

На правах рукописи



Хорошунова Юлия Владиславовна

**СИНТЕЗ И РЕАКЦИИ НИТРОКСИЛЬНЫХ РАДИКАЛОВ
ПИРРОЛИДИНОВОГО РЯДА СО
СПИРО-(2-ГИДРОКСИМЕТИЛ)ЦИКЛОПЕНТАНОВЫМИ
ФРАГМЕНТАМИ В БЛИЖАЙШЕМ ОКРУЖЕНИИ
РАДИКАЛЬНОГО ЦЕНТРА**

1.4.3. Органическая химия

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Новосибирск – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)

Научный руководитель:

Кириллюк Игорь Анатольевич

кандидат химических наук, доцент,
заведующий лабораторией азотистых
соединений, ФГБУН Новосибирский
институт органической химии им. Н.Н.
Ворожцова СО РАН, г. Новосибирск

Официальные оппоненты:

Постников Павел Сергеевич

доктор химических наук, профессор
исследовательской школы химических и
биомедицинских технологий ФГАОУ ВО
Национальный Исследовательский
Томский Политехнический Университет, г.
Томск

Толстикова Святослав Евгеньевич

кандидат химических наук, старший
научный сотрудник лаборатории
многоспиновых координационных
соединений, ФГБУН Институт
«Международный томографический
центр» СО РАН, г. Новосибирск

Ведущая организация:

ФГБУН Иркутский институт химии им.
А.Е. Фаворского Сибирского отделения
Российской академии наук (ИрИХ СО
РАН), г. Иркутск

Защита состоится «06» октября 2023 года в 11:30 на заседании диссертационного совета 24.1.192.01, созданного на базе НИОХ СО РАН по адресу: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, пр. Акад. Лаврентьева, 9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИОХ СО РАН и на сайте: <http://web.nioch.nsc.ru>. Текст автореферата размещён на сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации по адресу: <https://vak.minobrnauki.gov.ru/main>.

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах, заверенные печатью, просим отправлять по адресу: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д. 9, Новосибирский институт органической химии, учёному секретарю диссертационного совета 24.1.192.01; e-mail: dissovet@nioch.nsc.ru.

Автореферат разослан «21» августа 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор химических наук

 Лузина Ольга
Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Одним из современных подходов к исследованию пространственной структуры биомакромолекул (белков, нуклеиновых кислот, их комплексов), а также к изучению их динамики является метод спиновых меток в сочетании со спектроскопией электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Суть данного подхода состоит в следующем: к исследуемой биомолекуле адресно присоединяется одна или несколько спиновых меток – молекул, несущих неспаренный электрон, а также функциональную группу, обеспечивающую ковалентное связывание. Затем с помощью различных методик ЭПР определяются такие параметры, как подвижность спиновой метки в биомолекуле, полярность и вязкость ее микроокружения, а также набор расстояний и/или углов между метками, исходя из которых методами молекулярной механики определяется пространственное строение макромолекулы. Самое широкое распространение получили спиновые метки на основе органических нитроксильных радикалов.

Для получения информации о структуре биомакромолекул применяются несколько методов импульсного ЭПР, причём их возможности постоянно расширяются. Наибольшей популярностью в структурной биологии к настоящему моменту пользуется импульсная технология PELDOR (DEER, импульсный двойной электрон-электронный резонанс), применяемая для измерения расстояний между фрагментами биомолекул путём селективного введения нескольких (двух и более) спиновых меток (SDSL – site-directed spin labeling) и последующего попарного исследования их спин-спинового взаимодействия. Благодаря получаемой с помощью метода SDSL-PELDOR информации становится возможным изучение фолдинга белков и конформационных перестроек биомолекул, происходящих при их взаимодействии с другими молекулами или клеточными структурами. Однако большинство подобных исследований проводится в модельных системах, где структура и функции белка могут существенно отличаться от таковых в естественном окружении внутри живой клетки. Проведение же исследований *in cell* накладывает на спиновые метки жёсткие ограничения: используемые в качестве спиновых меток нитроксильные радикалы должны обладать высокой устойчивостью к восстановлению и высокими временами спиновой релаксации.

Требование устойчивости спиновых меток к восстановлению проистекает из способности нитроксильных радикалов под действием биогенных восстановителей и антиоксидантных систем клеток восстанавливаться в диамагнитные гидроксилamines, и, как следствие, терять свои функциональные свойства. А гибель даже одной из пары взаимодействующих спиновых меток приводит к невозможности измерений PELDOR. Устойчивость нитроксильных радикалов к восстановлению резко повышается при введении нескольких объёмных (больших, чем метил) заместителей в окружение нитроксильной группы. На сегодняшний день наибольшую устойчивость к восстановлению в модельных и живых системах демонстрируют пространственно затруднённые нитроксильные радикалы пирролидинового ряда с четырьмя этильными фрагментами при парамагнитном центре. Их устойчивость достаточно высока для применения внутри живой клетки, однако релаксационные характеристики далеки от оптимальных.

Измерения PELDOR обычно проводят при ультранизких температурах (50-60 K), поскольку при температуре выше 60 K скорость спиновой релаксации большинства нитроксильных спиновых меток резко увеличивается, что снижает отношение сигнал-

шум и понижает предел измеряемых расстояний (в оптимальных условиях 20-80 Å). Введение спироциклических заместителей в α -положение к радикальному центру позволяет изменить температурную зависимость времён спиновой релаксации и, таким образом, проводить измерения расстояний при температуре жидкого азота или даже близкой к комнатной, но в плане устойчивости к восстановлению спироциклические нитроксиды на порядки уступают своим тетраэтильными аналогам. Поэтому поиск структур, которые могли бы одновременно сочетать в себе высокие времена спиновой релаксации и устойчивость к восстановлению, представляется достойной и крайне актуальной задачей.

Степень разработанности темы. К настоящему моменту в литературе описан ряд примеров как высоко устойчивых к восстановлению нитроксильных радикалов, так и радикалов, обладающих повышенными временами спиновой релаксации. Наряду с ними не оставляются попытки получения нитроксидов, сочетающих обе данные характеристики в одной структуре. Так недавно появилась работа, в которой авторы пытаются влиять на конформацию циклогексановых колец в спироциклическом нитроксильном радикале пиперидинового ряда путём введения метильных групп в положения 3 и 5 гетероцикла. В результате полученное понижение константы скорости восстановления аскорбатом даже менее, чем на порядок, уже подаётся как важное достижение в этом направлении. Между тем, в Лаборатории азотистых соединений НИОХ СО РАН был предложен подход к синтезу нитроксильных радикалов со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами, находящимися в α -положении к группе N-O•, через внутримолекулярную реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения алкенилнитронов с последующим раскрытием изоксазолидинового цикла и окислением. Гидроксиметильная группа получаемых радикалов ориентирована строго в сторону парамагнитного центра, что диктуется стереохимией процессов 1,3-диполярного циклоприсоединения. В итоге пирролидиновые радикалы с двумя такими спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами, экранирующими нитроксильную группу, показывают высокую устойчивость к восстановлению. А благодаря наличию спироциклических заместителей и их релаксационные параметры являются оптимальными. Таким образом, именно подобные структуры могут служить прототипом для получения на их основе спиновых меток, подходящих для измерений PELDOR. Но до настоящего момента способов функционализации данных объектов разработано не было.

Цель работы – разработка подходов к синтезу спиновых меток, сочетающих высокую устойчивость к восстановлению с высокими временами спиновой релаксации и пригодных для исследований в живых системах методом PELDOR.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

1) Разработка методов синтеза нитроксильных радикалов со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановым(и) фрагментом(ами).

2) Исследование реакций полученных радикалов по гидроксигруппе с целью получения функциональных производных, в том числе, спиновых меток:

- Исследование реакций активации ОН-группы радикалов со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами (а также их предшественников) к нуклеофильному замещению;

- Исследование реакций окисления CH_2OH -группы нитроксильных радикалов со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами (а также их предшественников) в карбоксильную;

- Исследование реакций ацилирования и алкилирования OH -группы радикалов со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

Найден удобный, эффективный и легко масштабируемый способ синтеза 1,8-бис[гидроксиметил]-6-азадиспиро[4.1.4.2]тридекан-6-оксила, стартовыми соединениями для которого служат 4-хлорбутирилхлорид и пент-4-ен-1-илмагнийбромид.

Впервые изучены превращения нитроксильных радикалов со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановым фрагментом и их предшественников – аминов, алкоксиаминов, ацилоксиаминов – в условиях активации гидроксигруппы к реакциям нуклеофильного замещения (через реакцию Апделя и мезилирование). Показано, что во всех случаях вместо продуктов замещения гидроксигруппы происходит внутримолекулярное алкилирование, которое может сопровождаться перегруппировкой. Так в случае *N*-незамещённых производных происходит внутримолекулярное алкилирование по атому азота с образованием четырёхчленного цикла; в случае *N*-алкокси- и *N*-ацилоксипроизводных – за внутримолекулярным алкилированием по атому азота следует перегруппировка с образованием изомерных октагидроциклопента[с]азепинов; в случае *N*-оксила – восстановление радикала с последующим алкилированием по атому кислорода. Предложены возможные механизмы образования в данном процессе производных азепана и 3,3-диметилгексагидро-1*H*,6*H*-циклопента[с]пирроло[1,2-*b*]изоксазола. На примере последовательности превращений «внутримолекулярное алкилирование в 2,2-диметил-6-гидроксиметил-1-азаспиро[4.4]нонane по атому азота – *N*-метилирование – Гофмановское расщепление четвертичной аммониевой соли» продемонстрирован *новый* способ получения производных азепана.

Впервые изучено окисление нитроксильных радикалов и их предшественников (аминов, алкоксиаминов) со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами по гидроксиметильной группе, и получены соответствующие производные, содержащие сложноэфирную, карбоксильную, амидную группы. Обнаружено, что нитроксильные радикалы, содержащие спиро-(2-метоксикарбонил)циклопентановые фрагменты в α -положении к группе $\text{N-O}^\bullet$ склонны к изменению конфигурации метиновых асимметрических центров.

Показано, что функционализация нитроксильных радикалов со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами возможна через ацилирование и алкилирование гидроксиметильных групп. С использованием этих реакций *впервые* получены спиновые метки, сочетающие высокую устойчивость к восстановлению с высокими временами спиновой релаксации.

Обнаружено *новое* превращение, которое сопровождает окисление вторичных аминов, содержащих спиро-(2-ацетилгидроксиметил)циклопентановые фрагменты в α -положении к группе $\text{N-O}^\bullet$, в соответствующие нитроксильные радикалы под действием *m*-хлорнадбензойной кислоты и приводит к образованию двойной связи в спироциклопентановом кольце; предложен возможный механизм данного превращения.

Методология и методы исследования. Работа выполнена с применением современных методов органического синтеза, включающих реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения алкенилнитронов, присоединения металлоорганических соединений, ацилирования, алкилирования, нуклеофильного замещения, медь(I)-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения, различных процессов окисления и восстановления, а также широкого использования методологии введения и удаления защитных групп. Выделение и очистка синтезированных соединений производились методами колоночной, тонкослойной или препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии, вакуумной перегонки, экстракции, перекристаллизации. Установление структуры и чистоты полученных соединений осуществлялось с использованием следующих физико-химических методов исследования: ИК-, УФ-, ЯМР-спектроскопии, в том числе, и двумерной спектроскопии ЯМР; масс-спектрометрии высокого разрешения; рентгеноструктурного анализа; элементного анализа.

Положения, выносимые на защиту.

- 1) Способ синтеза нового высоко устойчивого спироциклического нитроксильного радикала ряда пирролидина.
- 2) Особенности реакционной способности производных пирролидина со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами в положении 2 гетероцикла при окислении и при активации ОН-группы к нуклеофильному замещению.
- 3) Методы получения нитроксильных радикалов пирролидинового ряда со спиро-(2-карбоксии)циклопентановыми фрагментами в α -положении к нитроксильной группе.
- 4) Способы получения спиновых меток ряда 6-азадиспиро[4.1.4.2]тридекан-6-оксила, сочетающих высокую устойчивость к восстановлению с высокими временами спиновой релаксации.

Степень достоверности и апробация работы. В ходе выполнения настоящего исследования было синтезировано 68 ранее не описанных соединений. Достоверность изложенных в работе результатов обеспечена использованием современных физико-химических методов исследования структур, тщательностью проведения экспериментов и их воспроизводимостью. Строение и чистота впервые полученных соединений, обсуждаемых в диссертационной работе, подтверждены данными ^1H и ^{13}C спектроскопии ЯМР (в отдельных случаях и данными двумерных ^1H - ^1H и ^1H - ^{13}C -корреляций), масс-спектрометрии высокого разрешения, УФ- и ИК-спектроскопии, элементного анализа, температур плавления, в некоторых случаях данными рентгеноструктурного анализа.

По материалам диссертации опубликованы 3 статьи в международных научных журналах, индексируемых системами Web of Science и Scopus и входящих в список ВАК, и 18 тезисов докладов на российских и международных конференциях.

Структура диссертации. Работа изложена на 238 страницах машинописного текста, содержит 151 схему, 38 рисунков, 2 таблицы. Работа состоит из списка используемых сокращений, введения, обзора литературных данных, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы (228 литературных источников) и приложения.

Личный вклад соискателя. Вся экспериментальная работа по синтезу, выделению, очистке полученных соединений, а также по анализу и интерпретации данных физико-химических исследований выполнены автором лично. Автором был проведён анализ и обобщение литературных данных по тематике исследования, внесён основной вклад в

формирование общего направления работы и постановку конкретных целей и задач исследования. При непосредственном участии автора осуществлялась подготовка научных публикаций по теме работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснована актуальность темы диссертационного исследования, сформулированы цель и задачи работы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, сформулированы положения, выносимые на защиту. **Первая глава** (литературный обзор) посвящена рассмотрению превращений гидроксиметильной группы 1,3-аминоспиртов на фоне вторичной amino-группы: 1) окислению в альдегидную и карбоксильную и 2) процессам активации OH-группы к нуклеофильному замещению. **Вторая глава** состоит из двух разделов: первый представляет собой обзор литературных данных по использованию внутримолекулярной реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения 2-алкенилнитронов в синтезе нитроксильных радикалов; второй (обсуждение результатов) посвящён синтезу нитроксильных радикалов пирролидинового ряда с одним или двумя спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами через внутримолекулярную реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения 2-(пент-4-ен-1-ил)нитронов. **Третья глава** (обсуждение результатов) посвящена исследованию реакций активации OH-группы синтезированных радикалов (а также их предшественников) к нуклеофильному замещению; **четвёртая глава** (обсуждение результатов) – исследованию реакций окисления CH₂OH-группы нитроксильных радикалов (а также их предшественников) в карбоксильную, **пятая глава** (обсуждение результатов) – синтезу через реакции ацилирования и алкилирования OH-групп радикалов спиновых меток, а также изучению их устойчивости к восстановлению и релаксационных характеристик. В **шестой главе** (экспериментальная часть) излагаются методики синтеза новых соединений. Выходы соединений, данные ЯМР-, ИК-, УФ-, масс-спектров, элементного анализа и температуры плавления вынесены в приложение.

Нитроксильные радикалы представляют большой интерес в качестве спиновых меток для решения задач структурной биологии, в том числе, и для проведения исследований *in cell*. Для этих целей нитроксильные радикалы должны обладать высокой устойчивостью к восстановлению и высокими временами спиновой релаксации. При переходе от обычно используемых тетраметильных к тетраэтильным нитроксильным радикалам устойчивость их резко возрастает, однако времена релаксации остаются невысокими. Переход к спироциклическим радикалам приводит к росту времён спиновой релаксации, однако по устойчивости они проигрывают тетраэтильным аналогам. Нитроксильные же радикалы с двумя спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами могут сочетать в себе оба преимущества.

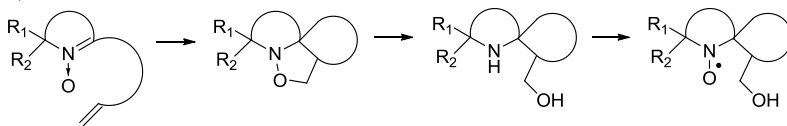


Схема 1

В Лаборатории азотистых соединений НИОХ СО РАН был предложен подход к синтезу таких структур, заключающийся во внутримолекулярной реакции

1,3-диполярного циклоприсоединения алкенилнитронов с последующим раскрытием изоксазолидинового цикла и окислением (*Схема 1*). Получаемые радикалы содержат гидроксиметильную группу, функционализация которой может позволить синтезировать на их основе спиновые метки.

1. Синтез нитроксильных радикалов со спиро-(2-гидроксиметил) цикlopentановыми фрагментами через внутримолекулярную реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения 2-(пент-4-ен-1-ил)нитронов

Предложенный подход построения спироциклического фрагмента через внутримолекулярную реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения алкенилнитронов сначала был отработан на производных пирролин-1-оксида **1a-c**, различающихся заместителями в положении 5 гетероцикла (*Схема 2*). Присоединение пент-4-ен-1-илмагнийбромид к альдонитронам **1a-c** привело к гидроксилатам **2a-c**, которые без выделения были окислены в соответствующие кетонитроны **3a-c** каталитической системой кислород воздуха/аммиакат двухвалентной меди. Нагревание полученных алкенилнитронов в условиях микроволнового излучения привело к циклоаддуктам **4a-c**, изоксазолидиновый цикл которых затем был раскрыт системой цинк/уксусная кислота с получением аминоспиртов **5a-c**. Чтобы избежать образования смеси разнообразных продуктов окисления и сохранить OH-группу в целевых нитроксильных радикалах, провели её защиту ацилированием уксусным ангидридом, получив ацилированные производные **6a-c**. Их окисление *m*-хлорнадбензойной кислотой (MCPBA) позволило получить соответствующие нитроксильные радикалы **7a-c**. Выдерживание последних в водно-метанольном растворе аммиака привело к нитроксильным радикалам **8a-c**.

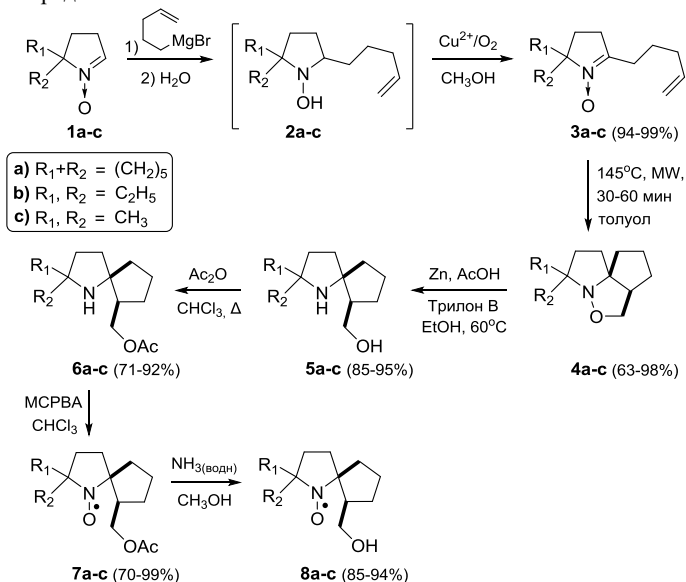


Схема 2

Подход, основанный на внутримолекулярной реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения алкенилнитронов, применённый дважды, может быть использован и для синтеза нитроксильного радикала с двумя спироциклическими фрагментами в α -положениях к группе N-O•.

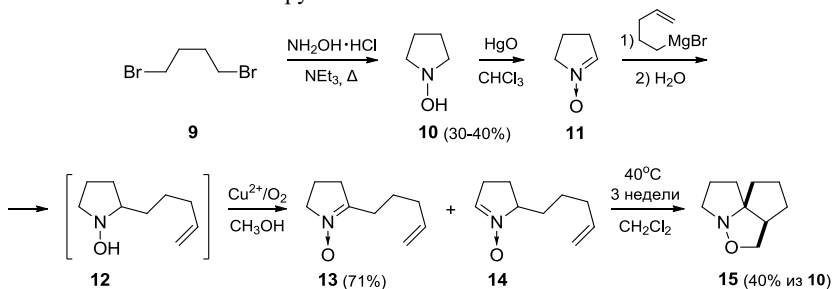


Схема 3

Так из 1,4-дибромбутана **9** и незамещённого гидросиламина (Схема 3) был получен гидросиламин **10**, который далее окисляли жёлтым оксидом ртути в альдонитрон **11**. Присоединение пентенилмагнийбромида, гидролиз и окисление привели к смеси изомерных кето- и альдонитронов **13** и **14** в соотношении 6:1. Однако из-за трудности разделения изомеров в реакцию внутримолекулярного 1,3-диполярного циклоприсоединения приходилось вводить смесь. Процесс сопровождался сильным осмолением реакционной массы, что затрудняло как выделение циклоаддукта **15**, так и проведение следующей стадии без его выделения.

Поэтому целесообразным представлялся поиск другого способа получения изоксазолидина **15**. Анализ литературы позволил обнаружить работу, в которой его получали, исходя из 4-хлорбутирилхлорида **16**. С небольшими изменениями эта методика была воспроизведена. Так путём присоединения пентенилмагнийбромида в присутствии бромида меди (I) при -78°C нами был получен кетон **17**. Последующая реакция образовавшегося кетона с незамещённым гидросиламином, внутримолекулярными циклизацией и циклоприсоединением привели к требуемому циклоаддукту **15** чисто и с высоким выходом (Схема 4).

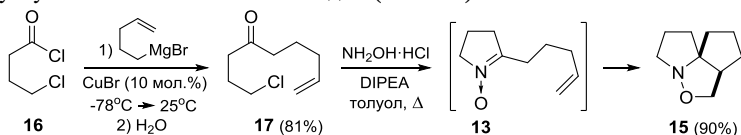
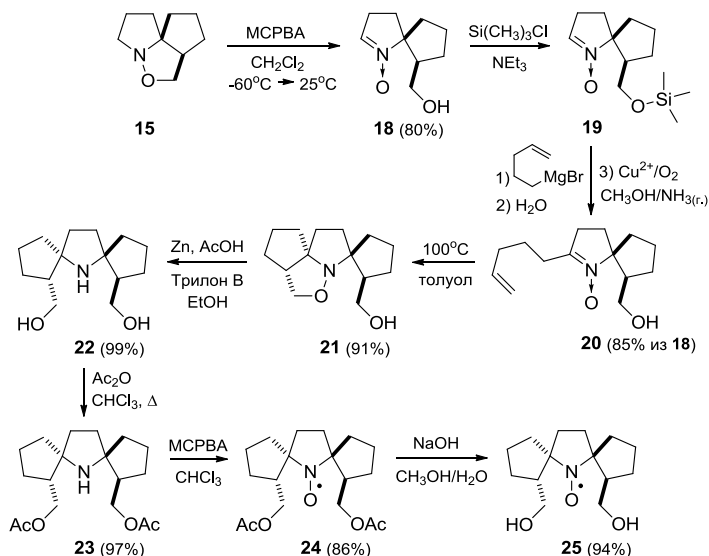


Схема 4

Раскрытие изоксазолидинового цикла соединения **15** проводили окислительным способом под действием МСРВА (Схема 5). Для построения второго спиро-(2-гидроксиметил)циклопентанового фрагмента ОН-группу нитрона **18** защищали силилированием, присоединяли реактив Гриньяра с получением после окисления алкенилнитрона **20**, который затем вводили во внутримолекулярную реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения с последующим восстановительным раскрытием изоксазолидинового цикла. Образовавшийся аминспирт **22** окисляли в нитроксильный радикал **25**, предварительно защищая ОН-группы ацилированием, аналогично описанному ранее (см. Схему 2).



Усовершенствованная схема синтеза диспироциклического нитроксильного радикала **25**, исходя из коммерчески доступных 4-хлорбутилхлорида **16** и 5-бромпент-1-ена, позволила получить его с суммарным выходом 35%.

Из данных PCA для аминоспирта **22** и радикалов **24-25**, следует, что при циклоприсоединении алкенилнитрона **20** подход двойной связи к нитронной группе осуществляется со стороны, противоположной уже имеющемуся в молекуле CH_2OH -фрагменту. В результате амины **22-23** и радикалы **24-25** имеют *транс*-расположение функциональных групп относительно плоскости пирролидинового кольца (Рисунок 1).

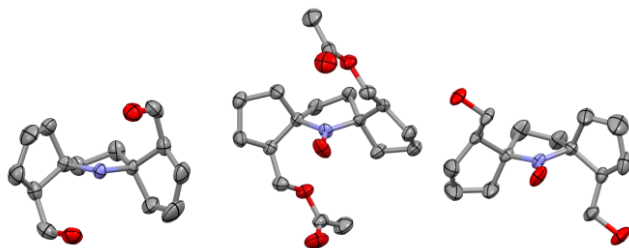


Рисунок 1. Структура соединений **22**, **24** и **25** по данным PCA

Интересно отметить, что при окислении аминов **6с** и **23** под действием MCPBA наряду с ожидаемым образованием нитроксильных радикалов **7с** и **24** наблюдалось образование дополнительных продуктов – нитроксильных радикалов **26** и **27**, содержащих двойную $\text{C}=\text{C}$ связь в спироциклическом фрагменте (Схема 6):

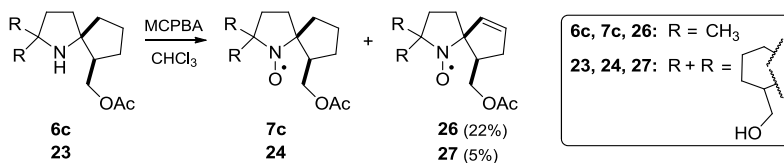


Схема 6

Предполагаемый механизм такого впервые обнаруженного нами превращения представлен на схеме ниже (Схема 7):

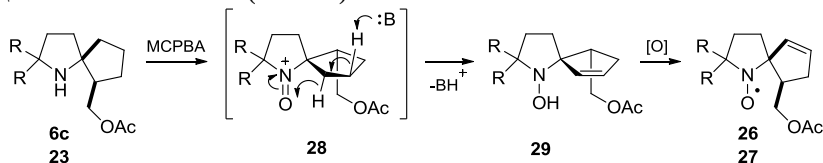


Схема 7

Нитроксильный радикал **25** является весьма перспективными для определения расстояний в биомолекулах методом SDSL-PELDOR. Для этого необходимо функционализировать ОН-группу(ы) вблизи парамагнитного центра, превратив тем самым полученный радикал в спиновую метку.

Следующие разделы работы посвящены разработке подходов к получению спиновых меток на основе радикалов со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами. В качестве модельного соединения в ряде случаев был использован нитроксид **8с**.

2. Функционализация спиро-(2-гидроксиметил)циклопентанового фрагмента через активацию гидроксиметильной группы к нуклеофильному замещению

Одно из возможных направлений функционализации полученных радикалов – это активация ОН-группы с последующим нуклеофильным замещением. Однако введение модельного нитроксильного радикала **8с** как в процесс метилирования, так и в условия реакции Апделя неожиданно привели к изоксазолидину **4с** (Схема 8). По-видимому, такой результат связан с близким пространственным расположением гидроксиметильной и нитроксильной групп.

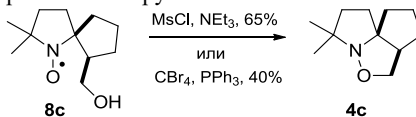


Схема 8

Для предотвращения при активации ОН-группы в радикале **8с** внутримолекулярного процесса с участием атома кислорода нитроксильной группы последнюю можно защитить через образование алкоксиамина. Так нами был получен бензильный алкоксиамин **30**, который далее был введён в реакцию с мезилхлоридом в присутствии основания. Продуктами реакции оказались четыре соединения – уже известный изоксазолидин **4с** и новые производные азепана **31**, **32** и **33**, но вновь не ожидаемый мезитат (Схема 9):

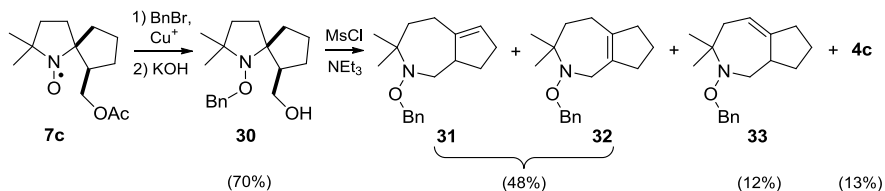


Схема 9

Тогда мы предположили, что если фрагмент N-O бензилоксиамина так склонен к внутримолекулярному алкилированию, то заменив бензил на более акцепторный бензоил, удастся этот процесс уменьшить или избежать его. Соответствующее бензоильное производное **34** было получено, а затем введено в условия реакции Аппеля. И вновь вместо ожидаемого бромида была получена смесь соединений – изомерные производные азепана **35** и **36** и нитрокислый радикал **37** (Схема 10).

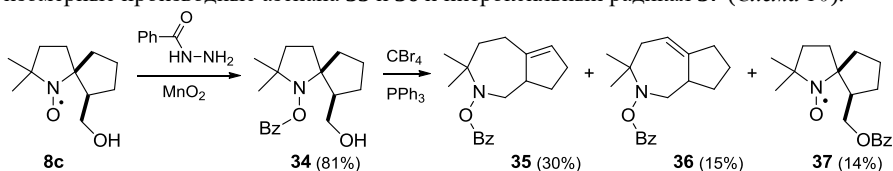


Схема 10

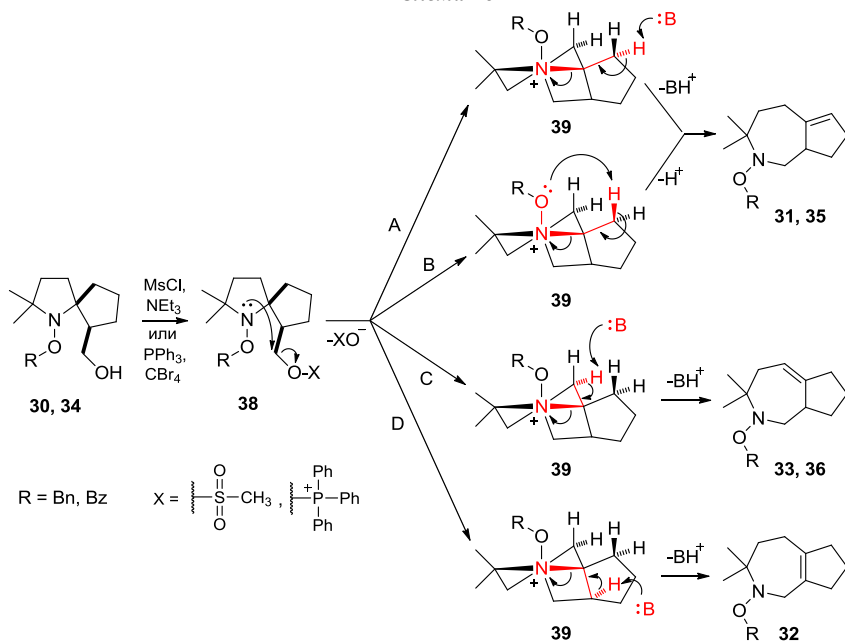


Схема 11

Предполагаемый механизм образования изомерных азепановых производных (Схема 11) включает внутримолекулярное алкилирование по алкокси- или

ацилоксиаминовому атому азота соединения **38** с образованием *N*-бензил- или *N*-бензоилоксиаммониевой соли **39** и последующее элиминирование типа Гофмана (путь А, С, D). Но нельзя исключать и возможный вклад элиминирования типа Коупа (путь В), которое протекает через 5-членное переходное состояние с координацией алкокси- или ацилоксиаммониевого атома кислорода соли **39** с наиболее близко расположенным атомом водорода (атомы водорода метиленовой группы цикlopentanового кольца, расстояние ~2,5 Å).

В процесс активации ОН-группы было введено и *N*-незамещённое производное: амин **5с**. В этих условиях он даёт продукт внутримолекулярного алкилирования по атому азота – азетидин **40**, строение которого подтверждено в виде соли с HBr методом PCA (Рисунок 2). Полученный амин **40** затем ввели в реакцию с избытком метилйодида с образованием четвертичной аммониевой соли **41**. Последующая её обработка влажным оксидом серебра и нагревание четвертичного аммониевого основания с высоким выходом привели к производному азапана **42** в качестве единственного изомера (Схема 12):

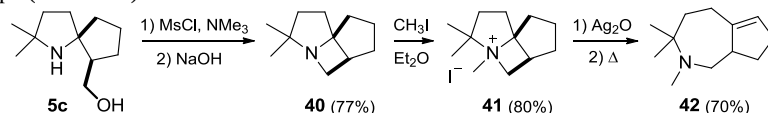


Схема 12

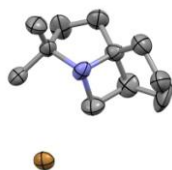


Рисунок 2. Структура соединения **40**·HBr по данным PCA

Соединения **21** и **22** имеют аналогичный спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановый фрагмент, поэтому небезынтесным было бы изучить и их поведение в условиях активации гидроксигруппы. При введении в условия реакции Аппеля соединения **21** была выделена алкоксиаммониевая соль **43**. Активация же к замещению обеих ОН-групп в соединении **22** привела к симметричной крайне напряжённой четвертичной аммониевой соли **44** (Схема 13, Рисунок 3).

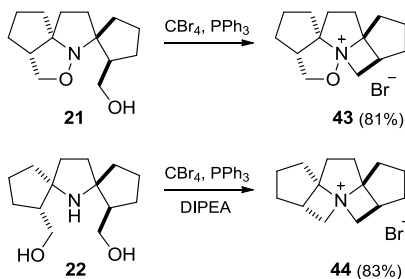


Схема 13

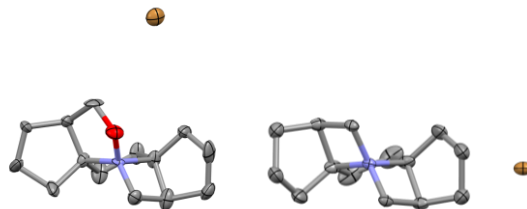


Рисунок 3. Структура соединений **43** и **44** по данным РСА

Таким образом, нами было показано, что к производным пирролидина со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами в α -положениях к атому азота методика функционализации через активацию гидрокси-группы к нуклеофильному замещению неприменима: из-за близкого пространственного расположения CH_2OH -фрагмента и функциональной группы гетероциклического кольца активация OH -группы приводит к внутримолекулярному алкилированию с возможными последующими перегруппировками, соответственно, столь привлекательная спироциклическая структура молекул не сохраняется.

3. Функционализация спиро-(2-гидроксиметил)циклопентанового фрагмента через окисление в карбоксильную группу

Другим возможным направлением функционализации полученных спироциклических радикалов может быть окислительный путь. Однако попытки окисления гидроксиметильного фрагмента в карбоксильный непосредственно на нитроксильном радикале **8a** с помощью оксоаммониевой соли TEMPO и хлорита натрия привели к быстрому осмолению реакционной массы.

Выходом могла бы стать временная защита радикального центра. Так из нитроксильного радикала **24** был получен бензильный алкоксиамин **45**. Продукт **45**, а также ранее полученное соединение **30** были окислены системой оксоаммониевая соль TEMPO/хлорит натрия с получением соответствующих кислот **46** и **47** (Схема 14), строение которых подтверждено, в том числе, и с помощью РСА (Рисунок 4).

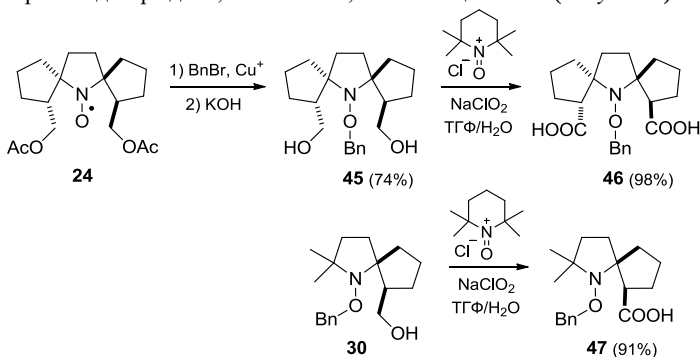


Схема 14

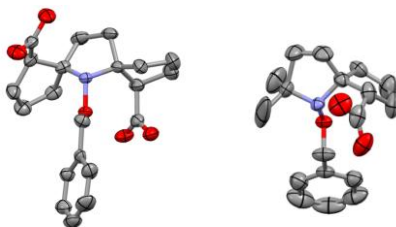


Рисунок 4. Структура соединений **46** и **47** по данным РСА

Для снятия бензильной защиты кислоту **46** ввели в реакцию каталитического гидрирования. Однако продуктом оказался не ожидаемый гидросиламин, а аминокислота **48**. Дальнейшее восстановление, вероятно, связано с влиянием двух соседних карбоксильных групп, так как известно, что в кислой среде процесс гидрогенолиза облегчается. Тогда из кислоты **46** реакцией с диазометаном был получен сложный эфир **49**, который также ввели в реакцию гидрирования. В этом случае продуктами реакции стали три соединения: **50**, **51** и **48** (Схема 15):

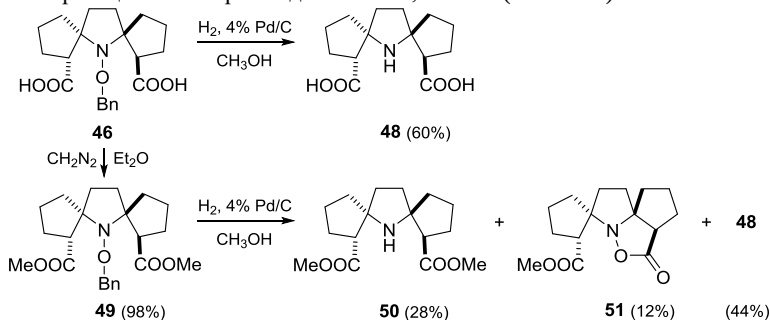


Схема 15

В отличие от алкоксиамина **46** с алкоксиамина **47** удалось снять бензильную защиту без разрыва связи N-O, однако последующее окисление привело к двум нитроксильным радикалам **53a-b** (Схема 16), которые, согласно данным ЯМР после восстановления смеси, оказались диастереомерами. Структура основного изомера была установлена методом РСА.

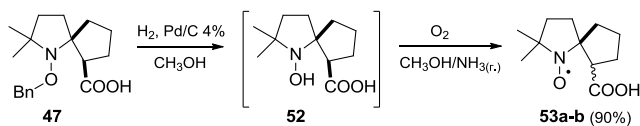


Схема 16

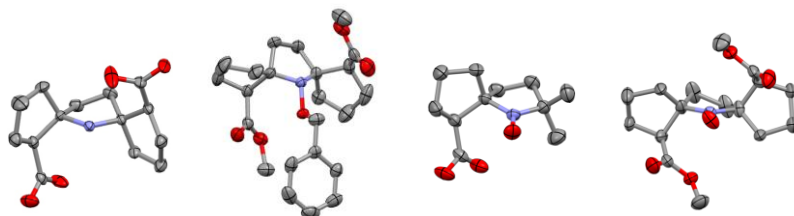


Рисунок 5. Структура соединений **48**, **49**, **53a** и **55** по данным РСА

Нитрокислые радикалы с карбоксильной группой можно получить и из другого предшественника – из аминокислот. Так аминокислоты **22** и **5с** были окислены по Джонсу в соответствующие аминокислоты, которые после этерификации привели к сложным эфирам **50** и **54**. Последние под действием MCPBA были окислены в нитрокислые радикалы **55** и **56**, соответственно (Схема 17):

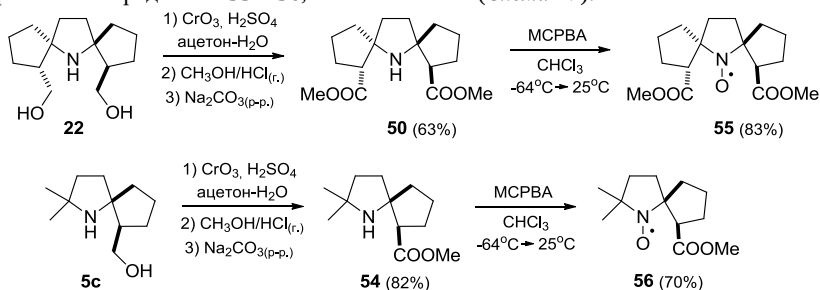


Схема 17

Однако щелочной гидролиз эфиров **55** и **56** привёл к смеси трёх изомерных кислот **57a-c** (выход смеси 42%, **57a:57b:57c** ≈ 1:2:1) в одном случае и двух – **53a-b** (выход смеси 72%, **53a:53b** ≈ 1:1) – в другом (Схема 18).

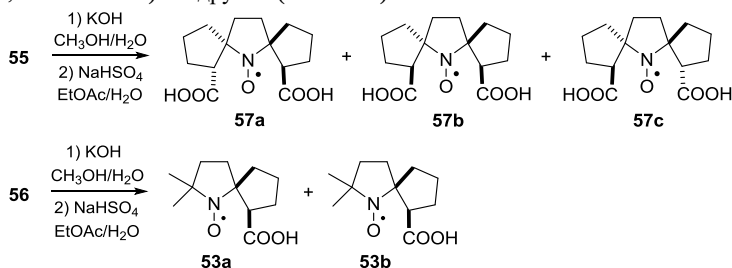


Схема 18

Изменение конфигурации метиновых протонов сложных эфиров **55** и **56** есть следствие их высокой СН-кислотности, которая, вероятнее всего, связана с сильным акцепторным влиянием близко расположенной нитрокислой группы. Изомеризация приводит к потере столь привлекательной для нас конфигурации с расположением функциональных групп строго в сторону радикального центра. Для избежания этого мы попробовали восстановить нитрокислый радикал **55** аскорбиновой кислотой в атмосфере аргона в гидроксилмин **58**, провести в инертной атмосфере его щелочной гидролиз, а затем уже окислить. В этом случае реакционная масса также была смесью изомеров **57a-c**, однако содержание одного из изомеров (**57a**) намного превышало содержание двух других (Схема 19):

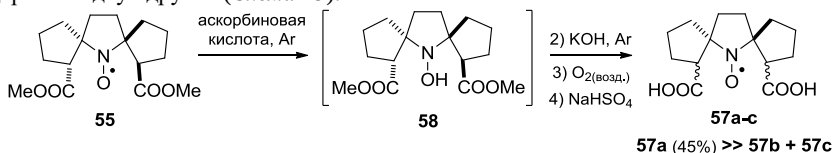


Схема 19

Точный вывод о пространственном расположении в основном изомере функциональных групп удалось сделать благодаря РСА: обе карбоксильные группы направлены в сторону радикального центра (*Рисунок 6*).

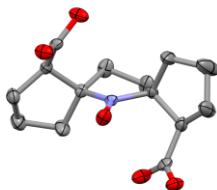


Рисунок 6. Структура соединения **57a** по данным РСА

Подводя промежуточные итоги, можно заключить: несмотря на то, что как монокарбоновую кислоту **53a**, так и дикарбоновую кислоту **57a** с нужной для нас конфигурацией карбоксильных групп удалось получить в чистом виде, синтез на их основе ацилирующих спиновых меток является нерациональным – в них метиновый атом водорода, находящийся в α -положении к активированному карбонильному фрагменту, также будет обладать повышенной СН-кислотностью, что повлечёт изомеризацию меток.

4. Функционализация спиро-(2-гидроксиметил)циклопентанового фрагмента путём выступления его в роли О-нуклеофила

Поскольку получить спиновые метки на основе спироциклических нитроксильных радикалов **8a-c** и **25** не удалось ни через активацию гидроксиметильного фрагмента к нуклеофильному замещению, ни через его окисление, то единственным рациональным вариантом функционализации осталась возможность ввести радикалы со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами в процессы, в которых спиртовые гидроксилы выступали бы в роли О-нуклеофилов: в реакции ацилирования и алкилирования ОН-групп.

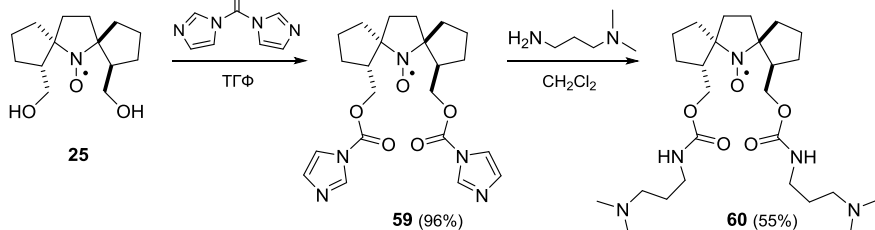


Схема 20

Так при взаимодействии нитроксильного радикала **25** с избытком N,N' -карбонилдимидазола была получена ацилирующая спиновая метка **59** (*Схема 20*), (*Рисунок 7*). Поскольку активированных карбонильных фрагментов в продукте **59** два, то при подходящем образом расположенных первичных amino-группах в биомолекуле пришивка метки может происходить одновременно по обоим. Чтобы продемонстрировать это, спиновую метку **59** ввели в реакцию с избытком модельного

амин (*N,N*-диметилпропан-1,3-диамин), получив симметричное производное **60** (Схема 20).

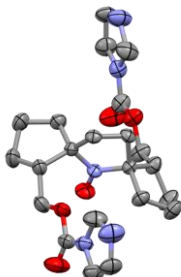


Рисунок 7. Структура соединения **59** по данным РСА

Другая возможность получения ацилирующей спиновой метки – это введение диола **25** в реакцию ацилирования изоцианатом, молекула которого имела бы дополнительную функционализируемую группу. Так при нагревании нитроксильного радикала **25** с избытком метилового эфира 3-изоцианатопропионовой кислоты с количественным выходом был получен нитроксильный радикал **61**. Его щелочной гидролиз с последующим подкислением привёл к дикарбоновой кислоте **62**, которая представляет собой ацилирующую спиновую метку (Схема 21):

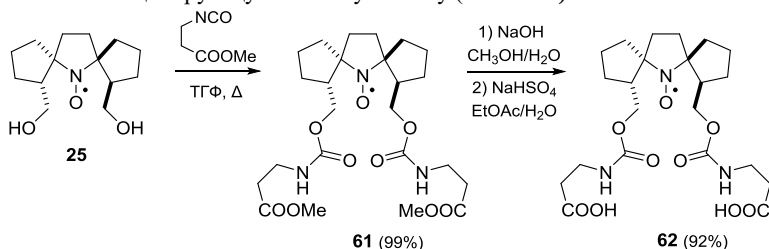


Схема 21

В последнее время всё чаще используют биоортогональные метки, для селективной пришивки которых используются специфичные реакции между функциональными группами, не встречающимися в живых системах. Пример – реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения азидов к алкинам. На основе нитроксильного радикала **25** может быть получена азид-содержащая метка. Для этого радикал **25** был обработан избытком хлорацетилхлорида в присутствии основания, что привело к дихлор-производному **63**. Его кипячение с избытком азидата натрия позволило получить азидную спиновую метку **64** (Схема 22):

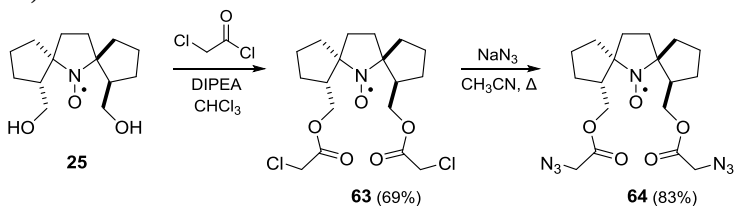
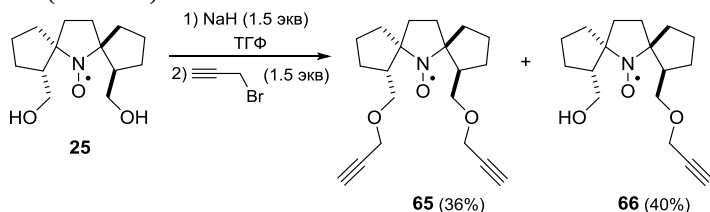
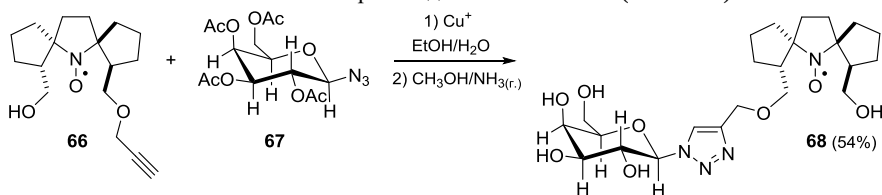


Схема 22

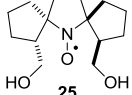
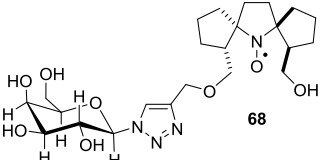
Для введения терминальной ацетиленовой группы нитроксильный радикал **25** металлировали гидридом натрия, а затем алкилировали пропаргилбромидом. Реакция привела к симметричной и несимметричной терминальным ацетиленовым спиновым меткам **65** и **66** (Схема 23):



Несимметричную спиновую метку **66** ввели в реакцию медь(I)-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения с азидным производным галактозы **67**, получив после аммонолиза спин-меченное производное галактозы **68** (Схема 24):



Данный спин-меченный продукт **68**, а также диспироциклический нитроксильный радикал **25** были переданы коллегам из Лаборатории магнитной радиоспектроскопии НИОХ СО РАН для исследования времён спиновой релаксации. Для сравнения также были изучены тетраметильный пирролидиновый нитроксильный радикал **69** и галактозное производное **70**, полученное заведующим Лабораторией азотистых соединений НИОХ СО РАН Кирилюком И.А., также содержащее тетраметильный нитроксид (Таблица 1).

Радикал	80 К		120 К	
	T ₁ , мс (± 0,01)	T _{mp} , мкс (± 0,1)	T ₁ , мс (± 0,01)	T _{mp} , мкс (± 0,1)
 25	0,94	3,0	0,34	2,8
 68	1,01	3,9	0,34	3,9

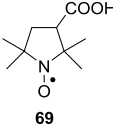
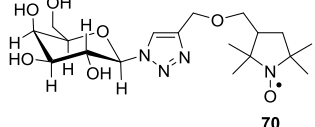
 69	0,51	3,1	0,20	0,9
 70	0,53	3,4	0,22	1,1

Таблица 1. Времена спиновой релаксации T_1 , T_m нитроксильных радикалов **25**, **69** и спин-меченных производных галактозы **68** и **70** в водно-глицериновом растворе (1:1) в концентрациях 0,5 мМ при температурах 80 К и 120 К.

Как следует из данных *Таблицы 1*, времена спиновой релаксации T_1 и T_m спироциклических нитроксильных радикалов **25** и **68** как при 80 К, так и при 120 К гораздо больше соответствующих времён спиновой релаксации тетраметильных производных **69** и **70**, что делает полученные в работе метки перспективными для исследования биомолекул методом PELDOR.

Нитроксильные радикалы **8a-c** и **25** были исследованы коллегами из ИХКиГ СО РАН на устойчивость к восстановлению. Также была изучена кинетика восстановления одной из полученных спиновых меток – ацилирующей метки **62** – и спин-меченной галактозы **68**. Полученные величины констант скоростей их восстановления аскорбатом представлены в таблице (*Таблица 2*):

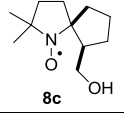
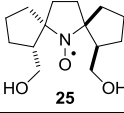
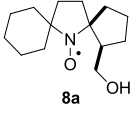
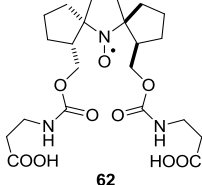
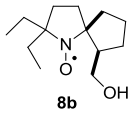
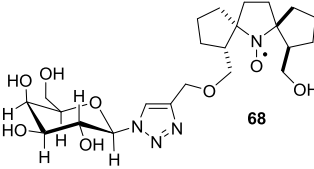
Радикал	$k_{\text{восст.}}, \text{М}^{-1}\text{с}^{-1}$	Радикал	$k_{\text{восст.}}, \text{М}^{-1}\text{с}^{-1}$
 8c	$(7.3 \pm 0.2) \cdot 10^{-2}$	 25	$(3.2 \pm 0.2) \cdot 10^{-3}$
 8a	$(4.6 \pm 0.5) \cdot 10^{-2}$	 62	$(1.40 \pm 0.06) \cdot 10^{-3}$
 8b	$(2.2 \pm 0.4) \cdot 10^{-2}$	 68	$(2.70 \pm 0.06) \cdot 10^{-3}$

Таблица 2. Значения констант скоростей восстановления нитроксильных радикалов аскорбатом.

Как можно видеть из *Таблицы 2*, для радикалов **8а-с** с ростом эффективного объёма заместителей (диметил-спироциклогексил-диэтил) при нитроксильном центре, как этого и следовало ожидать, устойчивость радикалов к восстановлению возрастает, однако не столь существенно. Кроме того, константы скорости восстановления всех этих трёх нитроксидов на порядок больше, чем соответствующие константы радикалов **25**, **62** и **68**. То есть, одна спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановая группа не может обеспечить высокую устойчивость нитроксильного радикала к восстановлению. Устойчивости спиновой метки **62** и спин-меченной галактозы **68** ещё больше устойчивости радикала **25** с двумя спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами, на основе которого они получены, и сравнимы с таковыми значениями тетраэтильных нитроксильных меток, пригодных для исследований в живых системах.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что использование модифицированной литературной методики получения гексагидро-1*H*,6*H*-циклопента[с]пирроло[1,2-*b*]изоксазола из 4-хлорбутирилхлорида позволяет упростить синтез 1,8-бис[гидроксиметил]-6-азадиспиро[4.1.4.2]тридекан-6-оксила и получать его с выходом 35% за 11 стадий из доступного сырья. Показано, что этот спироциклический радикал отличается высокой устойчивостью к восстановлению, превышающей устойчивость всех известных нитроксильных радикалов с двумя спироциклическими фрагментами в окружении радикального центра.

2. Обнаружено, что окисление (2,2-диметил-1-азаспиро[4.4]нонан-6-ил)метилацетата и {6-азадиспиро[4.1.4.2]тридекан-1,8-диил}ди(метилена)диацетата в соответствующие нитроксильные радикалы под действием *m*-хлорнафтохиноновой кислоты может сопровождаться формальным дегидрированием спироциклопентанового фрагмента.

3. Показано, что в условиях активации ОН-группы в 6-гидроксиметил-1-азаспиро[4.4]нонанах для 1-незамещенных производных происходит реакция внутримолекулярного алкилирования по атому азота с образованием четырёхчленного цикла, для 1-алкокси- и 1-ацилоксипроизводных протекает перегруппировка с образованием изомерных октагидроциклопента[с]азепинов, а для 1-оксила происходит восстановление радикала с последующим алкилированием по атому кислорода. В этих же условиях (гексагидро-6'*H*-спиро[циклопентан-1,3'-циклопента[с]пирроло[1,2-*b*]изоксазол]-2-ил)метанол и {6-азадиспиро[4.1.4.2]тридекан-1,8-диил}диметанол претерпевают циклизацию с образованием конденсированных пентациклических систем, содержащих один или два азетидиновых цикла.

4. Обнаружено, что 1,8-бис[метоксикарбонил]-6-азадиспиро[4.1.4.2]тридекан-6-оксил и 6-(метоксикарбонил)-2,2-диметил-1-азаспиро[4.4]нонан-1-оксил, в отличие от их диамагнитных предшественников, легко претерпевают изменение конфигурации асимметрических центров при сложноэфирных группах.

5. Показано, что функционализация нитроксильных радикалов со спиро-(2-гидроксиметил)циклопентановыми фрагментами возможна через ацилирование и алкилирование ОН-групп в спироциклических фрагментах. С помощью этих превращений получены спиновые метки, способные присоединяться к биомолекулам через ацилирование или азид-алкиновое циклоприсоединение и сочетающие высокую устойчивость к восстановлению с повышенными временами спиновой релаксации T_1 и T_m при температурах 80-120 К.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Khoroshunova Yu.V.**, Morozov D.A., Taratayko A.I., Gladkikh P.D., Glazachev Yu.I., Kirilyuk I.A. Synthesis of 1-Azaspiro[4.4]nonan-1-oxyls via Intramolecular 1,3-Dipolar Cycloaddition // *Beilstein J. Org. Chem.* – 2019. – V. 15. – N. 1. – P. 2036-2042.
2. **Khoroshunova Yu.V.**, Morozov D.A., Taratayko A.I., Dobrynin S.A., Eltsov I.V., Rybalova T.V., Sotnikova Yu.S., Polovyanenko D.N., Asanbaeva N.B., Kirilyuk I.A. The Reactions of 6-(Hydroxymethyl)-2,2-dimethyl-1-azaspiro[4.4]nonanes with Methanesulfonyl Chloride or $\text{PPh}_3\text{-CBr}_4$ // *Molecules.* – 2021. – V. 26. – N. 19. – P. 6000.
3. Fehling P., Buckenmaier K., Dobrynin S.A., Morozov D.A., Polienko Yu.F., **Khoroshunova Yu.V.**, Borozdina Yu., Mayer Ph., Engelmann J., Scheffler K., Angelovski G., Kirilyuk I.A. The effects of nitroxide structure upon ^1H Overhauser dynamic nuclear polarization efficacy at ultralow-field // *J. Chem. Phys.* – 2021. – V. 155. – N. 14. – P. 144203.
4. **Ю.В. Хорошунова**, Д.А. Морозов, И.А. Кирилюк. Синтез пространственно затрудненных нитроксильных радикалов ряда пиперидина и пирролидина с использованием реакции внутримолекулярного 1,3-дипольного циклоприсоединения. Сборник тезисов Всероссийской молодежной школы-конференции «Актуальные проблемы органической химии». – 9-16 марта 2018 г., Новосибирск-Шерегеш. - С. 90.
5. **Ю.В. Хорошунова**. Синтез пространственно затрудненных нитроксильных радикалов ряда пирролидина, содержащих спироциклические фрагменты. Материалы 56-ой Международной научной студенческой конференции, химия. – 22-27 апреля 2018 г., Новосибирск, - С. 131.
6. S.A. Dobrynin, D.A. Morozov, I.F. Zhurko, A.I. Taratayko, **Yu.V. Khoroshunova**, S.S. Kutseykin, Yu.I. Glazachev, E.V. Zaytseva, I.A. Kirilyuk. Towards Bioreduction-Resistant Nitroxides. Book of Abstracts of International Conference SPCT-2018 Spin Physics, Spin Chemistry and Spin Technology. – September, 10-15, 2018, Novosibirsk, Russia. – P. 32.
7. **Ю.В. Хорошунова**, Д. А. Морозов, А. И. Таратайко, И. А. Кирилюк. Внутримолекулярная реакция 1,3-дипольного циклоприсоединения 2-(4-пент-1-ил)нитронов пирролидинового ряда в синтезе нитроксильных радикалов. Сборник тезисов Научной конференции: Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней. Школа-конференция молодых ученых: Органическая химия: традиции и современность. – 18-21 января 2019 г., пансионат МГУ Красновидово. - С. 96.
8. **Хорошунова Ю.В.** Синтез и модификации нитроксильных радикалов со спиро-2'-гидроксиметилциклопентановым фрагментом. Материалы 57-ой Международной научной студенческой конференции, химия. – 14-19 апреля 2019 г., Новосибирск, - С. 60.
9. **Ю.В. Хорошунова**, Д.А. Морозов, А.И. Таратайко, Ю.И. Глазачев, И.А. Кирилюк. Синтез конформационно жестких спиновых меток на основе нитроксильных радикалов ряда пирролидина. Сборник тезисов докладов V Междисциплинарной конференции Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии МОБИ-ХимФарма2019. – 15-18 сентября 2019, Судак, Крым. – С.103.
10. **Yu.V. Khoroshunova**, D.A. Morozov, A.I. Taratayko, Yu.I. Glazachev, I.A. Kirilyuk. Conformationally rigid pyrrolidine nitroxides: synthesis and transformations. Book of Abstracts of The 13th Japanese-Russian International Workshop on Open Shell

Compounds and Molecular Spin Devices. – November 10-13, 2019, Awaji Island, Hyogo, Japan. – P.19.

11. **Хорошунова Ю.В.**, Морозов Д.А., Кирилук И.А. Функционально замещённые спироциклические нитроксильные радикалы для гиперполяризации ядер в биологических системах. Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных Ломоносов-2021 секция «Химия». – 12-23 апреля 2021 г., МГУ, Москва. – С. 755.

12. **Хорошунова Ю.В.**, Морозов Д.А., Кирилук И.А. Синтез функционально замещённых конформационно жестких пирролидиновых нитроксильных радикалов. Сборник тезисов Международного семинара, посвященного 90-летию со дня рождения профессора Л.Б. Володарского. – 7 июня 2021 г., Новосибирск. – С. 21.

13. **Хорошунова Ю.В.**, Морозов Д.А., Кирилук И.А. Необычные превращения 6-(гидроксиметил)-2,2-диметил-1-азаспиро[4.4]нонанов. Тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием «Современные проблемы органической химии». – 9-11 июня 2021 г., Новосибирск. – С. 113.

14. **Хорошунова Ю.В.**, Морозов Д.А., Кирилук И.А. Реакции 6-(гидроксиметил)-2,2-диметил-1-азаспиро[4.4]нонанов с MsCl и $\text{CCl}_4\text{-PPh}_3$. Сборник тезисов Всероссийского конгресса по химии гетероциклических соединений КОСТ-2021. – 12-16 октября 2021 г., Сочи. – С. 383.

15. P. Fehling, A. Pavicevich, A. Korenic, S. Dobrynin, D. Morozov, **Y. Khoroshunova**, J. Engelmann, K. Buckenmaier, K. Scheffler, G. Angelovski, I. Kirilyuk, M. Mojovich, P. Anjus, Yu. Borzdina. Nanosized free radicals for the use as contrast and hyperpolarization agents in ultralow-field and high-field MRI. Book of Abstracts of 16th European Molecular Imaging Meeting - EMIM 2021. – 24-27 August, Gottingen, Germany. – P. 807.

16. K. Buckenmaier, P. Fehling, S. Dobrynin, D. Morozov, Y. Borzdina, J. Engelmann, Y. Polienko, **Y. Khoroshunova**, K. Scheffler, G. Angelovski, I. Kirilyuk. The effects of nitroxide structure upon Overhauser dynamic nuclear polarization efficacy at ultralow-field. Book of Abstracts of 16th European Molecular Imaging Meeting - EMIM 2021. – 24-27 August, Gottingen, Germany. – P. 1023.

17. D.A. Morozov, Yu.F. Polienko, I.F. Zhurko, S.A. Dobrynin, **Yu.V. Khoroshunova**, D.G. Trofimov, D.A. Parkhomenko, Yu.I. Glazachev, E.G. Bagryanskaya, I.A. Kirilyuk. Highly stable nitroxide spin labels for biophysical research. Сборник тезисов V Международной конференции «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов», МОСМ 2021. – 8-12 ноября 2021 г., Екатеринбург, Россия.

18. Д.А. Морозов, Ю.Ф. Полиенко, И.Ф. Журко, С.А. Добрынин, **Ю.В. Хорошунова**, Д.А. Пархоменко, Ю.И. Глазачев, Е.Г. Багрянская, И.А. Кирилук. Пространственно затруднённые нитроксильные радикалы: синтез и модификации. Сборник тезисов Всероссийской молодежной школы-конференции «Актуальные проблемы органической химии» СТОС-2022. – 20-26 марта 2022 г., Шерегеш, Россия. – С. 43.

19. **Хорошунова Ю.В.**, Морозов Д.А., Кирилук И.А. Превращение соединений с 6-гидроксиметил-1-азаспиро[4.4]нонановым остовом в производные азепана. Сборник тезисов Всероссийской научной конференции с международным участием «Современные проблемы органической химии» СПОХ-2022. – 12-14 сентября 2022 г., Академгородок, Новосибирск. – С.76.

20. Д.А. Морозов, **Ю.В. Хорошунова**, С.А. Добрынин, Ю.И. Глазачев, И.А. Кирилук. Пространственно затрудненные нитроксильные радикалы пирролинового и пирролидинового ряда как основа спиновых меток нового поколения. Сборник тезисов Всероссийской конференции "Органические радикалы: фундаментальные и прикладные аспекты". – 15-16 декабря 2022 г., Москва. – С. 31.

21. **Ю.В. Хорошунова**, Д.А. Морозов, Ю.И. Глазачев, Д.А. Кузнецов, Т.В.Рыбалова, Е.Г. Багрянская, И.А.Кирилук. Устойчивые к восстановлению спиновые метки с высоким временем релаксации. Сборник тезисов Всероссийской научной конференции «Современные проблемы органической химии» СПОХ-2023. – 26-30 июня 2023 г., Новосибирск. – С.72.