.8, 131.4, 139.2, 143.1, 148.2, 151.0, 156.1, 159.9, 165.3, 184.0.

IR v_{max} (nujol): 3271, 2920, 2856, 1766, 1734, 1716, 1624, 1462, 1296 cm⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано C₁₆H₁₁ClNO₄ [M+H]⁺, 316.0371; Найдено [M+H]⁺ 316.0369.

Синтез N-(4-(2,3-диоксииндолин-5-ил)бензил)ацетамида (107)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 6 из соединения **105** (1.13 г, 2.6 ммоль). М = 92 мг. Выход = 12 %. Вещество представляет собой порошок красного цвета. T_{пл.} = 226°C. Вещество было выделно с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO₂ (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

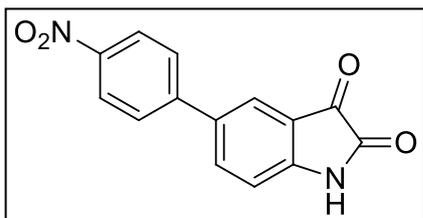
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 1.87 (с, 3 H), 4.26 (д, J = 6.0 Гц, 2 H), 6.99 (д, J = 8.2 Гц, 1 H), 7.31 (д, J = 8.2 Гц, 2 H), 7.60 (д, J = 8.3 Гц, 2 H), 7.74 (д, J = 1.7 Гц, 1 H), 7.88 (дд, J = 8.2, 2.0 Гц, 1 H), 8.35 (с, 1 H), 11.10 (с, 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 23.1, 42.2, 113.1, 118.2, 121.9, 126.6 (2 C), 128.4, (2 C), 134.4, 136.8, 138.9, 147.5, 155.3, 158.5, 183.1;

IR v_{max} (nujol): 2858, 1952, 1754, 1624, 1604, 1541, 1443, 1377, 1306 cm⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано C₁₇H₁₅N₂O₃ [M+H]⁺, 295.1077; Найдено [M+H]⁺ 295.1077.

Синтез 5-(4-нитрофенил)индол-2,3-диона (108)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 6 из соединения **105** (0.8 г, 1.8 ммоль). М = 211 мг. Выход = 43 %. Вещество представляет собой порошок красного цвета. $T_{пл.} = 238^{\circ}\text{C}$. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

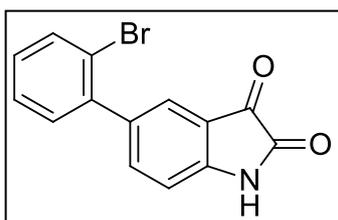
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 7.04 (д, 1 H), 7.93 (д, $J = 2.0$ Гц, 1 H), 7.97 (д, $J = 8.9$ Гц, 2 H), 8.03 (дд, $J = 8.3, 2.1$ Гц, 1 H), 8.27 (д, $J = 8.9$ Гц, 2 H), 11.24 (с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 112.9, 118.5, 123.0, 124.6 (2 C), 127.8 (2 C), 131.9, 136.7, 144.78, 146.4, 151.3, 158.7, 183.0.

IR ν_{max} (nujol): 2803, 1758, 1703, 1613, 1567, 1450, 1381, 1291, cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 269.2243; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 269.0555.

Синтез 5-(2-бромфенил)индол-2,3-диона (109)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 6 из соединения **105** (0.68 г, 1.6 ммоль). М = 276 мг. Выход = 59 %. Вещество представляет собой порошок красного цвета. $T_{пл.} = 254\text{-}258^{\circ}\text{C}$. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

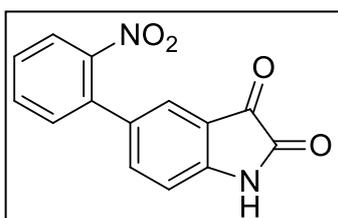
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 6.99 (д, 1 H), 7.27 - 7.35 (м, 1 H), 7.36 - 7.41 (м, 1 H), 7.42 - 7.53 (м, 2 H), 7.61 (дд, $J = 8.1, 1.5$ Гц, 1 H), 7.73 (дд, $J = 7.9, 1.0$ Гц, 1 H), 11.16 (с, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 112.4, 118.1, 122.3, 125.5, 128.7, 130.1, 131.8, 133.6, 135.3, 139.6, 140.7, 150.6, 159.9, 184.6.

IR ν_{max} (nujol): 3280, 2611, 1822, 1719, 1694, 1627, 1500, 1427 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{BrNO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 303.1228; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 303.9795.

Синтез 5-(2-нитрофенил)индол-2,3-диона (110)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 6 из соединения **105** (0.9 г, 2.0 ммоль). М = 190 мг. Выход = 34 %. Вещество представляет собой порошок красного цвета. $T_{пл.} = 250\text{-}252^{\circ}\text{C}$. Вещество было выделено с

использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO₂ (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

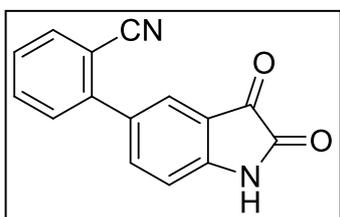
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 6.98 (д, *J* = 8.2 Гц, 1 H), 7.48 (с, 1 H), 7.55 (т, *J* = 7.6 Гц, 2 H), 7.63 (т, *J* = 7.8 Гц, 1 H), 7.75 (д, *J* = 7.6 Гц, 1 H), 8.00 (д, *J* = 8.1 Гц, 1 H), 11.17 (с, 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 113.0, 118.6, 124.3, 124.8, 129.5, 131.9, 132.3, 133.7, 134.3, 138.1, 148.9, 151.0, 159.8, 184.4.

IR ν_{max} (nujol): 3237, 1769, 1738, 1728, 1716, 1620, 1465, 1456, 1201, 836, 741 см⁻¹.

HRMS (ESI) *m/z*: Рассчитано C₁₄H₉N₂O₄ [M+H]⁺, 269.2243; Найдено [M+H]⁺ 269.0559.

Синтез 5-(2-цианофенил)индол-2,3-диона (111)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 6 из соединения **105** (0.9 г, 2.0 ммоль). М = 154 мг. Выход = 30 %. Вещество представляет собой порошок красного цвета. T_{пл.} = 206-208°C. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO₂ (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

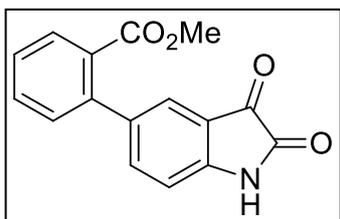
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 7.06 (д, *J* = 8.2 Гц, 1 H), 7.57 (т, *J* = 7.2 Гц, 1 H), 7.62 (д, *J* = 7.8 Гц, 1 H), 7.70 (д, *J* = 1.6 Гц, 1 H), 7.74 - 7.84 (м, 2 H), 7.94 (д, *J* = 7.7 Гц, 1 H), 11.22 (с, 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 109.8, 112.9, 118.1, 118.8, 125.1, 128.8, 130.4, 131.9, 134.1, 134.3, 138.9, 142.7, 150.2, 159.3, 182.6.

IR ν_{max} (nujol): 2931, 2920, 2854, 1770, 1734, 1697, 1621, 1608, 1462, 1377, 1302 см⁻¹.

HRMS (ESI) *m/z*: Рассчитано C₁₁H₉N₂O₂Na [M+H]⁺, 249.2363; Найдено [M+H]⁺ 249.0667.

Синтез метил 2-(2,3-диоксииндолин-5-ил)бензоата (112)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 6 из соединения **105** (1.3 г, 3.0 ммоль). М = 101 мг. Выход = 12 %. Вещество представляет собой порошок красного цвета. T_{пл.} = 216-220°C. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO₂ (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

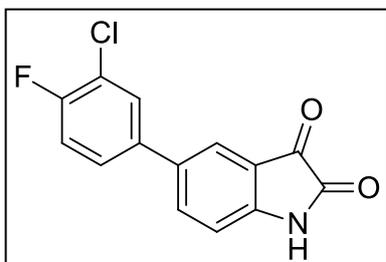
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 3.62 (с, 3 H), 6.95 (д, *J* = 8.1 Гц, 1 H), 7.31 - 7.44 (м, 2 H), 7.49 (т, *J* = 7.3 Гц, 2 H), 7.62 (т, *J* = 7.3 Гц, 1 H), 7.77 (д, *J* = 7.6 Гц, 1 H), 11.13 (уш. с., 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 52.5, 112.5, 118.2, 124.4, 128.2, 130.2, 130.7, 131.0, 132.3, 135.5, 138.7, 140.4, 150.4, 159.9, 168.6, 183.2.

IR ν_{max} (nujol): 2964, 2949, 2929, 2906, 2846, 1726, 1618, 1464, 1377, 719 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 282.2628; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 282.0667.

Синтез 5-(3-хлоро-4-фторфенил)индол-2,3-диона (113)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 6 из соединения **105** (0.9 г, 2.0 ммоль). $M = 148$ мг. Выход = 28 %. Вещество представляет собой порошок красного цвета. $T_{\text{пл.}} = 244^\circ\text{C}$. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

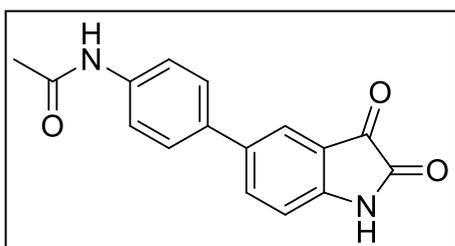
ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 6.97 (д, $J = 7.7$ Гц, 1 H), 7.46 (т, $J = 8.4$ Гц, 1 H), 7.67 (уш. с., 1 H), 7.77 - 7.86 (м, 1 H), 7.90 (уш. с., 2 H), 11.15 (уш. с., 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 113.1, 117.7 (д, $J = 21.2$ Гц), 118.8, 120.5 (д, $J = 18.3$ Гц), 123.2, 127.3 (д, $J = 6.6$ Гц), 128.7, 132.9, 137.0, 150.7, 157.1 (д, $J = 248.1$ Гц), 159.9, 184.6.

IR ν_{max} (nujol): 3421(br), 3163(br), 2929, 2918, 2854, 1751, 1624, 1462, 1377, 1261 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{ClFNO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 276.0222; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 276.0222.

Синтез N-(4-(2,3-диоксииндолин-5-ил)фенил)ацетамида (114)



Вещество было синтезировано с использованием общей методики 6 из соединения **105** (0.8 г, 1.8 ммоль). $M = 201$ мг. Выход = 39 %. Вещество представляет собой порошок красного цвета. $T_{\text{пл.}} = 268^\circ\text{C}$. Вещество было выделено с использованием колоночной хроматографии, в качестве неподвижной фазы использовался SiO_2 (40-60), в качестве подвижной фазы гексан:этилацетат (3:1).

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 2.05 (с, 1 H), 6.96 (д, $J = 8.2$ Гц, 1 H), 7.55 - 7.60 (м, 2 H), 7.62 - 7.67 (м, 2 H), 7.72 (д, $J = 1.7$ Гц, 1 H), 7.85 (дд, $J = 8.3, 1.9$ Гц, 1 H), 10.01 (с, 1 H), 11.09 (сл, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 24.5, 113.1, 119.1, 119.8 (2 C), 122.4, 126.9 (2 C), 132.8, 134.2, 136.4, 138.9, 148.2, 157.8, 168.8, 185.5.

IR ν_{max} (nujol): 2858, 1952, 1754, 1624, 1604, 1541, 1443, 1377, 1306 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $C_{16}H_{13}N_2O_3$ $[M+H]^+$, 281.0921; Найдено $[M+H]^+$ 281.0922.

Синтез 5-(тиазол-5-ил)индол-2,3-диона (119)

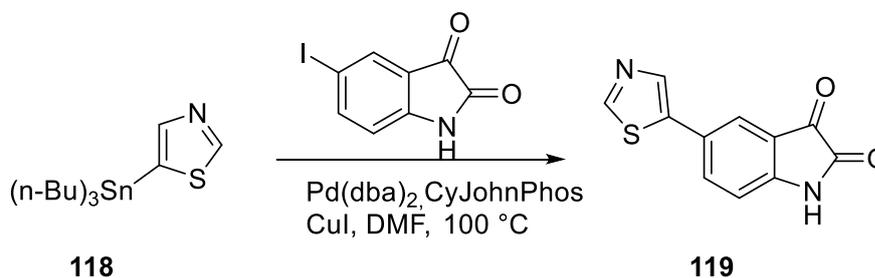


Схема 20. Синтез 5-(тиазол-5-ил)индол-2,3-диона (119)

Вещество **a** (1 г, 3.6 ммоль, 1 экв.) растворяют в ДМФ (10 мл), затем добавляют 4-трибутилстанилтиазол (2.05 г, 5.4 ммоль, 1.5 экв.). Реакцию перемешивают в течение 5 минут. Затем в строгом порядке добавляют дибензилиденацетон палладий (105 мг, 5% по молям), CyJohnPhos (128 мг, 10% по молям) и йодид меди (I) (70 мг, 4% по молям). Реакционную смесь перемешивают при 100°C в течение 8 часов. Затем добавляют воду и экстрагируют этилацетатом (3x100мл). Органический слой промывают насыщенным раствором хлорида натрия и выдерживают над осушителем. Очистку производят методом колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы используют систему гексан: этилацетат (20:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.2. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Затем твёрдом продукт затирают в хлористом метиле. Вещество представляет собой красный осадок, с T_{пл.} = 220°C. M = 438 мг. Выход = 24%.

ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 6.98 (д, 1 H), 7.68 - 8.02 (м, 2 H), 8.35 (уш. с., 1 H), 9.09 (уш. с., 1 H), 11.20 (с, 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 113.3, 118.9, 122.7, 126.0, 136.7, 142.2, 150.7, 155.1, 159.9, 160.4, 184.4

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $C_{11}H_7N_2O_2S$ $[M+H]^+$, 231.2454; Найдено $[M+H]^+$ 231.0224

3.3 Синтез биарильных производных

Синтез Метил 4-амино-4'-метил-[1,1'-бифенил]-3-карбоксилата (121)

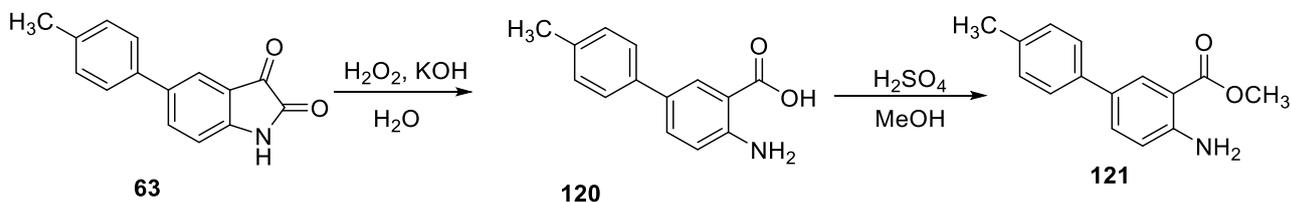
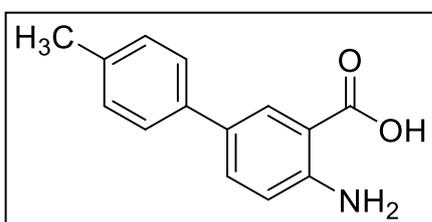


Схема 21. Синтез 120, 121

Синтез 4-амино-4'-метил-[1,1'-бифенил]-3-карбоновой кислоты (120)



Соединение **63** (996 мг, 4.0 ммоль, 1 экв.) растворяют в 20% водном растворе NaOH (672 мг, 12 ммоль, 3 экв.). Затем по каплям при охлаждении добавляют пероксид водорода (0.56 мл, 8.0 ммоль, 2 экв.). Реакцию перемешивают в течение 4 часов. Затем осадок

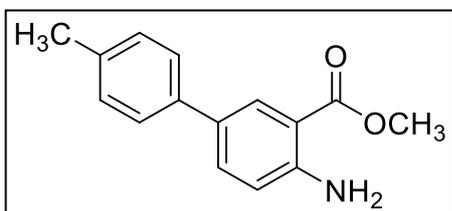
отфильтровывают и промывают диэтиловым эфиром. Вещество представляет собой порошок серого цвета, с $T_{\text{пл.}} = 154^\circ\text{C}$. $M = 483$ мг. Выход равен 32%.

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 1.89 (уш. с., 3 H), 6.80 (д, $J = 8.3$ Гц, 1 H), 7.19 (уш. с., 2 H), 7.40 (уш. с., 3 H), 7.96 (уш. с., 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 21.1, 111.1, 117.3, 125.7 (2 C), 126.5, 128.8, 129.9 (2 C), 131.1, 135.6, 136.6, 150.3, 169.9.

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{NO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 214.0863; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 214.0861.

Синтез Метил 4-амино-4'-метил-[1,1'-бифенил]-3-карбоксилата (121)



Вещество **120** (227 мг, 1.0 ммоль, 1 экв.), растворяют в метаноле (10 мл), затем по каплям при охлаждении добавляют серную кислоту (2.54 мл, 10 ммоль, 10 экв.). Реакцию перемешивают в течение 4

часов. Затем нейтрализуют до $\text{pH} = 7$ и экстрагируют этилацетатом. Органический слой выдерживают над сульфатом натрия и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы используют систему гексан: этилацетат (5:1), в качестве неподвижной фазы SiO_2 40-60. $R_f = 0.4$. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе.

Вещество представляет собой порошок серого цвета с $T_{пл.} = 138^{\circ}\text{C}$. $M = 57$ мг. Выход равен 87%.

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 2.31 (с, 3 H), 6.88 (д, $J = 8.6$ Гц, 1 H), 7.21 (д, $J = 7.9$ Гц, 2 H), 7.44 (д, $J = 7.9$ Гц, 2 H), 7.59 (дд, $J = 8.6, 2.2$ Гц, 1 H), 7.96 (д, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 21.1, 51.96, 109.4, 117.8, 125.8 (2 C), 127.1, 128.3, 129.9, 132.8 (2 C), 135.8, 137.2, 151.0, 168.3.

HRMS (ESI) m/z : Рассчитано $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 241.2851; Найдено $[\text{M}+\text{H}]^+$ 241.2852.

Синтез N -(4'-фтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)ацетамида (123)

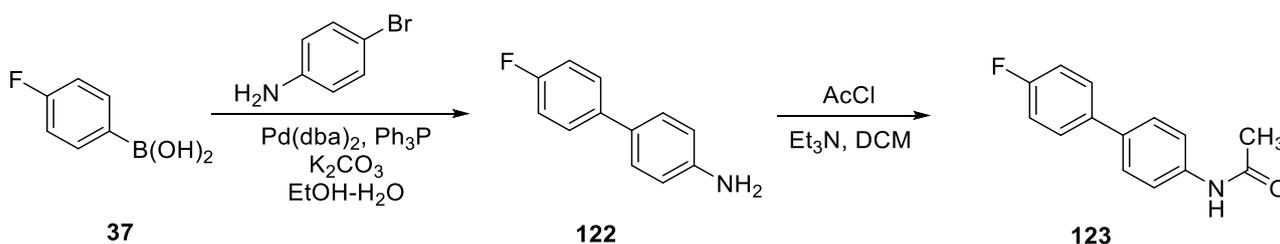
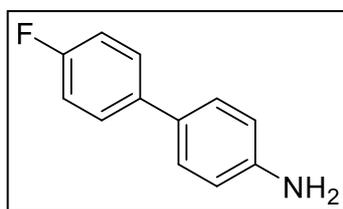


Схема 22. Синтез N -(4'-фтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)ацетамида (123)

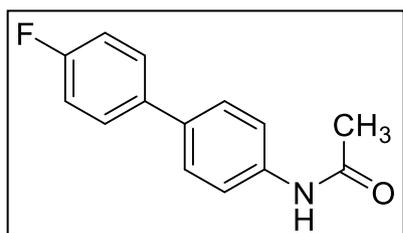
Синтез 4'-фтор-[1,1'-бифенил]-4-амина (122)



Вещество **37** (2.78 г, 20 ммоль, 1 экв.), растворяют в системе этанол:вода (1:1, 50 мл), добавляют п-броманилин (3.91 мл, 20 ммоль, 1 экв.), карбонат калия (8.28 г, 60 ммоль, 3 экв.), трифенилфосфин (262 мг, 1 ммоль, 5% по молям) и $\text{Pd}(\text{dba})_2$ (575 мг, 0.5 ммоль, 2.5% по молям). Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 6 часов. Затем охлаждают до комнатной температуры и фильтруют. Осадок промывают эфиром. Вещество представляет собой белый порошок, с $T_{пл.} = 98^{\circ}\text{C}$. $M = 1.46$ г. Выход равен 64%. Химические сдвиги совпадают с приведёнными в литературе [206]

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 6.62 (д, 2 H), 7.16 (т, $J = 8.9$ Гц, 2 H), 7.30 (д, $J = 8.4$ Гц, 2 H), 7.53 (дд, $J = 8.7, 5.5$ Гц, 2 H).

Синтез N -(4'-фтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)ацетамида (123)



Вещество **122** (935 мг, 5.0 ммоль, 1 экв.), растворяют в хлористом метиле (50 мл), добавляют триэтиламин (0.695 мл, 5.0 ммоль, 1 экв.) и по каплям добавляют ацетилхлорид (0.39 мл, 5.0 ммоль, 1 экв.). Реакцию перемешивают в течение 2 часов, затем промывают водой.

Органический слой выдерживают над сульфатом и упаривают на роторном испарителе. Остаток очищают методом колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы используют систему гексан: этилацетат (5:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.6. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой светло-коричневым порошок, с T_{пл.} = 112°C. М = 817 мг. Выход равен 95%. Химические сдвиги совпадают с приведёнными в литературе [207].

ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 2.05 (уш. с., 3 H), 7.24 (т, J = 8.3 Гц, 2 H), 7.56 (д, J = 7.9 Гц, 2 H), 7.65 (д, J = 7.3 Гц, 4 H), 10.03 (уш. с., 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 24.5, 118.1 112.9 (2 C), 119.8 (2 C), 124.2, 127.3 (2 C), 128.6 (2 C), 134.1, 139.3, 168.8.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано C₁₄H₁₃FNO [M+H]⁺, 229.2496; Найдено [M+H]⁺ 229.2496.

Синтез 5-(4-толил)-1H-бензоимидазол-2(3H)-она (126)

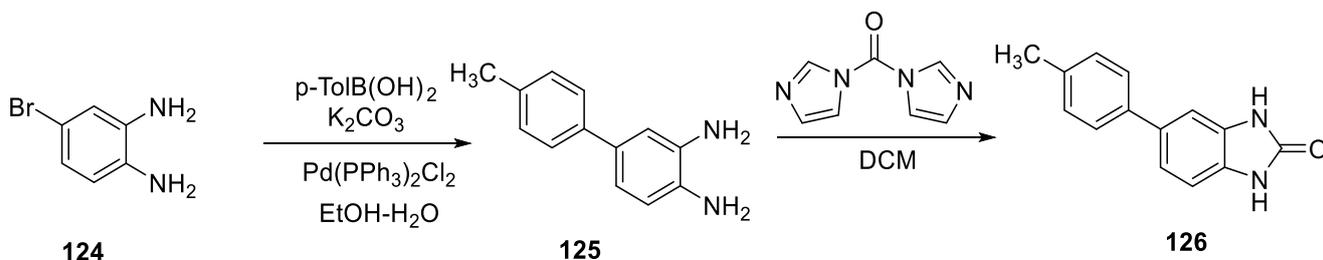
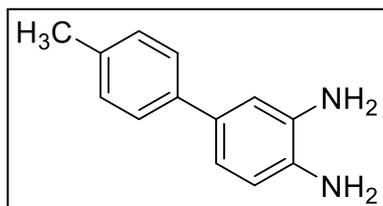


Схема 23. Синтез 5-(4-толил)-1H-бензоимидазол-2(3H)-она (126)

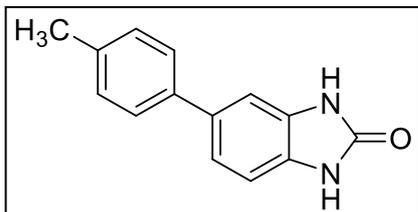
Синтез 4'-метил-[1,1'-бифенил]-3,4-диамина (125)



Вещество **30** (1.35 г, 10 ммоль, 1 экв.), растворяют в системе этанол:вода (1:1, 50 мл), добавляют **124** (1.87 г, 15 ммоль, 1.5 экв.), карбонат калия (4.14 г, 30 ммоль, 3 экв.), трифенилфосфин (105 мг, 4.0 ммоль, 4% по молям) и Pd(dba)₂ (115 мг, 2.0 ммоль, 2% по молям). Реакционную смесь кипятят в течение 6 часов. Затем фильтруют. Осадок промывают эфиром. Вещество представляет собой коричневым порошок, с T_{пл.} = 142°C. М = 902 мг, выход = 53%. Химические сдвиги совпадают с приведёнными в литературе [208].

ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 6.62 (д, 2 H), 7.16 (т, J = 8.9 Гц, 2 H), 7.30 (д, J = 8.4 Гц, 2 H), 7.53 (дд, J = 8.7, 5.5 Гц, 2 H).

Синтез 5-(4-толил)-1H-бензоимидазол-2(3H)-она (126)



Вещество **125** (396 мг, 2.0 ммоль, 1 экв), растворяют в хлористом метиле (20 мл). Затем порциями добавляют карбонилдиимидазол (324 мг, 2.0 ммоль, 1 экв.). Реакцию перемешивают в течение 1 часа, затем промывают 1M соляной кислотой (6.0 ммоль, 3 экв), выдерживают над сульфатом натрия и упаривают на роторном испарителе. Остаток очищают методом колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы используют систему гексан: этилацетат (1:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. Rf = 0.7. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой кремовый порошок, с T_{пл.} = 132°C. M = 380 мг. Выход = 78%

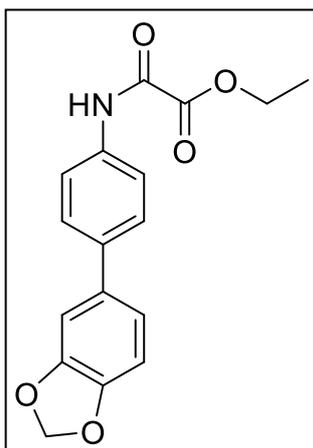
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 2.31 (с, 3 H), 6.96 (д, J = 7.9 Гц, 1 H), 7.11 (с, 1 H), 7.15 - 7.20 (м, 1 H), 7.21 (д, J = 7.8 Гц, 2 H), 7.46 (д, J = 7.9 Гц, 2 H), 10.64 (д, 2 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 21.1, 106.9, 109.2, 119.6, 126.7 (2 C), 128.8 (2 C), 130.9, 133.5, 136.3, 138.5, 155.9, 168.2.

IR ν_{max} (nujol): 3257 (br), 2925, 2852, 1732, 1616, 1460, 1377 cm⁻¹.

HRMS (ESI) m/z: Рассчитано C₁₄H₁₃N₂O [M+H]⁺, 224.2579; Найдено [M+H]⁺ 224.2580.

Синтез этил 2-((4-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)фенил)амино)-2-оксоацетата (129)



129 (0.9 г, 4.2 ммоль, 1 экв.), растворяют в хлористом метиле (42 мл), затем к смеси добавляют триэтиламин (1.80 мл, 12.6 ммоль, 3 экв.), затем, при 0°C, по каплям, через капельную воронку, добавляют этилхлороксоацетат (0.47 мл, 4.2 ммоль, 1 экв.). После полного добавления, реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 8 часов, после чего выливают в воду. Полученную смесь экстрагируют хлористым метилом (3x50 мл), органической слой выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы систему гексан: этилацетат (5:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.4. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой белый порошок с T_{пл.} = 152°C. M = 1.16 г. Выход = 89%.

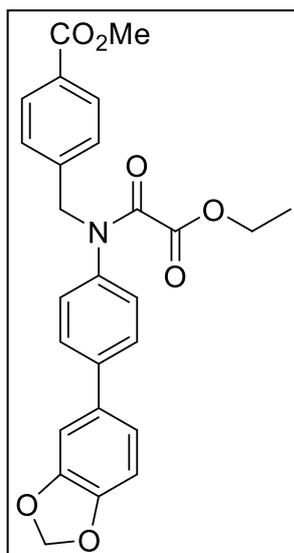
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 1.32 (т, J = 7.1 Гц, 3 H), 4.31 (q, J = 7.1 Гц, 2 H), 6.05 (с, 2 H), 6.98 (д, J = 8.1 Гц, 1 H), 7.14 (д, J = 8.1 Гц, 1 H), 7.25 (с, 1 H), 7.61 (д, J = 8.7 Гц, 2 H), 7.80 (д, J = 8.7 Гц, 2 H), 10.87 (с, 1 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 13.9, 63.1, 101.5, 103.4, 106.2, 120.4, 127.5, 128.1, 135.4, 136.8, 141.8, 145.7, 147.4, 156.9, 158.8.

IR ν_{max} (nujol): 3312, 3101 (уш), 2900, 2843, 2088, 1719, 1511, 1428, 1317 см⁻¹.

LCMS m/z: Рассчитано [M] – 313.31, Найдено [M+H]⁺ – 314.58

Синтез метил 4-((N-(4-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)фенил)-2-этокси-2-оксоацетамидо)метил)бензоата (130)



129 (1.16 г, 3.7 ммоль, 1 экв.) растворяют в ДМФ (21 мл), затем порциями добавляют гидрид натрия (0.163 г, 4.1 ммоль, 1.1 экв.) и перемешивают до прекращения выделения газа. Затем к реакционной смеси одной порцией добавляют бензилбромид (0.96 г, 4.2 ммоль, 1 экв.). Реакцию проводят в течение 24 часов, затем её выливают в воду и полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x50 мл), органической слой промывают водой 3x50 мл, рассолом 2x50 мл, после чего выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на

силикагеле, используя в качестве подвижной фазы систему гексан: этилацетат (5:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.8. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой жёлтый порошок с T_{пл.} = 167°C. M = 1.01 г. Выход = 59%.

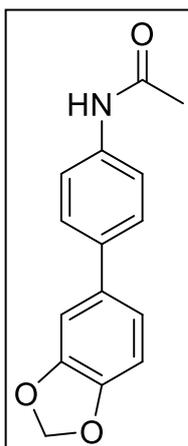
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 1.17 (т, J = 7.1 Гц, 3 H), 3.83 (с, 3 H), 3.94 - 4.08 (м, 2 H), 5.08 (с, 1 H), 6.05 (с, 2 H), 6.98 (д, J = 8.1 Гц, 1 H), 7.13 (д, J = 8.1 Гц, 1 H), 7.24 (д, J = 8.5 Гц, 3 H), 7.38 (д, J = 8.3 Гц, 2 H), 7.62 (д, J = 8.6 Гц, 2 H), 7.92 (д, J = 8.3, 2 H)

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 13.6, 51.4, 52.2, 64.2, 101.5, 103.0, 106.2, 127.1, 128.1, 128.2, 128.9, 129.1, 130.6, 136.2, 142.1, 142.8, 142.9, 145.7, 147.4, 158.3, 161.7, 166.6.

IR v_{max} (nujol): 3543, 3321, 3218, 3100, 2998, 2716, 2455, 1817, 1478, 1333, 1218 см⁻¹.

LCMS m/z: Рассчитано [M] – 461.48, Найдено [M+H]⁺ – 462.24

Синтез N-(4-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)фенил)ацетамида (131)



128 (0.9 г, 4.2 ммоль, 1 экв.), растворяют в хлористом метиле (42 мл), затем к смеси добавляют триэтиламин (1.80 мл, 12.6 ммоль, 3 экв.), затем, при 0°C, по каплям, через капельную воронку, добавляют ацetylхлорид (0.29 мл, 4.2 ммоль, 1 экв.). После полного добавления, реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 8 часов, после чего выливают в воду. Полученную смесь экстрагируют хлористым метилом (3x50 мл), органической слой выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной

хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы систему гексан: этилацетат (5:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.4. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой белый порошок с T_{пл.} = 152°C. M = 1.02 г. Выход = 95%.

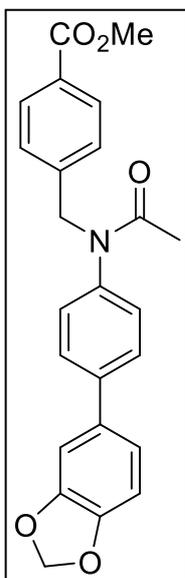
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 2.05 (с, 3 H), 6.04 (с, 2 H), 6.97 (д, J = 8.1 Гц, 1 H), 7.10 (дд, J = 8.1, 1.8 Гц, 1 H), 7.21 (д, J = 1.8 Гц, 1 H), 7.49 - 7.55 (м, 2 H), 7.57 - 7.69 (м, 2 H), 10.00 (с, 1 H)

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 22.3, 101.5, 102.1, 106.2, 120.4, 126.2, 127.2, 137.5, 141.5, 143.1, 145.7, 147.4, 168.7.

IR v_{max} (nujol): 3418, 3242, 3001, 2914, 2019, 1543, 1444 см⁻¹.

LCMS m/z: Рассчитано [M] – 255.28, Найдено [M+H]⁺ – 256.10

Синтез метил 4-((N-(4-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)фенил)ацетамидо)метил)бензоата
(132)



Вещество **131** (1.02 г, 4.0 ммоль, 1 экв.) растворяют в ДМФ (20 мл), затем порциями добавляют гидрид натрия (0.176 г, 4.4 ммоль, 1.1 экв.) и перемешивают до прекращения выделения газа. Затем к реакционной смеси одной порцией добавляют бензилбромид (0.92 г, 4.0 ммоль, 1 экв.). Реакцию проводят в течение 24 часов, затем её выливают в воду и полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x50 мл), органической слой промывают водой 3x50 мл, рассолом 2x50 мл, после чего выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы систему гексан: этилацетат (5:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.8.

Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой жёлтый порошок с T_{пл.} = 167°C. M = 0.81 г. Выход = 50%.

ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 1.90 (с, 3 H), 3.83 (с, 3 H), 4.97 (с, 2 H), 6.05 (с, 2 H), 6.97 (д, J = 8.1 Гц, 1 H), 7.13 (д, J = 8.2 Гц, 1 H), 7.21 - 7.30 (м, 3 H), 7.38 (д, J = 8.1 Гц, 2 H), 7.60 (д, J = 8.4 Гц, 2 H), 7.89 (д, J = 8.2, 2 H)

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 21.9, 51.6, 52.2, 98.8, 101.5, 106.2, 122.9, 128.5, 128.7, 128.9, 129.5, 130.3, 137.0, 140.2, 140.8, 143.1, 145.7, 147.4, 166.6, 172.2.

IR ν_{max} (nujol): 3547, 3335, 3118, 2840, 2810, 1817, 1727, 1423 см⁻¹.

LCMS m/z: Рассчитано [M] – 403.44, Найдено [M+H]⁺ – 404.01

Синтез 4-((5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-2,3-диоксоиндолин-1-ил)метил)бензойной кислоты (134)

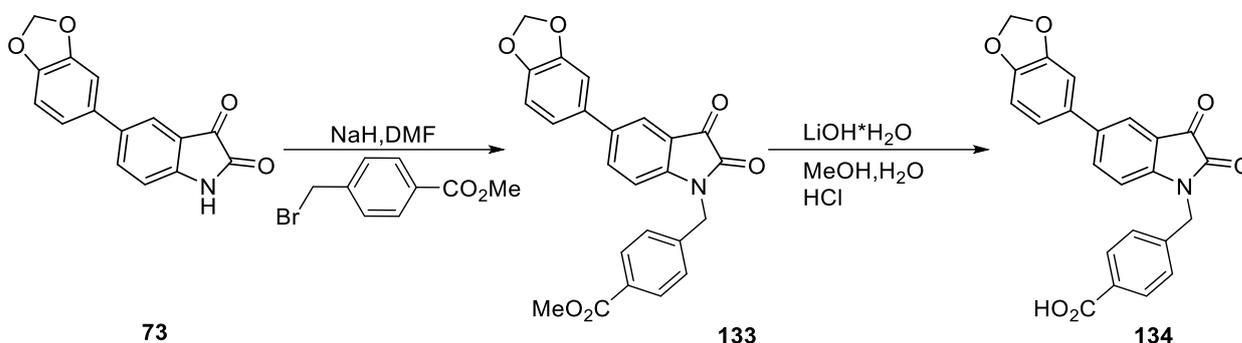
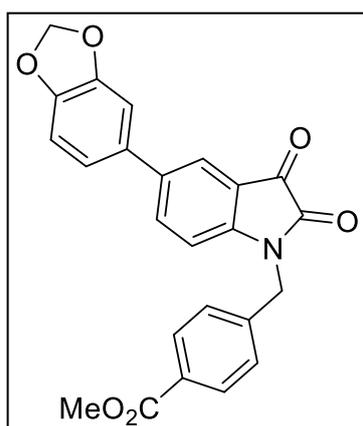


Схема 26. Синтез соединения 134

Синтез метил 4-((5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-2,3-диоксоиндолин-1-ил)метил)бензоата (133)



73 (2.67 г, 10 ммоль, 1 экв.) растворяют в ДМФ (20 мл), затем порциями добавляют гидрид натрия (0.44 г, 11 ммоль, 1.1 экв.) и перемешивают до прекращения выделения газа. Затем к реакционной смеси одной порцией добавляют бензилбромид (2.29 г, 10 ммоль, 1 экв.). Реакцию проводят в течение 24 часов, затем её выливают в воду и полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x50 мл), органической слой промывают водой 3x50 мл, рассолом 2x50 мл, после чего выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы систему гексан: этилацетат (1:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.4. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой красный порошок с T_{пл.} = 199°C. M = 1.33 г. Выход = 32%.

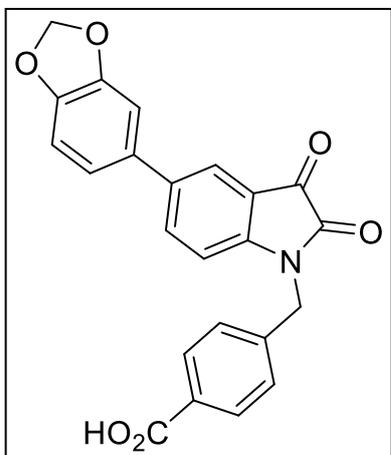
ЯМР ¹H (CDCl₃), δ м.д.: 3.83 (с, 3 H), 5.02 (с, 2 H), 6.04 (с, 2 H), 6.96 (д, J = 8.1 Гц, 2 H), 7.07 - 7.18 (м, 1 H), 7.25 (с, 1 H), 7.59 (д, J = 8.1 Гц, 2 H), 7.73 - 7.86 (м, 2 H), 7.92 (д, J = 8.0 Гц, 2 H).

ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ м.д.: 45.7, 52.2, 101.5, 104.9, 106.5, 114.1, 117.5, 125.3, 126.9, 128.2, 129.1, 130.2, 134.3, 137.0, 137.8, 141.6, 146.0, 147.4, 153.9, 164.7, 166.6, 185.6.

IR v_{max} (nujol): 3234, 2912, 2542, 2023, 1920, 1840, 1516, 1332, 1001 см⁻¹.

LCМС m/z : Рассчитано [M] – 415.41, Найдено [M+H]⁺ – 416.87

Синтез 4-((5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-2,3-диоксииндолин-1-ил)метил)бензойной кислоты (134)



133 (0.50 г, 1.2 ммоль, 1 экв.) растворяют 30% растворе воды в метаноле (12 мл), после полного растворения, добавляют гидроксид лития гидрат (0.1 г, 2.4 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 8 часов. Затем подкисляют 0.8 мл 3М соляной кислоты. Образовавшийся при подкислении осадок отфильтровывают и высушивают на воздухе. Вещество представляет собой красный порошок, разлагающийся при плавлении. M = 0.15 г. Выход = 31%.

ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 5.02 (с, 1 H), 5.85 - 6.13 (м, 2 H), 6.97 (д, J = 8.1 Гц, 2 H), 7.12 (с, 1 H), 7.27 (д, J = 1.7 Гц, 1 H), 7.46 (д, J = 10.9 Гц, 1 H), 7.57 (д, J = 8.3 Гц, 2 H), 7.70 - 7.85 (м, 1 H), 7.91 (д, J = 8.2 Гц, 2 H).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 45.1, 101.5, 104.9, 106.5, 114.1, 117.5, 125.3, 127.4, 127.8, 129.1, 130.1, 134.3, 137.0, 137.8, 140.4, 146.0, 147.4, 153.9, 164.7, 168.2, 185.6.

IR ν_{max} (nujol): 3112, 2843, 2456, 2191, 1995, 1839, 1328, 1104, 759 см⁻¹.

LCМС m/z : Рассчитано [M] – 401.38, Найдено [M+H]⁺ – 402.04

Синтез гидрохлорида метил 4-((3-амино-5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-2-оксоиндолин-1-ил)метил)бензоата (136)

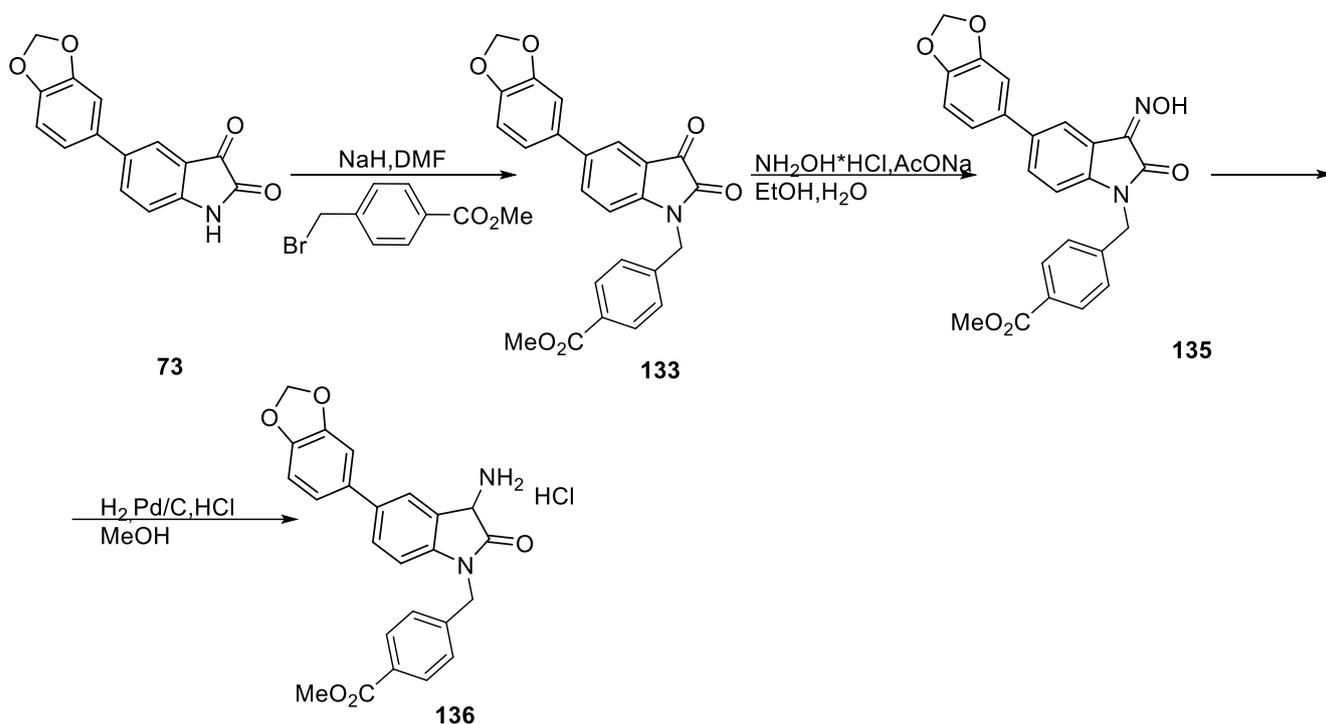
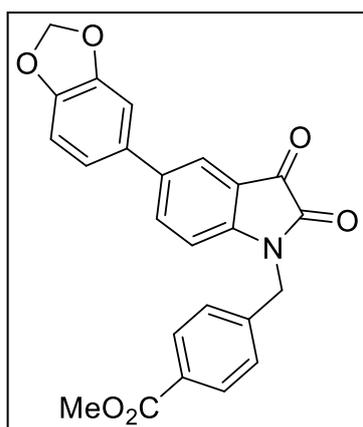


Схема 27. Синтез соединения 136

Синтез метил 4-((5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-2,3-диоксоиндолин-1-ил)метил)бензоата (133)



73 (2.67 г, 10 ммоль, 1 экв.) растворяют в ДМФ (20 мл), затем порциями добавляют гидрид натрия (0.44 г, 11 ммоль, 1.1 экв.) и перемешивают до прекращения выделения газа. Затем к реакционной смеси одной порцией добавляют бензилбромид (2.29 г, 10 ммоль, 1 экв.). Реакцию проводят в течение 24 часов, затем её выливают в воду и полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x50 мл), органической слой промывают водой 3x50 мл, рассолом 2x50 мл, после чего выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы систему гексан: этилацетат (1:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.4. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой красный порошок с T_{пл.} = 199°C. M = 133 г. Выход = 32%.

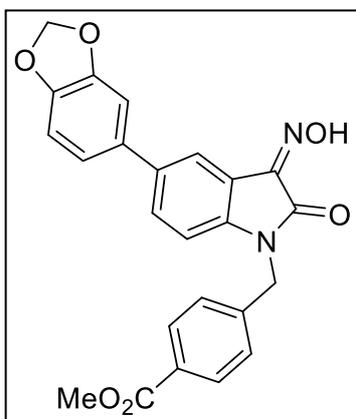
ЯМР ^1H (CDCl_3), δ м.д.: 3.83 (с, 3 H), 5.02 (с, 2 H), 6.04 (с, 2 H), 6.96 (д, $J = 8.1$ Гц, 2 H), 7.07 - 7.18 (м, 1 H), 7.25 (с, 1 H), 7.59 (д, $J = 8.1$ Гц, 2 H), 7.73 - 7.86 (м, 2 H), 7.92 (д, $J = 8.0$ Гц, 2 H).

ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ м.д.: 45.7, 52.2, 101.5, 104.9, 106.5, 114.1, 117.5, 125.3, 126.9, 128.2, 129.1, 130.2, 134.3, 137.0, 137.8, 141.6, 146.0, 147.4, 153.9, 164.7, 166.6, 185.6.

IR ν_{max} (nujol): 3234, 2912, 2542, 2023, 1920, 1840, 1516, 1332, 1001 cm^{-1} .

LCMS m/z : Рассчитано [M] – 415.41, Найдено [M+H]⁺ – 416.87

Синтез метил(Z)-4-((5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-3-(гидроксиимино)-2-оксоиндоин-1-ил)метил)бензоата (135)



73 (0.50 г, 1.2 ммоль, 1 экв.) растворяют в этиловом спирте (12 мл), затем добавляют ацетат натрия (0.2 г, 2.4 ммоль, 2 экв.) и гидроксилламин гидрохлорид (0.125 г, 1.8 ммоль, 1.5 экв.). Реакционную смесь кипятят при перемешивании в течение 8 часов. Затем упаривают растворитель на роторном испарителе, остаток заливают водой и экстрагируют этилацетатом (3x20 мл). После этого, органический слой выдерживают над сульфатом натрия и упаривают на роторном

испарителе при пониженном давлении. Вещество представляет собой белый порошок с $T_{\text{пл.}} = 148^\circ\text{C}$. М = 0.44 г. Выход = 85%.

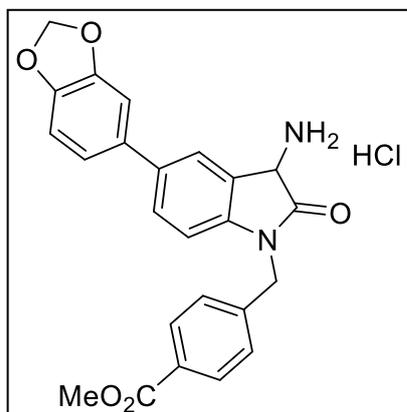
ЯМР ^1H (DMSO-d_6), δ м.д.: 3.82 (с, 3 H), 5.06 (с, 1 H), 6.04 (с, 2 H), 6.90 - 7.06 (м, 3 H), 7.15 (с, 1 H), 7.48 (д, $J = 8.25$ Гц, 2 H), 7.58 (д, $J = 8.19$ Гц, 1 H), 7.93 (д, $J = 8.31$ Гц, 2 H), 8.18 (д, 1 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO-d_6), δ м.д.: 45.7, 52.2, 101.5, 104.9, 106.1, 106.4, 114.0, 126.2, 126.8, 128.2, 129.0, 130.3, 131.4, 134.2, 136.3, 142.2, 145.6, 147.4, 147.8, 147.9, 162.7, 166.6.

IR ν_{max} (nujol): 3591, 3217, 2991, 2816, 2514, 2100, 1993, 1816, 1534, 1312, 759 cm^{-1} .

LCMS m/z : Рассчитано [M] – 430.42, Найдено [M+H]⁺ – 431.40

Синтез гидрохлорида метил 4-((3-амино-5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-2-оксоиндолин-1-ил)метил)бензоата (136)



Соединение **135** (0.44 г, 1.0 ммоль, 1 экв.), растворяют в метаноле (10 мл), затем добавляют раствор соляной кислоты (0.125 мл, 1.5 ммоль, 1.5 экв.). После, при наличии тока инертного газа, добавляют 10% Pd/C (0.044 г). Колбу с реакционной смесью дегазируют и заполняют водородом (давление водорода 1 атм.) после чего, реакционную смесь перемешивают в течение 12 часов. Затем реакционную смесь отфильтровывают через слой селита и после

промывают остаток кипящим метанолом. Фильтрат упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Вещество представляет собой белый порошок с $T_{пл.} = 249^{\circ}\text{C}$. $M = 0.362$ г. Выход = 80%.

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 3.83 (с, 3 H), 5.04 (уш. с., 1 H), 6.05 (с, 2 H), 6.86 - 7.04 (м, 2 H), 7.04 - 7.21 (м, 2 H), 7.57 (д, $J = 8.0$ Гц, 3 H), 7.92 (д, $J = 8.0$ Гц, 2 H), 8.28 (с, 1 H), 9.20 - 9.58 (м, 2 H).

ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6), δ м.д.: 47.3, 52.2, 61.0, 101.5, 101.9, 107.7, 113.7, 122.3, 126.1, 126.1, 127.5, 128.2, 128.5, 129.9, 130.6, 134.1, 141.7, 147.2, 147.4, 149.4, 166.6, 172.3.

IR ν_{max} (nujol): 3591, 3217, 2991, 2816, 2514, 2100, 1993, 1816, 1534, 1312, 759 cm^{-1} .

LCMS m/z : Рассчитано [M] – 416.44, Найдено [M+H]⁺ – 417.00

3.5 Синтез производных спиро[индолин-3,3'-пирролидин]-2-она.

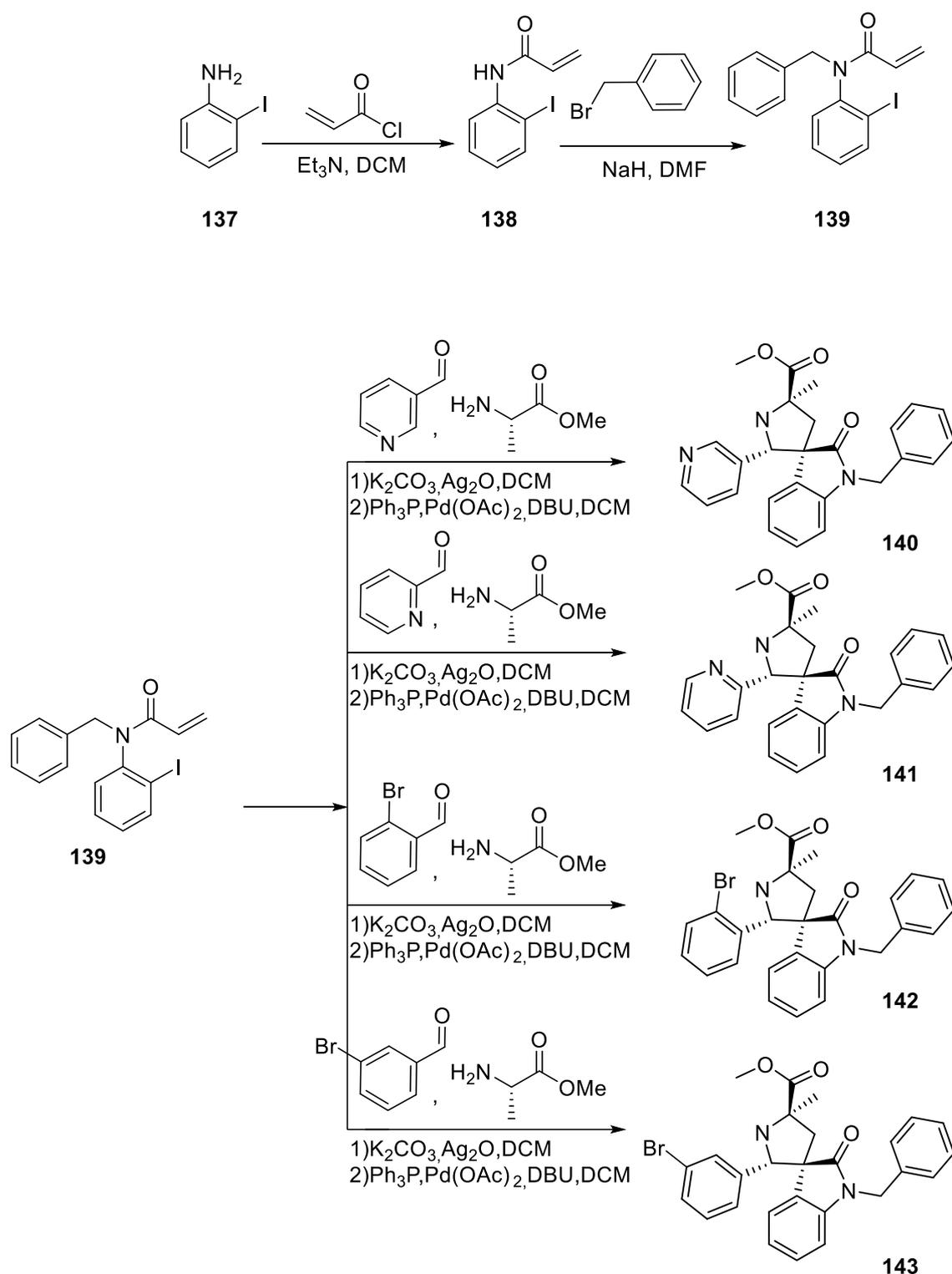
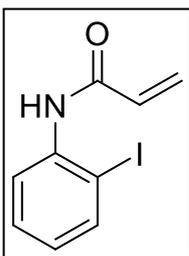


Схема 28. Синтез спироциклических производных с использованием тандема реакций (3+2) циклоприсоединения и реакции Хека

Синтез N-(2-йодофенил)акриламида (138)

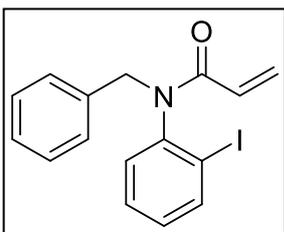


137 (2.19 г, 10 ммоль, 1 экв.), растворяют в хлористом метиле (100 мл), затем к смеси добавляют триэтиламин (4.17 мл, 30 ммоль, 3 экв.), затем, при 0°C, по каплям, через капельную воронку, добавляют акрилоил хлорид (1.22 мл, 15 ммоль, 1.5 экв.). После полного добавления, реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 50 часов, после чего выливают в воду. Полученную смесь экстрагируют хлористым метиленом (3x100 мл), органической слой выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы систему гексан: этилацетат (1:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. Rf = 0.8. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой бурый порошок с T_{пл.} = 152°C. M = 1.83 г. Выход = 67%. Химические сдвиги совпадают с приведёнными в литературе [143]

ЯМР ¹H (CDCl₃), δ м.д.: 5.84 (д, J = 10.3 Гц, 1 H), 6.20 - 6.38 (м, 1 H), 6.39 - 6.54 (м, 1 H), 6.73 - 6.93 (м, 1 H), 7.37 (т, J = 7.3 Гц, 1 H), 7.60 (уш. с., 1 H), 7.80 (дд, J = 7.9, 1.0 Гц, 1 H), 8.34 (д, J = 6.7, 1 H).

ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ м.д.: 91.4, 122.1, 126.5, 127.5, 128.9, 128.9, 138.9, 139.1, 164.6.

Синтез N-бензил-N-(2-йодофенил)акриламида (139)

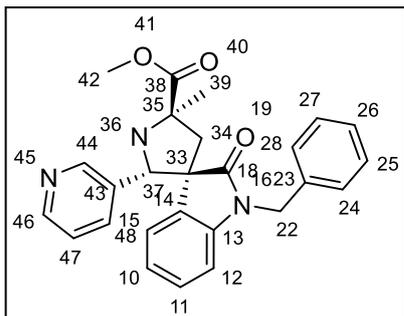


138 (1.83 г, 6.7 ммоль, 1 экв.) растворяют в ДМФ (34 мл), затем порциями добавляют гидрид натрия (0.298 г, 7.4 ммоль, 1.1 экв.) и перемешивают до прекращения выделения газа. Затем к реакционной смеси одной порцией добавляют бензилбромид (0.79 мл, 6.7 ммоль, 1 экв.). Реакцию проводят в течение 24 часов, затем её выливают в воду и полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x50 мл), органической слой промывают водой 3x50 мл, рассолом 2x50 мл, после чего выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы систему гексан: этилацетат (3:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. Rf = 0.6. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой бесцветное масло. M = 1.65 г. Выход = 65%. Химические сдвиги совпадают с приведёнными в литературе [210].

ЯМР ^1H (CDCl_3), δ м.д.: 4.06 (д, $J = 14.2$ Гц, 1 H), 5.48 - 5.61 (м, 1 H), 5.71 (д, $J = 14.2$ Гц, 1 H), 5.83 (дд, $J = 16.7, 10.33$ Гц, 1 H), 6.47 (дд, $J = 16.7, 1.96$ Гц, 1 H), 6.73 (д, $J = 7.8$ Гц, 1 H), 7.00 - 7.14 (м, 1 H), 7.17 - 7.34 (м, 6 H), 7.95 (д, 1 H).

ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ м.д.: 51.5, 99.7, 125.4, 126.2, 127.3, 127.8, 128.6, 129.1, 129.4, 130.0, 136.9, 140.2, 150.1, 165.9.

Синтез метил (2'S,3S,5'R)-1-бензил-5'-метил-2-оксо-2'-(пиридин-3-ил)спиро[индолин-3,3'-пирролидин]-5'-карбоксилата (140)



Пиридин-3-карбальдегид (0.1 мл, 1.0 ммоль, 1 экв), растворяют в хлористом метиле (20 мл), в среде инертного газа, затем добавляют метиловый эфир *L*- аланина (0.103 г, 1.0 ммоль, 1 экв), затем в полученную смесь добавляют **139** (427 мг, 1.0 ммоль, 1 экв), реакцию смесь перемешивают в течение 1 часа. Затем к смеси добавляют карбонат калия (0.276 мг, 2.0 ммоль, 2 экв.) и оксид серебра (23.2 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.). Реакционную смесь перемешивают в течение 30 минут, затем добавляют трифенилфосфин (26.2 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.), ацетат палладия (22.5 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.) и DBU (0.3 мл, 2 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивают в токе аргона без доступа света в течение 48 часов, затем выливают в воду. Полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x10 мл), органической слой выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы градиент от гексан: этилацетат (3:1) до ЕА (100%), в качестве неподвижной фазы SiO_2 40-60. $R_f = 0.3$ (ЕА). Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой светло-жёлтый порошок с $T_{\text{пл.}} = 180^\circ\text{C}$. $M = 184$ мг. Выход = 43%.

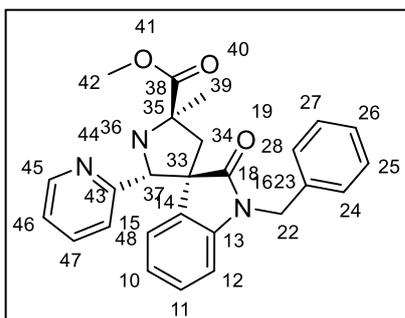
ЯМР ^1H (DMSO-d_6), δ м.д.: 1.75 (с, 3 H, C-39), 2.43 (д, $J = 14.1$ Гц, 1 H, C-34), 3.08 (д, $J = 14.0$ Гц, 1 H, C-34), 3.91 (с, 3 H, C-42), 4.27 (д, $J = 15.8$ Гц, 1 H, C-33), 4.70 (с, 1 H, C-22), 4.86 (д, $J = 15.8$ Гц, 1 H, C-22), 6.44 - 6.64 (м, 3 H, C-10, C-12, C-28), 7.03 - 7.21 (м, 5 H, C-24, C-25, C-26, C-27, C-12), 7.36 - 7.46 (м, 2 H, C-47, C-15), 7.55 (д, $J = 8.0$ Гц, 1 H, C-48), 7.99 (с, 1 H, C-46), 8.45 (д, $J = 3.7, 1$ H, C-44).

ЯМР ^{13}C (DMSO-d_6), δ м.д.: 26.9, 44.7, 45.3, 51.6, 57.5, 62.7, 67.2, 112.6, 120.7, 124.3, 126.1, 126.3, 126.4, 127.4, 127.4, 128.5, 134.0, 135.4, 135.8, 147.7, 148.5, 152.1, 174.6, 176.8.

IR ν_{max} (nujol): 3343, 3129, 2900, 2812, 2714, 2224, 1715, 1314, 1102, 954, 812 cm^{-1} .

LCMS m/z : Рассчитано $[M] - 427.51$, Найдено $[M+H]^+ - 428.34$

Синтез метил (2'R,3S,5'R)-1-бензил-5'-метил-2-оксо-2'-(пиридин-2-ил)спиро[индолин-3,3'-пирролидин]-5'-карбоксилата (141)



Пиридин-2-карбальдегид (0.1 мл, 1.0 ммоль, 1 экв), растворяют в хлористом метиле (20 мл), в среде инертного газа, затем добавляют метиловый эфир *L*- аланина (0.103 г, 1.0 ммоль, 1 экв), затем в полученную смесь добавляют **139** (427 мг, 1.0 ммоль, 1 экв), реакционную смесь перемешивают в течение 1 часа. Затем к смеси добавляют карбонат калия (0.276 мг, 2.0 ммоль, 2 экв.) и оксид серебра (23.2 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.). Реакционную смесь перемешивают в течение 30 минут, затем добавляют трифенилфосфин (26.2 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.), ацетат палладия (22.5 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.) и DBU (0.3 мл, 2 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивают в токе аргона без доступа света в течение 48 часов, затем выливают в воду. Полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x10 мл), органической слой выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы градиент от гексан: этилацетат (3:1) до ЕА (100%), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.3 (ЕА). Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой светло-жёлтый порошок с T_{пл.} = 180°C. М = 210 мг. Выход = 49%.

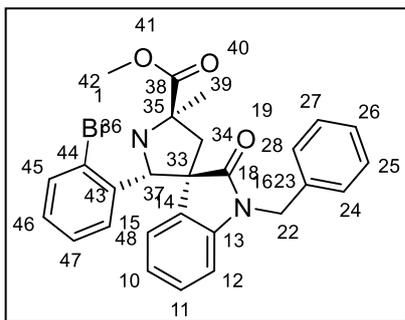
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 1.65 (с, 3 H, C-39), 2.38 (д, J = 13.8 Гц, 1 H, C-34), 2.81 (д, J = 13.8 Гц, 1 H, C-34), 3.68 - 3.87 (м, 3 H, C-42), 4.32 (д, J = 16.0 Гц, 1 H, C-37), 4.58 - 4.88 (м, 2 H, C-22), 6.48 (д, J = 6.7 Гц, 2 H, C-46, C-10), 6.57 (д, J = 7.2 Гц, 1 H, C-12), 7.18 (д, J = 5.8 Гц, 2 H, C-24, C-28), 7.46 (д, J = 6.9 Гц, 2 H, C-11, C-26), 7.52 - 7.60 (м, 4 H, C-27, C-25, C-15, C-48), 7.98 (с, 1 H, C-47), 8.45 (д, J = 7.2, 1 H, C-45)

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 26.9, 44.7, 45.3, 51.6, 57.5, 62.7, 67.2, 112.6, 120.7, 124.3, 126.1, 126.3, 126.4, 127.4, 127.4, 128.5, 134.0, 135.4, 135.8, 147.7, 148.5, 152.1, 174.6, 176.8.

IR ν_{max} (nujol): 3281, 3084, 2897, 2764, 2291, 1956, 1538, 1290, 1004, 817, 756 см⁻¹.

LCMS m/z: Рассчитано [M] – 427.51, Найдено [M+H]⁺ – 428.49

Синтез метил (2'R,3S,5'R)-1-бензил-2'-(2-бромфенил)-5'-метил-2-оксоспиро[индолин-3,3'-пирролидин]-5'-карбоксилата (142)



2-бромобензальдегид (0.12 мл, 1.0 ммоль, 1 экв), растворяют в хлористом метиле (20 мл), в среде инертного газа, затем добавляют метиловый эфир *L*- аланина (0.103 г, 1.0 ммоль, 1 экв), затем в полученную смесь добавляют **139** (427 мг, 1.0 ммоль, 1 экв), реакционную смесь перемешивают в течение 1 часа. Затем к смеси добавляют карбонат калия (0.276 мг, 2.0 ммоль, 2 экв.) и оксид серебра (23.2 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.). Реакционную смесь перемешивают в течение 30 минут, затем добавляют трифенилфосфин (26.2 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.), ацетат палладия (22.5 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.) и DBU (0.3 мл, 2 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивают в токе аргона без доступа света в течение 48 часов, затем выливают в воду. Полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x10 мл), органической слой выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы градиент от гексан: этилацетат (3:1) до ЕА (100%), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.3 (ЕА). Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой коричневый порошок с T_{пл.} = 242°C. М = 101 мг. Выход = 20%.

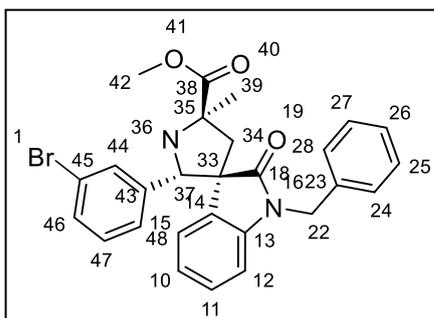
ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 1.60 (с, 3 H, C-39), 2.66 - 2.74 (м, 1 H, C-34), 3.58 - 3.70 (м, 1 H, C-34), 3.81 (с, 3 H, C-42), 4.29 (д, J = 16.1 Гц, 1 H, C-37), 4.81 (д, J = 16.0 Гц, 1 H, C-22), 5.15 (д, J = 5.3 Гц, 1 H, C-22), 6.52 (дд, J = 10.6, 7.8 Гц, 3 H, C-10, C-12, C-46), 7.02 (т, J = 7.3 Гц, 1 H, C-24), 7.09 (т, J = 7.4 Гц, 3 H, C-28, C-26, C-11), 7.19 (д, J = 14.7 Гц, 2 H, C-25, C-27), 7.30 (т, J = 6.8 Гц, 2 H, C-47, C-15), 7.36 (д, J = 7.6 Гц, 1 H, C-45), 7.93 (д, J = 7.8, 1 H, C-48).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 27.1, 44.7, 45.3, 51.6, 58.5, 62.7, 66.3, 112.6, 120.7, 123.0, 126.1, 126.4, 126.5, 127.4, 127.4, 128.5, 129.0, 129.3, 130.2, 134.0, 135.4, 140.2, 152.3, 174.4, 175.7.

IR ν_{max} (nujol): 3005, 2887, 1567, 1289, 1101, 932, 654 см⁻¹.

LCMS m/z: Рассчитано [M] – 505.42, Найдено [M+H]⁺ – 506.34

Синтез метил (2'S,3S,5'R)-1-бензил-2'-(3-бромфенил)-5'-метил-2-оксоспиро[индолин-3,3'-пирролидин]-5'-карбоксилата (143)



3-бромобензальдегид (0.1 мл, 1.0 ммоль, 1 экв), растворяют в хлористом метиле (20 мл), в среде инертного газа, затем добавляют метиловый эфир *L*-аланина (0.103 г, 1.0 ммоль, 1 экв), затем в полученную смесь добавляют **139** (427 мг, 1.0 ммоль, 1 экв), реакционную смесь перемешивают в течение 1 часа.

Затем к смеси добавляют карбонат калия (0.276 мг, 2.0 ммоль, 2 экв.) и оксид серебра (23.2 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.). Реакционную смесь перемешивают в течение 30 минут, затем добавляют трифенилфосфин (26.2 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.), ацетат палладия (22.5 мг, 0.1 ммоль, 0.1 экв.) и DBU (0.3 мл, 2 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивают в токе аргона без доступа света в течение 48 часов, затем выливают в воду. Полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x10 мл), органической слой выдерживают над осушителем и упаривают на ротаторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы градиент от гексан: этилацетат (3:1) до ЕА (100%), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.3 (ЕА). Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на ротаторном испарителе. Вещество представляет собой коричневый порошок с T_{пл.} = 240°C. М = 120 мг. Выход = 24%.

ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 1.50 (с, 3 H, C-39), 2.01 (дд, J = 13.6, 7.8 Гц, 1 H, C-34), 2.75 (д, J = 15.3 Гц, 1 H, C-34), 3.36 (с, 3 H, C-42), 4.28 (д, J = 14.3 Гц, 1 H, C-37), 4.53 (д, J = 5.8 Гц, 1 H, C-22), 4.78 (д, J = 14.3 Гц, 1 H, C-22), 6.70 (д, J = 7.2 Гц, 2 H, C-10, C-12), 7.04 - 7.18 (м, 5 H, C-46, C-24, C-28, C-26, C-11), 7.17 - 7.26 (м, 2 H, C-27, C-25), 7.37 (т, J = 7.6 Гц, 1 H, C-47), 7.53 (д, J = 8.0 Гц, 2 H, C-48, C-15), 7.59 (д, J = 6.5, 1 H, C-44).

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 27.1, 44.7, 46.0, 51.7, 58.4, 63.3, 66.5, 112.6, 120.7, 123.8, 125.9, 126.2, 126.4, 127.2, 127.4, 127.4, 128.5, 129.5, 129.6, 129.9, 135.4, 140.5, 151.8, 175.4, 175.4.

IR ν_{max} (nujol): 3192, 2814, 2732, 2519, 2009, 1735, 1324, 1109, 993, 823 см⁻¹.

LCMS m/z: Рассчитано [M] – 505.42, Найдено [M+H]⁺ – 506.67

Синтез метил (2'S,3S,5'R)-5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-1-(4-(метоксикарбонил)бензил)-5'-метил-2-оксо-2'-(пиридин-3-ил)спиро[индолин-3,3'-пирролидин]-5'-карбоксилата

(148)

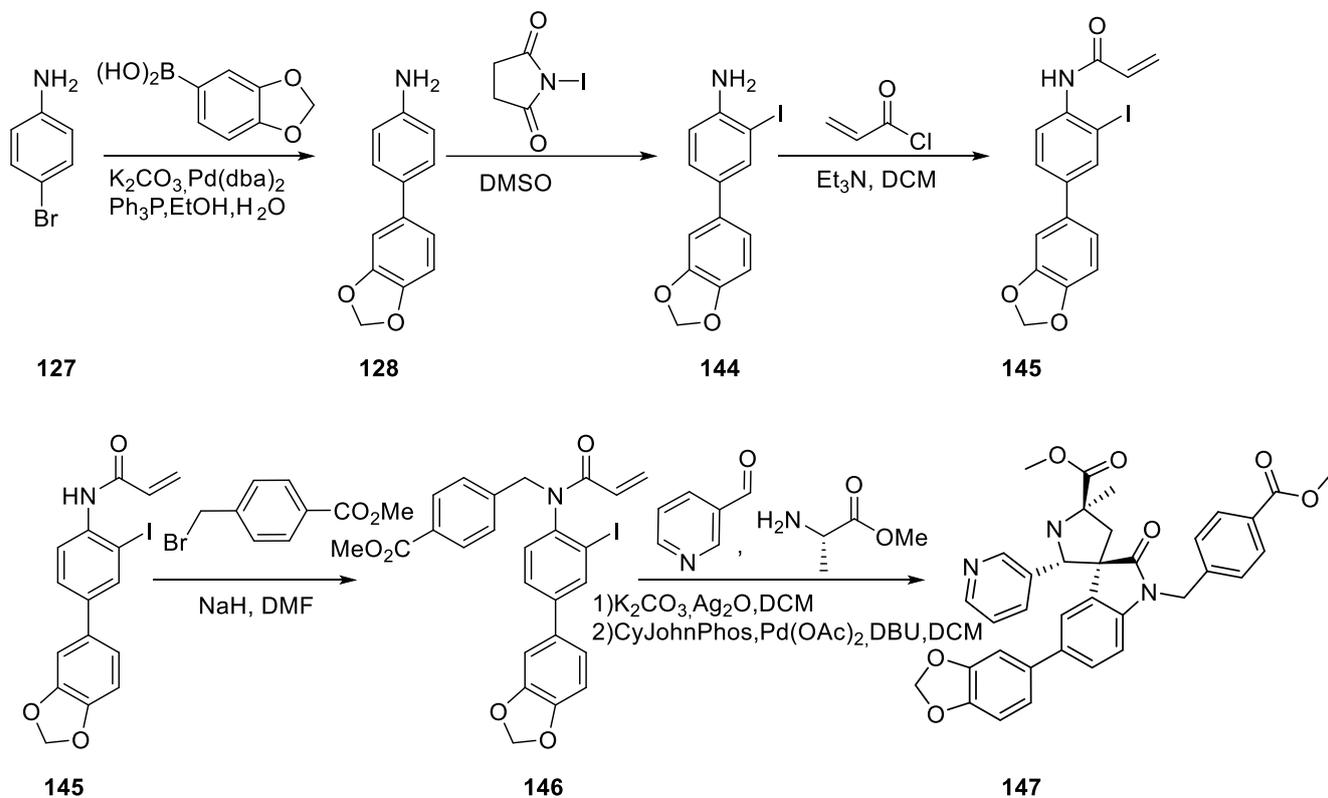
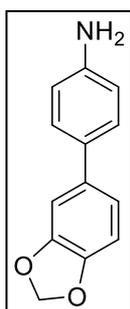


Схема 29. Синтез (метил-(5'R)-бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-1-(4-(метоксикарбонил)бензил)-5'-метил-2-оксо-2'-(пиридин-3-ил)спиро[индолин-3,3'-пирролидин]-5'-карбоксилата **148**

Синтез 4-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)анилина (128)

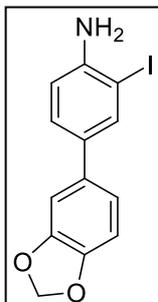


127 (1.72 г, 10 ммоль, 1 экв), растворяют в системе этанол:вода (1:1, 20 мл), затем в продуваемую инертным газом колбу, добавляют борную кислоту (2.49 г, 15 ммоль, 1.5 экв.), карбонат калия (4.14 г, 30 ммоль, 3 экв), трифенилфосфин (0,131 г, 0.5 ммоль, 0.05 экв.) и бис-дипенилиденацетон палладия хлорид (0.39 г, 0.5 ммоль, 0.05 экв.). Реакционную смесь кипятят при перемешивании в токе аргона в течение 12 часов. После реакцию смесь охлаждают до комнатной температуры и выливают в воду. Полученную смесь экстрагируют хлористым метиленом (3x100 мл), органической слой выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы систему гексан: этилацетат (3:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. R_f = 0.4. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном

испарителе. Вещество представляет собой светло-жёлтый порошок с $T_{пл.} = 128^{\circ}\text{C}$. $M = 1.89$ г. Выход = 89%.

ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ м.д.: 5.16 (с, 2 H) 6.00 (с, 2 H) 6.59 (д, $J = 8.5$ Гц, 2 H) 6.86 - 6.92 (м, 1 H) 6.94 - 7.01 (м, 1 H) 7.08 (д, $J = 1.8$ Гц, 1 H) 7.26 (д, $J = 8.4$ Гц, 2 H)

Синтез 4-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-2-йодоанилина (144)



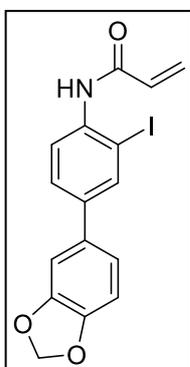
128 (1,89 г, 8.9 ммоль, 1 экв) растворяют в ДМСО (89 мл), затем при охлаждении на водяной бане ($T = 12^{\circ}\text{C}$) через капельную воронку, по каплям, добавляют раствор N-йодосукцинимид (2.202 г, 9.8 ммоль, 1.1 экв) в ДМСО (10 мл, 1M), не допуская поднятия температуры реакции выше заданной. Реакционную смесь перемешивают в течение 8 часов, после выливают в воду. Полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x150 мл), органической слой выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы систему гексан: этилацетат (3:1), в качестве неподвижной фазы SiO_2 40-60. $R_f = 0.7$. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой коричневое масло. $M = 1.75$ г. Выход = 58%. Химические сдвиги совпадают с приведёнными в литературе [211].

ЯМР ^1H (CDCl_3), δ м.д.: 5.98 (с, 2 H), 6.74 (д, $J = 8.5$ Гц, 2 H), 6.85 (д, $J = 8.1$ Гц, 1 H), 6.96 - 7.06 (м, 2 H), 7.33 (д, 2 H)

ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ м.д., δ м.д.: 84.0, 101.5, 101.6, 108.7, 114.2, 125.8, 129.5, 135.8, 136.7, 141.0, 147.4, 148.2, 148.8.

LCMS m/z : Рассчитано $[M] - 339.13$, Найдено $[M+H]^+ - 340.56$

Синтез N-(4-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-2-йодофенил)акриламида (145)



144 (1.75 г, 5.2 ммоль, 1 экв.), растворяют в хлористом метиле (52 мл), затем к смеси добавляют триэтиламин (2.17 мл, 15.6 ммоль, 3 экв.), затем, при 0°C , по каплям, через капельную воронку, добавляют акрилоил хлорид (0.64 мл, 7.8 ммоль, 1.5 экв). После полного добавления, реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 50 часов, после чего выливают в воду. Полученную смесь экстрагируют хлористым метилом (3x100 мл), органической слой выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве

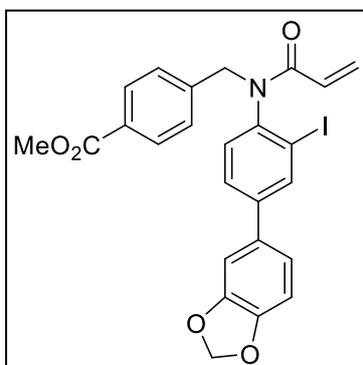
подвижной фазы систему гексан: этилацетат (3:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. Rf = 0.5. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой белый порошок с T_{пл.} = 192°C. M = 1.65 г. Выход = 81%.

ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 5.79 (д, J = 12.1 Гц, 1 H), 5.99 - 6.12 (м, 3 H), 6.27 (д, J = 17.1 Гц, 1 H), 7.00 (д, J = 8.1 Гц, 1 H), 7.16 (д, J = 10.0 Гц, 1 H), 7.29 (с, 1 H), 7.49 (д, J = 8.3 Гц, 1 H), 7.63 (д, J = 8.4 Гц, 1 H), 8.08 (с, 1 H), 9.67 (с, 1 H)

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 93.8, 101.5, 102.4, 108.7, 120.8, 126.5, 128.1, 128.7, 131.1, 135.7, 136.7, 137.6, 141.5, 147.4, 148.2, 163.4.

LCMS m/z: Рассчитано [M] – 393.18, Найдено [M+H]⁺ – 394.20

Синтез метил 4-((N-(4-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-2-йодофенил)акриламидо)метил)бензоата (146)



Вещество **145** (1.65 г, 4.2 ммоль, 1 экв.) растворяют в ДМФ (21 мл), затем порциями добавляют гидрид натрия (0.185 г, 4.6 ммоль, 1.1 экв.) и перемешивают до прекращения выделения газа. Затем к реакционной смеси одной порцией добавляют бензилбромид (0.96 г, 4.6 ммоль, 1 экв.). Реакцию проводят в течение 24 часов, затем её выливают в воду и полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x50 мл), органической слой промывают водой 3x50 мл, рассолом 2x50 мл, после чего выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы систему гексан: этилацетат (5:1), в качестве неподвижной фазы SiO₂ 40-60. Rf = 0.4. Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой жёлтое масло. M = 0.89 г. Выход = 39%.

ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ м.д.: 3.74 - 3.91 (м, 5 H), 4.28 (д, J = 14.9 Гц, 1 H), 5.48 (д, J = 14.9 Гц, 1 H), 5.67 (д, J = 12.5 Гц, 1 H), 5.89 (дд, J = 16.6, 10.27 Гц, 1 H), 6.07 (с, 2 H), 6.29 (д, J = 16.6 Гц, 1 H), 6.98 (т, J = 7.6 Гц, 2 H), 7.18 (д, J = 6.4 Гц, 1 H), 7.30 (с, 1 H), 7.42 (д, J = 8.3 Гц, 2 H), 7.60 (д, J = 10.4 Гц, 1 H), 7.91 (д, J = 8.2 Гц, 2 H), 8.20 (с, 1 H)

ЯМР ¹³C (DMSO-d₆), δ м.д.: 51.6, 52.2, 99.4, 101.5, 102.1, 108.7, 126.2, 126.4, 127.4, 127.9, 128.1, 128.2, 129.7, 130.6, 136.5, 137.7, 141.8, 142.2, 147.4, 148.2, 150.1, 166.6, 167.6.

LCMS m/z: Рассчитано [M] – 541.35, Найдено [M+H]⁺ – 542.01

Синтез метил (2'S,3S,5'R)-5-(бензо[d][1,3]доксол-5-ил)-1-(4-(метоксикарбонил)бензил)-5'-метил-2-оксо-2'-(пиридин-3-ил)спир[индолин-3,3'-пирролидин]-5'-карбоксилата (147)

Так как, классические условия синтеза не были оптимальными для получения соединения **147**, был осуществлен подбор условий, для наиболее оптимального протекания тандема реакций [3+2] циклоприсоединения и реакции Хека.

Варьирование всех условий, для успешного протекания данной реакции, представлено в таблице 1.

Таблица 1. Подбор условий тандема реакций (3+2) циклоприсоединения и реакции Хека

Растворитель	Основание	Количество Ag ₂ O	Лиганд	Катализатор	Выход (%)
DCM (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	4
DCM (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	9
DCM (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	12
DCM (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	2
DCM (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	5
DCM (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	18
DCM (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	5
DCM (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	7
DCM (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	15
DCM (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	3
DCM (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	12

Продолжение Таблицы 1.

DCM (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	53
DCM (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	-
DCM (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	-
DCM (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	4
DCM (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	-
DCM (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	-
DCM (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	7
DCM (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	-
DCM (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	-
DCM (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	3
DCM (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	-
DCM (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	-
DCM (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	12
DCM (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	3
DCM (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	7
DCM (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	25

Продолжение Таблицы 1.

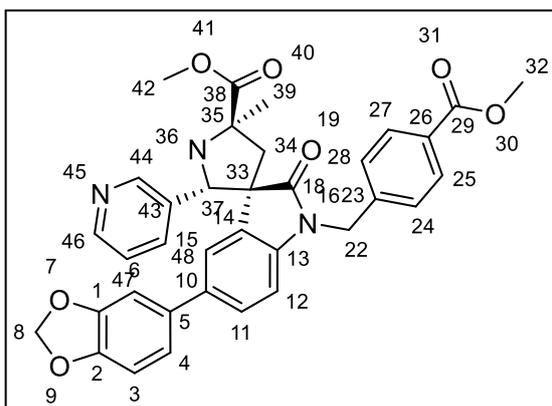
DCM (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	12
DCM (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	10
DCM (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	15
DCM (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	11
DCM (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	4
DCM (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	19
DCM (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	6
DCM (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	5
DCM (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	7
THF (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	14
THF (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	13
THF (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	9
THF (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	2
THF (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	7
THF (0.01M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	6
THF (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	4

Продолжение Таблицы 1.

THF (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	8
THF (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	12
THF (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	17
THF (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	20
THF (0.005M)	K ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	25
THF (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	6
THF (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	13
THF (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	11
THF (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	8
THF (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	2
THF (0.01M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	19
THF (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	7
THF (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	8
THF (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	8
THF (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	-
THF (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	-

Продолжение Таблицы 1.

THF (0.005M)	Na ₂ CO ₃ (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	-
THF (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	4
THF (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	3
THF (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	16
THF (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	15
THF (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	3
THF (0.01M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	10
THF (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	11
THF (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	12
THF (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.1 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	12
THF (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	XnatPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	8
THF (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	RuPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	7
THF (0.005M)	Et ₃ N (1.5 экв)	0.2 экв.	CyJohnPhos (0.2 экв)	Pd(OAc) ₂ (0.2 экв)	9



Пиридин-3-карбальдегид (0.1 мл, 1.0 ммоль, 1 экв), растворяют в хлористом метиле (20 мл), в среде инертного газа, затем добавляют метиловый эфир *L*- аланина (0.103 г, 1.0 ммоль, 1 экв), затем в полученную смесь добавляют **146** (541 мг, 1.0 ммоль, 1 экв), реакцию смесь перемешивают в течение 1 часа. Затем к смеси добавляют карбонат калия (0.207 мг, 1.5 ммоль, 1.5 экв.) и оксид серебра (26.4 мг, 0.2 ммоль, 0.2 экв.). Реакционную смесь перемешивают в течение 30 минут, затем добавляют *CuJohnPhos* (70.0 мг, 0.2 ммоль, 0.2 экв.), ацетат палладия (45.0 мг, 0.2 ммоль, 0.2 экв.) и *DBU* (0.3 мл, 0.2 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивают в токе аргона без доступа света в течение 48 часов, затем выливают в воду. Полученную смесь экстрагируют этилацетатом (3x10 мл), органической слой выдерживают над осушителем и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении. Упаренный остаток очищают, используя метод колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве подвижной фазы градиент от гексан: этилацетат (3:1) до ЕА (100%), в качестве неподвижной фазы SiO_2 40-60. $R_f = 0.5$ (ЕА). Фракции, содержащие целевое вещество упаривают на роторном испарителе. Вещество представляет собой оранжевый порошок с $T_{\text{пл.}} = 221^\circ\text{C}$. $M = 320$ мг. Выход = 53%.

ЯМР ^1H (CDCl_3), δ м.д.: 1.82 (с, 3 Н, С-39), 2.55 (д, $J = 14.0$ Гц, 1 Н, С-34), 3.07 (д, $J = 13.9$ Гц, 1 Н, С-34), 3.90 (д, $J = 2.9$ Гц, 6 Н, С-32, С-42), 4.32 (д, $J = 16.1$ Гц, 1 Н, С-37), 4.71 (с, 1 Н, С-22), 4.92 (д, $J = 16.0$ Гц, 1 Н, С-22), 6.02 (с, 2 Н, С-8, С-8), 6.49 (д, $J = 8.1$ Гц, 1 Н, С-6), 6.62 (д, $J = 8.1$ Гц, 2 Н, С-4, С-4), 6.90 (д, $J = 7.9$ Гц, 1 Н, С-12), 6.99 - 7.06 (м, 2 Н, С-11, С-24), 7.10 (дд, $J = 7.9, 4.8$ Гц, 1 Н, С-28), 7.27 - 7.34 (м, 1 Н, С-47), 7.52 - 7.63 (м, 2 Н, С-15, С-48), 7.82 (д, $J = 8.3$ Гц, 2 Н, С-25, С-27), 8.02 (с, 1 Н, С-46), 8.48 (д, 1 Н, С-44).

ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ м.д.: 25.4, 43.4, 46.9, 52.1, 52.9, 60.1, 66.1, 70.4, 101.2, 107.5, 108.7, 109.2, 120.4, 121.6, 123.2, 126.6, 127.3, 128.4, 129.3, 130.00, 130.4, 131.6, 134.2, 135.0, 136.7, 140.3, 141.5, 147.1, 148.1, 148.2, 149.4, 166.6, 177.1, 178.1.

IR ν_{max} (nujol): 3571, 3392, 3118, 2813, 2547, 2209, 1978, 1537, 1239, 1109, 983 cm^{-1} .

LCMS m/z : Рассчитано $[M] - 605.65$, Найдено $[M+H]^+ - 606.34$

Глава 4. Заключение.

В рамках данной работы, нами были получены соединения лидеры, представленные на схеме 1.

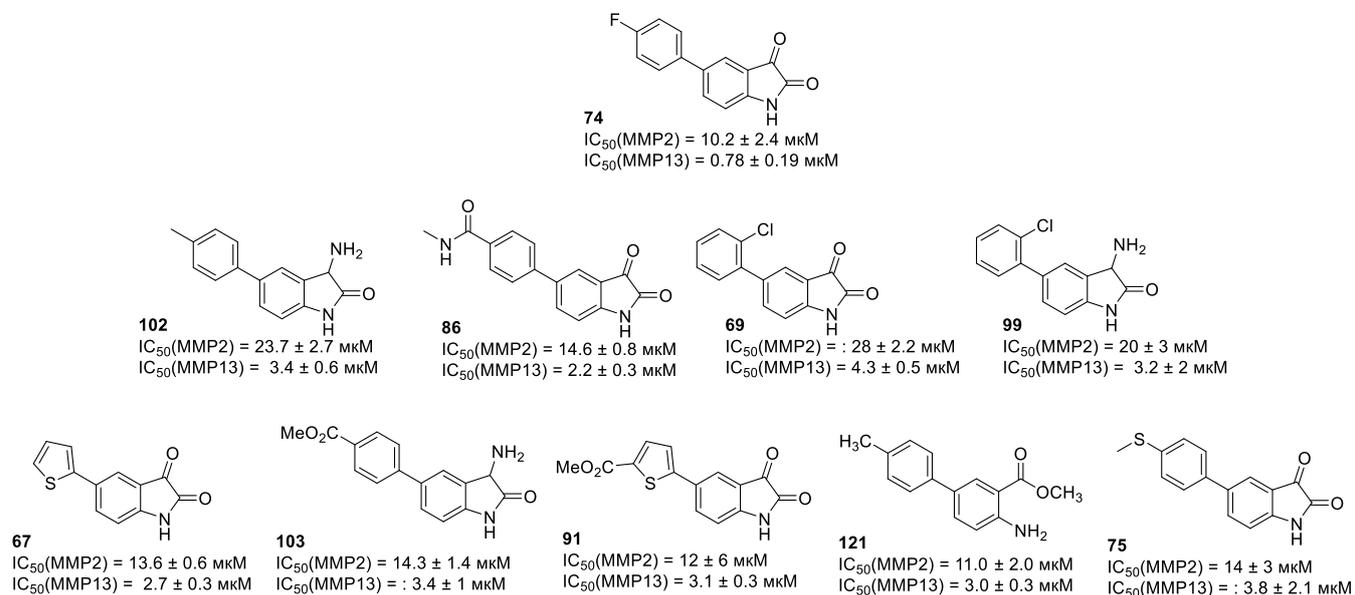


Схема 1. Список соединений лидеров и их биологическая активность по отношению к ММП-2 и ММП-13.

Также, нами было получено соединение, обладающее высокой цитологической активностью по отношению к клеткам НСТ116

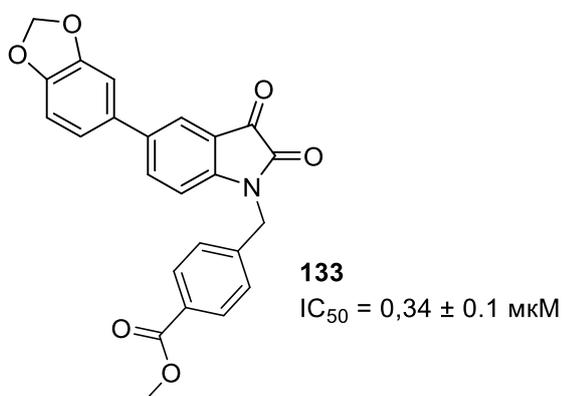


Схема 2. Соединение лидер с высокой цитологической активностью, в отношении клеток НСТ116

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы.

Выводы:

1. Разработан синтетический подход к синтезу 5-арилзамещённых изатинов, которые являются новым структурным типом селективных ингибиторов ММП-2, -8 и -13, найдены соединения, проявляющие активность в микромолярном диапазоне концентраций.
2. Найдены условия синтеза 5-арилизатинов с использованием палладий-катализируемых реакций кросс-сочетания - реакции Сузуки и реакции Стилле. Показано, что для синтеза сфокусированной библиотеки 5-арил(гетарил)изатинов предпочтительнее использовать 5-трибутилстаннилизатин, не содержащий в своей структуре защитных групп.
3. Разработан синтетический подход к синтезу 5-трибутилстаннилизатина в граммовых количествах, показана принципиальная возможность получения на его основе неописанных ранее в научной литературе 5-гетарилизатинов.
4. Синтезирована серия производных 5-арил(гетарил)-2-оксоиндолов, содержащих в положении C₍₃₎ индолинового фрагмента различные по своей природе заместители, для которой впервые был проведен систематический анализ зависимости биологической активности по отношению к ММП от природы заместителей и их расположения в изатиновом цикле.
5. Проведено молекулярное моделирование и изучена ингибирующая активность в отношении ММП-2, -8 и -13 неописанных ранее производных 5-арил(гетарил)-3-амино-2-оксоиндола. Установлено, что соединение **103** продемонстрировало двукратное увеличение активности в отношении ММП-2 по сравнению с первоначальным соединением лидером, а замена атома кислорода на аминогруппу в положении C₍₃₎ изатинового ядра приводит к улучшению селективности.
6. Осуществлен синтез новых спироиндолинонов, показано, что они могут быть получены в результате последовательности химических превращений, включающих в себя ацилирование 4-арил-2-йоданилина хлорангидридом акриловой кислоты, алкилирование атома азота анилина и последующего протекания тандема реакции – реакции кросс-сочетания по Хеку и реакции [3+2]-циклоприсоединения, образуя в результате диастереомерные производные, содержащие спиросочлененные фрагменты пирролидина и пиразолидина.
7. Получено производное 5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)изатина, проявляющее наномолярную цитотоксическую активность по отношению к клеткам рака толстого кишечника (НСТ 116). Анализ SAR показывает, что целевая модификация молекулы: введение фрагмента бензо[d][1,3]диоксила в 5-е положение изатина и алкильного

заместителя к атому азота гетероциклического ядра приводит к стократному увеличению активности по сравнению с другими заместителями, в то же время, спиро-модификация по С(3) положению производных 5-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)изатина не приводит к заметному увеличению биологической активности соединений.

8. Изучена биологическая активность большого ряда производных 5-арил(гетарил)изатинов (более 70 соединений) по отношению к ММП-2, -8 и -13. Были найдены перспективные «хиты», обладающие микромолярной активностью. Идентификация производных 5-арил(гетарил)изатинов в качестве хемотипа, проявляющих ингибирующее действие по отношению к ММП, носит пионерский характер. Несмотря на то, что нам не удалось получить наномолярную активность и высокую селективность в ряду ММП, данный перспективный класс соединений открывает широкие возможности для их дальнейшей модификации и проведения медико-химических испытаний.

Глава 5. Список литературы

1. de Paiva, R., Vieira, E., Silva, D., Anchau Wegermann, C., Da Costa Ferreira, A.M. Anticancer Compounds Based on Isatin-Derivatives: Strategies to Ameliorate Selectivity and Efficiency // *Frontiers in Molecular Biosciences* 2021. V. 7. №. P. 627272.
2. Van Lint, P., Libert, C. Chemokine and cytokine processing by matrix metalloproteinases and its effect on leukocyte migration and inflammation // *Journal of leukocyte biology* 2007. V. 82. №. 6. P. 1375-1381.
3. Gross, J., Lapiere, C.M. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1962. V. 48. №. 6. P. 1014-1022.
4. Cabral-Pacheco, G.A., Garza-Veloz, I., Castruita-De la Rosa, C., Ramirez-Acuña, J.M., Perez-Romero, B.A., Guerrero-Rodriguez, J.F., Martinez-Avila, N., Martinez-Fierro, M.L. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases // *International Journal of Molecular Sciences* 2020. V. 21. №. 24. P. 9379.
5. Maskos, K. Crystal structures of MMPs in complex with physiological and pharmacological inhibitors // *Biochimie* 2005. V. 87. №. 3-4. P. 249-263.
6. Zitka, O., Kukacka, J., Krizkova, S., Huska, D., Adam, V., Masarik, M., Prusa, R., Kizek, R. Matrix metalloproteinases // *Current medicinal chemistry* 2010. V. 17. №. 31. P. 3751-3768.
7. Григоркевич О.С., Мокров Г.В., Косова Л.Ю. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы // *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2019. V. 2. P. 3-16.
8. Butler, G.S., Tam, E.M., Overall, C.M. The canonical methionine 392 of matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A) is not required for catalytic efficiency or structural integrity: probing the role of the methionine-turn in the metzincin metalloprotease superfamily // *The Journal of biological chemistry* 2004. V. 279. №. 15. P. 15615-15620.
9. Lauer-Fields, J.L., Juska, D., Fields, G.B. Matrix metalloproteinases and collagen catabolism // *Biopolymers* 2002. V. 66. №. 1. P. 19-32.
10. Verma, R.P., Hansch, C. Matrix metalloproteinases (MMPs): chemical-biological functions and (Q)SARs // *Bioorganic & medicinal chemistry* 2007. V. 15. №. 6. P. 2223-2268.
11. Coussens, L.M., Werb, Z. Matrix metalloproteinases and the development of cancer // *Chemistry & biology* 1996. V. 3. №. 11. P. 895-904.
12. Snoek-van Beurden, P.A., Von den Hoff, J.W. Zymographic techniques for the analysis of matrix metalloproteinases and their inhibitors // *BioTechniques* 2005. V. 38. №. 1. P. 73-83.

13. Fisher, J.F., Mobashery, S. Recent advances in MMP inhibitor design // *Cancer metastasis reviews* 2006. V. 25. №. 1. P. 115-136.
14. Birkedal-Hansen, H., Moore, W.G., Bodden, M.K., Windsor, L.J., Birkedal-Hansen, B., DeCarlo, A., Engler, J.A. Matrix metalloproteinases: a review // *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists* 1993. V. 4. №. 2. P. 197-250.
15. Morgunova, E., Tuuttila, A., Bergmann, U., Isupov, M., Lindqvist, Y., Schneider, G., Tryggvason, K. Structure of human pro-matrix metalloproteinase-2: activation mechanism revealed // *Science (New York, N.Y.)* 1999. V. 284. №. 5420. P. 1667-1670.
16. Mannello, F., Tonti, G., Papa, S. Matrix metalloproteinase inhibitors as anticancer therapeutics // *Current cancer drug targets* 2005. V. 5. №. 4. P. 285-298.
17. Cui, N., Hu, M., Khalil, R.A. Chapter One - Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases // *Progress in Molecular Biology and Translational Science / Ed. by Khalil RA Academic Press.* 2017. PP.1-73
18. Goodsell, D.S. The molecular perspective: matrix metalloproteinase 2 // *The oncologist* 1999. V. 4. №. 6. P. 509-511.
19. Mannello, F. Natural bio-drugs as matrix metalloproteinase inhibitors: new perspectives on the horizon? // *Recent patents on anti-cancer drug discovery* 2006. V. 1. №. 1. P. 91-103.
20. Talvensaaari-Mattila, A., Pääkkö, P., Höyhty, M., Blanco-Sequeiros, G., Turpeenniemi-Hujanen, T. Matrix metalloproteinase-2 immunoreactive protein: a marker of aggressiveness in breast carcinoma // *Cancer* 1998. V. 83. №. 6. P. 1153-1162.
21. Still, K., Robson, C.N., Autzen, P., Robinson, M.C., Hamdy, F.C. Localization and quantification of mRNA for matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 (TIMP-2) in human benign and malignant prostatic tissue // *The Prostate* 2000. V. 42. №. 1. P. 18-25.
22. Koshiha, T., Hosotani, R., Wada, M., Miyamoto, Y., Fujimoto, K., Lee, J.U., Doi, R., Arai, S., Imamura, M. Involvement of matrix metalloproteinase-2 activity in invasion and metastasis of pancreatic carcinoma // *Cancer* 1998. V. 82. №. 4. P. 642-650.
23. Nomura, H., Fujimoto, N., Seiki, M., Mai, M., Okada, Y. Enhanced production of matrix metalloproteinases and activation of matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A) in human gastric carcinomas // *International journal of cancer* 1996. V. 69. №. 1. P. 9-16.

24. Rojiani, M.V., Alidina, J., Esposito, N., Rojiani, A.M. Expression of MMP-2 correlates with increased angiogenesis in CNS metastasis of lung carcinoma // *International journal of clinical and experimental pathology* 2010. V. 3. №. 8. P. 775-781.
25. Jezierska, A., Motyl, T. Matrix metalloproteinase-2 involvement in breast cancer progression: a mini-review // *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research* 2009. V. 15. №. 2. P. 32-40.
26. Peress, N., Perillo, E., Zucker, S. Localization of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases in Alzheimer's disease and normal brain // *Journal of neuropathology and experimental neurology* 1995. V. 54. №. 1. P. 16-22.
27. Chandler, S., Coates, R., Gearing, A., Lury, J., Wells, G., Bone, E. Matrix metalloproteinases degrade myelin basic protein // *Neuroscience letters* 1995. V. 201. №. 3. P. 223-226.
28. Lohmander, L.S., Hoerrner, L.A., Lark, M.W. Metalloproteinases, tissue inhibitor, and proteoglycan fragments in knee synovial fluid in human osteoarthritis // *Arthritis & Rheumatism* 1993. V. 36. №. 2. P. 181-189.
29. Brauer, P.R. MMPs - Role in Cardiovascular Development and Disease // *FBL* 2006. V. 11. №. 1. P. 447-478.
30. Zhong, Y., Lu, Y.T., Sun, Y., Shi, Z.H., Li, N.G., Tang, Y.P., Duan, J.A. Recent opportunities in matrix metalloproteinase inhibitor drug design for cancer // *Expert opinion on drug discovery* 2018. V. 13. №. 1. P. 75-87.
31. Gooyit, M., Song, W., Mahasenan, K.V., Lichtenwalter, K., Suckow, M.A., Schroeder, V.A., Wolter, W.R., Mobashery, S., Chang, M. O-phenyl carbamate and phenyl urea thiiranes as selective matrix metalloproteinase-2 inhibitors that cross the blood-brain barrier // *Journal of medicinal chemistry* 2013. V. 56. №. 20. P. 8139-8150.
32. Coussens, L.M., Fingleton, B., Matrisian, L.M. Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: trials and tribulations // *Science (New York, N.Y.)* 2002. V. 295. №. 5564. P. 2387-2392.
33. Verma, R.P. Hydroxamic acids as matrix metalloproteinase inhibitors // *Experientia supplementum (2012)* 2012. V. 103. №. P. 137-176.
34. Barlaam, B., Bird, T.G., Lambert-Van Der Brempt, C., Campbell, D., Foster, S.J., Maciewicz, R. New alpha-substituted succinate-based hydroxamic acids as TNFalpha convertase inhibitors // *Journal of medicinal chemistry* 1999. V. 42. №. 23. P. 4890-4908.

35. Yan, Y.L., Miller, M.T., Cao, Y., Cohen, S.M. Synthesis of hydroxypyrrone- and hydroxythiopyrrone-based matrix metalloproteinase inhibitors: developing a structure-activity relationship // *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2009. V. 19. №. 7. P. 1970-1976.
36. Gao, M., Zhang, H., Trivedi, A., Mahasenan, K.V., Schroeder, V.A., Wolter, W.R., Suckow, M.A., Mobashery, S., Noble-Haeusslein, L.J., Chang, M. Selective Inhibition of MMP-2 Does Not Alter Neurological Recovery after Spinal Cord Injury // *ACS chemical neuroscience* 2016. V. 7. №. 11. P. 1482-1487.
37. Nuti, E., Cantelmo, A.R., Gallo, C., Bruno, A., Bassani, B., Camodeca, C., Tuccinardi, T., Vera, L., Orlandini, E., Nencetti, S., Stura, E.A., Martinelli, A., Dive, V., Albini, A., Rossello, A. N-O-Isopropyl Sulfonamido-Based Hydroxamates as Matrix Metalloproteinase Inhibitors: Hit Selection and in Vivo Antiangiogenic Activity // *Journal of medicinal chemistry* 2015. V. 58. №. 18. P. 7224-7240.
38. Liao, H.-Y., Da, C.-M., Liao, B., Zhang, H.-H. Roles of matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) in cancer // *Clinical Biochemistry* 2021. V. 92. №. P. 9-18.
39. Browner, M.F., Smith, W.W., Castelhana, A.L. Matrilysin-inhibitor complexes: common themes among metalloproteases // *Biochemistry* 1995. V. 34. №. 20. P. 6602-6610.
40. Nakao, T., Kurita, N., Komatsu, M., Yoshikawa, K., Iwata, T., Utsunomiya, T., Shimada, M. Expression of thrombospondin-1 and Ski are prognostic factors in advanced gastric cancer // *International Journal of Clinical Oncology* 2011. V. 16. №. 2. P. 145-152.
41. Song, Z., Wu, Y., Yang, J., Yang, D., Fang, X. Progress in the treatment of advanced gastric cancer // *Tumor Biology* 2017. V. 39. №. 7. P. 1010428317714626.
42. Soleyman-Jahi, S., Nedjat, S., Abdirad, A., Hoorshad, N., Heidari, R., Zendehtdel, K. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-7 in gastric cancer survival: a meta-analysis // *PloS one* 2014. V. 10. №. 4. P. 122316.
43. Zhang, H.-Y., Zheng, F.-S., Yang, W., Lu, J.-B. The long non-coding RNA MIAT regulates zinc finger E-box binding homeobox 1 expression by sponging miR-150 and promoting cell invasion in non-small-cell lung cancer // *Gene* 2017. V. 633. №. P. 61-65.
44. Yamamoto, H., Adachi, Y., Itoh, F., Iku, S., Matsuno, K., Kusano, M., Arimura, Y., Endo, T., Hinoda, Y., Hosokawa, M., Imai, K. Association of matrilysin expression with recurrence and poor prognosis in human esophageal squamous cell carcinoma // *Cancer research* 1999. V. 59. №. 14. P. 3313-3316.

45. Aihara, R., Mochiki, E., Nakabayashi, T., Akazawa, K., Asao, T., Kuwano, H. Clinical significance of mucin phenotype, β -catenin and matrix metalloproteinase 7 in early undifferentiated gastric carcinoma // *British Journal of Surgery* 2005. V. 92. №. 4. P. 454-462.
46. Huachuan, Z., Xiaohan, L., Jinmin, S., Qian, C., Yan, X., Yinchang, Z. Expression of matrix metalloproteinase-7 involving in growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric cancer // *Chinese medical sciences journal = Chung-kuo i hsueh k'o hsueh tsa chih* 2003. V. 18. №. 2. P. 80-86.
47. Jones, L.E., Humphreys, M.J., Campbell, F., Neoptolemos, J.P., Boyd, M.T. Comprehensive analysis of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor expression in pancreatic cancer: increased expression of matrix metalloproteinase-7 predicts poor survival // *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2004. V. 10. №. 8. P. 2832-2845.
48. Yamamoto, H., Iku, S., Adachi, Y., Imsumran, A., Taniguchi, H., Nosho, K., Min, Y., Horiuchi, S., Yoshida, M., Itoh, F., Imai, K. Association of trypsin expression with tumour progression and matrilysin expression in human colorectal cancer // *The Journal of pathology* 2003. V. 199. №. 2. P. 176-184.
49. Yamamoto, H., Itoh, F., Adachi, Y., Sakamoto, H., Adachi, M., Hinoda, Y., Imai, K. Relation of enhanced secretion of active matrix metalloproteinases with tumor spread in human hepatocellular carcinoma // *Gastroenterology* 1997. V. 112. №. 4. P. 1290-1296.
50. Parkin, D.M., Bray, F., Ferlay, J., Pisani, P. *Global Cancer Statistics, 2002* // *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 2005. V. 55. №. 2. P. 74-108.
51. Winer, E., Gralow, J., Diller, L., Karlan, B., Loehrer, P., Pierce, L., Demetri, G., Ganz, P., Kramer, B., Kris, M., Markman, M., Mayer, R., Pfister, D., Raghavan, D., Ramsey, S., Reaman, G., Sandler, H., Sawaya, R., Schuchter, L., Sweetenham, J., Vahdat, L., Schilsky, R.L. *Clinical cancer advances 2008: major research advances in cancer treatment, prevention, and screening--a report from the American Society of Clinical Oncology* // *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2009. V. 27. №. 5. P. 812-826.
52. Koskensalo, S., Mrena, J., Wiksten, J.P., Nordling, S., Kokkola, A., Hagström, J., Haglund, C. MMP-7 overexpression is an independent prognostic marker in gastric cancer // *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 2010. V. 31. №. 3. P. 149-155.
53. Ogden, S.R., Wroblewski, L.E., Weydig, C., Romero-Gallo, J., O'Brien, D.P., Israel, D.A., Krishna, U.S., Fingleton, B., Reynolds, A.B., Wessler, S., Peek, R.M., Jr. p120 and Kaiso regulate

Helicobacter pylori-induced expression of matrix metalloproteinase-7 // Molecular biology of the cell 2008. V. 19. №. 10. P. 4110-4121.

54. Lee, K.H., Shin, S.J., Kim, K.O., Kim, M.K., Hyun, M.S., Kim, T.N., Jang, B.I., Kim, S.W., Song, S.K., Kim, H.S., Bae, S.H., Ryoo, H.M. Relationship between E-cadherin, matrix metalloproteinase-7 gene expression and clinicopathological features in gastric carcinoma // Oncology reports 2006. V. 16. №. 4. P. 823-830.

55. Tabuse, H., Abe-Sato, K., Kanazawa, H., Yashiro, M., Tamura, Y., Kamitani, M., Hitaka, K., Gunji, E., Mitani, A., Kojima, N., Oka, Y. Discovery of Highly Potent and Selective Matrix Metalloproteinase-7 Inhibitors by Hybridizing the S1' Subsite Binder with Short Peptides // Journal of medicinal chemistry 2022. V. 65. №. 19. P. 13253-13263.

56. Brandstetter, H., Engh, R.A., Von Roedern, E.G., Moroder, L., Huber, R., Bode, W., Grams, F. Structure of malonic acid-based inhibitors bound to human neutrophil collagenase. A new binding mode explains apparently anomalous data // Protein science : a publication of the Protein Society 1998. V. 7. №. 6. P. 1303-1309.

57. Gul, S.S., Abdulkareem, A.A., Sha, A.M., Rawlinson, A. Diagnostic Accuracy of Oral Fluids Biomarker Profile to Determine the Current and Future Status of Periodontal and Peri-Implant Diseases // Diagnostics (Basel, Switzerland) 2020. V. 10. №. 10. P. 838.

58. Chapple, I.L.C., Mealey, B.L., Van Dyke, T.E., Bartold, P.M., Dommisch, H., Eickholz, P., Geisinger, M.L., Genco, R.J., Glogauer, M., Goldstein, M., Griffin, T.J., Holmstrup, P., Johnson, G.K., Kapila, Y., Lang, N.P., Meyle, J., Murakami, S., Plemons, J., Romito, G.A., Shapira, L., Tatakis, D.N., Teughels, W., Trombelli, L., Walter, C., Wimmer, G., Xenoudi, P., Yoshie, H. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions // Journal of periodontology 2018. V. 89. №. 1. P. 74-84.

59. de Moraes, E.F., Pinheiro, J.C., Leite, R.B., Santos, P.P.A., Barboza, C.A.G., Freitas, R.A. Matrix metalloproteinase-8 levels in periodontal disease patients: A systematic review // Journal of periodontal research 2018. V. 53. №. 2. P. 156-163.

60. Letra, A., Silva, R.M., Rylands, R.J., Silveira, E.M., de Souza, A.P., Wendell, S.K., Garlet, G.P., Vieira, A.R. MMP3 and TIMP1 variants contribute to chronic periodontitis and may be implicated in disease progression // Journal of Clinical Periodontology 2012. V. 39. №. 8. P. 707-716.

61. Yakob, M., Meurman, J.H., Sorsa, T., Söder, B. Treponema denticola associates with increased levels of MMP-8 and MMP-9 in gingival crevicular fluid // Oral Diseases 2013. V. 19. №. 7. P. 694-701.
62. Luchian, I., Goriuc, A., Sandu, D., Covasa, M. The Role of Matrix Metalloproteinases (MMP-8, MMP-9, MMP-13) in Periodontal and Peri-Implant Pathological Processes // International Journal of Molecular Sciences 2022. V. 23. №. 3. P. 1806.
63. Yakob, M., Kari, K., Tervahartiala, T., Sorsa, T., Söder, P., Meurman, J.H., Söder, B. Associations of periodontal microorganisms with salivary proteins and MMP-8 in gingival crevicular fluid // Journal of Clinical Periodontology 2012. V. 39. №. 3. P. 256-263.
64. Sapna, G., Gokul, S., Bagri-Manjrekar, K. Matrix metalloproteinases and periodontal diseases // Oral Diseases 2014. V. 20. №. 6. P. 538-550.
65. Emingil, G., Atilla, G., Sorsa, T., Luoto, H., Kirilmaz, L., Baylas, H. The Effect of Adjunctive Low-Dose Doxycycline Therapy on Clinical Parameters and Gingival Crevicular Fluid Matrix Metalloproteinase-8 Levels in Chronic Periodontitis // Journal of periodontology 2004. V. 75. №. 1. P. 106-115.
66. Konopka, Ł., Pietrzak, A., Brzezińska-Błaszczyk, E. Effect of scaling and root planing on interleukin-1 β , interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients // Journal of periodontal research 2012. V. 47. №. 6. P. 681-688.
67. Honibald, E.N., Mathew, S., Padmanaban, J., Sundaram, E., Ramamoorthy, R.D. Periosteal: Matrix metalloproteinase inhibitors as an adjunctive therapy for inflammatory periodontal disease // Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences 2012. V. 4. №. 2. P. 417-421.
68. Köhrmann, A., Kammerer, U., Kapp, M., Dietl, J., Anacker, J. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in primary human breast cancer and breast cancer cell lines: New findings and review of the literature // BMC cancer 2009. V. 9. №. P. 188.
69. Sarper, M., Allen, M.D., Gomm, J., Haywood, L., Decock, J., Thirkettle, S., Ustaoglu, A., Sarker, S.J., Marshall, J., Edwards, D.R., Jones, J.L. Loss of MMP-8 in ductal carcinoma in situ (DCIS)-associated myoepithelial cells contributes to tumour promotion through altered adhesive and proteolytic function // Breast cancer research : BCR 2017. V. 19. №. 1. P. 33.
70. Gutiérrez-Fernández, A., Fueyo, A., Folgueras, A.R., Garabaya, C., Pennington, C.J., Pilgrim, S., Edwards, D.R., Holliday, D.L., Jones, J.L., Span, P.N., Sweep, F.C., Puente, X.S., López-Otín, C. Matrix metalloproteinase-8 functions as a metastasis suppressor through modulation of tumor cell adhesion and invasion // Cancer research 2008. V. 68. №. 8. P. 2755-2763.

71. Duffy, M.J., Blaser, J., Duggan, C., McDermott, E., O'Higgins, N., Fennelly, J.J., Tschesche, H. Assay of matrix metalloproteases types 8 and 9 by ELISA in human breast cancer // *British journal of cancer* 1995. V. 71. №. 5. P. 1025-1028.
72. Duffy, M.J., Duggan, C., Maguire, T., Mulcahy, K., Elvin, P., McDermott, E., Fennelly, J.J., O'Higgins, N. Urokinase plasminogen activator as a predictor of aggressive disease in breast cancer // *Enzyme & protein* 1996. V. 49. №. 1-3. P. 85-93.
73. Cha, H., Kopetzki, E., Huber, R., Lanzendörfer, M., Brandstetter, H. Structural Basis of the Adaptive Molecular Recognition by MMP9 // *Journal of molecular biology* 2002. V. 320. №. 5. P. 1065-1079.
74. Papazafiropoulou, A., Tentolouris, N. Matrix metalloproteinases and cardiovascular diseases // *Hippokratia* 2009. V. 13. №. 2. P. 76-82.
75. Rowsell, S., Hawtin, P., Minshull, C.A., Jepson, H., Brockbank, S.M., Barratt, D.G., Slater, A.M., McPheat, W.L., Waterson, D., Henney, A.M., Pauptit, R.A. Crystal structure of human MMP9 in complex with a reverse hydroxamate inhibitor // *Journal of molecular biology* 2002. V. 319. №. 1. P. 173-181.
76. Opdenakker, G., Van den Steen, P.E., Dubois, B., Nelissen, I., Van Coillie, E., Masure, S., Proost, P., Van Damme, J. Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology // *Journal of leukocyte biology* 2001. V. 69. №. 6. P. 851-859.
77. O'Farrell, T.J., Pourmotabbed, T. The fibronectin-like domain is required for the type V and XI collagenolytic activity of gelatinase B // *Archives of biochemistry and biophysics* 1998. V. 354. №. 1. P. 24-30.
78. Nagase, H., Visse, R., Murphy, G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs // *Cardiovascular research* 2006. V. 69. №. 3. P. 562-573.
79. Roderfeld, M., Graf, J., Giese, B., Salguero-Palacios, R., Tschuschner, A., Müller-Newen, G., Roeb, E. Latent MMP-9 is bound to TIMP-1 before secretion // *Biological chemistry* 2007. V. 388. №. 11. P. 1227-1234.
80. Yabluchanskiy, A., Ma, Y., Iyer, R.P., Hall, M.E., Lindsey, M.L. Matrix metalloproteinase-9: Many shades of function in cardiovascular disease // *Physiology (Bethesda, Md.)* 2013. V. 28. №. 6. P. 391-403.
81. Gialeli, C., Theocharis, A.D., Karamanos, N.K. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting // *The FEBS journal* 2011. V. 278. №. 1. P. 16-27.

82. Pego, E.R., Fernández, I., Núñez, M.J. Molecular basis of the effect of MMP-9 on the prostate bone metastasis: A review // *Urologic oncology* 2018. V. 36. №. 6. P. 272-282.
83. Mehner, C., Hockla, A., Miller, E., Ran, S., Radisky, D.C., Radisky, E.S. Tumor cell-produced matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) drives malignant progression and metastasis of basal-like triple negative breast cancer // *Oncotarget* 2014. V. 5. №. 9. P. 2736-2749.
84. Leifler, K.S., Svensson, S., Abrahamsson, A., Bendrik, C., Robertson, J., Gauldie, J., Olsson, A.K., Dabrosin, C. Inflammation induced by MMP-9 enhances tumor regression of experimental breast cancer // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 2013. V. 190. №. 8. P. 4420-4430.
85. Zhang, Y., Chen, Q. Relationship between matrix metalloproteinases and the occurrence and development of ovarian cancer // *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas* 2017. V. 50. №. 6. P. e6104.
86. Bruni-Cardoso, A., Johnson, L.C., Vessella, R.L., Peterson, T.E., Lynch, C.C. Osteoclast-derived matrix metalloproteinase-9 directly affects angiogenesis in the prostate tumor-bone microenvironment // *Molecular cancer research : MCR* 2010. V. 8. №. 4. P. 459-470.
87. Farina, A.R., Mackay, A.R. Gelatinase B/MMP-9 in Tumour Pathogenesis and Progression // *Cancers* 2014. V. 6. №. 1. P. 240-296.
88. Pujada, A., Walter, L., Patel, A., Bui, T.A., Zhang, Z., Zhang, Y., Denning, T.L., Garg, P. Matrix metalloproteinase MMP9 maintains epithelial barrier function and preserves mucosal lining in colitis associated cancer // *Oncotarget* 2017. V. 8. №. 55. P. 94650-94665.
89. Naouali, A., Kaabachi, W., Tizaoui, K., Amor, A.B., Hamzaoui, A., Hamzaoui, K. Association of MMP-9 gene polymorphisms with Behçet's disease risk // *Immunology letters* 2015. V. 164. №. 1. P. 18-24.
90. Shao, W., Wang, W., Xiong, X.G., Cao, C., Yan, T.D., Chen, G., Chen, H., Yin, W., Liu, J., Gu, Y., Mo, M., He, J. Prognostic impact of MMP-2 and MMP-9 expression in pathologic stage IA non-small cell lung cancer // *Journal of surgical oncology* 2011. V. 104. №. 7. P. 841-846.
91. Hu, X., Li, D., Zhang, W., Zhou, J., Tang, B., Li, L. Matrix metalloproteinase-9 expression correlates with prognosis and involved in ovarian cancer cell invasion // *Archives of gynecology and obstetrics* 2012. V. 286. №. 6. P. 1537-1543.
92. Botos, I., Meyer, E., Swanson, S.M., Lemaître, V., Eeckhout, Y., Meyer, E.F. Structure of recombinant mouse collagenase-3 (MMP-13)11 Edited by R. Huber // *Journal of molecular biology* 1999. V. 292. №. 4. P. 837-844.

93. Takaishi, H., Kimura, T., Dalal, S., Okada, Y., D'Armiento, J. Joint diseases and matrix metalloproteinases: a role for MMP-13 // *Current pharmaceutical biotechnology* 2008. V. 9. №. 1. P. 47-54.
94. Vandenbroucke, R.E., Dejonckheere, E., Van Hauwermeiren, F., Lodens, S., De Rycke, R., Van Wonterghem, E., Staes, A., Gevaert, K., López-Otin, C., Libert, C. Matrix metalloproteinase 13 modulates intestinal epithelial barrier integrity in inflammatory diseases by activating TNF // *EMBO molecular medicine* 2013. V. 5. №. 7. P. 1000-1016.
95. Kotlarz, H., Gunnarsson, C.L., Fang, H., Rizzo, J.A. Insurer and out-of-pocket costs of osteoarthritis in the US: evidence from national survey data // *Arthritis and rheumatism* 2009. V. 60. №. 12. P. 3546-3553.
96. Miller, L.A., Zhao, Y.H., Wu, R. Inhibition of TGF- α gene expression by vitamin A in airway epithelium // *The Journal of clinical investigation* 1996. V. 97. №. 6. P. 1429-1435.
97. Sheibani, S., Mahmoudian, R.A., Abbaszadegan, M.R., Chamani, J., Memar, B., Gholamin, M. Expression analysis of matrix metalloproteinase-13 in human gastric cancer in the presence of Helicobacter Pylori infection // *Cancer biomarkers : section A of Disease markers* 2017. V. 18. №. 4. P. 349-356.
98. Choi, J.Y., Fuerst, R., Knapinska, A.M., Taylor, A.B., Smith, L., Cao, X., Hart, P.J., Fields, G.B., Roush, W.R. Structure-Based Design and Synthesis of Potent and Selective Matrix Metalloproteinase 13 Inhibitors // *Journal of medicinal chemistry* 2017. V. 60. №. 13. P. 5816-5825.
99. Weaver, A.M. Invadopodia: specialized cell structures for cancer invasion // *Clinical & experimental metastasis* 2006. V. 23. №. 2. P. 97-105.
100. Murphy, G. Tissue inhibitors of metalloproteinases // *Genome biology* 2011. V. 12. №. 11. P. 233.
101. Rivera, S., Khrestchatisky, M., Kaczmarek, L., Rosenberg, G.A., Jaworski, D.M. Metzincin proteases and their inhibitors: foes or friends in nervous system physiology? // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2010. V. 30. №. 46. P. 15337-15357.
102. Greene, J., Wang, M., Liu, Y.E., Raymond, L.A., Rosen, C., Shi, Y.E. Molecular cloning and characterization of human tissue inhibitor of metalloproteinase 4 // *The Journal of biological chemistry* 1996. V. 271. №. 48. P. 30375-30380.

103. Brew, K., Nagase, H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity // *Biochimica et biophysica acta* 2010. V. 1803. №. 1. P. 55-71.
104. Leco, K.J., Waterhouse, P., Sanchez, O.H., Gowing, K.L., Poole, A.R., Wakeham, A., Mak, T.W., Khokha, R. Spontaneous air space enlargement in the lungs of mice lacking tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3) // *The Journal of clinical investigation* 2001. V. 108. №. 6. P. 817-829.
105. Fata, J.E., Leco, K.J., Voura, E.B., Yu, H.Y., Waterhouse, P., Murphy, G., Moorehead, R.A., Khokha, R. Accelerated apoptosis in the Timp-3-deficient mammary gland // *The Journal of clinical investigation* 2001. V. 108. №. 6. P. 831-841.
106. Smookler, D.S., Mohammed, F.F., Kassiri, Z., Duncan, G.S., Mak, T.W., Khokha, R. Tissue inhibitor of metalloproteinase 3 regulates TNF-dependent systemic inflammation // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 2006. V. 176. №. 2. P. 721-725.
107. Cruz-Munoz, W., Khokha, R. The role of tissue inhibitors of metalloproteinases in tumorigenesis and metastasis // *Critical reviews in clinical laboratory sciences* 2008. V. 45. №. 3. P. 291-338.
108. Clark, I.M., Swingler, T.E., Sampieri, C.L., Edwards, D.R. The regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors // *The international journal of biochemistry & cell biology* 2008. V. 40. №. 6-7. P. 1362-1378.
109. Stetler-Stevenson, W.G. The tumor microenvironment: regulation by MMP-independent effects of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 // *Cancer metastasis reviews* 2008. V. 27. №. 1. P. 57-66.
110. Macgregor, A.M., Eberhart, C.G., Fraig, M., Lu, J., Halushka, M.K. Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-3 levels in the extracellular matrix of lung, kidney, and eye increase with age // *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society* 2009. V. 57. №. 3. P. 207-213.
111. Rewcastle, G., Sutherland, H.S., Weir, C.A., Blackburn, A.G., Denny, W. An Improved Synthesis of Isonitrosoacetanilides // *Tetrahedron letters* 2005. V. 46. №. P. 8719-8721.
112. Lackey, K., Besterman, J.M., Fletcher, W., Leitner, P., Morton, B., Sternbach, D.D. Rigid analogs of camptothecin as DNA topoisomerase I inhibitors // *Journal of medicinal chemistry* 1995. V. 38. №. 6. P. 906-911.

113. Nakamura, S., Hara, N., Nakashima, H., Kubo, K., Shibata, N., Toru, T. Enantioselective synthesis of (R)-convolutamydine A with new N-heteroarylsulfonylprolinamides // *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* 2008. V. 14. №. 27. P. 8079-8081.
114. Silva, J.F.M., Garden, S.J., Pinto, A. The Chemistry of Isatins: A Review from 1975 to 1999 // *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2001. V. 12. №. P. 273-324.
115. Loloiu, G., Maior, O. Isatin Chemistry. Synthesis of N-Methyl-2,3-dioxo-2,3-dihydropyrrolo(2,3-b)phenoxathiin // *Cheminform* 2010. V. 28. №. 45. P.
116. Kapadia, G.J., Chung, E.B., Ghosh, B., Shukla, Y.N., Basak, S.P., Morton, J.F., Pradhan, S.N. Carcinogenicity of some folk medicinal herbs in rats // *Journal of the National Cancer Institute* 1978. V. 60. №. 3. P. 683-686.
117. Hewawasam, P., Meanwell, N.A. A general method for the synthesis of isatins: Preparation of regiospecifically functionalized isatins from anilines // *Tetrahedron letters* 1994. V. 35. №. 40. P. 7303-7306.
118. Manley-King, C.I., Bergh, J.J., Petzer, J.P. Inhibition of monoamine oxidase by selected C5- and C6-substituted isatin analogues // *Bioorganic & medicinal chemistry* 2011. V. 19. №. 1. P. 261-274.
119. Gassman, P.G., Cue, B.W., Luh, T.Y. A general method for the synthesis of isatins // *Journal of Organic Chemistry* 1977. V. 42. №. P. 1344-1348.
120. Gribble, G. Gassman Indole Synthesis // *Indole Ring Synthesis: From Natural Products to Drug Discovery* / Ed. by Wiley. 2016. PP.116-120
121. Li, J.J. Gassman indole synthesis // *Name Reactions: A Collection of Detailed Mechanisms and Synthetic Applications Fifth Edition* / Ed. by Li JJ. Cham: Springer International Publishing. 2014. PP.276-277
122. Rice, K.C. Synthesis, antimalarial activity, and phototoxicity of some benzo(h)quinoline-4-methanols // *Journal of medicinal chemistry* 1976. V. 19. №. 7. P. 887-892.
123. Liu, Y.-C., Zhang, R., Wu, Q.-Y., Chen, Q., Yang, G. Recent Developments in the Synthesis and Applications of Isatins // *Organic Preparations and Procedures International* 2014. V. 46. №. P. 317 - 362.
124. Rivalle, C., Bisagni, E. Ethyl (4-N-Acylaminopyridin-3-yl)glyoxylate (III) and 5-Azaisatin (IV) as New Synthons for a Route to Various New Polyheterocycles // *Cheminform* 2010. V. 28. №. 37. P. 37161.

125. Smith, K., El-Hiti, G., Hawes, A. Carbonylation of Doubly Lithiated N'-Aryl-N,N-Dimethylureas: A Novel Approach to Isatins via Intramolecular Trapping of Acyllithiums // *Synthesis* 2003. V. 35. №. P. 2047-2052.
126. Chandra, A., Yadav, N., Moorthy, J. Facile synthesis of isatins by direct oxidation of indoles and 3-iodoindoles using NIS/IBX // *Tetrahedron* 2019. V. 75. №. 14. P. 2169-2174.
127. Tatsugi, J., Zhiwei, T., Izawa, Y. An improved preparation of isatins from indoles // *Arkivoc* 2001. V. 2001. №. 1. P. 67-73.
128. Das, S., Schilling, W., Zhang, Y., Riemer, D. Visible-Light-Mediated Dearomatisation of Indoles and Pyrroles to Pharmaceuticals and Pesticide // *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* 2019. V. 26. №. 2. P. 390-395.
129. Bindu, V., Parvathaneni, S.P., Vaidya, J. Iodosobenzoic Acid (IBA) Catalysed Benzylic and Aromatic C-H Oxidations // *Catalysis Letters* 2017. V. 147. №. 6. P. 1434-1440.
130. Gandhesiri, S., Polu, A., Ramar, T., Andivelu, I. Iodine-Mediated C-H Functionalization of sp, sp², and sp³ Carbon: A Unified Multisubstrate Domino Approach for Isatin Synthesis // *Journal of Organic Chemistry* 2015. V. 80. №. 10. P. 5167-5175.
131. Kraynack, E., Dalgard, J., Gaeta, F. An Improved Procedure for the Regiospecific Synthesis of Electron-Deficient 4- and 6-Substituted Isatins // *Tetrahedron Letters - TETRAHEDRON LETT* 1998. V. 39. №. P. 7679-7682.
132. Ozawa, F., Soyama, H., Yanagihara, H., Aoyama, I., Takino, H., Izawa, K., Yamamoto, T., Yamamoto, A. Palladium-catalyzed double carbonylation of aryl halides to give α -keto amides. Mechanistic studies // *Journal of The American Chemical Society* 1985. V. 107. №. 11. P. 3235-3245.
133. Söderberg, B., Gorugantula, S., Howerton, C., Petersen, J., Dantale, S. A palladium-catalyzed synthesis of isatins (1H-Indole-2,3-diones) from 1-(2-haloethynyl)-2-nitrobenzenes // *Tetrahedron* 2009. V. 65. №. P. 7357-7363.
134. Shrestha, R., Lee, G., Lee, Y. Synthesis of diverse isatins: Via ring contraction of 3-diazoquinoline-2,4-diones // *RSC Advances* 2016. V. 6. №. P. 63782-63787.
135. Poulsen, T.B., Jørgensen, K.A. Catalytic asymmetric Friedel-Crafts alkylation reactions--copper showed the way // *Chemical reviews* 2008. V. 108. №. 8. P. 2903-2915.
136. Tang, B.-X., Ren-Jie, S., Wu, S.-X., Liu, Y., Zhou, M.-B., Wei, W.-T., Yin, D., Li, J.-H. Copper-Catalyzed Intramolecular C-H Oxidation/Acylation of Formyl-N-arylformamides Leading to Indoline-2,3-diones // *Journal of the American Chemical Society* 2010. V. 132. №. P. 8900-8902.

137. Andivelu, I., Gandhesiri, S. Copper-Mediated Selective C-H Activation and Cross-Dehydrogenative C-N Coupling of 2'-Aminoacetophenones // *Organic letters* 2013. V. 15. №. 22. P. 5726.
138. Li, W., Duan, Z., Zhang, X., Zhang, H., Wang, M., Jiang, R., Honghyao, Z., Liu, C., Lei, A. From Anilines to Isatins: Oxidative Palladium-Catalyzed Double Carbonylation of C—H Bonds // *Angewandte Chemie International Edition* 2014. V. 54. №. 6. P. 1893-1896.
139. Senadi, g.c., Hu, W.-P., Boominathan, S.S.K., Wang, J.-J. Palladium(0)-Catalyzed Single and Double Isonitrile Insertion: A Facile Synthesis of Benzofurans, Indoles, and Isatins // *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* 2014. V. 21. №. 3. P. 998-1003.
140. Rogness, D., Larock, R. Synthesis of N-Arylisatins by the Reaction of Arynes with Methyl 2-Oxo-2-(arylamino)acetates // *The Journal of organic chemistry* 2011. V. 76. №. P. 4980-4986.
141. Kondoh, M., Usui, T., Mayumi, T., Osada, H. Effects of tryprostatin derivatives on microtubule assembly in vitro and in situ // *The Journal of antibiotics* 1998. V. 51. №. 8. P. 801-804.
142. Takemoto, Y., Tsukano, C. Synthetic Approaches to Spiro-Oxindoles and Iminoindolines Based on Formation of C2—C3 Bond // *Heterocycles* 2014. V. 89. №. 10. P. 2271.
143. Millington, E.L., Dondas, H.A., Fishwick, C.W.G., Kilner, C., Grigg, R. Catalytic bimetallic [Pd(0)/Ag(I) Heck-1,3-dipolar cycloaddition cascade reactions accessing spiro-oxindoles. Concomitant in situ generation of azomethine ylides and dipolarophile // *Tetrahedron* 2018. V. 74. №. 27. P. 3564-3577.
144. Edmondson, S., Danishefsky, S., Sepp-Lorenzino, L., Rosen, N. Total Synthesis of Spirotryprostatin A, Leading to the Discovery of Some Biologically Promising Analogues // *Journal of the American Chemical Society* 1999. V. 121. №. 10. P. 2147–2155.
145. Grigg, R., Millington, E.L., Thornton-Pett, M. Spiro-oxindoles via bimetallic [Pd(0)/Ag(I)] catalytic intramolecular Heck-1,3-dipolar cycloaddition cascade reactions // *Tetrahedron letters* 2002. V. 43. №. 14. P. 2605-2608.
146. Quintero-Fabián, S., Arreola, R., Becerril Villanueva, L.E., Torres-Romero, J., Arana Argaez, V., Lara, J., Ramírez, M., Alvarez-Sánchez, M. Role of Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Cancer // *Frontiers in Oncology* 2019. V. 9. №. P. 1370.
147. Walters, W.P., Stahl, M.T., Murcko, M.A. Virtual screening : an overview // *Drug Discovery Today* 1998. V. 3. №. P. 160-178.
148. Kearney, S.E., Zahoránszky-Kóhalmi, G., Brimacombe, K.R., Henderson, M.J., Lynch, C., Zhao, T., Wan, K.K., Itkin, Z., Dillon, C., Shen, M., Cheff, D.M., Lee, T.D., Bougie, D., Cheng,

K., Coussens, N.P., Dorjsuren, D., Eastman, R.T., Huang, R., Iannotti, M.J., Karavadhi, S., Klumpp-Thomas, C., Roth, J.S., Sakamuru, S., Sun, W., Titus, S.A., Yasgar, A., Zhang, Y.Q., Zhao, J., Andrade, R.B., Brown, M.K., Burns, N.Z., Cha, J.K., Mevers, E.E., Clardy, J., Clement, J.A., Crooks, P.A., Cuny, G.D., Ganor, J., Moreno, J., Morrill, L.A., Picazo, E., Susick, R.B., Garg, N.K., Goess, B.C., Grossman, R.B., Hughes, C.C., Johnston, J.N., Joullie, M.M., Kinghorn, A.D., Kingston, D.G.I., Krische, M.J., Kwon, O., Maimone, T.J., Majumdar, S., Maloney, K.N., Mohamed, E., Murphy, B.T., Nagorny, P., Olson, D.E., Overman, L.E., Brown, L.E., Snyder, J.K., Porco, J.A., Jr., Rivas, F., Ross, S.A., Sarpong, R., Sharma, I., Shaw, J.T., Xu, Z., Shen, B., Shi, W., Stephenson, C.R.J., Verano, A.L., Tan, D.S., Tang, Y., Taylor, R.E., Thomson, R.J., Vosburg, D.A., Wu, J., Wuest, W.M., Zakarian, A., Zhang, Y., Ren, T., Zuo, Z., Inglese, J., Michael, S., Simeonov, A., Zheng, W., Shinn, P., Jadhav, A., Boxer, M.B., Hall, M.D., Xia, M., Guha, R., Rohde, J.M. *Canvass: A Crowd-Sourced, Natural-Product Screening Library for Exploring Biological Space* // ACS central science 2018. V. 4. №. 12. P. 1727-1741.

149. Rubino, M.T., Agamennone, M., Campestre, C., Campiglia, P., Cremasco, V., Faccio, R., Laghezza, A., Loiodice, F., Maggi, D., Panza, E., Rossello, A., Tortorella, P. *Biphenyl sulfonylamino methyl bisphosphonic acids as inhibitors of matrix metalloproteinases and bone resorption* // ChemMedChem 2011. V. 6. №. 7. P. 1258-1268.

150. Agamennone, M., Cesari, L., Lalli, D., Turlizzi, E., Del Conte, R., Turano, P., Mangani, S., Padova, A. *Fragmenting the S100B-p53 interaction: combined virtual/biophysical screening approaches to identify ligands* // ChemMedChem 2010. V. 5. №. 3. P. 428-435.

151. Di Pizio, A., Laghezza, A., Tortorella, P., Agamennone, M. *Probing the S1' site for the identification of non-zinc-binding MMP-2 inhibitors* // ChemMedChem 2013. V. 8. №. 9. P. 1475-1482, 1421.

152. Rubino, M.T., Agamennone, M., Campestre, C., Fracchiolla, G., Laghezza, A., Loiodice, F., Nuti, E., Rossello, A., Tortorella, P. *Synthesis, SAR, and biological evaluation of alpha-sulfonylphosphonic acids as selective matrix metalloproteinase inhibitors* // ChemMedChem 2009. V. 4. №. 3. P. 352-362.

153. Agamennone, M., Belov, D., Laghezza, A., Ivanov, V., Novoselov, A., Andreev, I., Ratmanova, N., Altieri, A., Tortorella, P., Kurkin, A. *Fragment-Based Discovery of 5-Arylisatin-Based Inhibitors of Matrix Metalloproteinases 2 and 13* // ChemMedChem 2016. V. 11. №. 17. P. 1892.

154. Zhu, T., He, G., Chang, J., Zhao, D., Zhu, X., Zhu, H. *The synthesis, photophysical and electrochemical properties of a series of novel 3,8,13-substituted triindole derivatives* // Dyes and Pigments 2012. V. 95. №. P. 679-688.

155. Obermoser, V., Mauersberger, R., Schuster, D., Czifersky, M., Lipova, M., Siegl, M., Kintscher, U., Gust, R. Importance of 5/6-aryl substitution on the pharmacological profile of 4'-((2-propyl-1H-benzo[d]imidazol-1-yl)methyl)-[1,1'-biphenyl]-2-carboxylic acid derived PPAR γ agonists // *European journal of medicinal chemistry* 2017. V. 126. №. P. 590-603.
156. Fudickar, W., Linker, T. Synthesis of Pyridylanthracenes and Their Reversible Reaction with Singlet Oxygen to Endoperoxides // *The Journal of Organic Chemistry* 2017. V. 82. №. P.
157. Tao, B., Goel, S., Singh, J., Boykin, D. A Practical Preparation of 2-Carboxyphenylboronic Acid and Its Application for the Preparation of Biaryl-2-carboxylic Acids Using Suzuki Coupling Reactions // *Synthesis-stuttgart* 2002. V. 2002. №. P. 1043-1046.
158. Földesi, T., Dancsó, A., Slégel, P., Volk, B., Milen, M. Synthesis of new tricyclic imidazotriazepine derivatives condensed with various heterocycles // *Molecular diversity* 2017. V. 21. №. 4. P. 903-914.
159. Leng Yanguo, G.Q.Y.J. Synthetic method for 5-carboxylfuran/thiophene-2-boric acid. 2015.
160. Wang, C.H., White, A.R., Schwartz, S.N., Alluri, S., Cattabiani, T., Zhang, L.-K., Chan, T., Buevich, A., Ganguly, A.K. Novel Synthesis and Functionalization of ortho-ortho Disubstituted Biphenyls and a Highly Condensed Novel Heterocycle Using Radical Cyclization Reaction // *Tetrahedron* 2012. V. 68. №. P. 9750–9762.
161. Kong, W.-J., Liu, Y.-J., Xu, H., Chen, Y.-Q., Dai, H.-X., Yu, J.-Q. Pd-Catalyzed α -Selective C–H Functionalization of Olefins: En Route to 4-Imino- β -Lactams // *Journal of the American Chemical Society* 2016. V. 138. №. 7. P. 2146-2149.
162. Wang, C.H., White, A.R., Schwartz, S.N., Alluri, S., Cattabiani, T.M., Zhang, L.K., Chan, T.M., Buevich, A.V., Ganguly, A.K. Novel synthesis and functionalization of ortho–ortho disubstituted biphenyls and a highly condensed novel heterocycle using radical cyclization reaction // *Tetrahedron* 2012. V. 68. №. 47. P. 9750-9762.
163. Zhang, Q., Teng, Y., Yuan, Y., Ruan, T., Wang, Q., Gao, X., Zhou, Y., Han, K., Yu, P., Lu, K. Synthesis and cytotoxic studies of novel 5-phenylisatin derivatives and their anti-migration and anti-angiogenic evaluation // *European journal of medicinal chemistry* 2018. V. 156. №. P. 800-814.
164. Gérard, A.-L., Lisowski, V., Rault, S. Direct synthesis of new arylanthranilic acids via a Suzuki cross-coupling reaction from iodoisatins // *Tetrahedron* 2005. V. 61. №. 25. P. 6082-6087.

165. Lisowski, V., Robba, M., Rault, S. Efficient Synthesis of Novel 3-(Het)arylanthranilic Acids via a Suzuki Cross-Coupling Reaction of 7-Iodoisatin with (Het)arylboronic Acids in Water // *The Journal of Organic Chemistry* 2000. V. 65. №. 13. P. 4193-4194.
166. Gorodnova, A., Ivanov, V.N., Kurkin, A.V., Dmitrienko, A. Crystal structure of 5-(3-methoxyphenyl)indoline-2,3-dione // *Powder Diffraction* 2023. V. 38. №. 3. P. 201-206.
167. Walter, C.R., Jr. Preparation of Primary Amines by Reduction of Oximes with Lithium Aluminum Hydride and by the Leuckart Reaction // *Journal of the American Chemical Society* 1952. V. 74. №. 20. P. 5185-5187.
168. Wang, Z., Wang, C., Sun, Y., Zhang, N., Liu, Z., Liu, J. A Novel Strategy to the Synthesis of 4-Anilinoquinazoline Derivatives // *Tetrahedron* 2014. V. 70. №. P. 906–913.
169. Ivanov, V., Agamennone, M., Iusupov, I., Laghezza, A., Novoselov, A., Manasova, E., Altieri, A., Tortorella, P., Shtil, A., Kurkin, A. Het(aryl)isatin to het(aryl)aminoindoline scaffold hopping: A route to selective inhibitors of matrix metalloproteinases // *Arabian Journal of Chemistry* 2021. V. 15. №. P. 103492.
170. Ghorbani-Choghamarani, A., Derakhshan, A.A., Hajjami, M., Rajabi, L. Copper–Schiff base alumoxane: a new and reusable mesoporous nano catalyst for Suzuki–Miyaura and Stille C–C cross-coupling reactions // *RSC Advances* 2016. V. 6. №. P. 94314-94324.
171. Furuya, T., Strom, A., Ritter, T. Silver-Mediated Fluorination of Functionalized Aryl Stannanes // *Journal of the American Chemical Society* 2009. V. 131. №. P. 1662-1663.
172. Vine, K., Locke, J., Ranson, M., Pyne, S., Bremner, J. An Investigation into the Cytotoxicity and Mode of Action of Some Novel N -Alkyl-Substituted Isatins // *Journal of medicinal chemistry* 2007. V. 50. №. P. 5109-5117.
173. Kumar, A., Purkait, K., Dey, S., Sarkar, A., Mukherjee, A. A hydroquinone based palladium catalyst for room temperature nitro reduction in water // *RSC Advances* 2014. V. 4. №. P. 35233.
174. Grove, K.L., Guo, X., Liu, S.H., Gao, Z., Chu, C.K., Cheng, Y.C. Anticancer activity of beta-L-dioxolane-cytidine, a novel nucleoside analogue with the unnatural L configuration // *Cancer research* 1995. V. 55. №. 14. P. 3008-3011.
175. Grove, K.L., Cheng, Y.C. Uptake and metabolism of the new anticancer compound beta-L(-)-dioxolane-cytidine in human prostate carcinoma DU-145 cells // *Cancer research* 1996. V. 56. №. 18. P. 4187-4191.

176. Schmidt, M., Ungvári, J., Glöde, J., Dobner, B., Langner, A. New 1,3-dioxolane and 1,3-dioxane derivatives as effective modulators to overcome multidrug resistance // *Bioorganic & medicinal chemistry* 2007. V. 15. №. 6. P. 2283-2297.
177. Vine, K., Matesic, L., Locke, J., Skropeta, D. Recent Highlights in the Development of Isatin-Based Anticancer Agents / Ed. by. 2013. PP.254-312
178. Zhang, Q., Teng, Y., Yuan, Y., Ruan, T., Wang, Q., Gao, X., Zhou, Y., Han, K., Yu, P., Lu, K. Synthesis and cytotoxic studies of novel 5-phenylisatin derivatives and their anti-migration and anti-angiogenic evaluation // *European journal of medicinal chemistry* 2018. V. 156. №. P. 800-814.
179. Liu, Y., Liu, J., Liu, Y.-Y., Tang, B., Lin, H., Li, Y., Zhang, L. Synthesis of spirocyclic Δ^4 -isoxazolines via [3 + 2] cycloaddition of indanone-derived ketonitrone with alkynes // *RSC Advances* 2021. V. 11. №. 48. P. 30415-30425.
180. Ray, S., Yadav, A.K., Singh, S., Ansari, M.A., Singh, M.S. Electronically-controlled diastereoselective synthesis of spirocycles via [4 + 2] cycloaddition of 2-arylidene-1-indenones with benzyne // *Organic & Biomolecular Chemistry* 2023. V. 21. №. 20. P. 4195-4199.
181. Zheng, Y., Thiel, W. Computational Insights into an Enzyme-Catalyzed [4+2] Cycloaddition // *The Journal of Organic Chemistry* 2017. V. 82. №. 24. P. 13563–13571.
182. Hou, Y., Huck, L., Wan, P. Long-range intramolecular photoredox reaction via coupled charge and proton transfer of triplet excited anthraquinones mediated by water // *Photochemical & photobiological sciences : Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology* 2009. V. 8. №. P. 1408-1415.
183. Bailey, C., Murphy, C., Clary, J., Eagon, S., Gould, N., Singaram, B. Reaction of Grignard Reagents with Diisopropylaminoborane. Synthesis of Alkyl, Aryl, Heteroaryl and Allyl Boronic Acids from Organo(diisopropyl)aminoborane by a Simple Hydrolysis // *Heterocycles* 2012. V. 86. №. 1. P. 331.
184. Zhao, C.J., Xue, D., Jia, Z.H., Wang, C., Xiao, J. Methanol-Promoted Borylation of Arylamines: A Simple and Green Synthetic Method to Arylboronic Acids and Arylboronates // *Synlett* 2014. V. 25. №. 11. P. 1577-1584.
185. Knapp, D., Gillis, E., Burke, M. A General Solution for Unstable Boronic Acids: Slow-Release Cross-Coupling from Air-Stable MIDA Boronates // *Journal of the American Chemical Society* 2009. V. 131. №. P. 6961-6963.

186. Mfuh, A., Doyle, J., Chhetri, B., Arman, H., Larionov, O. Scalable, Metal- and Additive-Free, Photoinduced Borylation of Haloarenes and Quaternary Arylammonium Salts // *Journal of the American Chemical Society* 2016. V. 138. №. 9. P. 2985–2988.
187. Leermann, T., Leroux, F., Colobert, F. Highly Efficient One-Pot Access to Functionalized Arylboronic Acids via Noncryogenic Bromine/Magnesium Exchanges // *Organic letters* 2011. V. 13. №. P. 4479-4481.
188. Doud, E.A., Inkpen, M.S., Lovat, G., Montes, E., Paley, D.W., Steigerwald, M.L., Vázquez, H., Venkataraman, L., Roy, X. In Situ Formation of N-Heterocyclic Carbene-Bound Single-Molecule Junctions // *Journal of the American Chemical Society* 2018. V. 140. №. 28. P. 8944-8949.
189. He, L., Pei, H., Zhang, C., Shao, M., Li, D., Tang, M., Wang, T., Chen, X., Xiang, M., Chen, L. Design, synthesis and biological evaluation of 7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amine derivatives as selective Btk inhibitors with improved pharmacokinetic properties for the treatment of rheumatoid arthritis // *European journal of medicinal chemistry* 2018. V. 145. №. P. 96-112.
190. Sleveland, D., Bjørsvik, H.-R. Synthesis of Phenylboronic Acids in Continuous Flow by Means of a Multijet Oscillating Disc Reactor System Operating at Cryogenic Temperatures // *Organic Process Research & Development* 2012. V. 16. №. P. 1121–1130.
191. O'Brien, C., Wong, M.Y., Cordes, D.B., Slawin, A.M.Z., Zysman-Colman, E. Cationic Platinum(II) Complexes Bearing Aryl-BIAN Ligands: Synthesis and Structural and Optoelectronic Characterization // *Organometallics* 2015. V. 34. №. 1. P. 13-22.
192. Jensen, M.S., Hoerrner, R.S., Li, W., Nelson, D.P., Javadi, G.J., Dormer, P.G., Cai, D., Larsen, R.D. Efficient Synthesis of a GABAA α 2,3-Selective Allosteric Modulator via a Sequential Pd-Catalyzed Cross-Coupling Approach // *The Journal of Organic Chemistry* 2005. V. 70. №. 15. P. 6034-6039.
193. Li, W., Nelson, D., Jensen, M., Hoerrner, R., Cai, D., Larsen, R., Reider, P. An Improved Protocol for the Preparation of 3-Pyridyl- and Some Arylboronic Acids // *The Journal of organic chemistry* 2002. V. 67. №. P. 5394-5397.
194. Erb, W., Hellal, A., Albin, M., Rouden, J., Blanchet, J. An Easy Route to (Hetero) arylboronic Acids // *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* 2014. V. 20. №. 22. P. 6608-6612.
195. Williamson, A., Ngouansavanh, T., Pace, R., Allen, A., Cuthbertson, J., Gaunt, M. Rapid Generation of Complex Molecular Architectures by a Catalytic Enantioselective Dearomatization Strategy // *Synlett* 2016. V. 27. №. 1. P. 116-120.

196. Hafner, A., Meisenbach, M., Sedelmeier, J. Flow Chemistry on Multigram Scale: Continuous Synthesis of Boronic Acids within 1 s // *Organic Letters* 2016. V. 18. №. 15. P. 3630-3633.
197. Hinkes, S.P.A., Klein, C.D.P. Virtues of Volatility: A Facile Transesterification Approach to Boronic Acids // *Organic Letters* 2019. V. 21. №. 9. P. 3048-3052.
198. Thiruvengadam, P., Chand, D.K. Controlled and Predictably Selective Oxidation of Activated and Unactivated C(sp³)-H Bonds Catalyzed by a Molybdenum-Based Metallomicellar Catalyst in Water // *The Journal of Organic Chemistry* 2022. V. 87. №. 6. P. 4061-4077.
199. Kolemen, S., Ozdemir, T., Lee, D., Kim, G.M., Karatas, T., Yoon, J., Akkaya, E.U. Remote-Controlled Release of Singlet Oxygen by the Plasmonic Heating of Endoperoxide-Modified Gold Nanorods: Towards a Paradigm Change in Photodynamic Therapy // *Angewandte Chemie International Edition* 2016. V. 55. №. 11. P. 3606-3610.
200. Damgaard, M., Al-Khawaja, A., Vogensen, S.B., Jurik, A., Sijm, M., Lie, M.E.K., Bæk, M.I., Rosenthal, E., Jensen, A.A., Ecker, G.F., Frølund, B., Wellendorph, P., Clausen, R.P. Identification of the First Highly Subtype-Selective Inhibitor of Human GABA Transporter GAT3 // *ACS chemical neuroscience* 2015. V. 6. №. 9. P. 1591-1599.
201. W. J. Hoekstra, C.M.Y., S. W. Rafferty METALLOENZYME INHIBITOR COMPOUNDS 2014.
202. Karamthulla, S., Pal, S., Khan, M.N., Choudhury, L.H. Synthesis of novel spiro[indoline-3,7'-pyrrolo[1,2-c]imidazole]-6'-carbonitrile derivatives in water using a regioselective sequential three component reaction // *RSC Advances* 2013. V. 3. №. 36. P. 15576-15581.
203. Yu, T.T., Kuppusamy, R., Yasir, M., Hassan, M.M., Alghalayini, A., Gadde, S., Deplazes, E., Cranfield, C., Willcox, M.D.P., Black, D.S., Kumar, N. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Biphenylglyoxamide-Based Small Molecular Antimicrobial Peptide Mimics as Antibacterial Agents // *International Journal of Molecular Sciences* 2020. V. 21. №. 18. P. 6789.
204. Babu, K.N., Kinthada, L.K., Pratim Das, P., Bisai, A. Cu(ii)-tBu-PHOX catalyzed enantioselective malonate addition onto 3-hydroxy 2-oxindoles: application in the synthesis of dimeric pyrroloindoline alkaloids // *Chemical Communications* 2018. V. 54. №. 57. P. 7963-7966.
205. Garden, S.J., Torres, J.C., de Souza Melo, S.C., Lima, A.S., Pinto, A.C., Lima, E.L.S. Aromatic iodination in aqueous solution. A new lease of life for aqueous potassium dichloriodate // *Tetrahedron letters* 2001. V. 42. №. 11. P. 2089-2092.

206. Kumar, B.S., Amali, A.J., Pitchumani, K. Cubical Palladium Nanoparticles on C@Fe₃O₄ for Nitro reduction, Suzuki-Miyaura Coupling and Sequential Reactions // *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 2016. V. 423. №. P. 511-519.
207. Schmidt, B., Elizarov, N., Riemer, N., Hölter, F. Acetamidoarenediazonium Salts: Opportunities for Multiple Arene Functionalization // *European Journal of Organic Chemistry* 2015. V. 2015. №. 26. P. 5826-5841.
208. Park, H., Hong, S., Kim, J., Hong, S. Discovery of Picomolar ABL Kinase Inhibitors Equipotent for Wild Type and T315I Mutant via Structure-Based de Novo Design // *Journal of the American Chemical Society* 2013. V. 135. №. 22. P. 8227-8237.
209. Shariatipour, M., Heydari, A. PdII Dispersed on Magnetic Partially Reduced GO/OMWCNT Non-Covalently Modified with a Vic-Dioxime: An Efficient and Magnetically Retrievable Catalyst for Suzuki-Miyaura Coupling Reaction // *ChemistrySelect* 2021. V. 6. №. 5. P. 1107-1117.
210. da Silva, G.P., Ali, A., da Silva, R.C., Jiang, H., Paixão, M.W. Tris(trimethylsilyl)silane and visible-light irradiation: a new metal- and additive-free photochemical process for the synthesis of indoles and oxindoles // *Chemical Communications* 2015. V. 51. №. 82. P. 15110-15113.
211. Long, C.-Y., Ni, S.-F., Su, M.-H., Wang, X.-Q., Tan, W. Highly Chemoselective Access to 2,2'-Diaminobiaryls via Ni-Catalyzed Protecting-Group-Free Coupling of 2-Haloanilines // *ACS Catalysis* 2020. V. 10. №. 22. P. 13641-13649.