

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Барашкин Александр Анатольевич

**Разработка синтетических подходов к хиральным
диспироиндолинонам**

1.4.3 – Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2022

Работа выполнена на кафедре органической химии Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель

Белоглазкина Елена Кимовна

доктор химических наук, доцент

Официальные оппоненты

Газиева Галина Анатольевна

доктор химических наук, ФГБУН Институт Органической Химии имени Н.Д. Зелинского РАН, лаборатория азотсодержащих соединений, ведущий научный сотрудник

Грачев Михаил Константинович

доктор химических наук, профессор, Институт биологии и химии, ФГБОУ ВО Московский Педагогический Государственный Университет, кафедра органической химии, заведующий кафедрой

Зефирова Ольга Николаевна

доктор химических наук, доцент, ФГБОУ ВО Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, кафедра медицинской химии и тонкого органического синтеза, профессор

Защита состоится «7» декабря 2022 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета МГУ.014.1 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГПС-1, Ленинские горы, д.1, стр.3, Химический факультет МГУ, аудитория 446.

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

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова по адресу: г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 27 и на сайте ИАС «ИСТИНА» [https://istina.msu.ru/dissertations/_____](https://istina.msu.ru/dissertations/)/

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук

О.А. Малошицкая

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Индолиноновая циклическая система является структурным фрагментом ряда органических соединений, проявляющих различные типы биологической активности. Активно развивающимся направлением химии индолинонов является синтез их полициклических спиро- и диспиро-производных. Введение в структуру дополнительных спиросочленений позволяет получать конформационно жёсткие молекулы, что при правильном подборе экзоциклических заместителей обеспечивает прочное связывание с биологическими мишенями. В частности, производные диспироиндолинонов, содержащие дополнительные имидазолоновые фрагменты, продемонстрировали высокую активность как ингибиторы белок-белкового взаимодействия p53-MDM2, которое является одной из перспективных мишеней современных противораковых препаратов.

Спиро- и диспироиндолиноны обычно содержат в своей структуре несколько асимметрических углеродных атомов, причем целевую биологическую активность проявляет только один из стереоизомеров. В связи с этим актуальной является задача разработки методов получения энантимерно чистых диспироиндолинонов.

К настоящему времени методы получения спиро- и диспироиндолинонов в виде индивидуальных энантимеров остаются недостаточно исследованными. Описано их выделение из рацемических смесей с использованием хиральной хроматографии; кроме того, имеются единичные примеры разделения через диастереомерные производные с использованием труднодоступных хиральных исходных соединений или с применением хиральных катализаторов. Все описанные методы являются дорогостоящими или малоэффективными для разделения значительных количеств веществ. Учитывая это, поиск методов получения спиропроизводных индолинонов в виде индивидуальных стереоизомеров с использованием доступных исходных реагентов представляется высоко актуальным.

Степень разработанности темы.

Большинство описанных к началу наших исследований методов синтеза спиро- и диспироиндолинонов позволяли получать их лишь в рацемическом виде. Для синтеза этих соединений в виде индивидуальных энантимеров ранее был предложен метод разделения через диастереомерные производные исходя из энантимерно чистого дифенилморфолин-2-она. При этом получение исходных соединений представляет собой нетривиальную задачу, а промежуточные соединения подвергаются значительной рацемизации в ходе синтеза. Описано также получение энантимерно чистых спиропроизводных с использованием хиральных катализаторов, однако этот способ применим для ограниченного круга спироиндолинонов, а хиральный катализатор и условия реакции подбираются под каждую структуру индивидуально. Простого и универсального метода синтеза спиро- и

диспиринопроизводных индолинонов в виде индивидуальных стереоизомеров к настоящему времени не описано.

Целью работы является исследование возможности получения энантиомерно чистых диспириноиндолинонов реакциями 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов к арилидензамещенным гидантоинам, тиогидантоинам и роданинам путем последовательных: (1) введения в молекулу одного из реагентов вспомогательного 1-арилэтильного фрагмента с асимметрическим центром известной конфигурации; (2) реакции циклоприсоединения с получением смеси диастереомерных производных; (3) разделения диастереомеров и удаления вспомогательной хиральной группы.

Задачами работы являются: (1) разработка методики синтеза изатинов с хиральными 1-арилэтильными заместителями при атоме азота и синтез диспириноиндолинонов на их основе; (2) разработка методов синтеза 5-арилиден-2-тиогидантоинов и 5-арилиденгидантоинов с 1-арилэтильными заместителями при атоме азота N(3) и изучение влияния хирального заместителя на диастереоселективность реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов к полученным производным; (3) разработка и оптимизация методики получения энантиомерно чистых диспириноиндолинонов на основе тиогидантоинов; (4) разработка методов синтеза 5-арилиден-роданинов с 1-арилэтильными заместителями при атоме азота и изучение влияния хирального заместителя на диастереоселективность реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов к полученным производным; (5) исследование диастереоселективности реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения к тиогидантоинам азометинилидов, генерируемых из пролина; (6) изучение цитотоксичности некоторых полученных соединений.

Предметом исследования являлись методы получения диспириноиндолинонов, содержащих структурные фрагменты 2-тиогидантоинов, гидантоинов и роданинов, в виде индивидуальных энантиомеров или диастереомеров, а также изучение влияния 1-арилэтильных заместителей в структуре исходных изатинов, тиогидантоинов, гидантоинов и роданинов на стереоселективность реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения к ним азометинилидов.

Научная новизна работы состоит в: 1) впервые предложенной методологии получения диспириноиндолинонов на основе 2-тиогидантоинов в виде индивидуальных энантиомеров; 2) разработке и оптимизации методики введения 1-арилалкильных группировок в молекулы гидантоинов, тиогидантоинов и роданинов и их последующего удаления реакциями ацидолиза; 3) разработке метода получения изатинов с хиральными 1-арилэтильными заместителями при атоме азота, и их использовании для получения диспириноиндолинонов; 4)

получении ранее неизвестного структурного типа диспиро-индолинон-пирролидин-тиогидантоинов, содержащих гексагидро-1Н-индолизиновый фрагмент.

Теоретическая и практическая значимость. 1) Впервые разработан метод синтеза диспироиндолинонов на основе арилиден-тиогидантоинов, гидантоинов и роданинов с 1-арилалкильными заместителями при атоме азота имидазолонового цикла, показано влияние 1-арилалкильного заместителя на диастереоселективность реакций указанных арилиденовых производных с азометинидами; 2) впервые предложено использовать 1-(2,4-диметоксифенил)этильный заместитель при атоме азота имидазолонового цикла исходных диполярфилов в качестве удаляемой хиральной группировки при разделении продуктов 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов на индивидуальные энантиомеры; 3) получена серия ранее неописанных диспироиндолинонов на основе тиогидантоинов, гидантоинов и роданинов, проведены исследования цитотоксичности полученных соединений; 4) проведено соотнесение абсолютной конфигурации исходных 1-арилэтиламинов с конфигурацией стереоцентров получаемых на их основе диспиро-имидазолон-пирролидин-индолинонов.

Методология диссертационного исследования. Целевые соединения были получены с использованием реакций конденсации, алкилирования, ацилирования, 1,3-диполярного циклоприсоединения и ацидолиза. Очистка полученных соединений проводилась методами колоночной хроматографии, перегонки, перекристаллизации, экстракции. Структура, состав и чистота полученных соединений определялись методами ТСХ, спектроскопии ЯМР, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения, ВЭЖХ-МС, в том числе с хиральной неподвижной фазой.

Положения, выносимые на защиту:

1. Изатины с хиральными заместителем при атоме азота можно получить реакциями алкилирования изатина алкилгалогенидами или по реакции Штолле. Реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием (1-арилэтил)замещенных диспироиндолинонов, 5-арилидентииогидантоинов и саркозина протекают диастереоселективно.

2. 5-Арилиден-2-тиогидантоины с хиральными 1-арилэтильными заместителями при атоме N(3) могут быть получены двухстадийным синтезом исходя из соответствующих 1-арилэтиламинов, этилового эфира изотиоцианоуксусной кислоты и замещенных бензальдегидов.

3. Диастереомерный избыток в реакциях 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов к 5-арилидензамещённым тиогидантоинам возрастает при увеличении объёма хиральной группировки при атоме N(3) исходного арилидентииогидантоина.

4. Энантимерно чистые диспироиндолиноны получают реакциями 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинида, генерируемого *in situ* из изатина и саркозина, к 5-арилиден-2-тиогидантоинам с хиральными 1-арилэтильными заместителями при атоме N(3), с последующим разделением диастереомеров и удалением вспомогательной 1-арилэтильной группировки в условиях ацидолиза.

5. 2''-Тиоксодиспиро[индолин-3,2'-пирролидин-3',5''-тиазолидин]-2,4''-дионы с хиральными (*R*)-1-фенилэтильным и (*R*)-1-(2,4-диметоксифенил)этильным заместителями при атоме N(1) получают по реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения 5-арилиденроданинов с хиральными заместителями при атоме N(1) с азометинидами, генерируемыми из саркозина и изатина.

6. Диспироиндолиноны, содержащие фрагмент гексагидро-1Н-пирролизина, могут быть диастереоселективно получены реакциями 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинида, генерируемых из изатина и пролина, к 5-арилиден-2-тиоимидазолу.

Личный вклад автора состоял в поиске и анализе литературных данных, постановке экспериментальных задач, проведении синтетических и аналитических экспериментов, обработке и интерпретации полученных результатов, подготовке материалов к публикации, представлении полученных результатов на конференциях.

Степень участия в работах, опубликованных в соавторстве. Во всех опубликованных работах вклад автора является определяющим. Автор принимал активное участие в постановке научных задач, разработке метода синтеза, анализе литературы, а также интерпретации результатов физико-химических методов анализа (ИК-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия), анализе полученных результатов и предоставлении их в печати.

Автор является руководителем нескольких дипломных работ, в рамках которых осуществлялось практическое выполнение некоторых частей данной работы. Синтез некоторых энантимерно чистых тиогидантоинов и диспироиндолинонов на их основе осуществлялся в рамках дипломной работы Полякова В.С., синтез изатинов по методу Штолле осуществлялся в рамках дипломной работы Шикуть Н.Л., синтез роданинов и диспироиндолинонов на их основе частично осуществлялся в рамках дипломной работы Путиловой А.Д., синтез гидантоинов и диспироиндолинонов на их основе частично проводился в рамках дипломной работы Котовского Г.А. Автором была проведена первичная подготовка текстов статей, а также переписка с редакторами и рецензентами.

Публикации. По материалам работы опубликованы 9 печатных работ: 3 статьи в международных рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных диссертационным советом МГУ

для публикации результатов научно-квалификационных работ, и 6 тезисов докладов на российских и международных научных конференциях.

Апробация результатов. Результаты работы были представлены в виде докладов на следующих конференциях: «Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней» (Красновидово, Россия, 18-21 января **2019**), Пятая международная научная конференция «Успехи синтеза и комплексообразования» (Москва, Россия, 22-26 апреля **2019**), Всероссийская научная конференция «Марковниковские чтения» (Красновидово, Россия, 17-20 января **2020**), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020» (Москва, Россия, 10-27 ноября **2020**), Первая всероссийская школа по медицинской химии для молодых ученых (г. Новосибирск, 4-9 июля **2021**).

Структура и объем работы. Работа состоит из пяти разделов: введения, обзора литературы, содержащего сведения о методах синтеза и биологической активности диспироиндолинонов, а также получении исходных соединений (арилиденгидантоинов, арилиден-2-тиогидантоинов, арилиденроданинов и изатинов) для синтеза диспироиндолинонов по реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения, обсуждения результатов, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 151 странице текста и включает 18 рисунков, 110 схем, 14 таблиц и список цитируемой литературы из 122 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Целью настоящей работы стала разработка методов получения энантиомерно чистых диспироиндолинонов с использованием доступных хиральных исходных соединений.

В качестве ключевой стадии сборки целевого диспироиндолинонового каркаса в работе были выбраны реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения между азометинидами, генерируемыми из изатинов и саркозина, и 5-метиленовыми производными имидазолонов и роданинов в качестве диполярофилов. Ранее было показано, что при присоединении азометинилов, генерированных из изатинов и N-замещенных аминокислот, к таким диполярофилам образуется единственный диастереомер аддукта циклоприсоединения (Схема 1) в виде рацемической смеси.

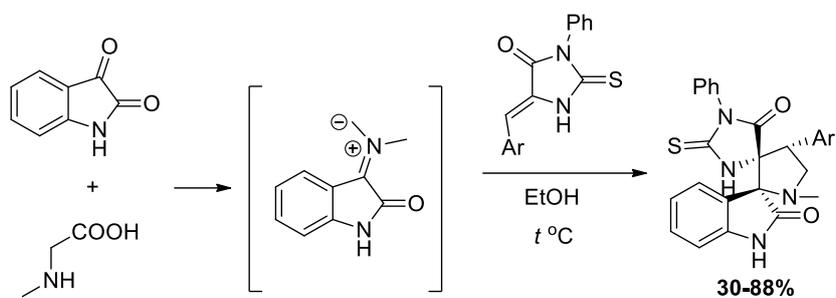


Схема 1. Пример реакции 1,3-дипольного циклоприсоединения к 5-арилиден-2-тиогидантоину¹

Полученные по Схеме 1 диспироиндолиноны могут быть разделены на энантиомеры с использованием хиральной хроматографии, однако данный метод продемонстрировал ограниченную синтетическую применимость из-за низкого выхода чистых стереоизомеров, не превышающего 10%, и сложности масштабирования. На первом этапе наших исследований мы предприняли попытки провести разделение показанных на Схеме 1 диспироиндолинонов на стереоизомеры перекристаллизацией их диастереомерных тартратов, образующихся при обработке рацемической смеси (-)- или (+)-винными кислотами, однако, было обнаружено, что диспироиндолиноны не образуют кристаллических солей с винной кислотой, по-видимому, из-за низкой основности атомов азота в их составе. Поэтому в настоящей работе предложен иной синтетический подход к получению энантимерно чистых диспироиндолинонов, основанный на том, что при наличии в реагирующих 1,3-диполе или дипольярофиле дополнительного асимметрического центра заданной конфигурации в реакции циклоприсоединения образуются диастереомерные производные, которые могут быть препаративно разделены путем перекристаллизации или колоночной хроматографии. Последующее удаление из молекул разделённых диастереомеров вспомогательного хирального фрагмента позволяет получить индивидуальные энантимеры диспироиндолинонов.

В качестве вспомогательных хиральных группировок были выбраны 1-арил-алкильные, которые легко вводятся к атомам азота исходных молекул с использованием доступных производных 1-арилэтиламина, не рацемизирующих даже в сильно основной среде, и могут быть удалены из целевых молекул в условиях гидрогенолиза или ацидолиза без разрушения спироциклического каркаса.

В ходе предварительных исследований нами было обнаружено, что тиогидантоины, модифицированные 1-фенилэтильным заместителем по положению N(1), а также

¹ Ivanenkov Y. A., Vasilevski S. V., Beloglazkina E. K., Kukushkin M. E., Machulkin A. E., Veselov M.S., Chufarova N. V., Chernyagina E. S., Vanzcool A. S., Zyk N. V., Skvortsov D. A., Khutornenko A. A., Rusanov A. L., Tonevitsky A. G., Dontsova O. A., Majouga A. G. *Bioorg. Med. Chem. Let.* 2015;25(2):404-409

аминокислоты с фенилэтильными заместителями при атомах азота, не вступают в реакции 1,3-дипольного циклоприсоединения (Схема 2, синтетические подходы III, IV), что, вероятно, обусловлено пространственными затруднениями, возникающими в переходном состоянии реакции при сближении диполя и диполярофила из-за наличия объёмного заместителя при ближайших к реакционным центрам атомах азота. Попытка реализации синтетического подхода V уже на стадии получения исходного алкилированного арилидентиогидантоина привела к получению соответствующего гидантоина, не содержащего хирального заместителя. Учитывая это, в рамках данной работы мы подробно исследовали возможность осуществления **синтетических подходов I и II**.

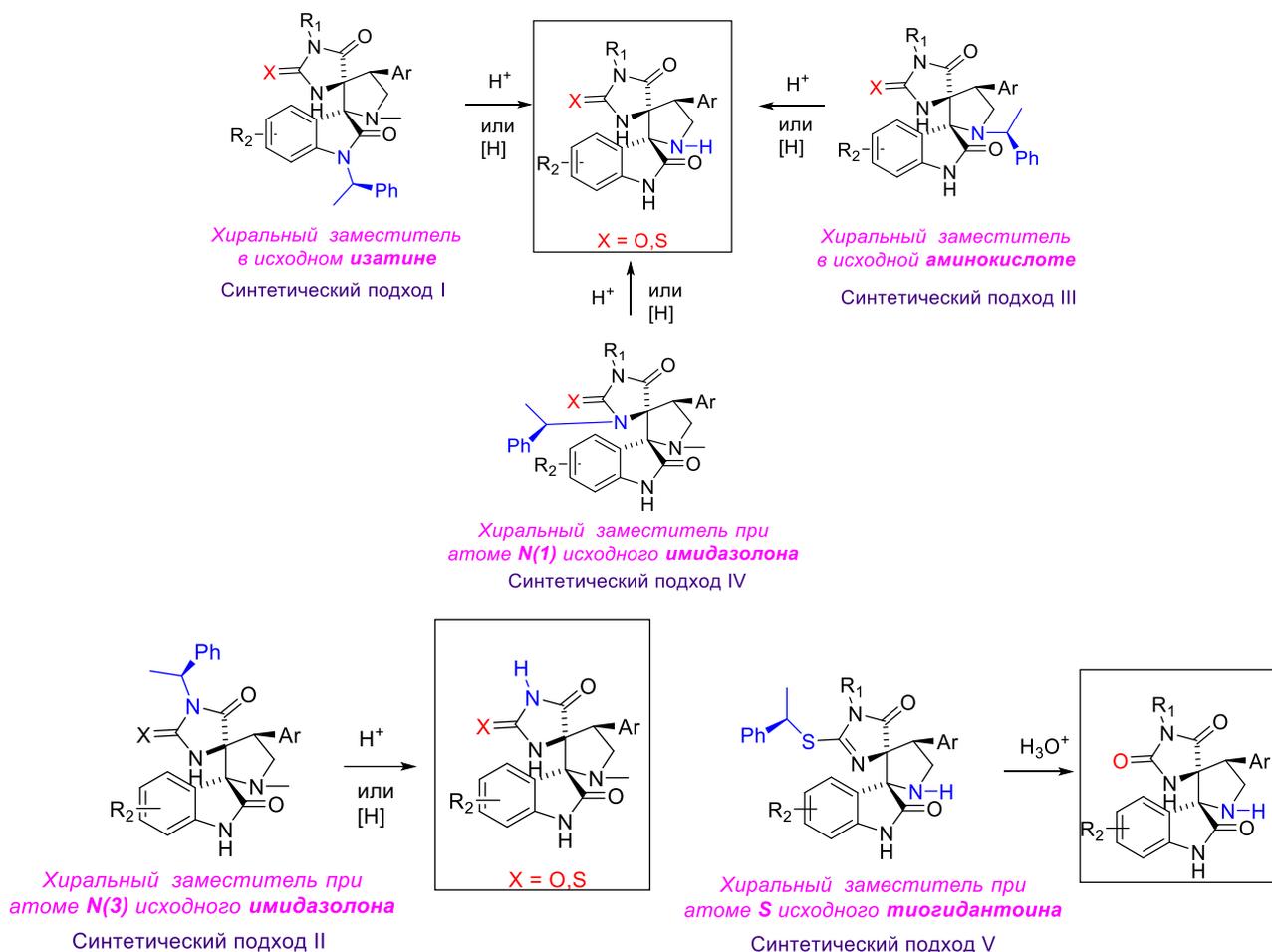


Схема 2. Возможные положения введения хиральных заместителей в диспироиндолиноны

3.1. Введение хирального заместителя к атому N исходного изатина (синтетический подход I)

Для реализации синтетического подхода I (Схема 2) было необходимо ввести хиральный заместитель к атому азота изатина. Мы исследовали два альтернативных подхода к синтезу N-(1-арилэтил)изатинов: алкилирование N-незамещенного изатина и метод Штолле.

В качестве исходных соединений для получения 1-(арилалкил)изатинов использовались изатин и вторичные бензилгалогениды. Исходные алкилгалогениды **1** и **5** в виде рацематов получали по описанным ранее методикам. Галогениды **1** и **5** далее вводили в реакции алкилирования изатинов с получением рацемических продуктов **6-8** (Схема 3).

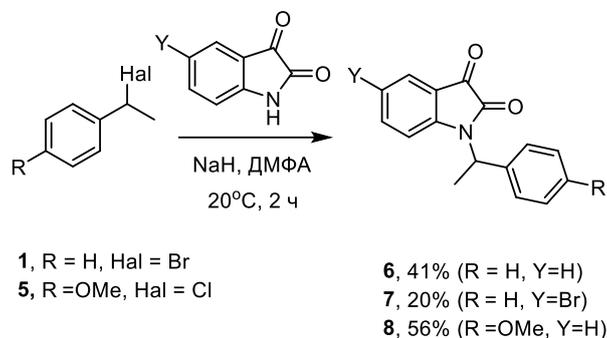


Схема 3. Синтез 1-замещенных изатинов **6–8** алкилированием изатинов

Для получения ранее не описанного энантиомерно чистого изатина (**S**)-**6** был проведен двухстадийный синтез с получением анилина (**S**)-**9** из (**S**)-1-фенилэтиламина реакцией Ульмана и дальнейшим замыканием изатина по методу Штолле с обработкой промежуточно образующегося анилина оксалилхлоридом (Схема 4). Реакция получения по методу Штолле (\pm)-1-(1-(2,4-диметоксифенил)этил)изатина **11в** аналогичных условиях не привела к получению целевого продукта.

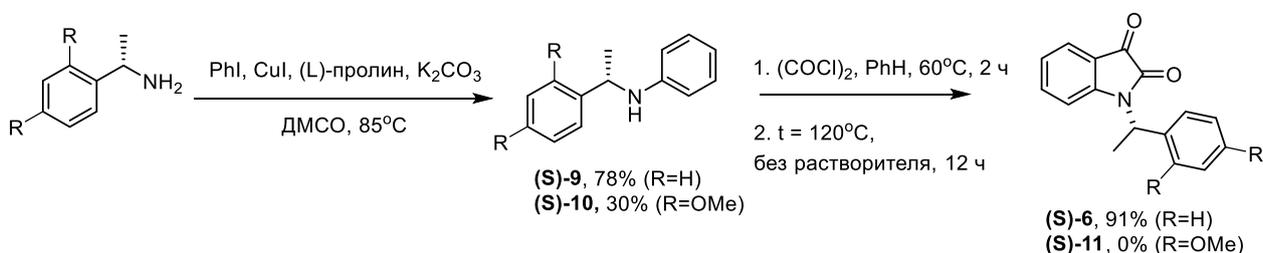
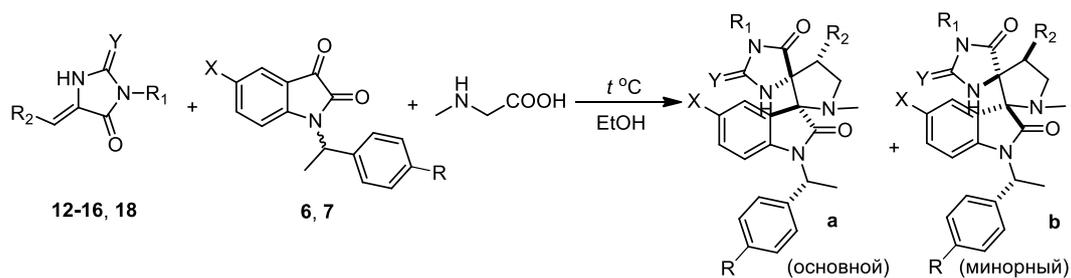


Схема 4. Синтез (**S**)-1-фенилэтиллизатина (**S**)-**6** по методу Штолле

Далее 1-фенилэтилзамещенные изатины **6**, **7** были введены в реакции с саркозином и тиогидантоинами **12-16**, **18** с получением серий диспироиндолинонов **19-27** (Схема 5).

В результате показанных на Схеме 5 реакций целевые диспироиндолиноны были получены в виде смесей двух диастереомеров, из которых изомеры **19а-27а** были выделены путем перекристаллизации. В случае соединений **19** удалось выделить в индивидуальном виде и преобладающий, и минорный диастереомеры, охарактеризовать оба продукта методом РСА и соотнести их структуру с характеристичными сигналами в ^1H ЯМР спектрах (Рис. 1). Было установлено, что основной диастереомер **19а** имеет относительную

конфигурацию пирролидинового цикла 2'R*,3'S*,4'S* при S*-конфигурации 1-фенилэтильного заместителя.



R = H	19, 70% (X=H, Y=S, R ₁ =Ph, R ₂ =Ph), 70:30
	20, 58% (X=H, Y=S, R ₁ =Ph, R ₂ =4-MeOC ₆ H ₅), 60:40
	21, 66% (X=Br, Y=S, R ₁ =Ph, R ₂ =Ph), 60:40
	22, 37% (X=H, Y=O, R ₁ =Ph, R ₂ =Ph), 50:50
	23, 61% (X=H, Y=S, R ₁ =4-EtOC ₆ H ₅ , R ₂ =4-ClC ₆ H ₅), 55:45
24, 60% (X=H, Y=S, R ₁ =Ph, R ₂ =4-BrC ₆ H ₅), 60:40	
R = OMe	25, 60% (R ₁ =Ph, R ₂ =4-BrC ₆ H ₅), 65:35
	26, 35% (R ₁ =Ph, R ₂ =4-ClC ₆ H ₅), 70:30
	27, 60% (R ₁ =Ph, R ₂ =4-FC ₆ H ₅), 55:45

Схема 5. Синтез диспироиндолинов 19-27

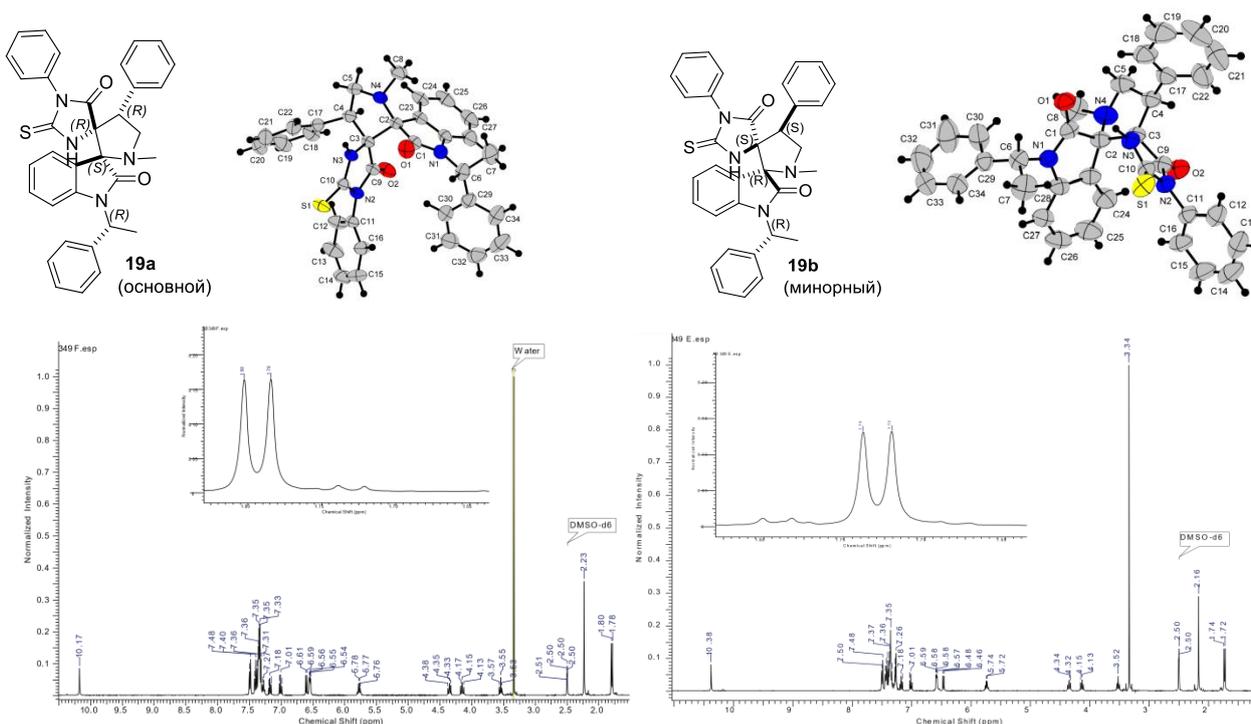


Рис. 1. Структура, данные PCA и ¹H ЯМР спектры соединений 19a и 19b

При сравнении результатов реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием 1-фенилэтил-замещенного изатина **6** и 1-(4-метоксифенил)этил-замещенного изатина **7** можно отметить, что оба асимметрических заместителя при атоме азота изатина приводят к получению диастереомеров примерно в одинаковом соотношении. В целом, наблюдаемая

диастероселективность реакции невысока и не превышает 70:30, что, по-видимому, связано со значительной удаленностью хирального заместителя от реакционных центров.

На примере диспироиндолинона **26a** была предпринята попытка удаления 1-(4-метоксифенил)этильного заместителя в условиях ацидолиза трифторуксусной кислотой. Однако реакция не протекала даже в избытке концентрированной трифторуксусной кислоты в течение 90 минут; таким образом, условия отщепления 1-арилэтильной группировки от изатинового атома азота получаемых диспироиндолинонов требуют дальнейшего исследования.

Таким образом, в данном разделе были разработаны методы получения, разделения и анализа структуры изомерных диспироиндолинонов на основе N-арилэтил-изатинов. Разработанный метод при использовании в качестве субстратов энантимерно чистых 1-замещенных изатинов потенциально применим для синтеза энантимерно чистых диспироиндолинов. Однако, невысокая диастереоселективность реакции побудила нас к поиску альтернативных хиральных исходных соединений, позволяющих получать продукты 1,3-диполярного циклоприсоединения с большим диастереомерным избытком.

3.2. Введение хирального заместителя к атому N(3) исходного имидазолонна (синтетический подход II)

На начальном этапе исследования применимости подхода II (Схема 2) для синтеза хиральных диспироиндолинонов мы провели отработку методики синтеза с получением серии ранее не описанных рацемических N(3)-незамещенных спироиндолинонов.

N(3)-Незамещенные диспироиндолиноны **9-26** – производные 2-тиогидантоинов - в виде рацемических смесей были синтезированы согласно Схеме 6.

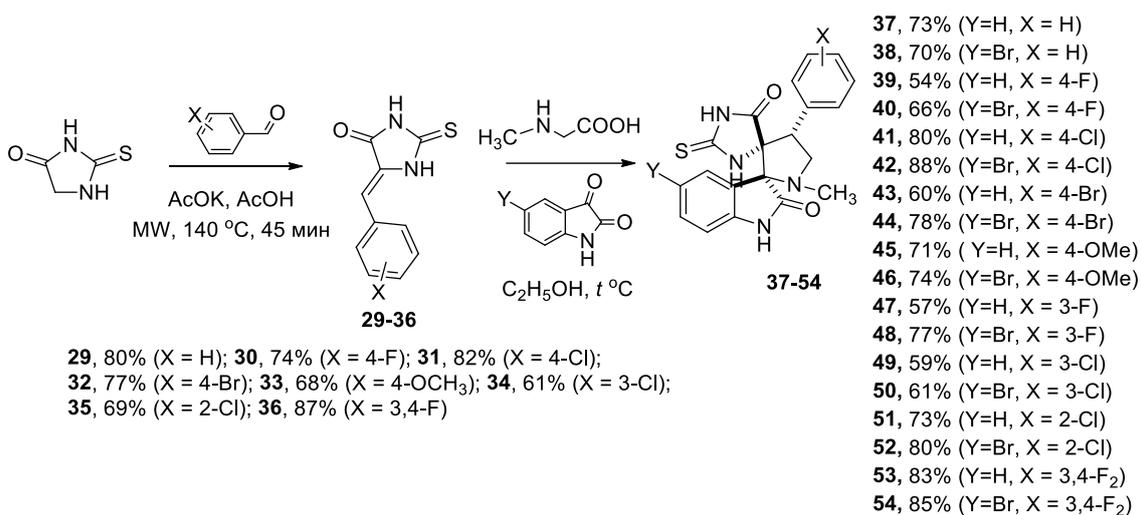


Схема 6. Синтез рацемических диспироиндолинов **37-54** на основе тиогидантоинов

Также была синтезирована серия диспиро-гидантоинов **61-69** на основе арилиденгидантоинов **55-60** для демонстрации синтетических возможностей метода и сравнения свойств гидантоиновых и тиогидантоиновых диспиро-производных (Схема 7).

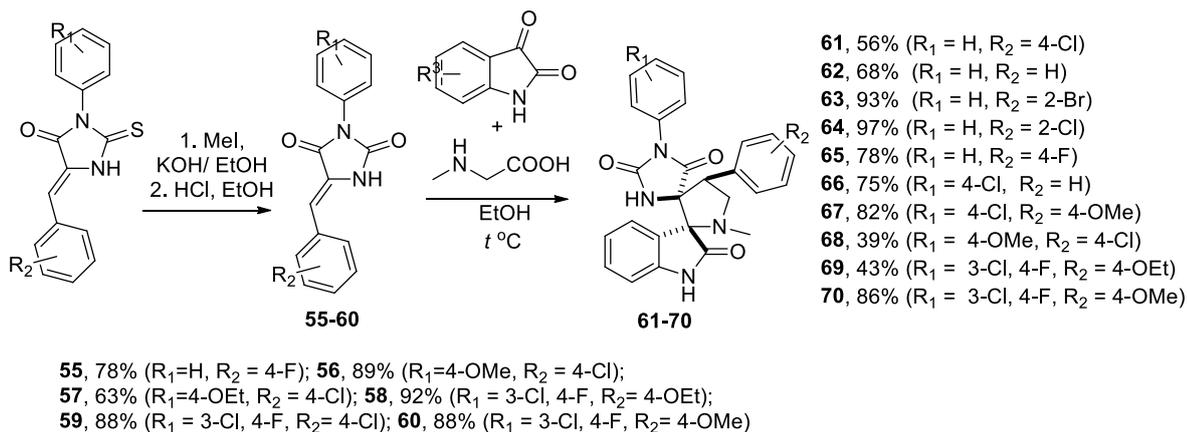


Схема 7. Синтез рацемических диспироиндолинов **61-70** на основе гидантоинов

Отработанная методика синтеза соединений **55-70** была далее использована для получения диспироиндолинов ряда гидантоина **97a** и **97b** с хиральными заместителями при атоме N(3) гидантоинового фрагмента (Схема 8). Основным диастереомер **97a** был выделен из реакционной смеси путем перекристаллизации из спирта.

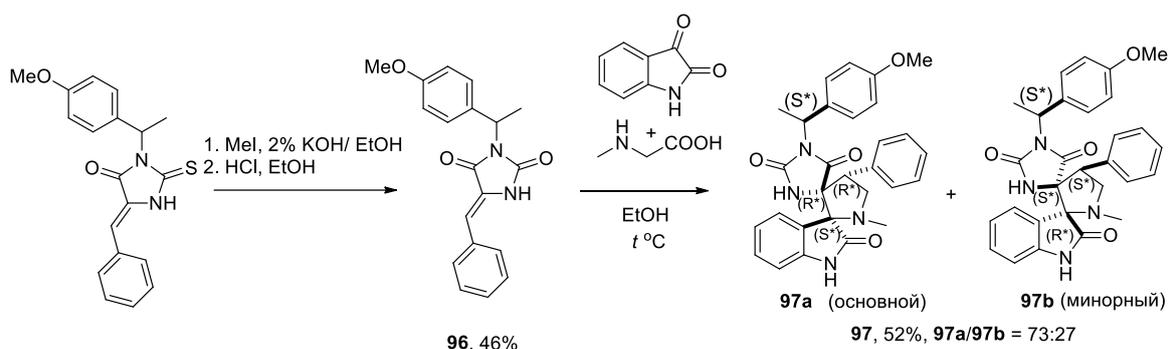


Схема 8. Синтез диспироиндолинона **97** с хиральным заместителем при атоме N(3)

Для изучения влияния хирального фрагмента при атоме N(3) арилидентииогидантоина на диастереоселективность реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов далее, исходя из α -арилалкиламинов **71-79**, была получена серия диспиро-2-тиогидантоинов **89-95** с заместителями бензильного типа Ar(Alk)CH- при атоме азота N(3), в виде рацемических смесей (Схема 9).

Было обнаружено, что наличие заместителей в бензольном кольце хиральной группы (Схема 9, соединения **89, 93, 94, 95, 97**) практически не влияет на диастереоселективность реакции, и для всех диспироиндолинонов с $R_2 = \text{CH}_3$ соотношение образующихся диастереомеров составляет примерно 3:1. Таким образом, диастереоселективность реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием 5-аридилен-имидазолонов с хиральными заместителями существенно выше, чем при использовании изатининов с хиральными заместителями (раздел 3.1, с. 12).

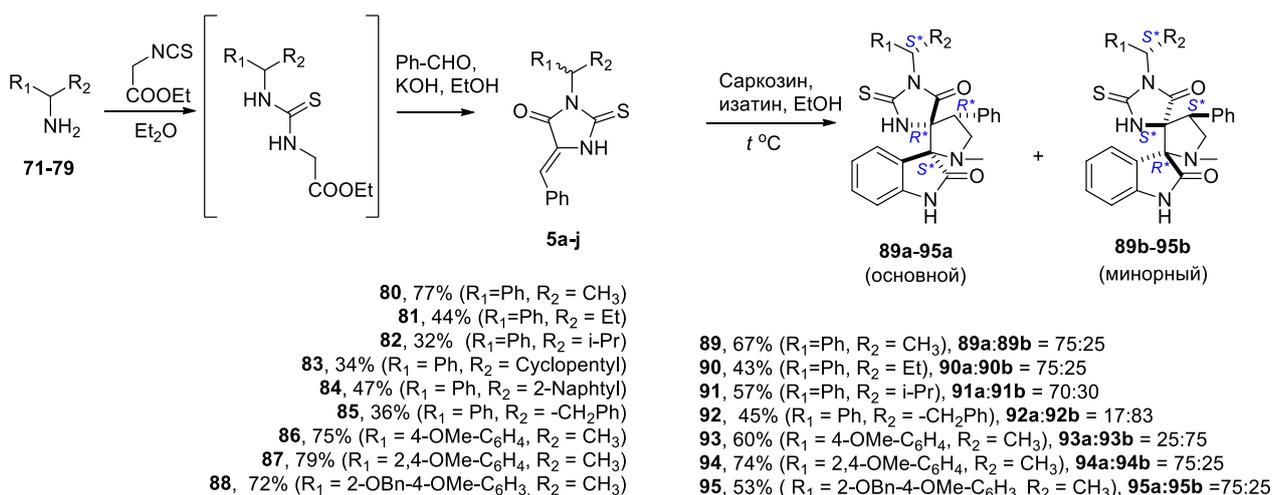


Схема 9. Синтез диспироиндолинонов **89-95**

Диастереоселективное протекание реакции при наличии асимметрического углеродного атома при атоме азота молекулы диполярофила может объясняться

предпочтительным подходом диполя с одной из диастереотопных поверхностей двойной связи C=C диполярофилов **5a-j** с хиральной группировкой (Схема 10).

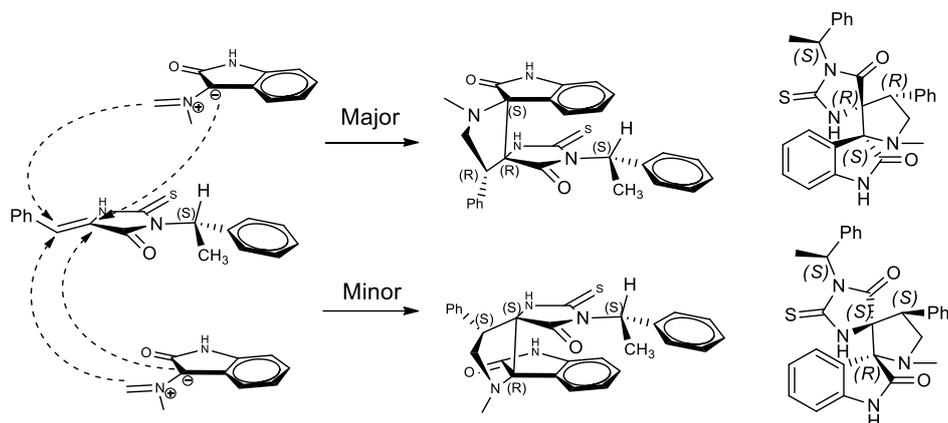


Схема 10. Предполагаемое объяснение диастереоселективности образования диспироиндолинов **89-95**

Полученные смеси продуктов **89-95** были разделены на индивидуальные диастереомеры при помощи перекристаллизации или колоночной хроматографии. Во всех случаях основные диастереомеры могут быть выделены перекристаллизацией из этанола. Диастереомеры соединений **94**, **95** с 1-(2,4-диметоксифенил)этильным и 1-(2-бензилокси-4-метоксифенил)этильным заместителем удастся также разделить хроматографически.

Далее проводилась оптимизация условий удаления хирального заместителя для выделения конечных N(3)-незамещенных диспироиндолинов **37-54**. Ацидолиз спиропроизводных **89a-95a** в трифторуксусной кислоте позволил получить целевой N(3)-незамещенный диспироиндолин **37** с препаративным выходом (Схема 11). Максимальный выход продукта был получен в реакции производного **94** с 1-(2,4-диметоксифенил)этильным заместителем при атоме N(3). Поэтому далее для синтеза диспироиндолинов в виде индивидуальных энантиомеров нами были использованы хиральные производные 1-(2,4-диметоксифенил)этиламина **73**.

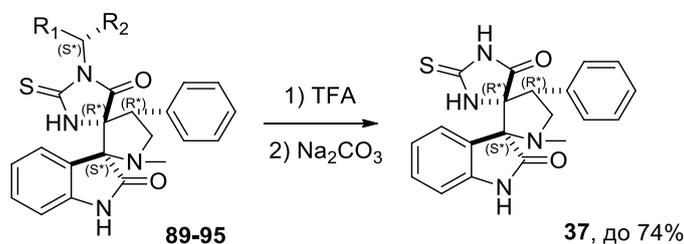


Схема 11. Получение N(3)-незамещенного диспироиндолина **37** из диспироиндолинов **89-95**

Оптимизировав методику получения рацемического производного **37**, мы перешли к синтезу энантиомерно чистых диспироиндолинов с использованием хиральных 1-

арилэтиламинов. Для получения энантимерно чистых аминов (*R*)- и (*S*)-**73**, которые оказалось невозможным выделить стандартным методом через получение диастереомерных тартратов, была разработана оригинальная методика разделения с использованием энантиомерных дибензоилвинных кислот (Схема 12).

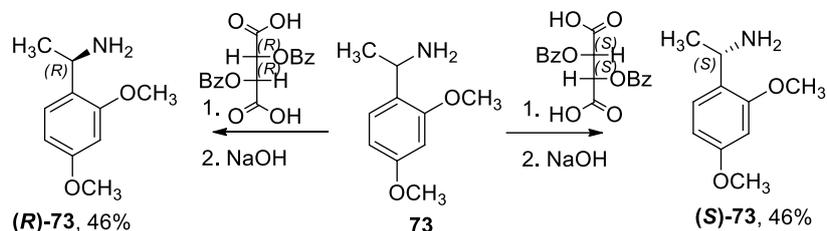


Схема 12. Выделение энантиомерных аминов (*R*)-**73** и (*S*)-**73**

Полученные амины (*R*)- и (*S*)-**73** не описаны в литературе, поэтому монокристаллы обоих энантиомерных тартратов амина **73** были исследованы методом РСА, и для них были соотнесены направление оптического вращения и абсолютная конфигурация. Далее с использованием аминов (*S*)-**73**, (*R*)-**73** была получена серия энантиомерных 2-тиогидантоинов (*S*)-**87**, **99-106**, (*R*)-**87**, **99-106** (Схема 13).

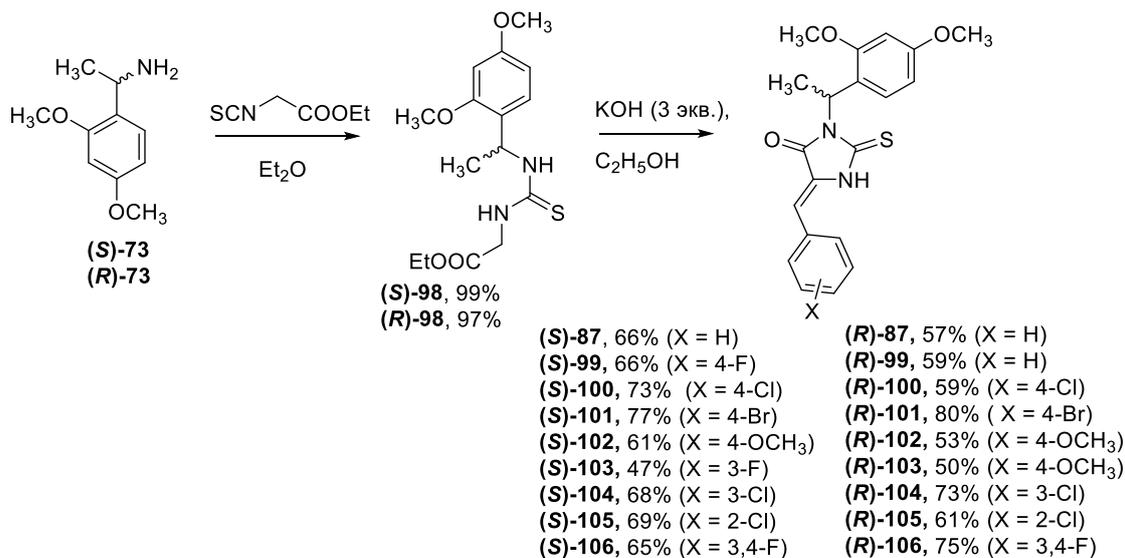


Схема 13. Синтез энантиомерных тиогидантоинов (*S*)-**87**, **99-106**, (*R*)-**87**, **99-106**

Полученные тиогидантоины (*S*)-**87**, **99-106** и (*R*)-**87**, **99-106** были введены в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с саркозином и изатинами (Схема 14). В результате была получена серия спиро-производных **108-124** в виде смесей диастереомеров, которые были разделены хроматографически.

Данные о выходах полученных диспироиндолинонов (*S*)-(94, 107-124) и (*R*)-(94, 107-124)² и соотношении диастереомеров, определённом по спектрам ¹H ЯМР реакционных смесей, приведены в Таблице 1.

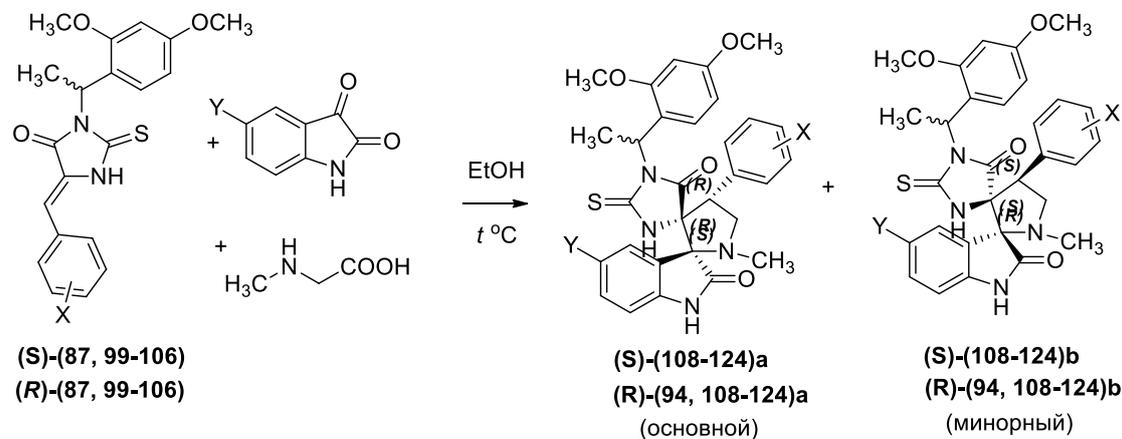


Схема 14. Образование диастереомеров в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с производными (*R*)- и (*S*)-(-)-1-(2,4-диметоксифенил)этиламина (*R*)-87, 99-106 и (*S*)-87, 99-106.

Таблица 1. Выходы диспироиндолинонов (*S*)-(94, 107-124) и (*R*)-(94, 107-124)

№	Заместители		Выход, %		a:b	№	Заместители		Выход, %		a:b
	X	Y	a+b	a			X	Y	a+b	a	
(<i>S</i>)-94	H	H	77	48	2.9:1	(<i>R</i>)-94	H	H	74	47	3.0:1
(<i>S</i>)-108	H	Br	85	45	3.5:1	(<i>R</i>)-108	H	Br	83	50	3.2:1
(<i>S</i>)-109	4-F	H	75	36	2.8:1	(<i>R</i>)-109	4-F	H	77	36	2.9:1
(<i>S</i>)-110	4-F	Br	81	52	3.6:1	(<i>R</i>)-110	4-F	Br	82	46	3.8:1
(<i>S</i>)-111	4-Cl	H	72	23	3.1:1	(<i>R</i>)-111	4-Cl	H	69	23	3.3:1
(<i>S</i>)-112	4-Cl	Br	87	36	3.2:1	(<i>R</i>)-112	4-Cl	Br	88	36	3.4:1
(<i>S</i>)-113	4-Br	H	84	33	2.8:1	(<i>R</i>)-113	4-Br	H	85	39	2.7:1
(<i>S</i>)-114	4-Br	Br	78	47	3.3:1	(<i>R</i>)-114	4-Br	Br	76	47	3.1:1
(<i>S</i>)-115	4-OMe	H	52	14	3.0:1	(<i>R</i>)-115	4-OMe	H	54	19	2.9:1
(<i>S</i>)-116	4-OMe	Br	52	30	3.4:1	(<i>R</i>)-116	4-OMe	Br	57	32	3.3:1
(<i>S</i>)-117	3-F	H	71	31	3.0:1	(<i>R</i>)-117	3-F	H	66	32	3.2:1
(<i>S</i>)-118	3-F	Br	77	47	3.6:1	(<i>R</i>)-118	3-F	Br	71	41	3.3:1
(<i>S</i>)-119	3-Cl	H	82	48	3.3:1	(<i>R</i>)-119	3-Cl	H	78	48	3.7:1
(<i>S</i>)-120	3-Cl	Br	75	49	3.6:1	(<i>R</i>)-120	3-Cl	Br	70	42	3.6:1

² В данном разделе обозначение (*S*) и (*R*) перед номером соединения показывает конфигурацию 1-(2,4-диметоксифенил)этильного заместителя в молекуле, а также конфигурацию исходного амина

(S)-121	2-Cl	H	58	37	2.9:1	(R)-121	2-Cl	H	61	36	2.9:1
(S)-122	2-Cl	Br	77	45	3.1:1	(R)-122	2-Cl	Br	73	40	3.4:1
(S)-123	3,4-F	H	57	31	3.2:1	(R)-123	3,4-F	H	59	29	3.2:1
(S)-124	3,4-F	Br	72	45	3.6:1	(R)-124	3,4-F	Br	73	47	3.4:1

Выделенные диспироиндолиноны **94**, **107-124** были охарактеризованы данными ^1H и ^{13}C ЯМР- и ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, а их энантиомерная чистота подтверждена методом ВЭЖХ с хиральной неподвижной фазой. Структуры диастереомерных продуктов **(R)-114a** и **(R)-114b** были установлены на основании двумерных корреляционных спектров ЯМР ^1H - ^1H ROESY. Было показано, что основной образующийся стереоизомер соединений **(S)-(94,107-124)**, полученных из **(S)-(-)-1-(2,4-диметоксифенил)этиламина (S)-73** имеет конфигурацию стереоцентров пирролидинового цикла $2S,3R,4R$ и S -конфигурацию арилэтильного заместителя, а диспироиндолиноны **(R)-(94,107-124)**, полученные из **(R)-(+)-1-(2,4-диметоксифенил)этиламина (R)-73** имеют конфигурацию пирролидинового цикла $2R, 3S, 4S$ при R -конфигурации арилэтильного заместителя.

Основной стереоизомер соединения **(S)-107**, выделенный перекристаллизацией, также был охарактеризован методом РСА (Рис. 3). Полученные данные подтвердили данные о конфигурации его пирролидинового цикла $2'S^*,3'R^*,4'R^*$ при S^* - конфигурации экзоциклического хирального заместителя.

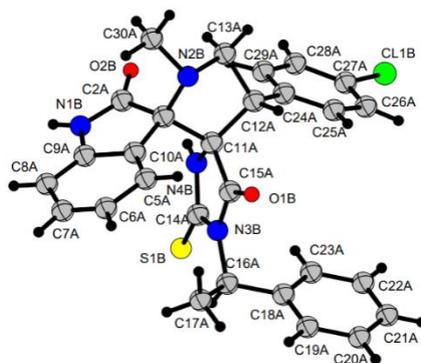


Рис. 2. Молекулярная структура диспироиндолинона **(S)-107a**

Ацидолиз соединений **(S)-94a**, **107a-124a** проводили обработкой трифторуксусной кислотой при нагревании (Схема 15). Реакция протекает в течение 0.5-1 мин и с высокими выходами (75-80%) дает $(-)$ -изомеры $N(3)$ -незамещенных диспироиндолинонов с конфигурацией $(2'S,4R,4'R)$. Отсутствие рацемизации на стадии удаления защитной хиральной группы было подтверждено результатами ВЭЖХ с хиральной неподвижной фазой (Рис. 4).

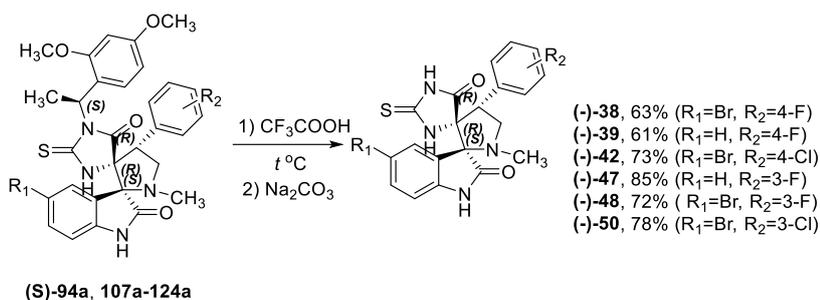


Схема 15. Ацидолиз энантимерно чистых диспироиндолинонов

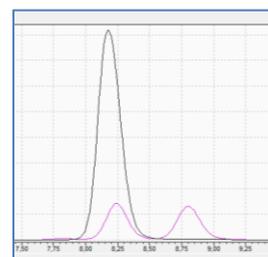


Рис 3. ВЭЖХ диспироиндолина (+)-38 (черная кривая) и его рацемического аналога 38 (фиолетовая кривая)

Таким образом, введение 1-(2,4-диметоксифенил)-этильного заместителя в N(3) положение 5-арилиден-2-тиогидантоина с последующей реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения и ацидолизом полученного диспиропроизводного позволило с препаративным выходом (до 58% в расчете на 3 стадийный синтез из хирального амина) синтезировать энантимерно чистые имидазолон-пирролидин-индолиноны.

Отметим, что стереохимическая конфигурация основных изомеров полученных в данном разделе диспироиндолинонов ($2'S^*,3'R^*,4'R^*$ при S^* -конфигурации экзоциклического 1-арилэтильного заместителя) противоположна получаемой при использовании в реакциях 1,3-диполярного циклоприсоединения N-(1-фенилэтил)замещенных изатинов (раздел 3.1; $2'R^*,3'S^*,4'S^*$ при S^* -конфигурации 1-фенилэтильного заместителя), что делает методы введения хирального заместителя к изатиновому или имидазолоновому атому азота (синтетические подходы I и II, Схема 2) взаимодополняющими для получения различных стереоизомеров диспиро-индолинон-пирролидин-имидазолонов.

3.3. Использование синтетического подхода II для получения хиральных диспиророданинов.

Исследуя возможность распространения синтетического подхода II на другие классы спиропроизводных, мы также осуществили синтез диспироиндолинонов 135-138 с роданиновым фрагментом в составе спироциклической системы.

Хиральные N-замещенные роданины (R)-128, (R)-129 синтезировали из карбамата 125 и аминов (R)-71, (R)-73. 5-Арилидензамещенные роданины (R)-132-134 получали по реакции Кневенагеля роданинов 128, 129 с ароматическими альдегидами (Схема 16).

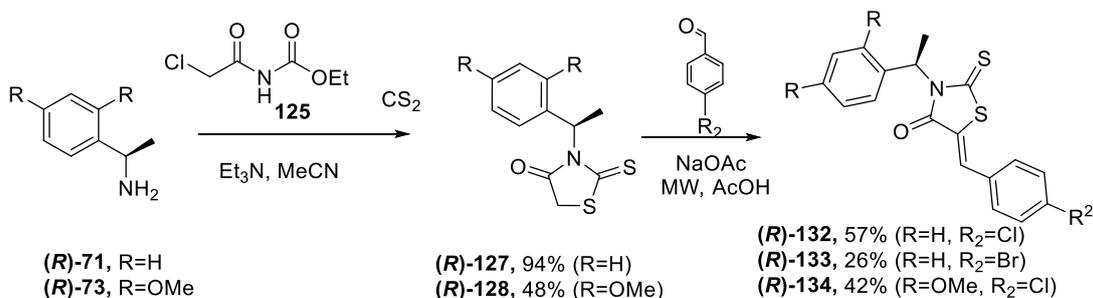


Схема 16. Синтез N-замещенных роданинов (**R**)-132-134

Роданины (**R**)-132-134 далее были введены в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с саркозином и изатином с получением производных (**R**)-135-138 (Схема 17). Полученные диспироиндолиноны были разделены на индивидуальные стереоизомеры хроматографически. Диастереоселективность реакций с N-(арилэтил)-5-арилиденроданинами 132-134 не превышала 70:30 и оказалась несколько ниже, чем для соответствующих N-(арилэтил)-5-арилидентииогидантоинов 87, 99-106 (раздел 3.3).

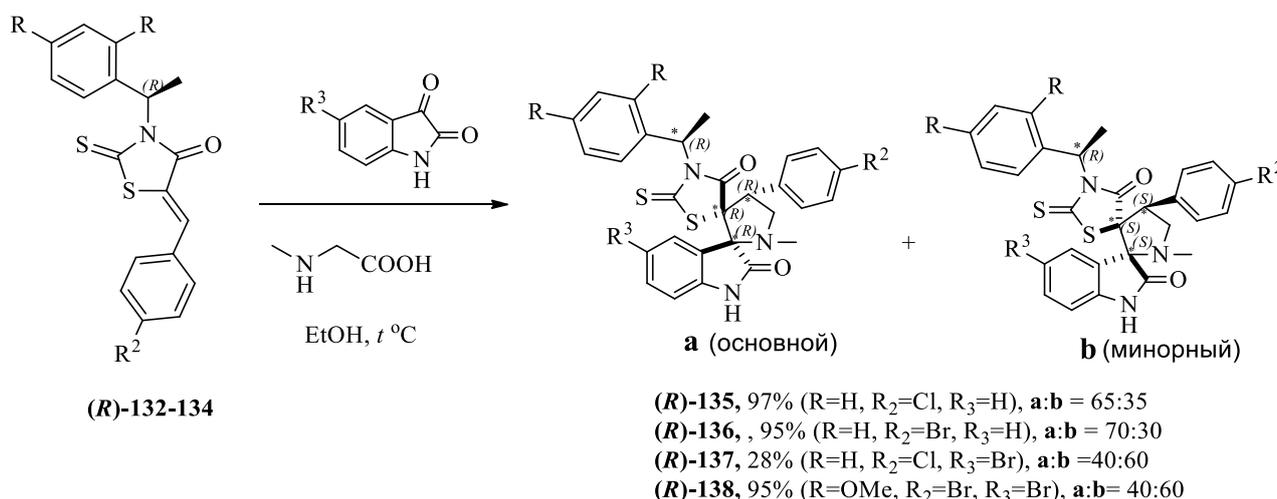


Схема 17. Схема реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с получением диастереомеров диспироиндолинонов на основе роданинов

Таким образом, синтетический подход II с введением хирального заместителя к атому азота пятичленного цикла диполярофила может быть распространен на различные классы соединений, в том числе использован для получения диспироиндолинонов на основе роданинов.

3.4. Диастереоселективность реакций арилидентииогидантоинов с азометилилидами - производными пролина

Изучая возможность реализации синтетического подхода III (Схема 2), мы синтезировали тииогидантоин 140 с хиральным заместителем при атоме N(1) (Схема 18) с хорошим выходом. Но дальнейшую конденсацию 2-ттиогидантоина 140 с ароматическими

альдегидами провести не удалось как в присутствии оснований, так и различных кислот Льюиса, по-видимому, в связи со значительными стерическими затруднениями, создаваемыми объемным арилэтильным заместителем.

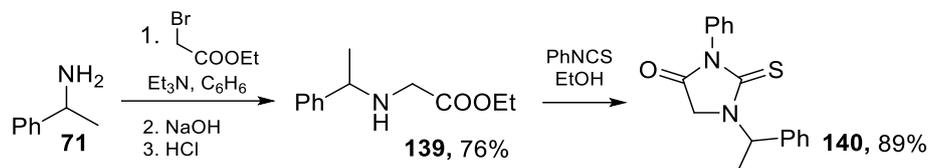


Схема 18. Синтез *N*(1)-замещенного 2-тиогидантоина **140**

Однако азометинилиды, генерируемые из пролина и изатина, вступали в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с 5-арилиден-2-тиогидантоинами, давая спиропроизводные **141-146** (Схема 19), имеющие дополнительный стереоцентр в составе гексагидро-1Н-пирролизиновой бициклической системы. Так как и образующийся диполь, и диполярофил являются плоскими молекулами, в реакции получают два диастереомерных продукта **141a-146a** и **141b-146b**.

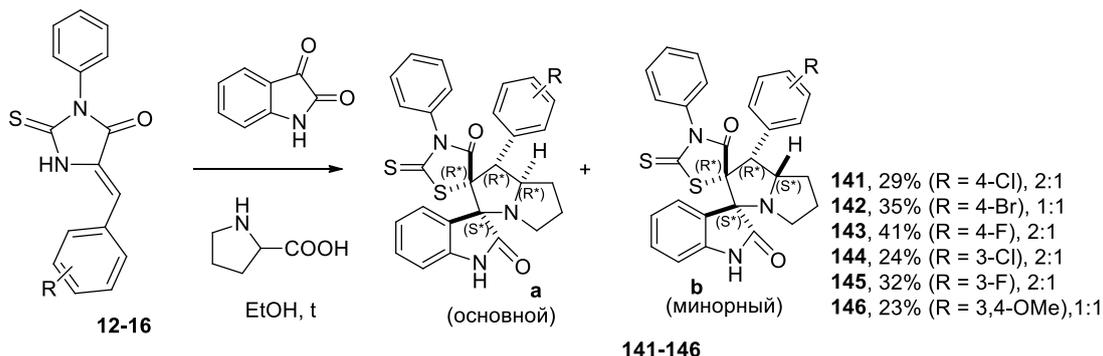


Схема 19. Синтез диспироиндолинов **141-146**

Относительная конфигурация стереоцентров молекулы основного диастереомера диспироиндолинона **143** была установлена по данным двумерных корреляционных спектров ЯМР g HSQC, NOESY и COSY. В случае диастереоселективного протекания циклоприсоединения в качестве основного образуется продукт, в котором ароматический заместитель пирролидинового цикла находится в *цис*-положении с общим для двух циклов протоном гексагидро-1Н-пирролизиновой системы. Таким образом, селективность реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием пролина, по-видимому, контролируется стерическими факторами, что согласуется с механизмом реакции, предполагающим взаимодействие диполя и плоского диполярофила.

3.5. Исследование цитотоксичности диспиро-индолинон-пирролидин-имидазолонов

Полученные рацемические и некоторые энантиомерно чистые диспироиндолиноны были исследованы на цитотоксичность в стандартном МТТ-тесте. Исследования проводились на клеточной линии аденокарциномы молочной железы MCF7 и на здоровых клетках эмбриональных почек человека НЕК293Т.³ Результаты представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Цитотоксичность некоторых рацемических и энантиомерно чистых диспироиндолинонов (МТТ-тест) на клеточных линиях MCF7 и НЕК293Т.

Соединение	IC ₅₀ (MCF7), μM	IC ₅₀ (НЕК293Т), μM
37	64 ± 6	51 ± 4
38	57 ± 5	41 ± 4
(-)-38	~100	31 ± 7
39	>200	>200
(-)-39	>200	73 ± 8
40	38 ± 2	24 ± 7
42	16 ± 2	13 ± 1
43	93 ± 12	39 ± 7
44	11 ± 2	4 ± 2
45	~100	3 ± 2
47	>200	>200
(-)-47	>200	>200
48	67 ± 8	51 ± 8
(-)-48	65 ± 10	37 ± 4
49	88 ± 6	64 ± 10
51	>200	76 ± 9
52	84 ± 7	43 ± 3
53	~100	81 ± 7
Доксорубин	0.07 ± 0.02	0.02 ± 0

При сравнении данных Таблицы 2 для рацемических смесей и индивидуальных энантиомеров можно отметить, что (-)-энантиомеры проявляют большую цитотоксичность по отношению к здоровым клеткам человека НЕК293Т, и одновременно сопоставимую или также более высокую цитотоксичность по отношению к клеточной линии рака MCF7. Таким образом, можно ожидать, что замена рацемических диспироиндолинонов на их индивидуальные (+)-стереоизомеры (с конфигурацией стереоцентров 2'R,4S,4'S) потенциально может позволить увеличить селективность цитотоксического действия соединений ряда диспиро-пирролидин-имидазолидин-индолинонов по отношению к раковым клеткам.

³ Исследования цитотоксичности проведены к.х.н, с.н.с. Д.А. Скворцовым.

Заключение

1. Показана возможность диастереоселективного получения диспироиндолинонов в реакциях 1-(1-арилэтил)замещенных изатинов, 5-арилидентииогидантоинов и саркозина.
2. Установлены закономерности изменения диастереоселективности реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов к 5-арилиден-2-тиогидантоинам в зависимости от структуры хиральных 1-арилалкильных заместителей при атоме N(3) тииоимидазолонового цикла. Максимальное соотношение диастереомеров, составившее 5:1, получено в реакциях с использованием в качестве диполярофила N(3)-[1-(1,2-дифенил)этил]-2-тиогидантоина.
3. Разработана препаративная методика получения энантимерно чистых диспироиндолинонов реакциями 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов, генерируемых из изатинов и саркозина, к хиральным N(3)-(1-арилэтил)-замещенным тииогидантоинам с последующим разделением получающихся диастереомеров и удалением вспомогательной хиральной группировки реакцией ацидолиза.
4. Предложена методика получения 5-арилиденроданинов с хиральными (*R*)-1-фенилэтильным и (*R*)-1-(2,4-диметоксифенил)этильным заместителями при атоме N(1) и 2''-тиоксодиспиро[индолин-3,2'-пирролидин-3',5''-тиазолидин]-2,4''-дионон на их основе.
5. Впервые показана возможность диастереоселективного получения производных диспироиндолинонов, содержащих структурный фрагмент гексагидро-1Н-пирролизина, реакциями 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов, генерируемых из изатина и пролина, к производным 5-арилиден-2-тиогидантоинов.
6. Показана различная цитотоксичность рацемических и энантимерно чистых диспироимидазолон-пирролидин-индолинонов по отношению к клеточным линиям рака молочной железы MCF7 и эмбриональных почек человека HEK293T.

Основные результаты работы изложены в публикациях:

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

1. **A.A. Barashkin**, V.S. Polyakov, N.L. Shikut, A.D. Putilova, A.R. Gorovoy, A.D. Degtiarev, V.A. Tafeenko, B.N. Tarasevich, N.V. Zyk, E.K. Beloglazkina. Diastereoselective cycloaddition of isatin azomethine ylides to 5-arylidene-2-thiohydantoins bearing 3-positioned chiral substituent. *Mendeleev Communications*, 32(2):6641, 2022 (**IF 1.786, Web of Science**).

2. **А.А. Барашкин**, В.С. Поляков, Н.Л. Шикуть, А.Д. Путилова, Н.В. Зык. Е.К. Белоглазкина. (R)- И (S)-1-(2,4-диметоксифенил)этан-1-амины и их использование для синтеза хиральных тиомочевин и тиогидантоинов. *Журнал Органической Химии*, 58(9):1012, 2022 (**IF 0.903, Web of Science**).
3. A. Beloglazkina, **A. Barashkin**, V. Polyakov, G. Kotovsky, N. Karpov, S. Mefedova, B. Zagribelny, Y. Ivanenkov, M. Kalinina, D. Skvortsov, V. Tafeenko, N. Zyk, A. Majouga, and E. Beloglazkina. Synthesis and biological evaluation of novel dispiro compounds based on 5-arylidenehydantoins and isatins as inhibitors of p53–mdm2 protein–protein interaction. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 56(6):5613, 2020 (**IF 1.277, Web of Science**).

Дополнительные публикации

4. Shikut N.L., **Barashkin A.A.**, Beloglazkina E.K. Stereoselective synthesis of dispirooxindoles the potential cancer-treating agents XII International Conference on Chemistry for Young Scientists "Mendeleev 2021" (St. Petersburg, Russia, September 6-10 2021), Санкт-Петербург, Россия, 6-10 сентября 2021, тезисы докладов, с. 652.
5. Горовой А.Р., **Барашкин А.А.**, Поляков В.С., Белоглазкина Е.К. Поиск синтетических путей к оптически чистым диспироиндолинонам. XXXI Менделеевский конкурс студентов-химиков, Россия, 12-14 мая 2022, тезисы докладов, с. 5.
6. **Barashkin A.A.**, Polyakov V.S., Putilova A.D., Beloglazkina A.A. A new approach to the chiral resolution of the dispiroindolinones for increasing of biological activity. The Fifth International Scientific Conference «Advances in synthesis and complexing», Москва, Россия, 22-26 апреля 2019, тезисы докладов, с. 103.
7. **Барашкин А.А.**, Путилова А.Д., Белоглазкина А.А. Синтез и разделение на стереоизомеры диспироиндолинонов, потенциальных ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2 Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2019», Москва, Россия, 11 апреля 2019, тезисы докладов, с. 647.
8. Белоглазкина А.А., Путилова А.Д., Поляков В.С., **Барашкин А.А.** Разработка подходов к разделению потенциальных противоопухолевых препаратов ряда диспироиндолинонов на энантиомеры через диастереомеры WSOC. Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней, Красновидово, 18-21 января 2019, тезисы докладов, с. 112.
9. **Барашкин А.А.**, Поляков В.С., Шикуть Н.Л., Путилова А.Д., Горовой А.Р., Белоглазкина Е.К. Поиск синтетических путей к оптически чистым диспироиндолинонам – потенциальных ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2, Первая всероссийская школа для молодых ученых по медицинской химии MEDCHEMSCHOOL2021, Новосибирск, 4-9 июля 2021, с. 55