

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Белоглазкина Анастасия Александровна

**Новые низкомолекулярные ингибиторы белок-белкового взаимодействия p53-
MDM2 на основе диспироиндолинонов**

(02.00.03 – Органическая химия)

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
д.х.н., проф. Мажуга А.Г.

Москва - 2018

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение.....	3
2. Обзор литературы.	6
2.1. Белок p53 и его роль в организме	6
2.2. Белок-белковое взаимодействие p53 – MDM2	8
2.3. Ингибиторы p53- MDM2 взаимодействия	9
2.4. Методы получения спироиндолинонов	17
2.4.1. Методы, основанные на нуклеофильном присоединении по C3 карбонильному атому и дальнейшей циклизации	19
2.4.2. Методы, основанные на окислительных перегруппировках.....	21
2.4.3. Методы, основанные на расширении цикла	22
2.4.4. Методы, основанные на 1,3-диполярном циклоприсоединении	23
2.5.1. Использование оптически активного субстрата.....	31
2.5.2. Хиральный катализ	33
3. Обсуждение результатов	41
3.1. Синтез диспиропроизводных 2-тиогидантоинов	42
3.2. Исследование биологической активности диспироиндолинонов на основе 5-арилидензамещенных гидантоинов.....	60
3.3. Разработка синтетических подходов к хиральным диспироиндолинонам.....	67
3.4. Синтез и биологическое тестирование диспироиндолинонов на основе незамещенных тиогидантоинов и гидантоинов.....	78
3.5. Синтез и биологическое тестирование диспироиндолинонов на основе 5-арилидензамещенных гидантоинов.....	82
3.6. Синтез и биологическое тестирование диспироиндолинонов на основе 5-арилиденоксазолонов.....	89
3.7. Синтез и биологическое тестирование диспироиндолинонов на основе 5-арилиденроданинов.....	95
4. Экспериментальная часть.....	101
Выводы.....	175
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	176

1. Введение

В последние годы наблюдается повышенный интерес к поиску непептидных низкомолекулярных соединений, способных препятствовать взаимодействию клеточных белков p53-MDM2. Белок p53 является опухолевым супрессором, играющим важную роль в жизненном цикле клетки и апоптозе, а MDM2 представляет собой его эндогенный ингибитор [1,2]. Если блокировать взаимодействие этих белков, то высвобождающийся p53 активирует процесс разрушения опухоли, что является перспективным направлением в терапии раковых заболеваний.

Методом рентгеноструктурного анализа [3] установлена структурная основа взаимодействия p53-MDM2, осуществляющегося в первую очередь за счет трех гидрофобных остатков из R-спирали в p53 и небольшого, но глубокого кармана в MDM2, являющегося, по-видимому, наиболее важным участком для связывания. На основе рассчитанного строения мишени ведется разработка соединений, ингибирующих MDM2. Синтезируемые на основе этих данных ингибиторы довольно разнообразны, но подавляющее большинство в своей структуре имеют спироиндолиновое ядро, которое заполняет гидрофобный карман в MDM2 [4].

В настоящее время производные диспироиндолинов проходят различные стадии доклинических и клинических испытания в качестве противоопухолевых препаратов. Наиболее известным ингибитором белок-белкового взаимодействия p53-MDM2 является препарат Нутлин 3 (Nutlin 3), проходящий в настоящее время стадию клинических испытаний [5]. Среди представителей индолинового ряда особое внимание уделяется производным, содержащим одно спиросочленение, молекулы данного типа также проходят клинические испытания как препараты для терапии рака предстательной железы [4].

Данная работа посвящена дизайну и синтезу новых низкомолекулярных ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2 на основе диспиропроизводных различных арилиден-замещенных гетероциклических систем, изучению их биологических свойств и механизма действия, а также установлению зависимости «структура-активность». Предполагается, что введение в молекулу двух спиро-сочленений увеличит конформационную жесткость молекулы ингибитора и как следствие этого, улучшит его взаимодействие с белком MDM2.

Цель работы заключается в поиске новых соединений - ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2, разработке и оптимизации методов их синтеза, а

также изучении их цитотоксичности по отношению к опухолевым клеточным линиям различной морфологии.

Задачи работы состоят в: 1) разработке и оптимизации подходов к синтезу диспиропроизводных на основе 2-тиогидантоинов, изучении их цитотоксичности *in vitro* методом МТТ, исследовании их локализации в клетке, связывания с белком методом western blot (белковый иммуноблот), исследовании механизма апоптоза; 2) изучении возможности получения энантиомерно чистых диспиропроизводных на основе 2-тиогидантоинов; 3) разработке методов синтеза диспиропроизводных 5-арилиденгидантоинов, изучении их цитотоксичности, а также исследовании р53-активации; 4) создании синтетических подходов к диспиропроизводным 1,3-оксазолонов, изучении цитотоксичности полученных диспиропроизводных; 5) получении диспиропроизводных N(3)-незамещенных имидазол-4-онов и изучении их цитотоксичности; 6) разработке и оптимизации синтетических подходов к синтезу диспиропроизводных на основе 5-арилиденроданинов, изучении цитотоксичности полученных производных.

Научная новизна работы заключается в том, что: 1) впервые разработаны и оптимизированы методы получения биологически активных диспиропроизводных на основе 2-тиогидантоинов; 2) разработаны синтетические подходы к получению диспиропроизводных на основе 2-тиогидантоинов в энантиомерно чистом виде; 3) двумя альтернативными методами получены диспироизводные на основе 5-арилиденгидантоинов; 4) получены диспироизводные на основе 1,3-оксазолонов; 5) разработаны подходы к получению диспиропроизводных на основе незамещенных имидазол-4-онов; 6) синтезирована серия диспироизводных на основе 5-арилиденроданинов с высокой противоопухолевой активностью; 7) изучена цитотоксичность полученных диспироиндолинонов.

Практическая значимость работы состоит в следующем: 1) впервые разработаны удобные препаративные методы получения диспиропроизводных на основе 2-тиогидантоинов, в том числе N(3)-незамещенных, которые потенциально могут быть использованы для терапии онкологических заболеваний; 2) получены диспироизводные на основе 5-арилиденгидантоинов и показана их высокая цитотоксичность на клеточной линии рака легких A549; 3) получены диспироизводные на основе 1,3-оксазолонов, для которых установлена высокая противоопухолевая активность по отношению к опухолевой клеточной линии рака простаты LNCap, однако низкая селективность; 4) предложены методы получения неизвестных ранее диспироизводных на основе 5-арилиденроданинов с высокой противоопухолевой активностью по отношению к клеткам рака почек SN12C.

Положения, выносимые на защиту: 1) синтез новых диспироиндолинонов на основе 5-арилиден-2-тиогидантоинов; 2) разработка методологии получения энантиомерно чистых диспиропроизводных на основе 5-арилиден-2-тиогидантоинов; 3) новые методы синтеза диспирооксиндолов на основе 5-арилиденгидантоинов исходя из их S-алкилтиопроизводных; 4) разработка синтетических подходов к получению диспиропроизводных на основе 1,3-оксазолонов; 5) методология синтеза диспирооксиндолов на основе различных N-незамещенных гетероциклов: имидазол-4-онов и тиазолидин-2,4-дионов; 6) методология синтеза диспиропроизводных на основе 5-арилиденроданинов исходя из изотиоцианатов и замещенных анилинов; 7) выявление для всех серий полученных диспироиндолинонов зависимости «структура-активность» при изучении их цитотоксичности *in vitro* на опухолевых клеточных линиях методом МТТ, а также их локализации в клетке, связывания с белками методом western blot и механизма апоптоза.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 22 печатные работы: 3 статьи в российских и международных научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных диссертационным советом МГУ, 2 патента и 17 тезисов докладов на российских и международных научных конференциях.

Объем и структура диссертационной работы. Диссертация состоит из пяти разделов: введения, обзора литературы на тему «Способы получения и применение спирооксиндолов», обсуждения результатов, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 186 страницах текста и включает 27 рисунков, 16 таблиц и список цитируемой литературы из 148 наименований.

2. Обзор литературы.

p53-MDM2 ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ И ЕГО ИНГИБИТОРЫ. СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ СПИРООКСИНДОЛОВ.

В литературном обзоре приведено краткое описание биологической мишени синтезированных соединений - белка p53 и белок-белкового взаимодействия p53-MDM2, описаны существующие на настоящий момент ингибиторы этого взаимодействия, а также основные методы синтеза спироиндолинонов - конформационно жестких структур для ингибирования p53-MDM2 взаимодействия.

2.1. Белок p53 и его роль в организме

Клеточный белок p53, являющийся опухолевым супрессором, представляет собой одну из потенциальных мишеней противоопухолевой терапии. Роль данного белка в организме чрезвычайно велика, и включает участие в процессах репарации ДНК, остановки клеточного цикла, апоптоза и старения; в связи с этим он получил название «страж генома». В более чем 50% опухолевых клеточных культур белок p53 мутирован [1], что позволяет использовать достаточно широкий диапазон биологических и химических методов по его активации или восстановлению его функции.

Активация белка p53 приводит к выполнению им одной из двух функций: запуску апоптоза либо остановке клеточного роста [2]. p53-Зависимый апоптоз происходит по митохондриальному пути по транскрипционно-зависимому или транскрипционно-независимому механизму, либо за счет уничтожения рецепторов FAS и KILLER/DR5 путем транскрипционной активации [3]. Также p53 способен транскрипционно подавлять гены выживания клеток, такие как Bcl-2, сурвивин, IGFR, Mcl-1 и PIK3CA посредством различных механизмов, перечисленных выше [4]. С другой стороны, вызванная p53 остановка клеточного цикла в основном обеспечивается за счет увеличения концентрации проапоптотических белков p21, Gadd45, 14-3-3σ и PTGFβ путем прямого связывания с ДНК или ее трансактивации [5]. Другие p53-зависимые противораковые механизмы включают активацию ускоренного клеточного старения [6], ингибирование ангиогенеза [7] и регуляцию аутофагии [8].

Белок p53 имеет тетрамерную структуру [9, 10] и действует как транскрипционный фактор. Мономер p53 имеет ярко выраженную доменную структуру [11] и содержит (рис. 1): трансактивационный (ТА) домен, богатый пролином SH3-домен, ДНК-связывающий

домен, домен, ответственный за олигомеризацию и регуляторный домен. При помощи своего ДНК-связывающего домена p53 взаимодействует с нуклеотидными последовательностями цепи ДНК, активируя транскрипцию генов [10].

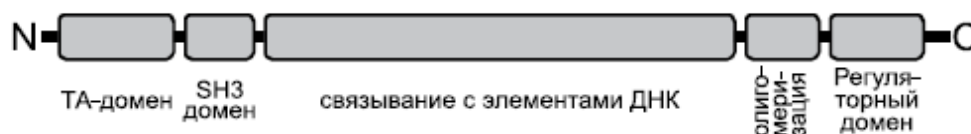


Рис. 1. Основные функциональные домены белка p53 [11]

Известно [11, 12], что белок p53 запускает экспрессию белков, обладающих следующими функциями: а) белки, участвующие в контроле клеточного цикла; б) белки, участвующие в процессах репарации ДНК; в) белки, предотвращающие ангиогенез; г) белки – антиоксиданты; д) белки, регулирующие метаболизм; е) белки – индукторы апоптоза.

Наиболее важной является последняя группа белков, которые при активации способны запускать различные пути клеточной смерти. К этой группе относятся проапоптотические белки Bax, NOXA, PUMA и некоторые другие [11]. Основным путем клеточной гибели, контролируемым белком p53, является митохондриальный механизм апоптоза [13]. Митохондрии – это органоид, энергетический центр клетки, ответственный за окисление питательных веществ и получение энергии, необходимой для нормальной жизнедеятельности животной клетки. Проапоптотические белки (Bax, NOXA, PUMA), а также непосредственно белок p53, взаимодействуют с мембраной митохондрии, вызывая уменьшение толщины ее стенки. Это приводит к выбросу цитохрома C из митохондрии в цитоплазму. Цитохром C взаимодействует с некоторыми белками цитоплазмы клетки, которые запускают каскадный процесс по активации различных каспаз [14]. Каспазы разрушают цитоскелет, что приводит к неминуемой гибели клетки.

Таким образом, p53 способен вызвать гибель клетки. Активация белка p53 возможна при воздействии различных онкогенов, УФ-излучения, радиации, некоторых лекарственных препаратов, связывающихся с ДНК (например, цисплатина) [11]. Передача сигнала на белок p53 происходит по нескольким путям. Прежде всего, активация p53 происходит за счет фосфорилирования аминокислотных остатков p53 (Ser15, Ser20). В случае разрыва цепи ДНК при γ -облучении происходит распознавание повреждений сложным комплексом белков (Rad1, Rad9, Hus1) [15]. Этот комплекс далее активирует АТМ-киназу, которая фосфорилирует белок p53 по сериновым остаткам, тем самым запуская описанный ранее механизм апоптоза. При облучении ДНК УФ-светом разрушаются водородные связи между нуклеотидными последовательностями ДНК. В

результате становится невозможной транскрипция гена, закодированного на данном участке ДНК, что может привести к серьезным нарушениям в работе клетки, в том числе и к преобразованию данной клетки в раковую. При считывании информации РНК-полимеразы «натывается» на поврежденный фрагмент и не может продвинуться дальше по цепи. Возникает сложный каскадный процесс по активации ATR-киназы, которая в свою очередь активирует p53, также фосфорилируя его сериновые фрагменты. Стоит отметить, что схожие процессы происходят при связывании ДНК с цитостатическим препаратом цисплатином [11].

При некоторых повреждениях генетического аппарата активируются процессы репарации ДНК; в то же время при накоплении повреждений происходит смещение равновесия в сторону активизации белка p53 и саморазрушения клетки. Таким образом, существует сложная система взаимодействий между белками и ДНК, которая контролирует жизненные процессы и гибель клетки.

2.2. Белок-белковое взаимодействие p53 – MDM2

Разрушение белка p53 происходит по убиквитин-зависимому и убиквитин-независимому механизмам. Убиквитин-независимый механизм заключается в расщеплении белка в 20S протеасоме, которая, в свою очередь, регулируется NADH-зависимой оксиредуктазой NQO1 [16]. В случае клеточного стресса происходит «закрывание» протеасомы, что приводит к накоплению белка p53. Убиквитин-зависимый механизм зависит от активности E3-лигаз и происходит за счет 26S протеасом. Убиквитин – белок с небольшой массой (8,5 кДа), вызывающий деградацию некоторых белков в протеасомах. Важнейшей и наиболее изученной убиквитин-лигазой, контролирующей активность белка p53, является белок MDM2 [17].

Известно, что в ответ на возникновение клеточного стресса уровень белка p53 повышается по посттрансляционному механизму, приводящему в итоге к остановке клеточного цикла или апоптозу. При отсутствии клеточного стресса количество p53 в клетке контролируется негативным регулятором белка p53 – белком MDM2. Белок MDM2 связывается с аминокислотными остатками p53, вызывая убиквитин-зависимую деградацию p53 [18]. Таким образом, белки p53 и MDM2 связаны друг с другом по механизму обратной связи, то есть при увеличении концентрации белка p53 наблюдается уменьшение концентрации белка MDM2 и наоборот. В организме человека белок MDMX (также известный как MDM4) является структурным гомологом MDM2, однако не имеет убиквитинирующей активности и способен связываться с N-концевым доменом p53, и

либо непосредственно дезактивирует его функцию, либо помогает MDM2 дезактивировать p53 путем образования гетеродимера с MDM2 [19].

Как было сказано ранее, MDM2 является E3-убиквитин-зависимой лигазой, которая приводит к уничтожению белка p53 в 26S протеасомах. Стоит также отметить, что MDM2 сам по себе является продуктом транскрипции генов белком p53. Таким образом, между данными белками существует отрицательная обратная связь [11].

2.3. Ингибиторы p53- MDM2 взаимодействия

В литературе описан ряд попыток регуляции нарушения функционирования p53-зависимого механизма. Они включали такие подходы как создание низкомолекулярных ингибиторов p53-MDM2 взаимодействия, p53-зависимую генную терапию, а также использование соединений, способных связываться с мутантным p53 и восстанавливать его функции.

Важнейшим толчком к развитию низкомолекулярных ингибиторов p53-MDM2 взаимодействия послужила разработка молекулы 4,5-дигидроимидазолина (Нутлина). В работе [Ошибка! Источник ссылки не найден.] на основании данных по молекулярному моделированию было показано, что молекула Нутлина-3 способна встраиваться в небольшой гидрофобный карман белка MDM2, имитируя три аминокислотных остатка в белке p53 (Phe19, Trp23 и Leu26), которые являются наиболее важными фрагментами связывания. Кристаллическая структура одного из изомеров Нутлина (Нутлин-3а) в I сайте связывания с MDM2 в настоящий момент используется как модель для создания новых ингибиторов p53-MDM2 белок-белкового взаимодействия [21] (рис. 2).

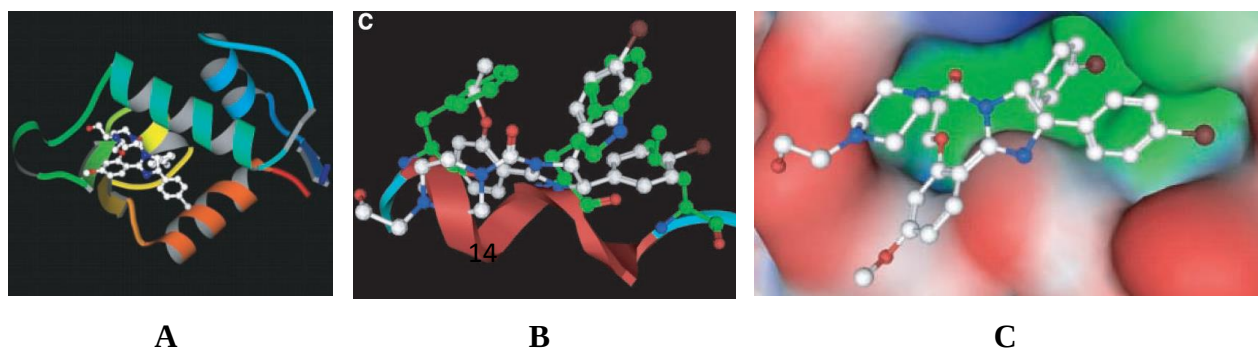


Рис. 2. А. Фрагмент белка MDM2 с ингибитором *Nutlin- 3a*, расположенным в сайте связывания p53. В. Наложение *Nutlin-3* (углеродные атомы обозначены белым, атомы азота синим, кислорода красным и брома в коричневом цвете) и аминокислотных фрагментов Phe19, Trp23 и Leu26 белка p53. С. Поверхность сайта связывания p53 - MDM2 (углубления обозначены зеленым, выпуклые участки красным), показывающие одну бромфенильную группу, расположенную глубоко в кармане Trp [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Нутлин-3, в виде рацемической смеси, на р53-экспрессирующих клеточных линиях имеет величину цитотоксичности $IC_{50} = 100-300$ нМ [22]. Энантимеры были разделены на хиральной колонке и при исследовании энантимерно чистых препаратов было показано, что (-)-Нутлин-3 или Нутлин-3а является в 150 раз более эффективным ингибитором по сравнению с (+)-Нутлин-3. Синтез Нутлина фармацевтической компанией Roche включает 8 стадий с разделением на хиральной хроматографической колонке (Схема 1): первоначальное бромирование 3-метоксифенола (1), последующее алкилирование (2) с получением изопропилового эфира (3), палладий-катализируемое кросс-сочетание с образованием имида (4), который далее вступает в реакцию с *мезо*-(4-хлорфенил)этан-1,2-диамином (5), образуя имидазолин (6). Имидазолин далее реагирует с фосгеном, давая карбамоилхлорид, который затем последовательно обрабатывают пиперазином и раствором хлороводорода в эфире, в результате получая рацемический Нутлин 3. Разделением последнего на хиральной хроматографической колонке получают активный энантиомер Нутлин-3а [23].

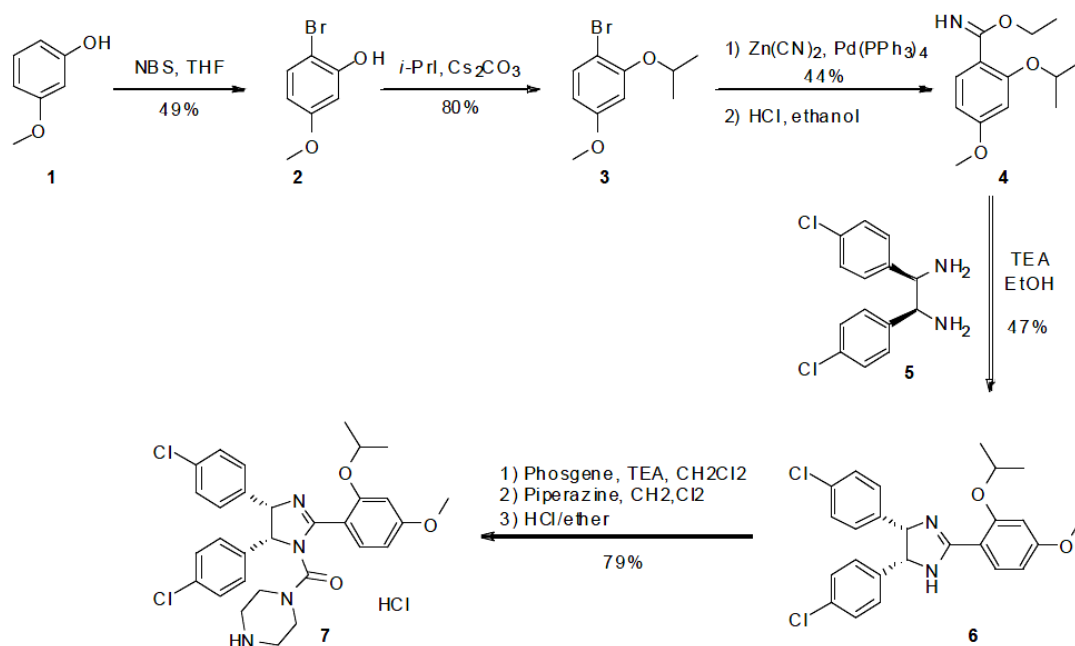


Схема 1. Синтез Нутлина 3 (соединение 7), предложенный фармацевтической компанией Roche [23].

Альтернативный энантиоселективный способ получения Нутлина-3а, включающий только 6 стадий (Схема 2) был предложен группой исследователей из Университета Вандербильда [24]. Первоначально путем диастерео- и энантиоселективного кросс-сочетания (1) пара-хлорнитробенизильного производного **8** и Вос-защищенного имида **9** в присутствии хирального катализатора **10** получают нитро-замещенный цис-стильбен,

который затем восстанавливают до амина (2) при помощи получаемого *in situ* бориды кобальта; амин затем ацилируют (3) с получением Вос-защищенного аминок-амида **13**. После снятия Вос-защиты трифторуксусной кислотой (4), получившийся амин ацилируют с использованием карбонилдиимидозола (5) в результате чего промежуточно получают изоцианат, обрабатываемый затем пиперазином и циклизующийся (6) в присутствии трифенилфосфиноксиды в Ti_2O с образованием целевого Нутлина-3а. Данный метод позволил сократить общее количество стадий, а также избежать стадии разделения на хиральной колонке.

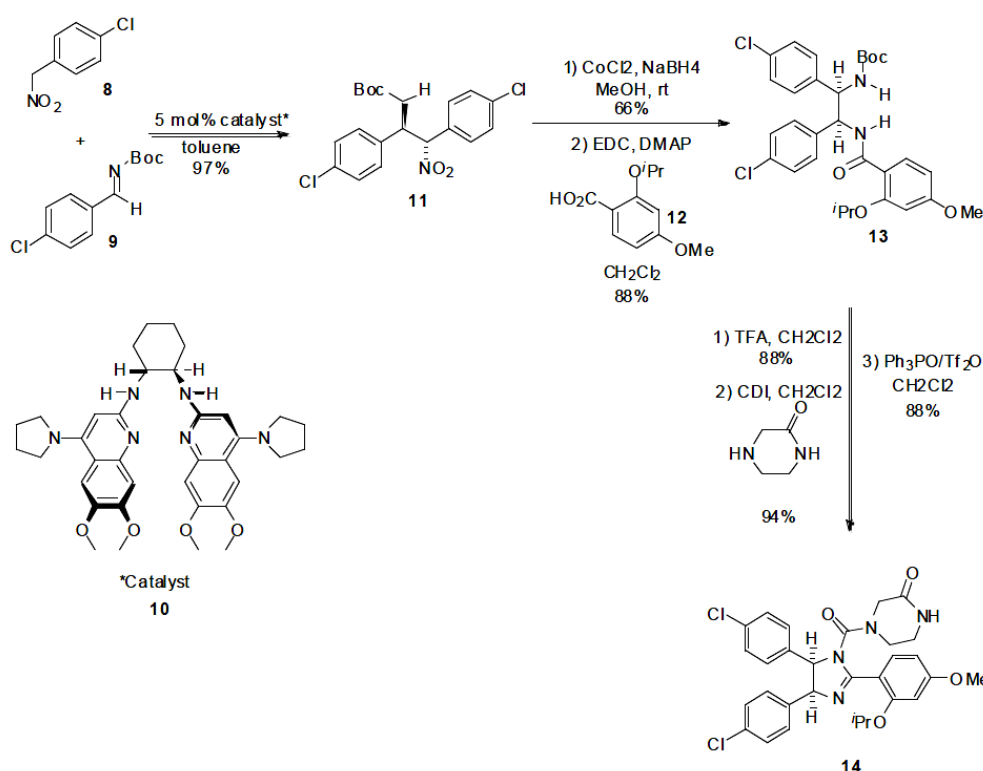


Схема 2. Синтез Нутлина-3а, предложенный группой исследователей из Университета Вандербильта [24].

Впоследствии на основе Нутлина были разработаны ингибиторы p53-MDM2 взаимодействия с улучшенными свойствами, такие как *RG7112* (Roche) [25], *MI-773* (Sanofi) [26], *DS-3032b* (Daiichi Sankyo) [27], которые в настоящий момент проходят I фазу клинических испытаний. Доклинические испытания в настоящий момент проходит соединение *PRIMA-1* (Novartis) [28], которое восстанавливает активность мутантного p53. Высокую биологическую активность показали такие аналоги Нутлина как бензодиазепиндионы (Johnson & Johnson, 80 nM) [29], хроменотриазолпиримидины (Amgen, 1.2 μM) [30], терфенилы (Йельский университет, 182 nM) [31] и халконы (Институт Макса Планка, 49 μM) [32].

Наиболее близкими к синтезируемым в данной работе являются соединения, полученные группой ученых под руководством Шаоменг Ванга из Мичиганского Университета [33]. На основе данных по молекулярному докингу для этих структур было предложено промоделировать триптофановый фрагмент в белке p53 спирооксиндольным фрагментом, который за счет большей конформационной жесткости способен обеспечить лучшую аффинность к белку MDM2. Данный класс соединений может быть получен показанным на Схеме 3 способом с высокой стереоселективностью. Первоначально проводили реакцию конденсации ароматических галогенпроизводных с оксиндолами либо в присутствии основания при кипячении, либо с использованием микроволнового излучения, получая (*E*)-3-арил-1,3-дигидроиндол-2-он **15**, который далее вводили в реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения с алифатическим альдегидом **16** и оптически активным (5*R*,6*S*)-5,6-дифенилморфолин-2-оном **17** в толуоле. Полученный продукт **18** очищали колоночной хроматографией и затем обрабатывали раствором диметиламина в ТГФ и далее – ацетатом свинца (IV) с получением амида **19** с количественным выходом. Абсолютная конфигурация продукта была подтверждена данными PCA [34].

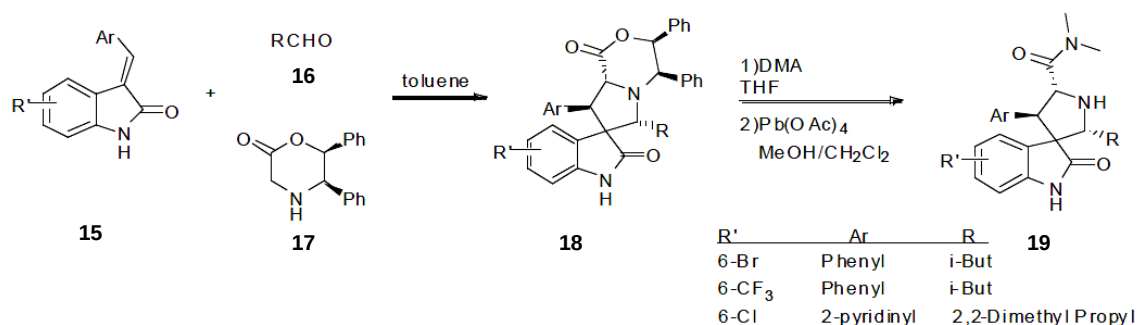


Схема 3. Общая схема синтез соединений серии МІ (соединения **19**), предложенная группой исследователей из Мичиганского Университета [34].

Полученные соединения показали значительный цитотоксический эффект на клеточной линии рака простаты LNCap с $IC_{50} = 86$ нМ, а на клеточной линии колоректального рака HCTwt с $IC_{50} = 22$ мкМ. На основании данного метода была синтезирована большая библиотека спиропроизводных, наиболее активные из которых представлены на Схеме 4. Соединения МІ-43 (**20**), МІ-63 (**21**) и МІ-219 (**22**) показали прекрасное связывание с белком MDM2 ($K_i \sim 5.7$ нМ), а соединение МІ-219 (**22**) было признано селективным ингибитором p53-MDM2 взаимодействия в связи с его способностью вызывать клеточный апоптоз в опухолевых клетках, не затрагивая при этом здоровые [35]. При пероральном введении на ксенографтных моделях с привитой

опухолевой линией SJSA-1, торможение роста опухоли составило 86% при двукратной дозе 200 мг/кг. Также последнее соединение обладает хорошей биодоступностью [36].

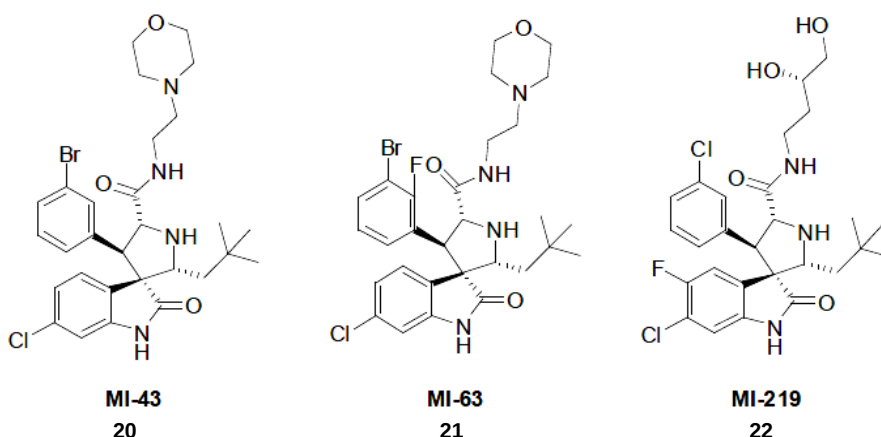


Схема 4. Наиболее активные соединения-лидеры серии MI, полученные группой исследователей из Мичиганского Университета [34].

Фармацевтической компанией Johnson and Johnson был проведен скрининг библиотеки 1,4-бензодиазепин-2,5-дионов (BDP), способных связываться с p53 доменом белка MDM2. Данные соединения могут быть получены в две стадии (Схема 5) с первоначальной многокомпонентной реакцией Уги между эквимольными количествами альдегида **23**, амина **24**, Вос-защитенной антралиновой кислотой **25** и 1-изоцианидциклогексеном **26** в метаноле с получением продукта **27**, который затем в присутствии ацетилхлорида образует целевой циклический продукт **28** [37]. Наиболее активное соединение данной группы является индивидуальным энантиомером и содержит п-хлорфенильную группу при R₁, α-карбоксибензильную группу при R₂, а также атом йода при R₃ и имеет константу связывания с белком MDM2 K_d=80 нМ.

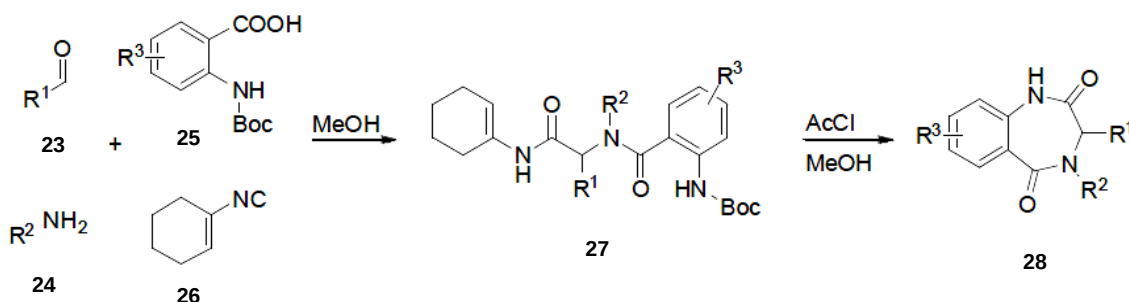


Схема 5. Общая схема синтеза соединений бензодиазепинового ряда BDP.

На следующем этапе компанией Johnson and Johnson был предпринят энантиоселективный синтез соединений бензодиазепинового ряда BDP (Схема 6). Первоначально соединение **29** вводили в реакцию алкилирования метиллитием с

образованием вторичного рацемического спирта **30**, который реагировал с хлорангидридом камфорной кислоты с образованием рацемической смеси двух энантиомеров. Эти энантиомеры затем перекристаллизовывали, выделяя сложный эфир **33**, который далее гидролизovali, вводили в реакцию Мицунобу с фталимидом, а затем снимали фталимидную защиту гидразином с образованием амина **35**. Амин был затем использован в реакции Уги с последующей циклизацией, описанной выше, далее смесь диастереомеров была разделена колоночной хроматографией, после чего алкилирование по атому азота привело к получению необходимого соединения **36** [38], структура которого была подтверждена методом РСА.

Далее соединение **36** было модифицировано путем введения карбоксиалкильных групп по незамещенному амидному атому азота, а также заменой нитро-группы на амино-группу. Полученное соединение показало более высокую по сравнению с исходным активность в поляризационном флуоресцентном иммуноанализе (0.25uM по сравнению с 0.85uM), поскольку наличие амино-группы обеспечивало связывание с карбонильным атомом Val93 в белке MDM2, однако оно показало меньшую активность в экспериментах по цитотоксичности, возможно из-за своего цвиттер-ионного строения, которое ограничило возможность проникновения сквозь клеточную мембрану. Авторами также были предприняты попытки по введению в целевую молекулу морфолиновой и изопропилокси-групп, однако данные замены привели к снижению цитотоксичности и потере активности.

Группой ученых под руководством Александра Домлинга из Питтсбургского Университета совместно с Тадом Холаком из Института Макса Планка был предложен интересный подход к созданию ингибиторов p53-MDM2 взаимодействия с использованием мультикомпонентной реакции Уги [39,40].

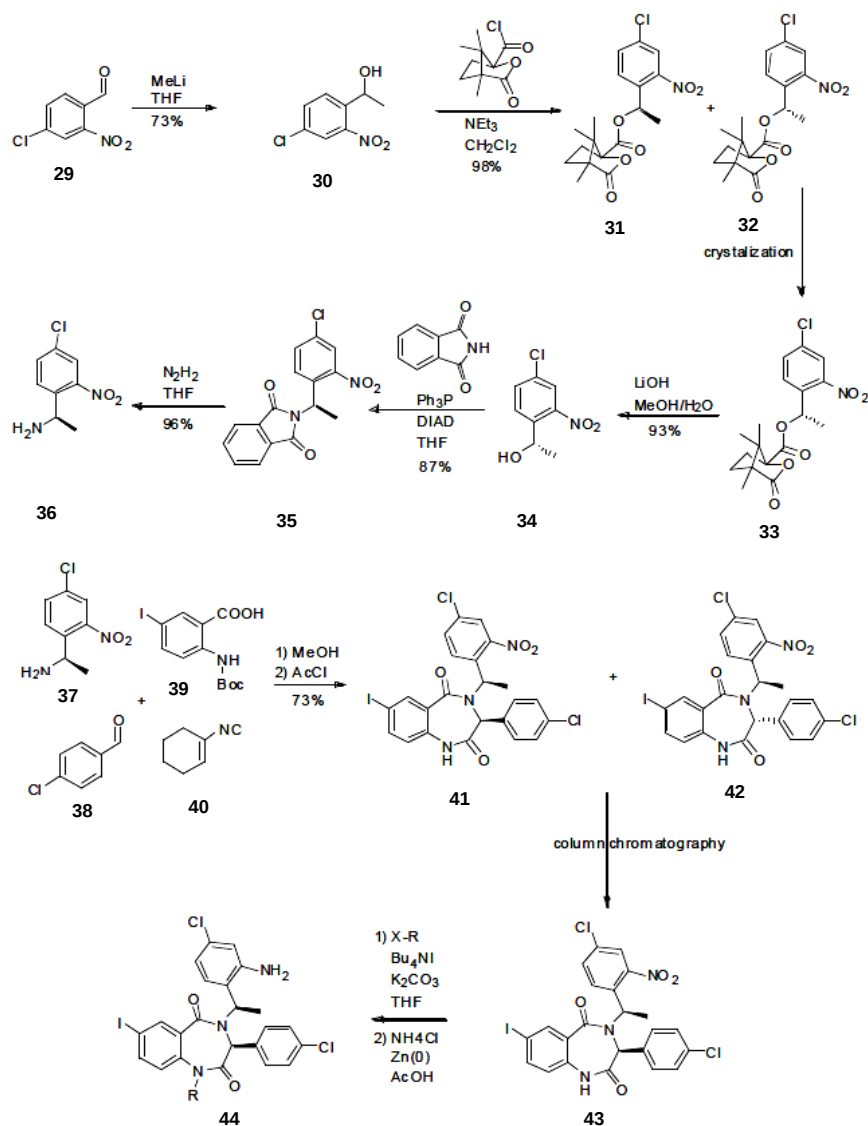


Схема 6. Общая схема энантиоселективного пути синтеза соединений BDP бензодиазепинового ряда.

Авторами была получена серия соединений с использованием четырехкомпонентной или четырехкомпонентной пятицентровой реакции Уги. (Схема 7). Четырехкомпонентная реакция Уги протекала при смешивании эквивалентных количеств этил-6-хлориндол-2-карбоксилата **45**, бензиламина **46**, муравьиной кислоты **47** и соответствующего изоцианида **48** в метаноле. Полученный сложный эфир **49** гидролизвали с получением кислоты **50**.

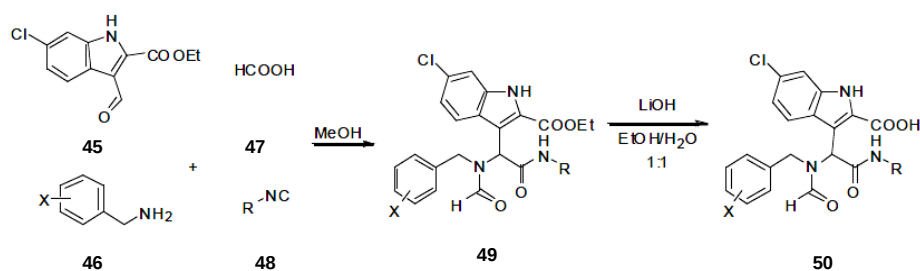


Схема 7. Общая схема синтеза ингибиторов p53-MDM2 взаимодействия полученных реакцией Ути [40] .

Путем молекулярного докинга было установлено, что в сокристаллической структуре молекулы **50** с белком MDM2 имеется π - π -стекинг взаимодействие между фрагментом бензиламина в молекуле ингибитора и His96 фрагментом белка. На основании этих данных авторами была получена библиотека из 19 возможных изомеров с различным положением атома фтора в бензильном положении [41]. Соединения были исследованы на связывание с белком MDM2 в виде рацемических смесей, однако лишь одна из синтезированных молекул, имеющая в составе 3,4,5-трифторбензиламинный заместитель, оказалась активной и показала константу связывания 130 nM^{-1} .

Еще одним интересным примером синтеза ингибиторов p53-MDM2 взаимодействия является синтез хроменотриазолпиримидинов [42]. Первоначальная альдольная конденсация альдегида **51** и метилкетона **52** в щелочной среде позволяет получить гидроксикалкон **53**, который затем конденсируется с 4Н-1,2,4-триазол-3-амином при нагревании с получением соединения **55** в виде смеси двух таутомеров. Нужный таутомер енамина может быть выделен путем затирания в хлороформе. Конденсация соединения **55** с различными альдегидами при нагревании или в кислой среде в феноле позволяет получить соединение **56** в виде смеси изомеров. После метилирования соединения **56** по атому азота образуется 11-метилхроменотриазолпиримидин в виде рацемической смеси *анти*- и *син*- изомеров, которые могут быть разделены колоночной хроматографией.

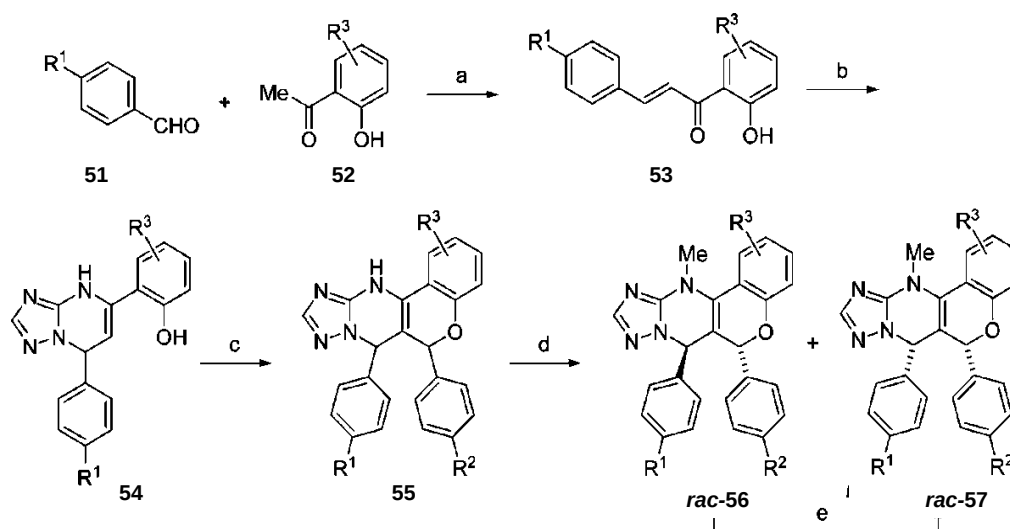


Схема 8. Общая схема синтеза ингибиторов p53-MDM2 взаимодействия на основе хроменотриазолпиримидинов. Условия: (a) EtOH, KOH, 16 ч, rt, 69-93%; (b) 4H-1,2,4-триазол-3-амин, 30 мин, 160°C, 53-100%; (c) ArCHO, 10 мин, 160°C или ArCHO, Sm(OTf)₃, TFA, DMF, 3 ч, 70°C, 14-100%; (d) Cs₂CO₃, MeI, 0°C до комнатной температуры, 4 ч, от 1:3 до 10:1 анти/син; хроматографическая очистка 2-77%; (e) 120-160°C, DMSO, 1-4 ч; хроматографическая очистка [42]

Наилучшие значения цитотоксичности при анализе методом однородной флуоресценции с временным разрешением (HTRF assay) показало соединение с R₁ = Br и R₂ = Cl (IC₅₀ = 0.89±0.20 μM).

2.4. Методы получения спироиндолинонов

В настоящий момент соединения, содержащие изатиновый фрагмент, являются популярными целями для синтеза в связи с высокой реакционной способностью, а также коммерческой доступностью и дешевизной изатина. Благоприятным является тот факт, что изатин структурно повторяет триптофановый аминокислотный фрагмент, и это может быть использовано в синтезе различных биологически активных молекул. Уникальность изатина заключается в возможности его использования в реакциях как с нуклеофилами, так и электрофилами [43].

Наиболее широко распространенным применением изатинов в органическом синтезе их является модификация по C3 карбонильному углероду, также являющимся прохиральным центром. Реакции по C3 карбонильной группе, в основном протекающие по механизмам нуклеофильного присоединения или спироаннелирования, позволяют получить производные 2-оксииндолов. Спирооксиндолы являются привлекательными синтетическими мишенями в связи с их общей распространенностью структуре природных соединений и биологически активных молекул [44], а также широким спектром биологической активности (модуляторы рецепторов прогестерона [45],

антиретровирусные [46], противоопухолевые [47], противотуберкулезные [48] и противомаларийные [49,50] препараты, а также MDM2 ингибиторы [51]) (Рис. 3).

Важным свойством спирооксиндолов является наличие асимметрического C3 атома углерода, что дает возможность синтезировать данные соединения с использованием хиральных катализаторов или вспомогательных хиральных агентов с высокой стереоселективностью [52].

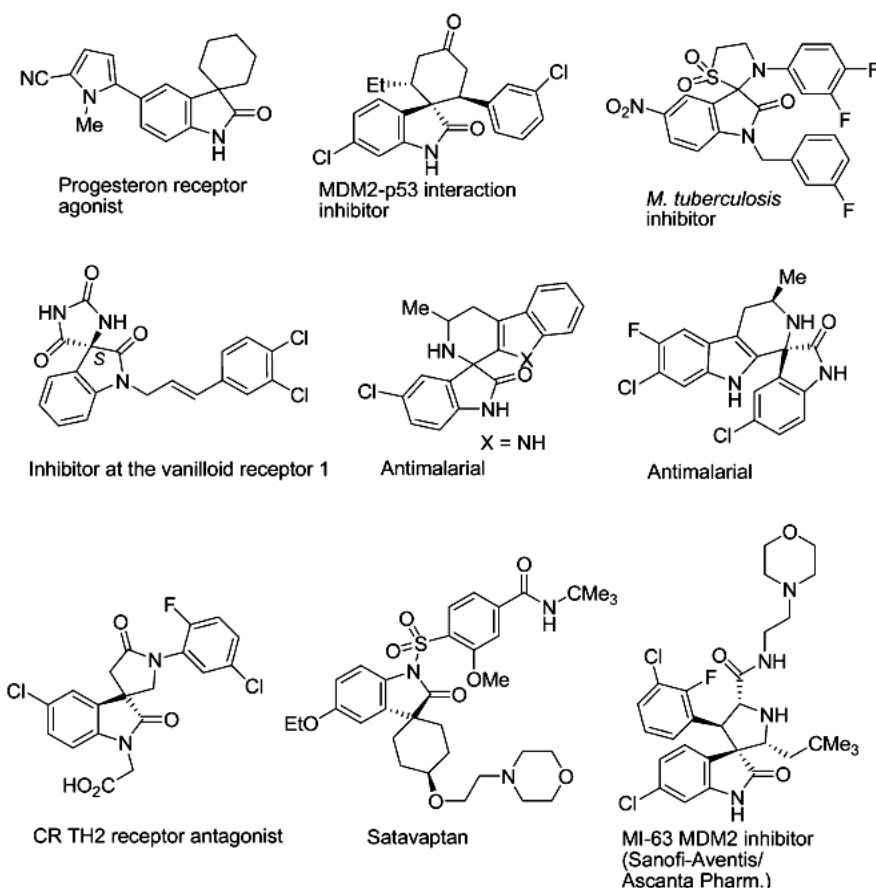


Рис. 3. Примеры биологически-активных спиропроизводных на основе 2-оксиндолов [44].

Первые природные противоопухолевые спирооксиндольные алкалоиды были выделены из растений семейств Мареновые (Rubiaceae) и Кутровые (Aporocynaceae). Важнейшим представителем этого ряда был алстонизин [53], а также спиротрипростатин, которые были синтезированы в 1996 и 1999 году соответственно [46]. Как было показано позднее, лишь один из оптических изомеров природных спиросоединения, обладает способностью препятствовать процессу роста опухолевых клеток в G2/M фазе [53]. В литературе описаны следующие синтетические подходы для создания спироиндолиноновой системы: реакции, основанные на нуклеофильной атаке по карбонильному атому углерода изатина и дальнейшей циклизации, методы, основанные

на окислительных перегруппировках, методы, основанные на расширении цикла, 1,3-диполярное циклоприсоединение.

2.4.1. Методы, основанные на нуклеофильном присоединении по С3 карбонильному атому и дальнейшей циклизации

Одним из самых простых способов получения спирооксиндолов является нуклеофильная атака бис-нуклеофилов по карбонильному атому углерода изатина. В качестве нуклеофильных агентов могут быть использованы алифатические [54], гетероциклические [55] и ароматические диамины [56], двухатомные спирты [57] и дитиолы [58] в апротонных растворителях. Интересным примером служит также реакция изатина с 2-нитробензамидом в присутствии хлорида олова (II) [59], в результате которой возможно получение спирохиназолинон-оксиндолов (Схема 9). Хлорид олова (II) выполняет роль восстановителя нитро-группы, а также, после окисления до хлорида олова (IV), - активатора карбонильной группы изатина. Образующийся в результате реакции изатинимин претерпевает внутримолекулярную циклизацию с образованием целевого продукта с высоким выходом. Однако, данная методика не описана для незамещенных изатинов или изатинов с другими заместителями в ароматическом кольце, а кроме того, указанные продукты можно получить альтернативным одностадийным путем трехкомпонентной реакции изатинов, аминов и ангидридов N-карбоксиантраниловой кислоты [60].

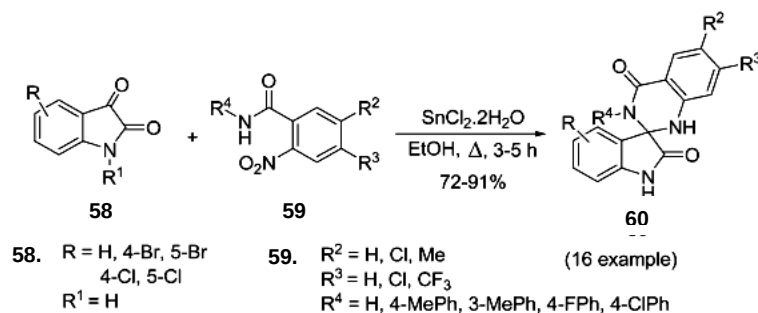


Схема 9. Общая схема получения спирохиназолинон-оксиндолов [60].

Реакция изатина с 2-аминотиофенолом позволяет получить спиро-бензотазолин-оксиндолы путем кипячения реагентов в сухом ксилоле в присутствии хлорида цинка (II) [61]. Однако, данная реакция идет с низкими выходами: так, наибольший выход был получен для N-метилизатина и составил 42%.

При кипячении в воде 2-гидроксинафталин-1,4-она и изатина в мольном соотношении 2:1 в присутствии каталитических количеств *n*-TsOH возможно получение спиро[дibenzo[b,i]-ксантен-1,3,3'-индолин]-2',5,7,12,14-пентаонов с 80%-м выходом

(Схема 10) [62]. В результате первоначального присоединения 2-гидроксинафталин-1,4-она к изатину образуется интермедиат **61**, который затем вступает в реакцию со вторым эквивалентом 2-гидроксинафталин-1,4-она с образованием продукта **62**. В дальнейшем данное соединение циклизуется в кислой среде с образованием целевого продукта **60**. Схожая работа по циклизации изатина и 2,6-диаминорпиримидин(3Н)-4-онов в присутствии *n*-TsOH с получением производных спиро-пиридодипиримидин-оксиндолов была опубликована Жади́ди с сотрудниками [63].

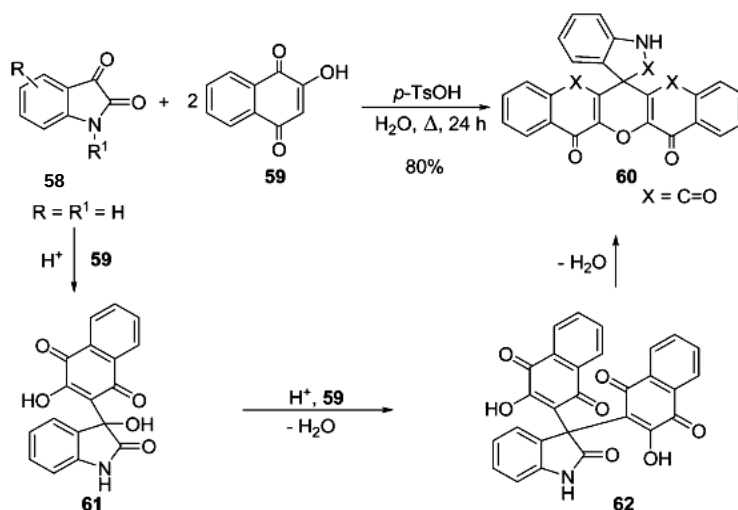


Схема 10. Общая схема получения спиро[дибензо[*b,i*]-ксантен-1,3,3'-индолин]-2',5,7,12,14-пентаонов [63].

Использование изатинов в качестве карбонильной компоненты в реакции Пикте-Шпенглера [64] с аминами позволяет получить такие спироазагетероциклические производные как спиро-β-тетрагидрокарболин-оксиндолы (Схема 11) [50]. При увеличении длины углеродной цепи амина становится возможным получение семи- и восьмичленных спироазагетероциклов с отличными выходами.

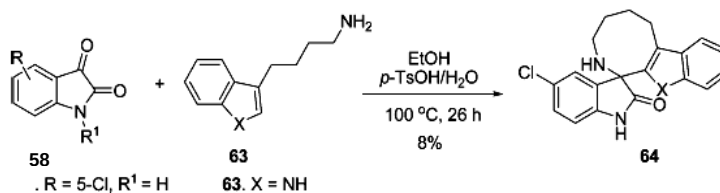


Схема 11. Пример получения спиро-гексагидроазоцен-оксиндола [50].

При реакции изатинов с карбонилгидразидом в ледяной уксусной кислоте возможно первоначальное получение 3-карбонилгидразона **65**, который путем окислительной циклизации образует спиро-1,3,4-оксадиазолин-оксиндол **66** (Схема 12) [65]. Последующая обработка гидразином позволяет получить спиро-продукт **67**.

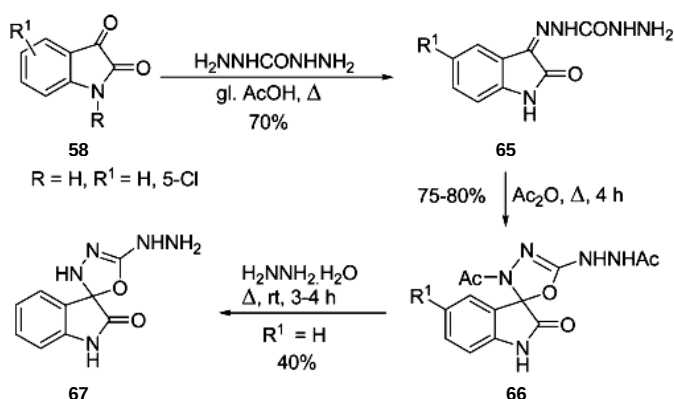


Схема 12. Пример получения спиро-1,3,4-оксадиазолин-оксиндола [65].

Также был описан метод создания спироциклического фрагмента с использованием радикальной циклизации амидов в присутствии трибутилстаннана (Схема 13) [66].

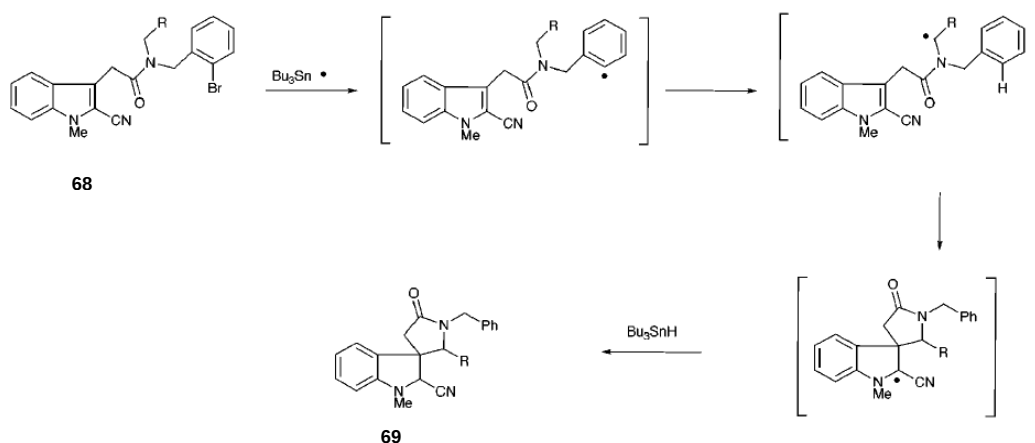


Схема 13. Механизм радикальной циклизации амидов с целью получения спирооксиндолов [66].

Первоначально при взаимодействии трибутилстаннильного радикала и амида образуется арильный радикал, который далее в ходе переноса радикального центра и внутримолекулярной циклизации образует спиропроизводное **69**. Необходимо отметить, что данная реакция не является стереоселективной, протекает в высококипящих растворителях при температуре около 170°C, в качестве инициатора используется азобисизобутиронитрил (AIBN). В связи с тем, что ингибитором реакции выступает кислород, то необходима предварительная дегазация с помощью инертного газа. Выход продукта составил 30%.

2.4.2. Методы, основанные на окислительных перегруппировках

В 2003 году был предложен метод синтеза спиротрипростатина А (Схема 14) [66], который ранее выделялся исключительно из плесневых грибов *Aspergillus fumigatus*.

Первоначально, исходя из 6-метокси-триптофана **71** был получен β -карболин **72**, из которого далее постадийно, используя межмолекулярную реакцию Манниха, окислительную перегруппировку тетрагидро-*b*-карболинов, радикальную циклизацию, внутримолекулярную реакцию Хека, диполярное циклоприсоединение, получали целевой продукт **73**. Спиро- фрагмент был получен путем NBS-катализируемой окислительной перегруппировки соответствующего β -карболина.

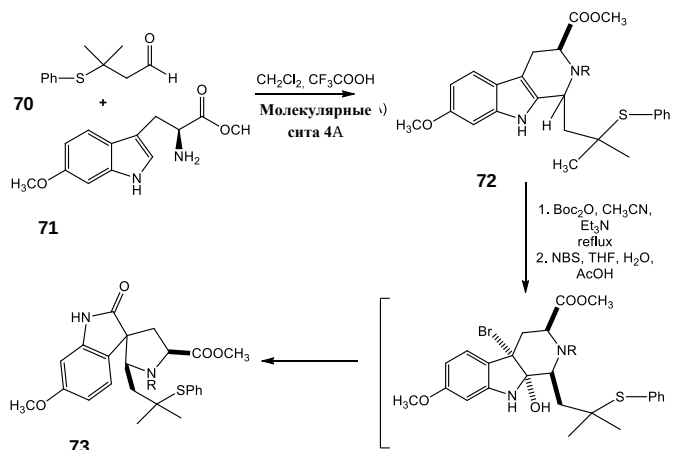


Схема 14. Схема синтеза спирофрагмента спиротрипостатина А

Суммарный выход продукта для данного метода в расчете на 3 стадии составил 12% [67].

2.4.3. Методы, основанные на расширении цикла

Альтернативным методом синтеза спироиндолинонов является раскрытие циклопропанового фрагмента в присутствии MgI_2 . Исходным субстратом является спироциклопропилоксиндолон **75**, который вводят в реакцию с имином **74**. Иодид магния одновременно играет роль кислоты Льюиса и донора нуклеофила. Кареира и сотрудники [68] предложили следующий механизм данной реакции (Схема 15):

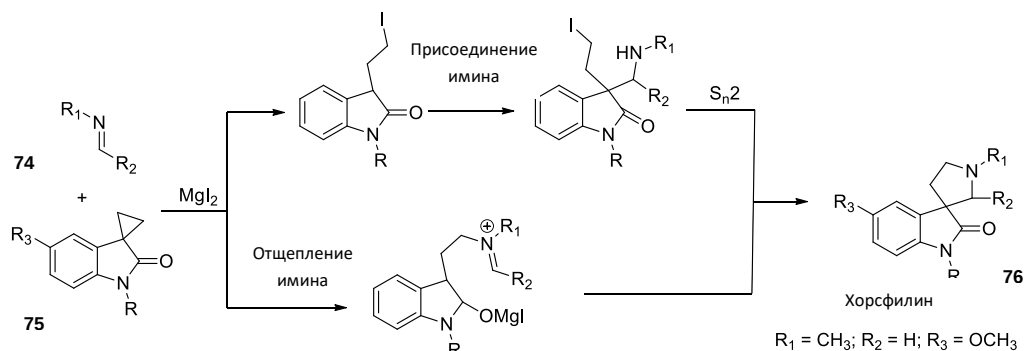


Схема 15. Схема синтеза хорсфилина при помощи расширения цикла в присутствии MgI_2 [68]

Использование данного метода позволяет получать продукты с препаративными выходами (общий выход хорсфилина **76** в 5-стадийном синтезе составляет 41%), однако к недостаткам данного метода относят получение продукта в виде рацемической смеси, а также малая доступность и сложность синтеза исходного имида и циклопропильного производного. При помощи данного метода были получены такие природные соединения как хорсфилин [69] и стрихнофолин [70].

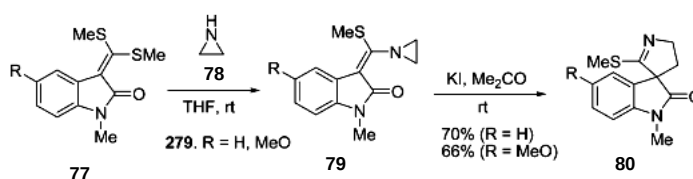


Схема 16. Схема расширения цикла с получением спиро-оксиндола [71]

Удобным методом синтеза спироиндолинонов является использование реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения. Данный метод впервые был описан Вильямсом и Себехаром на примере трехкомпонентной реакции между морфолиноном, алифатическим альдегидом и оксиндолиденацетатом (Схема 17) [72]. Первоначально в реакции между морфолиноном и альдегидом образуется хиральный илид в виде *E*-изомера, который далее в результате реакции с индолиноном образует энантимерно чистое спиропроизводное со стереохимией природного продукта. Выход реакции циклоприсоединения достигает 82%, однако суммарный выход невелик из-за сложного получения субстрата для реакции. Так, для получения спиротрипростатина В необходимо 9 стадий (Схема 17).

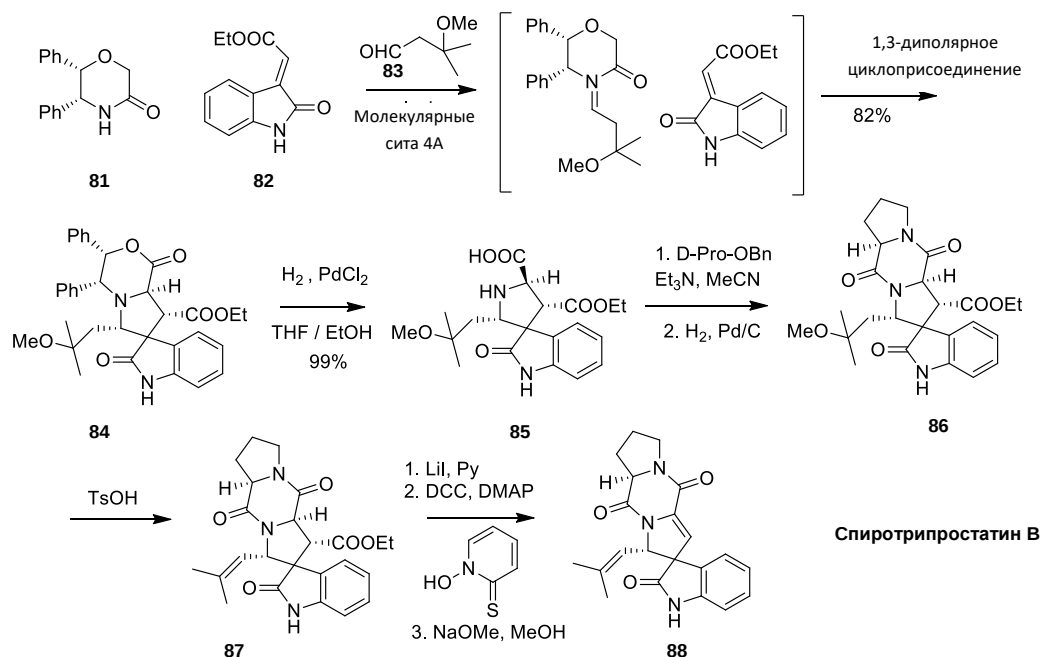


Схема 17. Схема получения спиротрипостатина В с использованием реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения [66]

Первым примером получения диспироиндолинонов является использование реакций [3+2]-циклоприсоединения карбонилилидов, катализируемых солями двухвалентного родия. Так, при реакции производных 3-диазооксиндола **89**, бензальдегида **90** и 3-бензилидениндола-2-она **91** в сухом дихлорметане в присутствии 5 мольных % $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ при комнатной температуре был получен диспироиндолинон с высокими выходами (до 86%) и диастереоселективностью (Схема 18) [66].

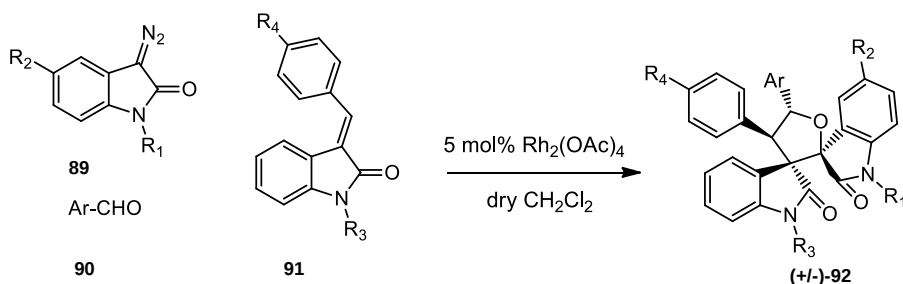


Схема 18. Реакция [3+2] циклоприсоединения, катализируемая солью родия [66]

Данная реакция идет с первоначальным образованием металлоорганического производного, которое затем, образуя карбонилилид, вступает в реакцию с 3-бензилидениндоли-2-оном с получением целевого диспироиндолинона (Схема 19).

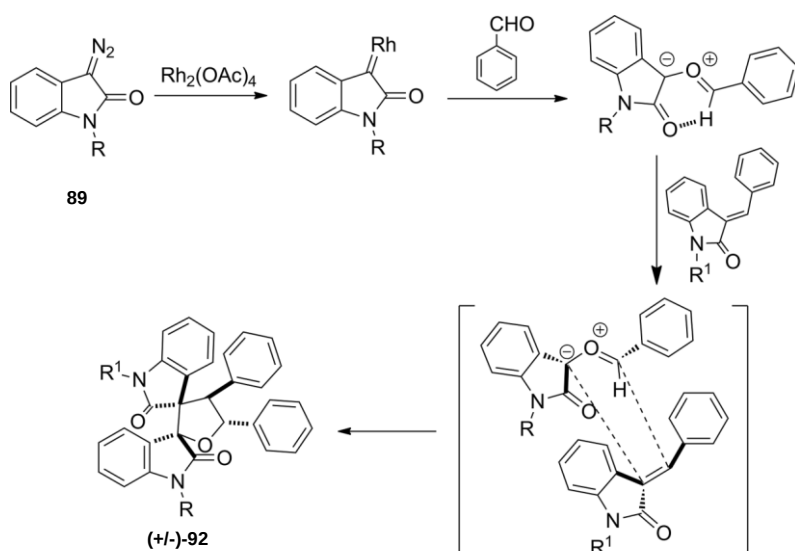


Схема 19. Схема реакции спироциклизации при катализе тетраацетатом родия [66]

Данный метод прост в исполнении, приводит к получению желаемого соединения с высоким выходом (72-88%) однако его использование осложнено применением соединений родия и исходных замещенных диазооксиндолов.

Путем домино-реакции между 3-арилоксиран-2,2-карбонитрилом **93** и изатином возможно получение *цис*- и *транс*-спиро-1,3-диоксолан-окиндолов **94** и **95** соответственно (Схема 20), причем *цис*-изомер является основным продуктом [73]. Реакция проводится либо в кипящем толуоле, либо при микроволновом излучении без растворителя. Механизм реакции, рассчитанный методом DFT, заключается в первоначальном термическом разложении оксирана с генерацией иланда и последующим [2+3]-циклоприсоединении изатина к образовавшемуся илиду.

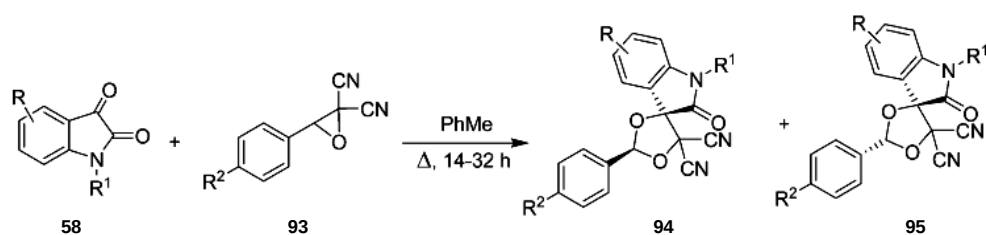


Схема 20. Домино-реакция между 3-арилоксиран-2,2-карбонитрилом **93** и изатином **58** [73]

Еще одним примером 1,3-диполярного циклоприсоединения [74] служит [2+3]-циклоприсоединение нитрилидов **97**, получаемых катализируемой основанием реакцией

имидоилхлоридов **96**, с N-замещенными изатинами **58** в результате которой образуются спиро-1,3-оксазолин-оксиндолы **98** (Схема 21) с выходами 63-94%.

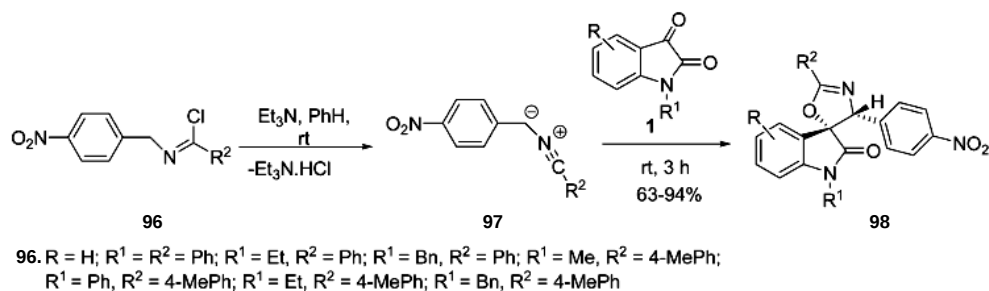


Схема 21. Получение спиро-1,3-оксазолин-оксиндолов [74]

Реакция между эквимольными количествами изатина и метилбензоилпирувата **99** в присутствии N,N,N',N'-тетраметилгуанидина в диоксане приводит к получению спиро-оксиндолилгуанидиниевой соли **100** (Схема 22) [75]. После кислотного гидролиза возможно получение свободного 3'-ароил-4'-гидроксиспиро[индол-3,2'-фуран]-2,5'(1H)-диона **101**.

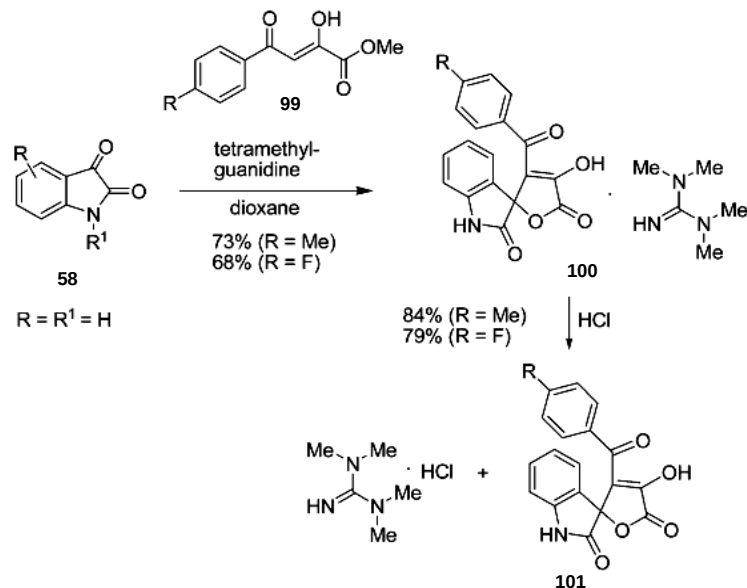


Схема 22. Получение 3'-ароил-4'-гидроксиспиро[индол-3,2'-фуран]-2,5'(1H)-диона [75]

Еще одним интересным примером [3+2]-циклоприсоединения является реакция изатина с бут-3-ин-2-оном **102** в присутствии метилдифенилфосфата в качестве катализатора, в результате которой возможно получение спиро-фуранон-оксиндолов **103** [76] (Схема 23), которые являются крайне неустойчивыми соединениями и могут разлагаться во время очистки путем колоночной хроматографии.

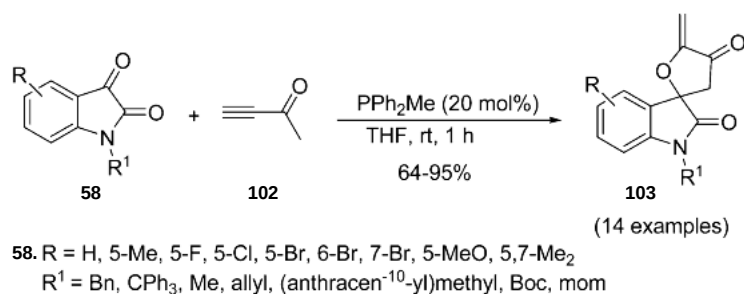


Схема 23. Получение спиро-фуранон-оксиндолов [76]

Механизм данной реакции [3+2]-циклоприсоединения заключается в первоначальном 1,3-гидридном сдвиге в цвиттер-ионном интермедиате **104**, образующемся при взаимодействии енина **102** с катализатором PPh₂Me (Схема 24), в результате чего получается енолят **105**. Далее, нуклеофильная атака данного енолята по карбонильному атому изатина дает интермедиат **106**, который циклизуется с образованием илида **107** и затем после элиминирования катализатора дает продукт **103**. Данный механизм был подтвержден при помощи введения дейтериевой метки.

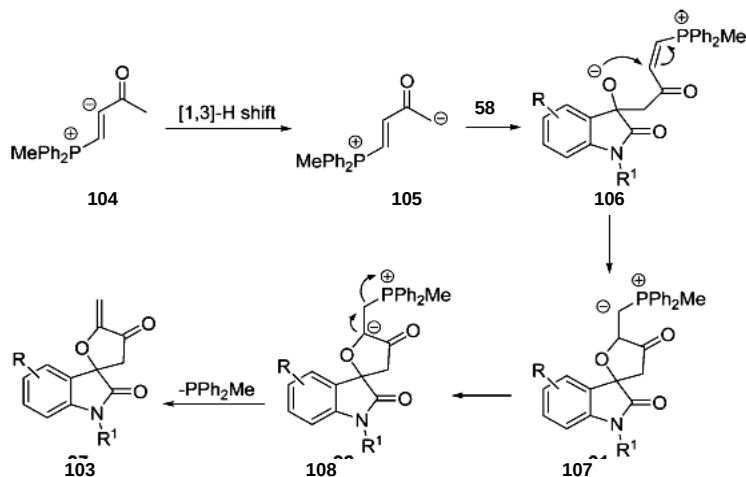


Схема 24. Механизм реакции получения спиро-фуранон-оксиндола **103** [76]

Реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов, генерируемых путем конденсации изатина и α-аминокислот с дальнейшим декарбоксилированием, и активированных олефинов представляет собой эффективный метод создания пирролидин-содержащих спиросочлененных 2-оксиндолов. Первой работой по этой теме, опубликованной в 1980 году, было описание стереоспецифичного присоединения азометинида **110**, полученного из изатина и пипиколиновой кислоты, к нитрилу фумаровой кислоты (Схема 25) [77], в результате чего был получен спиропирролидин-оксиндол **111**.

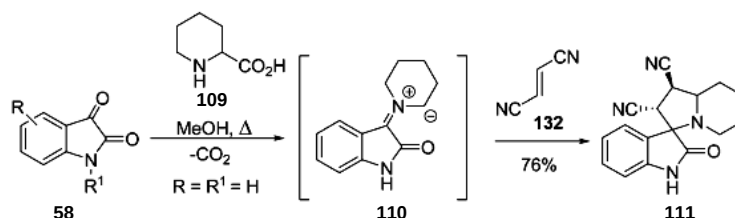


Схема 25. Схема реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с получением спиропирролидин-оксиндола **111** [77]

В дальнейшем в качестве аминокислот для формирования азометинилидов были использованы пролин и другие α -аминокислоты, а в качестве диполярофилов – метилакрилат и некоторые другие α,β -незамещенные кетоны [78]. Группой исследователей под руководством профессора Рейна был предложен трехкомпонентный способ получения спиро-пирролидин-оксиндолов **114** (Схема 26) исходя из изатина, различных α -аминокислот и диполярофилов **113**.

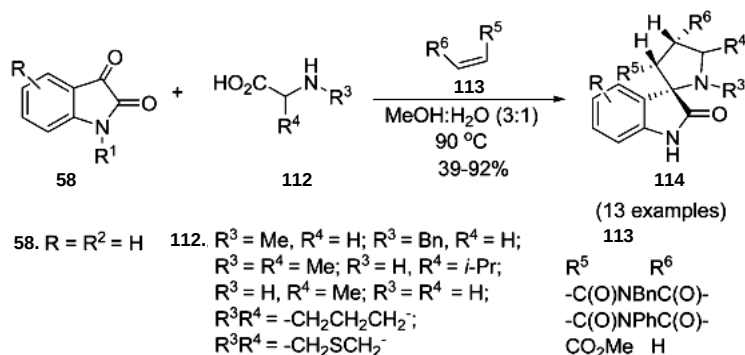


Схема 26. Схема реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с получением спиропирролидин-оксиндола **114** [78]

Интересный метод циклоприсоединения илидов, получаемых из N-метилглицина и изатина, к акрилоилпиран-2-онам был предложен Ши с сотрудниками [79]. Данный метод отличают высокие выходы 87-97% и региоселективность (99/1). Также в литературе описано несколько примеров циклоприсоединения алкенов к азометинилидам, получаемым *in situ* из саркозина и изатина при декабоксилировании, в результате чего возможно получение спиро-пирролидин-оксиндолов [80]. Так, циклоприсоединение илида **115** к 3,4-дифенилциклобутен-1,2-диону **116** позволяет получить продукт **117** (Схема 27). При получении продукта в метаноле возможно дополнительное образование циклоаддуктов с пятичленным фрагментом **118** и **119**.

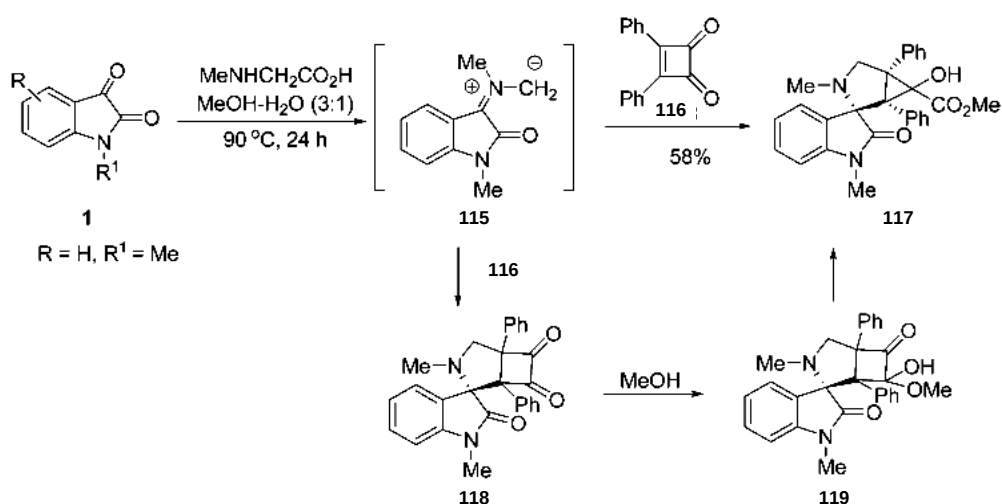


Схема 27. Схема реакции 1,3-дипольного циклоприсоединения с получением спиропирролидин-оксиндолов [80]

В качестве возможных дипольрофилов в реакциях 1,3-дипольного циклоприсоединения к азометинилидам, получаемым из изатина и саркозина, могут быть использованы 3-ацетил-2*H*-хромен-2-оны [81], 2-арилиден-1,3-индадионы [82], 2-(2-оксиндолин-3-илиден)-малононитрилы [83], а также производные сахаров [84], стероидов [85] и ферроцен-содержащие кетоны [86].

Для генерирования илидов, помимо использования саркозина, возможно также применение меркаптоуксусной кислоты. Так, при реакции меркаптоуксусной кислоты **121**, изатина и 4-(6,7-дигидротиено[3,2-с]пиридин-5(4*H*)-илсульфонил)анилина **120** возможно получение спиротиазолидинон-оксиндола **122** (Схема 8) [87]. Альдольная конденсация *D*-глюкозы **124** и 4-хлорбензальдегида с 4-тиазолидиноновым производным приводит к образованию соответствующих 4-алкилзамещенных производных **123** и **125**. Далее полученное соединение **123** может быть модифицировано с введением дополнительного гетероциклического фрагмента.

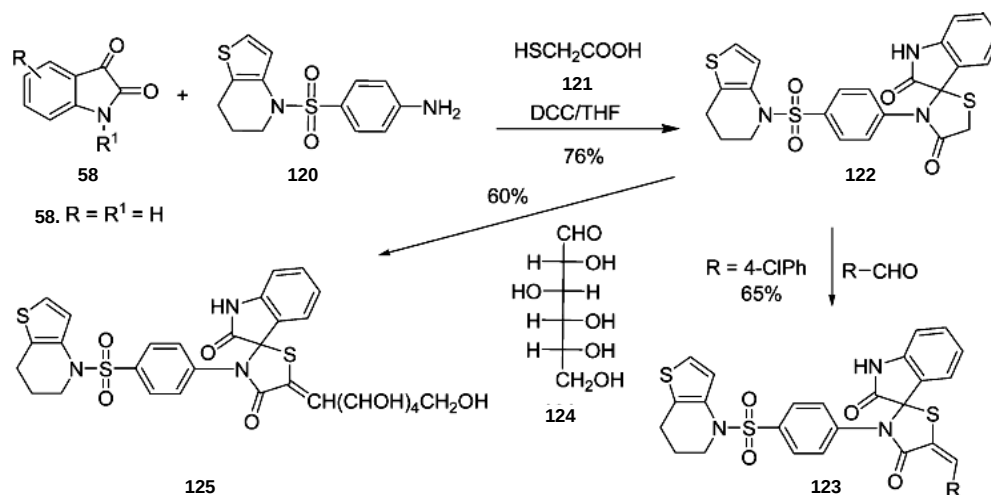


Схема 28. Реакция 1,3-дипольного циклоприсоединения с получением спиропирролидин-оксиндолов [87]

Примером получения диспиропроизводных может служить описание [2+3]-региоселективного циклоприсоединения азометинилидов **126**, получаемых из изатина и саркозина, к 5-арил-2,10-бис(арилметил)-2,3,6,7,8,9-гексагидро-5Н,10Н-циклогептано[1,2d]тиазоло-[3,2-а] пиридин-3-онам **127** (Схема 29) [88].

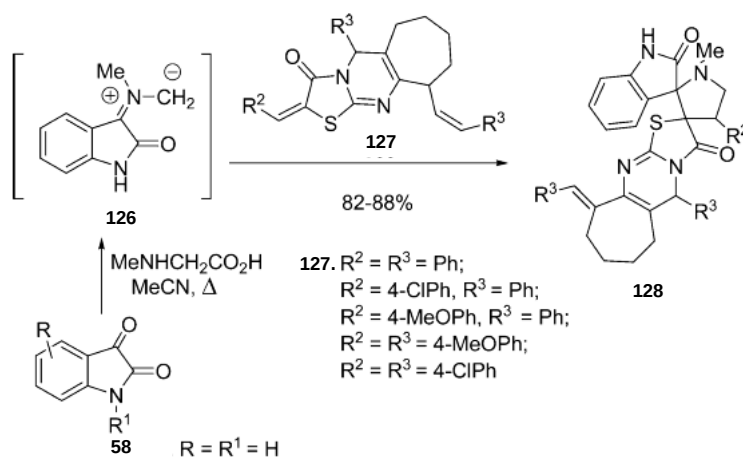


Схема 29. Реакция 1,3-дипольного циклоприсоединения с получением диспиропирролидин-оксиндолов [88]

Еще одним примером 1,3-дипольного циклоприсоединения служит работа, в которой к 3-алкилзамещенным изатинам **129** присоединяли хлороксимы **130** в присутствии триэтиламина или цинка, с получением спиро-гетероциклических аддуктов **131** с выходами 71-94% (Схема 30) [89]. Структура продуктов была подтверждена при помощи РСА.

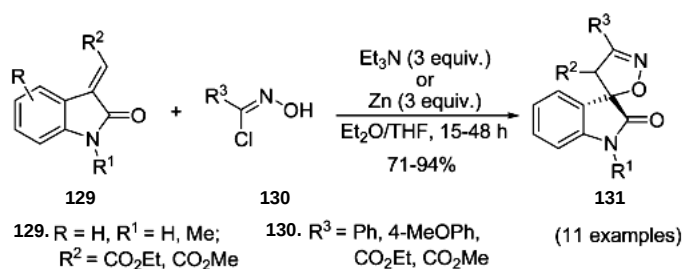


Схема 30. Реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения с получением оксиндолов **131** [89]

2.5. Способы получения оптически активных спироиндолинов по реакции асимметрического 1,3-диполярного присоединения.

Известно, что современные лекарственные препараты, имеющие ассиметрический атом углерода, чаще всего применяются в энантиомерно чистом виде [90]. Таким образом, разделение препаратов на оптические изомеры и повышение энантиомерного избытка являются важными задачами.

Наиболее важной целью разделения соединений на оптические изомеры является повышение их биологической активности, так как один из энантиомеров в большинстве случаев проявляет лучшую активность по сравнению с другим [90]. К настоящему моменту большинство методов получения спироиндолинов, описанных ранее в разделе 2.4 обзора, позволяют получать продукты в виде рацемических смесей. Однако, было описано несколько методов энантиоселективного циклоприсоединения которые приводят к достижению энантиомерного избытка, в некоторых случаях достигающему 100%.

2.5.1. Использование оптически активного субстрата

Впервые в работе Вильямса (Схемы 17, 31) [68,91] был осуществлен полный асимметрический синтез спиротрипростатина В. Данный метод заключался в первоначальном образовании из оптически активного морфолинона **17** хирального диполя, из которого далее, в связи с пространственной нагрузкой молекулы и возможностью подхода плоского диполярофила к плоскому диполю преимущественно с одной стороны, в результате 1,3-диполярного циклоприсоединения, был получен хиральный продукт. Далее исходя из полученного соединения был синтезирован спиротрипростатин В. Подход с введением дополнительного хирального центра очень эффективен, так как позволяет получать продукты реакции с 100% энантиомерным избытком и высокими выходами.

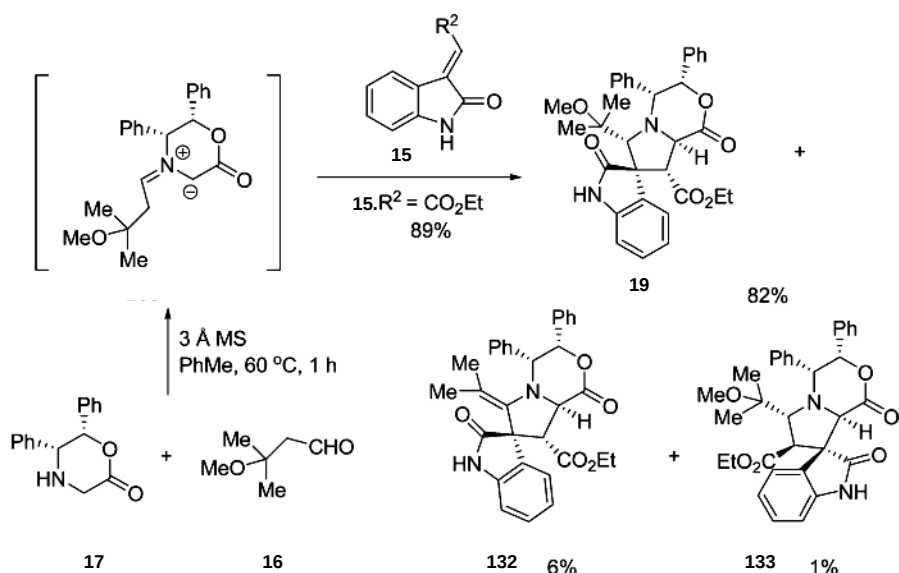


Схема 31. Получение спиротрипостатина В с использованием хирального субстрата [91]

Строение и конфигурация всех трех продуктов были подтверждены данными РСА.

Схожий подход был позднее использован в работах группы под руководством Ванга, в которых 3-арилиден-2-оксиндолы **15** вступали в реакцию с альдегидами [92] (Схема 32). Структура продукта **18** был подтверждена данными РСА и ему была приписана (2'R, 3S, 4'R, 5'R) конфигурация. Далее продукт был подвергнут гидролизу морфолинового фрагмента с выделением спиро-соединения, из которого затем был получен спиро-2'-алкил-4'-арилпирролидин-оксиндол **19**.

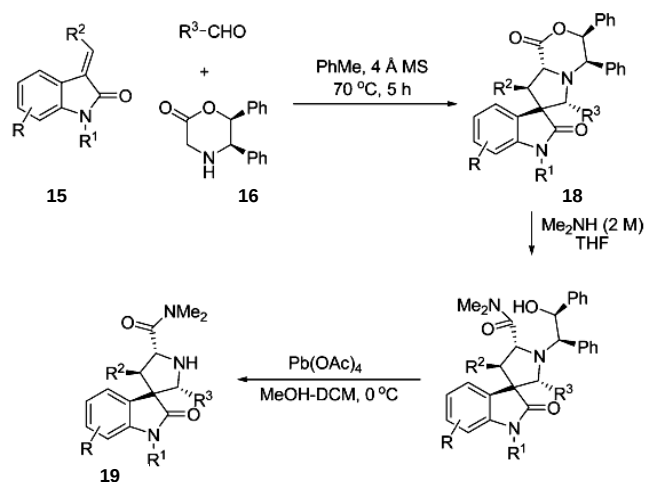


Схема 32. Получение спиро-2'-алкил-4'-арилпирролидин-оксиндолов [92]

При использовании хиральных кетиминов **134** в реакции с триметилсилил цианидами (TMSCN) в реакциях Штреккера в присутствии Льюисовских кислот, таких как ZnCl₂, SnCl₄, MgBr₂, BF₃·Et₂O [93], первоначально образуются α-аминонитрилы **135** с

хорошими выходами, но средней диастереоселективностью. При их дальнейшей обработке хлорсульфонилцианатом (CSI) получают два хиральных спиро-гидантоин-оксиндола (Схема 30). Далее проводят разделение полученных диастереомеров путем перекристаллизации из смеси *n*-гексан:этилацетат, с выделением изомера **136a** в качестве основного. При его дальнейшей обработке метансульфонокислотой получается спиро-гидантоин **137**, который используется фармацевтической компанией AstraZeneca как обезболивающее средство.

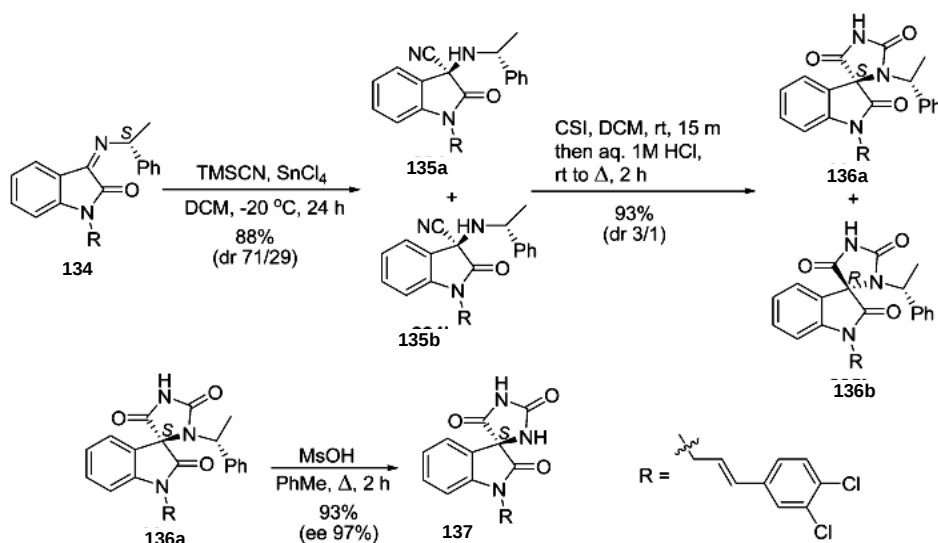


Схема 33. Получение спиро-гидантоина **137** [93]

2.5.2. Хиральный катализ

Еще одним подходом, приводящим к увеличению энантиомерного избытка в реакциях образования спироиндолинонов, является использование хиральных катализаторов. В работе Као [94] было показано, что при использовании органических катализаторов на основе тиомочевин (Схема 34) достигается высокая диастereo- и энантиоселективность реакции, а также высокие выходы.

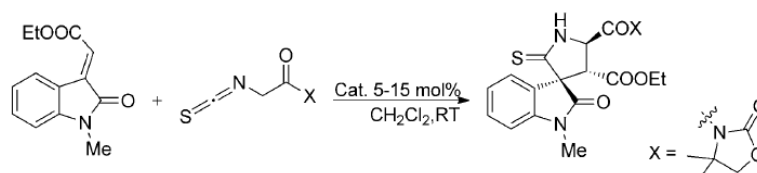


Схема 34. Реакция Михаэля с метилениндолами [94]

Реакцию проводят, как правило, в хлористом метиле при комнатной температуре. В ходе проведенных исследований было показано, что наилучшими

катализаторами в этой реакции являются производные тиомочевин, представленные на Схеме 35:

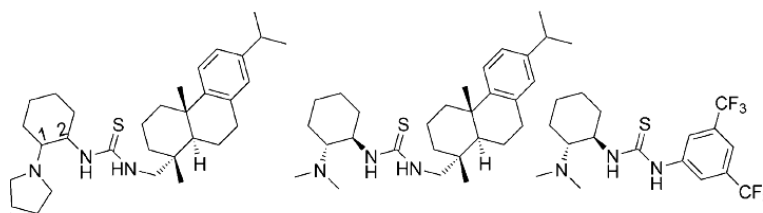


Схема 35. Катализаторы для реакции Михаэля [94]

При использовании данных катализаторов соотношение энантимеров достигает 10:1, выходы до 99%. Предполагается, что реакция протекает через переходное состояние с участием катализатора (Схема 36):

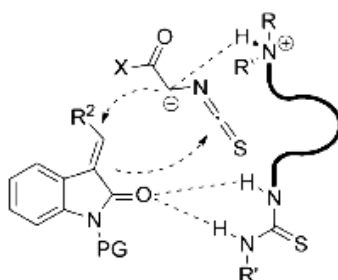


Схема 36. Переходное состояние реакции Михаэля [94]

Реакция проста и удобна в исполнении, однако требует использования большого количества (до 15 мольных %) труднодоступных катализаторов, что делает ее дорогостоящей и не позволяет масштабировать реакцию.

Еще одним примером использования в качестве органических катализаторов хиральных тиомочевин является реакция асимметрической альдольной конденсации 3-изотиоцианат-2-оксиндолов с кетонами, в результате которых образуются спиро-гетероциклические продукты с двумя стереоцентрами [95] (Схема 37) с высокими выходами и стереоселективностью.

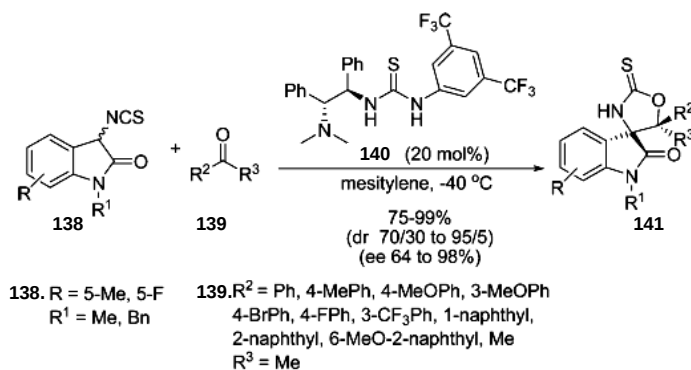


Схема 37. Получение спиро-оксиндолов **141** [95]

В более поздних работах [96] для проведения реакции между замещенными алкилиденоксиндолами **15** и изотиоцианатами **142** в качестве катализатора было

предложено использовать хиральную тиомочевину на основе природного соединения, выделенного из Цинхоны (Хинного дерева) **143** (Схема 38). Использование данного катализатора позволило получить серию оксиндолов **144** с высокими выходами и энантиоселективностью более 97%. Предполагается, что при протекании реакции катализатор активирует оба субстрата. В дальнейшем возможна замена пиразольного фрагмента на метокси-группу путем обычного метанолиза.

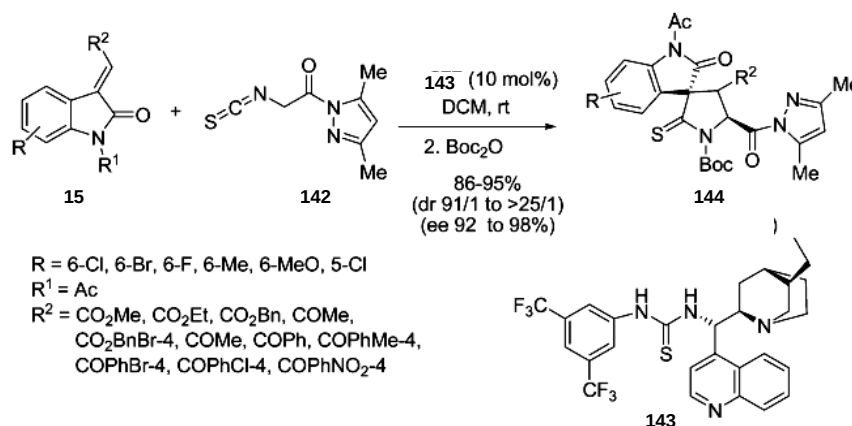


Схема 38. Пример асимметрического синтеза с использованием в качестве катализатора хиральной мочевины **143** [96]

Еще одним примером каталитического асимметрического [3+2]-циклоприсоединения является реакция изатина с аллилсиланами в присутствии хирального комплекса $\text{ScCl}_2(\text{SbF}_6)\text{-PyBox}$, в результате которой образуются спиротетрагидрофуран-оксиндолы **146** с силильной группой в тетрагидрофурановом цикле (Схема 39) с хорошими выходами и высокой энантиоселективностью [97]. Триметилсилилхлорид используется в качестве первоначального активатора реакции. В дальнейшем силильную группу можно окислить до гидроксильной с использованием перекиси.

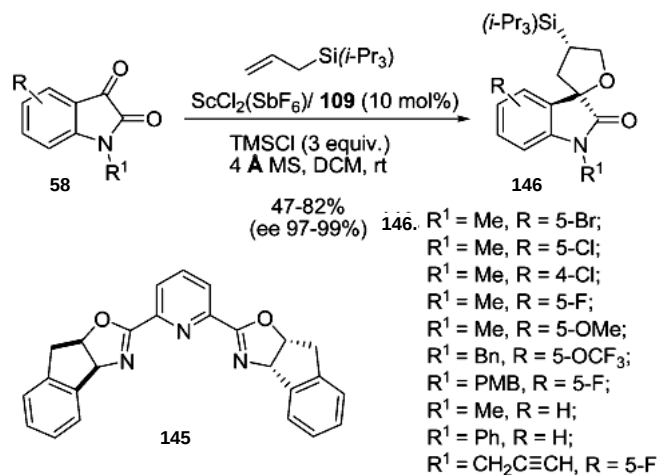


Схема 39. Получение спиротетрагидрофуран-оксиндолов с силильной группой в тетрагидрофурановом цикле [97]

Интересным примером служит реакция N-фенилизатина, пролина **147** и хирального α,β -непредельного гетероциклического амида **148**, имеющего оксазолоновый фрагмент, которая позволяет осуществить синтез спиропирролидин-оксиндола (Схема 40) [98]. При обработке единственного образующегося диастереомера продукта **149** литийборгидридом получается как энантиомерно чистый спиро-пирролидин-оксиндол **150**, так и пентациклический продукт **151** в равном соотношении.

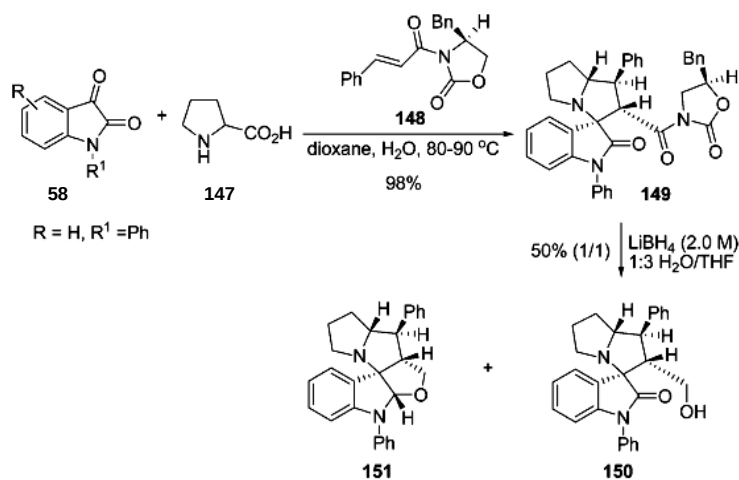


Схема 40. Получение энантиомерно чистых спирооксиндолов [98]

Для увеличения энантиомерного избытка в реакциях 1,3-диполярного циклоприсоединения могут быть использованы различные замещенные бинафтильные производные фосфорной кислоты [99]. При оптимизации методики были достигнуты *ee* до 93%, при общем выходе соединений 94%. Дополнительно в данной работе при использовании квантовохимических расчетов орбиталей по методу B3LYP/6-31G было показано, что реакция протекает преимущественно с образованием региоизомера, при образовании которого взаимодействуют наиболее близкие по энергии граничные орбитали.

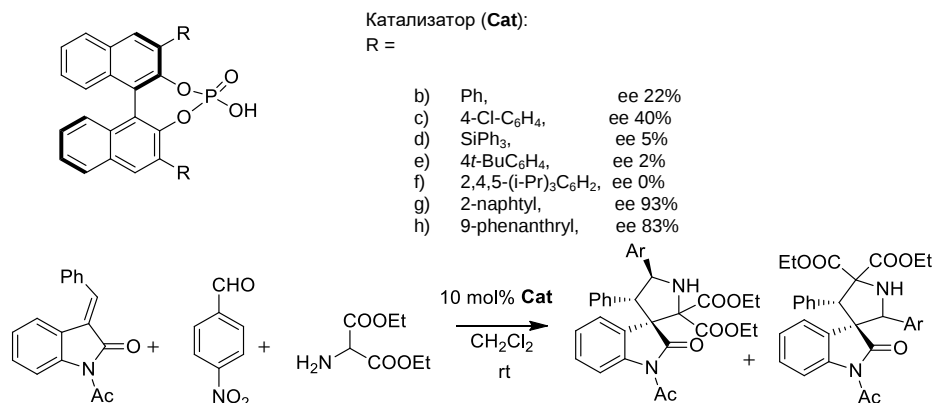


Схема 41. Реакция 1,3-дипольного присоединения с использованием хиральных бинафтилдифосфатов [99]

Хиральный катализ бинафтилдифосфатами основан на стабилизации переходного состояния и облегчении подхода диполя к дипольрофилу с одной стороны плоскости и затруднении подхода с противоположной. При обсуждении механизма в данной работе было показано (Схема 42), что за счет формирования водородных связей катализатор взаимодействует как с диполем, так и с дипольрофилом.

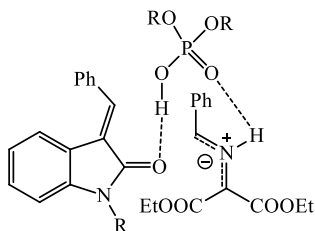


Схема 42. Предполагаемое переходное состояние в реакции 1,3-дипольного циклоприсоединения в присутствии бинафтилдифосфатов (использован метод B3LYP/6-31G) [99]

1,3-Дипольное циклоприсоединение N- замещенных 3-алкилиден-2-оксиндолов **15** к азометинидам, полученным из иминов **152**, было использовано для получения спиропирролидин-оксинодолов **154** с четырьмя стереоцентрами (Схема 43) [100]. В качестве катализатора была использована система AgOAc/TF-BiphamPhos **153**, которая позволила получить целевые продукты с высокими выходами, но средней энантиоселективностью.

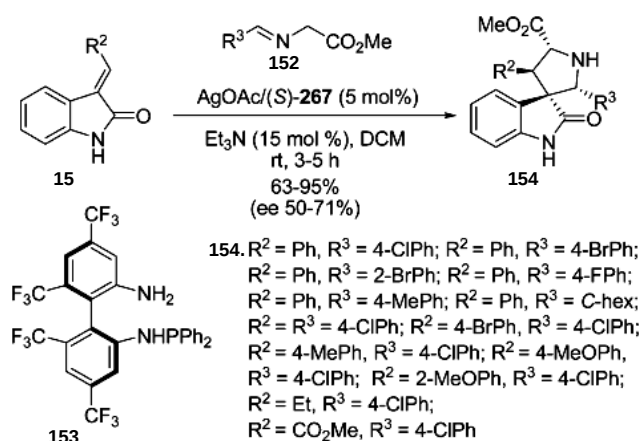


Схема 43. Пример реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения N-замещенных 3-алкилиден-2-оксиндолов к азометинидам, полученным из иминов, для получения спиро-пиirroлидин-оксинодолов [100]

Также было опубликовано несколько работ, в которых хиральный катализ реакции спироциклизации был осуществлен комплексами переходных металлов. Так, был исследован катализ различными оптически активными производными ферроценов и солями меди (II) [90]. Предполагается, что реакция происходит через образование интермедиата, который стабилизируется медью и донорными заместителями в ферроцене. Из-за присутствия объемного лиганда стабилизируется преимущественно одно из двух возможных переходных состояний, что приводит к возникновению энантиомерного избытка. Наилучший результат, достигнутый в данной работе, составил 91% *ee*.

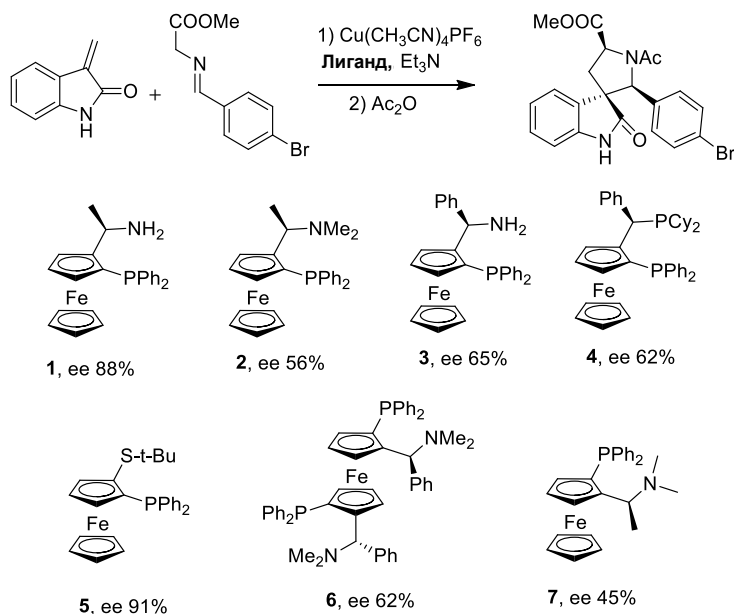


Схема 44. Использование оптически активных ферроценов в качестве катализаторов реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения [90]

Таким образом, в данной работе ферроцен не является как таковым катализатором реакции, а выступает лишь как координирующий ион меди пространственно затрудненный лиганд, облегчая протекание реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с определенной стороны и затрудняя его с другой, что приводит к появлению энантиомерного избытка.

Для хирального катализа также могут быть использованы и другие переходные металлы. Так, например, возможно использование комплексов никеля с различными объемными хиральными лигандами [101]:

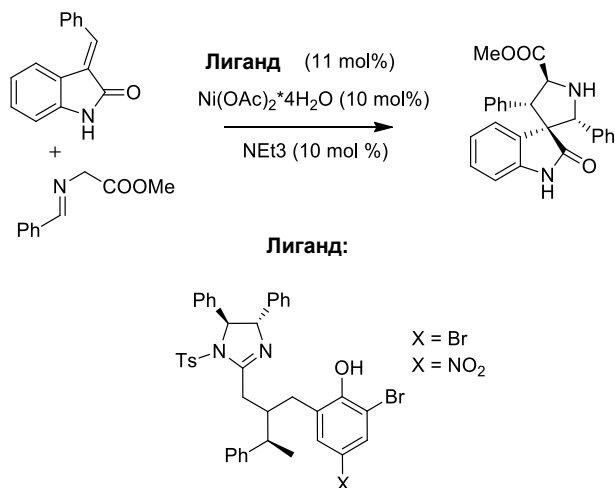


Схема 45. Пример реакции 1,3-диполярного присоединения с использованием в качестве катализаторов солей никеля и хиральных имидазолов [101].

В качестве лигандов могут быть выбраны различные замещенные хиральные имидазолы. Максимально достигнутый *ee* составил 96%.

Еще одним интересным примером хирального катализа является использование хиральных производных пролина для синтеза природного соединения Маремидина А [102]. Так, при нуклеофильном присоединении альдегидов **156** к 3-гидрокси-2-оксиндолам **155** в присутствии хирального катализатора **157** происходит образование хиральных лактамов, при дальнейшем окислении которых хлорхроматом пиридиния (PCC) образуются спиро-γ-бутиролактон-оксиндолы **158** с высоким энантиомерным избытком (Схема 46). В дальнейшем, после введения азидной группы и обработки хиральной Вос-защищенной аминокислотой, разделении на хиральной колонке и циклизации получается целевой Маремидин А в виде единственного изомера.

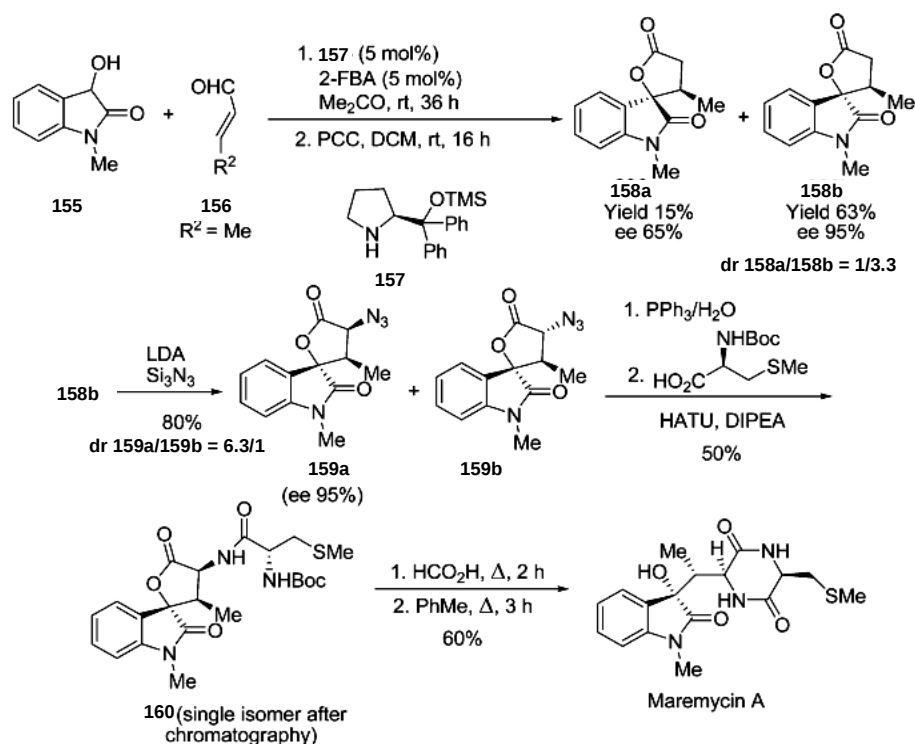


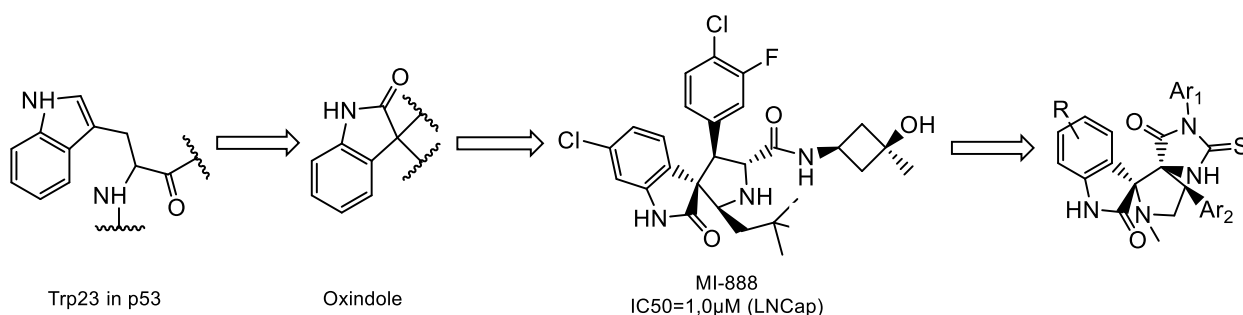
Схема 46. Синтез Маремидина А [102]

Таким образом, в проведенном обзоре литературы описаны различные известные ингибиторы p53-MDM2 белок-белкового взаимодействия, методы их синтеза, и показаны возникающие при их синтезе проблемы: большое количество синтетических стадий, необходимость хроматографической очистки продуктов, включая использование дорогостоящих хиральных колонок.

Во второй части обзора представлены различные методы синтеза спиро-оксиндолов, в основном, исходя из коммерчески доступных изатиннов (реакции, основанные на нуклеофильной атаке по карбонильному атому углерода изатина и дальнейшей циклизации, методы, основанные на окислительных перегруппировках, методы, основанные на расширении цикла, 1,3-диполярное циклоприсоединение) и сведения о биологической активности получаемых соединений. Наиболее перспективным среди описанных методов синтеза представляется 1,3-диполярное циклоприсоединение, которое, благодаря разнообразию используемых субстратов и диполярофилов, позволяет получать широкий диапазон соединений, а также в большинстве случаев приводит к получению единственного диастереомера целевого соединения.

3. Обсуждение результатов

Ранее в работах, посвященных поиску потенциальных противоопухолевых соединений – ингибиторов p53-MDM2-взаимодействия, было установлено, что триптофан в белке p53, заполняющий гидрофобный карман в MDM2, в составе низкомолекулярного ингибитора может быть заменен индолиновым фрагментом [33]. Этот гетероцикл имитирует взаимодействие Trp23 из p53 с MDM2, а дополнительное введение в потенциальные ингибиторы спиросочлененных циклов ограничивает конформационную подвижность получаемых соединений. С учетом этих данных ранее были разработаны спироиндолины ряда MI, показавшие связывание с MDM2 в наномолярных концентрациях и проявляющие противоопухолевую активность:



В отличие от вышеупомянутых соединений ряда спироиндолинов и их известных аналогов, в данной работе были разработаны синтетические подходы к получению ранее неизученного класса диспиропроизводных, также содержащих в своей структуре спироиндолиновое ядро и проявляющих хорошую аффинность к сайту связывания p53 с MDM2 [103]. Нами было сделано предположение, что наличие дополнительного спиросочленения придаст молекуле повышенную конформационную жесткость и позволит улучшить параметры связывания с белком MDM2. Для синтеза целевых молекул диспироиндолинов был выбран метод, основанный на реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов к различным 5-арилидензамещенным N,O-содержащим гетероциклам (гидантоинам, тиогидантоинам, роданинам, оксазолонам) в качестве диполярофилов.

В рамках данной работы были разработаны методы синтеза и получены серии соединений диспироиндолинового ряда структурных типов **I-VIII**:

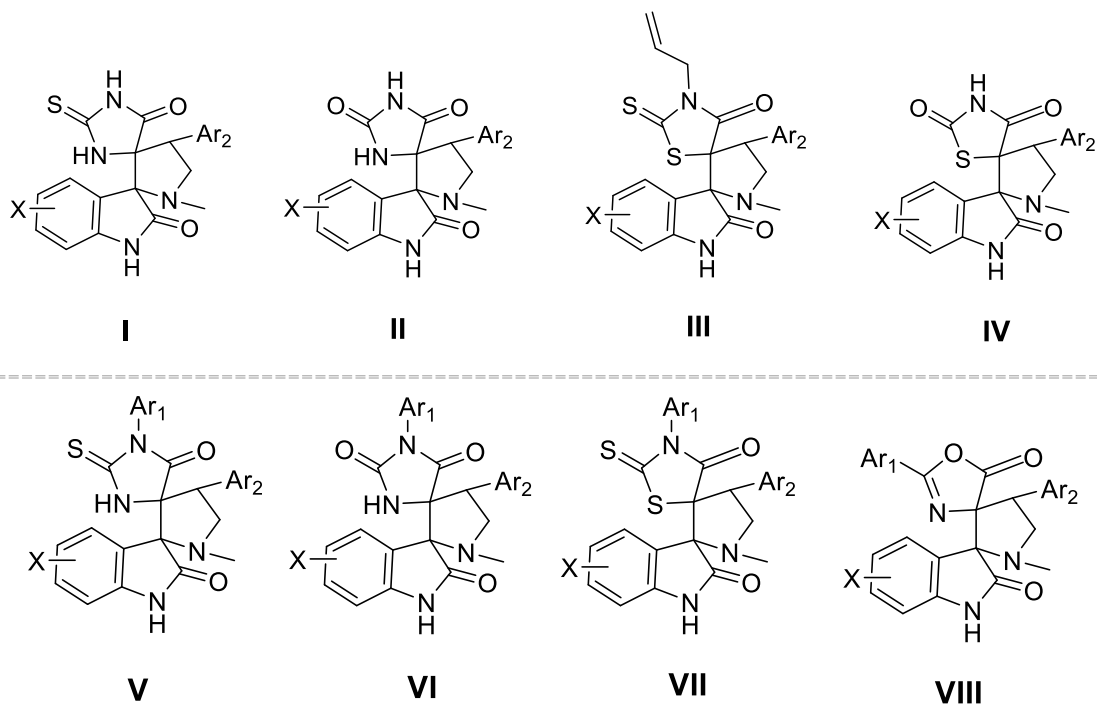


Рис. 3. Структурные типы синтезированных соединений.

Соединения структурных типов **I,V** представляют собой производные тиогидантоинов (N-незамещенных и N-арилзамещенных), структурного типа **II,VI** - производные гидантоинов (N-незамещенных и N-арилзамещенных), структурного типа **III,VII** - производные роданинов (N-аллилзамещенных и N-арилзамещенных), структурного типа **IV** – производные N-незамещенных тиазолидинов, структурного типа **VIII** – производные 1,3-оксазолонов.

Для всех синтезированных соединений как потенциальных ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2 была произведена оценка их биологической активности.

3.1. Синтез диспиропроизводных 2-тиогидантоинов

Общая схема синтеза диспиропроизводных типа **I** включает в себя первоначальный синтез 2-тиогидантоинов, который, согласно литературным данным, может быть осуществлен двумя путями: (а) одностадийным, исходя из ароматических изотиоцианатов в кислой среде (метод А), (б) двухстадийным методом, исходя из ароматических аминов как в спиртовом растворе щелочи, так и в уксусной кислоте в присутствии ацетата калия (методы В и С) (Схема 47) [104].

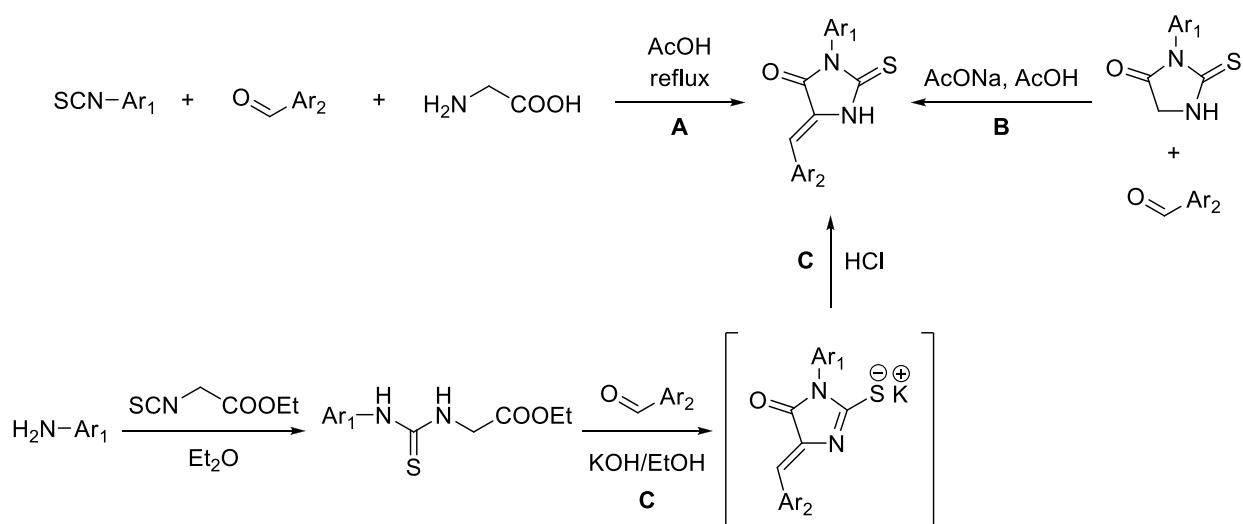
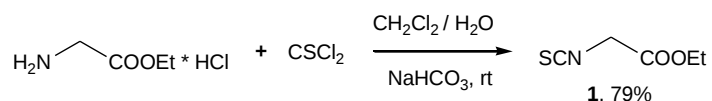


Схема 47. Синтез 2-тиогидантоинов [104]

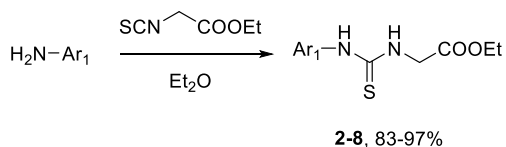
Несмотря на то, что метод А является предпочтительным с точки зрения атомэкономичности реакции и быстроты синтеза, его применение затрудняется сравнительно низкими выходами продуктов и ограниченной доступностью ароматических изотиоцианатов. Поэтому в данной работе был выбран двухстадийный путь получения 2-тиогидантоинов исходя из ароматических аминов.

Исходный изотиоцианат этилацетата был получен реакцией этилового эфира глицина с тиофосгеном:



Далее, исходя из производных анилина и изотиоциантоэтилацетата в эфире в качестве растворителя был получен ряд ароматических тиомочевин **2-8** как предшественников 5-арилидензамещенных 2-тиогидантоинов (Табл. 1).

Таблица 1. Полученные тиомочевины



№ соединения	Заместитель, Ar ₁	Выход, %
2	4-OEt-C ₆ H ₄ -	93%
3	4-HC≡CCH ₂ O-C ₆ H ₄ -	86%

4	3-C-4-F-C ₆ H ₃ -	85%
5	4-Cl-C ₆ H ₄ -	83%
6	4-F-C ₆ H ₄ -	96%
7	4-OH-C ₆ H ₄ -	97%
8	1-(1-Ph)-C ₂ H ₄ -	92%

Тиомочевины **2-8** образуются в результате нуклеофильной атаки атома азота молекулы анилина по электрондефицитному атому углерода изотиоцианогруппы (Схема 48); образующиеся продукты, в отличие от исходных соединений, нерастворимы в эфире, и выпадают из реакционной смеси в осадок, отделяемый фильтрованием.

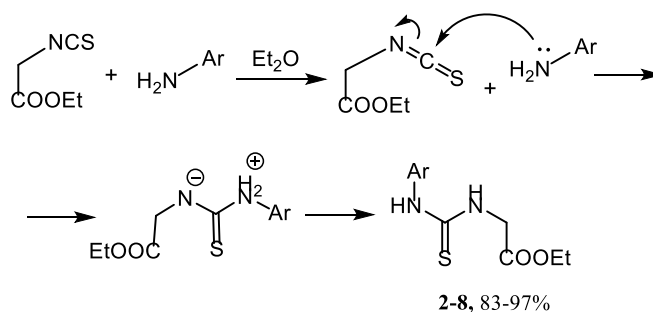


Схема 48. Механизм образования тиомочевин

Ввиду доступности фенилизотиоцианата по сравнению с замещенными арилизоцианатами, вместо реакции анилина и изотиоцианатоэтилацетата для получения 2-фенилтиогидантоина **9** использовали реакцию фенилизотиоцианата с глицином в 10%-м водном растворе щелочи, с последующим подкислением соляной кислотой (Схема 49) [105].

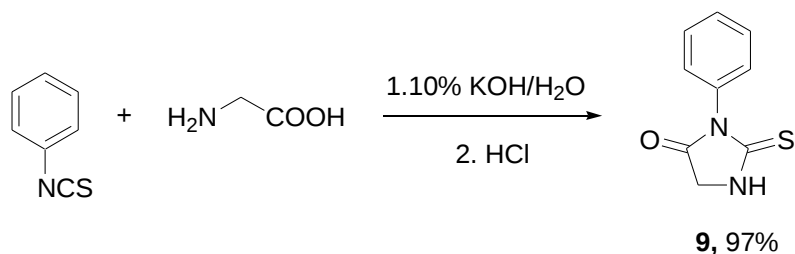


Схема 49. Синтез 2-фенилтиогидантоина [105]

На следующем этапе синтеза тиомочевины **2-8** и 2-фенилтиогидантон **9** вводили в реакции с ароматическими альдегидами в щелочной среде с последующим подкислением соляной кислотой для получения 5-арилиден-2-тиогидантоинов **10-34** (Табл. 2) .

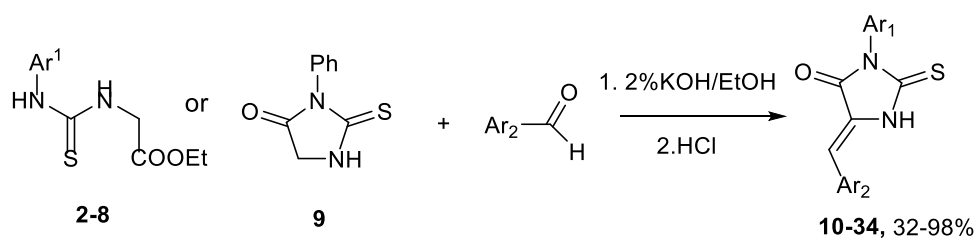


Таблица 2. Полученные 5-арилидензамещенные 2-тиогидантоины

№ соединения	Заместитель Ar ¹	Заместитель Ar ²	Выход
10	C ₆ H ₅ -	C ₆ H ₅ -	72%
11	C ₆ H ₅ -	2-Py-	78%
12	C ₆ H ₅ -	4-Py-	65%
13	C ₆ H ₅ -	2-Cl-C ₆ H ₄ -	53%
14	C ₆ H ₅ -	2-Br-C ₆ H ₄ -	58%
15	C ₆ H ₅ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	46%
16	C ₆ H ₅ -	3-CHO-C ₆ H ₄ -	77%
17	4-OEt-C ₆ H ₄ -	3-F-4-Cl-C ₆ H ₃ -	49%
18	4-OEt-C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	67%
19	4-OEt-C ₆ H ₄ -	4-F-C ₆ H ₄ -	62%
20	4-OEt-C ₆ H ₄ -	3,4-Cl-C ₆ H ₃ -	89%
21	4-OEt-C ₆ H ₄ -	4-OPropargyl-C ₆ H ₄ -	98%
22	4-OEt-C ₆ H ₄ -	3,4-OCH ₃ -C ₆ H ₃ -	88%
23	4-OPropargyl-C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	40%
24	4-OH-C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	32%
25	4-OH-C ₆ H ₄ -	2-Cl-C ₆ H ₄ -	86%
26	4-OH-C ₆ H ₄ -	3,4- OCH ₃ -C ₆ H ₃ -	46%
27	4-OH-C ₆ H ₄ -	4-OH-C ₆ H ₄ -	51%
28	4-Cl-C ₆ H ₄ -	2-Cl-C ₆ H ₄ -	60%
29	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	3-Cl-C ₆ H ₄ -	67%
30	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	71%
31	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	4-OCH ₃ -C ₆ H ₄ -	62%

32	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	3,4-OCH ₃ -C ₆ H ₃ -	54%
33*	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	(CH ₃) ₂ N-	48%
34	CH ₃ -CH(Ph)-	4-Cl-C ₆ H ₄ -	85%

*Для синтеза данного соединения вместо альдегида использовался его диметилацеталь

По данным статьи [105] первоначально под действием основания происходит образование аниона, который далее в результате конденсации Кневенагеля и атаки по карбонильному атому альдегида образует тиоуреидозамещенный α,β -непредельный сложный эфир, внутримолекулярно циклизирующийся с образованием 5-арилиден-2-тиогидантоина (Схема 50).

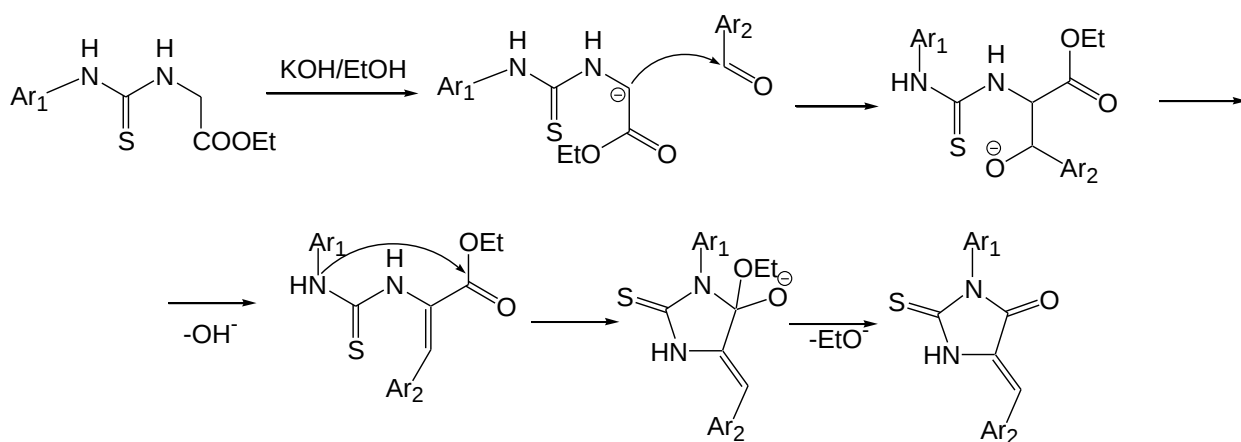


Схема 50. Циклизация тиомочевины с образованием 2-тиогидантоина.

В основной среде полученный 2-тиогидантоин присутствует в виде растворимой калиевой соли, при подкислении которой соляной кислотой возможно получение свободного 2-тиогидантоина, выпадающего в осадок и легко выделяемого фильтрованием.

Для получения соединения **33** вместо диметилформамида в реакции был использован его диметилацеталь.

По данному методу были получена серия 5-арилиден-2-тиогидантоинов **10-34** с выходами, варьирующимися в широком интервале (32-98%) (Табл.2) ввиду различной растворимости получаемых 2-тиогидантоинов. Тем не менее, большинство соединений были выделены с удовлетворительными выходами и далее введены в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения. Возможными вариантами проведения синтеза 5-арилиден-2-тиогидантоинов реакции также может быть конденсация 2-тиогидантоинов с альдегидами в присутствии разнообразных оснований, таких как гидроксид калия в

этанол, ацетат натрия в уксусной кислоте, или в отсутствие основания в уксусной кислоте. Так, например, получение 5-арилиден-2-тиогидантоина **10** возможно исходя из 2-тиогидантоина **9** и бензальдегида в уксусной кислоте в присутствии ацетата калия, однако с меньшим выходом

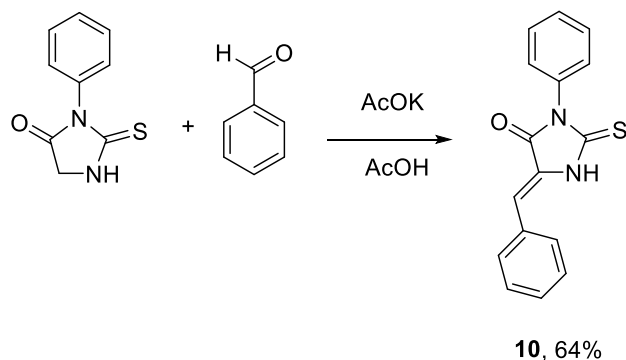


Схема 51. Получение 5-бензилиден-2-тиогидантоина **10**.

Также в настоящей работе был опробован новый метод получения 2-тиогидантоинов, по которому 3-арил-2-тиогидантоин получается в реакции *in situ* и сразу вступает во взаимодействие с альдегидом. Трехкомпонентная реакция между ароматическим изотиоцианатом, глицином и ароматическим альдегидом проводилась в ледяной уксусной кислоте. Однако, данный метод оказался хуже с препаративной точки зрения по сравнению с двухстадийным методом, давая более низкие выходы целевых 5-арилиден-2-тиогидантоинов. Полученные результаты представлены в Табл. 3.

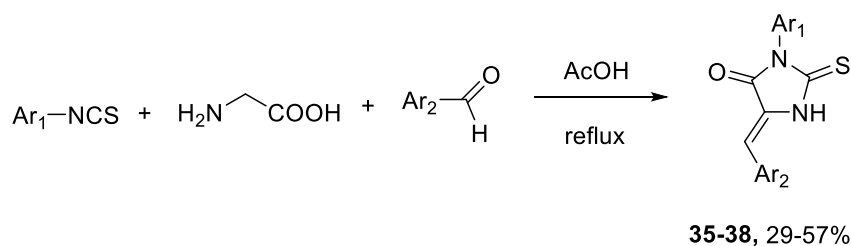


Таблица 3. 5-Арилиден-2-тиогидантоины, полученные трехкомпонентной реакцией арилизоцианата, глицина и альдегида

№ соединения	Заместитель Ar ¹	Заместитель Ar ²	Выход
35	Ph-	4-Br-C ₆ H ₄ -	38%
36	4-OMe-C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	29%
37	Ph-	4-OEt-C ₆ H ₄ -	45%
38	Ph-	3,4-OMe-C ₆ H ₄ -	57%

К серьезным ограничениям данного подхода следует отнести и доступность исходных арилизоотиоцианатов. Этот существенный недостаток не позволяет в полной мере использовать трехкомпонентную реакцию для комбинаторного синтеза большого набора потенциальных препаратов, так как синтез исходных веществ представляет отдельную трудоемкую синтетическую задачу.

Таким образом, можно сделать вывод, что для синтеза 5-арилиден-2-тиогидантоинов наилучшей является двухстадийная методика с промежуточным получением тиомочевин из ароматических аминов, так как данный подход позволяет получать широкий круг 2-тиогидантоинов с различными заместителями с высокими выходами.

Важной особенностью всех описанных выше реакций является образование 5-арилиден-2-тиогидантоинов исключительно в виде *Z*-изомеров. Данный факт подтверждается данными спектроскопии ^1H ЯМР: известно, что химический сдвиг винильного протона 5-арилиден-2-тиогидантоинов в случае *Z*-изомера находится в области 6.5-7.0 м.д., в то время как в случае *E*-изомера сигнал винильного протона находится в области 5.5-6.0 м.д. [104]. Для полученных соединений **10-38** протон $\text{HC}=\text{N}$ проявляется в ^1H ЯМР-спектрах в виде синглета при 6.5 – 6.8 м.д. Конфигурация двойной связи в случае соединения **34** была однозначно подтверждена данными рентгеноструктурного анализа (Рис. 4).

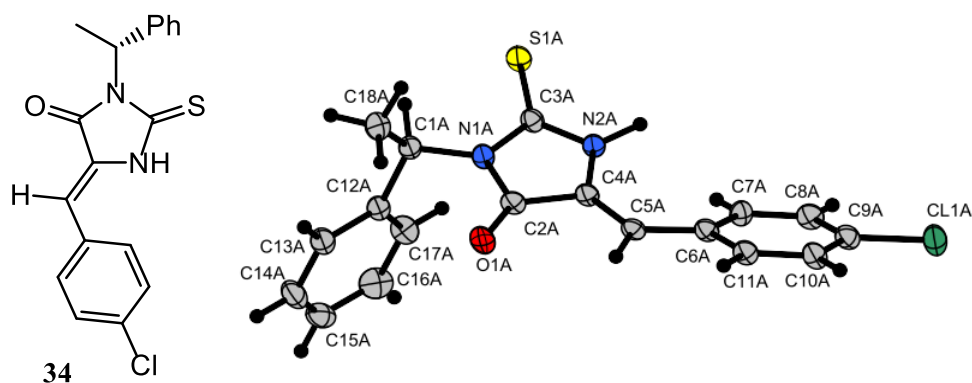


Рис. 4. Молекулярная структура 2-тиогидантоина **34**.

Тиогидантоин **34**, содержащий при атоме азота N(3) 1-фенилэтильный заместитель, в ходе данной работы был синтезирован как в рацемическом, так и в энантимерно чистом виде с *R*-конфигурацией асимметрического углеродного атома (Рис. 4; см. далее в разделе 3.3).

Далее 5-арилидензамещенные 2-тиогидантоины **10-38** вводили в реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения с азометинилидом, генерируемым *in situ* из изатина и саркозина (N-метилглицина).

Из данных обзора литературы известно, что реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения приводят к образованию спирособъединений с жестким каркасом, что увеличивает их активность в качестве ингибиторов взаимодействия p53-MDM2; некоторые препараты такого типа проходят в настоящее время клинические и доклинические испытания [106]. Ранее был описан метод получения диспирособъединений реакцией 1,3-диполярного присоединения с использованием в качестве исходных соединений гидантоинов [107] (Схема 52).

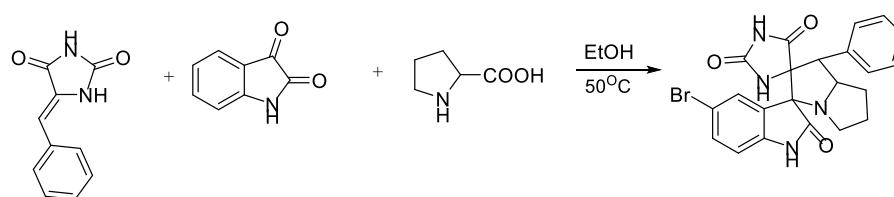


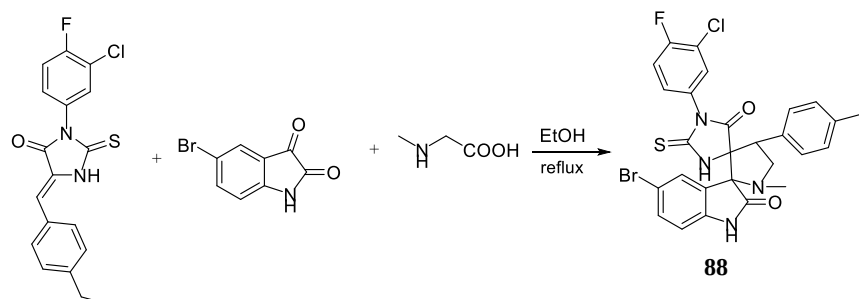
Схема 52. Получение диспирособъединений на основе гидантоинов.

Однако, проведенные нами предварительные эксперименты показали, что применение описанной методики для 2-тиогидантоинов неэффективно: выходы продуктов соответствующих реакций оказались в 6-9 раз ниже (~10 %), чем для гидантоиновых аналогов. Кроме того, если в случае гидантоинов было достаточно использовать эквимольные количества исходных веществ, для полной конверсии 5-арилметилден-2-тиогидантоинов требовалось вводить в реакцию 3-5-кратный избыток остальных исходных соединений, что крайне неэкономично. Кроме того, по оригинальной методике выделение продукта не составляло труда, поскольку конечные соединения отделялись фильтрованием; в случае же использования 2-тиогидантоинов выделение продуктов иногда требовало дополнительной очистки методом колоночной хроматографии.

В ходе настоящей работы удалось разработать методику синтеза, которая решила все вышеперечисленные проблемы и значительно ускорила процесс получения и выделения конечных диспиротиогидантоинов.

На примере взаимодействия (Z)-5-(4-этилфенил)-3-(3-хлор-4-фторфенил)-2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазола, 5-бромизатина и саркозина были оптимизированы условия получения диспиротиогидантоина **88** (Табл. 4):

Таблица 4. Оптимизация реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения



Растворитель	Условия	η, %
Метанол	Кипячение	36
Этанол	Кипячение	47
1,4-Диоксан	Кипячение	19
Толуол	Кипячение	27

В качестве растворителей были использованы этанол, метанол, 1,4-диоксан и толуол. Максимальный выход соединения **88** был получен при проведении реакции в кипящем этаноле. В связи с этим все остальные диспирособъединения были получены с использованием этого растворителя.

Также мы варьировали соотношение используемых исходных реагентов и порядок их смешивания. При отработке условий реакции оказалось, что порядок добавления реагентов принципиально важен. Оптимальной оказалась следующая методика: исходный 5-арилметилден-2-тиогидантоин (1 экв.) и аминокислоту (2 экв.) загружали в реакционную колбу и добавляли этанол. Далее при перемешивании смесь доводили до кипения и только затем добавляли изатин (2 экв.), после чего кипятили смесь с обратным холодильником 5-8 часов, до получения гомогенного раствора и исчезновения исходного 2-тиогидантоина (по данным ТСХ).

Средний выход спирособъединений по неоптимизированной методике составлял менее 10%, после оптимизации – более 47%.

По отработанной методике в настоящей работе был осуществлен синтез серии диспироиндолинонов **39-96**. Выходы продуктов реакций приведены в Табл. 5. Все соединения были выделены в виде единственных диастереомеров, их относительная

конфигурация показана на схеме ниже и подтверждена данными двумерной ЯМР-спектроскопии и РСА (см. далее) на примере соединений **61** и **63**.

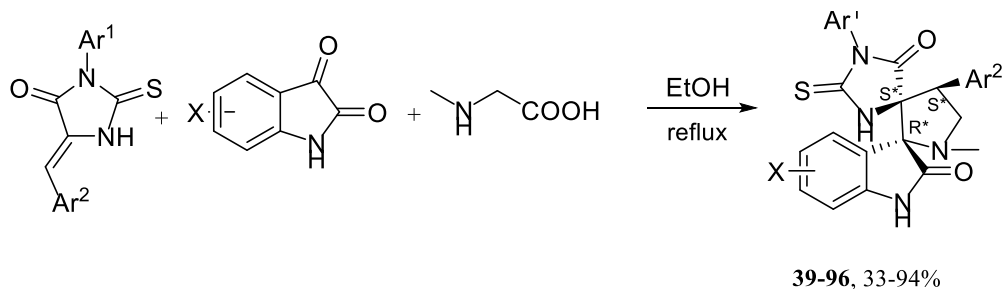


Таблица 5. Синтезированные диспироиндолиноны на основе 2-тиогидантоинов

№ соединения	Заместитель Ar ¹	Заместитель Ar ²	Заместитель X	Выход
39	Ph-	Ph-	H	76%
40	Ph-	Ph-	5-Br-	72%
41	Ph-	Ph-	5-NO ₂ -	63%
42	Ph-	Ph-	7-COOH-	61%
43	Ph-	2-Br-C ₆ H ₄ -	H-	86%
44	Ph-	2-Cl-C ₆ H ₄ -	H-	87%
45	1-(1-Ph)-C ₂ H ₄ -	2-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Br	89%
46	1-(1-Ph)-C ₂ H ₄ -	3-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Br	53%
47	1-(1-Ph)-C ₂ H ₄ -	2-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Cl-	83%
48	Ph-	4-Cl-C ₆ H ₄ -	H-	59%
49	Ph-	4-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Br-	78%
50	Ph-	3-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Br-	81%
51	Ph-	4-Br-C ₆ H ₄ -	H-	67%
52	Ph-	3,4-Cl-C ₆ H ₃ -	5-Br-	61%
53	Ph-	2-Py-	H-	65%
54	Ph-	2-Py-	5-Cl-	53%
55	Ph-	4-Py-	H-	87%
56	Ph-	4-Py-	5-Br-	89%
57	Ph-	4-Py-	5-Cl-	76%

58	Ph-	3,4-Cl-C ₆ H ₃ -	5-Br-	68%
59	Ph-	3-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Cl-	61%
60	Ph-	3-CHO-C ₆ H ₄ -	5-Cl-	71%
61	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	3,4-Cl-C ₆ H ₃ -	H-	79%
62	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	H-	62%
63	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Br-	89%
64	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	5-NO ₂ -	68%
65	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	3,4-OCH ₃ -C ₆ H ₃ -	5-Cl-	73%
66	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	4-F-C ₆ H ₄ -	H-	72%
67	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	4-F-C ₆ H ₄ -	5-Br-	68%
68	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	1-Propargyl-5-Br-	59%
69	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	1-Propargyl-	86%
70	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	4-OPropargyl-C ₆ H ₄ -	5-Br-	53%
71	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	4-OPropargyl-C ₆ H ₄ -	H-	64%
72	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	4-OPropargyl-C ₆ H ₄ -	5-Cl-	55%
73	4-OPropargyl-C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Br-	94%
74	4-Cl-C ₆ H ₄ -	2-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Cl-	83%
75	4-Cl-C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Cl-	85%
76	4-Cl-C ₆ H ₄ -	4-F-C ₆ H ₄ -	H-	85%
77	4-Cl-C ₆ H ₄ -	3,4-OCH ₃ -C ₆ H ₃ -	5-Cl-	81%
78	4-F-C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Br-	68%
79	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	4-OCH ₃ -C ₆ H ₄ -	H-	69%
80	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Cl-	73%
81	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	3-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Cl-	79%
82	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	3,4-OCH ₃ -C ₆ H ₃ -	H-	68%
83	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	4-C ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	H-	89%

84	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	4-C ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	Br-	48%
85	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	4-OCH ₃ -C ₆ H ₄ -	H-	68%
86	4-OH-C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	H-	95%
87	4-OH-C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Br-	91%
88	4-OH-C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Cl-	72%
89	4-OH-C ₆ H ₄ -	2-Cl-C ₆ H ₄ -	H-	75%
90	4-OH-C ₆ H ₄ -	2-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Br-	76%
91	4-OH-C ₆ H ₄ -	2-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Cl-	75%
92	4-OH-C ₆ H ₄ -	3,4-OCH ₃ -C ₆ H ₃ -	5-Br-	69%
93	4-OH-C ₆ H ₄ -	3,4-OCH ₃ -C ₆ H ₃ -	5-Cl-	53%
94	4-OH-C ₆ H ₄ -	4-OH-C ₆ H ₄ -	5-Br-	74%
95	1-(1-Ph)-C ₂ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Br-	65%
96	1-(1-Ph)-C ₂ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	5-Cl-	62%

В процессе реакции в качестве 1,3-диполя выступали азометинилиды, получаемые *in situ* из саркозина (N-метил-глицина) и различных 5- или 7-замещенных изатинов. Поскольку только 5-галогензамещенные изатины являлись коммерчески доступными, то для синтеза 7-карбоксиизатина был использован метод Зандмейера, исходя из антраниловой кислоты и хлоральгидрата (Схема 53):

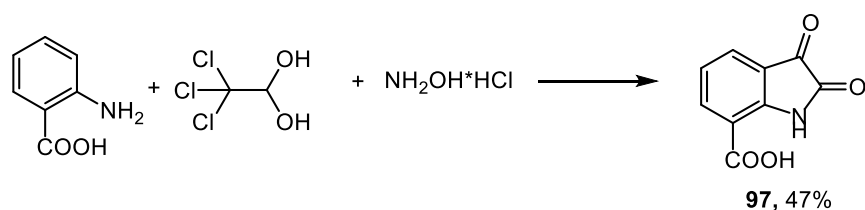


Схема 53. Синтез 7-карбоксиизатина

Механизм реакции заключается в первоначальной реакции между саркозином и изатином. В результате нуклеофильной атаки амино-группы саркозина по карбонильному атому углерода изатина и дальнейшей внутримолекулярной циклизации образуется лактон, который далее при нагревании и декарбоксилировании генерирует 1,3-диполь (Схема 54) [103].

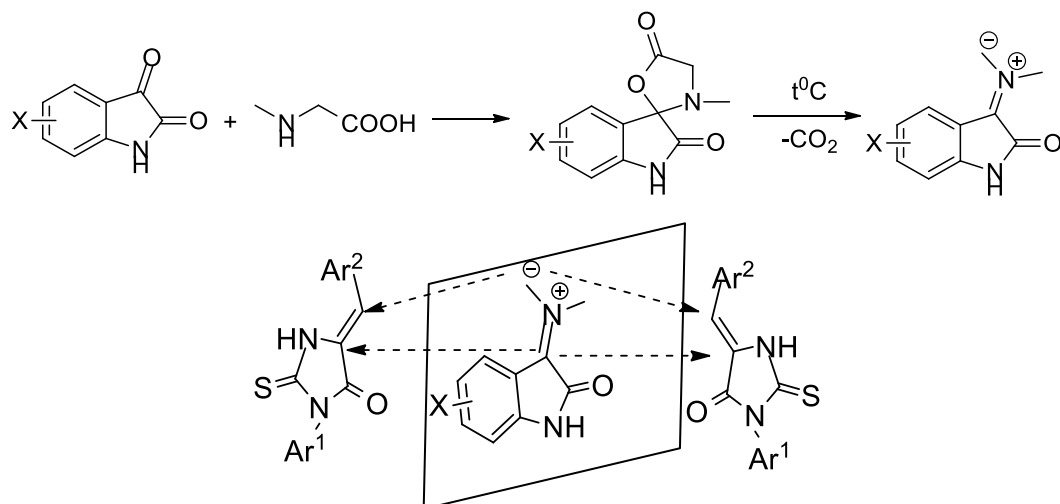


Схема 54. Механизм образования диполя и схема 1,3-диполярного циклоприсоединения [103].

В дальнейшем полученный 1,3-диполь региоселективно взаимодействует с двойной связью 5-арилиден-2-тиогидантоина путем реакции [3+2]–циклоприсоединения, в ходе чего образуется необходимый диспироиндолинон в виде единственного диастереомера, что было подтверждено данными ЯМР спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии для соединения **61** (Рис.6). При взаимодействии двух плоских молекул (диполя и диполярофила) при атаке 1,3-диполем диполярофила с противоположных сторон его плоскости образуется один диастереомер продукта в виде энантиомерной смеси.

Полученные диспироиндолиноны были охарактеризованы методами ЯМР ^1H спектроскопии, масс-спектрометрии и рентгеноструктурного анализ. В спектрах ЯМР ^1H для соединений **39-96** характеристичными являются три сигнала пирролидинового цикла в области 3.3-4.4 м.д, представляющие собой триплеты с КССВ близкими к 9.0 Гц:

Для некоторых соединений сигналы аналогичных протонов разрешаются в виде дублета дублетов с близкими константами спин-спинового взаимодействия. В спектрах также присутствует набор сигналов ароматических протонов в области 6.50-7.80 м.д., и сигналы двух протонов NH-групп при 9.50-10.80 м.д.

На Рис. 6 приведен типичный спектр ^1H ЯМР диспироиндолинона на примере соединения **61**. Характеристичными сигналами являются:

- 1) Сигналы амидных протонов (10-11 м.д.)
- 2) Наличие в области 3-4.5 м.д. трех сигналов H^1 , H^{2*} и H^3 , представляющих собой псевдотриплеты с КССВ = 8.3-9.3 Гц. *В данном примере (рис. 49) сигнал H^2 накладывается на сигнал метиленовых протонов этокси-группы.
- 3) Сигналы N-метильной группы (2.1-2.2 м.д)

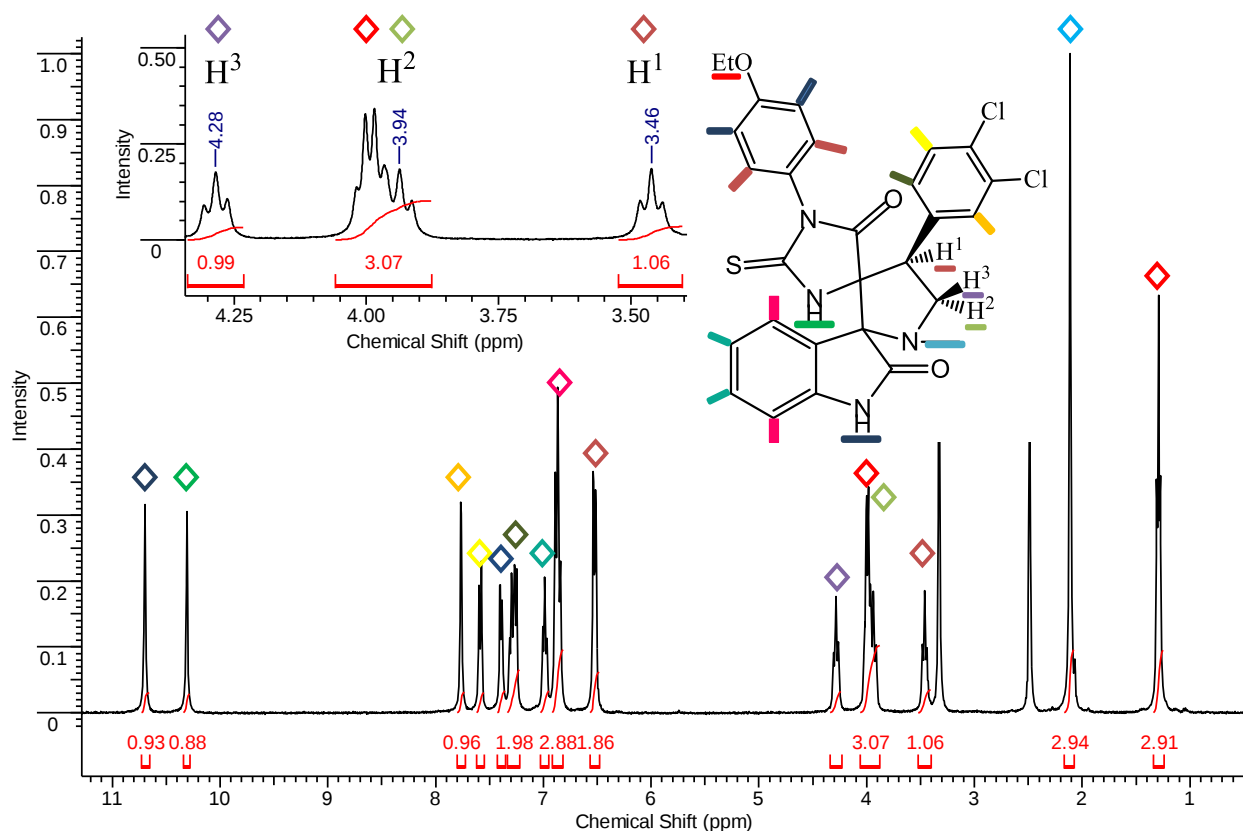


Рис. 6. Спектр ЯМР 1H диспироиндолинона **61**

На примере соединения **61** было проведено комплексное физико-химическое исследование с использованием корреляционной ЯМР спектроскопии. Первоначально была зарегистрирована протон-протонная корреляция методом COSY ЯМР спектроскопии (Рис.7):

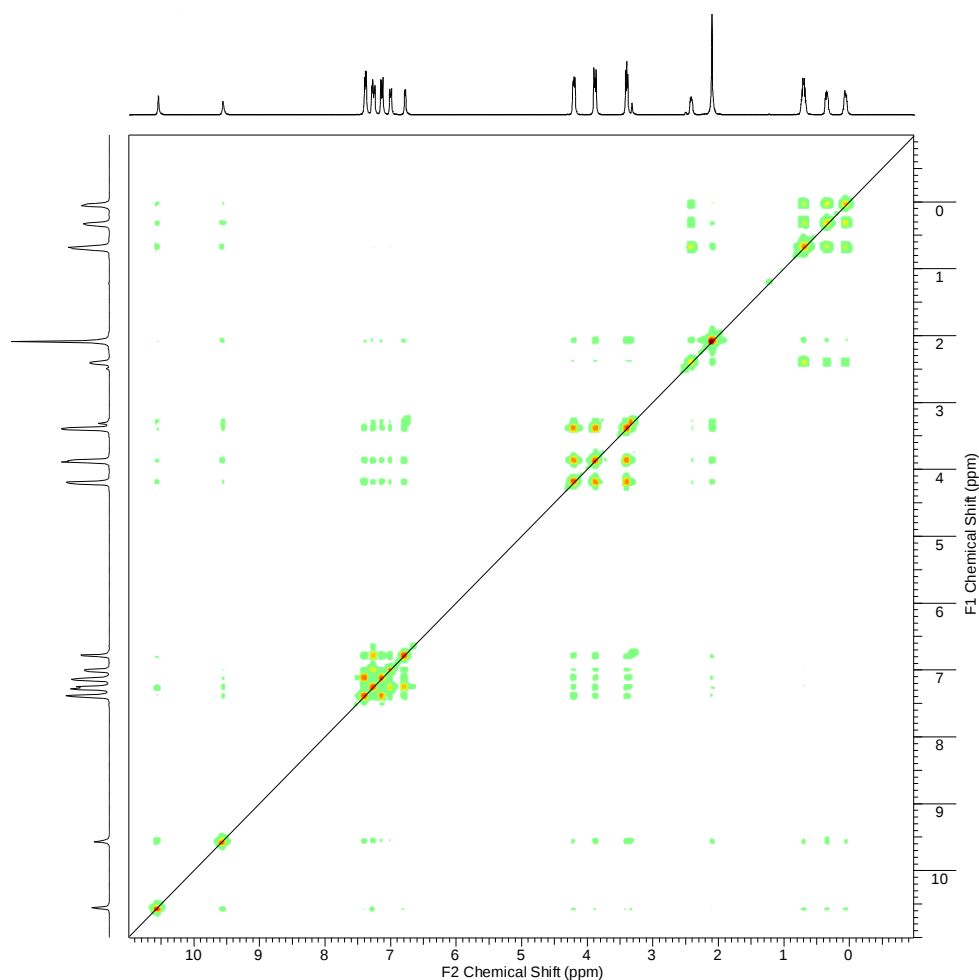


Рис.7. Протон-протонная корреляция соединения **61** по методу ЯМР ^1H - ^1H COSY.

С использованием метода HSQC было проведено отнесение сигналов протонов пирролидинового цикла (Рис.8). В двумерном корреляционном протон-углеродном спектре наблюдались кросс-пики протонов при 3.38 м.д. и 3.87 м.д. с атомом углерода, имеющим химический сдвиг 57.2 м.д, следовательно, данный атом углерода связан с двумя атомами водорода, что было также подтверждено с использованием последовательности ^{13}C ЯМР методом АРТ.

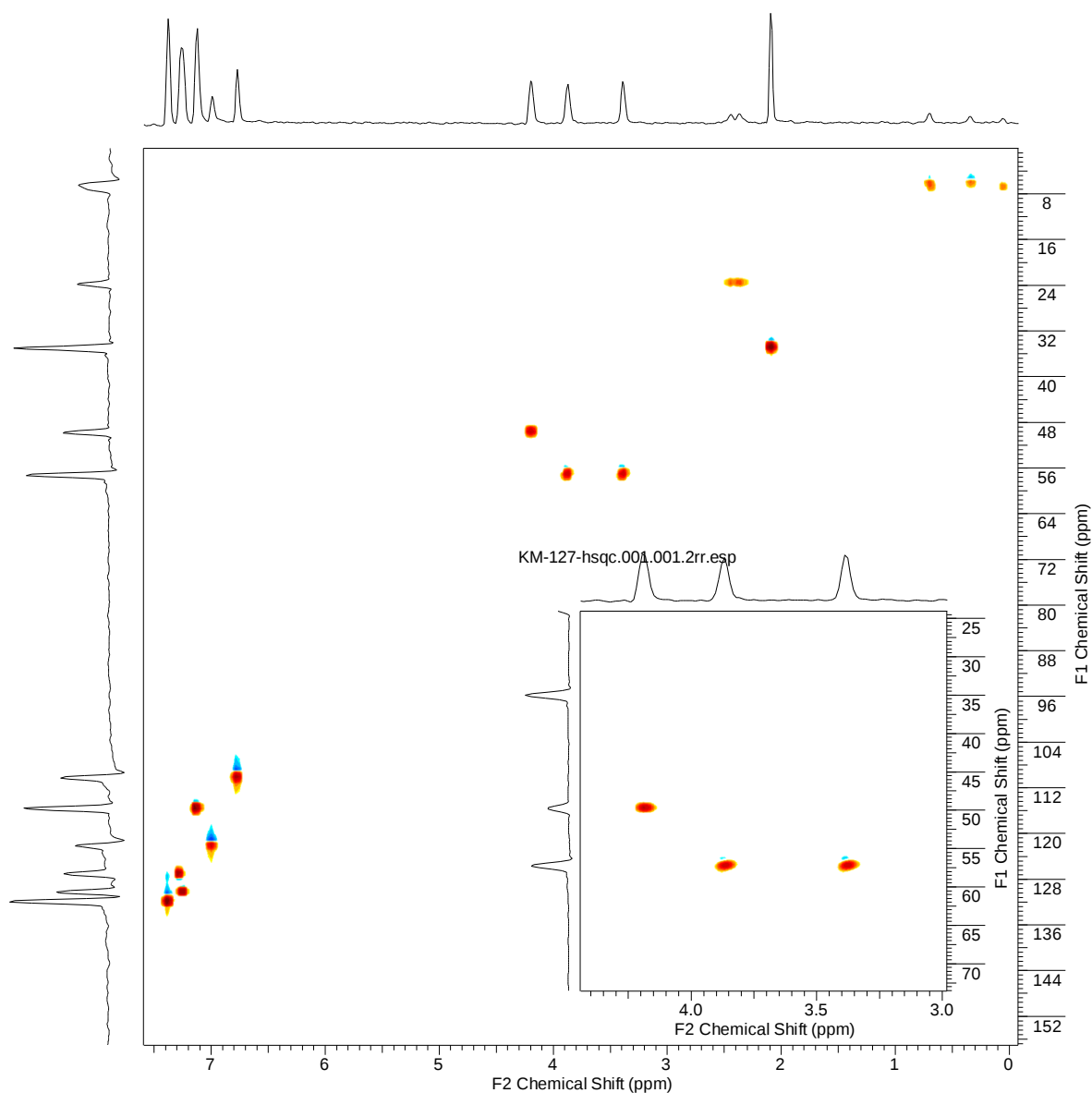


Рис.8. Двумерный спектр соединения **61** по методу ЯМР ^1H - ^{13}C HSQC.

С использованием корреляционной спектроскопии ЯМР НМВС (Рис. 9) удалось отнести сигналы NH протонов индолинового и тиогидантоинового фрагментов. Так, для сигнала протона при 10.53 м.д. наблюдаются кросс-пики с атомом углерода, имеющим химический сдвиг 175.50 м.д, который относится к атому углерода карбонильной группы индолинового фрагмента. Протон NH-группы при 9.53 м.д. относится к тиогидантоинового фрагменту, что подтверждается наличием кросс-пигов с атомом углерода тиаамидной группы 182.70 м.д. и с атомом углерода амидной группы в области 173.25 м.д.:

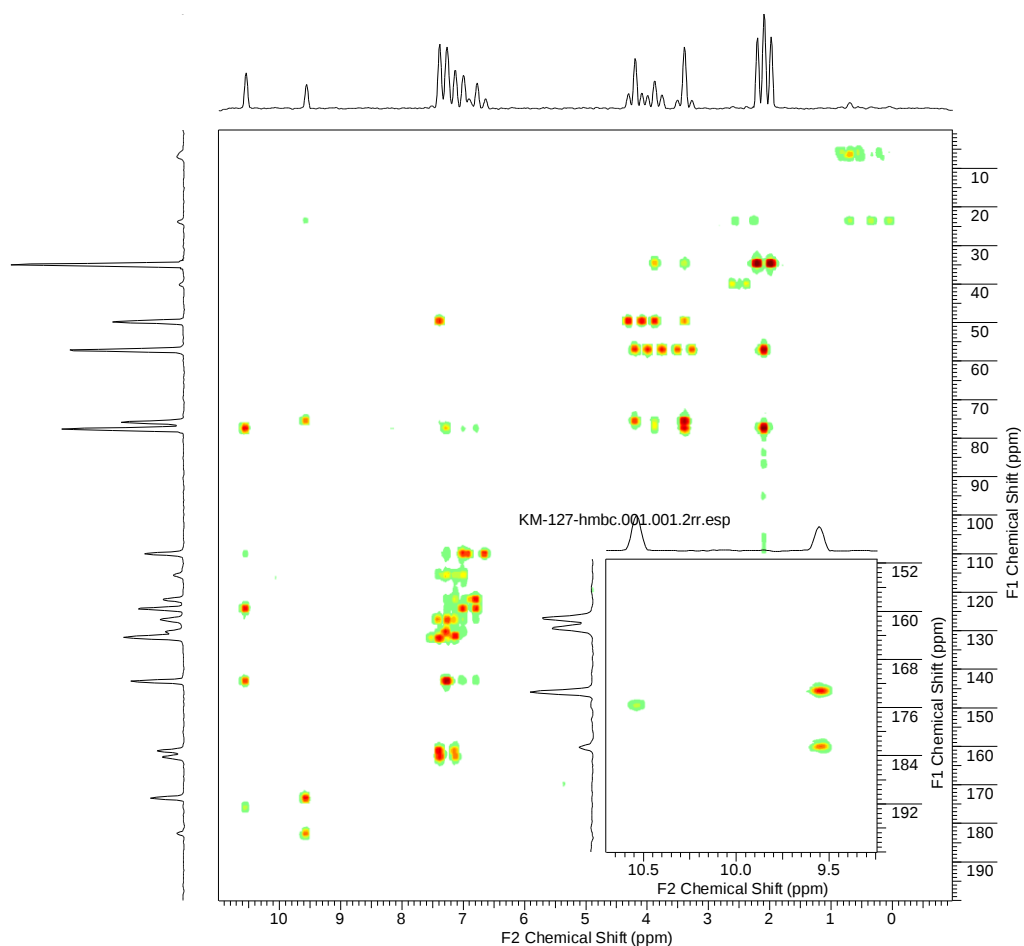


Рис. 9. Двумерный спектр соединения **61** по методу ЯМР ^1H - ^{13}C НМВС.

С использованием ЯЭО, двумерной корреляции NOESY удалось отнести сигналы CH_2 протонов пирролидинового кольца. Так в спектре NOESY наблюдаются кросс-пики сигнала протона с химическим сдвигом 3.87 м.д. с сигналом протона в орто-положении арильного заместителя, что доказывает отнесения сигналов в ЯМР ^1H и позволяет установить относительную конфигурацию стереоцентров, что совпадает с данными РСА для соединения **63**.

Структура соединения **63** была подтверждена путем рентгеноструктурного анализа. Молекулярная структура показана на рисунке 10.

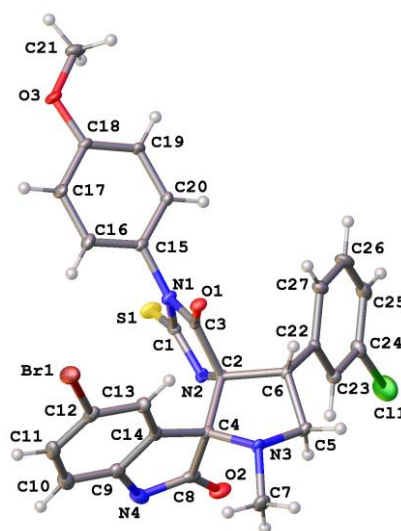


Рис. 10. Молекулярная структура диспирособъединения **63**.

Данные РСА подтверждают строение диспиропроизводных 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, а также дают возможность судить об относительной стереохимии хиральных атомов углерода, которая может быть описана как (5'S*,5R*,4'R*) (см. Рис. 11)

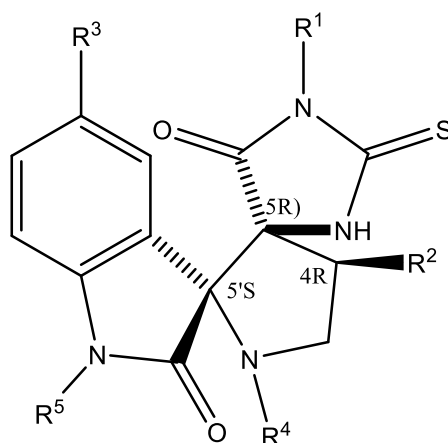


Рис.11. Относительная стереохимия хиральных атомов углерода полученных диспиропроизводных 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов.

Необходимо отметить, что в качестве заместителей в ароматических фрагментах Ar_1 и Ar_2 в структуре целевых диспироиндолинонов были выбраны не только гидрофобные донорные или акцепторные заместители, но также и гидрофильные группы (гидроксильные и карбоксильные). Хотя введение гидрофильных и заместителей не привело к заметному увеличению водорастворимости при $pH = 7$ (менее 1 мг/100 мл), но качественно было показано, что при $pH = 10$ соединения **86 - 94** хорошо растворяются в щелочных растворах (более 500 мг/100 мл), в отличие от других диспироиндолинонов, чья растворимость не улучшается при увеличении pH . Дополнительно была проведена

попытка синтеза диспироиндолинона, содержащего в своей структуре диметиламино-группу (Схема 55). Однако оказалось, что целевое соединение в стандартных условиях реакции не образуется. Вероятно, это связано с тем, что в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения электроноакцепторные группы в диполярофиле способствуют протеканию реакции, в то время как мезомерные доноры (например, NMe₂) затрудняют ее протекание.

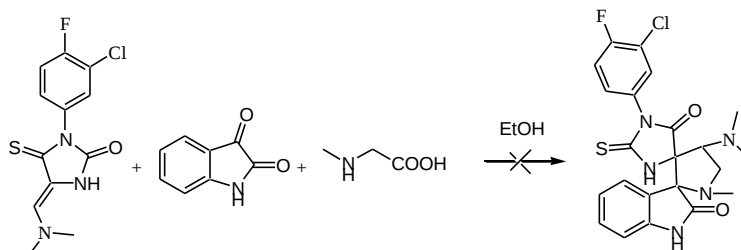


Схема 55. Попытка получения диспироиндолинона с NMe₂- заместителем

3.2. Исследование биологической активности диспироиндолинонов на основе 5-арилидензамещенных гидантоинов

Цитотоксичность полученной серии диспироиндолинонов **39-96** была определена с использованием стандартного метода МТТ [108]¹. Для подтверждения их механизма действия как ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2 были выбраны клеточные линии аденокарциномы рака предстательной железы LNCaP и PC3, а также колоректального рака HCT wt и HCT-/-, две из которых (LNCaP и HCTwt) способны к экспрессии p53, а две другие (PC3 и HCT-/-) – нет. Клетки линии LNCaP содержат немутированный тип гена, кодирующего p53, в то время как линии PC3 свойственно отсутствие этого гена. По различиям в значениях цитотоксичности IC₅₀ (μM) на двух различных типах клеточных линиях на порядок можно судить о селективном цитотоксическом эффекте по ингибированию белок-белкового взаимодействия p53-MDM2.

Значения концентраций полумаксимального ингибирования IC₅₀ исследованных соединений, а также препарата сравнения – Нутлина 3а представлены в Табл. 6. На основании полученной совокупности данных можно сделать некоторые выводы о взаимосвязи «структура-активность».

¹ Исследования цитотоксичности в рамках данной работы проводилось Скворцовым Дмитрием Александровичем, кафедра ХПС Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и Воробьевой Натальей Сергеевной, Лаборатория Биомедицинских наноматериалов, НИТУ «МИСиС».

Таблица 6. Данные по цитотоксичности (IC₅₀, μM) диспиропроизводных **39-96**.

№ соединения	LNCap	PC3	HCTwt	HCT -/-	LECH-4
39	>100	>100	>100	>100	>100
40	2.2±0.8	4.6±2.5	10.5±2.3	12.5±3.2	>100
41	>100	>100	>100	>100	>100
42	>100	>100	>100	>100	>100
43	>100	>100	>100	>100	>100
44	>100	>100	21.7±5.8	23.1±6.6	>100
45	>100	>100	>100	>100	>100
46	3.4±1.5	8.8±3.1	8.0±2.5	>100	>100
47	>100	>100	24.0±6.7	>100	>100
48	>100	>100	>100	>100	>100
49	>100	>100	>100	>100	>100
50	1.2±0.6	11.3±1.2	3.5±1.2	>100	>100
51	>100	>100	>100	>100	>100
52	>100	>100	7.6±1.6	8.8±3.5	>100
53	>100	>100	5.6±2.3	7.6±3.2	>100
54	2.1±0.3	8.2±3.5	60.1±8.6	>100	>100
55	>100	>100	>100	>100	>100
56	>100	>100	>100	>100	>100
57	>100	>100	50.5±10.2	>100	>100
58	>100	>100	20.0±8.9	50.0±10.4	>100
59	>100	>100	50.7±8.9	50.7±12.6	>100
60	>100	>100	>100	>100	>100
61	>100	>100	>100	>100	>100
62	>100	>100	>100	>100	>100
63	>100	>100	>100	>100	>100
64	>100	>100	>100	>100	>100

65	>100	>100	>100	>100	>100
66	3.5±1.9	9.8±3.7	14.1±4.2	70.5±15.2	>100
67	>100	>100	>100	>100	>100
68	>100	>100	>100	>100	>100
69	>100	>100	>100	>100	>100
70	>100	>100	>100	>100	>100
71	>100	>100	>100	>100	>100
72	>100	>100	>100	>100	>100
73	>100	>100	>100	>100	>100
74	>100	>100	>100	>100	>100
75	>100	>100	>100	>100	>100
76	>100	>100	>100	>100	>100
77	>100	>100	>100	>100	>100
78	>100	>100	>100	>100	>100
79	>100	>100	>100	>100	>100
80	>100	>100	>100	>100	>100
81	3.2±1.6	5.7±2.6	9.3±4.6	9.5±4.9	>100
82	8.6±1.8	10.2±2.3	35.0±16.2	>100	>100
83	>100	>100	6.3±2.5	6.5±3.6	>100
84	>100	>100	>100	>100	>100
85	>100	>100	>100	>100	>100
86	18.0±4.7	4.65±2.3	6.9±3.1	>100	>100
87	>100	>100	>100	>100	>100
88	>100	>100	>100	>100	>100
89	>100	>100	>100	>100	>100
90	9.5±2.5	20.0±8.4	>100	>100	>100
91	7.0±1.0	15.1±1.2	>100	>100	>100
92	9.0±2.0	30.0±10.5	>100	>100	>100

93	17.0±1.0	20.0±6.9	>100	>100	>100
94	15.3±9.2	12.6±5.4	>100	>100	>100
95	>100	>100	>100	>100	>100
96	>100	>100	>100	>100	>100
Nutlin 3a	2.7±0.9	28.9±3.7	4.5±1.3	>100	>100

При замене атома водорода в 5-м положении изатина на бром наблюдается значительное улучшение активности и селективности. Также к улучшению общей цитотоксичности и селективности приводит наличие атома галогена в *para*-положении бензольного кольца в Ar₂ заместителе.

Так, при замене атома водорода в соединении **39** на бром (соединение **40**) наблюдается улучшение цитотоксичности, однако селективность к клеточным линиям, экспрессирующим и не экспрессирующим p53, отсутствует. Аналогичный эффект можно наблюдать при замене атома водорода в молекуле **65** на бром (соединение **66**), а также, при введении атома хлора в *para*-положение бензольного кольца в Ar₂ в молекуле **50** и по сравнению с **49**. Высокая цитотоксичность наблюдается и для соединений **66**, **82** и **86** в которых атом хлора находится в *para*-положении бензольного кольца в Ar₂.

Полученные данные показывают различную цитотоксичность по отношению клеточным линиям PC3 и LNCap (ср. IC₅₀ для соединений **40**, **46**, **50**, **54**, **66**, **82**, **86**), и/или по отношению к клеточным линиям НСТ различной морфологии (ср. IC₅₀ для соединений **46**, **50**, **54**, **66**, **93**) и являются доводом в пользу предполагаемого механизма биологического действия, поскольку показано, что при отсутствии белка p53 в раковой клетке наблюдается повышенная резистентность к действию диспироиндолинонов, по сравнению с клетками, содержащими дикий тип p53. Стоит отметить также, что диспироиндолиноны, как правило, обладают меньшей токсичностью по отношению к здоровым клеткам, что было также подтверждено при проведении экспериментов *in vitro* на клеточной линии ЛЭЧ. Оба этих факта позволяют сделать вывод о том, что подобные структуры проявляют ингибирующие свойства в отношении белок-белкового взаимодействия p53-MDM2. Также для ряда диспирозоединений на основе 2-тиогидантоинов можно отметить высокую цитотоксичность и селективность по отношению к клеточным линиям колоректального рака НСТ, часто сравнимую с препаратом сравнения, Нутлином 3а.

Важным фактором, определяющим механизм действия полученного соединения, является его накопление в различных компартментах клетки. Мы провели исследование накопления полученных тиогидантоиновых производных. В связи с тем, что полученные соединения не обладают собственной флуоресценцией, для их визуализации в клетке был использован метод, основанный на конъюгации флуоресцентного красителя Cy5- азидом с соединением, содержащим пропаргильный фрагмент, клик-реакцией внутри клетки. Для этой цели клеточную линию НЕК обрабатывали N-пропаргильным производным **98** (Рис. 12).

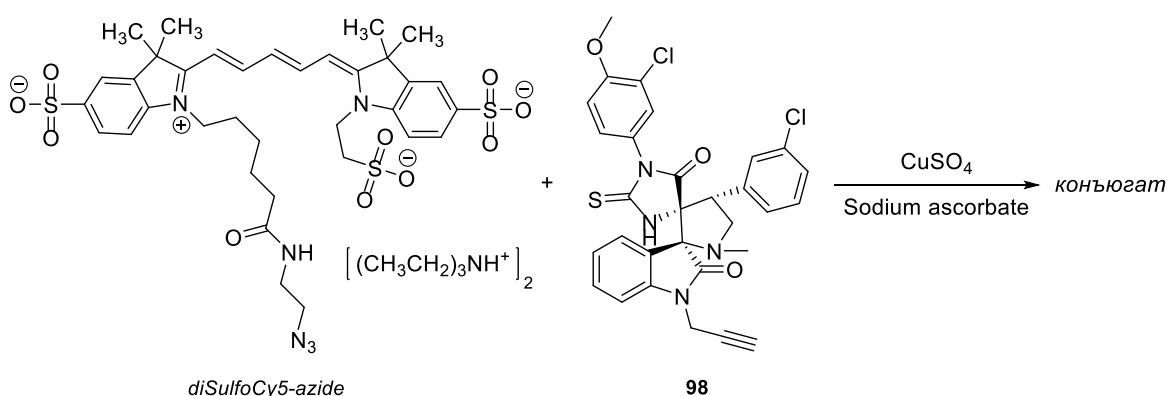


Рис. 12. Клик-реакция между флуоресцентным красителем Cy5- азидом и диспиропроизводным **98**

В результате было показано, что соединение **98** визуализируется внутри клетки в цитоплазме; флуоресценция меченых соединений показана на микрофотографиях (Рис. 13), полученных методом конфокальной микроскопии (дополнительно ядра клеток были покрашены реагентом DAPI).

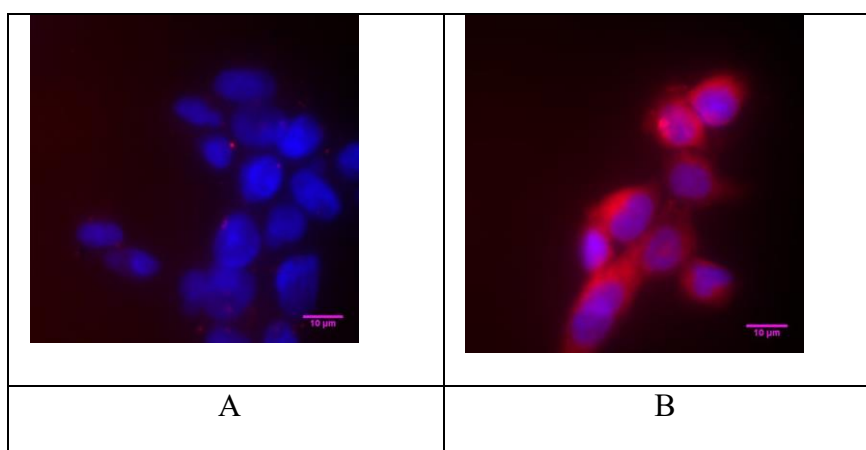


Рис. 13. Визуализация распределения соединения **98** в клетке. А – визуализация ядра с использованием реагента DAPI; В – продукт клик-реакция соединения **98** с флуоресцентным алкином diSulfoCy5

Дополнительно было проведено исследование влияния положения тройной связи в различных частях молекулы на накопление соединения в клетке. Для этого, исходя из соответствующих пропаргилзамещенных изатина, бензальдегида и анилина, были получены три диспиропроизводных **69**, **71**, **73**, которые содержали пропаргильный фрагмент в разных частях молекулы (Рис.14).

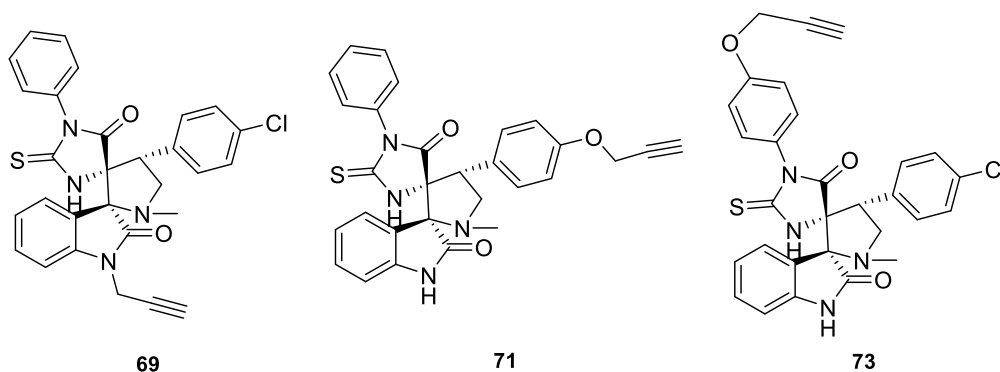


Рис. 14. Соединения, содержащие пропаргильный фрагмент в трех различных частях молекулы

Как оказалось, положение пропаргильного фрагмента не оказывает влияния на характер проникновения молекулы в клетку - все полученные конъюгаты оказались локализованы в цитоплазме (см. Рис. 13).

Для подтверждения механизма ингибирования белка p53 данным классом соединений на примере одного из диспирооксиндолов **63** был проведен анализ методом вестерн-блот, который был осуществлен как непосредственно на белке p53, так и на белках, участвующих в p53-зависимом процессе апоптоза (BAX, NOXA и PUMA).

В соответствии с проведенным анализом данных вестерн-блот видно (Рис. 15.), что при увеличении концентрации соединения **63** наблюдается увеличение концентрации белка p53 в клеточной культуре НСТ wt, что свидетельствует о том, что происходит ингибирование p53-MDM2-взаимодействия, активация белка p53, и, вследствие этого, также увеличение экспрессии проапоптотических белков PUMA и CASPASE-3. Отрицательный контроль (Нутлин-3а, для которого механизм действия посредством ингибирования p53-MDM2-взаимодействия является подтвержденным) также демонстрирует увеличение экспрессии белка p53, а в случае положительного контроля (среда) экспрессии p53 не наблюдается.

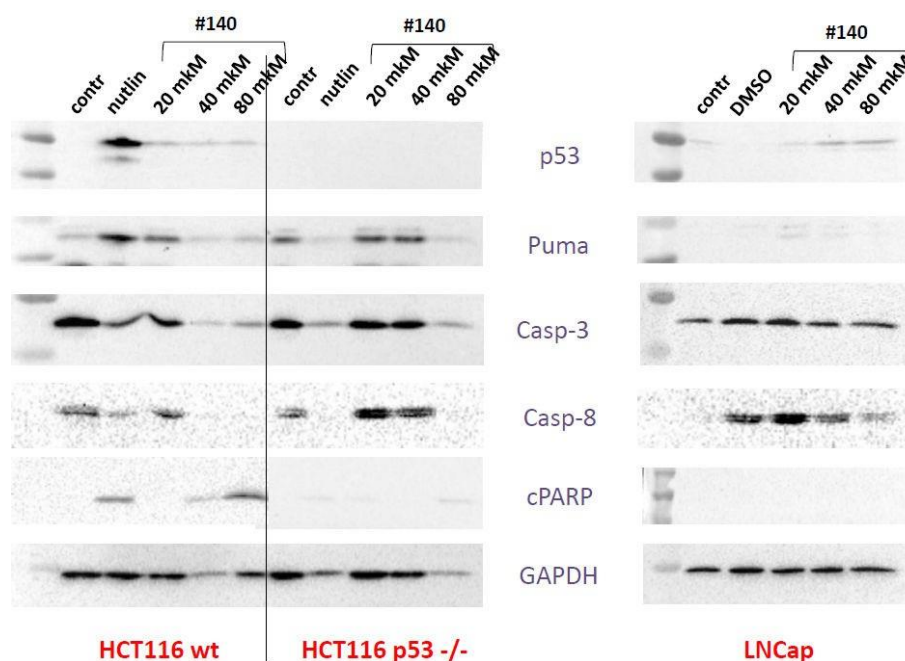


Рис. 15. Данные вестерн-блот, показывающие влияние соединения **63** на экспрессию белка p53 на клеточных линиях HCTwt, HCT^(-/-) и LNCap. Соединение было исследовано на способность экскрессировать белки p53, PUMA, а также каспазы CASPASE-3 И CASPASE-8, участвующие в p53-зависимом процессе апоптоза.

Подобное ингибирование является селективным, поскольку данный эффект не наблюдается на клеточной линии HCT^(-/-), не экспрессирующей белок p53. Таким образом, на основе полученных данных вестерн-блот по исследованию действия соединения **63** на экспрессию белка p53 на клеточных линиях HCTwt, HCT^(-/-) и LNCap можно сделать вывод о том, что соединение **63** является селективным ингибитором белка p53.

На основании полученных данных по цитотоксичности и проникновению соединения в клетку было проведено дополнительное тестирование на клеточный апоптоз одного из соединений с наилучшей активностью (соединение **49**) (Рис.16).

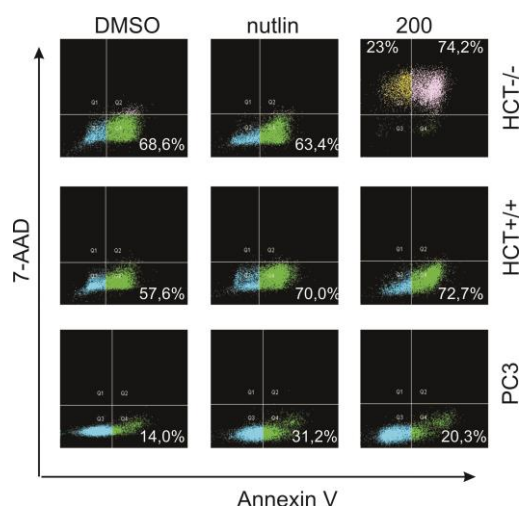


Рис. 16. – Данные апоптоза для соединения **49**

По оси абсцисс находится краситель Annexin V, который связывается с экспонированными фосфолипидами мембраны, которые являются признаком раннего апоптоза. По оси ординат интенсивность окрашивания клеток 7-аминоактиномицином D (7-AAD), который является флуоресцирующим интеркалятором ДНК, но способен проникать в клетку только при заметном повреждении мембраны, что является признаком клеточной гибели. По количеству клеток, окрашенных аннексином можно судить о содержании апоптотических клеток в популяции. В линии НСТ-/- наблюдается обширная популяция окрашивания обоими красителями, что в отсутствие популяции раннего апоптоза свидетельствует о возможном клеточном некрозе.

Как видно из данных Таблицы 7 повторного эксперимента, в которой указано процентное содержание клеток в апоптозе, видна селективность действия соединений на клеточных линиях НТСwt и НТС-/-, что является подтверждением предположения о р53-зависимом механизме апоптоза, однако селективности на клеточных линиях LNcap и РС3 не наблюдается.

Таблица 7. Значения по апоптотической активности для соединения **49**.

	НТСwt	НТС-/-	LNcap	РС3
49	38,5%	11,7%	5,3%	5,8%
Nutlin 3	43,9%	5,8%	6,9%	6,9%
DMSO	27%	5,5%	5,4%	5,2%

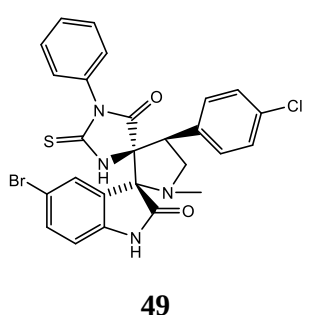
Таким образом, среди двух наиболее активных по данным биологического тестирования в МТТ-тесте соединений **49** и **63** в ходе дальнейших углубленных биологических исследований было выбрано соединение **63**, которое в настоящий момент проходит доклинические испытания *in vivo*.

3.3. Разработка синтетических подходов к хиральным диспироиндолинонам

В качестве дополнительной задачи при синтезе диспироиндолинонов – производных тиогидантоинов в данной работе была исследована возможность синтеза и разработка подходов к энантиомерно чистым или энантиомерно обогащенным диспироиндолинонам.

Известно, что современные лекарственные препараты, имеющие асимметрический атом углерода, чаще всего применяются в энантиомерно чистом виде. Поэтому на примере одного из активных диспироиндолинонов **49** было проведено разделение при помощи ВЭЖХ на хиральной колонке с выделением двух энантиомеров, которые далее были протестированы на цитотоксичность на клеточной линии LNCaP (Табл. 7). Было обнаружено, что активность проявляет только один из энантиомеров, а второй не обладает цитотоксическим эффектом.

Таблица 8. Значения цитотоксичности IC_{50} двух энантиомеров для соединения **49**

 49	Изомер	$IC_{50}(LNCaP)$, мкм
	(+)-изомер	Не активен
	(-)-изомер	1.22 ± 0.1
	Смесь изомеров	2.2 ± 0.8

Однако, было показано, что препаративная ВЭЖХ с хиральной фазой не является препаративным методом для разделения энантиомерной смеси в связи с своей трудоемкостью и сложностью масштабирования. Поэтому в настоящей работе была поставлена задача по оптимизации методики разделения диспироиндолинонов на энантиомеры без использования ВЭЖХ с хиральной фазой.

Для повышения энантиомерного избытка в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения первоначально был использован подход, основанный на введении в реакцию хирального катализатора, а именно (*R*)-бинафтидилдифосфата (Схема 56). Ранее было показано [109], что подобные катализаторы могут быть успешно (её до 93%) применены в подобных реакциях в качестве хиральных катализаторов. В связи с этим, был получен диспироиндолинон **40** с использованием 10 мол. % (*R*)-бинафтидилдифосфорной кислоты в качестве хирального катализатора. Однако на основании данных анализа полученного продукта методом ВЭЖХ с хиральной фазой, использование данного хирального катализатора не приводит к появлению в реакции энантиомерного избытка. Возможным объяснением может служить тот факт, что в работе [109] генерация диполя проводилась за счет отщепления протона от имида, замещенного сильными акцепторными группами при комнатной температуре, тогда как в нашем случае подобная методика неприменима, так как генерация диполя происходит в результате термического декарбоксилирования; возможно, что в условиях высоких температур водородные связи

переходного состояния, благодаря которым осуществляется хиральный катализ (см. обзор литературы, раздел 2.4.2), не оказывают влияния на направление реакции.

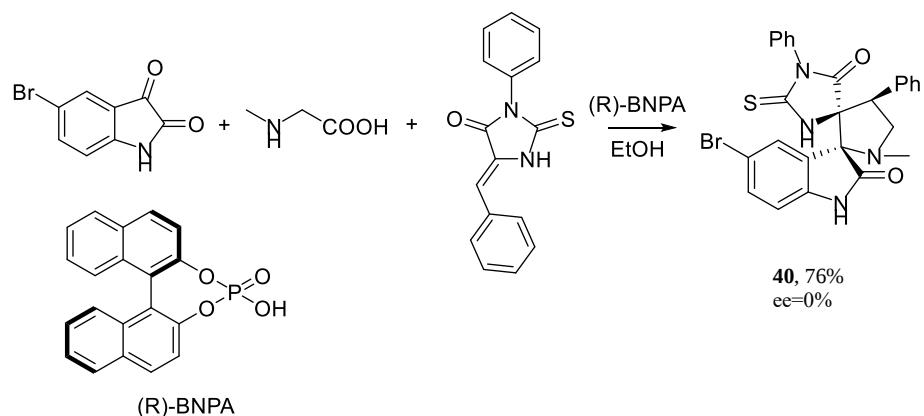


Схема 56. Схема синтеза диспироиндолинона **40** с использованием бинафтидилдифосфорной кислоты в качестве хирального катализатора.

Поэтому, в дальнейшем для получения в исследуемой реакции энантиомерного избытка был использован альтернативный подход, заключающийся во введении в молекулу исходного соединения дополнительного асимметрического атома известной конфигурации. Получаемые в результате диастереомеры должны обладать различными физическими свойствами в ахиральных условиях, поэтому могут быть разделены без использования хиральной ВЭЖХ.

Вообще говоря, в молекуле диспироиндолинонов присутствует несколько положений, в которые можно ввести хиральные заместители. Необходимо при этом учитывать, что:

- 1) Хиральный заместитель должен быть устойчив к рацемизации в условиях проведения реакций
- 2) Хиральный заместитель не должен оказывать значительного влияния на цитотоксичность соединения (или должна иметься возможность его легкого удаления из полученной молекулы)
- 3) Желательно, чтобы исходное соединение с хиральным заместителем было легко доступным

С учетом вышеизложенного, в качестве исходного хирального соединения был выбран (*R*)-(+)-1-фенилэтиламин – доступный продажный реагент, имеющий при атоме азота заместитель бензильного типа, который на заключительной стадии синтеза может быть удален из молекулы гидрогенолизом. При использовании 1-фенилэтиламина можно

ввести асимметрический фрагмент в каждый из пятичленных циклов целевой молекулы (Схема 57) - изатиновый, аминокислотный и тиогидантоиновый фрагменты.

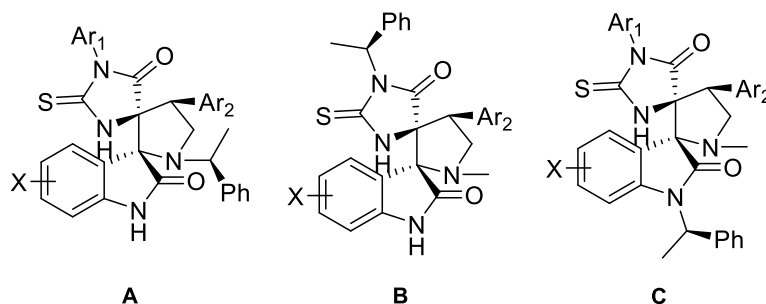


Схема 57. Возможные положения асимметрического заместителя в молекуле диспироиндолинона: А - с использованием хиральной аминокислоты, В - хирального тиогидантоина, С - хирального изатина.

(*R*)-1-Фенилэтиламин **99** получали аминированием ацетофенона по Лейкарту с получением рацемического амина, для которого затем проводили расщепление на энантиомеры с использованием (-)-винной кислоты (Схема 58) [110]. По данным ЯМР ^1H спектроскопии содержание (*R*)-изомера в полученном соединении составило 97,4%. Дополнительно было проведено определение угла оптического вращения полученного амина, показавшее 94,8% энантиомерный избыток.

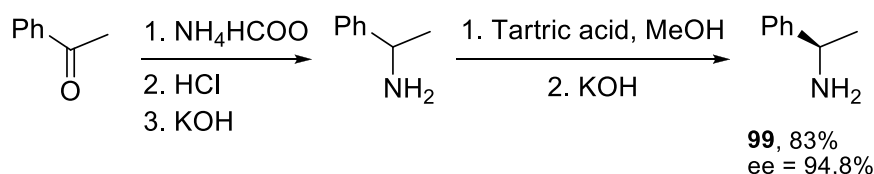


Схема 58. Синтез и расщепление (*R*)-1-Фенилэтиламина

Для введения хирального заместителя в аминокислотный фрагмент использовали реакцию нуклеофильного замещения между этиловым эфиром бромуксусной кислоты и 1-фенилэтиламином с последующим щелочным гидролизом (Схема 59). Полученный N-(1-фенилэтил)-глицин **100** далее вводили в реакцию с изатином и 5-арилдентииогидантоином.

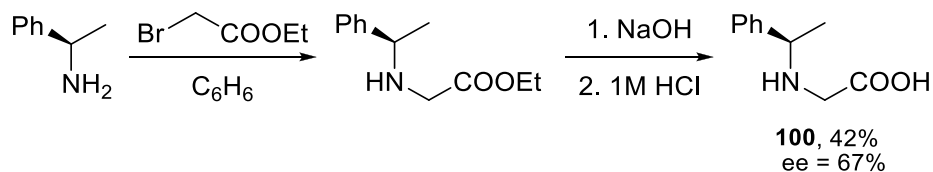


Схема 59. Синтез N-(1-фенилэтил)-глицина.

Однако, при использовании полученной аминокислоты в различных формах (кислая соль, основная соль, свободное основание), целевого продукта реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения к арилидентииогидантоинам обнаружено не было. Возможно, это было связано с тем, что стерические препятствия, создаваемые объёмным 1-фенилэтильным заместителем при атоме азота, сильно затрудняют подход диполя к диполярофилу.

Также была исследована возможность протекания реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения к 5-арилиден-2-тиогидантоинам, для в которых вместо саркозина использовались N-незамещенные аминокислоты (глицин, L-валин и L-аланин), однако, также было показано, что реакция в данном случае не идет. Возможным объяснением может быть структура образующегося диполя, который в данном случае становится менее устойчивым из-за отсутствия алкильного заместителя при атоме азота. По-видимому, используемый метод синтеза диспиропроизводных применим только для N-алкилзамещенных аминокислот.

Для исследования протекания реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с другими хиральными аминокислотами проводилась замена саркозина как источника 1,3-диполя на другую N-замещенную аминокислоту, а именно пролин (Схема 60). Было обнаружено, что в данной реакции, вне зависимости от оптической чистоты исходного пролина, образуются 2 диастереомера продукта в соотношении 1:1, которые легко разделяются методом колоночной хроматографии. Это, очевидно, связано с тем, что в ходе образования 1,3-диполя как энантиомерно чистый, так и рацемический пролин превращаются в один и тот же плоский ахиральный интермедиат.

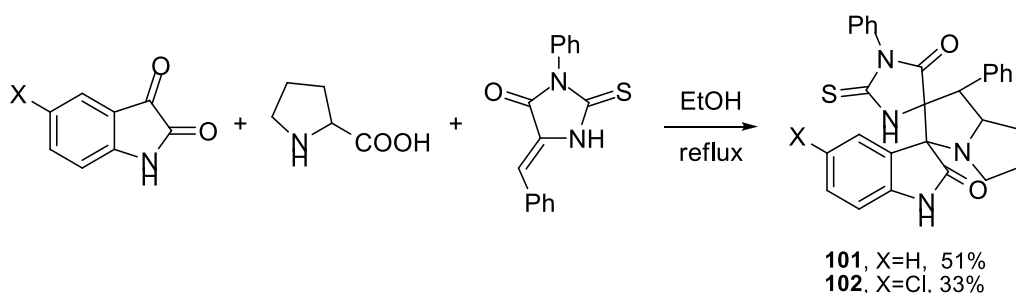


Схема 60. Синтез диспироиндолинонов с использованием пролина.

Хиральный тиогидантоин **34** с (*R*)-1-фенилэтильным заместителем при атоме азота N(3) был получен, исходя из соответствующей хиральной тиомочевины **8**. Тиомочевины **8**, полученная из (*R*)-1-фенилэтиламина, и тиогидантоин **35** были охарактеризованы данными LCMS на хиральной фазе, а также углами оптического вращения, для

установления их энантиомерной чистоты. При проведении конденсации тиомочевины **8** с ароматическим альдегидом было проварьировано используемое основание (Табл. 9) и показано, что даже при использовании таких сильных оснований, как гидрид натрия, не происходит заметной рацемизации.

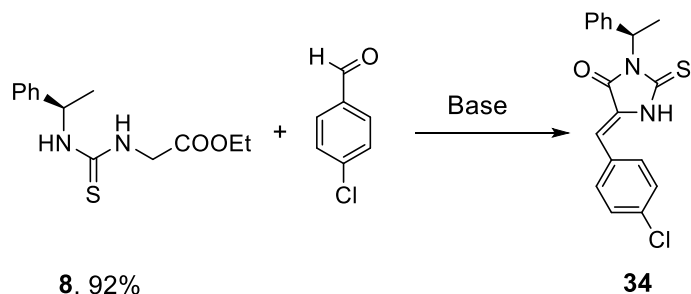
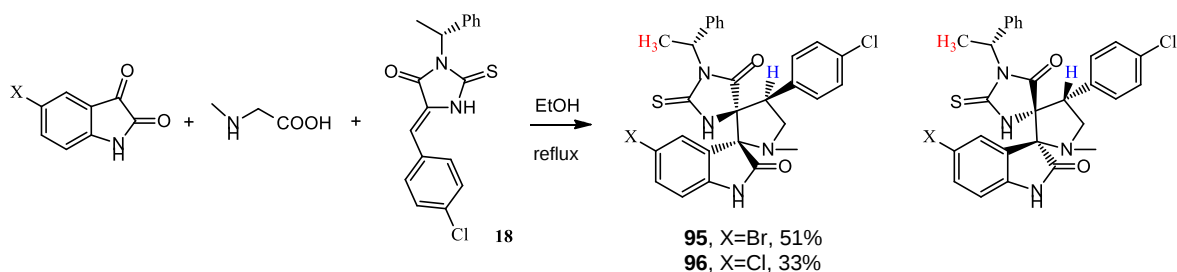


Таблица 9. Использование различных оснований для конденсации мочевины **8** в тиогидантоин **34**.

Основание / Растворитель	Энантиомерный избыток (ee) 34	Выход реакции	Время реакции
2% NaH / ДМФА	94%	83%	1 час
5% MeONa / MeOH	93%	70%	1 час
2% KOH / EtOH	94%	85%	2 часа

Полученный 3-(1-фенилэтил)-5-(4-хлорфенил)иден-2-тиогидантоин **34** далее был введен в реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения с получением диспироиндолинонов в виде смеси диастереоизомеров. Для изучения стереоселективности протекания реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения были получены продукты как на основе как (*R*)-(+)-1-фенилэтиламин, так и рацемического ($\pm$)-1-фенилэтиламина. Далее все соединения, полученные из ($\pm$)-1-фенилэтиламина, обозначены шифром со штрихом.



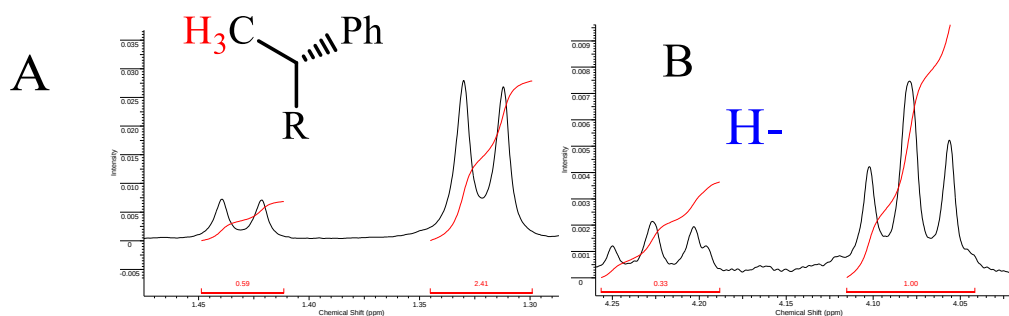


Рис.16. Фрагменты характеристичных сигналов диспироиндолинона **95**, полученного в 2% NaH / ДМФА

Соотношение полученных диастереомерных диспироиндолинонов удобно определять по спектрам ЯМР ^1H , в которых присутствуют несколько групп характеристичных сигналов (Рис. 16). Наиболее удобными являются дублет протонов CH_3 -группы 1-фенилэтильного заместителя (Рис. 16-А), а также триплет бензильных протонов центрального пирролидинового цикла (Рис.16-В).

Было показано, что как при использовании (*R*)-тиогидантоина **35** так и рацемического соединения **35'**, в результате реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения образуется смесь продуктов с одинаковым диастереомерным избытком 56%. Возможно, объемный 1-фенилэтиламинный заместитель тиогидантоина находится в растворе преимущественно в определенной конформации, и подход диполя с одной из сторон молекулы является более затруднен стерически, что приводит к избирательному направлению взаимодействия диполя и диполярофила с получением диастереомерного избытка даже в реакции с рацемическим тиогидантоином **35'**.

Была изучена возможность обогащения диастереомерной смеси одним из изомеров диспироиндолинона **95'** в ходе перекристаллизации. В качестве растворителей были использованы этанол, а также смеси этанол/вода. В результате оптимизации условий перекристаллизации (Табл. 10) наилучшие результаты по разделению диастереомеров были достигнуты при использовании 80% этилового спирта.

Таблица 10. Оптимизация методики перекристаллизации диспироиндолинона **95'**

Концентрация этанола в водном растворе для перекристаллизации (по объему)	Диастереомерный избыток после первой перекристаллизации. Начальный <i>de</i> = 56%	Выход
95%	82%	46%
90%	80%	59%
85%	83%	53%
80%	88%	35%

В результате двух последовательных перекристаллизаций из водного этанола удалось получить один из диастереомерных диспироиндолинонов с *de* 97%; фильтрат при этом был обогащен другим диастереомером. Диастереомерный избыток был оценен с использованием ^1H ЯМР спектроскопии (Рис. 17).

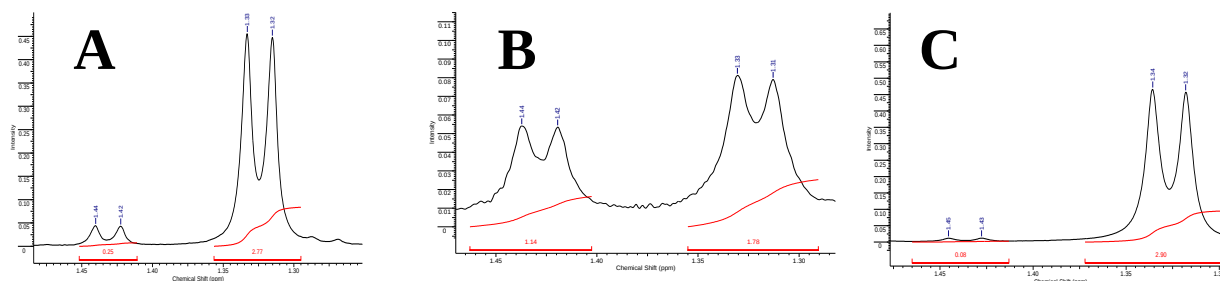


Рисунок 17. Фрагменты спектра диспироиндолинона **95'**. **A** - осадок, полученный после однократной перекристаллизации, **B** - фильтрат после однократной перекристаллизации, **C** – осадок, полученный после двухкратной перекристаллизации (*de* 97%)

Однако при попытке перекристаллизации диспироиндолинона **95**, полученного из (*R*)-1-фенилэтиламина, даже после многократной перекристаллизации диастереомеры разделить не удалось, так как их соотношение оставалось прежним. Вероятно, это связано с тем, что в случае диастереомерных пар образуется эвтектическая смесь с содержанием энантиомеров 50:50 (рацемат), а, как правило [111], рацемическая смесь менее растворима по сравнению с чистым энантиомером. Таким образом, система этанол-вода оказалась неэффективной для разделения на индивидуальные стереоизомеры пары диастереомеров с *R*-конфигурацией фенилэтильного заместителя при атоме азота N(3) тиогидантоина, однако она представляется эффективной при разделении на диастереомеры двух энантиомерных пар, полученных из рацемического 1-фенилэтиламина.

Относительная конфигурация полученного в ходе перекристаллизации диастереомера соединения **95** была установлена методом рентгеноструктурного анализа (Рис. 18). Таким образом, в реакции спироциклизации преимущественно образуется изомер с (*3R**,*2'R**,*3'S**,*4'S**)-конфигурацией асимметрических центров.

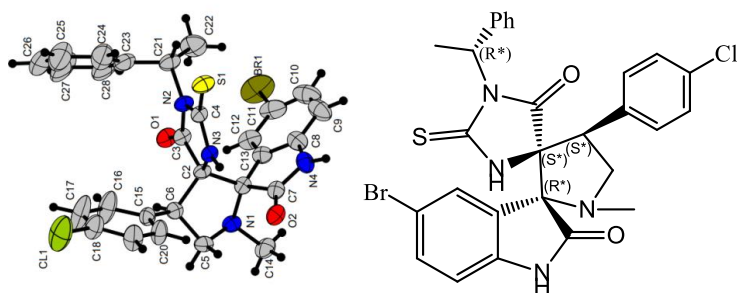


Рис. 18. Молекулярная структура соединения **95'**

С целью введения в целевой диспироиндолинон хиральных заместителей в изатиновый фрагмент была изучена возможность получения хиральных N-замещенных изатинов. Для получения данных соединений вначале планировалось получение N-арилзамещенных α -фенилэтиламина с последующей их циклизацией в изатин по двум альтернативным методам с использованием соединений меди: реакцией Чана-Лама [112] с использованием арилборных кислот, или реакцией Ульмана [113] с использованием арилиодидов (Схема 61).

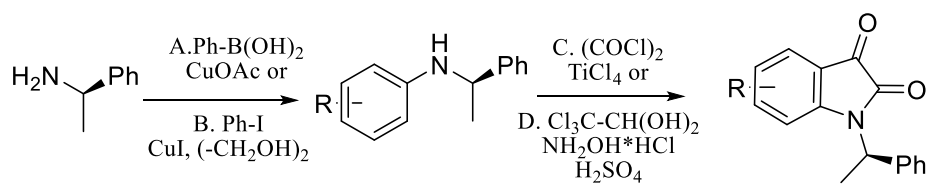


Схема 61. Схема синтеза изатинов с хиральным заместителем.
А - Сочетание Чана-Лама; В - Реакция Ульмана; С – Метод Штолле; D – Метод Зандмейера

Вначале как по методу Чана-Лама (Схема 61) так и по реакции Ульмана (Схема 62) с использованием (*R*)-1-фенилэтиламина с умеренными выходами были получены энантиомерно чистые N-арилзамещенные амины:

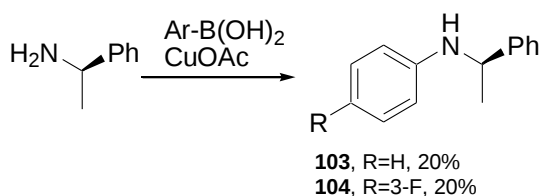


Схема 62. Метод сочетания Чана-Лама.

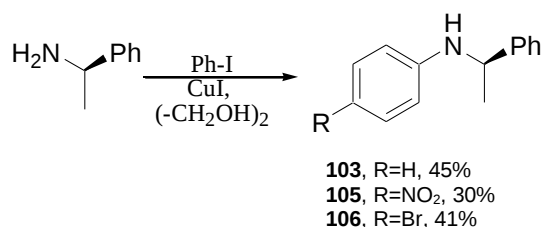


Схема 63. Реакция Ульмана.

Невысокий выход получаемых N-арилзамещенных аминов обусловлен необходимостью их тщательной очистки от катализирующих реакцию соединений меди, которые являются цитостатическими агентами путем многократной промывки концентрированным водным раствором ЭДТА.

На следующем этапе полученные N-ариламины использовались в качестве предшественников для синтеза N-(1-фенилэтил)изатина по двум методам:

1. По методу Штолле [114] N-ариламин был введен в реакцию с оксалилхлоридом и далее с хлоридом титана (IV) в качестве кислоты Льюиса для получения хирального изатина.

2. По методу Зандмейера [115] N-ариламин был введен в реакцию с хлоральгидратом и гидрохлоридом гидроксиламина в водно-спиртовой среде, и далее с концентрированной серной кислотой с целью получения хирального изатина (Схема 64).

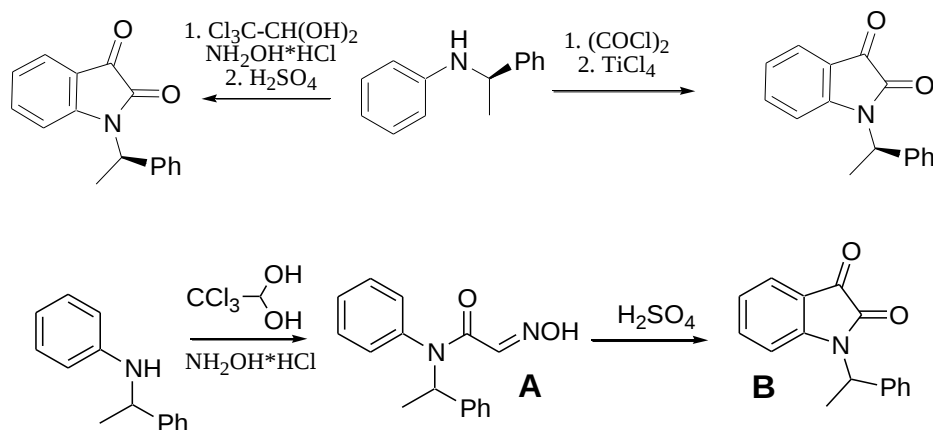


Схема 64. Схема синтеза 1-(1-фенилэтил)изатина по методу Штолле и Зандмейера

В обоих случаях целевой N-(1-фенилэтил)-изатин выделить не удалось, так как в качестве основного продукта из реакционной смеси был выделен исходный амин. Возможно, это связано с тем, что образующийся на первом этапе синтеза амид с объемным заместителем при атоме азота в сильно кислом водном растворе постепенно

гидролизуется и, скорость его гидролиза для исследованной реакции оказывается выше скорости циклизации.

В отличие от неудачных попыток синтеза хирального изатина **108**, его рацемический аналог **108'** легко может быть получен (Схема 65) гидробромированием стирола с его последующим нуклеофильным замещением атома брома.

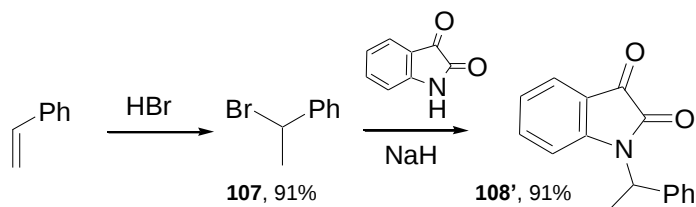


Схема 65. Схема синтеза рацемического 1-(1-фенилэтил)изатина

Полученный изатин **108'** был далее введен в реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения с саркозином и 5-арилиден-2-тиогидантоином **18**. В результате был получен диспироиндолинон **109'**, представляющий из себя 2 энантиомерные пары диастереоизомеров (4 стереоизомера).

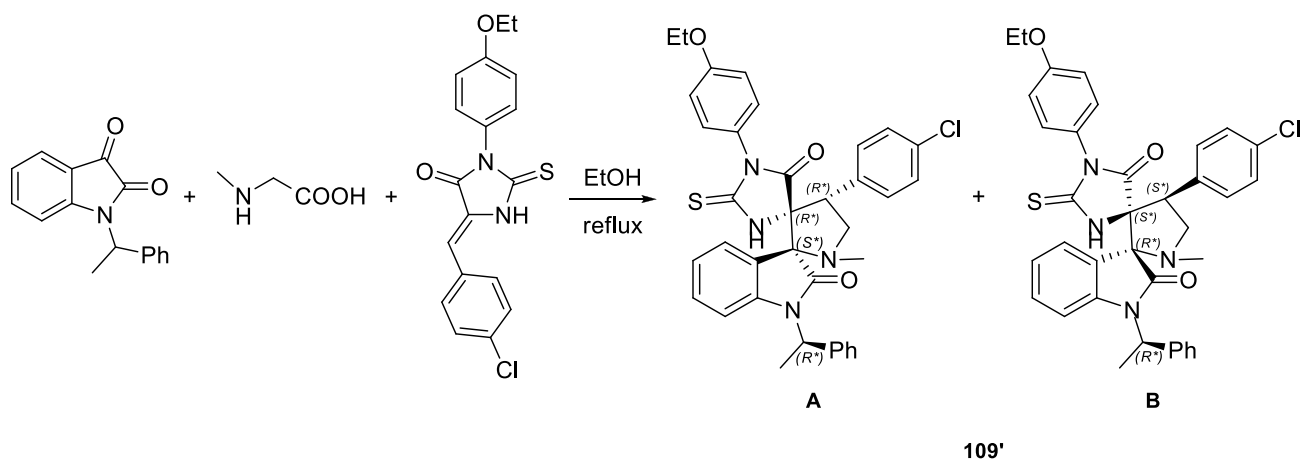


Схема 66. Схема получения диспироиндолинона **109'**

По данным спектра ЯМР ^1H полученной диастереомерной смеси, реакция не приводит к появлению диастереомерного избытка, однако в результате дальнейшей 2-кратной перекристаллизации из 80% этанола удалось выделить диспироиндолинон **109'-A** с *de* 92%. Выделенный диастереомер был охарактеризован данными масс-спектрометрии высокого разрешения, ЯМР ^1H спектрометрии и рентгеноструктурного анализа (Рис. 19).

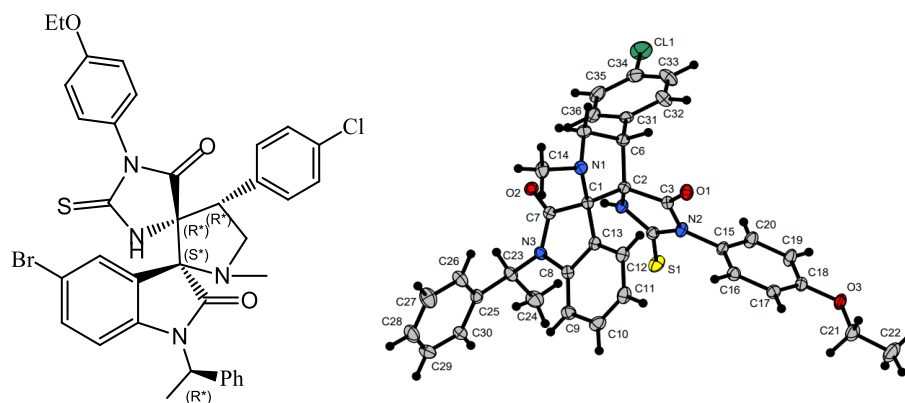


Рис. 19. Молекулярная структура соединения **109'**

Отметим, что при введении 1-фенилэтиламинного заместителя в разные положения молекулы диспироиндолинона, как в изатиновый, так и в тиогидантоиновый фрагмент, в результате перекристаллизации из водного спирта могут быть выделены диспирособъединения с противоположными стереохимическими конфигурацией центрального цикла (Рис. 20). Таким образом, при последующем гидрогенолизе полученных соединений А и В с удалением бензильной группировки с атома азота возможно направленно получать диспироиндолиноны с необходимой относительной конфигурацией пирролидинового кольца.

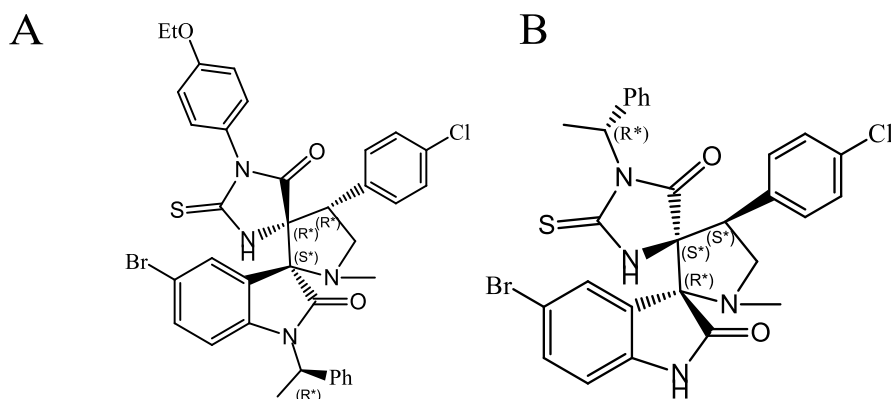


Рисунок 20. Стереизомеры, выделяемые при перекристаллизации продуктов 1,3-диполярного циклоприсоединения при введении фенилэтильного фрагмента к изатиновому (А) и тиогидантоиновому (В) атомам азота.

3.4. Синтез и биологическое тестирование диспироиндолинонов на основе незамещенных тиогидантоинов и гидантоинов

Для проверки важности природы экзо- и эндо-циклического гетероатомов в диполярофиле, а также заместителя при атоме N(3) тиогидантоинового цикла диспиропроизводных имидазол-4-онов для проявления ими биологической активности

нами была синтезирована серия незамещенных производных **113-115**, **118-122** с дальнейшей оценкой их цитотоксичности. Как было замечено ранее при использовании замещенных 5-арилиден-2-тиогидантоинов, наилучшую активность проявили соединения имеющие атом галогена в пара-положении 5-арилиденового фрагмента, а также диспиропроизводные на основе 5-бромизатина. На основании данных двух подходов и были выбраны структуры целевых соединений.

Первоначально были получены диспиропроизводные N-незамещенных 2-тиогидантоинов **113-115**, исходя из тиогидантоина. Исходные 5-арилидензамещенные 2-тиогидантоины **110-112** получали с высокими выходами при реакции тиогидантоинов с ароматическими альдегидами в уксусной кислоте в присутствии ацетата калия при температуре 140°C при микроволновом облучении в течение 20 минут (Схема 67). В спектрах ЯМР ^1H выделенных 2-тиогидантоинов наблюдается единственный сигнал винильного протона, что свидетельствует об образовании одного геометрического изомера целевых азаляктонов, которому была приписана Z-конфигурация на основании данных статьи по химическим сдвигам протонов $\text{H}-\text{C}=\text{C}<$ в N-незамещенных тиогидантоинах (для Z-изомера сигнал винильного протона проявляется в диапазоне 7.1-7.4 м.д.; а для E-изомера - 7.5-7.7 м.д.) [104].

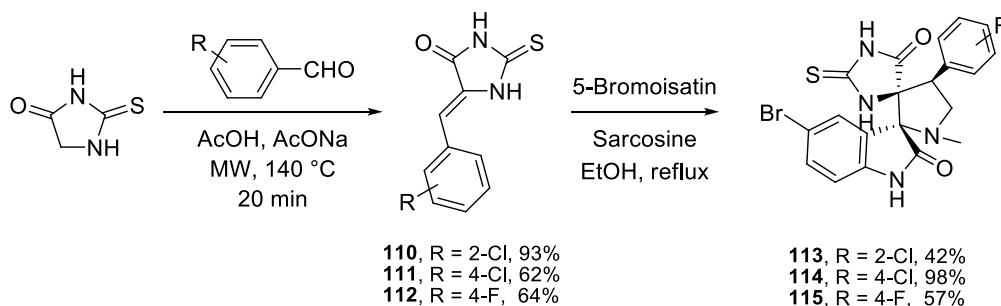


Схема 67. Схема получения диспироиндолинонов **113-115**

Целевые диспироиндолиноны **113-115** получали реакцией 1,3-диполярного присоединения азометинилидов, генерируемых *in situ* конденсацией 5-бромизатина и саркозина (N-метилглицин) с последующим декарбоксилированием промежуточно образующегося лактона. Выходы продуктов на стадии циклоприсоединения составили 42-98%. Выход реакции максимален при использовании 2-кратного избытка аминокислоты и изатина. В спектрах ЯМР ^1H соединений **113-115** характеристичными являются синглет NCH_3 группы в области 2.08-2.12 м.д., а также сигналы протонов тетрагидропиррольного цикла, проявляющихся в виде дублетов дублетов или триплетов в области 3.52 - 4.56 м.д., с константами спин-спинового взаимодействия близкими к 10 Гц. В спектрах

присутствуют также набор сигналов ароматических протонов при 6.34-9.72 м.д. и сигналы протонов NH-групп в области 10.61-11.72 м.д. Во всех случаях целевой диспироиндолинон был выделен в виде единственного диастереомера, относительная конфигурация которого была подтверждена данными рентгеноструктурного исследования на примере соединения **115**.

Соединение **115** было охарактеризовано данными рентгеноструктурного анализа, показавшими его (5'R*,5S*,4'S*) конфигурацию (Рис.21), аналогично полученным ранее N-замещенным производным.

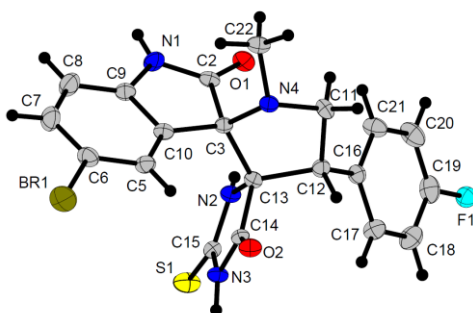


Рис. 21. Молекулярная структура соединения **124**

Исходные 5-арилидензамещенные гидантоины **116-117** были получены при реакции гидантоинов с ароматическими альдегидами при кипячении в течение 24 часов в смеси этанол-вода в присутствии моноэтаноламина (Схема 68). В спектрах ЯМР ^1H выделенных N-незамещенных гидантоинов наблюдается единственный сигнал винильного протона, что свидетельствует об образовании исключительно Z-изомера целевого продукта [105]. Целевые диспироиндолиноны **118-122** получали реакцией гидантоинов **116-117** или соответствующих тиазолидинов с изатином или 5-бромизатином, и саркозином (Схема 68). Выходы продуктов на стадии циклоприсоединения составили 38-58%. В спектрах ЯМР ^1H диспироиндолинонов на основе N-незамещенных гидантоинов **118-120** характеристичными являются синглет NCH_3 группы в области 2.04-2.07 м.д., а также сигналы протонов тетрагидропиррольного цикла, проявляющихся в виде дублетов дублетов или триплетов в области от 3.37 до 4.15 м.д., с константами спин-спинового взаимодействия близкими к 10 Гц. В спектрах присутствуют также набор сигналов ароматических протонов при 6.56-7.64 м.д. и сигналы протонов NH-групп имидазолидинового фрагмента в области 10.55-10.79 м.д. и протонов NH-групп индолинонового фрагмента в области 11.33-11.70 м.д. В спектрах ЯМР ^1H диспироиндолинонов на основе N-незамещенных тиазолидинов **121-122** характеристичными являются синглет NCH_3 группы в области 2.06-2.08 м.д., а также

сигналы протонов тетрагидропиррольного цикла, проявляющихся в виде дублетов дублетов или триплетов в области от 3.48 до 4.45 м.д., с константами спин-спинового взаимодействия близкими к 10 Гц. В спектрах присутствуют также набор сигналов ароматических протонов при 6.85-7.65 м.д. и сигналы протонов NH-групп в области 10.85-12.26 м.д

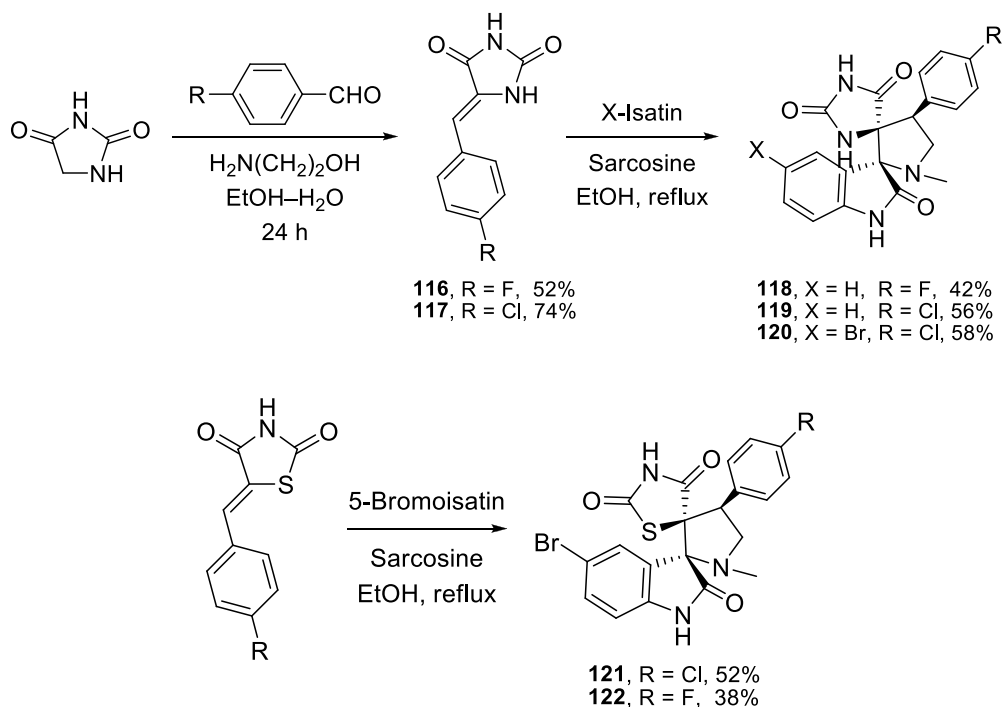


Схема 68. Схема получения незамещенных диспироиндолинонов **118-122**

Для полученных соединений была проведена оценка их биологической активности на выбранных модельных клеточных линиях: эпителия почки человеческого эмбриона НЕК293Т, карциномы молочной железы MCF7, эпителия карциномы легких A549, эпителия здорового легкого эмбриона человека VA13. Цитотоксичность диспироиндолинонов была оценена в стандартном МТТ-тесте (Табл 10).

Таблица 10. Данные по биологической активности N-незамещенных диспиропроизводных **113-122**

№ соединения	IC ₅₀ (μM)			
	HEK293T	MCF7	A549	VA13
113	23.6±1,2	≥100	88.6±9,4	≥100
114	35.4±2.3	70.1±5.9	55.1±4.5	≥100
115	28.8±6.2	47.3±3.3	39.6±2.3	54.2±4.8
118	9.2±0.5	24.1±4.1	6.6±1.6	11.9±2.5
119	14.3±5.0	18.4±5.3	7.5±2.0	20.8±5.3
120	15.8±1.2	20.0±2.3	14.1±1.2	47.3±4.6
121	≥100	≥100	≥100	≥100
122	≥100	≥100	≥100	≥100
Nutlin 3a	na	14.9±0.6	10.4±0.8	na

На основании полученных данных можно сделать вывод об отсутствии цитотоксического эффекта на опухолевых клеточных линиях тиазолидиновых производных; наименьшие значения IC₅₀ имеют гидантоиновые производные, показывающие наибольшую селективность, сравнимую с Нутлином 3а, к клеточной линии эпителия карциномы легких A549. Тиогидантоиновые производные имеют промежуточную величину цитотоксичности на раковых клеточных линиях эпителия карциномы легких A549 и карциномы молочной железы MCF7, однако, не являются цитотоксичными на нераковых клеточных линиях эпителия здорового легкого эмбриона человека VA13 и эпителия почки человеческого эмбриона HEK293T.

3.5. Синтез и биологическое тестирование диспироиндолинонов на основе 5-арилидензамещенных гидантоинов

В связи с обнаруженной активностью N-незамещенных гидантоиновых диспиропроизводных (см. раздел 3.4), в настоящей работе была синтезирована серия диспироиндолинонов на основе 5-арилиден-гидантоинов и проведено исследование их цитотоксичности в сравнении с тиогидантоиновыми аналогами.

С целью оптимизации структуры было проведено исследование их взаимодействия с гидрофобным карманом белка MDM2 при помощи статического трехмерного

молекулярного докинга в программном обеспечении «ICM-Pro»². За основу моделирования были взяты структуры известных ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2 и известные для них рентгеноструктурные данные.

Для сравнения была выбрана упрощенная модель описанного в литературе соединения-ингибитора MDM2 (Рис. 22А) [116]. Для проверки правильности модели вычисления сопоставляли рассчитанные данные с известными рентгеноструктурными данными комплекса с белком. Как видно на Рис. 22А, вычисленные модели хорошо согласуются с реальными структурами. Из данных докинга следует, что диспироиндолиноны, полученные из гидантоинов, должны лучше связываться с белком MDM2 по сравнению с аналогичными тиогидантоиновыми производными. Это позволяет предположить возможное улучшение биологической активности при замене атома серы на атом кислорода в молекуле диспироиндолинона

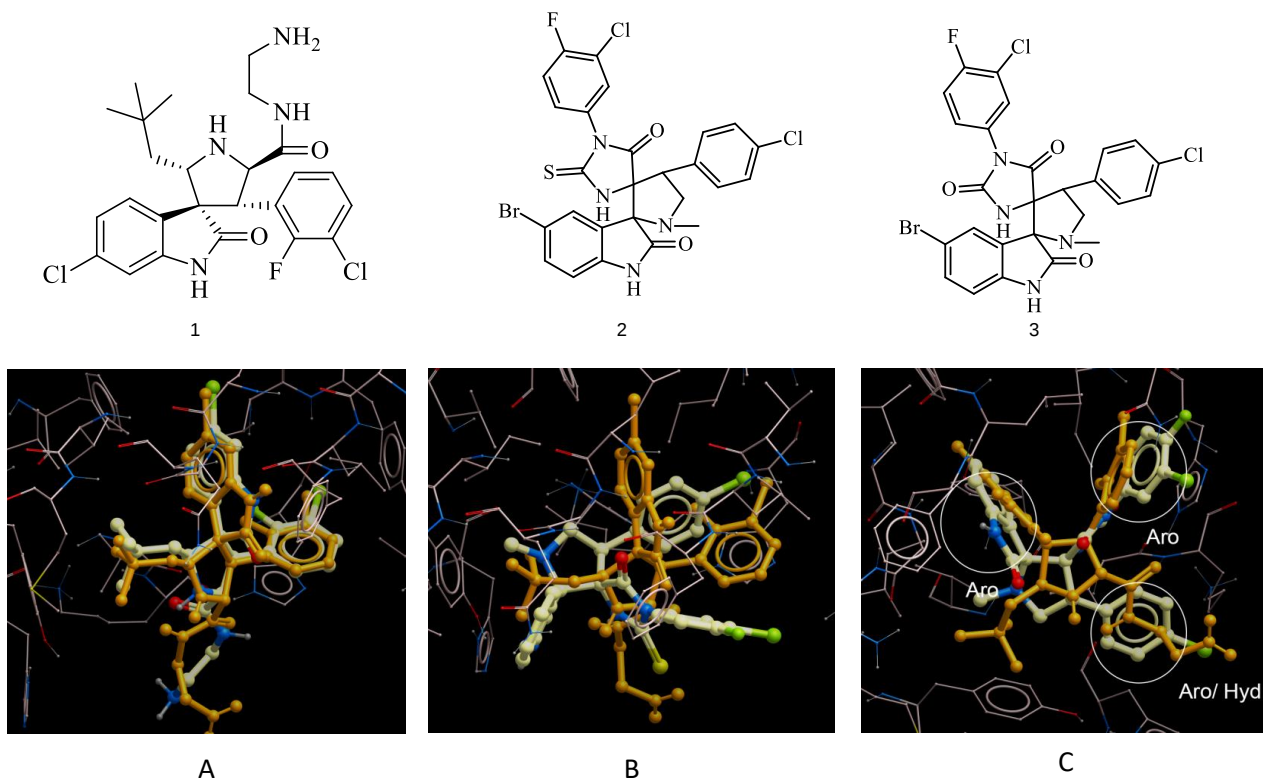


Рис. 22. Данные молекулярного докинга по связыванию ингибиторов с белком MDM2. **А.** Фрагмент белка MDM2 совместно с модельным соединением **1** (данные PCA) и ингибитором *Nutlin-3a*, расположенным в сайте связывания p53. **В.** Наложение модельного соединения **1** и тиогидантоинового производного **2** в гидрофобном кармане белка p53. **С** Наложение модельного соединения **1** и гидантоинового аналога **3** в гидрофобном кармане белка p53.

² Данная часть работы по молекулярному моделированию выполнена совместно с к.б.н, Заведующим Лабораторией медицинской химии и биоинформатики МФТИ Иваненковым Я. А.

В настоящей работе был проведен синтез серии диспироиндолинонов, исходя из 5-арилиденгидантоинов. В качестве целевых соединений были выбраны аналоги уже существующих соединений-лидеров, полученных из 2-тиогидантоинов.

Для синтеза гидантоинов использовались соответствующие тиогидантоины, полученные по методике, описанной выше. Схема синтеза, а также данные по выходам получаемых 5-арилиденгидантоинов, приведены в Табл. 11.

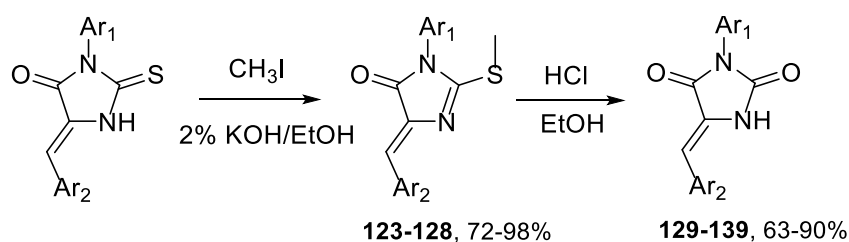


Таблица 11. Полученные 5-арилиденгидантоины

№ S-метил тиогидантоина	Выход	№ гидантоина	Выход	Заместитель Ar ₁	Заместитель Ar ₂
123	98%	129	77%	Ph-	Ph-
124	88%	130	86%	Ph-	2-Br-C ₆ H ₄ -
125	72%	131	84%	Ph-	2-Cl-C ₆ H ₄ -
126	86%	132	78%	Ph-	4-F-C ₆ H ₄ -
127	92%	133	86%	Ph-	4-Br-C ₆ H ₄ -
128	84%	134	90%	4-OCH ₃ -C ₆ H ₄ -	4-F-C ₆ H ₄ -
-	-	135*	63%	4-OC ₂ H ₅ - C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -
-	-	136*	88%	4-Cl-C ₆ H ₄ -	4-OCH ₃ -C ₆ H ₄ -
-	-	137*	78%	4-Cl-C ₆ H ₄ -	Ph-
-	-	138*	89%	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	4-OC ₂ H ₅ - C ₆ H ₄ -
-	-	139*	73%	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -

*Данные соединения были получены без промежуточного выделения S-алкилированных производных.

Замена атома серы на кислород происходит в результате двух последовательных реакций: первоначального S-алкилирования 5-арилиден-2-тиогидантоина метилиодидом по S_N2 механизму, и последующего гидролиза путем кипячения в смеси этанол-соляная кислота. Образование целевых продуктов подтверждается наличием в спектрах ЯМР ¹H характеристичных для производных 5-арилиденгидантоинов сигнала NH-группы при 11.0 – 11.3 м.д., а также синглета винильного протона Z-изомера при 7.6 – 7.9 м.д [117]. При использовании альтернативного метода замены атома серы на кислород с использованием хлоруксусной кислоты в воде [117], по данным LCMS пиков целевых продуктов в смеси обнаружено не было.

Для получения 5-арилиденгидантоинов также были использованы соответствующие арилизоцианаты (Схема 69). Однако, было показано, что в данном случае выход реакции на стадии конденсации очень мал (менее 20%), что не позволяет использовать данную методику для комбинаторного синтеза большого количества 5-арилиденгидантоинов.

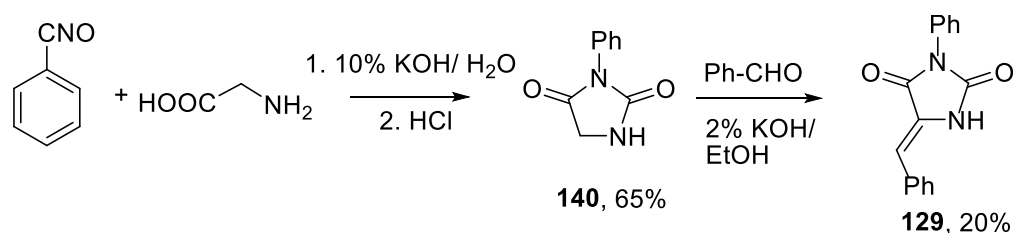


Схема 69. Получение 3-фенил-5-бензилиден-гидантоина **129** из фенилизоцианата **140**.

Было установлено, что на стадии циклизации реакция идет с выходом в 65%. Однако последующая конденсация с ароматическим альдегидом приводит к очень низким выходам в 20%. Таким образом, предпочтительным методом получения 5-арилидензамещенных гидантоинов является их синтез из аналогичных 5-арилиден-2-тиогидантоинов через стадию получения метилтио-производного.

Полученные 5-арилиденгидантоины были затем введены в реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения с изатинами и сакозином, с получением серии диспиропроизводных **141-148** (Табл.12).

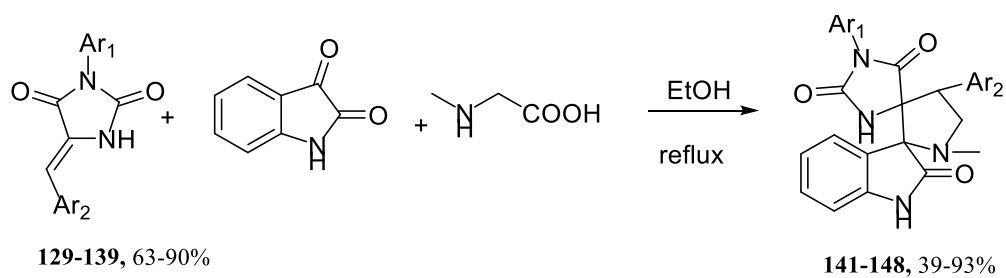


Таблица 12. Полученные диспиропроизводные **141-148** на основе 5-арилиденгидантоинов

№ соединения	Заместитель Ar ₁	Заместитель Ar ₂	Выход
141	Ph-	Ph-	82%
142	Ph-	2-Cl-C ₆ H ₄ -	87%
143	Ph-	2-Br-C ₆ H ₄ -	93%
144	Ph-	4-F-C ₆ H ₄ -	67%
145	4-OCH ₃ -C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	39%
146	4-Cl-C ₆ H ₄ -	Ph-	78%
147	4-Cl-C ₆ H ₄ -	4-OCH ₃ -C ₆ H ₄ -	62%
148	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	79%

Для получения продуктов в реакции с 5-бромизатином оптимальным оказался альтернативный метод с первоначальным получением диспиропроизводных на основе 2-тиогидантоинов, их последующим алкилированием метилиодидом и заменой атома серы на кислород на последней стадии синтеза. Таким образом, были получены три диспиропроизводных **149-151** (Табл.11).

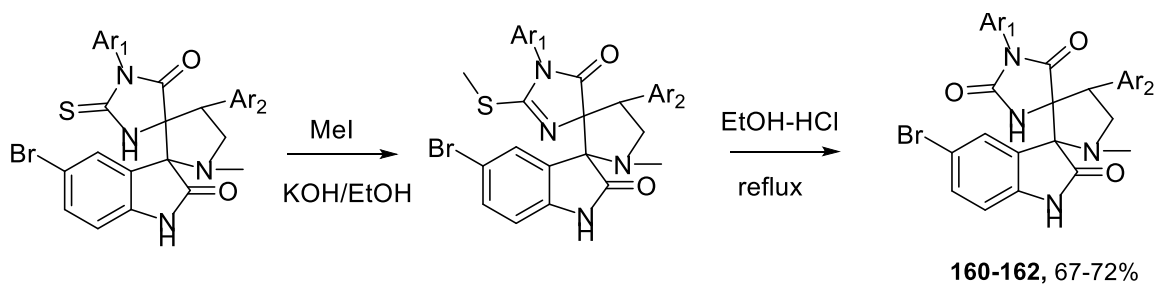


Таблица 11. Полученные диспиропроизводные **149-151** на основе 5-арилиденгидантоинов

№ соединения	Заместитель Ar ₁	Заместитель Ar ₂	Выход
149	Ph-	4-Br-C ₆ H ₄ -	67%
150	4-OC ₂ H ₅ -C ₆ H ₄ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	72%
151	3-Cl-4-F-C ₆ H ₃ -	4-Cl-C ₆ H ₄ -	68%

Соединения **141-151** были охарактеризованы данными ЯМР ¹H спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения. В спектре ЯМР ¹H конечных диспироиндолинонов наблюдаются сигналы индолиновых протонов при 10.60–10.85 м.д., сигналы NH гидантоиновых фрагментов при 8.02– 8.64 м.д., сигналы ароматических протонов при 6.85–7.96 м.д., три характеристические триплета СН-протонов при 4.09–4.61, 3.79–4.20 и 3.37–3.46 м.д., а также синглет группы N-CH₃ при 2.08–2.19 м.д. В масс-спектре высокого разрешения присутствует пик молекулярного иона.

Молекулярная структура соединения **151** (Рис. 14) была установлена методом РСА, подтвердившим относительную конфигурацию стереоцентров (5'R*,5S*,4'S*)..

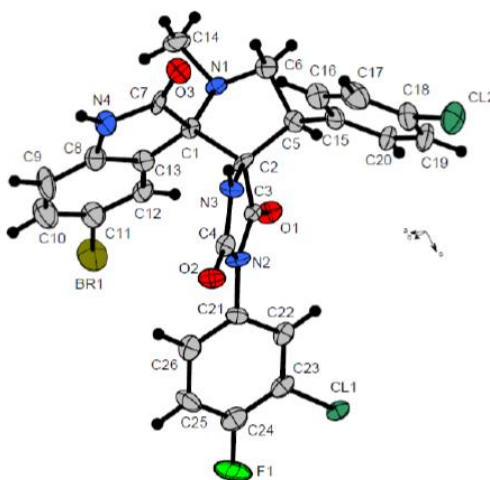


Рис 24. Молекулярная структура соединения **151**.

На следующем этапе была проведена оценка биологической активности полученных диспироиндолинонов **141-151** на выбранной модели раковых клеточных линий, которая содержала клетки эпителия почки человеческого эмбриона НЕК293Т, карциномы молочной железы MCF7, эпителия карциномы легких A549, эпителия

здорового легкого эмбриона человека VA13³. Как известно [118], активация p53 вызывает транскрипцию MDM2, который затем напрямую взаимодействует с трансактивационным доменом, способствуя его убиквитин-зависимой транскрипции и дальнейшей протеасомной деградации. В таких раковых клеточных линиях, как HEK, MCF7 и A549, также наблюдается гиперэкспрессия MDM2, которая в дальнейшем приводит к возникновению апоптоза [103].

Цитотоксичность диспироиндолинонов была оценена в стандартном МТТ-тесте, дополнительно все соединения были протестированы на p53-активацию на транскрипционном репортере. Результаты приведены в Табл. 13.

Таблица 13. Данные по биологической активности диспиропроизводных **141-151** на основе 5-арилиденгидантоинов по сравнению с Нутлином 3 [119], известным ингибитором p53-MDM2 взаимодействия

№ соединения	IC ₅₀ (μM)				p53 активация на транскрипционном репортере
	HEK293T	MCF7	A549	VA13	
141	23.6±1,2	≥100	88.6±9,4	≥100	na
142	35.4±2.3	70.1±5.9	55.1±4.5	≥100	1.5 to 2.0
143	28.8±6.2	47.3±3.3	39.6±2.3	54.2±4.8	na
144	9.2±0.5	24.1±4.1	6.6±1.6	11.9±2.5	na
145	14.3±5.0	18.4±5.3	7.5±2.0	20.8±5.3	na
146	15.8±1.2	20.0±2.3	14.1±1.2	47.3±4.6	2.0 to 2.5
147	≥100	≥100	≥100	≥100	na
148	8.1±0.6	7.7±0.6	11.9±0.8	16.2±1.6	1.5 to 2.0
149	≥100	≥100	≥100	≥100	na
150	6.3±0.6	6.6±0.6	4.9±0.3	13.3±0.8	na
151	3.0±0.1	3.9±0.3	1.3±0.1	4.7±0.3	1.5 to 2.0
Nutlin 3	na	14.9±0.6	10.4±0.8	na	4.0 to 5.0

¹ Исследования цитотоксичности в рамках данной работы проводилось Скворцовым Дмитрием Александровичем, кафедра ХПС Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и Воробьевой Натальей Сергеевной, Лаборатория Биомедицинских наноматериалов, НИТУ «МИСиС».

Как видно из данных Табл 12., наилучшая цитотоксичность в этой серии составляет 1.3– 14.3 μM . Соединения **150** и **151** продемонстрировали наилучший цитотоксический эффект на клеточных линиях A549 и MCF7 и не показали биологической активности по отношению к условно нормальным клеточным линиям HEK293T и VA13, что может служить косвенным подтверждением p53-зависимого механизма действия. Соединения **144** и **145** показали селективность по отношению к клеточным линиям эпителия карциномы легких A549 с величинами цитотоксичности $\text{IC}_{50} = 6.6 \pm 1.6$ и 7.5 ± 2.0 μM соответственно, однако, эти также проявили эффект на нераковых клеточных линиях, что может свидетельствовать лишь об общем цитотоксическом эффекте.

По сравнению с аналогичными тиогидантоиновыми производными, диспиропроизводные на основе гидантоинов показали лучшую цитотоксичность. Так, например для соединения **150** $\text{IC}_{50} = 6.3 \pm 0.55$ μM на клеточной линии HEK и $\text{IC}_{50} = 6.58 \pm 0.55$ μM на клеточной линии MCF7, в то время как его тио-аналог имеет значения $\text{IC}_{50} = 28.61 \pm 8.68$ μM и 34.9 ± 6.4 μM на тех же линиях, соответственно [103]. Необходимо также отметить, что соединения **144**, **145** и **150,151** имеют значения цитотоксичности IC_{50} , превосходящие препарат сравнения Нутлин 3а.

Тестирование на p53-активацию на транскрипционном репортере [Ошибка! Источник ссылки не найден.] с использованием в качестве контроля Нутлина 3 показало, что эффект p53-активации проявило только одно соединение **146**, что, однако, не подтверждается данными по цитотоксичности. Слабый эффект p53-активации имеют соединения **142**, **148** и **151**. Полученный результат может быть объяснен двумя гипотезами: а) в исследуемых соединениях активация p53 является только одним из нескольких механизмов действия, влияющих на общую цитотоксичность; б) слабая p53-активация есть следствие других типов активности, вызывающих экспрессию p53.

3.6. Синтез и биологическое тестирование диспироиндолинонов на основе 5-арилиденоксазолонов

При подготовке данного материала были использованы собственные публикации автора [122]. В предыдущих работах было проведено исследование по синтезу и исследованию цитотоксичности серии 2-арил-5-арилметилензамещенных 1,3-оксазол-5(4H)-онов [121,122], которые могут быть использованы в качестве удобных синтетических предшественников для синтеза различных более сложных соединений. Для соединений с оксазолоновым фрагментом, в частности – индолсодержащих, также

показано наличие противоопухолевой активности [123-125] на различных линиях раковых клеток.

Ранее [126,127] был предложен подход к получению диспирозоединений на основе 1,3-оксазолонов. В ходе оптимизации условий реакции было показано, что к наилучшим выходам приводит использование в качестве растворителя этанола в течение 10 часов. Однако, в данных работах в качестве исходных соединений в основном были использованы либо N-арилизатины с арилированным атомом азота [126], либо циклические аминокислоты - пролин или 1,3-тиазолилин-4-карбоновая кислота [127]. Диспироиндолиноны, получаемые из незамещенного изатина и саркозина, в литературе не представлены.

В рамках данной работы был разработан метод региоселективного синтеза новых диспироиндолинонов, которые объединяют в своей структуре индолиноновый и 1,3-оксазолоновый фрагменты, путем реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов к 2-арил-5-арилметилензамещенным 1,3-оксазол-5(4*H*)-онам и было проведено тестирование цитотоксичности полученных соединений на различных опухолевых клеточных линиях.

Исходные 2-арил-5-арилметилен-1,3-оксазол-5(4*H*)-оны **152-156** получали путем реакции конденсации производных гиппуровых кислот (N-ацилглицинов) с альдегидами [121,122] в присутствии ацетата калия в качестве основания. В свою очередь, гиппуровые кислоты могут быть получены с высокими выходами путем ацилирования глицина галогенангидридами замещенных бензойных кислот в щелочной среде (Схема 70). В ЯМР ^1H спектрах полученных оксазолонов наблюдается единственный сигнал винильного протона, что свидетельствует об образовании одного геометрического изомера целевых азалактонов, которому была приписана *Z*-конфигурация на основании данных статьи [128] по химическим сдвигам протонов $\text{H}-\text{C}=\text{C}<$ в 5-арилиденимидазолонх (для *Z*-изомера сигнал винильного протона проявляется в диапазоне 7.1-7.4 м.д.; а для *E*-изомера - 7.5-7.7 м.д.).

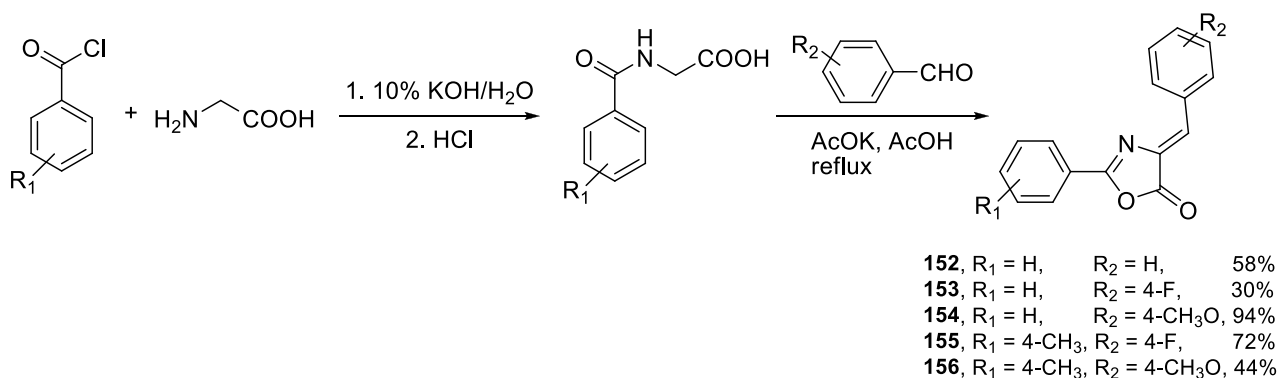


Схема 70. Получение 2-арил-5-арилметилен-1,3-оксазол-5(4H)-онов

Целевые диспироиндолиноны **157-161** получали путем реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов, генерируемых *in situ* конденсацией изатина и саркозина с последующим декарбоксилированием промежуточно образующегося лактона (Схема 71).

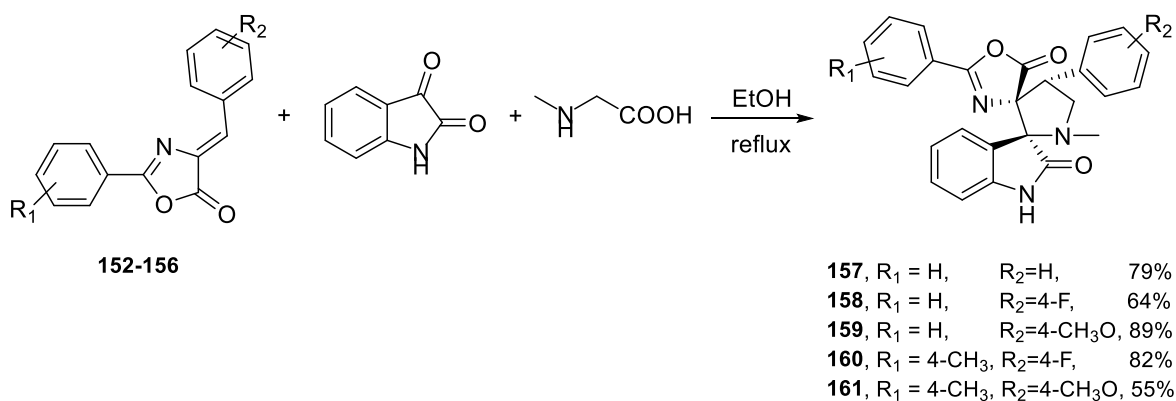


Схема 71. Получение диспиропроизводных 2-арил-5-арилметилен-1,3-оксазол-5(4H)-онов

Выходы продуктов на стадии циклоприсоединения составили 55-89%. Выход реакции максимален при использовании 2-кратного избытка аминокислоты и изатина. В спектрах ЯМР ¹H для соединений **157-161** характеристичными являются синглет N-CH₃ группы в области 2.16-2.19 м.д., а также сигналы протонов тетрагидропиррольного цикла, проявляющихся в виде дублетов дублетов или триплетов в области от 3.55 до 4.85 м.д., с константами спин-спинового взаимодействия близкими к 10 Гц. В спектрах присутствуют также набор сигналов ароматических протонов при 6.75-7.66 м.д. и сигналы протонов NH-групп в области 10.38-10.66 м.д. Во всех случаях целевой диспироиндолинон был выделен в виде единственного диастереомера, относительная (5'S*,5R*,4'R*) конфигурация которого была подтверждена данными рентгеноструктурного исследования на примере соединений **159**.

Молекулярная структура соединения **159** приведена на Рис. 25А. В кристалле молекулы сокристаллизуются с молекулами этанола в соотношении 1:1. Молекулы этанола посредством водородных связей N-H...O и O-H...N (где O -атом кислорода этанола) образуют в кристалле бесконечные цепочки, чередуясь с молекулами вдоль кристаллографической оси b (см. Рис.25В).

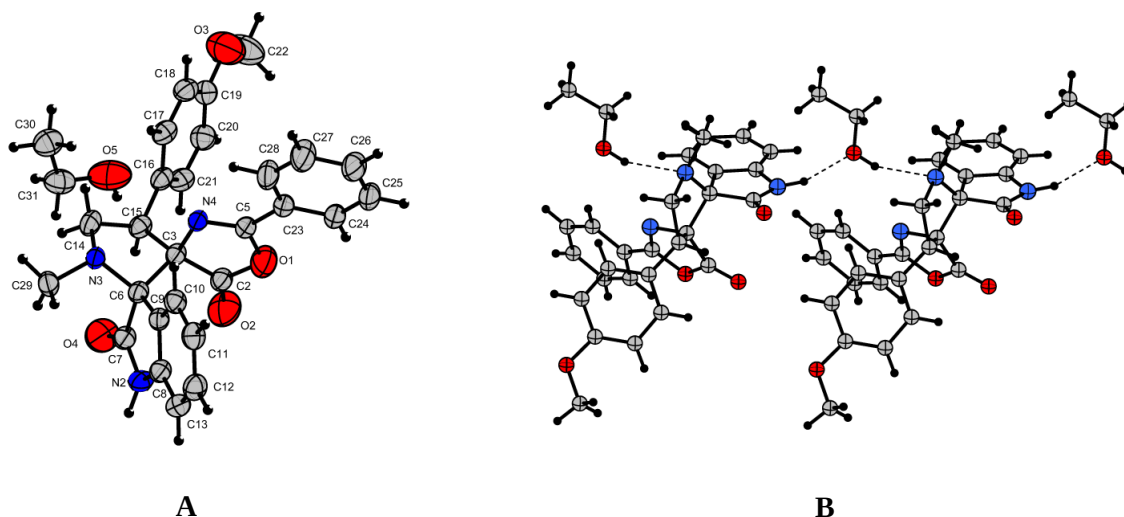


Рис 25. (А) Молекулярная структура соединения **159**. (В) Фрагмент упаковки молекул в кристалле соединения **159**, демонстрирующий образование цепочек чередующихся посредством водородных связей молекул. Водородные связи обозначены штриховыми линиями.

Механизм реакции, по-видимому, аналогичен описанному в разделе 3.1 механизму присоединения азометинилидов к 5-арилиден-2-тиогидантоинам.

Следует отметить, что продукты 1,3-диполярного присоединения не удалось выделить при проведении реакций с оксазолонами, содержащими $R_1 = F$, Cl и/или $R_2 = Cl$, Br в ароматических заместителях оксазолонового фрагмента. В этих реакциях образуются сложные смеси продуктов, содержащие по данным хромато-масс-спектрометрического анализа целевые диспироиндолины в количестве не более 5%. Основными продуктами во всех этих случаях являются соединения, молекулярные массы которых соответствуют продуктам раскрытия оксазолинового цикла исходных оксазолонов и их диспиропроизводных присутствующими в реакционной смеси нуклеофилами – этанолом, водой и саркозином – с образованием бензамидных производных (Схема 72). Реакции подобного типа описаны в литературе (см., например, [128,129]). По-видимому, наличие акцепторных атомов галогена в *орто*- и *пара*-положениях арильных заместителей оксазолона облегчает атаку нуклеофила по карбонильному атому углерода с последующим раскрытием оксазолонового гетероцикла.

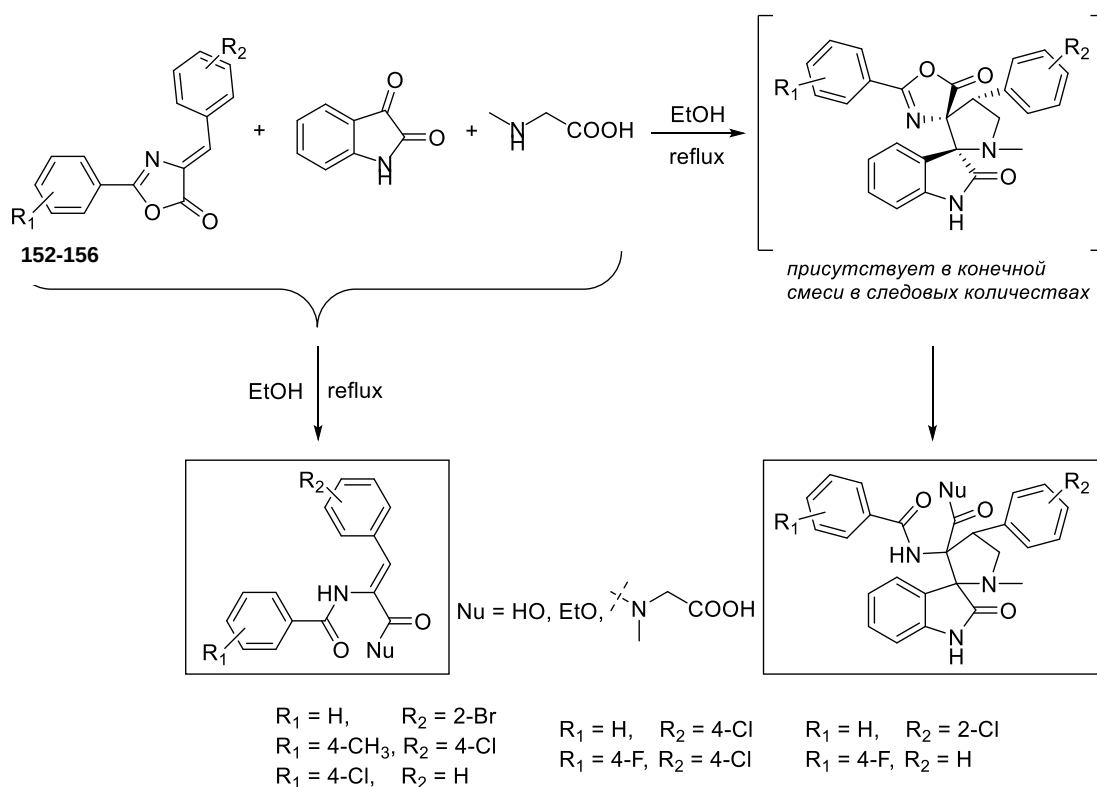


Схема 72. Продукты реакции оксазолонов 163-167 с изатином и саркозином.

Все полученные диспироиндолиноны были протестированы *in vitro* на противоопухолевую активность на клеточных культурах рака предстательной железы человека LNCap и PC3, колоректального рака HCT116^(+/+) и HCT116^(-/-), рака груди MCF7, карциномы легких человека A549, а также условно нормальной клеточной линии эмбриональных почек человека HEK и фибробластов легких (нераковых) VA13. Полученные результаты приведены в Таблице 13. Для сравнения в таблице приведены также IC₅₀ для известного ингибитора взаимодействия p53-MDM2 препарата Нутлин-3а [130].

Как видно из данных Табл. 14, большая часть полученных соединений (**157-161**) не показала активности по отношению к исследуемым клеточным линиям. В то же время, наиболее эффективное соединение **161** показало высокую активность (IC₅₀ = 1.08±0.96 мкМ) по отношению к клеткам LNCap и более низкую активность (IC₅₀ = 3.21±1.45 мкМ) по отношению к клеткам PC3, однако, не показало никакой активности по отношению к клеткам HCT, как экспрессирующим (HCT^{+/+}), так и не экспрессирующим (HCT^{-/-}) p53. При сравнении данных по цитотоксичности диспирооксазолонов с предыдущими результатами для диспиротиоксоимидазолинонов можно сделать вывод, что изменение природы гетероцикла в исходном 1,3-диполярофиле приводит получению класса соединений, лишь в отдельных случаях проявляющих селективность к исследуемым

клеточным культурам. По видимому, активность определяется характером заместителей в бензольных кольцах получаемого диспиропроизводного. Селективность по отношению к клеточной линии, экспрессирующей p53, косвенно подтверждает предполагаемый механизм действия данного класса соединения как ингибитора p53-MDM2 взаимодействия.

Таблица 14. Значения IC₅₀ (мкМ), полученные в МТТ-тесте для спироиндолинонов **157-161**.

Номер соединения	Клеточная линия							
	PC3	LNcap	HCTwt	HCT-/-	MCF7	A549	HEK	VA13
157	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
158	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
159	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
160	11.4±4.4	13.8±6.1	>100	>100	49.4±13.9	47.7±15.4	67.5±29.9	25.6±5.4
161	3.2±1.4	1.2±0.9	>100	>100	74.6±12.7	>100	32.41±7.5	55.7±18.1
Нутлин-3а*	36.9±0.2	0.86±0.03	na	na	14.9±0.6	10.4±0.8	na	na

* По данным работы [130]

При сравнении полученных данных по цитотоксичности с Нутлином 3а можно отметить, что наиболее активное соединение **161** имеет сравнимый цитотоксический эффект на клеточной линии рака простаты LNCap.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что соединение **161** перспективно для дальнейшей модификации и исследования как ингибитор взаимодействия белков p53 и MDM2, т.к. оказывает больший эффект на клеточную линию, экспрессирующую белок p53, по сравнению с неэкспрессирующей линией, однако

соединение **161** имеет более высокие значения цитотоксичности по сравнению с Нутлином-3а.

3.7. Синтез и биологическое тестирование диспироиндолинонов на основе 5-арилиденроданинов

На заключительном этапе исследования, с учетом имеющихся литературных данных по противоопухолевой активности роданиновых производных [131] была получена серия N-аллил и N-арилзамещенных роданин-содержащих диспироиндолинонов **165-173**, **182-189** и **204-210** и была проведена оценка их биологической активности.

5-Арилидензамещенные 3-аллилроданины **162-164** были получены по известной методике конденсацией 3-аллилроданина с альдегидами в присутствии ацетата калия и далее введены в реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения с изатином и саркозином с получением диспиропродуктов **165-173** (Схема 73).

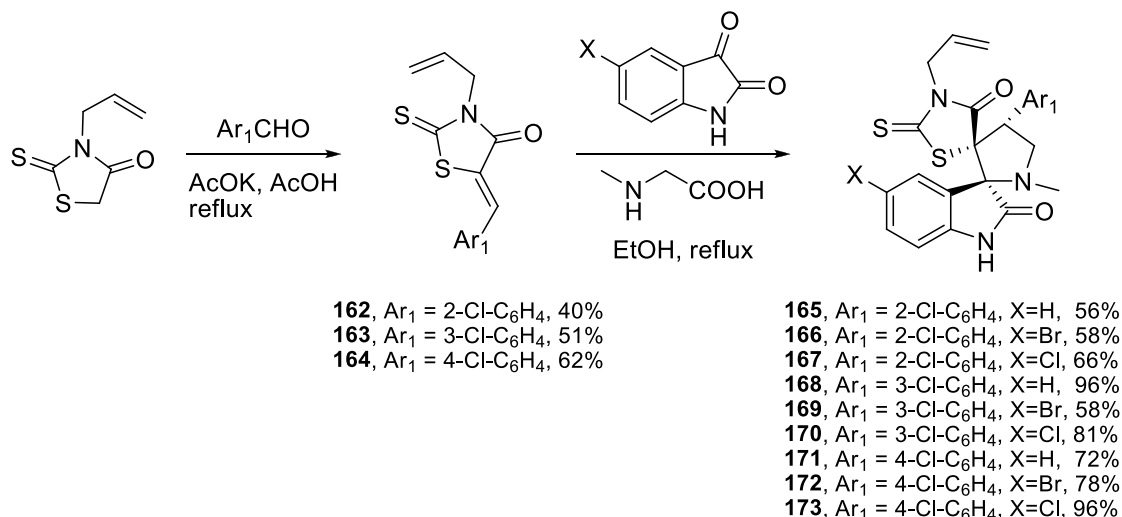


Схема 73. Получение диспиропродуктов на основе роданинов **183-191**.

Получение 5-арилидензамещенных 3-арилроданинов возможно двумя способами: исходя либо из арилизоотиоцианатов, либо из ароматических аминов. При реакции фенилизотиоцианата с тиоуксусной кислотой в системе этанол-вода наблюдается выпадение осадка роданина **174** (Схема 60). Характеристичным сигналом в его ЯМР ¹H спектре является синглет СН₂-группы при 4.6 м.д. Конденсацию 3-фенилзамещенного роданина с альдегидами проводили при активации микроволновым излучением в уксусной кислоте в присутствии ацетата калия в качестве основания. Характеристичным сигналом в спектре ЯМР ¹H полученных соединений **175-181** является синглет винильного протона при 7.8-7.9 м.д.

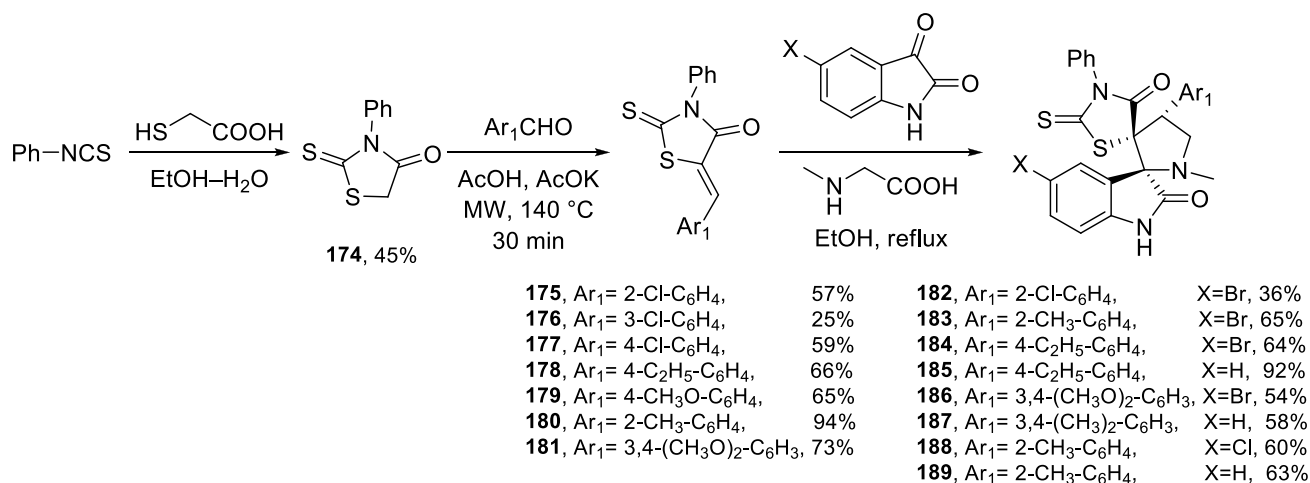


Схема 74. Получение диспиропроизводных на основе роданинов **182-189**.

В спектре ЯМР ¹H полученных диспиропроизводных наблюдается характеристичный сигнал NH-группы индолинона при 10.8-11.2 м.д., сигналы ароматических протонов в области 6.8-7.8 м.д., характеристичные псевдо-триплеты при 3.5-3.8, 4.0-4.1 и 4.5-4.6 м.д, а также синглет N-CH₃ группы при 2.1-2.2 м.д.

Структура соединения **184** была определена методом рентгеноструктурного анализа (Рис.2), показавшего относительную (5'S*, 5R*, 4'R*) конфигурацию стереоцентров.

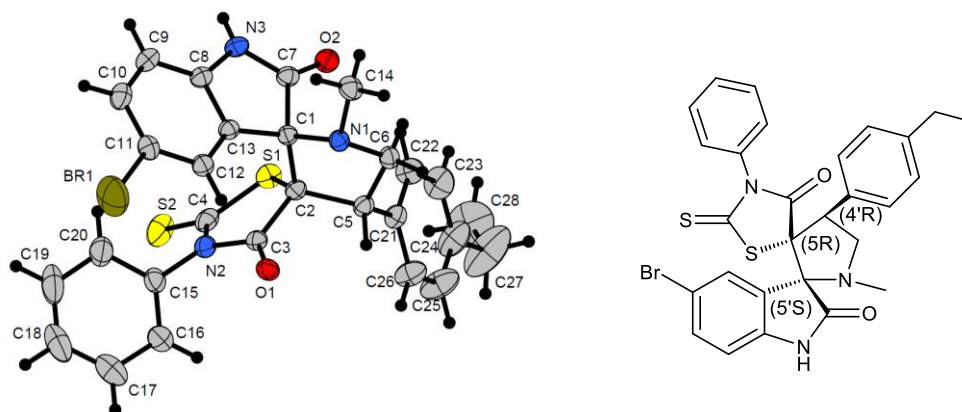


Рис 26. Молекулярная структура соединения **184**.

Альтернативный метод синтеза заключается в первоначальной реакции ароматического амина с сероуглеродом с образованием тиокарбамата аммония и его дальнейшей реакцией с солью хлоруксусной кислоты и циклизацией в 3-арилзамещенный роданин. Далее проводили конденсацию полученных 3-арилроданинов **190-192** с альдегидом, как и в случае выше, при микроволновом излучении в присутствии ацетата калия с получением соответствующих 5-арилидензамещенных роданинов **193-201**. На

заключительной стадии 5-арилидензамещенные роданины **193-201** вводили в реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения с саркозином и замещенным изатином в этаноле (Схема 61) с получением целевых диспиророданинов **202-208**.

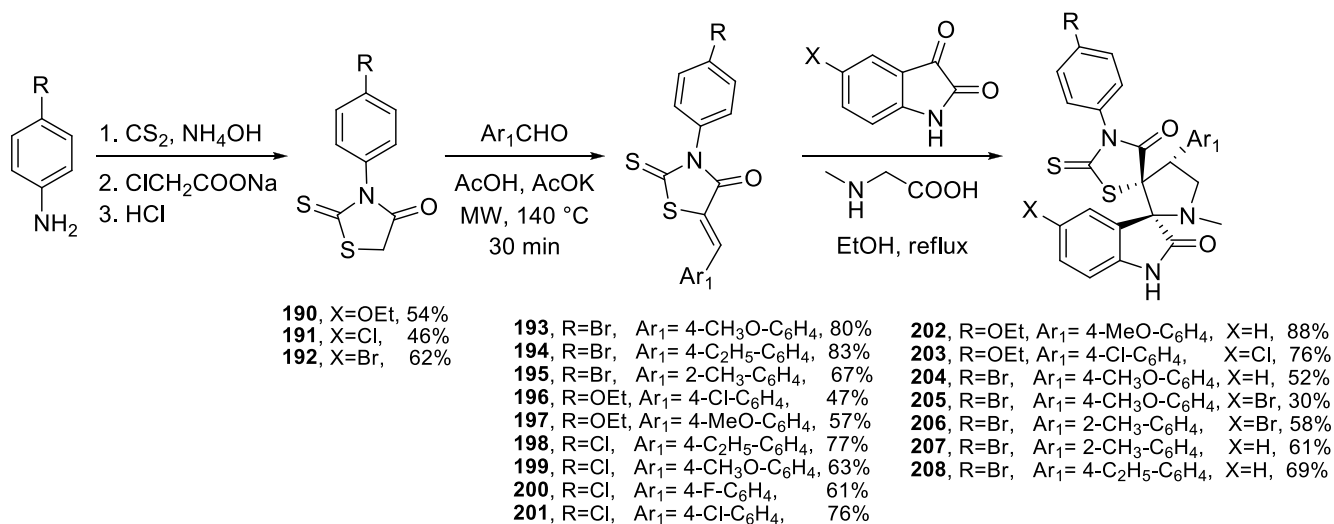


Схема 75. Получение диспиропроизводных на основе роданинов **204-210**.

Структура соединения **203** также была установлена методом рентгеноструктурного анализа (Рис.2), показавшего относительную (5'S*, 5R*, 4'R*) конфигурацию стереоцентров.

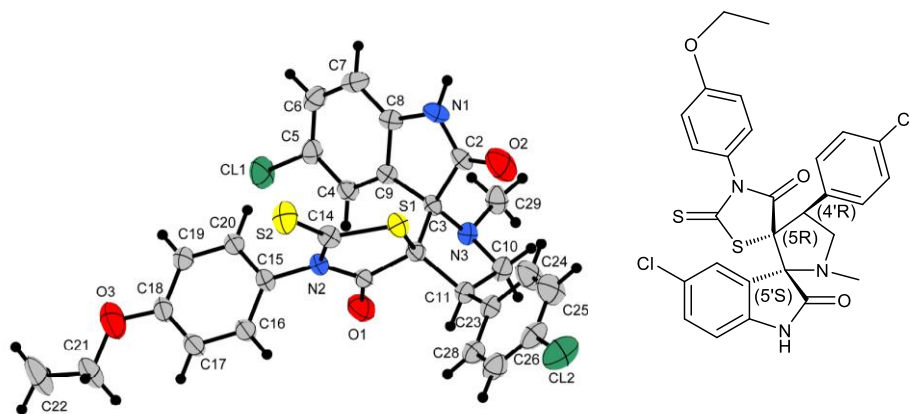


Рис 27. Молекулярная структура соединения **205**.

Для соединений была **165-173**, **182-189** и **204-210** проведена оценка их биологической активности на 60 типах различных опухолевых клеточных линиях (NCI 60 cell lines). Наибольшую активность продемонстрировали соединения **172** и **173**, данные по цитотоксичности которых на наиболее селективных клеточных линиях приведены ниже (см. Табл. 15). Было показано, что данные соединения обладают значительной

цитотоксичностью и селективностью на клеточных линиях рака почек различной морфологии.

Таблица 15. Значения IC_{50} (мкМ), полученные в МТТ-тесте для спироиндолинонов **172-173**.

Клеточная линия	IC_{50} , μ М	
	172 , Ar_1 =Allyl, Ar_2 =4-Cl- C_6H_4 , X=Br	173 , Ar_1 =Allyl, Ar_2 =4-Cl- C_6H_4 , X=Cl
HL-60 (Leukemia)	na	9.6 $\pm$ 1.7
NCI-H226 (Lung)	na	9.9 $\pm$ 1.9
HT29 (Colon)	8.5 $\pm$ 1.5	8.9 $\pm$ 1.8
LOX IMVI (Melanoma)	6.5 $\pm$ 1.2	9.0 $\pm$ 2.1
RXF-393 (Renal)	7.4 $\pm$ 1.3	20.1 $\pm$ 3.1
SN12C (Renal)	7.5 $\pm$ 1.0	7.8 $\pm$ 1.3
UO-31 (Renal)	9.3 $\pm$ 1.4	30.1 $\pm$ 3.6
786-0 (Renal)	10.7 $\pm$ 1.7	8.1 $\pm$ 0.9

Дополнительно для полученных роданинов **165-173**, **182-189** и **204-210** было проведено исследование на цитотоксичность на опухолевых клеточных линиях рака груди MCF7, карциномы легких человека A549, а также условно нормальной клеточной линии эмбриональных почек человека HEK и фибробластов легких (нераковых) VA13. Полученные результаты для соединений приведены в Таблице 16. Для сравнения в таблице приведены значения цитотоксичности IC_{50} для известного ингибитора взаимодействия p53-MDM2 препарата Нутлин-3 [130].

Таблица 16. Значения IC_{50} (мкМ), полученные в МТТ-тесте для спироиндолинонов **182-189** и **204-210**.

Номер соединени я	Клеточная линия			
	HEK293T	MCF7	A549	VA13

182	3.4±0.4	7.5±0.8	5.4±0.6	6.0±0.4
183	1.8±0.2	7.4±0.6	5.7±0.5	8.6±0.6
184	2.8±0.4	7.6±1.1	5.6±0.3	8.1±1.1
185	4.0±0.3	5.3±0.7	4.2±0.5	13.9±1.7
186	8.1±0.5	12.6±1.8	9.9±1.3	25.0±2.5
187	8.1±0.5	8.0±0.8	9.1±0.9	16.0±1.6
188	2.4±0.2	2.8±0.1	3.0±0.4	4.4±0.3
189	5.8±0.1	7.1±0.5	5.6±0.4	11.5±0.7
204	5.4±0.3	20.5±3.8	11.6±1.1	40.8±8.6
205	5.2±0.3	6.7±0.7	6.5±0.4	8.2±0.7
206	5.3±0.3	9.6±1.6	6.2±0.5	12.6±1.3
207	4.2±0.3	5.4±0.3	4.6±0.2	5.3±0.6
208	5.7±0.5	7.5±0.8	5.9±0.4	5.6±0.6
209	3.6±0.2	3.5±0.2	4.3±0.4	7.1±0.7
210	NA	NA	NA	NA
Нутлин-3а*	NA	14.9±0.6	10.4±0.8	NA

Как видно из данных Табл.16, наилучшую активность и селективность по отношению к опухолевым клеточным линиям MCF7 и A549 имеют соединения **185** и **189**. Они имеют значения цитотоксичности $IC_{50} = 5.3 \pm 0.7 \mu M$ и $4.2 \pm 0.5 \mu M$ на клеточной линии MCF7 и $IC_{50} = 7.1 \pm 0.5 \mu M$ и $5.6 \pm 0.4 \mu M$ на клеточной линии A549 соответственно. Также эти соединения показали различие на порядок в цитотоксическом эффекте на неопухолевых клеточных линиях HEK293T и VA13, показав значения цитотоксичности $IC_{50} = 13.9 \pm 1.7$ и $11.5 \pm 0.7 \mu M$ соответственно.

Было показано, что по сравнению с Нутлином 3 все соединения **182-189** и **204-210** обладают большей цитотоксичностью, однако демонстрируют меньшую селективность по отношению к клеточным линиям рака груди MCF7, карциномы легких человека A549, а

также условно нормальной клеточной линии эмбриональных почек человека НЕК и фибробластов легких (нераковых) VA13.

Таким образом, на основании совокупности данных по синтезу и биологической активности диспироиндолинонов на основе различных гетероциклических фрагментов в рамках данной работы можно сделать следующие заключения:

1. Были разработаны методы синтеза диспироиндолинонов различных структурных типов: производных тиогидантоинов (N-незамещенных и N-арилзамещенных), производных гидантоинов (N-незамещенных и N-арилзамещенных), производных роданинов (N-аллилзамещенных и N-арилзамещенных), производных N-незамещенных тиазолидинов, производных 1,3-оксазолонов.
2. Для диспиропроизводных различных структурных типов была показана цитотоксичность и селективность на различных опухолевых клеточных линиях. Так, для диспиропроизводных на основе тиогидантоинов - по отношению к клеткам колоректального рака HCT116, для производных гидантоинов - по отношению к клеткам рака легкого A549, для производных 1,3-оксазолонов - по отношению к клеткам рака простаты LNCaP, для производных роданинов - по отношению к клеткам рака почек.
3. При установлении зависимости «структура-активность» выявлено, что при замене атома водорода в 5-м положении изатина на бром наблюдается значительное улучшение активности и селективности. Также к улучшению общей цитотоксичности и селективности приводит наличие атома галогена в *пара*-положении бензольного кольца в Ar₂ заместителе.

4. Экспериментальная часть

4.1. Общие сведения

Контроль хода реакций и чистоты веществ осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках «Silufol-UV254» с закрепленным слоем силикагеля. Температуры плавления определяли в блоке с открытым капилляром. Приведены неисправленные величины температур плавления.

Спектры ЯМР ^1H записывали на приборе Bruker Avance с рабочей частотой 400 МГц. В качестве растворителя использовали дейтерохлороформ и диметилсульфоксид- d_6 . Химические сдвиги приведены в миллионных долях по шкале δ относительно гексаметилдисилоксана как внутреннего стандарта. Спектры ЯМР ^{13}C регистрировали на приборе Varian-XR-400 с рабочей частотой 100 МГц.

ИК-спектры регистрировали на приборе UR-20 в вазелиновом масле и на ИК-спектрометре с преобразованием Фурье IR200 (TermoNicolet, USA) с разрешением 4 см^{-1} в KBr. Элементный анализ синтезированных соединений выполняли на CHN-анализаторе Varioicro Cube фирмы Elementar.

Жидкостной хромато-масс спектральный (ЖХМС) анализ выполнен методом химической ионизации (LCMS) на хроматомасс-спектрометре 11000 LCMSD (Ailent Technologies) с детектором масс ELSD (PL-ELS-1000).

Масс-спектры высокого разрешения (MCBP) регистрировали на приборе Bruker microTOF II методом электрораспылительной ионизации (ESI). Измерения выполняли на положительных ионах (напряжение на капилляре – 4500V). Диапазон сканирования масс – m/z 50-3000 D, калибровка – внешняя или внутренняя (Electrospray Calibration Solution, Fluka). Вещества вводили в виде растворов в ацетонитриле, скорость потока – 3 мкл/мин. Газ-распылитель – азот (4 л/мин), температура интерфейса 180 °C.

Элементный анализ синтезированных соединений выполняли на CHN-анализаторе Vario Micro Cube фирмы Elementar.

Рентгеноструктурное исследование монокристаллов соединений проводили на дифрактометре “StadiVari Pilatus 100K” фирмы “STOE”, CuK α излучение (1.54186Å, от генератора GeniX3D Cu HF с микрофокусной рентгеновской трубкой и многослойным тонкопленочным эллипсоидальным монохроматором FOX3D HF фирмы Xenocs (Франция). Сбор данных и обработка зарегистрированных дифракционных пиков проводились пакетом программ X-Area 1.67 (STOE & Cie GmbH, Darmstadt, Germany, 2013). Интенсивности рефлексов на фреймах, полученных с двумерного детектора, масштабировались с помощью программы LANA (входящей в пакет X-Area), которая при

обработке дифракционных данных минимизирует разности интенсивностей симметрически эквивалентных рефлексов (метод multi-scan). Структурные данные депонированы в Кембриджском банке структурных данных, CCDC 1819366.

Структура решена прямым методом, реализованным в комплексе программ SHELXS-97. Уточнение позиционных и тепловых параметров неводородных атомов проведено в полноматричном анизотропном приближении. Положения атомов водорода при гетероатомах (N,O) определялись из синтезов Фурье и уточнялись свободно. Положения атомов водорода при углеродных атомах рассчитывались и уточнялись в изотропном приближении по модели “наездника”. Графические изображения молекулы в кристалле выполнены с использованием программы DIAMOND [132].

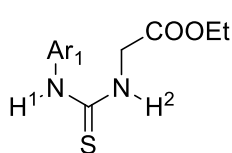
Использованные растворители были очищены и абсолютированы по методикам, приведенным в руководстве [133].

4.2. Синтез этил 2-изотиоционат ацетата (1) [134].

Гидрохлорид этилового эфира глицина (13.5 г, 0.097 ммоль) помещают в трехгорлую колбу, содержащую 50 мл воды и 50 мл CH_2Cl_2 . При сильном перемешивании одновременно из капельных воронок прикапывают раствор 25 г NaHCO_3 в 100 мл воды и 11.9 г (0.103 ммоль) тиофосгена в 40 мл CH_2Cl_2 . Смесь перемешивают 1 час до получения бесцветного раствора. Органический слой отделяют и дважды промывают водой, затем упаривают на вакуумном роторном испарителе, а затем перегоняют. В результате реакции получают 11.1 г (79%) соединения (1) в виде прозрачного желтого масла.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 4.27 (кв, $J=7.1$ Гц, 2H, $-\text{CH}_2-$), 4.22 (с, 2H, CH_2NCS), 1.31 (т, $J=7.1$ Гц, 3H, $-\text{CH}_3$).

4.3. Общая методика синтеза тиомочевин.



В плоскодонную колбу, содержащую раствор изотиоцианата (1 экв.) в диэтиловом эфире, прикапывают амин (1 экв.) и перемешивают до выпадения осадка. Полученный осадок отфильтровывают, промывают небольшим количеством эфира. При необходимости продукт очищают колоночной хроматографией.

4.3.1. Синтез этил 2-[3-(4-этоксифенил)тиомочевино] ацетата (2) [134].

В результате реакции из 0.48 г (3.5 ммоль) циклопропиламина и 0.51 г (3.5 ммоль) этил 2-изотиоционат ацетата получают 0.84 г (93%) бледно-фиолетового осадка. $T_{\text{пл}}=174^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.72 (уш.с, 1H, NH), 7.19 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, арил), 6.95 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, арил), 6.39 (уш.с, 1H, NH), 4.43 (д, $J=4.9$ Гц, 2H, CH_2COOEt), 4.21 (кв,

$J=7.0$ Гц, 2H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 4.04 (кв, $J=7.0$ Гц, 2H, OCH_2CH_3), 1.43 (т, $J=7.0$ Гц, 1H, OCH_2CH_3), 1.29 (т, $J=7.1$ Гц, 1H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$).

4.3.2. Синтез этил 2-[3-(4-(проп-2-ин-1-илоху)фенил)тиомочевино] ацетата (3) [134].

В результате реакции из 0.17 г (1,2 ммоль) 4-пропаргилоксианилина и 0.17 г (1.2 ммоль) этил 2-изотиоционат ацетата получают 0.29 г (86%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=108^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 9.70 (с, 1H, NH^1), 7.75 (с, 1H, NH^2), 7.26 (д, $J=6.9$ Гц, 2H, Ar- βH), 6.97 (д, $J=6.9$ Гц, 2H, Ar- αH), 4.77 (с, 2H, CH_2), 4.06-4.20 (м, 4H, CH_2CH_3), 3.55 (с, 1H, CCH), 1.24 (т, $J=6.5$ Гц, 3H, CH_3).

4.3.3. Синтез этил 2-[3-(3-хлор-4-фторфенил)тиомочевино] ацетата (4) [134].

В результате реакции из 2.01 г (13.8 ммоль) 3-хлор-4-фторанилина и 2.00 г (13.8 ммоль) этил 2-изотиоционат ацетата получают 2.97 г (85%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=151^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8.49 (уш.с, 1H, NH), 7.42 (дд, $J_1=6.4$ Гц, $J_2=2.4$ Гц, 1H, арил), 7.25–7.17 (м, 2H, арил), 4.42 (с, 2H, CH_2COOEt), 4.22 (к, $J=7.0$ Гц, 2H, CH_2CH_3), 1.29 (т, $J=7.1$ Гц, 3H, CH_3).

4.3.4. Синтез этил 2-[3-(4-хлорфенил)тиомочевино] ацетата (5) [134].

В результате реакции из 1 г (7.8 ммоль) 4-хлор-анилина и 1.14 г (7.8 ммоль) этил 2-изотиоционат ацетата получают 1.78 г (83%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=142^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 9.96 (с, 1H, NH^1), 8.03 (т, $J=5.3$ Гц, 1H, NH^2), 7.47 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar- αH), 7.29 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar- βH), 4.25 (д, $J=5.4$ Гц, 2H, CH_2), 4.11 (кв, $J=7.1$ Гц, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 1.20 (т, $J=7.1$ Гц, 3H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$).

4.3.5. Синтез этил 2-[3-(4-фторфенил)тиомочевино] ацетата (6) [134].

В результате реакции из 1 г (8.1 ммоль) 4-фторанилина и 1.27 г (8.1 ммоль) этил 2-изотиоционат ацетата получают 2.13 г (96%) белого кристаллического осадка этил 2-[3-(3-хлор-4-фторфенил)тиомочевина] ацетата. $T_{\text{пл}}=149^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8.49 (уш.с, 1H, NH), 7.42 (м, 2H, арил), 7.25–7.17 (м, 2H, арил), 4.41 (с, 2H, CH_2COOEt), 4.20 (кв, $J=7.0$ Гц, 2H, CH_2CH_3), 1.29 (т, $J=7.2$ Гц, 3H, CH_3).

4.3.6. Синтез этил 2-[3-(4-гидроксифенил)тиомочевино] ацетата (7) [134].

В результате реакции из 0.34 г (3.1 ммоль) 4-гидроксианилина и 0.45 г (3.1 ммоль) этил 2-изотиоционат ацетата, после колоночной хроматографии в системе ПЭ:ЭА = 3:1, получают 0.77 г (97%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=127^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 9.56 (с, 1H, NH^1), 9.43 (с, 1H, OH), 7.58 (с, 1H, NH^2), 7.07 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar- βH), 6.72 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar- αH), 4.22 (д, $J=5.5$ Гц, 2H, CH_2), 4.07 (кв, $J=7.1$ Гц, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.22 (т, $J=7.1$ Гц, 3H, $\text{-CH}_2\text{-CH}_3$).

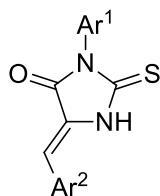
4.3.7. Синтез (R)-Этил 2-(3-(1-фенилэтил)тиоуреидо)ацетата (8) [104, 105]

В результате реакции из 0.37 г (3 ммоль) (R)-1-фенилэтиламина и 0.44 г (3 ммоль) этилизотиоцианатоацетата, после флеш-хроматографии в системе ПЭ:ЭА = 3:1, получено 0.7 г (92%) прозрачной вязкой жидкости.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.23 (с, 1H, NH^1), 7.52 (с, 1H, NH^2), 7.20-7.34 (м, 5H, Ph-H), 5.41 (м, 1H, CH-Ph), 4.20 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, CH_2), 4.08 (кв, $J=6.9$ Гц, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.40 (д, $J=7.1$ Гц, 3H, CH(Ph)-CH_3), 1.17 (т, $J=6.9$ Гц, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$).

HRMS-ESI: m/z рассчитанное для $[\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 267,1162; найденное 267,1162

4.4. Общая методика синтеза 2-тиогидантоинов



А) В круглодонной колбе в 10%-м водном растворе гидроксида калия растворяют 1 экв глицина, затем прибавляют 1.1 экв. фенилизотиоцианата.

Смесь перемешивают в течение двух часов, затем добавляют концентрированную соляную кислоту до pH=6-7 и кипятят в течение двух часов. Образовавшийся осадок отфильтровывают и при необходимости перекристаллизовывают из метанола.

Б) Смесь изотиоцианата (1 экв.), ароматического альдегида (1.1 экв.) и глицина (1.1 экв.) кипятят в круглодонной колбе с обратным холодильником в небольшом объеме ледяной уксусной кислоты до образования осадка в течение 2-4 часов. Полученный осадок отфильтровывают и промывают водой, а затем диэтиловым эфиром.

В) К раствору тиогидантоина или тиомочевины (1 экв.) в 2% растворе гидроксида калия в этиловом спирте добавляют альдегид (1 экв.) и оставляют перемешиваться в течение 4-6 часов, контролируя реакцию по ТСХ. Затем раствор подкисляют разбавленной соляной кислотой до pH=1-2 и отфильтровывают выпавший осадок. При необходимости продукт очищают методом колоночной хроматографии.

4.4.1. Синтез 3-фенил-2-тиоксоимидазолидин-4-она (9) [134]

В результате реакции по методике А из 0.60 г (7.9 ммоль) глицина, 1.18 г (8.7 ммоль) фенилизотиоцианата получено 1.16 г (97%) белого осадка 3-фенил-2-тиоксоимидазолидин-4-она. $T_{\text{пл}}=229^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 10.42 (с, 1H, NH), 7.30-7.50 (м, 5H, Ph), 4.20 (с, 2H, CH_2).

4.4.2. Синтез (Z)-3-фенил-5-(4-бензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (10)[135]

В результате реакции по методике В из 0.58 г (3.0 ммоль) тиогидантоина **9**, 0.32 г (3.0 ммоль) бензальдегида получено 0.67 г (72%) желтого осадка (Z)-5-бензилиден-3-фенил-2-тиоксоимидазолидин-4-она. $T_{пл}=181^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 10.65 (уш.с, 1H, NH), 7.51-7.27 (м, 10H, арил), 6.65(с, 1H, -CH=).

4.4.3. Синтез (Z)-3-фенил-5-(пиридин-2-илметилден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он (11) [104]

В результате реакции по методике В из 0.87 мл (9.2 ммоль) 2-карбоксипиридина, 1.28 г (9.2 ммоль) глицина и 1.13 г (8.4 ммоль) фенилизотиоцианата получено 0.81 г (78%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=183^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.56 (с, 1H, NH), 8.56 (д, $J = 6.5$ Гц, 1H, Ar^2), 7.89 (д, $J = 6.6$ Гц, 1H, Ar^2), 7.47-7.59 (м, 5H, Ph), 7.36-7.41 (т, $J=6.9$ Гц, 2H), 6.71 (с, 1H, (C=C)-H).

4.4.4. Синтез (Z)-3-фенил-5-(пиридин-4-илметилден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (12) [104]

В результате реакции по методике В из 0.87 г (9.2 ммоль) 4-карбоксипиридина, 1.28 г (9.2 ммоль) глицина и 1.13 г (8.4 ммоль) фенилизотиоцианата получено 0.62 г (65%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=192^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.71 (с, 1H, NH), 8.56 (д, $J = 6.0$ Гц, 2H, Ar^2), 7.89 (д, $J = 6.0$ Гц, 2H, Ar^2), 7.42-7.54 (м, 3H, Ph), 7.36-7.41 (т, $J=6.9$ Гц, 2H), 6.61 (с, 1H, (C=C)-H).

4.4.5. Синтез (Z)-3-фенил-5-(2-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (13) [104]

В результате реакции по методике В из 1.0 г (5.2 ммоль) 3-фенил-2-тиогидантоина, 0.59 мл (5.2 ммоль) 2-хлорбензальдегида получено 1.18 г (53%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=149^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.73 (с, 1H, NH), 7.83 (т, $J=7.1$ Гц, 2H, Ar^2), 7.38-7.9 (м, 5H, Ph), 7.20-7.34 (м, 2H, Ar^2), 6.76 (с, 1H, (C=C)-H).

4.4.6. Синтез (Z)-3-фенил-5-(2-бромбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (14) [104]

В результате реакции по методике В из 1.0 г (5.2 ммоль) 3-фенил-2-тиогидантоина и 0.97 г (5.2 ммоль) 2-бромбензальдегида получено 0.99 г (53%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=154^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.61 (с, 1H, NH), 7.61 (т, $J=7.2$ Гц, 2H, Ar^2), 7.36-7.53 (м, 5H, Ph), 7.23-7.30 (м, 2H, Ar^2), 6.83 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})\text{-H}$).

4.4.7. Синтез (Z)-3-фенил-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (15) [104]

В результате реакции по методике В из 0.30 г (1.6 ммоль) тиогидантоина **9**, 0.22 г (1.6 ммоль) 4-хлорбензальдегида 0.21 г (46%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=168^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 12.65 (с, NH, 1H), 7.85 (д, $J=8.5$ Гц, 2H, арил), 7.56-7.44 (м, 5H, арил), 7.42-7.36 (м, 2H, арил), 6.69 (с, 1H, $-\text{CH}=\text{}$).

4.4.8. Синтез (Z)-3-фенил-5-(3-оксобензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (16) [104]

В результате реакции по методике В из 0.25 г (1.3 ммоль) тиогидантоина **9** и 0.18 г (1.6 ммоль) изофталевого альдегида получено 0.35 г (77%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=177^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.76 (с, 1H, NH), 10.06 (с, 1H, CHO), 8.31 (с, 1H, Ar^2), 8.05 (д, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar^2), 7.88 (д, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar^2), 7.65 (м, $J=7.4$ Гц, 1H, Ph), 7.41-7.54 (м, 3H, Ph), 7.37 (д, $J=7.0$ Гц, 2H), 6.76 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})\text{-H}$).

4.4.9. Синтез (Z)-3-(4-этоксифенил)-5-(3-хлор-4-фторбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (17) [103]

В результате реакции по методике В из 0.72 г (3.2 ммоль) тиомочевины **2** и 0.5 г (3.2 ммоль) 3-хлор-4-фторбензальдегида получено 0.55 г (46%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=136^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.71 (с, 1H, NH), 8.09 (дд, $J_1=7.2$ Гц, $J_2=2.1$ Гц, 1H, Ar^1), 7.78-7.83 (м, 1H, Ar^1), 7.50 (м, 1H, Ar^1), 7.27 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\beta\text{H}$), 7.03 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\alpha\text{H}$), 6.66 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})\text{-H}$), 4.09 (кв, $J=7.0$ Гц, 2H, CH_2CH_3), 1.36 (т, $J=7.0$ Гц, 3H, CH_2CH_3).

4.4.10. Синтез (Z)-3-(4-этоксифенил)-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (18) [103]

В результате реакции по методике В из 0.81 г (2.9 ммоль) тиомочевины **2** и 0.5 г (2.9 ммоль) 4-хлорбензальдегида получено 0.69 г (67%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=145^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.59 (с, 1H, NH), 7.85 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\alpha\text{H}$), 7.52 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\beta\text{H}$), 7.27 (д, $J=8.9$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\beta\text{H}$), 7.03 (д, $J=8.9$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\alpha\text{H}$), 6.67 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})\text{-H}$), 4.09 (кв, $J=7.0$ Гц, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.36 (т, $J=7.0$ Гц, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$).

4.4.11. Синтез (Z)-3-(4-этоксифенил)-5-(4-фторбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (19) [103]

В результате реакции по методике В из 0.54 г (3.5 ммоль) тиомочевины **2** и 0.62 мл (2.9 ммоль) 4-фторбензальдегида получено 0.58 г (62%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=172^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 12.38 (уш.с, 1H, NH), 7.82 (д, $J=8.2$ Гц, 2H, арил), 7.48 (м, 1H, Ar), 7.35 (т, $J=8.4$ Гц, 2H, арил), 7.28 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, арил), 7.00 (д, $J=8.2$ Гц, 2H, арил), 6.66 (с, 1H -CH=), 4.10 (кв, $J=6.6$ Гц, 2H, CH_2), 1.35 (т, $J=6.7$ Гц, 3H, CH_3).

4.4.12. Синтез (Z)-3-(4-этоксифенил)-5-(3,4-дихлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (20) [103]

В результате реакции по методике В из 0.61 г (2.3 ммоль) тиомочевины **2** и 0.5 г (2.3 ммоль) 3,4-дихлорбензальдегида получено 0.78 г (89%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=163^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 12.38 (уш.с, 1H, NH), 7.82 (д, $J=8.2$ Гц, 2H, арил), 7.35 (т, $J=8.4$ Гц, 2H, арил), 7.00 (д, $J=8.1$ Гц, 2H, арил), 6.66 (с, 1H -CH=), 4.10 (кв, $J=6.6$ Гц, 2H, CH_2), 1.35 (т, $J=6.7$ Гц, 3H, CH_3).

4.4.13. Синтез (Z)-3-(4-этоксифенил)-5-(4-(проп-2-ин-1-илокси)бензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (21) [103]

В результате реакции по методике В из 0.2 г (0.7 ммоль) тиомочевины **2** и 0.1 г (0.7 ммоль) 4-пропаргилоксибензальдегида получено 0.26 г (98%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=147^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 12.46 (с, 1H, NH), 7.81 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\beta\text{H}$), 7.26 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\alpha\text{H}$), 6.99-7.08 (м, 4H, Ar^2), 6.64 (с, 1H, (C=C)-H), 4.89 (с, 2H, CH_2), 4.06 (кв, $J=6.8$ Гц, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3.61 (с, 1H, CCH), 1.35 (т, $J=6.8$ Гц, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$).

4.4.14. Синтез (Z)-3-(4-этоксифенил)-5-(3,4-диметоксибензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (22) [103]

В результате реакции по методике В из 0.2 г (0.7 ммоль) тиомочевины **2** и 0.15 г (0.7 ммоль) 3,4-диметоксибензальдегида получено 0.31 г (88%) желтого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=167^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 12.47 (с, 1H, NH), 7.79 (д, $J=8.5$ Гц, 2H, Ar^1), 7.53 (с, 1H), 7.26 (д, $J=8.5$ Гц, 2H, Ar^1), 6.85-7.02 (м, 2H, Ar^2), 6.69 (с, 1H, (C=C)-H), 4.15 (кв, $J=6.5$ Гц, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3.83 (с, 3H, CH_3), 3.68 (с, 3H, CH_3), 1.38 (т, $J=6.5$ Гц, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$).

4.4.15. Синтез (Z)-3-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (23) [103]

В результате реакции по методике В из 0.1 г (0.34 ммоль) тиомочевины **3** и 0.05 г (0.7 ммоль) 4-хлорбензальдегида получено 0.05 г (40%) желтого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=125^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 12.46 (с, 1H, NH), 7.81 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\beta\text{H}$), 7.26 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\alpha\text{H}$), 6.99-7.08 (м, 4H, Ar^2), 6.64 (с, 1H, (C=C)-H), 4.89 (с, 2H, CH_2), 4.06 (кв, $J=6.8$ Гц, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3.61 (с, 1H, CCH), 1.35 (т, $J=6.8$ Гц, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$).

4.4.16. Синтез (Z)-3-(4-гидроксифенил)-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (24) [103]

В результате реакции по методике В из 0.2 г (0.8 ммоль) тиомочевины **7** и 0.11 г (0.8 ммоль) 4-хлорбензальдегида получено 0.08 г (32%) желтого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=148^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 12.55 (с, 1H, NH), 9.82 (с, 1H, OH), 7.80 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\beta\text{H}$), 7.50 (д, $J=8.6$, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\alpha\text{H}$), 7.11 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\alpha\text{H}$), 6.84 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\beta\text{H}$), 6.62 (с, 1H, (C=C)-H).

4.4.17. Синтез (Z)-3-(4-гидроксифенил)-5-(2-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (25) [103]

В результате реакции по методике В из 0.5 г (2 ммоль) тиомочевины **7** и 0.27 г (2 ммоль) 2-хлорбензальдегида получено 0.57 г (86%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=132^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 12.64 (с, 1H, NH), 9.79 (с, 1H, OH), 7.84-7.90 (м, 1H, Ar 2), 7.53-7.59 (м, 1H, Ar 2), 7.40-7.45 (м, 2H, Ar 2), 7.14 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar 1 - β H), 6.84 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar 1 - α H), 6.72 (с, 1H, (C=C)-H).

4.4.18. Синтез (Z)-3-(4-гидроксифенил)-5-(3,4-диметоксибензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (26) [103]

В результате реакции по методике В из 0.5 г (2 ммоль) тиомочевины **7** и 0.33 г (2 ммоль) 3,4-диметоксибензальдегида получено 0.33 г (46%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=144^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 12.64 (с, 1H, NH), 9.79 (с, 1H, OH), 7.84-7.90 (м, 1H, Ar 2), 7.53-7.59 (м, 1H, Ar 2), 7.40-7.45 (м, 2H, Ar 2), 7.14 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar 1 - β H), 6.84 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar 1 - α H), 6.72 (с, 1H, (C=C)-H).

4.4.19. Синтез (Z)-3-(4-гидроксифенил)-5-(4-гидроксibenзилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (27) [103]

В результате реакции по методике В из 0.11 г (0.9 ммоль) тиомочевины **7** и 0.22 г (0.9 ммоль) 4-гидроксibenзальдегида получено 0.15 г (51%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=151^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 12.34 (с, 1H, NH), 10.11 (с, 1H, OH), 9.77 (с, 1H, OH), 7.69 (д, $J=8.1$ Гц, 2H, Ar 1), 7.11 (д, $J=8.1$ Гц, 2H, Ar 1), 6.77-6.89 (м, 4H, Ar 2), 6.59 (с, 1H, (C=C)-H).

4.4.20. Синтез (Z)-3-(4-хлорфенил)-5-(2-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (28) [103]

В результате реакции по методике В из 0.5 г (1.8 ммоль) тиомочевины **7** и 0.26 г (1.8 ммоль) 2-хлорбензальдегида получено 0.38 г (60%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=179^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 12.77 (с, 1H), 7.80-7.91 (м, 1H, Ar 2) 7.59 (д, $J=8.1$ Гц, 2H, Ar 1 - β H), 7.44 (д, $J=8.1$ Гц, 2H, Ar 1 - α H), 7.28-7.47 (м, 3H, Ar 2), 6.75 (с, 1H).

4.4.21. Синтез (Z)-3-(3-хлор-4-фторфенил)-5-(3-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (29) [105]

В результате реакции по методике В из 0.4 г (2.1 ммоль) тиомочевины **4** и 0.42 мл (2.1 ммоль) 3-хлорбензальдегида получено 0.57 г (67%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=218^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 12.68 (с, 1H, NH), 7.89 (с, 1H, арил), 7.75 (с, 1H, арил), 7.68-7.74 (м, 2H, арил), 7.52-7.58 (м, 2H, арил), 7.31 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, арил), 6.65 (с, 1H, -CH=).

4.4.22. Синтез (Z)-3-(3-хлор-4-фторфенил)-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (30) [105]

В результате реакции по методике В из 0.87 г (3.0 ммоль) тиомочевины **4** и 0.37 г (1.8 ммоль) 4-хлорбензальдегида получено 0.57 г (67%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=225^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 7.90 (дд, $J_1=8.7$ Гц, $J_2=5.5$ Гц, 2H, арил), 7.77 (дд, $J_1=6.8$ Гц, $J_2=2.4$ Гц, 2H, арил), 7.60 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, арил), 7.49 (м, 1H, арил), 7.31 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, арил), 6.73 (с, 1H, -CH=).

4.4.23. Синтез (Z)-3-(3-хлор-4-фторфенил)-5-(4-метоксибензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (31) [105]

В результате реакции по методике В из 0.4 г (2.1 ммоль) тиомочевины **4** и 0.45 мл (2.3 ммоль) анисового альдегида получено 0.46 г (60%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=248^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 7.84 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, арил), 7.74 (дд, $J_1=7.3$ Гц, $J_2=2.1$ Гц, 1H, арил), 7.59 (м, 1H, арил), 7.47 (м, 1H, арил), 7.03 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, арил), 6.66 (с, 1H, -CH=), 3.83 (с, 3H, CH_3).

4.4.24. Синтез (Z)-3-(3-хлор-4-фторфенил)-5-(3,4-диметоксибензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (32) [105]

В результате реакции по методике В из 0.25 г (1.3 ммоль) тиомочевины **4** и 0.22 г (1.4 ммоль) 3,4-диметоксибензальдегида получено 0.28 г (54%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=214^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 7.84 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, арил), 7.74 (дд, $J_1=6.7$ Гц, $J_2=2.1$ Гц, 1H, арил), 7.59 (м, 1H, арил), 7.47 (м, 1H, арил), 7.03 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, арил), 6.72 (с, 1H, $-\text{CH}=\text{}$), 3.83 (с, H, CH_3), 3.62 (с, H, CH_3).

4.4.25. Синтез (Z)-3-(3-хлор-4-фторфенил)-5-((диметиламино)метилен)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (33) [105].

В результате реакции по методике В из 0.2 г (0.7 ммоль) тиомочевины **4** и 0.54 г (0.7 ммоль) диметилацетата ДМФА получено 0.1 г (48%) красного кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=153^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 11.69 (с, 1H, NH), 7.29-7.65 (м, 3H, Ar^1), 6.88 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})-\text{H}$), 3.16 (с, 6H, CH_3).

4.4.26. Синтез (Z)-3-(1-фенилэтил)-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (34) [103].

В результате реакции по методике В из 0.4 г (1.6 ммоль) тиомочевины **8** и 0.22 г (0.7 ммоль) 4-хлорбензальдегида получено 0.47 г (85%) желтого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=179^\circ\text{C}$. $[\alpha]_d^{20} = +25.6^\circ$ ($C = 5$ мг/мл; EtOH)

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 12.58 (с, 1H, NH), 7.76 (д, $J=7.8$ Гц, 2H, Ar^2), 7.48 (д, $J=7.8$ Гц, 2H, Ar^2), 7.21-7.39 (м, 5H, Ph), 6.52 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})-\text{H}$), 5.98 (кв, $J=7.0$ Гц, 1H, CH), 1.80 (д, $J=6.9$ Гц, 3H, CH_3).

HRMS-ESI: m/z рассчитанное для $[\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{ClN}_2\text{OS}]^-$: 341.0521; найденное 341.0520.

4.4.27. Синтез (Z)-3-фенил-5-(4-бромбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (35) [103].

В результате реакции по методике Б из 0.75 г (10 ммоль) глицина, 1.85 г (10 ммоль) 4-бромбензальдегида и 1.5 мл (9.2 ммоль) фенилизотиоцианата получено 1.76 г (39%) желтого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=147^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 12.65 (с, 1H, NH), 7.76 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar^2), 7.63 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar^2), 7.55 (д, $J=7.9$ Гц, 2H), 7.33-7.50 (м, 3H), 6.65 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})-\text{H}$).

4.4.28. Синтез (Z)-3-(4-метоксифенил)-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (36) [103].

В результате реакции по методике Б из 0.45 г (6.1 ммоль) глицина, 0.85 г (6.1 ммоль) 4-хлорбензальдегида и 0.91 г (5.5 ммоль) 4-метоксифенилизотиоцианата получено 0.56 г (29%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=185^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 12.65 (с, 1H, NH), 7.82 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\beta\text{H}$), 7.52 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\alpha\text{H}$), 7.35 (д, $J=9.0$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\alpha\text{H}$), 7.07 (д, $J=9.0$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\beta\text{H}$), 6.70 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})\text{-H}$), 4.20 (с, 3H, CH_3).

4.4.29. Синтез (Z)-3-фенил-5-(4-этоксипбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (37) [103].

В результате реакции по методике Б из 0.69 г (9.2 ммоль) глицина, 0.85 г (9.2 ммоль) 4-этоксипбензальдегида и 1 мл (8.4 ммоль) фенилизотиоцианата получено 1.22 г (45%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=163^{\circ}\text{C}$.

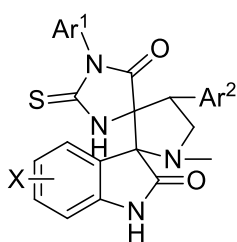
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 12.51 (с, 1H, NH), 7.80 (д, $J=8.0$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\beta\text{H}$), 7.33-7.55 (м, 5H, Ph), 6.99 (д, $J=8.0$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\alpha\text{H}$), 6.66 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})\text{-H}$), 4.10 (кв, $J=6.3$ Гц, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.34 (т, $J=6.3$ Гц, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$).

4.4.30. Синтез (Z)-3-фенил-5-(3,4-диметоксипбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (38) [103].

В результате реакции по методике Б из 0.69 г (9.2 ммоль) глицина, 0.69 г (9.2 ммоль) 3,4-диметоксипбензальдегида и 1 мл (8.4 ммоль) фенилизотиоцианата получено 1.64 г (57%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=189^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 12.58 (с, 1H, NH), 7.60 (д, $J=7.2$ Гц, 2H, Ph), 7.30-7.55 (м, 5H, $\text{Ar}^2\text{+Ph}$), 7.03 (д, $J=8.2$ Гц, 1H, Ar^2), 6.85 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})\text{-H}$), 3.85 (с, 3H, CH_3), 3.82 (с, 3H, CH_3).

4.5. Получение диспироиндолинонов на основе 5-арилиден-2-тиогидантоинов



К кипящему раствору 2-тиогидантоина (1 экв) и саркозина (2 экв) в этаноле добавляют соответствующий изатин (2 экв) и кипятят в течение 6 часов, контролируя реакцию по ТСХ. После охлаждения и добавления к смеси большого избытка воды наблюдают выпадение осадка, который отфильтровывают и при необходимости перекристаллизовывают из этанола.

4.5.1. Синтез 1-фенил-4'-фенил-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазо-лидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (39)

В результате реакции из 0.06 г (0.25 ммоль) тиогидантоина **10**, 0.04 г (0.30 ммоль) изатина и 0.02 г (0.30 ммоль) саркозина получено 0.08 г (76%) белого порошкообразного осадка. $T_{пл}=211^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 10.65 (с, 1H, NH-индолинон), 10.50 (с, 1H, NH-тиогидантоин), 7.27-7.11 (м, 13H, арил+индолинон), 7.05 (с, 1H), 4.15 (м, 1H, CH-пирролидин), 4.01 (м, 1H, CH₂-пирролидин), 3.32 (м, 1H, CH₂-пирролидин), 2.15 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная (C₂₆H₂₂N₄O₂S, M+H): 455.1528, масса найденная (M+H): 455.1530.

4.5.2. Синтез 5''-бром-1-фенил-4'-фенил-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (40)

В результате реакции из 0.08 г (0.32 ммоль) тиогидантоина **10**, 0.07 г (0.39 ммоль) 5-бромизатина и 0.03 г (0.39 ммоль) саркозина получено 0.15 г (72%) белого порошкообразного осадка 5''-бром-1-фенил-4'-фенил-1'-метил-2-триоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона. $T_{пл}=153^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д.): 10.79 (с, NH, 1H-индолинон), 10.32 (с, 1H, NH-тиогидантоин), 7.54-7.27 (м, 10H, индолинон+арил), 6.82 (д, J=7.4 Гц, 1H, индолинон), 6.66 (м, 2H, арил), 4.32 (т, J=9.3 Гц, 1H, CH-пирролидин), 3.98 (т, J=9.3 Гц, 1H, CH₂-пирролидин), 3.49 (т, J=8.6 Гц, 1H, CH₂-пирролидин), 2.18 (с, 3H, NCH₃).

Спектр ИК (ν , см⁻¹): 3172 (уш. NH), 1747 (C=O), 1712 (C=O).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная (C₂₆H₂₁BrN₄O₂S, M+H): 535.0622, масса найденная (M+H): 535.0622.

4.5.3. Синтез 1-фенил-4'-фенил-1'-метил-5'''-нитро-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (41)

Из 0.15 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **10**, 0.1 г (1.1 ммоль) саркозина и 0.2 г (1.1 ммоль) 5-нитроизатина получено 0.16 г (63%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=245^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.36 (с, 1H, NH-индолинон), 10.63 (с, 1H, NH-имидазолидин), 8.27 (д, J=6.4 Гц, 1H, индолинон), 8.19 (д, J=7.1 Гц, 1H, индолинон), 7.28-7.45 (м, 8H, Ph+Ph), 7.04 (д, J=8.7 Гц, 1H, индолинон), 6.58-6.65 (м, 2H, Ph), 4.35 (т, J=9.1 Гц, 1H, пирролидин-H³), 4.00 (т, J=9.1 Гц, 1H, пирролидин-H²), 3.55 (т, J=8.7 Гц, 1H, пирролидин-H¹), 2.21 (с, 3H, NCH₃)

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[C_{26}H_{21}N_5O_4S+H]^+$: 500,1387; масса найденная 500,1387.

4.5.4. Синтез 1-фенил-4'-фенил-1'-метил-7'''-карбокси-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (42)

Из 0.1 г (0.3 ммоль) тиогидантоина **10**, 0.06 г (0.7 ммоль) саркозина и 0.14 г (0.7 ммоль) 7-карбоксиизатина получено 0.09 г (61%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=226^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.52 (с, 1H, NH-индолинон), 10.42 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.96 (д, $J=7.2$ Гц, 1H, индолинон), 7.82 (т, $J=8.1$ Гц, 2H, индолинон), 7.24-7.45 (м, 7H, Ph+Ph), 6.93-7.05 (м, 2H, Ph), 6.59 (д, $J=3.8$ Гц, 1H, Ph), 4.33 (т, $J=8.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.02 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.46 (т, $J=9.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.14 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[C_{27}H_{23}N_4O_4S+H]^+$: 499,1435; масса найденная 499,1435.

4.5.5. Синтез 1-фенил-4'-(2-бромфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (43)

Из 0.3 г (0.8 ммоль) тиогидантоина **14**, 0.15 г (1.7 ммоль) саркозина и 0.24 г (1.7 ммоль) изатина получено 0.38 г (86%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=229^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.71 (с, 1H, NH-индолинон), 9.74 (с, NH-имидазолидин), 8.05 (дд, $J_1 = 6.4$ Гц, $J_2 = 1.2$ Гц, 1H, Ar^2), 7.65 (дд, $J_1 = 6.9$ Гц, $J_2 = 1.1$ Гц, 1H, Ar^2), 7.51 (т, $J=7.6$ Гц, 1H, Ar^2), 7.38-7.44 (м, 3H, Ar^1), 7.35 (дт, $J_1=7.7$ Гц, $J_2 = 1.10$ Гц, 1H, индолинон), 7.28 (дт, $J_1 = 7.5$ Гц, $J_2 = 1.10$ Гц, 1H, индолинон), 7.20 (д, $J=7.0$ Гц, 1H, индолинон), 7.03 (дт, $J_1 = 7.6$ Гц, $J_2 = 0.9$ Гц, 1H, Ar^2), 6.88 (д, $J=7.6$ Гц, 1H, индолинон), 6.65-6.71 (м, 2H, Ar^1), 4.61 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.20 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.49 (т, $J=8.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.14 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[C_{26}H_{21}BrN_4O_2S+H]^+$: 533,0641; масса найденная 533,0644.

4.5.6. Синтез 1-фенил-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (44)

Из 0.2 г (0.6 ммоль) тиогидантоина **13**, 0.11 г (1.3 ммоль) саркозина и 0.18 г (1.3 ммоль) изатина получено 0.27 г (87%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=242^{\circ}C$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.70 (с, 1Н, NH-индолинон), 9.74 (с, 1Н, NH-имидазолидин), 7.97 (дд, $J_1 = 6.5$ Гц, $J_2 = 0.9$ Гц, 1Н, Ar^2), 7.32-7.51 (м, 9Н, индолинон + Ar^1), 7.21 (д, $J=7.3$ Гц, 1Н), 7.03 (дт, $J_1 = 7.7$ Гц, $J_2 = 0.9$ Гц, 1Н, Ar^2), 6.87 (д, $J=7.7$ Гц, 1Н, Ar^2), 4.60 (т, $J=9.1$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 4.27 (т, $J=9.1$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 3.47 (т, $J=8.4$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 2.15 (с, 3Н, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 489,1147; масса найденная 489,1150.

4.5.7. Синтез 1-(1-фенилэтил)-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (45)

Из 0.21 г (0.6 ммоль) тиогидантоина **13**, 0.11 г (1.3 ммоль) саркозина и 0.27 г (1.3 ммоль) 5-бромизатина получено 0.29 г (89%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=209^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.79 (с, 1Н, NH-индолинон), 9.74 (с, 1Н, NH-имидазолидин), 7.99 (д, $J=7.8$ Гц, 1Н, Ar^2), 7.17-7.52 (м, 10Н, $\text{Ph}+\text{Ar}^2$ +индолинон), 6.79 (д, $J=8.3$ Гц, 1Н, индолинон), 5.63 (кв, $J=7.3$ Гц, 1Н, CH), 4.37 (т, $J=8.7$ Гц, 1Н), 3.99-4.13 (м, 2Н), 3.37 (т, $J=8.6$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 2.11 (с, 3Н, NCH_3), 1.40 (д, $J=7.2$ Гц, 3Н, CH(Ph)-CH_3)

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{BrClN}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 595,0565; масса найденная 595,0566.

4.5.8. Синтез 1-(1-фенилэтил)-4'-(3-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (46)

Из 0.21 г (0.6 ммоль) тиогидантоина **11**, 0.11 г (1,3 ммоль) саркозина и 0.27 г (1,3 ммоль) 5-бромизатина получено 0.19 г (53%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=221^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.66 (с, 1Н, NH), 10.29 (с, 1Н, NH), 7.55 (с, 1Н, Ar), 7.41-7.35 (м, 6Н, Ar), 7.34-7.28 (м, 2Н, Ar), 7.01 (д, $J=7.5$ Гц, 1Н, Ar), 6.86 (д, $J=7.6$ Гц, 1Н), 6.67-6.62 (м, 2Н), 4.33 (т, $J=9.0$ Гц, 1Н), 3.98 (т, $J=9.4$ Гц, 1Н), 3.47 (т, $J=8.6$ Гц, 1Н), 2.14 (с, 3Н, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{BrClN}_4\text{O}_2\text{S}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$, 569.0229 масса найденная 569.0231.

4.5.9. Синтез 1-(1-фенилэтил)-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (47)

Из 0.18 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **13**, 0.09 г (1 ммоль) саркозина и 0.19 г (1 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.24 г (83%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=208^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.86 (с, 1H, NH-индолинон), 10.17 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.92 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar^1), 7.29-7.60 (м, 6H, Ar^1+Ar^2), 7.10 (с, 1H, индолинон), 6.87 (д, $J=8.3$ Гц, 1H, индолинон), 6.67 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, индолинон), 4.56 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.25 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.47 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.16 (с, 3H, NCH_3)

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 557,0367; масса найденная 557,0364.

4.5.10. Синтез 1-фенил-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (48)

Из 0.2 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **16**, 0.09 г (1 ммоль) саркозина и 0.15 г (1 ммоль) изатина получено 0.19 г (59%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=210^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.68 (с, 1H, NH), 10.21 (с, 1H, NH), 7.55-7.57 (д, $J=8.3$ Гц, 2H, Ar), 7.31-7.42 (м, 7H, Ar), 7.01 (т, $J=7.3$ Гц, 1H, Ar), 6.85 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar), 6.63-6.65 (м, 2H, Ar), 4.30 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин), 3.98 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин), 3.47 (т, $J=9.9$ Гц, 1H, пирролидин), 2.14 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$, 523,0757 масса найденная 523,0756.

4.5.11. Синтез 1-фенил-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (49)

Из 0.5 г (1.9 ммоль) тиогидантоина **16**, 0.33 г (3.7 ммоль) саркозина и 0.83 г (3.7 ммоль) 5-бромизатина получено 0.78 г (78%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=251^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.80 (с, 1H, NH-индолинон), 10.35 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.31-7.54 (м, 10H, Ph+Ph), 6.83 (д, $J=8.6$ Гц, 1H, индолинон), 6.64-6.68 (м, 2H, индолинон), 4.32 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.99 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.50 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.19 (с, 3H, NCH_3)

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{BrClN}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 566,0244; масса найденная 566,0246.

4.5.12. Синтез 1-фенил-4'-(3-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (50)

Из 0.48 г (1.9 ммоль) тиогидантоина **11**, 0.33 г (3.7 ммоль) саркозина и 0.53 г (3.7 ммоль) 5-бромизатина получено 0.81 г (81%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=214^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.80 (с, 1H, NH-индолинон), 10.60 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.56 (с, 1H, Ar), 7.44-7.34 (м, 8H, Ar), 6.88 (д, $J=8.6$ Гц, 1H, Ar), 6.70-6.64 (м, 2H, Ar), 4.35 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.94 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.50 (т, $J=8.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.17 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{BrClN}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 566,0244; масса найденная 566,0242.

4.5.13. Синтез 1-фенил-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (51)

Из 0.51 г (1.9 ммоль) тиогидантоина **35**, 0.33 г (3.7 ммоль) саркозина и 0.5 г (3.7 ммоль) изатина получено 0.63 г (67%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=225^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.67 (с, 1H, NH-индолинон), 10.20 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.50 (т, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar), 7.28-7.37 (м, 5H, Ar), 7.19 (т, $J=10.3$ Гц, 2H, Ar), 7.01 (т, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar), 6.85 (д, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar), 6.62-6.64 (м, 2H, Ar), 4.34 (т, $J=9.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.96 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.47 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.14 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{BrClN}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 532,0569; масса найденная 532,0567.

4.5.14. Синтез 1-фенил-4'-(3,4-дихлорфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (52)

Из 0.49 г (1.9 ммоль) тиогидантоина **39**, 0.33 г (3.7 ммоль) саркозина и 0.5 г (3.7 ммоль) изатина получено 0.57 г (61%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=215^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.82 (с, 1H, NH-индолинон), 10.64 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.80 (с, 1H, Ar), 7.61 (д, $J=8.2$ Гц, 1H, Ar), 7.46-7.34 (м, 5H, Ar), 7.32 (д, $J=2.0$ Гц, 1H, Ar), 6.88 (д, $J=8.2$, 1H, Ar), 6.73-6.66 (м, 2H, Ar), 4.34 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.92 (т, $J=9.0$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.51 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.16 (с, 3H, NCH_3).

4.5.15. Синтез 1-фенил-4'-(2-пиридинил)-1'-метил- 5'''-бром -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (53) [103]

Из 0.53 г (1.9 ммоль) тиогидантоина **11**, 0.33 г (3.7 ммоль) саркозина и 0.53 г (3.7 ммоль) 5-бромизатина получено 0.59 г (65%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=208^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.72 (с, 1H, NH-индолинон), 10.22 (с, 1H, NH-имидазолидин), 8.50 (с, 1H, Ar), 7.83 (т, $J=7.0$ Гц, 1H, Ar), 7.40-7.46 (м, 5H, Ar), 7.29 (ус, 1H, Ar), 6.91 (д, $J=7.0$ Гц, 2H, Ar), 6.78 (д, $J=8.0$ Гц, 1H, Ar), 4.54 (т, $J=9.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.05 (т, $J=9.0$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.61 (т, $J=9.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.20 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{BrN}_5\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 533,0471; масса найденная 533,0475.

4.5.16. Синтез 1-фенил-4'-(2-пиридинил)-1'-метил- 5'''-хлор -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (54) [136]

Из 0.2 г (0.8 ммоль) тиогидантоина **11**, 0.15 г (1.6 ммоль) саркозина и 0.22 г (1.6 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.21 г (53%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=215^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.71 (с, 1H, NH-индолинон), 10.21 (с, 1H, NH-имидазолидин), 8.50 (с, 1H, Ar), 7.83 (т, $J=7.4$ Гц, 1H, Ar), 7.37-7.45 (м, 6H, Ar), 7.29-7.34 (м, 2H, Ar), 6.90 (д, $J=6.9$ Гц, 1H, Ar), 6.84 (д, $J=8.0$ Гц, 1H, Ar), 4.55 (т, $J=10.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.06 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.61 (т, $J=8.1$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.20 (с, 3H, NCH_3).

4.5.17. Синтез 1-фенил-4'-(4-пиридинил)-1'-метил- -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (55)

Из 0.2 г (0.7 ммоль) тиогидантоина **13**, 0.13 г (1.4 ммоль) саркозина и 0.2 г (1.4 ммоль) изатина получено 0.23 г (87%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=222^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.69 (с, 1H, NH-индолинон), 10.35 (с, 1H, NH-имидазолидин), 8.54 (д, $J=5.5$ Гц, 2H, Ar^2), 7.28-7.46 (м, 6H, Ar^1+Ar^2), 7.00 (т, $J=8.2$ Гц, 1H, индолинон), 6.84 (д, $J=7.46$ Гц, 1H, индолинон), 6.63-6.68 (м, 3H, индолинон), 4.30 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.02 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.48 (т, $J=8,2$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.14 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[C_{25}H_{21}N_5O_2S+H]^+$: 456,1489; масса найденная 456,1491.

4.5.18. Синтез 1-фенил-4'-(4-пиридирил)-1'-метил-5'''-бром -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (56)

Из 0.2 г (0.7 ммоль) тиогидантоина **13**, 0.13 г (1.4 ммоль) саркозина и 0.32 г (1.4 ммоль) 5-бромизатина получено 0.34 г (89%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=215^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.84 (с, 1H, NH-индолинон), 10.56 (с, 1H, NH-имидазолидин), 8.55 (д, $J=4.9$ Гц, 2H, Ar^2), 7.36-7.54 (м, 6H, Ar^1+Ar^2), 6.67 - 6.85 (м, 4H, индолинон), 4.30 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.99 (т, $J=8.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.31 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.16 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[C_{25}H_{20}BrN_5O_2S+H]^+$: 534,0594; масса найденная 534,0603.

4.5.19. Синтез 1-фенил-4'-(4-пиридирил)-1'-метил-5'''-хлор -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (57)

Из 0.2 г (0.7 ммоль) тиогидантоина **13**, 0.13 г (1.4 ммоль) саркозина и 0.26 г (1.4 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.36 г (89%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=227^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.82 (с, 1H, NH-индолинон), 10.58 (с, 1H, NH-имидазолидин), 8.55 (д, $J=4.9$ Гц, 2H, Ar^2), 7.32 - 7.47 (м, 7H, Ar^1+Ar^2), 6.87 (д, $J=8.2$ Гц, 1H, индолинон), 6.67-6.72 (м, 2H, индолинон), 4.32 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.99 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.51 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.16 (с, 1H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[C_{25}H_{20}ClN_5O_2S+H]^+$: 490,1099; масса найденная 490,1105.

4.5.20. Синтез 1-фенил-4'-(3,4-дихлорфенил)-1'-метил-5'''-хлор -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (58)

Из 0.2 г (0.7 ммоль) тиогидантоина **11**, 0.12 г (1.4 ммоль) саркозина и 0.21 г (1.4 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.22 г (68%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=217^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.82 (с, 1H, NH), 10.64 (с, 1H, NH), 7.78 (с, 1H), 7.59 (д, $J=8.0$ Гц, 1H), 7.37-7.40 (м, 5H), 7.30 (с, 1H), 6.88 (д, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.70 (д,

$J=8.8$ Гц, 2H), 4.35 (т, $J=6.2$ Гц, 1H), 3.90 (т, $J=10.0$ Гц, 1H), 3.51 (т, $J=9.1$ Гц, 1H), 2.15 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 556,0308; масса найденная 556,0310.

4.5.21. Синтез 1-фенил-4'-(3-хлорфенил)-1'-метил-5'''-хлор -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (59)

Из 0.2 г (0.6 ммоль) тиогидантоина **12**, 0.12 г (1.2 ммоль) саркозина и 0.21 г (1.2 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.22 г (68%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=247^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.80 (с, 1H, NH-индолинон), 10.60 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.56 (с, 1H, Ar), 7.44-7.34 (м, 8H, Ar), 6.88 (д, $J=8.6$ Гц, 1H, Ar), 6.70-6.64 (м, 2H, Ar), 4.35 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 3.94 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.50 (т, $J=8.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.17 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 522,0744; масса найденная 522,0748.

4.5.22. Синтез 1-фенил-4'-(3-формилфенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (60)

Из 0.11 г (0.4 ммоль) тиогидантоина **17**, 0.06 г (0.7 ммоль) саркозина и 0.13 г (0.7 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.13 г (71%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=245^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.82 (с, 1H, CHO), 10.54 (с, 1H, NH-индолинон), 10.02 (с, 1H, NH-имидазолидин), 8.02 (с, 1H, Ar^2), 7.83 (дд, $J=14.0$, 7.6 Гц, 2H, Ar^2), 7.59 (т, $J=7.5$ Гц, 1H, Ar^2), 7.34-7.40 (м, 6H, Ph+индолинон), 6.62-6.67 (м, 2H, индолинон), 4.44 (т, $J=9.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.02 (т, $J=9.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.54 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.18 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}+\text{H}]^+$: 517,1096; масса найденная 517,1102.

4.5.23. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(3,4-дихлорфенил)-1'-метил-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (61)

Из 0.27 г (0.6 ммоль) тиогидантоина **21**, 0.11 г (1.2 ммоль) саркозина и 0.15 г (1.2 ммоль) изатина получено 0.22 г (79%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=273^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.70 (с, 1Н, NH-индолинон), 10.31 (с, 1Н, NH-имидазолидин), 7.76 (с, 1Н, Ar^2), 7.69 (д, $J=8.4$ Гц, 2Н, Ar^1), 7.39 (д, $J=7.8$ Гц, 1Н, Ar^2), 7.22-7.34 (м, 2Н, индолинон), 6.99 (т, $J=7.6$ Гц, 1Н, индолинон), 6.81-6.92 (м, 3Н, индолинон+ Ar^2), 6.53 (д, $J=8.4$ Гц, 1Н, Ar^1), 4.28 (т, $J=8.8$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 3.99 (кв, $J=6.9$ Гц, 2Н, CH_2CH_3), 3.94 (т, $J=9.3$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 3.46 (т, $J=8.3$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 2.11 (с, 3Н, NCH_3), 1.29 (т, $J=6.7$ Гц, 3Н, CH_2CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{S}+\text{H}]^+$: 567,1019; масса найденная 567,1021.

4.5.24. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (62) [103]

Из 0.12 г (0.3 ммоль) тиогидантоина **19**, 0.05 г (0.6 ммоль) саркозина и 0.11 г (0.6 ммоль) изатина получено 0.13 г (62%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=210^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.68 (с, 1Н, NH-индолинон), 10.12 (с, 1Н, NH-имидазолидин), 7.46 (д, $J=8.6$ Гц, 4Н, Ar^2), 7.29-7.33 (м, 2Н, Ar^1), 7.01 (т, $J=7.6$ Гц, 1Н, Ar^2), 6.84-6.90 (м, 3Н, индолинон), 6.52 (т, $J=8.8$ Гц, 2Н, индолинон), 4.31 (т, $J=9.0$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 3.99 (кв, $J=6.7$ Гц, 2Н, CH_2CH_3), 3.46 (т, $J=8.3$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 3.05 (т, $J=8.6$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 2.14 (с, 3Н, NCH_3), 1.31 (т, $J=6.7$ Гц, 3Н, CH_2CH_3).

Элементный анализ: найдено, %: С 62.41; Н 4.82; N 9.96. $\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}$. рассчитано, %: С 63.09; Н 4.73; N 10.51.

4.5.25. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (63) [103]

Из 0.1 г (0.2 ммоль) тиогидантоина **19**, 0.04 г (0.4 ммоль) саркозина и 0.11 г (0.4 ммоль) 5-бромизатина получено 0.1 г (89%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=301^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.82 (с, 1Н, NH-индолинон), 10.38 (с, 1Н, NH-имидазолидин), 7.38-7.54 (м, 6Н, Ar^1), 6.90 (д, $J=8.6$ Гц, 2Н, индолинон), 6.81 (д, $J=8.3$ Гц, 1Н, индолинон), 6.56 (т, $J=8.6$ Гц, 2Н, индолинон), 4.31 (т, $J=9.0$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 4.02 (кв, $J=6.9$ Гц, 2Н, CH_2CH_3), 3.49 (т, $J=9.2$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 3.02 (т, $J=8.6$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 2.16 (с, 3Н, NCH_3), 1.31 (т, $J=6.7$ Гц, 3Н, CH_2CH_3).

Элементный анализ найдено, %: С 54.47; Н 3.89; N 9.27. $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{BrClN}_4\text{O}_3\text{S}$. рассчитано, %: С 54.96; Н 3.95; N 9.16.

4.5.26. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-нитро-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (64)

Из 0.1 г (0.3 ммоль) тиогидантоина **19**, 0.05 г (0.6 ммоль) саркозина и 0.11 г (0.6 ммоль) 5-нитроизатина получено 0.12 г (68%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=207^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.37 (с, 1H, NH-индолинон), 10.60 (с, 1H, NH-имидазолидин), 6.44-8.29 (м, 11H, Ar^1+Ar^2 +индолинон), 4.33 (т, $J=10.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.07 (кв, $J=7.0$ Гц, 3H, CH_2CH_3), 3.97 (т, $J=6.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.54 (т, $J=8.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.19 (с, 3H, NCH_3), 1.29 (т, $J=7.2$ Гц, 3H, CH_2CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{ClN}_5\text{O}_5\text{S}+\text{H}]^+$: 578,1259; масса найденная 578,1264.

4.5.27. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(3,4-диметоксифенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (65)

Из 0.1 г (0.3 ммоль) тиогидантоина **23**, 0.05 г (0.6 ммоль) саркозина и 0.12 г (0.6 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.14 г (73%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=207^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.79 (с, 1H, NH, NH-индолинон), 10.40 (с, 1H, NH, NH-имидазолидин), 7.34-7.48 (м, 5H, Ar), 6.87-6.91 (м, 3H, Ar), 6.55 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar), 4.31 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.98-4.03 (м, 2H CH_2CH_3), 3.93 (т, $J=10.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.49 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 3.11 (с, 3H, OCH_3), 3.06 (с, 3H, OCH_3), 2.15 (с, 3H, NCH_3), 1.28-1.32 (м, 3H, CH_2CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{ClN}_4\text{O}_5\text{S}+\text{H}]^+$: 592,1538; масса найденная 592,1540.

4.5.28. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-фторфенил)-1'-метил-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (66)

Из 0.1 г (0.4 ммоль) тиогидантоина **20**, 0.08 г (0.8 ммоль) саркозина и 0.12 г (0.8 ммоль) изатина получено 0.12 г (72%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=232^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.66 (с, 1H, NH-индолинон), 10.06 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.49 (дд, $J=5.6, 8.4$ Гц, 2H, Ar), 7.33 (д, $J=7.6$ Гц, 1H, Ar), 7.29 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar), 7.19 (т, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar), 7.01 (т, $J=7.5$ Гц, 1H, Ar), 6.88 (д, $J=8.9$ Гц, 2H, Ar), 6.85 (д, $J=7.9$ Гц, 1H, Ar), 6.51 (д, $J=8.9$ Гц, 2H, Ar), 4.32 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^2),

4.04-3.92 (м, 3H, пирролидин-Н²+ CH₂CH₃), 3.46 (т, J=8.7 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.14 (с, 3H, NCH₃), 1.30 (т, J=7.0 Гц, 3H, CH₂CH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₈H₂₅FN₄O₃S, [M+H]⁺, 517.1704 масса найденная 517.1707.

4.5.29. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-фторфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (67)

Из 0.1 г (0.4 ммоль) тиогидантоина **20**, 0.08 г (0.8 ммоль) саркозина и 0.15 г (0.8 ммоль) 5-бромизатина получено 0.15 г (68%) белого кристаллического осадка. T_{пл}=220°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.79 (с, 1H, NH-индолинон), 10.33 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.53-7.46 (м, 4H, Ar), 7.15 (т, J=8.8 Гц, 2H, Ar), 6.90 (д, J=8.7 Гц, 2H, Ar), 6.82 (д, J=8.9 Гц, 1H, Ar), 6.55 (д, J=8.9 Гц, 2H, Ar), 4.31 (т, J=9.2 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 4.01 (кв, J=6.8 Гц, 2H, CH₂CH₃), 3.92 (т, J=9.4 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.49 (т, J=8.8 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.16 (с, 3H, NCH₃), 1.27 (т, J=7.0 Гц, 3H, CH₂CH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₈H₂₄BrFN₄O₃S, [M+H]⁺, 597.0790 масса найденная 597.0778.

4.5.30. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-1'''-(проп-2-ин-1-ил)-5'''-бром-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (68)

Из 0.15 г (0.4 ммоль) тиогидантоина **19**, 0.08 г (0.8 ммоль) саркозина и 0.22 г (0.8 ммоль) 1-пропаргил-5-бромизатина получено 0.16 г (59%) белого кристаллического осадка. T_{пл}=218°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.70 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.65 (д, J=8.7 Гц, 2H, Ar¹), 7.48 (д, J=8.7 Гц, 2H, Ar¹), 7.40 (д, J=8.4 Гц, 2H, индолинон), 7.04 (д, J=8.4 Гц, 1H, индолинон), 6.89 (м, J=8.8 Гц, 2H, Ar²), 6.54 (д, J=8.8 Гц, 2H, Ar²), 5.75 (с, 2H, CH₂), 4.39 (т, J=9.3 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 3.98 (кв, J=7.0 Гц, 2H, CH₂CH₃), 3.90 (т, J=9.4 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.53 (т, J=9.2 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.12 (с, 3H, NCH₃), 1.29 (т, J=7.0 Гц, 3H, CH₂CH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для [C₃₁H₂₆BrClN₄O₃S+H]⁺: 649,0670; масса найденная 649,0662.

4.5.31. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-1'''-(проп-2-ин-1-ил)-2-тио-оксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (69)

Из 0.1 г (0.3 ммоль) тиогидантоина **19**, 0.05 г (0.6 ммоль) саркозина и 0.11 г (0.6 ммоль) 1-пропаргил-изатина получено 0.14 г (86%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=223^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.47 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.38-7.50 (м, 6H, Ar^1+Ar^2), 7.13 (т, $J=7.7$ Гц, 2H, индолинон), 6.85 (д, $J=8.9$ Гц, 2H, Ar^2), 6.52 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, индолинон), 4.44-4.63 (м, 2H, CH_2), 4.39 (т, $J=9.1$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.98 (кв, $J=6.9$ Гц, 2H, CH_2CH_3), 3.93 (т, $J=9.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.50 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 3.28 (т, $J = 2.3$ Гц, CCH), 2.09 (с, 3H, NCH_3), 1.28 (т, $J=6.9$ Гц, 3H, CH_2CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}+\text{H}]^+$: 571,1565; масса найденная 571,1569

4.5.32. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-(проп-2-ин-1-окси)фенил)-1'-метил-5'''-бром - 2-тиооксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (70)

Из 0.1 г (0.3 ммоль) тиогидантоина **22**, 0.05 г (0.6 ммоль) саркозина и 0.12 г (0.6 ммоль) 5-бромизатина получено 0.09 г (53%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=217^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.78 (с, 1H, NH-индолинон), 10.28 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.47 (д, $J=8.0$ Гц, 2H, Ar^1), 7.37 (д, $J=8.0$ Гц, 2H, Ar^1), 6.94 (д, $J=7.3$ Гц, 2H, индолинон), 6.88 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar^2), 6.79 (д, $J=8.8$ Гц, 1H, Ar^2), 6.52 (д, $J=8.0$ Гц, 2H, индолинон), 4.78 (с, 2H, CH_2), 4.24 (т, $J=9.1$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.00 (кв, $J=6.5$ Гц, 2H, CH_2CH_3), 3.89 (т, $J=8.0$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.56 (с, 1H, CCH), 3.44 (т, $J=8.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.14 (с, 3H, NCH_3), 1.29 (т, $J=6.5$ Гц, 3H, CH_2CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{BrN}_4\text{O}_4\text{S}+\text{H}]^+$: 631,1009; масса найденная 631,1011.

4.5.33. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-(проп-2-ин-1-окси)фенил)-1'-метил-2-тиооксоди-спиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (71)

Из 0.05 г (0.1 ммоль) тиогидантоина **22**, 0.024 г (0.2 ммоль) саркозина и 0.039 г (0.2 ммоль) изатина получено 0.046 г (64%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=229^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.64 (с, 1H, NH-индолинон), 10.00 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.36 (д, $J=7.1$ Гц, 2H, Ar^1), 7.30 (т, $J=8.8$ Гц, 2H, индолинон), 6.79-7.03 (м, 6H, Ar^1+Ar^2), 6.48 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, индолинон), 4.78 (с, 2H, CH_2), 4.24 (т, $J=8.4$ Гц, 1H,

пирролидин-Н³), 3.86-4.03 (м, 3Н, пирролидин-Н²+CH₂CH₃), 3.56 (т, J=8,2 Гц, 1Н, пирролидин-Н¹), 2.11 (с, 1Н, NCH₃), 1.29 (т, J=5.4 Гц, 3Н, CH₂CH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для [C₃₁H₂₈N₄O₄S+H]⁺: 553,1904; масса найденная 553,1905.

4.5.34. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-(проп-2-ин-1-окси)фенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиооксоди-спиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (72)

Из 0.1 г (0.3 ммоль) тиогидантоина **22**, 0.047 г (0.5 ммоль) саркозина и 0.096 г (0.5 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.085 г (55%) белого кристаллического осадка. T_{пл}=247°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.76 (с, 1Н, NH-индолинон), 10.32 (с, 1Н, NH-имидазолидин), 7.32 - 7.39 (м, 6Н, Ar¹+Ar²), 6.93 (д, J=8.4 Гц, 2Н, Ar¹), 6.84 (д, J=8.4 Гц, 1Н, индолинон), 6.52 (д, J=8.7 Гц, 2Н, индолинон), 4.77 (с, 2Н, CH₂), 4.25 (т, J=8.8 Гц, 1Н, пирролидин-Н³), 3.99 (кв, J=7.0 Гц, 2Н, CH₂CH₃), 3.89 (т, J=9.2 Гц, 1Н, пирролидин-Н²), 3.57 (с, 1Н, CCH), 3.44 (т, J=8.4 Гц, 1Н, пирролидин-Н¹), 2.14 (с, 3Н, NCH₃), 1.29 (т, J=7.0 Гц, 3Н, CH₂CH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для [C₃₁H₂₇ClN₄O₄S+H]⁺: 587,1514; масса найденная 587,1514

4.5.35. Синтез 1-(4-(проп-2-ин-1-окси)фенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тио-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (73)

Из 0.05 г (0.15 ммоль) тиогидантоина **24**, 0.027 г (0.3 ммоль) саркозина и 0.068 г (0.3 ммоль) 5-бромизатина получено 0.088 г (94%) белого кристаллического осадка. T_{пл}=238°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.85 (с, 1Н, NH-индолинон), 10.41 (с, 1Н, NH-имидазолидин), 7.38-7.51 (м, 6Н, Ar¹+Ar²), 6.97 (д, J=8.7 Гц, 2Н, индолинон), 6.82 (д, J=8.2 Гц, 2Н, индолинон), 6.59 (д, J=8.7 Гц, 2Н, индолинон), 4.80 (с, 2Н, CH₂), 4.29 (т, J=9.2 Гц, 1Н, пирролидин-Н³), 3.92 (т, J=10.0 Гц, 1Н, пирролидин-Н²), 3.59 (с, 1Н, CCH), 3.48 (т, J=8.8 Гц, 1Н, пирролидин-Н¹), 2.15 (с, 3Н, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для [C₂₉H₂₂BrClN₄O₃S+H]⁺: 621,0357; масса найденная 621,0358.

4.5.36. Синтез 1-(4-хлорфенил)-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиооксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (74)

Из 0.18 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **29**, 0.09 г (1 ммоль) саркозина и 0.19 г (1 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.24 г (83%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=203^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.86 (с, 1H, NH-индолинон), 10.17 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.92 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar^1), 7.29-7.60 (м, 6H, Ar^1+Ar^2), 7.10 (с, 1H, индолинон), 6.87 (д, $J=8.3$ Гц, 1H, индолинон), 6.67 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, индолинон), 4.56 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.25 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.47 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.16 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 557,0367; масса найденная 557,0384.

4.5.37. Синтез 1-(4-хлорфенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (75)

Из 0.1 г (0.3 ммоль) тиогидантоина **29**, 0.05 г (0.6 ммоль) саркозина и 0.1 г (0.6 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.14 г (85%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=211^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.82 (с, 1H, NH-индолинон), 10.64 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.33-7.54 (м, 8H, Ar^1+Ar^2), 6.87 (д, $J=8.35$ Гц, 1H, индолинон), 6.72 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, индолинон), 4.34 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.93 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.50 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.16 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 557,0367; масса найденная 557,0383.

4.5.38. Синтез 1-(4-хлорфенил)-4'-(4-фторфенил)-1'-метил-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (76)

Из 0.1 г (0.3 ммоль) тиогидантоина **27**, 0.05 г (0.6 ммоль) саркозина и 0.11 г (0.6 ммоль) изатина получено 0.14 г (85%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=225^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.66 (с, 1H, NH-индолинон), 10.37 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.46-7.42 (м, 4H, Ar), 7.28-7.33 (м, 2H, Ar), 7.18 (т, $J=7.7$ Гц, 2H, Ar), 7.01 (т, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar), 6.85 (д, $J=6.9$ Гц, 1H, Ar), 6.67 (т, $J=7.2$ Гц, 2H, Ar), 4.32 (т, $J=8.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.94 (т, $J=9.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.48 (т, $J=10.0$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.12 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{ClFN}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 507,1048; масса найденная 507,1044.

4.5.39. Синтез 1-(4-хлорфенил)-4'-(3,4-диметоксифенил)-1'-метил-5'''-хлор -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (77)

Из 0.18 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **32**, 0.09 г (1 ммоль) саркозина и 0.18 г (1 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.23 г (81%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=198^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.75 (с, 1H, NH-индолинон), 10.67 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.47 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar^1), 7.40 (с, 1H, индолинон), 7.31-7.37 (м, 1H, Ar^2), 7.26 (с, 1H, Ar^2), 6.76-6.89 (м, 3H, индолинон), 6.67 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar^1), 4.25 (т, $J=9.05$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.89 (т, $J=9.41$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.80 (с, 3H, OCH_3), 3.72 (с, 3H, OCH_3), 3.47 (т, $J=9.05$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.15 (с, 3H, NCH_3)

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_4\text{S}+\text{H}]^+$: 583,0968; масса найденная 583,0976.

4.5.40. Синтез 1-(4-фторфенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (78)

Из 0.19 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **30**, 0.09 г (1 ммоль) саркозина и 0.18 г (1 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.19 г (68%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=206^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.81 (с, 1H, NH-индолинон), 10.56 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.45-7.49 (м, 4H, Ar), 7.39-7.41 (м, 2H, Ar), 7.24 (т, $J=8.2$ Гц, 2H, Ar), 6.81 (д, $J=8.2$ Гц, 1H, Ar), 6.73 (у.с, 2H, Ar), 4.31 (т, $J=10.53$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.93 (т, $J=9.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.49 (т, $J=8.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.15 (с, 3H, NCH_3).

4.5.41. Синтез 1-(3-хлор-4-фторфенил)-4'-(4-метоксифенил)-1'-метил- -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (79)

Из 0.21 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **29**, 0.09 г (1 ммоль) саркозина и 0.19 г (1 ммоль) изатина получено 0.20 г (69%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=211^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.65 (с, 1H, NH-индолинон), 10.33 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.46 (т, $J=9.0$ Гц, 1H, Ar), 7.39 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.33-7.27 (м, 2H, Ar), 7.00 (т, $J=7.6$ Гц, 1H, Ar), 6.91 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 6.86 (д, $J=8.2$ Гц, 1H, Ar), 6.79 (дд, $J=2.5, 6.6$ Гц, 1H, Ar), 6.67 (м, 1H, Ar), 4.28 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.96 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.75 (с, 3H, OCH_3), 3.44 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.14 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $C_{27}H_{22}ClFN_4O_3S$, $[M+H]^+$, 537.1158 масса найденная 537.1155.

4.5.42. Синтез 1-(3-хлор-4-фторфенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил- 5'''-хлор -2-тиооксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (80) [103]

Из 0.2 г (0.6 ммоль) тиогидантоина **26**, 0.09 г (1.2 ммоль) саркозина и 0.22 г (1.2 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.23 г (73%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=215^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.82 (с, 1H, NH-индолинон), 10.67 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.50 (т, $J=8.6$ Гц, 3H, Ar), 7.37-7.42 (м, 3H, Ar), 7.31 (с, 1H, Ar), 6.85-6.90 (м, 2H, Ar), 6.74-6.78 (м, 1H, Ar), 4.33 (т, $J=9.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.92 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.51 (т, $J=9.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.15 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $C_{26}H_{18}Cl_3FN_4O_2S$, $[M+H]^+$, 574.0196 масса найденная 574.0192.

4.5.43. Синтез 1-(3-хлор-4-фторфенил)-4'-(3-хлорфенил)-1'-метил- 5'''-хлор -2-тиооксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (81) [136]

Из 0.2 г (0.6 ммоль) тиогидантоина **26**, 0.09 г (1.2 ммоль) саркозина и 0.22 г (1.2 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.25 г (79%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=224^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.81 (с, 1H, NH-индолинон), 10.48 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.56 (с, 1H, Ar), 7.36-7.40 (м, 6H, Ar), 6.82 (д, $J=10.6$ Гц, 1H, Ar), 6.67 (у.с, 2H, Ar), 4.31 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.93 (т, $J=9.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.48 (т, $J=8.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.15 (с, 3H, NCH_3).

4.5.44. Синтез 1-(3-хлор-4-фторфенил)-4'-(3,4-диметоксифенил)-1'-метил- -2-тиооксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (82)

Из 0.23 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **33**, 0.09 г (1 ммоль) саркозина и 0.19 г (1 ммоль) изатина получено 0.22 г (68%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=195^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.63 (с, 1H, NH-индолинон), 10.48 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.46 (т, $J=9.0$ Гц, 1H, Ar), 7.35-7.25 (м, 3H, Ar), 7.00 (т, $J=7.6$ Гц, 1H, Ar), 6.90-6.81 (м, 3H, Ar), 6.75 (дд, $J=2.5, 6.6$ Гц, 1H, Ar), 6.68 (м, 1H, Ar), 4.25 (т, $J=9.1$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.95 (т, $J=9.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.83 (с, 3H, OCH_3), 3.74 (с, 3H, OCH_3), 3.46 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.14 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $C_{28}H_{24}ClFN_4O_4S$, $[M+Na]^+$, 598.1083 масса найденная 598.1085.

4.5.45. Синтез 1-(3-хлор-4-фторфенил)-4'-(4-этилфенил)-1'-метил- 2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (83) [103]

Из 0.25 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **25**, 0.09 г (1 ммоль) саркозина и 0.19 г (1 ммоль) изатина получено 0.23 г (44%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=315^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.68 (с, 1H, NH-индолинон), 10.35 (с, 1H, NH- имидазолидин), 7.19-7.51 (м, 7H, Ar), 6.60-7.15 (м, 4H, Ar), 4.29 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.99 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.44 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, CH, пирролидин- H^1), 2.61 (м, 2H, CH_2), 2.14 (с, 3H, NCH_3), 1.18 (с, 3H, CH_3).

Элементный анализ: найденное, %: C 63.02; H 4.47; N 9.82. $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{ClFN}_4\text{O}_2\text{S}$. рассчитанное, %: C 62.86; H 4.52; N 10.47.

4.5.46. Синтез 1-(3-хлор-4-фторфенил)-4'-(4-этилфенил)-1'-метил- 5'''-бром 2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (84) [103]

Из 0.25 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **25**, 0.09 г (1 ммоль) саркозина и 0.26 г (1 ммоль) 5-бромизатина получено 0.37 г (48%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=210^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.81 (с, 1H, NH-индолинон), 10.56 (с, 1H, NH- имидазолидин), 7.42-7.54 (м, 3H, Ar), 7.38 (д, $J=8.0$ Гц, 2H, Ar), 7.20 (д, $J=8.0$ Гц, 2H, Ar), 6.84 (д, $J=8.3$ Гц, 1H, Ar), 6.72-6.80 (м, 2H, Ar), 4.27 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.96 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.47 (т, $J=8.7$ Гц, 1H, CH, пирролидин- H^1), 2.62 (м, 2H, CH_2), 2.17 (с, 3H, NCH_3), 1.18 (с, 3H, CH_3).

Элементный анализ: найдено , %: C 54.63; H 3.91; N 9.28. $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{BrClFN}_4\text{O}_2\text{S}$. рассчитано, %: C 54.78; H 3.78; N 9.13.

4.5.47. Синтез 1-(3-хлор-4-фторфенил)-4'-(3,4-диметоксифенил)-1'-метил- 5'''-бром 2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (85)

Из 0.23 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **33**, 0.09 г (1 ммоль) саркозина и 0.23 г (1 ммоль) 5-бромизатина получено 0.24 г (68%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=208^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.78 (с, 1H, NH-индолинон), 10.68 (с, 1H, NH- имидазолидин), 7.52-7.45 (м, 3H, Ar^1), 6.89-6.81 (м, 3H, Ar^1), 6.78-6.73 (м, 2H, индолинон), 4.24 (т, $J=9.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.92 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.83 (с, 3H OCH_3), 3.74 (с, 3H, OCH_3), 3.49 (т, $J=8.9$ Гц, 1H пирролидин- H^1), 2.17 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{BrFN}_4\text{O}_2\text{S}$, $[\text{M}+\text{nK}]^+$, 555.0087 масса найденная 555.0086.

4.5.48. Синтез 1-(4-гидроксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (86)

Из 0.22 г (0.6 ммоль) тиогидантоина **25**, 0.11 г (1.2 ммоль) саркозина и 0.18 г (1.2 ммоль) изатина получено 0.29 г (95%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=195^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.65 (с, 1H, NH-индолинон), 10.02 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.74 (с, 1H, OH), 7.45 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar^1), 7.40 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar^1), 7.25-7.32 (м, 2H, индолинон), 6.99 (т, $J=7.5$ Гц, 1H, индолинон), 6.83 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, индолинон), 6.68 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar^2), 6.39 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar^2), 4.28 (т, $J=9.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.95 (т, $J=9.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.44 (т, $J=8.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.11 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}+\text{H}]^+$: 505,1096; масса найденная 505,1091.

4.5.49. Синтез 1-(4-гидроксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (87)

Из 0.08 г (0.25 ммоль) тиогидантоина **25**, 0.05 г (0.5 ммоль) саркозина и 0.11 г (0.5 ммоль) 5-бромизатина получено 0.13 г (91%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=228^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.79 (с, 1H, NH-индолинон), 10.30 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.77 (с, 1H, OH), 7.36-7.48 (м, 6H, Ar^1+Ar^2), 6.80 (д, $J=8.3$ Гц, 1H, индолинон), 6.71 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar^2), 6.43 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, индолинон), 4.27 (т, $J=9.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.92 (т, $J=3.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.47 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.14 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{BrClN}_4\text{O}_3\text{S}+\text{H}]^+$: 583,0201; масса найденная 583,0203.

4.5.50. Синтез 1-(4-гидроксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (88)

Из 0.2 г (0.6 ммоль) тиогидантоина **25**, 0.11 г (1.2 ммоль) саркозина и 0.22 г (1.2 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.29 г (88%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=216^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.82 (с, 1H, NH-индолинон), 10.31 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.80 (с, 1H, OH), 7.32-7.47 (м, 6H, Ar^1 +индолинон), 6.85 (д, $J=7.8$ Гц, 1H, индолинон), 6.71 (д, $J=7.8$ Гц, 2H, индолинон), 6.42 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar^2), 4.29 (т, $J=8.8$

Гц, 1H, пирролидин-Н³), 3.91 (т, J=9.8 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.47 (т, J=7.6 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.14 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для [C₂₆H₂₀Cl₂N₄O₃S+H]⁺: 539,0706; масса найденная 539,0707.

4.5.51. Синтез 1-(4-гидроксифенил)-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил- 2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (89)

Из 0.15 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **26**, 0.09 г (0.9 ммоль) саркозина и 0.13 г (0.9 ммоль) изатина получено 0.17 г (75%) белого кристаллического осадка. T_{пл}=198°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.67 (с, 1H, NH-индолинон), 9.75 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.55 (с, 1H, OH), 7.95 (д, J=7.7 Гц, 1H, Ar²), 7.45 (т, J=8.3 Гц, 2H, Ar²), 7.34 (д, J=7.7 Гц, 2H, Ar¹), 7.17 (д, J=7.6 Гц, 1H, индолинон), 7.00 (т, J=7.7 Гц, 1H, Ar² индолинон), 6.83 (д, J=7.7 Гц, 1H, индолинон), 6.72 (д, J=8.3 Гц, 2H, Ar¹), 6.39 (д, J=8.3 Гц, 2H, Ar¹), 4.55 (д, J=8.3 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 4.23 (д, J=9.4 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.43 (т, J=7.8 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.12 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для [C₂₆H₂₁ClN₄O₃S+H]⁺: 505,1096; масса найденная 505,1098.

4.5.52. Синтез 1-(4-гидроксифенил)-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил- 5'''-бром 2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (90)

Из 0.15 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **26**, 0.09 г (0.9 ммоль) саркозина и 0.21 г (0.9 ммоль) 5-бромизатина получено 0.22 г (83%) белого кристаллического осадка. T_{пл}=241°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.85 (с, 1H, NH-индолинон), 9.84 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.52 (с, 1H, OH), 7.92 (д, J=7.7 Гц, 1H, индолинон), 7.54 (д, J=8.3 Гц, 1H, Ar²), 7.42-7.49 (м, 2H, Ar¹), 7.34 (т, J=7.7 Гц, 1H, Ar²), 7.25 (с, 1H, индолинон), 6.82 (д, J=8.2 Гц, 1H, Ar¹), 6.76 (д, J=7.8 Гц, 2H, Ar²), 6.44 (д, J=8.4 Гц, 2H, индолинон), 4.53 (т, J=8.3 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 4.22 (т, J=8.8 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.45 (т, J=6.5 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.15 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для [C₂₆H₂₀BrClN₄O₃S+H]⁺: 583,0201; масса найденная 583,0201.

4.5.53. Синтез 1-(4-гидроксифенил)-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил- 5'''-хлор 2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (91)

Из 0.15 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **26**, 0.09 г (0.9 ммоль) саркозина и 0.17 г (0.9 ммоль) 5-хлоризатина получено 0,2 г (84%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=205^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.84 (с, 1H, NH-индолинон), 9.83 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.54 (с, 1H, OH), 7.91 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, индолинон), 7.31-7.50 (м, 4H, Ar^1+Ar^2), 7.12 (с, 1H, индолинон), 6.86 (д, $J=8.3$ Гц, 1H, Ar^1), 6.75 (д, $J=7.9$ Гц, 2H, Ar^2), 6.42 (д, $J=8.1$ Гц, 2H, индолинон), 4.54 (т, $J=8.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.22 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.45 (т, $J=8.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.15 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{S}+\text{H}]^+$: 539,0706; масса найденная 539,0709.

4.5.54. Синтез 1-(4-гидроксифенил)-4'-(3,4-диметоксифенил)-1'-метил- 5'''-бром -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (92)

Из 0.1 г (0.3 ммоль) тиогидантоина **27**, 0.05 г (0.6 ммоль) саркозина и 0.1 г (0.6 ммоль) 5-бромизатина получено 0.1 г (61%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=197^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.77 (с, 1H, NH-индолинон), 10.27 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.55 (с, 1H, OH), 7.44-7.50 (м, 2H, индолинон+ Ar^2), 7.22 (с, 1H, Ar^2), 6.75-6.89 (м, 3H, Ar^2+Ar^1), 6.66-6.72 (м, 2H, Ar^1), 6.39 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, индолинон), 4.51 (т, $J=8.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.19 (т, $J=8.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.90 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 3.80 (с, 3H, CH_3), 3.72 (с, 3H, CH_3), 2.14 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{BrN}_4\text{O}_5\text{S}+\text{H}]^+$: 609,0802; масса найденная 609,0803.

4.5.55. Синтез 1-(4-гидроксифенил)-4'-(3,4-диметоксифенил)-1'-метил- 5'''-хлор -2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (93)

Из 0.1 г (0.3 ммоль) тиогидантоина **27**, 0.05 г (0.6 ммоль) саркозина и 0.09 г (0.6 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.08 г (53%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=205^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.75 (с, 1H, NH-индолинон), 10.32 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.52 (с, 1H, OH), 7.32-7.38 (м, 2H, индолинон+ Ar^2), 7.22 (с, 1H, Ar^2), 6.85 (т, $J=8.20$ Гц, 2H, Ar^2), 6.77-6.81 (м, 1H, Ar^2), 6.68 (д, $J=7.5$ Гц, 2H, Ar^1), 6.38 (д, $J=7.5$ Гц, 2H, Ar^1), 4.49 (т, $J=8.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.21 (т, $J=9.1$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.90 (т, $J=8.1$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 3.80 (с, 3H, OCH_3), 3.72 (с, 3H, OCH_3), 2.15 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[C_{28}H_{25}ClN_4O_5S+H]^+$: 565,1307; масса найденная 565,1307.

4.5.56. Синтез 1-(4-гидроксифенил)-4'-(4-гидроксифенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (94)

Из 0.06 г (0.2 ммоль) тиогидантоина **28**, 0.04 г (0.4 ммоль) саркозина и 0.09 г (0.4 ммоль) 5-бромизатина после флеш-хроматографии в системе ПЭ:ЭА = 3:1 получено 0,08 г (74%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=239^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.75 (с, 1H, NH-индолинон), 10.04 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.75 (с, 1H, OH), 9.40 (с, 1H, OH), 7.54 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar^1), 7.20 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar^1), 6.79 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar^2), 6.70 (м, 4H, Ar^2 +индолинон), 6.41 (д, $J=8.6$ Гц, 1H, индолинон), 4.17 (т, $J=9.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.86 (т, $J=9.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.40 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.13 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[C_{26}H_{22}BrN_4O_4S+H]^+$: 565,0540; масса найденная 565,0540.

4.5.57. Синтез 1-(1-фенилэтил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (95)

Из 0.2 г (0.6 ммоль) тиогидантоина **35**, 0.1 г (1.2 ммоль) саркозина и 0.26 г (1.2 ммоль) 5-бромизатина получено 0.24 г (65%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=210^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.75 (с, 1H, NH-индолинон), 10.38 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.42-7.49 (м, 7H, $Ph+Ar^2$), 7.34 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar^2), 6.84-6.91 (м, 2H, индолинон), 6.77 (д, $J=8.1$ Гц, 1H, индолинон), 5.60 (кв, $J=7.21$ Гц, 1H, $\underline{CH}(Ph)$), 4.08 (т, $J=9.05$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.86 (т, $J=9.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.40 (т, $J=8.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.12 (с, 3H, NCH_3), 1.33 (д, $J=7.1$ Гц, 3H, $CH(Ph)-\underline{CH_3}$).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[C_{28}H_{24}BrClN_4O_2S+H]^+$: 595,0565; масса найденная 595,0573.

4.5.58. Синтез 1-(1-фенилэтил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиооксодиспи-ро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (96)

Из 0.2 г (0.6 ммоль) тиогидантоина **35**, 0.1 г (1.2 ммоль) саркозина и 0.21 г (1.2 ммоль) 5-хлоризатина получено 0,2 г (62%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=217^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.73 (с, 1H, NH-индолинон), 10.42 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.13-7.42 (м, 9H, $Ph+Ar^2$), 6.74-6.90 (м, 3H, индолинон), 5.59 (кв, $J=7.6$

Гц, 1H, CH(Ph)), 4.10 (т, J=9.2 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 3.85 (т, J=9.8 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.40 (т, J=8.3 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.12 (с, 3H, NCH₃), 1.31 (д, J=7.1 Гц, 3H, CH(Ph)-CH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для [C₂₈H₂₄Cl₂N₄OS+H]⁺: 551,1070; масса найденная 551,1081.

4.6.1. Синтез 7-карбоксиизатина (97) [137]

Смешивают кипящие растворы 13.6 г сульфата натрия (0.1 моль) и 4 г хлоральгидрата (24.1 ммоль) в 80 мл воды, 3 г (21.9 ммоль) антраниловой кислоты и 2 мл концентрированной HCl в 14 мл воды, 2.43 г (34.8 ммоль) гидрохлорида гидроксиламина в 11 мл воды. Белый осадок отфильтровывают, сушат и медленно растворяют в 19 мл серной кислоты, нагретой до 90°C. Затем смесь выливают в 100 г льда. Полученный желтый осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола. Получено 1.63 г (47%) желтого кристаллического вещества.

¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 13.59 (с, 1H, COOH), 10.60+10.21 (с, 1H, ротомеры NH), 8.17+8.01 (д, J= 7.34, 7.95 Гц, 1H, ротомеры, 6-H), 7.81+7.72 (д, J=8.07, 7.34 Гц, 1H, ротомеры, 4-H), 7.07-7.19 (м, 1H, 5-H).

4.7.1. Синтез 1'-пропаргил-1-(3-хлор-4-метоксифенил)-4'-(3-хлорфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3'-индолин]-2'',5-диона (98) [137]

Из 0.59 г (1.5 ммоль) тиогидантоина 27, 0.9 г (4.5 ммоль) саркозина и 0.54 г (4.5 ммоль) N-пропаргилизатина получено 0.4 г (33%) белого кристаллического осадка. T_{пл}=196°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.33 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.54 (с, 1H, Ar), 7.40-7.33 (м, 2H, Ar), 7.29-7.20 (м, 2H, Ar), 7.12 (д, J=6.8 Гц, 1H, Ar), 7.05 (д, J=8.0 Гц, 1H, Ar), 7.00-6.94 (м, 2H, Ar), 6.55 (д, J=2.1 Гц, 1H, Ar), 6.49 (дд, J₁=2.5 Гц, J₂=8.8 Гц, 1H, , Ar), 4.31 (т, J=9.2 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 3.98 (т, J=9.2 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.47 (т, J=8.6 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 3.10 (с, 3H, CH₃), 2.14 (с, 3H, NCH₃).

4.8. Получение аминов

4.8.1. Синтез (R)-1-фенилэтиламин (99) [110]

Нагревают 36.1 г (0.57 моль) формиата аммония до 160°C, а затем охлаждают до 80°C и смешивают с 30 г ацетофенона (29.2 мл; 0.25 моль). Смесь кипятят при 185°C в течение 4

часов, затем охлаждают до комнатной температуры и промывают водой. Органический слой отделяют и кипятят 1 час с 40 мл концентрированной соляной кислоты, после чего добавляют воду и экстрагируют бензолом. К водному раствору добавляют твердую щелочь, экстрагируют бензолом. Объединенные органические фракции упаривают на роторном испарителе, после чего остаток перегоняют в вакууме (66-70°C при 20 мм.рт.ст). Получено 36.25 г (40%) прозрачной подвижной жидкости с характерным запахом.

Расщепление на энантиомеры: D-винную кислоту (5.19 г.; 0.24 моль) растворяют в горячем метаноле (400 мл), а затем по каплям при перемешивании добавляют исходный 1-фенилэтиламин (29 г; 0.24 ммоль). В течение 48 часов происходит рост кристаллов, которые затем отфильтровывают, промывают метанолом и перекристаллизовывают из воды. Полученные кристаллы растворяют в воде, добавляют твердую щелочь и экстрагируют бензолом. Объединенные органические фракции упаривают на роторном испарителе и полученный (+)-1-фенилэтиламин перегоняют в вакууме. Выход 9.87 г. (34%)

$[\alpha]_d^{20}(\text{изм}) = +38.2^\circ$ (без растворителя). Оптическая чистота 97%

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 7.28-7.38 (м, 5H, Ph), 4.10 (кв, $J=6.6$ Гц, 1H, CH), 1.54 (с, 2H, NH_2), 1.39 (д, $J=6.6$ Гц, 3H, CH_3).

4.8.2. Синтез (R)-N-(1-фенилэтил)-глицина (100)

К раствору 2 г (16.5 ммоль) 1-фенилэтиламина в сухом бензоле добавляют 1.38 г (8.3 ммоль) этилбромацетата, перемешивают 3 часа, полученный белый осадок отфильтровывают. Фильтрат упаривают и добавляют в кипящий раствор гидроксида калия и кипятят в течение 45 минут. Затем по каплям добавляют соляную кислоту, упаривают раствор, промывают концентрированной соляной кислотой. Растворяют продукт в воде добавляют КОН до pH 5, продукт экстрагируют CHCl_3 , упаривают в вакууме. Получено 0.99 г белого кристаллического вещества. Выход 67% ее по данным ВЭЖХ.

^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 7.36 (с, 5H, Ph), 4.33 (кв, $J=6.6$ Гц, 1H, NH), 3.30 (кв, $J=11.4$ Гц, 2H, CH_2), 1.55 (д, $J=6.60$ Гц, 3H, CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_2+\text{H}]^+$: 180,1019; масса найденная 180,1018.

4.9.1. Синтез 1-фенил-4'-фенил-1'-метил-2-тиооксодиспиро[имидазолидин-4,2'-пирролизидин-3',3''-индолин]-2'',5-диона (101)

Из 0.2 г (0.7 ммоль) тиогидантоина **10**, 0.17 г (1.4 ммоль) пролина и 0.21 г (1.4 ммоль) изатина получено 0.17 г (51%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=186^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.96 (с, 1H, NH-индолинон), 9.76 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.67(д, $J=7.37$ Гц, 1H, индолинон), 7.37-7.44 (м, 3H, Ph), 7.10-7.27 (м, 6H, Ph), 6.94 (т, $J=7.70$ Гц, 1H, индолинон), 6.76-6.85 (м, 3H, индолинон), 4.33 (т, $J=7.70$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.18 (с, 1H, CH, пирролизидин), 3.95-4.07 (м, 1H, CH, пирролидин- H^2), 3.39-3.47(м, 1H, CH пирролидин- H^1), 3.13-3.22 (м, 1H, CH, пирролизидин), 2.23-2.34 (м, 1H, CH, пирролизидин), 2.00-2.09 (м, 1H, CH, пирролизидин), 1.89-1.98 (м, 1H, CH, пирролизидин), 1.59-1.70 (м, 1H, CH, пирролизидин).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 481,1693; масса найденная 481,1696.

4.9.2. Синтез 1-фенил-4'-фенил-1'-метил-5'''-хлор-2-тиооксодиспиро[ими-дазолидин-4,2'-пирролизидин-3',3''-индолин]-2'',5-диона (102)

Из 0.2 г (0.7 ммоль) тиогидантоина **10**, 0.17 г (1.4 ммоль) пролина и 0.13 г (0.9 ммоль) 5-хлоризатина получено 0.12 г (33%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=193^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.67 (с, 1H, NH-индолинон), 10.55 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.10-7.44 (м, 7H, индолинон + Ph), 6.47-6.54 (м, 3H, Ph), 6.32-6.37 (м, 3H, индолинон), 4.52 (т, $J=10.27$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.41-4.48 (м, 1H, CH, пирролизидин), 4.03-4.11 (м, 1H, CH, пирролидин- H^2), 3.44-3.52 (м, 1H, CH, пирролидин- H^1), 1.91-2.05 (м, 1H, CH, пирролизидин), 1.75-1.87 (м, 1H, CH, пирролизидин), 1.52-1.72 (м, 1H, CH, пирролизидин), 1.31-1.45 (м, 1H, CH, пирролизидин).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$: 515,1303; масса найденная 515,1305.

4.10. Получение N-арил-аминов

А) Арилийодид (1 экв), 1-фенилэтиламин (1.2 экв), йодид меди (I) (0.05 экв), этиленгликоль (2 экв) и безводный фосфат калия (2 экв) растворяют в изопропиловом спирте в атмосфере аргона. Смесь нагревают до 80°C в течение 24 часов, затем добавляют воду и экстрагируют дважды этилацетатом. Органический слой отделяют, сушат над Na_2SO_4 и упаривают. Продукт очищают на хроматографической колонке в системе ПЭ:ЭА = 20:1.

В) Арилборную кислоту (1 экв), ацетат меди (II) (0.2 экв), стеариновую кислоту (0.4 экв) и лутидин (1 экв) смешивают в сухом бензоле. В полученный раствор после 2 минут интенсивного перемешивания добавляют 1-фенилэтиламин (1 экв) и продолжают интенсивное перемешивание в течение 48 часов. Далее в реакционную смесь добавляют этилацетат, фильтруют через слой силикагеля, затем фильтрат упаривают и очищают на хроматографической колонке в системе ПЭ ЭА = 20:1.

4.10.1. (R)-N-(1-фенилэтил)анилин (103) [138]

А) По методу А из 0.7 г (3.4 ммоль) 4-бромйодбензола, 0.5 г (4.1 ммоль) (R)-1-фенилэтиламина, 0.03 г (0.2 ммоль) йодида меди (I), 0.43 г (6.9 ммоль) этиленгликоля и 1.46 г (36.9 ммоль) фосфата калия получено 0.3 г (45%) бесцветной подвижной жидкости.

В) По методу В из 0.61 г (0.5 ммоль) фенилборной кислоты, 0.13 г (0.7 ммоль) ацетата меди (II), 0.38 г (1.3 ммоль) стеариновой кислоты, 0.35 г (3.3 ммоль) лутидина и 0.4 г (3.3 ммоль) (R)-1-фенилэтиламина получено 0.13 г (20%) бесцветной подвижной жидкости.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 7.40-7.52 (м, 4H, Ph), 7.35 (т, $J=7.1$ Гц, 1H, Ph), 7.22 (т, $J=7.5$ Гц, 2H, Ar), 6.78 (т, $J=7.2$ Гц, 1H, Ar), 6.64 (д, $J=7.7$ Гц, 2H, Ar), 4.61 (кв, $J=6.8$ Гц, 1H, CH), 4.15 (с, 1H, NH), 1.63 (д, $J=6.9$ Гц, 3H, CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}+\text{H}]^+$: 198,1277; масса найденная 198,1278.

4.10.2. (R)-3-фтор-N-(1-фенилэтил)анилин (104) [112]

По методу В из 0.19 г (1.5 ммоль) 3-фтор-фенилборной кислоты, 0.04 г (0.2 ммоль) ацетата меди (II), 0.11 г (0.4 ммоль) стеариновой кислоты, 0.11 г (0.1 ммоль) лутидина и 0.12 г (1 ммоль) (R)-1-фенилэтиламина получено 0.04 г (20%) бесцветной подвижной жидкости.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 7.35 (д, $J=7.1$ Гц, 2H, Ph), 7.28 (т, $J=7.5$ Гц, 2H, Ph), 7.17 (т, $J=7.2$ Гц, 1H, Ar), 6.96 (д, $J=7.5$ Гц, 1H, NH), 6.52 (д, $J=6.9$ Гц, 1H, Ar), 6.32 (д, $J=8.8$ Гц, 1H, Ar), 6.15-6.22 (м, 2H, Ar), 4.39-4.51 (м, 1H, CH), 1.39 (д, $J=6.9$ Гц, 3H, CH_3).

4.10.3. (R)-4-нитро-N-(1-фенилэтил)анилин (105) [138]

4-нитробромбензол (1.1 г.; 5.4 ммоль), (R)-1-фенилэтиламин (3.3 г; 27 ммоль) и порошок металлической меди (0.017 г.; 0.3 ммоль) смешиваются и помещаются в масляную баню нагретую до 100°C на 24 часа. Затем добавляют с воду и экстрагируют этилацетатом. Органический слой отделяют, сушат над Na_2SO_4 и упаривают. Очищают на

хроматографической колонке в системе ПЭ ЭА = 20:1. Получено 0.334 г (30%) подвижной жидкости.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 7.91 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar), 7.74 (д, $J=6.9$ Гц, 1H, NH), 7.26-7.38 (м, 4H, Ph+Ar), 7.21 (т, $J=7.3$ Гц, 1H, Ph), 6.58 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar), 4.66 (м, 1H, CH), 1.46 (д, $J=6.5$ Гц, 3H, CH_3).

4.10.4. (R)-4-бром-N-(1-фенилэтил)анилин (106) [138]

По методу А из 0.5 г (1.8 ммоль) 4-бромйодбензола, 0.25 г (2.1 ммоль) (R)-1-фенилэтиламина, 0.018 г (0,1 ммоль) йодида меди (I), 0.22 г (3.5 ммоль) этиленгликоля и 0.74 г (3.5 ммоль) фосфата калия получено 0.21 г (41%) бесцветной подвижной жидкости.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 7.32-7.39 (м, 4H, Ph), 7.26 (т, $J=7.2$ Гц, 1H, Ph), 7.18 (дт, $J=8.8$, 2.1 Гц, 2H, Ar), 6.40 (дт, $J=8.8$, 2.1 Гц, 2H, Ar), 4.46 (кв, $J=6.72$ Гц, 1H, CH), 4.10 (с, 1H, NH), 1.53 (д, 6.72 Гц, 3H, CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{BrN}+\text{H}]^+$: 276,0382; масса найденная 276,0382.

4.11. Получение замещенных изатинов

4.11.1. Синтез 1-бром-1-фенилэтана (107) [139]

Через раствор 30 мл стирола (0.26 моль) пропускают избыток сухого HBr . Полученную смесь перегоняют в вакууме. Получено 44 г (91%) прозрачной тяжелой жидкости. $T_{\text{кип}}=97^\circ\text{C}$ (30 мм.рт.ст.).

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 7.58 (д, $J=7.34$ Гц, 2H, Ph), 7.47 (т, $J=7.70$ Гц, 2H, Ph), 7.41 (т, $J=7.09$ Гц, 1H, Ph), 5.34 (кв, $J=6.85$ Гц, 1H, CH), 2.17 (д, $J=6.97$ Гц, 3H, CH_3).

4.11.2. Синтез 1-(1-фенилэтил)изатина (108) [140]

К раствору 0.5 г (3.4 ммоль) изатина в 7 мл ДМФА постепенно добавляют 0.102 г (4.3 ммоль) 60%-й суспензии гидрида натрия в минеральном масле. Смесь перемешивают в течение 15 минут, а затем по каплям добавляют 0.6 г (3.4 ммоль) 1-бром-1-фенилэтана. Раствор перемешивают 3 часа, после охлаждения добавляют насыщенный раствор NaCl . Полученный осадок отфильтровывают, промывают водой и перекристаллизовывают из этанола. Получено 0.726 г (85%) оранжевых пластинчатых кристаллов.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 7,60 (д, $J=7.46$ Гц, 1H, Ph), 7.28-7.44 (м, 6H, Ph), 7.04 (т, $J=7.46$ Гц, 1H, Ph), 6.55 (д, $J=7.95$ Гц, 1H, Ph), 5.80 (кв, $J=7.09$ Гц, 1H, CH), 1.88 (д, $J=7.21$ Гц, 3H, CH_3).

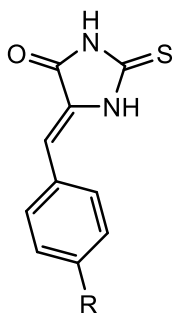
4.11.3. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-1'''-(1-фенил)этил-2-тиооксодиспири[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (109)

Из 0.24 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **19**, 0.17 г (1 ммоль) саркозина и 0.13 г (1 ммоль) 1-(1'-фенилэтил)изатина получено 0.27 г (61%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=256^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.21 (с, 1H, NH- имидазолидин), 7.51 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar^1), 7.43 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar^1), 7.22-7.39 (м, 6H, Ph+индолинон), 7.16 (т, $J=7.7$ Гц, 1H, индолинон), 6.98 (т, $J=7.3$ Гц, 1H, индолинон), 6.85 (д, $J=8.9$ Гц, 2H, Ar^2), 6.57 (д, $J=8.0$ Гц, 1H, индолинон), 6.43 (д, $J=8.9$ Гц, 2H, Ar^2), 5.70-5.78 (м, 1H, индолинон), 4.31 (т, $J=9.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.10 (т, $J=9.1$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.99 (кв, $J=7.1$ Гц, 2H, CH_2CH_3), 3.54 (т, $J=8.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.20 (с, 3H, NCH_3), 1.78 (д, $J=7.2$ Гц, 3H, $\text{CH}(\text{Ph})-\text{CH}_3$), 1.29 (т, $J=7.0$ Гц, 3H, CH_2CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{36}\text{H}_{33}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}+\text{H}]^+$: 637,2035; масса найденная 637,2021.

4.12. Получение N-незамещенных (Z)-5-бензилиден-2-тиоксоимидазолидин-4-онов



В 10 мл реакционный сосуд помещают тиогидантоин (1 экв.), соответствующий бензальдегид (1,1 экв.), ацетат натрия (1,1 экв.) и 5 мл уксусной кислоты. Сосуд помещают в микроволновую печь при $t = 140^\circ\text{C}$, $P = 300\text{ W}$ на 20 минут, после охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры ее выливают в воду. Полученный осадок отфильтровывают, промывают 2 раза водой и сушат на воздухе. При необходимости перекристаллизовывают из этилового спирта.

4.12.1. Синтез (Z)-5-(2-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (110) [141]

Из 1 г тиогидантоина (8.6 ммоль), 1.2 мл (9.5 ммоль) 2-хлорбензальдегида и 0.78 г (9.5 ммоль) ацетата натрия в 5 мл уксусной кислоты получили 1.63 г (93%) желтого кристаллического продукта. $T_{\text{пл}}=187^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.46 (с, 1H, NH), 12.27 (с, 1H, NH), 7.79 - 7.82 (м, 1H, Ar), 7.53-7.55 (м, 1H, Ar); 7.38-7.40 (м, 2H, Ar); 6.58 (с, 1H, CH).

4.12.2. Синтез (Z)-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиоксомидазолидин-4-она (111) [141]

Из 0.5 г тиогидантоина (4.2 ммоль), 0.67 г (4.6 ммоль) 4-хлорбензальдегида и 0.39 г (4.6 ммоль) ацетата натрия в 5 мл уксусной кислоты получили 0.62 г (62%) желтого кристаллического продукта. $T_{\text{пл}}=168^\circ\text{C}$.

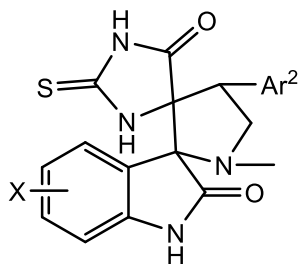
Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.41 (с, 1H, NH), 12.19 (с, 1H, NH), 7.75-7.77 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar), 7.46 - 7.48 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar); 6.47 (с, 1H, CH).

4.12.3. Синтез (Z)-5-(4-фторбензилиден)-2-тиоксомидазолидин-4-она (112) [141]

Из 0.5 г тиогидантоина (4.2 ммоль), 0.58 г (4.6 ммоль) 4-фторбензальдегида и 0.39 г (4.6 ммоль) ацетата натрия в 5 мл уксусной кислоты получили 0.6 г (64%) желтого кристаллического продукта. $T_{\text{пл}}=196^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.38 (с, 1H, NH), 12.16 (с, 1H, NH), 7.80 (д, $J=7.2$ Гц, 2H, Ar), 7.25 (д, $J=7.2$ Гц, 2H, Ar); 6.49 (с, 1H, CH).

4.13. Получение диспиропроизводных на основе N-незамещенных 2-тиоксомидазолидин-4-онов



В круглодонной колбе с обратным холодильником смешивают 5-бензилиден-2-тиоксомидазолидин-4-он (1 экв.) и саркозин (2 экв.), добавляют минимальное кол-во EtOH и перемешивают при нагревании до полного растворения. К полученному раствору добавляют 5-броминдолин-2,3-дион (2 экв.) и кипятят в течение 4-6 часов. Полученный осадок отфильтровывают, при необходимости перекристаллизовывают из спирта.

4.13.1. Синтез 5''-бром-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (113)

Из 0.3 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **119**, 0.23 г (1.0 ммоль) саркозина и 0.59 г (1.0 ммоль) 5-бромизатина получено 0.61 г (42%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=167^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 400 МГц, δ , м.д.): 11.70 (с, 1H, NH-индолинон), 10.79 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.11 (с, 1H, Ar), 7.90 (д, $J=7.4$ Гц, 1H, Ar), 7.29-7.45 (м, 4H, Ar), 6.77 (д,

$J=8.4$ Гц, 1H), 6.77 (д, $J=9.6$ Гц, 1H, Ar), 4.56 (т, $J=9.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.03 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.52 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.08 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[C_{20}H_{16}BrClN_4O_2S+H]^+$: 489,9874; масса найденная 489,9876.

4.13.2. Синтез 5''-бром-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (114)

Из 0.2 г (0.15 ммоль) тиогидантоина **120**, 0.15 г (0.3 ммоль) саркозина и 0.38 г (0.3 ммоль) 5-бромизатина получено 0.4 г (98%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=186^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР ($DMSO-d_6$, 400 МГц, δ , м.д.): 11.72 (с, 1H, NH-индолинон), 10.61 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.72 (с, 1H, Ar), 7.35-7.51 (м, 5H, Ar), 6.76 (д, $J=8.2$ Гц, 1H), 4.15 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.02 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.80 (т, $J=9.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.08 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[C_{20}H_{16}BrClN_4O_2S+H]^+$: 489,9874; масса найденная 489,9872.

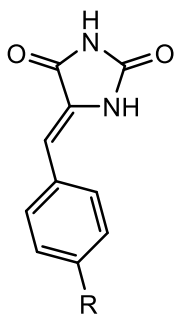
4.13.3. Синтез 5''-бром-4'-(4-фторфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (115)

Из 0.26 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **121**, 0.23 г (1.0 ммоль) саркозина и 0.59 г (1.0 ммоль) 5-бромизатина получено 0.72 г (57%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=194^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР ($DMSO-d_6$, 400 МГц, δ , м.д.): 11.72 (с, 1H, NH-индолинон), 10.67 (с, 1H, NH-имидазолидин), 9.12 (с, 1H, Ar), 7.42-7.49 (м, 5H, Ar), 6.34 (д, $J=8.2$ Гц, 1H), 4.45 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.17 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 4.05 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.12 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[C_{20}H_{16}BrFN_4O_2S+H]^+$: 474,0204; масса найденная 747,0208.

4.14. Получение N-незамещенных (Z)-5-бензилиден-2-оксоимидазолидин-4-онов



В круглодонную колбу с обратным холодильником помещают гидантоин (1 экв.), ароматический альдегид (1.1 экв.) и этаноламин (0.5 экв.) в смеси $EtOH-H_2O$ (1:1). При интенсивном перемешивании реакционную смесь

доводят до кипения и кипятят 24ч. После окончания реакции смесь охлаждают до комнатной температуры. Выпавший бледно-желтый осадок отфильтровывают, промывают охлажденным EtOH и сушат на воздухе.

4.14.1. Синтез (Z)-5-(4-фторбензилиден)-2-оксомидазолидин-4-она (116) [142]

Из 1 г гидантоина (8.5 ммоль), 1.41 г (9.4 ммоль) 4-фторбензальдегида и 0.31 г (4.3 ммоль) этаноламина в 10 мл системы EtOH:H₂O=1:1 получили 0.96 г (52%) желтого кристаллического продукта.

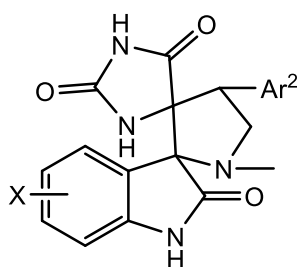
Спектр ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц, δ, м.д.): 12.38 (с, 1H, NH), 12.16 (с, 1H, NH), 7.63 (д, J = 8.6 Гц, 2H, Ar), 7.54 (д, J = 8.6 Гц, 2H, Ar); 6.39 (с, 1H, CH).

4.14.2. Синтез (Z)-5-(4-хлорбензилиден)-2-оксомидазолидин-4-она (117) [142]

Из 0.5 г гидантоина (4.2 ммоль), 0.41 г (4.6 ммоль) 4-хлорбензальдегида и 0.31 г (2.1 ммоль) этаноламина в 10 мл системы EtOH:H₂O=1:1 получили 0.67 г (74%) желтого кристаллического продукта.

Спектр ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц, δ, м.д.): 12.29 (с, 1H, NH), 12.09 (с, 1H, NH), 7.68 (д, J = 8.4 Гц, 2H, Ar), 7.45 (д, J = 8.4 Гц, 2H, Ar); 6.31 (с, 1H, CH).

4.15. Получение диспиропроизводных на основе N-незамещенных 2-оксомидазолидин-4-онов



В круглодонной колбе с обратным холодильником смешивают 5-бензилиден-2-оксомидазолидин-4-он (1 экв.) и саркозин (2 экв.), добавляют минимальное кол-во EtOH и перемешивают при нагревании до полного растворения. К полученному раствору добавляют индолин-2,3-дион (2 экв.) и кипятят в течение 4-6 часов. Полученный осадок отфильтровывают, при необходимости перекристаллизовывают из спирта.

4.15.1. Синтез 4'-(4-фторфенил)-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (118)

Из 0.2 г (0.5 ммоль) гидантоина **125**, 0.09 г (1.0 ммоль) саркозина и 0.19 г (1.0 ммоль) изатина получено 0.31 г (42%) белого кристаллического осадка. T_{пл}=197°C.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): δ 11.33 (с, 1H, NH-индолинон), 10.56 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.47 (с, 1H, Ar), 7.41 (д, $J=8.5$ Гц, 1H, Ar), 7.33 (д, $J=7.6$ Гц, 1H, Ar), 7.21 – 7.27 (м, 1H, Ar), 7.16 (т, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 6.98 (т, $J=7.6$ Гц, 1H, Ar), 6.80 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar), 4.12 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.80 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.37 (т, $J=9.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.07 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{FN}_4\text{O}_3+\text{H}]^+$: 379.1332; масса найденная 379.1335.

4.15.2. Синтез 4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2'',3'']-индолин]-2'',5-диона (119)

Из 0.21 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **125**, 0.09 г (1.0 ммоль) саркозина и 0.19 г (1.0 ммоль) изатина получено 0.33 г (56%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=185^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.55 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.63 (с, 1H, Ar), 7.50 (с, 1H, Ar), 7.44 (д, $J=8.3$ Гц, 1H, Ar), 7.38 (д, $J=7.4$ Гц, 2H, Ar), 7.32 (д, $J=7.5$ Гц, 1H, Ar), 7.24 (т, $J=7.4$ Гц, 1H, Ar), 6.97 (т, $J=7.5$ Гц, 1H, Ar), 6.78 (д, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar), 4.09 (т, $J=9.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.80 (т, $J=9.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.52 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.04 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{BrFN}_4\text{O}_3+\text{H}]^+$: 474,0248; масса найденная 474,0244.

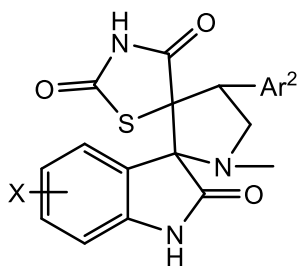
4.15.3. Синтез 5''-бром-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2'',3'']-индолин]-2'',5-диона (120)

Из 0.2 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **125**, 0.09 г (1.0 ммоль) саркозина и 0.22 г (1.0 ммоль) 5-бромизатина получено 0.33 г (56%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=185^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.70 (с, 1H, NH-индолинон), 10.79 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.64 (д, $J=7.9$ Гц, 1H, Ar), 7.44 (д, $J=7.7$ Гц, 2H, Ar), 7.37 (с, 2H, Ar), 6.77 (д, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.56 (с, 1H, Ar), 4.15 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.78 (т, $J=9.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.49 (т, $J=9.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.07 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{BrFN}_4\text{O}_3+\text{H}]^+$: 474,0248; масса найденная 474,0244.

4.16. Получение диспиروпроизводных на основе N-незамещенных тиазолидин-2,4-дионов



В круглодонной колбе с обратным холодильником смешивают 5-бензилидентиазолидин-2,4-дион (1 экв.) и саркозин (2 экв.), добавляют минимальное кол-во EtOH и перемешивают при нагревании до полного растворения. К полученному раствору добавляют индолин-2,3-дион (2 экв.) и кипятят в течение 4-6 часов. Полученный осадок отфильтровывают, при необходимости перекристаллизовывают из спирта.

4.16.1. Синтез 5''-бром-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-оксодиспиرو[тиазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (121)

Из 0.5 г (0.8 ммоль) (Z)-5-(4-хлорбензилиден)тиазолидин-2,4-диона, 0.26 г (1.6 ммоль) саркозина и 0.51 г (1.6 ммоль) 5-бромизатина получено 0.54 г (52%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=217^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 400 МГц, δ , м.д.): δ 12.26 (с, 1H, NH-индолинон), 10.97 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.47 – 7.61 (м, 2H, Ar), 7.44 (д, $J=7.1$ Гц, 3H, Ar), 7.30 (д, $J=8.5$ Гц, 1H, Ar), 6.85 (т, $J=7.5$ Гц, 1H, Ar), 4.41 (т, $J=9.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.77 (т, $J=9.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.48 (т, $J=8.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.06 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $[\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{BrClN}_3\text{O}_3\text{S}+\text{H}]^+$: 491.9757; масса найденная 491.9755.

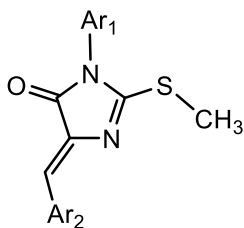
4.16.2. Синтез 5''-бром-4'-(4-фторфенил)-1'-метил-2-оксодиспиرو[тиазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (122)

Из 0.3 г (0.4 ммоль) (Z)-5-(4-фторбензилиден)тиазолидин-2,4-диона, 0.15 г (0.8 ммоль) саркозина и 0.32 г (0.8 ммоль) 5-бромизатина получено 0.21 г (38%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=217^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 400 МГц, δ , м.д.): δ 12.25 (с, 1H, NH-индолинон), 10.85 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.45 – 7.65 (м, 3H, Ar), 7.32 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar), 6.91 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar), 4.45 (т, $J=9.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.82 (т, $J=9.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.51 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.08 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $[C_{20}H_{15}BrFN_3O_3S+H]^+$: 476.0039; масса найденная 476.0037.

4.17. Получение S-метил-5-арилиден-2-тиоксомидазолидин-4-онов



5-Арилидензамещенный 2-тиогидантоин (1 экв) растворяют в 10 мл 2% раствора КОН в этаноле и добавляют метилйодид (1.1 экв), после чего смесь перемешивают до выпадения осадка. Полученный осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола при необходимости.

4.17.1. Синтез (Z)-4-бензилиден-2-(метилтио)-1-фенил-1H-имидазол-5(4H)-она (123) [104]

Из 0.9 г (3.2 ммоль) тиогидантоина **10** и 0.52 мл (2.9 ммоль) метилйодида получено 0.92 г (98%) светло-желтого кристаллического осадка.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.28 (д, $J=7.2$ Гц, 1H, Ar), 7.57 (д, $J=7.9$ Гц, 1H, Ph), 7.38-7.60 (м, 8H, Ph+Ph), 6.97 (с, 1H, (C=C)-H), 2.69 (с, 3H, SCH₃).

4.17.2. Синтез (Z)-4-(2-бромбензилиден)-2-(метилтио)-1-фенил-1H-имидазол-5(4H)-она (124) [104]

Из 0.3 г (0.8 ммоль) тиогидантоина **15** и 0.06 мл (0.9 ммоль) метилйодида получено 0.26 г (88%) светло-желтого кристаллического осадка.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.94 (дд, $J=6.6$, 1.34 Гц, 1H, Ar), 7.77 (дд, $J=7.1$, 0.86 Гц, 1H, Ar), 7.43-7.60 (м, 6H, Ar), 7.36 (дт, $J=7.7$, 1.34 Гц, 1H, Ar), 7.16 (с, 1H, (C=C)-H), 2.69 (с, 3H, SCH₃).

4.17.3. Синтез (Z)-4-(2-хлорбензилиден)-2-(метилтио)-1-фенил-1H-имидазол-5(4H)-она (125) [104]

Из 0.5 г (1.6 ммоль) тиогидантоина **14** и 0.12 мл (1.9 ммоль) метилйодида получено 0.36 г (72%) светло-желтого кристаллического осадка.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 8,96 (дд, $J=6.0$, 1.8 Гц, 1H), 7.42-7.62 (м, 8H), 7.19 (с, 1H, (C=C)-H), 2.69 (с, 3H, SCH₃).

4.17.4. Синтез (Z)-4-(4-фторбензилиден)-2-(метилтио)-1-фенил-1H-имидазол-5(4H)-она (126) [104]

Из 0.55 г (1.7 ммоль) тиогидантоина **16** и 0.12 мл (1.9 ммоль) метилйодида получено 0.49 г (86%) светло-желтого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.29 (д, $J=8.3$ Гц, 2H, Ar^2), 7.83(д, $J=8.3$ Гц, 2H, Ar^2), 7.38-7.60 (м, 5H, Ph), 6.97 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})\text{-H}$), 2.67 (с, 3H, SCH_3).

4.17.5. Синтез (Z)-4-(4-бромбензилиден)-2-(метилтио)-1-фенил-1H-имидазол-5(4H)-она (127) [104]

Из 0.5 г (1.7 ммоль) тиогидантоина **36** и 0.12 мл (1.9 ммоль) метилйодида получено 0.43 г (92%) светло-желтого кристаллического осадка.

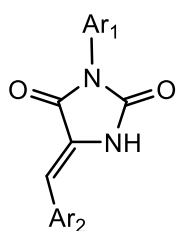
Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.36 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar^2), 7.85(д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar^2), 7.44-7.68(м, 5H, Ph), 6.86 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})\text{-H}$), 2.65 (с, 3H, SCH_3).

4.17.6. Синтез (Z)-4-(4-фторбензилиден)-2-(метилтио)-1-(4-метоксифенил)-1H-имидазол-5(4H)-она (128) [104]

Из 0.46 г (1.4 ммоль) тиогидантоина **38** и 0.21 мл (1.5 ммоль) метилйодида получено 0.42 г (84%) светло-желтого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.30 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\beta\text{H}$), 7.54 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\alpha\text{H}$), 7.34 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\alpha\text{H}$), 7.08 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\beta\text{H}$), 6.95 (с, 1H, $(\text{C}=\text{C})\text{-H}$), 3.82 (с, 3H, OCH_3), 2.68 (с, 3H, SCH_3).

4.18. Получение 5-арилиден-2-оксоимидазолидин-4-онов



5-Арилиден-2-метилтио-имидазол-4-он растворяют в 10 мл смеси этанол : 12М HCl = 1:1 и кипятят с обратным холодильником в течение 3 часов. Смесь охлаждают и выливают в воду. Полученный осадок отфильтровывают и при необходимости перекристаллизовывают из этанола.

4.18.1. Синтез (5Z)-3-фенил-5-(фенилметилен)имидазолидин-2,4-диона (129) [143]

Из 0.50 г (1.7 ммоль) тиогидантоина **119** получено 0.35 г (77%) белого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.16 (с, 1H, NH), 7.63 (д, $J = 8.6$ Гц, 2H, Ar), 7.54 (д, $J = 8.6$ Гц, 2H, Ar); 6.93 – 7.48 (м, 6H, Ar), 6.39 (с, 1H, CH).

4.18.2. Синтез (5Z)-3-фенил-5-(2-бромфенилметилен)имидазолидин-2,4-диона (130) [143]

Из 0.25 г (0.7 ммоль) тиогидантоина **120** получено 0.20 г (86%) белого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.19 (с, 1H, NH), 7.78 (д, $J=7.9$ Гц, 1H, Ar), 7.39-7.55 (м, 7H, Ph+Ar²), 7.34 (д, $J=8.1$ Гц, 1H, Ar), 6.71 (с, 1H, (C=C)-H).

4.18.3. Синтез (5Z)-3-фенил-5-(2-хлорфенилметилен)имидазолидин-2,4-диона (131) [143]

Из 0.176 г (0,5 ммоль) тиогидантоина **121** получено 0.13 г (84%) белого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.20 (с, 1H, NH), 7,79 (дд, $J=5.62$, 1.83 Гц, 1H, Ar), 7.37-7.59 (м, 8H, Ar), 6.75 (с, 1H, (C=C)-H).

4.18.4. Синтез (5Z)-3-фенил-5-(4-фторфенилметилен)имидазолидин-2,4-диона (132) [143]

Из 0.2 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **122** получено 0.15 г (78%) белого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.65 (с, 1H, NH), 7.76 (д, $J=8.5$ Гц, 2H, Ar), 7.63 (д, $J=8.5$ Гц, 2H, Ar), 7.33 – 7.54 (m, 5H, Ar), 6.65 (s, 1H).

4.18.5. Синтез (5Z)-3-фенил-5-(4-бромфенилметилен)имидазолидин-2,4-диона (133) [143]

Из 0.24 г (0.5 ммоль) тиогидантоина **123** получено 0.22 г (86%) белого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.64 (с, 1H, NH), 7,65 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar), 7.54 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar), 7.21 – 7.48 (m, 5H, Ar), 6.63 (s, 1H).

4.18.6. Синтез (5Z)-3-(4-метоксифенил)-5-(4-фторфенилметилен)имидазолидин-2,4-диона (134) [143]

Из 0.42 г (1.1 ммоль) тиогидантоина **124** получено 0.33 г (90%) белого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.00 (с, 1H, NH), 7.68 (д, $J=8.5$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\beta\text{H}$), 7.45 (д, $J=8.5$ Гц, 2H, $\text{Ar}^1\text{-}\alpha\text{H}$), 7.31 (д, $J=9.1$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\alpha\text{H}$), 7.01 (д, $J=9.1$ Гц, 2H, $\text{Ar}^2\text{-}\beta\text{H}$), 6.58 (с, 1H, (C=C)-H), 3.77 (с, 3H, OCH_3).

4.18.7. Синтез (5Z)-3-(4-этоксифенил)-5-(4-хлорфенилметилиден)имидазолидин-2,4-диона (135) [143]

Из 0.17 г (1.1 ммоль) тиогидантоина **125** получено 0.13 г (63%) белого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.04 (с, 1H, NH), 7.71 (д, $J=7.5$ Гц, 2H, Ar), 7.49 (д, $J=7.5$ Гц, 2H, Ar), 7.31 (д, $J=7.5$ Гц, 2H, Ar), 7.03 (д, $J=7.5$ Гц, 2H, Ar), 6.61 (с, 1H, (C=C)-H), 4.05- 4.09 (м, 2H, CH_2CH_3), 1.35 (т, $J=7.1$ Гц, 3H, CH_2CH_3).

4.18.8. Синтез (5Z)-3-(4-метоксифенил)-5-(4-хлорфенилметилиден)имидазолидин-2,4-диона (136) [143]

Из 0.17 г (1.1 ммоль) тиогидантоина **126** получено 0.13 г (88%) белого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.00 (с, 1H, NH), 7.68 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar), 7.45 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar), 7.31 (д, $J=9.1$ Гц, 2H, Ar), 7.01 (д, $J=9.1$ Гц, 2H, Ar), 6.58 (с, 1H, (C=C)-H), 3.77 (с, 3H, CH_3).

4.18.9. Синтез (5Z)-3-(4-хлорфенил)-5-фенилметилиден-имидазолидин-2,4-диона (137) [143]

Из 0.2 г (1.1 ммоль) тиогидантоина **127** получено 0.15 г (78%) белого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.65 (с, 1H, NH), 7.76 (д, $J=8.5$ Гц, 2H, Ar), 7.63 (д, $J=8.5$ Гц, 2H, Ar), 7.33 – 7.54 (м, 5H, Ar), 6.65 (с, 1H, (C=C)-H).

4.18.10. Синтез (5Z)-3-(3-хлор-4-фторфенил)-5-(4-этоксифенилметилиден)-имидазолидин-2,4-диона (138) [143]

Из 0.15 г (1 ммоль) тиогидантоина **129** получено 0.09 г (73%) белого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.28 (с, 1H, NH), 7.79-7.35 (м, 7H, Ar), 6.74 (с, 1H, (C=C)-H).

4.18.11. Синтез (5Z)-3-(3-хлор-4-фторфенил)-5-(4-хлорфенилметилен)-имидазолидин-2,4-диона (139) [143]

Из 0.1 г (1.1 ммоль) тиогидантоина **130** получено 0.07 г (71%) белого кристаллического осадка.

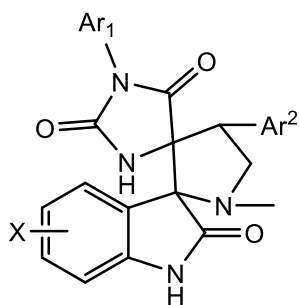
Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.00 (с, 1H, NH), 7.71-7.78 (м, 3H, Ar), 7.59 (т, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar), 7.49-7.54 (м, 3H, Ar), 6.66 (с, 1H, (C=C)-H).

4.19.1. Синтез 3-фенилимидазолидин-2,4-диона (140)[144]

В круглодонной колбе в 10%-м водном растворе гидроксида калия растворяют 1 г (13.3 ммоль, 1 экв) глицина, затем прибавляют 1.74 г (14.6 ммоль, 1.1 экв.) фенилизоизоцианата. Смесь перемешивают в течение часа, затем добавляют концентрированную соляную кислоту до pH=6-7 и кипятят в течение двух часов. Образовавшийся осадок отфильтровывают и при необходимости перекристаллизовывают из метанола. $T_{\text{пл}}=195^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 9.34 (с, 1H, NH), 7.15-7.32 (м, 5H, Ph), 4.19 (с, 2H, CH_2).

4.20. Получение диспиропроизводных на основе 5-арилиден-2-оксоимидазолидин-4-онов



В круглодонной колбе с обратным холодильником смешивают 5-арилиден-2-оксоимидазолидин-4-он (1 экв.) и саркозин (2 экв.), добавляют минимальное кол-во EtOH и перемешивают при нагревании до полного растворения. К полученному раствору добавляют соответствующий индолин-2,3-дион (2 экв.) и кипятят в течение 6-8 часов. Полученный осадок отфильтровывают, при необходимости перекристаллизовывают из спирта.

4.20.1. Синтез 1-фенил-4'-фенил-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (141)

Из 0.2 г (0.5 ммоль) гидантоина **125**, 0.09 г (1.0 ммоль) саркозина и 0.15 г (1.0 ммоль) изатина получено 0.33 г (82%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=215^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.61 (с, 1H, NH-индолинон), 8.24 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.43 (д, $J=7.0$ Гц, 2H, Ar), 7.27 – 7.39 (м, 7H, Ar), 7.03 (т, $J=7.2$ Гц, 1H, Ar), 6.84 (д, $J=8.2$ Гц, 1H, Ar), 6.80 (д, $J=7.0$ Гц, 2H, Ar), 4.25 (т, $J=9.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^3),

3.98 (т, J=9.5 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.43 (т, J=9.1 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.14 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₇H₂₃N₃O₃ (M+H) 437.1739, найденное 437.1741.

4.20.2. Синтез 1-фенил-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (142)

Из 0.21 г (0.5 ммоль) гидантоина **126**, 0.09 г (1.0 ммоль) саркозина и 0.15 г (1.0 ммоль) изатина получено 0.35 г (87%) белого кристаллического осадка. T_{пл}=227°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д): 10.60 (с, 1H, NH-индолинон), 8.10 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.96(д, J=7.5 Гц, 1H, Ar), 7.27-7.49 (м, 7H, Ar), 7.04 (т, J=7.5 Гц, 1H, Ar), 6.81-6.88 (м, 1H, Ar), 4.60 (т, J=9.0 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 4.20 (т, J=9.0 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.44 (т, J=8.5 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.15 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₇H₂₂ClN₃O₃ (M+H) 471.1350, масса найденная 471.1348.

4.20.3. Синтез 1-фенил-4'-(2-бромфенил)-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (143)

Из 0.25 г (0.5 ммоль) гидантоина **127**, 0.09 г (1.0 ммоль) саркозина и 0.15 г (1.0 ммоль) изатина получено 0.27 г (93%) белого кристаллического осадка. T_{пл}=206°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д): 10.60 (с, 1H, NH-индолинон), 8.02 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.64 (д, J=7.5 Гц, 1H, Ar), 7.27 – 7.51 (м, 8H, Ar), 7.03 (т, J=8.0 Гц, 2H, Ar), 6.85 (д, J=7.5 Гц, 2H, Ar), 4.61 (т, J=8.7 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 4.13 (т, J=8.7 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.46 (т, J=8.1 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.14 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₇H₂₂BrN₃O₃ (M+H) : 515.0845, масса найденная 515.0845.

4.20.4. Синтез 1-фенил-4'-(4-фторфенил)-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (144)

Из 0.1 г (0.25 ммоль) гидантоина **128**, 0.04 г (0.5 ммоль) саркозина и 0.09 г (0.5 ммоль) изатина получено 0.11 г (67%) белого кристаллического осадка. T_{пл}=216°C.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.61 (с, 1Н, NH-индолинон), 8.43 (с, 1Н, NH-имидазолидин), 7.46 (т, $J=9.5$ Гц, 2Н, Ar), 7.37 (д, $J=8.3$ Гц, 2Н, Ar), 7.29 (т, $J=8.3$ Гц, 2Н, Ar), 6.99-7.05 (м, 2Н, Ar), 6.83-6.91 (м, 5Н, Ar), 4.20 (т, $J=8.7$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 3.91 (т, $J=8.7$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 3.40 (т, $J=7.9$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 2.12 (с, 3Н, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_{33}$ ($\text{M}+\text{H}$) : 455.1645, масса найденная 455.1643.

4.20.5. Синтез 1-(4-метоксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (145)

Из 0.1 г (0.2 ммоль) гидантоина **129**, 0.03 г (0.4 ммоль) саркозина и 0.07 г (0.4 ммоль) изатина получено 0.07 г (39%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=221^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.59 (с, 1Н, NH-индолинон), 8.22 (с, 1Н, NH-имидазолидин), 7.23-7.31 (м, 6Н, Ar), 6.95-7.04 (м, 1Н, Ar), 6.87 (д, $J=9.0$ Гц, 2Н, Ar), 6.81 (д, $J=8.4$ Гц, 1Н, Ar), 6.65 (д, $J=9.0$ Гц, 2Н, Ar), 4.19 (т, $J=9.4$ Гц, 1Н, Ar), 3.89 (т, $J=9.4$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 3.88 (с, 3Н, пирролидин- H^2), 3.39 (т, $J=8.2$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 2.08 (с, 3Н, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_4$ ($\text{M}+\text{H}$): 503.1481, масса найденная 503.1485.

4.20.6. Синтез 1-(4-хлорфенил)-4'-фенил-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (146)

Из 0.11 г (0.25 ммоль) гидантоина **130**, 0.05 г (0.5 ммоль) саркозина и 0.08 г (0.5 ммоль) изатина получено 0.08 г (78%) белого кристаллического осадка. $T_{\text{пл}}=211^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.62 (с, 1Н, NH-индолинон), 8.41 (с, 1Н, NH-имидазолидин), 7.70 (д, $J=7.2$ Гц, 2Н, Ar), 7.55 (д, $J=7.2$ Гц, 2Н, Ar), 7.19-7.25 (м, 5Н, Ar), 6.85-7.09 (м, 4Н, Ar), 4.25 (т, $J=8.7$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 3.97 (т, $J=8.7$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 3.43 (т, $J=9.3$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 2.13 (с, 3Н, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) : 471.1350, масса найденная 471.1354.

4.20.7. Синтез 1-(4-хлорфенил)-4'-(4-метоксифенил)-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (147)

Из 0.1 г (0.2 ммоль) гидантоина **131**, 0.03 г (0.4 ммоль) саркозина и 0.07 г (0.4 ммоль) изатина получено 0.07 г (62%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=236^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.64 (с, 1H, NH-индолинон), 8.35 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.49 (д, $J=7.4$ Гц, 2H, Ar), 7.31-7.39 (м, 4H, Ar), 7.19 (д, $J=7.4$ Гц, 2H, Ar), 7.03 (д, $J=7.4$ Гц, 2H, Ar), 6.80-6.85 (м, 2H, Ar), 4.25 (т, $J=9.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.92 (т, $J=9.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.56 (с, 3H, OCH_3), 3.43 (т, $J=8.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.12 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{ClFN}_3\text{O}_4$ ($M+H$): 501.1455, масса найденная 501.1457.

4.20.8. Синтез 1-(3-хлор-4-фторфенил)-4'-(4-этоксифенил)-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (148)

Из 0.2 г (0.5 ммоль) гидантоина **132**, 0.09 г (1.0 ммоль) саркозина и 0.15 г (1.0 ммоль) изатина получено 0.26 г (79%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=256^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.75 (с, 1H, NH-индолинон), 8.57 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.48 (д, $J=8.6$ Гц, 2H, Ar), 7.42 (с, 1H, Ar), 7.35 (д, $J=8.2$ Гц, 2H, Ar), 7.05 (д, $J=7.7$ Гц, 2H, Ar), 6.91-6.97 (м, 2H, Ar), 6.88 (д, $J=8.2$ Гц, 2H, Ar), 4.19 (т, $J=10.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 4.00-4.05 (м, 2H, CH_2CH_3), 3.87 (т, $J=10.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.42 (т, $J=10.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.14 (с, 3H, NCH_3), 1.17 (т, $J=7.4$ Гц, 3H, CH_2CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{29}\text{H}_{25}\text{ClFN}_3\text{O}_4$ ($M+H$): 533.1518, масса найденная 533.1516.

4.20.9. Синтез 5''-бром-1-фенил-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2-оксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (149)

Из 0.2 г (0.4 ммоль) гидантоина **126**, 0.08 г (0.8 ммоль) саркозина и 0.15 г (0.8 ммоль) 5-бромизатина получено 0.19 г (67%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=248^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.87 (с, 1H, NH-индолинон), 9.05 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.50 (дд, $J_1=8.2$ Гц, $J_2=2.0$ Гц, 1H, Ar), 7.42 (ус, 4H, Ar), 7.25 (д, $J=2.0$ Гц, 1H, Ar), 6.83-6.88 (м, 4H, Ar), 6.37 (с, 1H, Ar), 6.34 (с, 1H), 4.61 (т, $J=8.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.89 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.44 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.18 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $C_{28}H_{24}BrClN_4O_4$ (M+H): 595.0748, масса найденная 595.0748.

4.20.10. Синтез 5''-бром-1-(4-этоксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-оксодиспиرو[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (150)

Из 0.2 г (0.4 ммоль) гидантоина **132**, 0.02 г (0.8 ммоль) саркозина и 0.21 г (0,8 ммоль) 5-бромизатина получено 0.29 г (72%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=263^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.91 (с, 1H, NH-индолинон), 9.14 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.57(м, 2H, Ar), 7.50 (д, J=7.1 Гц, 1H, Ar), 7.30-7.45 (м, 5H, Ar), 7.27 (с, 1H, Ar), 6.86 (м, 1H, Ar), 6.50 (д, J=7.1 Гц, 2H, Ar), 4.02-4.08 (м, 2H, $\underline{CH_2CH_3}$), 4.60 (т, J=9.0 Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.90 (т, J=8.4 Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.51 (т, J=9.4 Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.20 (с, 3H, NCH_3), 1.18 (т, J=7.4 Гц, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $C_{29}H_{25}BrClN_3O_4$ (M+H): 593.0717, масса найденная 593.0719.

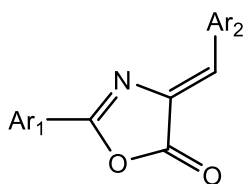
4.20.11. Синтез 5''-бром-1-(3-хлор-4-фторфенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-оксодиспиرو[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (151)

Из 0.21 г (0.4 ммоль) гидантоина **130**, 0.02 г (0.8 ммоль) саркозина и 0.21 г (0.8 ммоль) 5-бромизатина получено 0.25 г (68%) белого кристаллического осадка. $T_{пл}=271^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.80 (с, 1H, NH-индолинон), 8.64 (с, 1H, NH-имидазолидин), 7.72 (д, J=8.0 Гц, 1H, Ar), 7.48-7.52 (м, 3H, Ar), 7.40 (д, J=9.3 Гц, 2H, Ar), 7.11 (д, J=8.8 Гц, 1H, Ar), 6.95 (м, 1H, Ar), 6.83 (д, J=8.0 Гц, 1H, Ar), 6.65 (с, 1H, Ar), 4.23 (т, J=8.0 Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.91 (т, J=8.0 Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.47 (т, J=9.4 Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.15 (с, 1H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $C_{27}H_{19}BrCl_2FN_3O_3$ (M+H): 600.9971, масса найденная 600.9973.

4.21. Получение 2-арил-5-арилметилен-1,3-оксазолонов



К раствору гиппуровой кислоты (1 экв.) в 15 мл уксусного ангидрида добавляют ароматический альдегид (1 экв.) и ацетат калия (1 экв.) и кипятят с обратным холодильником в атмосфере аргона в течение 2-4 часов. Выпавший при охлаждении продукт отфильтровывают и промывают сначала водой, а затем холодным диэтиловым эфиром и сушат на воздухе.

4.21.1. Синтез (4Z)-2-фенил-4-[фенилметилен]-1,3-оксазол-5(4H)-она (152) [122]

Из 0.5 г (3 ммоль) гиппуровой кислоты, 0.44 мл (3 ммоль) бензальдегида и 0.25 г (4 ммоль) ацетата калия получено 0.52 г (58%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=167^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.14-8.19 (м, 5H, Ar), 7.62 (т, $J = 7.8$ Гц, 1H, Ar), 7.54 (д, $J = 7.9$ Гц, 2H, Ar), 7.45 (д, $J = 7.9$ Гц, 2H, Ar), 7.26 (с, 1H, $\text{HC}=\text{C}$).

4.21.2. Синтез (4Z)-2-фенил-4-[4-фторфенилметилен]-1,3-оксазол-5(4H)-она (153) [122]

Из 0.5 г (2.5 ммоль) гиппуровой кислоты, 0.37 мл (2.5 ммоль) 4-фторбензальдегида и 0.25 г (2.5 ммоль) ацетата калия получено 0.2 г (30%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=153^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.26 (дд, $J_1 = 6.1$ Гц, $J_2 = 7.6$ Гц, 2H, Ar), 8.21 (д, $J = 8.9$ Гц, 2H, Ar), 7.64 (т, $J = 8.8$ Гц, 1H, Ar), 7.57 (т, $J = 8.8$ Гц, 2H, Ar), 7.28 (с, 1H, $\text{HC}=\text{C}$), 7.18–7.22 (м, 2H, Ar).

4.21.3. Синтез (4Z)-2-фенил-4-[4-метоксифенилметилен]-1,3-оксазол-5(4H)-она (154) [122]

Из 0.75 г (3 ммоль) гиппуровой кислоты, 0.3 мл (1.9 ммоль) 4-метоксибензальдегида и 0.3 г (3 ммоль) ацетата калия получено 0.75 г (94%) желтого кристаллического осадка.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.19 (дд, $J_1 = 2$ Гц, $J_2 = 6.1$ Гц, 2H, Ar), 8.07 (д, $J = 8.4$ Гц, 2H, Ar), 7.79–7.43 (м, 3H, Ar), 7.32 (д, $J = 8.4$ Гц, 2H, Ar), 7.21 (с, 1H, $\text{HC}=\text{C}$), 3.86 (с, 3H, OCH_3).

4.21.4. Синтез (4Z)-2-(4-метилфенил)-4-[4-фторфенилметилен]-1,3-оксазол-5(4H)-она (155) [122]

Из 0.45 г (2.4 ммоль) 4-метилгиппуровой кислоты, 0.35 мл (2.4 ммоль) 4-фторбензальдегида и 0.24 г (2.4 ммоль) ацетата калия получено 0.48 г (72%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=245^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.25 (дд, $J_1 = 7.2$ Гц, $J_2 = 8.1$ Гц, 2H, Ar), 8.10 (д, $J = 7.8$ Гц, 2H, Ar), 7.37 (д, $J = 7.8$ Гц, 2H, Ar), 7.21 (с, 1H, $\text{HC}=\text{C}$), 7.19 (дд, $J_1 = 7.9$ Гц, $J_2 = 8.1$ Гц, 2H, Ar), 2.49 (с, 3H, CH_3).

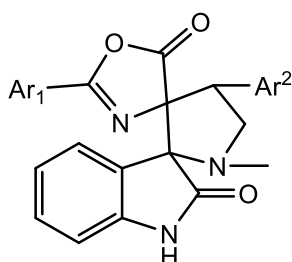
Элементный анализ: $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{NO}_2\text{F}$ рассчитанное (%): C, 72.59; H, 4.27; N 4.98. Найденное: C, 72.61; H, 4.45; N, 4.81.

4.21.5. Синтез (4Z)-2-(4-метилфенил)-4-[4-метоксифенилметилен]-1,3-оксазол-5(4H)-она (156) [122]

Из 0.45 г (2.4 ммоль) 4-метилгиппуровой кислоты, 0.3 мл (2.4 ммоль) 4-метоксибензальдегида и 0.24 г (2.4 ммоль) ацетата калия получено 0.46 г (44%) желтого кристаллического осадка. $T_{пл}=172^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.04 (д, $J = 7.7$ Гц, 2H, Ar), 7.48 – 7.63 (м, 4H, Ar), 7.35 (д, $J = 7.7$ Гц, 2H, Ar), 7.17 (с, 1H, HC=), 3.97 (с, 3H, CH_3), 2.49 (с, 1H, CH_3).

4.22. Получение диспиропроизводных на основе 2-арил-5-арилметилен-1,3-оксазолонов



В круглодонную колбу, снабженную обратным холодильником, помещали 1 ммоль 5-арилиден-1,3-оксазолон (1 экв.) и 10-15 мл этанола. Смесь нагревали до кипячения, после чего порционно добавляли 2 ммоль саркозина (2 экв.) и 2 ммоль изатина (2 экв.) и перемешивали при кипячении около 5 часов (контроль по ТСХ, до исчезновения исходного оксазолон). Выпавший после охлаждения белый осадок отфильтровали и сушили на воздухе.

4.22.1. Синтез 4'-фенил-1'-метил-2-фенилдиспиро[оксазолин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (157). [121]

В результате реакции 0.26 г (1 ммоль) 1,3-оксазолон, 0.15 г (2 ммоль) изатина и 0.089 г (2 ммоль) саркозина получили 0.19 г (79%) соединения в виде белого порошка. $T_{пл}=206^{\circ}\text{C}$. Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 400 МГц, δ , м.д.): 10.38 (с, 1H, NH-индолинон), 7.51-7.55 (м, 5H, Ar), 7.42 (т, $J=7.7$ Гц, 2H, Ar), 7.24-7.28 (м, 3H, Ar), 7.18-7.21 (м, 2H, Ar), 6.99 (т, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar), 6.68 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, CH), 4.20 (т, $J=8.1$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.12 (т, $J=9.8$ Гц, 1H, CH_2), 3.55 (т, $J=9.8$ Гц, 1H, CH_2), 2.19 (с, 3H, NMe).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3$, $\text{M}+\text{H}$: 424.1658, масса найденная ($\text{M}+\text{H}$): 424.1656.

4.22.2. Синтез 4'-фенил-1'-метил-2-(4-фтор-фенил)диспиро[оксазолин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (158) [121].

В результате реакции 0.22 г (0.7 ммоль) 1,3-оксазолон, 0.21 г (1.6 ммоль) изатина и 0.13 г (0.7 ммоль) саркозина получили 0.14 г (64%) соединения в виде белого порошка. $T_{пл}210^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.65 (с, 1Н, NH-индолинон), 7.66 (д, $J=7.8$ Гц, 2Н, Ar), 7.39-7.44 (м, 5Н, Ar), 7.24 (д, $J=7.8$ Гц, 2Н, Ar), 7.15 (т, $J=7.9$ Гц, 1Н, Ar), 6.89-6.92 (м, 2Н, Ar), 6.75-6.78 (м, 1Н, Ar), 4.37 (т, $J=8.4$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 4.12 (т, $J=8.4$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 3.55 (т, $J=8.4$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 2.18 (с, 3Н, NMe).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_3$, $M+H$: 441.1489, масса найденная ($M+H$): 441.1491.

4.22.3. Синтез 4'-фенил-1'-метил-2-(4-метоксифенил)диспиро[оксазолин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (159) [121].

В результате реакции 0.28 г (1 ммоль) 1,3-оксазолонa, 0.3 г (2 ммоль) изатина и 0.18 г (2 ммоль) саркозина получили 0.33 г (89%) соединения в виде белого порошка. $T_{\text{пл}}=202^\circ\text{C}$. Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.38 (с, 1Н, NH-индолинон), 7.50- 7.59 (м, 3Н, Ar), 7.51 (т, $J=7.5$ Гц, 2Н, Ar), 7.19-7.30 (м, 7Н, Ar), 6.70 (д, $J=7.8$ Гц, 1Н, Ar), 4.86 (т, $J=8.1$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 4.62 (т, $J=8.1$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 4.02 (т, $J=8.1$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 3.26 (с, 3Н, OCH_3), 2.19 (с, 3Н, NMe).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4$, $M+H$: 453.1689, масса найденная ($M+H$): 453.1691.

4.22.4. Синтез 4'-(4-метилфенил)-1'-метил-2-(4-фтор-фенил)диспиро[оксазолин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (160) [121].

В результате реакции 0.2 г (0.7 ммоль) 1,3-оксазолонa, 0.21 г (1.4 ммоль) изатина и 0.13 г (1.4 ммоль) саркозина получили 0.22 г (82%) соединения в виде белого порошка. $T_{\text{пл}}=213^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.66 (с, 1Н, NH-индолинон), 7.66 (д, $J=7.8$ Гц, 2Н, Ar), 7.28 (д, $J=7.8$ Гц, 2Н, Ar), 7.19-7.25 (м, 3Н, Ar), 7.13 (т, $J=6.7$ Гц, 1Н, Ar), 6.73-6.76 (м, 4Н, Ar), 4.85 (т, $J=10.0$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 3.72 (т, $J=10.0$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 3.58 (т, $J=9.0$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 2.33 (с, 3Н, CH_3), 2.16 (с, 3Н, NMe).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_3$, $M+H$: 455.1645, масса найденная ($M+H$): 455.1647.

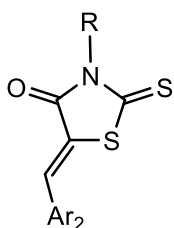
4.22.5. Синтез 4'-(4-метилфенил)-1'-метил-2-(4-метокси-фенил)диспиро[оксазолин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (161) [121].

В результате реакции 0.33 г (1.1 ммоль) 1,3-оксазолон, 0.32 г (2.2 ммоль) изатина и 0.2 г (2.2 ммоль) саркозина получили 0.18 г (55%) соединения в виде белого порошка. $T_{пл}=207^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.42 (с, 1H, NH-индолинон), 7.55-7.62 (м, 3H, Ar), 7.43 (т, $J=7.3$ Гц, 2H, Ar), 7.16-7.23 (м, 3H, Ar), 6.99 (т, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar), 6.69 (д, $J=8.1$ Гц, 1H, Ar), 4.14 (т, $J=9.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.02 (т, $J=9.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.62 (т, $J=9.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 3.35 (с, 3H, OCH_3), 2.30 (с, 3H, CH_3), 2.18 (с, 3H, NMe).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4$, $M+H$: 467.1845, масса найденная ($M+H$): 467.1843.

4.23. Получение 3-замещенных 5-арилроданинов



Смесь 3-замещенного роданина (1 экв.), ароматического альдегида (1 экв.) и ацетата калия (1,5 экв.) в 15 мл ледяной уксусной кислоты помещают в ампулу и помещают в микроволновой реактор (параметры излучения: 90°C , 45 минут). Полученный желтый осадок затем отфильтровывают, промывают водой, диэтиловым эфиром и сушат на воздухе.

14.23.1. Синтез (Z)-3-аллил-5-(2-хлорбензилиден)-2-тиотиазолидин-4-она (162) [145]

Из 1 г (5.7 ммоль) 3-аллилроданина, 0.81 мл (5.7 моль) 2-хлорбензальдегида и 1.13 г (11.54 моль) ацетата калия было получено 0.66 г (40%.) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.93 (s, 1H, CH), 7.68 (m, 1H, Ar), 7.62 (m, 1H, Ar), 7.52-7.58 (m, 2H, Ar), 5.80-5.90 (m, 1H, Allyl), 5.19 (m, 2H, Allyl), 4.65 (d, $J=5.4$ Гц, 2H, Allyl).

14.23.2. Синтез (Z)-3-аллил-5-(3-хлоробензилиден)-2-тиотиазолидин-4-она (163) [145]

Из 1 г (5.7 ммоль) 3-аллилроданина, 0.81 мл (5.7 моль) 3-хлорбензальдегида и 1.13 г (11.54 моль) ацетата калия было получено 0.61 г (51%.) желтого кристаллического продукта.

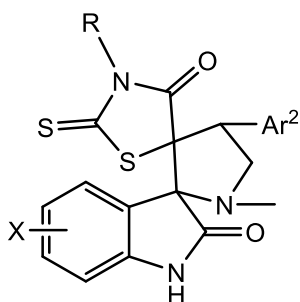
Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.84 (s, 1H, CH), 7.77 (s, 1H, Ar), 7.60 (m, 3H, Ar), 5.80-5.90 (m, 1H, Allyl), 5.17 (m, 2H, Allyl), 4.65 (d, $J=5.4$ Гц, 2H, Allyl).

14.23.3. Синтез (Z)-3-аллил-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиотиазолидин-4-она (164) [145]

Из 1 г (5.7 ммоль) 3-аллилроданина, 0.81 мл (5.7 моль) 3-хлорбензальдегида и 1.13 г (11.54 ммоль) ацетата калия было получено 0.72 г (62%.) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.85 (s, 1H, CH), 7.69 (m, 2H, Ar), 7.63 (m, 2H, Ar), 5.80-5.90 (m, 1H, Allyl), 5.17 (m, 2H, Allyl), 4.65 (d, $J=5.4$ Гц, 2H, Allyl).

4.24. Получение диспиропроизводных на основе 3-аллилзамещенных 5-арилроданинов



Смесь 5-арилзамещенного роданина (1 экв.) и саркозин (2 экв.) растворяют в EtOH при кипячении и перемешивании, добавляют соответствующий изатин (2 экв.) и кипятят смесь в течение дня с обратным холодильником, ведя контроль реакции по ТСХ. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают EtOH. Дополнительно высаживают фильтрат реакционной

смеси H_2O . При необходимости объединенные фракции очищают путем колоночной хроматографии.

4.24.1. Синтез 1-аллил-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (165)

В результате реакции 0.12 г (2 ммоль) роданина **180**, 0.12 г (4 ммоль) изатина и 0.072 г (4 ммоль) саркозина получили 0.090 г (56%) соединения в виде белого порошка. $T_{\text{пл}}=197^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.85 (с, 1H, NH-индолинон), 7.82 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar), 7.46 (м, 2H, Ar), 7.23-7.37 (м, 2H, Ar), 7.14 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar), 7.00 (т, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar), 6.83 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar), 5.40-5.52 (м, 1H, allyl), 5.01 (д, $J=10.3$ Гц, 1H, allyl), 4.74-4.87 (м, 2H, allyl), 4.31 (м, 2H, allyl+ пирролидин- H^3), 4.09 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.54 (т, $J=8.0$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.11 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}_2$, $M+H$: 470.0735, масса найденная ($M+H$): 470.0739.

4.24.2. Синтез 1-аллил-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиоксодиспиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (166)

В результате реакции 0.1 г (1 ммоль) роданина **180**, 0.15 г (2 ммоль) 5-бромизатина и 0.06 г (2 ммоль) саркозина получили 0.11 г (58%) соединения в виде белого порошка. $T_{\text{пл}}=256^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 11.05 (с, 1H, NH-индолинон), 7.78 (д, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar), 7.42-7.53 (м, 3H, Ar), 7.35 (т, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar), 7.19 (с, 1H, Ar), 6.82 (д, $J=8.2$

Гц, 1H, Ar), 5.45-5.57 (м, 1H, allyl), 5.05 (д, J=10.4 Гц, 1H, allyl), 4.66 (т, J=8.2 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 4.76 (д, J=17.4 Гц, 1H, allyl), 4.37 (д, J=4.3 Гц, 2H, allyl), 4.08 (т, J=9.0 Гц, 1H, allyl, пирролидин-Н²), 3.56 (т, J=7.8 Гц, 1H, CH, пирролидин-Н¹), 2.14 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₃H₁₉BrClN₃O₂S₂, M+H: 546.9831, масса найденная (M+H): 546.9837.

4.24.3. Синтез 1-аллил-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (167)

В результате реакции 0.1 г (1 ммоль) роданина **180**, 0.12 г (2 ммоль) 5-хлоризатина и 0.06г (2 ммоль) саркозина получили 0.14 г (66%) соединения в виде белого порошка. T_{пл}=231°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д): 10.95 (ус, 1H, NH-индолинон), 7.80 (д, J=7.8 Гц, 1H, Ar), 7.42-7.50 (м, 2H, Ar), 7.33-7.38 (м, 2H, Ar), 7.05 (д, J=2.2 Гц, 1H, Ar), 6.85 (д, J=8.3 Гц, 1H, Ar), 5.44-5.55 (м, 1H, Allyl), 5.03 (д, J=9.2 Гц, 1H, Allyl), 4.82 (т, J=8.0 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 4.74 (дд, J₂=1.3 Гц, J₁=16.1 Гц, 1H, Allyl), 4.37 (д, J=4.9 Гц, 2H, Allyl), 4.09 (т, J=9.4 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.54 (т, J=8.5 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.13 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₃H₁₉Cl₂N₃O₂S₂, M+H: 503.0347, масса найденная (M+H): 503.0349.

4.24.4. Синтез 1-аллил-4'-(3-хлорфенил)-1'-метил-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (168)

В результате реакции 0.1 г (1 ммоль) роданина **181**, 0.1 г (2 ммоль) изатина и 0.06г (2 ммоль) саркозина получили 0.14 г (96%) соединения в виде белого порошка. T_{пл}=219°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д): 10.88 (с, 1H, NH-индолинон), 7.56 (с, 3H, Ar), 7.40 (м, 4H, Ar), 7.29 (т, J=7.2 Гц, 1H, Ar), 7.13 (т, J=7.7 Гц, 1H, Ar), 6.99 (т, J=7.7 Гц, 1H, Ar), 6.85 (д, J=7.7 Гц, 1H, Ar), 5.34-5.45 (м, 1H, Allyl), 4.93 (д, J=10.4 Гц, 1H, Allyl), 4.57 (д, J=17.0 Гц, 1H, Allyl), 4.46 (т, J=8.3 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 4.31 (д, J=4.5 Гц, 2H, Allyl), 3.83 (т, J=9.2 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.56 (т, J=8.9 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.14 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₃H₂₀ClN₃O₂S₂, M+H: 470.0735, масса найденная (M+H): 470.0737

4.24.5. Синтез 1-аллил-4'-(3-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (169)

В результате реакции 0.1 г (1 ммоль) роданина **181**, 0.15 г (2 ммоль) 5-бромизатина и 0.06 г (2 ммоль) саркозина получили 0.11 г (58%) соединения в виде белого порошка. $T_{пл}=238^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.94 (с, 1H, NH-индолинон), 7.55 (с, 1H, Ar), 7.50 (дд, $J_1=2.0$ Гц, $J_2=8.2$ Гц, 1H, Ar), 7.41 (м, 3H, Ar), 7.18 (д, $J=2.1$ Гц, 1H, Ar), 6.83 (д, $J=8.2$ Гц, 1H, Ar), 5.40-5.50 (м, 1H, Allyl), 4.98 (д, $J=10.4$ Гц, 1H, Allyl), 4.60 (д, $J=17.2$ Гц, 1H, Allyl), 4.43 (т, $J=8.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.34 (д, $J=4.6$ Гц, 2H, Allyl), 3.77 (т, $J=9.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.58 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.11 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{BrClN}_3\text{O}_2\text{S}_2$, $M+H$: 546.9831, масса найденная ($M+H$): 546.9835.

4.24.6. Синтез 1-аллил-4'-(3-хлорфенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (170)

В результате реакции 0.1 г (1 ммоль) роданина **181**, 0.12 г (2 ммоль) 5-бромизатина и 0.06 г (2 ммоль) саркозина получили 0.13 г (81%) соединения в виде белого порошка. $T_{пл}=210^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 11.07 (с, 1H, NH-индолинон), 7.55 (с, 1H, Ar), 7.36-7.42 (м, 4H, Ar), 7.06 (д, $J=2.2$ Гц, 1H, Ar), 6.88 (д, $J=8.3$ Гц, 1H, Ar), 5.38-5.48 (м, 1H, Allyl), 4.96 (д, $J=10.4$ Гц, 1H, Allyl), 4.58 (д, $J=17.2$ Гц, 1H, Allyl), 4.45 (т, $J=8.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.37 (м, 2H, Allyl), 3.80 (т, $J=9.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.58 (т, $J=8.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.11 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$, $M+H$: 503.0347, масса найденная ($M+H$): 503.0343.

4.24.7. Синтез 1-аллил-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (171)

В результате реакции 0.1 г (1 ммоль) роданина **182**, 0.1 г (2 ммоль) изатина и 0.06 г (2 ммоль) саркозина получили 0.13 г (72%) соединения в виде белого порошка. $T_{пл}=252^{\circ}\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.90 (с, 1H, NH-индолинон), 7.45 (м, 4H, Ar), 7.29 (т, $J=7.6$ Гц, 1H, Ar), 7.14 (д, $J=7.6$ Гц, 1H, Ar), 6.98 (т, $J=7.6$ Гц, 1H, Ar), 6.84 (д, $J=7.6$ Гц, 1H, Ar), 5.35-5.45 (м, 1H, Allyl), 4.92 (д, $J=10.4$ Гц, 1H, Allyl), 4.55 (д, $J=17.4$ Гц, 1H, Allyl), 4.46 (т, $J=8.0$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.30 (д, $J=4.5$ Гц, 2H, Allyl), 3.85 (т, $J=9.1$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.54 (т, $J=8.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.08 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $C_{23}H_{20}ClN_3O_2S_2$, M+H: 470.0735, масса найденная (M+H): 470.0731.

4.24.8. Синтез 1-аллил-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (172)

В результате реакции 0.1 г (1 ммоль) роданина **182**, 0.15 г (2 ммоль) 5-бромизатина и 0.06 г (2 ммоль) саркозина получили 0.13 г (78%) соединения в виде белого порошка. $T_{пл}=245^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 11.08 (с, 1H, NH-индолинон), 7.49 (дд, $J_1=2.2$ Гц, $J_2=8.3$ Гц, 1H, Ar), 7.45 (м, 4H, Ar), 7.19 (д, $J=2.0$ Гц, 1H, Ar), 6.82 (д, $J=8.3$ Гц, 1H, Ar), 5.40-5.50 (м, 1H, Allyl), 4.98 (д, $J=10.4$ Гц, 1H, Allyl), 4.58 (д, $J=17.2$ Гц, 1H, Allyl), 4.45 (т, $J=8.9$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.37 (д, $J=5.1$ Гц, 2H, Allyl), 3.82 (т, $J=9.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.56 (т, $J=8.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.11 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $C_{23}H_{19}BrClN_3O_2S_2$, M+H: 546.9831, масса найденная (M+H): 546.9831.

4.24.9. Синтез 1-аллил-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (173)

В результате реакции 0.1 г (1 ммоль) роданина **182**, 0.12 г (2 ммоль) 5-хлоризатина и 0.06 г (2 ммоль) саркозина получили 0.15 г (96%) соединения в виде белого порошка. $T_{пл}=236^{\circ}C$.

Спектр 1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 11.07 (у.с, 1H, NH-индолинон), 7.45 (м, 4H, Ar), 7.36 (дд, $J_1=2.1$ Гц, $J_2=8.4$ Гц, 1H, Ar), 7.06 (д, $J=1.6$ Гц, 1H, Ar), 6.88 (д, $J=8.2$ Гц, 1H, Ar), 5.38-5.48 (м, 1H, Allyl), 4.95 (д, $J=10.5$ Гц, 1H, Allyl), 4.55 (д, $J=17.4$ Гц, 1H, Allyl), 4.45 (т, $J=9.0$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.37 (м, 2H, Allyl), 3.82 (т, $J=9.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.54 (т, $J=8.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.10 (с, 3H, NCH_3).

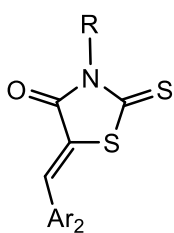
Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $C_{23}H_{19}Cl_2N_3O_2S_2$, M+H: 503.0347, масса найденная (M+H): 503.0349.

4.25. Синтез 3-фенилроданина (174) [146]

Растворяют фенилизотиоцианат в системе $H_2O/EtOH$ (1:1), при быстром перемешивании добавляют тиоуксусную кислоту. Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение двух суток, оставляют на ночь. Выпавшие светло-желтые игольчатые кристаллы отфильтровывают и промывают $EtOH$. Получили 5.1 г (45%) светло-желтого осадка из 7.78 г фенилизотиоцианата и 5.3 г тиоуксусной кислоты.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.54-7.46 (м, 3H, Ar), 7.23 (д, $J=7.1$ Гц, 2H, Ar), 4.38 (с, 2H, CH_2).

4.26. Получение 3-арилзамещенных 5-арилроданинов



Смесь 3-арилзамещенного роданина (1 экв.), ароматического альдегида (1 экв.) и ацетата калия (1,5 экв.) в 15 мл ледяной уксусной кислоты помещают в ампулу и помещают в микроволновой реактор (параметры излучения: 90°C, 45 минут). Полученный желтый осадок затем отфильтровывают, промывают водой, диэтиловым эфиром и сушат на воздухе.

14.26.1. Синтез (Z)-5-(2-хлорбензилиден)-3-фенил-2-тиотиазолидин-4-она (175) [147]

Из 0.15 г (1 ммоль) 3-фенилроданина, 0.1 мл (1 ммоль) 2-хлорбензальдегида и 0.12 г (1.5 ммоль) ацетата калия было получено 0.14 г (57%) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.92 (с, 1H, CH), 7.70-7.64 (м, 2H, Ar), 7.58-7.51 (м, 5H, Ar), 7.43 (д, $J=6.8$ Гц, 2H, Ar).

14.26.2. Синтез (Z)-5-(3-хлорбензилиден)-3-фенил-2-тиотиазолидин-4-она (176) [147]

Из 0.2 г (1.4 ммоль) 3-фенилроданина, 0.13 мл (1.4 ммоль) 3-хлорбензальдегида и 0.16 г (1.7 ммоль) ацетата калия было получено 0.3 г (61%) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.84 (с, 1H, CH), 7.79 (с, 1H, Ar), 7.61-7.51 (м, 6H, Ar), 7.42 (д, $J=7.8$ Гц, 2H, Ar).

14.26.3. Синтез (Z)-5-(4-хлорбензилиден)-3-фенил-2-тиотиазолидин-4-она (177) [147]

Из 0.18 г (1.2 ммоль) 3-фенилроданина, 0.15 г (1.2 ммоль) 4-хлорбензальдегида и 0.15 г (1.7 ммоль) ацетата калия было получено 0.17 г (59%) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.85 (с, 1H, CH), 7.72 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.64 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.58-7.51 (м, 3H, Ar), 7.43 (д, $J=6.9$ Гц, 2H, Ar).

14.26.4. Синтез (Z)-5-(4-этилбензилиден)-3-фенил-2-тиотиазолидин-4-она (178) [147]

Из 0.5 г (3.1 ммоль) 3-фенилроданина, 0.33 мл (3.1 ммоль) 4-этилбензальдегида и 0.47 г (4.8 ммоль) ацетата калия было получено 0.51 г (66%) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.81 (с, 1H, CH), 7.61 (д, $J=7.9$ Гц, 2H, Ar), 7.49-7.57 (м, 3H, Ar), 7.40-7.44 (м, 4H, Ar), 2.67 (кв, $J=7.5$ Гц, 2H, CH_2), 1.20 (т, $J=7.5$ Гц, 3H, Ar, CH_3).

14.26.5. Синтез (Z)-5-(4-метоксибензилиден)-3-фенил-2-тиотиазолидин-4-она (179) [147]

Из 0.5 г (3.1 ммоль) 3-фенилроданина, 0.29 мл (3.1 ммоль) 4-метоксибензальдегида и 0.47 г (4.8 ммоль) ацетата калия было получено 0.62 г (65%) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.81 (с, 1H, CH), 7.67 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar), 7.48-7.57 (м, 3H, Ar), 7.39-7.41 (м, 2H, Ar), 7.15 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, CH_2), 3.85 (с, 3H, CH_3).

14.26.6. Синтез (Z)-5-(2-метилбензилиден)-3-фенил-2-тиотиазолидин-4-она (180) [147]

Из 0.5 г (3.1 ммоль) 3-фенилроданина, 0.28 мл (3.1 ммоль) 4-метилбензальдегида и 0.47 г (4.8 ммоль) ацетата калия было получено 0.89 г (94%) желтого кристаллического продукта.

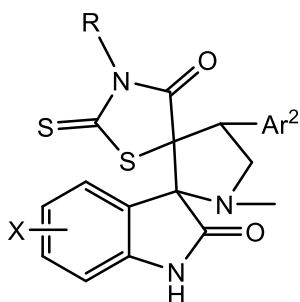
Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.92 (с, 1H, CH), 7.48-7.58 (м, 4H, Ar), 4.39-4.43 (м, 5H, Ar), 2.44 (с, 3H, CH_3).

14.26.7. Синтез (Z)-5-(3,4-диметоксибензилиден)-3-фенил-2-тиотиазолидин-4-она (181) [147]

Из 0.5 г (3.1 ммоль) 3-фенилроданина, 0.4 г (3.1 ммоль) 3,4-диметоксибензальдегида и 0.47 г (4.8 ммоль) ацетата калия было получено 0.62 г (73%) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.80 (с, 1H, CH), 7.50-7.57 (м, 3H, Ar), 7.40 (д, $J=7.6$ Гц, 2H, Ar), 7.30-7.35 (м, 1H, Ar), 7.28 (с, 1H, Ar), 7.18 (д, $J=8.2$ Гц, 1H, Ar), 3.85 (с, 3H, OCH_3), 3.84 (с, 3H, OCH_3).

4.27. Получение диспиропроизводных на основе 3-арилзамещенных 5-арилроданинов



Смесь 5-арилзамещенного роданина (1 экв.) и саркозин (2 экв.) растворяют в EtOH при кипячении и перемешивании, добавляют соответствующий изатин (2 экв.) и кипятят смесь в течение дня с обратным холодильником, ведя контроль реакции по ТСХ. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают EtOH. Дополнительно высаживают фильтрат реакционной

смеси H₂O. При необходимости объединенные фракции очищают путем колоночной хроматографии.

4.27.1. Синтез 1-фенил-4'-(2-хлорфенил)-1'-метил-5'''-бром- 2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (182)

В результате реакции 0.06 г (0.5 ммоль) роданина **193**, 0.08 г (1 ммоль) 5-бромизатина и 0.03 г (1 ммоль) саркозина получили 0.1 г (84%) соединения в виде белого порошка. T_{пл}=258°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д): 11.12 (с, 1H, NH-индолинон), 7.82 (д, J=7.8 Гц, 1H, Ar), 7.62 (дд, J₁=1.8 Гц, J₂=8.3 Гц, 1H, Ar), 7.56-7.53 (м, 5H, Ar), 7.48 (т, J=7.7 Гц, 1H, Ar), 7.39 (т, J=7.7 Гц, 1H, Ar), 7.12 (д, J=1.7 Гц, 1H, Ar), 6.91 (д, J=8.3 Гц, 2H, Ar), 4.88 (т, J=8.5 Гц, 1H, пирролидин-H³), 4.14 (т, J=8.7 Гц, 1H, пирролидин-H²), 3.58 (т, J=8.7 Гц, 1H, пирролидин-H¹), 2.17 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₆H₁₉BrClN₃O₂S₂, M+H: 582.9783, масса найденная (M+H): 582.9785.

4.27.2. Синтез 1-фенил-4'-(2-метилфенил)-1'-метил-5'''-бром- 2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (183)

В результате реакции 0.1 г (0.7 ммоль) роданина, 0.145 г (1.4 ммоль) 5-бромизатина и 0.057 г (1.4 ммоль) саркозина получили 0.18 г (65%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе ПЭ:ЭА = 20:1-5:1. T_{пл}=271°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д): 11.12 (с, 1H, NH-индолинон), 7.74 (д, J=8.0 Гц, 1H, Ar), 7.62 (д, J=8.0 Гц, 1H, Ar), 7.50 (с, 3H, Ar), 7.29-7.32 (м, 1H, Ar), 7.21-7.23 (м, 4H, Ar), 7.08 (с, 1H, Ar), 6.91 (д, J=8.1 Гц, 1H, Ar), 4.82 (т, J=8.2 Гц, 1H, пирролидин-H³), 4.00 (т, J=8.1 Гц, 1H, пирролидин-H²), 3.52 (т, J=8.5 Гц, 2H, пирролидин-H¹), 2.23 (с, 3H, CH₃), 2.15 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₇H₂₂BrN₃O₂S₂, M+H: 563.0325, масса найденная (M+H): 563.0327.

4.27.3. Синтез 1-фенил-4'-(4-этилфенил)-1'-метил-5'''-бром- 2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (184)

В результате реакции 0.1 г (0.7 ммоль) роданина, 0.145 г (1.4 ммоль) 5-бромизатина и 0.057 г (1.4 ммоль) саркозина получили 0.11 г (64%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе CHCl₃:ЭА = 40:1. T_{пл}=246°C.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 11.13 (с, 1Н, NH-индолинон), 7.60 (дд, $J_1=8.2$ Гц, $J_2=1.9$ Гц, 1Н, Ar), 7.42-7.48 (м, 7Н, Ar), 7.24 (д, $J=7.9$ Гц, 2Н, Ar), 7.06 (д, $J=1.9$ Гц, 1Н, Ar), 6.91 (д, $J=8.3$ Гц, 1Н, Ar), 4.51 (т, $J=8.8$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 3.87 (т, $J=9.4$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 3.54 (т, $J=8.4$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 2.61 (кв, $J=7.5$ Гц, 2Н, CH_2), 2.12 (с, 3Н, NCH_3), 1.18 (т, $J=7.6$ Гц, 3Н, CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{BrN}_3\text{O}_2\text{S}_2$, $\text{M}+\text{H}$: 577.0549, масса найденная ($\text{M}+\text{H}$): 577.0545.

4.27.4. Синтез 1-фенил-4'-(4-этилфенил)-1'-метил-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диола (185)

В результате реакции 0.11 г (0.8 ммоль) роданина, 0.1 г (1.6 ммоль) изатина и 0.061 г (1.6 ммоль) саркозина получили 0.16 г (92%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе $\text{CHCl}_3:\text{ЭА} = 40:1$. $T_{\text{пл}}=259^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.96 (с, 1Н, NH-индолинон), 7.36-7.44 (м, 7Н, Ar), 7.23 (д, $J=7.9$ Гц, 2Н, Ar), 6.99-7.04 (м, 2Н, Ar), 6.91 (д, $J=7.7$ Гц, 2Н, Ar), 4.52 (т, $J=8.7$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 3.91 (т, $J=9.4$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 3.51 (т, $J=8.3$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 2.60 (кв, $J=7.6$ Гц, 2Н, CH_2), 2.10 (с, 3Н, NCH_3), 1.17 (т, $J=7.6$ Гц, 3Н, CH_3)
Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$, $\text{M}+\text{H}$: 499.1431, масса найденная ($\text{M}+\text{H}$): 499.1433.

4.27.5. Синтез 1-фенил-4'-(3,4-диметоксифенил)-1'-метил-5'''-бром-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диола (186)

В результате реакции 0.19 г (1.1 ммоль) роданина, 0.37 г (2.2 ммоль) 5-бромизатина и 0.146 г (2.2 ммоль) саркозина получили 0.18 г (54%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе $\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 40:1$. $T_{\text{пл}}=229^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 11.15 (с, 1Н, NH-индолинон), 7.60 (д, $J=8.3$ Гц, 1Н, Ar), 7.48 (с, 5Н, Ar), 7.25 (с, 1Н, Ar), 7.06 (с, 1Н, Ar), 7.03 (д, $J=8.3$ Гц, 1Н, Ar), 6.90-6.96 (м, 2Н, Ar), 4.47 (т, $J=8.7$ Гц, 1Н, пирролидин- H^3), 3.85 (т, $J=9.4$ Гц, 1Н, пирролидин- H^2), 3.78 (с, 3Н, OCH_3), 3.75 (с, 3Н, OCH_3), 3.56 (т, $J=8.4$ Гц, 1Н, пирролидин- H^1), 2.17 (с, 3Н, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{BrN}_3\text{O}_4\text{S}_2$, $\text{M}+\text{H}$: 609.0427, масса найденная ($\text{M}+\text{H}$): 609.0429.

4.27.6. Синтез 1-фенил-4'-(3,4-диметоксифенил)-1'-метил-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диола (187)

В результате реакции 0.2 г (1.2 ммоль) роданина, 0.21 г (2.4 ммоль) изатина и 0.125 г (2.4 ммоль) саркозина получили 0.18 г (54%) соединения в виде желтого кристаллического осадка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе CHCl_3 :ЭА = 40:1. $T_{\text{пл}}=247^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.95 (с, 1H, NH-индолинон), 7.44-7.45 (м, 5H, Ar), 7.35-7.41 (м, 1H, Ar), 7.25 (д, $J=1.83$ Гц, 1H, Ar), 7.01-7.03 (м, 3H, Ar), 6.91-6.96 (м, 2H, Ar), 4.48 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.88 (т, $J=9.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.79 (с, 3H, OCH_3), 3.76 (с, 3H, OCH_3), 3.54 (т, $J=8.6$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.14 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$, $M+H$: 531.1345, масса найденная ($M+H$): 531.1347.

4.27.7. Синтез 1-фенил-4'-(2-метилфенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (188)

В результате реакции 0.12 г (0.8 ммоль) роданина, 0.22 г (1.6 ммоль) 5-хлоризатина и 0.11 г (1.6 ммоль) саркозина получили 0.12 г (60%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе CHCl_3 :ЭА = 20:1. $T_{\text{пл}}=210^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 11.12 (с, 1H, NH-индолинон), 7.74 (д, $J=7.8$ Гц, 2H, Ar), 7.28-7.33 (м, 3H, Ar), 7.20-7.25 (м, 5H, Ar), 6.95-6.97 (м, 2H, Ar), 4.82 (т, $J=8.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.00 (т, $J=8.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.54 (т, $J=8.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.23 (с, 3H, CH_3), 2.15 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}_2$, $M+H$: 519.0823, масса найденная ($M+H$): 519.0827.

4.27.8. Синтез 1-фенил-4'-(2-метилфенил)-1'-метил-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (189)

В результате реакции 0.11 г (0.7 ммоль) роданина, 0.11 г (1.4 ммоль) изатина и 0.064 г (1.4 ммоль) саркозина получили 0.12 г (63%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе CHCl_3 :MeOH =40:1. $T_{\text{пл}}=253^\circ\text{C}$

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.93 (с, 1H, NH-индолинон), 7.56 (д, $J=7.70$ Гц, 1H, Ar), 7.47 (с, 3H, Ar), 7.38-7.42 (м, 1H, Ar), 7.29-7.32 (м, 1H, Ar), 7.21-7.25 (м, 3H, Ar), 7.04-7.05 (м, 2H, Ar), 6.92 (д, $J=7.58$ Гц, 2H, Ar), 4.83 (т, $J=8.5$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.03 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.52 (т, $J=8.19$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.23 (с, 3H, CH_3), 2.12 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для $C_{27}H_{23}N_3O_2S_2$, M+H: 485.1187, масса найденная (M+H): 485.1181.

4.28. Получение 3-арилзамещенных роданинов

К раствору CS_2 (1.2 экв.) в 30 мл концентрированного раствора аммиака в ледяной бане по каплям добавляют соответствующий анилин (1 экв.) в течение 15 минут и перемешивают в течение часа. Выпавший осадок оставляют на ночь, отфильтровывают, промывают два раза холодным эфиром и высушивают полученную аммониевую соль дитиокарбамата на воздухе. Далее к раствору хлорацетата натрия (1 экв.) был добавлен твёрдый карбонат калия до основной среды при охлаждении при перемешивании. Затем к полученному раствору добавляют 25 мл концентрированной соляной кислоты в 10 мл воды и нагревают при температуре 85-90 °С. После экстракции горячей водой дважды для удаления гидрохлорида анилина, полученный осадок отфильтровывают.

4.28.1. Синтез 3-(4-этоксифенил)-2-тиоксотиазолидин-4-она (190) [147]

Из 10.65 г (0.075 моль) 4-этоксанилина, 6.9 г (0.093 моль) сероуглерода в 30 мл аммиака получено 8.8 г (46%) светло-желтого осадка.

Спектр 1H ЯМР ($DMSO-d_6$, 400 МГц, δ , м.д): 7.38 (д, J=8.8 Гц, 1H), 7.15 (д, J=8.8 Гц, 2H), 4.36 (с, 2H).

4.28.2. Синтез 3-(4-хлорфенил)-2-тиоксотиазолидин-4-она (191) [147]

Из 2.8 г (0.02 моль) 4-хлоранилина, 1.9 г (0.024 моль) сероуглерода в 5 мл аммиака получено 2.68 (54%) светло-желтого осадка.

Спектр 1H ЯМР ($DMSO-d_6$, 400 МГц, δ , м.д): 7.60 (д, J=8.5 Гц, 2H), 7.31 (д, J=8.5 Гц, 2H), 4.37 (с, 2H).

4.28.2. Синтез 3-(4-бромфенил)-2-тиоксотиазолидин-4-она (192) [147]

Из 3.1 г (0.02 моль) 4-броманилина, 1.9 г (0.024 моль) сероуглерода в 5 мл аммиака получено 3.7 (62%) светло-желтого осадка.

Спектр 1H ЯМР ($DMSO-d_6$, 400 МГц, δ , м.д): 7.56 (д, J=8.4 Гц, 2H), 7.47 (д, J=8.4 Гц, 2H), 4.36 (с, 2H).

4.29. Получение диспиропроизводных на основе 3-арилзамещенных 5-арилроданинов

4.29.1. Синтез (Z)-3-(4-бромфенил)-5-(4-метоксибензилиден)-2-тиоксотиазолидин-4-она (193) [147]

Из 0.5 г (3 ммоль) 4-бромфенилроданина, 0.24 г (3 ммоль) 4-метоксибензальдегида и 0.14 г (3 ммоль) ацетата калия было получено 0.55 г (80%.) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.81 (с, 1H, CH), 7.77 (д, $J = 8.6$ Гц, 2H, Ar), 7.66 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar), 7.40 (д, $J = 8.6$ Гц, 2H, Ar), 7.14 (д, $J = 8.8$ Гц, 2H, Ar), 3.85 (с, 3H, OCH_3).

14.29.2. Синтез (Z)-3-(4-бромфенил)-5-(4-этилбензилиден)-2-тиооксотиазалидин-4-она (194) [147]

Из 0.57 г (3 ммоль) 4-бромфенилроданина, 0.32 г (3 ммоль) 4-этилбензальдегида и 0.21 г (3 ммоль) ацетата калия было получено 0.57 г (83%.) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.82 (с, 1H, CH), 7.77 (д, $J = 8.6$ Гц, 2H, Ar), 7.61 (д, $J=8.1$ Гц, 4H, Ar), 7.42 (д, $J = 8.6$ Гц, 2H, Ar), 2.67 (м, 2H, CH_2), 1.20 (т, $J = 7.6$ Гц, 3H, CH_3).

14.29.3. Синтез (Z)-3-(4-бромфенил)-5-(2-метилбензилиден)-2-тиооксотиазалидин-4-она (195) [147]

Из 0.5 г (3 ммоль) 4-бромфенилроданина, 0.32 г (3 ммоль) 2-метилбензальдегида и 0.21 г (3 ммоль) ацетата калия было получено 0.54 г (82%.) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.92 (с, 1H, CH), 7.77 (д, $J = 8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.46-7.49 (м, 1H, Ar), 7.38-7.42 (м, 5H, Ar), 2.43 (с, 3H, CH_3).

14.29.4. Синтез (Z)-3-(4-этоксифенил)-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиооксотиазалидин-4-она (196) [147]

Из 0.6 г (4 ммоль) 4-этилфенилроданина, 0.33 г (4 ммоль) 4-хлорбензальдегида и 0.93 г (4 ммоль) ацетата калия было получено 0.71 г (88%.) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.84 (с, 1H, CH), 7.72 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.65 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.31 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.07 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 4.09 (кв, $J=7.0$ Гц, 2H, CH_2), 1.35 (т, $J=7.0$ Гц, 3H, CH_3).

14.29.5. Синтез (Z)-3-(4-этоксифенил)-5-(4-метоксибензилиден)-2-тиооксотиазалидин-4-она (197) [147]

Из 0.6 г (4 ммоль) 4-этилфенилроданина, 0.32 мл (4 ммоль) 4-метоксибензальдегида и 0.93 г (4 ммоль) ацетата калия было получено 0.40 г (57%.) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.80 (с, 1H, CH), 7.67 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.29 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.15 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.06 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 4.09 (кв, $J=7.0$ Гц, 2H, CH_2), 3.86 (с, 3H, OCH_3), 1.36 (т, $J=7.0$ Гц, 3H, CH_3).

14.29.6. Синтез (Z)-3-(4-хлорфенил)-5-(4-этилбензилиден)-2-тиотиазолидин-4-она (198) [147]

Из 0.38 г (2 ммоль) 4-хлорфенилроданина, 0.22 мл (2 ммоль) 4-этилбензальдегида и 0.26 г (2 ммоль) ацетата калия было получено 0.44 г (77%.) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.81 (с, 1H, CH), 7.62 (д, $J=8.2$ Гц, 2H, Ar), 7.43 (д, $J=8.2$ Гц, 2H, Ar), 7.31 (д, $J=8.9$ Гц, 2H, Ar), 7.06 (д, $J=8.9$ Гц, 2H, Ar), 4.09 (кв, $J=7.0$ Гц, 2H, CH_2), 2.68 (кв, $J=7.7$ Гц, 2H, CH_2), 1.36 (т, $J=7.0$ Гц, 3H, CH_3), 1.21 (т, $J=7.7$ Гц, 3H, CH_3).

14.29.7. Синтез (Z)-3-(4-хлорфенил)-5-(4-метоксибензилиден)-2-тиотиазолидин-4-она (199) [147]

Из 0.37 г (2 ммоль) 4-хлорфенилроданина, 0.18 мл (2 ммоль) 4-метоксибензальдегида и 0.25 г (2 ммоль) ацетата калия было получено 0.35 г (63%.) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.82 (с, 1H, CH), 7.62-7.68 (м, 4H, Ar), 7.47 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.15 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 3.85 (с, 3H, OCH_3).

14.29.8. Синтез (Z)-3-(4-хлорфенил)-5-(4-фторбензилиден)-2-тиотиазолидин-4-она (200) [147]

Из 0.27 г (1.5 ммоль) 4-хлорфенилроданина, 0.17 мл (1.5 ммоль) 4-фторбензальдегида и 0.18 г (1.5 ммоль) ацетата калия было получено 0.24 г (61%.) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.87 (с, 1H, CH), 7.76-7.79 (м, 2H, Ar), 7.64 (д, $J=8.7$ Гц, 2H, Ar), 7.41-7.49 (м, 4H, Ar).

14.29.9. Синтез (Z)-3-(4-хлорфенил)-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиотиазолидин-4-она (201) [147]

Из 0.26 г (1.4 ммоль) 4-хлорфенилроданина, 0.23 г (1.4 ммоль) 4-хлорбензальдегида и 0.18 г (1.4 ммоль) ацетата калия было получено 0.30 г (76%.) желтого кристаллического продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 7.87 (с, 1H, CH), 7.73 (д, $J=8.68$ Гц, 2H, Ar), 7.65 (д, $J=8.80$ Гц, 4H, Ar), 7.49 (д, $J=8.68$ Гц, 2H, Ar).

4.30. Получение диспиропроизводных на основе 3-арилзамещенных 5-арилроданинов

4.30.1. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-метоксифенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (202)

В результате реакции 0.12 г (0.7 ммоль) роданина, 0.11 г (1.4 ммоль) изатина и 0.064 г (1.4 ммоль) саркозина получили 0.15 г (88%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=40:1$. $T_{\text{пл}}=216^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 400 МГц, δ , м.д): 10.92 (ус, 1H, NH-индолинон), 7.44 (д, $J=8.4$ Гц, 2H, Ar), 7.38 (м, 1H, Ar), 7.03 (м, 2H, Ar), 6.93-6.99 (м, 6H, Ar), 6.92 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar), 4.50 (т, $J=8.8$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.05 (кв, $J=6.9$ Гц, 2H, CH_2), 3.88 (т, $J=9.2$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.77 (с, 3H, CH_3), 3.52 (т, $J=8.7$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.11 (с, 3H, NCH_3), 1.33 (т, $J=6.9$ Гц, 3H, CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$, $\text{M}+\text{H}$: 545.1397, масса найденная ($\text{M}+\text{H}$): 545.1401.

4.30.2. Синтез 1-(4-этоксифенил)-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-5'''-хлор-2-тиоксодиспиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (203)

В результате реакции 0.2 г (1 ммоль) роданина, 0.18 г (1 ммоль) 5-бромизатина и 0.09 г (1 ммоль) саркозина получили 0.22 г (74%) соединения в виде белого порошка. $T_{\text{пл}}=267^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 400 МГц, δ , м.д): 11.14 (ус, 1H, NH-индолинон), 7.58 (д, $J=8.2$ Гц, 4H, Ar), 7.43-7.51 (м, 3H, Ar), 6.89-7.01 (м, 4H, Ar), 4.56 (т, $J=8.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 4.37 (т, $J=8.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 4.05 (кв, $J=6.9$ Гц, 2H, OCH_2), 3.58 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.13 (с, 3H, NCH_3), 1.33 (т, $J=7.0$ Гц, 3H, CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$, $\text{M}+\text{H}$: 583.0631, масса найденная ($\text{M}+\text{H}$): 583.0633.

4.30.2. Синтез 1-(4-бромфенил)-4'-(4-метоксифенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (204)

В результате реакции 0.2 г (1 ммоль) роданина, 0.15 г (1 ммоль) изатина и 0.09 г (1 ммоль) саркозина получили 0.15 г (52%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=40:1$. $T_{\text{пл}}=246^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 400 МГц, δ , м.д): 10.94 (ус, 1H, NH-индолинон), 7.67 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar), 7.61 (д, $J=8.1$ Гц, 2H, Ar), 7.45 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar), 7.35-7.39 (м, 1H, Ar), 6.90-

7.02 (м, 5H, Ar), 4.50 (т, J=9.3 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 3.87 (т, J=9.4 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.76 (с, 3H, CH₃), 3.52 (т, J=8.3 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.09 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₇H₂₂BrN₃O₃S₂, M+H: 579.0347, масса найденная (M+H): 579.0349

4.30.3. Синтез 1-(4-бромфенил)-4'-(4-метоксифенил)-1'-метил-5'''-бром -2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (205)

В результате реакции 0.2 г (1 ммоль) роданина, 0.27 г (1 ммоль) 5-бромизатина и 0.09 г (1 ммоль) саркозина получили 0.1 г (30%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе CHCl₃:ЭА =40:1. T_{пл}=239°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д): 11.12 (ус, 1H, NH-индолинон), 7.70 (д, J=8.8 Гц, 2H, Ar), 7.58(дд, J₁=6.3 Гц, J₂=2.1 Гц, 1H, Ar), 7.46 (д, J=8.8 Гц, 2H, Ar), 7.01 (с, 2H, Ar), 6.95 (д, J=8.8 Гц, 2H, Ar), 6.90 (д, J=8.3 Гц, 2H, Ar), 4.48 (т, J=9.3 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 3.82 (т, J=9.3 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.64 (с, 3H, CH₃), 3.54 (т, J=8.5 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.11 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₇H₂₁Br₂N₃O₃S₂, M+H: 656.9397, масса найденная (M+H): 656.9393.

4.30.4. Синтез 1-(4-бромфенил)-4'-(2-метилфенил)-1'-метил-5'''-бром -2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (206)

В результате реакции 0.15 г (0.8 ммоль) роданина, 0.18 г (1.6 ммоль) 5-бромизатина и 0.08 г (1.6 ммоль) саркозина получили 0.15 г (58%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе CHCl₃:ЭА =40:1. T_{пл}=207°C.

Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц, δ, м.д): 11.12 (ус, 1H, NH-индолинон), 7.72 (д, J=9.1 Гц, 3H, Ar), 7.60 (дд, J₁=6.2 Гц, J₂=2.0 Гц, 1H, Ar), 7.30 (д, J=7.7 Гц, 1H, Ar), 7.19-7.25 (м, 3H, Ar), 7.03 (с, 1H, Ar), 6.91 (д, J=8.3 Гц, 2H, Ar), 4.38(т, J=8.0 Гц, 1H, пирролидин-Н³), 3.97 (т, J=9.3 Гц, 1H, пирролидин-Н²), 3.54 (т, J=8.4 Гц, 1H, пирролидин-Н¹), 2.24 (с, 3H, CH₃).2.14 (с, 3H, NCH₃).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/Z): масса рассчитанная для C₂₇H₂₁Br₂N₃O₂S₂, M+H: 640.9405, масса найденная (M+H): 640.9407.

4.30.5. Синтез 1-(4-бромфенил)-4'-(2-метилфенил)-1'-метил- -2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (207)

В результате реакции 0.15 г (0.8 ммоль) роданина, 0.12 г (1.6 ммоль) изатина и 0.08 г (1.6 ммоль) саркозина получили 0.14 г (61%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе CHCl_3 :ЭА =40:1. $T_{\text{пл}}=254^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.94 (ус, 1H, NH-индолинон), 7.76 (д, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar), 7.68 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar), 7.60 (д, $J=8.8$ Гц, 2H, Ar), 7.30 (д, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar), 7.19-7.24 (м, 4H, Ar), 6.99-7.05 (м, 1H, Ar), 6.92 (д, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar), 4.38 (т, $J=8.0$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 4.01 (т, $J=9.3$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.52 (т, $J=8.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.23 (с, 3H, CH_3), 2.13 (с, 3H, NCH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{BrN}_3\text{O}_2\text{S}_2$, $M+H$: 563.0321, масса найденная ($M+H$): 563.0327.

4.30.6. Синтез 1-(4-бромфенил)-4'-(4-этилфенил)-1'-метил-2-тиоксоди-спиро[тиоимидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диона (208)

В результате реакции 0.15 г (0.8 ммоль) роданина, 0.12 г (1.6 ммоль) изатина и 0.08 г (1.6 ммоль) саркозина получили 0.16 г (69%) соединения в виде белого порошка. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе CHCl_3 :ЭА =40:1. $T_{\text{пл}}=254^\circ\text{C}$.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц, δ , м.д): 10.93 (ус, 1H, NH-индолинон), 7.67 (д, $J=8.8$ Гц, 1H, Ar), 7.43 (д, $J=8.0$ Гц, 2H, Ar), 7.37 (д, $J=8.0$ Гц, 1H, Ar), 7.23 (д, $J=7.9$ Гц, 2H, Ar), 6.97-7.02 (м, 4H, Ar), 6.92 (д, $J=7.7$ Гц, 1H, Ar), 6.92 (д, $J=7.8$ Гц, 1H, Ar), 4.51 (т, $J=9.1$ Гц, 1H, пирролидин- H^3), 3.89 (т, $J=9.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^2), 3.52 (т, $J=8.4$ Гц, 1H, пирролидин- H^1), 2.60 (м, 2H, CH_2), 2.10 (с, 3H, NCH_3), 1.18 (с, 3H, CH_3).

Масс-спектр высокого разрешения (ESI, m/z): масса рассчитанная для $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{BrN}_3\text{O}_2\text{S}_2$, $M+H$: 577.0541, масса найденная ($M+H$): 577.0545.

4.31. Биологическое тестирование

Клеточные культуры. Клеточные линии рака молочной железы MCF7 и аденокарциномы легких человека A549 были предоставлены проф. С.Дмитриевым, иммобилизованные клеточные линии нормальных фибробластов VA13 были предоставлены проф. М.Рубцовой, клеточные линии эмбрионов почек человека HEK293T были предоставлены проф. Е.Княжанской. Клеточные линии MCF7, VA13, A549 и HEK293T культивировали в среде DMEM/F-12 (Thermo Fisher Scientific, USA), содержащей 10% бычьей сыворотки (Thermo Fisher Scientific, USA), 50u/ml пенициллина и 0.05 mg/ml стрептомицина в инкубаторе при 37°C (Thermo Fisher Scientific, USA) и 5% CO_2 . Среда F-12 (Панеко LLC, Россия), которая содержала 10% бычьей сыворотки (Thermo Fisher Scientific, USA), 50u/ml

пенициллина, 0.05 mg/ml стрептомицина (Thermo Fisher Scientific, USA) может быть использована в качестве замены среды DMEM/F-12 в некоторых исследованиях. Все клеточные культуры были предварительно исследованы на наличие микоплазмы.

MTT-тест. Цитотоксичность тестируемых веществ оценивали с помощью стандартного MTT-теста с использованием 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил тетразолий бромида [108]. Рассевали 4000 клеток на лунку в 130 мкл среды DMEM в 96-луночном планшете и выдерживали в инкубаторе при температуре 37°C с 5% CO₂ в течение первых 24 ч без обработки. Затем в плашки к клеткам добавляли по 15 мкл растворов исследуемых соединений в среде (восемь разведений от 50 нМ до 100 мкМ) и инкубировали клетки 72 ч, используя в качестве контроля Nutlin-3a (восемь разведений от 3 нМ до 6 мкмоль). После этого добавляли раствор MTT с концентрацией 0,5 мг/мл в среде, инкубировали клетки 2 ч с последующим удалением среды и добавлением 100 мкл ДМСО и измеряли пропускание при 565 нм с использованием планшетного ридера. IC₅₀ рассчитывали с использованием программного обеспечения “GraphPad Prism 6” (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA).

ONPG-тест. Для тестирования были использованы клеточные линии аденокарциномы легкого человека A549 с рекомбинантной лентивиальной вставкой LC5 (линия A549/LC5 была предоставлена проф. П.М. Чумаковым). Для тестирования использовались клетки легочной аденокарциномы человека A549 с рекомбинантной лентивирусной вставкой LC5 (линия A549/LC5 была любезно предоставлена профессором П.М. Чумаковым). Клетки способны к экспрессии p53 дикого типа, а во вставке содержат следующую репортерную кассету: ген β-галактозидазы под контролем промотора, содержащего, помимо минимального цитомегаловирусного промотора, следующие последовательности: p-53 связывающий элемент из кластера рибосомных генов, консенсусный p53-связывающий элемент и шесть p53-связывающих элементов из мышинного гена p21WAF [120]. Клетки культивировались при 37°C и 5% CO₂ в среде DMEM/F-12 с добавлением антибиотика, сыворотки и L-глутамин. Тест также проводили в планшетном формате и основывались на протоколе [149]. Были внесены следующие изменения: клетки дважды промывались 100 мкл 1X PBS на лунку. Добавляли 15 мкл лизирующего буфера (0.25 М Трис-HCl, pH 8.0) в каждую лунку. Замораживали плашку при -80°C и размораживали при +37°C дважды. Добавляли 75 мкл буфера для проведения реакции (0.6 М Na₂HPO₄-7H₂O, 0.4 М NaH₂PO₄-H₂O, 0.1 М KCl, 0.01 М MgSO₄-7H₂O, pH 7 + β-меркаптоэтанол (270 мкл к 100 мл готового буфера, добавляли непосредственно перед использованием) и 25 мкл ONPG (о-нитрофенил-β-D-галактозид, концентрация 4

мг/мл). Плашку инкубировали 30 минут при 37°C. Должна наблюдаться желтая окраска. В каждую лунку добавляли 187 мкл «стоп-буфера» (1М Na₂CO₃) для остановки реакции. Конечный объем в каждой лунке – 288 мкл. Оптическую плотность измеряли при двух длинах волн: 450 нм как расчетной и 670 нм как референсной. Измерения проводились на приборе VICTOR™ X5 Multilabel Plate Reader.

Количество β-галактозидазы рассчитывалось следующим образом:

$$\text{The amount of hydrolysed ONPG} = \frac{(D_{450} - D_{670}) \times (1,92 \cdot 10^5) \text{ nl}}{4500 \frac{\text{nl}}{\text{nmol} \cdot \text{cm}} \times 1 \text{ cm}},$$

где D – оптическая плотность.

$$\text{Activity per well} = \frac{\text{The amount of hydrolysed ONPG (nM)}}{t \times \text{percentage of surviving cells (from MTT)}}$$

Затем активность бета-галактозидазы в лунке нормировалась на аналогичное значение клеток с добавлением ДМСО вместо тестируемых соединений. Соединения, при которых активность возрастала в два и более раза, считали лидерными соединениями (порог был выбран в соответствии данным из литературы для подобного тестирования [120]).

Все соединения тестировались хотя бы дважды с межэкспериментальным повтором. Для лидерных соединений тесты проводились 3 и более раз.

Анализ результатов производился в Microsoft Excel. Графическое построение зависимости проводилось в RStudio.

Выводы

1. Разработан универсальный синтетический подход к новому классу N-арилзамещенных и N-незамещенных диспироиндолинонов на основе 2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов. Предложен препаративно удобный метод получения данных соединений реакцией 5-арилметилена-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, изатинов и N-замещенных глицинов.
2. Впервые показана возможность получения диастереомерно чистых диспиропроизводных тиогидантоинов с хиральными 1-фенилэтильными заместителями при атомах азота 2-тиогидантоинового и изатинового фрагментов.
3. Предложен удобный метод получения N-арилзамещенных и N-незамещенных диспиропроизводных 5-арилиденгидантоинов на основе соответствующих 5-арилиден-2-тигидантоинов.
4. Разработаны методы получения диспиропроизводных 1,3-оксазолонов и роданинов, исходя из арилиденовых производных соответствующих гетероциклов, изатинов и саркозина.
5. При исследовании цитотоксичности полученных серий спиро- и диспироиндолинонов показан селективный цитотоксический эффект производных тиогидантоинов по отношению к клеткам колоректального рака HCT116, производных гидантоинов - по отношению к клеткам рака легкого A549, производных 1,3-оксазолонов - по отношению к клеткам рака простаты LNCaP, производных роданинов - по отношению к клеткам рака почек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vogelstein, B., Lane, D. & Levine, A. J. Surfing the p53 network. *Nature*, **2000**, 408, 307–310.
2. Levine, A.J. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*, **1997**, 88, 3, 323–331.
3. Wang, Z., Sun, Y. Targeting p53 for novel anticancer therapy. *Translational Oncology*, **2010**, 3,1, 1-12.
4. Riley, T., Sontag, E., Chen, P., Levine, A. Transcriptional control of human p53-regulated genes. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2008**, 9, 5, 402-412.
5. Sun, Y., p53 and its downstream proteins as molecular targets of cancer. *Mol. Carcinog.*, **2006**, 45, 6, 409-415.
6. Campisi, J., d'Adda di Fagagna, F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2007**, 8, 9, 729–740.
7. Teodoro, J.G., Evans, S.K., Green, M.R. Inhibition of tumor angiogenesis by p53: a new role for the guardian of the genome. *J. Mol. Med.*, **2007**, 85, 11, 1175–1186.
8. Levine, B., Abrams, J. p53: the Janus of autophagy? *Nat. Cell Biol.*, **2008**, 10, 6, 637–639.
9. Jeffrey, P.D., Gorina, S., Pavletich, N.P. *Science*, **1995**, 267, 1498-1502.
10. Sakr, W.A., Haas, G.P., Cassin, B.F., Pontes, J.E., Crissman, J.D. The frequency of carcinoma and intraepithelial neoplasia of the prostate in young male patients. *J. Urol.*, **1993**, 150, 379-385.
11. Чумаков, П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме. *Успехи биологической химии*, **2007**, 47, 3–52.
12. Hanahan, D., Weinberg, R.A. The hallmarks of cancer. *Cell*, **2000**, 100, 57-70.
13. Lane, D.P. p53, guardian of the genome. *Nature*, **1992**, 358, 15–16.
14. Raycroft, L., Wu, H.Y., Lozano, G. Transcriptional activation by wild-type but not transforming mutants of the p53 anti-oncogene. *Science*, **1990**, 249, 1049–1051.
15. Bochar, D.A., Wang, L., Beniya, H., Kinev, A., Xue, Y. BRCA1 is associated with a human SWI/SNF-related complex: linking chromatin remodeling to breast cancer. *Cell*, **2000**, 102, 257–265.
16. Nakamura, Y. Isolation of p53-target genes and their functional analysis. *Cancer Sci.*, **2004**, 95, 7–11.
17. Erster, S., Mihara, M., Kim, R.H., Petrenko, O. In vivo mitochondrial p53 translocation triggers a rapid first wave of cell death in response to DNA damage that can precede p53 target gene activation. *Mol. Cell Biol.*, **2004**, 24, 6728–6741.
18. Lane, D. P., Verma, C. Mdm2 in evolution. *Genes Cancer*, **2012**, 3, 320–324.
19. Hock, A., Vousden, K. H. Regulation of the p53 pathway by ubiquitin and related proteins. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **2010**, 42, 1618–1621.
20. Vassilev, L. T., Binh, T. V., Bradford, G., Carvajal, D., Podlaski, F., Filipovic, Z., Kong, N., Kammlott, U., Lukacs, C., Klein, C., Fotouhi, N., Liu, E. A. In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2. *Science*, **2004**, 303, 844–848.

21. Wang, S., Zhao, Y., Bernard, D., Aguilar, A., Kumar, S. Protein-Protein Interactions, **2012**, 8, (ed. Wendt, M. D.), 57–79 (Springer).
22. Khoury, K., Domling, A. P53 Mdm2 Inhibitors. *Current Pharmaceutical Design*, **2012**, 18, 4668-4678.
23. Fry, D.C., Emerson, S.D., Palme, S., Vu, B. T., Liu, C.-M., Podlaski, F. NMR structure of a complex between MDM2 and a small molecule inhibitor. *J. Biomol. NMR*, **2004**, 30, 2, 163-73.
24. Davis, T.A., Johnston, J.N. Catalytic, enantioselective synthesis of stilbene cis-diamines: A concise preparation of (-)-Nutlin-3, a potent p53/MDM2 inhibitor. *Chemical Science*, **2011**, 2, 1076-1079.
25. Vu, B. Wovkulich, P., Pizzolato, G., Lovey, A., Ding, Q., Jiang, N., Liu, J.-J., Zhao, C., Glenn, K., Wen, Y., Tovar, C., Packman, K., Vassilev, L., Graves, B. Discovery of RG7112: a small-molecule MDM2 inhibitor in clinical development. *ACS Med. Chem. Lett.*, **2013**, 4, 466–469.
26. Zhao, Y., Yu, S., Sun, W., Liu L., Lu, J., McEachern, D., Shargary, S., Bernard, D., Li, X., Zhao, T., Zou, P., Sun, D., Wang S. A potent small-molecule inhibitor of the MDM2–p53 interaction (MI-888) achieved complete and durable tumor regression in mice. *J. Med. Chem.*, **2013**, 56, 5553–5561.
27. Uoto, K., Kawato, H., Sugimoto, Y., Naito, H., Miyazaki, M., Taniguchi, T., & Aonuma, M. Imidazothiazole derivative having 4,7-diazaspiro [2.5] octane ring structure. **2009**, WO Patent 2009151069A1.
28. Zache, N., Lambert, J. M., Wiman, K. G., Bykov, V. J. PRIMA-1MET inhibits growth of mouse tumors carrying mutant p53. *Cell Oncol.*, **2008**, 30, 411–418.
29. Grasberger, B. L., Lu, T., Schubert, C., Parks, D. J., Carver, T. E., Koblisch, H. K., Cummings, M. D., LaFrance, L. V., Milkiewicz, K. L., Calvo, R. R., Maguire, D., Lattanze, J., Franks, C. F., Zhao, S., Ramachandren, K., Bylebyl, G. R., Zhang, M., Manthey, C. L., Petrella, E. C., Pantoliano, M. W., Deckman, I. C., Spurlino, J. C., Maroney, A. C., Tomczuk, B. E., Molloy, C. J., Bone, R. F. Discovery and cocrystal structure of benzodiazepinedione HDM2 antagonists that activate p53 in cells. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 909–912.
30. Allen, J. G. Bourbeau, M. P., Wohlhieter, G. E., Bartberger, M. D., Michelsen, K. Hungate, R., Gadwood, R. C., Gaston, R. D., Evans, B., Mann[¶], L. W., Matison, M. E., Schneider, S., Huang, X., Yu, D., Andrews, P. S., Reichelt, A., Long, A. M., Yakowec, P., Yang, E.Y., Lee, T. A., Oliner, J. D. Discovery and optimization of chromenotriazolopyrimidines as potent inhibitors of the mouse double minute 2–tumor protein 53 protein–protein interaction. *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 7044–7053.
31. Orner, B. P., Ernst, J. T., Hamilton, A. D. Toward proteomimetics: terphenyl derivatives as structural and functional mimics of extended regions of an α -helix. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 5382–5383.
32. Go, M. L., Wu, X., Liu, X. L. Chalcones: an update on cytotoxic and chemoprotective properties. *Curr. Med. Chem.*, **2005**, 12, 483–499.
33. Ding, K., Lu Y., Nikolovska-Coleska Z., et al. Qiu, S., Ding, Y., Gao, W., Stuckey, J., Krajewski, K., Roller, P.P., Tomita, Y., Parrish, D. A., Deschamps, J. R., Wang, S. Structure-based design of potent non-peptide MDM2 inhibitors. *JACS*, **2005**, 127, 29, 10130-10131.

34. Ding, K., Wang, G., Deschamps, J.R., Parrish, D.A., Wang, S. Synthesis of spirooxindoles via asymmetric 1,3-dipolar cycloaddition. *Tetrahedron Letters*, **2005**, 35, 5949-5951.
35. Shangary, S., Ding, K., Qiu, S., Nikolovska-Coleska, Z., Bauer, J. A., Liu, M., Wang, G., Lu, Y., McEachern, D., Bernard, D., Bradford, C. R., Carey, T. E., Wang S. Reactivation of p53 by a specific MDM2 antagonist (MI-43) leads to p21-mediated cell cycle arrest and selective cell death in colon cancer. *Mol. Cancer Ther.*, **2008**, 7, 6, 1533-1542.
36. Shangary, S., Qin, D., McEachern, D., Liu, M., Miller, R. S., Qiu, S., Nikolovska-Coleska, Z., Ding, K., Wang, G., Chen, J., Bernard, D., Zhang, J. Lu, Y., Gu, Q., Shah, R. B., Pienta, K. J., Ling, X., Kang, S., Guo, M., Sun, Y., Yang, D., Wang, S. Temporal activation of p53 by a specific MDM2 inhibitor is selectively toxic to tumors and leads to complete tumor growth inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2008**, 105, 10, 3933-3938.
37. Parks, D.J., Lafrance, L.V., Calvo, R.R., Milkiewicz, K. L., Gupta, V., Lattanze V. 1,4-Benzodiazepine-2,5- diones as small molecule antagonists of the HDM2-p53 interaction discovery and SAR. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 3, 765-770.
38. Marugan, J. J., Leonard, K., Raboisson, P., Gushue, J. M., Calvo, R., Koblisch, H. K. Enantiomerically pure 1,4-benzodiazepine-2,5-diones as Hdm2 antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 16, 12, 3115-3120.
39. Popowicz, G. M., Czarna, A., Wolf, S., Wang, K., Wang, W., Dömling, A., Holak, T. A. Structures of low molecular weight inhibitors bound to MDMX and MDM2 reveal new approaches for p53-MDMX/MDM2 antagonist drug discovery. *Cell Cycle*, **2010**, 9, 6.
40. Huang, Y., Wolf, S., Bista, M., Meireles, L., Camacho, C., Holak, T. A., Dömling, A. 1,4-Thienodiazepine-2,5-diones via MCR (I): synthesis, virtual space and p53-Mdm2 activity. *Chem. Biol. Drug. Des.*, **2010**, 76, 2, 116-129.
41. Huang, Y., Wolf, S., Koes, D., Popowicz, G. M., Camacho, C. J., Holak, T. A., Dömling, A. Exhaustive Fluorine Scanning toward Potent p53-Mdm2 Antagonists. *Chem. Med. Chem.*, **2012**, 7, 1, 49-52.
42. Allen, J. G., Bourbeau, M.P., Wohlhieter, G.E., Bartberger, M.D., Michelsen, K., Hungate, R., Gadwood, R.C., Gaston, R.D., Evans, B., Mann, L.W., Matison, M.E., Schneider, S., Huang, X., Yu, D., Andrews P.S., Reichelt, A., Long, A.M., Yakowec, P., Yang, E.Y., Lee, T.A., Oliner, J.D. Discovery and Optimization of Chromenotriazolopyrimidines as Potent Inhibitors of the Mouse Double Minute 2-Tumor Protein 53 Protein-Protein Interaction. *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 7044-7053.
43. Singh, G. S., Desta, Z. Y. Isatins As Privileged Molecules in Design and Synthesis of Spiro-Fused Cyclic Frameworks. *Chem. Rev.*, **2012**, 112, 6104-6155.
44. Bin, Y., De-Quan, Y., Hong-Min, L. Spirooxindoles: Promising scaffolds for anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.*, **2015**, 97, 673-698.
45. Fensome, A., Adams, W. R., Adams, A. L., Berrodin, T. J, Cohen, J., Huselton, C., Illenberger, A., Karen, J. C., Hudak, M. A., Marella, A. G., Melenski, E. G., McComas, C. C., Mugford, C. A., Slayeden, O. D., Yudt, M., Zhang, J., Zhang, P., Zhu, Y., Winneker, R., Wrobel, J. E. Design, Synthesis, and SAR of New Pyrrole-Oxindole Progesterone Receptor Modulators Leading to 5-(7-Fluoro-3,3-dimethyl-2-

- oxo-2,3-dihydro-1*H*-indol-5-yl)-1-methyl-1*H*-pyrrole-2-carbonitrile (WAY-255348). *J. Med. Chem.*, **2008**, 51, 1861-1873.
46. Kumari, G., Nutan, M. M., Gupta, S. K., Singh, R. K. Rhodium(II) acetate-catalyzed stereoselective synthesis, SAR and anti-HIV activity of novel oxindoles bearing cyclopropane ring. *Eur. J. Med. Chem.*, **2011**, 46, 1181-1188.
 47. Lo, M. M.-C., Newmann, C. S., Nagayams, S., Perlstein, E. O., Schreiber, S. L. Structure-Based Design of Potent Non-Peptide MDM2 Inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 10130-10131.
 48. Vintonyak, V. V., Warburg, K., Kruse, H., Grimme, S., Hubel, K., Rauth, D., Waldmann, H. Identification of thiazolidinones spiro-fused to indolin-2-ones as potent and selective inhibitors of the mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatase B. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2010**, 49, 5902-5905.
 49. Yeung, B. K. S., Zou, B., Rottmann, M., Lakshminarayana, S. B., Ang, S. H., Leong, S. Y., Tan, J., Wong, J., Keller-Maerki, S., Fischli, C., Goh, A., Schmitt, E. K., Krastel, P., Francotte, E., Kuhen, K., Plouffe, D., Henson, K., Wagner, T., Winzeler, E. A., Petersen, F., Brun, R., Dartois, V., Diagana, T. T., Keller, T. H. Spirotetrahydro β -carboline (spiroindolones): a new class of potent and orally efficacious compounds for the treatment of malaria. *J. Med. Chem.*, **2010**, 53, 5155-5164.
 50. Rottmann, M., McNamara, C., Yeung, B. K. S., Lee, M. C. S., Zhou, B., Russell, B., Seitz, P., Plouffe, D. M., Dharia, N. V., Tan, J., Cohen, S. B., Spencer, K. R., Gonzalez-Paez, G. E., Lakshminarayana, S. B., Goh, A., Suwanarusk, R., Jegla, T., Schmitt, E. K., Beck, H.-P., Brun, R., Nosten, F., Renia, L., Dartois, V., Keller, T. H., Fidock, D. A., Winzeler, E. A., Diagana, T. T. Spiroindolones, a potent compound class for the treatment of malaria. *Science*, **2010**, 329, 1175-1180.
 51. Ding, K., Lu, Y., Nikolovska-Coleska, Z., Wang, G., Qiu, S., Shangary, S., Gao, W., Qin, D., Stukey, J., Krajewski, K., Roller, P. P., Wang, S. Structure-based design of spiro-oxindoles as potent, specific small-molecule inhibitors of the MDM2–p53 interaction. *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 2342-2345.
 52. Shen, K., Liu, X., Lin, L., Feng, X. Recent progress in enantioselective synthesis of C3-functionalized oxindoles: rare earth metals take action. *Chem. Sci.*, **2012**, 3, 327-334.
 53. Stephen, M. R., Rahman, M. T., Tiruveedhula, V. P. B., Fonseca, G. O., Deschamps, J. R., & Cook, J. M. Concise Total Synthesis of (–)-Affinisine Oxindole, (+)-Isoalstonisine, (+)-Alstoline, (–)-Macrogentine, (+)-Na-Demethylalstonisine, (–)-Alstonoxine A, and (+)-Alstonisine //Chemistry. *Eur. J.*, **2017**, 23, 62, 15805-15819.
 54. Wang, C. C., Yu, X.-Y. Catalytic asymmetric synthesis of 3-hydroxyl-2-oxindoles via enantioselective Morita–Baylis–Hillman reaction of isatins. *Tetrahedron*, **2011**, 67, 2974-2978.
 55. Gurevich, P. G., Sattarova, L. F., Petrovskiy, A. S., Frolova, N.A., Strunin, B. P., Musin, R. Z. Interaction of spiro-heterocyclic oxindole system with sodium diformylimide. *Chem. Heterocycl. Compd.*, **2010**, 46, 1527.
 56. Bergman, J., Engqvist, R., Stalhandske, C., Wallberg, H. Studies of the reactions between indole-2, 3-diones (isatins) and 2-aminobenzylamine. *Tetrahedron*, **2003**, 59, 1033-1048.

57. Perez, A. L., Ciccio, J. F. *Ing. Ciencia. Quim.*, **1991**, 13, 20.
58. Sakai, S., Aimi, N., Kubo, A., Kitagawa, M., Hanasawa, M., Katano, K., Yamaguchi, K., Higashinawa, Structure of gardneramine and 18-demethylgardneramine. *J. Chem. Pharm. Bull.*, **1975**, 23, 2805-2817.
59. Hu, Y., Wang, M. M., Chen, H., & Shi, D. Q. . Efficient and convenient synthesis of spiroindolinone-quinazolines induced by stannous chloride. *Tetrahedron*, **2011**, 67, 9342-9346.
60. Mohammadi, A. A., Dabiri, M., Qaraat, H. A regioselective three-component reaction for synthesis of novel 1' H-spiro [isoindoline-1, 2'-quinazoline]-3, 4'(3' H)-dione derivatives. *Tetrahedron*, **2009**, 65, 3804-3808.
61. Dandia, A., Khanna, S., Joshi, K. C. Reactions of Fluorinated Isatin Derivatives with 2-Aminothiophenol. *J. Ind. Chem. Soc.*, **1990**, 67, 824.
62. Bazgir, A., Tisseh, Z. N., Mirzaei, P. An efficient synthesis of spiro [dibenzo [b, i] xanthene-13, 3'-indoline]-pentaones and 5H-dibenzo [b, i] xanthene-tetraones. *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 5165-5164.
63. Jadidi, K., Ghahremanzadeh, R., Bazgir, Y. Spirooxindoles: reaction of 2, 6-diaminopyrimidin-4 (3H)-one and isatins. *Tetrahedron*, **2009**, 65, 2005.
64. Pictet, A., Spengler, T. Formation of isoquinoline derivatives by the action of methylal on phenylethylamine, phenylalanine and tyrosine. *Chem. Ber.*, **1911**, 44, 2030. Whaley, W. M., Govindachari, T. M. The Preparation of 3, 4-Dihydroisoquinolines and Related Compounds by the Bischler-Napieralski Reaction. *Org. React.*, **1951**, 6, 151.
65. Islam, M. R., Mohsin, M. Synthesis of isatin, 5-chloroisatin and their Δ 2-1, 3, 4-oxadiazoline derivatives for comparative cytotoxicity study on brine shrimp. *Bangladesh. J. Pharmacol.*, **2007**, 2, 7.
66. Galliford, C. V., Scheidt, K. A. Pyrrolidinyl-Spirooxindole Natural Products as Inspirations for the Development of Potential Therapeutic Agents. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 8748-8758.
67. Edmondson, A. S. D., Danishefsky, S. J. The Total Synthesis of Spirotryprostatin. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, 37, 1138-1140.
68. Alper, P. B., Meyers, C., Lerchner, A., Siegel, D.R., Carreira, E. M. Facile, Novel Methodology for the Synthesis of Spiro[pyrrolidin-3,3'-oxindoles]: Catalyzed Ring Expansion Reactions of Cyclopropanes by Aldimines. *Angew. Chem.*, **1999**, 111, 3379 – 3381.
69. Fischer, C., Meyers, C., Carreira, E. M. Efficient Synthesis of ($\pm$)-Horsfiline through the MgI_2 -Catalyzed Ring-Expansion Reaction of a Spiro [cyclopropane-1, 3'-indol]-2'-one. *Helv. Chim. Acta*, **2000**, 83, 1175-1181.
70. Lerchner, A., Carreira, E. M. First total synthesis of ($\pm$)-strychnofoline via a highly selective ring-expansion reaction. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 14826-15827.
71. Kumar, U. K. S., Ila, H., Junjappa, H. A New Route to Spiropyrrolidinyl-oxindole Alkaloids via Iodide Ion Induced Rearrangement of [(N-Aziridinomethylthio) methylene]-2-oxindoles. *Org. Lett.*, **2001**, 3, 4193-4196.
72. Sebahar, P. R., Williams, R. M. The asymmetric total synthesis of (+)-and (-)-spirotryprostatin B. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 5666 – 5667.

73. Bentabed-Ababsa, G., Derdour, A., Roisnel, T., Sáez, J. A., Domingo, L. R., Mongin, F. Polar [3+ 2] cycloaddition of ketones with electrophilically activated carbonyl ylides. Synthesis of spirocyclic dioxolane indolinones. *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, 6, 3144-3157.
74. Nair, V., Sethumadhavan, D., Nair, S. M., Viji, S., Rath, N. P. Reaction of nitrile ylides with isatins and o-benzoquinones: formation of novel spirooxazoline derivatives. *Tetrahedron*, **2002**, 58, 3003-3007.
75. Gein, V. L., Levandovskaya, E. B., Vichegjanina, V. N. Chem. Synthesis of 3'-aroyl-4'-hydroxyspiro-[indole-3, 2'-furan]-2, 5'(1H)-diones. *Heterocycl. Compd.*, **2010**, 46, 931-933.
76. Lian, Z.; Shi, M. Nitrogen-and Phosphorus-Containing Lewis Base Catalyzed [4+ 2] and [3+ 2] Annulation Reactions of Isatins with But-3-yn-2-one. *Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, 581-586.
77. Grigg, R., Aly, M. F., Sridharan, V., Thianpatanagul, S. Decarboxylative transamination. A new route to spirocyclic and bridgehead-nitrogen compounds. Relevance to α -amino acid decarboxylases. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1984**, 182-183.
78. Fokas, D., Ryan, W. J., Casebier, D. S., Coffen, D. L. Solution phase synthesis of a spiro [pyrrolidine-2, 3'-oxindole] library via a three component 1, 3-dipolar cycloaddition reaction. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 2235-2238.
79. Duce, S., Pesciaioli, F., Graminga, L., Bernardi, L., Mazzanti, A., Ricci, A., Bartoli, G., Bencivenni, G. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, 353,860.
80. Nair, V., Sheela, K. C., Rath, N. P. Dipolar Cycloaddition Reactions of Isatin Derived Azomethine Ylide with 3, 4-Diphenylcyclobutene-1, 2-dione: Synthesis of Novel Spiro [oxindole-3, 2'-pyrrolidine] Derivatives. *Chem. Lett.*, **2000**, 980-981.
81. Ghandi, M., Taheri, A., Abbasi, A. A facile synthesis of chromeno [3, 4-c] spiropyrrolidine-oxindoles via 1, 3-dipolar cycloadditions. *Tetrahedron*, **2010**, 66, 6744-6748.
82. Babu, A. R. S.; Raghunathan, R.; Gayatri, G.; Sastry, N. Heteropolyacid-silica mediated [3+ 2] cycloaddition of azomethine ylides—a facile multicomponent one-pot synthesis of novel dispiroheterocycles. *J.Heterocycl. Chem.*, **2006**, 43, 1-5.
83. Lakshmi, N. V., Thirumurugan, P., Perumal, P. T. An expedient approach for the synthesis of dispiropyrrolidine bisoxindoles, spiropyrrolidine oxindoles and spiroindane-1, 3-diones through 1, 3-dipolar cycloaddition reactions. *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 1064-1068.
84. Rao, J. N. S., Raghunathan, R. An expedient diastereoselective synthesis of pyrrolidiny spirooxindoles fused to sugar lactone via [3+ 2] cycloaddition of azomethine ylides. *Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53, 854-858.
85. Babu, A. R. S., Raghunathan, R. An easy access to novel steroidal dispiropyrrolidines through 1, 3-dipolar cycloaddition of azomethine ylides. *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49,4618-4620.
86. Babu, A. R. S., Raghunathan, R. Synthesis of ferrocenyl monospirooxindolopyrrolidines—a facile [3+ 2]-cycloaddition of azomethine ylides. *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 4487-4490.

87. Patel, P. N., Patel, H. S. Studies on post reaction products of nove spiroindoline-thiazolidine derivatives. *Pharm. Lett.*, **2011**, 3, 307-318.
88. Hu, X.-F., Feng, Y.-Q. *Synth. Commun.*, **2005**, 37, 1747.
89. Ribeiro, C. J. A., Kumar, S. P., Moreira, R., Santos, M. M. M. Efficient synthesis of spiroisoxazoline oxindoles. *Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53, 281-284.
90. Antonchick, A. P. Enantioselective synthesis of the spirotryprostatin A scaffold. *Tetrahedron*, **2011**, 67, 10195–10202.
91. Onishi, T., Sebahar, P. R., Williams, R. M. Concise, asymmetric total synthesis of spirotryprostatin A. *Org. Lett.*, **2003**, 5, 3135-3137.
92. Ding, K., Wang, G., Deschamps, J. R., Parrish, D. A., Wang, S. Synthesis of spirooxindoles via asymmetric 1, 3-dipolar cycloaddition. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 5949-5951.
93. Sacchetti, A., Silvani, A., Gatti, F. G., Lesma, G., Pilati, T., Trucchi, B. Addition of TMSCN to chiral ketimines derived from isatin. Synthesis of an oxindole-based peptidomimetic and a bioactive spirohydantoin. *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, 9, 5515-5522.
94. Yiming Cao, Y., Xianxing Jiang, X., Luping, L.L., Shen, F., Zhang, F., Wang, R. Enantioselective Michael/Cyclization Reaction Sequence: Scaffold-Inspired Synthesis of Spirooxindoles with Multiple Stereocenters. *Angew. Chem.*, **2011**, 123, 9290-9127.
95. Wang, S., Zhao, Y., Aguilar, A., Bernard, D., Yang, C.Y. Targeting the MDM2–p53 Protein–Protein Interaction for New Cancer Therapy: Progress and Challenges. *CHS Persp.*, **2017**, 8, 1-11.
96. Tan, B., Zeng, X., Leong, W. W. Y., Shi, Z., Barbas, C. F., III, Zhong, G. Core Structure-Based Design of Organocatalytic [3+ 2]-Cycloaddition Reactions: Highly Efficient and Stereocontrolled Syntheses of 3, 3'-Pyrrolidonyl Spirooxindoles. *Chem.–Eur. J.*, **2012**, 18, 63-67.
97. Hanhan, N. V., Ball-Jones, N. R., Tran, N. T., Franz, A. K. Catalytic asymmetric [3+ 2] annulation of allylsilanes with isatins: synthesis of spirooxindoles. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2012**, 51, 989-992.
98. Ganguly, A. K., Seah, N., Popov, V., Wang, C. H., Kuang, R., Saksena, A. K., Pramanik, B. N., Chan, T. M., McPhail, A. T. Solution-and solid-phase synthesis of enantiomerically pure spiro oxindoles. *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 8981-8983.
99. Chen, X.H. Organocatalytic Synthesis of Spiro[pyrrolidin-3,3-oxindoles] with High Enantiopurity and Structural Diversity. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 13819–13825.
100. Liu, T.-L., Xue, Z.-Y., Tao, H.-Y., Wang, C. Catalytic asymmetric 1, 3-dipolar cycloaddition of N-unprotected 2-oxoindolin-3-ylidene derivatives and azomethine ylides for the construction of spirooxindole-pyrrolidines. *J. Org. Biomol.Chem.*, **2011**, 9, 1980-1986.
101. Awata, A. Catalytic Asymmetric exo'-Selective [3+2] Cycloaddition for Constructing Stereochemically Diversified Spiro[pyrrolidin-3,3'-oxindole]s. *Chem. A, Eur. J.*, **2012**, 18, 27, 8278-8282.
102. Bergonzini, G., Melchiorre, P. Dioxindole in asymmetric catalytic synthesis: direct access to 3-substituted 3-hydroxy-2-oxindoles via 1, 4-additions to nitroalkenes. *Angew Chem., Int. Ed.*, **2012**, 57, 971-975.

103. Ivanenkov, Y. A., Vasilevski, S. V., Beloglazkina, E. K., Kukushkin, M. E., Machulkin, A. E., Veselov, M. S., Chufarova, N. V., Vanzcool, A., Zyk, N. V., Skvortsov, D. A., Khutornenko, A. A., Rusanov, A. L., Tonevitsky, A. G., Dontsova, O. A., Majouga, A. G. Design, synthesis and biological evaluation of novel potent MDM2/p53 small-molecule inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2015**, 25, 2, 404-408.
104. Kuznetsova, O.Y., Antipin, R.L., Udina, A.V., Krasnovskaya, O.O., Beloglazkina, E.K., Terenin, V.I., Koteliansky, V.E., Zyk, N.V., Majouga, A.G. An Improved Protocol for Synthesis of 3-Substituted 5-Arylidene-2-thiohydantoins: Two-step Procedure Alternative to Classical Methods. *J. Heterocyclic Chem.*, **2016**, 53, 5, 1570-1577.
105. Mironov, A.V., Antipov, E.V., Beloglazkina, E.K., Majouga A.G., Krasnovskaya, O.O., Gerasimov, V.M., Zyk, N.V. Structure determination of bis{(4Z)-1-(2-azidoethyl)-4-[(pyridin-2-yl)methylidene]-2-thiolatoimidazol-5(4H)-one}dicopper chloride from X-ray powder diffraction data. *Russ. Chem. Bull. Int. Ed.*, **2013**, 62, 672–677.
106. Linzer, D.I., Levine, A.J. Characterization of a 54K Dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. *Cell*, **1979**, 17, 1, 43-45.
107. Hussie, P. H., Gorina, S., Marechal, V., Elenbaas, B., Moreau, J., Levine, A. J., Pavletich, N. P. Structure of the MDM2 Oncoprotein Bound to the p53 Tumor Suppressor Transactivation Domain. *Science*, **1996**, 274, 948-949.
108. Ferrari, M., Fornasiero, M. C., Isetta, A. M. MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro. *J. Immunol. Meth.*, **1990**, 131, 165-169.
109. Chen, X.H. Organocatalytic Synthesis of Spiro[pyrrolidin-3,3-oxindoles] with High Enantiopurity and Structural Diversity. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 13819–13825.
110. Ault, A. Resolution of D,L- α -phenylethylamine: An introductory organic chemistry experiment. *J. Chem. Educ.*, **1965**, 42, 5, 269-271.
111. Илиел, Э. Основы стереохимии. М.: Мир, **1971**, 107-109.
112. Chan, D. M. T., Monaco, K. L., Wang, R.-P., Winteres, M.P. New N- and O-arylations with phenylboronic acids and cupric acetate. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 2933-2936.
113. Ulmann, F. Ueber synthesen in der biphenylreihe. *Chemische Berichte.*, **1901**, 34, 2, 2174-2185.
114. Kurkin, A.V., Bernovskaya, A.A., Yurovskaya, M.A. Comparative study of the different approaches to the synthesis of isatins with a chiral substituent at the nitrogen. *Chem. Heterocyc. Comp.*, **2011**, 46, 10, 1208-1214.
115. Kurkin, A.V., Bernovskaya, A.A., Yurovskaya, M.A. Synthesis of isatins with a chiral substituent at the nitrogen atom. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2009**, 20, 1500–1505.
116. Gonzalez-Lopez de Turiso, F., Sun, D., Rew, Y., Bartberger, M.D., Beck, H.P., Canon, J., Chen, A., Chow, D., Correll, T.L., Huang, X., Julian, L.D., Kayser, F., Lo, M.C., Long, A.M., McMinn, D., Oliner, J.D., Osgood, T., Powers, J.P., Saiki, A.Y., Schneider, S., Shaffer, P., Xiao, S.H., Yakowec, P., Yan, X., Ye, Q., Yu, D., Zhao,

- X., Zhou, J., Medina, J.C., Olson, S.H. Rational Design and Binding Mode Duality of MDM2-p53 Inhibitors. *J. Med. Chem.*, **2013**, 56, 4053-4070.
117. Khodar, A. Glycosylation of 2-thiohydantoin derivatives. Synthesis of some novel S-alkylated and S-glucosylated hydantoins. *Carbohydrate Research*, **2001**, 331, 445-453.
 118. Haupt, Y., Maya, R., Kazaz, A., Oren, M. *Nature*, **1997**, 387, 296-298.
 119. Ji, C., Wang, S., Chen, S., He, S., Jiang, Y., Miao, Z., Li, J., Sheng, C. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2017**, 25, 5268-5273.
 120. Kravchenko, J.E., Ilyinskaya, G. V., Komarov, P. G., Agapova, L. S., Kochetkov, D. V., Strom, E., Frolova, E. I., Kovriga, I., Gudkov, A. V., Feinstein, E., Chumakov, P. M. Small-molecule RETRA suppresses mutant p53-bearing cancer cells through a p73-dependent salvage pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2008**, 105, 17, 6302-6307.
 121. Барская, Е.С., Белоглазкина, А.А., Вобит, Б., Зефиоров, Н.А., Мажуга, А.Г., Белоглазкина, Е.К., Зык, Н.В., Кузнецов, С.А., Зефиорова, О.Н. *Изв. АН, Сер. Хим.*, **2015**, 64, 1560-1563 [Barskaia, E.S., Beloglazkina, A.A., Wobith, B., Zefirov, N.A., Majouga, A.G., Beloglazkina, E.K., Zyk, N.V., Kuznetsov, S.A., Zefirova, O.N. *Russ. Chem. Bull.*, **2015**, 64, 1560-1563]
 122. Beloglazkina, A.A., Wobith, B., Barskaia, E.S., Zefirov, N.A., Majouga, A.G., Beloglazkina, E.K., Zyk, N.V., Kuznetsov, S.A., Zefirova, O.N. *Med. Chem. Res.*, **2016**, 25, 1239-1249.
 123. Gros, C., Fahy, J., Halby, L., Dufau, I., Erdmann, A., Gregoire, J.M., Ausseil, F., Vispé, S., Arimondo, P.B. *Biochimie*, **2012**, 94, 2280-2296.
 124. Li, Q., Woods, K.W., Claiborne, A., Gwaltney, S.L., Barr, K.J., Liu, G., Gehrke, L., Credo, R.B., Hui, Y.H., Lee, J., Warner, R.B., Kovar, P., Nukkala, M.A., Zielinski, N.A., Tahir, S.K., Fitzgerald, M., Kim, K.H., Marsh, K., Frost, D., Ng, S.C., Hing, S.R., Sham, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, 12, 465-469.
 125. Berranger, T., Langlois, Y. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 5523-5526.
 126. Dong, H., Song, S., Li, J., Xu, C., Zhang, H.i., Ouyang L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2015**, 25, 3585-3591.
 127. Yang, J. M., Hu, Y., Li, Q., Yu, F., Cao, J., Fang, D., Huang, Z. B., Shi, D. Q. *ACS Comb. Sci.*, **2014**, 16, 3, 139-145.
 128. Khadse, S.C., Chatpalliwar, V.A. *Arab. J. Chem.*, **2017**, 10, S859-S863.
 129. Gunkara, O.T., Guleli, M., Cevikkalp, S.A., Kaya, K., Ocal, N. *Current Organic Synthesis*, **2017**, 14, 283 - 290.
 130. Vassilev, L.T., Vu, B.T., Graves, B., Carvajal, D., Podlaski, F., Filipovic, Z., Kong, N., Kammlott, U., Lukacs, C., Klein, C. *Science*, **2004**, 303, 844-848.
 131. Mendgen, T., Steuer, C., Klein, C. D. Privileged Scaffolds or Promiscuous Binders: A Comparative Study on Rhodanines and Related Heterocycles in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.*, **2012**, 55, 743-753.
 132. Brandenburg, K., **2000**. DIAMOND, Release 2.1d; Crystal Impact GbR: Bonn, Germany.
 133. Титце, Л., Айхер, **1999**. Препаративная органическая химия. Реакции и синтезы в практикуме органической химии и научно-исследовательской лаборатории: Пер. с немецкого/Л. Титце, Т.Айхер.-М.: Мир.

134. Majouga, A. G., Zvereva, M. I., Rubtsova, M. P., Skvortsov, D. A., Mironov, A. V., Azhibek, D. M., Krasnovskaya, O. O., Gerasimov, V., M., Udina, A. V., Vorozhtsov, N. I., Beloglazkina, E. K., Agron, L., Mikhina, L. V., Tretyakova, A. V., Zyk, N. V., Zefirov, N. S., Kabanov, A. V., Dontsova, O. A. Mixeivad Valence Copper(I,II) Binuclear Complexes with Unexpected Structure: Synthesis, Biological Properties and Anticancer Activity. *J. Med. Chem.*, **2014**, 575, 14, 6252–6258.
135. Tiedje, K.E., Weaver, D.F. Deducting the bioactive face of hydantoin anticonvulsant drugs using NMR spectroscopy. *Can. J. Neurol. Sci.*, **2008**, 35, 232-236.
136. Ivanenkov, Y. A.; Majouga, A. G.; Beloglazkina, E. K.; Beloglazkina, A. A.; Veselov, M. S.; Kukushkin, M. E. New dispiro-indolinones, MDM2/p53 interaction inhibitors, method for production and application. RU 2015113026, April 9, **2015**.
137. Sandmeyer, T. Über Isonitrosoacetanilide und deren kondensation zu isatinen. *Helv. Chim. Acta.*, **1919**, 2, 234.
138. Chen, Z.G. A Facile and Practical Copper Powder-Catalyzed, Organic Solvent- and Ligand-Free Ullmann Amination of Aryl Halides. *J. Org. Chem.*, **2011**, 76, 4, 1180–1183.
139. Joly, H.A., Westaway, K.C. Isotope effects in nucleophilic substitution reactions. V. The mechanism of the decomposition of 1-phenylethyldimethylphenylammonium halides in chloroform. *Can. J. Chem.*, **1986**, 64, 1206-1215.
140. Hung, C.Y., Hsu, M.H., Huang, L.J., Hwang, C.S., Lee, O., Wu, C.Y., Chena, C.H., Kuob, S.C. Synthesis of 1-substituted 3-pyridinylmethylidenylindolin-2-ones and 1-substituted 3-quinolinylmethylidenylindolin-2-ones as the enhancers of ATRA-induced differentiation in HL-60 cells. *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 4222–4232.
141. Subtel'na, I.; Atamanyuk, D.; Szymanska, E.; Kiec-Kononowicz, K.; Zimenkovsky, B.; Vasylenko, O.; Gzella, A.; Lesyk, R. Synthesis of 5-arylidene-2-amino-4-azolones and evaluation of their anticancer activity. *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, 18, 14, 5090–5102.
142. Lamiri, M., Bougrin, K., Daou, B., Soufiaoui, M., Nicolas, E., Giralt, E. Microwave-assisted solvent-free regiospecific synthesis of 5-alkylidene and 5-arylidenehydantoins. *Synth. Commun.*, **2006**, 36, 11, 1575-1584.
143. Kadry, A. M.; Mansour, S. A. Studies on 5-arylidene-3-phenyl-2-methylmercaptohydantoins. *J. Heter. Chem.*, **1985**, 22, 1, 155-157.
144. Muccioli, Giulio G.; Fazio, N., Gerhard K., Scriba, E., Poppitz, W., Cannata, F., Poupaert, J. H., Wouters, J., Lambert, D. M. Substituted 2-Thioxo-4-imidazolidinones and Imidazolidine-2,4-diones as Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitors Templates. *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 1, 417-425.
145. Jadhava, S. A.; Shindeb, D. B.; Farooquic, M.; Pardeshi, R. K. Microwave assisted one pot four-components solvent free base catalyzed rapid synthesis of (Z)-N-alkyl-5-arylidene-2-thioxothiazolidin-4-one derivatives. *Chemistry & Biology Interface*, **2016**, 6, 3, 181-188.
146. Fu, H.; Hou, X.; Wang, L.; Dun, Y.; Yang, X.; Fang, H. Design, synthesis and biological evaluation of 3-aryl-rhodanine benzoic acids as anti-apoptotic protein Bcl-2 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, **2015**, 25, 22, 5265–5269.
147. Cutshall, N. S.; O'Day, C.; Prezhdo, M. Rhodanine derivatives as inhibitors of JSP-1. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 14, 3374–3379.

148. Eustice, D. C., Feldman, P. A., Colberg-Poley, A. M., Buckery, R. M., & Neubauer, R. H. A sensitive method for the detection of beta-galactosidase in transfected mammalian cells. *Biotechniques*, **1991**, 11, 6, 739-743.