

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра органической и биорганической химии

**Реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения в синтезе  
спиропирролидинов и спиропирролизидинов**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студента IV курса 412 группы

направления 04.03.01 – «Химия»

Института химии

Кочукова Андрея Сергеевича

Научный руководитель

д.х.н., профессор

\_\_\_\_\_

подпись, дата

Сорокин В.В.

Зав. кафедрой

д.х.н., профессор

\_\_\_\_\_

подпись, дата

Егорова А.Ю.

Саратов 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	3
Основное содержание работы.....	5
Заключение .....	18

## Введение

Данная работа посвящена исследованию различных аскетов реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов, полученных на основе карбонильных соединений – изатина и инденохиноксалинона, к диполярофилам различного строения – моноенонам с гетероциклическими заместителями и замещенным бензилиденмалонитрилам.

**Актуальность работы.** Производные спиропирролидинов и спиропирролизидинов обладают широким спектром биологической активности: антимикробной, противоопухолевой, нейроактивностью и др. В настоящее время актуальным является изучение многокомпонентных реакций, позволяющих получать сложнопостроенные соединения в одну стадию, в частности, взаимодействий N-нуклеофилов (таких как различные  $\alpha$ -аминокислоты) с карбонильными соединениями, приводящих к образованию *in situ* азометин-илидов, которые тут же атакуют диполярофилы с активированной двойной связью.

**Цель работы:** изучение многокомпонентных реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения различных азометин-илидов к замещенным диполярофилам, приводящих к образованию новых потенциально биологически активных гетероциклических соединений, а также установление строения новых соединений, объяснение механизма регио- и стереонаправленности синтеза.

При этом ставились следующие задачи:

- Синтез исходных диполярофилов по реакции конденсации ацетилпиррола и замещенных бензальдегидов, конденсации малондинитрила и замещенных бензальдегидов.
- Синтез производных спирооксоиндолинпирролидинов реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов, полученных *in situ* из изатина и саркозина, изатина и пролина, а также синтезированных замещенных бензилиденмалонитрилов.

- Синтез производных спироинденохиноксалинпирролидинов реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов, полученных *in situ* из инденохиноксалинона и саркозина, а также синтезированных замещенных моноенонов.
- Оптимизация различных условий реакции: температурного режима, выбора растворителя и катализатора.
- Доказательство состава и строения полученных соединений с помощью разнообразных физико-химических методов (элементный анализ, спектроскопия ЯМР <sup>1</sup>H, ЯМР <sup>13</sup>C, различные методы двумерной ЯМР спектроскопии).
- Обсуждение некоторых аспектов биологической активности рассматриваемых соединений, с использованием молекулярного докинга и виртуального скрининга.

**Научная новизна.** Удобным методом синтеза спиропирролидинов и спиропирролизидинов являются реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов благодаря многим особенностям согласованного механизма их протекания. В соответствии с этим важно применение новых доступных диполярофилов, содержащих гетероциклические заместители, что потенциально может изменить активность, а также регио- и стереохимический состав продуктов.

Проведено сравнительное изучение трёхкомпонентного взаимодействия N-нуклеофилов (саркозин и пролин), с изатином и замещенными бензилиденмалонитрилами в качестве активированных диполярофилов. Изучено регио- и стереохимическое поведение реакций [3+2]-циклоприсоединения саркозинового азометин-илида на основе инденохиноксалинона с различными моноенонами (гетероциклическими аналогами халконов).

Получены соединения: 4'-(3,4-дихлорфенил)-1'-метил-2-окоспиро[индолин-3,2'-пирролидин]3',3'-дикарбонитрил, 1'-метил-4'-(4-

этоксифенил)-2-оксоспиро[индолин-3,2'-пирролидин]3',3'-дикарбонитрил, 2'-(3,4-дихлорфенил)-2-оксо-5',6',7',7a'-тетрагидроспиро[индолин-3,3'-пирролизин]-1',1'(2'H)-дикарбонитрил, 2'-(4-этоксифенил)-2-оксо-5',6',7',7a'-тетрагидроспиро[индолин-3,3'-пирролизин]-1',1'(2'H)-дикарбонитрил, 1'-(3,4-дихлорфенил)-2-оксо-5',6',7',7a'-тетрагидроспиро[индолин-3,3'-пирролизин]-2',2'(2'H)-дикарбонитрил, (1'-метил-4'-(4-хлорфенил)спиро[индено[1,2-b]хиноксалин-11,2'-пирролидин]-3'-ил)(1H-пиррол-2-ил)метанон, (1'-метил-4'-(2-хлорфенил)спиро[индено[1,2-b]хиноксалин-11,2'-пирролидин]-3'-ил)(1H-пиррол-2-ил)метанон, (1'-метил-4'-(3-нитрофенил)спиро[индено[1,2-b]хиноксалин-11,2'-пирролидин]-3'-ил)(1H-пиррол-2-ил)метанон, (1'-метил-3'-(3-нитрофенил)спиро[индено[1,2-b]хиноксалин-11,2'-пирролидин]-4'-ил)(1H-пиррол-2-ил)метанон. Предложены пути их образования.

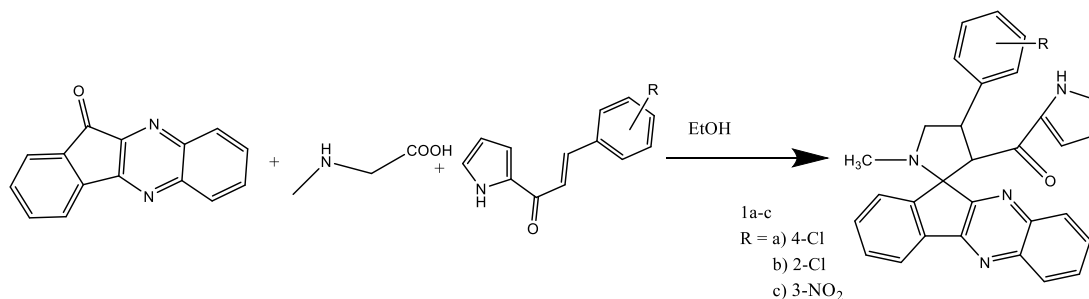
**Практическая значимость.** Предложены методики синтеза замещённых конденсированных спироциклических систем с фармакофорными фрагментами, перспективные для углубленного изучения биологической активности.

**Апробация работы.** Основные результаты работы представлялись на следующих конференциях: Ежегодная научная студенческая конференция, СГУ, г. Саратов, 2023.

### Основное содержание работы

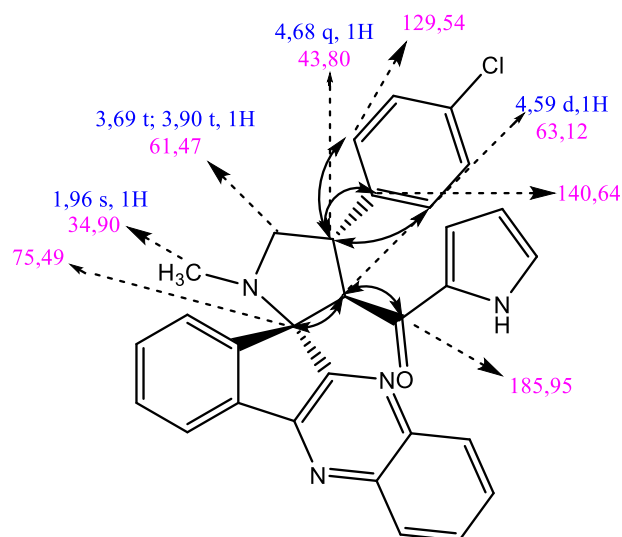
#### Трёхкомпонентное циклоприсоединение замещённых моноенонов, саркозина и инденохиноксалинона.

Была проведена и изучена трехкомпонентная реакция взаимодействия замещённых моноенонов с азометин-илидом на основе саркозина и инденохиноксалинона.. В результате образовывались замещённые спиропирролидины.

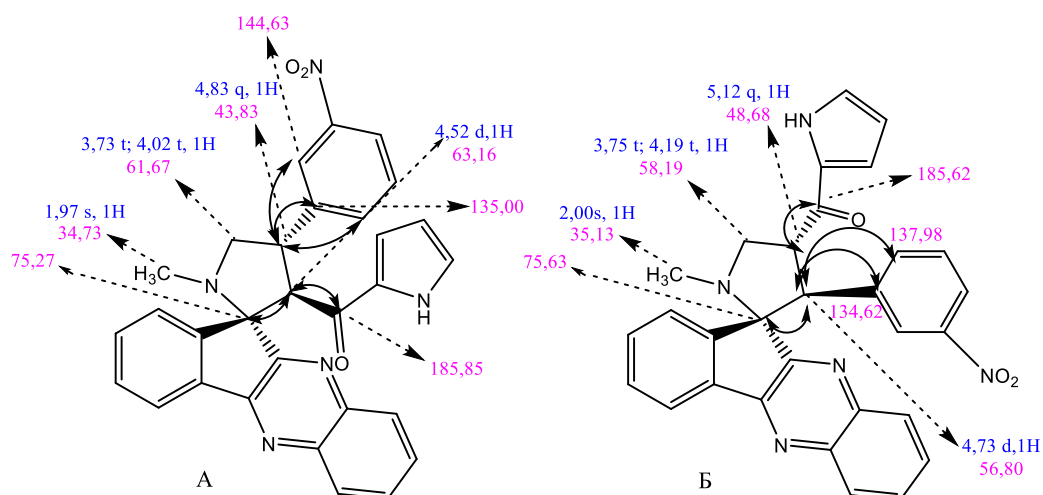


Реакция циклоприсоединения инденохиноксалинового илида на основе саркозина проводилась в среде этилового спирта продолжительным (более 6-7 часов) кипячением эквимольных количеств исходных соединений с небольшим избытком N-нуклеофила (саркозина). Установлено, что использование в качестве растворителя диметилсульфоксида или изопропилового спирта либо не приводит к образованию продуктов, либо многократно замедляет протекание реакции. Ход реакции отслеживали с помощью ТСХ до исчезновения пятен исходных реагентов. Полученные соединения были перекристаллизованы в этиловом спирте.

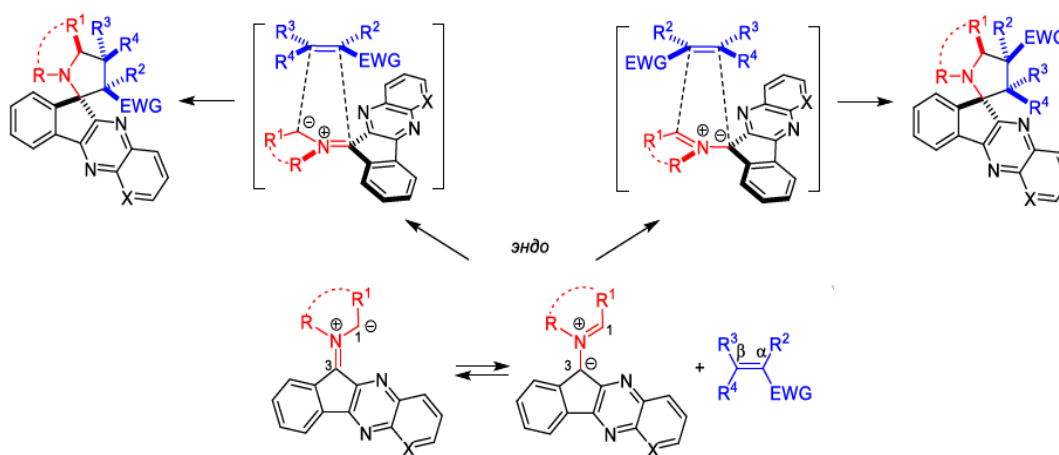
В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  полученных соединений **1a-c** присутствуют ключевые сигналы пирролидинового цикла. Так для соединения с **1a** протону в третьем положении соответствует дублет при 4,59 м.д., протону в четвертом положении – квартет при 4,68 м.д, диастереотопным протонам в пятом положении – триплеты 3,66 и 3,90 м.д., протонам метильной группы соответствует синглет в области 1,96 м.д. В ходе циклоприсоединения возможно образование двух региоизомеров, различающихся расположением заместителей при третьем и четвертом положении пирролидинового цикла. Ориентация заместителей при  $\text{C}_3$  и  $\text{C}_4$  пирролидинового цикла подтверждается спектрами НМВС. Корреляции протона четвертого положения и атомов углерода фенильного заместителя (4,68/129,54, 4,68/140,64), протона в третьем положении и спироциклического атома углерода пирролидинового цикла (4,59/75,49), протона третьего положения и карбонильного атома углерода (4,59/185,95) подтверждают указанное строение. Кросс-пики спектров NOESY-2D протона третьего положения и протона фрагмента фенильного заместителя, протонов четвертого положения и инденохиноксалинового фрагмента, отсутствие корреляции протонов  $\text{C}_3$  и  $\text{C}_4$  пирролидинового цикла свидетельствуют о транс-конфигурации заместителей диполярофила при согласованном циклоприсоединении, согласно приведенной ниже схеме с соотнесением характеристических сигналов.



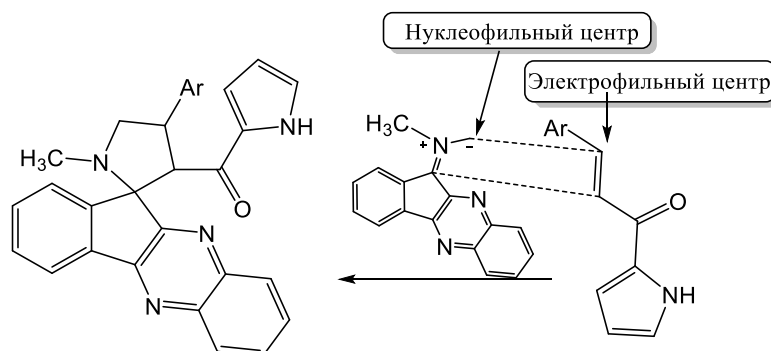
Установлено, что в случае введения в исходный дипольрофил сильной электроноакцепторной группы с большим зарядовым фактором происходит образование дополнительного региоизомера, с увеличением его концентрации по мере продолжительного нагревания реакционной смеси. Появление второго региоизомера при наличии мета-нитрофенильного заместителя можно объяснить изменением характера распределения электронной плотности в исходном дипольрофиле и, возможно, межмолекулярными взаимодействиями диполя и дипольрофила за счёт нитрогруппы, оказывающей дополнительное ориентирующее влияние. В результате этих факторов реализуется другое переходное состояние. Наиболее качественно это наблюдается при продолжительном воздействии высокой температуры, вероятно ввиду большей термодинамической выгоды в образовании именно такого переходного состояния, которое ведет к образованию другого региоизомера.



Генерация *in situ* азометин-илидов из инденохиноксалинонов приводит к образованию *S*-конформации, обладающей большей термодинамической стабильностью по сравнению с *W*-илидами, что подтверждено квантовохимическими расчетами в обзорах последних лет. Ввиду этого строения азометин-илидов, реакции циклоприсоединения в таком случае ведут к продуктам с транс-расположением заместителей присоединяемого диполярофила. В случае орбитального контроля, отсутствия неблагоприятных стерических, диполь-дипольных взаимодействий между заместителями выгодными являются эндо-переходные состояния, положение ориентирующей электроноакцепторной группы (EWG), сопряженной с  $\pi$ -связью диполярофила, – внутрь секции, образованной атомами  $C_1$ , N и  $C_3$  диполя.



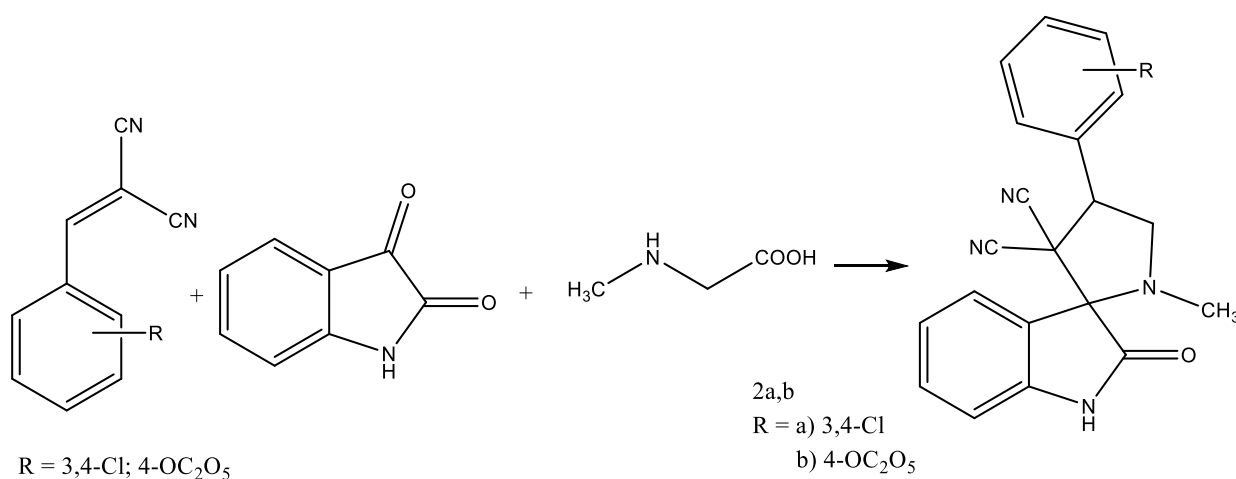
При согласованном циклоприсоединении наиболее электрофильный центр моноена, являющийся  $\beta$ -углеродным атомом (ввиду сопряжения двойной связи и карбонильной группы) стремится присоединиться к наиболее нуклеофильному центру илида, несущему отрицательный заряд.





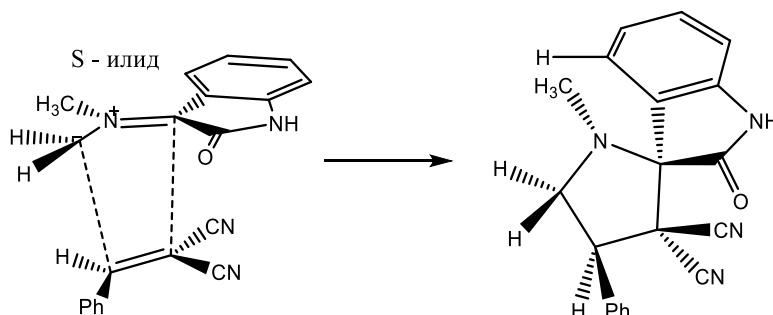
Сделан вывод о эндо-переходных состояниях при циклоприсоединении данных диполярофилов к инденохиноксалиноновому илиду в проведенных практических синтезах при получении региоизомеров как типа **A**, так и типа **B**.

**Трёхкомпонентное циклоприсоединение бензилиденмалонитрилов, саркозина и изатина.**



Синтез продуктов при использовании илида на основе изатина и саркозина проводился при перемешивании эквимольных количеств диполярофила, изатина и саркозина (брался 1,5-кратный мольный избыток последнего) при нагревании не выше 70°C до исчезновения пятен исходных соединений на ТСХ. Были получены продукты **2a,b** в течение 5-6 часов.

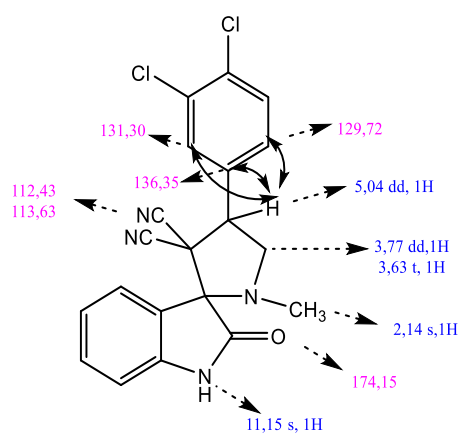
При использовании саркозинового илида на основе изатина получается продукт единственного региоизомерного характера, что соответствует термодинамически стабильному переходному состоянию S-илида.



В спектре ЯМР <sup>1</sup>H полученных соединений **2a-b** присутствуют ключевые сигналы пирролидинового цикла. Так, в соединении **2a** протону в четвертом

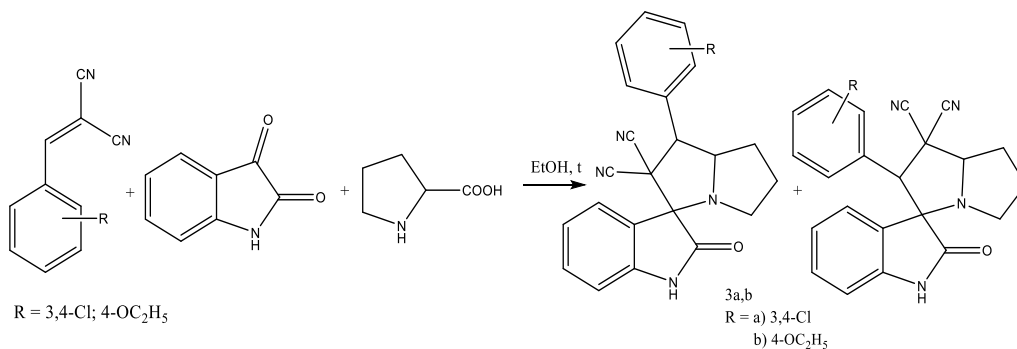
положении соответствует дублет дублетов при 5.04 м.д., диастереотопные протоны в пятом положении резонируют при 3.77 м.д (т) и 3.63 м.д (дд). Протонам метильной группы соответствует синглет в области 2.14м.д.

В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  наблюдаются сигналы спироциклического атома углерода пирролидинового кольца при 76.95 м.д., углерода карбонильной группы амидного фрагмента при 174.15 м.д., сигналы двух углеродов циано-групп при 112,43м.д. и 113,63м.д. Углероду метильной группы соответствует сигнал в области 35,45м.д.



Однозначное определение положения заместителей при  $\text{C}_3$  и  $\text{C}_4$  пирролидинового цикла осуществлялось с помощью спектров НМВС. Наличие кросс-пиков протона в 4 положении и атомов углерода бензольного кольца (5,04/129,72; 5,04/131,34) и отсутствие корреляции протонов бензольного кольца и спироциклического атома углерода свидетельствует о строении 2а.

### Трёхкомпонентное циклоприсоединение бензилиденмалонитрилов, пролина и изатина.



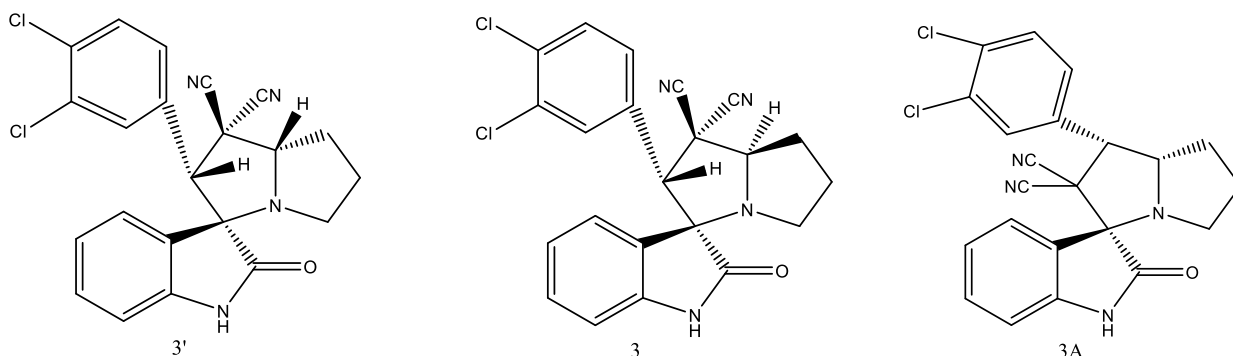
Взаимодействие проводилось перемешиванием эквимольных количеств бензилиденмалонитрила, изатина и пролина в среде изопропилового спирта при небольшом нагревании до 50-60°C, осадок продукта реакции получался в течение 30-40 минут. На основании анализа ТСХ можно сделать вывод об образовании дополнительных побочных продуктов, после проведения перекристаллизации полученных соединений.

В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  полученной смеси продуктов в характеристической области присутствуют ключевые сигналы пирролизидинового цикла трех разных соединений. Комплексный анализ ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , а также двумерных спектров позволил сделать заключение о том, что этими соединениями являются два региоизомера, отличающихся положениями заместителей при атомах углерода  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_4$  пирролизидинового фрагмента, а также диастереомер одного из региоизомеров.

Для мажорного продукта в области сигнала характеристичных протонов пирролизидинового фрагмента присутствует синглет при 4,91 м.д. и дуплет дуплетов при 4,98 м.д. Амидный протон дает сигнал при 10,81 м.д. В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  наблюдаются сигналы спироциклического атома углерода пирролизидинового кольца при 75.71 м.д., углерода карбонильной группы амидного фрагмента при 176.97 м.д., сигналы двух углеродов циано-групп при 116,21 м.д. и 115,58 м.д. На основании этих данных можно сделать вывод о том, что был получен региоизомер вида 3а.

Для минорного диастереомера в области сигнала характеристичных протонов пирролизидинового фрагмента присутствует синглет при 5,05 м.д. и триплет при 4,50 м.д. Амидный протон дает сигнал при 10,62 м.д. В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  наблюдаются сигналы спироциклического атома углерода пирролизидинового кольца при 75.19 м.д., углерода карбонильной группы амидного фрагмента при 176.08 м.д., сигналы двух углеродов циано-групп при 116,06 м.д. и 113,60 м.д.

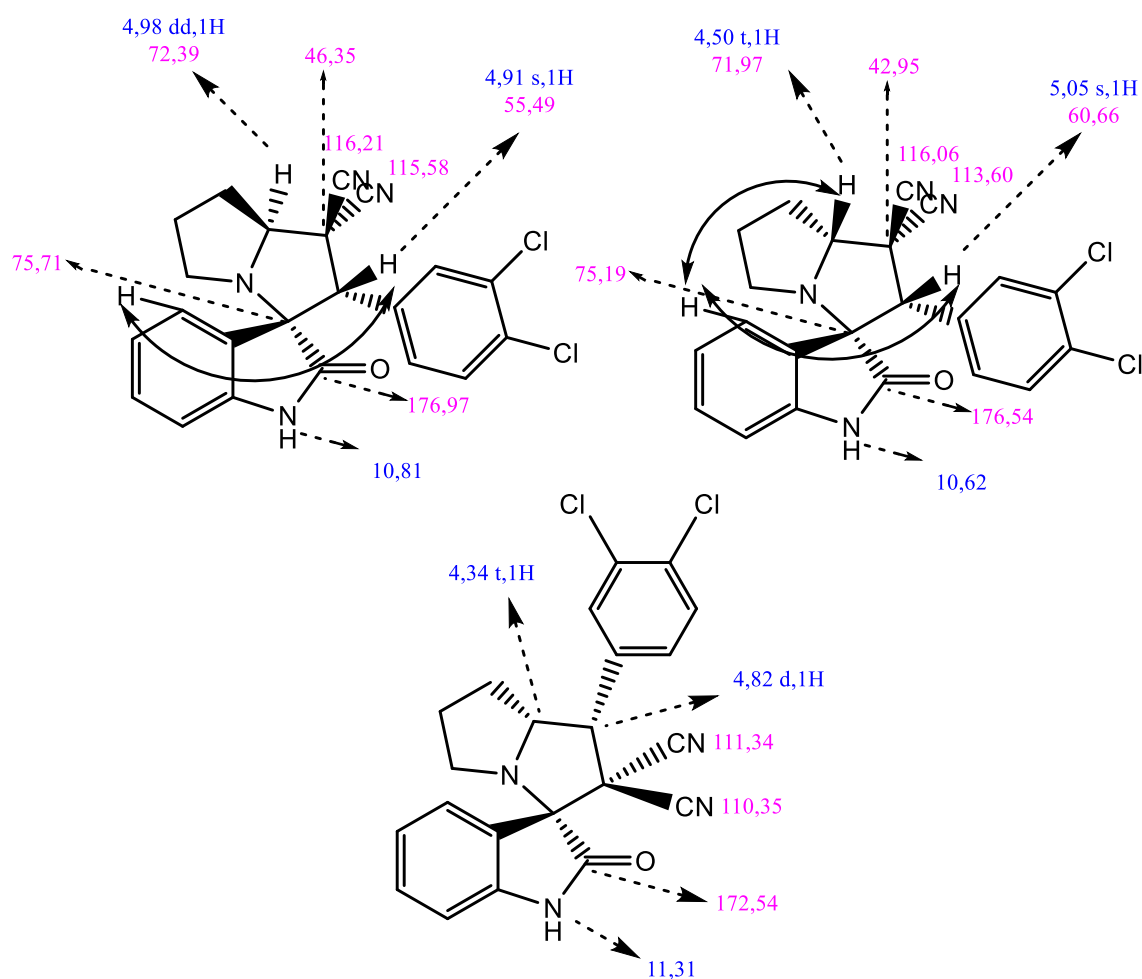
Однако, в спектре NOESY для мажорного продукта обнаружено корреляция протона при атоме углерода C<sub>3</sub> и оксоиндольного протона (4,91/7,45). Для минорного диастереомера – корреляция протона при атоме C<sub>3</sub> и оксоиндольного протона и корреляция протонов при атоме C<sub>5</sub> и протона оксоиндольного фрагмента (4,50/7,66). Эти данные позволяют предположить структуру данных продуктов 3 (мажорный) и 3' (минорный).



В характеристической области также был обнаружен дублет при 4,82 м.д. и триплет при 4,34 м.д., что может свидетельствовать об образовании региоизомера с другим положением заместителей 3А. Однако сигналы остальных протонов в спектре маскировались сигналами основных региоизомеров.

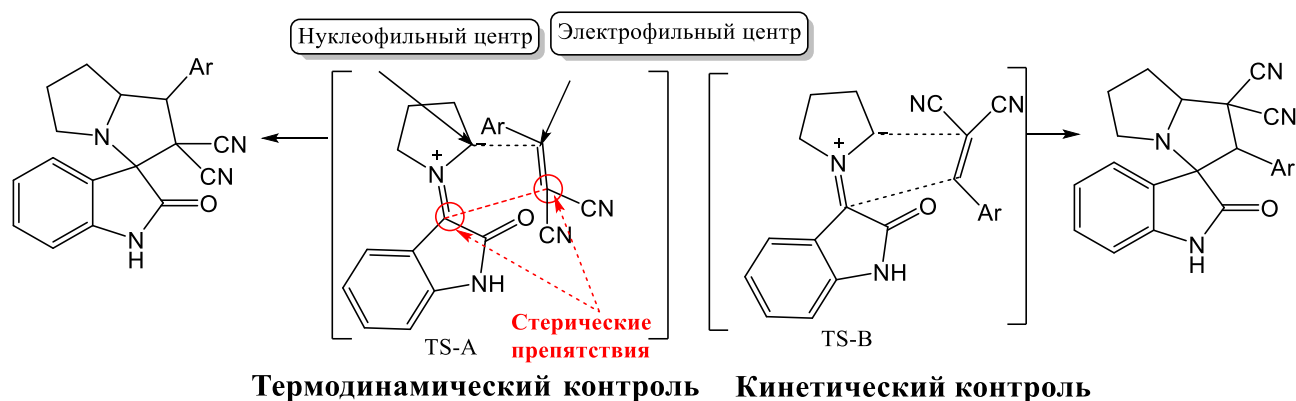
По интегральной интенсивности соотношение всех изомеров в проведенном эксперименте  $3:3':3A = 1:0,75:0,35$ .

Было сделано предположение, что образование региоизомеров зависит от времени и температуры нагревания смеси. Поэтому был поставлен синтез исходного соединения при эквимольном соотношении реагентов без нагревания. В таких условиях был выделен чистый диастереомер 3, что доказывается результатами спектров ЯМР <sup>1</sup>H, где отсутствуют сигналы других изомеров. Полученный продукт 3 кипятился в разбавленном растворе этанола при 1,5-2 часах. Выпавшие продукты были проанализированы при помощи спектров ЯМР <sup>1</sup>H. Выяснено, что при кипячении в течение двух часов региоизомер 3 переходит в региоизомер 3А. При кипячении в течение 1,5 часов – смесь содержит все три изомера.



В кинетически контролируемых условиях основным фактором выгодности переходного состояния является отсутствие стерических препятствий, в результате чего реализуется переходное состояние TS-B, так как в TS-A присутствуют некоторые пространственные препятствия при образовании связи между  $\beta$ -углеродным атомом диполярофила и спироциклическим концом диполя. В результате получается изомер типа **3**. Пролиновый ирид обладает значительно большей активностью, по сравнению с саркозиновым иридом, ввиду наличия электронодонорных метиленовых звеньев структуры пролинового цикла. Поэтому реакции циклоприсоединения с данным иридом могут протекать при пониженной, комнатной температуре, что обуславливает кинетически контролируемые условия. При повышении температуры, благодаря увеличению скорости движения молекул, влияние этого фактора уменьшается, на первый план

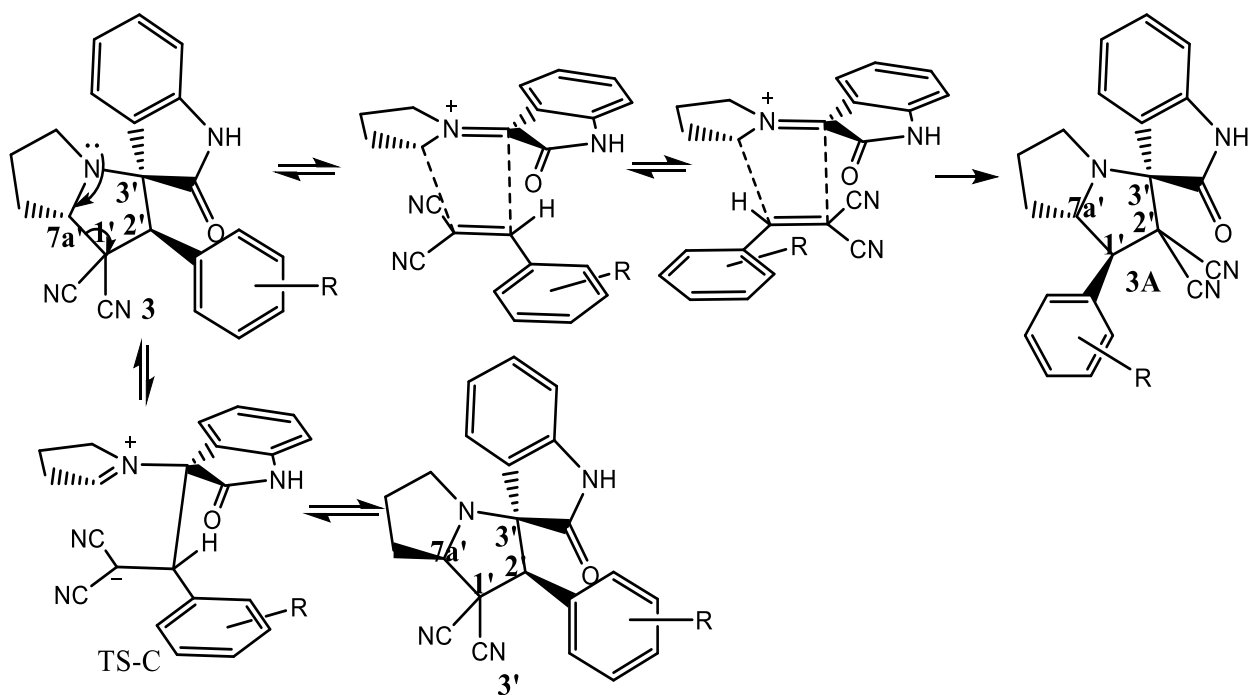
выходит электронный фактор. Реализуется переходное состояние TS-A, в котором реализуется связь между наиболее электрофильным и нуклеофильным центрами диполярофила и диполя. Таким образом, в термодинамически контролируемых условиях образуется только продукт типа **3A**.



Образованию минорного диастереомера **3'** способствует протекание реакции ретро-Манниха, в результате которой происходит разрыв связи между атомами углерода 7a'-C и 1'-C с образованием переходного состояния TS-C. Отрицательный заряд в этом случае будет локализован на атоме углерода 1'-C, содержащем две электроноакцепторные циано-группы, стабилизирующие его.

В дальнейшем возможно замыкание цикла с изменением или сохранением конфигурации 7a'-C, что приводит к образованию двух диастереомеров. Также возможен разрыв второй связи между 3'-C и 2'-C и образование S-пролинового илида и бензилиденмалонитрила, которые аналогично могут взаимодействовать с получением изомеров **3** и **3A** в зависимости от условий.

Все описанные превращения приведены ниже.



### Результаты молекулярного докинга некоторых полученных веществ

Для проведения молекулярного докинга некоторых синтезированных соединений в качестве мишени был выбран фермент тирозин-тРНК-лигаза (синтетаза) золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*). Этот фермент принадлежит к семейству лигаз, которые образуют углерод-кислородные связи в тРНК и родственных соединениях. Эта синтетаза принадлежит к семейству аминоксил-тРНК-синтетаз. Эти ферменты связывают аминокислоты с родственными им транспортными РНК в реакциях аминокислирования, которые устанавливают связь между конкретной аминокислотой и нуклеотидным триплетом антикодона, встроенным в тРНК. То есть, они являются ферментами, которые переводят генетический код *in vivo*.

Развитие разнообразных устойчивых штаммов данной бактерии характеризуется возрастанием частоты внутрибольничных инфекций, тяжело поддающихся лечению, таких как метициллинрезистентный золотистый стафилококк (MRSA) — вызывающий сепсис и пневмонии. Метициллинрезистентный стафилококк — любой штамм бактерии золотистого стафилококка, который

устойчив к большой группе антибиотиков — бета-лактамов (пенициллины, цефалоспорины и карбапенемы). В связи с этим данный фермент является новой перспективной мишенью для разработки низкомолекулярных антибактериальных агентов.

Была проведена стыковка соединений **1a** и **1b**, как обладающих хиноксалиновым и спиропирролидиновым фрагментами, не содержащие токсифорных нитрогрупп. Конформации рассчитанных комплексов между исследуемыми соединениями и тирозин-тРНК-лигазой золотистого стафилококка сравнивались по энергии связывания ( $E_{св}$ ) и константе ингибирования  $K_i$  фермента, оценивалось также общее количество конформаций одного кластера, среднеквадратичное отклонение (RMSD) положения лиганда после докинга от его положения в комплексе с белком.

Сравнения полученных результатов докинга показывает достаточно хорошее связывание рассматриваемых спироинденохиноксалинпирролидинов с лигазой золотистого стафилококка. Низкие константы ингибирования данного фермента позволяют сделать предположения об успешности дальнейшего изучения данного ряда соединений в качестве будущих антибактериальных агентов.



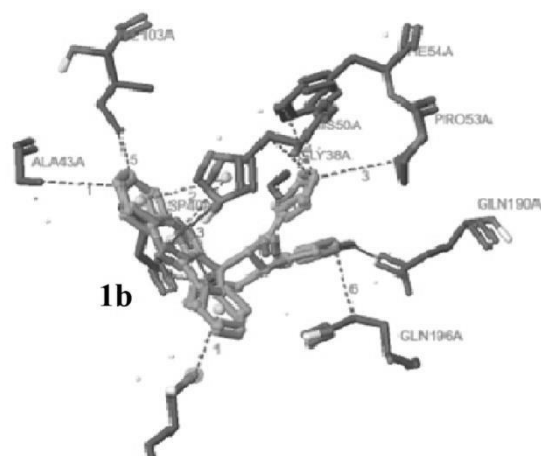
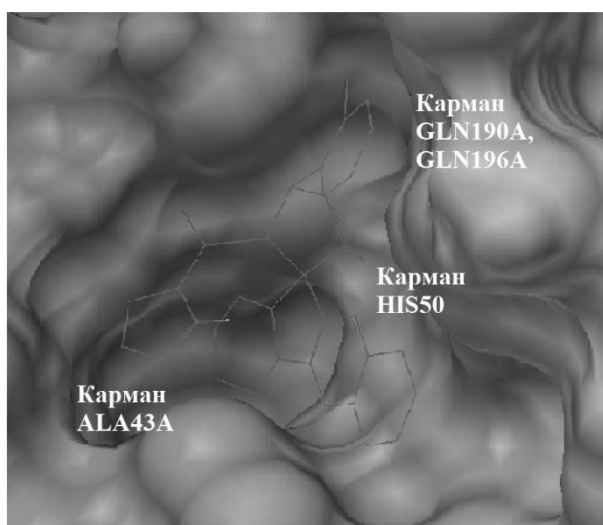
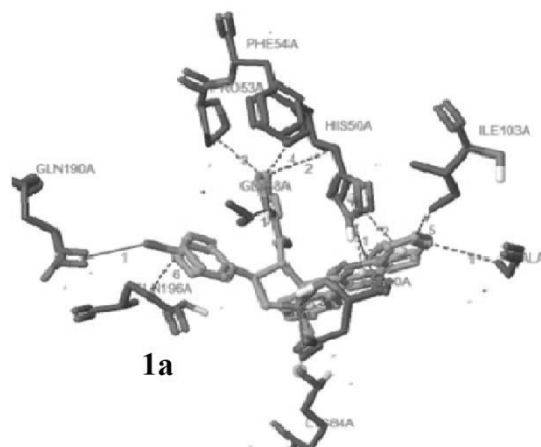
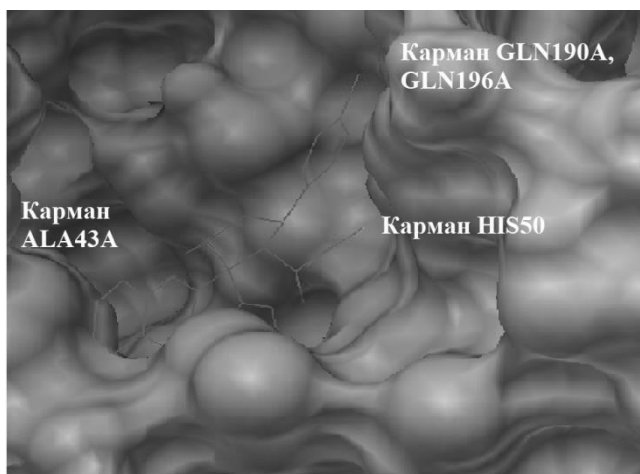


Рисунок 10. Комплекс тирозин-тРНК-лигазы и продуктов с 2-Cl и 4-Cl заместителем в арильном фрагменте (конформация из самого заселённого кластера с наименьшей энергией, визуализация PLIP).

Таблица 10 – Сравнение характеристик комплексов

Соединение	$E_{св}$ , ккал/моль	$K_i$ , нМ	Конечная межмолекулярная энергия, ккал/моль	Общая внутренняя энергия, ккал/моль
1a	-12,22	1,10	-13,12	-2,33
1b	-10,79	12,32	-11,69	-3,32

2-Cl замещенное соединение обладает более слабым характером связывания, из-за невыгодного расположения галогена в арильном заместителе. Это приводит к худшей ориентации в глутаминовом кармане сайта связывания. Кроме того становится затруднительным образование водородных связей хинноксалинового фрагмента в гистидиновом кармане и водородной связи с глицином. Таким образом, изменение характера заместителей может воздействовать на конформацию рассматриваемого спиропирролидина в активном сайте связывания, ухудшая или улучшая степень конечного ингибирования, а соответственно и изменяя эффективность использования соединения в качестве клинического препарата.

### **Заключение**

На основании полученных в ходе работы данных были сделаны следующие выводы:

1. В ходе проделанной работы выяснено, что взаимодействие диполей на основе изатина и пролина, изатина и саркозина, и замещенных бензиденмалононитрилов; диполей на основе инденохиноксалинона и моноенонов приводит к получению спиропирролидинов и спиропирролизидинов определенного региоизомерного строения.
2. Строение полученных региоизомеров зависит как от вида использованного илида, так и от условий проведения синтеза.
3. При использовании саркозинового илида на основе изатина получены региоизомеры единственного строения.
4. Пролиновый илид на основе изатина дает смесь различных изомеров, что объясняется затруднениями в пространственной ориентации илида и дипольнофила, а также различными температурными условиями, влияющими на устойчивость форм илида.
5. При использовании саркозинового илида на основе инденохиноксалинона получены региоизомеры преимущественного единственного строения,

однако в ряде случаев сильных зарядовых взаимодействий возможно образование смеси изомеров.

6. Найдены условия синтеза замещённых спиропирролидинов и спиропирролидинов на основе реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов различного строения.
7. Выполнено доказательство состава и строения полученных соединений с помощью физико-химических методов ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC, HMBC, NOESY-2D.
8. С помощью молекулярного докинга проанализирована возможность использования некоторых соединений как биологически активных субстратов.

**Основное содержание выпускной квалификационной работы изложено в следующих публикациях:**

По материалам исследований опубликованы следующие работы:

1. Борисова С.В., Кочуков А.С., Сорокин В.В. Особенности синтеза новых спироциклических структур с использованием 11h-индено [1,2-b]хиноксалин-11-онов // Проблемы и достижения химии кислород- и азот-содержащих биологически активных соединений. Сборник тезисов VI Всероссийской молодежной конференции. – Уфа, 2022. С. 13.

2. Мещерякова А.А., Борисова С.В., Абдуллаева С.Ч., Кочуков А.С., Неумоина К.С., Ивонин М.А., Сорокин В.В. Синтез конденсированных соединений ряда хроменопиразола, хроменопиридопиримидина, пиридопиримидина // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств. Сборник трудов 8-й международной научно-методической конференции. Под общей редакцией А.С. Беленовой, А.А. Гудковой. – Воронеж, 2022. С. 353-356.

3. Борисова С.В., Абдулаева С.Ч., Кочуков А.С., Сорокин В.В. Илиденмалононитрилы в трёхкомпонентном синтезе новых гетероциклических систем // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии. Межвузовский сборник научных трудов. – Саратов, 2021. С. 57-58.