

Лукина Татьяна Викторовна

**Синтез производных пиразино[1,2-*a*]пиразинов -
потенциальных миметиков β -поворота в белках**

02.00.10 - Биоорганическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва - 2005

Т. Лукина

Работа выполнена на кафедре биотехнологии Московской государственной академии тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова и в лаборатории экспериментальных исследований ООО «Кембридж», г. Москва.

Научный руководитель:

доктор химических наук

Степанов Александр Евгеньевич

Официальные оппоненты:

доктор химических наук

Чупин Владимир Викторович

доктор химических наук

Васильев Андрей Александрович

Ведущая организация:

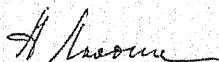
Санкт-Петербургский государственный
университет

Защита состоится 26 декабря 2005 г. в 15 часов на заседании Диссертационного Совета Д 212.120.01 при Московской государственной академии тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова (119571, г. Москва, проспект Вернадского, д.86).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке МИТХТ им. М.В. Ломоносова.

Автореферат диссертации разослан 22 ноября 2005 г.

Ученый секретарь Диссертационного Совета,
кандидат химических наук,
старший научный сотрудник



Лютик А. И.

2006-4
25147

2225410

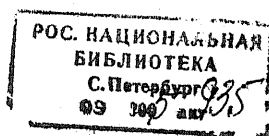
Общая характеристика работы

Актуальность темы. Моделирование и синтез пептидомиметиков является одним из направлений поиска биологически активных веществ и новых лекарственных препаратов на их основе. Пептидомиметики – низкомолекулярные вещества, способные к взаимодействию с β - поворотом – активным центром ряда рецепторов. В качестве миметиков β - поворота внимание многих исследователей привлекают бициклические гетероциклические соединения, в частности, производные пергидропиразино[1,2- α]пиразинов, которые проявляют разнообразную биологическую активность. Известные методы синтеза таких структур приводят к смесям диастереомеров, которые достаточно сложно разделить даже современными методами. Кроме того, синтез подобных структур является многостадийным и дорогостоящим из-за применения твердофазных методов. Таким образом, производные пергидропиразино[1,2- α]пиразинов представляются ценными объектами для поиска новых биологически активных соединений и создания на их основе медицинских препаратов, а разработка стереоселективного метода их синтеза из доступных реагентов является актуальной задачей биоорганической химии. Работа является частью научных исследований, проводимых на кафедре биотехнологии МИТХТ им. М.В.Ломоносова в рамках госбюджетной темы 1Б-5-856 «Синтез новых фармакологически активных веществ, изучение их биологических свойств и методов направленного транспорта с целью создания противоопухолевых, противовирусных, антипаркинсонических средств», а также по грантам президента РФ по поддержке ведущих научных школ № НШ-2329.2003.4 и № РИ-112/001/609.

Цель работы состояла в разработке и оптимизации метода синтеза производных пергидропиразино[1,2- α]пиразинов. При этом особое внимание уделялось стереоселективности разрабатываемых методов синтеза.

Научная новизна. Впервые разработан и осуществлен стереоселективный 10-стадийный синтез производных 2,4,7,8-замещенных пергидропиразин[1,2- α]пиразин-3-онов.

Впервые показана возможность использования внутримолекулярного [2+3]-циклоприсоединения азидов к неактивированной двойной связи для синтеза 2,5-дизамещенных пиперазиновых структур, являющихся удобными предшественниками целевых соединений. Реакцией [2+3]-циклоприсоединения впервые синтезированы 6-замещенные 3,3а,4,5,6,7-гексагидро[1,2,3]триазоло[1,5- α]пиразины и изучены их химические свойства.



Впервые показана возможность синтеза 2,5-замещенных пиперазинов через раскрытие триазинового цикла различными электрофильными реагентами. Установлена стереоселективность реакции.

Показана возможность C-алкилирования в ряду 1,4-*N*-диалкилпиперазин-2-онов.

Практическая значимость работы. Разработан метод стереоселективного синтеза производных 2,4,7,8-замещенных пергидропиперазин[1,2-*a*]пиперазин-3-онов из доступных β -аминоспиртов, позволивший синтезировать большую серию этих соединений, перспективную для тестирования на биологическую активность. В условиях разработанного метода получены и охарактеризованы производные 2,4,7,8-замещенных пергидропиперазин[1,2-*a*]пиперазин-3-онов для тестирования в качестве агонистов к меланокортиновым рецепторам, в частности, к МК4Р.

Публикации. Материал диссертационной работы изложен в 6 публикациях, в том числе в 2 статьях и в 4 тезисах докладов на международных конференциях.

Апробация работы. Основные результаты работы представлены на Международном симпозиуме по поиску новых лекарств (ASDD, Москва, 2005), на Международном симпозиуме по перспективам синтетической, комбинаторной и медицинской химии (ASCMC, Москва, 2004), на III-м московском Международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2005), на II-й Международной научно-практической конференции «Новые технологии в медицине - 2005» (Санкт - Петербург, 2005).

Положения, выносимые на защиту.

1. Разработка стереоселективного метода синтеза производных 2,4,7,8-замещенных пергидропиперазин[1,2-*a*]пиперазин-3-онов.
2. Исследование реакции внутримолекулярного [2+3]-циклоприсоединения азидов к неактивированной двойной связи для синтеза 2,5-дизамещенных пиперазинов.
3. Изучение возможности стереоселективного синтеза 2,5-замещенных пиперазинов через раскрытие 6-замещенных 3,3а,4,5,6,7-гексагидро[1,2,3]триазоло[1,5-*a*]пиперазинов под действием различных электрофилов.
4. Изучение реакции C-алкилирования 4-*N*-алкил-пиперазин-2-она.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 128 наименований.

Во *введении* обоснована актуальность темы и сформулирована цель работы. *Литературный обзор* состоит из двух частей, первая из которых посвящена конструированию моделей миметиков β -поворота в белках, их синтезу и анализу

биологической активности; вторая – взаимодействию органических азидов с неактивированными и электроно-обогатненными алкенами и его применению для построения биологически активных молекул. В *экспериментальной части* представлены описание методов синтеза и свойств обсуждаемых соединений.

Материал диссертации изложен на 108 стр., содержит 62 схемы, 33 рисунка и 9 таблиц.

Содержание работы

Синтез производных пергидропиразин[1,2-а]пиразинов

1. Выбор стратегии синтеза

В соответствии с поставленной целью, на первом этапе работы решалась задача разработки стереоселективного метода получения производных пергидропиразино[1,2-а]пиразинов **1**, включающая выбор общей стратегии синтеза, подбор оптимальных условий реакций и анализ полученных результатов. По литературным данным, одним из возможных подходов к созданию такой гетероциклической системы является путь через дикетопиперазины **4**. Мы предложили альтернативный подход, исходя из аминоспиртов **7** (Схема 1). Следует отметить, что для получения целевой структуры синтез в обоих случаях возможен на основе дизамещенного бициклического производного **2**. В стратегии, основанной на дикетопиперазинах, предполагается получение пиперазинового предшественника **4** из аминокислоты **5** с функцией R^1 и О-защитенного производного серина. В предложенном нами подходе аналогичное производное строится на основе аминоспиртов **7**.

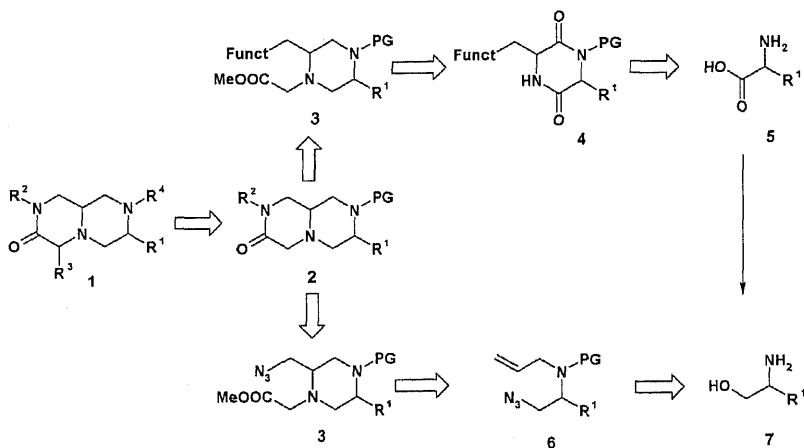


Схема 1. Подходы к синтезу производных пергидропиразино[1,2-а]пиразинов **1**.

1.1. Синтез пергидропипазино[1,2-а]пипазинов через образование дикетопиперазина.

В литературе описано несколько подходов к получению бициклических пиперазинов, основанных на использовании твердофазного синтеза. Эти стратегии, как правило, включают иммобилизацию защищенного по аминогруппе пиперазина **10** на полимерную матрицу и затем постадийный пептидный синтез. В результате образуются производные гексагидропипазино[1,2-а]пипазин-1,4-диона **8** (Схема 2). Расположение кетогрупп в таких молекулах строго фиксировано и, таким образом, в этих структурах имеется только три точки для дериватизации.

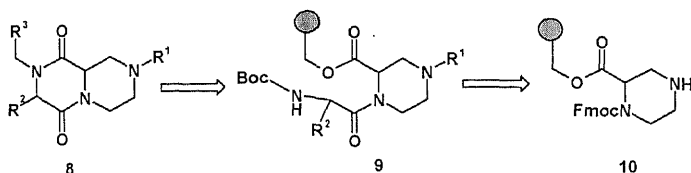


Схема 2. Синтез гексагидропипазино[1,2-а]пипазин-1,4-дионов.

Получение 7-замещенных пергидропипазино[1,2-а]пипазинов через дикетопиперазины достаточно трудоемко и включает большое число стадий. Наиболее существенным недостатком этого пути синтеза является необходимость восстановления амидных групп дикетопиперазина в весьма жестких условиях, что вносит существенные ограничения на природу заместителей.

1.2 Синтез пергидропипазино[1,2-а]пипазинов через образование 2,5-замещенных пиперазинов.

Стратегия синтеза производных общей формулы **1** через образование 2,5-замещенных пиперазинов была предложена нами после получения данных, что при алкилировании бромистым аллилом *Ns*-защищенного аминоазида **11** вместо ожидаемого продукта получается 2,5-замещенный пиперазин **12** (Схема 3). Структура пиперазина **12** была установлена методами двумерной спектроскопии (^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HMBS, ^1H - ^{13}C HSQC).

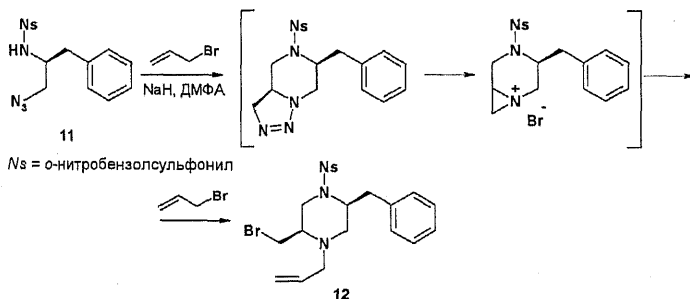


Схема 3.

Несмотря на то, что синтезировать другие 2,5-замещенные пиперазины таким путем не удалось, была исследована возможность внутримолекулярного [2+3]-циклоприсоединения азидов к неактивированной двойной связи. Примеров подобного превращения очень немного, хотя высокий синтетический потенциал этой реакции очевиден, что и было реализовано в работе для синтеза целевых пиперазинов **1**, исходя из соответствующих аллилазидов **13**. Для синтеза исходных аллилазидов возможны два альтернативных пути, отличающиеся последовательностью введения аллильной и азидной групп (Схема 4).

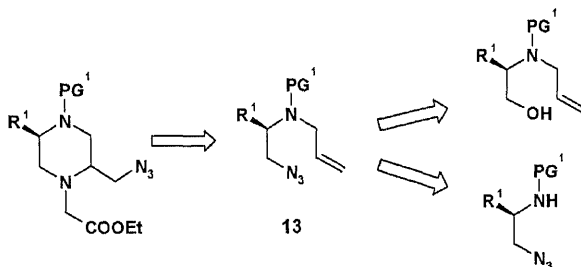


Схема 4. Ретросинтетическая схема синтеза 2,5-замещенных пиперазинов.

1.2.1. Синтез исходных аллилазидов.

1.2.1.1. Синтез аллилазидов из замещенных 1-(аллиламино)этанолов.

В качестве исходных соединений были выбраны доступные аминоспирты **14**, из которых планировалось получить 5-замещенные-2-азидометилпиперазины, являющиеся удобными интермедиатами для синтеза конечной бициклической системы. Предполагалось получить *N,O*-дизащищенный аминоспирт и, после аллилирования по атому азота, удалить защиту гидроксильной функции и трансформировать ее в азидогруппу (Схема 5).

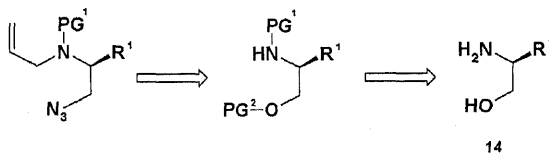


Схема 5.

Для аминофункции была выбрана защитная группа *Ns*, как и в случае синтеза **12**, полученного нами ранее. Для гидроксильной группы выбрали тетрагидропиранильную (THP) защиту (Схема 6). Эта защита оказалась наиболее удобна, поскольку ее можно удалить в мягких условиях.

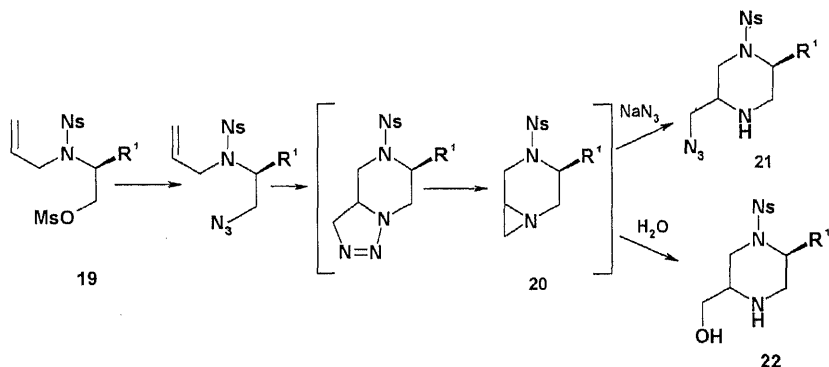


Схема 8.

По этой причине был исследован альтернативный путь синтеза 2,5-замещенных пиперазинов.

1.2.1.2. Синтез аллилазидов из замещенных 2-азидо-этиламинов.

В альтернативном варианте синтеза последовательность введения аллильной группы и образования азиды была обратной в сравнении с путем синтеза в условиях схемы 5. (Схема 9).

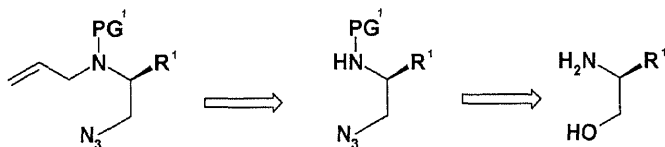


Схема 9.

Первоначально для блокирования аминогруппы была использована Вос-защита. Однако, получение азиды **24** стандартными методами оказалось малоудобным из-за образования оксазолидин-2-она **25**, выход которого составлял 40-60% в зависимости от строения заместителя R^1 в исходном аминок спирте **23** (Схема 10).

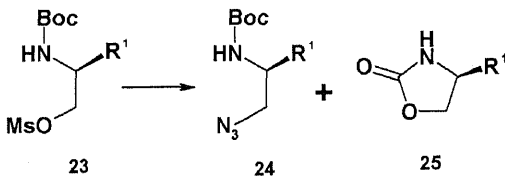


Схема 10.

Кроме того, *N*-алкилирование Вос-защищенных производных **24** требовало относительно жестких условий, а в случае объемных заместителей R^1 реакция проходила с низким выходом. Более подходящей оказалась *Ns*-защита, выбор которой был обусловлен не только отсутствием побочных продуктов при синтезе азида, но и тем, что на следующей стадии 2-нитробензолсульфонильная группа способствует *N*-алкилированию бромистым аллилом. Для *N*-аллилирования выбор сульфамидных групп предпочтителен благодаря кислотности сульфамидного NH. Из других сульфамидных защит, наиболее распространенная *Ts*-защита не подходит, поскольку требует крайне жестких условий для снятия, а *DNs*-защита, напротив, слишком чувствительна к основаниям и может затрагиваться в условиях аллилирования. Таким образом, были успешно получены азиды **27а-д** обычным способом замены мезильной группы на азидную (Схема 11).

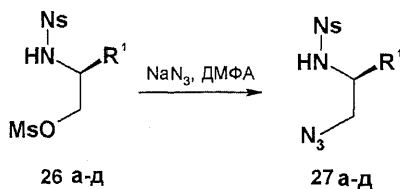


Схема 11.

Таблица 1. Синтез азидов **27а-д**.

27	R^1	Выход 27, %
<i>a</i>	<i>H</i>	98
<i>б</i>	<i>Me</i>	93
<i>в</i>	<i>Et</i>	95
<i>г</i>	<i>i Pr</i>	91
<i>д</i>	<i>Bn</i>	87

Необходимо отметить, что данный метод получения азидов применим только для аминоспиртов с алифатическими заместителями R^1 . При попытке получить азид из **26е** ($R^1 = \text{Ph}$) реакция приводила к смеси региоизомерных азидов **29а** и **29б** (Схема 12). По всей вероятности, из-за влияния фенильного заместителя сульфамидная группа становится настолько кислой, что основности азиды натрия получается достаточно для циклизации **26е** в азиридины **28** (в контрольных экспериментах для циклизации было достаточно действия NaHCO_3 в метаноле). Последующее раскрытие азиридинового цикла **28** проходит не региоселективно, приводя к двум продуктам, причем целевой азид **29а**, как правило,

является минорным продуктом. Попытки разделения азидов **29a** и **29b** оказались безуспешными.

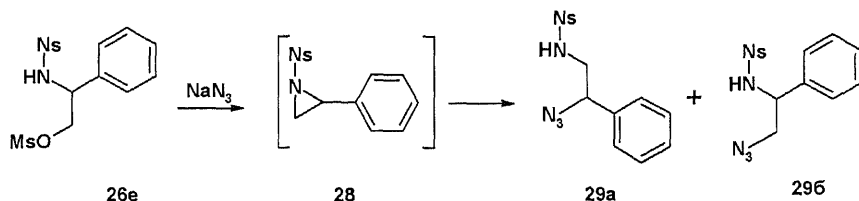


Схема 12.

N-аллилирование полученных азидов **27a-д**, в отличие от Вос-защищенных **24**, проходило существенно лучше, приводя к нестабильным продуктам **30a-д**, которые, в свою очередь, после внутримолекулярного [2+3]-циклоприсоединения азидогруппы по двойной связи образуют триазолины **31a-д** (Схема 13).

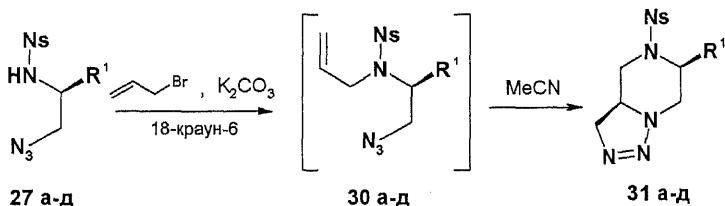


Схема 13.

Известно, что для *N*-алкилирования аминогруппы алкилгалогенидом в стандартных условиях обычно используют эквимолярное количество гидрида натрия и ДМФА в качестве растворителя. Поскольку проведение реакции в стандартных условиях приводило к сложной смеси продуктов, условия проведения реакции были изменены. При поиске более мягких условий реакции был применен K_2CO_3/CH_3CN с добавлением краун-эфира.

Выделить азиды **30** в чистом виде не удалось, хотя оказалось возможным их получение и 1H -ЯМР анализ в смеси с триазолином **31**. Мы обнаружили, что аллилазиды **30** медленно циклизуются в соответствующие триазолины **31** в разбавленных растворах ацетонитрила. Концентрирование раствора с целью выделения аллилазида **30** приводило к быстрой полимеризации и осмолению продукта, что и являлось причиной невозможности их получения.

Изучение свойств триазолинов показало, что они являются достаточно стабильными соединениями, хорошо кристаллизуются из разбавленных растворов ацетонитрила, могут

храниться при 0°C в течение длительного времени (до 1 года); при комнатной же температуре кристаллы триазиолонов быстро темнеют и разлагаются. Дальнейшие исследования их свойств показали, что наличие следов кислоты приводит к раскрытию триазиолонового цикла с образованием активных интермедиатов и к последующей полимеризации. Силикагель оказался неподходящим для хроматографической очистки этой группы соединений по причине их лабильности в присутствии кислот. Однако, их очистка возможна при использовании нейтральной окиси алюминия.

Ранее не существовало примеров синтеза 6-замещенных-3,3a,4,5,6,7-гексагидро-[1,2,3]триазоло[1,5-a]пиперазинов **31**, и в данной работе они были получены впервые. Для триазиолонов возможно существование двух диастереомеров – производных *цис*- и *транс*-2,5-дизамещенных пиперазинов. Оказалось, что циклизация отличается высокой диастереоселективностью и приводит исключительно к *цис*-изомеру. Нами были синтезированы несколько различных триазиолонов (Таблица 2).

Таблица 2. Синтез триазиолонов 31a-д.

31	R¹	Выход 31 в расчете на аминоспирт, %	Выход в реакции получения 31, %	Время циклизации, сутки	T_{пл}, °C
a	<i>H</i>	37	43	4-5	141-143
б	<i>Me</i>	25	35	10-14	147-149
в	<i>Et</i>	30	57	5-6	153-155
г	<i>iPr</i>	47	77	1-2	149-151
д	<i>Bn</i>	22	34	6-9	140-142

Интересно отметить, что скорость образования соответствующих триазиолонов **31** зависит от заместителя R¹: увеличение объема заместителя ускоряет циклизацию, т.е. максимальная скорость в реакции достигается при R¹ = *iPr*. Вероятно, наличие объемных заместителей способствует образованию конформации со сближенными азидной группой и oleфиновым фрагментом.

Строение триазиолона **31д** подтверждено методами двумерной спектроскопии. Полное отнесение сигналов протонов и углеродов проведено на основании данных двумерных спектров ¹H-¹H-COSY, ¹H-¹³C-HSQC и ¹H-¹³C-HMBC. Окончательное подтверждение структуры полученных соединений было получено для двух триазиолонов (**31a**, **31д**) методом рентгеноструктурного анализа (Рис.1)

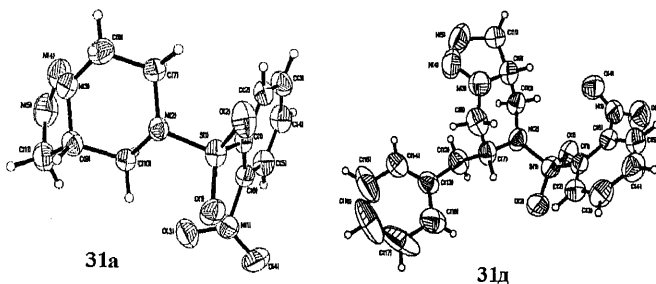


Рис.1. Структура соединений **31a** и **31d** по данным рентгеноструктурного анализа.

1.2.2. Химические свойства триазилинов.

С целью определения синтетического потенциала триазилинов **31** были исследованы некоторые их химические превращения. Они достаточно хорошо взаимодействуют с различными электрофилами и восстановителями. Некоторые из этих реакций представляют практический интерес, поскольку приводят к образованию насыщенных гетероциклических структур; другие могут быть полезны для изучения механизмов реакций, а также химических свойств триазилинов.

1.2.2.1. Взаимодействие триазилинов с донорами протонов.

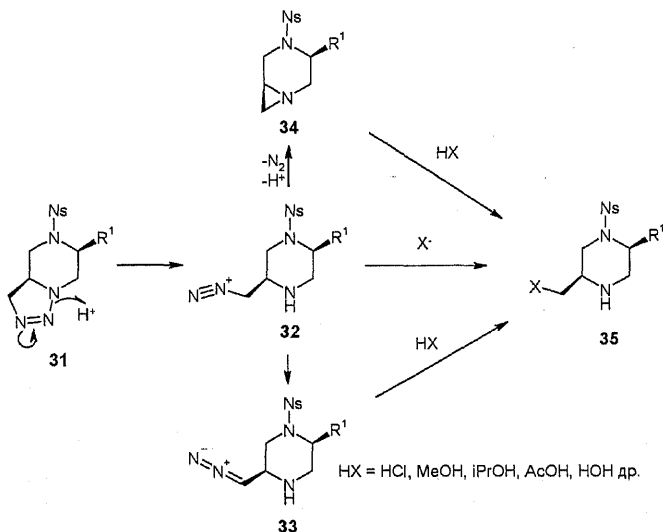


Схема 14.

Триазолины легко взаимодействуют с кислотами с образованием аминов **35**. Значительно медленнее (в течение суток) они реагируют со спиртами: можно было предположить, что первоначально происходит протонирование триазиолина, которое сопровождается раскрытием в соответствующее производное диазония **32** (Схема 14). Далее возможно либо присоединение аниона, либо образование азиридина или диазосоединения с последующими превращениями. В ходе экспериментальной проверки, версия образования азиридина **34** не подтвердилась из-за отсутствия региоизомерных продуктов. Наиболее вероятно в этой реакции происходит образование промежуточного диазосоединения. Взаимодействие триазиолинов с кислотами, безусловно, представляет интерес, но требует отдельного исследования, выходящего за рамки работы.

1.2.2.2. Взаимодействие с восстановителями.

Взаимодействие триазиолинов с восстановителями, например с NaBH_3CN , NaBH_4 , приводит к аминам **36** с 50-75% выходом (Схема 15). Поскольку такие пиперазины **36** могут быть получены более простыми методами, дальнейших исследований в этом направлении нами не проводилось.

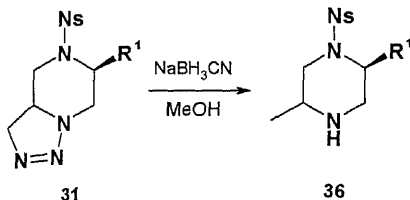


Схема 15.

1.2.2.3. Взаимодействие с алкилгалогенидами и ацилгалогенидами.

При взаимодействии триазиолинов **31** с алкилгалогенидами образуется преимущественно 2,5-замещенные пиперазины **37** (Схема 16). Механизм взаимодействия триазиолинов **31** с алкилгалогенидами, по нашим предположениям, совпадает с механизмом, обсуждавшимся для доноров протонов (см. схему 14). В качестве примесей нами были выделены ненасыщенные продукты **38**, которые, вероятно, образуются из пиперазина **37** под действием оснований, их содержание не превышало 14%.

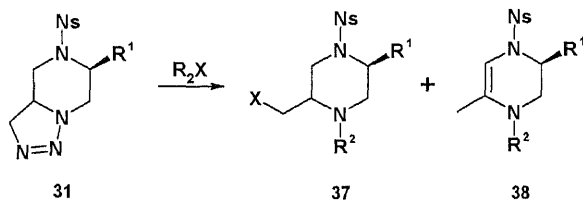


Схема 16.

Оказалось, что скорость взаимодействия триазилинов **31** с алкилгалогенидами существенно зависит от реакционной способности последних. Так, в случае реакционноспособных бензилбромида и аллилбромида реакция проходит за 1-2 сут., в то время как для менее реакционноспособных бутилбромида, бензилхлорида взаимодействия не наблюдалось. Результаты реакции триазилинов **31** с бензилбромидом приведены в таблице 3. При использовании высоко реакционноспособного метилиодида был выделен продукт кватернизации **39**. По всей вероятности, соль **39** образуется вследствие использования избытка иодистого метила и отсутствия стерических затруднений.

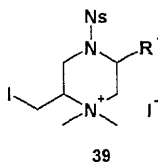


Таблица 3. Получение тирпазинов 37а-м.

37,38	R ¹	R ²	X	Выход 37, %	Выход 38, %
а	H	CH ₂ Ph	Br	87	5
б	Me	CH ₂ Ph	Br	78	6
в	iPr	CH ₂ Ph	Br	93	7
г	Bn	CH ₂ Ph	Br	89	11
д	H	COOCH ₂ Ph	Cl	89	11
е	Me	COOCH ₂ Ph	Cl	76	14
ж	iPr	COOCH ₂ Ph	Cl	95	2
з	Bn	COOCH ₂ Ph	Cl	88	0
и	H	COPh	Cl	57	10
к	Me	COPh	Cl	45	13
л	iPr	COPh	Cl	87	8
м	Bn	COPh	Cl	62	10

Триазилины **31** реагируют сходным образом с ацилгалогенидами, также образуя пиперазиновые галогениды **37**. В отличие от алкилгалогенидов, реакции с ацилгалогенидами идут практически мгновенно, и для завершения реакции достаточно 10-15 минут. Стоит также отметить, что реакции триазилинов с бензилкарбамоил хлоридом протекают более гладко, чем с бензоилхлоридом и с большими выходами (таблица 3). Также было показано, что выходы в реакциях триазилинов с ацилгалогенидами прямо пропорциональны объему

заместителя R^1 : чем объемней R^1 , тем выше выход в реакции этого триазолина с ацилгалогенидами. Таким образом, наименьший выход наблюдался для аланинового производного, где $R^1=Me$ (см. таблицу 3).

Взаимодействие триазолинов с бромуксусным эфиром необходимо рассмотреть более подробно, поскольку эта реакция была использована в дальнейшем синтезе пиазино[1,2- α]пиазинов (Схема 17). Для проведения реакции необходимо достаточное разбавление, поскольку в концентрированных растворах она сопровождается образованием побочных продуктов. Повышение выхода наблюдалось также при добавлении карбоната кальция, который непосредственно не участвуя в реакции, по-видимому, подавляет ряд побочных процессов. Тем не менее, достичь выхода более чем 60% не удалось. Надо отметить, что в случае $R^1 = Et$, растворимость исходного триазолина в ацетонитриле, в котором проводится реакция, очень низкая, поэтому требуется предварительное медленное растворение триазолина при 40°C и последующее добавление бромуксусного эфира. Можно предположить, что низкий выход при взаимодействии триазолинов с бромуксусным эфиром объясняется тем, что скорость побочных процессов превышает скорость растворения исходного триазолина, а также и скорость взаимодействия с бромуксусным эфиром. В этой реакции наблюдалась зависимость скорости реакции от заместителя характера R^1 , и более объемные заместители, например $R^1 = iPr$, ускоряют ее. Структура полученных продуктов **40** была подтверждена методами масс-спектрометрии (LCMS) и данными 1H ЯМР, причем для получения удовлетворительного разрешения спектров необходимо использовать $CDCl_3$ в качестве растворителя. При съемке спектров в $DMCO-d_6$ наблюдалось сильное уширение всех сигналов, связанное, по-видимому, с тем, что в полярных растворителях алкилгалогенид **40** находится в равновесии с циклической азиридиновой формой **41** (Схема 17).

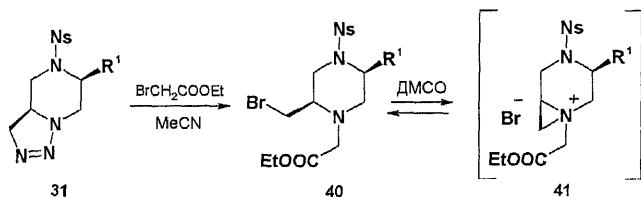


Схема 17.

Замена галогена на азид под действием азидата натрия в ДМФА при комнатной температуре в течение 2 суток приводила к пиперазину **42**. Реакция сопровождалась перегруппировкой с образованием побочного продукта **43**, содержание которого не превышало 15%, и поэтому он был легко отделен хроматографически. Расширение цикла,

вероятно, происходит в результате образования и последующего раскрытия промежуточного азиридина **41** (путь b) (Схема 18).

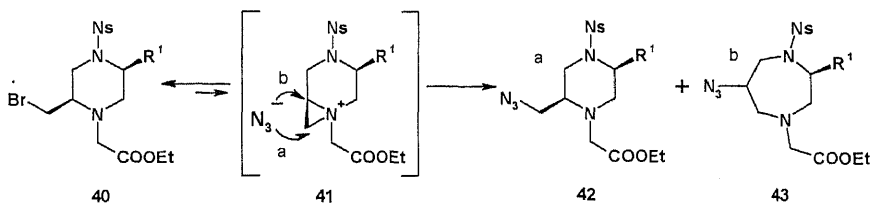


Схема 18.

Первоначально предполагалось восстановить азид **42** действием трифенилфосфина, а затем циклизовать аминокислоту **44** в *Ns*-защищенный бициклический продукт (Схема 19). Однако, на стадии гидролиза промежуточно образующегося фосфинимида **43** происходило омыление сложноэфирной группы и выделить в чистом виде образующуюся аминокислоту **44** не удалось.

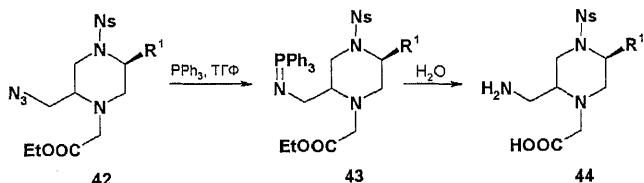


Схема 19.

Каталитическое восстановление азидов **42** с последующей циклизацией в бициклический продукт **46** оказалось более приемлемым методом. Поскольку наличие *Ns*-защиты несовместимо с условиями каталитического восстановления, применили *Boc*-группу с получением соответствующего азидов **45** (Схема 20).

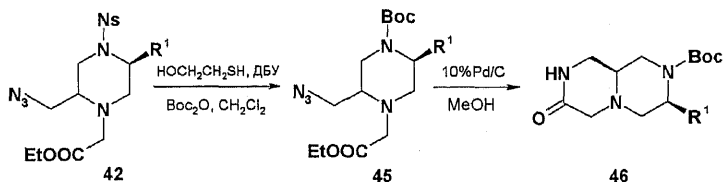


Схема 20.

Известно, что *Ns*-защита удаляется действием различных тиолов в присутствии оснований (например, DBU). Наиболее удобным представлялось использование высококипящего и не

имеющего раздражающего запаха додекантиола. Однако оказалось, что додекантиол образует побочный неидентифицированный продукт, который по данным ^1H ЯМР содержит фрагменты как исходного азида, так и додекантиола. Помимо сложностей с дальнейшей хроматографической очисткой, это также приводит к существенному снижению выхода. Более эффективным оказалось использование меркаптоэтанола, при применении которого побочные продукты отсутствовали.

Восстановление азида **42** водородом на палладиевом катализаторе проходило практически количественно. Более того, восстановление сопровождалось циклизацией и приводило к целевым пиразино[1,2-*a*]пиразинам **46** (Схема 20).

N-Алкилирование циклического амида **46** проведено в стандартных условиях с использованием алкилгалогенидов в присутствии гидрида натрия в ДМФА (Схема 21).

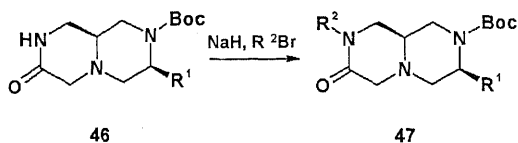


Схема 21.

Отдельного обсуждения заслуживает стадия *C*-алкилирования бициклического соединения **47**. В литературе известно только *C*-алкилирование *N*-ацилированных пиперазинонов, в основном, Вос-производных. Первоначальные попытки приготовления литиевого енолята при действии LDA при -78°C или BuLi оказались безуспешными. Успеха удалось добиться при медленном повышении температуры реакционной смеси от -78°C до -5°C в течение 2-3 часов, в присутствии ГМФТА (Схема 22). Последующая реакция литиевого енолята с алкилгалогенидами проводилась при -5°C в течение 1-2 часов. Таким образом, нами было показано, что *C*-алкилирование *N*-алкилированных пиперазинонов возможно и происходит с приемлемыми выходами (таблица 4).

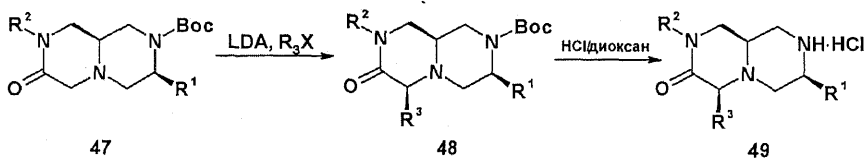


Схема 22.

Таблица 4. Синтез гексагидро-2Н-пиразино[1,2-а]пирозин-3(4Н)-онов 49а-и.

49	R ¹	R ²	R ³	[α] _D ²⁰ (с, MeOH)	Выход 49а-и (%)
а	Bn	Me	<i>i</i> -PrCH ₂ CH ₂	-120°/ (с 1)	23
б	Et	Me	4-BrC ₆ H ₄ CH ₂	рацемат	45
в	Et	Me	3-CH ₃ OC ₆ H ₄ CH ₂	рацемат	42
г	Et	MeOCH ₂ CH ₂	4-ClC ₆ H ₄ CH ₂	рацемат	48
д	Et	(CH ₂) ₂ CHCH ₂	3-CH ₃ OC ₆ H ₄ CH ₂	рацемат	37
е	Et	4-FC ₆ H ₄ CH ₂	(CH ₂) ₂ CHCH ₂	рацемат	34
жс	Et	MeOCH ₂ CH ₂	(CH ₂) ₂ CHCH ₂	рацемат	42
з	Et	(CH ₂) ₂ CHCH ₂	3-CH ₃ OC ₆ H ₄ CH ₂	рацемат	47
и	<i>i</i> Pr	MeOCH ₂ CH ₂	4-ClC ₆ H ₄ CH ₂	+100°/ (с 1)	45

Попытки использования избытка алкилирующего агента для увеличения выхода, приводили к получению преимущественно C,C-бисалкилированного продукта. Алкилирование характеризуется высокой степенью диастереоселективности, приводя к единственному продукту, что, как мы полагаем, обусловлено влиянием двух аксиальных протонов на направление электрофильной атаки по еноляту (Рис.2)

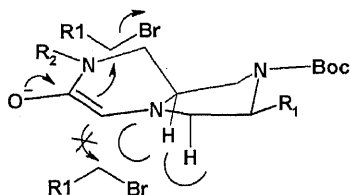


Рис. 2

Спектры ¹H ЯМР полученных соединений 48а-и оказались весьма сложными для интерпретации. По-видимому, Вос-защита вызывает замедленные взаимопревращения различных конформеров, что, в свою очередь, приводит к сильному уширению большинства сигналов. Поэтому большая часть ¹H ЯМР исследований была сделана на соединениях 49 после удаления Вос-защиты.

Однако, несмотря на улучшение разрешения спектров, полное отнесение сигналов удалось сделать только при использовании методов двухмерной спектроскопии. Строение соединения 49в подтверждено спектрами ¹H и ¹³C ЯМР. Полное отнесение сигналов протонов и углеродов проведено на основании данных двумерных спектров ¹H-¹H-COSY, ¹H-¹H-NOESY, ¹H-¹³C-HSQC и ¹H-¹³C-HMBC. Окончательно стереохимия полученного соединения 49в была установлена на основании рентгеноструктурного анализа, поскольку

картина двумерных спектров очень сложна и не дает возможности однозначной интерпретации данных. Данные рентгеноструктурного анализа позволяют утверждать, что в реакции С-алкилирования образуется единственный *цис*-продукт (Рис.3).

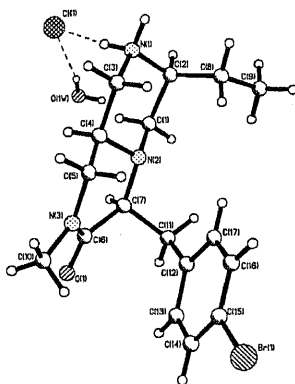


Рис.3. Строение соединения **49в** по данным рентгеноструктурного анализа.

Для введения в молекулу четвертого заместителя (R^4) были получены амид 50а, а реакцией восстановительного аминирования – соединения 50б-д (таблица 5).

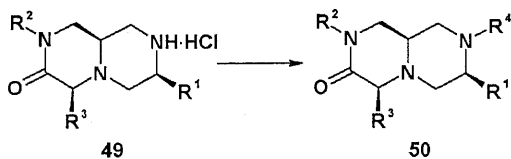
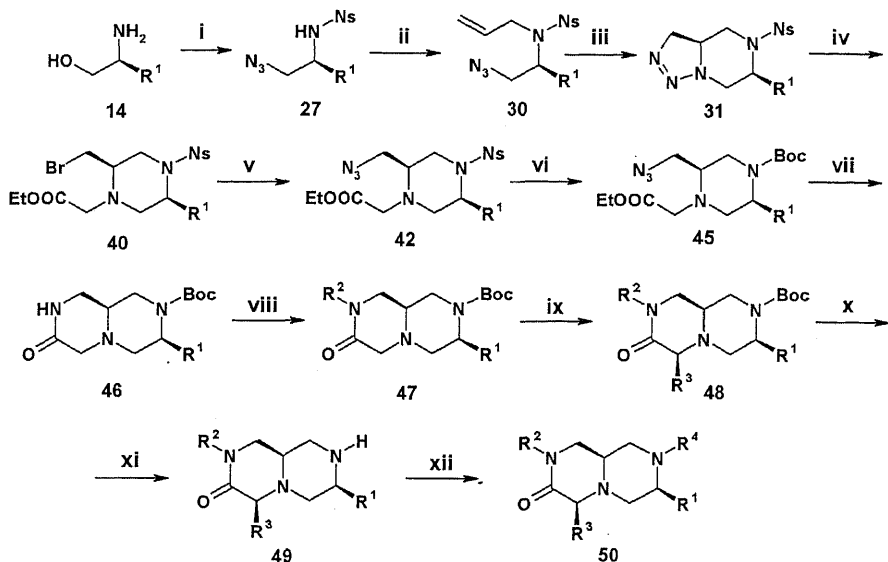


Схема 23.

Таблица 5. Синтез тиразино[1,2-а]тиразин-3-онов 50а-д.

50	R^1	Выход 50a-д(%)
a	$(CH_3)_2CHCO-$	55
б	$Ph(CH_2)_3-$	75
в	$(CH_3)_2CHCH_2-$	84
г	1-метил-1H-пиразол-4-ил-метил-	82
д	2-пиридил-метил-	89



Реагенты и условия: (i) 1. NsCl , $\text{EtOAc}/\text{NaHCO}_3$ (водн.); 2. MsCl , $\text{Et}_3\text{N}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$; 3. NaN_3/DMF ; (ii) $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{Br}$, K_2CO_3 , 18-crown-6/ MeCN ; (ii) 20°C , MeCN ; (iv) $\text{BrCH}_2\text{COOEt}$, $\text{CaCO}_3/\text{MeCN}$; (iv) NaN_3/DMFA ; (v) $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{SH}$, DBU/MeCN ; $\text{Boc}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$; (vi) $\text{H}_2/\text{Pd-C}/\text{MeOH}$; (vii) R^2Hal , NaN/DMF ; (viii) LDA , HMPA , $\text{R}^3\text{Hal}/\text{THF}$, -78°C ; (ix) HCl /диоксан; (ix) 1. $(\text{CH}_3)_2\text{CHCOOH}$, Et_3N , HBTU/DMFA ; 2. R^4CHO , $\text{NaBH}(\text{OAc})_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$.

Схема 24. Общая схема синтеза производных пиазино[1,2-а]пиазинов 50.

Таким образом, разработан новый стереоселективный подход к синтезу производных пергидропиазино[1,2-а]пиазинов. Благодаря высокой диастереоселективности метода он пригоден для синтеза оптически чистых соединений, исходя из хиральных аминокислот.

С целью тестирования на биологическую активность (агонисты к рецепторам MK4P) синтезированные образцы были переданы в лабораторию белков гормональной регуляции ИБХ РАН заведующему лаборатории, члену корреспонденту РАН, профессору Липкину В.М.

Выводы

1. Разработан 10-стадийный стереоселективный метод синтеза производных 2,4,7,8-замещенных пергидропиазино[1,2-а]пиазин-3-онов – потенциальных агонистов рецептора MK4P .

2. Показана возможность использования внутримолекулярного [2+3]-циклоприсоединения азидов к неактивированной двойной связи для синтеза 2,5-дизамещенных пиперазинов. С использованием этого метода впервые получены 6-замещенные 3,3а,4,5,6,7-гексагидро[1,2,3]триазоло[1,5-а]пиазины и изучены их химические свойства.
3. Впервые показана возможность стереоселективного синтеза 2,5-замещенных пиперазинов через раскрытие 6-замещенных 3,3а,4,5,6,7-гексагидро[1,2,3]триазоло[1,5-а]пиазинов действием различных электрофилов.
4. Впервые установлена возможность C-алкилирования 4-N-алкил-пиперазин-2-она.
5. На примере синтеза серии производных 2,4,7,8-замещенных пергидропиазино[1,2-а]пиазин-3-онов показана универсальность разработанного метода.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Lukina T. V., Sviridov S. I., Shorshnev S. V., Alexandrov G. G., Stepanov A. E. Intramolecular [2+3]-addition of an azide to a C=C double bond as a novel approach to piperazines // *Tetrahedron Lett.* –2005.- 46 (7).-1205-1207.
2. Lukina T. V., Sviridov S. I., Shorshnev S. V. Synthesis of piperazines derivatives via [2+3]-addition to non-activated double bonds. *Abstracts of the International Symposium on Advances in Synthetic, Combinatorial and Medicinal Chemistry (ASCMC).* - Москва.- 2004.- P-118.
3. Лукина Т. В., Свиридов С. И., Шоршнева С. В., Степанов А. Е. Синтез производных пергидропиазино[1,2-а] пиазинов - потенциальных миметиков β-поворота в белках. *Тезисы докладов III Московского Международного Конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития».* – Москва.- Россия.- 2005. -II том.- С.63.
4. Лукина Т. В. Синтез производных пергидропиазино[1,2-а] пиазинов - потенциальных агонистов/антагонистов рецепторов группы GPCR. *Тезисы докладов II Международной научно-практической конференции «Новые технологии в медицине - 2005».* – С. Петербург.- Россия.- 2005.
5. Лукина Т. В. Синтез производных пергидропиазино[1,2-а] пиазинов из аминоксиртов. *Международный симпозиум (ASDD, Moscow-05) «Научные достижения в поисках новых лекарственных средств».* - Москва.-Россия.- 2005.- С.48.
6. Lukina T. V., Sviridov S. I., Shorshnev S. V., Alexandrov G. G., Stepanov A. E. Novel approach to the synthesis of perhydropyrazino[1,2-a]pyrazine derivatives from amino alcohols. *Tetrahedron Lett.*-2005.- в печати (# TETL 29106).

Заказ № 2168 Подписано в печать 16.11.2005 Тираж 100 экз. Усл. п.л. 0,84



ООО "Цифровичок", тел. (095) 797-75-76; (095) 778-22-20
www.cfr.ru ; [e-mail: info@cfr.ru](mailto:info@cfr.ru)

2006-4
25147