

На правах рукописи



Черемных Кирилл Павлович

**СИНТЕЗ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ ПРИРОДНЫХ И
СИНТЕТИЧЕСКИХ АНТРАНИЛАТОВ НА ОСНОВЕ АЛКИНОВ,
ПОЛУЧЕННЫХ В УСЛОВИЯХ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСНОГО КАТАЛИЗА**

02.00.03 – Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Новосибирск – 2020

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

Научный руководитель: **Шульц Эльвира Эдуардовна**
доктор химических наук, профессор
заведующая лабораторией медицинской химии,
Федеральное государственное бюджетное учреждение
науки Новосибирский институт органической химии им.
Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской
академии наук (ННХ СО РАН), г. Новосибирск

Официальные
оппоненты: **Глушков Владимир Александрович**
доктор химических наук, доцент
старший научный сотрудник лаборатории биологически
активных соединений, Институт технической химии УрО
РАН (ИТХ УрО РАН) - филиал Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
Пермского федерального исследовательского центра УрО
РАН, г. Пермь

Приходько Сергей Александрович
кандидат химических наук
старший научный сотрудник лаборатории каталитических
процессов синтеза элементоорганических соединений,
Федеральное государственное бюджетное учреждение
науки «Федеральный исследовательский центр «Институт
катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения
Российской академии наук» (ИК СО РАН), г. Новосибирск
Ведущая организация: Институт нефтехимии и катализа – обособленное
структурное подразделение Федерального
государственного бюджетного научного учреждения
Уфимского федерального исследовательского центра РАН
(ИНК УФИЦ РАН), г. Уфа

Защита состоится «18» сентября 2020 г. в 11⁰⁰ часов на заседании
диссертационного совета Д003.049.01 при ФГБУН Новосибирском институте
органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН по адресу 630090, г. Новосибирск,
проспект Акад. Лаврентьева, 9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского института
органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН и на сайте по адресу:
<http://web.nioch.nsc.ru/>. Текст автореферата размещен на сайте Высшей
аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской
Федерации по адресу: <http://vak.ed.gov.ru/>.

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах просим направлять по адресу: 630090, г.
Новосибирск, проспект Акад. Лаврентьева, 9, ученому секретарю диссертационного
совета Д003.049.01; e-mail: dissovet@nioch.nsc.ru.

Автореферат разослан «07» августа 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор химических наук

Лузина Ольга Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Растения семейства лютиковых (Ranunculaceae) продуцируют важную группу природных соединений - дитерпеновые алкалоиды. На сегодняшний день известно несколько сотен таких соединений, выделенных из растений родов *Aconitum*, *Consolida* и *Delphinium*, обладающих замечательными биологическими свойствами. Выполнены десятки работ по установлению структуры и состава дитерпеновых алкалоидов в различных продуцентах.

Отличительной особенностью структуры доступных C₁₈, C₁₉ дитерпеновых и нор-дитерпеновых алкалоидов (лаппаконитина, синаконитина А, синомонтанинов F, H, синомонтанитинов А и В) является наличие в качестве структурного фрагмента остатка антраниловой кислоты или ее N-замещенного производного. Основным побочным эффектом этих соединений является их высокая токсичность, возможность изменения которой связана с направленной химической модификацией структуры дитерпеновых алкалоидов. Некоторые дитерпеновые алкалоиды, включая природный антранилат лаппаконитин, относятся к числу метаболитов растений, широко распространенных на территории нашей страны. В последние два десятилетия развитие получают исследования, связанные с модификацией как дитерпенового остова лаппаконитина, так и эфирносвязанного ароматического заместителя. Показано, что модификация структуры алкалоида существенно изменяет его токсические свойства и биологическую активность (антиаритмические, противовоспалительные и анальгетические свойства). В связи с этим разработка методов модификации структуры лаппаконитина, а также модельного соединения – метилового эфира антраниловой кислоты с введением гетероциклических заместителей, получение данных по взаимосвязи «структура-активность» являются актуальными и представляют большие перспективы в синтезе новых агентов с селективностью биологического действия.

Степень разработанности темы. Среди превращений лаппаконитина широко изучены подходы к модификации дитерпенового остова. Прежде всего, получена серия производных по атому азота N(20) терпенового остова. Известны несколько десятков примеров соединений, полученных по реакции с ацетамидной группой. Также заслуживают внимания реакции в ароматическом фрагменте, например

получение 5'-галоген- и 5'-нитропроизводных лаппаконитина. 5'-Галогенпроизводные изучались в процессах образования С–С связи с использованием реакций кросс-сочетания Хека, Сузуки и Соногаширы. Однако ранее не изучались реакции с введением в ароматический фрагмент как лаппаконитина, так и других дитерпеновых алкалоидов фрагмента α,β -ацетиленкетонной системы с последующей его модификацией в гетероциклические соединения.

Цель работы. Селективная модификация структуры дитерпенового алкалоида лаппаконитина и модельного соединения метилового эфира антраниловой кислоты с введением гетероциклических фрагментов на основе превращений соответствующих α,β -ацетиленовых кетонов, генерированных в условиях металлокомплексного катализа.

Задачи исследования:

1. Синтез алкинилкетонных из метилового эфира N-ацетилантраниловой кислоты и изучение их реакций с некоторыми нуклеофильными реагентами.
2. Изучение закономерностей взаимодействия 5'-этиниллаппаконитина с хлорангидридами карбоновых кислот.
3. Получение гибридных структур, содержащих фрагменты пиримидина и дитерпенового алкалоида лаппаконитина из алкинилкетонных лаппаконитина, в том числе одnoreакторным методом.
4. Разработка метода трехкомпонентного синтеза алкинилкетонных из метилового эфира N-ацетил-5-иодантраниловой кислоты или 5'-иодлаппаконитина последовательностью реакций карбонилирование-кросс-сочетание.
5. Синтез гибридных структур, содержащих фрагмент изоксазола и дитерпенового алкалоида лаппаконитина одnoreакторным методом.
6. Определение структурных особенностей 2,4,6-тризамещенных пиримидинов, влияющих на цитотоксичность. Получение данных о взаимосвязи структурно-анальгетическая активность в ряду пиримидинилзамещенных производных лаппаконитина.

Научная новизна. Показано, что взаимодействие метилового эфира 5'-этинил-N-ацетилантраниловой кислоты или 5'-этиниллаппаконитина с хлорангидридами бензойных кислот в присутствии каталитической системы $\text{Pd(PPh}_3)_2\text{Cl}_2 - \text{CuI}$ и основания протекает гладко с образованием соответствующих α,β -ацетиленовых кетонов. Выявлена эффективность каталитической системы на основе хлорида

палладия и [ди(1-адамантил)бензилфосфин гидробромида] в реакции кросс-сочетания 5-этинилантранилатов с хлорангидридами коричных кислот. Установлена высокая активность синтезированных α,β -ацетиленовых кетонов в реакции циклоконденсации с амидиниевыми солями различной природы. Выявлены структурные особенности амидинов, влияющие на реакционную способность в процессе образования соответствующих производных пиримидина. Найдены условия получения пиримидинил-замещенных производных метилантранилата и лаппаконитина одnoreакторным методом.

Изучены условия процесса карбонилирования-кросс-сочетания с участием метилового эфира 5-иодантраниловой кислоты и 5'-иодлаппаконитина. Предложен метод синтеза α,β -ацетиленовых кетонов он-инового строения из соответствующих арилиодидов и фенилацетилена в присутствии каталитической системы PdCl_2 – $\text{Ad}_2\text{Pb}\cdot\text{NBg}$ и гексакарбонила молибдена в качестве источника оксида углерода. Показано, что α,β -ацетиленовые кетоны различной топологии в реакциях с амидинами приводят к одинаковым продуктам – 2,4,6-тризамещенным пиримидинам.

Предложены препаративные методы синтеза 4-галогензамещенных региоизомерных изоксазолов, содержащих фрагменты метилового эфира N-ацетилантраниловой кислоты в положениях C-3 или C-5 изоксазольного цикла.

Разработан метод региоселективного синтеза гибридных структур лаппаконитина, содержащих изоксазольный фрагмент, «one-pot» способом из 5'-этинилпроизводного. Установлена взаимосвязь структуры образующегося *in situ* алкинона и состава продуктов реакции: в реакциях гидрохлорида гидроксилamina с алкинонами, содержащими акцепторные заместители в ароматическом кольце, выделяли 3,5-дизамещенные изоксазолы и соответствующие 5-гидроксидигидроизоксазолы; алкиноны с донорными заместителями в кольце обеспечивали образование 3,5-дизамещенных изоксазолов.

Теоретическая и практическая значимость. Выявленные закономерности и особенности синтетических превращений алкалоида лаппаконитина, приводящие к α,β -ацетиленовым кетонам и гетероциклическим производным на их основе, открывают новые возможности для направленной структурной модификации дитерпеновых алкалоидов, содержащих ароматический заместитель и расширяют

теоретические представления о химических свойствах функционально замещенных алкинилкетонов.

Полученные в ходе работы экспериментальные данные с использованием Pd-катализируемого кросс-сочетания дополняют сведения об особенностях протекания реакции на полифункциональных соединениях.

По результатам проведенного сотрудниками лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН, Института медицины и психологии В. Зельмана НГУ, УФИЦ НИИ молекулярной биологии и биофизики первичного тестирования анальгетической активности, цитотоксичности пиримидинилзамещенных производных лаппаконитина и метилового эфира N-ацетилантраниловой кислоты в отношении опухолевых клеток человека выявлены перспективные для дальнейшего исследования анальгетики и цитотоксические агенты.

Методология и методы исследования. В ходе выполнения работы применялись современные методы органического синтеза. Выделение и очистка соединений осуществлялись методами экстракции, осаждения, хроматографии и перекристаллизации. В работе использовались физико-химические методы установления структуры и определения чистоты химических соединений: ЯМР, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения.

Положения, выносимые на защиту:

1. Методы получения алкинилкетонов из метилового эфира N-ацетилантраниловой кислоты и алкалоида лаппаконитина.
2. Способы получения новых гетероциклических производных метилового эфира N-ацетилантраниловой кислоты на основе реакции алкинилкетонов с нуклеофильными реагентами.
3. Методы синтеза гибридных структур, содержащих фрагменты пиримидина и дитерпенового алкалоида лаппаконитина, из алкинилкетонов лаппаконитина и амидинов, в том числе одnoreакторный метод.
4. Особенности трехкомпонентного синтеза алкинилкетонов из метилового эфира N-ацетил-5-иодантраниловой кислоты или 5'-иодлаппаконитина, арилацетиленов и источника окиси углерода в условиях реакции карбонилирования-кросс-сочетания.
5. Синтез гибридных структур, содержащих фрагмент изоксазола и дитерпенового алкалоида лаппаконитина одnoreакторным методом.

Степень достоверности обеспечена тщательностью проведения эксперимента и применением современных физико-химических методов исследования структур. Строение всех впервые полученных веществ доказано методами ^1H -, ^{13}C - ЯМР спектроскопии (в том числе с привлечением двумерных гомо- и гетероядерных экспериментов (^1H – ^1H COSY, ^1H – ^1H NOESY, ^1H – ^{13}C HMBC, ^1H – ^{13}C HSQC)), ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии.

Апробация работы. Работа выполнялась в соответствии с планами научно-исследовательских работ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук по приоритетному направлению V. Химические науки и науки о материалах (Программа ФНИ СО РАН V.48. Фундаментальные физико-химические исследования механизмов физиологических процессов и создание на их основе фармакологических веществ и лекарственных форм для лечения и профилактики социально значимых заболеваний, тема V.48.1.5 “Разработка научных основ селективного синтеза новых фармакофоров и предшественников лекарственных средств на основе хемоспецифичных каталитических превращений природных алкалоидов, терпеноидов и кумаринов”), при поддержке грантов РФФИ (№ 14-03-00822, 18-13-00361), грантов РФФИ (№ 18-03-01012 А, 19-53-44003 Монг_т).

Результаты работы докладывались на следующих конференциях: Всероссийская научная конференция с международным участием «Современные проблемы органической химии» (Новосибирск, 2017), Всероссийская молодежная научная школа-конференция "Актуальные проблемы органической химии" (Новосибирск – Шерегеш, 2018), Всероссийская конференция грантодержателей РФФИ Современные тенденции в химии, биологии, медицине «От молекулы к лекарству» (Казань, 2018), Всероссийская научная конференция «Марковниковские чтения: органическая химия от Марковникова до наших дней» (Красновидово, 2020).

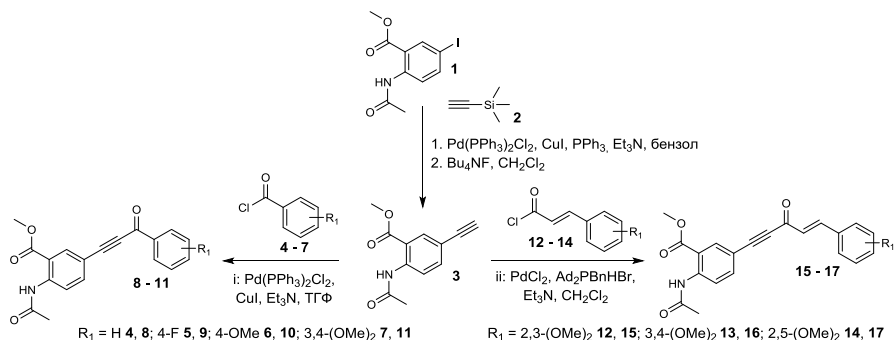
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение к работе содержит представления об актуальности, цель, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы. Глава 1 знакомит с литературными данными о синтезе α,β -ацетиленовых кетонов и их участии в реакциях гетероциклизации. Глава 2 повествует о результатах выполненного исследования. Обсуждаются особенности реакций и биологическая активность полученных соединений. Глава 3 содержит методики синтеза новых соединений и их спектральные данные. В приложении приведены описания экспериментов по исследованию биологической активности.

1. Подходы к синтезу 2,4,6-тризамещенных пиримидинов, содержащих фрагмент метилового эфира N-ацетилантраниловой кислоты

Трансформация терминальных ацетиленов в α,β -ацетиленовые кетоны под действием хлорангидридов карбоновых кислот в условиях Pd-катализируемого кросс-сочетания открывает широкий спектр возможностей для синтеза разнообразных гетероциклических производных на их основе. Исходя из коммерчески доступного метилового эфира 5-йод-N-ацетилантраниловой кислоты **1**, был синтезирован метиловый эфир 5-этинил-N-ацетилантраниловой кислоты **3**.

Схема 1



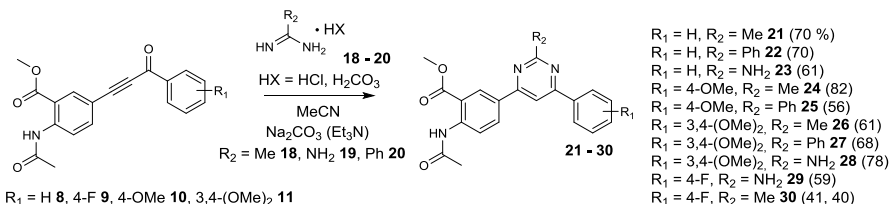
Для получения алкинилкетонов на основе терминального ацетилена **3** было изучено его взаимодействие с хлорангидридами карбоновых кислот **4–7** в условиях реакции кросс-сочетания по Соногашире. В присутствии каталитической системы

$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ и CuI реакция протекала в мягких условиях в ТГФ в течение 8 ч. Продукты **8** – **11** были получены с выходами от 51 до 82 % (схема 1).

Выход ен-ин-кетонa зависит от условий реакции и природы хлорангидрида. Взаимодействие соединения **3** с хлорангидридом 2,3-диметоксикоричной кислоты **12** в обозначенных выше условиях приводило к ен-ин-кетону **15** с выходом 27 %. Выход соединения **15** удалось поднять до 55 % при использовании каталитической системы $\text{PdCl}_2 - \text{Ad}_2\text{PBn} \cdot \text{HBr}$ в хлористом метиле. В таких условиях продукты **15** – **17** были получены с выходом от 55 до 62 % в виде (*E*)-региоизомеров.

Реакция циклоконденсации α -ацетиленовых кетонa **8** – **11** с амидинами **18** – **20** приводила к 2,4,6-тризамещенным пиримидинам **21** – **30**. В качестве реагентов были успешно использованы такие соли, как гидрохлорид ацетамида, гидрат гидрохлорида бензамида и карбонат гуанидина в присутствии основания карбоната натрия или триэтиламина. Соответствующие продукты были получены с выходом 41 – 82 % (схема 2). Нами обнаружено значительное влияние природы заместителя в алкилкетонах **8** – **11** на выход пиримидинов **21** – **30**. Циклоконденсация амидинов с алкилкетонами, содержащими донорные заместители R_1 в арильном фрагменте, протекала с большим выходом целевых соединений. Общего влияния структуры амида на выход конечных пиримидинов нами не обнаружено. Так, реакции одного субстрата ($\text{R}_1 = \text{H}$) с бензамидом или ацетамидом не отличались значением выхода продукта. В случае $\text{R}_1 = 4\text{-OMe}$ разница выходов достигала 24 %.

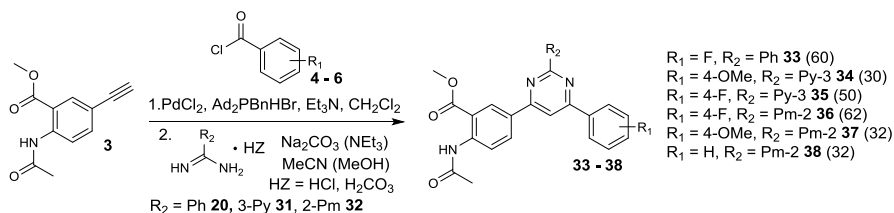
Схема 2



Нами изучена возможность получения 2,4,6-тризамещенных пиримидинов «оперот» методом из алкина **3** последовательностью реакций Pd-катализируемое кросс-сочетание/циклоконденсация (схема 3).

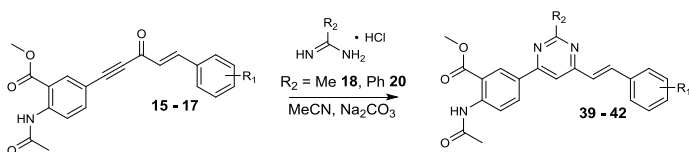
Было обнаружено, что взаимодействие алкина **3** с хлорангидридом 4-фторбензойной кислоты **6** в присутствии каталитической системы $\text{PdCl}_2 - \text{Ad}_2\text{Pb}\cdot\text{HBr}$ и триэтиламина в хлористом метиле протекает в течение 2 ч. Последующее удаление растворителя и добавление в реакцию гидрохлоридов ацетамида **18** или бензамида **20** и карбоната натрия приводило к продуктам **30**, **33** с выходами 40 и 60 % соответственно. Такой подход удалось использовать для синтеза бис-гетероциклических продуктов **34** – **38**. Было найдено, что добавление гетариламида **31** или **32** в метаноле и использование триэтиламина в качестве основания более эффективно, чем использование карбоната натрия в ацетонитриле.

Схема 3



Замещенные пиримидины **39** – **42** были получены с выходом 42–65% кипячением соответствующего ен-ин-кетона в ацетонитриле с гидрохлоридом ацетамида **18** или бензамида **20** в присутствии карбоната натрия (схема 4). Реакция протекала по тройной связи и карбонильной группе, продуктов взаимодействия по двойной связи не наблюдалось. Также в процессе реакции наблюдалось сохранение расположения заместителей при двойной связи в (*E*) – конфигурации.

Схема 4



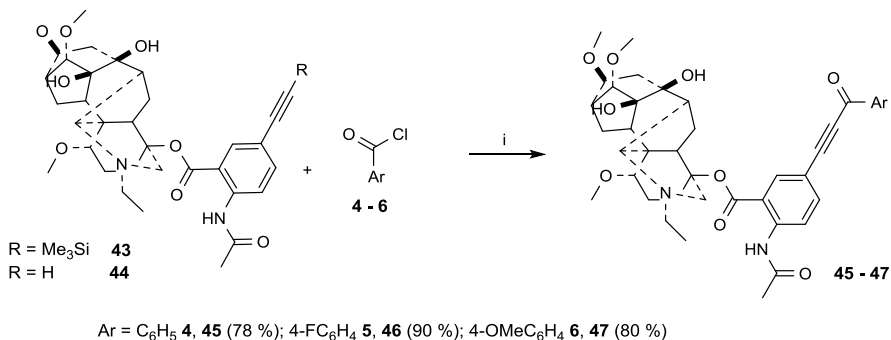
$\text{R}_1 = 2,3\text{-(OMe)}_2$ **15**, **39** ($\text{R}_2 = \text{Me}$ 64 %), **40** ($\text{R}_2 = \text{Ph}$ 56 %); $3,4\text{-(OMe)}_2$ **16**, **41** ($\text{R}_2 = \text{Me}$ 65 %); $2,5\text{-(OMe)}_2$ **17**, **42** ($\text{R}_2 = \text{Me}$ 42 %)

Таким образом, изучены условия взаимодействия метилового эфира 5-этинил-N-ацетилантраниловой кислоты с хлорангидридами бензойных и коричных кислот. Выявлена эффективность каталитической системы на основе хлорида палладия и [ди(1-адамантил)бензилфосфин гидробромида] и триэтиламина в качестве основания. Предложен одnoreакторный вариант синтеза диарилзамещенных пиримидинов.

2. Кросс-сочетание 5'-этиниллаппаконитина с хлорангидридами карбоновых кислот. Получение гибридных соединений, содержащих фрагменты пиримидина и дитерпенового алкалоида лаппаконитина

В предложенных выше условиях превращения метилового эфира 5-этинил-N-ацетилантраниловой кислоты были осуществлены превращения 5'-этиниллаппаконитина **44** (схема 5), полученного по описанной методике [Осадчий, С.А. Шульц, Э.Э. Полухина, Е.В., Васильев, В.Г., Толстиков, Г.А. Доклады Академии наук. – 2007. – Т. 416. – № 6. – С. 769-774]. Было обнаружено, что при использовании $\text{Pd(PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, CuI , Et_3N в ТГФ кросс-сочетание **44** с хлорангидридом 4-фторбензойной кислоты **5** приводило к продукту **46** с выходом 20%. Такой выход оказался неприемлемым для последующего синтеза целевых соединений. Реакцию кросс-сочетания алкина **44** с хлорангидридами бензойных кислот **4 – 6** проводили в бензоле в присутствии той же каталитической системы, но с добавлением PPh_3 . В результате реакции выделили 1,3-дизамещенные алкиноны **45 – 47** с выходом 78-90 %.

Схема 5

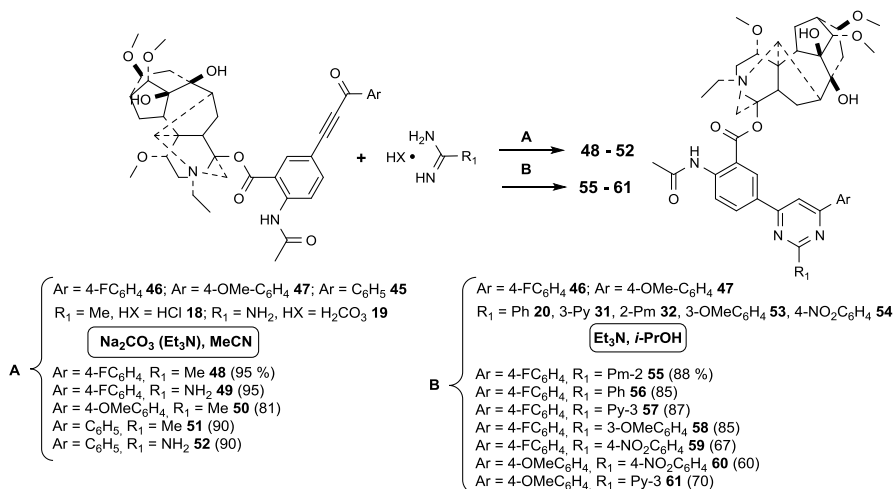


Попытки проведения реакции кросс-сочетания триметилсилилпроизводного **43** с хлорангидридом 4-фторбензойной кислоты **5** как в ацетонитриле с палладиевым катализатором (основание триэтиламин), так и в диметилформамиде без участия палладия с эквивалентным количеством хлорида меди (I) не привели к успеху.

Циклоконденсация алкинона **46** с гидрохлоридом ацетамина **18** или карбонатом гуанидина **19** протекала при кипячении в ацетонитриле в присутствии основания и приводила к образованию целевых пиримидинов **48, 49** (выход 95 %), содержащих фрагмент дитерпенового алкалоида лаппаконитина в положении C-4 (схема 6). Также

с высокими выходами (до 90 %) были получены продукты **51**, **52** по реакции алкинона **45** с гидрохлоридом ацетамида или карбонатом гуанидина. В аналогичных условиях из 4-метоксифенилалкинилкетона лаппаконитина **47** было получено 5'-пиримидинилпроизводное **50** с выходом 81 %. Однако реакция алкинона **46** с гидрохлоридом 2-амидинопиримидина **32** в ацетонитриле в присутствии карбоната натрия не протекала ввиду недостаточной растворимости амидиниевой соли в ацетонитриле. Реакцию алкинона **46** с 2-амидинопиримидином **32** удалось провести в *изо*-пропанол в присутствии триэтиламина. Соответствующий продукт **55** был получен с выходом 88 %. В подходящих условиях в дальнейшем вовлекались в реакцию с алкинилкетонами лаппаконитина **46**, **47** различные арил- и гетариламидины. Так, в результате взаимодействия с 3-пиридинкарбоксимидатом **31** соответствующие 2-гетарилзамещенные пиримидины **57**, **61** выделяли с выходом 87 и 70 % соответственно. Ариламидин **54** при реакции с алкинонами **46**, **47** давал продукты **59** и **60** с выходом 67 и 60 % соответственно. Снижение выхода в этих превращениях, предположительно, происходит из-за акцепторного действия 4-нитрофенильного заместителя. Это было нивелировано при взаимодействии алкинона **46** с 3-метоксифенилзамещенным амидином **53** и бензамидином **20**; выходы продуктов реакции **58** и **56** составили 85 %.

Схема 6



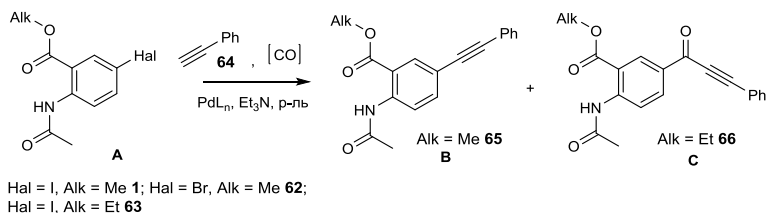
Таким образом, впервые осуществлена модификация дитерпенового алкалоида лаппаконитина с введением пиримидинового, 2-(пиридин-3-ил)пиримидинового или 2,2'-биспиримидинового заместителя в положение С-5'.

3. Разработка трехкомпонентного синтеза алкинилкетонов из метилового эфира N-ацетил 5-иодантраниловой кислоты и 5'-иодлаппаконитина последовательностью реакций карбонилирование-кросс-сочетание

Синтез алкинонов из хлорангидридов имеет некоторые недостатки, связанные прежде всего с недостаточной стабильностью последних. В течение последних двух десятилетий в синтетическую практику введена альтернативная методология получения алкинилкетонов, основанная на одnoreакторном методе Pd-катализируемого карбонилирования-кросс-сочетания [Shen, C., Wu, X. F. Chem. Eur. J. – 2017. – V. 23. – N. 13. – P. 2973-2987]. В качестве исходных соединений успешно используются арилгалогениды, терминальные алкины и монооксид углерода.

В ходе решения задачи по синтезу региоизомерных алкинонов нами были изучены условия реакции галогенидов эфиров N-ацетилантраниловой кислоты **1**, **62**, **63** с фенилацетиленом **64** в присутствии источников CO (схема 7).

Схема 7

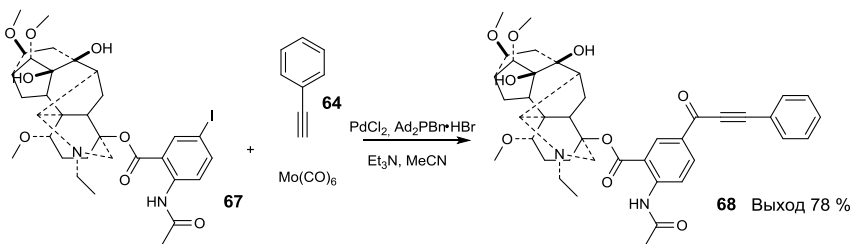


Генерируемый *in situ* ацетилформиат вводили в реакцию с галогенидами **1**, **62** и фенилацетиленом в присутствии системы Pd(OAc)₂ – Ph₃P (65 °C, 22 ч). В результате в обоих реакциях был получен продукт кросс-сочетания **65** с выходом 70 %. В реакции **1** с фенилацетиленом и ацетилформиатом в присутствии катализатора Pd(dppf)Cl₂ основным продуктом также было соединение **B**. Другим источником монооксида углерода является гексакарбонил молибдена. С успехом используемая нами ранее каталитическая система PdCl₂ – Ad₂PBn•HBr была опробована в этой реакции. Из иодида **63**, гексакарбонила молибдена и фенилацетилена в присутствии указанной каталитической системы и триэтиламина в ацетонитриле (65 °C, 2 ч) был получен

алкинилкетон **66** с выходом 87 %. Следует отметить, что при комнатной температуре реакция протекала с неполной конверсией даже при более длительном выдерживании. Также полной конверсии не наблюдалось при уменьшении количества катализатора и реагентов.

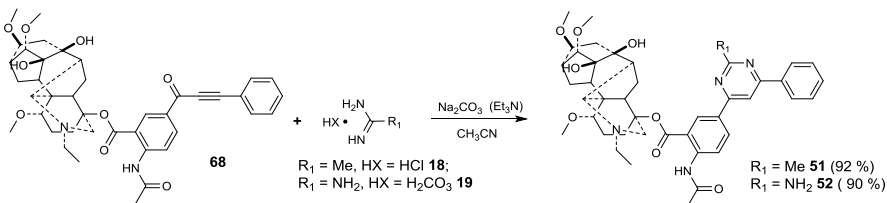
В таких условиях нами была изучена возможность получения алкинилкетона лаппаконитина **68** из 5'-иодлаппаконитина **67** (схема 8). Соединение **67** вводили в реакцию с фенилацетиленом **64** и Mo(CO)_6 в ацетонитриле в присутствии триэтиламина и каталитического количества PdCl_2 с $\text{Ad}_2\text{Pb} \cdot \text{HBr}$. Так был получен алкинон **68** с выходом 78%. Реакция протекала в течение 2 ч при температуре 65 °С.

Схема 8



Реакция гетероциклизации алкинона **68** с гидрохлоридом ацетамина или карбонатом гуанидина показала, что в ходе превращения образуются продукты **51** и **52** с выходом 92 и 90 % соответственно (схема 9), идентичные тем, что были при использовании соединения **45** в качестве исходного.

Схема 9

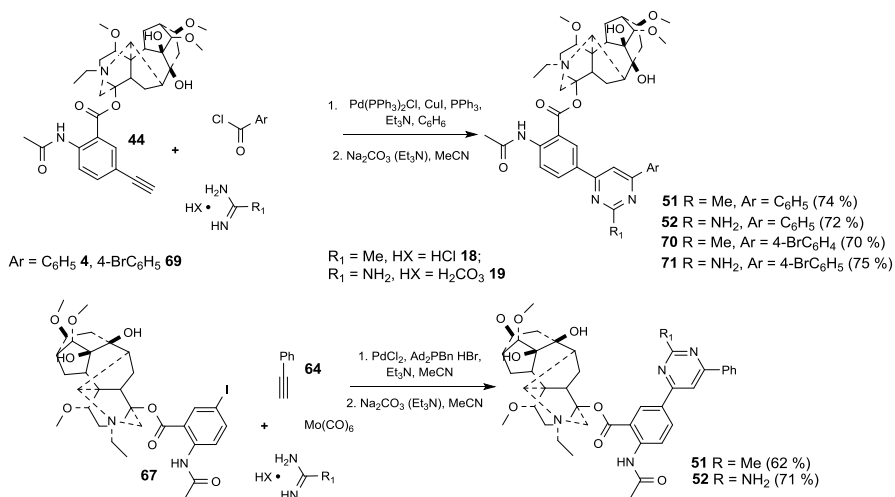


Таким образом, к достоинствам подхода с использованием карбонилирования-кросс-сочетания можно отнести тот факт, что для получения целевых пиримидинилзамещенных производных лаппаконитина требуется на две стадии меньше в отличие от подхода с использованием кросс-сочетания по Соногашире.

Синтетическая привлекательность алкинонов заключается в возможности их образования *in situ* и дальнейшего участия (в качестве активных акцепторов Михаэля)

в реакциях с нуклеофилами и последующей циклоконденсации одnoreакторным методом (схема 10). Показано, что 5'-пиримидинилпроизводные лаппаконитина **51**, **52**, **70**, **71** легко могут быть получены в результате реакции кросс-сочетания 5'-этиниллаппаконитина **44** с хлорангидридами бензойной **4** или 4-бромбензойной **69** кислот и последующего взаимодействия алкинилкетона (без выделения из реакционной смеси) с ацетамидином **18** или гуанидином **19**. Выходы таких продуктов наблюдались от 70 до 75 %.

Схема 10

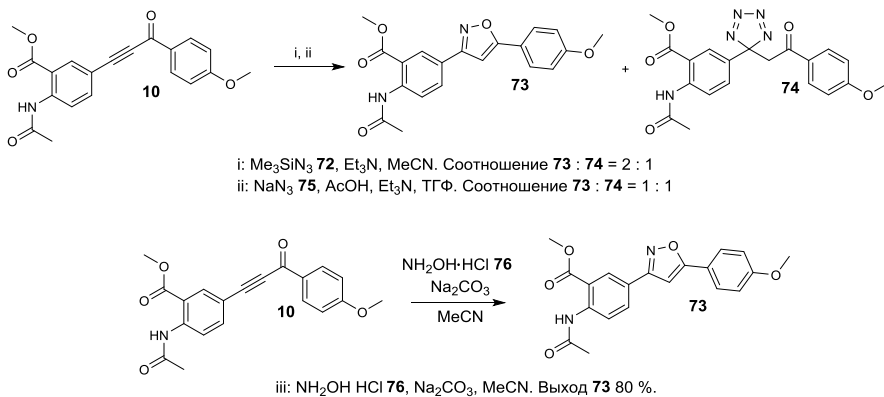


Для усовершенствования стратегии синтеза 5'-пиримидинилпроизводных лаппаконитина из 5'-иодлаппаконитина, так же для минимизации временных и материальных затрат на выделение промежуточных соединений, в частности алкинонов, был разработан подход к синтезу целевых соединений одnoreакторным методом. 5'-Иодлаппаконитин **67** вводили в реакцию с фенилацетиленом и гексакарбонил молибдена в присутствии триэтиламина и каталитической системы PdCl₂ – Ad₂PBn•HBr в ацетонитриле в атмосфере аргона. По истечении двух часов в реакционную массу добавлялся гидрохлорид ацетамида или карбонат гуанидина и соответствующее основание. Выход продуктов реакции **51** и **52** после обработки реакционной массы и очистки методом колоночной хроматографии составил 62 и 71 % соответственно.

4. Метилловые эфиры 5-(3-оксо-3-арилпропинил)-N-ацетилантраниловой кислоты в синтезе изомерных 3,5-дизамещенных изоксазолов

Для получения замещенных изоксазолов, содержащих фрагмент антраниловой кислоты, нами были изучены условия гетероциклизации алкинилкетона **10** с азотсодержащими нуклеофильными реагентами различной природы. Взаимодействие алкинона **10** с триметилсилилазидом **72** в присутствии триэтиламина в ацетонитриле протекало с образованием в качестве основного продукта 3,5-дизамещенного изоксазола **73**. Наряду с основным продуктом в реакции происходило образование побочного продукта **74**. Выходы основного и побочного продуктов после выделения и очистки из реакционной массы составили 40 и 20 % соответственно. Циклоконденсацию соединения **10** с азидом натрия **75** проводили с добавлением триэтиламина и уксусной кислоты в тетрагидрофуране. В результате реакции получили соединения **73** и **74** в соотношении 1 : 1 с суммарным выходом 60 % после обработки и очистки реакционной массы (схема 11).

Схема 11

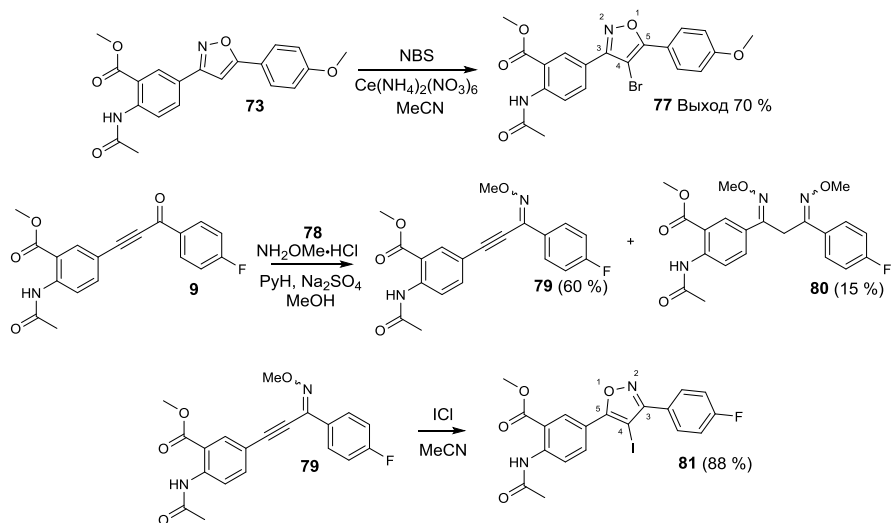


Наилучший результат по превращению алкинона **10** в 3,5-дизамещенный изоксазол **73** достигался при циклоконденсации/дегидратации с гидрохлоридом гидроксиламина **76** в присутствии карбоната натрия в ацетонитриле. В этих условиях выход производного изоксазола **73** составил 80 %, побочных продуктов в заметных количествах не наблюдалось. Реакция протекала при кипячении в течение 16 ч. Как видно, процесс включает присоединение гидроксиламина по тройной связи, циклизацию, изомеризацию двойной связи и дегидратацию. Характерно, что во всех

опробованных методах реакция протекала региоселективно с образованием производного изоксазола, содержащего антранильный фрагмент в положении С-3.

Нами изучена возможность получения 4-галоген-3,5-диарилизоксазолов **77**, **81** (Схема 12).

Схема 12



На примере реакции электрофильного замещения в производном изоксазола **73** под действием NBS в присутствии $\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{NO}_3)_6$ в ацетонитриле было получено Br-производное **77**. После обработки реакции и дальнейшей перекристаллизации из ацетонитрила выход продукта составил 70 %. Реакция успешно протекала как с 1 экв $\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{NO}_3)_6$, так и с 0.1 экв $\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{NO}_3)_6$.

Другой интересный подход к синтезу галогенпроизводных изоксазолов основан на превращении инонов в инон-О-метилоксим и дальнейшей циклизации под действием монохлорида иода. Соединение **9** вводили в реакцию с гидроклоридом метоксиамин **78** в присутствии пиридина и безводного сульфата натрия в метаноле. В качестве основного продукта реакции выделяли непредельный метоксиимин **79** с выходом 60 %. Также в качестве побочного продукта реакции был выделен диметокси-диимин **80** с выходом 15 %. Конфигурацию оксима [(*E*) или (*Z*)] не устанавливали, но можно отметить, что реакция протекает стереоселективно с образованием одного изомера. Реакция непредельного метоксиимина **79** с монохлоридом иода в ацетонитриле протекала гладко в течение 4 ч при кипячении с образованием 3,5-диарил-4-

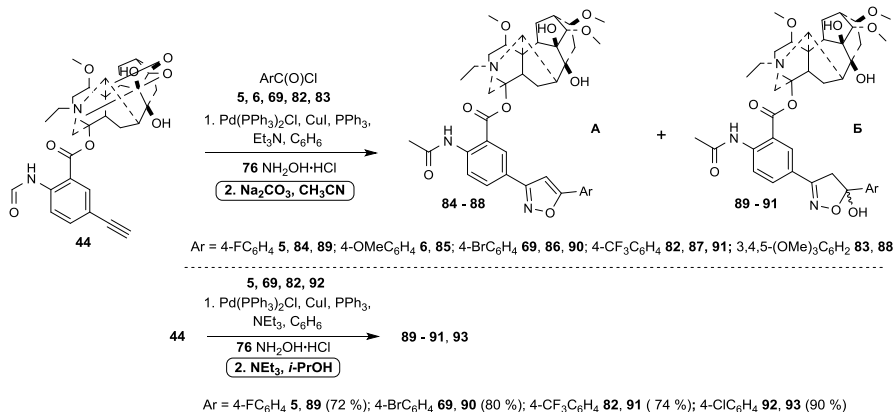
иодпроизводного изоксазола **81**, содержащего антранильный заместитель в положении С-5. После обработки реакционной массы выход продукта составил 88 %.

Таким образом, предложены региоселективные пути синтеза 4-галогензамещенных региоизомерных изоксазолов **77**, **81**, содержащих фрагменты метилового эфира N-ацетилантраниловой кислоты в положениях С-3 или С-5 изоксазольного цикла на основе превращений метиловых эфиров 5-(3-оксо-3-арилпропинил)-N-ацетилантраниловой кислоты **10** или **9**. Первый путь основан на циклоконденсации/дегидратации инона с гидрохлоридом гидроксиламина в присутствии карбоната натрия в ацетонитриле с последующим окислительным бромированием. Второй путь включает превращение инона в инон-О-метилоксим и последующую реакцию с монохлоридом иода.

5. Синтез производных лаппаконитина, содержащих фрагмент изоксазола

Для получения гибридных структур, содержащих фрагмент изоксазола и алкалоида лаппаконитина, мы изучили условия генерирования алкинонов лаппаконитина *in situ* из 5'-этиниллаппаконитина **44** и хлорангидридов бензойных кислот и последующую реакцию с гидрохлоридом гидроксиламина в условиях последовательного одnoreакторного синтеза (схема 13).

Схема 13

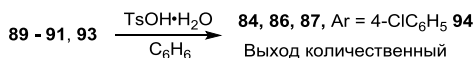


В реакцию Pd-катализируемого кросс-сочетания с алкином **44** вводили хлорангидриды бензойных кислот **5**, **6**, **69**, **82** и **83**. Реакцию проводили в бензоле в присутствии триэтиламина и каталитической системы Pd(PPh₃)₂Cl₂-PPh₃ – CuI при

нагревании. Затем из реакционной массы удаляли растворитель и добавляли ацетонитрил, гидрохлорид гидроксилamina **76** и Na_2CO_3 . В зависимости от арильного заместителя в образующемся *in situ* алкиноне реакция гетероциклизации протекала с разной скоростью. Для образования продуктов **85**, **88**, содержащих донорные заместители, требовалось 16 ч для полной конверсии соответствующего алкинона. Для алкинонов, полученных по реакции исходного алкина **44** с хлорангидридами бензойных кислот, содержащих акцепторные заместители, полная конверсия наблюдалась за 8 ч. Было установлено, что арильные заместители в промежуточных алкинонах оказывали различное влияние и на ход конденсации с гидроксилaminом. При использовании хлорангидридов с донорными заместителями в качестве основных продуктов наблюдались соединения **85** и **88** соответственно; выход после колоночной хроматографии составил 65 и 70 % соответственно. В то же время при использовании хлорангидридов с акцепторными заместителями помимо продуктов **84** и **87**, содержащих изоксазольный фрагмент (условно форма А), наблюдались производные гидроксидигидроизоксазола **89** и **91** (форма Б) в виде смеси диастереомеров 1 : 1. Соотношение А : Б составляло 1.4 : 1 для F- и 1.3 : 1 для CF_3 - производных. Суммарный выход продуктов реакции **84**, **89** и **87**, **91** составил 73 и 80 % соответственно. В реакции с участием 4- BrC_6H_4 алкинона в ходе циклоконденсации также выделяли производные изоксазола **86** и 5-гидроксидигидроизоксазола **90**. Причем на этих субстратах в качестве основного продукта было соединение **90** (соотношение **86** : **90** составляло 1 : 3), а суммарный выход соединений **86** и **90** составил 70 %. Смена основания и растворителя на стадии циклоконденсации алкинонов с гидрохлоридом гидроксилamina на триэтиламин и изо-пропанол соответственно приводила к образованию производных гидроксидигидроизоксазола **89** – **91**, **93** как единственных продуктов реакции (выход 72 – 90%). Продолжительное выдерживание реакционной смеси не способствовало дегидратации формы Б.

Дегидратацию производных **89** – **91**, **93** удалось осуществить под действием *n*-толуолсульфокислоты при кипячении в бензоле (схема 14). Реакция протекала гладко и соответствующие продукты **84**, **86**, **87**, **94** были получены с количественным выходом.

Схема 14



Таким образом, предложены однореакторные методы синтеза гибридных структур, содержащих фрагменты дитерпенового алкалоида лаппаконитина и изоксазола или 5-гидроксидигидроизоксазола.

6. Биологическая активность полученных соединений

Цитотоксичность 19-ти новых пиримидинов, содержащих метилантранилатный заместитель, в отношении опухолевых клеток человека (СЕМ-13, U-937, MDA-MB-231, BT-474, DU-145) с помощью МТТ-теста исследовалась сотрудниками Института медицины и психологии В. Зельмана НГУ под руководством д.м.н., проф., член.корр. РАН А.Г. Покровского. При анализе взаимосвязи “структура-цитотоксичность” нами выявлено, что 4,6-диарилпиримидины **34 – 38**, содержащие пиримидиновый или пиридиновый заместитель в положении С-2, обладают большей цитотоксичностью по сравнению с пиримидинами, содержащими 2-метильный или 2-фенильный заместитель в гетероциклическом ядре (**21, 22, 24 – 27, 30, 33**) Тризамещенные пиримидины **39 – 42**, содержащие (Е)-стирильный заместитель в положении С-6 пиримидинового кольца, показали увеличение цитотоксичности в отношении клеток рака молочной железы MDA-MB-231, BT-474, а также рака простаты DU-145. Соединения **39** и **42** показали наилучшую активность в отношении опухолевых клеток MDA-MB-231; их цитотоксичность была сравнима с цитотоксичностью препарата Доксорубин на этой клеточной линии. Пиримидинилсодержащие производные лаппаконитина в целом обладали меньшей цитотоксичностью в отношении опухолевых клеток при сравнении с производными антраниловой кислоты (данные получены сотрудниками Института медицины и психологии В. Зельмана НГУ и НИИ молекулярной биологии и биофизики ФГБУН ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины).

Противоопухолевую активность соединений с пиримидиновым остовом связывают с ингибированием циклин-зависимых киназ (CDK), представляющих собой семейство протеинкиназ, которым отводится важная роль в регулировании клеточного цикла (CDK1 – CDK4 и CDK6), а также в регуляции транскрипции клеточного цикла (CDK9). В ЛФИ НИОХ СО РАН с.н.с., к.б.н. Д.С. Бaeвым проведен молекулярный докинг новых соединений и известных ингибиторов пиримидиновой структуры в сайт связывания CDK9. Исходя из полученных расчетных данных (*in*

silico) следует, что новые пиримидины, содержащие стирильный и антранилатный заместители при атомах С-6 и С-4 пиримидинового кольца соответственно, а также некоторые пиримидинилпроизводные лаппаконитина могут проявлять свою биологическую активность, в том числе за счет ингибирования CDK9.

В ЛФИ НИОХ СО РАН под руководством зав. лаб., д.б.н., проф. Т.Г. Толстиковой для 8 новых пиримидинилпроизводных лаппаконитина изучалась анальгетическая активность в тестах химического и термического раздражения в сравнении с активностью лаппаконитина и препарата Диклофенак-натрий. Четыре соединения проявили достоверный анальгетический эффект на моделях термического и химического раздражения при введении в дозах 25, 5 и 1 мг/кг при пероральном и внутрибрюшинном способе введения. Выявлены соединения лидеры **49, 59, 60, 70** – содержащие 4-метокси-, 4-фтор- или 4-бромфенильный заместитель в положении С-6 и 4-нитрофенил-, метил- или амино-группы в положении С-2. Важным является сочетание этих заместителей.

Основные результаты и выводы

1. Кросс-сочетание метил-5-(этинил)антранилата с хлорангидридами бензойных или коричных кислот в условиях реакции Соногаширы приводит к соответствующим α,β -ацетиленовым кетонам, конденсацией которых с амидинами синтезировали 2,4,6-тризамещенные пиримидины. Установлено, что выход целевых соединений существенно зависит от природы каталитической системы и основания.

2. Предложен метод получения алкинонов лаппаконитина, содержащих фрагменты бензойной кислоты, реакцией 5'-этиниллаппаконитина с хлорангидридами бензойных кислот. Конденсацией с амидинами или гуанидином синтезировали соединения гибридной структуры, содержащие фрагменты дитерпенового алкалоида лаппаконитина и пиримидина, 2-(пиридин-3-ил)пиримидина или 2,2'-биспиримидина. Показана возможность получения гибридных структур “one-pot” методом.

3. Изучены условия карбонилирования-кросс-сочетания иодпроизводных антраниловой кислоты и лаппаконитина с фенилацетиленом в присутствии источника СО. Найдено, что удобными условиями формирования α,β -ацетиленовых кетонов является использование гексакарбонила молибдена в качестве источника оксида углерода, ди(1-адамантил)бензилфосфоний бромида в качестве лиганда и хлорида палладия в качестве источника палладия.

4. Предложены региоселективные пути синтеза 4-галогензамещенных региоизомерных изоксазолов, содержащих фрагменты метилового эфира N-ацетилантраниловой кислоты в положениях C-3 или C-5 изоксазольного цикла. Циклоконденсация/дегидратация алкинилкетона с гидрохлоридом гидроксиламина в присутствии карбоната натрия в ацетонитриле с последующим окислительным бромированием приводит к 4-бром-3-антранилзамещенному изоксазолу. Превращение инона в инон-О-метилоксим и последующая реакция с монохлоридом иода позволяет синтезировать 4-иод-5-антранилзамещенные изоксазолы.

5. Разработаны подходы к одnoreакторному варианту получения производных лаппаконитина, содержащих 3,5-дизамещенный фрагмент изоксазола из 5'-этиниллаппаконитина.

6. На базе медицинского факультета НГУ, НИИ молекулярной биологии и биофизики ФГБУН ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины и лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН осуществлено первичное тестирование новых соединений в опытах *in silico*, *in vitro* и *in vivo*. Выявлены перспективные ингибиторы роста опухолевых клеток человека. В ряду пиримидинилпроизводных лаппаконитина найдены соединения-лидеры, перспективные для дальнейшего изучения аналгетической активности.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. K.P.Chermnykh, V.A. Savelyev, M.A. Pokrovskii, D.S. Baev, T.G. Tolstikova, A.G. Pokrovskii, E.E. Shults. Design, synthesis, cytotoxicity, and molecular modeling study of 2,4,6-trisubstituted pyrimidines with anthranilate ester moiety // *Med. Chem. Res.* – 2019. – V. 28. – N. 4. – P. 545-558.

2. К.П. Черемных, В.А. Савельев, О.П. Шкурко, Э.Э. Шульц. Синтез гибридных молекул, содержащих фрагменты пиримидина и дитерпенового алкалоида лаппаконитина // *Химия гетероциклических соединений* – 2018. – V. 54. – N. 12. – P. 1131-1138.

3. К.П.Черемных, В.А. Савельев, Э.Э. Шульц. Синтез пиримидинов, содержащих антранильный заместитель, посредством реакции кросс-сочетания. Сборник тезисов докладов Всероссийской молодежной научной школы-конференции "Актуальные проблемы органической химии", стр. 91. Новосибирск-Шерегеш, 9-16 марта 2018 г. (устный доклад)

4. К.П. Черемных, В.А. Савельев, Э.Э. Шульц. Синтез метилантранилатов, содержащих пиримидиновые заместители. Сборник тезисов докладов Всероссийской научной конференция «Современные проблемы органической химии», стр. 136. Новосибирск, 5-9 июня 2017 г. (устный доклад).

5. К.П. Черемных, В.А. Савельев, Э.Э. Шульц. Подход к синтезу функционализированных 2,2'-бипиримидинов на основе реакции кросс-сочетания. Сборник тезисов докладов Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной празднованию 100- летию образования Республики Башкортостан «Химия и технология гетероциклических соединений», стр. 90 – 91. Уфа, 21-24 ноября 2017 г. (заочное участие).

6. Э.Э. Шульц, К.П. Черемных, С.С. Патрушев, В.А. Савельев, А.О. Финке, М.Е. Миронов. Синтетические модификации природных гетерополицикланов в условиях металлокомплексного катализа – перспективный подход к конструированию лекарственных агентов. Сборник тезисов докладов Всероссийской конференции грантодержателей РНФ. Современные тенденции в химии, биологии, медицине «От молекулы к лекарству», стр. 17. Казань, 26-28 ноября 2018г.

7. К.П. Черемных, В.А. Савельев, Э.Э. Шульц. Алкинилкетоны лаппаконитина в региоселективном синтезе 3,5-дизамещенных изоксазолов. Сборник тезисов докладов XI Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых «Химия и технология растительных веществ», стр. 249. Сыктывкар, 27-31 мая 2019 г. (заочное участие).

8. К.П. Черемных, В.А. Савельев, Э.Э. Шульц. Синтез 2,4,6-тризамещенных пиримидинов, содержащих фрагмент дитерпенового алкалоида лаппаконитина. Сборник тезисов докладов Всероссийской научной конференции Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней. Школа-конференция молодых ученых. Органическая химия: Традиции и современность. WSOC2020, стр. 96. Красновидово, 17-20 января 2020 г. (устный доклад).

