

На правах рукописи



Иванкин Дмитрий Игоревич

**СИНТЕЗ МОНОТЕРПЕНОИДЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
ТИАЗОЛИДИН-2,4-ДИОНА И ТИАЗОЛИДИН-4-ОНА И ИЗУЧЕНИЕ
ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ**

1.4.3. Органическая химия

Автореферат

диссертации на соискание ученой 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:

Лузина Ольга Анатольевна

доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологически активных веществ, ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, г. Новосибирск

Официальные оппоненты:

Чукичева Ирина Юрьевна

доктор химических наук, доцент, профессор РАН, главный научный сотрудник лаборатории органического синтеза и химии природных соединений, ФГБУН Институт химии Коми научного центра УрО РАН, г. Сыктывкар

Купрюшкин Максим Сергеевич

кандидат химических наук, заведующий лабораторией химии нуклеиновых кислот, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

Ведущая организация:

«Институт технической химии УрО РАН» - филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения РАН, г. Пермь

Защита состоится «13» октября 2023 г. в 11:30 на заседании диссертационного совета 24.1.192.01, созданного на базе НИОХ СО РАН по адресу: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, проспект акад. Лаврентьева, д. 9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИОХ СО РАН и на сайте по адресу: <http://web.nioch.nsc.ru/>. Текст автореферата размещен 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, ученому секретарю диссертационного совета 24.1.192.01; e-mail: dissovet@nioch.nsc.ru.

Автореферат разослан «30» августа 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, доктор химических наук



Лузина Ольга
Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования. В последние два десятилетия в медицинской химии получила популярность концепция гибридных молекул. Гибридные молекулы – это такие биологически активные соединения, которые содержат в своем составе фрагменты двух или более фармакофоров. Комбинируя фармакофорные фрагменты в целевой молекуле, можно добиться улучшения её биологической активности.

Одной из популярных потенциальных фармакофорных групп является тиазолидиновое ядро в виде тиазолидин-2,4-диона и тиазолидин-4-она. Широкий спектр биологической активности делает производные тиазолидина перспективными фармакологическими агентами, а возможность функционализации двух или более положений приводит к увеличению структурного разнообразия замещённых тиазолидинов.

Модификация популярных фармакофоров биологически активными природными метаболитами также получила большое распространение в медицинской химии. Сложная, зачастую хиральная, структура природных соединений и многообразие их функциональных групп стимулирует поиск их применения в органическом синтезе, в том числе с целью создания новых фармакологических агентов. Одними из таких природных метаболитов являются монотерпеноиды и их производные. Их структурное разнообразие в совокупности с широким спектром фармакологического действия делает соединения монотерпеноидного ряда перспективными для использования их в качестве фармакофоров для новых гибридных молекул.

Таким образом, объединение этих двух фрагментов может привести к новым гибридным молекулам с интересными видами биологической активности.

В литературе нами найдено крайне мало информации о монотерпен- и монотерпеноидзамещённых производных тиазолидинов. Небольшое число описанных соединений данного класса делает необходимой разработку подходов к синтезу некоторых из них.

Выбор областей потенциальной применимости монотерпеноидзамещённых тиазолидин-2,4-дионов и тиазолидин-4-онов, описанной для приведённых в данной работе соединений, основывался на литературных данных о биологической активности обоих фармакофоров или соответствующих соединений и доступности соответствующих тест-систем. Так, нами проводилось исследование противоязвенных свойств новых молекул, их ингибирующих свойств в отношении репарационного фермента ДНК человека TDP1, а также оценка их свойств в качестве агонистов рецептора свободных жирных кислот (FFA1r).

Цель исследования заключалась в синтезе монотерпеноидсодержащих тиазолидин-2,4-дионов и тиазолидин-4-онов и исследовании взаимосвязи «структура - биологическая активность».

Поскольку при синтезе целевых соединений зачастую фрагмент монотерпеноида участвует в создании тиазолидинового ядра, образующийся заместитель уже не является монотерпеновым, теряя при этом один атом углерода. В дальнейшем в работе все заместители, полученные из монотерпеноидов, но отличающиеся от монотерпенов числом атомов углерода, нами названы монотерпеноидными.

Для достижения поставленной цели требовалось решить следующие задачи:

1. Разработать методики синтеза и осуществить синтез:

- замещенных тиазолидин-2,4-дионов с монотерпеноидными заместителями в положениях 3 и/или 5.

- замещенных тиазолидин-4-онов с монотерпеноидными заместителями в положениях 2 и/или 3.

- замещенных 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-онов (спиротиазолидин-4-онов) с монотерпеновыми заместителями в положениях 8 и/или 4.

2. Провести анализ взаимосвязи «структура - биологическая активность» полученных соединений.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость. В процессе выполнения работы были впервые синтезированы 5-/3-монотерпеноидзамещенные и 3,5-бис-монотерпеноидзамещенные тиазолидин-2,4-дионы. Были подобраны условия синтеза с использованием в качестве альдегидной компоненты монотерпеноидов различного строения (ациклические, моноциклические, бициклические, с альдегидной группой при насыщенном и ненасыщенном структурных мотивах).

Предложен дизайн и осуществлен синтез трех серий соединений ряда монотерпеноидзамещенных тиазолидин-4-онов по положениям 2 и/или 3.

Впервые синтезированы 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-оны (спиротиазолидин-4-оны) с монотерпеновыми заместителями в положениях 8 и/или 4. Показаны границы применимости одnoreакторного формирования спиротиазолидин-4-онового фрагмента для монотерпеноидов различного строения (ациклические, моноциклические, бициклические галогениды, амины и альдегиды).

Предложен способ синтеза 4-монотерпензамещенных производных 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-она (спиротиазолидин-4-она) с вторичной аминогруппой в положении 8 спирофрагмента, как возможного билдинг-блока для дальнейших синтезов.

По результатам проведённого сотрудниками Лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН исследования в ряду 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-онов выявлены соединения, обладающие антиульцерогенным действием на индометациновой модели язвы желудка у крыс. По результатам изучения ингибирующей TDP1 активности синтезированных соединений в Лаборатории биоорганической химии ферментов ИХБФМ СО РАН выявлены перспективные для дальнейшего исследования фармакологические агенты группы замещённых тиазолидин-4-онов.

Методология и методы исследования. В ходе данной работы проводили анализ и обобщение имеющихся и полученных данных по синтезу замещённых тиазолидин-2,4-диона и тиазолидин-4-она.

Структуры полученных соединений подтверждали физико-химическими методами анализа: ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения, элементный анализ, определение температуры плавления, рентгеноструктурный анализ.

Выделение и очистку осуществляли методами экстракции, колоночной хроматографии, перекристаллизации. Биологические свойства целевых соединений исследовали методами *in vitro* и *in vivo* в соответствии с общепринятыми методическими рекомендациями.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Синтез замещённых тиазолидин-2,4-дионов и тиазолидин-4-онов с некоторыми монотерпеноидными заместителями различного строения (ациклические, моноциклические и бициклические).
2. Синтез замещённых 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-онов (спиротиазолидин-4-онов) с монотерпеновыми заместителями разного строения (ациклические, моноциклические и бициклические) в положениях 8 и/или 4.
3. Изучение биологической активности полученных соединений как возможных противоязвенных, противоопухолевых и сахароснижающих агентов.

Степень достоверности обеспечена тщательностью проведения эксперимента и применением физико-химических методов исследования. Строение новых соединений доказано методами ^1H и ^{13}C ЯМР, масс-спектрометрии высокого разрешения, элементного анализа, а также данными рентгеноструктурного анализа.

Достоверность результатов подтверждается независимой экспертизой опубликованных материалов в рецензируемых научных изданиях и апробацией на российских и международных конференциях.

Апробация работы.

Результаты диссертационной работы были представлены на 57-й Международной научной студенческой конференции (г. Новосибирск, 2019 г.), 4-й

Российской конференции по медицинской химии «МедХим-Россия 2019» (г. Екатеринбург, 2019 г.), V Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» (г. Судак, 2019 г.), 7-th International electronic conference on medicinal chemistry (2020 г.), 5-й Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» (г. Волгоград, 2021 г.), конференции «Современные проблемы органической химии (СПОХ-2022)» (г. Новосибирск, 2022 г.).

По теме диссертации опубликовано 4 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, и 6 сообщений в виде тезисов докладов.

Личный вклад соискателя заключался в поиске, анализе и обобщении литературных данных по теме диссертации. Автор принимал участие в разработке плана исследования, им осуществлены все химические эксперименты, выделение, очистка и подготовка соединений к физико-химическим методам анализа и биологическим испытаниям. Автор принимал участие в обработке и обсуждении полученных данных, а также осуществлял подготовку материалов к публикации в научных журналах, представлял доклады и отчеты по теме диссертации.

Структура диссертации. Работа изложена на 129 страницах машинописного текста, содержит 88 схем, 13 рисунков и 12 таблиц. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, основных результатов и выводов, списка цитируемой литературы (110 литературных источников).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **«Введении»** обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту. **«Литературный обзор»** состоит из трех основных частей и включает рассмотрение методов синтеза замещенных тиазолидин-2,4-дионов, тиазолидин-4-онов и краткое рассмотрение их биологической активности. **«Обсуждение результатов»** содержит результаты синтеза монотерпеноидзамещенных тиазолидин-2,4-дионов, тиазолидин-4-онов и 1-тиа-4,8-дизаспиро[4.5]декан-3-онов, а также данные по анализу взаимосвязи «структура - биологическая активность» полученных соединений. **«Экспериментальная часть»** содержит методики синтеза и физико-химические характеристики новых соединений.

1. Синтез 3-монотерпензамещенных тиазолидин-2,4-дионов

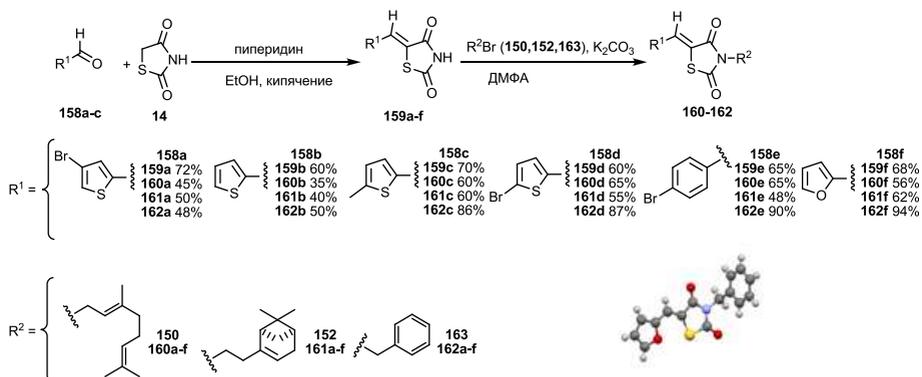
Первая часть работы посвящена синтезу замещенных тиазолидин-2,4-дионов с ароматическими/гетероарильными заместителями в положении 5, а также заместителями монотерпенового ряда в положении 3.

Целевой активностью данной группы соединений предполагалась ингибирующая активность в отношении TDP1, поэтому используемые на первой стадии реакции альдегиды (схема 1) были выбраны исходя из литературных данных о биологической активности соединений с соответствующими фрагментами.

По реакции конденсации между ароматическим альдегидом и тиазолидин-2,4-дионом **14** при кипячении в этаноле были синтезированы тиазолидин-2,4-дионы с 4-бромтиофен-2-илметиленовым **159a**, тиофен-2-илметиленовым **159b**, 5-метилтиофен-2-илметиленовым **159c**, 5-бромтиофен-2-илметиленовым **159d**, 4-бромбензилиденовым **159e** и фурфурилиденовым **159f** фрагментами.

Затем с использованием бромидов ряда монотерпеноидов была синтезирована линейка 3,5-дизамещенных производных **160-161**. Для определения влияния монотерпеноидного заместителя в ингибирующую TDP1 активность были синтезированы также дизамещенные тиазолидин-2,4-дионы с бензильным заместителем в положении 3 (соединения **162**, схема 1). Целевые соединения были очищены с использованием колоночной хроматографии. Для некоторых соединений использовалась и перекристаллизация.

Схема 1.



По данным ¹H ЯМР все соединения (**159**, **160-162**) были получены в виде единственного изомера с *Z* конфигурацией экзоциклической двойной связи. Также, *Z*-конфигурация соединения **162f** была подтверждена данными рентгеноструктурного анализа (схема 1).

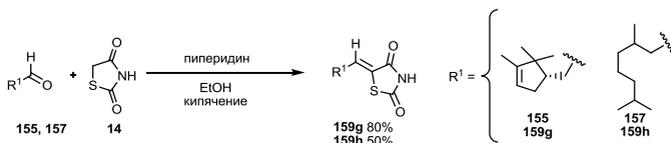
2. Синтез 5-монотерпеноидзамещенных и 3,5-бис-монотерпеноидзамещенных тиазолидин-2,4-дионов

Для синтеза 5-монотерпеноидзамещенных тиазолидин-2,4-дионов в качестве альдегидов были выбраны представители ациклических (3,7-

диметилоктаналь **157**), моноциклических ((-)-камфоленовый альдегид **155**) и бициклических ((-)-миртеналь **164**) монотерпеноидов.

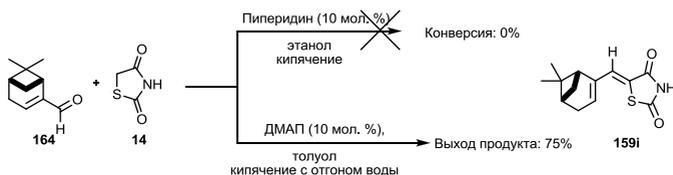
Конденсация между альдегидом и гетероциклом **14** дала соединения **159g-h** (схема 2).

Схема 2.



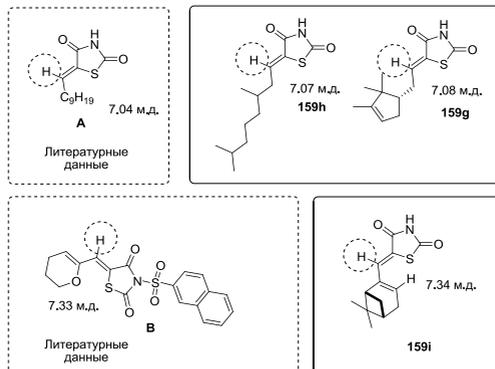
При использовании в качестве альдегида бициклического (-)-миртенала **164**, кипячение в этаноле в присутствии пиперидина (10 мол. %) не привело к продукту реакции. Поэтому был проведен подбор условий для получения целевого тиазолидин-2,4-диона. Замена пиперидина на ДМАП и этанола на толуол позволила получить соединение **159i** с выходом 75%.

Схема 3.



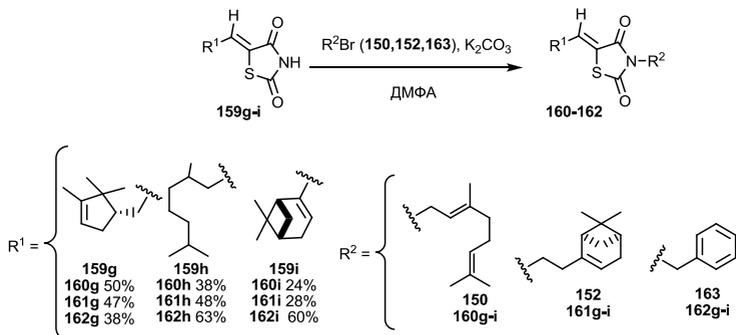
Поскольку синтезированные 5-монотерпеноидзамещенные тиазолидин-2,4-дионы являются маслами или аморфными порошками, то *Z*-конфигурация экзоциклической двойной связи была предложена нами на основании данных ¹H ЯМР. Известно, что химические сдвиги атома водорода при двойной связи в *Z*-изомерах тиазолидин-2,4-дионов с алифатическими заместителями варьируются от 7.0 м.д. для насыщенной периферии до 7.4 м.д. для сопряженных систем. Известно, что при фотоизомеризации *Z*-изомера тиазолидин-2,4-диона в *E* происходит смещение химических сдвигов в область сильного поля на 0.5 м.д. Соотнесение спектральных данных соединений **159h**, **159g** и **159i**, с литературными (схема 4) позволяет отнести наши соединения к *Z*-изомерам.

Схема 4.



Соединения **160-162** с одним монотерпеноидным заместителем в положении 5 и двумя такими заместителями в положениях 3 и 5 были получены с выходами 24-60% по методикам, описанным ранее (см. схема 1). Можно заметить, что выходы ниже, особенно когда на первой стадии введён пиненовый заместитель. Это может быть связано с особенностями очистки соединений (колоночная хроматография).

Схема 5.

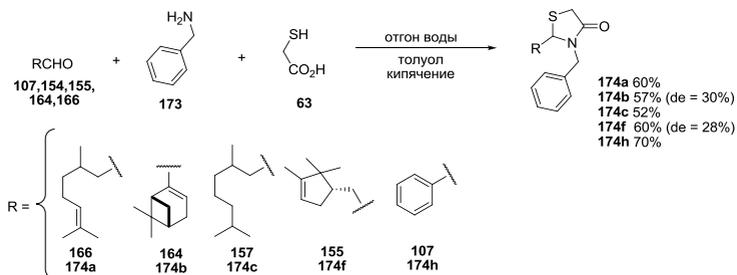


Таким образом, нами синтезирована серия дизамещённых производных тиазолидин-2,4-диона, содержащих ациклические или бициклические монотерпеноидные заместители в положении 3, серия производных тиазолидин-2,4-диона, содержащих заместители монотерпеноидного ряда в положении 5, а также в положениях 3 и 5.

3. Синтез 2-монотерпеноидзамещенных тиазолидин-4-онов

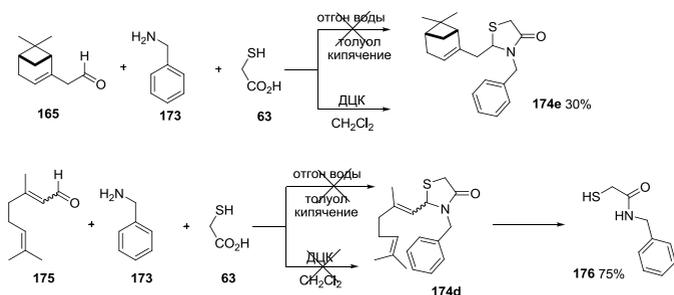
Синтез 2-монотерпеноидзамещенных тиазолидин-4-онов **174** проводили с использованием трехкомпонентной конденсации между монотерпеновым альдегидом ((±)-цитронеллаль **166**, (-)-миртеналь **164**, 3,7-диметилоктаналь **157**, (-)-камфоленовый альдегид **155**), бензиламином **173** и тиогликолевой кислотой **63** при кипячении в толуоле. Соединения **28** были получены с умеренными и хорошими выходами после колоночной хроматографии (схема 6).

Схема 6.



При попытке синтеза соединения **174e** из нопиналя при кипячении в толуоле наблюдалось осмоление реакционной смеси, и продукт получить не удалось. Поэтому были подобраны условия синтеза с использованием дициклогексилкарбодиимида (ДЦК) в качестве гетероциклизирующего агента в хлористом метиле при 20°C. При использовании цитраля **175** продукт **174d** не образовывался; наблюдалось образование соединения **176** с хорошим выходом (схема 7). По всей видимости, это связано с тем, что цитраль **175** мало реакционноспособен; тиогликолевая кислота **63** и бензиламин **173** быстрее реагируют между собой.

Схема 7.



Поскольку в результате синтеза соединений образуется новый стереоцентр, то продукты **174** представляют собой смесь оптических изомеров, а при наличии хирального центра в монотерпеноидном фрагменте – смесь диастереомеров. По

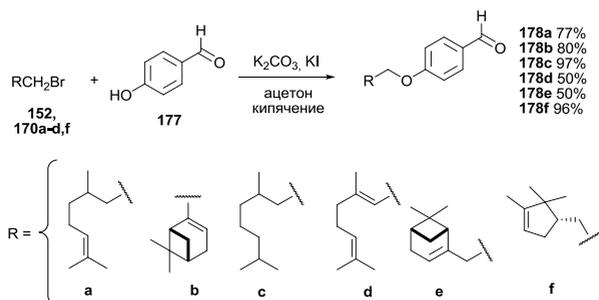
данным ^1H ЯМР для соединений **174** значение *de* не превышает 30%. Наиболее высокое значение *de* наблюдалось при использовании (–)-миртенала в качестве альдегида, в этом случае образуется смесь двух диастереомеров **174b** с *de* = 30% (соотношение основного и минорного изомера определялось на основании сигналов метильных групп монотерпеноидного фрагмента и атома водорода в положении 2 тиазолидинового ядра). Если в качестве исходного альдегида использовалась рацемическая смесь, то возможно образование смеси четырех оптических изомеров (как, например, для **174a**). В спектре ^1H ЯМР соединения **174a** можно выделить сигналы двух соединений в равном соотношении, по-видимому, нулевой диастереомерный избыток обусловлен удалённостью хирального центра монотерпеноида от стереоцентра тиазолидин-4-она. Хроматографическими методами изомеры разделить не удалось.

4. Синтез 2-монотерпеноидарилзамещенных тиазолидин-4-онов

Следующей задачей стал синтез тиазолидин-4-онов, содержащих бензильный заместитель в третьем положении и монотерпеноидный заместитель, который связан с гетероциклическим ядром через ароматический линкер по положению 2.

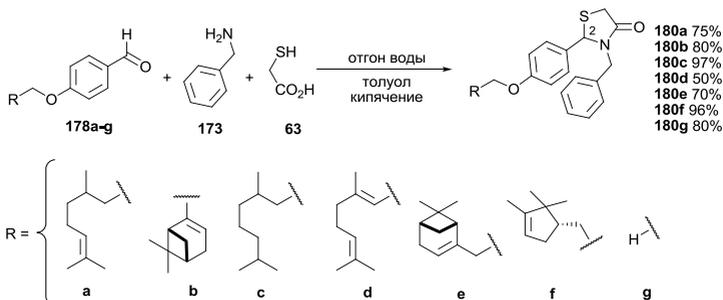
По реакции замещения между соответствующим монотерпенилбромидом ((±)-цитронеллилбромидом **170a**, (–)-миртенилбромидом **170b**, 3,7-диметилгексилбромидом **170c**, геранилбромидом **170d**, (–)-нопилбромидом **152** и (–)-камфоленовым бромидом **170f**) и *n*-гидроксибензальдегидом **177** в условиях кипячения в ацетоне в присутствии K_2CO_3 были получены альдегиды **178a-f** (схема 8). При использовании (–)-нопилбромида **152** для успешного протекания реакции было использовано соотношение бромида **152** к *n*-гидроксибензальдегиду **177** равное 2:1, поскольку при протекании реакции наблюдалась реакция элиминирования наряду с замещением.

Схема 8.



С использованием полученных альдегидов трёхкомпонентной конденсацией с бензиламином **173** и тиогликолевой кислотой **63** была синтезирована серия производных тиазолидин-4-она **180a-g** (схема 9).

Схема 9.



Синтезированные соединения также являются смесью оптических изомеров. Из-за того, что оптически активный монотерпеноидный фрагмент удален от реакционной альдегидной группы, реакция образования цикла протекает нестереоселективно. Химические сдвиги атомов в паре образующихся диастереомеров в спектрах ^1H ЯМР совпадают.

Таким образом, нами была синтезирована серия производных тиазолидин-4-она, содержащих некоторые монотерпеновые заместители, присоединенные к гетероциклическому остову напрямую и через *n*-оксифенильный линкер по второму положению.

5. Синтез 8-монотерпензамещенных 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-онов

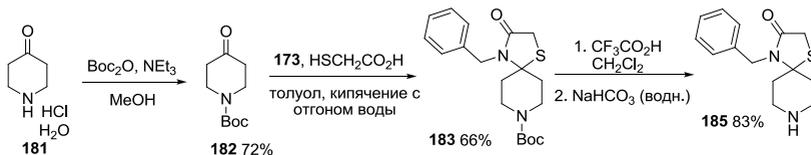
Все полученные выше 2-монотерпеноидзамещенные тиазолидин-4-оны имеют одну общую структурную особенность. Они получают в виде смеси оптических изомеров по положению 2. Введение в реакцию симметричного циклического кетона позволит получить спиросоединение в качестве единственного изомера.

Нами предложена схема синтезов спиросоединений, содержащих бензильный заместитель в четвертом положении и заместители ряда монотерпеноидов в положении 8. В качестве ароматического амина мы выбрали простой бензиламин **173**, а в качестве кетона – N-Вос-пиперид-4-он. Использование N-пиперидона с *трет*-бутилоксикарбонильной группой удобнее, чем его незамещенного аналога, поскольку повышается его растворимость в органических растворителях.

Сначала нами был синтезирован пиперидон **182** с *трет*-бутилоксикарбонильной защитной группой по реакции между пиперидоном **181** (коммерчески доступный реагент) и $\text{Вос}_2\text{O}$ в метаноле. После этого с

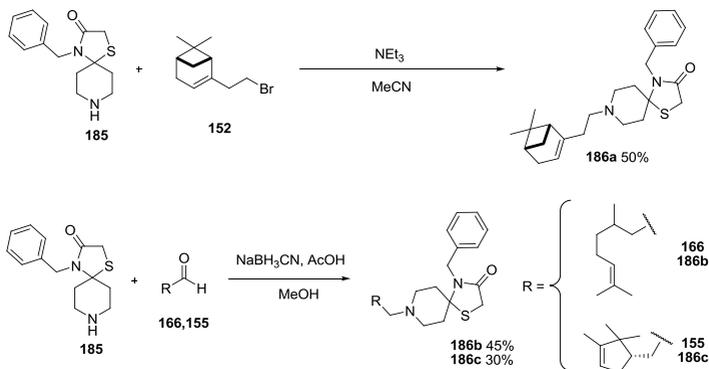
использованием трехкомпонентной конденсации было синтезировано спиросоединение **183**. Удаление *трет*-бутилоксикарбонильной группы действием трифторуксусной кислоты в хлористом метиле привело к трифторацетату, из которого получили сам амин **185** (схема 10).

Схема 10.



Синтез целевых соединений **186** был осуществлен двумя различными способами. Так, при синтезе соединений с (-)-нопильным заместителем в положении 2 (**186a**), нами был выбран способ синтеза с использованием бромида **152**, поскольку бромид проще получить из (-)-нопола, чем синтезировать (-)-нопиналь. Для синтеза двух других соединений с (\pm)-цитронеллильным (**186b**) и (-)-камфоленовым (**186c**) заместителями мы использовали реакцию восстановительного аминирования между амином **185** и соответствующими альдегидами (схема 11). Целевые соединения **186a-c** были получены с выходами 30-50% после колоночной хроматографии.

Схема 11.



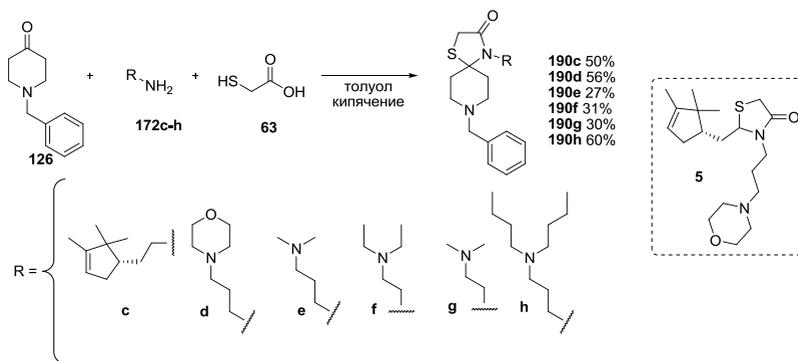
Таким образом, нами были предложены два подхода к синтезу 1-тиа-4,8-диазаспиро[4.5]декан-3-онов, содержащих бензильный заместитель в положении 4, а также монотерпеновый заместитель в положении 8. Показано, что, для введения монотерпеновых заместителей во второе положение могут быть использованы как альдегиды, так и бромиды.

6. Синтез 4-монотерпензамещенных 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-онов

1-Тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-оны с монотерпеновыми заместителями в положении 4 мы получали для дальнейшего тестирования их в качестве противоязвенных или гипогликемических агентов.

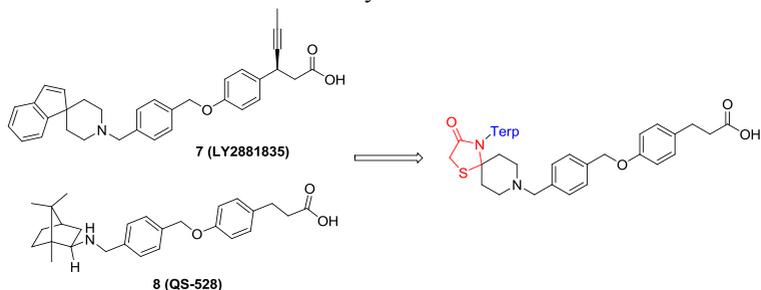
В качестве возможных противоязвенных агентов, аналогов соединения **5**, проявившего антиульцерогенную активность *in vivo* на индометациновой модели язвы желудка, были выбраны спиро[4.5]деканолидин-4-оны. Такая структура позволяет избежать образования смеси стереоизомеров, поскольку в ней отсутствует асимметрический центр при атоме углерода во втором положении. В качестве исходных прекурсоров мы выбрали (-)-камфоленовый амин, как возможный фармакофорный фрагмент для данного типа активности, а для расширения линейки потенциальных противоязвенных агентов некоторые коммерчески доступные амины, как возможные биоизомеры аминопропилморфолинового фрагмента (соединение **5**). По реакции конденсации между N-бензилпиперидоном **126**, аминами **172c-h** и тиогликолевой кислотой была получена серия 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-онов, в которых вариабельной частью является заместитель в четвертом положении (схема 12).

Схема 12.



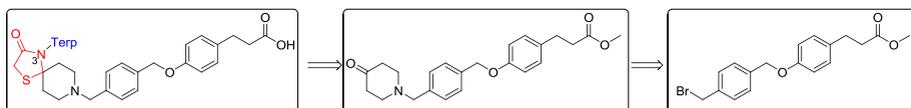
В дизайне новых соединений, нацеленных на гипогликемическое действие, мы опирались на данные о соответствующей активности молекулы **7** (LY2881835), содержащей спироциклический фрагмент, и молекулы **8** (QS-528) с монотерпеновым заместителем. Вариабельной частью для синтеза производных метилбензилоксифенилпропановой кислоты (МБФПК) с фрагментом 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-она является монотерпеновый заместитель в положении 4. Следовательно, для синтеза нами были использованы монотерпеновые амины (рисунок 1).

Рисунок 1.



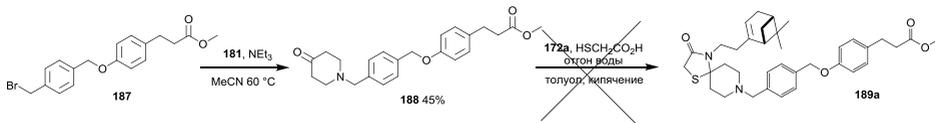
Для синтеза целевых соединений мы предложили сначала ввести пиперидон в состав производного фенолпропановой кислоты, а на следующем этапе сформировать спирофрагмент (схема 13).

Схема 13.



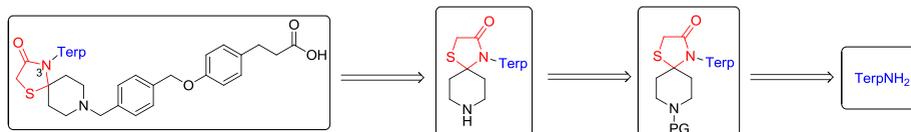
Так, мы получили соединение **188** по реакции между **181** и **187** (схема 14). Однако, при попытке сформировать спирофрагмент, наблюдалось осмоление, и продукт **189a** получить не удалось.

Схема 14.



Альтернативный подход предполагал первоначальное создание спирофрагмента с последующим введением его в состав производного *МБФПК* (схема 15).

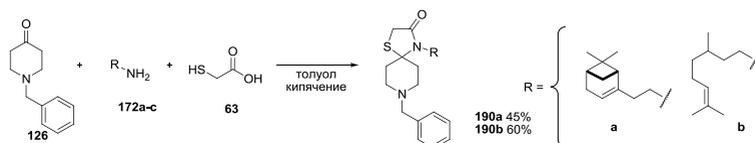
Схема 15.



В качестве защитной группы была выбрана бензильная группа. Мы использовали её, поскольку исходный N-бензилпиперидон коммерчески доступный реагент, и бензильная группа легко удаляется гидрогенолизом.

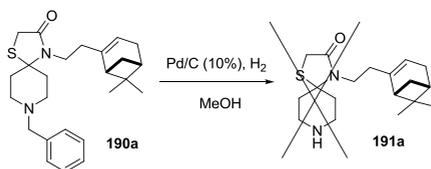
Так, соединения с бензильным заместителем в восьмом положении, а также (-)-нопильным и (±)-цитронеллильным заместителями в четвертом положении были получены с использованием трёхкомпонентной конденсации (схема 16).

Схема 16.



При попытке провести гидрогенилиз соединения **190a** на 10% Pd/C, мы наблюдали сложную смесь продуктов с осмолением (схема 17), возможно из-за того, что сероорганические соединения являются каталитическими ядами.

Схема 17.



Замена защитной группы на *трет*-бутилоксикарбонильную позволит проводить её удаление действием кислоты. Для этого нами был синтезирован спиротиазолидин-4-он **192a** (схема 18). Для ведения спиросоединения в состав МБФПК необходимо было удалить защитную группу. Обычно такую защитную группу удаляют действием кислоты Брёнстеда в хлористом метиле, но при использовании трифторуксусной кислоты, как стандартного реагента, наблюдалось осмоление реакционной смеси. Поэтому, была опробованы другие условия. Однако, ни использование $ZnBr_2$, ни $TMSCl$, ни $TMSCl/NEt_3$ не привели к удовлетворительным результатам (таблица 1).

Схема 18.

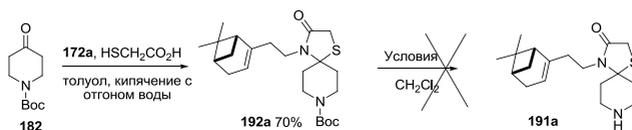
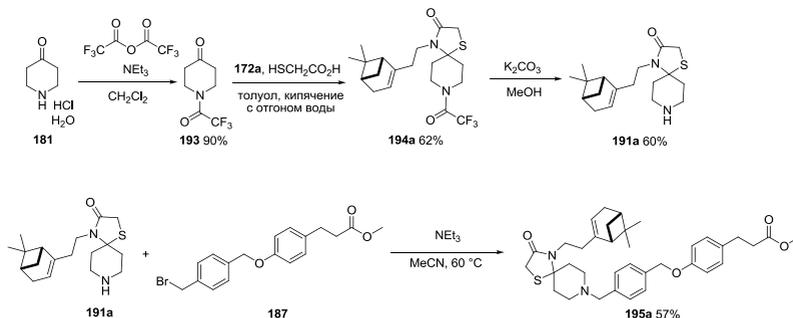


Таблица 1.

№	Условия	Результат
<i>a</i>	CF_3COOH	Осмоление
<i>b</i>	$ZnBr_2$	Нет реакции
<i>c</i>	1. $TMSCl$. 2. H_2O	Осмоление
<i>d</i>	1. $TMSCl, NEt_3$. 2. H_2O	Нет реакции

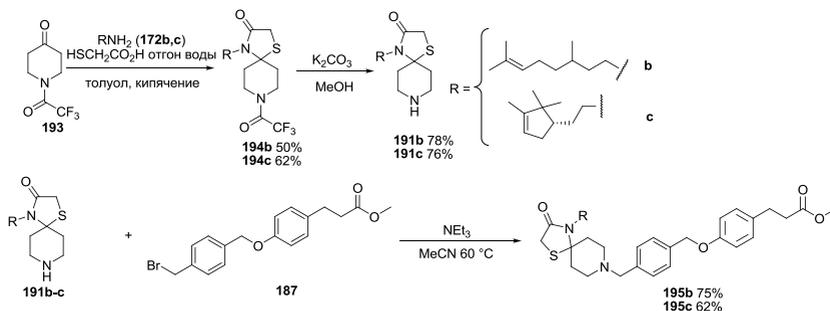
Использование защитной группы, которая удалялась бы не в кислых, а в основных условиях, могло бы предотвратить использование кислот. Поэтому мы использовали трифторацетильную защитную группу (она удаляется действием K_2CO_3 в метаноле). Для этого мы синтезировали пиперидон **193**. Трехкомпонентная конденсация с (-)-нопиламином **172a** привела к спиро-соединению **194a**. После удаления защитной группы получили амин **191a**, который при взаимодействии с бромидом **187** дал метиловый эфир **195a** (схема 19).

Схема 19.



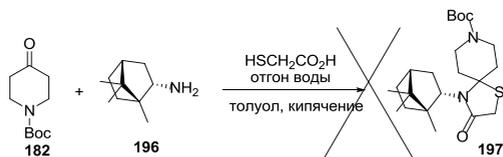
После синтеза соединения **195a**, отработанные условия были распространены на два других монотерпеновых производных **195b,c** (схема 20).

Схема 20.



Также была проведена попытка введения стерически-затрудненного амина – *эндо*-борниламином **182** в состав спиротиазолидин-4-она для последующего синтеза фенилпропановой кислоты. Однако, было показано, что в ходе реакции образования продукта **197** не наблюдалось (схема 21).

Схема 21.



Для подбора условий гидролиза метиловых эфиров в качестве модельного субстрата было выбрано соединение **199**. Щелочной гидролиз с использованием LiOH (таблица 2, условие *a*) не привёл к желаемому результату. Как можно видеть из данных таблицы 2, ни нагрев реакционной смеси (условия *b,d*), ни увеличение количества гидроксида лития (условия *b,c*) также не приводили к образованию продукта гидролиза. Однако, проведение реакции в ДМФА, повышение температуры реакции до 80 °С и добавление иодида калия дало продукт **200** с выходом 50%.

Схема 22.

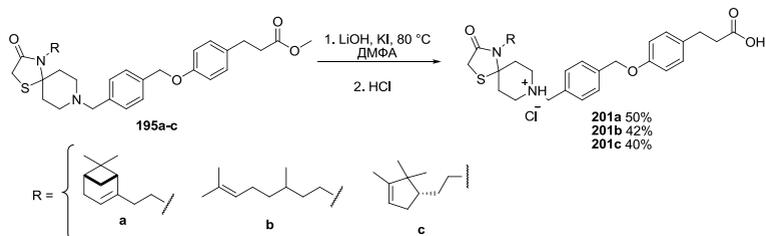


Таблица 2.

№	Условие	Результат
<i>a</i>	LiOH (4 экв.), ТГФ, MeOH, вода, комн. т.	Нет реакции
<i>b</i>	LiOH (4 экв.), ТГФ, MeOH, вода, 40 °С	Нет реакции
<i>c</i>	LiOH (5 экв.), ТГФ, MeOH, вода, 40 °С	Нет реакции
<i>d</i>	LiOH (5 экв.), ДМФА, 80 °С	Нет реакции
<i>e</i>	1. LiOH (10 экв.), KI (10 мол. %), ДМФА, 80 °С 2. HCl (водн.)	Выход 50%

После этого, оптимизированные условия были распространены на другие метиловые эфиры **195a-c** (схема 23).

Схема 23.

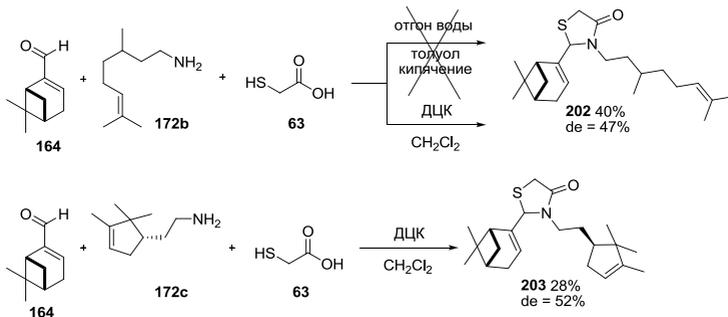


Таким образом, нами были получены производные 1-тиа-4,8-диазаспиро[4.5]декан-3-оны с монотерпеновыми заместителями в положении 4, а также бензильным заместителем в положении 8. Разработаны подходы для синтеза некоторых производных МБФПК, содержащих монотерпеновый заместитель в составе спиротиазолидин-4-онового фрагмента.

7. Синтез 2,3-бис-монотерпеноидзамещенных тиазолидин-4-онов и 4,8-бис-монотерпеноидзамещенных 1-тиа-4,8-диазаспиро[4.5]декан-3-онов

Для синтеза бис-монотерпеноидзамещенных тиазолидин-4-онов проводили трёхкомпонентную конденсацию между терпеновым альдегидом, терпеновым амином и тиогликолевой кислотой. В реакции амина **172b**, альдегида **164** в присутствии тиогликолевой кислоты при кипячении в толуоле с отгоном воды наблюдалось осмоление реакционной смеси, поэтому мы использовали подобранные ранее условия реакции (схема 7) с использованием ДЦК. При проведении реакции в хлористом метиле при 20°C в течение четырёх часов было получено соединение **202** (схема 24). Аналогично при использовании амина **172c** было получено соединение **203**. В спектрах ¹H ЯМР соединений **202** и **203** наблюдаются два набора сигналов атомов водорода метильных групп монотерпеноидных фрагментов. Значения *de* для пар наблюдаемых в спектрах ЯМР диастереомеров составили 47 и 52% для соединений **202** и **203** соответственно. Хроматографическими методами диастереомеры разделить не удалось.

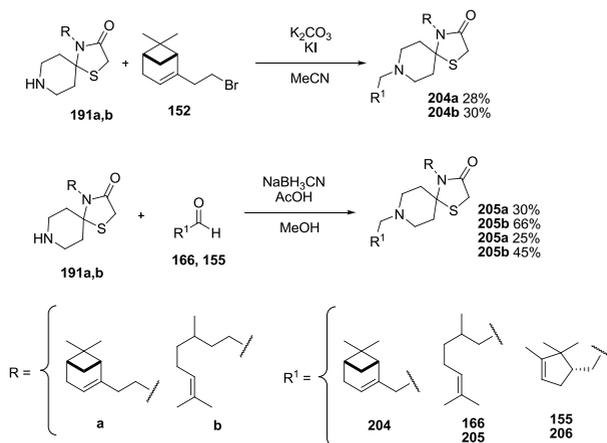
Схема 24.



Для функционализации производных спиротиазолидин-4-она заместителями ряда монотерпеноидов по обоим положениям гетероциклического остова был использован подобранный нами ранее способ синтеза с использованием полученных ранее соединений **191a,b**.

В качестве аминов мы использовали спиросоединения с (-)-нопильным и (±)-цитронеллильным фрагментами в положении 4 (схема 25). Синтез проводился в соответствии с методиками, описанными ранее (схема 11).

Схема 25.



Таким образом, нами были синтезированы производные тиазолидин-4-она, содержащих два монотерпеноидных фрагмента в положениях 2 и 3 и была показана возможность синтеза производных 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-онов (спиротиазолидин-4-онов), содержащих два монотерпеноидных заместителя в положениях 4 и 8.

8. Анализ данных противоязвенной активности замещенных тиазолидин-2,4-дионов и 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-она

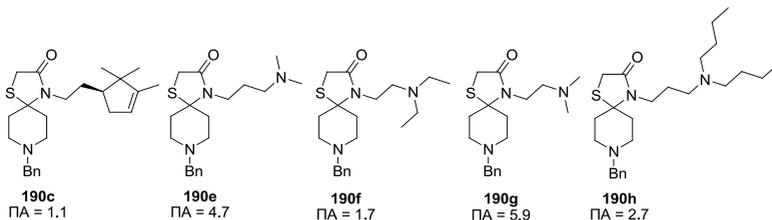
Исследование противоязвенных свойств новых соединений как структурных аналогов ранее обнаруженного противоязвенного агента **5**, проводилось для серии тиазолидин-2,4-дионов (**159f**, **159g**, **160f**, **160g**, **162g**) и 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-онов (**190c-h**)

Для синтезированных соединений был проведен скрининг *in vivo* на выявление противоязвенной активности. Испытания проводились на индометациновой модели на крысах стока Wistar по методу Паулса. В качестве стандарта использовано противоязвенное средство омепразол®. Согласно используемому методу соединение обладает противоязвенной активностью, если значение ПА (противоязвенная активность) > 2.

Биологические испытания проводились сотрудниками Лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН.

Согласно полученным данным, ни одно из тестируемых соединений ряда тиазолидин-2,4-дионов не показало антиульцерогенного действия. Однако, спиросоединения, а именно, **190e**, **190g** и **190h** проявили активность, причем, два из них (**190e**, **190g**) на уровне препарата омепразол® (ПА = 4.7).

Схема 26.



9. Анализ данных по ингибирующей активности замещенных тиазолидин-2,4-дионов и 1-тиа-4,8-диазаспиро[4.5]декан-3-она по отношению к ферменту репарации ДНК TDP1

Использование ингибиторов ферментов репарации ДНК в противораковой терапии является одним из способов борьбы с лекарственно-устойчивыми видами опухолей. Такие соединения способны вызывать гибель опухолевых клеток, путем нарушения нормального протекания клеточных процессов. Одной из перспективных мишеней для лечения онкологических заболеваний является фермент репарации ДНК тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 (TDP1), которая играет ключевую роль в удалении повреждений ДНК, образующихся при воздействии широко используемых в клинической практике противоопухолевых препаратов ряда камптотецина (иринотекан, топотекан), а также участвует в репарации повреждений, вносимых темозоломидом, блеомицином, этопозидом и другими.

Изучение ингибирующей активности в отношении TDP1 (*in vitro*) было выполнено сотрудниками Лаборатории биоорганической химии ферментов Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН совместно с соискателем. Фурамин был использован в качестве препарата сравнения (1.2 мкМ).

По результатам изучения ингибирующей Tdp1 активности синтезированных соединений в ряду монотерпеноидзамещенных тиазолидин-4-онов **180** и тиазолидин-2,4-дионов **159-162** выявлены соединения с высокой ингибирующей активностью (для тиазолидин-2,4-дионов: $IC_{50} = 0.55 - 3.5$ мкМ; для тиазолидин-4-онов: $IC_{50} = 1.2 - 3.0$ мкМ) и низкой цитотоксичностью (для тиазолидин-2,4-дионов: $CC_{50} > 100$ мкМ; для тиазолидин-4-онов: $CC_{50} > 50$ мкМ). Среди тиазолидин-2,4-дионов наиболее высокую активность в отношении очищенного фермента проявили соединения **15a** ($IC_{50} = 0.65$ мкМ) и **16a** ($IC_{50} = 0.55$ мкМ) при

отсутствии цитотоксичности на клеточных линиях MRC-5 (фибробласты легких человека) и НСТ-116 (карцинома толстой кишки). Однако, отсутствие сенсibiliзирующего эффекта на цитотоксическое действие противоопухолевого препарата топотекана не позволяет рассматривать соединения ряда тиазолидин-2,4-диона в качестве перспективных препаратов противоопухолевой терапии.

В ряду производных тиазолидин-4-она с *n*-оксифенильным линкером между монотерпеновым фрагментом и гетероциклическим ядром (серия **180**) ингибирующую активность в нижнем микромолярном диапазоне концентраций проявили все синтезированные соединения за исключением производного **180a**, содержащего ациклический цитронеллильный заместитель. Следует отметить, что замена монотерпенового фрагмента на метильную группу привела к потере активности (соединение **180g**).

Из данных теста по цитотоксичности соединений **180b-f** в комбинации с топотеканом следует, что по отношению к опухолевым клеткам HeLa все активные тиазолидин-4-оны **180b-f** в нетоксичных концентрациях привели к повышению цитотоксичности, т.е. наблюдалась сенсibiliзация. В случае неопухолевой линии клеток НЕК293А эффекта сенсibiliзации не наблюдалось. Более того, соединения **180e** и **180d** показали протекторное действие для клеток линии НЕК293А к действию топотекана.

Таким образом, нами выявлена серия монотерпеноидзамещённых тиазолидин-4-онов, перспективных для дальнейшего исследования в качестве агентов противоопухолевой терапии.

10. Анализ результатов оценки активации синтезируемыми соединениями рецептора FFA1 *in vitro*

Соединения **200** и **201a,b** были протестированы сотрудниками Лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН на способность активировать рецептор FFA1 в концентрации 10 μ M. Оценка эффективности проводилась по отношению к референсному соединению GW9508, используемому в той же концентрации (10 μ M) и являющемуся полным агонистом.

Согласно полученным результатам, лучшая активация рецептора на уровне активности положительного контроля GW9508 наблюдалась для соединения **200**, содержащего фрагмент 1-тия-4-бензил-4,8-диазаспиро[4.5]декан-3-она. Замена бензильного фрагмента на нопильный (**201a**) и цитронеллильный (**201b**) привела к повышению цитотоксичности соединений, вследствие чего оценить активацию рецептора оказалось невозможным.

Заключение

Осуществлен синтез 3-, 5-монотерпеноидзамещенных и 3,5-бис-монотерпеноидзамещенных тиазолидин-2,4-дионов. Показана применимость реакции и подобраны условия реакции для монотерпеноидов различного строения (ациклические, моноциклические, бициклические, с насыщенными и ненасыщенными структурными мотивами).

С использованием трехкомпонентной реакции конденсации синтезированы различные монотерпеноидзамещенные тиазолидин-4-оны, содержащие монотерпеноидзамещенные заместители в положениях 2 и/или 3 и 1-тиа-4,8-диазаспиро[4.5]декан-3-оны с монотерпеновыми заместителями в положениях 8 и/или 4. Показано, что на протекание реакции оказывает влияние структура терпенового амина.

Разработана методика синтеза и осуществлён синтез 4-монотерпеноидзамещенных производных 1-тиа-4,8-диазаспиро[4.5]декан-3-она (спиротиазолидин-4-она) с вторичной аминогруппой в положении 8 спирофрагмента в качестве билдинг-блока для дальнейших синтезов.

Среди синтезированных соединений выявлены вещества, обладающие антиульцерогенным действием, и вещества, обладающие ингибирующим действием по отношению к ферменту репарации ДНК тирозил-ДНК-фосфодиэстеразе 1 (TDP1) в нижнем микромолярном или субмикромолярном диапазоне концентраций. Показано, что монотерпеноидзамещённые тиазолидин-4-оны проявляют *in vitro* синергический цитотоксический эффект в комбинации с противоопухолевым препаратом (топотекан).

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Synthesis, antiulcerative, and anti-inflammatory activities of new campholenic derivatives - 1,3-thiazolidin-4-ones, 1,3-thiazolidine-2,4-diones, and 1,3-thiazinan-4-ones / M. S. Borisova, **D. I. Ivankin**, D. N. Sokolov [et al.] // Chemical Papers. – 2021. – V. 75. – P. 5503–5514.
2. Дизайн, синтез и противовоспалительная активность новых производных 1-тиа-4,8-диазаспиро[4.5]декан-3-она / **Д. И. Иванкин**, М. С. Борисова, Д. Н. Соколов [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2021. – Т. 55. – № 12. – С. 22-26.
3. Monoterpene substituted thiazolidin-4-ones as novel TDP1 inhibitors: synthesis, biological evaluation and docking / **D. I. Ivankin**, N. S. Dyrkheeva, A. L. Zakharenko [et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2022. – V. 73. – P. 128909.
4. Novel TDP1 Inhibitors: Disubstituted Thiazolidine-2,4-Diones Containing Monoterpene Moieties / **D. I. Ivankin**, T. E. Kornienko, M. A. Mikhailova [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – V. 24 N. 4. – P. 3834.

5. **Д.И. Иванкин.** Синтез новых производных 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-она. Сборник тезисов в книге: Химия: материалы 57-й Международной научной студенческой конференции, С. 245. Новосибирск, Россия, 2019 г. (устный доклад)
6. **D. I. Ivankin, M. S. Borisova, D. N. Sokolov, O. A. Luzina, T. G. Tolstikova, N. F. Salakhutdinov.** Synthesis of novel derivatives of thiazolidine-2,4-dione and 1-thia-4,8-diazaspiro[4.5]decane-3-one. Сборник тезисов 4-й Российской Конференции по Медицинской Химии «МедХим-Россия 2019», С. 354, Екатеринбург, Россия, 2019 г. (стендовый доклад)
7. **Д. И. Иванкин, М. С. Борисова, Д. Н. Соколов, О. А. Лузина, Т. Г. Толстикова, Н. Ф. Салахутдинов.** Синтез новых производных тиазолидин-2,4-диона и 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-она как противоязвенных агентов. Сборник тезисов докладов V Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии», С. 39, Судак, Крым, РФ, 2019 г, (устный доклад)
8. **D. Ivankin, A. Zakharenko, O. Luzina, O. Lavrik, N. Salakhutdinov.** Synthesis of novel TDP1 inhibitors - thiazolidinones, thiazolidinediones containing terpenoid substituents. 7th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry, sciforum-052414, 2020.
9. **Д. И. Иванкин, А. Л. Захаренко, О. А. Лузина, О. И. Лаврик, Н. Ф. Салахутдинов.** Синтез новых ингибиторов tdp1 – тиазолидинонов и тиазолидиндионов, содержащих терпеноидные заместители. MedChem-Russia Сборник тезисов докладов 5-й Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021», С. 305, Волгоград, Россия, 2022 г. (стендовый доклад)
10. **Д. И. Иванкин, О. А. Лузина, Н. Ф. Салахутдинов.** Синтез некоторых производных фенилпропановых кислот, содержащих фрагменты 1-тиа-4,8-дiazаспиро[4.5]декан-3-она. Сборник тезисов докладов конференции Современные проблемы органической химии «СПОХ-2022», С. 90, Академгородок, Новосибирск, Россия, 2022 г. (устный доклад)