

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Сюмка Євгенія Ігорівна

УДК 54.057:547.752:547.466:543.42:615.276:615.281.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**Синтез, хімічні та біологічні властивості моно- та *біс*-похідних
спіро-2-оксіндол[3,3']піролу**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Є. І. Сюмка

Науковий керівник Шемчук Леонід Антонович, доктор хімічних наук,
професор

Харків – 2019

АНОТАЦІЯ

Сюмка Є.І. Синтез, хімічні та біологічні властивості моно- та *біс*-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2019.

Дисертаційна робота присвячена синтезу нових біологічно активних речовин – похідних моно- та *біс*-спіро-2-оксіндол[3,3']піролу та виявленню серед них перспективних сполук для подальших поглиблених фармакологічних досліджень.

Аналіз даних літератури, розробки препаративних методів синтезу спіросполучених піроло-2-оксіндолів та вивчення їх фізико-хімічних властивостей показав, що одним із найкращих підходів для конструювання спіропіролооксіндольного ядра є реакція 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів, яка є простим шляхом до синтезу як моно- так і *біс*-похідних даної системи.

Таким чином, шляхом використання реакції 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів, отриманих *in situ* із ізатинів та α -амінокислот з різноманітними диполярофілами на основі *біс*-малеїнімідів (*N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїнімід, *N,N'*-етилен-*біс*-малеїнімід, *N,N'*-*m*-фенілен-*біс*-малеїнімід, *N,N'*-*біс*-малеїнімідоксаліамін) були синтезовані нові ряди похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу (зокрема: несиметричні гексаметилен-*N*-малеїнімідопохідні спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу, гексаметилен-*N,N'*-*біс*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піроли, етилен-*N,N'*-*біс*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піроли, симетричні похідні *m*-фенілен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1*H*,5*H*)-тріону) та їх моно-аналоги та похідні *N,N'*-*біс*-малеїнімідоксаліаміну відповідно).

Отримані нові похідні моно- та *біс*-спіро-2-оксіндол[3,3']піролу є

привабливими в фармакологічному плані, оскільки містять у своїй структурі два високоактивних фармакофорних фрагменти: ядро спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]піролу та малеїнімідний залишок. Особливу цікавість з точки зору дослідження біологічних властивостей мають *біс*-похідні, які можна розглядати як так звані «подвійні ліки» – сполуки, які містять два однакових фармакофорних фрагменти, ковалентно сполучені в одній молекулі, оскільки відомо що подібне поєднання в багатьох випадках приводить до високого збільшення рівня прояву біологічної дії.

З метою оптимізації методики отримання цільових сполук було досліджено перебіг реакції трикомпонентної однореакторної конденсації ізатинів, α -амінокислот з *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїнімідом в залежності від співвідношення та природи реагентів, а також розчинника. Показано, що отримати і виділити *біс*-похідні даної спірогетероциклічної системи можливо тільки при строгому дотриманні співвідношення реагентів: ізатин-амінокислота-диполярфіл (2:2:1). У протилежному випадку утворювалися монопохідні, або виникають труднощі на стадії виділення. Підібрано оптимальну систему розчинників для проведення цієї взаємодії: ізопропанол у суміші з водою в співвідношенні (3:1). У порівнянні з проведенням конденсації в середовищі метанол-вода (3:1) (що широко застосовується в синтезі подібних похідних) зменшувався час перебігу реакції та підвищувалися виходи цільових сполук.

З метою розширення рядів БАР проведено нітрузування гексаметилен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-бензил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*, 1'*H*,5'*H*)-тріону); етилен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону); етилен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-ізопропіл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) та 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімід)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону за NH-групою пірольного фрагменту в положенні 4'; алкілювання етилен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-феніл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) за індольним N-1 поло-

женням; ацилювання 1'-(*m*-фінілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-бензил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону за двома положеннями: по вторинній аміногрупі пірольного та індольного фрагментів.

Структури синтезованих сполук підтверджено за допомогою ІЧ-, ¹H-, ¹³C ЯМР-спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії, елементного аналізу.

Для оцінки фармакологічного потенціалу було проведено мішень-орієнтований дизайн *in silico*, який дозволив виявити потенційні інгібітори кіназ серед синтезованих вперше структур гексаметилен-*N,N'*-*bis*-похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та молекулярне моделювання в АТФ зв'язувальні сайти протеїнкіназ попередньо відібраних сполук серед синтезованих несиметричних гексаметилен-*N*-малеїнімідопохідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та гексаметилен-*N,N'*-*bis*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу. В подальших дослідженнях *in vitro* виявлено найактивнішу сполуку – 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон, яка виявляє інгібуючі властивості по відношенню до кінази FGFR1.

Проведені дослідження на антимікробну активність. Серед вперше синтезованих симетричних похідних гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) виявлено найактивнішу сполуку – гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-1-бензил-5'-гідрокси-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон), активність якої по відношенню до мікроорганізмів *S. aureus* та *S. epidermidis* перевищила препарат порівняння *Ciproflaxacin*. Серед несиметричних монопохідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-ди-гідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону також обрано найактивнішу сполуку, що виявила виражену антибактеріальну дію відносно *S. aureus* та протигрибкову активність стосовно *C. albicans* – 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-5'-метил-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон. Серед похідних етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) для подальшого

фармакологічного вивчення в якості потенційних субстанцій, що виявляють антимікробну активність відносно штамів *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* та антигрибкову активність стосовно *C. albicans* можуть бути рекомендовані: етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон) та етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон).

Дослідження антиоксидантної активності різних груп похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу проведені *in vitro* дозволили відібрати для подальшого вивчення протизапальної (антиексудативної) активності наступні речовини: 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-5'-бензил-2а',6а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон, гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-бензил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон), етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон). Подальші дослідження вище зазначених сполук в експерименті *in vivo* на моделі карагенінового набряку виявили найактивнішу сполуку – етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон), яка виявила виражену протизапальну дію.

Новизна роботи полягає в наступному: синтезовано нові ряди похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу (несиметричної будови та *bis*-похідні) шляхом трикомпонентної взаємодії ізатину з α -амінокислотами та дипольарофілами на основі *bis*-малеїнімідів – потенційні БАР, що поєднують у своїй структурі два високоактивних фармакофори: ядро спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та малеїнімідний фрагмент, а *bis*-похідні, що містять дві однакові фармакофорні групи і є потенційними подвійними БАР.

Досліджено перебіг трикомпонентної конденсації ізатинів, α -амінокислот з *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїнімідом та підібрано оптимальні умови її проведення.

Показана можливість розширення рядів потенційних БАР шляхом подальшої хімічної модифікації отриманих похідних спіро-2-оксіндол

[3,3']піролу за рахунок нітрозування NH-групи пірольного фрагменту в положенні 4', алкілювання за індольними N-1 положенням, ацилювання аміногруп пірольного та індольного фрагментів.

Вперше одержано дані про біологічну активність синтезованих нових моно- та *біс*-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу. Знайдено сполуки, які виявили виражену протимікробну, антиоксидантну, протизапальну активності та інгібуючі властивості стосовно рецептора фактора росту фібробластів (FGFR1) та є перспективними БАР. На найбільш активні речовини отримано два патенти України на корисну модель.

Результати хімічного та фармакологічного дослідження впроваджено в науково-дослідну роботу споріднених вищих навчальних закладів і наукових інститутів України.

Ключові слова: органічний синтез, спіро-2-оксіндол, *біс*-спіроциклічні системи, ізатин, α -амінокислоти, *біс*-малеїнімід, багатокомпонентні реакції, нітрузо похідні, подвійні ліки, біологічна активність.

Список публікацій здобувача

Статті

1. Screening and molecular properties of *bis*-derivatives of spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-c]pyrrole] in a search for potential inhibitors of protein kinases / E. I. Syumka, R. G. Redkin, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh, S. M. Yarmoluk. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015. № 6 (41). С. 79–85. (*Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті*).
2. Synthesis and antimicrobial activity of *bis*-derivatives of 3a',6a'-dihydro-2'H-spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-c]pyrrole]-2,4',6'(1H,3'H,5'H)-trione / R. G. Redkin, E. I. Syumka, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2017. Vol. 7, № 06. P. 069-078. Available online at <http://www.japsonline.com>. (*Особистий внесок - участь в*

плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

3. Synthesis and antimicrobial activity of hexamethylene-*N*-maleinimidospiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole derivatives / Ye. I. Syumka, R. G. Red'kin, L. A. Shemchuk, K. V. Hlebova, N. I. Filimonova. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2017. Т. 15, № 4 (60). С. 56–62. (Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

4. Дослідження трикомпонентної взаємодії між ізатином, α -амінокислотами і *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміном та встановлення будови одержаних сполук / Є. І. Сюмека, Л. А. Шемчук, В. П. Черних, Р. Г. Редькін. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2018. Т. 16, № 1 (61). С. 34–41. (Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

5. The study of the antimicrobial activity of ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-2a',5a'-dihydro2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione) derivatives / Ye. I. Syumka, T. P. Osolodchenko, V. P. Chernykh, L. A. Shemchuk. *Вісник фармації*. 2018. № 2 (94). Р. 57–62. (Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

6. The synthesis of mono- and bis-derivatives of spiro-2-oxindole[3,3']pyrrole and the study of their antioxidant and anti-inflammatory activities / Ye. I. Syumka, H. B. Kravchenko, V. P. Chernykh, L. A. Shemchuk. *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). Р. 5–13. (Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

Патенти

1. Редькін Р. Г., Сюмека Є. І., Шемчук Л. А., Черних В. П. 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2a',7a'-дигідро-1'*H*-спіро[індол-3,3'-піроло

[3,4-с]піролізидин]-2,2',7'(1*H*,3'*H*,5'*H*)-трион, який містить малеїнімідний лінкер, проявляє інгібуючі властивості стосовно рецептору фактору росту фібробластів і чинить протимікробну дію: пат. 124687 Україна. № u201707279; заявл. 10.07.2017; опубл. 25.04.2018, бюл. № 8/2018. (*Особистий внесок – участь у патентному пошуку, у плануванні та виконанні експериментальних досліджень, узагальненні результатів, оформлення патенту на корисну модель*).

2. Сюмка Є. І., Кравченко Г. Б., Шемчук Л. А., Черних В. П. Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2*a'*,5*a'*-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион), який виявляє протизапальну активність: пат. 130910 Україна. № 201807981; заявл. 18.07.2018; опубл. 26.12.2018, бюл. № 24/2018. (*Особистий внесок – участь в патентному пошуку, проведені експериментальних досліджень та оформленні патенту*).

Тези

1. Синтез новых бис-производных 3*a'*,6*a'*-дигидро-2'*H*-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,4',6'(1*H*,3'*H*,5'*H*)-триона / Е. И. Сюмка, Р. Г. Редькин., Г. В. Григорив, Л. А. Шемчук, В. П. Черных. *Хімічні проблеми сьогодення*: мат. восьмої Всеукраїнської наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю, м. Донецьк, 17-20 березня 2014 р. Донецьк, 2014. С. 101.

2. Synthesis of spiro[pyrrolidine-3,2'-oxindole] / G. V. Grygoriv, R. G. Redkin, E. I. Syumka, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh. *Actual questions of development of new drugs*: мат. Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів, м. Харків, 22-23 квітня 2014 р. Харків, 2014. С. 6.

3. Синтез нових біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Є. І. Сюмка, Р. Г. Редькін, Г. В. Григорів, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій*: мат. Української науково-практичної конференції,

присвяченої 100-річчю з дня народження д-ра хім. наук, проф. Павла Олексійовича Петюніна, Харків, 24–25 квітня 2014 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2014. С. 72.

4. Григорів Г. В, Редькін Р. Г., Сюмка Є. І. Синтез похідних біс-спіро[піролідін-3,2'-оксіндолу]. *Матеріали XII всеукраїнської конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії*, м. Дніпропетровськ, 19-21 травня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 89.

5. Синтез та мішень-орієнтований пошук лікоподібних молекул, виявлення потенціальних інгібіторів кіназ серед синтезованих вперше алкіліден-*N,N'*-біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Р. Г. Редькін, Є. І. Сюмка, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Львівські хімічні читання: мат: XV наукової конференції*, м. Львів 24-27 травня 2015 р. Львів, 2015. С. 135.

6. Пошук речовин із антистафілоковою активністю серед біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Р. Г. Редькін, Є. І. Сюмка, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Химия, био- и нанотехнологии, экология и экономика в пищевой и косметической промышленности: мат. III Международной научно-практической конференции*, г. Харьков 15–16 октября 2015 г. Харьков, 2015. С. 33.

7. Синтез, протимікробні та кіназ-інгібуючі властивості алкіліден-*N,N'*-біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Є. І. Сюмка, Р. Г. Редькін, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Матеріали XII всеукраїнської конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії*, м. Харків 11–13 травня 2016 р. Харків: Ексклюзив, 2016. С. 25.

8. Синтез алкіліден-*N,N'*-біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Є. І. Сюмка, Р. Г. Редькін, В. П. Черних, Л. А. Шемчук. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи: мат. VIII Національного з'їзду фармацевтів України*, м. Харків, 13–16 вересня 2016 р. Харків: Вид-во НФаУ, 2016. Т. 1. С. 23.

9. Синтез біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу]3-[2-(3-карбоксиакрилоїламіно)-етилкарбомоїл]-акрилової кислоти / Є. І. Сюмка,

Р. Г. Редькін, В. П. Черних, Л. А. Шемчук. *Матеріали XXIV української конференції з органічної хімії*, м. Полтава, 19 – 23 вересня 2016 р. Полтава, 2016. С. 255.

10. Дослідження методів синтезу похідних етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) / Є. І. Сюмека, К. М. Ситнік, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Хімічні Каразінські читання: мат. X Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів*, м. Харків 23–25 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 127–128.

11. Синтез похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,4'*H*)триону та їх біс-аналогів для пошуку нових антимікробних агентів / Є. І. Сюмека, К. В. Глєбова, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій: мат. Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича*, м. Харків 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 117–118.

12. Неочікуваний синтез похідних етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,4'*H*)триону) / Є. І. Сюмека, К. М. Ситнік, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій: мат. Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича*, м. Харків 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 116.

13. Synthesis and chemical transformations of *m*-phenylene-*N*-maleimide derivatives of spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole / Ye. I. Syumka, K. M. Sytnik, D. V. Levashov, L. A. Shemchuk. *Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov: book of abstracts 8th International Conference*, Kharkov, 12–16 november 2018 p. Kharkiv: Ekskluziv Publ., 2018. P. 145.

АННОТАЦИЯ

Сюмка Е.И. Синтез, химические и биологические свойства моно- и *бис*-производных спиро-2-оксиндол[3,3']пиррола. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия». – Национальный фармацевтический университет, МЗ Украины, Харьков, 2019.

Диссертация посвящена синтезу новых биологически активных веществ – производных моно- и *бис*-спиро-2-оксиндол[3,3']пиррола и поиску среди них перспективных соединений, которые могут быть рекомендованы для дальнейших углубленных фармакологических исследований. Реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов (полученных *in situ* из изатинов и α -амино-кислот) с разнообразными диполярофилами на основе *бис*-малеинимидов синтезированы новые гексаметилен(этилен, оксалиламин, *m*-фенилен)-*N,N'*-*бис* (спироиндол-3,3'-пирроло[3,4-*c*]пиррол-2а',5а'-дигидро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трионы) и их моноаналоги. Исследован процесс протекания реакции в зависимости от соотношения и природы реагентов, растворителя и ее механизм. Проведено нитрозирование, алкилирование и ацилирование полученных веществ. Строение полученных соединений подтверждено с помощью ИК-, ^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопии, хромато-масс-спектрометрии и элементным анализом. Найдено соединения с выраженной противомикробной, антиоксидантной, противовоспалительной активностью и ингибирующими свойствами относительно рецептора фактора роста фибробластов (FGFR1), которые являются перспективными БАВ.

Ключевые слова: органический синтез, спиро-2-оксиндол, *бис*-спироцикли-ческие системы, изатин, α -аминокислоты, *бис*-малеинимид, многокомпонентные реакции, нитрозо производные, двойные лекарства, биологическая активность.

ANNOTATION

Syumka Ye. I. Synthesis, chemical and biological properties of mono- and bis-derivatives of spiro-2-oxindole-[3,3']-pyrrole. – Qualification scientific work on the rights of manuscript.

The thesis for Candidate of Pharmaceutical Sciences Degree, Specialty 15.00.02 «Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy». – National University of Pharmacy, Ministry of Public Health of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The thesis is dedicated to the synthesis of the new biologically active compounds among mono- and bis-derivatives of spiro-2-oxindole-[3,3']-pyrrole and study of their pharmacological activity.

New hexamethylene(ethylene, oxalyl amine, *m*-phenylene)-*N,N'*-bis(spiro-indole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-2a,5a'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-triones) were synthesized via 1,3-dipolar cycloaddition of azomethinilides (obtained *in situ* from isatines and α -amino acids) with various dipolarophils based on bis-maleimides.

New mono-derivatives of spiro-2-oxindole[3,3']pyrrole are interesting in pharmacological aspect because they contain in their structure two highly active pharmacophoric fragments: the core of spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole and maleimide residue. On the other hand, from the point of view of the study of biological properties, bis-derivatives are also of interest, which can be regarded as identical “*twin drugs*” – physiologically active compounds containing two identical pharmacophore groups covalently combined into one molecule.

In order to optimize the method of synthesis of target compounds, the process of the reaction of three-component one-pot condensation of isatins, α -amino acids and *N,N'*-hexamethylene-bis-maleimide was studied depending on the ratio and nature of the reagents as well as the solvent and the mechanism of this interaction was analyzed. It is shown that the nature of the substituents in position 1 of isatin does not affect the process of this interaction. The structure of α -amino acids affects its flow. Thus, with the use of primary α -amino acids with aryl and benzyl radicals, the target compounds were formed with high yields in 30 - 60

minutes. With the use of primary α -amino acids with alkyl radicals and secondary L-proline and sarcosine, the reaction takes 5 - 8 hours.

An optimal solvent system for this reaction was selected: isopropanol mixed with water in a ratio (3:1). Compared to condensation in methanol-water (3:1) (which is widely used in the synthesis of such derivatives), the reaction time was shortened and the yields of the target products increased.

The peculiarities of the three-component interaction between isatin, amino acids and *N,N'*-di(3-carboxypropenoyl)-1,2-ethylenediamine are investigated. It was found that in the course of this reaction additionally there is a closure of the imide cycle to form ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-2a, 5a'-dihydro-2,2',6'-(1*H*,1'*H*, 5'*H*)-triones. A counter-synthesis was carried out in which, instead of dipolarofil (*N,N'*-di (3-carboxypropenoyl)-1,2-ethylenediamine), a product of its cyclization (*N,N'*-ethylene-bis-maleiminide) was used. It is shown that the main path of this interaction involves cycling into the imide cycle at the stage of formation of the adduct. To confirm this, a blank experiment was conducted: the heating of *N,N'*-di(3-carboxypropenoyl)-1,2-ethylenediamine under the same conditions without the addition of isatin and amino acids.

In order to expand the series of the new biologically active compounds, the possibilities of nitrosation, alkylation and acylation of the obtained substances were investigated. Thus, the nitrosation of hexamethylene-*N,N'*-bis(spiroindol-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-5'-benzyl-2a',5a'-dihydro-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione); ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-5'-methyl-2a',5a'-dihydro-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione); ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-5'-isopropyl-2a',5a'-dihydro-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione) and 1'-(*m*-phenylene-*N*-maleimido)-2a',5a'-dihydro-1'*H*-spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-5'-methyl-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione occurred at the NH-group of the pyrrole fragment in position 4'. Alkylation of ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-5'-phenyl-2a',5a'-dihydro-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione) occurred at the indole's N-1 position. Acylation of 1'-(*m*-phenylene-*N*-maleimido)-2a',5a'-dihydro-1'*H*-spiroindole-3,3'-

pyrrolo[3,4-c]pyrrole-5'-benzyl-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione occurred on two positions: on the secondary amino group of the pyrrole and indole fragments.

The structure of compounds synthesized was confirmed by IR-, ^1H , ^{13}C NMR-spectroscopy, mass-spectrometry and elemental analysis.

Data on the biological activity of the synthesized mono- and *bis*-derivatives of spiro-2-oxindole-[3,3']-pyrrole were obtained. Pharmacological studies allowed to identify substances with a significant level of antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory activities and inhibiting properties relative to kinase FGFR1.

Results allowed to select “leading substances” that can be recommended for further pharmaco-logical studies in order to create on their basis new drugs with the above types of pharmacological actions.

Keywords: organic synthesis, spiro-2-oxindole, *bis*-spirocyclic systems, isatin, α -amino acids, *bis*-maleimide, multicomponent reactions, nitroso derivatives, twin drugs, biological activity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	17
ВСТУП	18
РОЗДІЛ 1 СИНТЕЗ, ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ СПІРО-2-ОКСІНДОЛІВ І БІС-СПІРО-ОКСІНДОЛІВ (огляд літератури)	26
1.1 Сучасні підходи до синтезу спіро-2-оксіндолів та <i>біс</i> -спірооксіндолів	28
1.2 Біологічна активність природних сполук з ядром спіро-2-оксіндолу та <i>біс</i> -індоліновим фрагментом	41
1.3 Біологічна активність синтетичних спіро-2-оксіндолів та <i>біс</i> -спірооксіндолів	47
РОЗДІЛ 2 СИНТЕЗ ТА ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ СПІРОІНДОЛ-3,3'-ПІРОЛО[3,4- <i>c</i>]ПІРОЛІВ НА ОСНОВІ ТРИКОМПОНЕНТНОЇ ВЗАЄМОДІЇ ІЗАТИНІВ, α -АМІНОКИСЛОТ ТА <i>N,N'</i> -ГЕКСАМЕТИЛЕН-БІС-МАЛЕЇНІМІДУ	53
2.1 Синтез несиметричних гексаметилен- <i>N</i> -малеїн-імідопохідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4- <i>c</i>]піролу	54
2.2 Синтез та хімічні перетворення похідних гексаметилен- <i>N,N'</i> - <i>біс</i> -спіроіндол-3,3'-піроло[3,4- <i>c</i>]піролу	61
Експериментальна частина	80
Висновки до розділу 2	89
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ТРИКОМПОНЕНТНОЇ ВЗАЄМОДІЇ МІЖ ІЗАТИНОМ, α -АМІНОКИСЛОТАМИ ТА ДИПОЛЯРОФІЛАМИ НА ОСНОВІ МАЛЕЇНОВОЇ КИСЛОТИ	93
3.1 Синтез похідних етилен- <i>N,N'</i> - <i>біс</i> -спіроіндол-3,3'-	93

	піроло[3,4- <i>c</i>] піролу з використанням <i>N,N'</i> -етилен- <i>bis</i> -малеїніміду та їх хімічні перетворення	
3.2	Синтез і хімічні перетворення похідних <i>bis</i> -спіроіндол-3,3'-піроло[3,4- <i>c</i>]піролу та їх моно аналогів на основі <i>N,N'</i> - <i>bis</i> -малеїнімідоксаліламіну та <i>N,N'</i> - <i>m</i> -фінілен- <i>bis</i> -малеїніміду, в якості диполярофілів	107
	Експериментальна частина	116
	Висновки до розділу 3	123
РОЗДІЛ 4	ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ПОХІДНИХ СПІРО-2-ОКСІНДОЛ[3,3']ПІРОЛУ	126
4.1	Дослідження гексаметилен- <i>N</i> -малеїнімідо-похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4- <i>c</i>]піролу та їх <i>bis</i> -аналогів, як потенційних інгібіторів протеїнкаїназ	126
4.2	Дослідження протимікробної активності похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу	136
4.3	Дослідження антиоксидантної та протизапальної активності похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу	143
	Висновки до розділу 4	150
	ВИСНОВКИ	155
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	157
	ДОДАТКИ	175

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

δ	Хімічний зсув відносно тетраметилсилану ($\delta_{\text{TMS}} = 0$)
Ac	Ацетил
Ac ₂ O	Оцтовий ангідрид
AcOH	Оцтова кислота
Alk	Алкіл
Ar	Арил
BDHP	<i>Bis</i> -дигідропіридин похідне
Bn	Бензил
DCM	Дихлорметан
Et	Етил
FGFR1	Рецептор фактору росту фібробластів
Hal	Галоген
<i>i</i> -PrOH	Ізопропиловий спирт
LC/MS - MS	Рідинна хроматографія з мас-спектрометричною детекцією
Me	Метил
MeOH	Метиловий спирт
Ph	Феніл
TFA	Трифлуорооцтова кислота
БАР	Біологічно активні речовини
ВІЛ	Вірус імунодефіциту людини
ДМСО	Диметилсульфоксид
ДМФА	Диметилформамід
ІЧ	Інфрачервона спектроскопія
ЛЗ	Лікарський засіб
м. ч.	Мільйонні частки
ТГФ	Тетрагідрофуран
ТМС	Тетраметилсілан
Т _{пл.}	Температура плавлення
ЯМР	Ядерний магнітний резонанс

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Однією з актуальних задач сучасних органічної, фармацевтичної та медичної хімії залишається створення нових біологічно активних речовин – потенційних лікарських засобів, які б виявляли певну виражену дію та мінімальний побічний вплив.

Одним із перспективних напрямків по синтезу таких БАР є створення так званих подвійних ліків – сполук, які містять два однакові фармакофорні фрагменти, ковалентно сполучені в одній молекулі. Таке поєднання в багатьох випадках приводить до значущого збільшення рівня біологічної дії. Так, наприклад, відома симетрична молекула BDHP (яка побудована із двох фрагментів діючої речовини лікарського засобу нітрендипіну) фармакологічно більш активна в 10 разів ніж її вихідний моноаналог. Також серед подвійних ліків з доказаною ефективністю можна виділити антагоністи селективних β_1 -адренорецепторів, одержані шляхом дублювання фрагментів окспренололу; впроваджений в медичну практику новий противірусний засіб для лікування гепатиту С «Даклатасвір» тощо. Слід зазначити, що подвійні лікоподібні молекули розповсюджені і в природному світі. Зокрема, це такі відомі сполуки, як дикумарин (*Melilotus officinalis*), госсипол (*Gossypium hirsutum*), алкалоїд із *bis*-індоліновим фрагментом вінкрістін (*Vinca rosea*) тощо.

Перспективними групами сполук для створення на їх основі подвійних, а також бінарних ліків є *bis*-спіроіндоли та *bis*-спірооксіндоли. Ядро спірооксіндолу лежить в основі таких алкалоїдів як горсфілін (*Horsfildea Superba*), гелсемін (*Gelsemium sempervirens*), птероподін (*Uncaria tomentosa*), спіротріпростатини А, В (*Aspergillus fumigatus*) тощо, які виявляють антибактеріальну, протипухлинну, протизапальну активність. Похідні *bis*-спірооксіндолів також знайдено серед алкалоїдів, наприклад, це такі речовини як гелеганідини В і С та гелеганіміни А і В (*Gelsemium elegans*), що виявляють цитотоксичну, протизапальну та болезаспокійливу активність;

біснікалатерайн А (*Hunteria zeylanica*), який виявляє антиноцицептивну, жарознижувальну та протизапальну активність. З іншого боку, для багатьох синтетичних похідних спірооксіндолів встановлено наявність вираженої біологічної дії різної фармакологічної спрямованості, наприклад: антивірусна дія, інгібуюча по відношенню до холінестерази, протеази, кінази тощо, а сама спірооксіндолгетероциклічна структура є зручним об'єктом для хімічної модифікації.

В науковій літературі регулярно з'являються публікації присвячені розробці препаративних методів синтезу спіросполучених піроло-2-оксіндолів та вивченню їх фізико-хімічних властивостей. Багато авторів (Grigg R., Fejes I., Курбатов С. В., Lashgari N., Kanagaraju G., Rehn S., Lakshmi N. V., Kumar R. S., Швець А. А. та ін.) вважають, що одним із найкращих підходів для конструювання спіропіролооксіндольного ядра є реакція 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів, яка є простим шляхом до синтезу як моно- так і *біс*-похідних даної спірогетероциклічної системи, та зокрема надає змогу створення на їх основі нових подвійних ліків. За допомогою варіювання реагентів в реакціях 1,3-диполярного або [3+2] циклоприєднання можливо синтезувати різноманітні *біс*-похідні спіросполучених піроло-2-оксіндолів, з'єднаних між собою полімерним ланцюгом (зазвичай метиленовим), ароматичним або гетероароматичним кільцем, що має значний вплив на прояв біологічної дії цільових сполук. Однією із груп диполярофілів, які можливо застосовувати в зазначеному перетворенні, є похідні малеїніміду. З одного боку, вони є зручними у хімічному плані, з іншого – їх використання дозволяє ввести в молекулу фрагмент малеїнової (янтарної) кислоти, що може позитивно вплинути на прояв біологічних властивостей.

Тому, пошук нових потенційних БАР серед похідних *біс*-спіро-2-оксіндол-3,3'-піролу шляхом дослідження та використання реакції 1,3-диполярного циклоприєднання з застосуванням диполярофілів на основі малеїнової кислоти та вивчення впливу подібних комбінувань на прояв

біологічних властивостей є перспективним напрямком у створенні нових, ефективних подвійних лікарських засобів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету з проблеми МОЗ України «Хімічний синтез і аналіз біологічно-активних речовин, створення лікарських засобів синтетичного походження» (номер державної реєстрації 0103U000475, термін дії 2003-2013 рр.) і «Органічний синтез та аналіз БАР, розробка лікарських засобів на основі синтетичних та напівсинтетичних субстанцій» (номер державної реєстрації 01143U000943, термін дії 2014-2019 рр.) і планом проблемної комісії “Фармація” МОЗ України.

Мета і завдання дослідження

Мета роботи – одержати нові моно- та *біс*-похідні спіро-2-оксіндол[3,3']піролу шляхом використання реакції 1,3-диполярного циклоприєднання з застосуванням різноманітних диполярофілів на основі *біс*-малеїніміду та отримати дані щодо можливостей подальшого фармакологічного застосування цільових сполук.

Задачі дослідження:

- шляхом трикомпонентної взаємодії ізатинів, α -амінокислот та *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїніміду отримати нові ряди спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролів, які поєднують у своїй структурі два високоактивних фармакофори – ядро спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та малеїнімідний фрагмент;
- одержати несиметричні похідні гексаметилен-*N*-малеїнімідо-похідні спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу;
- синтезувати симетричні похідні гексаметилен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону), які містять дві однакові фармакофорні групи, об'єднані ковалентно в одну молекулу;

- дослідити особливості перебігу, вплив природи реагентів та розчинників на реакцію трикомпонентної конденсації ізатинів, α -амінокислот та *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїніміду;
- дослідити реакції 1,3-диполярного циклоприєднання з використанням у якості диполярофілів *N,N'*-етилен-*bis*-малеїніміду, *N,N'*-*bis*-малеїнімідоксаліламіну та *N,N'*-*m*-фенілен-*bis*-малеїніміду, вивчити хімічні властивості отриманих сполук та одержати їх функціоналізовані похідні;
- довести будову синтезованих сполук з використанням сучасних інструментальних методів аналізу;
- спланувати та провести фармакологічний скринінг синтезованих сполук з метою виявлення потенційних БАР та за його результатами виявити закономірності взаємозв'язку «структура – біологічна дія»;
- базуючись на результатах досліджень біологічної активності обрати найбільш перспективні субстанції для подальшого поглибленого фармакологічного вивчення.

Об'єкт досліджень – синтез БАР в ряду моно- та *bis*-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу, їх фармакологічний скринінг та встановлення закономірностей взаємозв'язку «структура – біологічна дія».

Предмет досліджень – методи синтезу, фізико-хімічні властивості моно- та *bis*-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу, методи дослідження біологічної активності синтезованих сполук.

Методи дослідження

Органічний синтез, інструментальні методи визначення структури та індивідуальності синтезованих сполук (ІЧ-, ^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія, елементний аналіз); дослідження біологічних властивостей з використанням стандартних методик (в системах *in silico*, *in vitro* та *in vivo*); аналіз отриманих результатів та їх узагальнення.

Наукова новизна отриманих результатів

Синтезовано нові ряди похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу, зокрема: несиметричні гексаметилен-*N*-малеїнімідопохідні спіроіндол-3,3'-піроло

[3,4-с]піролу та симетричні гексаметилен-*N,N'*-*біс*-спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-с]піроли, етилен-*N,N'*-*біс*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піроли, симетричні похідні *m*-фенілен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) та їх моно-аналоги та похідні *N,N'*-*біс*-малеїн-імідоксаліламіну шляхом трикомпонентної взаємодії ізатину з α -аміно-кислотами та диполярофілами на основі *біс*-малеїнімідів (*N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїнімід, *N,N'*-етилен-*біс*-малеїнімід, *N,N'*-*m*-фенілен-*біс*-малеїнімід та *N,N'*-*біс*-малеїнімідоксаліламін відповідно) – потенційні БАР, що поєднують у своїй структурі два високоактивних фармакофори: ядро спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с] піролу та малеїнімідний фрагмент, а *біс*-похідні спіро-2-оксіндол[3,3']піролу, які містять дві однакові ковалентно сполучені фармакофорні групи, в свою чергу, є потенційними новими подвійними БАР.

Досліджено перебіг трикомпонентної конденсації ізатинів, α -аміно-кислот з *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїнімідом та встановлена її залежність від співвідношення та природи реагентів і розчинників.

Показана можливість подальшої хімічної модифікації похідних гексаметилен(етилен, оксаліламін, *m*-фенілен)-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с] пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) на прикладі: етилен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону), етилен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-ізопропіл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону), гексаметилен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-бензил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) та 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-метил-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону шляхом модифікації NH-групи пірольного фрагменту в положенні 4' (алкілювання, ацилювання, нітрозування).

Вперше одержано дані про біологічну активність синтезованих моно- та *біс*-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу. Знайдено сполуки, які виявили виражену протимікробну, антиоксидантну, протизапальну активності та

проявили інгібуючі властивості стосовно рецептора фактора росту фібробластів (FGFR1) і є перспективними БАР.

Наукова новизна отриманих результатів підтверджена патентами України на корисну модель № 124687 від 25.04.2018, бюл. № 8/2018 «1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1*H*-спіро[індол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин]-2,2',7'(1*H*,3*H*,5*H*)трион, який містить малеїнімідний лінкер, проявляє інгібуючі властивості стосовно рецептора фактора росту фібробластів і чинить протимікробну дію» та № 130910 від 26.12.2018, бюл. № 24/2018. «Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1*H*,5*H*)-трион), який виявляє протизапальну активність».

Практичне значення отриманих результатів

Показано, що реакція 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів, отриманих *in situ* із ізатинів та α -амінокислот з диполярофілами на основі біс-малеїнімідів є ефективним способом отримання моно- та біс-похідних складної гетероциклічної системи спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та може бути рекомендована як препаративна.

Проведений фармакологічний скринінг синтезованих сполук виявив речовини з антикіназною, протимікробною, антиоксидантною та протизапальною активностями. Обрано та запатентовано «сполуки-лідери» з вираженим рівнем зазначених видів біологічної дії, які є перспективними БАР для подальших поглиблених фармакологічних досліджень.

Результати наукових досліджень впроваджено в науково-педагогічні процеси: кафедр фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (м. Львів), кафедри медичної та біоорганічної хімії Харківського національного медичного університету (м. Харків), кафедри органічної і біоорганічної хімії Запорізького державного медичного університету (м. Запоріжжя), кафедри загальної хімії Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (м. Тернопіль).

Особистий внесок здобувача

Визначення мети та задач дослідження, формулювання основних положень та висновків проведено спільно з науковим керівником. Дослідження біологічної дії проводили: у відділі біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України; на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології НФаУ; на базі Державної установи «Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України» та на кафедрі біологічної хімії НФаУ. У наукових працях, опублікованих із співавторами Л. А. Шемчуком, В. П. Черних, Р. Г. Редькіним, С. М. Ярмолюком, К. .В. Глебовою, Н. І. Філімоновою, Т. П. Осолодченко, Г. Б. Кравченко особисто автором виконані: пошук та аналіз літературних джерел за темою дисертації; синтетичні експериментальні дослідження; інтерпретація результатів спектральних даних; обробка, аналіз та оформлення результатів синтетичних, фізико-хімічних та біологічних досліджень.

Апробація результатів дисертації

Основний зміст дисертаційної роботи доповідався на: Всеукраїнській науковій конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю «Хімічні проблеми сьогодення» (Донецьк, 17-20 березня 2014 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Actual questions of development of new drugs» (Харків, 22-23 квітня 2014 р.), Українській науково-практичній конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження д-ра хім. наук, проф. Павла Олексійовича Петюніна «Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій» (Харків, 24–25 квітня 2014 р.), XII Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії (Дніпропетровськ, 19-21 травня 2014 р.), XV Науковій конференції «Львівські хімічні читання» (Львів, 24-27 травня 2015 р.), III Міжнародній науково-практичній конференції «Химия, био- и нанотехнологии, экология и экономика в пищевой и косметической промышленности» (Харків, 15–16 жовтня 2015 р.), XII Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів

з актуальних питань хімії (Харків, 11–13 травня 2016 р.), VIII Національному з'їзді фармацевтів України (Харків, 13–16 вересня 2016 р.), XXIV Українській конференції з органічної хімії (Полтава, 19–23 вересня 2016 р.), X Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання» (Харків, 23–25 квітня 2018 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 12-13 квітня 2018 р.), VIII Міжнародній конференції «Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles» (Харків, 12–16 листопада 2018 р.).

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 188 сторінках друкованого тексту (обсяг основного тексту 145 сторінок) і складається зі вступу, чотирьох розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 3 додатків. Робота ілюстрована 49 схемами, 36 рисунками і 28 таблицями. Список використаних джерел містить 153 найменування, з них 34 кирилицею та 119 латиницею.

РОЗДІЛ 1
СИНТЕЗ, ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ
СПІРО-2-ОКСІНДОЛІВ І БІС-СПІРООКСІНДОЛІВ
(огляд літератури)

Спіро-2-оксіндоли та біс-спірооксіндоли є достатньо привабливою групою органічних сполук, оскільки їх природні і синтетичні похідні характеризуються різноманітним спектром біологічних властивостей та є цікавими об'єктами для науковців, які працюють в сфері органічної, фармацевтичної, медичної хімії та хімії природних сполук. Останніми роками в синтетичній хімії багато уваги приділяється спіросполученим піролооксіндолам, ядро яких є основою природних алкалоїдів, що виявляють виражену біологічну активність [1]. Крім того, похідні біс-спірооксіндолів можна також розглядати, як вихідні сполуки для створення подвійних та бінарних ліків. Було доведено, що створення фізіологічно активних сполук, які містять дві однакові фармакофорні групи, об'єднані ковалентно в одну молекулу, приводить до значного збільшення біологічної активності. Класичним прикладом є симетрична молекула BDHP (рис. 1.1), фармакологічна активність якої в 10 разів вища ніж активність нітрендипіну, із двох молекул якого вона побудована [2]; також шляхом дублювання фрагментів окспренололу створено нові антагоністи селективних β_1 -адренорецепторів [3]. У 2010 році розроблено новий протівірусний препарат для лікування гепатиту С – «Даклатасвір», молекула якого складається з двох симетричних фрагментів [4, 5]. Слід зазначити, що подвійні лікоподібні молекули знайдено також і серед природних сполук. Зокрема, це такий відомий антикоагулянт, як дикумарин (дикумарол) – похідне 4-гідроксикумарину, виділене із *Melilotus officinális*; госсипол – поліфенол, що міститься у *Gossypium hirsutum* [6], алкалоїд із біс-індоліновим фрагментом – вінкрістин, виділений із *Vinca rosea*, що застосовується, як цитостатичний препарат [7, 8] (рис. 1.1). Велику кількість наукових публікацій

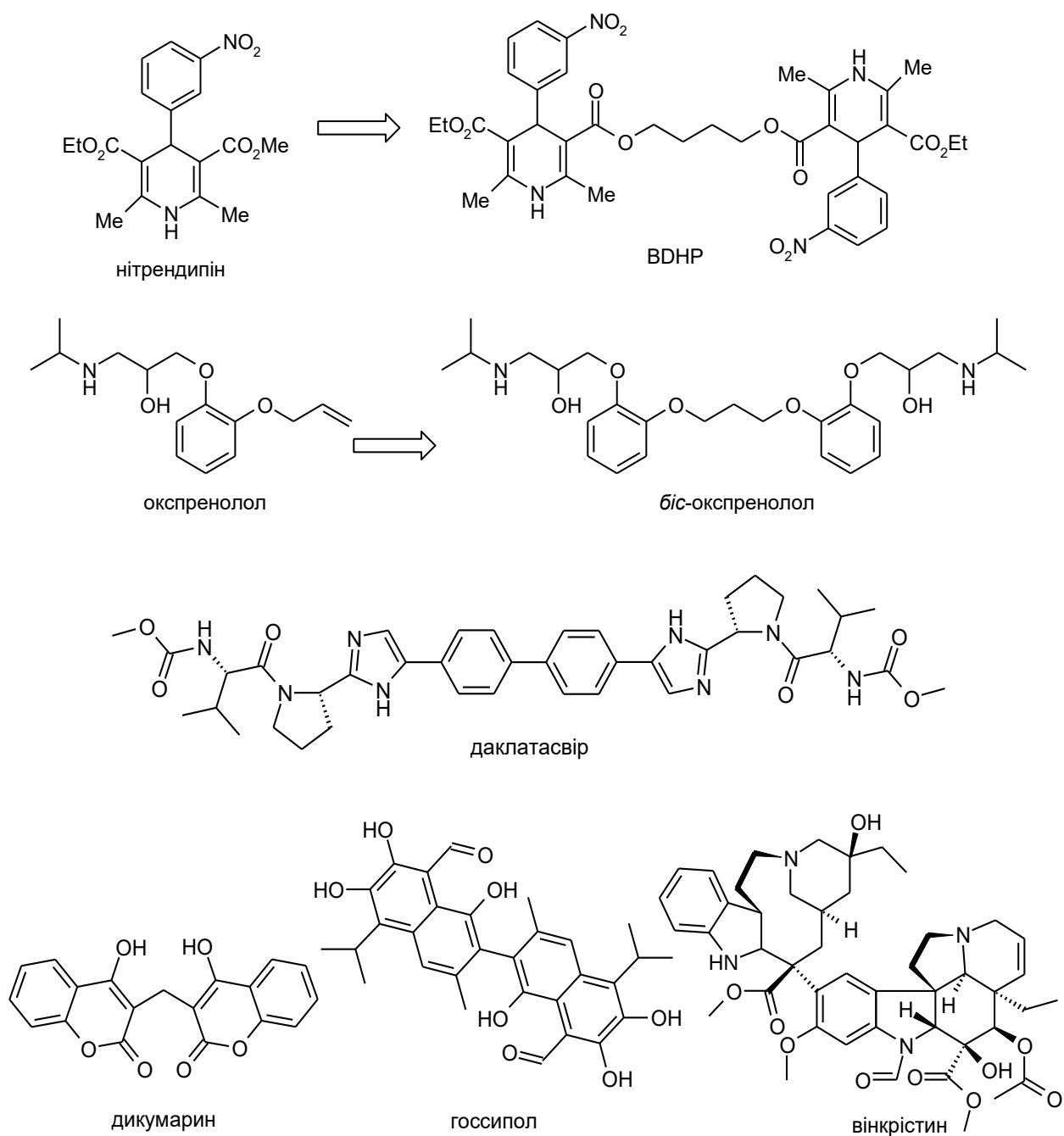


Рис. 1.1 Синтетичні та природні подвійні лікоподібні молекули

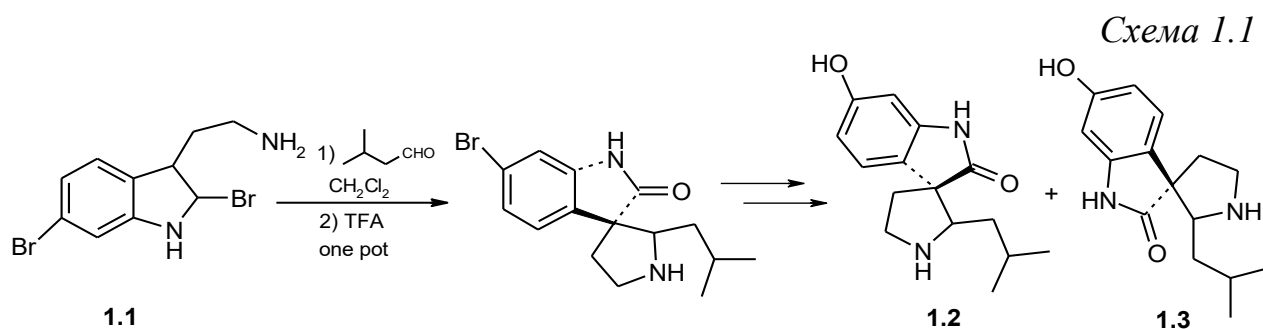
присвячено дослідженню природних та отриманню нових синтетичних похідних спіро-2-оксіндолів і *бис*-спіро-оксіндолів та пошуку можливостей їх фармакологічного застосування.

Крім того, в науковій літературі регулярно з'являються нові дані щодо методів синтезу та біологічної активності похідних даного класу сполук.

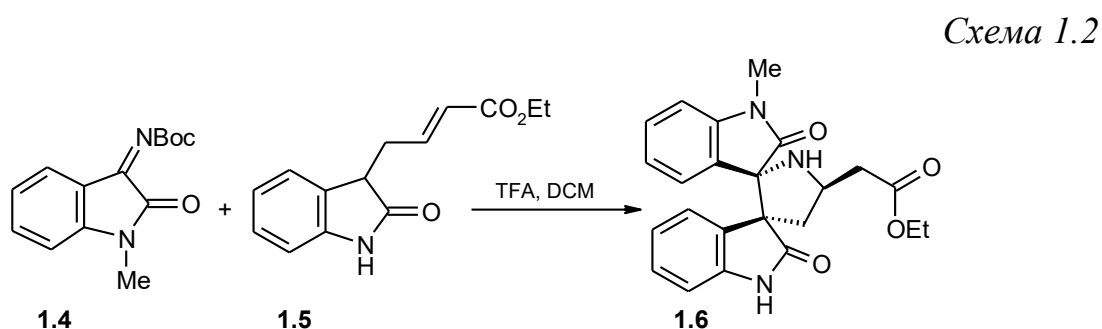
1.1 Сучасні підходи до синтезу спіро-2-оксіндолів та біс-спірооксіндолів

Для конструювання спіропіролооксіндольних систем широко використовують багатокомпонентні доміно реакції: модифіковані варіанти реакції Манніха, Хека, каскадні перетворення тандему Міхаеля–Альдола, трикомпонентні конденсації ізатинів, амінокислот та 1,3-диполярфілів тощо.

Так авторами [9] було використано інтрамолекулярний метод реакції Манніха для синтезу алкалоїдів *елакоміну* **1.2** та *ізоелакоміну* **1.3**, шляхом стереоконтрольованої спіроциклізації дигалогентриптаміну **1.1** (схема 1.1)

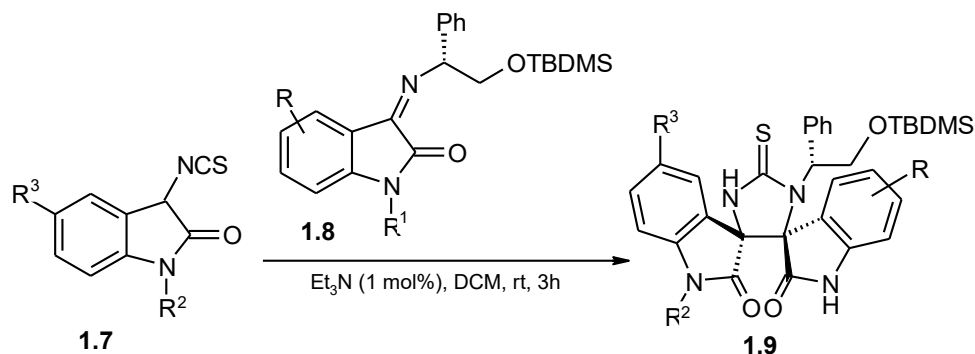


Стереоселективний синтез функціоналізованого 3,3'-похідного піролідинілдиспірооксіндолу **1.6** проведено завдяки органокаталітичному захисту Манніха через доміно реакцію об'єднання N-Вос-захищених ізатинових кетоімінів **1.4** та 4-(3-оксіндоліл)-кротонової кислоти етилового естеру **1.5** (схема 1.2) [10].



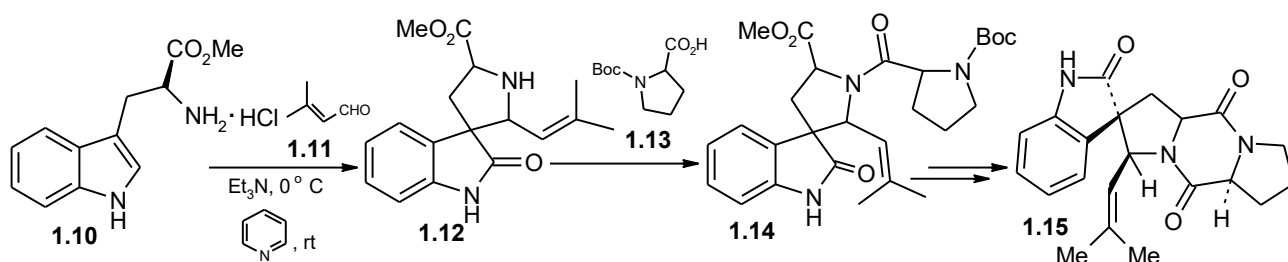
Авторами [11] було застосовано реакції 3-ізотіоціанато-2-оксіндолів **1.7** з різноманітними 3-N-(4-метоксифеніл)іміно-2-оксіндолами **1.8** (OTBDMS – *о-трет*-бутилдиметилсіліл) в присутності триетиламіну, що дозволило отримати різні диспіроімідазолідин-2-тіоноксіндоли **1.9** з високими виходами (84-95%) і діастереоселективністю (схема 1.3).

Схема 1.3



У роботі [12] описано одержання алкалоїду *спіротріпростатину В* **1.15** виходячи з гідрохлориду метилового естеру триптофану **1.10** та пренілальдегіду **1.11**, у присутності триетиламіну отримували суміш діастереоізомерних спіро[піролідин-3,3'-оксиндолів] **1.12**. Подальше ацилювання N-Бос-L-проліном **1.13** приводило до отримання сполуки **1.14**, яка далі циклізувалась в *спіротріпростатин В* **1.15** (схема 1.4).

Схема 1.4



Наступним методом побудови спірооксіндольної системи є оксидативне перегрупування тетрагідро- β -карболінів та споріднених до них сполук. Перший варіант такого синтезу був запропонований у роботі [13]. Так, взаємодією тетрагідро- β -карболіну **1.16** з плюмбум (IV) ацетатом було отримано 4- α -ацетоксиіндоленін **1.17**, який далі в умовах кислотного каталізу зазнавав перегрупування з утворенням алкалоїду *горсфіліну* **1.18** у вигляді рацемічної суміші (схема 1.5).

У роботі [14] описано простий стереоспецифічний метод отримання спірокетооксіндолів **1.20** з високими виходами шляхом дії *трет*-бутил гіпохлориду на тетрациклічний кетон **1.19** (схема 1.6). Дані похідні використовуються в подальшому для отримання воахалотин-споріднених оксіндольних алкалоїдів.

Схема 1.5

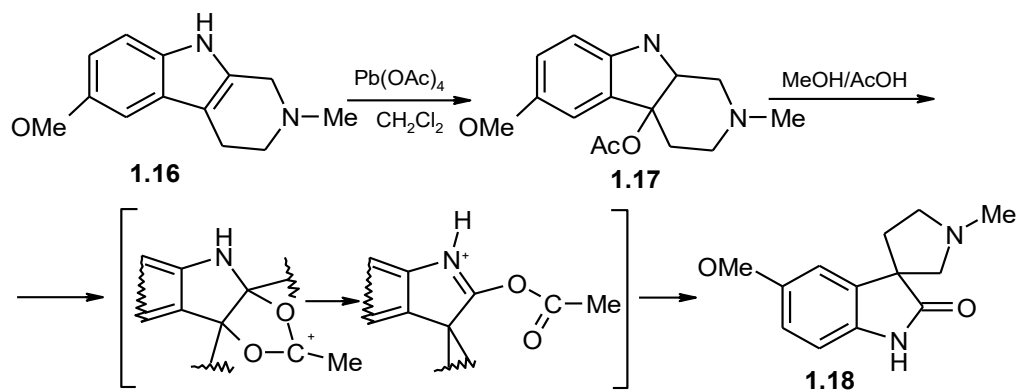
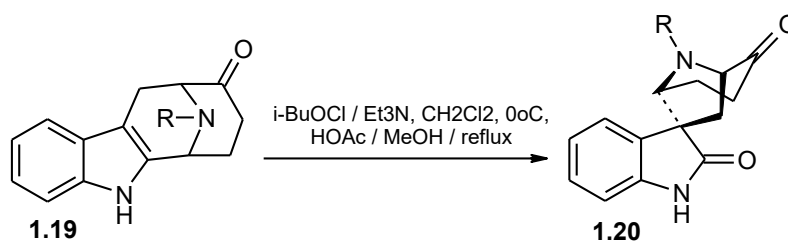
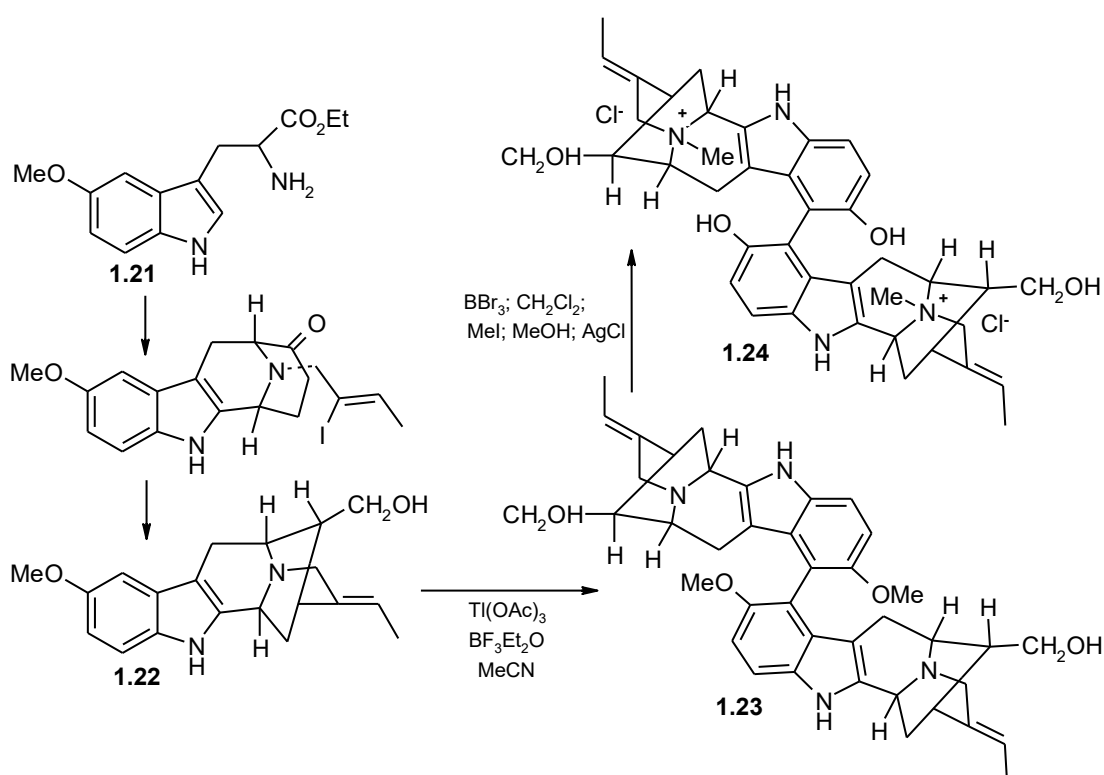


Схема 1.6

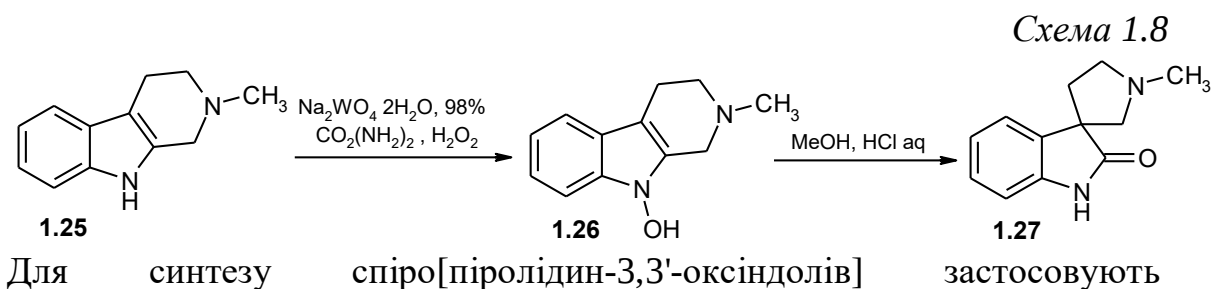


Автори [15] описали перший загальний синтез димерного індольного алкалоїду *діснегатрину* **1.24**. Виходячи з етилового естеру 5-метокси-D-триптофану **1.21** отримували алкалоїд *лохнерин* **1.22**, який перетворювали в димерну сполуку **1.23**. Синтез *діснегатрину* **1.24** завершували деметилюванням **1.23** (схема 1.7).

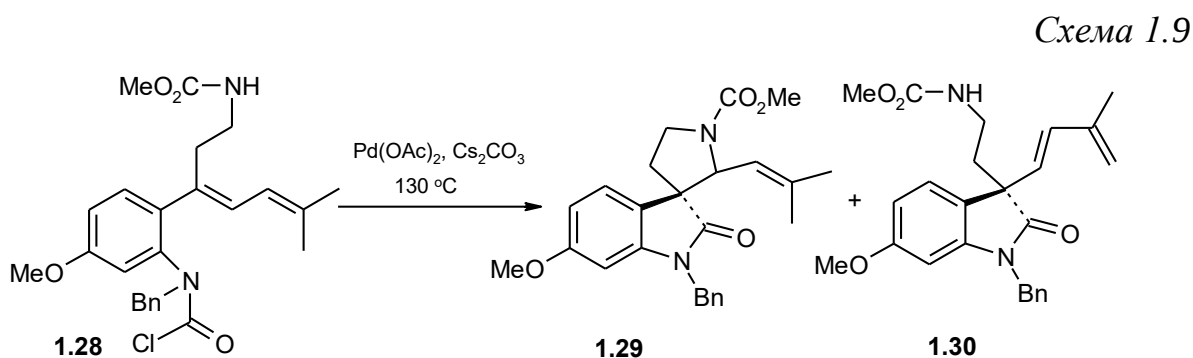
Схема 1.7



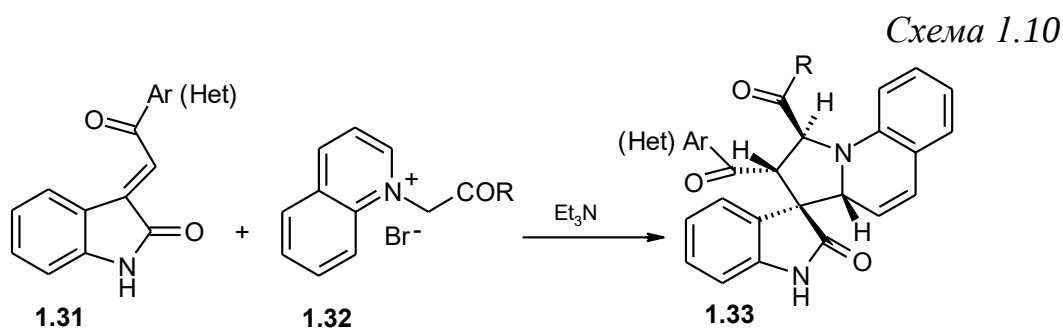
У роботі [16] запропоновано метод селективного гідроксилювання атому нітрогену індольного циклу шляхом окиснення β -карболінів **1.25** пероксидом водню та натрій вольфрамом. Отриманий при цьому 9-гідрокси- β -карболін **1.26** легко перетворюється в спіроалкалоїд (-)-церулісцин **1.27** (схема 1.8.)



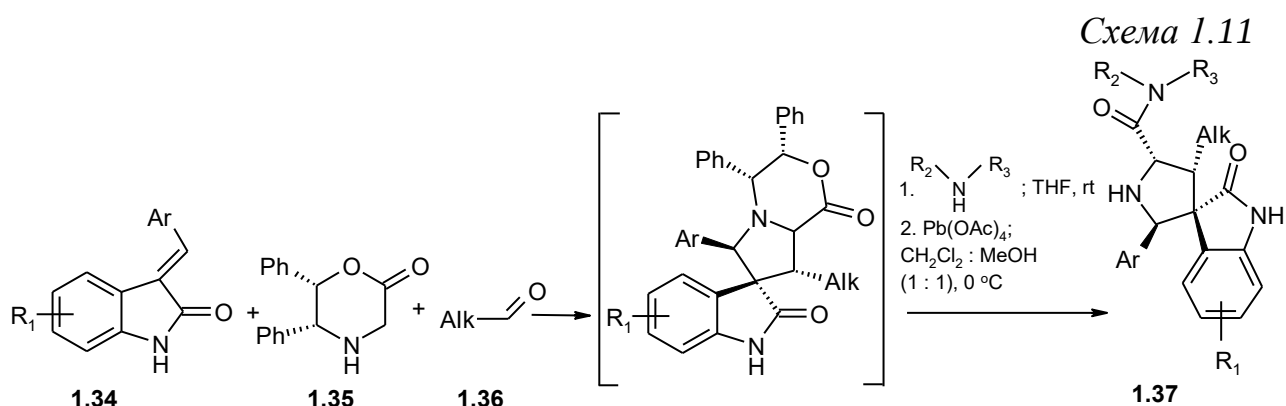
інтрамолекулярну реакцію Хека. Автори [17, 18] отримали подібні системи шляхом інтрамолекулярної доміно циклізації карбомойлхлориду **1.28** у присутності бісмут (III) ацетату, паладій (II) ацетату, цезій (I) карбонату або з бісмут (III) трифталатом як каталізаторів (схема 1.9). В останньому випадку поряд зі спірооксіндолом **1.29** не відбувалось утворення дієну **1.30**, що спостерігалось у першому випадку.



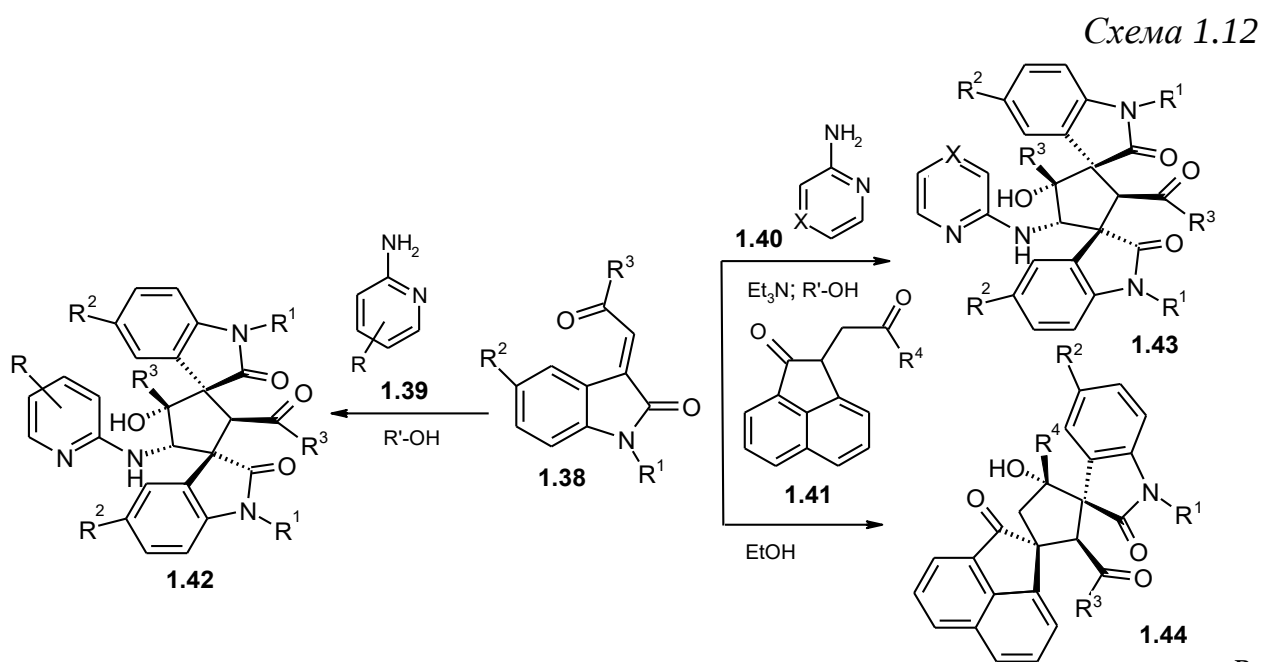
У роботі [19] описано синтез серії 3,3'-спірооксіндолів **1.33** циклоприєднанням фенілацилхінолінію **1.32** до 3-[(E)-2-арил(гетерил)-2-оксоетиліден]індолін-2-онів **1.31** (схема 1.10).



Авторами [20, 21], завдяки трикомпонентній каскадній взаємодії 3-ариліден-2-оксіндолів **1.34** з 5,6-дифенілморфолін-2-оном **1.35** та аліфатичними альдегідами **1.36** отримані 3,3'-спірооксіндоли **1.37** (схема 1.11).



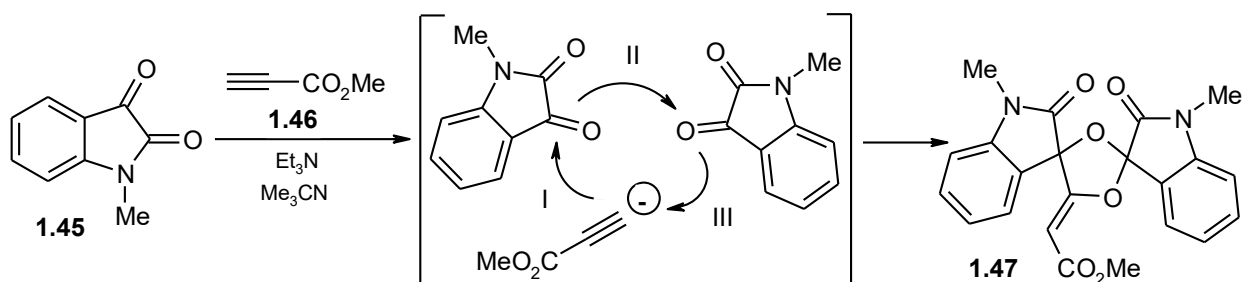
Одним із підходів до побудови *біс*-спірооксіндольних систем є застосування реакції тандему Міхаеля–Альдола [22]. Автори [22, 23, 24] описують синтез поліфункціоналізованих *біс*-спіроциклопентан-оксіндолів (схема 1.12), взаємодією 3-фенациліденоксіндолів **1.38** з піперидином **1.39**



середовищі етанолу. Так були отримані *біс*-спіро-циклічні сполуки **1.42**. доміно реакція між двома молекулами 3-фенациліденоксіндолів **1.38** з додаванням піридин-2-іламіну або піразин-2-іламіну **1.40** і триетиламіну приводила до отримання *біс*-спіроциклічних сполук **1.43**. Реакція між **1.38** і фенацилацетнафтиленом **1.41** проводилась за участю розчинника – діізопропілетиламіну з отриманням *біс*-спіроциклічних сполук **1.44**.

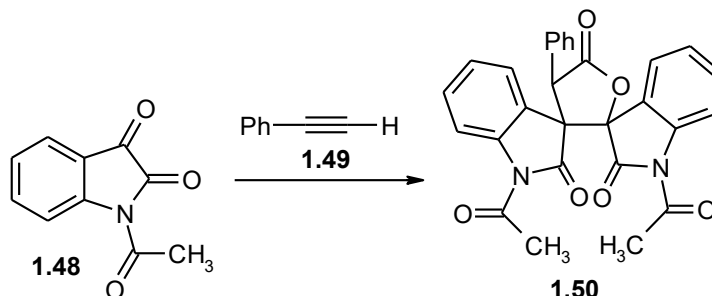
Автори [25] описують метод побудови *біс*-спірооксіндольної системи каталітичною доміною реакцією між N-метилізатином **1.45** та метилпропіолатом **1.46**. Шляхом послідовного приєднання аніону ацетиліду до карбонільної групи ізатину та подальшого приєднання отриманого оксіаніону до другої молекули ізатину відбувається остаточний процес 5-екзоциклізації, що приводить до утворення цільових сполук **1.47** (схема 1.13).

Схема 1.13



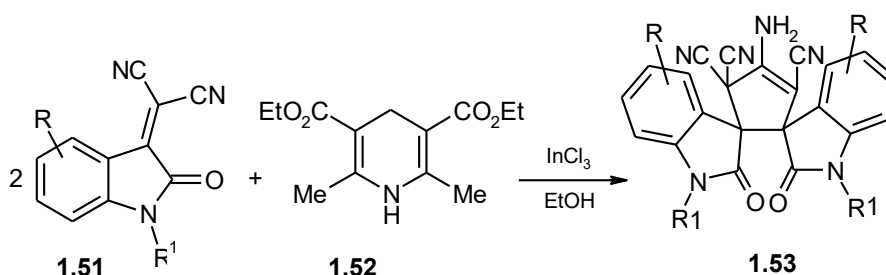
У роботі [26] *біс*-спірооксіндольна система **1.50** була побудована взаємодією N-ацетилізатину **1.48** з фенілацетиленом **1.49** (схема 1.14).

Схема 1.14



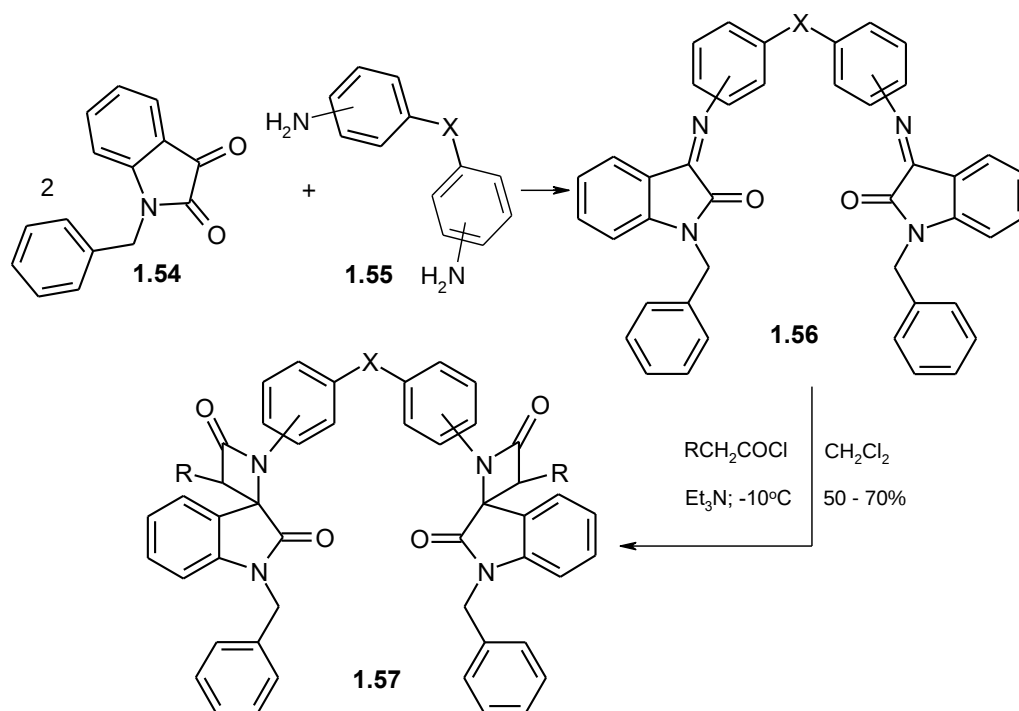
Авторами [27] описано метод побудови *біс*-спірооксіндольної системи **1.53** шляхом циклізації двократного надлишку ізаліліденових малононітрилів **1.51** з 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбоксиловою кислотою діетиловим естером **1.52** (схема 1.15).

Схема 1.15



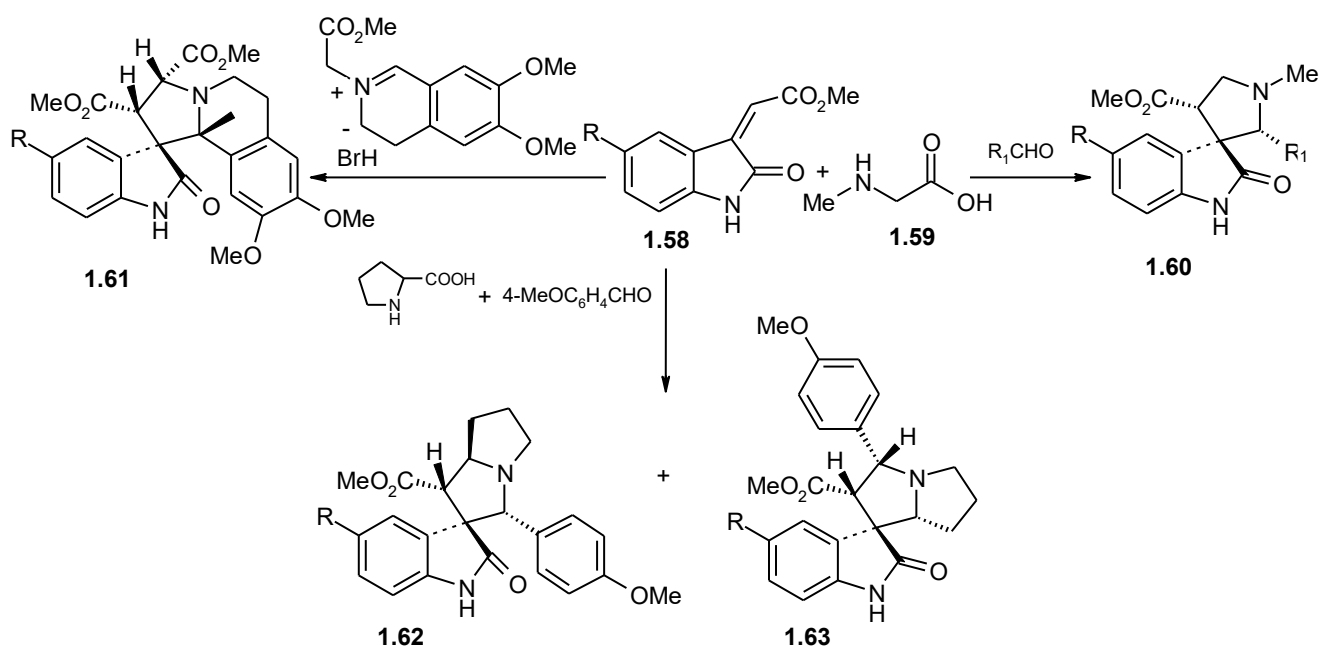
У роботах [28, 29] автори описують синтез *біс*-імінів **1.56** шляхом взаємодії двократного надлишку *N*-бензилізатину **1.54** з ароматичними діамінами **1.55**. Подальша взаємодія *біс*-імінів **1.56** з 2-заміщеними ацетилхлоридами у присутності триетиламіну приводила до утворення *біс*-спіроазетидин-оксіндолів **1.57**, як показано на схемі 1.16.

Схема 1.16



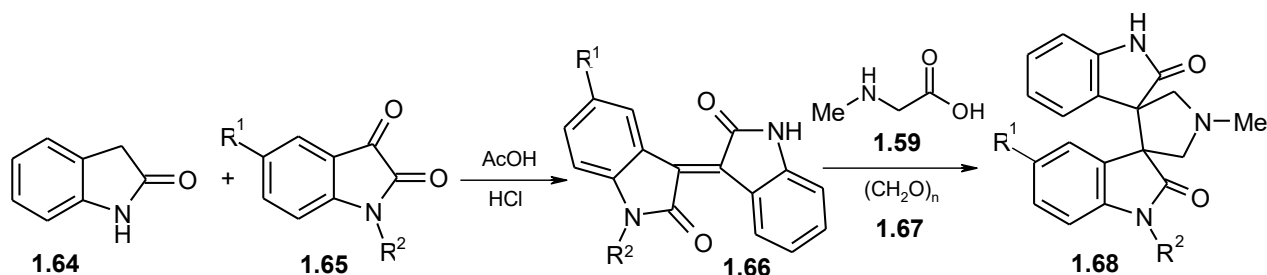
Дуже широкого застосування для синтезу спірооксіндолів та, зокрема, спіропіролілоксіндолів та *біс*-спірооксіндолів набули реакції 1,3-диполярного циклоприєднання, які є ефективними у синтезі п'ятичленних гетероциклів. У таких синтезах значне місце посідають азометиніліди, використання яких дозволяє одержувати 2-оксіндолін-3-іліден похідні [30, 31]. Так, наприклад, використання метилоксіндоліден ацетату **1.58** в реакціях з саркозіном **1.59** та карбонільними сполуками або метиловим естером 6,7-діметоксі-3,4-дигідроізохінолін-2-іл гідроброміду дозволяє отримати спіропіролілоксіндоли **1.60**, **1.61** (схема 1.17). При використанні анісового альдегіду та D, L-проліну, отриманий продукт одержують у вигляді суміші ізомерів **1.62** і **1.63**.

Схема 1.17



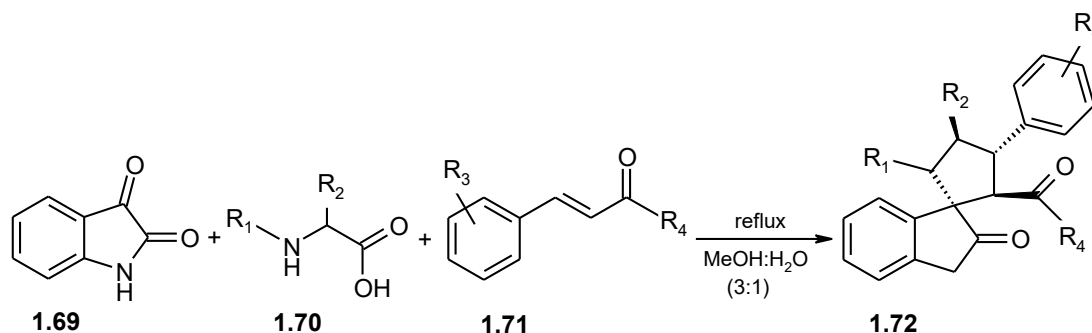
У роботі [32] β,β' -біс-спіропохідні оксіндолу **1.68** одержували шляхом диполярного [3+2] циклоприєднання азометиніліду, який утворювався *in situ* із саркозину **1.59** та параформальдегіду **1.67**, до ізоіндиго **1.66**. Ізоіндиго, в свою чергу, отримували шляхом конденсації оксіндолу **1.64** та ізатинів **1.65** (схема 1.18).

Схема 1.18



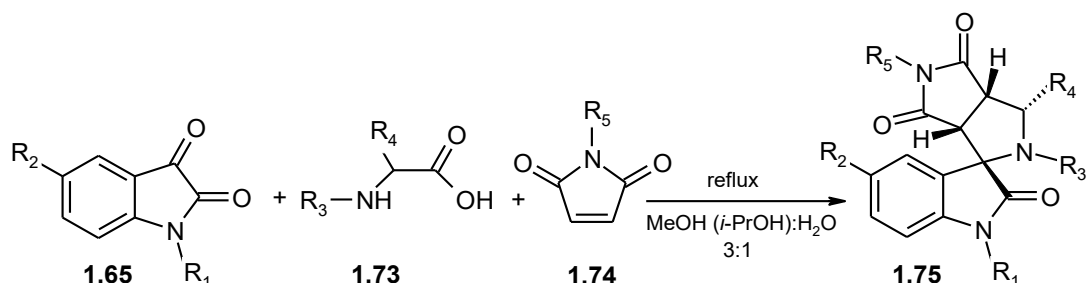
Доміно 1,3-диполярне циклоприєднання азометинілідів, отриманих *in situ* шляхом конденсації ізатинів та α -амінокислот з різноманітними диполярофілами дозволяє отримати широкі ряди 3,2'-спірооксіндолів [33, 34,]. Так використання ізатину **1.69**, α -амінокислот **1.70** та (E)- β -заміщених стиренів **1.71** приводить до утворення похідних спіро[піролідин-3,2'-оксіндолу] **1.72** (схема 1.19) [35, 36].

Схема 1.19



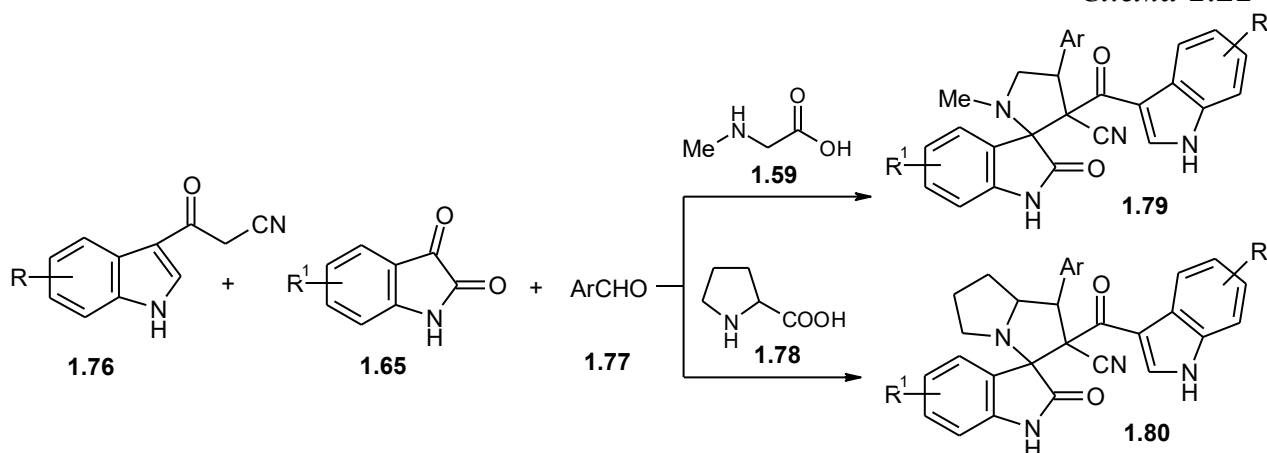
Взаємодія малеїнімідів **1.74** з азометинілідами, отриманими з ізатинів **1.65** та ацильованих α -амінокислот **1.73**, веде до утворення похідних з піроло[3,4-с]пірольною системою **1.75** (схема 1.20) [37, 38].

Схема 1.20



У роботі [39] описана багатокомпонентна реакція циклоприєднання 3-ціаноацетиліндолів **1.76**, ізатинів **1.65**, альдегідів **1.77** та саркозину **1.59** або L-проліну **1.78**, яка веде до утворення спіропіролооксіндолів **1.79** та **1.80** відповідно (схема 1.21).

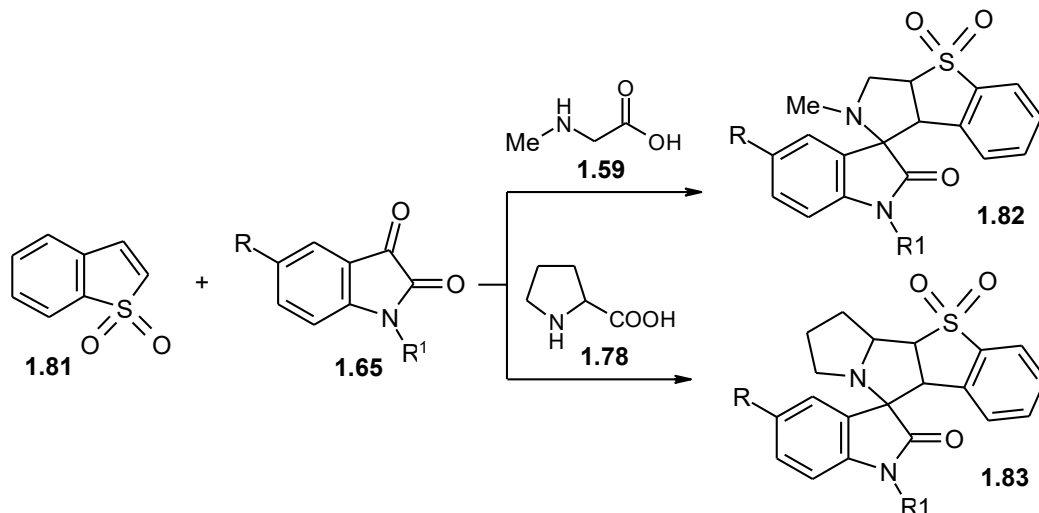
Схема 1.21



Авторами [40] описано синтез серії спірооксіндолів, що містять три- та тетрациклічно конденсований піролобензотіофен-1,1-диоксид. Такі сполуки **1.82**, **1.83** отримували шляхом реакції регіоселективного

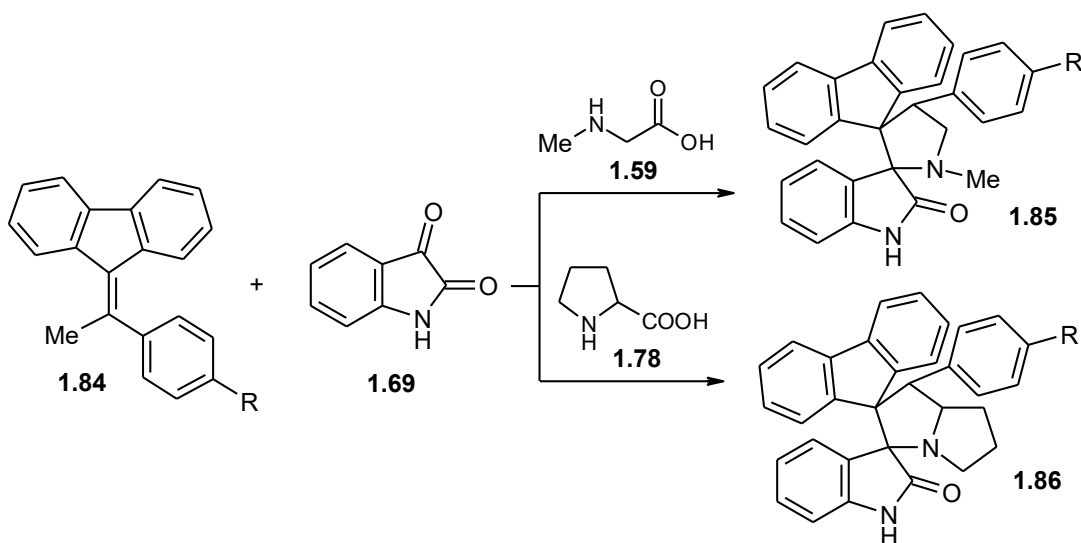
багатокомпонентного 1,3-диполярного циклоприєднання 1-бензотіофен-1,1-діоксиду **1.81**, ізатинів **1.65** і саркозину **1.59** або L-проліну **1.78** відповідно (схема 1.22).

Схема 1.22



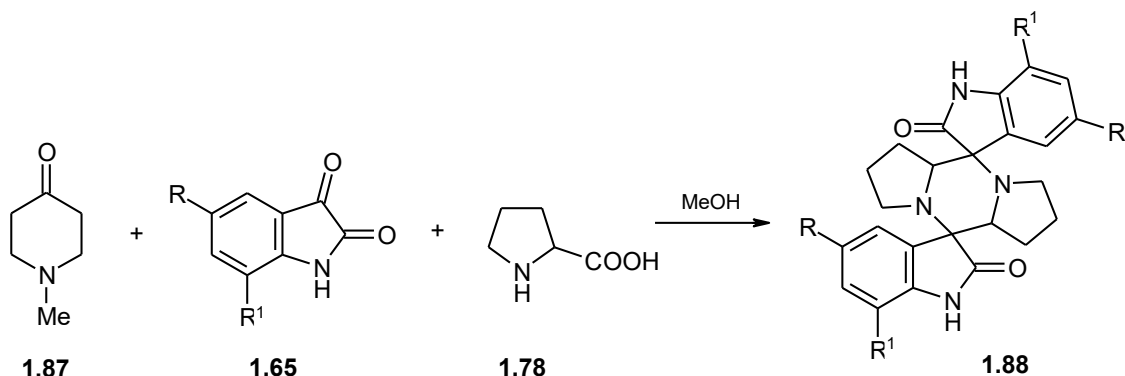
Синтез нових диспіропіролопіролізидин кільцевих систем **1.85** та **1.86** описано у роботі [41] (схема 1.23). Дані сполуки отримували шляхом циклоприєднання азометинілідів, які утворювалися в процесі реакції з ізатину **1.69** та L-проліну **1.78** або саркозину **1.59** відповідно, до диполярофіла 9-ариліденфлуорену **1.84**.

Схема 1.23



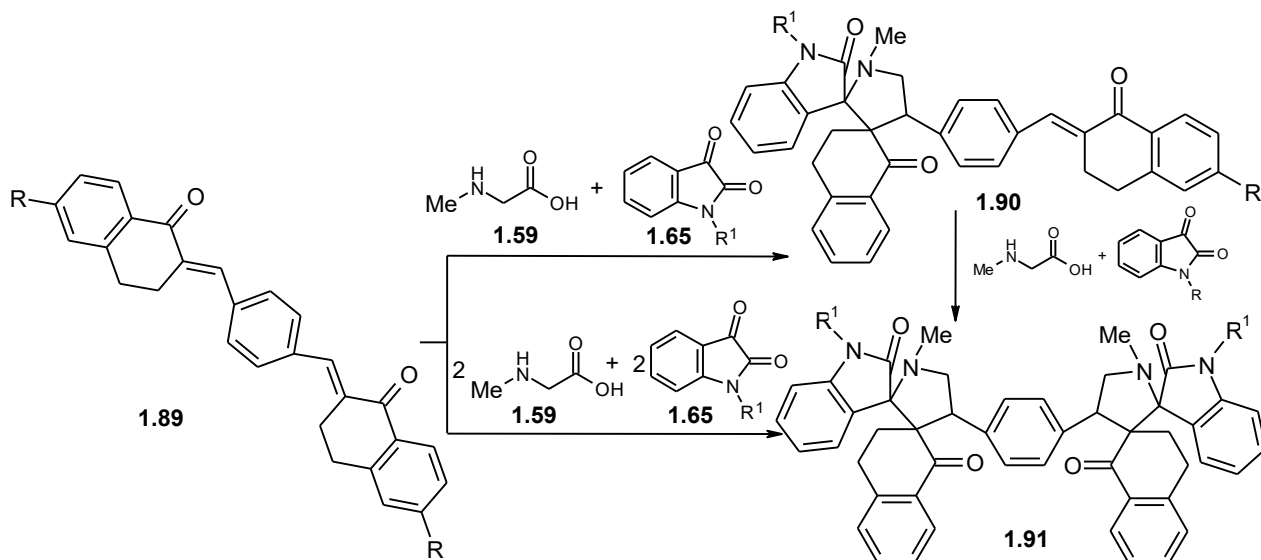
Для синтезу біс-спірооксіндолів **1.88** автори [42] також використовували доміно реакцію 1,3-циклоприєднання між ізатинами **1.65**, L-проліном **1.78** та N-метилморфоліном **1.87** (схема 1.24).

Схема 1.24



У літературі [43] описано стереоселективний метод синтезу похідних *біс*-тетраспірооксіндолпіролідину **1.91**, шляхом 1,3-диполярного циклоприєднання *біс*-диполярофілів **1.89** з 1,3-адуктом, отриманим із ізатинів **1.65** та саркозину **1.59** (схема 1.25). Регіоселективність даної реакції залежала від співвідношення реагентів. Так, при еквімолярному співвідношенні диполярофілів, саркозину та ізатинів отримували монозаміщені похідні диспірооксіндолпіролідину **1.90**, а при двохкратному надлишку сарказину та ізатинів були отримані похідні *біс*-тетраспірооксіндолпіролідину **1.91**.

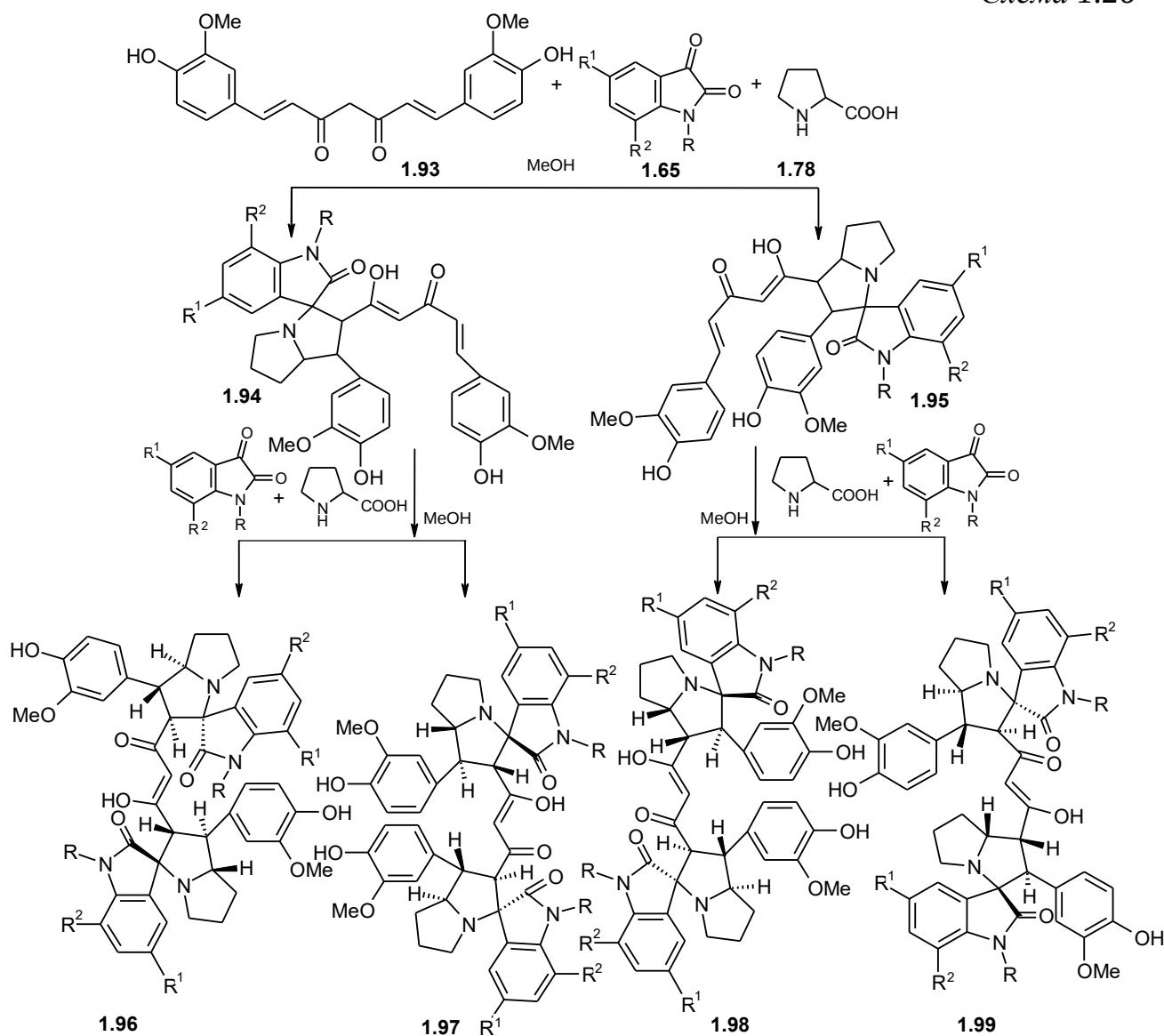
Схема 1.25



Регіоселективна взаємодія описана також у роботі [44]. Куркумін **1.93** поступово перетворювали на рацемічні куркумініди **1.96** – **1.99** за допомогою реакції 1,3-диполярного циклоприєднання азометиніліду, використовуючи заміщені ізатини **1.65** і пролін **1.78** в середовищі полярного розчинника метанолу (схема 1.26). Реакція проходила через стадію формування

моноциклопрієднаних регіоізомерів **1.94**, **1.95**. Це було доведено шляхом виділення цих монозаміщених продуктів після реакції між еквімолярною кількістю куркуміну, ізатинів та проліну. Подальше додавання до ізольованих продуктів **1.94**, **1.95** ізатинів та проліну приводило до утворення похідних *біс*-спірооксіндолпіролідинів куркуміну **1.96** – **1.99**.

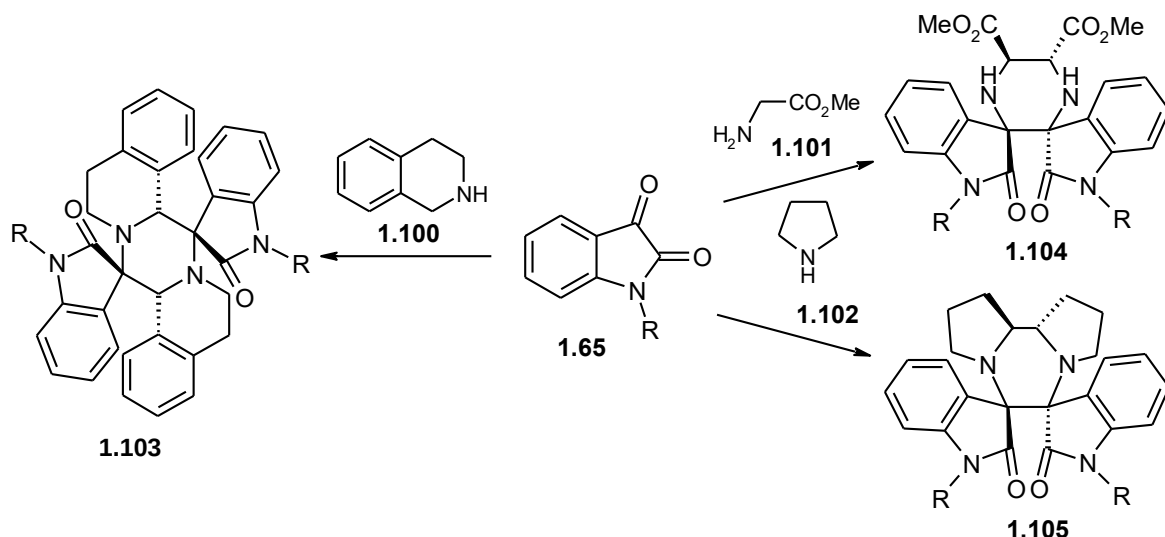
Схема 1.26



Шляхом 1,3-диполярної [3+3] циклізації азометинілідів, одержаних конденсацією ізатинів **1.65** з різними первинними або циклічними вторинними амінами, були побудовані *біс*-спірооксіндолпіперазинові циклічні системи [45, 46]. Так при використанні 1,2,3,4-тетрагідроізохіноліну **1.100** були синтезовані стереоселективні 2,5-*біс*-спірооксіндолпіперазинові скелети **1.103** [47]. Взаємодія ізатинів з метиловим ефіром гліцину **1.101** або

піролідином **1.102** приводила до утворення стереоселективних 2,3-*bis*-спірооксіндолпіперазинових скелетів **1.104**, **1.105** (схема 1.27).

Схема 1.27



Таким чином, проведений огляд літературних даних свідчить про те, що спірогетероциклічні сполуки в цілому та зокрема спіро-2-оксіндоли є привабливими об'єктами органічного синтезу. Проаналізувавши багато підходів до конструювання спіропіролооксіндольних систем можна вважати, що одним із найбільш перспективним є реакції [3+2] диполярного циклоприєднання азометинілідів, генеруємих *in situ* методом декарбоксилювання. У порівнянні з іншими, цей підхід відрізняється відносною препаративною легкістю (не є багатостадійним, не потребує використання окислювачів, які можуть привести к утворенню побічних продуктів та ізомерних сумішей, не потребує використання каталізаторів та спеціально підготовлених розчинників). Реакції [3+2] або 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів характеризуються доступністю вихідних реагентів, регіо- і стереоселективністю та є простим шляхом синтезу не тільки моно-, але й до отримання *bis*-похідних спіро-2-оксіндолів. Крім того, завдяки використанню різних замішених ізатинів, варіаціям амінокислот та диполярфілів можливо отримувати численні ряди нових, цікавих для подальшого вивчення біологічної активності, сполук.

1.2 Біологічна активність природних сполук з ядром спіро-2-оксіндолу та біс-спіроіндоліновим фрагментом

Першими спірооксіндольними алкалоїдами, що їх було виділено із природних джерел, є алкалоїди рослини *Gelsemium sempervirens*: *гельсемін*, *гельсевірин*, *гельсеміцин*, *гельседин*, в яких ядро 2-оксіндолу пов'язане з фрагментами циклоalkanів [48, 49] (рис. 1.2). *Гельсемін* виявляє стріхніно-подібну дію. При правильном дозуванні *гельсемін* ефективно лікує запалення судинної оболонки і сітківки ока [50]. Препарати до складу яких входить даний алкалоїд застосовуються при головному конгестивному болю, дисменореї, невралгіях і сильних маткових коліках в післяпологовий період [51, 52]. *Гельсевірин* також виявляє знеболюючу активність. *Гельседин* пригнічує ЦНС, *гельсеміцин* пригнічує ЦНС, дихання, є конвульсантом, виявляє гіпотензивний ефект [53].

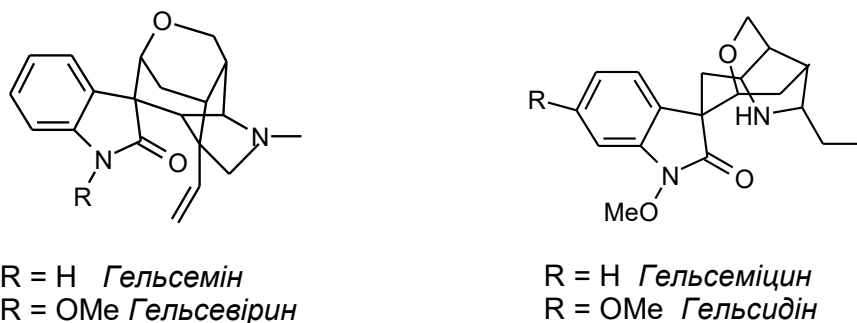


Рис. 1.2 Спірооксіндольні алкалоїди рослини *Gelsemium sempervirens*

Elaeagnus commutata містить гемітерпеновий спірооксіндольний алкалоїд *елакомін* [54, 55]. Подібні алкалоїди з анальгетичними властивостями були знайдені у рослинах: *Horsfildea Superba* (*горсфілін*) [56], *Phalaris coerulescens* (*коурулезин*) [57] (рис. 1.3).

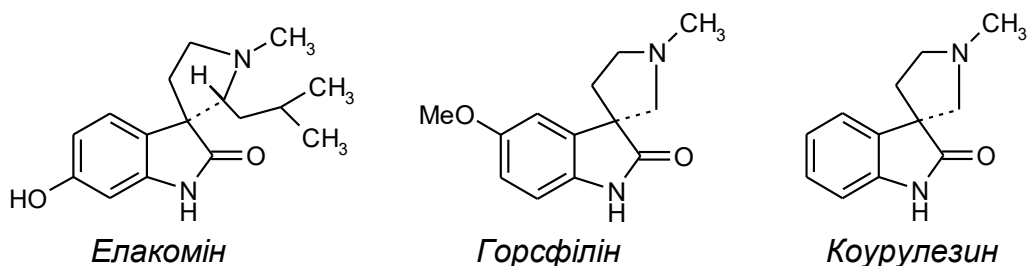


Рис. 1.3 Спірооксіндольні гемітерпенові алкалоїди

Птероподин та *ізоптереподин* є представниками гетеройохімбінового типу оксіндольних алкалоїдів з 8-азабіцкло[3,2,1]нонановим фрагментом. Дані алкалоїди містяться в рослині *Uncaria tomentosa* [58] і виявляють імуномодуючу, знеболюючу та протизапальну активність (рис. 1.4).

Ряд індольних алкалоїдів, що містять ядро дікетопіперазину або біцикло[2,2,2]діазооктану містять гриби родів *Aspergillus* та *Penicillium*. В грибах виду *Aspergillus fumigatus* знайдені *спіротріпростатини А* та *Б*, які виявляють антимікробну та цитостатичну дію [59] (рис. 1.5).

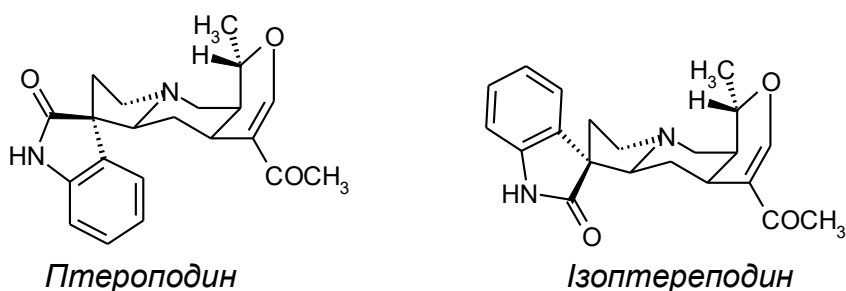


Рис. 1.4 Спірооксіндольні алкалоїди гетеройохімбінового типу

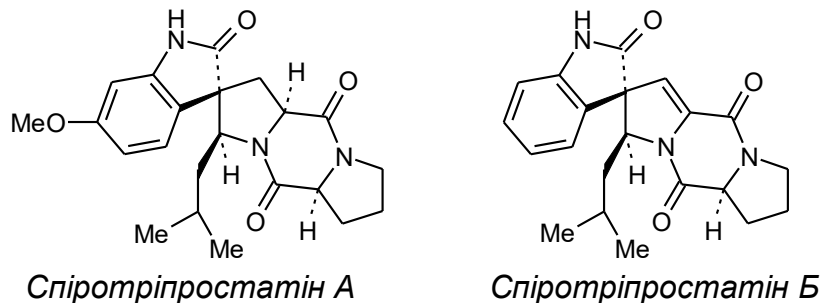


Рис. 1.5 Спірооксіндольні алкалоїди грибів виду *Aspergillus fumigatus*

Спірооксіндольні системи зі спіросполученням в другому положенні ядра 3-оксіндолу є окремою групою природних грибкових метаболітів. Представником таких сполук є *бrevіанамід А* виділений із *Penicillium brevicompactum* [60], який виявляє антимікробну активність [61] (рис. 1.6).

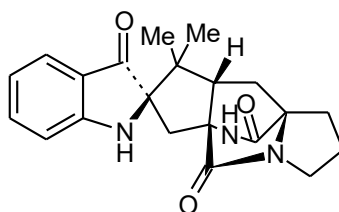


Рис. 1.6 Спірооксіндольний алкалоїд *бrevіанамід А*

З рослини *Gelsemium elegans* були виділені алкалоїди із *bis*-2-оксіндоліновим фрагментом: *гелеганіміни А і Б* [62] та *bis*-спіро-2-оксіндоліновим ядром: *гелеганідін С* [63] (рис. 1.7). Дані природні сполуки виявляють цитотоксичну, антимікробну та протизапальну активність [64, 65].

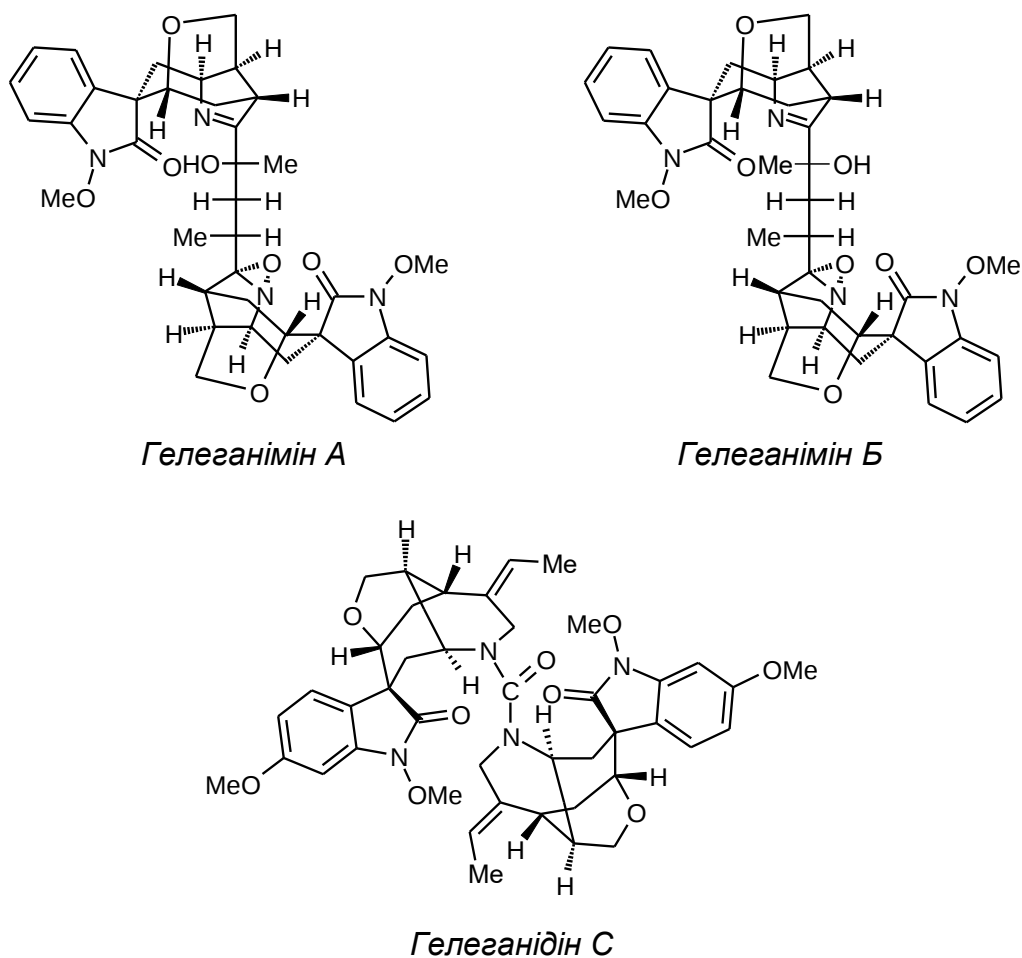


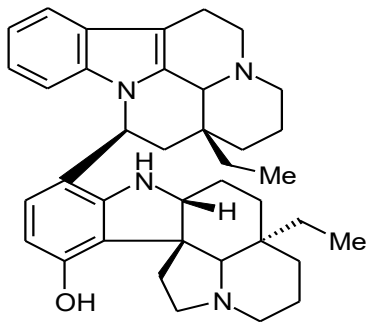
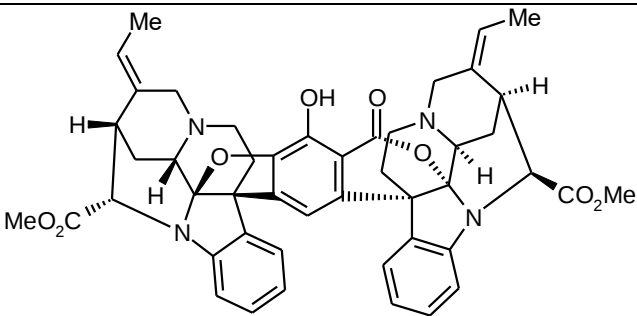
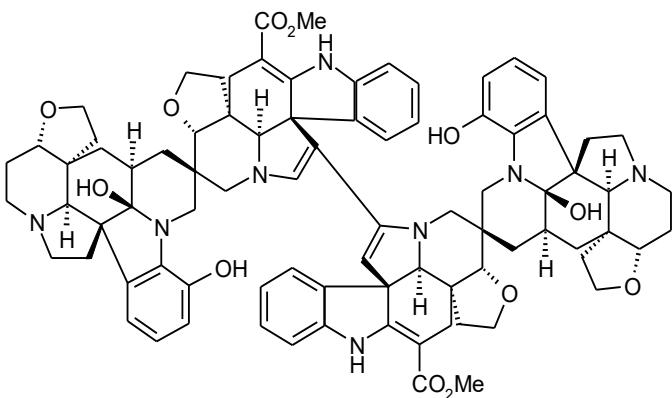
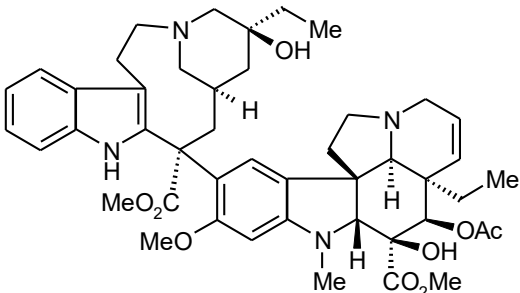
Рис. 1.7 *Bis*-2-оксіндольні алкалоїди

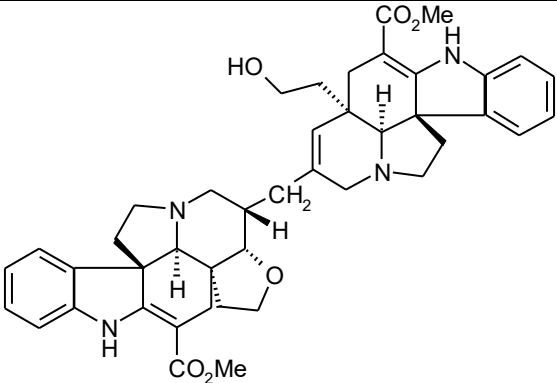
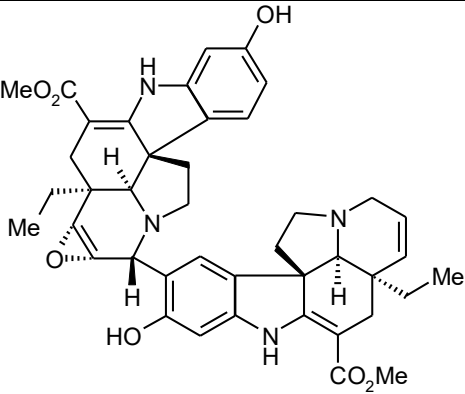
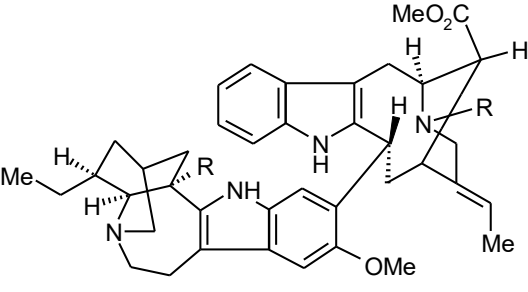
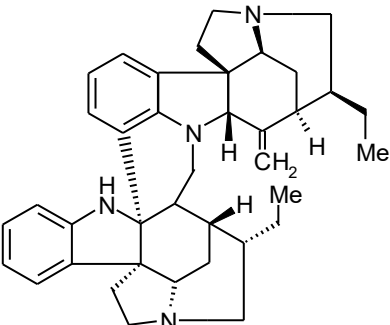
Крім того, в науковій літературі наводиться багато даних по фармакологічному скринінгу серед алкалоїдів із *bis*-індоліновим фрагментом. Так, описано ряди речовин з високим рівнем цитостатичної, цитотоксичної активності проти різних клітин раку людини [15, 66, 67, 68, 69]. Виявлені сполуки з антиплазмодною, антибактеріальною, у тому числі, і протитуберкульозною активністю [15]. Знайдені *bis*-індольні алкалоїди – інгібітори ацетилхолін- естерази [15]. Описані монотерпеноїдні алкалоїди із *bis*-індоліновим фрагментом, які виявляють антиноцицептивну [70], жарознижувальну [70], протизапальну [70], вазорелаксантну [15], антигіпер-

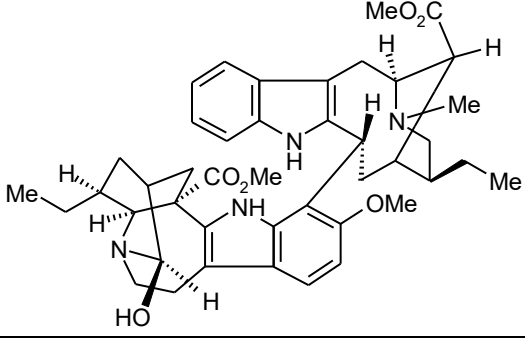
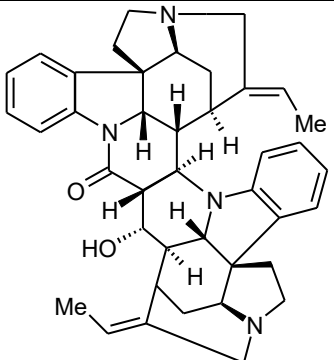
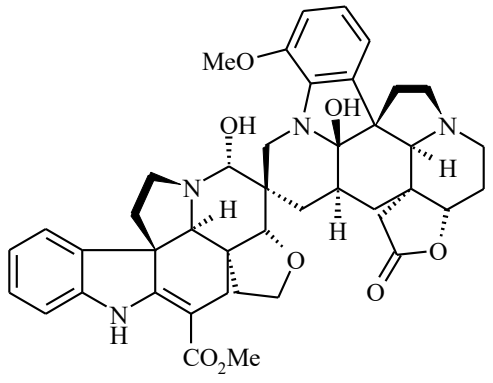
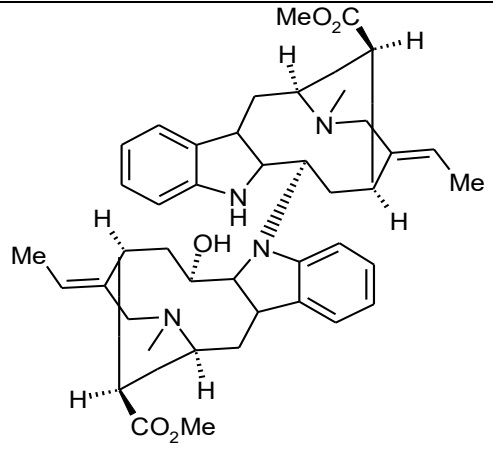
тензивну та заспокійливу активність [15]. Приклади деяких біологічно активних *bis*-індольних алкалоїдів наведено у табл. 1.1.

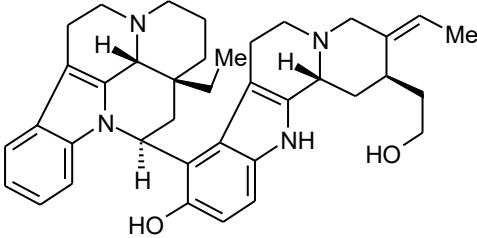
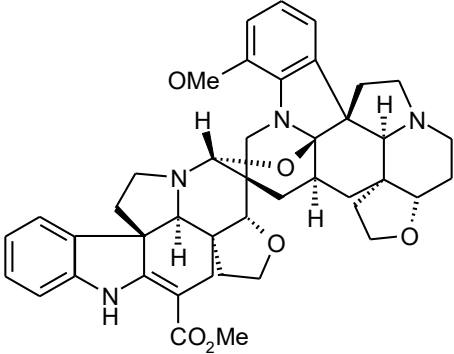
Таблиця 1.1

Біологічна активність алкалоїдів із *bis*-індоліновим фрагментом

Фармакологічна активність	Назва рослини / Назва алкалоїду	Структура
1	2	3
Цитостатична активність	<i>Leuconotis griffithii</i> (Аросунасеае) / <i>Біслевонотин А</i>	
Цитотоксична активність	<i>Alstonia angustifolia</i> (Аросунасеае) / <i>Біплеофілін</i>	
Цитотоксична активність	<i>Taberneemontana elegans</i> (Аросунасеае) / <i>Аласмонтамін А</i>	
Цитотоксична активність	<i>Catharanthus roseus</i> (Аросунасеае) / <i>Вінбластин</i>	

1	2	3
Цитотоксична активність	<i>Voacanga africana</i> (Аросунасеае) / <i>Воакандимін С</i>	
Цитотоксична активність	<i>Melodinus suaveolens</i> (Аросунасеае) / <i>Мелосуавін</i>	
Цитотоксична активність (інгібітор HL60, SMMC-7721, A549, MCF7 та SW480)	<i>Ervatamia chinensis</i> (Аросунасеае) / <i>Ервехінін</i>	
Цитотоксична активність (інгібітор HL60, HCT116, MCF7, A549)	<i>Leuconotis griffithii</i> (Аросунасеае) / <i>Біслеукокурин</i>	

1	2	3
Протималарійна активність	Muntafara sessilifolia (Aporocynaceae) / <i>Табернелегартин А</i>	
Антиплазмодійна активність	Strychnos icaja (Loganiaceae) / <i>Стріхнобайлонін</i>	
Протитуберкульозна активність	Taberneemontana sphaerocarpa (Aporocynaceae) / <i>Біскарпамонтамін Б</i>	
Антиноцицептивна, жарознижувальна та протизапальна активність	Hunteria zeylanica (Aporocynaceae) / <i>Біснікалатерайн А</i>	

1	2	3
Вазорелаксанти на активність	<i>Hunteria zeylanica</i> (Aporosynaceae) / <i>Біснікалатерайн Б</i>	
Антигіпер- тензивна, заспокійлива	<i>Hedranthera barteri</i> (Aporosynaceae) / <i>Субсесилін</i>	

1.3 Біологічна активність синтетичних спіро-2-оксіндолів та біс-спірооксіндолів

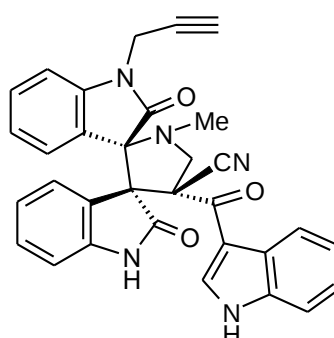
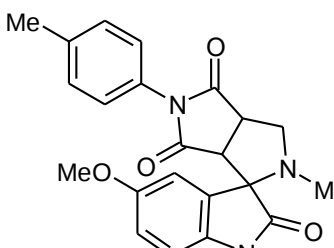
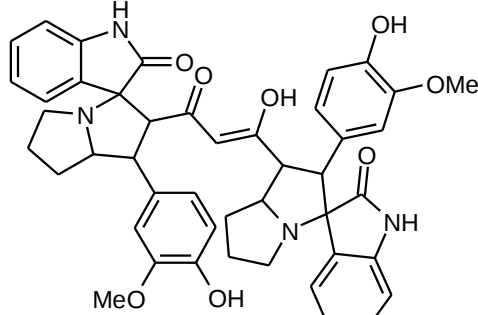
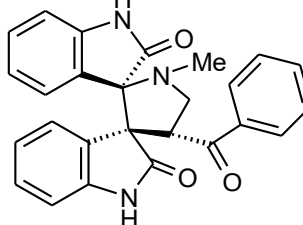
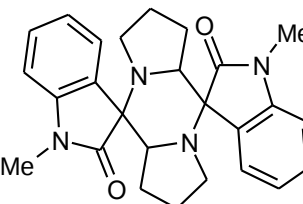
Синтетичні лікарські засоби – одне з найбільш визначних досягнень органічної хімії. Завдяки їм стало можливим виліковування багатьох захворювань, які раніше були фатальними для хворих. Незважаючи на велику кількість існуючих ліків, проблема пошуку нових високоефективних лікарських засобів залишається актуальною. Це зумовлено відсутністю або недостатньою ефективністю лікарських засобів для лікування деяких захворювань, наявністю побічної дії лікарських препаратів; обмеженнями терміну придатності, тощо. Протягом декількох останніх десятиліть

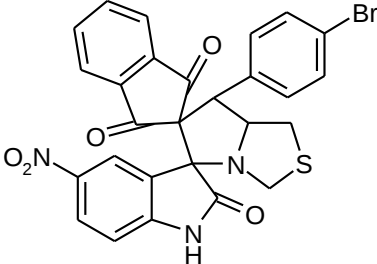
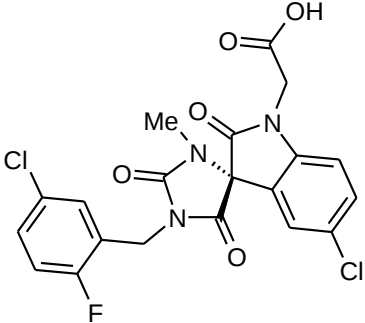
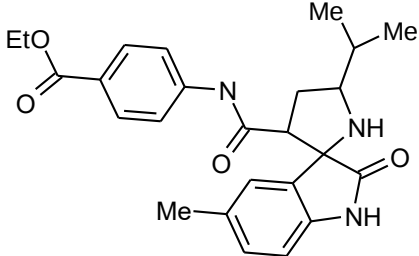
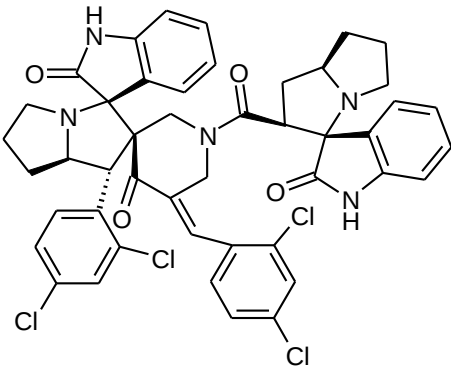
спостерігається інтенсивне зростання наукових досліджень, спрямованих на розробку нових і вдосконалення багатьох існуючих лікарських засобів. Для цього використовуються різноманітні принципи створення нових лікарських субстанцій: емпіричний скринінг вже наявних або знов синтезованих хімічних сполук, виявлення і дослідження біологічно активних речовин рослинного і тваринного походження, відтворення їх синтетичним шляхом і отримання різних модифікацій молекул, цілеспрямований синтез лікарських речовин з наперед заданими фармакологічними властивостями, тощо. Сучасний процес розробки нових лікарських засобів висуває певні вимоги до органічного синтезу. На даному етапі необхідні нові патентоспроможні органічні сполуки, синтез яких має бути економічно обґрунтованим [71].

Серед усіх класів органічних сполук гетероцикли є найбільш вагомим джерелом для дизайну та пошуку молекул, які б задовольняли згадані вище вимоги. Так, 90 % нових лікарських засобів містять гетероциклічний залишок. В різноманітні гетероциклічних сполук важливу роль відіграють спіро-2-оксіндоли та *bis*-спірооксіндоли. Ядро спіропіролооксіндолів є основою природних алкалоїдів, які характеризуються широким спектром біологічної дії. Крім того, жорстко просторово організовані молекули спіро-2-оксіндолів є комплементарними тривимірним сайтам зв'язування найважливіших біомішеней (ферменти, рецептори, іонні канали) і, отже, становлять інтерес для пошуку нових біологічно активних речовин [47]. Тому, за останні роки в науковій літературі значно зросла кількість публікацій присвячених розробці препаративних методів синтезу спіро-2-оксіндолів і *bis*-спірооксіндолів, вивченню їх фізико-хімічних і біологічних властивостей [72]. Серед синтетичних похідних спіропіролооксіндолів, та їх *bis*-аналогів знайдені речовини з антибактеріальною [10, 11, 25, 44, 45, 73, 74, 75, 76, 77], протигрибковою [74, 75, 77], противірусною [74], протизапальною [26, 44, 74], антиалергічною [11], протипухлинною [10, 11, 25, 73, 74, 76, 78, 79], протисудомною дією [74], тощо. Приклади деяких біологічно активних синтетичних спіро-2-оксіндолів та *bis*-спірооксіндолів наведено у табл. 1.2.

Таблиця 1.2.

**Біологічна активність синтетичних спіро-2-оксіндолів та
біс-спірооксіндолів**

Фармакологічна активність	Хімічна назва	Структура
1	2	3
Протиракова	4'-Ціано-4'-1H-індоліл-1'-метил-1H-діспіро [N-пропініліндол-3,2']-2-он-[індол-3,3'-піролідин]-2-он <i>n</i>-Толіл-N-спіро[5-метоксиіндол-3,3'-піроло[3,4-<i>c</i>] N'-метилпірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-трион	 
Протизапальна	4-Гідроксипентен-3,2-он-1,5-біс(спіро-2-оксіндол-3,2'-піроло-3'-(<i>n</i> -гідроксифеніл-2-метокси)-[3,4 <i>c</i>]-2а',5а'-дигідропірол)	
Антибактеріальна	4'-Бензоіл-1'-метил-1H-біс-спіро[індол-3,3'-піролідин]-2-он	
Протитуберкульозна	Біс-спіро(N-метил-2-оксіндол[3,5';3,10']октагідродіпіроло[1,2а;1',2'd]піразин)	

1	2	3
Протитуберку- льозна	Диспіро[-6-(4- бромфеніл)- тетрагідропіроло[1,2с] тіазол[4,3']-5'- нітроіндол-2-он][5,2"]- індан-1,3-діон	
CRTN2 антагоніст	Спіро(5-хлор-1-ацетил- 2-оксіндол[3,2']-4'-(5- хлор-2-фторбензил)-1'- метилімідазолідин-3',5'- діон)	
Інгібуюча активність проти ВІЛ	Спіро-5-метил-2- оксіндол-[3,2']-5'- ізопропілпіролідин-3'- карбонова кислота (4- ацетилфеніл)-амід	
Інгібітор ацетилхолінесте- рази	3-(2,4-Діхлорбензилі- ден)-1-(спіроіндол-3,2'- піроло[3,4-с]пірол- 2а',5а'-дигідро-2- карбоніл)-піперідин-4- он-5-(спіроіндол-3'',2'''- піроло[3,4-с]-1-(2,4- діхлорфеніл)-2а''',5а'''- дигідропірол)	

Спіроциклічні-2-оксіндоли відрізняються своєю унікальною тривимірною структурою. Все більше вчених розглядають спірооксіндоли як ліганди і використовують для комп'ютерного молекулярного моделювання [80]. Такий підхід в поєднанні з рентгеноструктурним аналізом дозволяє встановити стереохімічні особливості молекули потенційного біологічно активного спірооксіндолу та біорецептора, конфігурацію їх хіральних центрів, виміряти відстань між окремими атомами, групами атомів або між

зарядами у випадку цвітер-іонних структур спірооксіндолу та біорецепторної ділянки його захвату [81]. Так, завдяки пошуку речовин з наперед заданими фармакологічними властивостями серед похідних спірооксіндолів знайдено багато потенційних противірусних агентів [81] (рис. 1.8).

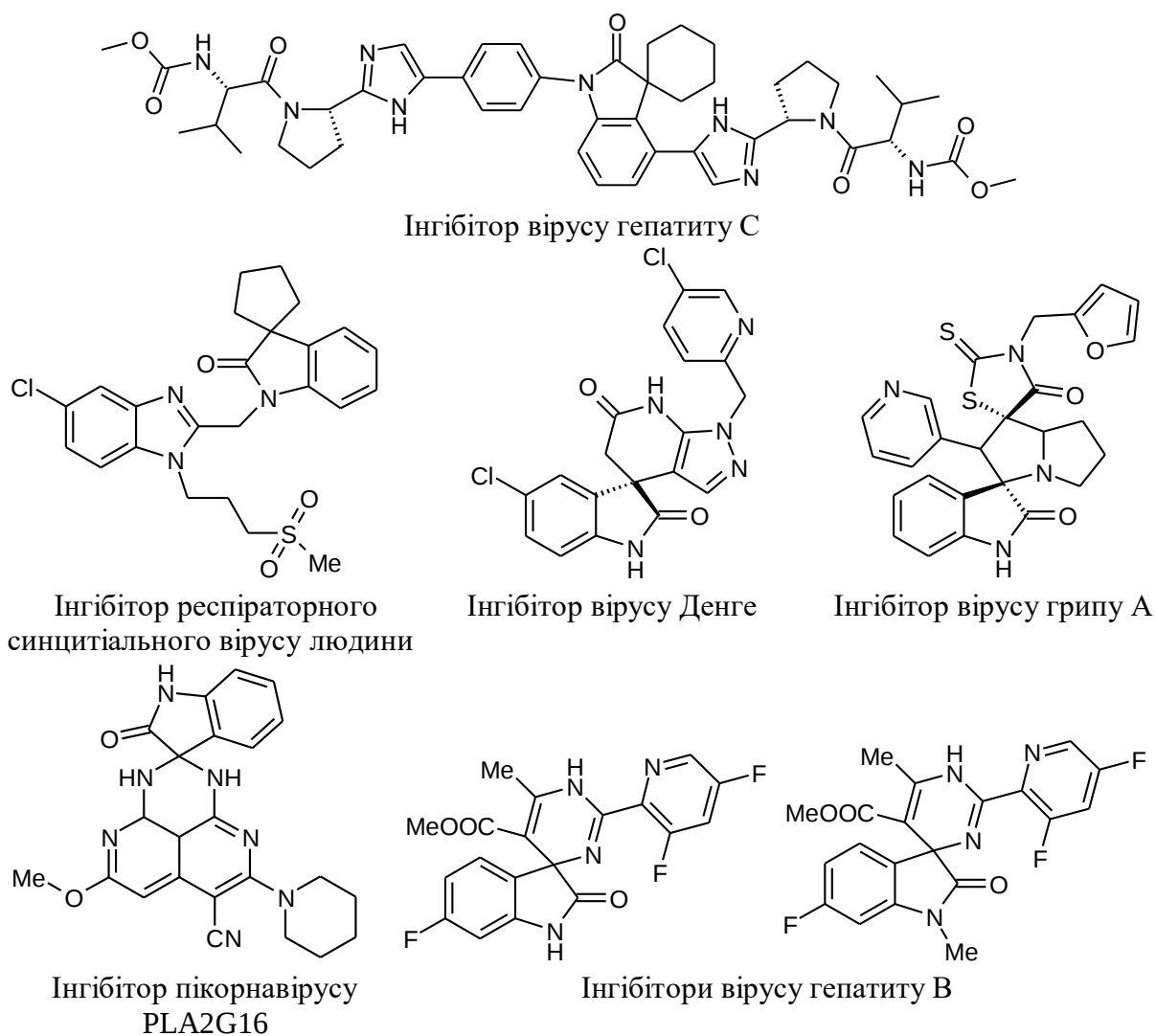
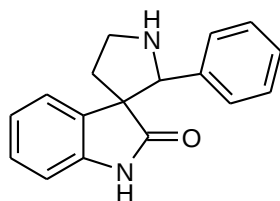
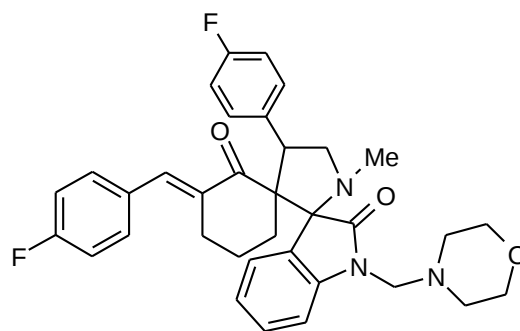


Рис. 1.8 Потенційні противірусні агенти серед похідних спіро-2-оксіндолів

Автори [82, 83] використовували цілеспрямований синтез похідних спіропіролідин[3,3']-2-оксіндолу для створення бібліотек речовин із інгібуючою активністю проти проліферації клітин раку молочної залози MCF-7 та шийки матки HELA. Фенотипічний скринінг було перевірено молекулярним докінгом і знайдено потенційні сполуки для створення нових лікарських засобів проти раку молочної залози та шийки матки (рис. 1.9).



Потенційний інгібітор клітин
раку молочної залози



Потенційний інгібітор клітин
раку шийки матки

Рис. 1.9 Потенційні сполуки для створення нових лікарських засобів проти раку молочної залози та шийки матки

Як видно з літературного огляду, похідні спіро-2-оксіндолів та *bis*-спірооксіндолів виявляють широкий спектр біологічних властивостей та є перспективними класами хімічних сполук для пошуку на їх основі нових біологічно активних речовин. З огляду на вищесказане, є актуальними розробка препаративних методів синтезу нових похідних спіро-2-оксіндолів і їх *bis*-аналогів та проведення фармакологічного скринінгу в даних рядах сполук.

РОЗДІЛ 2

СИНТЕЗ ТА ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ СПІРОІНДОЛ-3,3'-ПІРОЛО [3,4-*c*]ПРОЛІВ НА ОСНОВІ ТРИКОМПОНЕНТНОЇ ВЗАЄМОДІЇ ІЗАТИНІВ, α -АМІНОКИСЛОТ ТА *N,N'*-ГЕКСАМЕТИЛЕН-БІС-МАЛЕЇНІМІДУ

Аналіз літературних джерел показав, що похідні спіро-2-оксіндолів та *bis*-спірооксіндолів широко розповсюджені в природі. Вони складають окрему групу оксіндольних алкалоїдів, в тому числі, і *bis*-оксіндольних [48] та велику групу, так званих, монотерпенових *bis*-індольних алкалоїдів до складу якої входять сполуки 16 типів [15]. Спіро-2-оксіндолгетероциклічна структура є зручним об'єктом для хімічної модифікації спірокаркасу. В свою чергу, отримання похідних *bis*-спірооксіндолів відкриває перед вченими перспективу створення нових подвійних ліків. На сьогодні деякі з алкалоїдів і синтетичних похідних спіро-2-оксіндолів знайшли застосування в медичній практиці насамперед як протиракові, противірусні та антибактеріальні засоби, наприклад такі лікарські препарати, як вінбластин [84], спіробрассінін [80, 85], сатаваптан [80, 86], велвітіндолінон [80, 87] (рис. 2.1).

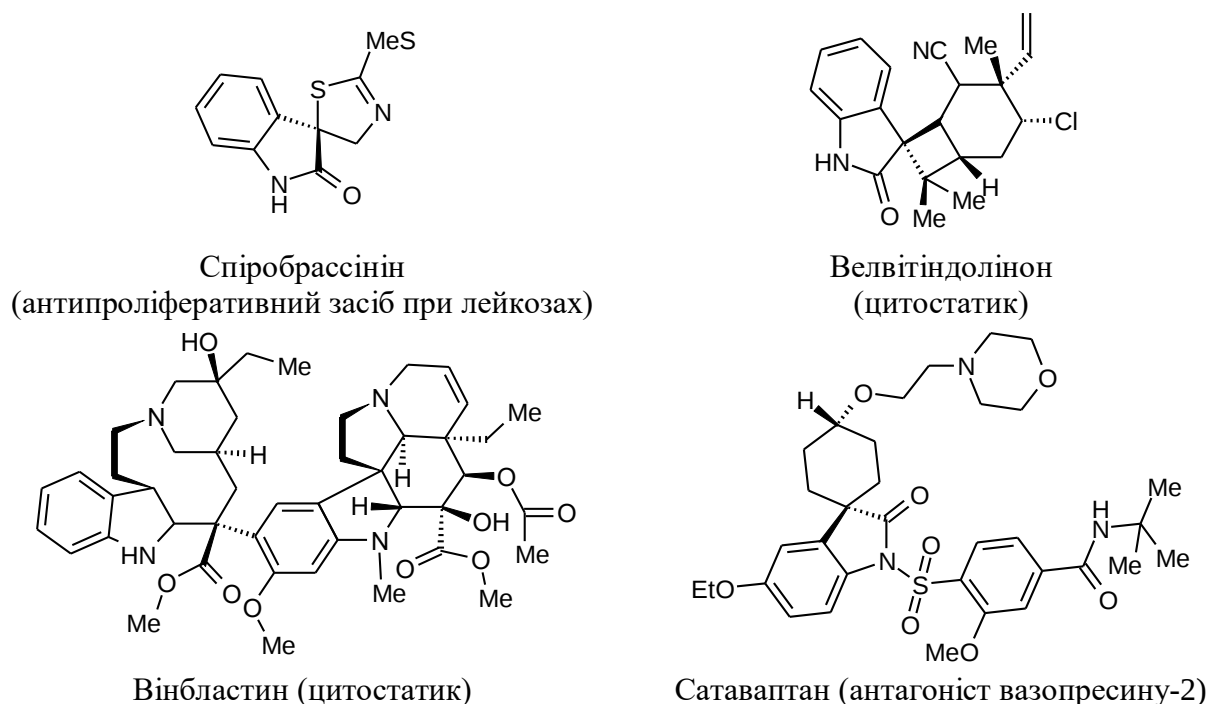
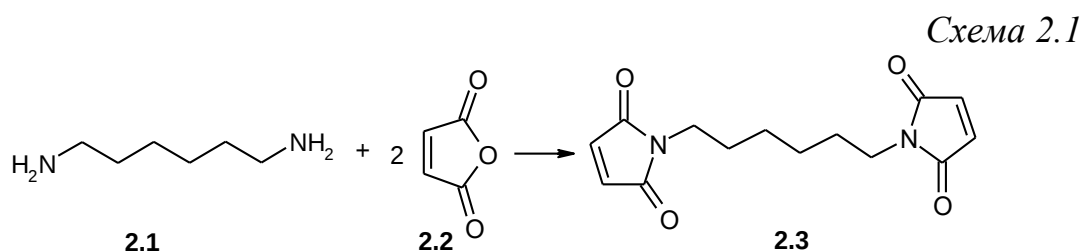


Рис. 2.1 Біологічно активні спіро-2-оксіндоли

Одним із розповсюджених препаративних методів конструювання спіропіролооксіндольного ядра є реакція 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів. Слід зауважити, що використання різноманітних замішених ізатинів, амінокислот та диполярофілів відкриває широкі межі для синтезу і подальшої хімічної модифікації похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу. Крім того, завдяки цьому методу стає можливим отримання *біс*-похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу. Однією з задач даної роботи стало одержання відповідних моно- та *біс*-похідних, введення до їх хімічної структури різноманітних замісників та дослідження впливу таких комбінувань на прояв біологічних властивостей.

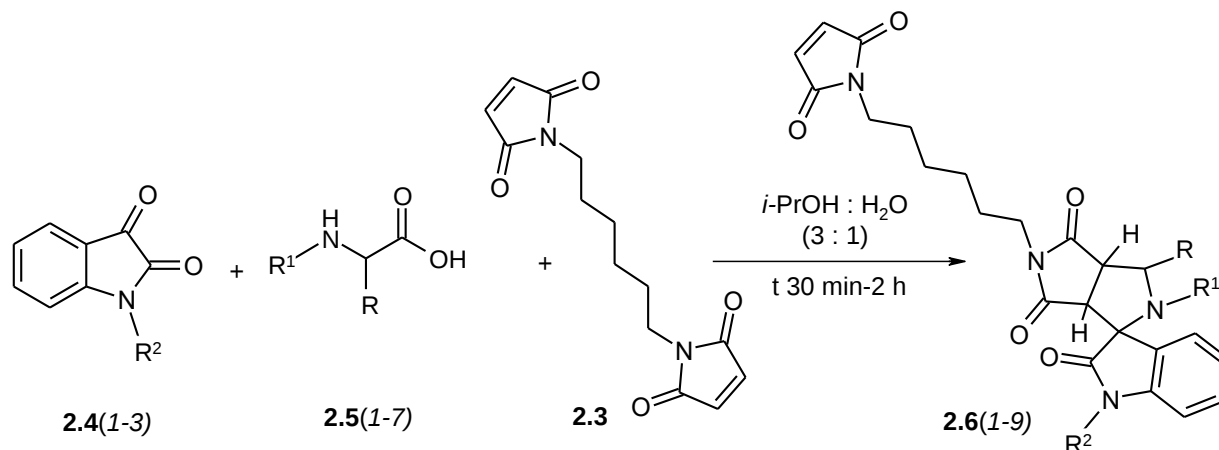
2.1 Синтез несиметричних гексаметилен-*N*-малеїнімідопохідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу

Як вихідні сполуки було використано *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїнімід **2.3**, який має активований електроноакцепторними замісниками π -зв'язок і відіграє роль диполярофілу у реакціях 1,3-диполярного циклоприєднання. Сполуку **2.3** було отримано взаємодією гексаметилендіаміну **2.1** з двократною кількістю малеїнового ангідриду **2.2** за відомою методикою [88] (схема 2.1).



Шляхом трикомпонентної однореакторної конденсації ізатинів **2.4(1-3)**, амінокислот **2.5(1-7)** та *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїніміду **2.3** синтезовано з високими виходами нові несиметричні похідні 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону **2.6(1-9)** (схема 2.2) [89].

Схема 2.2



2.6(1) R=CH₃, R¹=R²=H; **2.6(2)** R=CH₃, R¹=H, R²=CH₃; **2.6(3)** R=*i*-Pr, R¹=R²=H; **2.6(4)** R=Ph, R¹=R²=H;
2.6(5) R=CH₂-Ph, R¹=R²=H; **2.6(6)** R=CH₂OH, R¹=H, R²=CH₂-Ph; **2.6(7)** R=H, R¹=CH₃, R²=CH₂-Ph;
2.6(8) R=R¹=CH₂-CH₂-CH₂, R²=H; **2.6(9)** R=R¹=CH₂-CH₂-CH₂, R²=CH₂-Ph

Проведення даної реакції потребує чіткого дотримання співвідношення реагентів. Несиметричні цільові сполуки **2.6(1-9)** утворюються тільки при строго еквімолярному співвідношенні, оскільки надлишок ізатину та амінокислоти веде до утворення *біс*-похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*] піролу [90].

Вибір відповідного розчинника мав велике значення для ефективності синтезу. Методом проб та помилок було знайдено оптимальні умови для синтезу (табл. 2.1). З'ясовано, що кип'ятіння реагентів у суміші ізопропанол-вода (3:1) дає найкращий результат (м'які умови реакції, економічність, високі виходи). Воду додавали для поліпшення розчинності амінокислот.

Таблиця 2.1

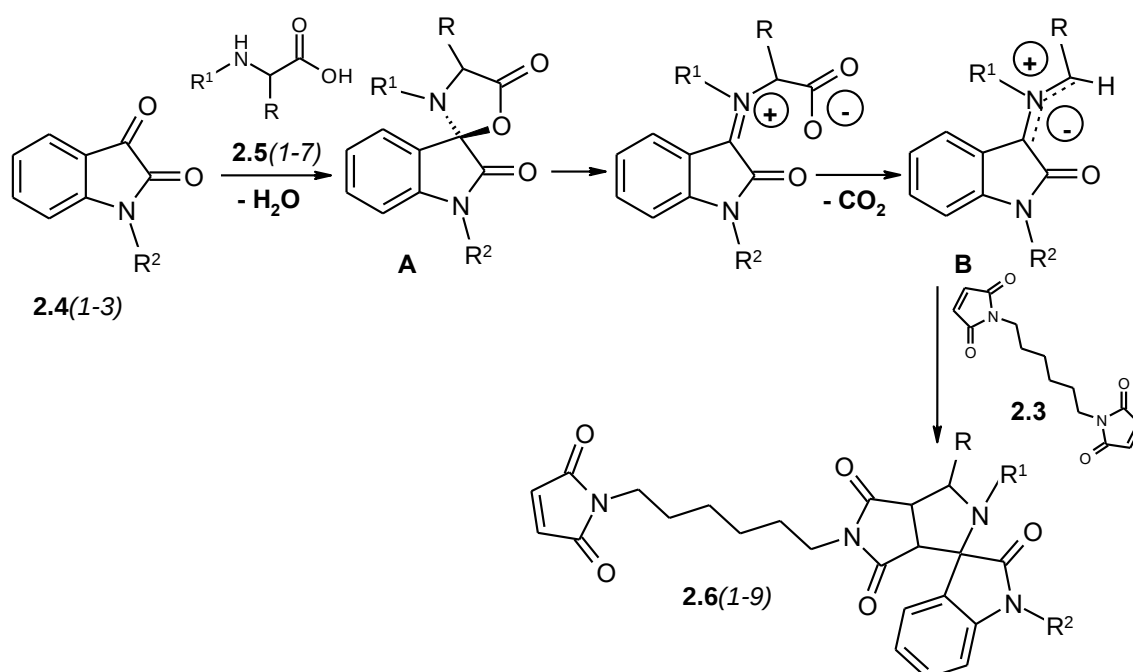
**Оптимізація вибору розчинника
на прикладі синтезу сполук **2.6(1)**, **2.6(6)**, **2.6(8)****

Розчинник	Час нагрівання, год			Вихід, %		
	2.6(1)	2.6(6)	2.6(8)	2.6(1)	2.6(6)	2.6(8)
Пропанол-2 – вода (3 : 1)	2	1	0,5	75	90	78
Метанол-вода (3 : 1)	2	2	1	60	82	64
Етанол-вода (3 : 1)	4	2	2	62	80	73
Ацетонітрил-вода (3 : 1)	5	3	2	60	74	68
1,4-Діоксан-вода (3 : 1)	5	4	3	55	50	55
Тетрагідрофуран	8	4	4	42	44	40

Протікання та час реакції залежали від реакційної здатності використаних амінокислот. Завдяки зміні забарвлення реакційного середовища (яке обумовлено утворенням проміжних азометинілідів) було можливим візуально контролювати перебіг реакцій. Так, наприклад, з L-проліном конденсація проходила за 30 хвилин, а перебіг реакції супроводжувався зміною кольору реакційної суміші від яскраво-червоного через синій (стадія утворення азометиніліду) до безбарвного. А у випадку з L-фенілгліцином реакційну суміш нагрівали протягом двох годин та спостерігали зміну кольору від яскраво-червоного через рожевий (стадія утворення азометиніліду) до безбарвного. Отримані в такий спосіб цільові продукти **2.6(1-9)** після перекристалізації із суміші ізопропанол-вода (1:1) мали вигляд дрібнодисперсних аморфних порошків білого або блідо-жовтого кольору.

Базуючись на даних літератури [91] можна запропонувати наступний механізм даної взаємодії (схема 2.3):

Схема 2.3



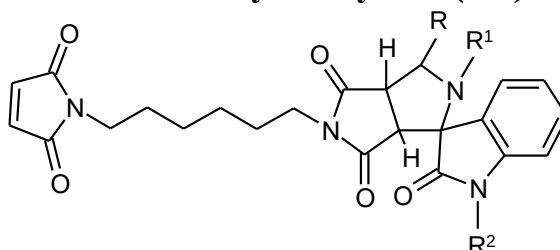
на першій стадії внаслідок послідовних процесів приєднання аміногрупи сполук **2.5(1-7)** по β -карбонільній групі ізатинів **2.4(1-3)** та відщеплення молекули води, утворюється аддукт **A**, після чого відбувається розкриття

лактонного циклу з наступним декарбоксилюванням; інтермедіат **B**, вступає у реакцію [3+2]-циклоприєднання з *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїнімідом **2.3**, останній має активований електроноакцепторним замісником π -зв'язок, завдяки чому таке циклоприєднання є можливим.

Будову одержаних сполук **2.6(1-9)** підтверджено методом ^1H ЯМР – спектроскопії та елементним аналізом. Структуру сполуки **2.6(7)** додатково підтверджено методом мас-спектрометрії, а сполуки **2.6(8)** додатково методами хромато-мас – спектрометрії та ІЧ – спектроскопії. Виходи, температури плавлення і дані елементного аналізу синтезованих сполук наведено в таб. 2.2. Характеристика ^1H ЯМР спектрів сполук **2.6(1-9)** наведена в таблиці 2.3.

Таблиця 2.2

Виходи, температури плавлення та дані елементного аналізу сполук 2.6(1-9) загальної формули:



Сполука	Т.пл., °C	Брутто формула, М.м.	Аналіз, % <u>Знайдено</u> Вирахувано			Вихід %
			С	Н	Н	
1	2	3	4	5	6	7
2.6(1) R=CH ₃ , R ¹ =R ² =H	100-102	C ₂₄ H ₂₆ N ₄ O ₅ 450,50	<u>64,03</u> 64,00	<u>5,79</u> 5,78	<u>12,46</u> 12,44	75
2.6(2) R=CH ₃ , R ¹ =H, R ² =CH ₃	102	C ₂₅ H ₂₈ N ₄ O ₅ 464,53	<u>64,62</u> 64,64	<u>6,10</u> 6,08	<u>12,09</u> 12,06	60
2.6(3) R= <i>i</i> -Pr, R ¹ =R ² =H	134-136	C ₂₆ H ₃₀ N ₄ O ₅ 478,55	<u>65,26</u> 65,27	<u>6,31</u> 6,28	<u>11,74</u> 11,72	70
2.6(4) R=Ph, R ¹ =R ² =H	138-140	C ₂₉ H ₂₈ N ₄ O ₅ 512,57	<u>67,98</u> 67,97	<u>5,49</u> 5,47	<u>10,97</u> 10,94	86
2.6(5) R=Bn, R ¹ =R ² =H	112-114	C ₃₀ H ₃₀ N ₄ O ₅ 526,50	<u>68,45</u> 68,44	<u>5,72</u> 5,70	<u>10,68</u> 10,65	66

Продовж. табл. 2.2

1	2	3	4	5	6	7
2.6(6) R=CH ₂ OH, R ¹ =H, R ² =Bn	118-120	C ₃₁ H ₃₂ N ₄ O ₅ 556,62	<u>66,87</u> 66,89	<u>5,80</u> 5,79	<u>10,09</u> 10,07	90
2.6(7) R=H, R ¹ =CH ₃ , R ² =Bn	95	C ₃₁ H ₃₂ N ₄ O ₅ 540,62	<u>68,88</u> 68,89	<u>5,95</u> 5,93	<u>10,40</u> 10,37	82
2.6(8) R=R ¹ =CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ , R ² =H	140-142	C ₂₆ H ₂₈ N ₄ O ₅ 476,54	<u>65,54</u> 65,55	<u>5,89</u> 5,88	<u>11,78</u> 11,76	78
2.6(9) R=R ¹ =CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ , R ² =Bn	85	C ₃₃ H ₃₄ N ₄ O ₅ 566,66	<u>69,97</u> 69,96	<u>6,03</u> 6,01	<u>9,91</u> 9,89	75

Спектри ¹H ЯМР синтезованих сполук **2.6(1-9)** характеризуються наявністю сигналів протонів ABCD-системи 2-оксіндольного фрагменту в ділянці ароматичних протонів, синглетного сигналу групи NH 2-оксіндола в межах 10,27-10,55 м.ч., дублетним сигналом малеїнімідної ланки при 6,95 м.ч. і сигналів протонів піролопіролідіндіонового і гексаметиленового фрагментів у сильнопольній ділянці спектру. Дані елементного аналізу відповідають розрахованим даним, молекулярні іони у мас-спектрах співпадають з теоретичними даними.

Таблиця 2.3

**Дані ¹H ЯМР спектроскопії похідних
1'-(гексаметилен-N-малеїнімідо)-2a',5a'-дигідро-1'H-
спіроіндол-3,3'піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-триону 2.6(1-9)**

Сполука	δ, м.ч. (J, Гц)
1	2
2.6(1)	1.07-1.35 (м, 7H, NCH ₂ CH ₂ <u>CH₂CH₂</u> CH ₂ CH ₂ N, CH <u>CH₃</u>); 1.37-1.55 (м, 4H, NCH ₂ <u>CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂</u> N); 3.17-3.45 (м, 6H, N <u>CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂</u> N, <u>CHNH</u>); 3.57-3.65 (м, 1H, 3a'-CH); 4.20-4.34 (м, 1H, 6a'-CH); 6.72-6.89 (м, 3H, Ar-H); 6.96 (с, 2H, CH=CH малеїнімід); 7.11-7.21 (м, 1H, Ar-H); 10.30 (с, 1H, CONH)
2.6(2)	1.09-1.35 (м, 7H, NCH ₂ CH ₂ <u>CH₂CH₂</u> CH ₂ CH ₂ N, CH <u>CH₃</u>); 1.37-1.56 (м, 4H, NCH ₂ <u>CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂</u> N); 3.05 (с, 3H, NCH ₃); 3.18-3.23 (м, 1H, <u>CHNH</u>); 3.31-3.40 (м, 5H, N <u>CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂</u> N, <u>CHNH</u>); 3.60-3.65 (с, 1H, 3a'-CH); 4.23-4.29 (м, 1H, 6a'-CH); 6.79-6.86 (м, 1H Ar-H); 6.89-6.98 (м, 4H, Ar-H, CH=CH малеїнімід); 7.22-7.31 (м, 1H, Ar-H)

1	2
2.6(3)	0.80-0.89 (м, 3H, CH ₃); 1.10 (д, 3H, CH ₃ , J=6.22 Гц); 1.19-1.38 (м, 4H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 1.39-1.58 (м, 4H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 1.80 (с, 1H, CH(CH ₃) ₂); 3.24 (д, 1H, CHNH, J=7.72 Гц); 3.29–3.42 (м, 4H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 3.48 (т, 1H, CHNH, J=7.14 Гц); 3.59–3.69 (м, 1H, 3a'-CH); 3.70–3.83 (м, 1H, 6a'-CH); 6.71 - 6.90 (м, 3H, Ar-H); 6.98 (с, 2H, CH=CH малеїнімід); 7.10 - 7.22 (м, 1H, Ar-H); 10.30 (с, 1H, NHCO)
2.6(4)	1.13-1.33 (м, 4H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 1.34-1.53 (м, 4H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 3.16–3.41 (м, 5H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N, CHNH); 3.63-3.70 (м, 1H, 3a'-CH); 4.07–4.14 (м, 1H, 3a'-CH); 5.41–5.49 (м, 1H, CHNH); 6.79 (д, 1H, Ar-H, J=7.83 Гц); 6.84-7.03 (м, 4H, Ar-H, CH=CH малеїнімід); 7.15-7.27 (м, 4H, Ar-H); 7.31-7.39 (м, 2H, Ar-H); 10.37 (с, 1H, CONH)
2.6(5)	1.23-1.61 (м, 8H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 2.52–2.62 (м, 1H, CHNH); 3.17-3.28 (м, 3H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N, CHNH); 3.35-3.45 (м, 4H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N, CHCH ₂); 3.49–3.56 (м, 1H, 3a'-CH); 4.31 (м, 1H, 6a'-CH); 6.73 (д, 1H, Ar-H, J=7.83 Гц); 6.81-6.87 (м, 2H, Ar-H); 6.93–6.97 (м, 1H, Ar-H); 7.10–7.18 (м, 2H, Ar-H); 7.18-7.31 (м, 5H, Ar-H, CH=CH малеїнімід); 10.27 (с, 1H, CONH)
2.6(6)	1.13-1.36 (м, 4H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 1.37–1.57 (м, 4H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 3.26–3.42 (м, 6H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N, CHNH); 3.48-3.56 (м, 1H, 3a'-CH); 3.76 (с, 1H, OH); 3.80–3.88 (м, 1H, 6a'-CH); 4.31 (с, 1H, CH ₂ OH); 4.55 (с, 1H, CH ₂ OH); 4.74-4.91 (м, 2H, CONCH ₂); 6.73-7.03 (м, 5H, Ar-H, CH=CH малеїнімід); 7.12-7.20 (м, 1H, Ar-H); 7.21-7.27 (м, 1H, Ar-H); 7.27-7.38 (м, 4H, Ar-H)
2.6(7)	1.08-1.62 (м, 8H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 1.89 (с, 3H, CH ₃); 3.20-3.47 (м, 6H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N, CH ₂ NCH ₃); 3.51–3.64 (м, 1H, 3a'-CH); 3.67-3.84 (м, 1H, 6a'-CH); 4.81 (д, 2H, CH ₂ NCO, J=6.11 Гц); 6.73-6.80 (м, 1H, Ar-H); 6.86-7.00 (м, 2H, Ar-H); 7.17-7.39 (м, 8H, Ar-H, CH=CH малеїнімід); EI-MS[M+1] ⁺ 540.0
2.6(8)	1.11-1.19 (м, 6H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N, 5'-CH, 6'-CH); 1.36-1.46 (м, 6H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N, 5'-CH, 6'-CH); 3.28-3.36 (м, 9H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N, 6a'-CH, 4'-CH ₂ , 2a'-CH, 7a'-CH); 6.87 (д, 1H, Ar-H, J=7.83 Гц); 6.96 (с, 2H, CH=CH малеїнімід); 7.02 (т, 1H, Ar-H, J=7.52 Гц); 7.46 (д, 1H, Ar-H, J=7.04 Гц); 7.54 (т, 1H, Ar-H, J=7.73 Гц); 11.00 (с, 1H, NHCO)
2.6(9)	1.12-1.55 (м, 8H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 1.71–1.87 (м, 4H, 5'-CH ₂ , 6'-CH ₂); 2.24 (с, 1H, 5'-CH ₂); 2.33 (с, 1H, 5'-CH ₂); 3.17-3.30 (м, 2H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 3.36 (м, 2H, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 3.47–3.55 (м, 1H, 7a'-CH); 3.59–3.66 (м, 1H, 2a'-CH); 4.19–4.29 (м, 1H, 6a'-CH); 4.77-4.93 (м, 2H, CONCH ₂); 6.83-6.99 (м, 4H, Ar-H); 7.15-7.36 (м, 7H, Ar-H, CH=CH малеїнімід)

Типовий спектр ¹H ЯМР синтезованих сполук наведений на рис. 2.2.

На прикладі сполуки 2.6(8) наведена аналітична рідинна хроматограма з мас-детекцією [LC/MS] (рис. 2.3) та мас-спектр даної сполуки, m/z (I_{відносн.}, %): 477,2 (1,4) [M+1]⁺, 476,1 (100) [M]⁺, 339,1 (98) [M–137]⁺, 157,2 (25) [M–319]⁺.

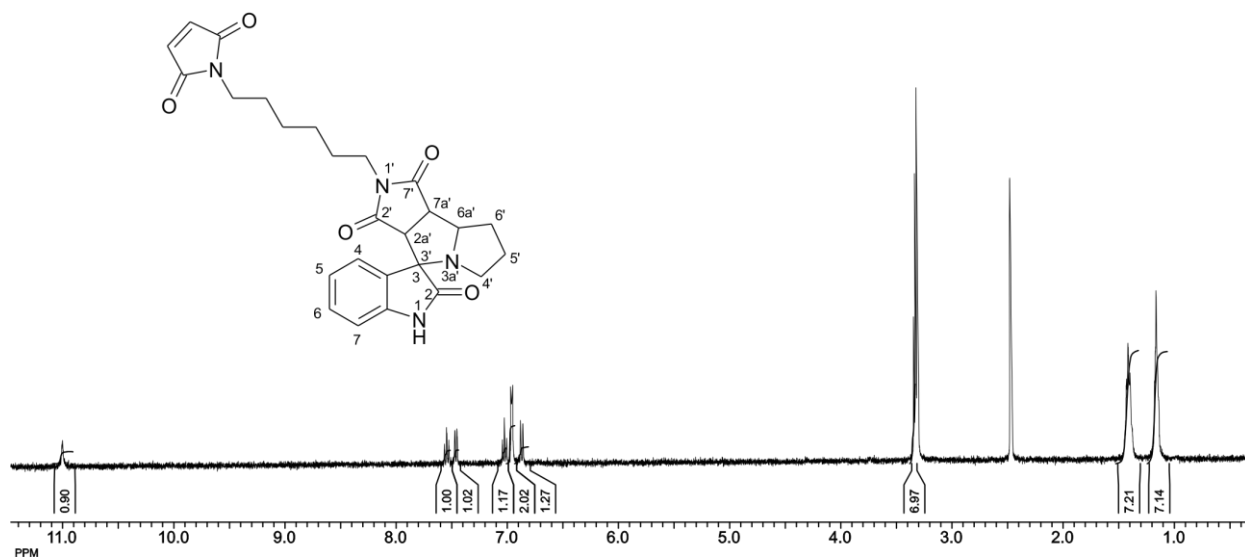


Рис. 2.2 Спектр ^1H ЯМР 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1'Н-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролізидин-2,2',7'(1Н,1'Н,5'Н)-триону **2.6(8)**

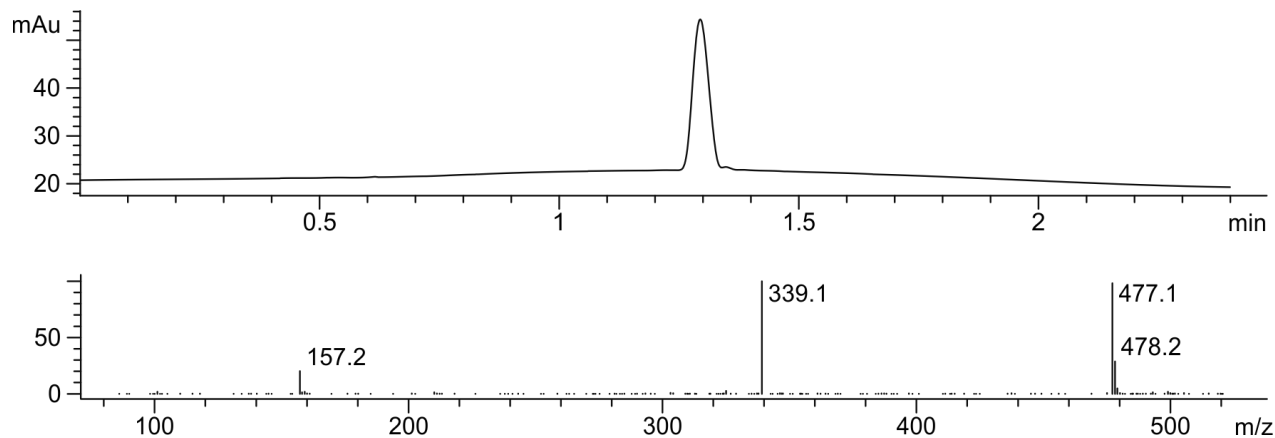


Рис. 2.3 Аналітична LC/MS сполуки **2.6(8)**

На прикладі ІЧ-спектру сполуки **2.6(8)** у KBr , cm^{-1} можна побачити наявність характеристичних смуг поглинання зв'язків синтезованих сполук (рис. 2.4): 3097, 2942, 2862 (ν C–H), 3454, 3308 (ν NH), 1772, 1699 (ν C=O), 1619 (ν C=C), 1472 (δ C–H), 1440 (δ CH₂).

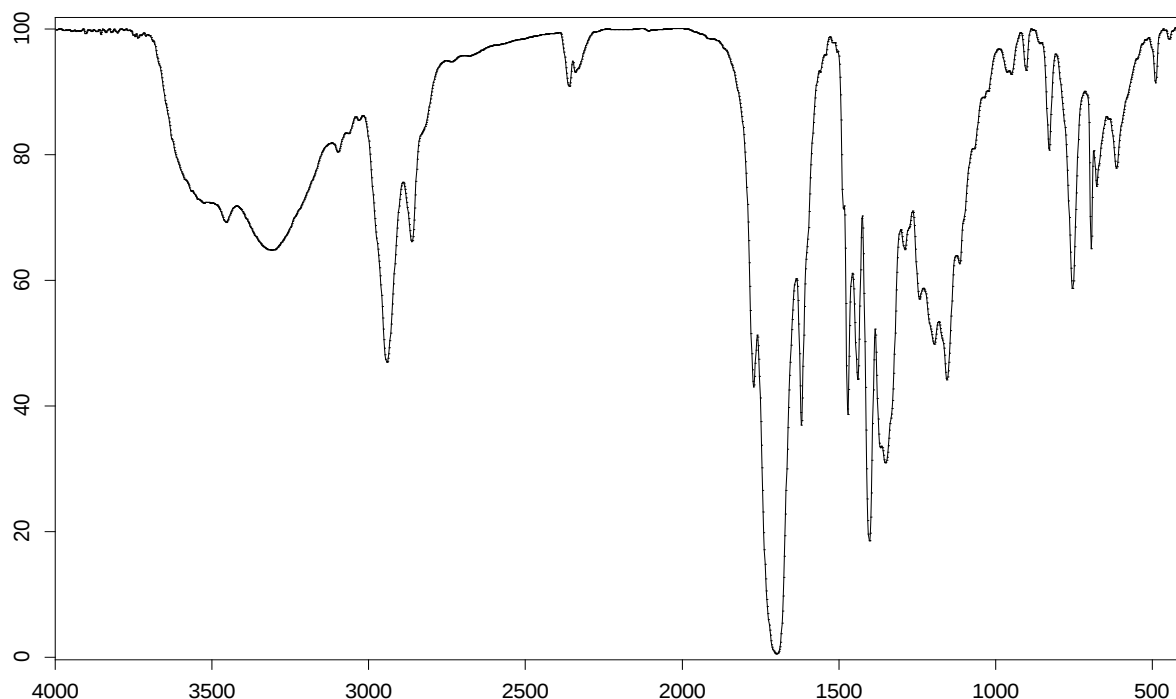


Рис. 2.4 ІЧ-спектр сполуки **2.6(8)** у KBr (Bruker Tensor)

2.2 Синтез та хімічні перетворення похідних гексаметилен-*N,N'*-*bis*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу

Даний підрозділ присвячено дослідженню регіоселективності реакції 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів, генерованих *in situ* з різноманітних *N*-заміщених ізатинів та амінокислот і можливостям отримання *bis*-похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу з різноманітними замісниками у положеннях 1 та 5'. Публікацій, які описують одержання саме *bis*-похідних даної спірогетероциклічної системи, дуже мало і в більшості з них описано трикомпонентне [3+2] циклоприєднання з використанням тільки таких амінокислот, як L-пролін та L-саркозин [44-46]. Крім того, похідні даної *bis*-спірогетероциклічної системи ймовірно можуть скласти основу для створення, так званих «ідентичних подвійних ліків». Це фармакологічно активні молекули-гомодимери, які є більш активними, або селективними у порівнянні зі своїм мономером [92]. Димеризація біологічно активної молекули є альтернативним підходом у процесі оптимізації сполуки-лідера.

Природна симетрія спостерігається в макромолекулах (олігомерах), наприклад, таких як протеази та транскриптази ВІЛ, гемоглобін, інсулін. Так, використання даного підходу сприяло розробці симетричних структур – інгібіторів транскриптаз та протеаз ВІЛ (рис. 2.5) [93].

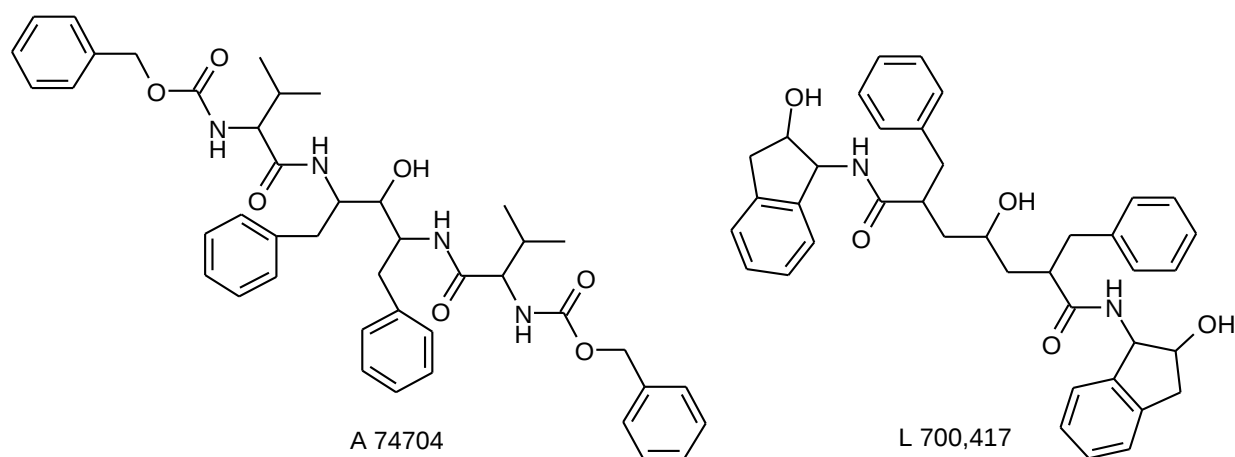


Рис. 2.5 Інгібітори зворотної транскриптази та протеази ВІЛ

Поєднання ідентичних фармакофорів часто досягається завдяки використанню олігомерного, зазвичай метиленового ланцюга. Що, наприклад, було використано у розробці інгібіторів ацетилхолінестерази – *біс*-такрину [94] та антипротозойного препарату – пентамідину [95] (рис. 2.6).

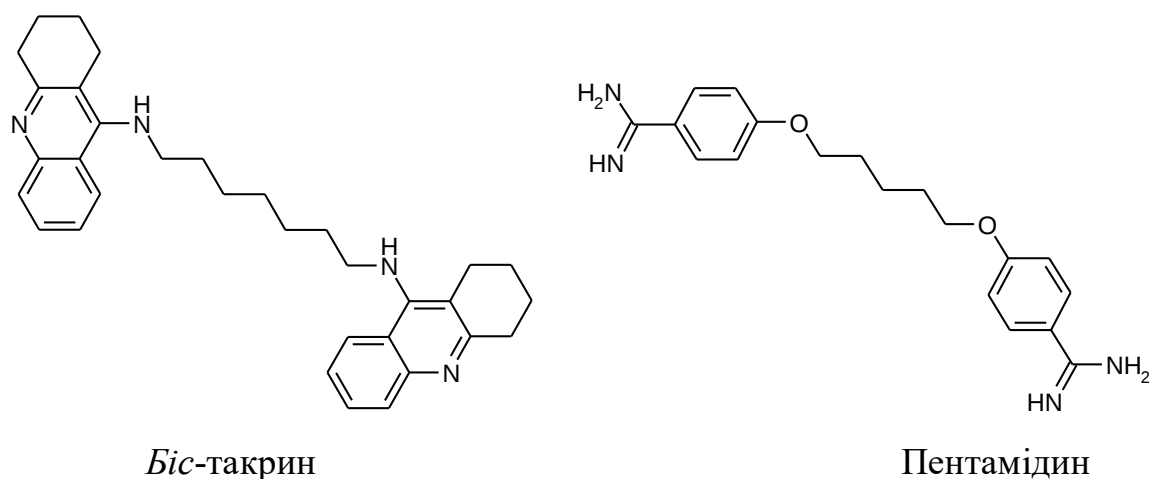


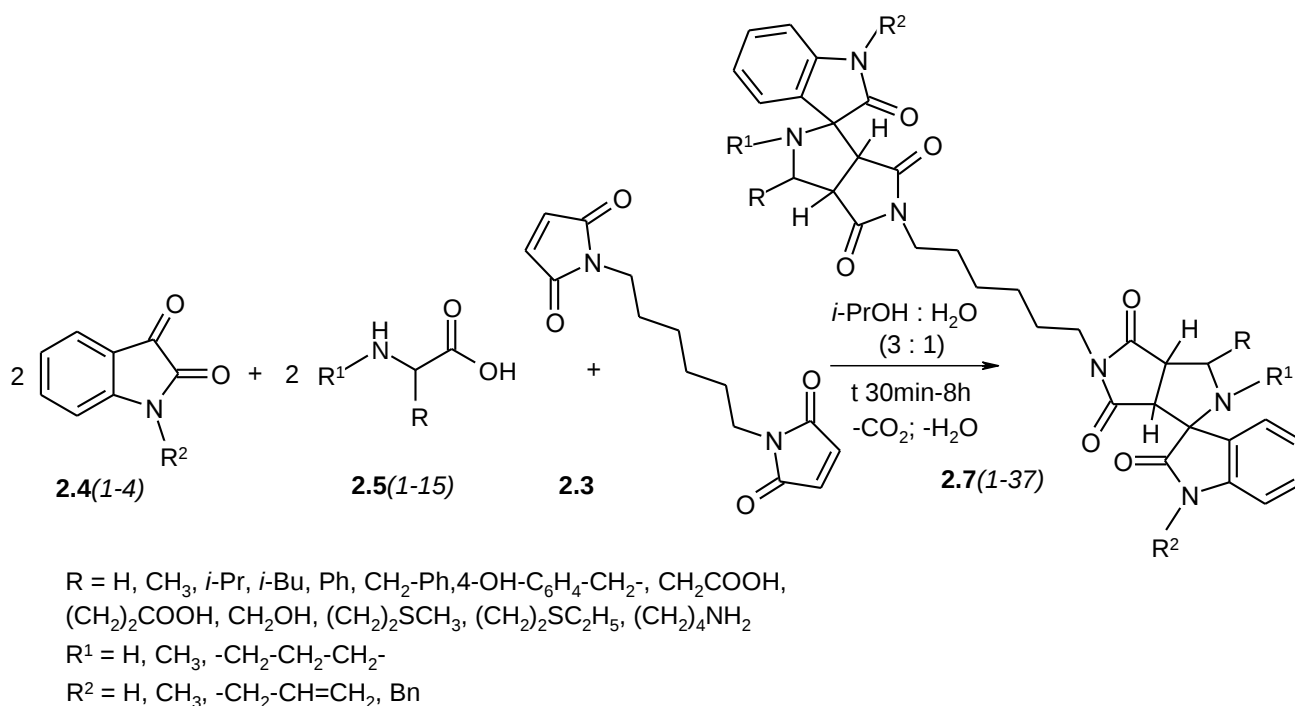
Рис. 2.6 Приклади препаратів з ідентичними фармакофорами

Враховуючи все вище зазначене, в продовження пошуку нових біологічно активних речовин – похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу, було

заплановано синтез широкого ряду симетричних похідних даної спірогетероциклічної системи, які поєднані між собою гексаметиленовою ланкою.

Шляхом трикомпонентної доміно-конденсації двократного надлишку ізатинів **2.4(1-4)** та α -амінокислот **2.5(1-15)** з *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїнімідом **2.3** в середовищі полярних розчинників синтезовано нові симетричні похідні гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1*H*,5*H*)-триону) **2.7(1-37)** (схема 2.4) [96, 97].

Схема 2.4



Дана реакція проходила складніше, ніж при отриманні моно-похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу. Отримати і виділити *bis*-похідні даної спірогетероциклічної системи було можливо тільки при суворому дотриманні співвідношення реагентів: ізатин-амінокислота-диполярфіл (2:2:1). У противному випадку утворювалися монопохідні або складно було виділити продукт реакції із реакційної суміші [98, 99].

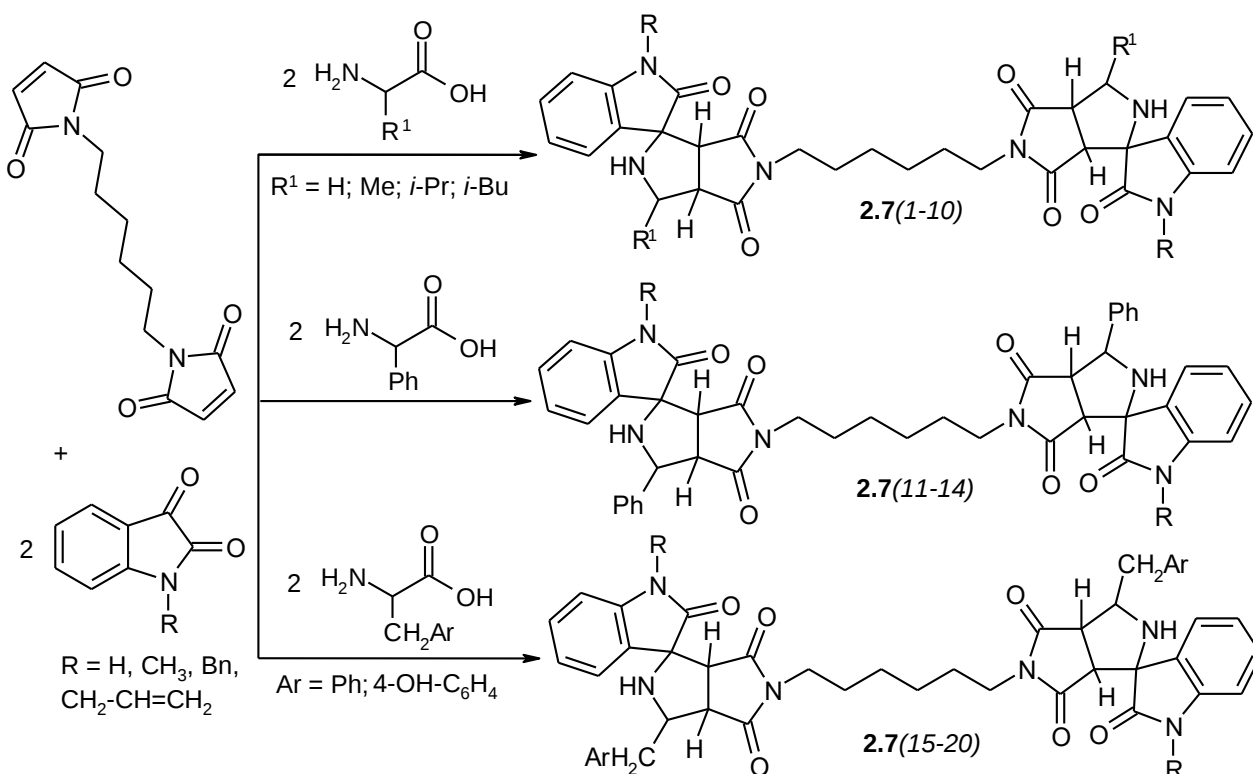
Оптимальним розчинником для проведення даної трикомпонентної взаємодії було обрано ізопропанол у суміші з водою в співвідношенні (3:1). Слід зазначити, що при проведенні конденсації в середовищі MeOH-H₂O (3:1) (що широко застосовується в синтезі подібних похідних [37,38,44]) –

збільшувався час перебігу реакції, а продукти утворювалися з меншими виходами або у вигляді маслянистих сполук, які важко піддавались перекристалізації.

При проведенні реакції спостерігалось бурхливе виділення CO_2 (стадія декарбоксилювання). В подальшому (на стадії утворення азометиніліду) яскраво-червоне забарвлення розчину змінювалось, в залежності від того з якою амінокислотою проходила дана взаємодія. Про закінчення взаємодії свідчив перехід до блідо-жовтого кольору реакційного середовища.

Взагалі перебіг реакції багато в чому залежав від природи амінокислот. Використовуючи амінокислоти з первинною аміногрупою **2.5** (гліцин, L-аланін, L-валін, L-лейцин, L-фенілгліцин, L-феніلالанін, L-тірозин) та ізатини (ізатин **2.4(1)**, N-метилізатин **2.4(2)**, N-бензилізатин **2.4(3)**, N-алілізатин **2.4(4)**) в реакціях трикомпонентної конденсації з N-гексаметилен-біс-малеїнімідом **2.3** було одержано 20 симетричних цільових сполук **2.7(1-20)** з різними алкільними та арильними радикалами у положеннях 1 та 5' (схема 2.4.1) [100].

Схема 2.4.1

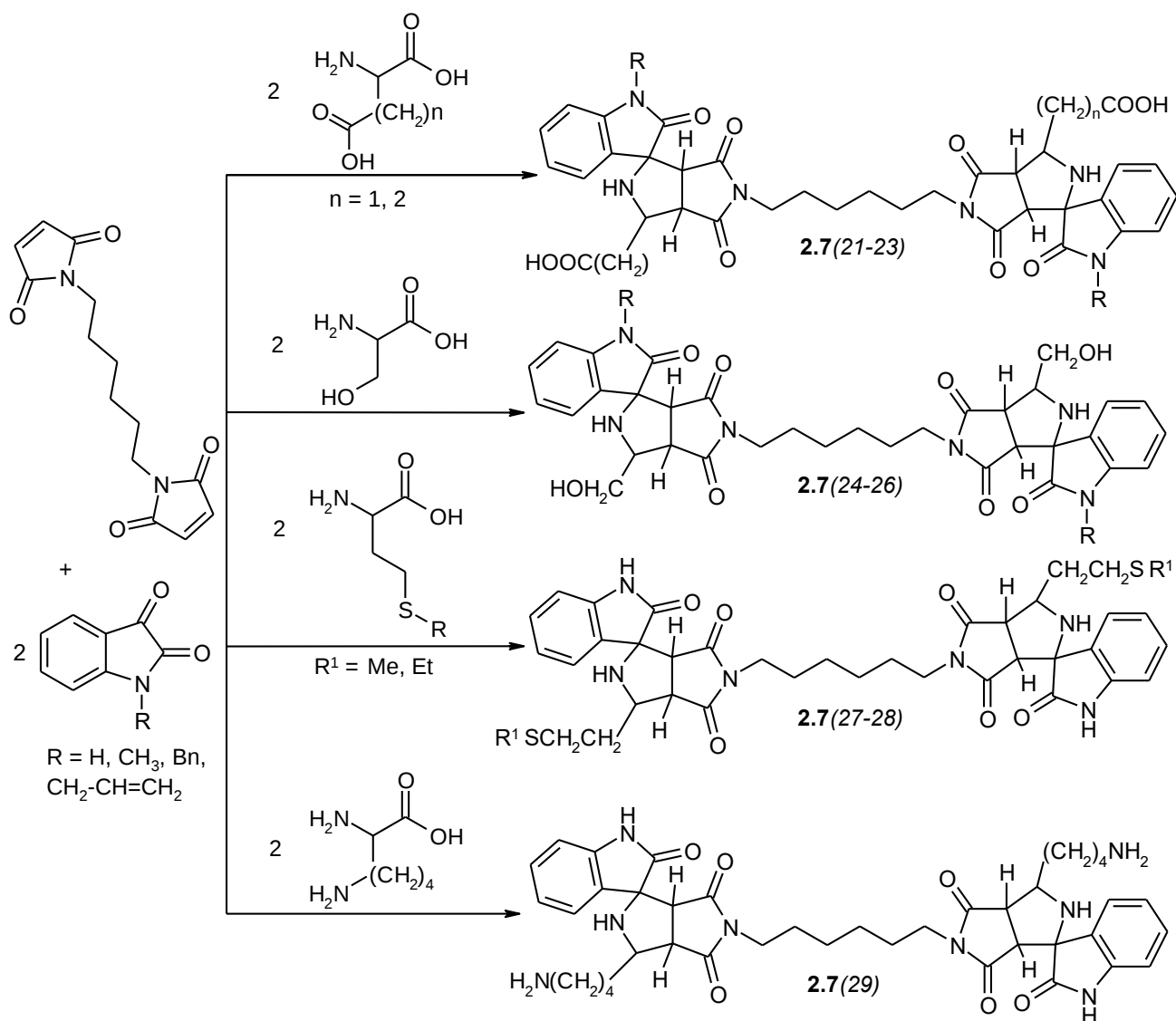


Слід зазначити, що цільові продукти з арильними радикалами у положенні 5', а саме **2.7(11-20)**, утворювалися легко, реакція тривала не більше години, а продукти випадали із киплячого розчину у вигляді аморфних осадів, які після перекристалізації набували білого кольору. При цьому, на стадії утворення азометинілідів між ізатинами **2.4(1-4)** та L-фенілгліцином або L-фенілаланіном реакційна суміш забарвлювалася в яскраво-малиновий колір, а з L-тіозином в пурпурово-бордовий.

Реакції трикомпонентної конденсації з отриманням цільових продуктів з алкільними радикалами у положенні 5' **2.7(1-10)**, навпаки тривали довше (до 5 годин у випадку з гліцином або до 8 годин у випадку з L-аланіном), а продукти реакції утворювалися у вигляді маслянистих сполук, які важко було перекристалізувати, відповідно і виходи реакцій були меншими. Після перекристалізації утворювалися аморфні дрібнодисперсні продукти білого або блідо-жовтого кольору. На стадії формування азометинілідів з L-лейцином реакційна суміш забарвлювалась в яскраво-рожевий колір, а у випадку з L-валіном спостерігалось малинове забарвлення.

Згідно даних літератури, похідні спіро-2-оксіндолів, з гетерофункціональними замісниками проявляють широкий спектр біологічної активності. Тому було заплановано синтез симетричних похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу, які містять функціоналізовані залишки амінокислот у положенні 5'.

Використовуючи первинні амінокислоти **2.5** (L-лізин, L-серин, L-етіонін, L-метіонін, L-глутамінова кислота, L-аспарагінова кислота) та ізатини (ізатин **2.4(1)**, *N*-метилізатин **2.4(2)**, *N*-бензилізатин **2.4(3)**, *N*-алілізатин **2.4(4)**) в доміно-реакціях трикомпонентної конденсації з *N*-гексаметилен-*bis*-малеїнімідом **2.3** було одержано 9 симетричних цільових сполук **2.7(21-29)** з різними радикалами у положенні 5' до складу яких входять гетероатоми (O, N, S) та з алкільними і арильними замісниками у положенні 1. (схема 2.4.2).

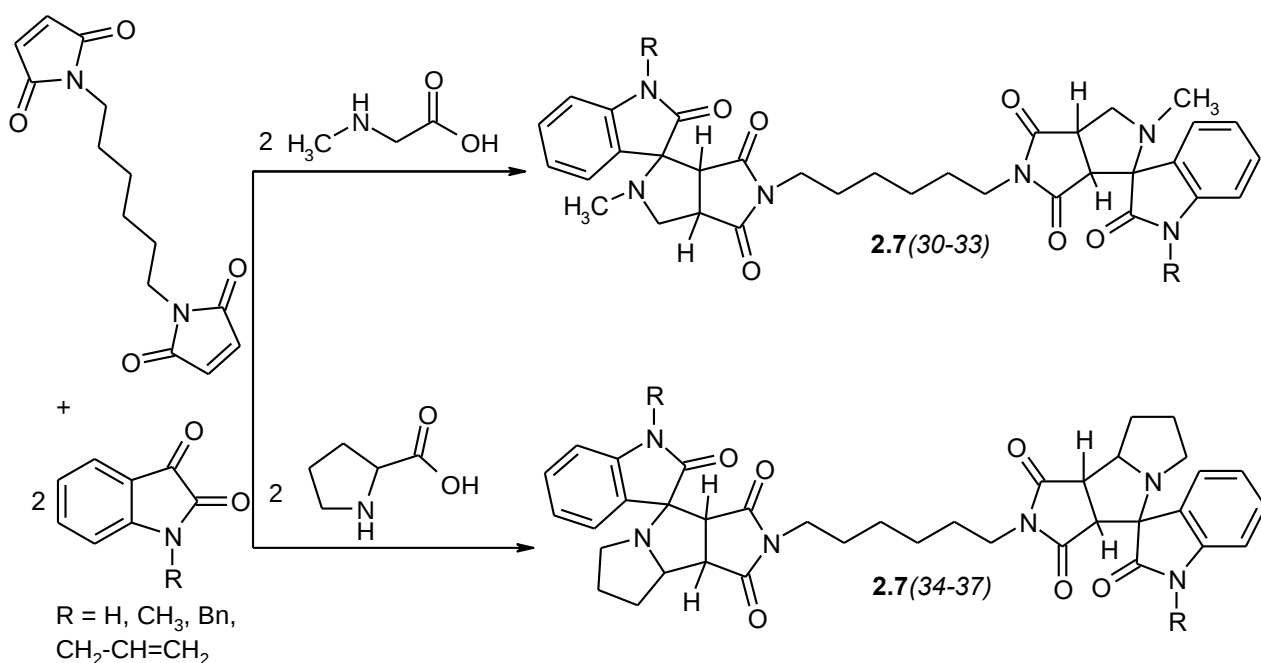


При використанні L-етіоніну та L-метіоніну в даній трикомпонентній взаємодії в середовищі *i*-PrOH-H₂O (3:1) реакція тривала 4 години. На стадії утворення азометинілідів реакційна суміш забарвлювалася в темно-зелений колір, а потім знову знебарвлювалася до блідо-жовтого кольору. Продукти реакції утворювалися у вигляді маслянистих сполук, які легко перекристалізовувались з метанолу. З L-серином, L-глутаміною та L-аспарагіною процес декарбоксилювання проходив бурхливо, на стадії утворення азометинілідів реакційні суміші забарвлювалися в яскраві рожеві кольори, реакції тривали протягом двох годин, а після охолодження розчинів випадали аморфні блідо-рожеві осаді, які перекристалізовували із

ізопропанолу. З L-лізином дана реакція проходила складно та тривала близько 6 годин. На стадії утворення азометиніліду спостерігалось забарвлення розчину в темно-коричневий колір. Продукт реакції утворювався у вигляді маслянистої чорної сполуки, яку виливали на лід, а потім перекристалізовували із суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1), в результаті утворювався білий аморфний продукт.

В науковій літературі наводиться багато прикладів реакцій 1,3-диполярного циклоприєднання з використанням вторинних амінокислот саркозину та L-проліну. Нами було заплановано синтез 4'-N-заміщених симетричних похідних гексаметилен-N,N'-*bis*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*] піролу **2.7(30-37)** з різними алкільними та арильними радикалами у положенні 1. Так, шляхом однореакторної трикомпонентної конденсації ізатинів **2.4(1-4)** з саркозином або L-проліном та *N*-гексаметилен-*bis*-малеїнімідом **2.3** в середовищі полярних розчинників були отримані цільові сполуки **2.7(30-37)** (схема 2.4.3).

Схема 2.4.3



З L-проліном перебіг даної реакції 1,3-диполярного циклоприєднання дещо відрізнявся від попередніх. Після закипання реакційної суміші на стадії декарбоксилювання спостерігалось бурхливе виділення CO₂ і поступова

зміна кольору від яскраво-червоного до яскраво-зеленого; через 10 хвилин розчин набував блакитного, а потім синього кольору. Ймовірно припустити, що така зміна яскравих кольорів відбувалась на стадії утворення азометиніліду, тому що в результаті даної реакції утворюється не піроло [3,4-с]пірольний комплекс, а піроло[3,4-с]піролізидиновий. Загалом реакція тривала 6 годин і потребувала в три рази більшої кількості розчинника, ніж у таких реакціях з іншими амінокислотами. Після знебарвлення реакційних сумішей нагрівання припиняли, з охололих розчинів випадали осад, які перекристалізовували із суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1) і отримували аморфні продукти білого кольору.

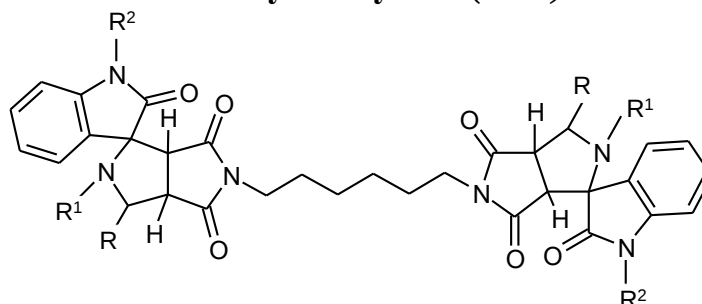
Із саркозином реакції тривали протягом п'яти годин. На стадії утворення азометиніліду реакційна суміш забарвлювалась в темно-коричневий колір, потім розчини поступово знебарвлювались. Після охолодження реакційної суміші випадали масляні осад, які перекристалізовували з метанолу і, в результаті, отримували білі аморфні продукти.

Таким чином, можна стверджувати, що структура α -амінокислот суттєво впливає на перебіг реакції 1,3-диполярного циклоприєднання. Зміна замісників в ізатині у положенні 1, навпаки, здебільшого не впливала на проходження даної трикомпонентної взаємодії. Цільові продукти з арильними радикалами у положенні 5' утворювались з більшими виходами і за менший час проходження реакції. При використанні вторинних амінокислот L-проліну та саркозину перебіг реакції 1,3-диполярного циклоприєднання мав певні особливості, зокрема утворення азометинілідів, а потім і цільових продуктів потребувало значно більшого часу [101].

Будову одержаних сполук підтверджували методом ¹H та ¹³C ЯМР – спектроскопії, масс-спектрометрії та даними елементного аналізу. Виходи, температури плавлення і дані елементного аналізу синтезованих сполук наведено в таблиці 2.4

Таблиця 2.4

Виходи, температури плавлення та дані елементного аналізу сполук 2.7(1-37) загальної формули:



Сполука	Т.пл., °C	Брутто формула, М.м.	Аналіз, % <u>Знайдено</u> <u>Вирахувано</u>			Вихід %
			C	H	N	
1	2	3	4	5	6	7
2.7(1) R=R ¹ =R ² =H	182-184	C ₃₂ H ₃₂ N ₆ O ₆ 596,65	<u>64,44</u> 64,42	<u>5,40</u> 5,41	<u>14,12</u> 14,09	80
2.7(2) R=CH ₃ , R ¹ =R ² =H	260-262	C ₃₄ H ₃₆ N ₆ O ₆ 624,70	<u>65,39</u> 65,37	<u>5,84</u> 5,81	<u>13,47</u> 13,45	62
2.7(3) R=CH ₃ , R ¹ =H, R ² =All	150*	C ₄₀ H ₄₄ N ₆ O ₆ 704,83	<u>68,18</u> 68,16	<u>6,27</u> 6,29	<u>11,95</u> 11,92	51
2.7(4) R=CH ₃ , R ¹ =H, R ² =Bn	190*	C ₄₈ H ₄₈ N ₆ O ₆ 804,95	<u>71,65</u> 71,62	<u>6,04</u> 6,01	<u>10,47</u> 10,44	81
2.7(5) R=CH ₃ , R ¹ =H, R ² =CH ₃	228-230	C ₃₆ H ₄₀ N ₆ O ₆ 652,76	<u>66,27</u> 66,24	<u>6,16</u> 6,18	<u>12,89</u> 12,87	47
2.7(6) R= <i>i</i> -Pr, R ¹ =R ² =H	172-174	C ₃₈ H ₄₄ N ₆ O ₆ 680,81	<u>67,07</u> 67,04	<u>6,49</u> 6,51	<u>12,36</u> 12,34	88
2.7(7) R= <i>i</i> -Pr, R ¹ =H, R ² =All	180*	C ₄₄ H ₅₂ N ₆ O ₆ 760,94	<u>69,44</u> 69,45	<u>6,91</u> 6,89	<u>11,07</u> 11,04	49
2.7(8) R= <i>i</i> -Pr, R ¹ =H, R ² =Bn	153-155	C ₅₂ H ₅₆ N ₆ O ₆ 861,06	<u>72,56</u> 72,54	<u>6,54</u> 6,56	<u>9,79</u> 9,76	56
2.7(9) R= <i>i</i> -Bu, R ¹ =R ² =H	158-160	C ₄₀ H ₄₈ N ₆ O ₆ 708,87	<u>67,81</u> 67,78	<u>6,85</u> 6,83	<u>11,89</u> 11,86	63
2.7(10) R= <i>i</i> -Bu, R ¹ =H, R ² =All	190*	C ₄₆ H ₅₆ N ₆ O ₆ 789,00	<u>70,05</u> 70,03	<u>7,14</u> 7,15	<u>10,67</u> 10,65	43
2.7(11) R=Ph, R ¹ =R ² =H	190*	C ₄₄ H ₄₀ N ₆ O ₆ 748,85	<u>70,60</u> 70,57	<u>5,37</u> 5,38	<u>11,25</u> 11,22	75
2.7(12) R=Ph, R ¹ =H, R ² =All	208-210	C ₅₀ H ₄₈ N ₆ O ₆ 828,98	<u>72,46</u> 72,45	<u>5,86</u> 5,84	<u>10,17</u> 10,14	80
2.7(13) R=Ph, R ¹ =H, R ² =Bn	110*	C ₅₈ H ₅₂ N ₆ O ₆ 929,10	<u>75,00</u> 74,98	<u>5,62</u> 5,64	<u>9,08</u> 9,05	66
2.7(14) R=Ph, R ¹ =H, R ² =CH ₃	160-162	C ₄₆ H ₄₄ N ₆ O ₆ 776,90	<u>71,15</u> 71,12	<u>5,70</u> 5,71	<u>10,85</u> 10,82	82
2.7(15) R=Bn, R ¹ =R ² =H	246-248	C ₄₆ H ₄₄ N ₆ O ₆ 776,90	<u>71,08</u> 71,12	<u>5,74</u> 5,71	<u>10,85</u> 10,82	92
2.7(16) R=Bn, R ¹ =H, R ² =All	210*	C ₅₂ H ₅₂ N ₆ O ₆ 857,03	<u>72,91</u> 72,88	<u>6,15</u> 6,12	<u>9,82</u> 9,81	79

1	2	3	4	5	6	7
2.7(17) R=4-OH-C ₆ H ₄ -CH ₂ -, R ¹ =R ² =H	276-278	C ₄₆ H ₄₄ N ₆ O ₆ 808,90	<u>68,33</u> 68,30	<u>5,50</u> 5,48	<u>10,41</u> 10,39	55
2.7(18) R=4-OH-C ₆ H ₄ -CH ₂ -, R ¹ =H, R ² =All	230*	C ₅₂ H ₅₂ N ₆ O ₈ 889,03	<u>70,28</u> 70,25	<u>5,89</u> 5,90	<u>9,48</u> 9,45	51
2.7(19) R=4-OH-C ₆ H ₄ -CH ₂ -, R ¹ =H, R ² =Bn	198-200	C ₆₀ H ₅₆ N ₆ O ₈ 989,15	<u>72,88</u> 72,86	<u>5,73</u> 5,71	<u>8,51</u> 8,50	75
2.7(20) R=4-OH-C ₆ H ₄ -CH ₂ -, R ¹ =H, R ² =CH ₃	218-220	C ₄₈ H ₄₈ N ₆ O ₈ 836,95	<u>68,91</u> 68,89	<u>5,77</u> 5,78	<u>10,06</u> 10,04	72
2.7(21) R=CH ₂ COOH, R ¹ =R ² =H	210*	C ₃₆ H ₃₆ N ₆ O ₁₀ 712,72	<u>60,69</u> 60,67	<u>5,11</u> 5,09	<u>11,80</u> 11,79	34
2.7(22) R=(CH ₂) ₂ COOH, R ¹ =R ² =H	182*	C ₃₈ H ₄₀ N ₆ O ₁₀ 740,78	<u>61,62</u> 61,61	<u>5,46</u> 5,44	<u>11,37</u> 11,34	45
2.7(23) R=(CH ₂) ₂ COOH, R ¹ =H, R ² =All	142*	C ₄₄ H ₄₈ N ₆ O ₁₀ 820,91	<u>64,39</u> 64,38	<u>5,87</u> 5,89	<u>10,27</u> 10,24	45
2.7(24) R=CH ₂ OH, R ¹ =R ² =H	175-177	C ₃₄ H ₃₆ N ₆ O ₈ 656,70	<u>62,22</u> 62,19	<u>5,52</u> 5,53	<u>12,83</u> 12,80	79
2.7(25) R=CH ₂ OH, R ¹ =H, R ² =All	122-124	C ₄₀ H ₄₄ N ₆ O ₈ 736,83	<u>65,22</u> 65,20	<u>6,05</u> 6,02	<u>11,42</u> 11,41	45
2.7(26) R=CH ₂ OH, R ¹ =H, R ² =Bn	198-200	C ₄₈ H ₄₈ N ₆ O ₈ 836,95	<u>68,92</u> 68,89	<u>5,77</u> 5,78	<u>10,07</u> 10,04	79
2.7(27) R=(CH ₂) ₂ SCH ₃ , R ¹ =R ² =H	180*	C ₃₈ H ₄₄ N ₆ O ₆ S ₂ 744,94	<u>61,30</u> 61,27	<u>5,93</u> 5,95	<u>11,31</u> 11,28	74
2.7(28) R=(CH ₂) ₂ SC ₂ H ₅ , R ¹ =R ² =H	170-172	C ₄₀ H ₄₈ N ₆ O ₆ S ₂ 772,99	<u>62,18</u> 62,15	<u>6,25</u> 6,26	<u>10,89</u> 10,87	58
2.7(29) R=(CH ₂) ₄ NH ₂ , R ¹ =R ² =H	225-227	C ₄₀ H ₅₀ N ₈ O ₆ 738,89	<u>65,05</u> 65,02	<u>6,80</u> 6,82	<u>15,20</u> 15,17	70
2.7(30) R=H, R ¹ =CH ₃ , R ² =H	270*	C ₃₄ H ₃₆ N ₆ O ₆ 624,70	<u>65,39</u> 65,37	<u>5,84</u> 5,81	<u>13,47</u> 13,45	69
2.7(31) R=H, R ¹ =CH ₃ , R ² =All	103-105*	C ₄₀ H ₃₆ N ₆ O ₆ 704,83	<u>68,18</u> 68,16	<u>6,28</u> 6,29	<u>11,95</u> 11,92	78
2.7(32) R=H, R ¹ =CH ₃ , R ² =Bn	140*	C ₄₈ H ₄₈ N ₆ O ₆ 804,95	<u>71,65</u> 71,62	<u>6,03</u> 6,01	<u>10,45</u> 10,44	46
2.7(33) R=H, R ¹ =R ² =CH ₃	102-104	C ₃₆ H ₄₀ N ₆ O ₆ 652,76	<u>66,26</u> 66,24	<u>6,21</u> 6,18	<u>12,90</u> 12,87	78
2.7(34) R-R ¹ =(CH ₂) ₃ , R ² =H	150-152	C ₃₈ H ₄₀ N ₆ O ₆ 676,78	<u>67,46</u> 67,44	<u>5,99</u> 5,96	<u>12,44</u> 12,42	81
2.7(35) R-R ¹ =(CH ₂) ₃ , R ² =All	120*	C ₄₄ H ₄₈ N ₆ O ₆ 756,91	<u>69,85</u> 69,82	<u>6,41</u> 6,39	<u>11,13</u> 11,10	47
2.7(36) R-R ¹ =(CH ₂) ₃ , R ² =Bn	220*	C ₅₂ H ₅₂ N ₆ O ₆ 857,03	<u>72,91</u> 72,88	<u>6,13</u> 6,12	<u>9,83</u> 9,81	50
2.7(37) R-R ¹ =(CH ₂) ₃ , R ² =CH ₃	233-235	C ₄₀ H ₄₄ N ₆ O ₆ 704,83	<u>68,19</u> 68,16	<u>6,31</u> 6,29	<u>11,94</u> 11,92	55

Примітка.*- сполука плавиться з розкладанням.

Спектри ^1H ЯМР синтезованих сполук **2.7(1-37)** характеризуються наявністю сигналів NH-протонів 2-оксіндольного фрагменту, які проявляються у вигляді синглетів на ділянці 10.38-10.86 м.ч., метиленових протонів системи піроло[3,4-с]піролу у вигляді дублету Н-2а' протонів при 3,40-3,50 м.ч., триплету Н-5а' протонів при 3,50-3,60 м.ч. і мультиплету для протонів Н-5' при 4,00-4,40 м.ч. Значення констант спін-спінової взаємодії протонів Н-2а' і Н-5а' та протонів Н-5' і Н-5а' складало 7-8 Гц, що ймовірно вказує на їх *цис*-орієнтацію. Типовий спектр синтезованих сполук наведено на рис. 2.7.

Характеристичні сигнали бензилових протонів 5'-CH₂Ar для сполук **2.7(16-18)** проявлялись у вигляді мультиплетів протонів Н-5' при δ 4,10-4,25 м.ч. Для сполук **2.7(4)**, **2.7(8)**, **2.7(13)**, **2.7(19)**, **2.7(26)**, **2.7(32)**, **2.7(36)** є характерними N-бензилові N-CH₂Ar сигнали протонів, які проявлялись синглетом при δ 4,65-5,00 м.ч. Приклад ^1H -ЯМР спектра сполуки **2.7(19)** наведено на рис. 2.8.

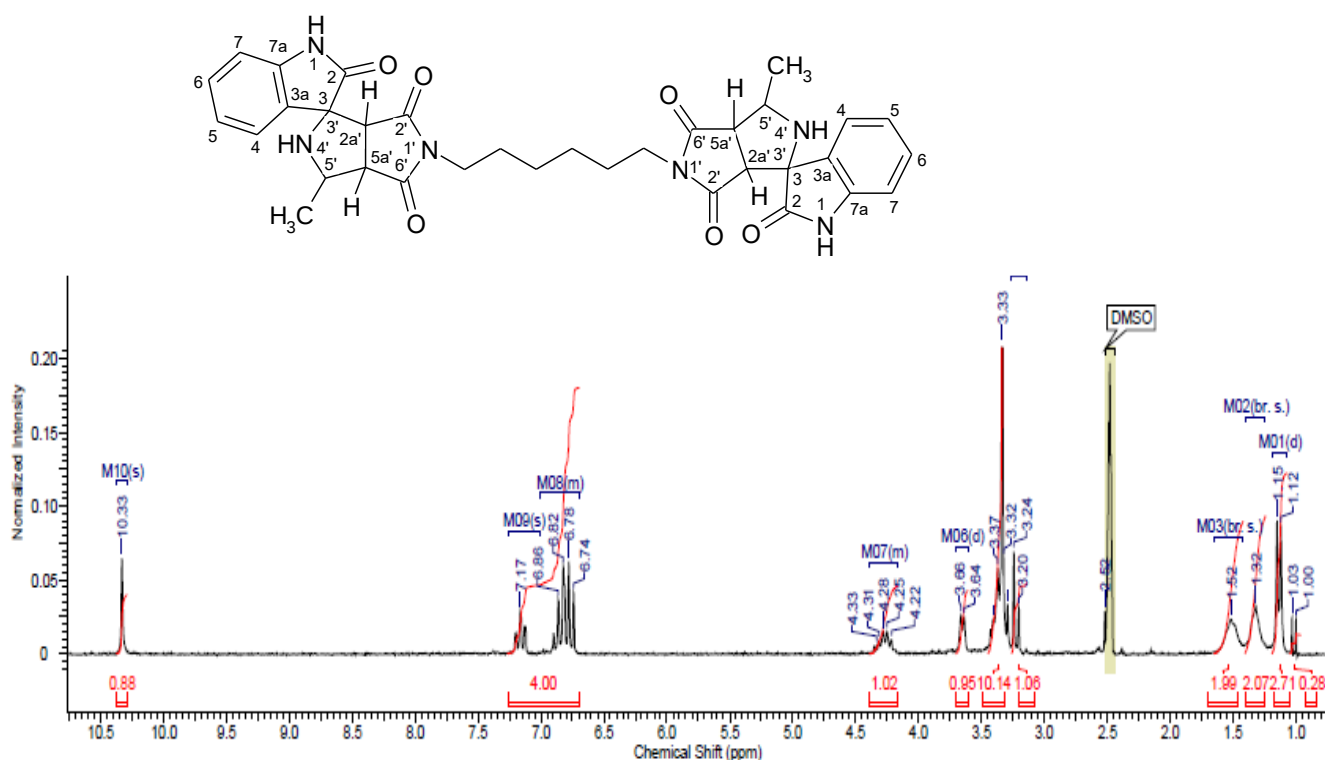


Рис. 2.7 Спектр ^1H ЯМР гексаметилен-N,N'-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-с] пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-триону) **2.7(2)**

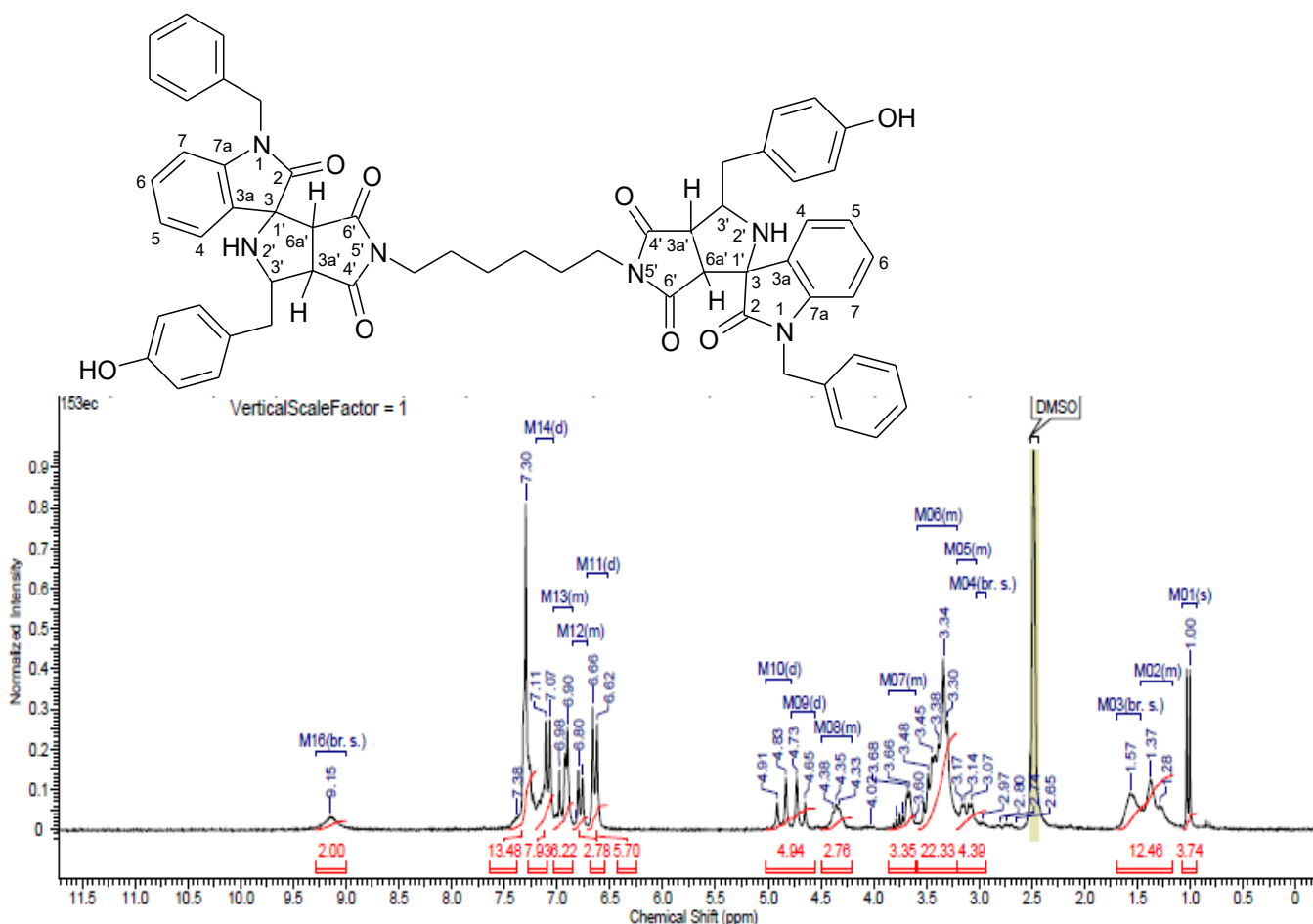


Рис. 2.8 Спектр ^1H ЯМР гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-(*n*-гідроксибензил)-2а',5а'-дигідро-4'*H*-1*N*-бензил-2,2',6' (1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) 2.7(19)

Спектри ^1H ЯМР сполук 2.7(5), 2.7(14), 2.7(20), 2.7(33), 2.7(37) характеризуються наявністю сигналів *N*-метильних протонів 2-оксіндольного фрагменту у вигляді синглетів при δ 3.01-3.10 м.д., сигналами аліфатичних протонів гексаметиленового залишку CH_2CH_2 груп у вигляді двох мультиплетів при δ 0.83-1.29 і δ 1.11-1.75 м.ч. та сигналами двох фрагментів 1'- NCH_2 , які присутні на ділянці від 2.53 до 3,52 м.ч.

Головною особливістю спектрів ^{13}C ЯМР для сполук 2.7(2), 2.7(11), 2.7(18), 2.7(37) є наявність сигналу ядра 3C-спіро, який спостерігався на ділянці 67-68 м.ч. Приклад ^{13}C ЯМР спектра сполуки 2.7(11) наведено на рис. 2.9

Характеристики ^1H ЯМР спектрів та сигнали мас-спектрів сполук **2.7(1-37)** наведено в табл. 2.5. Характеристики ^{13}C ЯМР спектрів сполук **2.7(2), 2.7(11), 2.7(18), 2.7(37)** наведено в табл. 2.6

**Дані ^1H ЯМР спектроскопії та мас-спектрометрії похідних
гексаметилен-*N,N'*-біс-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу 2.7(1-37)**

Сполука	δ , м.ч. (J, Гц)
1	2
2.7(1)	1.16-1.34 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.39-1.60 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 3.16 (м, 4H, 2×1'-NCH ₂), 3.42 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.9), 3.54 (м, 4H, 2×5'a-CH), 3.75 (т, 2H, 2H, 4'-NH, J=6.10), 4.24-4.43 (т, 5'-CH ₂ J=7.02), 6.71-6.93 (м, 6H, ArH), 7.18 (т, 2H, ArH, J=7.63), 10.37 (с, 2H, 2×1-NH) EI-MS [M+1] ⁺ 596.7
2.7(2)	1.13 (д, 6H, 2×5'-CH ₃ , J=6.41), 1.32 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.52 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 3.17-3.24 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.9), 3.29-3.47 (м, 6H, 2×5'a-CH, 2×1'-NCH ₂), 3.65 (д, 2H, 2×2'-NH, J=4.88), 4.19-4.38 (м, 2H, 2×5'-CH), 6.67-6.95 (м, 6H, ArH), 7.08-7.27 (м, 2H, ArH), 10.33 (с, 2H, 2×1-NH); EI-MS [M+1] ⁺ 624.7

1	2
2.7(3)	1.16 (д, 6H, 2×CH ₃ , J=6.10), 1.14-1.33 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.35-1.53 (м, 8H, CH ₂ CH ₂ , 2×1'-NCH ₂), 3.17-3.28 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.70), 3.60-3.83 (м, 4H, 2×5'a-CH, 2×4'-NH), 4.16-4.40 (м, 6H, 2×5'-CH, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.04-5.28 (м, 4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.67-5.96 (м, 2H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 6.73-7.02 (м, 6H, ArH), 7.10-7.33 (д, 2 H, ArH, J=7.0) EI-MS [M+1] ⁺ 704.8
2.7(4)	1.18 (д, 6H, 2×CH ₃ , J=6.41), 1.28-1.32 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.46-1.53 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 3.35-3.49 (м, 6H, 2×5'a-CH, 2×1'-NCH ₂), 3.69-3.89 (д, 2H, 2×4'-NH, J=4.88), 4.35 (м, 2H, 2×5'-CH), 4.83 (с, 4H, 2×CH ₂ Ph), 6.75-7.00 (м, 4H, ArH), 7.09-7.40 (м, 14H, ArH) EI-MS [M+1] ⁺ 804.9
2.7(5)	1.02 (д, 6H, 2×5'-CH ₃ J=6.10), 1.30 (м, 4H, CH ₂ CH ₂) 1.45 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 3.01 (с, 6H, 2×1'-NCH ₃), 3.04-3.17 (м, 4H, 2×1'-NCH ₂) 3.59-3.92 (м, 2H, 2×4'-NH), 4.34 (д, 2H, 2×5'-CH, J=3.97) 5.46 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=8.55), 6.91-7.45 (м, 4H, ArH) 7.54 (т, 4H, ArH, J=6.26) EI-MS [M+1] ⁺ 652.7
2.7(6)	0.83 (д, 12H, 2×CH(CH ₃) ₂ , J=6.10), 1.11-1.20 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.21-1.38 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.38-1.59 (м, 4H, 2×1'-NCH ₂), 3.23 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.63), 3.48 (т, 2H, 2×5'a-CH J=7.17), 3.64 (д, 2H, 2×4'-NH, J=4.58), 3.68-3.84 (м, 2H, 2×5'-CH), 6.65-6.90 (м, 6H, ArH), 7.08-7.22 (т, 2H, ArH, J=7.2), 10.29 (с, 2H, 2×1'-NH) EI-MS [M+1] ⁺ 680.8
2.7(7)	0.86 (д, 6 H, CH(CH ₃) ₂ , J=6.10), 1.05-1.19 (д, 6 H, CH(CH ₃) ₂ J=6.10), 1.33 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.52 (м, 8H, CH ₂ CH ₂ , 2×1'-NCH ₂), 1.79-1.85 (м, 2H, CH(CH ₃) ₂), 3.25 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.63), 3.53 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.02), 3.67-3.90 (д, 2H, 2×2'-NH, J=6.6), 4.09-4.41 (м, 6H, 2×5'-CH, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.09-5.35 (м, 4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.72-5.97 (м, 2H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 6.77-7.05 (м, 6H, ArH), 7.18-7.33 (м, 2H, ArH) EI-MS [M+1] ⁺ 760.9
2.7(8)	0.86 (д, 6H, CH(CH ₃) ₂ , J=7), 0.98-1.08 (м, 2H, CH(CH ₃) ₂), 1.12 (д, 6 H, CH(CH ₃) ₂ J=6.0), 1.31 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.51 (м, 4H, CH ₂ CH ₂ , 2×1'-NCH ₂), 1.70-1.97 (м, 2H, CH(CH ₃) ₂), 3.22-3.43 (14H, м, M07), 3.25 (м, 2H, 2×1'-NCH ₂ , 2×2'a-CH), 3.55 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7), 3.72-3.92 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.7), 4.65-5.00 (м, 4H, 2×CH ₂ Ph), 6.72-7.07 (м, 6H, ArH) 7.26-7.48 (м, 10H, ArH), 7.16 (т, 2H, ArH, J=7) EI-MS [M+1] ⁺ 861.0
2.7(9)	0.86 (д, 12H, 2×CH ₂ CH(CH ₃) ₂ , J=6.10), 1.15-1.31 (м, 6H, CH ₂ CH ₂ , 5'-CH-CH ₂), 1.34-1.50 (м, 6H, CH ₂ CH ₂ , 5'-CH-CH ₂), 1.74 (м, 2H, CH ₂ CH(CH ₃) ₂), 3.16-3.27 (м, 6H, 2×2'a-CH, 2×1'-NCH ₂), 3.38 (2H, 2×5'a-CH, J=7.69), 3.59 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.22), 4.22 (м, 2H, 2×5'-CH), 6.68-6.91 (м, 6H, ArH), 7.06-7.25 (т, 2H, ArH, J=7.30), 10.31 (с, 2H, 2×1'-NH) EI-MS [M+1] ⁺ 708.9
2.7(10)	0.87 (д, 12H, 2×CH ₂ CH(CH ₃) ₂ , J=5.80), 1.22 (т, 4H, 2×CH ₂ CH(CH ₃) ₂ , J=6.41), 1.24-1.31 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.40-1.63 (м, 8H, CH ₂ CH ₂ , 2×1'-NCH ₂), 1.64-1.88 (м, 2H, CH ₂ CH(CH ₃) ₂), 3.24 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.63), 3.36-3.50 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.6), 3.61-3.73 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.6), 4.10-4.37 (м, 6H, 2×5'-CH, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.08-5.31 (м, 4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.72-5.96 (м, 2H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 6.80-7.02 (м, 6H, ArH), 7.16-7.31 (т, 2H, ArH, J=7.6) EI-MS [M+1] ⁺ 789.0
2.7(11)	1.29 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.43 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 3.59-3.86 (м, 4H, 2×2'a-CH, 2×1'-NCH ₂), 4.07-4.20 (2H, 2×5'a-CH, J=7.01), 4.34 (д, 2H, 2×4'-NH, J=4.27), 5.40-5.52 (м, 2H, 5'-CH), 6.98 (с, 5H, ArH), 7.21 (м, 9H, ArH), 7.34 (м, 4H, ArH), 10.38 (с, 2H, 1'-NH); EI-MS [M+1] ⁺ 748.8

1	2
2.7(12)	1.14-1.32 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.46-1.75 (м, 8H, CH ₂ CH ₂ , 2×1'-NCH ₂), 3.63 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.63), 3.84 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.15), 4.15-4.43 (т, 2H, 2×5'-CH, J=7.69), 5.09-5.33 (4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.40-5.55 (м, 4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.72-5.98 (м, 2H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 6.74-7.12 (м, 10 H, ArH), 7.15-7.32 (м, 4H, ArH), 7.32-7.48 (м, 4 H, ArH) EI-MS [M+1] ⁺ 828.9
2.7(13)	1.17-1.33 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.45-1.75 (м, 8H, CH ₂ CH ₂ , 2×1'-NCH ₂), 3.55 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=9.16), 3.65 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.78), 3.76 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.6), 4.32 (т, 2H, 2×5'-CH, J=7.69), 4.87 (с, 4H, 2×CH ₂ Ph), 6.82 (д, 2H, ArH, J=7.94), 6.91-7.12 (м, 4H, ArH), 7.28-7.33 (м, 10H, ArH), 7.45-7.50 (м, 2H, ArH, J=8.55) EI-MS [M+1] ⁺ 929.1
2.7(14)	1.30 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.45 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 3.10 (с, 6H, 2×1'-NCH ₃), 3.04-3.17 (м, 4H, 2×1'-NCH ₂), 3.59-3.92 (м, 4H, 2×5'a-CH), 4.11 (м, 2H, 2×4'-NH), 4.34 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=3.97), 5.46 (д, 2H, 2×5'-CH, J=8.55), 6.89-7.45 (м, 16H, ArH), 7.54 (т, 2H, ArH, J=6.26) EI-MS [M+1] ⁺ 776.9
2.7(15)	1.37 (м, 4H, (NCH ₂ CH ₂ CH ₂) ₂), 1.57 (м, 4H, (NCH ₂ CH ₂ CH ₂) ₂), 2.58 (дд, J=14.0, 8.2, 4H, CH ₂ Ph), 3.20 (дд, J=13.8, 5.5, 2H, CH ₂ Ph), 3.25 (д, J=7.6, 2H, NH), 3.48-3.36 (м, 6H, 5'-H+(NCH ₂ CH ₂ CH ₂) ₂), 3.54 (д, J=3.7, 2H, 2a'-H), 4.33 (м, 2H, 5a'-H), 6.73 (д, J=7.7, 2H, Ar), 6.84 (м, 4H, Ar), 7.13 (т, J=7.1, 4H, Ar), 7.33-7.18 (м, 8H, Ar), 10.27 (с, 2H, NH) EI-MS [M+1] ⁺ 776.9
2.7(16)	1.20-1.37 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.39-1.59 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 2.43-2.52 (м, 4H, 2×1'-NCH ₂), 3.33-3.55 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.63), 3.60-3.70 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.6), 3.70-3.85 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.5), 4.04-4.27 (м, 6H, 2×5'-CH, 2×CH ₂ Ph), 4.28-4.52 (4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.00-5.29 (м, 4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.66-5.93 (м, 2H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 6.78-7.03 (м, 6H, ArH), 7.09-7.39 (м, 12H, ArH) EI-MS [M+1] ⁺ 857.0
2.7(17)	1.37 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.57 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 2.97-3.29 (м, 8H, 2×5'a-CH, 2×2'a-CH, 2×1'-NCH ₂), 3.52 (д, 2H, 4'-NH, J=7.02), 4.27 (м, 2H, 2×5'-CH), 6.58-6.88 (м, 11H, ArH), 6.95-7.21 (м, 7H, ArH), 9.16 (м, 2H, ArOH), 10.30 (с, 2H, 2×1'-NH) EI-MS [M+1] ⁺ 808.9
2.7(18)	1.21-1.43 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.45-1.68 (м, 4H, CH ₂ CH ₂ , 2×1'-NCH ₂), 3.20-3.48 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.63), 3.57 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.71), 3.67-3.85 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.02), 4.10-4.25 (м, 6H, 2×5'-CH, 2×CH ₂ C ₆ H ₄ -4-OH), 4.27-4.45 (4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.06-5.30 (м, 4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.68-5.94 (м, 2H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 6.61-6.65 (д, 4H, ArH, J=7.94), 6.79-7.13 (м, 10H, ArH), 7.20 (д, 2H, ArH, J=7.02), 9.15 (уш., с, 2H, 2×CH ₂ C ₆ H ₄ -4-OH); EI-MS [M+1] ⁺ 889.0
2.7(19)	1.25-1.43 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.45-1.68 (м, 4H, CH ₂ CH ₂ , 2×1'-NCH ₂), 3.19-3.43 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.63), 3.56 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.71), 3.67-3.85 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.02), 4.69 (д, 2H, 2×5'-CH, J=16), 4.55 (с, 4H, 2×NCH ₂ Ph), 4.87 (д, 6H, 2×5'-CH, 2×CH ₂ C ₆ H ₄ -4-OH), 6.61-6.65 (д, 4H, ArH, J=7.94), 6.79-7.13 (м, 10H, ArH), 7.20 (д, 2H, ArH, J=7.02), 9.15 (уш., с, 2H, 2×CH ₂ C ₆ H ₄ -p-OH) EI-MS [M+1] ⁺ 989.1
2.7(20)	1.02 (д, 6H, 2×5'-CH ₃ , J=6.10), 1.30 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.45 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 3.01 (с, 6H, 2×1'-NCH ₃), 3.04-3.17 (м, 4H, 2×1'-NCH ₂), 3.59-3.92 (м, 2H, 2×4'-NH), 4.34 (д, 2H, 2×5'-CH, J=3.97), 5.46 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=8.55), 6.91-7.45 (м, 4H, ArH), 7.54 (т, 4H, ArH, J=6.26) EI-MS [M+1] ⁺ 836.9
2.7(21)	1.15-1.31 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.35-1.50 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 2.37 (д, 2H, 2'a-CH, J=4.88), 2.53-2.75 (т, 4H, 2×1'-NCH ₂ , J=6.7), 3.30 (д, 4H, CH ₂ COOH, J=7.17), 3.45-3.59 (м, 2H, 2×5'a-CH), 3.74 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.26), 4.36-4.53 (м, 2H, 2×5'-CH), 6.67-6.92 (м, 6H, ArH), 7.07-7.25 (т, 2H, ArH, J=7.5), 10.37 (с, 2H, 2×1'-NH), 11.63 (уш. с, 2H, COOH) EI-MS [M+1] ⁺ 712.8

1	2
2.7(22)	1.14 - 1.31 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.36-1.51 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.91 (т, 4H, 2×1'-NCH ₂ , J= 6.56), 2.36 (д, 2H, 4'a-CH, J=7.02), 3.24 (т, 2H, 2H, 2×5'a-CH, J=7.63), 3.31-3.50 (м, 8H, 2×CH ₂ CH ₂ COOH), 3.61-3.83 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.6), 3.85 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.25), 4.01-4.20 (м, 2H, 2×5'-CH), 6.69-6.93 (м, 6H, ArH), 7.16 (т, 2H, ArH, J=7.48), 10.34 (с, 2H, 2×1-NH), 11.74 (уш. с, 2H, COOH) EI-MS [M+1] ⁺ 740.7
2.7(23)	1.32 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.43-1.73 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.92 (4H, 2×1'-NCH ₂), 2.23 - 2.43 (м, 4H, (CH ₂) ₂ COOH), 2.43-2.57 (м, 4H, м, 4H, (CH ₂) ₂ COOH), 3.25 (д, 2H, 2'a-CH, J=7.63), 3.41-3.54 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.63), 3.75 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.25), 4.02-4.37 (м, 6H, 2×5'-CH, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.05-5.31 (м, 4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.69-5.99 (м, 2H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 6.79-7.04 (м, 6H, ArH.), 7.24 (т, 2H, ArH., J=7.63), 11.72 (уш. с, 2H, COOH) EI-MS [M+1] ⁺ 820.9
2.7(24)	1.15-1.31 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.35-1.50 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 3.35-3.52 (м, 6H, 2×2'a-CH, 2×1'-NCH ₂), 3.55-3.59 (т, 2H, 2×5'a-CH J=7.2), 3.76 (4H, 2×CH ₂ O), 3.86 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.22), 4.13-4.33 (м, 2H, 2×5'-CH), 4.50 (т, 2H, 2×CH ₂ OH, J=5.19), 6.70-6.93 (м, 6H, ArH), 7.09-7.24 (т, 2H, ArH, J=7.2), 10.33 (с, 2H, 2×1-NH) EI-MS [M+1] ⁺ 656.7
2.7(25)	0.86 (д, 6 H, CH(CH ₃) ₂ , J=6.10), 1.05-1.19 (д, 6 H, CH(CH ₃) ₂ J=6.10), 1.33 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.52 (м, 8H, CH ₂ CH ₂ , 2×1'-NCH ₂), 1.79-1.85 (м, 2H, CH(CH ₃) ₂), 3.25 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.63), 3.53 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.02), 3.67-3.90 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.6), 4.09-4.41 (м, 6H, 2×5'-CH, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.09-5.35 (м, 4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.72-5.97 (м, 2H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 6.77-7.05 (м, 6H, ArH), 7.18-7.33 (м, 2H, ArH) EI-MS [M+1] ⁺ 736.8
2.7(26)	0.86 (д, 6H, CH(CH ₃) ₂ , J=7), 0.98-1.08 (м, 2H, CH(CH ₃) ₂), 1.12 (д, 6 H, CH(CH ₃) ₂ J=6.0), 1.31 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.51 (м, 4H, CH ₂ CH ₂ , 2×1'-NCH ₂), 1.70-1.97 (м, 2H, CH(CH ₃) ₂), 3.22-3.43 (14H, м, M07), 3.25 (м, 2H, 2×1'-NCH ₂ , 2×2'a-CH), 3.55 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7), 3.72- 3.92 (д, 2H, 2×2'-NH, J=6.7 Гц), 4.65 - 5.00 (м, 4H, 2×CH ₂ Ph), 6.72 -7.07 (м, 6H, ArH) 7.26-7.48 (м, 10H, ArH), 7.16 (т, 2H, ArH, J=7) EI-MS [M+1] ⁺ 836.9
2.7(27)	1.23-1.39 (м, 6H, CH ₂ CH ₂ , 2×CH ^a H ^b -CH ₂ S), 1.45-1.67 (6H, CH ₂ CH ₂ , 2×CH ^a H ^b -CH ₂ S), 2.03 (с, 6H, 2×SCH ₃), 2.53-2.70 (м, 4H, 2×CH ^a H ^b -CH ₂ S), 3.25 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.63), 3.33 (м, 4H, 2×1'-NCH ₂), 3.38-3.51 (д, 2H, 4'-NH J=6.64), 3.67-3.84 (м, 2H, 2×5'a-CH), 4.14-4.27 (м, 2H, 2×5'-CH), 6.69-6.91 (м, 6H, ArH), 7.17 (т, 2H, ArH, J=8.09), 10.35 (с, 2H, 2×1-NH) EI-MS [M+1] ⁺ 744.9
2.7(28)	1.16 (т, 6H, 2×CH ₃ CH ₂ S, J=7.32), 1.26-1.42 (м, 6H, CH ₂ CH ₂ , 2×CH ^a H ^b -CH ₂ S), 1.53 (6H, CH ₂ CH ₂ , 2×CH ^a H ^b -CH ₂ S), 1.84-2.12 (м, 4H, 2×CH ^a H ^b -CH ₂ S), 2.62 (м, 4H, 2×CH ₃ CH ₂ S), 3.24 (д, 1H, 4'-NH, J=7.63), 3.40-3.50 (т, 2H, 2×5'a-CH,), 3.68-3.87 (м, 6H, 2×2'a-CH, 2×1'-NCH ₂), 4.22 (м, 2H, 5'-CH.), 4.34 (д, 2H, 4'-NH, J=3.97), 6.70-6.93 (м, 6H, ArH), 7.17 (т, 2H, ArH, J=7.32), 10.34 (с, 2H, 2×1-NH) EI-MS [M+1] ⁺ 772.9
2.7(29)	0.86 (д, 12H, 2×CH ₂ CH(CH ₃) ₂ , J=6.10), 1.15-1.31 (м, 6H, CH ₂ CH ₂ , 5'-CH-CH ₂), 1.34-1.50 (м, 6H, CH ₂ CH ₂ , 5'-CH-CH ₂), 1.74 (м, 2H, CH ₂ CH(CH ₃) ₂), 3.16-3.27 (м, 6H, 2×2'a-CH, 2×1'-NCH ₂), 3.38 (2H, 2×5'a-CH, J=7.69), 3.59 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.22), 4.22 (м, 2H, 2×5'-CH), 6.68-6.91 (м, 6H, ArH), 7.06-7.25 (т, 2H, ArH, J=7.30), 10.31 (с, 2H, 2×1-NH) EI-MS [M+1] ⁺ 738.9

1	2
2.7(30)	1.29 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.48 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.89 (с, 6H, 2×4'-NCH ₃), 2.57-2.74 (т, 4H, 2×1'-NCH ₂), 2.91 (д, 2H, 2×2'a-CH), 3.14-3.26 (м, 2H, 2×5'a-CH), 3.51 (д, 4H, 2×5'-CH ₂ , J=7.02), 6.62-6.74 (м, 2H, ArH), 6.76-6.98 (м, 3H, ArH), 7.12-7.34 (м, 3H, ArH), 10.52 (с, 2H, 2×1'-NH) EI-MS [M+1] ⁺ 624.8
2.7(31)	1.12-1.27 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.38-1.47 (м, 8H, CH ₂ CH ₂ 4H, 2×1'-NCH ₂), 1.88 (с, 6H, 2×4'-NCH ₃), 3.23 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.63), 3.48 (т, 2H, 2×5'a-CH J=7.15), 4.27 (м, 6H, 2×5'-CH, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.12 (м, 4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.78 (м, 2H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 6.93 (м, 6H, ArH), 7.28 (т, 2H, ArH, J=7.5) EI-MS [M+1] ⁺ 704.8
2.7(32)	1.19 - 1.33 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.46 - 1.55 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.89 (с, 6H, 2×4'-NCH ₃), 2.41 - 2.53 (т, 4H, 2×1'-NCH ₂ , J=7.1), 3.21-3.48 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=7.6), 3.58 (м, 2H, 2×5'a-CH, J=6.10), 3.74-4.33 (д, 4H, 2×5'-CH ₂), 4.79-4.99 (с, 4H, 2×CH ₂ Ph), 6.71-6.85 (м, 5H, ArH), 6.85-7.03 (м, 3H, ArH), 7.15-7.43 (м, 10H, ArH) EI-MS [M+1] ⁺ 804.9
2.7(33)	1.01 (д, 6H, 2×4'-NCH ₃ J=6.10), 1.30-1.50 (м, 8H, 2×CH ₂ CH ₂), 1.84 (с, 6H, 2×1'-NCH ₃), 3.02 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=3.05), 3.05-3.16 (м, 4H, 2×1'-NCH ₂), 3.24 (д, 4H, 2×5'-CH ₂ , J=7.63), 3.61-3.85 (м, 2H, 2×5'a-CH) 6.74 (д, 2H ArH, J=7.32), 6.85-7.21 (м, 4H, ArH) 7.21-7.47 (м, 2H, ArH) EI-MS [M+1] ⁺ 652.7
2.7(34)	1.29 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.49 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 2.27 (м, 4H, 2×1'-NCH ₂), 3.26-3.41 (м, 14H, 2×2'a-CH, 2×CH ₂ CH ₂ CH ₂), 3.43-3.60 (м, 4H, 2×5'a-CH), 4.20 (кв, 2H, 2×5'-CH, J=7.02), 6.73-6.96 (м, 6H, ArH), 7.11-7.31 (м, 2H, ArH), 10.52 (с, 2H, 2×1'-NH) EI-MS [M+1] ⁺ 676.7
2.7(35)	1.16-1.39 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.43-1.62 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.79 (8H, 2×1'-NCH ₂ , (CH ₂) ₃), 2.11-2.28 (м, 4H, (CH ₂) ₃), 2.28-2.41 (м, 4H, (CH ₂) ₃), 2.89 (д, 2H, 2×2'a-CH, 7.17), 3.52 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.71), 4.07-4.37 (м, 6H, 2×5'-CH, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.00-5.20 (м, 4H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 5.70-5.93 (м, 2H, 2×CH ₂ CH=CH ₂), 6.76-7.04 (м, 6H, ArH), 7.14-7.38 (м, 2 H, ArH) EI-MS [M+1] ⁺ 756.9
2.7(36)	1.17-1.33 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 1.45-1.75 (м, 8H, CH ₂ CH ₂ , 2×1'-NCH ₂), 3.55 (д, 2H, 2×4'a-CH, J=9.16), 3.65 (т, 2H, 2×5'a-CH, J=7.78), 3.76 (д, 2H, 2×4'-NH, J=6.6), 4.32 (т, 2H, 2×5'-CH, J=7.69), 4.87 (с, 4H, 2×CH ₂ Ph), 6.82 (д, 2H, ArH, J=7.94), 6.91-7.12 (м, 4H, ArH), 7.28-7.33 (м, 10 H, ArH), 7.45-7.50 (м, 2H, ArH, J=8.55) EI-MS [M+1] ⁺ 857.0
2.7(37)	1.30 (м, 4H, CH ₂ CH ₂) 1.50 (м, 4H, CH ₂ CH ₂) 1.80 (м, 8H, 2×1'-NCH ₂ , -(CH ₂) ₃), 2.11-2.40 (м, 8H, -(CH ₂) ₃ -) 3.09 (с, 6H, 2×1'-NCH ₃), 3.35-3.45 (м, 2H, 2×5'a-CH), 3.45-3.61 (м, 2H, 2×5'-CH) 4.23 (д, 2H, 2×2'a-CH, J=6.71) 6.80-7.09 (м, 6H, ArH), 7.24-7.42 (м, 2H, ArH); EI-MS [M+1] ⁺ 704.9

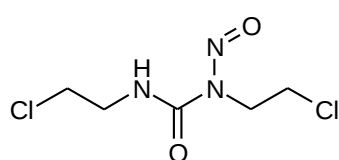
На сьогоднішній день існує багато наукових публікацій з описанням протипухлинної дії природних та синтетичних сполук, які містять гетероциклічне спіро-2-оксіндольне ядро. З іншого боку, при аналізі хімічної структури вже існуючих та запатентованих лікарських засобів з протипухлинною активністю встановлено, що деякі з них містять у своїй структурі нітрозогрупу. Наприклад, це такі лікарські засоби, як:

Таблиця 2.6

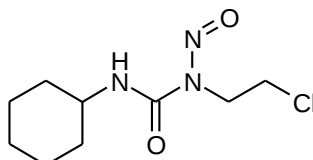
Дані ^{13}C ЯМР спектроскопії похідних
гексаметилен-*N,N'*-біс-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу 2.7(2),
2.7(11), 2.7(18), 2.7(37)

Сполука	δ , м.ч.
2.7(2)	16.90, 25.72, 25.77, 27.16, 37.95, 38.87, 39.07, 39.91, 40.12, 48.56, 51.74, 51.98, 67.79, 109.15, 120.92, 126.29, 127.51, 128.94, 142.12, 175.00, 176.33, 180.42
2.7(11)	25.30, 25.60, 25.74, 27.12, 27.76, 37.67, 38.68, 38.89, 39.09, 39.51, 39.72, 39.93, 49.34, 50.59, 59.45, 61.84, 67.11, 109.08, 120.79, 126.42, 126.91, 127.14, 127.33, 127.40, 128.05, 128.83, 134.27, 139.29, 142.13, 174.46, 174.98, 180.67
2.7(18)	25.33, 25.61, 26.96, 27.05, 27.78, 36.08, 36.85, 38.01, 38.71, 38.92, 39.13, 39.55, 39.75, 39.96, 41.15, 47.88, 52.06, 59.27, 61.90, 67.20, 108.57, 114.84, 116.87, 121.45, 125.60, 126.86, 128.79, 129.67, 129.86, 131.90, 134.27, 142.58, 155.40, 170.93, 174.61, 176.29, 178.17
2.7(37)	23.24, 25.24, 26.75, 37.89, 38.73, 38.94, 39.77, 39.98, 44.60, 45.50, 54.83, 63.73, 68.00, 108.50, 121.53, 123.91, 126.43, 129.44, 143.87, 174.95, 175.52, 176.62

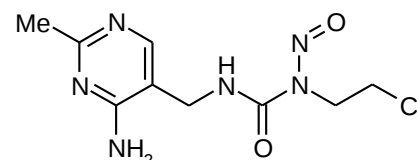
кармустин [102], ломустин [103], німустин [104] та *N*-нітрозо-*N'*-[(2-хлоретил)карбамоїл]-*L*-орнітин [105] (рис. 2.10).



кармустин



ломустин



німустин

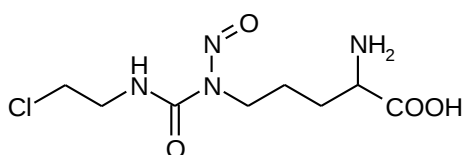
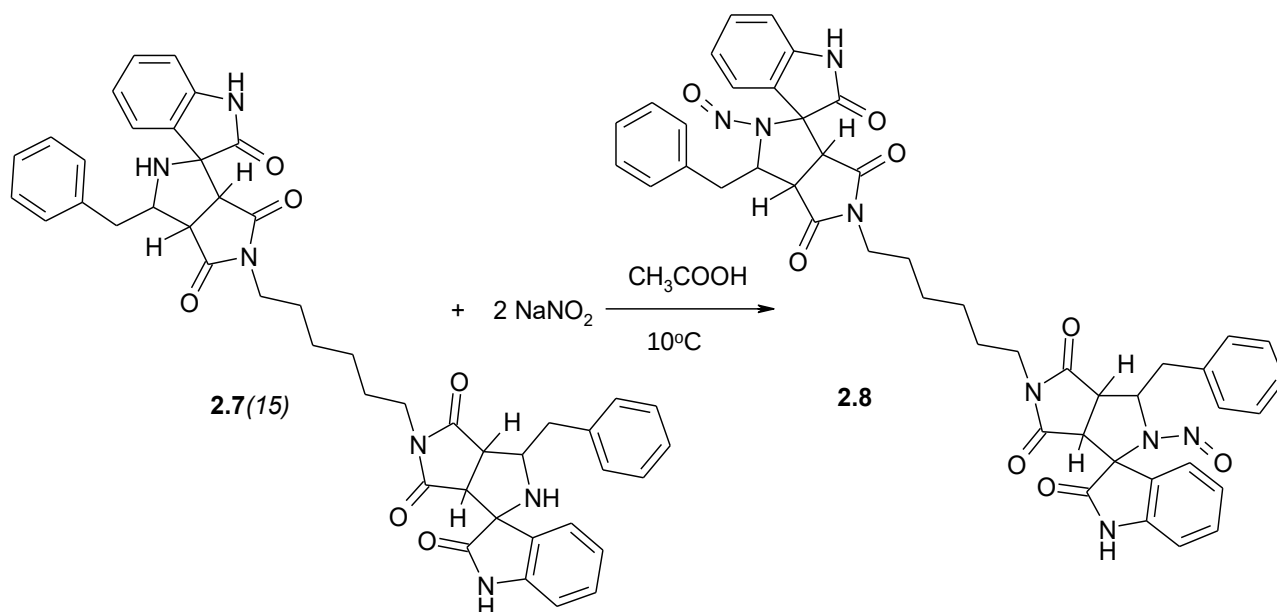
*N*-нітрозо-*N'*-[(2-хлоретил)карбамоїл]-*L*-орнітин

Рис. 2.10 Протипухлинні лікарські засоби, що містять у своїй структурі нітрозогрупу

Так з метою подальшого розширення рядів біологічно активних речовин, було вирішено дослідити можливість введення нітрозогрупи в спірогетероциклічне 2-оксіндольне ядро синтезованих симетричних сполук 2.7(1-37) та досліджено можливість нітразування даних сполук за 4'-NH

групою піроло[3,4-*c*]пірольного фрагменту на прикладі гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-бензил-2а',5а'-ди-гідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) **2.7(15)**. Останній піддавали дії надлишку натрій нітриту в оцтовій кислоті, внаслідок чого отримували білий аморфний продукт **2.8** з виходом 80% (схема 2.5) [106].

Схема 2.5



Будову одержаної сполуки доведено методами ^1H ЯМР, ІЧ-спектроскопії та елементним аналізом. Порівняння ІЧ-спектрів сполук **2.7(15)** та **2.8** дало змогу легко виявити нітрозогрупу сполуки **2.8** (табл. 2.7; рис. 2.11).

Таблиця 2.7

**Характеристичні частоти поглинання в ІЧ-спектрах
сполук **2.7(15)** та **2.8****

Сполука	ІЧ, cm^{-1} віднесення					
	$\nu \text{ NH}$	$\nu \text{ CH(аром)}$	$\nu \text{ CH(аліф)}$	$\nu \text{ C=O}$	$\nu \text{ N=O}$	$\nu \text{ C=C(аром)}$
2.7(15)	3325	3062, 3029	2940, 2862	1702	—	1620, 1453
2.8	3365	3062, 3030	2941, 2861	1708	1439	1619, 1473

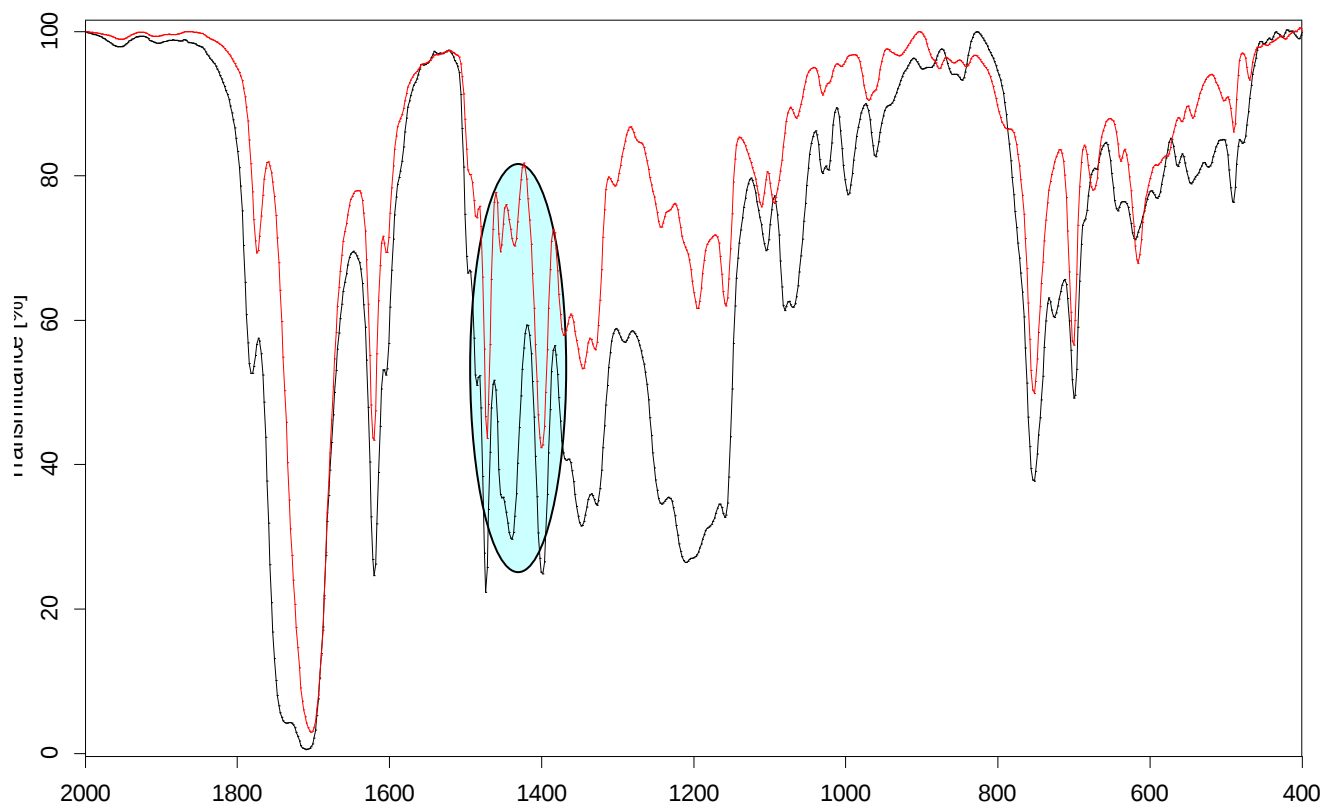
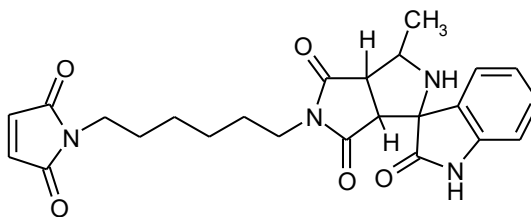


Рис. 2.11 ІЧ-спектри гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]пірол-5'-бензил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **2.7(15)** – червоним та гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-бензил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **2.8** – чорним

Експериментальна частина

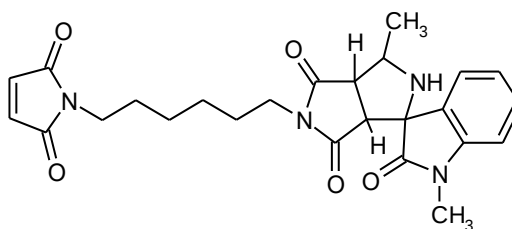
Значення температур плавлення одержані на апараті Галленкампа, модель MFB-595, у відкритих капілярах. Спектри ^1H ЯМР і ^{13}C -ЯМР були записані на спектрометрі Varian WXR (400 МГц) у $\text{DMSO-}d_6$, з використанням TMS як внутрішнього стандарту (хімічний зсув, м.ч.). Хромато-мас спектри реєстрували за допомогою пристрою Agilent 1100 HPLC з діодним матричним детектором. Елементний аналіз проводили на аналізаторі Carlo Erba CHNS-O EA 1108. ІЧ – спектри записані на спектрометрі Bruker Tensor 27 FT – IR у межах $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ у таблетках KBr, концентрація речовин 1%.

1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-5'-метил-2а',6а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон (2.6(1))



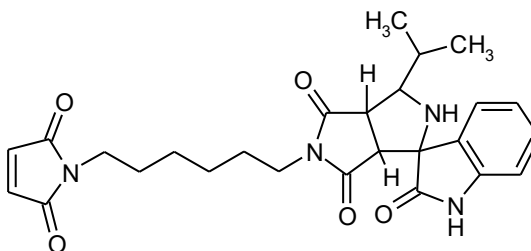
0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,18г (0,002 моль) L-аланіну **2.5(1)** та з 0,56г (0,002 моль) *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїніміду **2.3**. Додавали 6 мл ізопропанолу та 2 мл води. Суміш кип'ятили протягом двох годин, потім охолоджували до -5°C та витримували при цій температурі 24 години. Осад відфільтровували, промивали ізопропанолом і перекристалізовували із суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1).

1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-1,5'-диметил-2а',6а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон (2.6(2))



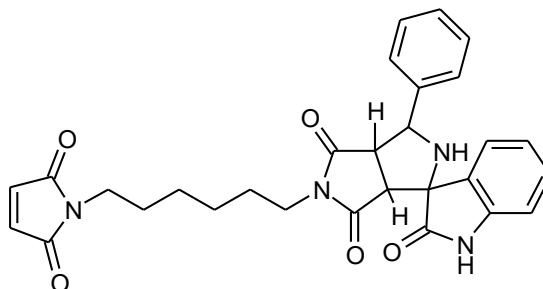
0,16г (0,001 Моль) *N*-метилізатину **2.4(2)** змішували з 0,09г (0,001 моль) L-аланіну **2.5(1)** та з 0,28г (0,001 моль) *N*-гексаметилен-*bis*-малеїніміду **2.3**. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили протягом двох годин, а потім охолоджували до -5°C та витримували при цій температурі 24 години. Осад відфільтровували, промивали і перекристалізовували із ізопропанолу.

1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-5'-ізопропіл-2а',6а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон (2.6(3))



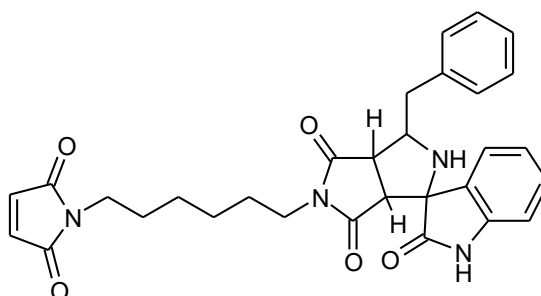
0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,23г (0,002 моль) L-валіну **2.5(2)** та з 0,56г (0,002 моль) *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїніміду **2.3**. Додавали 9 мл ізопропанолу та 3 мл води. Суміш кип'ятили протягом чотирьох годин, а потім виливали на лід, осад, що утворився фільтрували та перекристалізовували з суміші DMF-EtOH (1:1).

1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-5'-феніл-2а',6а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон (2.6(4))



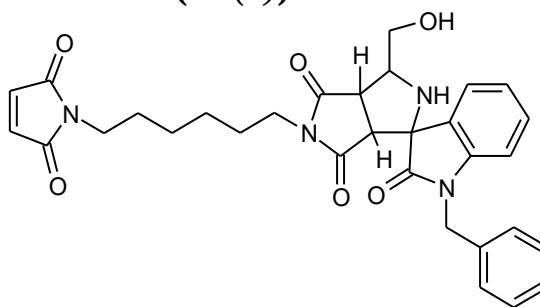
0,15г (0,001 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,15г (0,001 моль) L-фенілгліцину **2.5(3)** та з 0,28г (0,001 моль) *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїніміду **2.3**. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили протягом двох годин, осад випадав із киплячого розчину. Одержаний осад фільтрували та перекристалізовували із ізопропанолу.

1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-5'-бензил-2а',6а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон (2.6(5))



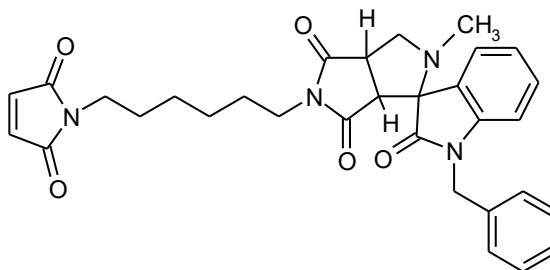
0,15г (0,001 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,17г (0,001 моль) L-фенілаланіну **2.5(4)** та з 0,28г (0,001 моль) *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїніміду **2.3**. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили протягом двох годин, а потім охолоджували до -5°C та витримували при цій температурі 24 години. Осад відфільтровували, промивали і перекристалізовували із ізопропанолу.

1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-1-бензил-5'-гідроксиметил-2а',6а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион (2.6(6))



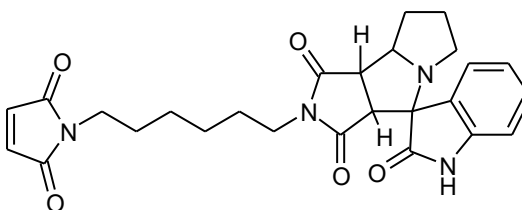
0,24г (0,001 Моль) *N*-бензилізатину **2.4(3)** змішували з 0,11г (0,001 моль) L-серину **2.5(5)** та з 0,28г (0,001 моль) *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїніміду **2.3**. Додавали 9 мл ізопропанолу та 3 мл води. Суміш кип'ятили протягом двох годин, після чого випадав осад, який відфільтровували та перекристалізовували із *i*-PrOH.

1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-1-бензил-4'-метил-2а',6а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион (2.6(7))



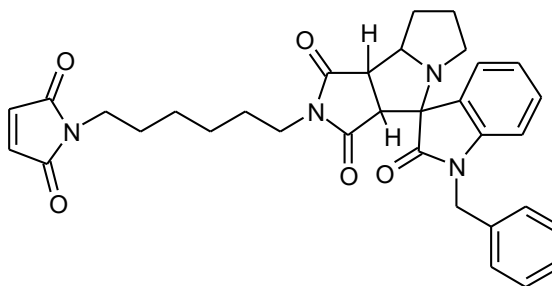
0,48г (0,002 Моль) *N*-бензилізатину **2.4(3)** змішували з 0,18г (0,002 моль) саркозину **2.5(6)** та з 0,56г (0,002 моль) *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїніміду **2.3**. Додавали 6 мл ізопропанолу та 2 мл води. Суміш кип'ятили протягом двох годин, а потім охолоджували до -5°C та витримували при цій температурі 24 години. Осад відфільтровували, промивали ізопропанолом та перекристалізовували із суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1).

1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролізидин-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион (2.6(8))



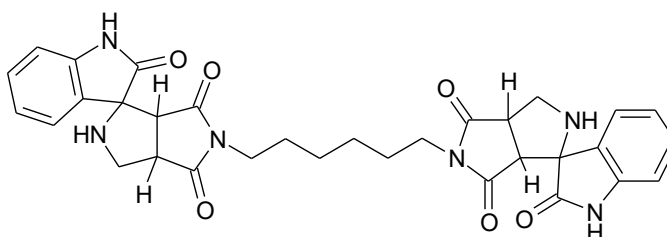
0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,24г (0,002 моль) L-проліну **2.5(7)** та з 0,56г (0,002 моль) *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїніміду **2.3**. Додавали 6 мл ізопропанолу та 2 мл води. Суміш кип'ятили протягом 30 хвилин, а потім охолоджували до -5°C та витримували при цій температурі 24 години. Осад відфільтровували, промивали ізопропанолом та перекристалізовували із суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1).

1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-1-бензил-2а',7а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион (2.6(9))



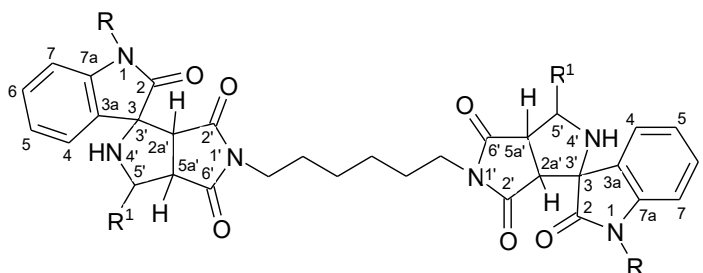
0,24г (0,001 Моль) *N*-бензилізатину **2.4(3)** змішували з 0,12г (0,001 моль) L-проліну **2.5(7)** та з 0,28г (0,001 моль) *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїніміду **2.3**. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили протягом двох годин, а потім виливали на лід, осад, що утворився фільтрували та перекристалізовували з суміші DMF-EtOH (1:1).

Гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 2.7(1)

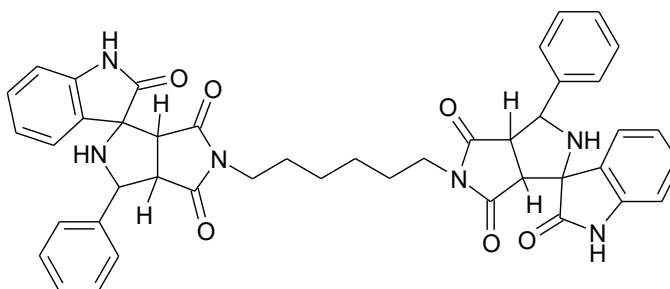


0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,15г (0,002 моль) L-гліцину **2.5(8)** та з 0,28г (0,001 моль) *N*-гексаметилен-*bis*-малеїніміду **2.3**. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили протягом п'яти годин, а потім виливали на лід. Осад, що утворився, фільтрували та перекристалізовували з суміші DMF-EtOH (1:1).

Аналогічним способом при використанні відповідних ізатинів: ізатин 2.7(2, 6, 9), *N*-алілізатин 2.7(3, 7, 10), *N*-бензилізатин 2.7(4, 8), *N*-метилізатин 2.7(5) та амінокислот: L-аланін 2.7(2-5), L-валін 2.7(6-8), L-лейцин 2.7(9, 10) були отримані сполуки 2.7(2-10) з алкільними чи арильним радикалами (R =метил, аліл, бензил) у положенні 1 та алкільними радикалами (R^1 =метил, ізопропіл, ізобутил) у положенні 5':



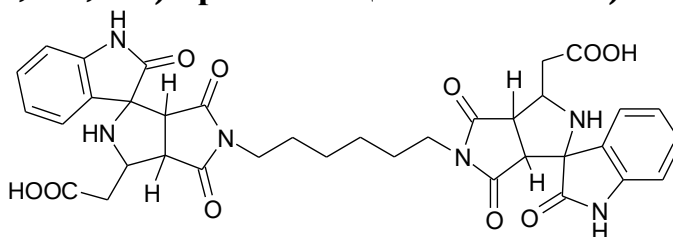
Гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-феніл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 2.7(11)



0,3г (0,002 Моль) ізатину 2.4(1) змішували з 0,3г (0,002 моль) L-фенілгліцину 2.5(3) та з 0,28г (0,001 моль) *N,N'*-гексаметилен-біс-малеїніміду 2.3. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили протягом однієї години, осад випадав із киплячого розчину. Одержаний осад відфільтровували, промивали та перекристалізовували із ізопропанолу.

Аналогічним способом при використанні відповідних ізатинів: ізатин 2.7(15, 17), *N*-алілізатин 2.7(12, 16, 18), *N*-бензилізатин 2.7(13, 19), *N*-метилізатин 2.7(14, 20) та амінокислот: L-фенілгліцин 2.7(12-14), L-фенілаланін 2.7(15, 16), L-тірозин 2.7(17-20) були отримані сполуки 2.7(12-20) з алкільними і арильним радикалами (R =метил, аліл, бензил) у положенні 1 та арильними радикалами (R^1 =феніл, бензил, *n*-гідроксибензил) у положенні 5'.

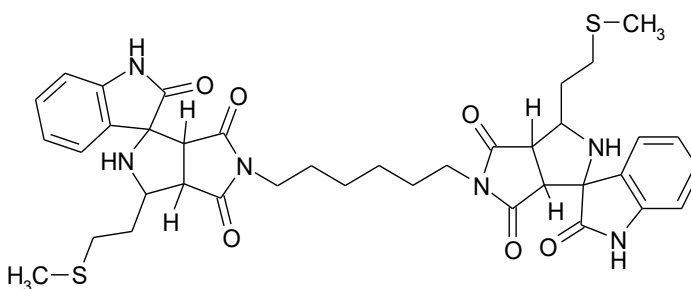
Гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион-5'-оцтової кислоти) 2.7(21)



0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,27г (0,002 моль) L-аспарагінової кислоти **2.5(11)** та з 0,28г (0,001 моль) *N,N'*-гексаметилен-біс-малеїніміду **2.3**. Додавали 6 мл ізопропанолу та 2 мл води. Суміш кип'ятили протягом двох годин, а потім охолоджували до -5°C та витримували при цій температурі 24 години. Одержаний осад відфільтровували, промивали і перекристалізовували із *i*-PrOH.

Аналогічним способом при використанні відповідних ізатинів: ізатин для **2.7(22, 24)**, *N*-алілізатин **2.7(23, 25)**, *N*-бензилізатин **2.7(26)** та амінокислот: L-глутамінова кислота для **2.7(22, 23)**, L-серин **2.7(24-26)** були отримані сполуки **2.7(22-26)** з алкільними чи арильним радикалами (R= аліл, бензил) у положенні 1 та залишками оцтової, пропіонової кислот або гідроксиметильним радикалом у положенні 5'.

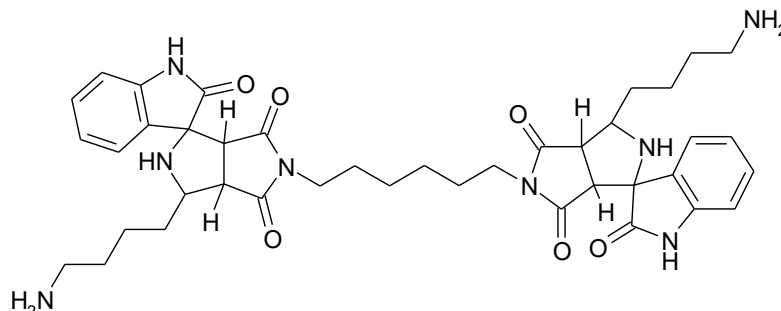
Гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-(2-метилсульфоніл-етил)-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 2.7(27)



0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,3г (0,002 моль) L-метионіну **2.5(13)** та з 0,28г (0,001 моль) *N,N'*-гексаметилен-біс-малеїніміду **2.3**. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили протягом чотирьох годин, після охолодження осад перекристалізовували із метанолу. Аналогічним способом отримували гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-

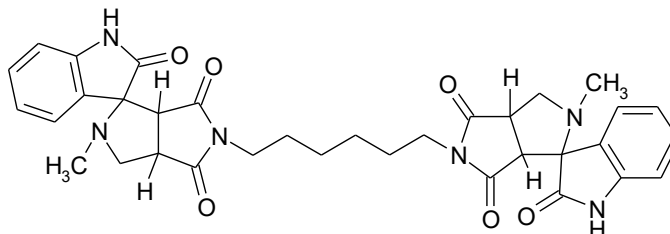
піроло[3,4-*c*]пірол-5'-(2-етилсульфоніл-етил)-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) **2.7(28)** з 0,33г (0,002 моль) L-етионіну.

Гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-амінобутил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) **2.7(29)**



0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,29г (0,002 моль) L-лізину **2.5(15)** та з 0,28г (0,001 моль) *N,N'*-гексаметилен-біс-малеїніміду **2.3**. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили протягом шісти годин, а потім виливали на лід, осад, що утворився фільтрували та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1).

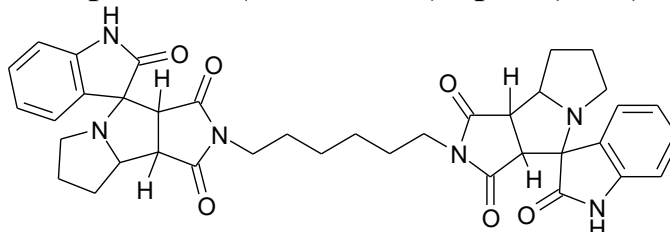
Гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) **2.7(30)**



0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,18г (0,002 моль) саркозину **2.5(6)** та з 0,28г (0,001 моль) *N,N'*-гексаметилен-біс-малеїніміду **2.3**. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили протягом п'яти годин, після охолодження осад, що утворився фільтрували та перекристалізовували з метанолу. Аналогічним способом отримували: гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-1-аліл-4'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) **2.7(31)**, гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-1-бензил-4'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) **2.7(32)**, гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-1,4'-диметил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) **2.7(33)** з 0,37г (0,002

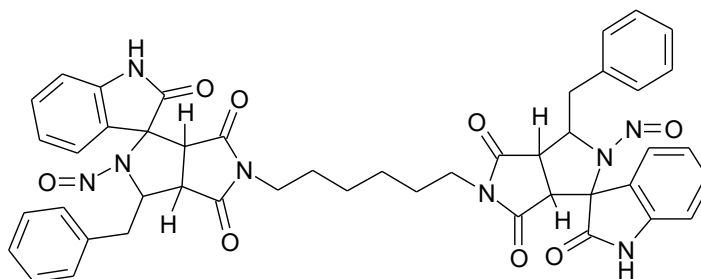
моль) *N*-алілізатину, 0,47г (0,002 моль) *N*-бензилізатину або 0,32г (0,002 моль) *N*-метилізатину відповідно.

Гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин-2а',7а'-дигідро-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 2.7(34)



0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,23г (0,002 моль) *L*-проліну **2.5(7)** та з 0,28г (0,001 моль) *N,N'*-гексаметилен-біс-малеїніміду **2.3**. Додавали 9 мл ізопропанолу та 3 мл води. Суміш кип'ятили протягом шістьох годин, з охололого розчину випадав осад, який перекристалізовували із суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1). Аналогічним способом отримували: гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин-1-аліл-2а',7а'-дигідро-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) **2.7(35)**, гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин-1-бензил-2а',7а'-дигідро-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) **2.7(36)**, гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин-1-метил-2а',7а'-дигідро-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) **2.7(37)**, з 0,37г (0,002 моль) *N*-алілізатину, 0,47г (0,002 моль) *N*-бензилізатину або 0,32г (0,002 моль) *N*-метилізатину відповідно.

Гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-бензил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) 2.8



0,78г (0,001 Моль) гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-бензил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) **2.7(15)** розчиняли при нагріванні в 50 мл оцтової кислоти. Розчин охолоджували до 10 °С та додавали 0,28 (0,004 моль) нітриту натрію. і залишали на 12 годин. До суміші

додавали 150 мл води, одержаний осад відфільтровували, промивали водою та перекристалізовували з води. $T_{пл.}$: 170-172 ° С. 1H ЯМР, δ , м.ч. (400 MHz, dmsO): 1.17 (с, 4H, (NCH₂CH₂CH₂)₂), 1.35 (м, 4H, (NCH₂CH₂CH₂)₂), 3.19 – 3.10 (м, 2H, CH₂Ph), 3.29 – 3.20 (м, 4H, (NCH₂CH₂CH₂)₂), 3.71 (д, $J=9.2$, 2H, 5'-H), 3.81 – 3.73 (м, 2H, CH₂Ph), 4.27 (т, $J=9.3$, 2H, 5a'-H), 5.59 (дд, $J=14.7$, 8.5, 2H, 2a'-H), 6.75 (д, $J=7.5$, 2H, Ar), 6.85 (т, $J=7.4$, 4H, Ar), 7.28–7.09 (м, 8H, Ar), 7.33 (д, $J=7.1$, 4H, Ar), 10.93 (с, 2H, 2×NH). Знайдено, %: С 66,21; Н 5,09; N 13,45. Розраховано, %: С 66,18; Н 5,07; N 13,42.

Висновки до розділу 2

1. Шляхом реакції 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів, отриманих *in situ* із ізатинів та α -амінокислот з *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїнімідом синтезовані нові потенційні БАР, які поєднують у своїй структурі два високоактивних фармакофора – ядро спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та maleїнімідний фрагмент.

2. Досліджено перебіг реакції [3+2] циклоприєднання і встановлено регіоселективність трикомпонентної однореакторної конденсації ізатинів, α -амінокислот з *N*-гексаметилен-*bis*-малеїнімідом в залежності від співвідношення реагентів.

3. Вперше синтезовано симетричні похідні гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2a',5a'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону), які містять дві однакові фармакофорні групи, об'єднані ковалентно в одну молекулу, що дозволяє розглядати їх у якості потенційних подвійних БАР та показано можливість нітрузування даних сполук по 4'-NH групі.

4. Доведено, що структура α -амінокислот суттєво впливає на перебіг реакції 1,3-диполярного циклоприєднання, в той час як зміна замісників в ізатині у положенні 1 навпаки здебільшого не позначається на проходженні данної трикомпонентної взаємодії.

5. Досліджено, що реакція 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів, отриманих *in situ* із ізатинів і α -амінокислот з *N*-гексаметилен бис-малеїнімідом – це найбільш ефективний спосіб отримання моно- та бис-похідних складної гетероциклічної системи спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*] піролу.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Synthesis and antimicrobial activity of bis-derivatives of 3a',6a'-dihydro-2'H-spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole]-2,4',6'(1*H*,3*H*,5*H*)-trione / R. G. Redkin, E. I. Syumka, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2017. Vol. 7, № 06. P. 069-078. Available online at <http://www.japsonline.com>. (Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

2. Synthesis and antimicrobial activity of hexamethylene-*N*-maleinimidospiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole derivatives / Ye. I. Syumka, R. G. Red'kin, L. A. Shemchuk, K. V. Hlebova, N. I. Filimonova. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2017. Т. 15, № 4 (60). С. 56–62. (Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

3. Синтез новых бис-производных 3a',6a'-дигидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-*c*]пиррол]-2,4',6'(1*H*,3*H*,5*H*)-триона / Е. И. Сюмека, Р. Г. Редькин., Г. В. Григорив, Л. А. Шемчук, В. П. Черных. *Хімічні проблеми сьогодення: мат. восьмої Всеукраїнської наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю, м. Донецьк, 17-20 березня 2014 р. Донецьк, 2014. С. 101.*

4. Synthesis of spiro[pyrrolidine-3,2'-oxindole] / G. V. Grygoriv, R. G. Redkin, E. I. Syumka, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh. *Actual questions of development of new drugs: мат. Всеукраїнської науково-практичної*

конференції молодих вчених та студентів, м. Харків, 22-23 квітня 2014 р. Харків, 2014. С. 6.

5. Синтез нових *біс*-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Є. І. Сюмка, Р. Г. Редькін, Г. В. Григорів, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій*: мат. Української науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження д-ра хім. наук, проф. Павла Олексійовича Петюніна, Харків, 24–25 квітня 2014 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2014. С. 72.

6. Григорів Г. В, Редькін Р. Г., Сюмка Є. І. Синтез похідних *біс*-спіро[піролідін-3,2'-оксіндолу]. *Матеріали XII всеукраїнської конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії*, м. Дніпропетровськ, 19-21 травня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 89.

7. Синтез та мішень-орієнтований пошук лікоподібних молекул, виявлення потенціальних інгібіторів кіназ серед синтезованих вперше алкіліден-*N,N'*-*біс*-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Р. Г. Редькін, Є. І. Сюмка, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Львівські хімічні читання*: мат: XV наукової конференції, м. Львів 24-27 травня 2015 р. Львів, 2015. С. 135.

8. Пошук речовин із антистафілоковою активністю серед *біс*-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Р. Г. Редькін, Є. І. Сюмка, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Хімія, био- и нанотехнологии, экология и экономика в пищевой и косметической промышленности*: мат. III Международной научно-практической конференции, г. Харьков 15–16 октября 2015 г. Харків, 2015. С. 33.

9. Синтез, протимікробні та кіназ-інгібуючі властивості алкіліден-*N,N'*-*біс*-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Є. І. Сюмка, Р. Г. Редькін, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Матеріали XII всеукраїнської конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії*, м. Харків 11–13 травня 2016 р. Харків: Ексклюзив, 2016. С. 25.

10. Синтез алкіліден-*N,N'*-біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*] піролу] / Є. І. Сюмека, Р. Г. Редькін, В. П. Черних, Л. А. Шемчук. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: мат. VIII Національного з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13–16 вересня 2016 р. Харків: Вид-во НФаУ, 2016. Т. 1. С. 23.

11. Синтез похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,4'*H*)триону та їх біс-аналогів для пошуку нових антимікробних агентів / Є. І. Сюмека, К. В. Глебова, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*: мат. Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, м. Харків 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 117–118.

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ТРИКОМПОНЕНТНОЇ ВЗАЄМОДІЇ МІЖ ІЗАТИНОМ, α -АМІНОКИСЛОТАМИ ТА ДИПОЛЯРОФІЛАМИ НА ОСНОВІ МАЛЕЇНОВОЇ КИСЛОТИ

За останні роки в науковій літературі значно зросла кількість публікацій присвячених розробці препаративних методів синтезу спіросполучених піроло-2-оксіндолів, вивченню їх фізико-хімічних та біологічних властивостей [107]. Одним з найкращих підходів для синтезу даних похідних є реакція 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів [47], яка є простим шляхом до синтезу не тільки моно-, але й до одержання *біс*-похідних даної спірогетероциклічної системи. За допомогою варіювання реагентів в реакціях 1,3-диполярного або [3+2] циклоприєднання можливо отримувати різноманітні *біс*-похідні спіросполучених піроло-2-оксіндолів, з'єднаних між собою полімерним ланцюгом (зазвичай метиленовим), ароматичним або гетероароматичним кільцем [108]. Спосіб зв'язування симетричних фрагментів спіросполучених піроло-2-оксіндолів в реакціях 1,3-диполярного циклоприєднання залежить від структури диполярофілу. З іншого боку, при конструюванні молекул подвійних ліків велике значення на прояв біологічної активності має і спосіб зв'язування двох фармакофорів. Так, наприклад, описано [109] синтез *біс*-похідного фенолоксипропаноламіну, з двома фрагментами зв'язаними метиленовим ланцюгом, залежно від довжини якого утворюються селективні антагоністи β_2 або β_1 адренорецепторів. Таким чином, метою подальшої роботи стало дослідження реакції 1,3-диполярного циклоприєднання з використанням різноманітних диполярофілів та вивчення впливу даних комбінувань на прояв біологічних властивостей.

3.1 Синтез похідних етилен-*N,N'*-*біс*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу з використанням *N,N'*-етилен-*біс*-малеїніміду та їх хімічні перетворення

Як диполярофіл вирішено було використати *N,N'*-ди(3-карбокси-пропеніл)-1,2-етилендіамін, схожий за своєю хімічною структурою на діючу

речовину антибактеріального лікарського препарату етамбутол (2,2'-[1,2-етандіілдііміно]біс[1-бутанол]) [110] (рис. 3.1).

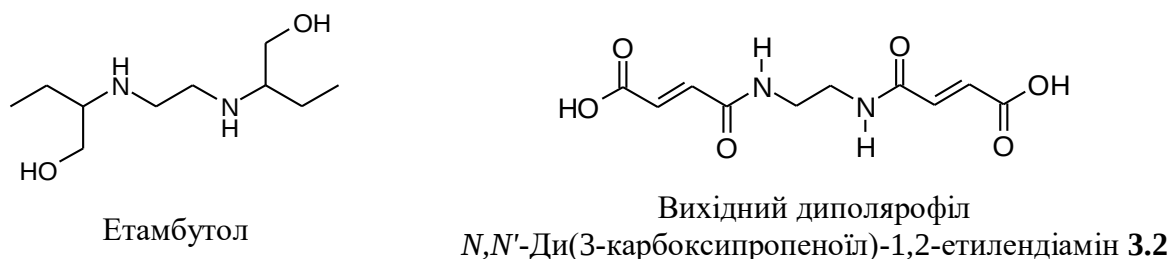
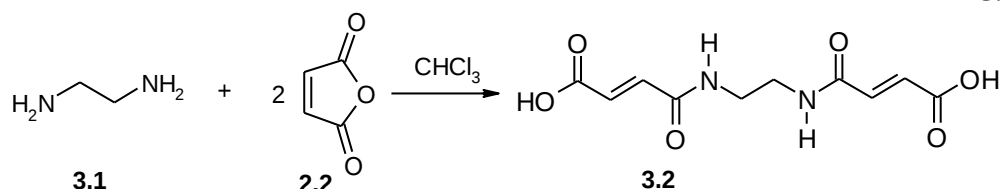


Рис. 3.1 Обґрунтування вибору вихідного диполярфілу

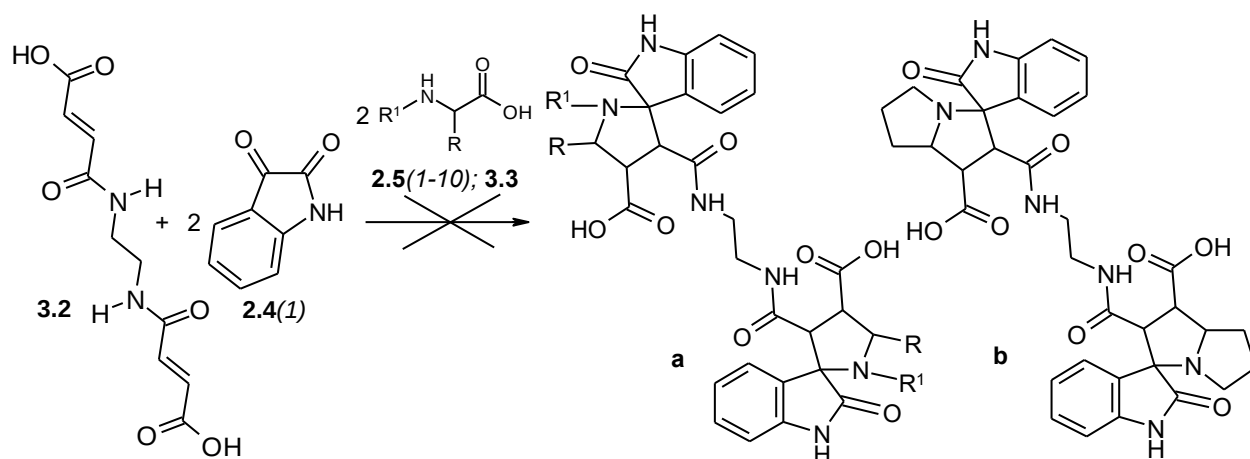
N,N'-Ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіамін **3.2** було отримано взаємодією етилендіаміну **3.1** з двократною кількістю малеїнового ангідриду **2.2** за відомою методикою [88] (схема 3.1).

Схема 3.1



Спочатку ми припустили, що внаслідок трикомпонентної однореакторної взаємодії між ізатином **2.4(1)**, α -амінокислотами **2.5(1-10)**, **3.3** і *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміном **3.2** у середовищі полярних розчинників мають утворюватись похідні *N,N'*-етан-1,2-дііл-біс-спіро-2-оксіндол[3,2']-3'*H*,4'*H*,5'*H*-піроло-4'-карбокси-3'-карбоксаміду **a**, **b** (метод А; схема 3.2) [111].

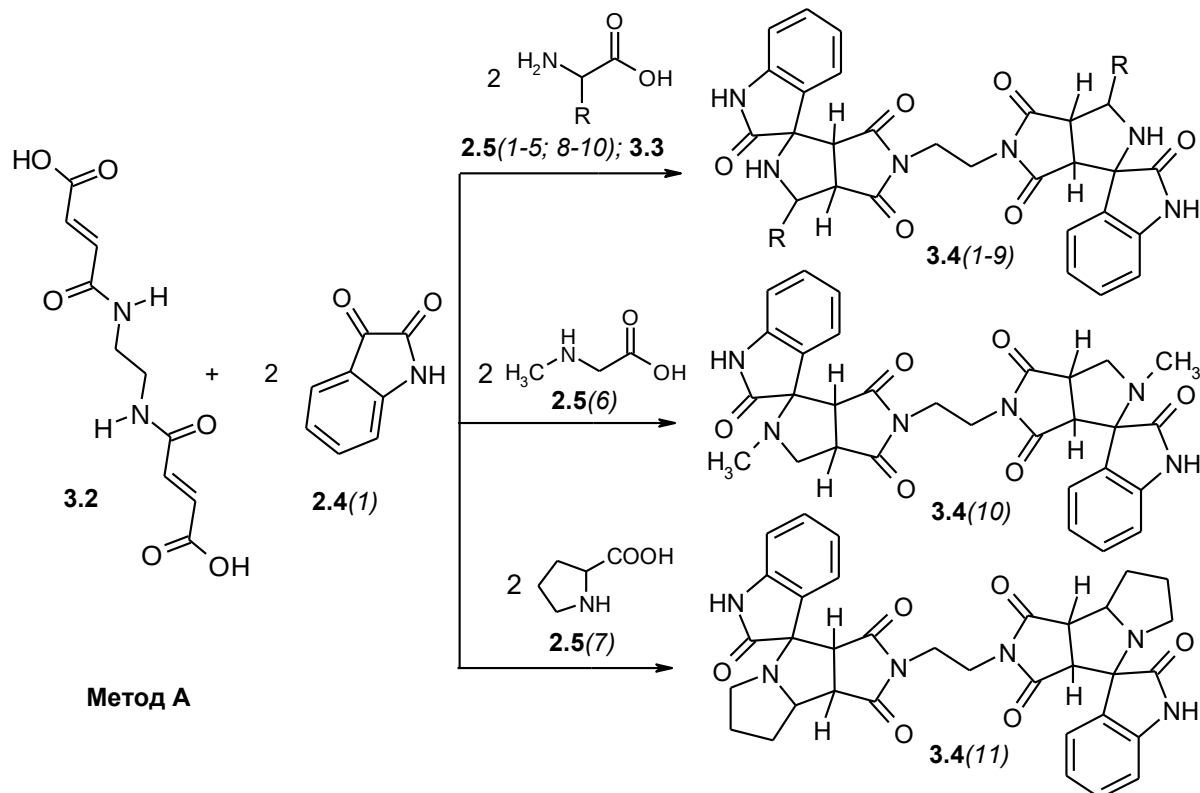
Схема 3.2



R = H, CH₃, *i*-Pr, *i*-Bu, Ph, Bn, 4-OH-C₆H₄-CH₂-, CH₂OH, -CH₂(3-індоліл); R¹ = H, CH₃

Несподіваним виявилась відсутність сигналів протонів NH та COOH груп в ^1H ЯМР спектрах синтезованих сполук. До того ж, стоїть питання щодо регіоспецифічності утворення структур **a**, **b**. Нами було припущено, що під час реакції трикомпонентної взаємодії одночасно відбувається циклізація *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміну **3.2** в імідний цикл з утворенням сполук **3.4(1-11)** (схема 3.3).

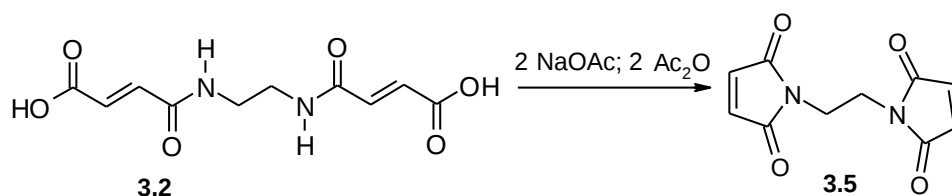
Схема 3.3



R = H, CH₃, *i*-Pr, *i*-Bu, Ph, Bn, 4-OH-C₆H₄-CH₂-, CH₂OH, -CH₂-(3-індоліл)

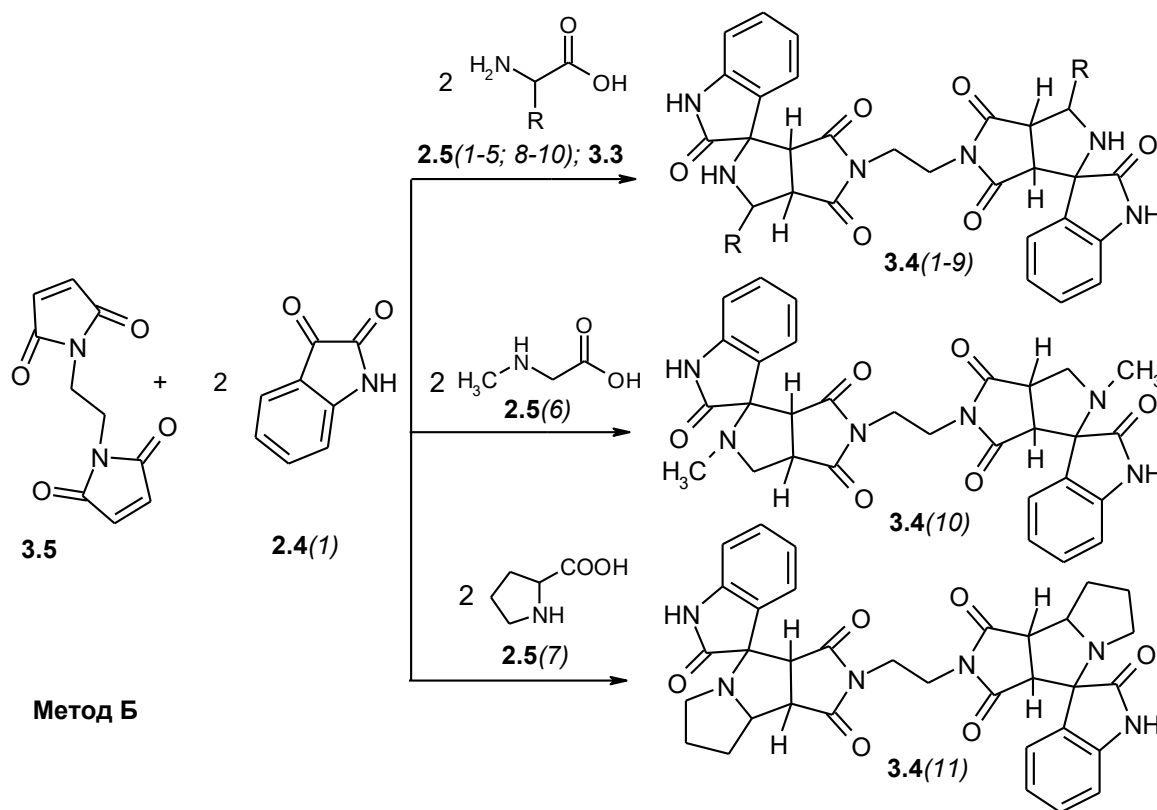
Для доведення цієї гіпотези було сплановано та проведено зустрічний синтез (метод Б; схема 3.5), який ґрунтується на застосуванні замість *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміну **3.2** циклічного *N,N'*-етиленбісмалеїніміду **3.5**. Останній одержано шляхом циклізації *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміну за відомою методикою [88] (схема 3.4).

Схема 3.4



Отримані в такий спосіб сполуки не відрізнялись за своїми фізико-хімічними характеристиками та спектральними даними від сполук синтезованих за методом А, виходячи з *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміну **3.2** (рис 3.1а, 3.1б). Змішана проба зразків сполук **3.4(1-11)**, одержаних різними способами не давала депресії температури плавлення [112].

Схема 3.5



Крім того, метод Б порівняно з методом А мав переваги: вищі виходи одержаних сполук **3.4(1-11)** та менший час проведення реакції (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Порівняння ефективності синтезів методом А і Б на прикладі сполук **3.4(2), **3.4(6)**, **3.4(10-11)****

Сполука	Час нагрівання, год		Вихід, %	
	Метод А	Метод Б	Метод А	Метод Б
3.4(2)	5	4	71	88
3.4(6)	2	0,5	81	92
3.4(10)	4	3	70	84
3.4(11)	3	2	82	94

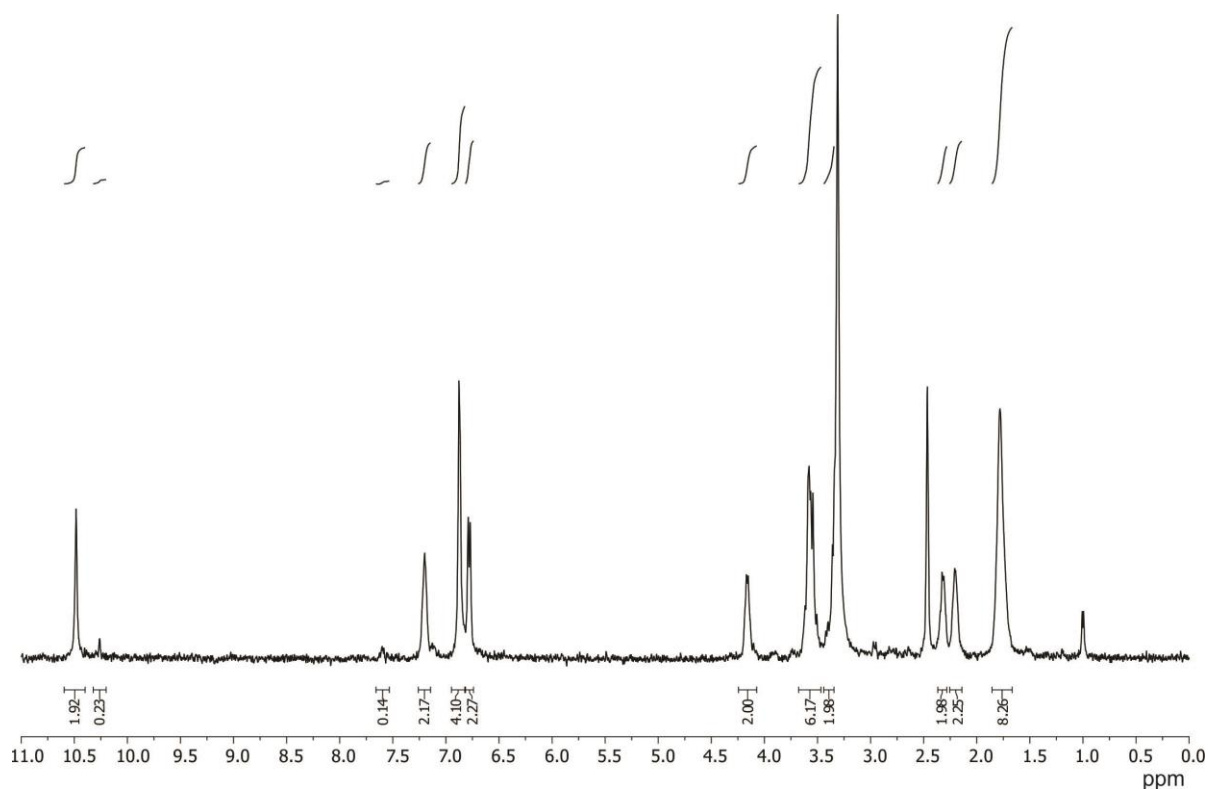


Рис. 3.2а Спектр ¹H ЯМР етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*] піролізидин-2а',7а'-дигідро-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) **3.4(11)**, одержаного за методом А

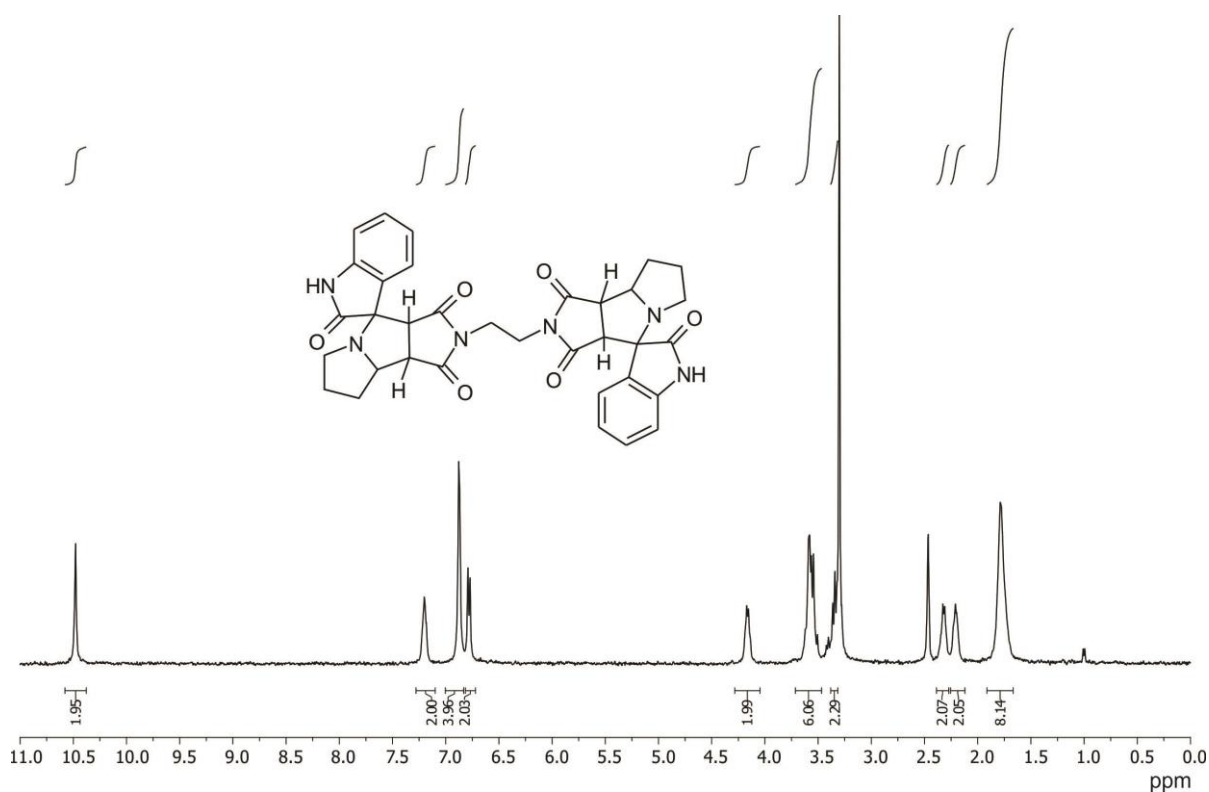


Рис. 3.2б Спектр ¹H ЯМР етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*] піролізидин-2а',7а'-дигідро-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) **3.4(11)**, одержаного за методом Б

З метою вдосконалення умов синтезу за методом Б була проведена оптимізація вибору розчинника для сполук **3.4(2)**, **3.4(6)**, **3.4(10-11)**. Встановлено, що реакції за умов кип'ятіння у суміші *i*-PrOH - H₂O (3:1) давали найкращі результати: менший час перебігу реакції та більші виходи (табл. 3.2). Необхідність використання води у складі розчинника обумовлена розчинністю амінокислот.

Час перебігу реакції також залежав від реакційної здатності використаних амінокислот. Найдовший час реакції у суміші пропанол-2 – вода виявився для L-аланіну, в той час як найшвидша реакція проходила за участі L-фенілаланіну (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Оптимізація вибору розчинника на прикладі синтезу
сполук **3.4(2)**, **3.4(6)**, **3.4(10-11)****

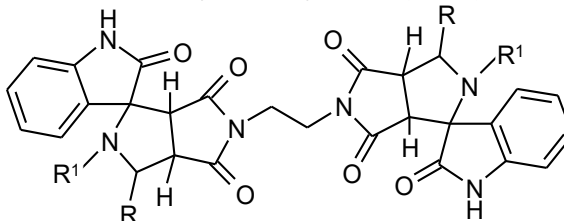
Розчинник	Час нагрівання, год				Вихід, %			
	3.4(2)	3.4(6)	3.4(10)	3.4(11)	3.4(2)	3.4(6)	3.4(10)	3.4(11)
Пропанол-2 – вода (3 : 1)	4	0,5	3	2	88	92	84	94
Метанол-вода (3 : 1)	4	0,75	4	2,5	80	90	83	92
Етанол-вода (3 : 1)	5	1	4,5	2,5	76	87	72	90
Ацетонітрил-вода (3 : 1)	5,5	2	5	3	71	60	66	51
1,4-Діоксан-вода (3 : 1)	6	2,5	6	4	63	51	33	45
Тетрагідрофуран	7	3	7	5	48	23	25	28

Ймовірний механізм даної трикомпонентної взаємодії, як і у випадку з *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїнімідом **2.3**, на першому етапі передбачає приєднання аміногрупи за β -карбонільною групою ізатину, декарбоксилювання інтермедіату і наступне [3+2] циклоприєднання до похідних малеїнової кислоти. Це підтверджується схожістю перебігу реакції. На стадії декарбоксилювання спостерігалось бурхливе виділення CO₂. Реакційна суміш змінювала колір від яскраво-червоного до блідо-жовтого, а на стадії утворення азометинілідів розчини забарвлювались в різні яскраві кольори в залежності від того з якою амінокислотою проходила дана взаємодія, як вже було описано у другому розділі.

Будову одержаних сполук **3.4(1-11)** підтверджено методами ^1H ЯМР, ІЧ – спектроскопії та елементним аналізом (табл. 3.3, 3.4, 3.5). Дані елементного аналізу відповідають розрахованим даним.

Таблиця 3.3

Виходи, температури плавлення та дані елементного аналізу сполук 3.4(1-11) загальної формули:



Сполука	Т.пл., °C	Брутто формула, М.м.	Аналіз, % <u>Знайдено</u> <u>Вирахувано</u>			Вихід %
			С	Н	Н	
3.4(1) R=R ¹ =H	278-280	C ₂₈ H ₂₄ N ₆ O ₆ 540,54	<u>62,24</u> 62,22	<u>4,50</u> 4,48	<u>15,54</u> 15,55	72
3.4(2) R=CH ₃ , R ¹ =H	238-240	C ₃₀ H ₂₈ N ₆ O ₆ 568,59	<u>63,38</u> 63,37	<u>4,99</u> 4,96	<u>14,80</u> 14,78	88
3.4(3) R= <i>i</i> -Pr, R ¹ =H	290-292	C ₃₄ H ₃₆ N ₆ O ₆ 624,70	<u>65,38</u> 65,37	<u>5,82</u> 5,81	<u>13,47</u> 13,45	84
3.4(4) R= <i>i</i> -Bu, R ¹ =H	286-288	C ₃₆ H ₄₀ N ₆ O ₆ 652,76	<u>66,25</u> 66,24	<u>6,21</u> 6,18	<u>12,88</u> 12,87	70
3.4(5) R=Ph, R ¹ =H	234-236	C ₄₀ H ₃₂ N ₆ O ₆ 692,74	<u>69,34</u> 69,35	<u>4,68</u> 4,66	<u>12,15</u> 12,13	74
3.4(6) R=Bn, R ¹ =H	302-304	C ₄₂ H ₃₆ N ₆ O ₆ 720,79	<u>69,98</u> 69,99	<u>5,06</u> 5,03	<u>11,68</u> 11,66	92
3.4(7) R=4-OH-C ₆ H ₄ -CH ₂ -, R ¹ =H	310-312	C ₄₂ H ₃₆ N ₆ O ₈ 752,79	<u>67,03</u> 67,01	<u>4,85</u> 4,82	<u>11,18</u> 11,16	91
3.4(8) R=CH ₂ -OH, R ¹ =H	320-322	C ₃₀ H ₂₈ N ₆ O ₈ 600,59	<u>60,02</u> 60,00	<u>4,73</u> 4,70	<u>14,01</u> 13,99	60
3.4(9) R=CH ₂ (3-індоліл), R ¹ =H	292-294	C ₄₆ H ₃₈ N ₈ O ₆ 798,87	<u>69,15</u> 69,16	<u>4,82</u> 4,79	<u>14,04</u> 14,03	85
3.4(10) R=H, R ¹ =CH ₃	196-198	C ₃₀ H ₂₈ N ₆ O ₆ 568,59	<u>63,36</u> 63,37	<u>4,98</u> 4,96	<u>14,79</u> 14,78	84
3.4(11) R-R ¹ =(CH ₂) ₃	270-272	C ₃₄ H ₃₂ N ₆ O ₆ 620,67	<u>65,81</u> 65,80	<u>5,23</u> 5,20	<u>13,55</u> 13,54	94

Спектри ^1H ЯМР синтезованих сполук **3.4(1-11)** характеризуються наявністю сигналів протонів ABCD-системи 2-оксіндольного фрагменту в ділянці ароматичних протонів у вигляді двох дублетів та двох триплетів, сигналами протонів етиленової ланки у межах 7,00-7,50 м.ч. В слабопольних

ділянках спектрів близько 10,30 м.ч. спостерігаються сигнали NH протонів 2-оксіндольного ядра. Сигнали NH протонів системи піроло[3,4-с]піролу у випадку сполук **3.4(1-9)** проявляються у межах 3,50-3,80 м.ч. і відсутні для сполук **3.4(10-11)**. Для залишків амінокислот у положенні 5' спостерігаються сигнали протонів відповідної інтенсивності та мультиплетності.

Таблиця 3.4

**Дані ^1H ЯМР спектроскопії похідних
етилен- N,N' -біс-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу **3.4(1-11)****

Сполука	δ , м.ч. (J , Гц)
1	2
3.4(1)	2.87 (м, 2H, 2 $\times$ NH), 3.28–3.07 (м, 4H, 2 $\times$ CH ₂ N), 3.41 (м, 4H, 2 $\times$ CH ₂ CH ₂), 3.59 (м, 4H, 2 $\times$ CH ₂ CH ₂), 6.79 (м, 2H, Ar), 6.86 (м, 4H, Ar), 7.17 (м, 2H, Ar), 10.37 (м, 2H, 2 $\times$ NH)
3.4(2)	1.13 (м, 6H, 2 $\times$ CH ₃), 3.25–3.11 (м, 4H, 2 $\times$ CH ₂ CH ₂ +2 $\times$ NH), 3.50 (м, 2H, 2 $\times$ 5'-H), 3.60 (м, 4H, 2 $\times$ CH ₂ CH ₂ +2 $\times$ 5a'-H), 4.19 (м, 2H, 2 $\times$ 2a'-H), 6.74 (м, 2H, 2 $\times$ 5-H), 6.88 (м, 4H, 2 $\times$ 6,7-H), 7.15 (м, 2H, 2 $\times$ 4-H), 10.32 (с, 2H, 2 $\times$ NH)
3.4(3)	0.83 (т, $J=5.19$, 6H, CH ₃ CHCH ₃), 1.09 (м, 6H, CH ₃ CHCH ₃); 1.82 (м, 2H, CH ₃ CHCH ₃); 3.26 (д, $J=7.63$, 2H, 2 $\times$ NH); 3.33-3.38 (м, 2H, 2 $\times$ 5'-H); 3.52-3.64 (м, 6H, CH ₂ CH ₂ +2 $\times$ 5a'-H); 3.66-3.74 (м, 2H, 2 $\times$ 5a'-H); 6.75 (т, $J=7.48$, 2H, Ar); 6.79-6.91 (м, 4H, Ar); 7.15 (д, $J=6.41$, 2H, Ar); 10.30 (м, 2H, 2 $\times$ NH)
3.4(4)	0.78 (дт, $J=14.57$, 7.21, 6H, 2 $\times$ CH ₃ CHCH ₂ CH ₃), 0.88 (м, 2H, 2 $\times$ CH ₃ CHCH ₂ CH ₃); 1.03 (д, $J=6.10$, 6H, 2 $\times$ CH ₃ CHCH ₂ CH ₃); 1.65 (м, 4H, 2 $\times$ CH ₃ CHCH ₂ CH ₃); 3.26 (м, 2H, 2 $\times$ NH); 3.34-3.50 (м, 4H, CH ₂ CH ₂); 3.58 (м, 4H, 2 $\times$ 5'-H+2 $\times$ 2a'-H); 3.79 (м, 2H, 2 $\times$ 5a'-H); 6.74 (т, $J=8.4$, 2H, Ar); 6.82 (д, $J=4.0$, 4H); 6.88 (м, 2H, Ar); 7.15 (м, 2H, Ar); 10.27 (с, 2H, 2 $\times$ NH)
3.4(5)	3.22 (м, 2H, 2 $\times$ NH), 3.92-3.50 (м, 4H, CH ₂ CH ₂), 4.06 (м, 2H, 2 $\times$ 5a'-H), 4.64 (м, 2H, 2 $\times$ 2a'-H), 5.37 (dd, $J = 8.1, 3.8$ Hz, 2H, 2 $\times$ 5'-H), 6.77 (д, $J = 7.7$ Hz, 2H, Ar), 6.87 (dd, $J = 13.5, 7.1$ Hz, 2H, Ar), 6.99 (д, $J = 7.2$ Hz, 2H, Ar), 7.26 – 7.12 (м, 4H, Ar), 7.38 – 7.27 (м, 8H, Ar), 10.36 (с, 2H, 2 $\times$ NH)
3.4(6)	2.57-2.67 (м, 2H, 2 $\times$ 5'-H); 3.17-3.24 (м, 2H, 2 $\times$ 2a'-H); 3.27 (д, $J=7.93$, 2H, 2 $\times$ NH); 3.36-3.49 (м, 4H, CH ₂ CH ₂); 3.59-3.76 (м, 4H, 2 $\times$ CH ₂ Ph); 4.24-4.34 (м, 2H, 2 $\times$ 5a'-H); 6.74 (д, $J=7.63$, 2H, Ar); 6.83-6.89 (м, 2H, Ar); 6.92-6.99 (м, 2H, Ar); 7.09-7.29 (м, 12H, Ar); 10.32 (с, 2H, 2 $\times$ NH)
3.4(7)	2.72 (м, 2H, 2 $\times$ 5'-H), 2.98 (м, 2H, 2 $\times$ 5a'-H), 3.25 (м, 4H, 2 $\times$ NH), 3.38 (м, 4H, 2 $\times$ CH ₂ Ar), 3.73–3.56 (м, 8H, 2 $\times$ CH ₂ CH ₂), 4.21 (м, 2H, 2 $\times$ 2a'-H), 6.59 (д, $J = 8.2$ Hz, 4H, Ar), 6.73 (д, $J = 7.7$ Hz, 2H, Ar), 6.84 (т, $J = 7.4$ Hz, 2H, Ar), 6.95 (д, $J = 7.4$ Hz, 2H, Ar), 7.03 (д, $J = 8.2$ Hz, 4H, Ar), 7.15 (т, $J = 7.6$ Hz, 2H, Ar), 9.08 (с, 2H, 2 $\times$ OH), 10.30 (с, 2H, 2 $\times$ NH)
3.4(8)	3.26 (м, 4H, 2 $\times$ NH+2 $\times$ 5'-H), 3.35-3.43 (м, 2H, 2 $\times$ 5a'-H), 3.67–3.44 (м, 8H, CH ₂ CH ₂), 3.74 (с, 4H, 2 $\times$ CH ₂ OH), 4.17 (с, 2H, 2 $\times$ 2a'-H), 4.49 (с, 2H, 2 $\times$ CH ₂ OH), 6.75 (с, 2H, Ar), 6.85 (д, $J = 10.6$ Hz, 4H, Ar), 7.15 (с, 2H, Ar), 10.32 (с, 2H, 2 $\times$ NH)

Продовж. табл. 3.4

1	2
3.4(9)	2.79–2.68 (м, 2H, 2×5'-H), 3.28 (м, 4H, 2×5a'-H+2×NH), 3.38–3.50(м, 4H, CH ₂ CH ₂), 3.80–3.64 (м, 4H, 2×CH ₂ Ar), 4.43 (м, 2H, 2×2a'-H), 6.74 (дд, J=7.6, 4.2 Hz, 2H, Ar), 6.96–6.83 (м, 6H, Ar), 7.00 (дд, J=13.3, 5.8 Hz, 2H, Ar), 7.16 (с, 4H, Ar), 7.29 (д, J=8.0Hz, 2H, Ar), 7.50(д, J=5.1 Hz, 2H, Ar), 10.28 (с, 2H, 2×NH), 10.73 (с, 2H, 2×NH)
3.4(10)	1.87 (с, 6H, 2CH ₃); 3.17 (м, 2H, 5a'-H); 3.33 (м, 2H, 2a'-H); 3.43–3.52 (м, 4H, 5'-CH ₂); 3.61 (м, 4H, (NCH ₂) ₂); 6.77 (дд, J=17.24, 7.48, 4H, Ar); 6.84–6.92 (м, 2H, Ar); 7.19 (т, J=7.48, 2H, Ar); 10.56 (уш. с, 2H, NH)
3.4(11)	1.78 (м, 8H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 2.32–2.21 (д, J=6.71, 4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ N); 3.32–3.38 (м, 2H, 2×5'-H); 3.49–3.65 (м, 6H, (NCH ₂) ₂ +2×5a'-H); 4.16 (д, J=7.63, 2H, 2×2a'-H); 6.78(д, J=7.63, 2H, Ar); 6.87(д, J=3.97, 4H, Ar); 7.20(м, 2H, Ar); 10.48(уш.с, 2H, 2×NH)

Таблиця 3.5

**Характеристичні частоти поглинання в ІЧ-спектрах похідних
етилен-*N,N'*-біс-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу 3.4(1-11)**

Сполука	ІЧ, см ⁻¹ віднесення					
	ν NH	ν CH(аром)	ν CH(аліф)	ν C=O	ν OH	ν C=C(аром)
3.4(1)	3321, 3191	3066	2964, 2871	1705	–	1626, 1472
3.4(2)	3269, 3177	3030	2933, 2870	1703	–	1624, 1473
3.4(3)	3298, 3146	3086, 3036	2964, 2870	1712	–	1603, 1474
3.4(4)	3270, 3202	3086, 3030	2964, 2933, 2876	1706	–	1621, 1472
3.4(5)	3320, 3191	3061, 3031	2887	1706	–	1621, 1472
3.4(6)	3250, 3185	3061, 3028	2955, 2895	1707	–	1620, 1471
3.4(7)	3365, 3193	3048	2890, 2866, 2841	1714	3509	1618, 1470
3.4(8)	3250, 3181	3086, 3030	2964, 2870	1705	3348	1626, 1473
3.4(9)	3400, 3320, 3191	3030	2955, 2890	1706	–	1621, 1470
3.4(10)	3266	3083	2951, 2851, 2793	1708	–	1621, 1471
3.4(11)	3265, 3207	3096	2962, 2879	1713	–	1620, 1473

Напрямок досліджуваної трикомпонентної взаємодії зацікавив нас тому, що циклізація з утворенням імідного циклу відбувається в багатьох випадках за досить жорстких умов з використанням водовіднімаючих засобів [113]. Тому природньо повстало питання: на якому етапі в процесі реакції відбувається циклізація *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміну 3.2? Для вирішення цього питання було проведено холостий дослід – нагрівання кислоти 3.2 за тих самих умов без участі ізатину та

амінокислот. *N,N'*-Ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіамін **3.2** розчиняли у суміші розчинників *i*-PrOH-H₂O (3:1) та кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 4 годин. Розчинник відганяли на роторному вакуумному випаровувачі. Одержаний сухий залишок аналізували методом ¹H ЯМР-спектроскопії.

Дані ¹H ЯМР спектру продукту реакції холостого досліду (рис. 3.3) показали, що за цих умов відбувається часткова циклізація *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміну **3.2**. На користь цього свідчить наявність у спектрі синглетного сигналу при 6,97 м.ч., який також спостерігається у спектрі циклічного етиленбісмалеїніміду **3.5** (рис 3.4).

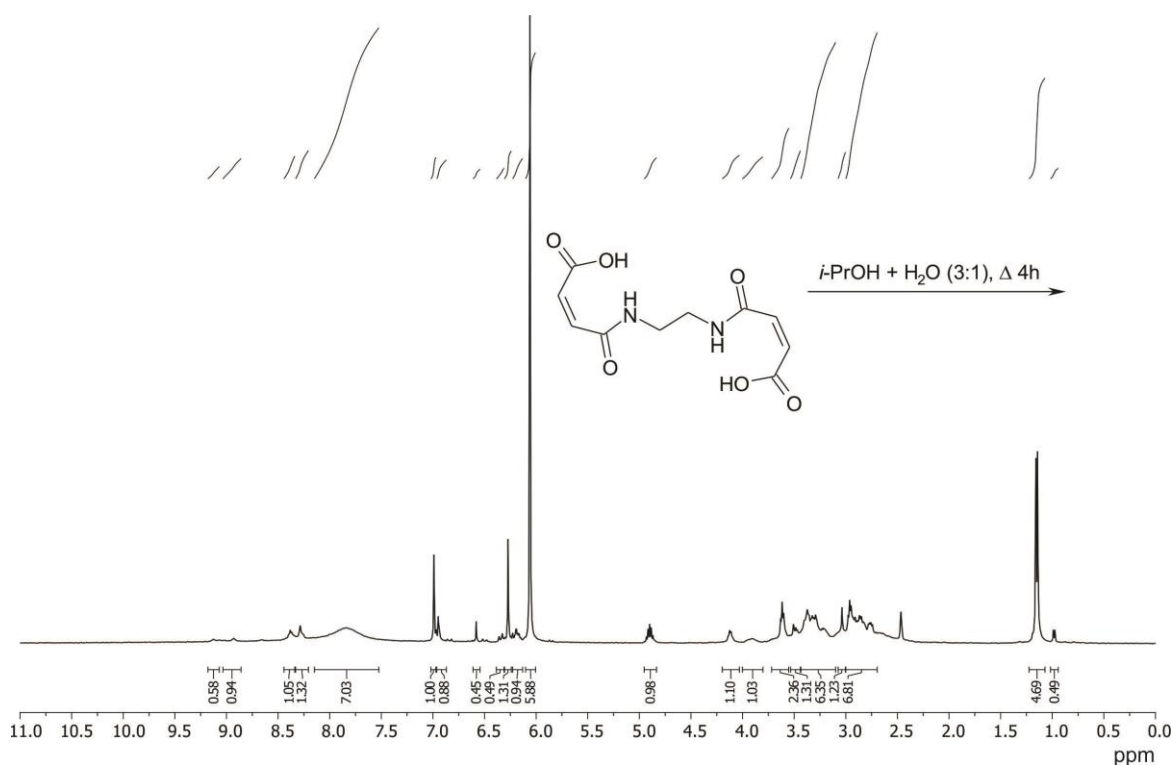


Рис. 3.3 Спектр ¹H ЯМР продукту реакції холостого досліду

Група сигналів в межах 4,2-2,7 м.ч. (рис. 3.3) свідчить про альтернативні процеси: приєднання за активованим подвійним зв'язком нуклеофільних реагентів, естерифікацію тощо. Тому ми дійшли висновку, що повна циклізація кислоти **3.2** відбувається на стадії утворення адукту, безпосередньо завдяки трикомпонентній взаємодії реагентів [114, 115].

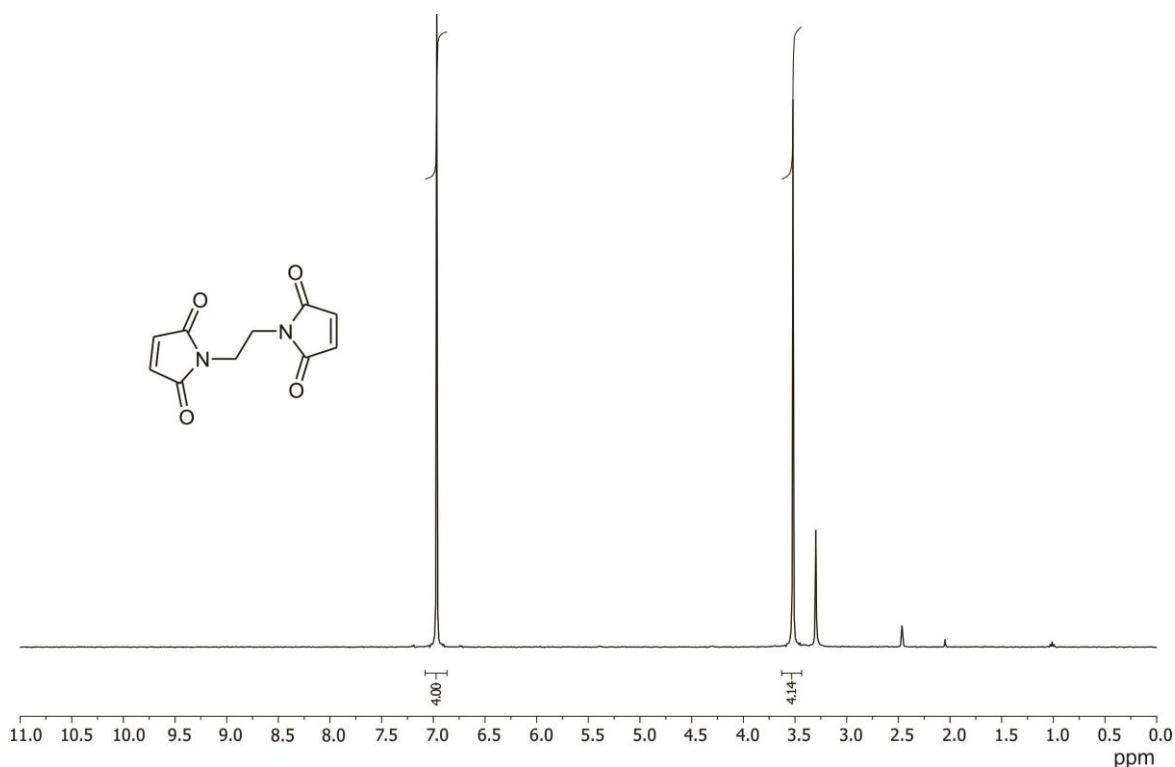


Рис. 3.4 Спектр ^1H ЯМР етиленбісмалеїніміду **3.5**

В продовження пошуку нових біологічно активних речовин *bis*-похідних етилен-*N,N'*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу далі нами було заплановано дослідити можливість хімічних перетворень даних похідних по NH групі пірольного фрагменту в реакціях нітрування.

Синтез нітрозо похідних етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу **3.6(1,2)** проводили дією надлишку натрій нітриту на розчин етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*, 1'*H*,5'*H*)-тріону) **3.4(2)** або розчин етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]пірол-5'-ізопропіл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **3.4(3)** в оцтовій кислоті (схема 3.6) [106], внаслідок чого одержані білі аморфні продукти **3.6(1,2)** з виходом 88% та 63% відповідно. Будову одержаних сполук доведено методами ^1H ЯМР, ІЧ-спектроскопії та елементним аналізом. Типовий ^1H ЯМР спектр синтезованих сполук наведено на рис. 3.5.

Порівняння ІЧ-спектрів сполук **3.4(2,3)** та **3.6(1,2)** дало змогу легко виявити нітрозо групи сполук **3.6(1,2)** (табл. 3.6; рис. 3.6). Сигнал валентних коливань $\text{N}=\text{O}$ зв'язків помірної інтенсивності спостерігається близько 1430 cm^{-1} .

Схема 3.6

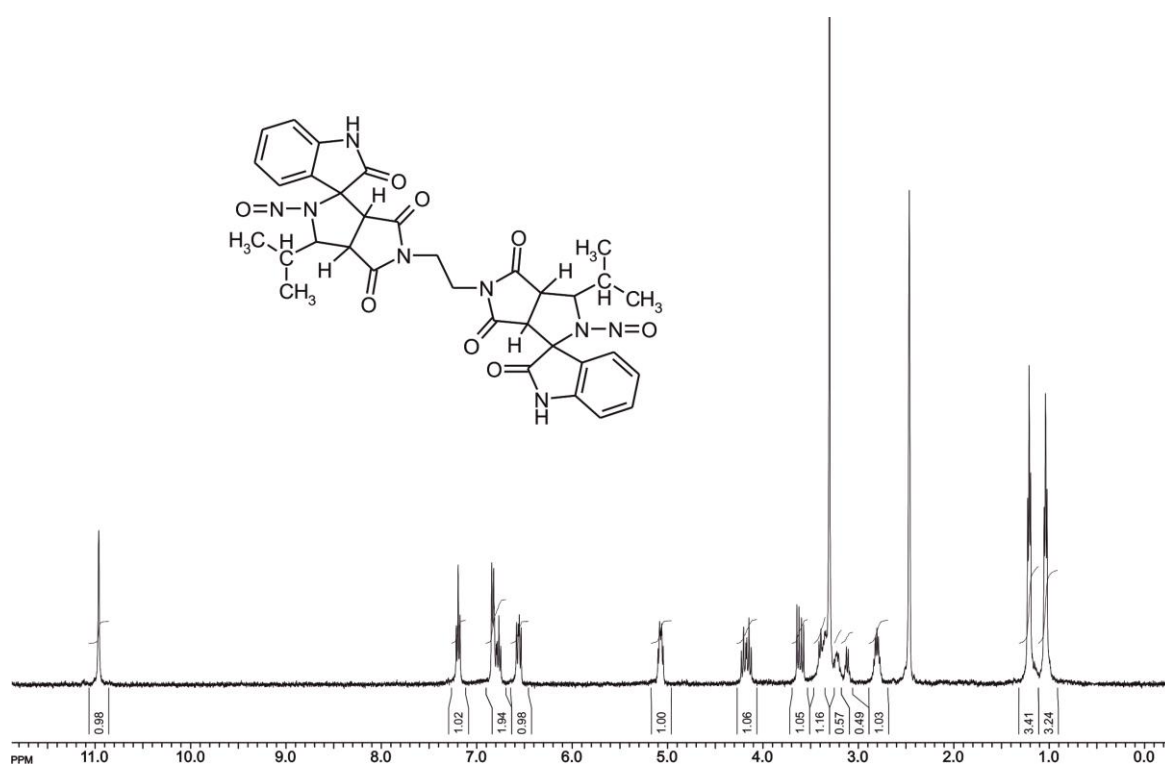
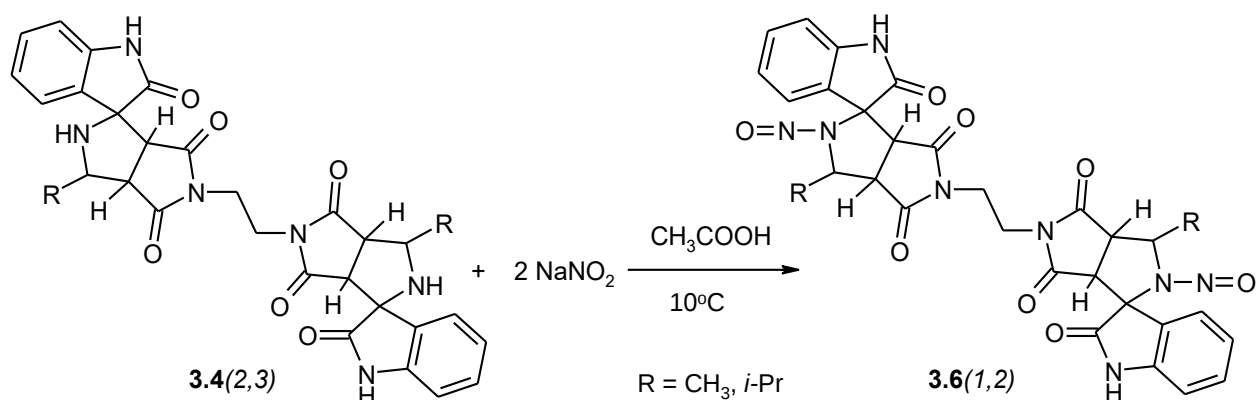


Рис. 3.5 Спектр ^1H ЯМР етилен- N,N' -бис(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4- c] пірол-4'-нітрозо-5'-ізопропіл-2 a' ,5 a' -дигідро-2,2',6'(1 H ,1' H ,5' H)-тріону) **3.6(2)**

Таблиця 3.6

Характеристичні частоти поглинання в ІЧ-спектрах сполук **3.6(1,2)**

Сполука	ІЧ, cm^{-1} віднесення						
	ν NH	ν CH(аром)	ν CH(аліф)	ν C=O	ν N=O	ν C=C(аром)	δ C-H
3.6(1)	3362	3030	2947, 2853	1715	1430	1620,	1474
3.6(2)	3363	3030	2969, 2880, 2940	1782, 1717	1435	1620,	1473

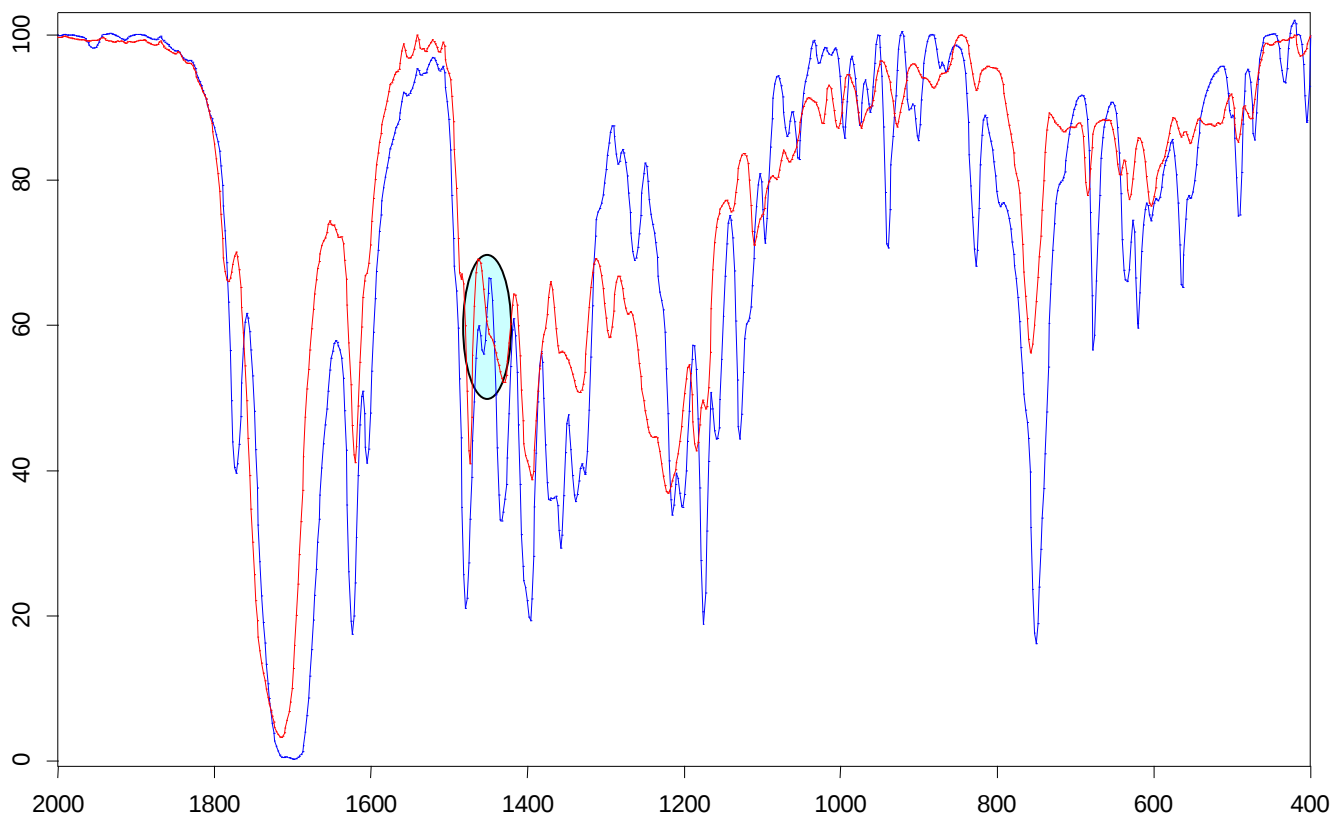


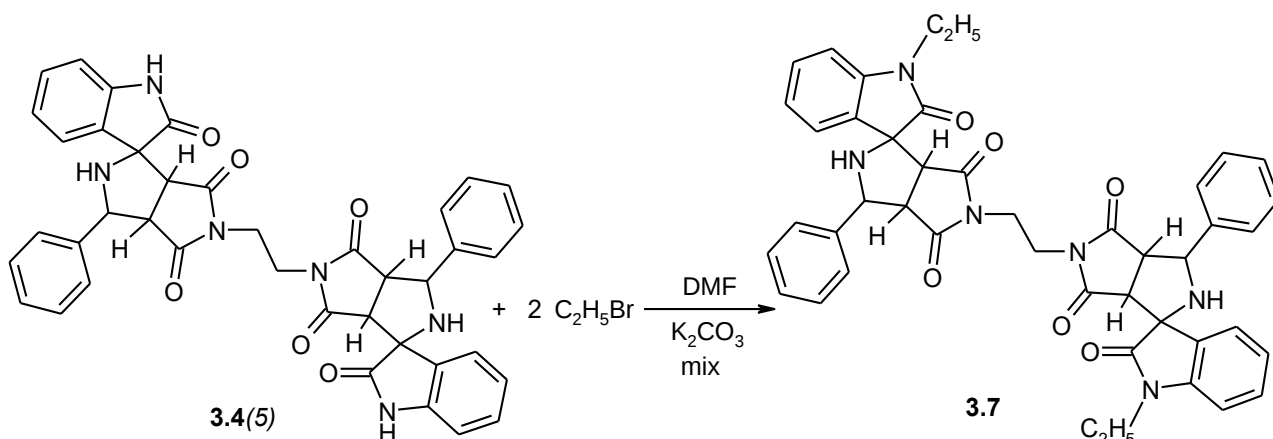
Рис. 3.6 ІЧ-спектри етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **3.4(2)** – червоним та етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **3.6(1)** – синім

Наявність у сполуках **3.4(1-11)** NH-групи у складі піролідинового циклу дозволяє вивчити їх перетворення у реакціях алкілювання, які характерні для вторинних амінів. У роботі [116] автори описують умови проведення подібних перетворень, але лише для моно похідних системи спіро[піролідін-3,2'-оксіндолу]. Нами було вирішено провести алкілювання *bis*-похідного етилен-*N,N'*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу на прикладі сполуки **3.4(5)** (схема 3.7).

Взаємодія сполуки **3.4(5)** з надлишком етилброміду у присутності K_2CO_3 приводила до утворення продукту **3.7** з виходом 82%. Алкілювання без нагрівання у даних умовах відбувалось за індольними N-1 фрагментами *bis*-сполуки. В результаті нами було отримане *bis*-похідне етилен-*N,N'*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу з двома фенільними та двома алкільними

залишками **3.7**. Пірольні фрагменти *біс*-сполуки, за даних умов не

Схема 3.7



алкілювались. Про це свідчать дані ^1H ЯМР – спектроскопії. В спектрі сполуки **3.7** (рис. 3.7) з'являються сигнали алкільних залишків у вигляді відповідних мультиплетів з подвійною інтегральною інтенсивністю. Це

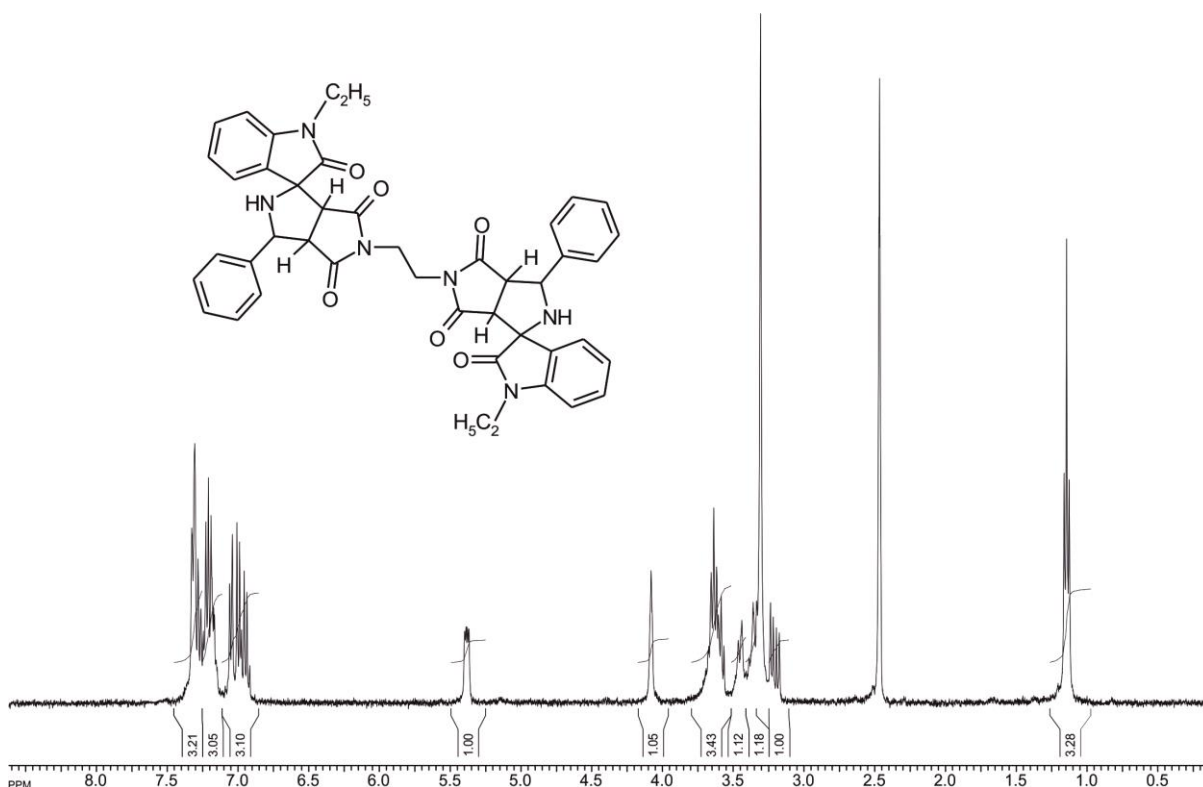


Рис. 3.7 Спектр ^1H ЯМР етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]пірол-1-етил-5'-феніл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1*H*,5'*H*)-триону) **3.7**

свідчить про перебіг реакції лише за одним реакційним центром. Відсутність сигналу NH-протону оксіндольного циклу близько 10 м.ч. і наявність сигналу

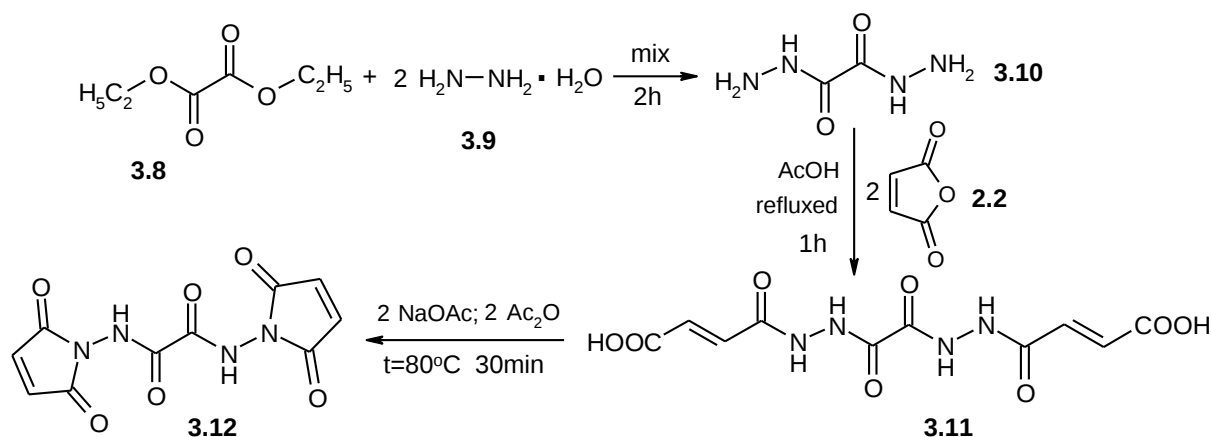
NH-протону пірального циклу близько 3.3 м.ч. переконливо доводить напрямок реакції. Такий результат виявився дещо несподіваним, оскільки в роботі [116] повідомлялось, що застосування надлишку алкілюючого реагенту з використанням калій карбонату в середовищі ДМФА спричиняло утворення вичерпно алкілованого продукту. На нашу думку селективне алкілювання за оксіндольним фрагментом можна пояснити каталітичною дією K_2CO_3 та можливими стеричними перешкодами для алкілювання пірального фрагменту.

3.2 Синтез і хімічні перетворення похідних *біс*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та їх моно аналогів на основі *N,N'*-*біс*-малеїнімідоксаліламіну та *N,N'*-*m*-фінілен-*біс*-малеїніміду, в якості диполярфілів

Трикомпонентна реакція синтезу похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу виявилася зручним і ефективним методом конструювання складної гетероциклічної системи з використанням доступних реагентів за м'яких умов.

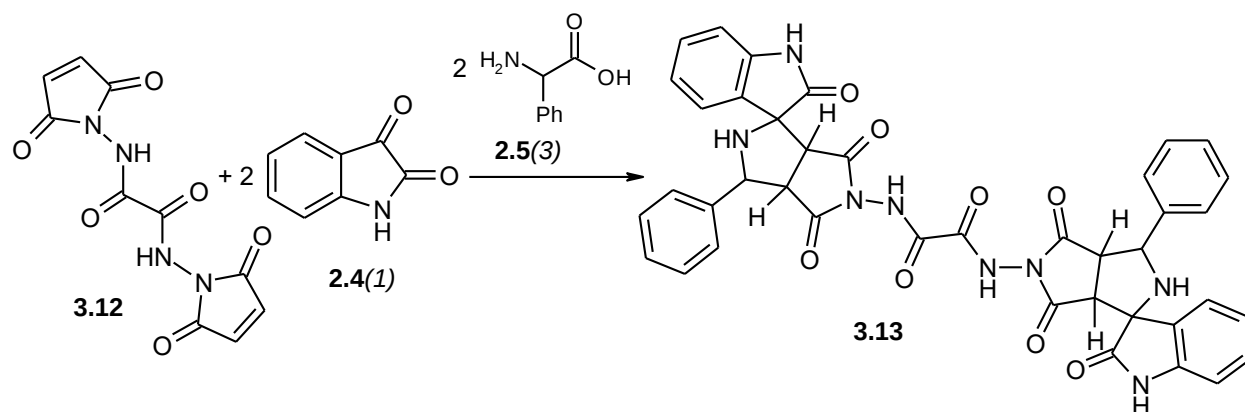
Продовжуючи дослідження даної взаємодії між ізатином, α -амінокислотами та диполярфілами на основі малеїнової кислоти, як диполярфілу вирішено було використати *N,N'*-*біс*-малеїнімідоксаліламін 3.12. Останній синтезовано за відомими методиками [88, 113] (схема 3.8).

Схема 3.8

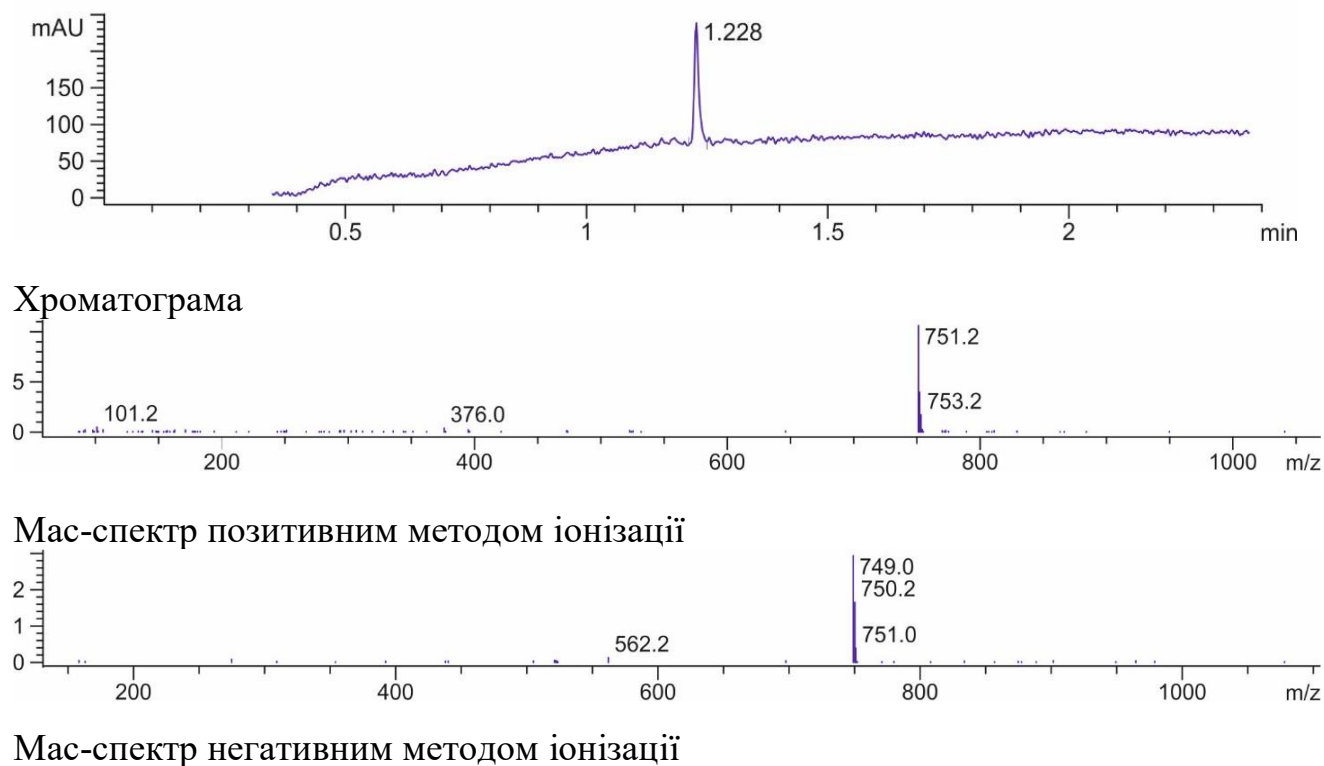


Далі, шляхом трикомпонентної взаємодії двократного надлишку ізатину **2.4(1)** та L-фенілгліцину **2.5(3)** з *N,N'*-біс-малеїнімідоксаліламіном **3.12** ми отримали *біс*-спіропохідне піроло[3,4-*c*]піролу **3.13** з виходом 83% (схема 3.9) [106].

Схема 3.9

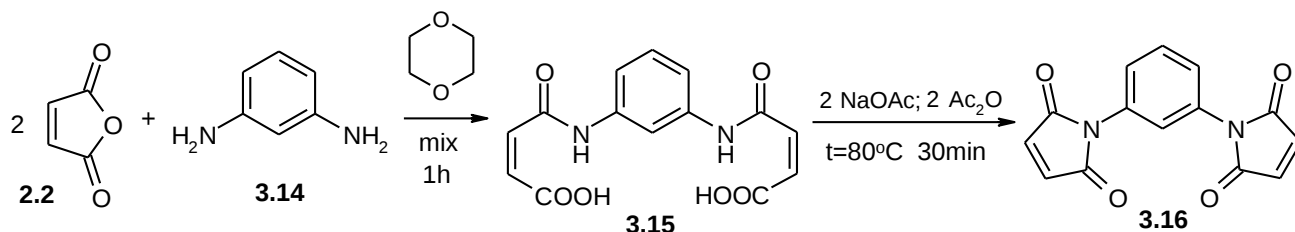


Будову одержаної сполуки **3.13** підтверджено методом ^1H ЯМР – спектроскопії, хромато-мас – спектрометрії та елементним аналізом (рис. 3.8).

Рис. 3.8 Аналітична LC/MS сполуки **3.13**

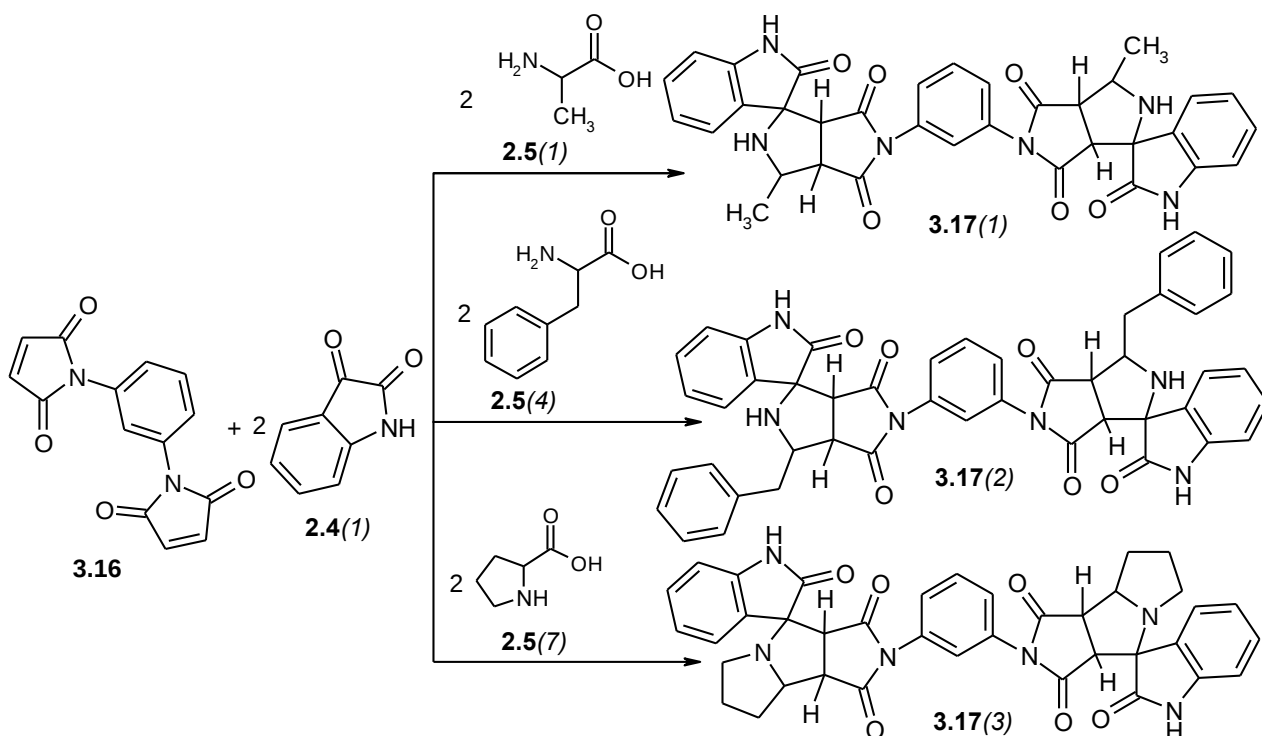
Наступним диполярфілом було обрано *N,N'*-*m*-фенілен-*bis*-малеїнімід **3.16**, який синтезовано шляхом взаємодії *m*-фенілендіаміну **3.14** з двократним надлишком малеїнового ангідриду **2.2** згідно методик [88, 113] (схема 3.10).

Схема 3.10



Шляхом трикомпонентної доміно-конденсації двократного надлишку ізатину **2.4(1)** та α -амінокислот **2.5(1, 4, 7)** з *N,N'*-*m*-фенілен-*bis*-малеїнімідом **3.16** синтезовано нові симетричні похідні *m*-фенілен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) **3.17(1-3)** (схема 3.11) [117].

Схема 3.11



Перебіг даної взаємодії ускладнюється тим, що вихідний диполярфіл **3.16** погано розчиняється в ізопропанолі, тому до суміші розчинників *i*-PrOH- H_2O (3:1) додавали ще диметилформамід. Традиційно, в залежності від природи амінокислоти, на стадії утворення азометинілідів розчини

забарвлювались в яскраві кольори, що давало змогу легко контролювати перебіг даної взаємодії та час проходження реакції.

Будову одержаних сполук **3.17(1-3)** підтверджено методом ^1H ЯМР-спектроскопії та елементним аналізом (рис. 3.9, табл. 3.7, 3.8). Дані елементного аналізу відповідають розрахованим даним.

Сpektри ^1H ЯМР синтезованих сполук **3.17(1-3)** характеризуються наявністю сигналів *m*-феніленового фрагменту у вигляді триплету при 7.65 м.ч. з інтенсивністю 1H і мультиплету при 7.4 м.ч. з інтегральною інтенсивністю 3H; також, наявністю сигналів NH-протонів оксіндольного і пірольного фрагментів близько 10.4 м.ч. та 3.4 м.ч. відповідно; сигналів протонів ABCD-системи оксіндольного циклу в ділянці 6.8-7.2 м.ч. та сигналів протонів системи піроло[3,4-*c*]піролу і протонів відповідних замісників у положенні 5'. Останні спостерігаються у подвійній інтенсивності по відношенню до *m*-феніленового фрагменту. У випадку сполуки **3.17(3)** сигнал NH-пірольного фрагменту відсутній, що додатково підтверджує її будову.

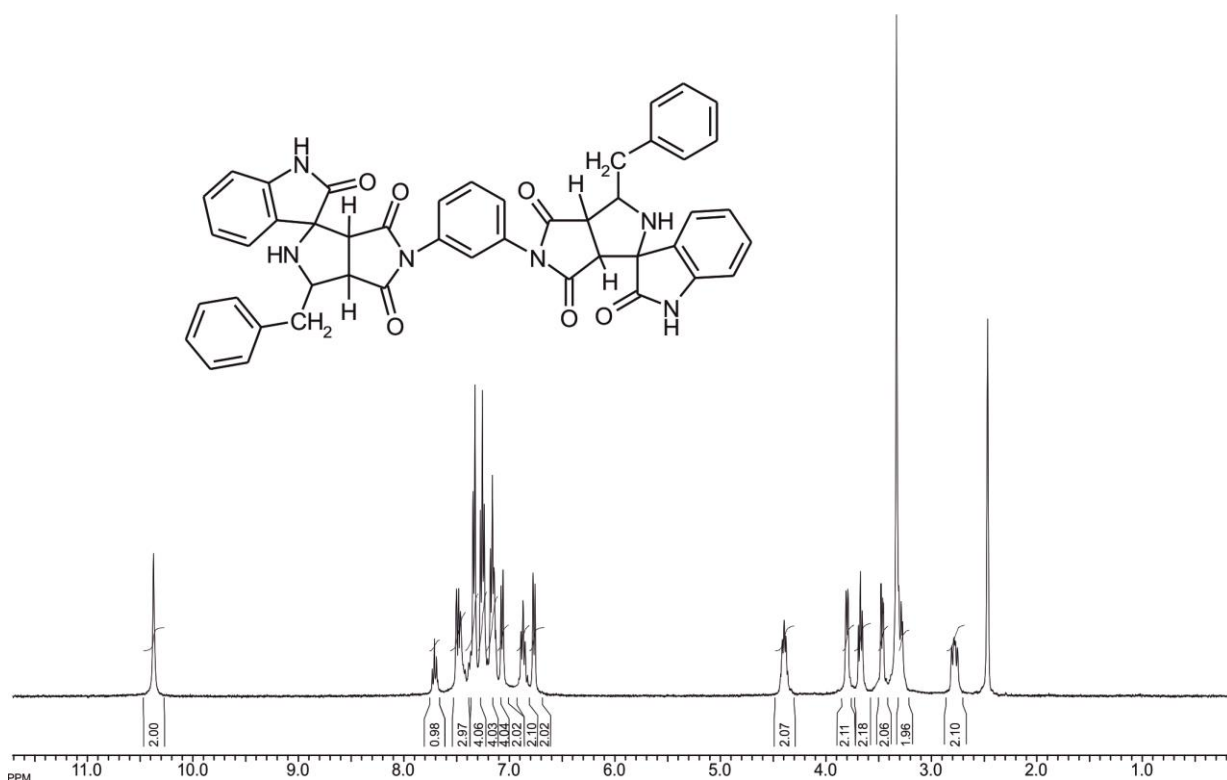


Рис. 3.9 Спектр ^1H ЯМР *m*-фенілен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]пірол-5'-бензил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-триону) **3.17(2)**

Таблиця 3.7

**Виходи, температури плавлення
та дані елементного аналізу сполук 3.17(1-3)**

Сполука	Т.пл., °C	Брутто формула, М.м.	Аналіз, % <u>Знайдено</u> Вирахувано			Вихід %
			С	Н	N	
3.17(1)	240-242	C ₃₄ H ₂₈ N ₆ O ₆ 616,64	<u>66,25</u> 66,23	<u>4,56</u> 4,58	<u>13,64</u> 13,63	90
3.17(2)	220-222	C ₄₆ H ₃₆ N ₆ O ₆ 768,84	<u>71,87</u> 71,86	<u>4,72</u> 4,72	<u>10,94</u> 10,93	81
3.17(3)	330-332	C ₃₈ H ₃₂ N ₆ O ₆ 668,72	<u>68,27</u> 68,25	<u>4,83</u> 4,82	<u>12,59</u> 12,57	73

Таблиця 3.8

**Дані ¹H ЯМР спектроскопії похідних
м-фенілен-*N,N'*-біс-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу 3.17(1-3)**

Сполука	δ, м.ч. (J, Гц)
3.17(1)	1.25 (д, J=6.4, 6H, 2×CH ₃), 3.43 (д, J=7.5, 2H, 2×NH), 3.54 (т, J=6.6, 2H, 2×5'-H), 3.80 (д, J=6.3, 2H, 2×5a'-H), 4.31 (д, J=6.6, 2H, 2×2a'-H), 6.78 (д, J=7.6, 2H, Ar), 6.84 (т, J=7.5, 2H, Ar), 7.03 – 6.95 (м, 2H, Ar), 7.16 (т, J=7.4, 2H, Ar), 7.47–7.31 (м, 3H, Ar), 7.66 (т, J=8.1, 1H, Ar), 10.39 (с, 2H, 2×NH).
3.17(2)	2.78 (дд, J=12.3, 8.5, 2H, 2×NH), 3.28 (м, 2H, 2×5'-H), 3.51–3.43 (м, 2H, CH ₂ Ph), 3.67 (т, J=7.3, 2H, 2×5a'-H), 3.80 (д, J=6.8, 2H, CH ₂ Ph), 4.46 – 4.34 (м, 2H, 2×2a'-H), 6.77 (д, J=7.6, 2H, Ar), 6.86 (дд, J=16.1, 8.1, 2H, Ar), 7.07 (д, J=7.4, 2H, Ar), 7.15 (дд, J=12.5, 6.9, 4H, Ar), 7.26 (т, J=7.4, 4H, Ar), 7.40–7.30 (м, 4H, Ar), 7.47 м, 3H, Ar), 7.71 (т, J=7.9, 1H, Ar), 10.31 (с, 2H, 2×NH)
3.17(3)	1.95 (м, 8H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ N), 2.36 (м, 2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ N), 2.50 (м, 2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ N), 3.78–3.64 (м, 4H, 2×5'-H+5a'-H), 4.29 (д, J=6.8, 2H, 2×2a'-H), 7.08–6.71(м,8H,Ar),7.46–7.14(м,3H,Ar),7.73–7.53(м,1H,Ar),10.58 (с, 2H, 2×NH)

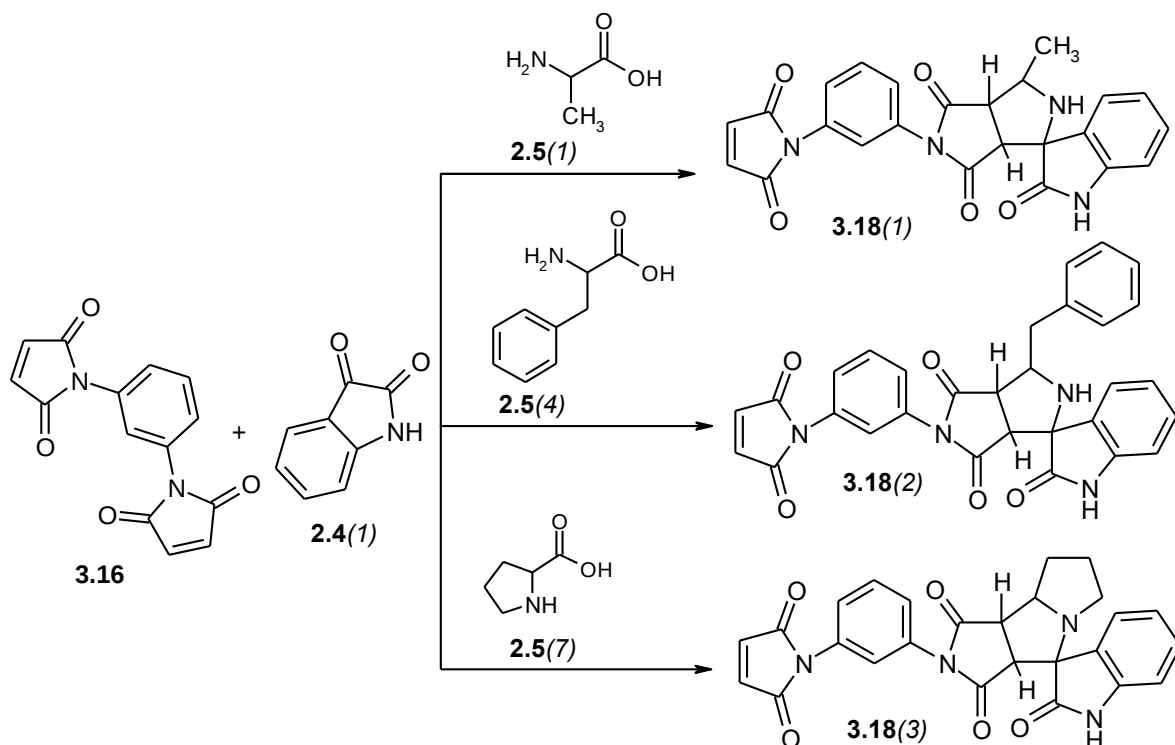
В продовження дослідження регіоселективності трикомпонентної взаємодії між ізатином, α-амінокислотами та м-фенілен-біс-малеїнімідом, вирішено було провести дану реакцію з еквімолярним співвідношенням реагентів і отримати моно аналоги похідних м-фенілен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу, які містять залишок maleinimide.

Шляхом трикомпонентної одnoreакторної конденсації ізатину **2.4(1)**, α-амінокислот **2.5(1,4,7)** та м-фенілен-біс-малеїніміду **3.16**, взятих у

еквімолярних співвідношеннях, у суміші *i*-PrOH - H₂O - DMF (3:1:1) синтезовано похідні 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'піроло[3,4с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*, 5'*H*)-тріону **3.18(1-3)** (схема 3.12).

Перебіг даної взаємодії ще раз підтвердив запропонований нами (розділ 2) механізм протікання реакції трикомпонентної конденсації. На стадії декарбоксилювання спостерігалось виділення CO₂. Реакційна суміш змінювала колір від яскраво-червоного до блідо-жовтого, що дозволяло візуально контролювати час перебігу реакції. А на стадії утворення азометинілідів розчини набували коричневого кольору у випадку з L-аланіном **2.5(1)**, яскраво-малинового кольору при використанні L-фенілаланіну **2.5(4)** або змінювали забарвлення характерне при утворенні азометиніліду з L-проліном **2.5(7)** від зеленого до темно-фіолетового. Час протікання реакцій складав від 3 до 5 годин в залежності від того з якою амінокислотою проходила дана взаємодія.

Схема 3.12



Виходи, температури плавлення і дані елементного аналізу синтезованих сполук **3.18(1-3)** наведено у таблиці 3.9.

Таблиця 3.9

**Виходи, температури плавлення
та дані елементного аналізу сполук 3.18(1-3)**

Сполука	Т.пл., °C	Брутто формула, М.м.	Аналіз, % <u>Знайдено</u> Вирахувано			Вихід %
			С	Н	N	
3.18(1)	220-222	C ₂₄ H ₁₈ N ₄ O ₅ 442,43	<u>65,16</u> 65,15	<u>4,08</u> 4,10	<u>12,67</u> 12,66	77
3.18(2)	198-200	C ₃₀ H ₂₂ N ₄ O ₅ 518,53	<u>69,51</u> 69,49	<u>4,29</u> 4,28	<u>10,81</u> 10,80	70
3.18(3)	350-352	C ₂₆ H ₂₀ N ₄ O ₅ 468,47	<u>66,69</u> 66,66	<u>4,31</u> 4,30	<u>11,98</u> 11,96	69

Характеристика ¹H ЯМР спектрів сполук **3.18(1-3)** наведена у табл. 3.10. Особливою відмінністю спектрів є наявність синглетного сигналу двох протонів малеїнімідного циклу близько 7.2 м.ч., який перекривається іншими сигналами протонів в ароматичній ділянці спектру. Співвідношення інтенсивності сигналів *м*-феніленового фрагменту з сигналами спіроіндольної системи додатково підтверджує будову одержаних сполук.

Таблиця 3.10

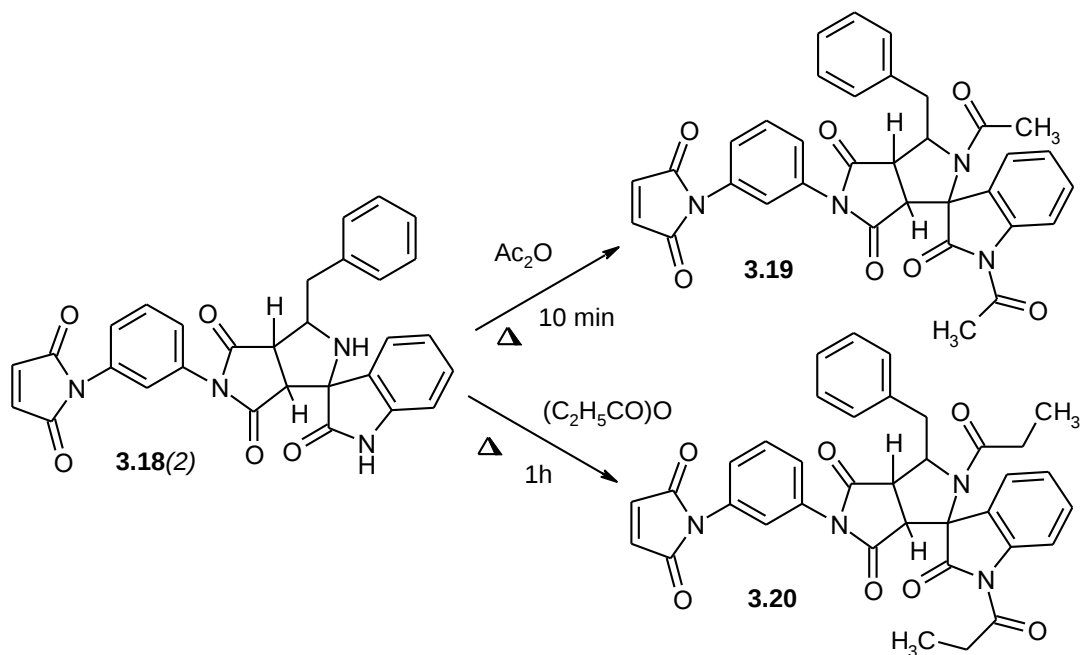
**Дані ¹H ЯМР спектроскопії похідних
м-фенілен-*N*-малеїнімідопохідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу
3.18(1-3)**

Сполука	δ, м.ч. (J, Гц)
3.18(1)	1.25 (d, J=6.0, 3H, CH ₃), 3.42 (м, 1H, NH), 3.54 (м, 1H, 5'-H), 3.78 (м, 1H, 5a'-H), 4.24 (м, 1H, 2a'-H), 6.77 (д, J=7.8, 1H, 7-H), 6.84 (д, J=7.7, 1H, 4-H), 6.99 (т, J=7.1, 1H, 5-H), 7.27 – 7.05 (м, 3H, малеїнімід + 6-H), 7.46–7.30 (м, 3H, 4',5',6'-H), 7.72–7.54 (м, 1H, 2'-H), 10.45 (с, 1H, NH)
3.18(2)	2.85 – 2.71 (м, 1H, 5'-H), 3.28 (д, J=5.3, 1H, NH), 3.46 (м, 1H, CH ₂ Ph), 3.67 (м, 1H, CH ₂ Ph), 3.83–3.72 (м, 1H, 5a'-H), 4.47 – 4.34 (м, 1H, 2a'-H), 6.77 (д, J=7.6, 1H, Ar), 6.88 (дд, J=12.9, 7.2, 1H, Ar), 7.10 – 7.03 (м, 1H, Ar), 7.16 (с, 2H, малеїнімід), 7.21 – 7.17 (м, 1H, Ar), 7.26 (т, J=7.3, 2H, Ar), 7.34 (д, J=7.0, 2H, Ar), 7.53 – 7.37 (м, 3H, Ar), 7.75 – 7.54 (м, 1H, Ar), 10.37 (с, 1H, NH)
3.18(3)	1.88 (м, 4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ N), 2.35 (м, 2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ N), 3.69 (м, 2H, 5a'-H, 5'-H), 4.29 (м, 1H, 2a'-H), 7.02 – 6.81 (м, 4H, Ar+2H малеїнімід), 7.30 (м, 5H, Ar), 7.58 (с, 1H, Ar), 10.56 (с, 1H, NH)

Автори [116] зазначають, що спіропіролідиноксіндоли легко ацилюються з високими виходами при кип'ятінні в оцтовому ангідриді в присутності каталітичних кількостей оцтової кислоти. Тому нами було вирішено на прикладі сполуки **3.18(2)** провести реакції ацилювання (схема 3.13).

Сполуку **3.18(2)** кип'ятили в оцтовому ангідриді протягом 10 хвилин або в пропіоновому ангідриді протягом однієї години. При цьому отримували сполуки **3.19** або **3.20** з високими виходами 90% та 91% відповідно. Ацилювання відбувалось одразу за двома положеннями: по вторинній аміногрупі пірольного та індольного фрагментів.

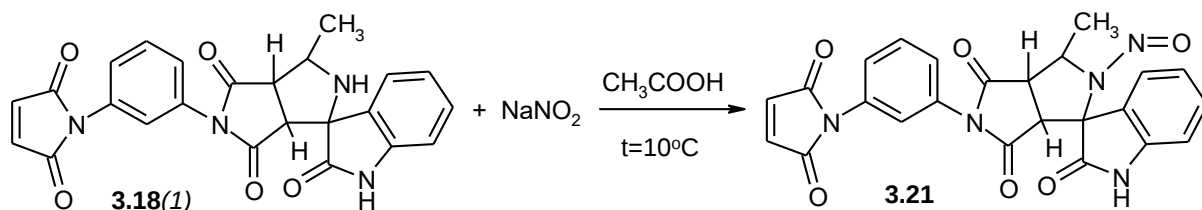
Схема 3.13



Далі нами було проведено нітрозування 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4с]пірол-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону **3.18(1)** (схема 3.14). На відміну від ацилювання, нітрозування відбувалось виключно за атомом нітрогену пірольного фрагменту. В результаті нами отримано мононітрозопохідне із залишком малеїніміду **3.21** з виходом 89%.

Наявність нітрозо групи у сполучі **3.21** доводили відсутністю сигналів протонів NH пірольного циклу при 3.4 м. ч. у ^1H ЯМР спектрі. В ІЧ-спектрі

Схема 3.14



даної сполуки спостерігали наявність сигналу нітрузо групи та відсутність смуги коливань NH групи пірольного фрагменту при 3400 см^{-1} , яка спостерігалась в ІЧ-спектрі вихідної сполуки **3.18(1)** (табл. 3.11; рис. 3.10).

Таблиця 3.11

Характеристичні частоти поглинання в ІЧ-спектрах сполук **3.18(1)** та **3.21**

Сполука	ІЧ, см^{-1} віднесення						
	$\nu\text{ NH}$	$\nu\text{ CH(аром)}$	$\nu\text{ CH(аліф)}$	$\nu\text{ C=O}$	$\nu\text{ N=O}$	$\nu\text{ C=C(аром)}$	$\delta\text{ C-H}$
3.18(1)	3472, 3329	3096	2971, 2934,2881	1779, 1714	—	1620, 1603	1493, 1473
3.21	3364	3090	2990	1721	1500	1617	1472

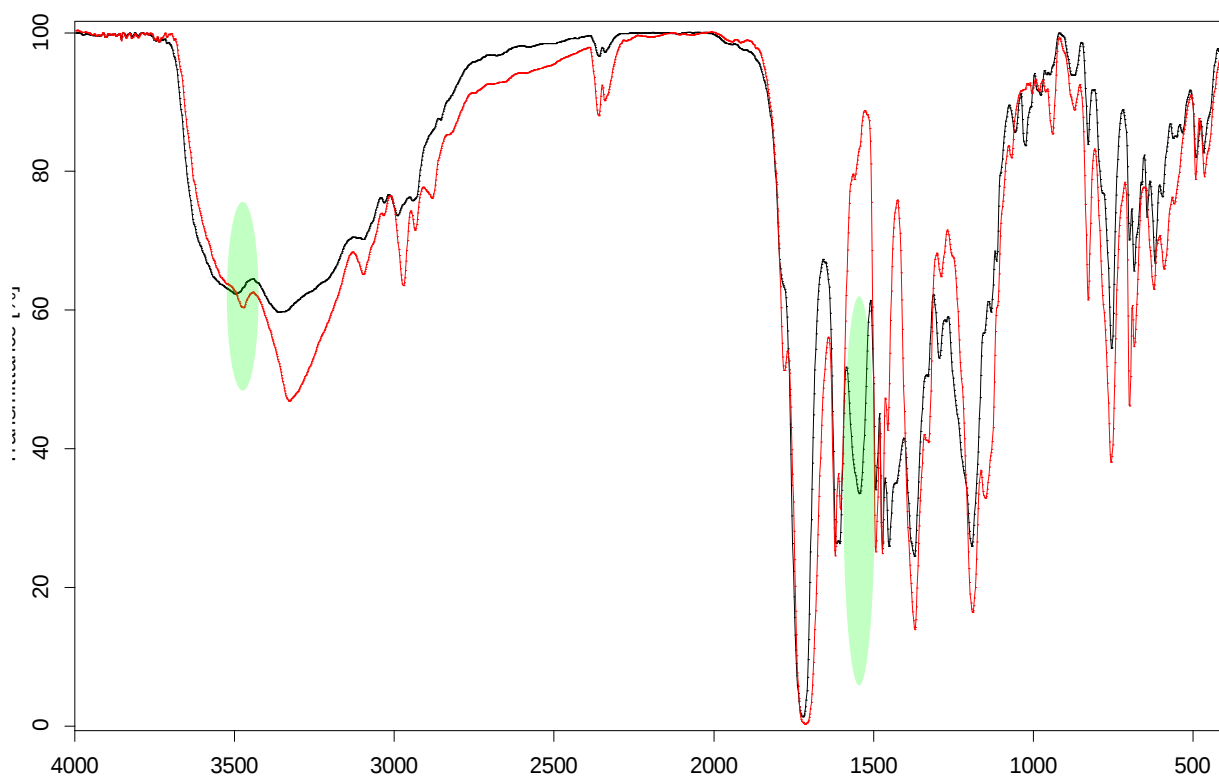
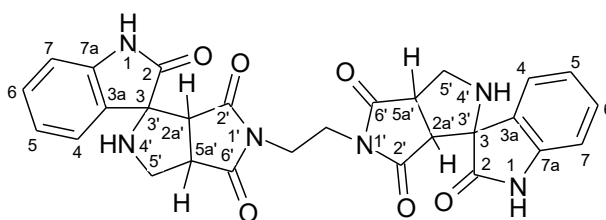


Рис. 3.10 ІЧ-спектри 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1*H*-спіро-індол-3,3'-піроло[3,4с]пірол-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1*H*,5*H*)-тріону **3.18(1)** – червоним та 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-4'-нітрузо-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1*H*,5*H*)-тріону **3.21**– чорним

Експериментальна частина

Спектри ^1H ЯМР записували на спектрометрі Varian WXR (400 МГц) у ДМСО- d_6 , з використанням ТМС як внутрішнього стандарту (хімічний зсув, м.ч.). Елементний аналіз визначали на аналізаторі Carlo Erba CHNS-O EA 1108. ІЧ-спектри записували на приладі Bruker Tensor 27 FT – IR у межах 400 – 4000 cm^{-1} у таблетках KBr, концентрація речовин 1%. Рідинно-хроматографічне / мас-спектрометричне дослідження виконано за допомогою рідинного хроматографа «Agilent 1100 Series» (Agilent, Palo Alto, CA, USA), який підключено до діод-матричного та мас-селективного детектора «Agilent LC/MSD SL» при атмосферному тиску за умов хімічної іонізації, рухома фаза метанол-вода.

Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.4(1)



0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,15г (0,002 моль) L-гліцину **2.5(8)** та з 0,22г (0,001 моль) етиленбісмалеїніміду **3.5**. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили протягом п'яти годин, після охолодження осад, що утворився фільтрували та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH- H_2O (1:1).

Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.4(2)

0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,18г (0,002 моль) L-аланіну **2.5(1)** та з 0,22г (0,001 моль) етиленбісмалеїніміду **3.5**. Додавали 6 мл ізопропанолу та 2 мл води. Суміш кип'ятили протягом чотирьох годин, осад випадав із киплячого розчину. Одержаний осад відфільтровували, промивали та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH- H_2O (1:1).

Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-ізопропіл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.4(3)

0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,23г (0,002 моль) L-валіну **2.5(2)** та з 0,22г (0,001 моль) етиленбісмалеїніміду **3.5**. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили при перемішуванні протягом чотирьох годин. Осад жовтуватого кольору випадав із киплячого розчину через 15 хвилин. При подальшому кип'ятінні осад набував рожевого кольору, а потім знову жовтів. Одержаний осад відфільтровували, промивали та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1).

Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-ізобутіл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.4(4)

0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,26г (0,002 моль) L-лейцину **2.5(9)** та з 0,22г (0,001 моль) етиленбісмалеїніміду **3.5**. Додавали 3 мл ізопропанолу та 1 мл води. Суміш кип'ятили протягом двох годин. При кип'ятінні колір розчину змінювався від червоного до бордового, а потім ставав блідо-жовтим. Осад випадав із киплячого розчину. Одержаний осад відфільтровували, промивали та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1).

Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-феніл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.4(5)

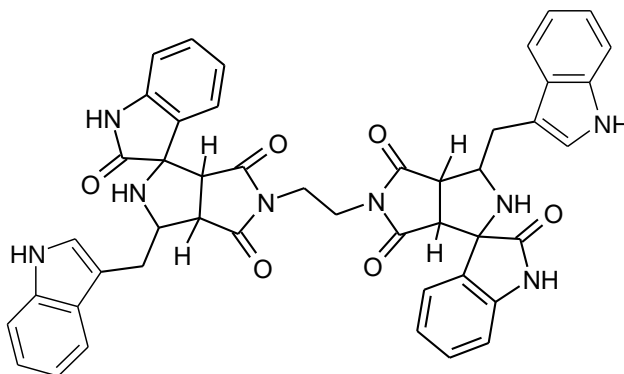
0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,3г (0,002 моль) L-фенілгліцину **2.5(3)** та з 0,22г (0,001 моль) етиленбісмалеїніміду **3.5**. Додавали 6 мл ізопропанолу та 2 мл води. Суміш кип'ятили при перемішуванні протягом п'яти годин. Осад випадав із киплячого розчину. Одержаний осад відфільтровували, промивали та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1).

Аналогічним способом при використанні амінокислот: L-фенілаланіну **2.5(4)** та L-тірозину **2.5(10)** були отримані сполуки **3.4(6-7)** з арильними радикалами (бензил, *n*-гідроксибензил) у положенні 5'.

Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-гідроксиметил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.4(8)

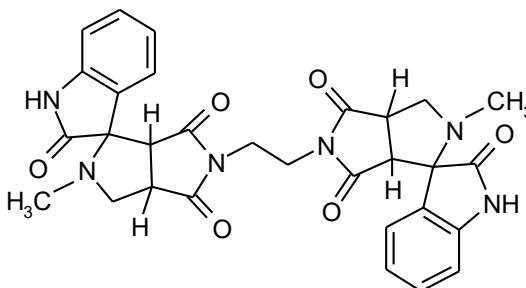
0,6г (0,004 Моль) ізатину 2.4(1) змішували з 0,42г (0,004 моль) L-серину 2.5(5) та з 0,44г (0,002 моль) етиленбісмалеїніміду 3.5. Додавали 12 мл ізопропанолу та 4 мл води. Суміш кип'ятили протягом п'яти годин, а потім виливали на лід. Осад, що утворився, фільтрували та перекристалізовували з води.

Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-3-індоліл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.4(9)



0,3г (0,002 Моль) ізатину 2.4(1) змішували з 0,41г (0,002 моль) L-тріптофану 3.3 та з 0,22г (0,001 моль) етиленбісмалеїніміду 3.5. Додавали 15 мл ізопропанолу та 5 мл води. Суміш кип'ятили протягом чотирьох годин, після охолодження утворювався маслянистий осад. Розчин декантировали з осаду, який потім перекристалізовували з суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1) з додаванням активованого вугілля.

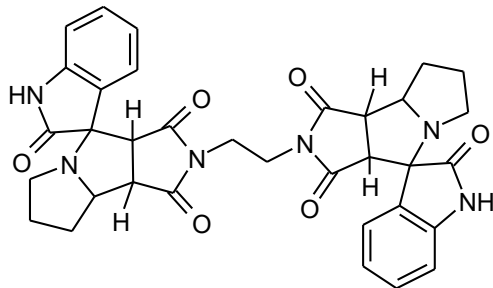
Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.4(10)



0,3г (0,002 Моль) ізатину 2.4(1) змішували з 0,18г (0,002 моль) сарказину 2.5(6) та з 0,22г (0,002 моль) етиленбісмалеїніміду 3.5. Додавали 6 мл ізопропанолу та 2 мл води. Суміш кип'ятили протягом чотирьох годин, а

потім виливали на лід. Осад, що утворився, фільтрували та перекристалізовували з MeOH.

Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин -2а',7а'-дигідро-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.4(11)



0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,23г (0,002 моль) L-проліну **2.5(7)** та з 0,22г (0,001 моль) етиленбісмалеїніміду **3.5**. Додавали 6 мл ізопропанолу та 2 мл води. Суміш кип'ятили при перемішуванні протягом п'яти годин. При цьому, через 10 хвилин після закипання утворювався яскраво-жовтий осад, ще через 20 хвилин розчин набував зеленого, а потім яскраво-блакитного кольору. Після п'яти годин кип'ятіння розчин ставав блідо-жовтим, а осад білим. Одержаний осад відфільтровували, промивали та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1).

Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.6(1)

0,57 г (0,001 Моль) етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) **3.4(2)** розчиняли в 20 мл оцтової кислоти. Отриманий розчин охолоджували до 10°C і додавали 0,21 г (0,003 моль) натрій нітриту. Реакційну суміш залишали на 12 годин, потім розводили 100 мл води. Отриманий осад відфільтровували та перекристалізовували із суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1). Т._{пл.} 298-300°C. ¹H ЯМР, δ, м.д. (400 MHz, dmsO): 1.82 (д, *J* = 6.6 Hz, 6H, 2×CH₃), 3.19 (м, 2H, CH₂CH₂), 3.41 (м, 2H, CH₂CH₂), 3.67 (м, 2H, 2×5'-H), 4.26 – 4.02 (д.д, *J* = 21.0, 9.6 Hz, 2H, 2×5а'-H), 5.30 (м, 2H, 2×2а'-H), 6.92 – 6.57 (м, 6H, Ar), 7.32 – 7.06 (т, 2H, Ar), 10.95 (с, 2H, 2×NH). Знайдено, %: С 57,52; Н 4,16; N 17,91. Вирахувано, %: С 57,51; Н 4,18; N 17,88.

Аналогічним способом з етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-ізопропіл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) **3.4(3)** був одержан:

Етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-ізопропіл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.6(2)

Т._{пл.} 205-206°C. ¹H ЯМР, δ, м.д. (400 MHz, dmsO): 1.04 (м, 6H, 2×CH₃CHCH₃), 1.20 (м, 6H, 2×CH₃CHCH₃), 2.81 (м, 2H, 2×CH₃CHCH₃), 3.17 (м, 2H, CH₂CH₂), 3.47 – 3.34 (м, 2H, CH₂CH₂), 3.61 (м, 2H, 2×5'-H), 4.18 (м, 2H, 2×5а'-H), 5.18 – 4.98 (м, 2H, 2×2а'-H), 6.56 (дд, *J*=11.1, 7.7, 2H, Ar), 6.91 – 6.65 (м, 4H, Ar), 7.20 (т, *J*=7.6, 2H, Ar), 10.91 (с, 2H, 2×NH). Знайдено, %: C 59,84; H 5,04; N 16,42. Вирахувано, %: C 59,82; H 5,02; N 16,41.

Етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-1-етил-5'-феніл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.7

0,7г (0,001 Моль) етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-феніл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) **3.4(5)** розчиняли в 2 мл DMF; додавали 0,56г (0,004 моль) K₂CO₃. Суміш перемішували при 50°C протягом 30 хвилин; давали охолонути при кімнатній температурі та додавали 0,3 мл (0,004 моль) етилброміду. Суміш перемішували при кімнатній температурі 5 годин, а потім ще одну годину при нагріванні до 50°C. Реакційну суміш виливали на лід, осад, що утворився фільтрували та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1). Т._{пл.} 180-182°C. ¹H ЯМР, δ, м.д. (400 MHz, dmsO): 1.14 (т, *J*=7.1, 6H, 2×CH₂CH₃), 3.21 (дд, *J*=16.8, 7.8, 2H, 2×NH), 3.50 – 3.33 (м, 4H, CH₂CH₃), 3.72–3.54 (м, 6H, CH₂CH₂+2×5а'-H), 4.08 (с, 2H, 2×2а'-H), 5.43–5.33 (м, 2H, 2×5'-H), 6.98 (м, 6H, Ar), 7.20 (м, 6H, Ar), 7.29 (м, 6H, Ar). Знайдено, %: C 69,71; H 5,03; N 11,68. Вирахувано, %: C 69,99; H 5,03; N 11,66.

Оксаліламін-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-феніл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион) 3.13

0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,3г (0,002 моль) L-фенілгліцину **2.5(3)** та з 0,28г (0,001 моль) *N,N'*-*bis*-малеїнімідоксаліламіну **3.12**. Додавали 6 мл ізопропанолу та 2 мл води. Суміш кип'ятили зі

зворотним холодильником 4 години, перебіг реакції контролювали за зміною кольору реакційної суміші від яскраво-червоного через темно-коричневий до блідо-жовтого. Одержаний осад відфільтровували, промивали *i*-PrOH та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH (1 мл) і H₂O (1 мл). *T*_{пл.}: 265-266°C. ¹H ЯМР, δ, м.д. (400 MHz, dmsO): 3.57 (м, 2H, 2×NH), 3.96 – 3.80 (м, 2H, 2×5a'-H), 4.14 (с, 2H, 2×2a'-H), 5.50 (дд, *J*=7.7, 2.7, 2H, 2×5'-H), 6.79 (д, *J*=7.7, 2H, Ar), 6.89 (т, 2H, Ar), 7.24 (м, 10H, Ar), 7.48 – 7.36 (м, 4H, Ar), 10.34 (с, 2H, 2×NH), 11.65 (с, 2H, NHCOCONH). Знайдено, %: C 63,09; H 4,05; N 14,96. Розраховано, %: C 64,00; H 4,03; N 14,93.

м-Фенілен-N,N'-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-метил--2a',5a'-дигідро-2,2',6'-(1H,1'H,5'H)-трион) 3.17(1)

0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,18г (0,002 моль) L-аланіну **2.5(1)** та з 0,268г (0,001 моль) *м-фенілен-біс-малеїніміду 3.16*. Додавали 6 мл ізопропанолу; 2 мл води та 1мл диметилформаміду. Суміш кип'ятили протягом трьох годин. Після охолодження осад, що утворився, фільтрували та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1) з активованим вугіллям.

м-Фенілен-N,N'-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-бензил--2a',5a'-дигідро-2,2',6'-(1H,1'H,5'H)-трион) 3.17(2)

0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,33г (0,002 моль) L-фенілаланіну **2.5(4)** та з 0,268г (0,001 моль) *м-фенілен-біс-малеїніміду 3.16*. Додавали 12 мл ізопропанолу; 4 мл води та 1мл диметилформаміду. Суміш кип'ятили протягом 5 годин, після охолодження осад, що утворився фільтрували та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1).

м-Фенілен-N,N'-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролізидин -2a',7a'-дигідро-2,2',7'-(1H,1'H,5'H)-трион) 3.17(3)

0,3г (0,002 Моль) ізатину **2.4(1)** змішували з 0,23г (0,002 моль) L-проліну **2.5(7)** та з 0,268г (0,001 моль) *м-фенілен-біс-малеїніміду 3.16*. Додавали 15 мл ізопропанолу; 5 мл води та 1мл диметилформаміду. Суміш кип'ятили протягом 5 годин, а потім виливали на лід, осад, що утворився при цьому фільтрували та перекристалізовували із суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1).

1'-(*m*-Фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4с]пірол-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион 3.18(1)

0,268 г (0,001 Моль) *m*-фенілен-*bis*-малеїніміду **3.16** розчиняли в 0,5 мл диметилформаміду. 0,147 г (0,001 Моль) ізатину **2.4(1)** та 0,09 г (0,001 Моль) L-аланіну **2.5(1)** розчиняли у суміші *i*-PrOH (24 мл) і H₂O (8 мл). Отримані розчини змішували, суміш кип'ятили протягом 5 годин, після охолодження осад, що утворився фільтрували та перекристалізовували з суміші *i*-PrOH-H₂O (1:1).

Аналогічним способом при використанні амінокислот L-фенілаланіну **2.5(4)** та L-проліну **2.5(7)** були отримані: 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-бензил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион **3.18(2)** та 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролізидин-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион **3.18(3)**.

1'-(*m*-Фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-1,4'-диацетил-5'-бензил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион 3.19

0,52 г (0,001 Моль) 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-бензил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону **3.18(2)** розчиняли у 3 мл оцтового ангідриду та кип'ятили 10 хвилин зі зворотним холодильником, а потім виливали на лід. Осад, що утворювався, відфільтровували та перекристалізовували із суміші *i*-PrOH-H₂O-DMF (3:1:1). *T*_{пл.}: 210-212°C. ¹H ЯМР, δ, м.д. (400 MHz, dms_o): 1.21 (с, 3H, CH₃), 2.61 (с, 3H, CH₃), 2.82 (д, *J*=61.8, 1H, 5'-H), 3.14 (дд, *J*=23.2, 13.6, 1H, 5а'-H), 4.47 – 4.07 (м, 2H, CH₂Ph), 5.17 (м, 1H, 2а'-H), 7.74 – 7.50 (м, 2H, Ar), 7.50 – 7.07 (м, 12H, Ar+малеїнімід), 8.17 (д, *J*=7.9, 1H, Ar). Знайдено, %: C 67,75; H 4,36; N 9,32. Розраховано, %: C 67,77; H 4,35; N 9,30.

1'-(*m*-Фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-1,4'-дипропіоніл-5'-бензил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трион 3.20

0,52 г (0,001 Моль) 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-бензил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону **3.18(2)** розчиняли у 3 мл пропіонового ангідриду та кип'ятили протягом однієї години, а потім виливали на лід. Осад, що утворювався, відфільтровували та

перекристалізовували із суміші *i*-PrOH-H₂O. $T_{пл.}$: 168-170°C. ¹H ЯМР, δ , м.д. (400 MHz, dmsO): 0.48 (м, 3H, CH₂CH₃), 1.05 – 0.95 (м, 1H, 5'-H), 1.10 (м, 3H, CH₂CH₃), 1.89 (м, 1H, 5a'-H), 3.19 – 2.83 (м, 4H, CH₂CH₃), 4.40 – 4.02 (м, 2H, CH₂Ph), 5.14 (с, 1H, 2a'-H), 7.46–7.10 (м, 11H, Ar+2H малеїнімід), 7.66–7.47 (м, 3H, Ar), 8.17 (м, 1H, Ar). Знайдено, %: C 68,58; H 4,77; N 8,90. Розраховано, %: C 68,56; H 4,79; N 8,88.

1'-(*м*-Фенілен-*N*-малеїнімід)-2a',5a'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло [3,4с]пірол-4'-нітроз-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону 3.21

0,44 г (0,001 Моль) 1'-(*м*-фенілен-*N*-малеїнімід)-2a',5a'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону **3.18(1)** розчиняли в 20 мл оцтової кислоти. Отриманий розчин охолоджували до 10°C і додавали 0,15 г натрій нітриту. Реакційну суміш залишали на 12 годин, потім розводили 100 мл води. Отриманий осад відфільтровували та перекристалізовували із води. $T_{пл.}$ 260°C. ¹H ЯМР, δ , м.д. (400 MHz, dmsO): 1.98 – 1.77 (м, 3H, CH₃), 3.80 (д, $J=9.4$, 1H, 5'-H), 4.52 – 4.30 (м, 1H, 5a'-H), 5.56 – 5.30 (м, 1H, 2a'-H), 6.79 – 6.68 (м, 1H, Ar), 7.00 – 6.80 (м, 3H, Ar+2H малеїнімід), 7.15 (м, 2H, Ar), 7.43 – 7.22 (м, 2H, Ar), 7.73 – 7.44 (м, 2H, Ar), 10.98 (с, 1H, NH). Знайдено, %: C 61,16; H 3,65; N 14,87. Вирахувано, %: C 61,15; H 3,63; N 14,86.

Висновки до розділу 3

1. Вперше досліджено реакції 1,3-диполярного циклоприєднання з використанням у якості диполярофілів: *N,N'*-етилєн-*біс*-малеїнімід, *N,N'*-*біс*-малеїнімідоксалиламіну та *N,N'*-*м*-фенілен-*біс*-малеїнімід, що дозволило отримати нові *біс*-похідні спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу, в яких з'єднання двох спірогетероциклічних фрагментів відбувається у різний спосіб: за рахунок етиленового, оксаламідного ланцюгу або бензенового кільця.

2. Вивчено реакцію трикомпонентної взаємодії між ізатином, α -амінокислотами та *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилєндіаміном.

Запропоновано препаративну методику трикомпонентного каскадного перетворення ізатину з α -амінокислотами та етиленбісмалеїнімідом, яка виявилась ефективним способом отримання етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріонів).

3. Вперше синтезовано симетричні похідні *m*-фенілен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) та їх моно-аналоги, досліджено регіоселективність цієї реакції.

4. Одержано нові функціоналізовані нітрузо-похідні етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу) та 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону шляхом модифікації NH-групи пірольного фрагменту в положенні 4'.

5. Проведено реакцію алкілювання етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-1-етил-5'-феніл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) та встановлено, що за даних умов алкілювання відбувається за індольними *N*-1 фрагментами *bis*-сполуки.

6. Досліджено перебіг реакції ацилювання 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-бензил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону та встановлено, що ацилювання легко відбувається одразу за двома положеннями: по вторинній аміногрупі пірольного та індольного фрагментів.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Дослідження трикомпонентної взаємодії між ізатином, α -амінокислотами і *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміном та встановлення будови одержаних сполук / Є. І. Сюмека, Л. А. Шемчук, В. П. Черних, Р. Г. Редькін. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2018. Т. 16, № 1 (61). С. 34–41. (Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

2. The synthesis of mono- and bis-derivatives of spiro-2-oxindole[3,3']pyrrole and the study of their antioxidant and anti-inflammatory activities / Ye. I. Syumka, H. B. Kravchenko, V. P. Chernykh, L. A. Shemchuk. *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). P. 5–13. (*Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті*).

3. Синтез біс-похідних спіро[індол-3,1'-піроло[3,4-с]піролу]3-[2-(3-карбоксиакрилоїламіно)-етилкарбомоїл]-акрилової кислоти / Є. І. Сюмека, Р. Г. Редькін, В. П. Черних, Л. А. Шемчук. *Матеріали XXIV української конференції з органічної хімії*, м. Полтава, 19 – 23 вересня 2016 р. Полтава, 2016. С. 255.

4. Дослідження методів синтезу похідних етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) / Є. І. Сюмека, К. М. Ситнік, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Хімічні Каразінські читання: мат. X Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів*, м. Харків 23–25 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 127–128.

5. Неочікуваний синтез похідних етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-с]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,4'*H*)триону) / Є. І. Сюмека, К. М. Ситнік, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій: мат. Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича*, м. Харків 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 116.

6. Synthesis and chemical transformations of *m*-phenylene-*N*-maleimide derivatives of spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-с]pyrrole / Ye. I. Syumka, K. M. Sytnik, D. V. Levashov, L. A. Shemchuk. *Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov: book of abstracts 8th International Conference*, Kharkov, 12–16 november 2018 p. Kharkiv: Ekskluziv Publ., 2018. P. 145.

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ПОХІДНИХ СПІРО-2-ОКСІНДОЛ[3,3']ПІРОЛУ

Створення лікарських засобів на основі нових синтезованих БАР для покращення лікарського забезпечення населення – це одна з головних задач системи охорони здоров'я [118].

Завдяки досягненням біоорганічної хімії, молекулярної біології (особливо встановленню структур деяких рецепторів і ферментів методом рентгеноструктурного аналізу), були ідентифіковані структури біологічних мішеней, що призвело до дизайну потужних і селективних лігандів або інгібіторів. Синтез молекул, що діють на численні біологічні мішені, і здатних їх модулювати, стало ще одним інноваційним підходом в дизайні ЛЗ. Така задача може бути вирішена завдяки створенню подвійних ліків або конструюванню складних «бінарних» структур, що містять в своєму складі кілька функціонально значущих частин молекули [92].

Одним із перспективних класів сполук для пошуку нових БАР є похідні спіро-2-оксіндол[3,3']піролу. Дослідження синтезованих нами *біс*-похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та їх моно аналогів, які містять малеїнімідний лінкер на предмет біологічної активності проводили враховуючи теоретичний прогноз, а також можливість створення подвійних ліків.

4.1 Дослідження гексаметилен-N-малеїнімідопохідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та їх *біс*-аналогів, як потенційних інгібіторів протеїнкіназ

Вивчення інгібуючої активності синтезованих сполук по відношенню до протеїнкіназ проводили у відділі біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України під керівництвом доктора хімічних наук, проф. С. М. Ярмолюка.

Протеїнкінази відіграють ключову роль у регуляції широкої

різноманітності клітинних процесів, включаючи проліферацію, клітинну диференціацію, виживання клітин, реакцію організму на фактори навколишнього середовища, імунну відповідь і ангіогенез тощо [119]. Крім того, ряд захворювань у тому числі аутоімунні, онкологічні запускаються протеїнкіназами [120].

Протеїнкіназа СК2 (раніше відома як казеїн кіназа 2 або ІІ) – це убіквістична, серин/треонінова кіназа, для якої були передбачені анти-апоптичні функції, що реалізуються через регуляцію онкосупресорів та онкогенів [121]. Рецептор фактору росту фібробластів (FGFR1) – це трансмембранний протеїн, що належить до родини рецепторних протеїнкіназ. Інгібітори FGFR1 можуть бути застосовані для лікування раку, що супроводжується зміненою активністю цього рецептора. Ідентифікація інгібіторів протеїнкіназ, які можуть бути потенційно ефективні як терапевтичні засоби проти вказаних захворювань є актуальним завданням сучасної медичної хімії, фармакології та експериментальної медицини в цілому [122, 123].

Тому нами було проведено мішень-орієнтований пошук (*in silico* та *in vitro*) лікоподібних молекул, виявлення потенціальних протипухлинних агентів – інгібіторів кіназ СК2 та FGFR1 серед синтезованих вперше структур гексаметилен-*N,N'*-біс-похідних спіроіндол-3,3'-пірол[3,4-*c*]піролу **2.7**(1-3, 5-32, 34-37) та їх несиметричних аналогів: 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-5'-ізопропіл-2а',6а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **2.6**(3); 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин-2,2',7'(1*H*,1'*H*, 5'*H*)-тріону **2.6**(8) [124, 125].

Всі обчислення молекулярних дескрипторів зроблені за допомогою програмного комплексу *Molinspiration Cheminformatics v2014.09*, 2014 (Університет Братислави, Словаччина), доступного *on-line* [126, 127].

Як референтні структури було обрано інгібітори кіназ (інгібітор рецепторів тирозинкіназ) Sunitinib (дозволений для лікування ниркової

карциноми та пухлин ШКТ [128]), інгібітор протеаз – Tipranavir (дозволений для лікування ВІЛ [129]), експериментальний інгібітор кінрази CK2 – TID46 та експериментальний оксіндоловий інгібітор FGFR1 [130] (рис. 4.1).

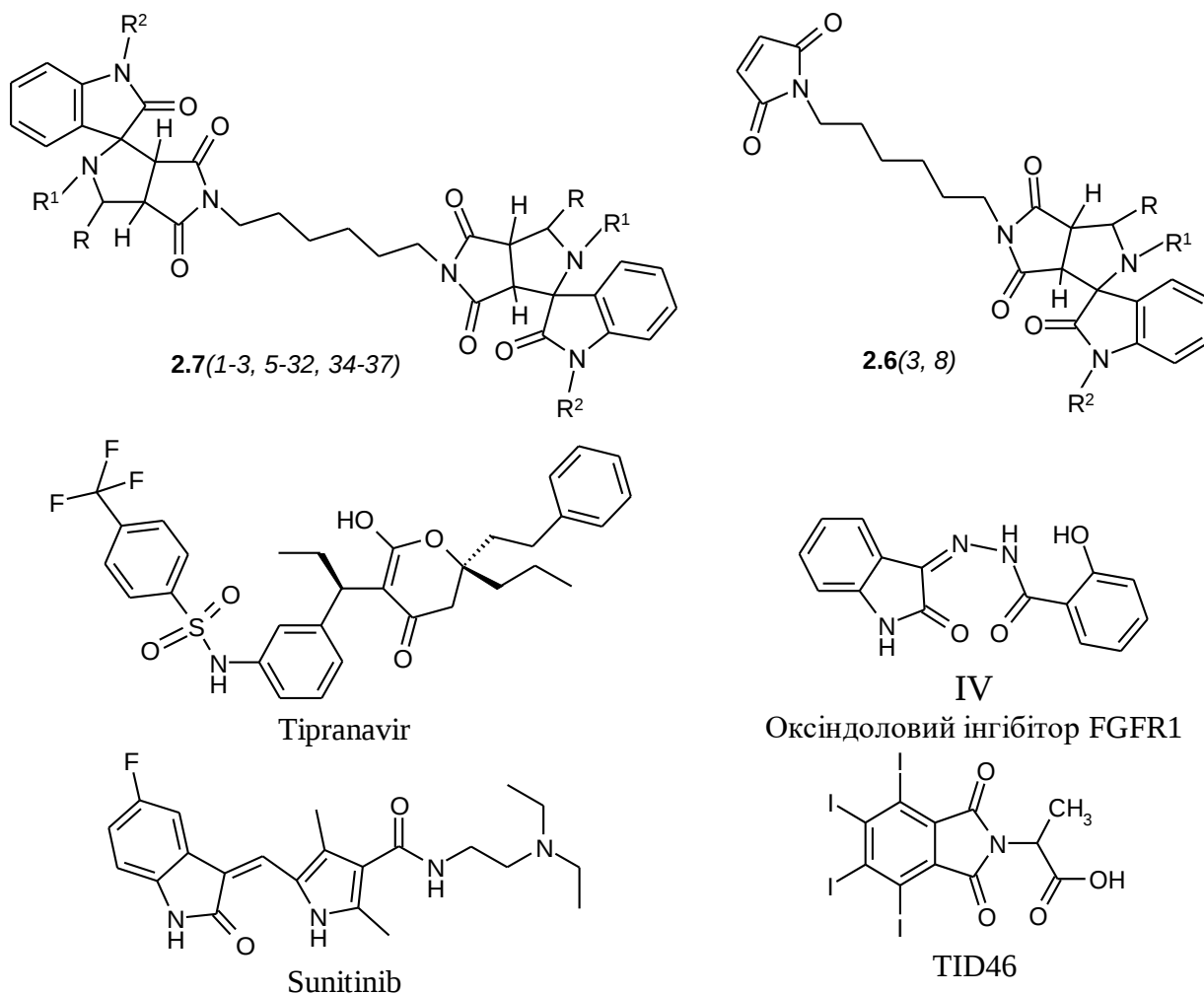


Рис. 4.1 Досліджені похідні спіроіндол-3,3'-пірол[3,4-с]піролу та референтні препарати

Аналіз зв'язування структур досліджуваних сполук проводили за допомогою рецептор-орієнтованого віртуального скринінгу. Докінг здійснювали в АТФ зв'язувальні сайти протеїнкіназ CK2 (код бази даних RCSB 3NSZ – 1.30Å) та FGFR1 (код бази даних RCSB 3GQI – 2.50Å), за допомогою програми Autodock4 (<http://autodock.scripps.edu/>), препроцесинг та обробка результатів проводилась програмою MGL Tools (<http://mgltools.scripps.edu>).

Вимірювання активності протеїнкінази CK2 в присутності синтетичних сполук проводили методом непрямой детекції (ATP consumption) [131]. За-

лишкові концентрації АТФ визначали за допомогою люциферазної суміші (Easy Light kit, PerkinElmer) за інтенсивністю люмінесценції, яку вимірювали на люмінометрі (Perkin Elmer VICTOR 1420-50 Multilabel Counter). Ступінь інгібування СК2 визначали за співвідношенням інтенсивності рівня люмінесценції у пробах із DMSO (100 % активності кінази, 0 % залишкового АТФ) із пробами, що містили досліджувані сполуки.

Алгоритм дослідження включав три етапи: 1) обрахунок та аналіз молекулярних дескрипторів структур за допомогою програмного комплексу *Molinspiration software* (метод хемоінформатики); 2) молекулярне моделювання зв'язування колекції сполук із протеїнкіназами СК2 та FGFR1 *in silico* та відбір найактивніших сполук за енергією зв'язування (метод віртуального скринінгу); 3) скринінг вибраних сполук *in vitro* відносно протеїнкіназ СК2 та FGFR1.

Відібрані для аналізу на першому етапі розрахункові параметри молекул (дескриптори – показник ліпофільності (LogP), площа полярних поверхонь молекул (TPSA), молекулярний об'єм, молекулярна маса) відносяться до класичних в області КЗСВ (кількісний зв'язок структура-властивості) аналізу та входять до набору так званих найважливіших дескрипторів визначених методом АГК (аналізу головних компонент) [132]. Дані дескриптори напряду пов'язані з такими важливими властивостями молекули, як розмір, ліпофільність, конформаційна рухливість, здатність до утворення водневих зв'язків [133]. Так, наприклад, TPSA дозволяє передбачити абсорбцію лікарського засобу, біодоступність та проникність крізь гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) [134].

Отримані результати скорингових функцій для досліджуваних сполук й референтних препаратів наведено у таблиці 4.1 [135].

За результатами обрахунку та аналізу молекулярних дескрипторів скорингові функції біологічної активності досліджуваних структур **2.7(1,2,5,6,24,30,34)**; **2.6(3,8)** потрапили в достовірний інтервал від -0,6 до 0.

Таблиця 4.1

Молекулярні дескриптори та вірогідні величини скорингових функцій біологічної активності сполук 2.7 (1-3, 5-32, 34-37); 2.6(3, 8)

Шифр сполуки	Молекулярні дескриптори			Величини скорингових функцій біологічної активності					
	LogP	TPSA, Å ²	MV, Å ³	GPCR ligand	Ion channel modulator	Kinase inhibitor	Nuclear receptor ligand	Protease inhibitor	Enzyme inhibitor
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2.7(1)*	0,994	157,01	514,212	-0,32*	-0,9	-0,7	-0,79	-0,17*	-0,57*
2.7(2)*	1,654	157,01	547,386	-0,59*	-1,34	-1,08	-1,11	-0,33*	-0,95
2.7(3)	3,433	139,432	637,215	-1,18	-2,3	-1,99	-1,99	-0,84	-1,71
2.7(5)*	2,144	139,432	581,271	-0,71	-1,62	-1,32	-1,36	-0,44*	-1,13
2.7(6)*	3,213	157,01	614,163	-0,96	-1,92	-1,58	-1,64	-0,59*	-1,39
2.7(7)	4,991	139,432	703,992	-1,81	-3,13	-2,78	-2,82	-1,35	-2,41
2.7(8)	6,5	139,432	791,347	-3,33	-4,13	-4,05	-4,08	-2,75	-3,72
2.7(9)	4,274	157,01	647,767	-1,17	-2,22	-1,92	-1,96	-0,73	-1,66
2.7(10)	6,053	139,432	737,596	-2,16	-3,41	-3,25	-3,26	-1,61	-2,8
2.7(11)	4,158	157,01	657,081	-1,86	-3,08	-2,66	-2,78	-1,3	-2,34
2.7(12)	5,937	139,432	746,91	-3,05	-3,93	-3,83	-3,85	-2,41	-3,47
2.7(13)	7,445	139,432	834,265	-4	-4,56	-4,54	-4,57	-3,64	-4,22
2.7(14)	4,648	139,432	690,966	-2,2	-3,44	-3,14	-3,25	-1,62	-2,75
2.7(15)	4,577	157,01	690,685	-2,19	-3,38	-3,13	-3,24	-1,58	-2,79
2.7(16)	6,355	139,432	780,514	-3,32	-4,08	-4,06	-4,07	-2,82	-3,74
2.7(17)	3,618	197,466	706,702	-2,59	-3,63	-3,47	-3,51	-1,93	-3,16
2.7(18)	5,397	179,888	796,549	-3,56	-4,32	-4,24	-4,21	-3,17	-3,93
2.7(19)	6,905	179,888	883,904	-4,26	-4,76	-4,8	-4,79	-3,99	-4,51
2.7(20)	4,108	179,888	740,605	-2,98	-3,87	-3,76	-3,8	-2,33	-3,45
2.7(21)	0,001	231,608	601,87	-1,11	-2,2	-1,92	-1,91	-0,7	-1,6
2.7(22)	0,543	231,608	635,474	-1,41	-2,61	-2,29	-2,29	-0,94	-1,93
2.7(23)	2,321	214,03	725,303	-2,54	-3,67	-3,59	-3,53	-1,95	-3,14
2.7(24)*	0,296	197,466	563,903	-0,68	-1,56	-1,21	-1,29	-0,4*	-1,06
2.7(25)	1,483	179,888	653,732	-1,41	-2,66	-2,28	-2,33	-1,04	-1,96
2.7(26)	2,991	179,888	741,087	-2,96	-3,9	-3,75	-3,81	-2,29	-3,41
2.7(27)	2,56	157,01	650,85	-1,22	-2,29	-2,05	-2,03	-0,76	-1,63
2.7(28)	3,312	157,01	684,454	-1,51	-2,7	-2,42	-2,42	-1	-1,98
2.7(29)	0,67	209,056	671,256	-1,41	-2,58	-2,2	-2,37	-0,92	-1,94
2.7(30)*	1,484	139,432	548,097	-0,49*	-1,19	-0,94	-0,97	-0,29*	-0,8
2.7(31)	3,263	121,854	637,296	-1,09	-2,17	-1,86	-1,86	-0,81	-1,58

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2.7(32)	4,771	121,854	725,281	-2,52	-3,6	-3,43	-3,48	-1,9	-3,07
2.7(34)*	2,264	139,432	594,154	-0,91	-1,86	-1,53	-1,59	-0,53*	-1,36
2.7(35)	4,042	121,854	683,983	-1,77	-3,08	-2,74	-2,78	-1,29	-2,38
2.7(36)	5,55	121,854	771,338	-3,29	-4,08	-4,01	-4,04	-2,71	-3,7
2.7(37)	2,753	121,854	628,039	-1,13	-2,24	-1,88	-1,94	-0,73	-1,94
2.6(3)*	2,012	117,581	478,549	-0,42*	-0,87	-0,73	-0,95	-0,44*	-0,53*
2.6(8)*	1.538	108.792	421.126	-0.36*	-0.78	-0.66	-0.89	-0.35*	-0.49*
TID46	4,599	76,375	280,303	-0,29*	-0,40*	-0,50*	-0,21*	-0,42*	-0,09*
IV	2,822	94,552	238,66	-0,39*	-0,76	-0,22*	-0,96	-0,77	-0,38*
Tiprana vir	8,095	105,594	517,661	-0,02*	-0,45*	-0,62	-0,16*	0,22**	-0,13*
Suniti nib	1,954	80.989	370,951	-0,16*	-0,62	0,51**	-0,80	-0,51*	-0,23*

Примітки: MV – молекулярний об'єм; TPSA – загальна площа полярних поверхонь молекул, Å²; GPCR ligand – ліганд рецепторів супряжених із G-білками; *- відповідає прийнятному достовірному інтервалу за скоринговою функцією; ** достовірно висока активність за величиною скорингової функції

Структури експериментальних референтних препаратів **TID46** та оксіндолового інгібітора FGFR1 (**IV**) дали позитивний відклик відповідно кіназ-інгібуючого профілю у достовірному інтервалі. Для сполук **2.7(1-3, 5-7, 9, 11, 14, 15, 17, 20-32, 34, 35, 37); 2.6(3,8); TID46; IV** та препарату порівняння **Sunitinib** дескриптор показника ліпофільності LogP склав менше 5. Це свідчить про здатність досліджуваних сполук знаходитися у міжклітинному просторі та на поверхні мембран. При аналізі дескриптора TPSA, структури сполук **2.7(1-3, 5-16, 27, 28, 30-32, 34-37)** потрапили в інтервал $120\text{Å}^2 > \text{TPSA} < 160\text{Å}^2$, що є оптимальною площею молекул для зв'язування із рецепторами [124].

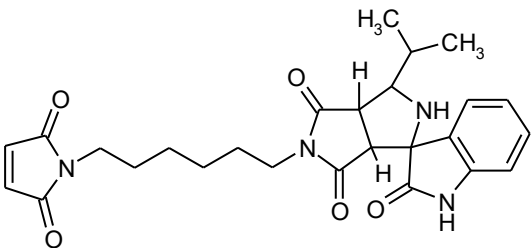
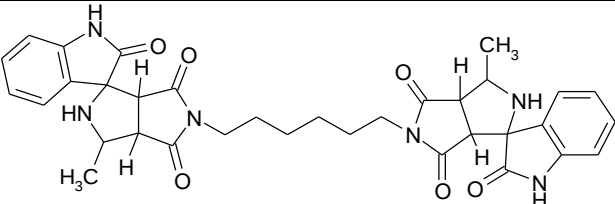
Таким чином, за даними аналізу молекулярних дескрипторів досліджуваних структур **2.6(3,8); 2.7(1-3, 5-32, 34-37)** були відібрані сполуки **2.6(3,8); 2.7(1-3, 5-17, 20-32, 34-37)**, які мають високу прогностичну лікоподібність.

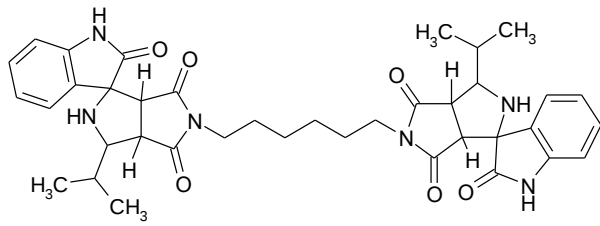
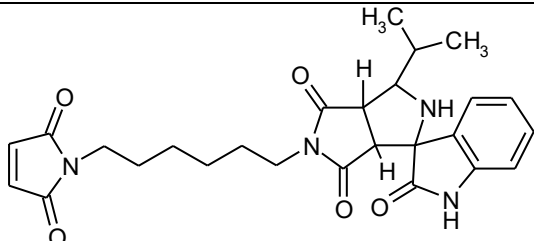
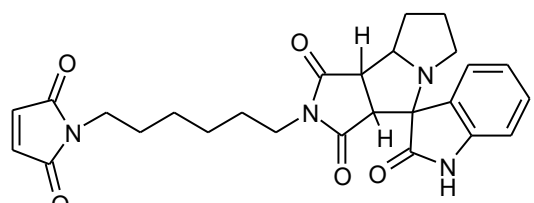
На другому етапі досліджень було проведено молекулярне моделювання зв'язування колекції сполук із протеїнкіназами CK2 та FGFR1

in silico та відбір найактивніших сполук за енергією зв'язування з кіназним доменом (табл. 4.2). Для цього ми використовували програму Autodock4, за допомогою якої оцінювали вільну енергію зв'язування ліганду з рецептором в ккал/моль (E_{Doc} , ккал/моль), менші значення відповідають більш сильним інгібіторам. Також шляхом докінгу було отримано важливу інформацію про наявність водневих зв'язків між досліджуваними структурами та кіназами. Крім того, оцінювались водневі зв'язки з консервативними залишками лізину, аспарагіну та глутаміну, які беруть участь в каталітичному перенесенні фосфатної групи, що теж характерно для інгібіторів протеїнкіназ. Нами, також, було проведено візуальну оцінку ліганду в сайті зв'язування з метою вилучення сполук що мають нереалістичне положення в сайті зв'язування АТФ.

Таблиця 4.2

Найактивніші сполуки за результатами докінгу та інгібуючою активністю *in vitro*

Сполука	Структура сполуки	E_{Doc} , ккал/ моль	Водневі зв'язки з шарнірним и регіонами кіназного домену	Залишкова активність кінази, % (33μM) <i>in vitro</i>
1	2	3	4	5
відносно кінази CK2				
2.6(3)		-10,41	LYS68 VAL116	120
відносно кінази FGFR1				
2.7(2)		-9,02	LYS514 GLU562	225

1	2	3	4	5
2.7(6)		-10,51	GLU486 LYS514 GLU562 GLU486	178
2.6(3)		-9,52	GLU486 LYS514 GLU562	221
2.6(8)		-9,44	LYS514 GLU562	53

Для наведених у табл. 4.2 сполук за даними докінгу відмічається висока вірогідність утворення водневих зв'язків з важливим шарнірним регіоном кіназного домену, який бере участь у зв'язуванні природного субстрату кіназ – АТФ. На прикладі сполуки **2.6(8)** показано ймовірну схему зв'язування інгібітора за рахунок водневих зв'язків із АТФ-зв'язувальним сайтом FGFR1 (рис. 4.2) та 3D-модель зв'язування за даними молекулярного моделювання (рис. 4.3) [136].

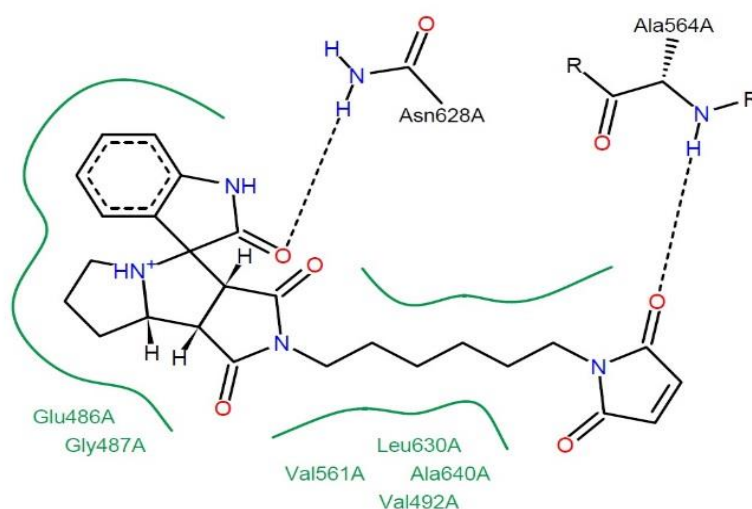


Рис. 4.2 Схема утворення водневих зв'язків сполукою **2.6(8)** із амінокислотами АТФ-зв'язувальної кишені FGFR1

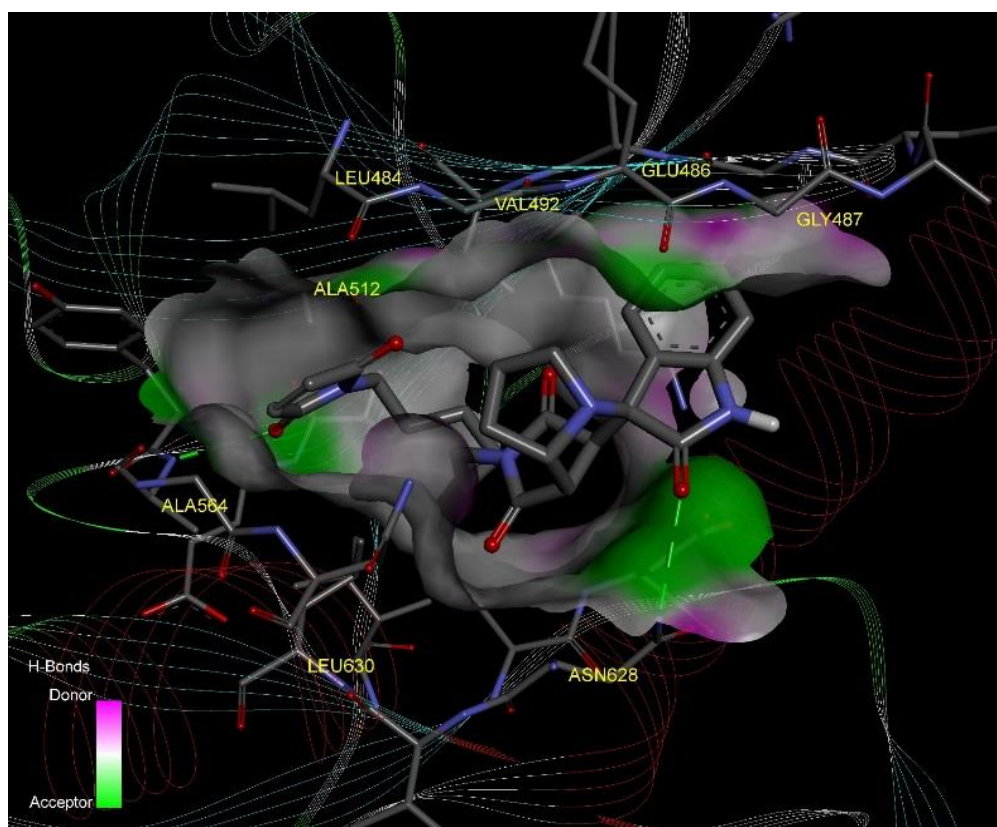


Рис. 4.3 3D-модель зв'язування сполуки **2.6(8)** з АТФ-зв'язувальним сайтом протеїнкінази FGFR1

Крім того, шляхом комп'ютерного моделювання нами було з'ясовано, що сполука **2.6(8)** проявляє здатність блокувати активність FGFR1, шляхом зв'язування із шарнірним регіоном кіназного домену за рахунок малеїнімідного лінкера. Такий зв'язок відбувається завдяки реакції залишку малеїніміду з вільними залишками цистеїну поліпептидного ланцюга. Схема утворення кон'югату між **2.6(8)** та FGFR1_V-генно-інженерного походження приведена на рис. 4.4.

Відібрані методом біоінформатики сполуки **2.6(3,8)**; **2.7(2,6)** далі досліджували *in vitro*. Для цього використовували активований кіназний домен людської кінази FGFR1. Активність FGFR1 визначали за включенням радіоактивного фосфору в пептидний субстрат кінази при його фосфорилуванні кіназою у присутності γ -³²P-АТФ [137]. Найбільша інгібуюча активність була виявлена у 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2a',7a'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин-2,2',7'(1*H*,1'*H*,

5'H)-триону **2.6(8)** відносно кінрази FGFR1. Була побудована крива залежності активності протеїнкінази FGFR1 від концентрації **2.6(8)** для визначення IC_{50} , яка склала 45 мкмоль/л (рис. 4.5).

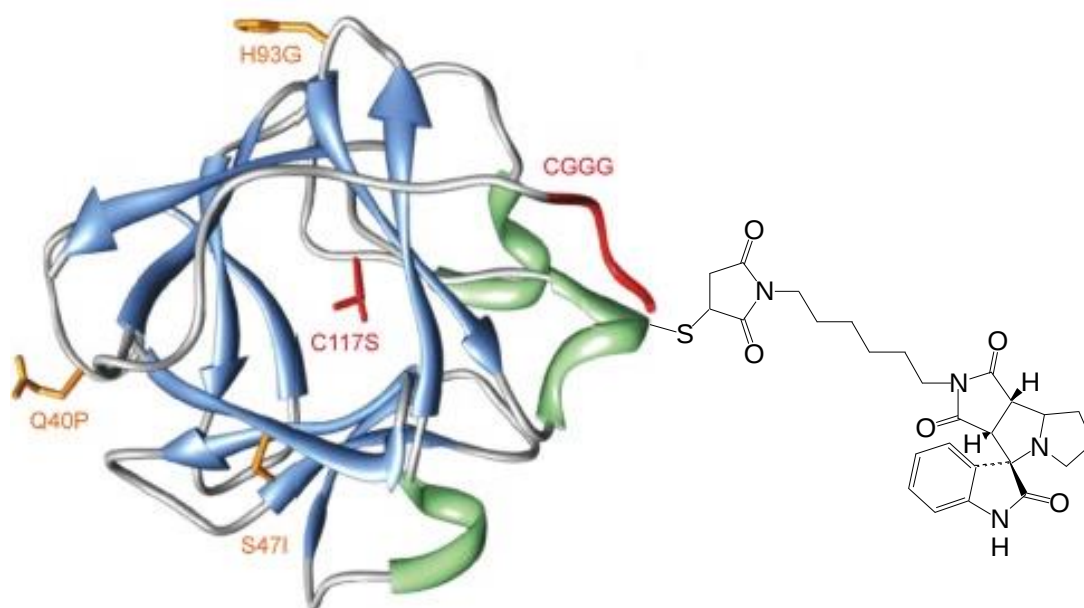


Рис. 4.4 Схема утворення можливого кон'югату між сполукою **2.6(8)** та рецептором фактору росту фібробластів FGFR1_V-генно-інженерного походження

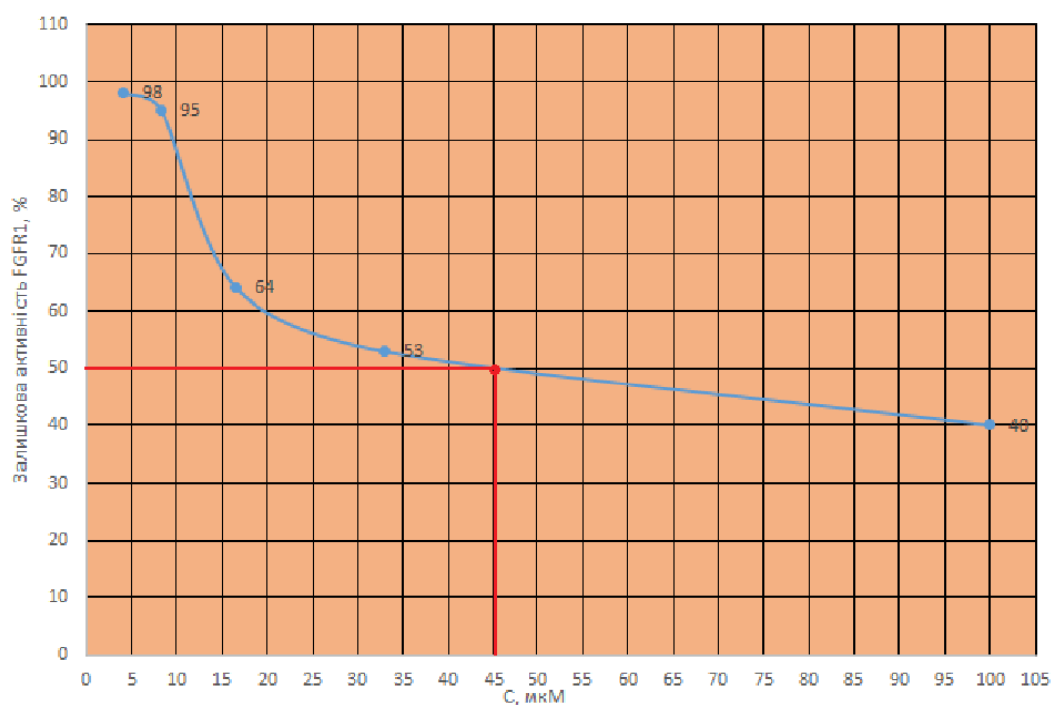


Рис. 4.5. Крива залежності активності протеїнкінази FGFR1 від концентрації **2.6(8)** для визначення IC_{50}

Одержані дані дозволяють зробити висновок, що синтез досліджуваних похідних є перспективним для подальшого пошуку нових біологічно активних речовин із інгібуючою активністю стосовно протеїнкінази СК2 та рецептора фактора росту фібробластів (FGFR1) [138].

4.2. Дослідження протимікробної активності похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу

Вивчення антимікробної активності симетричних похідних гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **2.7(1-37)** проводили на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Донецького Національного медичного університету ім. М. Горького (2013 рік).

У ході проведених досліджень вивчено антибактеріальні властивості 37 синтезованих сполук по відношенню до різних видів мікроорганізмів – грам-позитивних та грамнегативних. Як тест-мікроорганізмів використано наступні референтні штами: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter cloacae* №487, *Klebsiella pneumoniae* №247, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* №235, *Candida albicans* №2501.

З метою виявлення антибактеріальної дії досліджуваних сполук проведено визначення величини мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК) водних розчинів даних сполук у п'яти двократних розведеннях (100 мкг/мл, 50 мкг/мл, 25 мкг/мл, 12,5 мкг/мл, 6,25 мкг/мл). Пригнічуючу дію синтезованих сполук на мікроорганізми визначали за допомогою методу серійних розведень у щільному поживному середовищі – м'ясо-пептонному агарі (МПА) [139, 140]. Розчини досліджуваних сполук асептично вносили до флаконів з приготованим, стерилізованим та охолодженим до 50°C МПА, розливали по чашках Петрі шаром товщиною 3 – 4 мм. Після затвердіння агару на його поверхню наносили краплю приготованих суспензій штамів мікроорганізмів у концентрації 10⁷ КУО/мл.

Для контролю росту робили засів тест-штамів мікроорганізмів на МПА без додавання розчинів досліджуваних сполук. З метою виключення впливу розчинника ДМСО паралельно використовували контрольні чашки МПА з додаванням тільки даного розчинника. Засіви інкубували у термостаті при температурі 37°C протягом 20 годин.

Облік результатів дослідження проводили, розташувавши чашки Петрі на темній поверхні, що не відбиває світло. За інгібуючу дію досліджуваної сполуки приймали повну відсутність росту на чашці Петрі з МПА певного штаму мікроорганізмів.

При культивуванні засівів мікроорганізмів на контрольних чашках Петрі з МПА без додавання розчинів досліджуваних сполук виявлено наявність інтенсивного росту всіх мікроорганізмів. На чашці з контролем розчинника ДМСО також не спостерігалось пригнічення росту культур, що вказує на відсутність впливу даної речовини на хід експерименту.

Досліджувані сполуки виявили антибактеріальну активність стосовно мікроорганізмів: *S. aureus*, *S. epidermidis* та грибів *C. albicans*. З 37 синтезованих сполук найактивнішими виявились похідні гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону): 2.7(6, 9, 10, 17, 18, 23, 24, 26, 30, 31) [96, 141]. Результати дослідження представлені в табл. 4.3.

Таблиця 4.3

Результати дослідження антимікробної активності похідних гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону)

Сполука	МПК, мкг/мл		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>C. albicans</i>
1	2	3	4
2.7(6)	100	50	ріст
2.7(9)	ріст	25	100
2.7(10)	ріст	25	ріст
2.7(17)	100	100	50
2.7(18)	50	25	100
2.7(23)	ріст	100	ріст

Продовж. табл. 4.3

1	2	3	4
2.7(24)	ріст	ріст	100
2.7(26)	6.25	6.25	6.25
2.7(30)	6.25	6.25	ріст
2.7(31)	ріст	100	100
Контроль (ДМСО)	ріст	ріст	ріст
Ciproflaxacin	10	10	n/t
Fluconazole	n/t	n/t	3.125

Сполука 2.7(17) виявила слабо виражені антистафілококові властивості, проте уведення *N*-алільних радикалів до її оксіндольних ядер (сполука 2.7(18)) призвело до підвищення активності більш ніж вдвічі відносно стафілококків. Сполука 2.7(30) – містить незаміщені *NH*-оксіндольні ядра, виявилася активною виключно до стафілококків. Серед досліджених сполук було знайдено найактивнішу сполуку гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-1-бензил-5'-гідроксиметил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон) 2.7(26), яка виявляє майже у два рази вищу активність, ніж препарат порівняння Ciproflaxacin.

Вивчення антимікробної активності несиметричних моно похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону 2.6(1-9) проводили на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології НФаУ під керівництвом д.м.н., проф. Філімонової Н.І.

Мікробіологічний експеримент здійснювали згідно до рекомендацій ВООЗ [142, 143] та МОЗ України [144, 145]. Як тест-мікроорганізми використовували еталонні штами із американської типової колекції культур: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885-653.

Антимікробну активність синтезованих речовин вивчали в умовах *in vitro* методом дифузії в агар у модифікації колодязів.

Дослідження проводили у два етапи. На першому етапі вивчали антимікробну активність препаратів порівняно із цефалексином та флуконазолом (для культури *Candida albicans*). Наважку кожної речовини (1 мг) розчиняли у 1 мл ДМСО. Із отриманої суспензії відбирали по 0,3 мл та вносили в лунки на чашки Петрі з мікробними культурами. Рівень антимікробної активності речовин реєстрували за діаметром зони затримки росту мікроорганізмів навколо лунки з внесеним препаратом, порівнюючи із контролем.

Другим етапом досліджень було вивчення антимікробної активності препаратів відносно культур *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Candida albicans* ATCC 885-653 методом дворазових серійних розведень в рідкому поживному середовищі [144]. Результати враховували, визначаючи наявність або відсутність росту мікроорганізмів (МПК). Для визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) проводили посів на агар або бульйон з пробірок з МПК та інкубували в термостаті 24-48-72 години.

Досліджено антибактеріальні властивості синтезованих речовин **2.6(1-9)**, проти різних типів мікроорганізмів (грампозитивні та грамнегативні). Майже всі сполуки виявили високу антибактеріальну активність стосовно *S.aureus*. Для сполук **2.6(1, 3)** мінімальна бактерицидна концентрація дорівнює МБК цефалексину. Зони затримки росту стосовно *C.albicans* для всіх досліджуваних сполук перевищували майже у два рази препарат порівняння. Для сполук **2.6(1, 2)** мінімальна фунгіцидна концентрація дорівнює МФК флуконазолу. Результати дослідження антимікробної активності сполук **2.6(1-9)** наведені в таблиці 4.4.

Зроблено порівняльний аналіз протимікробної активності моно похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **2.6(1-9)** з їх симетричними *біс*-аналогами: гексаметилен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **2.7(2, 5, 6, 11, 15, 26, 32, 34, 36)**. Похідні гексаметилен-*N*-малеїнімідоспіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу, в цілому,

Таблиця 4.4

Антимікробна активність похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,3'*H*,5'*H*)-триону 2.6(1-9)

Сполука	Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів, мм				
	Грампозитивні бактерії		Грамнегативні бактерії		Гриби
	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i> МБК	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i> МФК
2.6(1)	25	31 12,5	18	ріст	31 3.125
2.6(2)	24	30 ріст	18	ріст	31 3.125
2.6(3)	27	31 12,5	14	ріст	35 6.25
2.6(4)	25	29 50	16	ріст	24 ріст
2.6(5)	26	29 50	15	ріст	30 ріст
2.6(6)	24	30 50	17	ріст	32 ріст
2.6(7)	26	31 50	15	ріст	35 ріст
2.6(8)	25	27 ріст	20	ріст	25 ріст
2.6(9)	26	27 ріст	21	ріст	28 ріст
Контроль	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст
Cefalexinum	32	32 12,5	35	36	n/t
Fluconazole	n/t	n/t	n/t	n/t	16 3.125
Представлені дані є середніми значеннями результатів трьох кратних визначень антимікробної активності препаратів відносно кожної культури мікроорганізму.					

виявилися значно активнішими за гексаметилен-*N,N'*-біс-похідні спіроіндол-3,3'-піроло[3,4с]піролу [90]. Так відповідні біс-аналоги сполук **2.6(1-5, 8, 9)** виявили незначну антимікробну активність стосовно *Staphylococcus aureus* і були зовсім неактивні по відношенню до *Candida albicans*. Активність сполуки **2.6(7)** виявилась на рівні активності відповідного гексаметилен-*N,N'*-

біс-похідного 2.7(32). Проте, МБК щодо *Staphylococcus aureus* і МФК сполуки 2.6(6) виявилась нижче за попередньо синтезованого відповідного *біс*-похідного 2.7(26). Таким чином, за результатами мікробіологічних випробувань знайдені перспективні для подальшого дослідження наступні речовини: відносно *Staphylococcus aureus* – 2.6(1, 3, 6, 7); відносно *Candida albicans* – 2.6(1-3).

Вивчення антимікробної активності похідних етилен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) 3.4(1-8, 10, 11) проводили на базі Державної установи «Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України». Згідно до рекомендацій ВООЗ [139] та МОЗ України [140, 142], як тест-мікроорганізми використовували еталонні штами із типової колекції культур: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653.

Антимікробну активність синтезованих речовин вивчали в умовах *in vitro* методом дифузії в агар у модифікації колодязів.

Приготування суспензії мікроорганізмів проводили на приборі Densi-La-Meter (виробництво PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм) згідно з інструкцією № 163-2006 “Стандартизація приготування мікробних суспензій” [146]. Синхронізацію культур проводили при температурі 4°C. Мікробна навантаження складала 10⁷ мікробних клітин на 1 мл середовища та встановлювалась за стандартом McFarland. Для дослідів брали 18-24 годинну культуру мікроорганізмів. Для дослідження використовували агар Мюллера-Хінтона, а для *Candida albicans* агар Сабуро-декстрозний «Himedia Laboratores Pvt. Ltd. India».

Дослідження проводили на двох шарах щільного поживного середовища. В лунки, у чашках Петрі, поміщали досліджувані речовини з урахуванням їх об'єму (0,25 – 0,3 мл). Чашки підсушували 30-40 хвилин при

кімнатній температурі та видержували в термостаті 18 – 24 години при температурі 37⁰ С.

Рівень антимікробної активності речовин реєстрували за діаметром зони затримки росту мікроорганізмів навколо лунки з внесеним препаратом, у порівнянні з контролем.

Результати дослідження антибактеріальних властивостей похідних етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **3.4(1-8, 10, 11)** проти різних типів мікроорганізмів (грампозитивні та грамнегативні) і грибів *Candida albicans* наведено у таблиці 4.5.

Таблиця 4.5

Антимікробна активність похідних етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **3.4(1-8,10,11)**

Сполука	Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів, мм					
	Грампозитивні бактерії		Грамнегативні бактерії			Гриби
	<i>S.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>C.albicans</i>
3.4(1)	16	20	20	22	19	23
3.4(2)	16	20	20	21	19	23
3.4(3)	19	21	19	22	18	22
3.4(4)	20	20	18	22	17	23
3.4(5)	16	21	17	22	16	22
3.4(6)	19	19	20	22	18	23
3.4(7)	16	20	18	22	17	22
3.4(8)	15	20	18	22	17	22
3.4(10)	17	20	19	21	18	23
3.4(11)	15	21	19	22	18	22
Контроль	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст
Synthomycine	14	17	17	17	17	0
Metronidazole	14	16	14	0	0	14
Представлені дані є середніми значеннями результатів трьох кратних визначень антимікробної активності препаратів відносно кожної культури мікроорганізму.						

Як видно з наведених даних, похідні етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **3.4(1-8, 10, 11)**

виявили більш широкий спектр антимікробної активності у порівнянні з гексаметилен-*N,N'*-*bis*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6' (1*H*,3*H*,5*H*)-тріонами. Усі мікроорганізми виявились чутливими до досліджуваних сполук **3.4**(1-8, 10, 11). Так, зони затримки росту *Proteus vulgaris* були у середньому для всіх сполук на 1 мм більшими, ніж препарату порівняння *Synthomycine*. Зони затримки росту *Escherichia coli* у середньому виявились на 2 мм, а у *Pseudomonas aeruginosa* на 5 мм більшими для досліджуваних сполук, ніж у препарату порівняння. Стосовно грампозитивних бактерій сполуки **3.4**(1-8, 10, 11) також виявили високу активність (зони затримки росту *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* виявились у середньому на 3 мм більшими, ніж у препарату порівняння). Але найбільша активність була виявлена стосовно грибів *Candida albicans*. Зони затримки росту грибів виявились у середньому на 7 мм більшими, ніж для препарату порівняння *Metronidazole*. Таким чином, досліджувальні сполуки виявились, у цілому, більш активними ніж препарати порівняння *Synthomycine* і *Metronidazole* [147]. За даними мікробіологічного скринінгу найбільш активними виявились сполуки: етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1*H*,5*H*)-тріон) **3.4**(1) та етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1*H*,5*H*)-тріон) **3.4**(2), які можуть бути обрані для подальшого фармакологічного вивчення [148].

4.3 Дослідження антиоксидантної та протизапальної активності похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу

Дослідження антиоксидантної та протизапальної активності синтезованих сполук проводили на кафедрі біологічної хімії НФаУ під керівництвом канд. біол. наук, доцента Кравченко Г. Б.

Відомо, що ядро спіроіндол-3,3'-піролу складає основу багатьох природних алкалоїдів з вираженою біологічною активністю, зокрема і

протизапальною [62, 63, 70]. Так вирішено було дослідити ряд синтезованих похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **2.6**(5, 8); **2.7**(15, 26); **2.8**; **3.4**(2); **3.6**(1); **3.13**, які мають схожу за своїм спіропіролооксіндольним ядром структуру з вище згаданими алкалоїдами.

Дослідження антиоксидантних властивостей синтезованих сполук проводили в умовах *in vitro* на моделі спонтанного перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в гомогенаті печінки [149,150]. В пробірки вносили 2 мл гомогенату та 0,1 мл суспензії досліджуваних сполук з концентрацією 50 або 100 мкмоль. Пробірки інкубували протягом 15 хвилин. Потім додавали 1 мл 30% розчину тетраклорметану і центрифугували; відбирали 2 мл супернанту та додавали 2 мл 0,8% розчину тіобарбітурової кислоти (ТБК). Проби кип'ятили протягом 15 хвилин, охолоджували та фотометрували при довжині хвилі 532 нм. Паралельно готували інтактну пробірку та контрольну пробу. За екстинцією розраховували вміст ТБК-реактантів в пробі за формулою:

$$C = A/\varepsilon \cdot 1 \cdot n,$$

де *A* – екстинція проби; *ε* – 0,156 (коефіцієнт перерахунку молярності ТБК-реактантів); *n* – вміст тканини в пробі, г.

Сполуки **2.6**(5), **2.8**, **3.6**(1) виявили найбільш потужні антиоксидантні властивості і були відібрані для подальшого вивчення протизапальної (антиексудативної) активності на моделі гострого асептичного запалення задньої кінцівки (карагенинового набряку) [151, 152]. Референс-препаратом обрано індометацин (“Софарма”, Болгарія), який вводили в дозі 5,25 мг/кг. Протизапальну (антиексудативну) активність вивчали в дозах 5 мг/кг, 7 мг/кг. Досліджувані сполуки та референс-препарат вводили внутрішньошлунково за годину до ін'єкції флогогену.

В експерименті використовували білих аутбредних щурів масою 170-200 г, які утримувалися в стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ. Дослідження проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), узгоджених з «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для

експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) та Етичним Кодексом Всесвітньої Медичної асоціації (Гельсінська декларація, 1964). Тварини були розподілені на 8 груп:

1 група – контрольна патологія: для моделювання патології експериментальним тваринам вводили 0,1 мл 1% розчину карагеніну субплантарно. Тваринам контрольної групи внутрішньошлунково вводили дистильовану воду.

2- та 3 групи – тварини, яким субплантарно вводили карагенін (див. групу №1) та за одну годину до введення флогогену щурам внутрішньошлунково вводили сполуку **2.6(8)** в дозах 5 та 7 мг/кг відповідно.

4- та 5 групи – тварини, яким субплантарно вводили карагенін (див. групу №1) та за одну годину до введення флогогену щурам внутрішньошлунково вводили сполуку **3.6(1)** в дозах 5 та 7 мг/кг відповідно.

6- та 7 групи – тварини, яким субплантарно вводили карагенін (див. групу №1) та за одну годину до введення флогогену щурам внутрішньошлунково вводили сполуку **2.8** в дозах 5 та 7 мг/кг відповідно.

8 група – тварини, яким субплантарно вводили карагенін (див. групу №1) та за 1 годину до введення флогогену щурам внутрішньошлунково вводили референс-препарат в дозі 5,25 мг/кг.

Розмір набряку вимірювали через 1, 2, 3, 4, 5 та 24 години після введення карагеніну за допомогою онкометра.

Протизапальну (антиексудативну) активність розраховували за формулою:

$$A = 100\% - [(P_{\text{досл}} / P_{\text{контр}}) \cdot 100], \text{ де}$$

A – протизапальна активність, %;

$P_{\text{контр}}$ – середня різниця в об'ємі набряклої та здорової лапи в контрольній патології;

$P_{\text{досл}}$ - середня різниця в об'ємі набряклої та здорової лапи в дослідній групі.

Експериментальні дані були оброблені методом варіаційної статистики з використанням стандартного пакету програм «Statistica 6.0». Порівняння даних проводили за допомогою критерію ANOVA [153].

На першому етапі досліджень вивчали антиоксидантну активність сполук **2.6(5, 8); 2.7(15, 26); 2.8; 3.4(2); 3.6(1); 3.13** (табл. 4.6). Інтенсивність перебігу процесів перекисного окиснення ліпідів оцінювали по накопиченню сполук, які реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактанти). Зменшення вмісту ТБК-реактантів у пробах свідчило про прояв антиоксидантної активності досліджуваних речовин.

Таблиця 4.6.

Вивчення впливу досліджуваних речовин на вміст ТБК-реактивних продуктів в гомогенаті печінки (ммоль/г тканини, $\bar{x} \pm S_x$, n=5)

Речовина	Концентрація речовини, мкмоль	Вміст ТБК-реактантів в пробах, ммоль/г тканини	Досто-вірність
2.6(5)	50	9,35±0,71	*/**
	100	8,52±0,67	**
2.6(8)	50	8,52±0,59	**
	100	12,32±0,88	*
2.7(15)	50	8,37±0,54	**
	100	10,27±0,92	*
2.7(26)	50	10,80±0,72	*
	100	9,59±0,81	*/**
2.8	50	8,59±0,63	**
	100	8,22±0,45	**
3.4(2)	50	12,56±0,82	*
	100	13,09±0,97	*
3.6(1)	50	8,45±0,47	**
	100	8,29±0,69	**
3.13	50	12,94±0,79	*
	100	13,09±0,84	*
Інтакт	-	8,37±0,37	
Контроль	-	11,03±0,59	*

Примітки:

* – відмінності вірогідні відносно інтакту ($p \leq 0,05$);

** – відмінності вірогідні відносно контролю ($p \leq 0,05$).

Було встановлено, що речовини **3.4(2)** та **3.13** не виявили антиоксидантної активності в концентраціях як 50, так і 100 мкмоль. Речовини **2.6(8)**, **2.7(15)** знижували вміст ТБК-реактантів в концентрації 50 мкмоль. Однак, їх антиоксидантна активність не мала концентраційної залежності, оскільки при внесенні 100 мкмоль речовин **2.6(8)**, **2.7(15)** в пробу достовірного зниження вмісту ТБК-реактантів у порівнянні з контрольним показником не спостерігалось. Речовина **2.7(26)** виявила антиоксидантну активність в концентрації лише 100 мкмоль, при цьому спостерігалось зниження вмісту ТБК-реактантів лише на 13%. У концентрації 50 мкмоль речовина **2.7(26)** достовірної антиоксидантної активності не виявила.

Речовини **2.6(5)**, **2.8**, **3.6(1)** знижували вміст ТБК-реактантів практично до рівня інтактних показників. При цьому спостерігалася концентраційна залежність у прояві антиоксидантної активності, тобто збільшення концентрації досліджуваної речовини в пробі призводило до більш значного зниження вмісту ТБК-реактантів у гомогенаті печінки.

Таким чином, за результатами першого етапу експерименту, для подальшого дослідження протизапальної активності, були відібрані речовини **2.6(5)**, **2.8**, **3.6(1)**, які виявили найвищу антиоксидантну активність.

Виходячи з особливостей структури сполук, які вивчалися було доцільно дослідити потенційні протизапальні (антиексудативні) властивості на моделі карагенінового набряку.

Результати дослідження, наведені в таблицях 4.7 та 4.8, показали що в групі контрольної патології простежується поступове збільшення запалення до 3 години (простагландинова фаза) і зменшення до 24 години досліді.

Сполуки **2.6(5)**, **2.8** в дозах 5 мг/кг та 7 мг/кг впродовж всього експерименту не виявили достатньої протизапальної активності та достовірно не впливали на зменшення розміру набряку в порівнянні з групою контрольної патології. Так, сполука **2.8** виявила помірну притизапальну активність в дозі 5 мг/кг на 4 годину, а в дозі 7 мг/кг починаючи з 3 години, але ця активність була достовірно нижчою за активність, яку продемонстрував індометацин.

Таблиця 4.7

Вплив сполук 2.6(5), 2.8, 3.6(1) на динаміку запалення в порівнянні з індометацином на моделі карагенінового запалення задньої кінцівки у щурів (ΔV ум. од, $M \pm m$, $n=6$)

Час спостереження	Контрольна патологія	2.6(5)		2.8		3.6(1)		Індометацин, 5,25 мг/кг
		5 мг/кг	7 мг/кг	5 мг/кг	7 мг/кг	5 мг/кг	7 мг/кг	
1 год	15,77±0,11	** 15,37±1,85	** 14,37±1,81	** 14,23±1,06	** 14,32±1,75	** 14,70±0,96	* 12,97±1,10	* 10,12±0,71
2 год	31,28±2,21	** 30,87±3,17	*/** 28,78±2,02	** 29,58±1,97	** 26,24±2,11	*/** 25,60±3,55	* 22,01±0,84	* 21,85±2,76
3 год	62,78±7,30	*/** 45,20±2,55	*/** 47,19±4,78	** 56,37±2,49	*/** 47,19±4,67	*/** 29,08±0,65	* 25,91±0,70	* 25,29±4,98
4 год	35,91±1,36	*/** 26,47±2,22	*/** 24,59±2,14	*/** 29,98±1,76	*/** 20,12±3,01	*/** 21,53±1,48	* 16,40±1,10	* 15,89±0,75
5 год	27,67±1,15	*/** 23,36±2,14	*/** 21,47±1,87	** 25,36±1,68	*/** 17,36±1,78	*/** 15,84±0,43	* 12,26±0,65	* 12,20±0,57
24 год	13,79±0,69	** 11,24±0,98	** 10,45±1,23	** 11,21±0,49	*/** 10,33±1,32	*/** 9,68±1,02	* 6,90±0,53	* 6,79±0,42
Середня антиексудативна активність, %	-	15,36	19,97	11,49	26,07	31,86	44,44	48,01

Примітки:

- 1.* - відмінність достовірна по відношенню до контрольної патології ($p \leq 0,05$);
- 2.** - відмінність достовірна по відношенню до індометацину ($p \leq 0,05$);
3. ΔV —різниця між набряком лапою та її вихідним розміром, ум. од.

Що до протизапальної активності сполуки **2.6(5)**, то вона знижувала набряк як в дозі 5 мг/кг, так і в дозі 7 мг/кг з третьої по п'яту годину експерименту порівняно з контрольною патологією, однак в той же час була достовірно менша за активність референс-препарату. Найбільшу активність на всіх фазах запального процесу виявляла сполука **3.6(1)**, як в дозі 5 мг/кг, так і в дозі 7 мг/кг. Однак її вплив на розвиток карагенінового запалення залежав від

Таблиця 4.8

**Антиексудативна активність сполук 2.6(5), 2.8, 3.6(1)
в порівнянні з індометацином на моделі карагенінового
запалення задньої кінцівки у щурів**

Група тварин	2.6(5)		2.8		3.6(1)		Індометацин
Час спостереження	5 мг/кг	7 мг/кг	5 мг/кг	7 мг/кг	5 мг/кг	7 мг/кг	5,25 мг/кг
1 год	2,53	8,87	9,76	9,19	6,78	27,01	35,82
2 год	1,31	7,99	5,43	16,11	18,15	29,63	30,14
3 год	28,00	24,83	10,21	24,83	53,67	58,72	59,71
4 год	26,28	31,52	16,51	43,97	40,04	45,66	55,75
5 год	15,57	22,40	8,34	37,26	42,75	55,69	55,90
24 год	18,49	24,22	18,70	25,09	29,80	49,96	50,76

дози, яку вводили тваринам і більш дієвою виявилася доза 7 мг/кг. Починаючи з першої години досліду, введення сполуки **3.6(1)** за даної дози достовірно знижувало запалення до кінця експерименту порівняно з контрольною патологією. Максимум антиексудативної активності (58,72%) спостерігався на 3 годину у період дії таких медіаторів запалення, як простагландини, що може свідчити про здатність **3.6(1)** пригнічувати активність COX. Однак антиексудативна активність була зафіксована, як на першу годину – 27,01% (фаза біогенних амінів), так і на другу годину експерименту – 29,63% (кінінова фаза). Згодом на 4-ту, 5-ту години та через 24 години протизапальна дія сполуки **3.6(1)** залишалась досить високою (45,66%, 55,69% та 49,96% відповідно) [148].

Протизапальна активність референс-препарату індометацину була зафіксована на всіх етапах досліду. Пік зменшення набряку в 2,4 рази в порівнянні з групою контрольної патології спостерігали на 3-тю годину (антиексудативна активність 59,71%), що відповідає антициклооксигеназній активності препарату. Тоді, як на першу годину розмір набряку під впливом індометацину достовірно зменшувався в 1,5 разів, а на другу годину – в 1,6

разів в порівнянні з контролем, що свідчить про помірний вплив на такі медіатори запалення, як біогенні аміни та кініни.

Таким чином, у ході вивчення протизапальної (антиексудативної) активності сполук **2.6(5)**, **2.8**, **3.6(1)** виявлено, що **2.6(5)**, **2.8**, в дозах 5 та 7 мг/кг виявили помірну протизапальну активність, яка була нижчою в порівнянні з активністю референс-препарату. Однак, сполука **3.6(1)** в дозах як 5, так і 7 мг/кг проявила виражену протизапальну дію, механізм якої ймовірно реалізується через інгібуючий вплив на синтез простагландинів та біогенних амінів. Аналіз отриманих даних показав, що протизапальна активність сполуки **3.6(1)** в дозі 7 мг/кг та індометацину достовірно не відрізняються [106].

Висновки до розділу 4

1. Виявлено потенційні інгібітори кіназ серед синтезованих вперше структур гексаметилен-*N,N'*-біс-похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу за допомогою методу мішень-орієнтованого дизайну *in silico*.

2. Проведено молекулярне моделювання в АТФ зв'язувальні сайти протеїнкіназ попередньо відібраних сполук **2.6(3,8)**; **2.7(1-3, 5-17, 20-32, 34-37)** серед синтезованих несиметричних гексаметилен-*N*-малеїнімідопохідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та гексаметилен-*N,N'*-біс-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу. Виявлено найактивнішу сполуку до СК2: **2.6(3)** та 4 сполуки активних відносно кінази FGFR1: **2.6(3,8)**, **2.7(2,6)**.

3. Виявлено найактивнішу сполуку 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон **2.6(8)** в експерименті *in vitro*, яка проявляє інгібуючі властивості стосовно кінази FGFR1.

4. Досліджено антимікробну активність синтезованих вперше симетричних похідних гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) **2.7(1-37)**, серед яких

знайдено найактивнішу сполуку гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-1-бензил-5'-гідроксиметил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон) **2.7(26)**, яка виявляє майже у два рази вищу активність, ніж препарат порівняння Ciproflaxacin.

5. Вивчено антимікробну активність синтезованих вперше несиметричних моно похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **2.6(1-9)**, серед яких знайдено найактивнішу сполуку 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-5'-метил-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон **2.6(1)**.

6. Досліджено антимікробну активність вперше синтезованих похідних етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **3.4(1-8, 10, 11)**. За даними мікробіологічного скринінгу найбільш активними виявились сполуки: етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон) **3.4(1)** та етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон) **3.4(2)**, які можуть бути обрані для подальшого фармакологічного вивчення.

7. Проведено дослідження антиоксидантної активності різних груп похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу *in vitro*. Відібрано сполуки: 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-5'-бензил-2а',6а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон **2.6(5)**, гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-4'-нітрозо-5'-бензил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон) **2.8**, етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон) **3.6(1)**, які проявили найбільш потужні антиоксидантні властивості і були відібрані для подальшого вивчення протизапальної (антиексудативної) активності.

8. Досліджено потенційні протизапальні властивості сполук **2.6(5)**, **2.8**, **3.6(1)**, які виявили антиоксидантні властивості на моделі карагенінового набряку. Знайдено найактивнішу сполуку етилен-*N,N'*-

біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-тріон) **3.6(1)**, яка проявила виражену протизапальну дію.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Screening and molecular properties of *bis*-derivatives of spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-с]pyrrole] in a search for potential inhibitors of protein kinases / E. I. Syumka, R. G. Redkin, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh, S. M. Yarmoluk. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015. № 6 (41). С. 79–85. (Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

2. Synthesis and antimicrobial activity of *bis*-derivatives of 3а',6а'-dihydro-2'H-spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-с]pyrrole]-2,4',6'(1H,3'H,5'H)-trione / R. G. Redkin, E. I. Syumka, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2017. Vol. 7, № 06. P. 069-078. Available online at <http://www.japsonline.com>. (Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

3. Synthesis and antimicrobial activity of hexamethylene-*N*-maleinimidospiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-с]pyrrole derivatives / Ye. I. Syumka, R. G. Red'kin, L. A. Shemchuk, K. V. Hlebova, N. I. Filimonova. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2017. Т. 15, № 4 (60). С. 56–62. (Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

4. The study of the antimicrobial activity of ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-с]pyrrole-2а',5а'-dihydro-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-trione) derivatives / Ye. I. Syumka, T. P. Osolodchenko, V. P. Chernykh, L. A. Shemchuk. *Вісник фармації*. 2018. № 2 (94). P. 57–62. (Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті).

5. The synthesis of mono- and bis-derivatives of spiro-2-oxindole[3,3']pyrrole and the study of their antioxidant and anti-inflammatory activities / Ye. I. Syumka, H. B. Kravchenko, V. P. Chernykh, L. A. Shemchuk. *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). Р. 5–13. (*Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті*).

6. Редькін Р. Г., Сюмка Є. І., Шемчук Л. А., Черних В. П. 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1'*H*-спіро[індол-3,3'-піроло[3,4-с]піролізидин]-2,2',7'(1*H*,3'*H*,5'*H*)-тріон, який містить малеїнімідний лінкер, проявляє інгібуючі властивості стосовно рецептору фактору росту фібробластів і чинить протимікробну дію: пат. 124687 Україна. № u201707279; заявл. 10.07.2017; опубл. 25.04.2018, бюл. № 8/2018. (*Особистий внесок – участь у патентному пошуку, у плануванні та виконанні експериментальних досліджень, узагальненні результатів, оформлення патенту на корисну модель*).

7. Сюмка Є. І., Кравченко Г. Б., Шемчук Л. А., Черних В. П. Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон), який виявляє протизапальну активність: пат. 130910 Україна. № 201807981; заявл. 18.07.2018; опубл. 26.12.2018, бюл. № 24/2018. (*Особистий внесок – участь в патентному пошуку, проведені експериментальних досліджень та оформленні патенту*).

8. Синтез та мішень-орієнтований пошук лікоподібних молекул, виявлення потенціальних інгібіторів кіназ серед синтезованих вперше алкіліден-*N,N'*-біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Р. Г. Редькін, Є. І. Сюмка, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Львівські хімічні читання: мат: XV наукової конференції*, м. Львів 24-27 травня 2015 р. Львів, 2015. С. 135.

9. Пошук речовин із антистафілококовою активністю серед біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Р. Г. Редькін, Є. І. Сюмка, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Хімія, био- и нанотехнологии, экология и экономика в пищевой и косметической промышленности: мат. III*

Международной научно-практической конференции, г. Харьков 15–16 октября 2015 г. Харків, 2015. С. 33.

10. Синтез, протимікробні та кіназ-інгібуючі властивості алкіліден-*N,N'*-біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*]піролу] / Є. І. Сюмка, Р. Г. Редькін, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Матеріали XII всеукраїнської конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії*, м. Харків 11–13 травня 2016 р. Харків: Ексклюзив, 2016. С. 25.

11. Синтез похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,4'*H*)триону та їх біс-аналогів для пошуку нових антимікробних агентів / Є. І. Сюмка, К. В. Глебова, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*: мат. Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, м. Харків 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 117–118.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та експериментальне вирішення наукової задачі з пошуку нових біологічно активних речовин серед моно- та *біс*-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу, отриманих шляхом використання реакції 1,3-диполярного циклоприєднання з застосуванням різноманітних диполярофілів на основі *біс*-малеїніміду.

1. Вперше систематично досліджено трикомпонентну одно-реакторну конденсацію ізатинів, α -амінокислот та диполярофілів на основі *біс*-малеїніміду та одержано нові ряди несиметричних та симетричних похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу – нові потенційні БАР, які поєднують у своїй структурі два високоактивних фармакофори: ядро спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та малеїнімідний фрагмент.

2. Досліджено особливості перебігу, вплив природи реагентів та розчинників для реакції трикомпонентної конденсації з використанням *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїніміду. Показано, що природа замісників у положенні 1 ізатину не позначається на проходженні цієї взаємодії, в той час як структура α -амінокислот суттєво впливає на її перебіг. Так, при використанні первинних α -амінокислот з арильними та бензильними радикалами цільові продукти утворювались з високими виходами за 30 - 60 хвилин, тоді як з первинними α -амінокислотами з алкільними радикалами та з вторинними L-проліном та саркозином реакція тривала 5 - 8 годин.

3. Експериментально підібрана оптимальна система розчинників для проведення трикомпонентної конденсації ізатинів, α -амінокислот та *біс*-малеїнімідів: встановлено, що використання суміші *i*-PrOH-H₂O у співвідношенні 3:1 дозволяє одержати похідні спіро-2-оксіндол[3,3']піролу з високими виходами та чистотою.

4. Одержано нові ряди спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролів шляхом використання в реакції 1,3-диполярного циклоприєднання у якості диполярофілів *N,N'*-етилен-*біс*-малеїніміду, *N,N'*-*біс*-малеїнімідоксаліламіну та *N,N'*-*m*-фенілен-*біс*-малеїніміду.

5. Досліджено особливості перебігу трикомпонентної взаємодії між ізатином, α -амінокислотами та N,N' -ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміном. Вперше встановлено, що в ході цієї реакції додатково відбувається замикання імідного циклу з утворенням етилен- N,N' -біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріонів. Показано, що основний шлях цієї взаємодії передбачає циклізацію в імідний цикл на стадії утворення адукту.

6. Проведено хімічну модифікацію одержаних моно- та біс-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу: синтезовано нові функціоналізовані нітрозо-похідні, проведено реакцію алкілювання та досліджено перебіг реакції ацилювання. Показано, що ацилювання відбувається одразу за двома положеннями: по вторинній аміногрупі пірольного та індольного фрагментів, в той час як алкілювання перебігало по індольному фрагменту.

7. Серед синтезованих сполук обрано «сполуки-лідери» з вираженою інгібуючою активністю по відношенню до кінази FGFR1 (рецептора фактора росту фібробластів) (1'-(гексаметилен- N -малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон); антимікробною дією (гекса-метилен- N,N' -біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-1-бензил-5'-гідрокси-метил-2а', 5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон, 1'-(гексаметилен- N -малеїнімідо)-5'-метил-2а', 5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон, етилен- N,N' -біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон), етилен- N,N' -біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6' (1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон)) та протизапальною активністю (етилен- N,N' -біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ball-Jones R. B., Badillo J. J., Franz A. K. Strategies for the enantioselective synthesis of spirooxindoles. *Org. & Biomol. Chem.* 2012. № 10. P. 5165–5181.
2. Зефирова О. Н., Зефиров Н. С. Методологические основы создания лекарственных препаратов. *Вестн. Моск. Ун-та.* 2000. № 2. С. 103–108.
3. Joslyn A. F., Luchowski E., Triggle D. J. Dimeric 1,4-dihydropyridines as calcium channel antagonists. *J. Med. Chem.* 1988. № 31. P. 1489–1492.
4. Gao M., Nettles R. E., Belema M. Chemical genetics strategy identifies an HCV NS5A inhibitor with a potent clinical effect. *Nature.* 2010. Vol. 465, № 7294. P. 96–100.
5. Bell T. W. Drugs for hepatitis C: unlocking a new mechanism of action. *Chem. Med.* 2010. Vol. 5, № 10. P. 1663–1665.
6. The Practice of Medicinal Chemistry (Third Edition). Amsterdam: Academic Press is an imprint of Elsevier, 2008. P. 380–414.
7. Himes R. H., Kersey R. N., Heller-Bettinger I. Action of the Vinca Alkaloids Vincristine, Vinblastine, and Desacetyl Vinblastine Amide on Microtubules in Vitro. *Cancer research.* 1976. № 36. P. 3798-3802.
8. Sutow V. W., Chairman M. D., Thurman W. G. Vincristine (leurocristine) sulfate in the treatment of children with metastatic wilms' tumor. *Pediatric Division, Pediatrics.* 1963. № 32. P. 880.
9. Miyake F. Y., Yakushijin K., Horne D. A. Preparation and syntetic applications of 2-halotryptamines: synthesis of elacomine and isoelacomine. *Org. Lett.* 2004. № 6. P. 711-713.
10. Kun Zhao, Ying Zhi, Xinyi Li. Asymmetric synthesis of 3,3'-pyrrolidinyl-dispirooxindoles via a one-pot organocatalytic Mannich deprotection aza-Michael sequence. *J. Name.* 2016. Vol. 52 (11). P. 2249–2252.

11. Kato S., Yoshino T., Shibasaki M. Catalytic Asymmetric Synthesis of Spirooxindoles by a Mannich-Type Reaction of Isothiocyanato Oxindoles. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2012. № 51. P. 7007.
12. Nussbaum F., Danishefsky S. J. A rapid total synthesis of spirotryprostatin B: proof of its relative and absolute stereochemistry. *Angew Chem Int Ed.* 2000. № 29. P. 2175-2178.
13. Finch N., Taylor W. I. Oxidative transformations of indole alkaloids. The preparation of oxindoles from yohimbine; the structures and partial syntheses of mitraphylline, rhyncophylline and corynoxine. *J Am Chem Soc.* 1962. № 84. P. 1318-1320.
14. Yu P., Cook J. M. Diastereospecific synthesis of ketooxindoles. Potential intermediates for the synthesis of alstonisine as well as for Voachalotine related oxindole alkaloids. *Tetrahedron Lett.* 1997. № 38. P. 8799-8802.
15. Kitajima, M., Takayama, H. Monoterpenoid Bisindole Alkaloids. *The Alkaloids: Chemistry and Biology.* 2016. P. 259-310. doi:10.1016/bs.alkal.2015.09.001
16. Somei M., Noguchi K., Yamagami R. Preparation and a novel rearrangement reaction of 1,2,3,4-tetrahydro-9-hydroxy- β -carboline, and their applications for the total synthesis of ($\pm$)-coerulescine. *Heterocycl.* 2000. № 53. P. 7-10.
17. Kamisaki H., Nanjo T., Tsukano C. Domino Pd-catalyzed heck cyclization and bismuth-catalyzed hydroamination: formal synthesis of elacomine and isoelacomine. *Chem. Eur. J.* 2011. № 17. P. 626-633.
18. Kamisaki H., Yasui Y., Takemoto Y. Pd-catalyzed intramolecular amidation of 2-(buta-1,3-dienyl)phenylcarbamoyl chloride: a concise synthesis of spiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]. *Tetrahedron Lett.* 2009. № 50. P. 2589-2592.
19. Serov A. B., Kartsev V. G., Aleksandrov Yu. A. 1,3-Dipolar cycloaddition reaction of heteroaromatic N-ylides with 3-[(E)-2-aryl(heteryl)-2-oxoethylidene]indolin-2-ones. *Russ Chem Bull.* 2005. № 54. P. 2432-2436.

20. Yu S., Qin D., Shangary S. Potent and orally active small-molecule inhibitors of the MDM2-p53 interaction. *J. Med Chem.* 2009. № 52. P. 7970-7973.
21. Ding K., Lu Y., Nikolovska-Coleska Z. P. Structure-based design of spiro-oxindoles as potent, specific small-molecule inhibitors of the MDM2-p53 interaction. *J. Med Chem.* 2006. № 49. P. 3432-3435.
22. Koorathota Suman, Mala Ramanjaneyulu, Sathiah Thennarasu. Diastereoselective tandem oxidation/Michael/aldol reaction: unprecedented formation of dispirocyclopentanebisoxindoles and dispiro [acenaphthylene-1,1'-cyclopentane-3',1''-acenaphthylene]-2,2''diones. *Org. Biomol. Chem.* 2017. № 15. P. 1961–1964.
23. Koorathota Suman, Sathiah Thennarasu. Base Catalysed Domino and Self-domino Michael-Aldol Reactions: One-pot Synthesis of Dispirocyclopentanebisoxindoles Containing Multiple Chiral Stereocenters. *The Royal Society of Chemistry. View Article Online.* 2015. № 23/02/. P. 1-14.
24. Tan B., Candeias N. R., Barbas C. F. Construction of bispirooxindoles containing three quaternary stereocentres in a cascade using a single multifunctional organocatalyst. *Nat. Chem.* 2011. № 3. P. 473-477.
25. Base-catalyzed one-pot synthesis of dispiro-1,3-dioxolane bisoxindoles from N-methylisatin and methyl propiolate / S. Y. Kim et al. *Tetrahedron Lett.* 2017. Vol. 58, № 10. P. 914–918.
26. Lei Wang, Yan Zhang, Hua-You Hu. Photoreactions of 1-Acetylisatin with Alkynes: Regioselectivity in Oxetene Formation and Easy Access to 3-Alkylidenebisoxindoles and Dispiro[oxindole[3,2']furan[3',3'']oxindole]s. *J. Org. Chem.* 2005. Vol. 70, № 10. P. 3850-3858.
27. Shanthi G., Perumal P. T. An InCl₃ catalyzed facile one-pot synthesis of novel dispiro [cyclopent-3'-ene] bisoxindoles. *Tetrahedron Lett.* 2008. № 49. P. 7139-7242.
28. Jarrahpour A., Khalili D. Synthesis of some mono- and bis-spiro-β-lactams of benzylisatin. *Tetrahedron Letters.* 2007. № 48(40). P. 7140-7143.

29. Azizian J., Sarrafi Y., Mehrdad M. Synthesis of some new 1-methyl-3', 3'-dichlorospiro[indol-3, 4'-azetidine]-2(3*H*), 2'-diones and bis[1-methyl-3', 3'-dichlorospiro(indole-3, 4' -azetidine)-2(3*H*),2'-diones]. *Org. Chem. Incl. Med. Chem.* 2000. Vol. 39B, № 04. P. 304.
30. Grigg R., Basanagoudar L. D., Kennedy D. A. X=Y-ZH systems as potential 1,3-dipoles. Cycloadditions of thiominoethers and thiomino carbonates. *Tetrahedron Lett.* 1982. № 23. P. 2803-2806.
31. Fejes I., Nyerges M., Szollosy A. 2-Oxoindolin-3-ylidene derivatives as 2- π components in 1,3-dipolar cycloadditions of azomethine ylides. *Tetrahedron.* 2001. Vol. 57. P. 1129-1137.
32. Kurbatov S. V., ZarubaeV V. V., Karpinskaya L. A. Synthesis and antiviral activity of bis-spirocyclic derivatives of rhodanine. *Russian Chemical Bulletin, International Edition.* 2014. Vol. 63, № 5. P. 1130-1136.
33. Lashgari N., Ziarani G. M. Synthesis of heterocyclic compounds based on isatin through 1,3-dipolar cycloaddition reactions. *ARKIVOC.* 2012. Vol. I. P. 277-320.
34. Wu G., Ouyang L., Liu J. Synthesis of novel spirooxindolopyrrolidines, pyrrolizidines and pyrrolothiazoles via a preliminary antimicrobial evaluation. *Mol. Divers.* 2013. Vol. 17. P. 271-283.
35. Kanagaraju G., Thangamani A. Design and synthesis of spiro derivatives containing a thiophene ring and evaluation of their anti-microbial activity. *Orient J Chem.* 2014. Vol. 30. P. 1619-1630.
36. Rehn S., Bergman J., Stainsland B. The three-component reaction between isatin, α -amino acids, and dipolarophiles. *Eur J Org Chem.* 2004. Vol. 2. P. 413-418.
37. Azizian J., Asadi A., Jadidi Kh. One-pot highly diastereoselective synthesis of new 2-substituted 8-(spiro-3'-indolino-2'-one)-pyrrolo[3,4-a]-pyrrolizine-1,3-diones mediated by azomethine ylide induced by microwave irradiation. *Synth Commun.* 2001. Vol. 31. P. 2727-2733.

38. Girgis A. S., Stawinski J., Fara H. Synthesis and QSAR study of novel cytotoxic spiro[3H-indole-3,2'(1'H)-pyrrolo[3,4-c]pyrrole]-2,3',5'(1H,2'H,4'H)-triones. *Eur. J. Med. Chem.* 2012. Vol. 47. P. 312-322.

39. Matloubi Moghaddam F., Kiamehr M., Reza Khodabakhshi M. One-Pot Synthesis of Dispiro[oxindole-3,3'-pyrrolidines] by Three-Component [3+2] Cycloadditions of in situ-Generated Azomethine Ylides with 3-Benzylidene-2,3-dihydro-1H-indol-2-ones. *Helvetica Chimica Acta*. 2013. № 96(11). P. 2103–2114.

40. Lakshmi N. V., Thirumurugan P., Jayakumar C. An Easy Access to Novel Spiro-Fused Pyrrolo Benzo[b]thiophene 1,1-Dioxide Derivatives via 1,3-Dipolar Cycloaddition Using Benzo[b]thiophene 1,1-Dioxide. *Synlett*. 2010. № 6. P. 955–961.

41. Jayashankaran J., Manian R. D., Raghunathan R. A facile synthesis of novel dispiroheterocycles through solvent-free microwave-assisted [3+2] cycloaddition of azomethine ylides. *Tetrahedron Lett.* 2004. № 45 (39). P. 7303-7305.

42. Kumar R. S., Rajesh S. M., Perumal S. Novel three-component domino reactions of ketones, isatin and amino acids: Synthesis and discovery of antimycobacterial activity of highly functionalised novel dispiropyrrolidines. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010. № 45 (1). P. 411–422.

43. Rajesh R., Raghunathan R. Regio- and stereoselective synthesis of novel tetraspiro-bispyrrolidine and bisoxindolopyrrolidine derivatives through 1,3-dipolar cycloaddition reaction. *Tetrahedron Lett.* 2010. Vol. 51, № 44. P. 5845-5848.

44. Bharitkar Y. P. Synthesis of Bis-pyrrolizidine-Fused Dispiro-oxindole Analogues of Curcumin via One-Pot Azomethine Ylide Cycloaddition: Experimental and Computational Approach toward Regio- and Diastereoselection. *Organic Letters*. 2015. doi: 10.1021/acs.orglett.5b02085

45. Prabal Banerjee, Ashok Kumar Pandey. Synthesis of functionalized dispiro-oxindoles through azomethine ylide dimerization and mechanistic studies

to explain the diastereoselectivity. *The Royal Society of Chemistry RSC Advances RSC Adv.* 2014. № 4. P. 33236–33244.

46. Xia, P.-J., Sun, Y.-H., Xiao, J.-A Regioselectivity-Tunable Self-1,3-Dipolar [3+3] Cyclizations of Azomethine Ylides To Assemble Dispirooxindole-piperazines. *The Journal of Organic Chemistry.* 2015. Vol. 80 (22). P. 11573-11579.

47. Швец А. А., Курбатов С. В. Синтез бис- β,β' -спиропирролидин-оксиндолов, содержащих роданиновый фрагмент. *Химия гетероциклических соединений.* 2012. № 5. С. 859–866.

48. Bindra J. S. Chapter 2 oxindole alkaloid. *Alkaloids: Chem Physiol.* 1973. Vol. 14. P. 83-121.

49. Schun Y., Cordell G. A. 14β -Hydroxygelsedine, a new oxindole alkaloid from *Gelsemium sempervirens*. *J Nat Prod.* 1985. Vol. 48. P. 788-791.

50. Kitajima M. Chemical studies on monoterpenoid indole alkaloids from medicinal plant resources *Gelsemium* and *Ophiorrhiza*. *J Nat Med.* 2007. Vol. 61. P. 14-23.

51. Муравьёва Д. А. Тропические и субтропические лекарственные растения. М. : Медицина, 1983. С. 336.

52. Zhizhen Zhang, Ping Wang, Shiyu Li. Steroids, Alkaloids, and Coumarins from *Gelsemium sempervirens*. *Planta Med.* 2008. Vol. 74. P. 1818-1822.

53. Beckstrom-Sternberg S. M., Duke J. A., Wain K. K. The Ethnobotany Database Beltsville, MD: Genome Informatics Group, National Agricultural Library. U.S., Department of Agriculture; 1994. URL: <http://probe.nalusda.gov:8300/cgi-bin/browse/ethnobotdb>. (date of access: 02.04.2019).

54. James M. N. G., Williams G. J. B. The molecular and crystal structure of an oxindole alkaloid (6-Hydroxy-2'-(2-methylpropyl)-3,3'-spirotetrahydropyrrolidino-oxindole). *Can J Chem.* 1972. Vol. 50. P. 2407-2412.

55. Pellegrini C., Weher M., Borschberg H-J. Total synthesis of (+)-elacomine and (-)-isoelacomine, two hitherto unnamed oxindole alkaloids from *Elueagnus cornrnutata*. *Helv Chim Acta*. 1996. Vol. 79. P. 151-168.
56. Jossang A., Jossang P., Hadi H. A. Horsfiline, an oxindole alkaloid from *Horsfieldia superba*. *J Org Chem*. 1991. Vol. 56. P. 6527-6530.
57. Anderton N., Cockrum P. A., Edgar J. A. Oxindoles from *Phalaris coerulescens*. *Phytochem*. 1998. Vol. 48. P. 437-439.
58. Kang T. H., Matsumoto K., Tohda M. Pteropodine and isopteropodine positively modulate the function of rat muscarinic M₁ and 5-HT₂ receptors expressed in *Xenopus* oocyte. *Eur J Pharmacol*. 2002. Vol. 444. P. 39-45.
59. Cui C. B., Kakeya H., Osada H. Novel mammalian cell cycle inhibitors, spirotryprostatins a and b, produced by *Aspergillus fumigatus*, which inhibit mammalian cell cycle at G₂/M phase. *Tetrahedron*. 1996. Vol. 52. P. 12651-12666.
60. Birch A. J., Wright J. J. The brevianamides: a new class of fungal alkaloid. *J Chem Soc Chem Commun*. 1969. Vol. 12. P. 644-645.
61. Fuhang Song, Xinru Liu, Biao Ren. Brevianamides with Antitubercular Potential from a Marine-Derived Isolate of *Aspergillus versicolor*. *Organic letters*. 2012. Vol. 14, № 18. P. 4770-4773.
62. Jing Qu, Lei Fang, Xiao-Dong Ren. Bisindole Alkaloids with Neural Anti-inflammatory Activity from *Gelsemium elegans*. *Journal of Natural Products*. 2013. Vol. 76. P. 2203-2209.
63. Wei Zhang, Xiao-Jun Huang, Sheng-Yuan Zhang. Geleganidines A–C, Unusual Monoterpenoid Indole Alkaloids from *Gelsemium elegans*. *Natural Products*. 2015. doi: 10.1021/acs.jnatprod.5b00351 *Journal of Natural Products*.
64. Dudley A. C., Shih S. C., Cliffe A. R. Attenuated p53 activation in tumour-associated stromal cells accompanies decreased sensitivity to etoposide and vincristine. *J. Cancer*. 2008. Vol. 99. P. 118-125.

65. Kim S. Y., Roh H. J., Seo D. Y. Base-catalyzed one-pot synthesis of dispiro-1,3-dioxolane bisoxindoles from N-methylisatin and methyl propiolate. *Tetrahedron Letters*. 2017. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.01.055>
66. Yusuke Hirasawa, Tomokazu Shoji, Takashi Arai. Bisleuconothine A, an eburnane–aspidosperma bisindole alkaloid from *Leuconotis griffithii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2010. Vol. 20. P. 2021–2024.
67. Tao Feng, Yan Li, Yuan-Yuan Wang. Cytotoxic Indole Alkaloids from *Melodinus tenuicaudatus*. *J. Nat. Prod.* 2010. Vol. 73 (6). P. 1075–1079.
68. Ya-Ping Liu, Yun-Li Zhao, Tao Feng. Melosuavines A–H, Cytotoxic Bisindole Alkaloid Derivatives from *Melodinus suaveolens*. *Journal of Natural Products*. 2013. Vol. 27, № 76 (12). P. 2322-9.
69. Cai X. H., Li Y., Liu Y. P. Alkaloids from *Melodinus yunnanensis*. *Phytochemistry*. 2012. Vol. 83. P. 116-24.
70. Alfarius E. Nugroho, Yusuke Hirasawa, Nobuo Kawahara. Bisnicalaterine A, a Vobasine-Vobasine Bisindole Alkaloid from *Hunteria zeylanica*. *J. Nat. Prod.* 2009. Vol. 72, № 8. P. 1502–1506.
71. Головки Ю. С., Ивашкевич О. А., Головки А. С. Современные методы поиска новых лекарственных средств. *Вестник БГУ*. 2012. Сер. 2, № 1. С. 7-15.
72. Girija S. Singh, Zelalem Y. Desta. Isatins As Privileged Molecules in Design and Synthesis of SpiroFused Cyclic Frameworks. *Chemical Reviews*. 2012. dx.doi.org/10.1021/cr300135y | Chem. Rev.
73. Pankaj Khanna, Anjali Saxena, Leena Khanna. Synthesis of novel symmetrical and unsymmetrical bis-spiro[indole-indazolyl-thiazolidine]-2,4'-diones. *ARKIVOC*. 2009. № 7. P. 119-125.
74. Ramu P., Augustine Arul Prasad T., Scholastica Mary Vithiyac, S. Arul Antonyd. Synthesis, characterization and biological activity of novel spiroheterocycles from isatin derivatives. *Der Pharma Chemica*. 2014. Vol. 6 (4). P. 30-36.

75. Sachiko Tsukamoto, Hideharu Umaoka. Structurally Unprecedented Prenylated Indole Alkaloid, and Notoamides P-R from a Marine-Derived Fungus, *Aspergillus* sp. *J. Nat. Prod.* 2010. № 73. P. 1438–1440.
76. Eduardo V. Mercado-Marin, Pablo Garcia-Reynaga¹, Stelamar Romminger. Total synthesis and isolation of citrinalin and cyclopiamine congeners. *Nature*. 2014. Vol. 509. P. 318-324.
77. Pankaj Saraswata, Govindasamy Jeyabalana, Mohd. Zaheen Hassana. Review of synthesis and various biological activities of spiroheterocyclic compounds comprising oxindole and pyrrolidine moities. *Synthetic communications reviews*. 2016. Vol. 46, № 20. P. 1643-1664.
78. Zhiguo Bian, Christopher C. Marvin, Stephen F. Martin. Enantioselective Total Synthesis of (–)-Citrinadin A and Revision of Its Stereochemical Structure. *J. American Chemical Society*. 2013. Vol. 135, № 30. P. 10886-10889.
79. Ling-Mei Kong, Tao Feng, Yuan-Yuan Wang. Bisleuconothine A, a bisindole alkaloid, inhibits colorectal cancer cell in vitro and in vivo targeting Wnt signaling. *Oncotarget*. 2016. Vol. 7, № 9. P. 10203-10214.
80. Na Ye, Haiying Chen, Eric A. Wold. Therapeutic Potential of Spirooxindoles as Antiviral Agents. *ACS Infectious Diseases*. 2016. doi: 10.1021/acsinfecdis.6b00041
81. Шульга С. І., Сімурова Н. В., Попова І. В. Фармацевтична хімія. Конспект лекцій для студентів за напрямом підготовки 6.051401 «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання. К. : НУХТ, 2013. С. 10.
82. Santanu Hati, Sayantan Tripathy, Pratip Kumar Dutta¹. Spiro [pyrrolidine-3,3'-oxindole] as potent anti-breast cancer compounds: Their design, synthesis, biological evaluation and cellular target identification. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. P. 32213. doi: 10.1038/srep32213
83. Riham F. G., Nasser S. M. I., Adel S. Girgis. Design, synthesis and QSAR studies of dispiroindole derivatives as new antiproliferative agents.

European Journal of Medicinal Chemistry. 2013. № 68. P. 339-351.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.07.035>

84. Moudi M., Go R., Yien C. Y., Nazre M. Vinca alkaloids. *International Journal of Preventive Medicine*. 2013. Vol. 4 (11). P. 1231-1235.

85. Budovska M., Kutschy P., Petrovaj J. Synthesis of spiroindoline phytoalexin (S)-spirobrassinin and its unnatural (R)-(p)-enantiomer. *Tetrahedron*. 2013. Vol. 69. P. 1092-1104.

86. Pere Gines, Florence Wong, Hugh Watson. Effects of Satavaptan, a Selective Vasopressin V2 Receptor Antagonist, on Ascites and Serum Sodium in Cirrhosis with Hyponatremia: A Randomized Trial. *Hepatology*. 2008. Vol. 48, № 1. P. 204-213.

87. Беспалов В. Г., Некрасова В. Б. Изучение и применение лечебно-профилактических препаратов на основе природных биологически активных веществ. СПб. : Эскулап, 2000. С. 468.

88. Левина Р. М. Методы получения химических реактивов и препаратов. М., 1961. 85 с.

89. Synthesis and antimicrobial activity of hexamethylene-*N*-maleinimidospiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole derivatives / Ye. I. Syumka, R. G. Red'kin, L. A. Shemchuk [та ін.]. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2017. Т. 15, № 4 (60). С. 56–62. doi: 10.24959/orphcj.17.929

90. Синтез похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,4'*H*)триону та їх біс-аналогів для пошуку нових антимікробних агентів / Є. І. Сюмека, К. В. Глебова, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конф. з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д. фарм. н., проф. О. М. Гайдукевича, м. Харків 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 117-118.

91. Pavlovska T. L., Redkin R. G., Lipson V. V. Molecular diversity of spirooxindoles. Synthesis and biological activity. *Mol Divers.* 2016. № 20 (1). P. 299-344.
92. Contreras J. M., Bourguignon J. J. Identical and non-identical twin drugs. In *The Practice of Medicinal Chemistry*. London : Academic Press, 2003. P. 251-273.
93. Mathias Alterman, Magnus Björsne, Anna Mühlman. Design and synthesis of new potent C 2 –symmetric HIV-1 protease inhibitors. Use of the 1 -mannaric acid as a peptidomimetic scaffold. *J. Med. Chem.* 1998. Vol. 41, № 20. P. 3782-3792.
94. Ming-Kuan Hu, Li-Ju Wu, George Hsiao, Mao-Hsiung Yen. Homodimeric tacrine congeners as acetylcholinesterase inhibitors. *J. Med. Chem.* 2002. Vol. 45. P. 2277-2282.
95. Terri A. Fairley, Richard R. Tidwell, Isaac Donkor. Structure, DNA minor groove binding, and base pair specificity of alkyl- and aryl-linked bis(amidinobenzimidazoles) and bis(amidinoindoles). *J. Med. Chem.* 1993. Vol. 36, № 12. P. 1746-1753.
96. Synthesis and antimicrobial activity of *bis*-derivatives of 3a',6a'-dihydro-2'H-spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-c]pyrrole]-2,4',6'(1H,3'H,5'H)-trione / R. G. Redkin, E. I. Syumka, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2017. Vol. 7, № 06. P. 069-078. Available online at <http://www.japsonline.com> doi: 10.7324/JAPS.2017.70610
97. Синтез новых бис-производных 3a',6a'-дигидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,4',6'(1H,3'H,5'H)-триона / Е. И. Сюмека, Р. Г. Редькин, Г. В. Григорив [та ін.]. *Хімічні проблеми сьогодення*. Матеріали восьмої Всеукраїнської наукової конференції студ., аспірантів і молодих учених з міжнародною участю, м. Донецьк, 17-20 березня 2014 р. Донецьк, 2014. С. 101.

98. Synthesis of spiro[pyrrolidine-3,2'-oxindole] / G. V. Grygoriv, R. G. Redkin, E. I. Syumka et al. *Actual questions of development of new drugs*. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конф. молодих вчених та студ., м. Харків, 22-23 квітня 2014 р. Харків, 2014. С. 6.
99. Синтез нових *біс*-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*]піролу] / Є. І. Сюмека, Р. Г. Редькін, Г. В. Григорів [та ін.]. *Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій*: матеріали Укр. наук.-практ. конф., присвяченої 100-річчю з дня народження д. хім. Н., проф. П. О. Петюніна, Харків, 24–25 квітня 2014 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2014. С. 72.
100. Григорів Г. В, Редькін Р. Г., Сюмека Є. І. Синтез похідних *біс*-спіро[піролідін-3,2'-оксіндолу]. *Матеріали XII всеукр. конф. молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії*, м. Дніпропетровськ, 19-21 травня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 89.
101. Синтез алкіліден-*N,N'*-*біс*-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*]піролу] / Є. І. Сюмека, Р. Г. Редькін, В. П. Черних, Л. А. Шемчук. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13–16 вересня 2016 р. Харків: Вид-во НФаУ, 2016. Т. 1. С. 53.
102. Фармацевтична енциклопедія (кармустин) / гол. ред. Ради та автор передмови В. П. Черних. Х. : МОРІОН, 2010. 1000 с.
103. Компендиум. Лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко – Киев, МОРИОН, 2013. С. Л-980 – Л-983.
104. Index Nominum 2000: International Drug Directory / Swiss Pharmaceutical Society. Geneva, 2000. P. 739.
105. N δ -нитрозо-N δ -[(2-хлорэтил)карбамоил]-L-орнитин : пат. 2503657. RU. заявл. 24.08.12 ; опубл. 10.01.14, бюл. № 1.
106. The synthesis of mono- and bis-derivatives of spiro-2-oxindole [3,3']pyrrole and the study of their antioxidant and anti-inflammatory activities /

Ye. I. Syumka, H. B. Kravchenko, V. P. Chernykh, L. A. Shemchuk. *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). P. 5–13. <https://doi.org/10.24959/nphj.18.2217>

107. Girija S. Singh, Zelalem Y. Desta. Isatins As Privileged Molecules in Design and Synthesis of SpiroFused Cyclic Frameworks. *Chem. Rev. Chemical Reviews*. 2012. [dx.doi.org/10.1021/cr300135y](https://doi.org/10.1021/cr300135y)

108. Ming-Kuan Hu, Li-Ju Wu, George Hsiao, Mao-Hsiung Yen. Homodimeric tacrine congeners as acetylcholinesterase inhibitors. *J. Med. Chem.* 2002. Vol. 45, № 11. P. 2277–2282.

109. Michela Rosini M., Bixel G., Marucci G. Structure-activity relationships of methoctramine-related polyamines as muscular nicotinic receptor noncompetitive antagonists. Role of polymethylene chain lengths separating amine functions and of substituents on the terminal nitrogen atoms. *J. Med. Chem.* 2002. Vol. 45, № 9. P. 1860–1878.

110. Фармацевтична хімія : підручник / ред. П. О. Безуглий. Вінниця : Нова Книга, 2008. С. 560.

111. Синтез біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу]3-[2-(3-карбокси-акрилоїламіно)-етилкарбомойл]-акрилової кислоти / Є. І. Сюзьма, Р. Г. Редькін, В. П. Черних, Л. А. Шемчук. *Матеріали XXIV української конференції з органічної хімії*, м. Полтава, 19 – 23 вересня 2016 р. Полтава, 2016. С. 255.

112. Неочікуваний синтез похідних етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,4'*H*)триону) / Є. І. Сюзьма, К. М. Ситнік, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конф. з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д. фарм. н., проф. О. М. Гайдукевича, м. Харків 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 116.

113. Searl N. E. Synthesis of N-aryl-maleimides : United States Patent Number 2,444,536 July 6, 1948.

114. Дослідження трикомпонентної взаємодії між ізатином, α -амінокислотами і N,N' -ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміном та встановлення будови одержаних сполук / Є. І. Сюмека, Л. А. Шемчук, В. П. Черних, Р. Г. Редькін. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2018. Т. 16, № 1 (61). С. 34–41. doi:org/10.24959/ophcj.18.932
115. Дослідження методів синтезу похідних етилен- N,N' -біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-триону) / Є. І. Сюмека, К. М. Ситнік, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Хімічні Каразінські читання. Матеріали X Всеукраїнської наукової конф. студентів та аспірантів, м. Харків 23–25 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 127–128.*
116. Павловская Т. Л., Редькин Р. Г., Яременко Ф. Г. Синтез и химические свойства новых производных 3а',6а'-дигидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло-[3,4-с]пиррол]-2,4',6'(1H,3'H,5'H)-триона. *Химия гетероциклических соединений*. 2013. № 6. С. 945–960.
117. Synthesis and chemical transformations of *m*-phenylene-*N*-maleimide derivatives of spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole / Ye. I. Syumka, K. M. Sytnik, D. V. Levashov, L. A. Shemchuk. *Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov: book of abstracts 8th International Conference, Kharkov, 12–16 november 2018 p. Kharkiv: Ekskluziv Publ., 2018. P. 145.*
118. Welsch M. E., Snyder S. A., Stockwell B. R. Privileged Scaffolds for Library Design and Drug Discovery. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2001. Vol. 14. P. 347–361.
119. Волинець Г. П., Голуб А. Г., Бджола В. Г. Роль протеїнкінази СК2 у процесах онкогенезу, регуляції апоптозу та стресової відповіді клітини. *Ukrainica Bioorganica Acta*. 2007. № 2. С. 25-32.
120. Tan S. L., Zhao J., Bi C. Resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis and impaired IL-17 production in protein kinase C theta-deficient mice. *J. of Immunol*. 2006. Vol. 176, № 5. P. 2872.

121. Golub A. G., Yakovenko O. Y., Prykhod'ko A. O. Evaluation of 4,5,6,7-tetrahalogeno-1H-isoindole-1,3(2H)-diones as inhibitors of human protein kinase CK2. *Mol Cell Biochem. Biochim Biophys Acta*. 2008. Vol. 1784(1). P. 143-149.
122. Takahashi Y., Konji M., Fujishima S. MolSpace: a computer desktop tool for visualization of massive molecular data. *J. Molec. Graph and Modell*. 2003. Vol. 21(5). P. 333-339.
123. Bilsland E. Yeast-based automated high-throughput screens to identify anti-parasitic lead compounds. *Open Biol*. 2013. Vol. 3(2). P. 120-158.
124. Screening and molecular properties of *bis*-derivatives of spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole] in a search for potential inhibitors of protein kinases / E. I. Syumka, R. G. Redkin, L. A. Shemchuk [та ін.]. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015. № 6 (41). С. 79-85.
125. Синтез та мішень-орієнтований пошук лікоподібних молекул, виявлення потенціальних інгібіторів кіназ серед синтезованих вперше алкіліден-*N,N'*-біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*]піролу] / Р. Г. Редькін, Є. І. Сюмка, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Львівські хімічні читання. Матеріали XV наукової конф., м. Львів 24-27 травня 2015 р. Львів, 2015.* С. 135.
126. Calculation of Molecular Properties and Bioactivity Score. <http://www.molinspiration.com>. v2014.11, 06-03-2017
127. Mishra N. K., Kumar M., Raghava G. P. Support vector machine based prediction of glutathione S-transferase proteins. *Protein Pept. Lett*. 2007. Vol. 14 (6). P. 575-580.
128. Gan, H. K., Seruga, B., & Knox, J. J. Sunitinib in solid tumors. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 2009. Vol. 18(6). P. 821–834.
129. Doyon L., Tremblay S., Bourgon L. Selection and characterization of HIV-1 showing reduced susceptibility to the non-peptidic protease inhibitor tipranavir. *Antiviral Re*. 2005. Vol. 68 (1). P. 27–35.

130. Gryshchenko A. A., Bdzhola V. G., Borovikov O. V. Search for FGFR1 inhibitors among oxindole derivatives. *Ukrainica Bioorganica Acta*. 2009. № 2. P. 64–68.
131. Koresawa M., Okabe T. High-throughput screening with quantitation of ATP consumption: a universal non-radioisotope, homogeneous assay for protein kinase. *Assay Drug Dev Technol*. 2004. Vol. 2, № 2. P. 153-160.
132. Synthesis and virtual screening of libraries of 2H-pyrano[2,3-c]pyridines / I. A. Zhuravel' et al. *J. of Org. and Pharmacy Chemistry*. 2005. Vol. 3, № 1. P. 6-11.
133. Yeast-based automated high-throughput screens to identify anti-parasitic lead compounds / E. Bilsland et al. *Open Biol*. 2013. Vol. 3, № 2. P. 120-158.
134. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates / D. F. Veber et al. *J. Med. Chem*. 2002. Vol. 45, № 12. P. 2615-2623.
135. Khan S. A. Virtual Screening of Molecular Properties and Bioactivity Score of Boswellic Acid Derivatives in Search of Potent Anti-Inflammatory Lead Molecule. *Intern. J. of Interdisciplinary and Multidisciplinary Studies*. 2013. Vol. 1, № 1. P. 8-12.
136. Синтез, протимікробні та кіназ-інгібуючі властивості алкіліден-*N,N'*-біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*]піролу] / Є. І. Сюмка, Р. Г. Редькін, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Матеріали XII всеукраїнської конф. молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії*, м. Харків 11–13 травня 2016 р. Харків: Ексклюзив, 2016. С. 25.
137. Hastie C. J., McLauchlan H. J., Cohen P. Assay of protein kinases using radiolabeled ATP: a protocol. *Nature Protocols*. 2006. Vol. 1, № 2. P. 968-971.
138. Пат. 124687 Україна, МПК A61P 31/00, A61K 47/65 (2017.01), A61K 38/18 (2006.01), C40B 80/00, C07D 243/36 (2006.01). 1'-(Гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1'*H*-спіро[індол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин]-

2,2',7'(1*H*,3'*H*,5'*H*)-тріон, який містить малеїнімідний лінкер, проявляє інгібуючі властивості стосовно рецептору фактору росту фібробластів і чинить протимікробну дію / Р. Г. Редькін, Є. І. Сюмка, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. № u201707279; заявл. 10.07.2017; опубл. 25.04.2018, бюл. № 8/2018.

139. Практические аспекты современной клинической микробиологии / Л. З. Скала и др. Тверь : ООО «Из-во «Триада», 2004. 312 с.

140. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» : Наказ МОЗ України № 167. [Чинний від 2007-04-05]. К. : МОЗ України, 2007. 116 с.

141. Редькін Р. Г., Сюмка Є. І., Шемчук Л. А. Пошук речовин із антистафілококовою активністю серед біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол [3,4-с]піролу]. *Хімія, біо- і нанотехнології, екологія і економіка в пищевій і косметическій промисленности*. Матеріали III Междунар. науч.-практ. конф., г. Харьков 15–16 октября 2015 г. Харьков, 2015. С. 33.

142. Balouiri, M. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *J. Pharm Analysis*. 2016. № 6 (2). P. 71–79.

143. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement / J. B. Patel et al. *Document M100-S25*. 2015. № 35 (3).

144. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. рек. / Ю. Л. Волянський та ін. ; МОЗ України ; ДФЦ МОЗ України. К., 2004. 38 с.

145. Державна Фармакопея України / ДП «Науково–експертний фармакопейний центр». 1–е вид. Х. : PIPEГ, 2001. 532 с.

146. American Society for Microbiology. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. American Society for Microbiology. Washington, 2005. P. 236.

147. The study of the antimicrobial activity of ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-2a',5a'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione) derivatives / Ye. I. Syumka, T. P. Osolodchenko, V. P. Chernykh, L. A. Shemchuk. *Вісник фармації*. 2018. № 2 (94). P. 57–62. doi.org/10.24959/nphj.18.2202
148. Пат. 130910 Україна, МПК (2018.01), A61K 31/47 (2006.01), A61P 29/00. Етилен-*N,N'*-бис(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2a',5a'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон), який виявляє протизапальну активність / Є. І. Сюмека, Г. Б. Кравченко, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. № u201807981; заявл. 18.07.2018; опубл. 26.12.2018, бюл. № 24/2018.
149. Биохимия мембран /авт.-сост. Н. М. Орел. Мн. : БГУ, 2010. 28с.
150. Alam Md. N. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2013. Vol. 21. P. 143–152.
151. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / О. В. Стефанова та ін. К. : Авіцена, 2001. 528 с.
152. Kaur S. Anti-inflammatory effect of methanolic extract of *Gmelina arborea* bark and its fractions against carrageenan induced paw oedema in rats. *J. Natural Product Research*. 2017. № 4. P. 1-4.
153. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М. : МедиаСфера, 2006. 312 с.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Screening and molecular properties of *bis*-derivatives of spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole] in a search for potential inhibitors of protein kinases / E. I. Syumka, R. G. Redkin, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh, S. M. Yarmoluk. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015. № 6 (41). С. 79–85. (*Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті*).
2. Synthesis and antimicrobial activity of *bis*-derivatives of 3a',6a'-dihydro-2'H-spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole]-2,4',6'(1H,3'H,5'H)-trione / R. G. Redkin, E. I. Syumka, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2017. Vol. 7, № 06. P. 069-078. Available online at <http://www.japsonline.com>. (*Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті*).
3. Synthesis and antimicrobial activity of hexamethylene-*N*-maleinimidospiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole derivatives / Ye. I. Syumka, R. G. Red'kin, L. A. Shemchuk, K. V. Hlebova, N. I. Filimonova. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2017. Т. 15, № 4 (60). С. 56–62. (*Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті*).
4. Дослідження трикомпонентної взаємодії між ізатином, α -аміно-кислотами і *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміном та встановлення будови одержаних сполук / Є. І. Сюмека, Л. А. Шемчук, В. П. Черних, Р. Г. Редькін. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2018. Т. 16, № 1 (61). С. 34–41. (*Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті*).
5. The study of the antimicrobial activity of ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-2a',5a'-dihydro-2,2',6'(1H,1'H,5'H)

trione) derivatives / Ye. I. Syumka, T. P. Osolodchenko, V. P. Chernykh, L. A. Shemchuk. *Вісник фармації*. 2018. № 2 (94). P. 57–62. (*Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті*).

6. The synthesis of mono- and bis-derivatives of spiro-2-oxindole[3,3']pyrrole and the study of their antioxidant and anti-inflammatory activities / Ye. I. Syumka, H. B. Kravchenko, V. P. Chernykh, L. A. Shemchuk. *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). P. 5–13. (*Особистий внесок - участь в плануванні і проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, написання статті*).

7. Редькін Р. Г., Сюмка Є. І., Шемчук Л. А., Черних В. П. 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1'*H*-спіро[індол-3,3'-піроло [3,4-с]піролізидин]-2,2',7'(1*H*,3'*H*,5'*H*)-трион, який містить малеїнімідний лінкер, проявляє інгібуючі властивості стосовно рецептору фактору росту фібробластів і чинить протимікробну дію: пат. 124687 Україна. № u201707279; заявл. 10.07.2017; опубл. 25.04.2018, бюл. № 8/2018. (*Особистий внесок – участь у патентному пошуку, у плануванні та виконанні експериментальних досліджень, узагальненні результатів, оформлення патенту на корисну модель*).

8. Сюмка Є. І., Кравченко Г. Б., Шемчук Л. А., Черних В. П. Етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*, 1'*H*,5'*H*)-трион), який виявляє протизапальну активність: пат. 130910 Україна. № 201807981; заявл. 18.07.2018; опубл. 26.12.2018, бюл. № 24/2018. (*Особистий внесок – участь в патентному пошуку, проведені експериментальних досліджень та оформленні патенту*).

9. Синтез новых бис-производных 3а',6а'-дигидро-2'*H*-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,4',6'(1*H*,3'*H*,5'*H*)-триона / Е. И. Сюмка, Р. Г. Редькин., Г. В. Григорив, Л. А. Шемчук, В. П. Черных. *Хімічні проблеми сьогодення*: мат. восьмої Всеукраїнської наукової конференції студентів,

аспірантів і молодих учених з міжнародною участю, м. Донецьк, 17-20 березня 2014 р. Донецьк, 2014. С. 101.

10. Synthesis of spiro[pyrrolidine-3,2'-oxindole] / G. V. Grygoriv, R. G. Redkin, E. I. Syumka, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh. *Actual questions of development of new drugs*: мат. Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів, м. Харків, 22-23 квітня 2014 р. Харків, 2014. С. 6.

11. Синтез нових *біс*-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*]піролу] / Є. І. Сюмека, Р. Г. Редькін, Г. В. Григорів, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій*: мат. Української науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження д-ра хім. наук, проф. Павла Олексійовича Петюніна, Харків, 24–25 квітня 2014 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2014. С. 72.

12. Григорів Г. В., Редькін Р. Г., Сюмека Є. І. Синтез похідних *біс*-спіро[піролідін-3,2'-оксіндолу]. *Матеріали XII всеукраїнської конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії*, м. Дніпропетровськ, 19-21 травня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 89.

13. Синтез та мішень-орієнтований пошук лікоподібних молекул, виявлення потенціальних інгібіторів кіназ серед синтезованих вперше алкіліден-*N,N'*-*біс*-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*]піролу] / Р. Г. Редькін, Є. І. Сюмека, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Львівські хімічні читання*: мат: XV наукової конференції, м. Львів 24-27 травня 2015 р. Львів, 2015. С. 135.

14. Пошук речовин із антистафілококовою активністю серед *біс*-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*]піролу] / Р. Г. Редькін, Є. І. Сюмека, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Химия, био- и нанотехнологии, экология и экономика в пищевой и косметической промышленности*: мат. III Международной научно-практической конференции, г. Харьков 15–16 октября 2015 г. Харків, 2015. С. 33.

15. Синтез, протимікробні та кіназ-інгібуючі властивості алкіліден-*N,N'*-біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*]піролу] / Є. І. Сюмка, Р. Г. Редькін, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Матеріали XII всеукраїнської конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії*, м. Харків 11–13 травня 2016 р. Харків: Ексклюзив, 2016. С. 25.

16. Синтез алкіліден-*N,N'*-біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*]піролу] / Є. І. Сюмка, Р. Г. Редькін, В. П. Черних, Л. А. Шемчук. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: мат. VIII Національного з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13–16 вересня 2016 р. Харків: Вид-во НФаУ, 2016. Т. 1. С. 23.

17. Синтез біс-похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-*c*]піролу]3-[2-(3-карбоксиакрилоїламіно)-етилкарбомоїл]-акрилової кислоти / Є. І. Сюмка, Р. Г. Редькін, В. П. Черних, Л. А. Шемчук. *Матеріали XXIV української конференції з органічної хімії*, м. Полтава, 19 – 23 вересня 2016 р. Полтава, 2016. С. 255.

18. Дослідження методів синтезу похідних етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) / Є. І. Сюмка, К. М. Ситнік, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Хімічні Каразінські читання*: мат. X Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів, м. Харків 23–25 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 127–128.

19. Синтез похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,4'*H*)триону та їх біс-аналогів для пошуку нових антимікробних агентів / Є. І. Сюмка, К. В. Глебова, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*: мат. Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, м. Харків 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 117–118.

20. Неочікуваний синтез похідних етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,4'*H*)триону) / Є. І. Сюмека, К. М. Ситнік, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*: мат. Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, м. Харків 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 116.

21. Synthesis and chemical transformations of *m*-phenylene-*N*-maleimide derivatives of spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole / Ye. I. Syumka, K. M. Sytnik, D. V. Levashov, L. A. Shemchuk. *Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov*: book of abstracts 8th International Conference, Kharkov, 12–16 november 2018 p. Kharkiv: Ekskluziv Publ., 2018. P. 145.

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. Всеукраїнська наукова конференція студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю «Хімічні проблеми сьогодення» (Донецьк, 17-20 березня 2014 р., форма участі – публікація тез);
2. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Actual questions of development of new drugs» (Харків, 22-23 квітня 2014 р., форма участі – публікація тез);
3. Українська науково-практична конференція, присвячена 100-річчю з дня народження д-ра хім. наук, проф. Павла Олексійовича Петюніна «Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій» (Харків, 24–25 квітня 2014 р., форма участі – публікація тез);
4. XII Всеукраїнська конференція молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії (Дніпропетровськ, 19-21 травня 2014 р., форма участі – публікація тез);
5. XV Наукова конференція «Львівські хімічні читання» (Львів, 24-27 травня 2015 р., форма участі – публікація тез);
6. III Міжнародна науково-практична конференція «Химия, био- и нанотехнологии, экология и экономика в пищевой и косметической промышленности» (Харків, 15–16 жовтня 2015 р., форма участі – публікація тез);
7. XII Всеукраїнська конференція молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії (Харків, 11–13 травня 2016 р., форма участі – публікація тез);
8. VIII Національний з'їзд фармацевтів України (Харків, 13–16 вересня 2016 р., форма участі – публікація тез);

9. XXIV Українська конференція з органічної хімії (Полтава, 19–23 вересня 2016 р., форма участі – публікація тез);
10. X Всеукраїнська наукова конференція студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання» (Харків, 23–25 квітня 2018 р., форма участі – публікація тез);
11. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 12-13 квітня 2018 р., форма участі – публікація тез);
12. VIII Міжнародна конференція «Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles» (Харків, 12–16 листопада 2018 р., форма участі – публікація тез).

Додаток Б



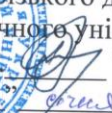
Продовж. дод. Б



Додаток В

Акти впровадження



«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з навчальної роботи
 Запорізького державного
 медичного університету МОЗ України
 проф.  Туманський В.О.
 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** Метод синтезу та фізико-хімічні дослідження симетричних похідних гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону).
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра органічної хімії, здобувач Сюмка Є.І., проф. Шемчук Л.А.
3. **Джерела інформації:** Redkin R. G., Syumka E. I., Shemchuk L. A., Chernykh V. P. Synthesis and antimicrobial activity of *bis*-derivatives of 3а',6а'-dihydro-2'*H*-spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole]-2,4',6'(1*H*,3'*H*,5'*H*)-trione. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2017. Vol. 7, № 06. P. 069-078. Available online at <http://www.japsonline.com>.
4. Запропоновані дані про метод синтезу та особливості фізико-хімічних властивостей симетричних похідних гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону).
5. **Де впроваджено:** кафедра органічної хімії Запорізького державного медичного університету.
6. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
7. **Ефект від впровадження:** удосконалення знань науковців з питань синтезу, вивчення фізико-хімічних властивостей та можливостей практичного застосування симетричних похідних гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону).
8. **Термін впровадження:** з 2018 – 2019 н.р.

Завідувач кафедри органічної хімії,
 д-р. фарм. наук, проф.



С.І. Коваленко

Продовж. дод. В



ЗАТВЕРДЖУЮ

В. 6. проректора з наукової роботи
Харківського національного
медичного університету,
проф. М. Г. Щербань
 « 03 » квітня 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: Розробка препаративних методів синтезу симетричних похідних етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону).

2. Ким і коли запропонований: д.хім.н., проф., зав. каф. органічної хімії Шемчук Л.А., здобувач Сюмка Є.І. кафедра органічної хімії Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

3. Джерело інформації: Сюмка Є.І., Шемчук Л.А., Черних В.П., Редькін Р.Г. Дослідження трикомпонентної взаємодії між ізатином, α -амінокислотами і *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміном та встановлення будови одержаних сполук. Журнал органічної та фармацевтичної хімії, 2018. Т. 16, № 1 (61). С. 34–41.

4. Де і коли впроваджено: кафедра медичної та біоорганічної хімії Харківського національного медичного університету з вересня 2018р. по червень 2019р.

5. Результати застосування методу за період з вересня 2018р. по червень 2019р.: у науково-дослідну роботу кафедри медичної та біоорганічної хімії Харківського національного медичного університету впроваджено матеріали наукових досліджень Шемчука Л.А., Сюмки Є.І.

6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації: запропоновані дані про методи синтезу та особливості фізико-хімічних властивостей етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*, 1'*H*,5'*H*)-триону).

7. Зауваження, пропозиції: не вносились.

Відповідальні за впровадження: к.фарм.н., доц. Лук'янова Л.В., ас. Чаленко Н.М., кафедра медичної та біоорганічної хімії ХНМУ.

Завідувач

кафедри медичної та біоорганічної хімії,
 д-р. фарм. наук, проф.

Сирова Г.О.

Продовж. дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

ДВНЗ «Тернопільський державний

медичний університет

імені І.Я. Горбачевського»

проф. І.М.Кліш

27.08.2018 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** Метод синтезу похідних етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) та дослідження їх протизапальної активності.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра органічної хімії, здобувач Сюмка Є.І., проф. Шемчук Л.А.
3. **Джерела інформації:**
 - Syumka Ye. I., Kravchenko H. B., Chernykh V. P., Shemchuk L. A. The synthesis of mono- and *bis*-derivatives of spiro-2-oxindole[3,3']pyrrole and the study of their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). Р. 5–13.
4. Запропоновані дані про метод синтезу етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону) та дослідження їх протизапальної активності.
5. **Де впроваджено:** кафедра загальної хімії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського».
6. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
7. **Ефект від впровадження:** удосконалення знань науковців з питань синтезу, вивчення фізико-хімічних властивостей та можливостей практичного застосування похідних етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону).
8. **Термін впровадження:** 2018-2019 н.р.

Завідувач кафедри загальної хімії,
канд. хім. наук, доцент

Г.Я. Загречук

Продовж. дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з навчальної роботи
Львівського національного медичного
університету ім. Данила Галицького
МОЗ України
проф. Наконсний А.Й.



2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** Розробка препаративних методів синтезу похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра органічної хімії, здобувач Сюмка Є.І., проф. Шемчук Л.А.
3. **Джерела інформації:**
 - Syumka Ye. I., Red'kin R. G., Shemchuk L. A., Hlebova K. V., Filimonova N. I. Synthesis and antimicrobial activity of hexamethylene-*N*-maleinimidospiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole derivatives. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2017. Т. 15, № 4 (60). С. 56–62.
4. Запропоновані дані про методи синтезу та особливості фізико-хімічних властивостей похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону.
5. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького
6. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
7. **Ефект від впровадження:** удосконалення знань науковців з питань синтезу, вивчення фізико-хімічних властивостей та можливостей практичного застосування похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триону.
8. **Термін впровадження:** з 2018 – 2019 н.р.

Завідувач кафедри фармацевтичної,
органічної і біоорганічної хімії
д-р. фарм. наук, проф.

 Р.Б. Лесик