

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тольяттинский государственный университет»

Институт химии и энергетики

(наименование института полностью)

Центр медицинской химии

(наименование)

04.03.01 Химия

(код и наименование направления подготовки, специальности)

Медицинская и фармацевтическая химия

(направленность (профиль) / специализация)

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА (БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА)

на тему Цитотоксические производные тетрагидрохинолина

Студент

Е.А. Дорогина

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Руководитель

д.х.н., доцент, З.П. Белоусова

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

Тольятти 2022

Аннотация

Выпускная квалификационная работа изложена на 46 страницах, содержит 1 рисунок, 1 таблицу, 26 схем, использовано 26 литературных источников.

Объектами настоящего исследования являются цитотоксические производные тетрагидрохинолина. Производные тетрагидрохинолина представляют фармакологический интерес, ввиду их важного влияния на клетки.

В литературном обзоре рассмотрены синтезы и биологические исследования производных тетрагидрохинолина. Особое внимание было уделено селективности исследуемых ингибиторов.

В экспериментальной части описаны методики получения и биологические испытания производных 3-фенил-5-(2'-оксопирролидин-1'-ил)-3,4-дигидрохинолинизоксазолов.

Abstract

The title of the thesis is "Cytotoxic derivatives of tetrahydroquinoline".

The aim of the presented work is the synthesis of potential antitumor agents by combining two privileged heterocyclic scaffolds – tetrahydroquinoline and isoxazole, additionally carrying a combretastatin fragment.

The literature review considers the syntheses and biological studies of tetrahydroquinoline derivatives. The experimental part describes methods for the preparation and biological testing of derivatives of 3-phenyl-5-(2'-oxopyrrolidine-1'-yl)-3,4-dihydroquinolinisooxazoles.

The graduation project consists of an introduction, 3 chapters, a conclusion, an explanatory note on 46 pages, including 1 figure, 1 table, 26 diagrams, a list of 26 sources.

The first chapter is devoted to the study of the synthesis of 1,2,3,4-tetrahydroquinolines using the Povarov reaction. Special attention was paid to the reaction mechanism.

In the second part, a strategy for obtaining structurally diverse combinatorial libraries with different types of biological activity is studied. Studies of antitumor activity are also presented. The third part presents the method of synthesis of N-allyltetrahydroquinolines, NMR spectra of compounds and biological tests.

In conclusion, we emphasized that the obtained compounds, according to the results of biochemical analyses, exhibit in most cases a moderate cytotoxic effect.

Содержание

	Стр.
Перечень условных сокращений.....	3
Введение	4
1 Литературный обзор.....	5
1.1 Двухкомпонентный синтез 1,2,3,4-тетрагидрохинолинов с использованием реакции Поварова.....	5
1.2 Трёхкомпонентный синтез 1,2,3,4-тетрагидрохинолинов с использованием реакции Поварова.....	10
2 Обсуждение результатов.....	22
2.1 Синтез целевых соединений.....	23
2.2 Исследование противоопухолевой активности.....	25
3 Экспериментальная часть	27
3.1 Реагенты и оборудование.....	27
3.2 Синтез целевых соединений.....	27
3.3 Клеточная культура.....	33
3.4 МТТ-тест.....	34
Заключение.....	35
Список используемой литературы	36

Перечень условных сокращений

AChE	ацетилхолинэстераза
AcOH	уксусная кислота
AMCell-SO ₃ H	сульфоцеллюлоза
BChE	бутирилхолинэстераза
CX ₄ SO ₃ H	каликс[4]арен <i>para</i> -сульфоновая кислота
DCE	1,2-дихлорэтан
DCM	дихлорметан
LA	кислота Льюиса
MeCN	ацетонитрил
MIC	минимальная ингибирующая концентрация
MS	молекулярные сита
MW	микроволновое излучение
TFA	трифторуксусная кислота
TsOH	<i>para</i> -толуолсульфокислота
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография

Введение

Гетероциклические соединения, особенно азотсодержащие гетероциклы, представляют собой наиболее важный класс соединений в фармацевтической и агрохимической промышленности, причем гетероциклы составляют около 60% всех лекарственных веществ. Тетрагидрохинолиновый скаффолд является очень распространенной структурой и обнаруживается во многих биологически активных природных продуктах и фармакологически релевантных терапевтических средствах. Из-за важности этих структур в медицинской химии разработка новых методологий синтеза производных тетрагидрохинолина продолжает оставаться очень активной областью исследований.

Целью представленной работы является синтез потенциальных противоопухолевых агентов посредством объединения двух привилегированных гетероциклических скаффолдов – тетрагидрохинолинового и изоксазольного, дополнительно несущих комбретастиновый фрагмент.

Для реализации поставленной цели необходимо решить ряд задач:

- Спланировать удобный подход для получения комбинированных соединений на основе тетрагидрохинолинового и изоксазольного фрагмента с возможностью обеспечения синтеза структур с максимальным разнообразием заместителей.
- Осуществить исследования цитотоксического эффекта посредством МТТ-теста.

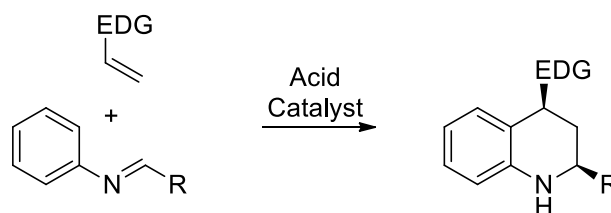
1 Литературный обзор

1.1 Двухкомпонентный синтез 1,2,3,4-тетрагидрохинолинов с использованием реакции Поварова

Реакция [4+2] циклоприсоединения между *N*-арилиминами, производными ариламинов и альдегидов, и богатыми электронами олефинами при кислотном катализе известна как реакция Поварова, открытая в 1960-х годах российским химиком Л.С. Поваровым [1].

Двухкомпонентные реакции Поварова включают в себя взаимодействие *N*-арилиминов и алкенов с электронодонорной группой, как показано на схеме 1.

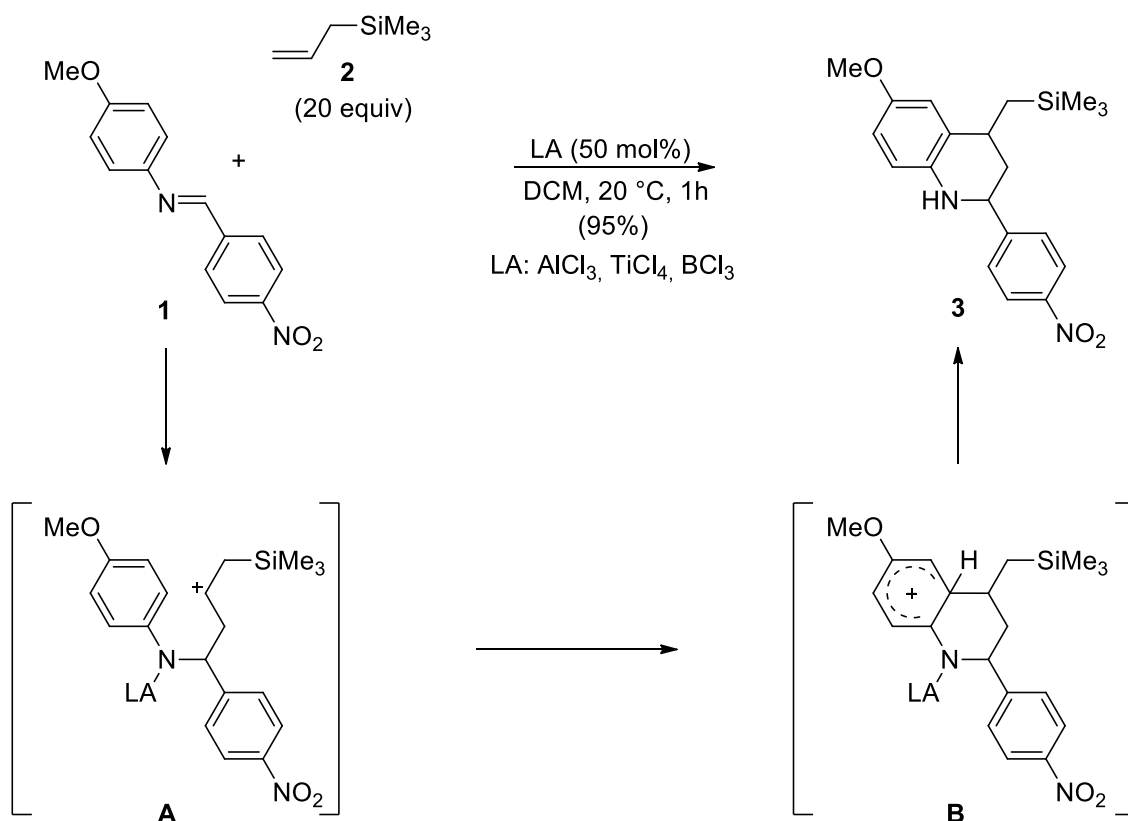
Схема 1



Хилт и его сотрудники использовали реакцию между имином **1** и аллилтриметилсиланом **2** в присутствии кислот Льюиса (LA) AlCl_3 , TiCl_4 и BCl_3 для определения порядка активности этих соединений в качестве катализаторов с помощью ЯМР-спектроскопии. Среди изученных кислот Льюиса, BCl_3 показал самую высокую константу скорости. На основании полученных констант скорости авторы предположили, что BCl_3 будет хорошей платформой для разработки асимметричной версии реакции Поварова, где катализатор будет контролировать образование первого стереогенного центра в начальном процессе аллилирования, предполагая ступенчатый механизм реакции. Был предложен механизм образования

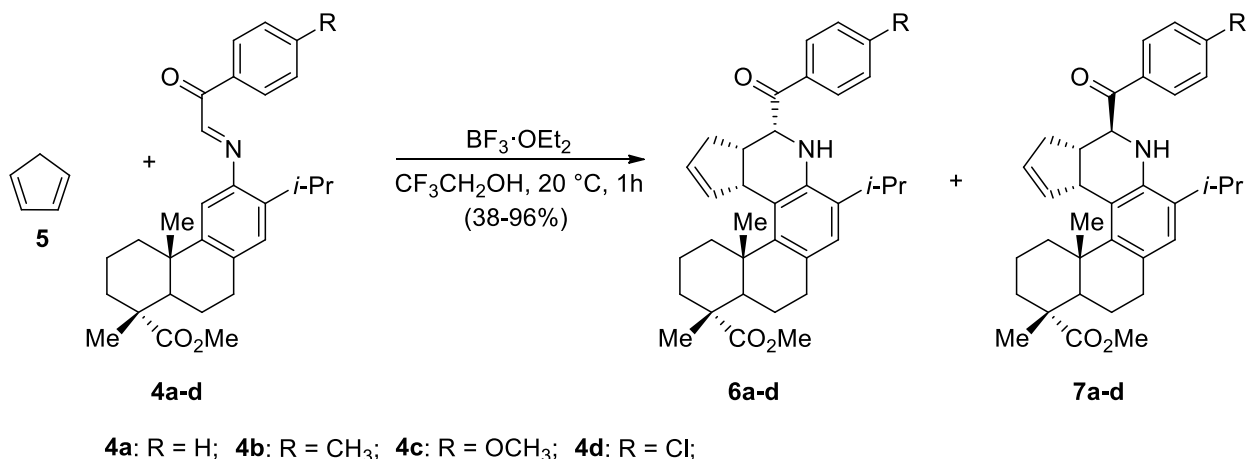
1,2,3,4-тетрагидрохиолина **3** через катионные интермедиаты **A** и **B** (схема 2) [2].

Схема 2



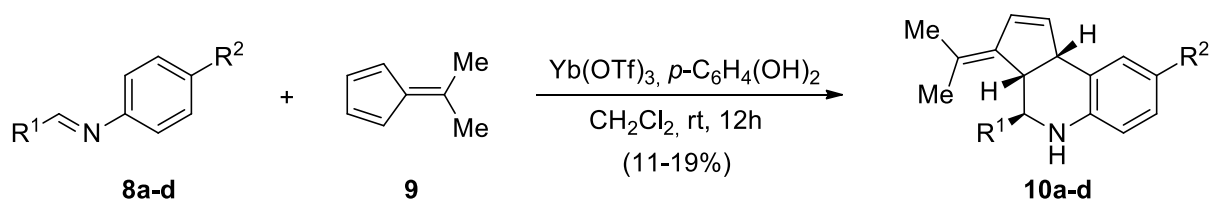
В статье Тарантина и соавторов арилглиоксалимины **4**, полученные из 12-аминодегидроабиединовой кислоты, подвергались реакции Поварова с циклопентадиеном **5** в присутствии $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ в трифторэтаноле с получением диастереомерных конденсированных нафто[1,2-*f*]хинолинов **6** и **7** с выходами от умеренных до отличных (до 96%) (схема 3) [3]. Аналогичные условия реакции были также применены к реакции между арилглиоксальимиными **58** и другими диенофилами, такими как этилвиниловый эфир и инден, с образованием соответствующих продуктов [4+2] циклоприсоединения.

Схема 3



В 2014 году Молчанов и его сотрудники впервые применили фульвены в качестве диенофилов в реакции Поварова, используя гидрохинон в качестве добавки для минимизации полимеризации фульвена. Так, [4+2]-циклоприсоединение между имидами **8** и диметилфульвеном **9** осуществлялось в присутствии Yb(OTf)₃ с получением соответствующих циклопента[с]хинолинов **10** с низкими выходами (схема 4) [4]. Имины **8** не вступали в реакцию с 6-адамантилиден-, тетраметил-, пентаметил-, 6-этил-6-метил- и 6,6-дифенилфульвенами. Также в 2018 году Радхакришнан и его сотрудники сообщили о синтезе схожих соединений с более высокими выходами с использованием Yb(OTf)₃ в качестве катализатора в ацетонитриле [5].

Схема 4

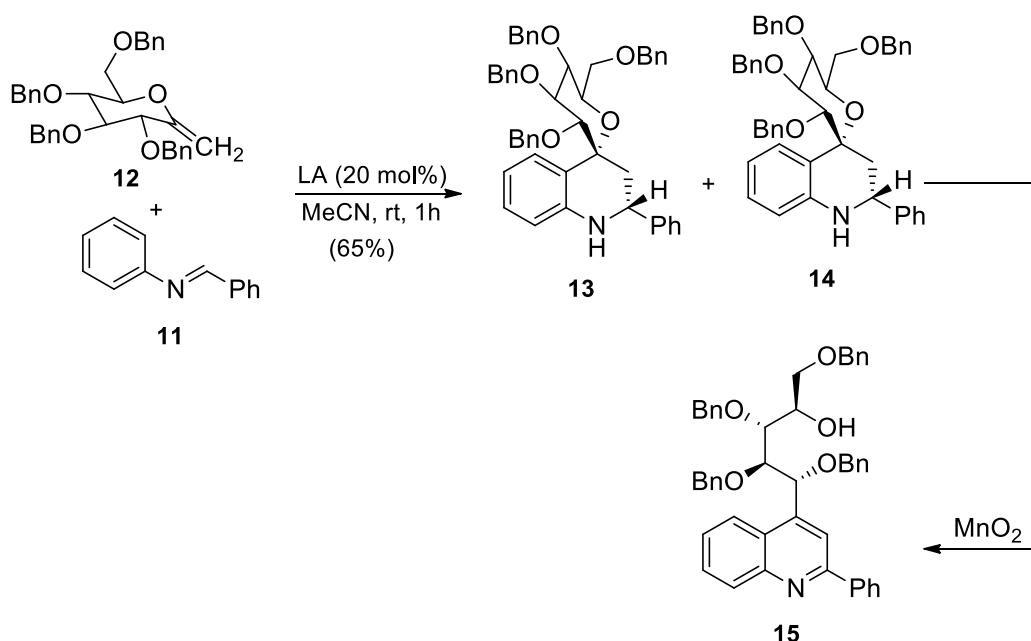


8a: R¹ = Ph, R² = H **8b:** R¹ = 4-ClC₆H₄, R² = H **8c:** R¹ = 4-ClC₆H₄, R² = OCH₃ **8d:** R¹ = Ph, R² = OC₂H₅

Доббелаар и Марзабади впервые сообщили о применении реакции Поварова между имином **11** и экзогликалем **12** для синтеза тетрагидрохинолинового производного углеводов (схема 5) [6]. Реакцию

между имином и экзогликалем проводили в присутствии кислот Льюиса, таких как $\text{Sc}(\text{OTf})_3$, $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ и $\text{Tb}(\text{OTf})_3$, и получали смесь диастереомерных глюкозо-спироанеллированных тетрагидрохинолинов **13** и **14**. Впоследствии данные тетрагидрохинолины, как сообщают авторы, также могут быть преобразованы в соответствующие производные хинолина **15** с использованием MnO_2 на стадии дегидрирования. Соединение **15** при концентрации 10 мМ было протестировано авторами в противораковом скрининге линии опухолевых клеток человека NCI60. Несколько линий лейкозных клеток (MOLT-4, HL-60(TB)) испытали умеренное ингибирование роста 40 и 45,8 %.

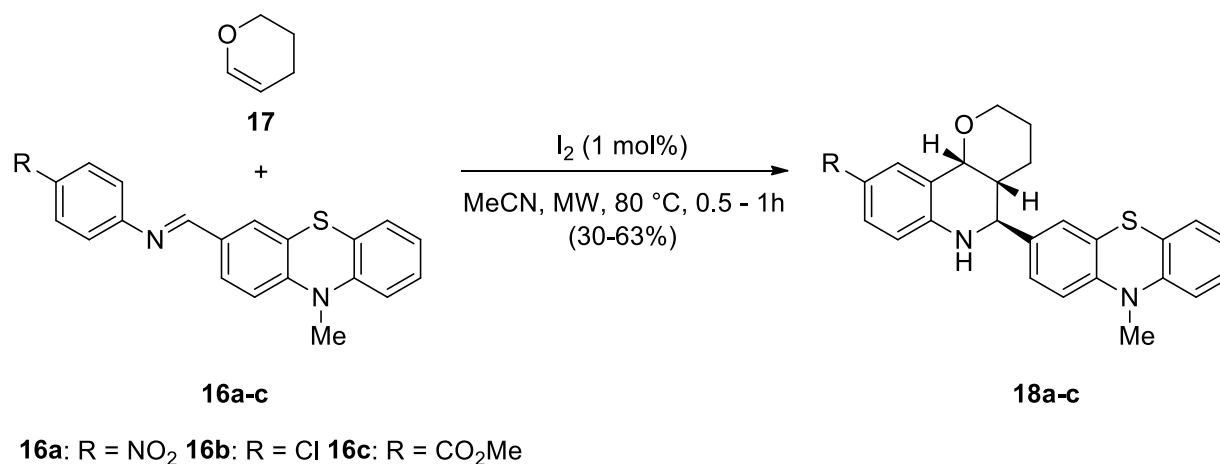
Схема 5



Авторами статьи [7] была проведена реакция Поварова (или реакция аза-Дильса-Альдера с обращенной электронной плотностью) между основаниями Шиффа **16**, содержащими фенотиазинильную группу с электронодонорной группой, и 3,4-дигидро-2*H*-пираном **17** в условиях микроволнового облучения в присутствии всего 1 мол.% молекулярного йода с получением биологически активных 2-фенотиазинил-замещенных производных тетрагидрохинолина **18** (схема 6). В случае иминов, полученных из обогащенных электронами ариламинов ($\text{R}^1 =$

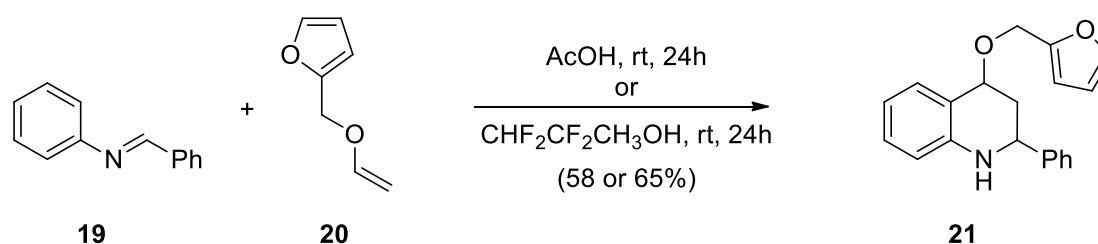
электронодонорный заместитель), полученный тетрагидрохинолин также подвергался ароматизации с получением соответствующих хинолинов. Исходные фенотиазинил-основания Шиффа **16** были получены с отличными выходами путем конденсации соответствующих альдегидов и ариламинов в MeCN с помощью микроволнового излучения.

Схема 6



Опарина и коллеги описали реакцию [4+2] циклоприсоединения между гетеродиеном **19** и фурфурилвиниловым эфиром **20**, которую проводили в уксусной кислоте или 2,2,3,3-тетрафторпропан-1-оле без какого-либо дополнительного катализатора. Реакция [4+2] циклоприсоединения приводила к 4-фурфурилокси-2-фенил-1,2,3,4-тетрагидрохинолину **21** с выходами 58% в уксусной кислоте и 65% в 2,2,3,3-тетрафторпропан-1-оле. В обоих растворителях также наблюдалось образование 2-фенилхинолина (схема 7) [8].

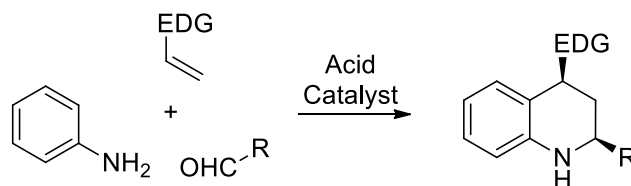
Схема 7



1.2 Трёхкомпонентный синтез 1,2,3,4-тетрагидрохинолинов с использованием реакции Поварова

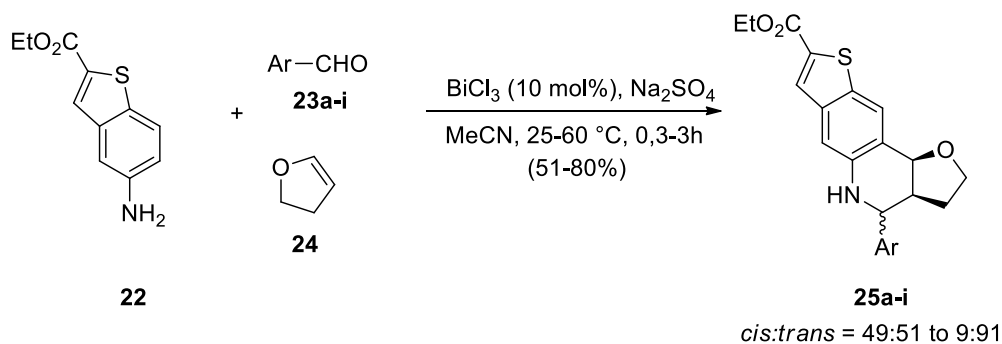
Трёхкомпонентные реакции Поварова включают в себя взаимодействие анилинов, альдегидов и алкенов с электронодонорной группой, как показано на схеме 8.

Схема 8



Дехаен и его сотрудники разработали трехкомпонентную реакцию Поварова с использованием этил-5-аминобензотиофен-2-карбоксилата **22** в качестве гетероциклического амина, ароматических альдегидов **23** и дигидропирана в качестве циклического енольного эфира **24** в присутствии BiCl₃ для синтеза тетрагидротиено[3,2-*f*]хинолинов **25** (схема 9) [9]. Авторы также провели реакцию между амином **22** и 2 эквивалентами циклического енольного эфира **24** в отсутствие ариальдегидов для синтеза соответствующих тетрагидрохинолинов с использованием в качестве катализатора BiCl₃ или молекулярного йода.

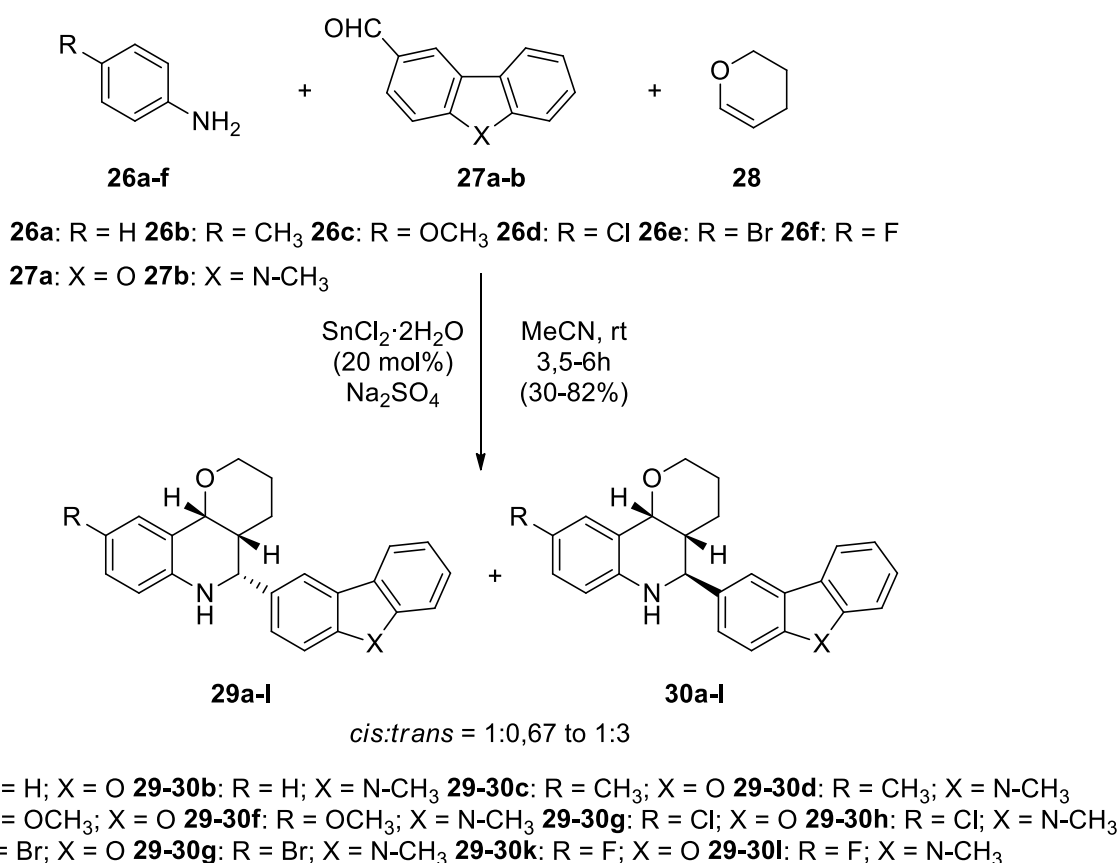
Схема 9



23a: Ar = Ph **23b:** Ar = 4-NO₂C₆H₄ **23c:** Ar = 4-CF₃C₆H₄ **23d:** Ar = 2-ClC₆H₄ **23e:** Ar = 4-FC₆H₄ **23f:** Ar = 4-CNC₆H₄
23g: Ar = 2-Furanyl **23h:** Ar = 4-OCH₃C₆H₄ **23i:** Ar = 4-NH₂C(O)C₆H₄

Кантевари и соавторы разработали one-pot реакцию имино-Дильса-Альдера, катализируемую SnCl_2 для синтеза новых диастереомерных гексагидро-2*H*-пирано-[3,2-*c*]тетрагидрохинолинов **29** и **30** (схема 10) [10]. Имины, образованные *in situ* из ароматических аминов **26** и дибензо[*b,d*]фуран-2-карбальдегида или 9-метил-9*H*-карбазол-3-карбальдегида **27**, реагировали с 3,4-дигидро-2*H*-пираном **28** диастереоселективно с получением тетрагидрохинолинов **29** и **30** в ацетонитриле при комнатной температуре в присутствии $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Тетрагидрохинолины 103k, 104k, 104l имели биологическую активность *in vitro* против *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv – с MIC = 3.13 мкг/мл каждый.

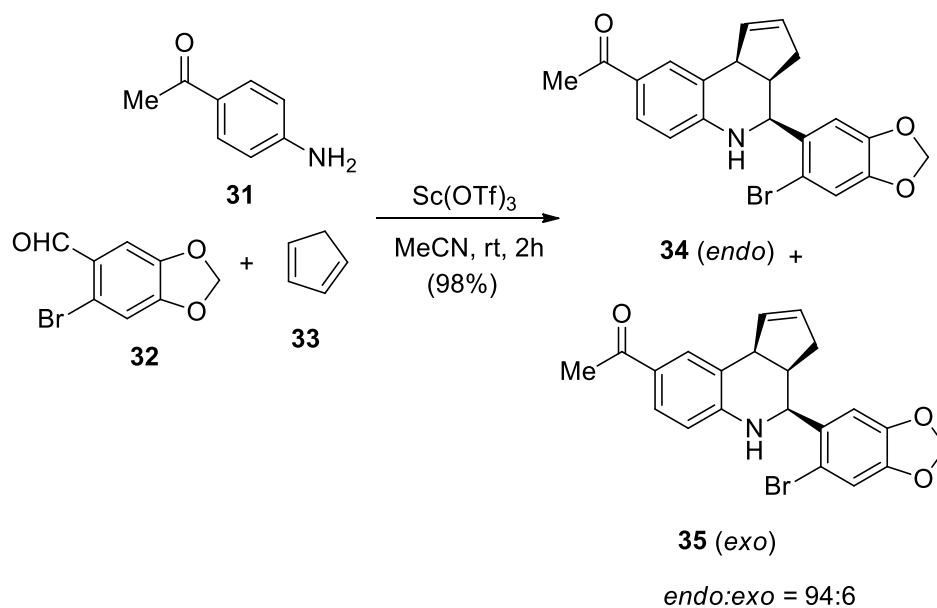
Схема 10



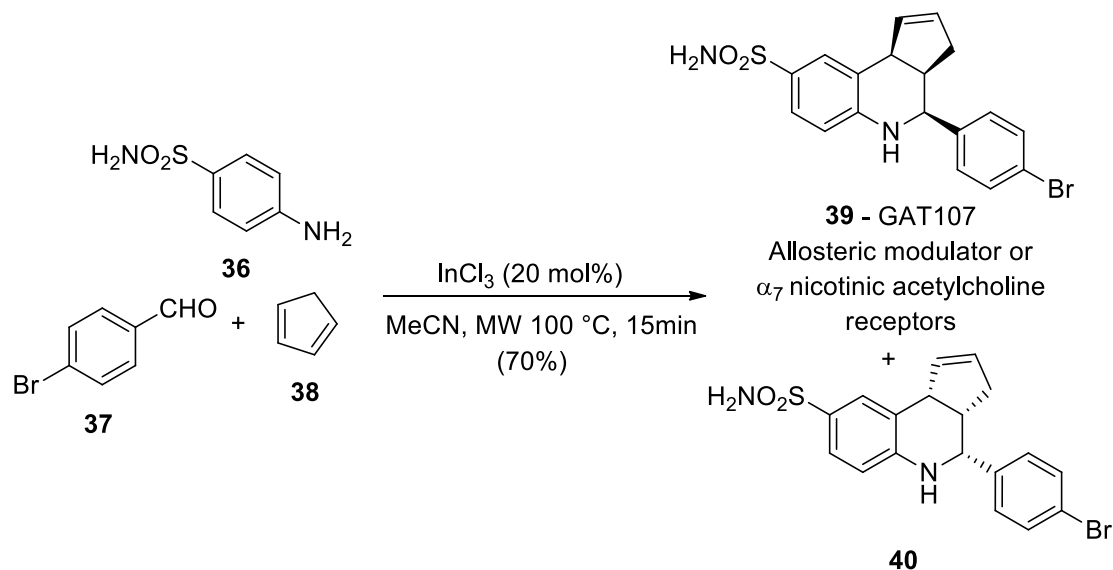
Селективный агонист рецептора эстрогена, связанного с G-белком, **34/35**, был синтезирован с превосходными выходом и диастереоселективностью с использованием трехкомпонентной реакции

Поварова и применением $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ в качестве катализатора. Структура полученного соединения была подтверждена рентгеноструктурным анализом. Реакция между 4-аминоацетофеноном **31**, 6-бромпипероналем **32** и цикlopентадиеном **33** в присутствии 10 мол.% $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ в ацетонитриле при комнатной температуре дала целевое соединение **34** с почти количественным выходом с диастереомерным соотношением 94:6 (схема 11) [11].

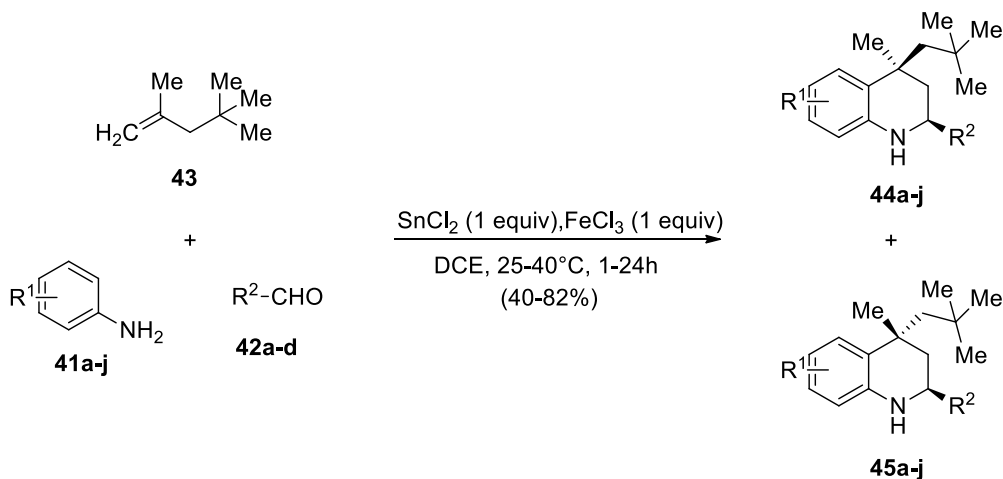
Схема 11



Папке и его сотрудники продемонстрировали использование микроволн для синтеза рацемической смеси *cis*-4-(4-бромфенил)-3a,4,5,9b-тетрагидро-3*H*-циклопента[*c*]-хинолин-8-сульфонамида с применением реакции Поварова в присутствии 20 мол.% InCl_3 в ацетонитриле из соединений **36-38** (схема 12) [12]. Они также изучили разделение энантиомеров **39** и **40** методом ВЭЖХ с использованием хиральной колонки и обнаружили, что (+)-энантиомер **39** (GAT107), имеющий абсолютную конфигурацию 3*aR*, 4*S*, 9*bS*, был эутомером - хиральным энантиомером, имеющим желаемую фармакологическую активность, а также наиболее мощным положительным аллостерическим модулятором α_7 никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, среди всех известных на момент публикации.



Гуо и др. разработали эффективную реакцию Поварова для синтеза тетрагидрохинолинов **44** и **45** из ариламинов **41**, альдегидов **42** и алкена **43**, промотированную частицами Sn(IV), которые были получены *in situ* в результате окислительно-восстановительной реакции между SnCl₂ и FeCl₃ (схема 13) [13]. Этот метод обеспечивает превосходные выходы продуктов если первоначальный ариламин содержит либо электроноакцепторные, либо электронодонорные группы, а также хорошо работает для алифатических и ароматических альдегидов, что значительно расширило спектр возможных реагентов. Важно отметить, что этот метод позволил получить доступ к тетрагидрохинолинам с четвертичным стереоцентром C₄.



41a: $R^1 = \text{H}$ **41b:** $R^1 = 4\text{-CH}_3$ **41c:** $R^1 = 4\text{-OCH}_3$ **41d:** $R^1 = 4\text{-NO}_2$ **41e:** $R^1 = 4\text{-Cl}$ **41f:** $R^1 = 4\text{-Br}$ **41g:** $R^1 = 2\text{-CH}_3$
41h: $R^1 = 2\text{-Cl}$ **41i:** $R^1 = 3\text{-CH}_3$ **41j:** $R^1 = 3\text{-Cl}$

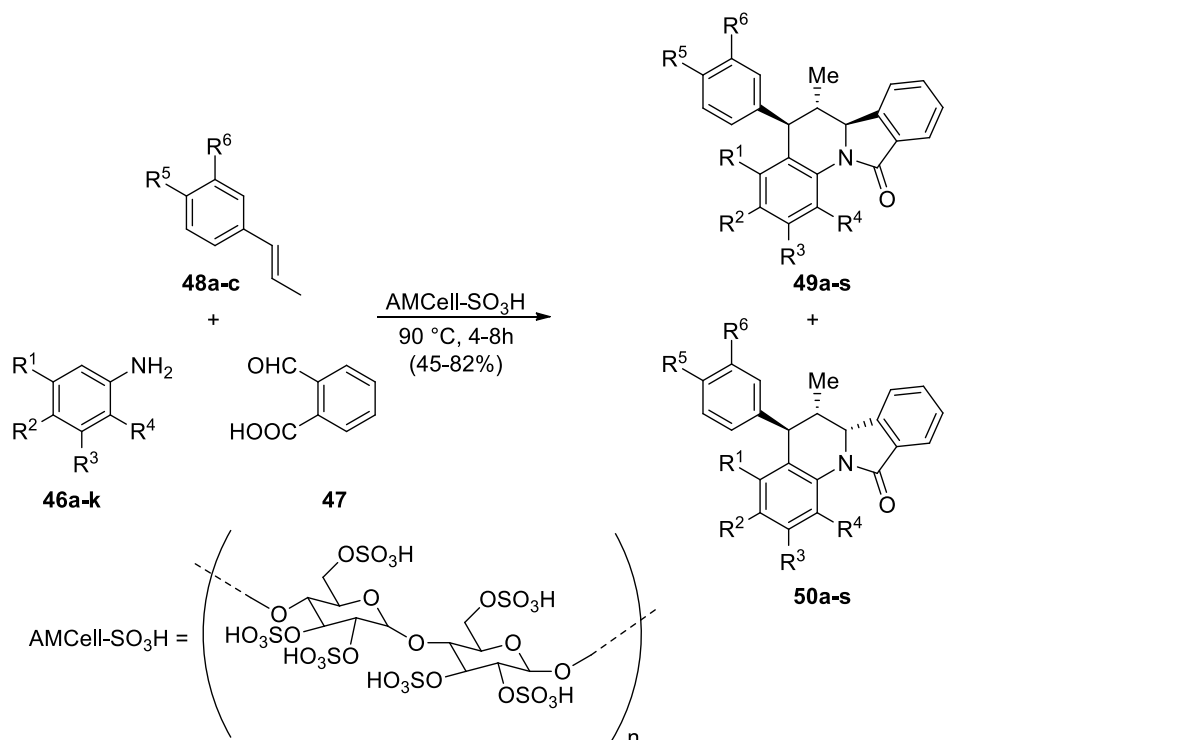
42a: $R^2 = \text{C}_3\text{H}_7$ **42b:** $R^2 = \text{CH}_3$ **42c:** $R^2 = \text{C}_7\text{H}_{15}$ **42d:** $R^2 = \text{Ph}$

44-45a: $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{C}_3\text{H}_7$ **44-45b:** $R^1 = 4\text{-CH}_3$; $R^2 = \text{CH}_3$ **44-45c:** $R^1 = 4\text{-OCH}_3$; $R^2 = \text{C}_7\text{H}_{15}$

44-45d: $R^1 = 4\text{-NO}_2$; $R^2 = \text{Ph}$ **44-45e:** $R^1 = 4\text{-Cl}$; $R^2 = \text{Ph}$ **44-45f:** $R^1 = 4\text{-Br}$; $R^2 = \text{C}_3\text{H}_7$ **44-45g:** $R^1 = 2\text{-CH}_3$; $R^2 = \text{C}_3\text{H}_7$

44-45h: $R^1 = 2\text{-Cl}$; $R^2 = \text{C}_3\text{H}_7$ **44-45i:** $R^1 = 3\text{-CH}_3$; $R^2 = \text{C}_3\text{H}_7$ **44-45j:** $R^1 = 3\text{-Cl}$; $R^2 = \text{C}_3\text{H}_7$

Аренас и Кузнецов описали домино-последовательность, состоящую из реакции имино-Дильса-Альдера и внутримолекулярной амидной циклизации. Данная последовательность, в ходе которой получают высокофункционализированные производные 6,6а-дигидроизоиндоло[2,1-а]хинолин-11(5H)-она **49** и **50**, происходит без растворителей. Данный каскад реакций осуществляли в присутствии каталитической аморфной измельченной сульфо-целлюлозы (AMCell-SO₃H) с использованием в качестве реагентов замещенных анилинов **46**, 2-формилбензойной кислоты **47** и олефинов **48** при 90 °С (схема 14). Продукты получались с хорошими выходами и с высокой региоселективностью (до 99%) и диастереоселективностью (до 100%). Авторы проверили множество катализаторов, включая кислоты Льюиса, кислоты Брэнстеда и катализаторы на полимерной основе, и выбрали AMCell-SO₃H как самый оптимальный [14].



46a: R¹ = H, R² = H, R³ = H, R⁴ = H;
46b: R¹ = H, R² = CH₃, R³ = H, R⁴ = H;
46c: R¹ = H, R² = OCH₃, R³ = H, R⁴ = H;
46d: R¹ = H, R² = C₂H₅, R³ = H, R⁴ = H;
46e: R¹ = H, R² = F, R³ = H, R⁴ = H;
46f: R¹ = H, R² = NO₂, R³ = H, R⁴ = H;
46g: R¹ = H, R² = H, R³ = H, R⁴ = CN;
46h: R¹ = H, R² = H, R³ = H, R⁴ = NO₂;
46i: R¹ = H, R² = H, R³ = H, R⁴ = F;
46j: R¹ = H, R², R³ = -OCH₂O-, R⁴ = H;
46k: R¹, R² = -CH=CH-CH=CH-,
 R³ = H, R⁴ = H;

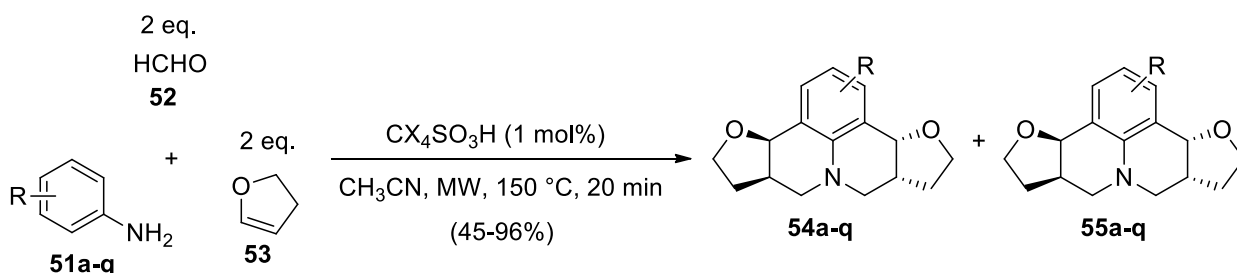
48a: R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
48b: R⁵ = OCH₃, R⁶ = H;
48c: R⁵, R⁶ = -OCH₂O-;

49a, 50a: R¹ = H, R² = H, R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
49b, 50b: R¹ = H, R² = CH₃, R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
49c, 50c: R¹ = H, R² = OCH₃, R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
49d, 50d: R¹ = H, R² = C₂H₅, R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
49e, 50e: R¹ = H, R² = F, R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
49f, 50f: R¹ = H, R² = NO₂, R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
49g, 50g: R¹ = H, R² = H, R³ = H, R⁴ = CN, R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
49h, 50h: R¹ = H, R² = H, R³ = H, R⁴ = NO₂, R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
49i, 50i: R¹ = H, R² = H, R³ = H, R⁴ = F, R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
49j, 50j: R¹ = H, R², R³ = -OCH₂O-, R⁴ = H, R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
49k, 50k: R¹, R² = -CH=CH-CH=CH-,
 R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OH, R⁶ = OCH₃;
49l, 50l: R¹ = H, R² = H, R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OCH₃, R⁶ = H;
49m, 50m: R¹ = H, R² = CH₃, R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OCH₃, R⁶ = H;
49n, 50n: R¹ = H, R² = C₂H₅, R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OCH₃, R⁶ = H;
49o, 50o: R¹ = H, R² = NO₂, R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OCH₃, R⁶ = H;
49p, 50p: R¹ = H, R², R³ = -OCH₂O-, R⁴ = H, R⁵ = OCH₃, R⁶ = H;
49q, 50q: R¹, R² = -CH=CH-CH=CH-, R³ = H, R⁴ = H, R⁵ = OCH₃, R⁶ = H;
49r, 50r: R¹ = H, R² = H, R³ = H, R⁴ = H, R⁵, R⁶ = -OCH₂O-;
49s, 50s: R¹ = H, R² = CH₃, R³ = H, R⁴ = H, R⁵, R⁶ = -OCH₂O-;

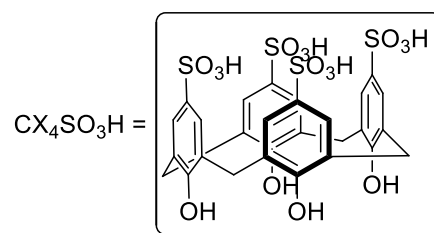
Фернандес и его сотрудники разработали двойную one-pot реакцию Поварова с использованием микроволн, катализируемую каликс[4]ареном *para*-сульфоновой кислоты (CX₄SO₃H) и позволяющую синтезировать производные джулолидина **54** и **55** с выходами от хороших до отличных, но с низкой диастереоселективностью с использованием в качестве начальных

реагентов ариламинов **51**, формальдегида **52** и 2,3-дигидрофурана **53** (схема 15) [15].

Схема 15

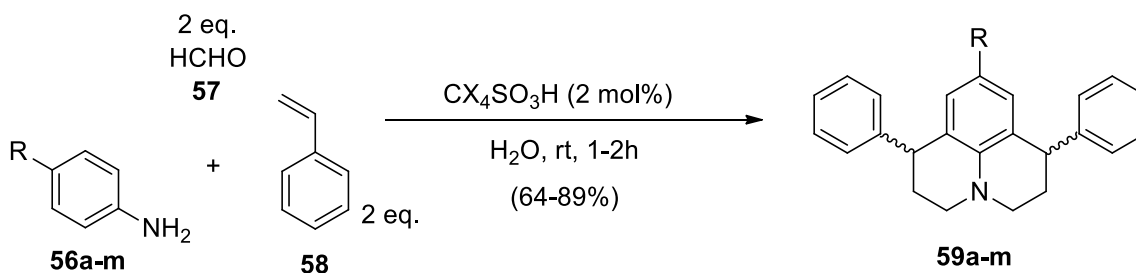


51a: R = 4-Br **51b**: R = 4-F **51c**: R = 4-Cl **51d**: R = 4-I **51e**: R = 4-CF₃ **51f**: R = 4-t-Bu **51g**: R = 4-CH₃
51h: R = 4-CN **51i**: R = 4-OPh **51j**: R = 4-CO₂Bu **51k**: R = H **51l**: R = OCH₃ **51m**: R = 4-SCH₃ **51n**: R = 4-Ph;
51o: R = 4-NO₂ **51p**: R = 3-CF₃ **51q**: R = 3-SCH₃



Фернандес и его коллеги также использовали схожую диастереоселективную трехкомпонентную каскадную реакцию, катализируемую тем же каликс[4]ареном *para*-сульфоновой кислоты (CX₄SO₃H), для синтеза фенил-замещенных джулолидинов **59** из ариламинов **56**, 2 эквивалентов формальдегида **57** и 2 эквивалента стирола **58** (схема 16). Реакцию также тестировали в присутствии других кислот Бренстеда, таких как трифторуксусная кислота, уксусная кислота, *n*-толуолсульфокислота и серная кислота, но они дали более низкие выходы и диастереоселективность, нежели каликс[4]арены [16].

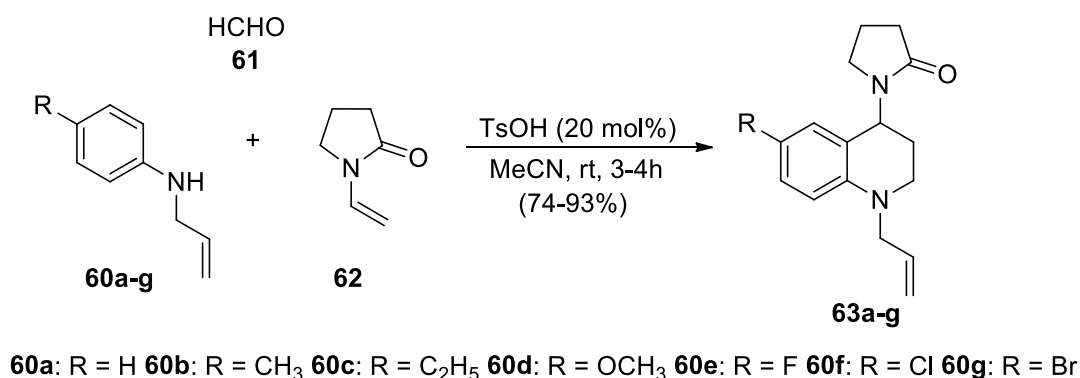
Схема 16



56a: R = H **56b**: R = Br **56c**: R = F **56d**: R = Cl **56e**: R = *t*-Bu **56f**: R = OCH₃ **56g**: R = SCH₃ **56h**: R = OH
56i: R = SH **56j**: R = CF₃ **56k**: R = NO₂ **56l**: R = CN **56m**: R = CO₂H

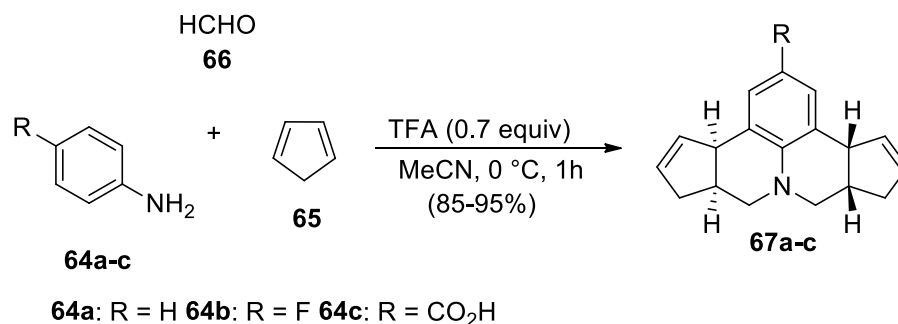
Родригез и коллеги описали эффективный синтез производных *N*-аллил-4-замещенных-1,2,3,4-тетрагидрохинолина **63** с выходами от хороших до отличных с использованием трехкомпонентной катионной реакции Поварова между *N*-аллиланилинами **60**, формальдегидом **61** (37% раствор в метаноле) и *N*-винил-2-пирролидиноном **62** с TsOH (20 мол.%) в качестве катализатора в ацетонитриле (схема 17). Также авторами были синтезированы *N*-пропаргилпроизводные с использованием *N*-пропаргиланилина в качестве исходного реагента в присутствии InCl₃ (20 мол.%) в качестве катализатора. Обе серии соединений были исследованы на предмет их ингибирующей активности против AChE и BChE, и было обнаружено, что *N*-аллильные производные имеют большую активность. В частности, соединение **63e** показало самое эффективное ингибирование AChE (IC₅₀ = 72 μM), а соединения **63b**, **63c**, **63g** – эффективнее других ингибировали BChE (IC₅₀ = 32 μM, 25 μM, 29 μM соответственно) [17].

Схема 17



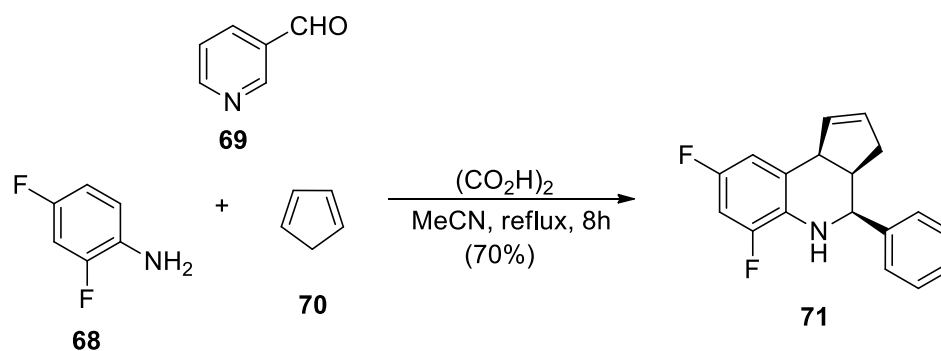
Толстикова с соавторами изучили реакцию низших алифатических альдегидов (формальдегид, ацетальдегид и пропаналь) с ариламинами **64** и циклопентадиеном **65** в присутствии TFA. В случае формальдегида **66** замещенные джулолидины **67**, образующиеся в результате двойной реакции Поварова, были получены в качестве основного продукта с превосходным выходом (схема 18). В реакции с ацетальдегидом получалась смесь продуктов, а с пропаналем – трициклическая система в качестве единственного продукта, но с низким выходом в 17% [18].

Схема 18



Голгицид А **71** был синтезирован Маком и др. с выходом 70% с использованием трехкомпонентной реакции Поварова между 2,4-дифторанилином **68**, пиридин-3-карбальдегидом **69** и циклопентадиеном **70** в присутствии щавелевой кислоты в качестве катализатора при кипячении в ацетонитриле (схема 19). Мажорный *cis*-продукт был использован в анализах личинок комаров и взрослых особей. Данная процедура была позже расширена авторами для синтеза библиотеки из 18 аналогов Голгицида А в аналогичных условиях [19].

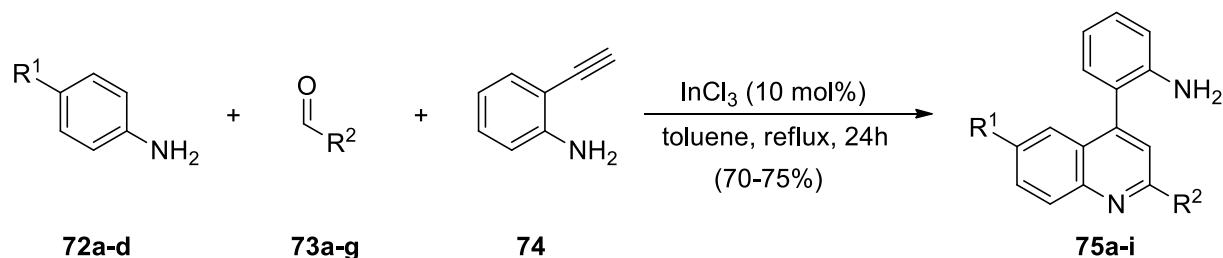
Схема 19



Сингхом и коллегами была описана эффективная последовательная реакция ароматических аминов **72**, ароматических альдегидов **73** и функционализированных алкинов **74**, которая в присутствии катализатора InCl_3 , приводила к образованию новых производных хинолина **75**, проявляющих значительную флуоресцентную активность, с хорошими выходами (схема 20). Фотофизические исследования хинолинов проводились измерениями поглощения и фотолюминесценции. Одно конкретное

соединение **75h**, имеющее максимальную интенсивность в течение 4 часов, излучающее зеленый цвет ($\Phi = 0,78$) со средним временем жизни 6,20 нс, было названо лучшим среди тестируемых соединений. Присутствие аминогруппы у 4-арильного заместителя хинолинового скаффолда играет важную роль в успешном проведении циклизации Поварова и усилении флуоресцентных свойств синтезированных хинолинов [20].

Схема 20



72a: R¹ = H **72b:** R¹ = OCH₃ **72c:** R¹ = Cl **72d:** R¹ = CH₃

73a: R² = C₆H₅ **73b:** R² = 4-CH₃C₆H₄ **73c:** R² = 4-ClC₆H₄ **73d:** R² = 4-BrC₆H₄ **73e:** R² = 2-thienyl

73f: R² = 4-OCH₃C₆H₄ **73g:** R² = 4-O₂NC₆H₄

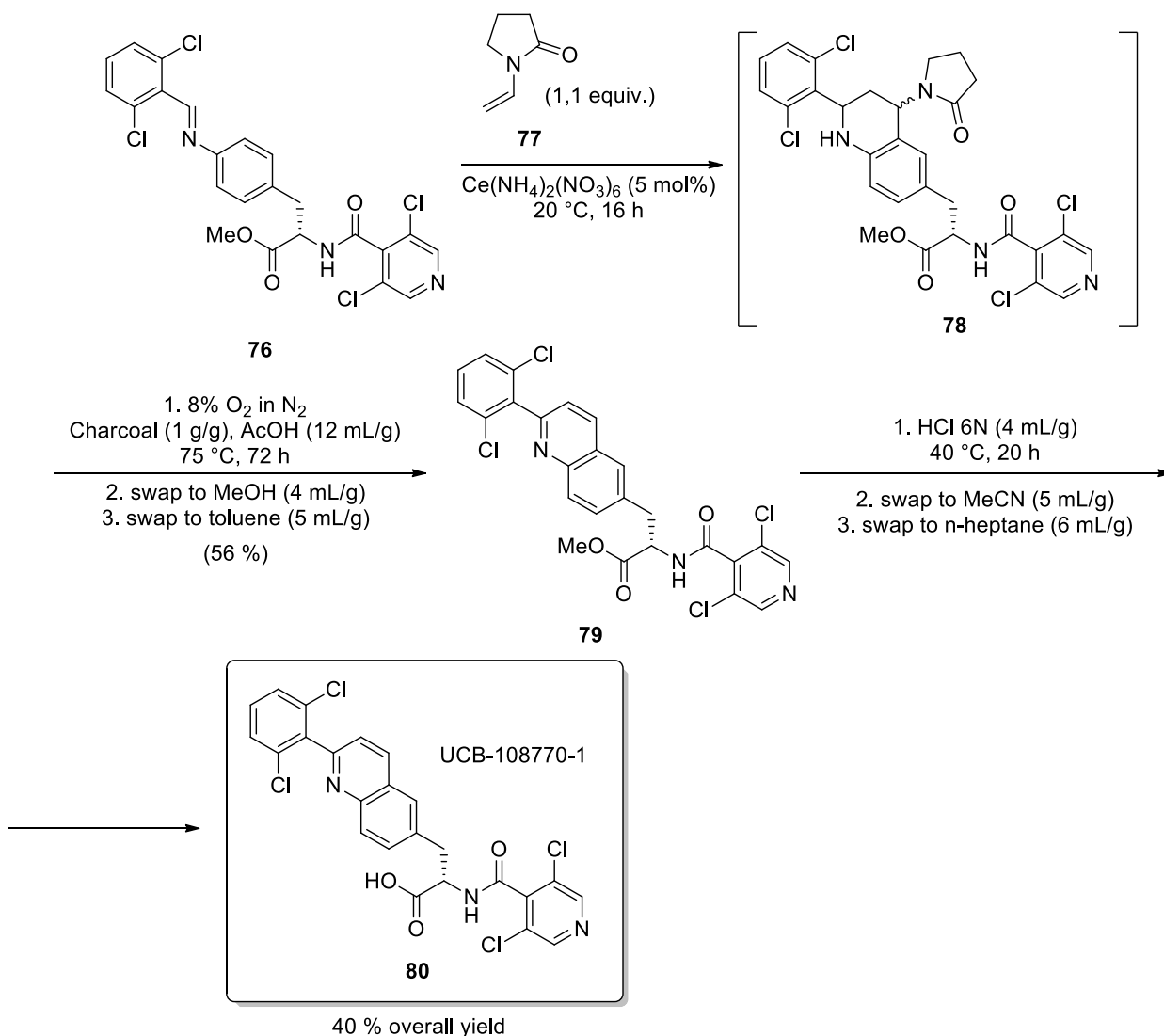
75a: R¹ = H, R² = C₆H₅ **75b:** R¹ = OCH₃, R² = 4-CH₃C₆H₄ **75c:** R¹ = OCH₃, R² = 4-ClC₆H₄

75d: R¹ = OCH₃, R² = 4-BrC₆H₄ **75e:** R¹ = Cl, R² = 2-thienyl **75f:** R¹ = Cl, R² = 4-OCH₃C₆H₄

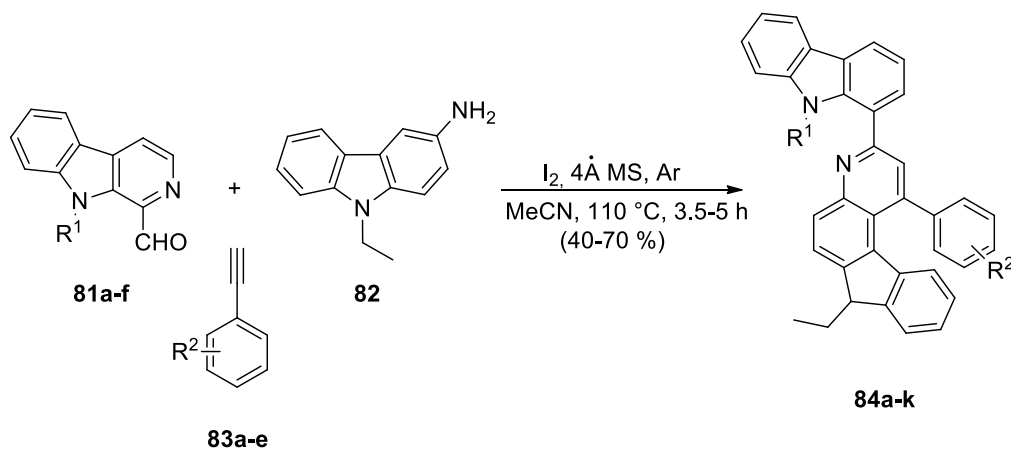
75g: R¹ = CH₃, R² = 4-CH₃C₆H₄ **75h:** R¹ = CH₃, R² = 4-ClC₆H₄ **75i:** R¹ = CH₃, R² = 4-O₂NC₆H₄;

Керфонтейн и др. описали практический синтез нового антагониста мембранного белка VLA-4 — соединения **80** с кодовым названием UCB-108770-1 — потенциального средства лечения рассеянного склероза. Ключевой этап основан на реакции Поварова имина **76** с алкеном **77** с получением промежуточного тетрагидрохинолина **78**, который затем подвергают окислительной ароматизации с получением необходимого хинолина **79**. Модификация синтеза **80** привела к уменьшению сложности и устранению хроматографической очистки. Эта модификация была продемонстрирована химиками в масштабном синтезе 32 кг антагониста с высоким выходом и превосходной чистотой [21]. На схеме 21 показаны ключевые стадии синтеза антагониста, в которых применяется реакция Поварова.

Схема 21



Сингх и др. представили простой и эффективный безметалловый синтез флуоресцентных производных пиrido(2,3-*c*)карбазола **84** (аналогов Нитрамарина) из 1-формил-9*H*-β-карболинов **81**, 3-амино-9-этилкарбазола **82** и концевых алкинов **83**. Преимуществами этого подхода являются простота в эксплуатации, использование I₂ в качестве нетоксичного и недорогого катализатора, широкий спектр субстратов и хорошие выходы продуктов. Кроме того, эти продукты показали отличные люминесцентные свойства с квантовым выходом (Φ_F) до 60% [22]. Синтез представлен на схеме 22.



81a: $R^1 = H$ **81b:** $R^1 = Me$ **81c:** $R^1 = Et$ **81d:** $R^1 = \text{benzyl}$ **81e:** $R^1 = n\text{-Bu}$ **81f:** $R^1 = \text{allyl}$

83a: $R^2 = H$ **83b:** $R^2 = 4\text{-F}$ **83c:** $R^2 = 4\text{-Me}$ **83d:** $R^2 = 4\text{-Et}$ **83e:** $R^2 = 4\text{-n-Pr}$

84a: $R^1 = H, R^2 = H$ **84b:** $R^1 = Me, R^2 = H$ **84c:** $R^1 = Me, R^2 = 4\text{-F}$ **84d:** $R^1 = Me, R^2 = 4\text{-Me}$ **84e:** $R^1 = Me, R^2 = 4\text{-Et}$;

84f: $R^1 = Me, R^2 = 4\text{-n-Pr}$ **84g:** $R^1 = Et, R^2 = 4\text{-Me}$ **84h:** $R^1 = n\text{-Bu}, R^2 = H$ **84i:** $R^1 = \text{benzyl}, R^2 = H$

84j: $R^1 = \text{benzyl}, R^2 = 4\text{-Me}$ **84k:** $R^1 = \text{allyl}, R^2 = H$

2 Результаты и их обсуждение

Как было показано в литературном обзоре, тетрагидрохинолиновый scaффорд является одной из привилегированных структур обладающих ярко выраженными druglike характеристиками и его производные могут достаточно легко получены по реакции Поварова. В данной работе нами была предпринята попытка объединить два гетероциклических фрагмента (тетрагидрохинолиный и изоксазольный) (рисунок 1) с целью получения новых цитотоксических агентов. Объединения ряда гетероциклических мотивов в одной молекуле зарекомендовало себя как достаточно успешная стратегия для получения структурно-разнообразных комбинаторных библиотек с различными видами биологической активности [23, 24, 25].

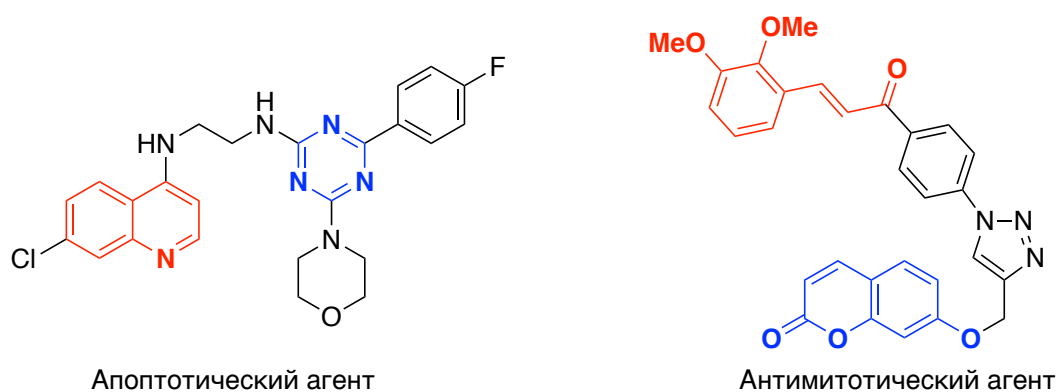
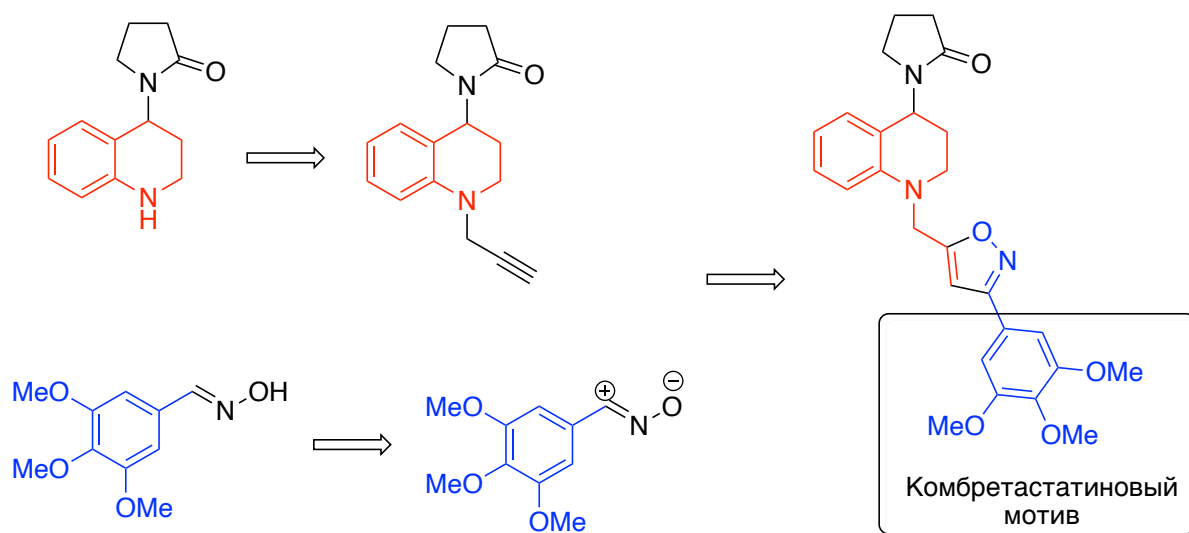


Рисунок 1 – Апоптотический и антимитотический агенты

Обобщенная стратегия сборки целевых соединений **90** заключалась в объединении тетрагидрохинолинового фрагмента с моно- и триметоксифенильным ядром посредством образующегося изоксазольного цикла в ходе реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения (схема 23). Финальная структура содержит в своем составе комбретастиновый мотив, что позволит увеличить потенциальную противоопухолевую активность целевых соединений.

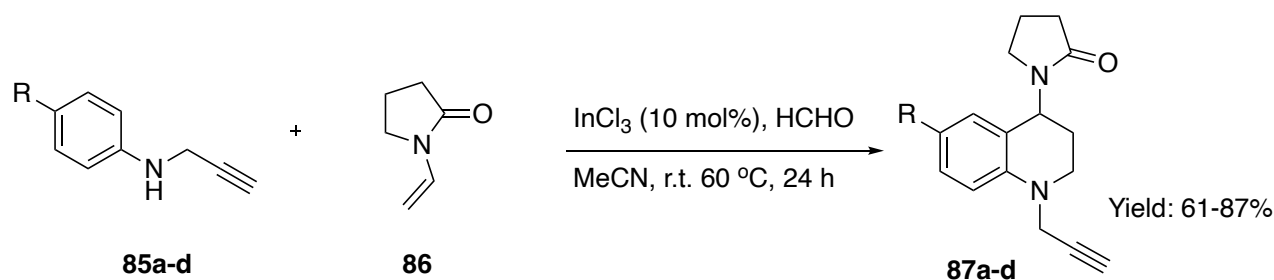
2.1 Синтез целевых соединений

Схема 23



На первом этапе были синтезированы исходные *N*-пропаргилтетрагидрохинолины по реакции Поварова (схема 24). Реакция между пропаргиламинами **85** и винилпиролидоном **86** протекала в стандартных условиях в присутствии кислоты Льюиса (InCl_3) и приводила к целевым хинолинам **87** с хорошими выходами (61-87%).

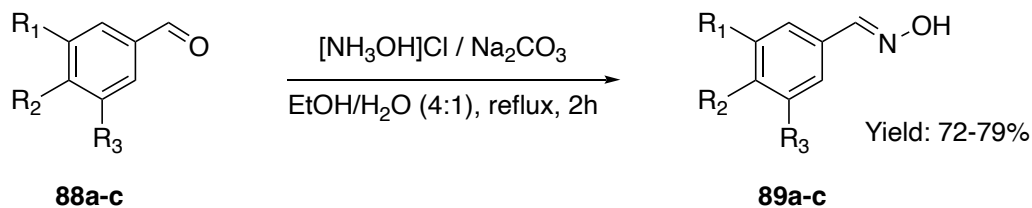
Схема 24



a: R = H; b: R = Me; c: R = OMe; d: R = Cl

Оксимы **89** необходимые для генерации нитрилоксидов были получены из соответствующих альдегидов **88** в ходе непродолжительного кипячения с гидросиламином в этаноле (схема 25).

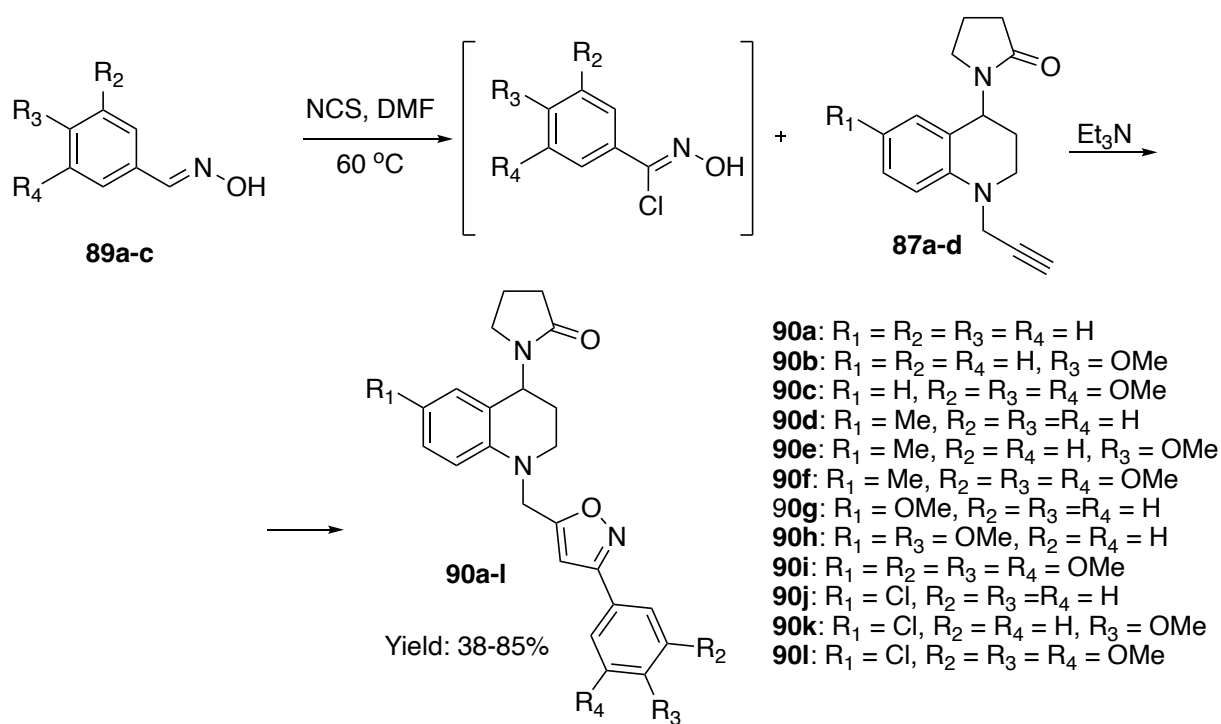
Схема 25



a: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$; **b:** $R_1 = R_3 = \text{H}, R_2 = \text{OMe}$; **c:** $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OMe}$

Целевые комбинированные производные тетрагидрохинолина **90a-l** получали в ходе реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения нитролоксидов, генерируемых *in situ*, к алкинам **87** (схема 26).

Схема 26



Строение синтезированных соединений подтверждено с помощью спектроскопии ЯМР ^1H и ^{13}C . В протонном спектре соединений **90a-l** наблюдается все характеристические химические сдвиги, включая синглет в области 6.23–6.63 м.д. соответствующий H4 изоксазольного цикла.

2.2 Исследование противоопухолевой активности

Для исследования противоопухолевого эффекта синтезированных производных тетрагидрохинолина мы использовали фенотипический скрининг. Несмотря на множество различных способов оценки противоопухолевого эффекта (цитостатичность и цитотоксичность), используемых в скрининговых подходах, МТТ-тест является одним из самых удобных как по качеству и воспроизводимости результатов, так и по соотношению цена/времени на одну точку анализа. Именно исходя из этих соображений мы остановились на МТТ-теста. В нашей работе исследовался противоопухолевый эффект в отношении двух клеточных линий: карцинома легкого (A549) и гепатоцеллюлярной карциномы (HepG2). Основные результаты МТТ-теста представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Цитотоксичность *in vitro* соединений **90a-l**

Цитотоксичность, IC ₅₀ [μM]		
Соединение	A549	HepG2
90a	35.3 ± 8.8	6.8 ± 0.71
90b	52.0 ± 17.8	19.5 ± 17.3
90c	31.0 ± 0.7	78.6 ± 2.5
90d	45.2 ± 3.5	26.2 ± 4.2
90e	nd	10.9 ± 2.5
90f	58.5 ± 2.2	74.9 ± 0.04
90g	72.7 ± 12.9	43.9 ± 6.9
90h	62.9 ± 3.9	nd
90i	88.2 ± 10.2	>100
90j	16.9 ± 3.4	5.2 ± 1.9
90k	>100	27.6 ± 1.6

Продолжение таблицы 1

Цитотоксичность, IC ₅₀ [μM]		
Соединение	A549	НерG2
90i	34.4 ± 7.2	>100
Комбретастин A4	1.98 ± 0.29	1.77 ± 0.76

Как видно из представленных данных, большинство соединений проявляют умеренный цитотоксический эффект. К сожалению соединения содержащие комбретастиновый фрагмент **90c,f,i,l** к нашему удивлению проявили невысокий уровень цитотоксичности, при этом следует отметить, что линия НерG2 оказалось более чувствительна к нашим потенциальным антимитотическим агентам, чем линия A549. Самым токсичным соединением в отношении обеих линий рака оказалось соединение **90j**, несущее фенильный заместитель при 3-атоме изоксазольного кольца.

В заключении следует отметить, что объединение двух гетероциклических фармакофоров может считаться в достаточной степени жизнеспособной стратегией для получения новых цитотоксических агентов. Однако для выявления механизма действия синтезированных соединений требуются дополнительные исследования.

3 Экспериментальная часть

3.1 Реагенты и оборудование

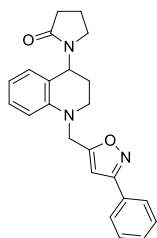
Все реагенты были приобретены у реактивы производства Merck, Acros Organics и Sigma–Aldrich использовались без дополнительной очистки. Ход реакции контролировали с помощью тонкослойной хроматографии на листах силикагеля TLC 60 F254 фирмы Merck. Колоночную хроматографию проводили с использованием силикагеля, а используемые растворители были аналитического качества. Ход реакций и чистоту целевых продуктов оценивали посредством хроматографического анализа, который проводили на хроматографе «Agilent 1220 м» со спектрофотометрическим детектором на колонке ZORBAX C-18. В качестве элюента использовали смесь ацетонитрила и воды в соотношении 8 : 2; скорость потока 1 мл/мин. Обработка и преобразование полученных данных проводилась с применением программы OpenLab. Температуры плавления определены на нагревательном столике Voetius и не исправлены. Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (^1H и ^{13}C) измеряли на спектрометре Bruker (400 МГц ЯМР ^1H и 100 МГц ЯМР ^{13}C) с использованием CDCl_3 в качестве растворителя. Значения J указаны в Гц; химические сдвиги указаны в частях на миллион (δ) относительно пика растворителя (остаточный CHCl_3 в CDCl_3 составляет 7.26 ppm для протонов и 77.16 для атомов углерода). ИК-спектры сняты на приборе ФСМ-120 ИК-спектрометре с Фурье-преобразованием в таблетках KBr.

3.2 Синтез целевых соединений

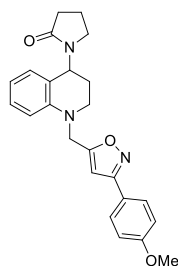
N-аллилтетрагидрохинолины **87a-d** были получены в соответствии с методикой [26].

2.2 ммоль соответствующего оксима **87** растворяли в 10 мл DMF и при комнатной температуре добавляли 2.2 ммоль NCS. К полученной смеси добавляли 10 мкл концентрированной HCl и смесь нагревали при 60 °C в течении 30 минут. После охлаждения к смеси добавляли 2 ммоль ацетилена **89** и аккуратно при перемешивании добавляли 5 ммоль Et₃N. Полученную смесь перемешивали ночь. На следующий день смесь разбавляли 50 мл насыщенного раствора соли, экстрагировали EtOAc (3 по 50 мл), экстракты упаривали, остаток очищали колончатой хроматографией на силикагеле (EtOAc/Hexane 30:70).

3-Фенил-5-[4-(2'-оксопирролидин-1'-ил)-3,4-дигидрохиолин-1(2H)-ил)-метил]-изоксазол (90a)



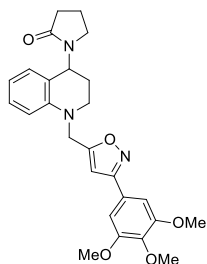
Выход: 74%, ИК-спектр (KBr) ν , см⁻¹: 3465, 2931, 1670, 1497, 1439, 1167, 1017, 665. ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃) δ 2.00 (м, 4H), 2.14 (м, 4H), 2.49 (м, 4H), 3.19 (м, 2H), 3.50 (м, 4H), 4.56 (м, 4H), 4.62 (м, 6H), 5.41 (кв, $J=7.2$ Гц, 2H), 7.10 (м, 2H), 7.42 (м, 8H), 7.74 (м, 8H). ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃) δ : 18.4, 26.7, 31.5, 43.8, 47.7, 48.0, 48.2, 100.4, 112.0, 117.1, 120.1, 126.9, 127.9, 128.8, 129.0, 130.2, 145.0, 162.5, 170.0, 175.7.



3-(4-Метоксифенил)-5-[4-(2'-оксопирролидин-1'-ил)-3,4-дигидрохиолин-1(2H)-ил)-метил]-изоксазол (90b)

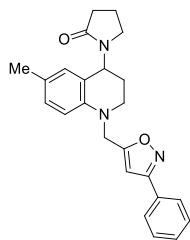
Выход: 64%, ИК-спектр (KBr) ν , см⁻¹: 3442, 2961, 1672, 1422, 1251, 1018, 835, 532. ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃) δ : 2.04 (м, 4H), 2.12 (м, 4H), 2.48 (м, 4H), 3.18 (м, 2H), 3.48 (м, 14H), 3.81 (с, 3H), 4.53 (с, 3H), 4.59 (м, 2H), 5.40 (кв, $J=7.5$ Гц, 2H), 6.32 (м, 2H), 6.64 (м, 2H), 6.68 (м, 4H) 6.70 (м, 2H), 6.89 (м, 2H), 7.10 (м, 4H), 7.42 (м, 3H). ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃) δ : 18.3, 26.6, 31.5,

43.8, 47.6, 47.9, 48.1, 55.4, 100.1, 111.9, 114.2, 117.6, 120.0, 121.3, 127.8, 128.2, 128.7, 145.0, 161.0, 162.0, 169.7, 175.7.



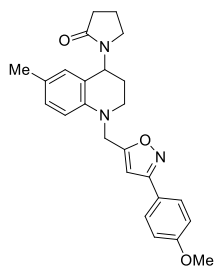
3-(3,4,5-Триметоксифенил)-5-[4-((2'-оксопирролидин-1'-ил)-3,4-дигидрохинолин-1(2H)-ил)-метил]-изоксазол (90с)

Выход: 65%, ИК-спектр (KBr) ν , cm^{-1} : 3437, 2939, 1668, 1421, 1236, 1124, 1001. 843. ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ : 2.07 (м, 4H), 2.50 (м, 4H), 3.24 (м, 4H), 3.53 (м, 6H), 3.87 (м, 10H), 3.91 (с, 6H), 4.51 (с, 6H), 4.64 (м, 2H), 5.41 (кв, $J=7.4$ Гц, 2H), 6.32 (м, 4H), 6.56 (м, 4H), 6.64 (м, 2H), 6.83 (м, 2H), 6.99 (с, 1H), 7.29 (с, 1H). ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3) δ : 18.3, 26.4, 31.2, 43.5, 47.8, 48.4, 50.4, 56.4, 61.0, 100.7, 104.0, 113.2, 122.1, 122.6, 124.1, 127.1, 128.6, 139.6, 143.6, 153.7, 162.4, 169.5, 175.0.



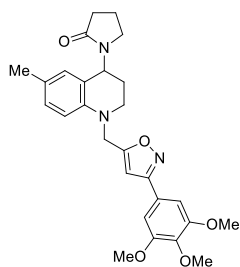
3-фенил-5-[4-((2'-Оксопирролидин-1'-ил)-6-метил-3,4-дигидрохинолин-1(2H)-ил)-метил]-изоксазол (90d)

Выход: 65%, ИК-спектр (KBr) ν , cm^{-1} : 3375, 2952, 1667, 1421, 1286, 1094, 905. 695. ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ : 2.03 (м, 4H), 2.20 (м, 4H), 2.19 (м, 4H), 2.50 (м, 2H), 3.19 (м, 6H), 3.45 (м, 8H), 4.54 (с, 6H), 4.59 (с, 6H), 5.38 (с, 6H), 6.36 (м, 2H), 6.58 (кв, $J=6.5$ Гц, 2H), 6.71 (с, 2H), 6.91 (с, 2H), 7.42 (с, 2H), 7.74 (м, 2H), 7.74 (м, 2H). ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3) δ : 18.4, 20.5, 27.0, 31.4, 43.9, 47.8, 48.2, 100.4, 112.2, 120.2, 126.8, 127.0, 128.5, 128.9, 129.0, 129.5, 129.9, 130.0, 142.8, 162.8, 170.2, 175.7.



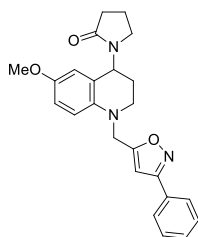
3-(4-Метоксифенил)-5-[4-((2'-оксопирролидин-1'-ил)-6-метил-3,4-дигидрохинолин-1(2H)-ил)-метил]-изоксазол (90e)

Выход: 65%, ИК-спектр (KBr) ν , cm^{-1} : 3367, 2958, 1664, 1425, 1252, 1176, 839. ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ : 1.92 (м, 4H), 2.21 (м, 4H), 2.48 (с, 3H), 3.08 (с, 3H), 3.31 (м, 4H), 3.84 (м, 10H), 4.31 (м, 10H), 4.38 (м, 2H), 5.36 (дд, $J=9.4$, 5.8 Гц, 1H), 6.59 (дд, $J=9.4$, 5.8 Гц, 1H), 6.71 (д, $J=8.4$ Гц, 2H), 6.87 (д, $J=2.0$ Гц, 1H), 6.94 (д, $J=2.0$ Гц, 1H), 7.10 (дд, $J=8.4$, 2.0 Гц, 1H), 7.73 (дд, $J=8.4$, 2.0 Гц, 1H). ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3) δ : 18.2, 20.6, 26.3, 31.2, 43.0, 47.0, 47.7, 48.7, 55.4, 100.8, 114.3, 121.5, 126.9, 127.7, 128.2, 129.1, 130.7, 133.4, 142.2, 162.0, 162.2, 171.1, 175.8.



3-(3,4,5-Триметоксифенил)-5-[(6-метил-4-(2'-оксопирролидин-1'-ил)-6-метил-3,4-дигидрохинолин-1(2H)-ил)-метил]-изоксазол (90f)

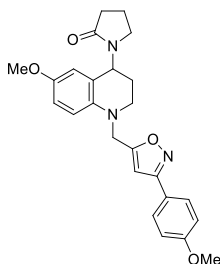
Выход: 70%, ИК-спектр (KBr) ν , cm^{-1} : 3393, 2935, 1668, 1421, 1124, 1001, 525. ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ : 2.00 (м, 6H), 2.15 (м, 10H), 2.19 (с, 3H), 2.51 (с, 3H), 3.20 (дд, $J=9.8$, 6.5 Гц, 1H), 3.48 (дд, $J=9.2$, 5.6 Гц, 1H), 3.86 (д, $J=8.6$ Гц, 1H), 3.90 (д, $J=8.6$ Гц, 1H), 4.51 (д, $J=2.7$ Гц, 1H), 4.63 (д, $J=2.7$ Hz, 1H), 5.4 (дд, $J=8.6$, 2.7 Hz, 2H), 6.32 (д, $J=8.9$ Hz, 2H), 6.7 (д, $J=8.8$ Гц, 2H), 6.96 (д, $J=8.9$ Гц, 2H). ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3) δ : 18.4, 20.5, 26.9, 31.6, 43.7, 48.0, 48.4, 48.4, 56.4, 61.4, 100.3, 104.1, 112.2, 120.2, 124.5, 128.3, 129.4, 133.6, 139.6, 142.8, 153.6, 162.4, 170.7.



3-фенил-5-[(6-метил-4-(2'-оксопирролидин-1'-ил)-6-метоксифенил)-метил]-изоксазол (90g)

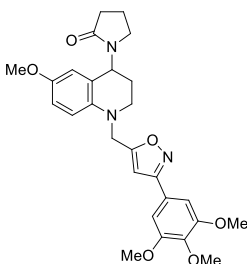
Выход: 70%, ИК-спектр (KBr) ν , cm^{-1} : 3393, 2949, 1661, 1503, 1421, 1285, 1040, 770. ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ : 2.00 (м, 4H), 2.13 (м, 4H), 2.48 (с, 3H), 3.19 (м, 3H), 3.42 (м, 4H), 3.68 (м, 6H), 4.49 (м, 10H), 4.57 (с, 6H), 5.39 (с, 6H), 6.35 (м, 2H), 6.49 (дд, $J=7.4$, 5.4 Гц, 1H), 6.61 (дд, $J=9.5$, 5.8 Гц, 1H), 6.69 (д, $J=8.6$ Гц, 2H), 6.61 (д, $J=2.0$ Гц, 1H), 6.69 (д, $J=2.0$ Гц, 1H), 7.42 (дд, $J=8.6$, 2.0 Гц, 1H), 7.73 (дд, $J=8.6$, 2.0 Гц, 1H). ЯМР ^{13}C (100 МГц,

CDCl₃) δ : 18.4, 26.8, 31.4, 43.7, 48.7, 48.2, 48.4, 58.6, 100.4, 113.6, 113.8, 114.1, 121.8, 126.8, 128.6, 128.9, 130.1, 139.4, 152.4, 162.5, 170.2, 175.7.



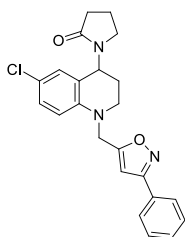
*3-(4-метоксифенил)5-[(6-метил-4-(2'-
оксопирролидин-1'-ил)-6-метокси-3,4-
дигидрохинолин -1(2H)-ил)-метил]-изоксазол (90h)*

Выход: 68%, ИК-спектр (KBr) ν , см⁻¹: 3398, 2937, 1662, 1427, 1250, 1174, 1026, 837. ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃) δ : 2.00 (м, 4H), 2.12 (м, 4H), 2.48 (с, 3H), 3.09 (с, 3H), 3.42 (м, 4H), 3.69 (м, 6H), 3.82 (м, 10H), 4.48 (с, 6H), 4.56 (с, 6H), 5.36 (с, 6H), 6.29 (м, 2H), 6.61 (дд, J = 7.4, 5.6 Гц, 1H), 6.70 (дд, J = 9.6, 6.0 Гц, 1H), 6.92 (дд, J = 8.8 Hz, 2H), 7.67 (дд, J = 8.8, 2.6 Hz, 1H). ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃) δ : 18.4, 26.5, 31.5, 44.0, 47.0, 48.0, 48.2, 55.4, 55.8, 100.2, 111.7, 113.5, 114.1, 114.5, 121.2, 128.2, 129.0 130.4, 138.4, 152.1, 161.6, 169.8, 175.7



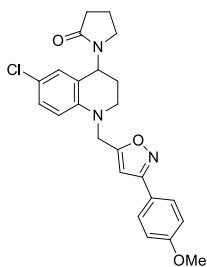
*3-(3,4,5-Триметоксифенил-5-[(6-метокси-4-(2'-
оксопирролидин-1'-ил)-6-метокси-3,4-
дигидрохинолин-1(2H)-ил)-метил]-изоксазол (90i)*

Выход: 68%, ИК-спектр (KBr) ν , см⁻¹: 3373, 2937, 1664, 1421, 1238, 1124, 825. ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃) δ : 2.04 (м, 4H), 2.15 (м, 4H), 2.51 (м, 4H), 3.22 (м, 6H), 3.50 (м, 10H), 3.69 (с, 3H), 3.87 (с, 3H), 3.9 (м, 2H), 4.48 (дд, J = 8.4, 5.6 Гц, 1H), 4.62 (дд, J = 9.6, 6.0 Гц, 1H), 5.43 (д, J = 2.6 Гц, 1H), 6.50 (д, J = 2.6 Гц, 1H), 6.61 (д, J = 8.7 Гц, 2H), 6.71 (дд, J = 8.7, 2.6 Гц, 1H), 6.97 (дд, J = 8.7, 2.6 Гц, 1H). ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃) δ : 18.4, 26.9, 31.4, 43.6, 48.2, 48.4, 48.6, 55.9, 56.4, 66.1, 100.4, 104.1, 113.4, 113.6, 114.1, 121.9, 124.4, 139.4, 139.7, 152.2, 153.7, 162.4, 170.3, 175.8.



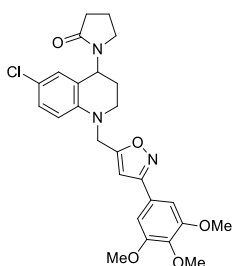
3-фенил-5-[(6-метокси-4-(2'-оксопирролидин-1'-ил)-6-хлор-3,4-дигидрохинолин-1(2H)-ил)-метил]-изоксазол (90j)

Выход: 70%, ИК-спектр (KBr) ν , cm^{-1} : 3427, 2930, 1659, 1496, 1127, 806.6, 771. ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ : 2.05 (м, 4H), 2.12 (м, 4H), 2.50 (м, 4H), 3.20 (м, 6H), 3.50 (м, 10H), 4.52 (с, 3H), 5.37 (с, 3H), 6.37 (с, 3H), 6.57 (с, 3H), 6.83 (м, 2H), 7.04 (дд, $J=7.4$, 5.6 Гц, 1H), 7.43 (дд, $J=9.6$, 6.0 Гц, 1H), 7.75 (д, $J=8.9$ Гц, 1H). ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3) δ : 18.3, 26.4, 31.2, 43.5, 47.4, 47.8, 48.2, 100.5, 113.2, 121.9, 122.5, 126.9, 127.3, 128.6, 128.7, 129.0, 130.2, 143.6, 162.6, 169.4, 175.8.



3-(4-метоксифенил)-5-[(6-метокси-4-(2'-оксопирролидин-1'-ил)-6-хлор-3,4-дигидрохинолин-1(2H)-ил)-метил]-изоксазол (90k)

Выход: 76%, ИК-спектр (KBr) ν , cm^{-1} : 3416, 2976, 1678, 1431, 1254, 1178, 1028, 837. ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ : 2.04 (м, 4H), 2.13 (м, 4H), 2.51 (м, 4H), 3.20 (м, 6H), 3.50 (м, 10H), 3.82 (с, 3H), 4.50 (с, 3H), 4.58 (с, 12H), 5.37 (м, 2H), 6.33 (дд, $J=8.4$, 5.6 Гц, 1H), 6.57 (дд, $J=9.6$, 6.0 Гц, 1H), 6.83 (д, $J=2.8$ Гц, 1H), 6.93 (д, $J=2.8$ Гц, 1H), 7.03 (д, $J=9.0$ Гц, 2H), 7.67 (дд, $J=9.0$, 2.8 Гц, 1H), 6.73 (дд, $J=9.0$, 2.8 Гц, 1H). ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3) δ : 18.4, 26.4, 31.4, 43.7, 47.7, 47.9, 48.2, 55.5, 100.2, 113.3, 114.4, 121.2, 121.8, 122.5, 127.3, 128.3, 128.6, 143.6, 161.6, 162.2, 169.1, 175.9.



3-(3,4,5-триметоксифенил)-5-[(6-метокси-4-(2'-оксопирролидин-1'-ил)-6-хлор-3,4-дигидрохинолин-1(2H)-ил)-метил]-изоксазол (90l)

Выход: 68%, ИК-спектр (KBr) ν , cm^{-1} : 3431, 2936, 1668, 1582, 1420, 1123, 999, 842, 733. ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ : 2.07 (м, 4H), 2.14 (м, 4H), 2.52 (м, 4H), 3.22 (м, 6H), 3.52 (м, 10H), 3.87 (с, 3H), 3.9 (с, 3H), 4.51 (с, 3H), 4.64 (с, 3H), 5.40 (с, 12H), 6.31 (дд, 2H), 6.57 (дд, $J=8.6$, 5.6 Гц, 1H), 6.84 (дд, $J=9.6$, 5.9 Гц, 1H), 6.96 (д, $J=2.8$ Гц, 1H), 7.05 (д., $J=2.8$ Гц, 1H). ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3) δ : 18.4, 26.4, 31.4, 43.5, 47.8, 47.9, 48.4, 56.5, 61.1, 100.3, 105.1, 113.2, 122.2, 122.8, 124.2, 127.2, 128.7, 139.8, 143.6, 153.7, 160.5, 169.6, 175.8.

3.3 Клеточная культура

Клетки карциномы легких A549 и клетки гепатоцеллюлярной карциномы HepG2 были приобретены в АТСС. Клетки A549 поддерживали в среде F12K (Gibco, Великобритания) с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS, Gibco, Великобритания), пенициллина (100 МЕ мл^{-1}), стрептомицина (100 $\mu\text{кг мл}^{-1}$) и GlutaMax. (2 мМ, Gibco, Великобритания). Клетки HepG2 поддерживали в Advanced MEM (Gibco, Великобритания) с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки (FBS, Gibco, UK), пенициллина (100 МЕ мл^{-1}), стрептомицина (100 $\mu\text{кг мл}^{-1}$) и GlutaMax. (1.87 мМ, Gibco, Великобритания). Культивирование всех линий клеток проводили во влажной атмосфере 95%воздуха/5% CO_2 при 37°C. Субконфлюэнтные монослой в логарифмической фазе роста собирали кратковременной обработкой раствором TrypLE Express (Gibco, Великобритания) в фосфатно-солевом буфере (PBS, Capricorn Scientific, Германия) и трижды промывали PBS. Количество жизнеспособных клеток определяли по исключению трипанового синего.

3.4 МТТ-тест

Все исследуемые клетки разводили питательной средой до 3.5×10^4 клеток/мл и аликвоты (7×10^3 клеток на 200 мкл) помещали в индивидуальные лунки 96-ти луночного планшета (Eppendorf, Германия) и инкубировали в течение 24 часов. На следующий день клетки обрабатывали синтезированными соединениями и инкубировали в течение 72 ч при 37 °С в атмосфере 5% CO₂. После инкубации клетки обрабатывали 40 мкл раствора МТТ (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия, 5 мг/мл в PBS) и инкубировали 4 часа. После инкубации среду с МТТ удаляли и добавляли ДМСО (150 мкл) для растворения кристаллов формазана. Планшеты встряхивали в течение 10 мин. Оптическую плотность каждой лунки определяли при 560 нм с помощью микропланшетного-ридера GloMax Multi+ (Promega, США). Каждое из тестируемых соединений оценивали на цитотоксичность в трех отдельных экспериментах.

Заключение

На основе реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения получена серия из 12 комбинированных соединений, содержащих два фармакоформных гетероциклических фрагмента (тетрагидрохинолин и изоксазол) с хорошими выходами 68-85%.

Показано, что синтезированные соединения проявляют в большинстве случаев умеренный цитотоксический эффект в отношении клеточной линии карциномы легкого A549 и гепатоцеллюлярной карциномы HepG2. Наиболее токсичными соединениями оказались соединения **90a** и **90i**, имеющие индекс селективности в отношении линии HepG2 5.19 и 3.25 соответственно.

Установлено, что введение комбретастинового фрагмента в целевые соединения не позволило оказать значительного цитостатического эффекта на исследуемые опухолевые клетки (за исключением соединения **90c** в отношении линии A549).

Для установления детального механизма действия наиболее токсичных соединений необходимо проведение дополнительных биологических испытаний.

Список используемой литературы

1. L. S. Povarov. $\alpha\beta$ -unsaturated ethers and their analogues in reactions of diene synthesis / L. S. Povarov // *Rus. Chem. Rev.* – 1967 – Vol. 36. №9 – P. 656–670.
2. A lewis acidity scale in relation to rate constants of lewis acid catalyzed organic reactions / G. Hilt, F. Pünner, J. Möbus et al. // *Eur. J. Org. Chem.* – 2011. – Vol. 2011. – №. 30. – P. 5962-5966.
3. Povarov reaction of glyoxylate imines derived from 12-aminodehydroabiatic acid / A. V. Tarantin, V. A. Glushkov, K. Y. Suponitskii et al. // *Rus. J. Org. Chem.* – 2010. – Vol. 46. – №. 10. – P. 1479-1489.
4. Reaction of 6, 6-dimethylfulvene with aromatic imines in the presence of Lewis acids / A. V. Stepakov, V. M. Boitsov, A. G. Larina et al. // *Rus. J. Org. Chem.* – 2014. – Vol. 50. – №. 3. – P. 389-393.
5. Lewis acid catalyzed Povarov reaction of pentafulvenes and spiro[2,4]-hepta-[4,6]-diene: An efficient access to cyclopentene fused quinolines / S. Saranya, T. V. Baiju, G. Gopalan et al. // *Synt. Commun.* – 2018. – Vol. 48. – №. 7. – P. 816-829.
6. Dobbelaar P. H. Povarov reactions of exo-glycals: preparation of C-linked, quinoline analogues / P. H. Dobbelaar, C. H. Marzabadi // *Tetrahedron.* – 2011. – Vol. 67. – №. 48. – P. 9273-9282.
7. Iodine-catalyzed stepwise [4+2] cycloaddition of phenothiazine- and ferrocene-containing Schiff bases with DHP promoted by microwave irradiation / E. Gál, C. Cristea, L. Silaghi-Dumitrescu et al. // *Tetrahedron.* – 2010. – Vol. 66. – №. 52. – P. 9938-9944.
8. Furfuryl vinyl ethers in [4+2]-cycloaddition reactions / L. A. Oparina, O. V. Vysotskaya, A. V. Stepanov et al. // *Rus. J. Org. Chem.* – 2017. – Vol. 53. – №. 2. – P. 203-209.

9. Van Snick W. Efficient three-component synthesis of tetrahydrothieno[3,2-*f*]quinolines / W. Van Snick, A. Parchina, W. Dehaen // *Tetrahedron*. – 2011. – Vol. 67. – №. 23. – P. 4179-4184.
10. Synthesis and antitubercular evaluation of novel dibenzo[*b,d*]furan and 9-methyl-9H-carbazole derived hexahydro-2*H*-pyrano[3,2-*c*]quinolines via Povarov reaction / S. Kantevari, T. Yempala, G. Surineri et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46. – №. 10. – P. 4827-4833.
11. Highly efficient synthesis and characterization of the GPR30-selective agonist G-1 and related tetrahydroquinoline analogs / R. Burai, C. Ramesh, M. Shorty et al. // *Org. Biomol. Chem.* – 2010. – Vol. 8. – №. 9. – P. 2252-2259.
12. Critical Molecular Determinants of $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Allosteric Activation separation of direct allosteric activation and positive allosteric modulation / N. A. Horenstein, R. L. Papke, A. R. Kulkarni et al. // *J. Biolog. Chem.* – 2016. – Vol. 291. – №. 10. – P. 5049-5067.
13. Efficient synthesis of tetrahydroquinolines from the reaction of aldehyde, aniline, and alkene under the in situ redox of SnCl₂ and FeCl₃ / Q. Guo, W. Teng, S. Ren et al. // *J. Heterocyclic Chem.* – 2014. – Vol. 51. – №. 4. – P. 1100-1105.
14. Merchan Arenas D. R. Diastereoselective synthesis of dihydroisoindolo[2,1-*a*]quinolin-11-ones by solvent-free AMCell-SO₃H-catalyzed imino Diels–Alder/intramolecular amide cyclization cascade reactions / D. R. Merchan Arenas, V. V. Kouznetsov // *J. Org. Chem.* – 2014. – Vol. 79. – №. 11. – P. 5327-5333.
15. Calix[*n*]arene-catalyzed three-component Povarov reaction: Microwave-assisted synthesis of julolidines and mechanistic insights / P. A. S. Abranches, W. F. de Paiva, A. de Fátima et al. // *J. Org. Chem.* – 2018. – Vol. 83. – №. 4. – P. 1761-1771.
16. Organocatalysis in the three-component Povarov reaction and investigation by mass spectrometry / J. B. Simões, A. de Fátima, A. A. Sabino et al. // *Org. Biomol. Chem.* – 2013. – Vol. 11. – №. 31. – P. 5069-5073.

17. Novel *N* allyl/propargyl tetrahydroquinolines: Synthesis via Three component Cationic Imino Diels–Alder Reaction, Binding Prediction, and Evaluation as Cholinesterase Inhibitors / Y. A. Rodríguez, M. Gutiérrez, D. Ramírez et al. // *Chem. Biolog. Drug Design*. – 2016. – Vol. 88. – №. 4. – P. 498-510.
18. Cyclocondensation of lower aliphatic aldehydes with arylamines and cyclopentadiene / A. G. Tolstikov, R. G. Savchenko, E. S. Lukina et al. // *Rus. Chem. Bulletin*. – 2013. – Vol. 62. – №. 11. – P. 2377-2384.
19. Distinct biological effects of golgicide a derivatives on larval and adult mosquitoes / D. J. Mack, J. Isoe, R. L. Miesfeld et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. – 2012. – Vol. 22. – №. 16. – P. 5177-5181.
20. Synthesis of Green/Blue Light Emitting Quinolines by Aza-DA Reaction Using InCl₃ Catalyst / R. R. Singh, T. P. Singh, N. P. Singh et al. // *J. Fluor.* – 2021. – Vol. 31. – №. 1. – P. 247-257.
21. Efficient Multikilogram Synthesis of a VLA-4 Antagonist via a Povarov Reaction / P. Cerfontaine, F. Driessens, M. F. Deltent et al. // *Org. Process Res. & Development*. – 2019. – Vol. 24. – №. 5. – P. 807-816.
22. A metal-free approach towards synthesis of β -carboline C1 substituted Pyrido(2, 3-c)carbazole derivatives (nitramarine analogues) through A3-coupling and estimation of their light emitting properties / M. Singh, S. Kumar, R. Jamra et al. // *Tetrahedron*. – 2020. – Vol. 76. – №. 47. – P. 131640.
23. Singh P. Design, synthesis and anticancer activities of hybrids of indole and barbituric acids—Identification of highly promising leads / P. Singh, M. Kaur, P. Verma // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. – 2009. – Vol. 19. – №. 11. – P. 3054-3058.
24. Synthesis, biological evaluation and molecular docking of novel chalconecoumarin hybrids as anticancer and antimalarial agents / R. Pingaew, A. Saekee, P. Mandi et al. // *Eur. J. Med. Chem*. – 2014. – Vol. 85. – P. 65-76.

25. Some new indole-coumarin hybrids; Synthesis, anticancer and Bcl-2 docking studies / P. R. Kamath, D. Sunil, A.A. Ajees et al. // *Bioorg. Chem.* – 2015. – Vol. 63. – P. 101-109.

26. Novel *N* allyl/propargyl tetrahydroquinolines: Synthesis via Three component Cationic Imino Diels–Alder Reaction, Binding Prediction, and Evaluation as Cholinesterase Inhibitors / Y. A. Rodríguez, M. Gutiérrez, D. Ramírez et al. // *Chem. Biolog. Drug Design.* – 2016. – Vol. 88. – №. 4. – P. 498-510.