

R U 2 7 7 5 6 0 5 C 2

R U 2 7 7 5 6 0 5 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07D 491/107 (2006.01)
A61K 31/4162 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

C07D 491/107 (2022.05); A61K 31/4162 (2022.05); A61P 35/00 (2022.05)(21)(22) Application: **2020137767, 18.11.2020**(24) Effective date for property rights:
18.11.2020Registration date:
05.07.2022

Priority:

(22) Date of filing: **18.11.2020**(43) Application published: **18.05.2022 Bull. № 14**(45) Date of publication: **05.07.2022 Bull. № 19**

Mail address:

**620002, Rossiya, g. Ekaterinburg, ul. Mira, 19,
Tsentr intellektualnoj sobstvennosti, Marks T.V.**

(72) Inventor(s):

**Korotaev Vladislav Iurevich (RU),
Barkov Aleksei Iurevich (RU),
Kutiashev Igor Borisovich (RU),
Ulitko Mariia Valerevna (RU),
Zimnitskii Nikolai Sergeevich (RU),
Sosnovskikh Viacheslav Iakovlevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal State Autonomous Educational
Institution of Higher Education Ural Federal
University named after the first President of
Russia B.N.Yeltsin (RU)**(54) **6-TRIFLUORO(TRICHLORO)METHYL-SUBSTITUTED SPIRO[CHROMENO[3,4-a]PYRROLIZIDINE-11,3'-INDOLINE]-2'-ONES SHOWING ANTITUMOR ACTIVITY, AND THEIR PRODUCTION METHOD**

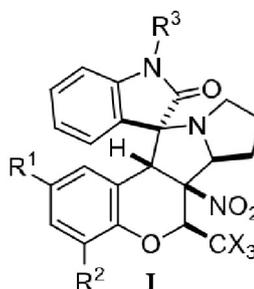
(57) Abstract:

FIELD: organic chemistry; pharmaceuticals.

SUBSTANCE: group of inventions relates to the field of organic chemistry and pharmaceuticals, and it is aimed at the production of compounds, which show antitumor activity. The invention is presented by new 6-trifluoro(trichloro)methyl-substituted spiro[chromeno [3,4-a]pyrrolizidine-11,3'-indoline]-2'-one of the general formula I, where R¹ is H, C1-C6 alkyl, C1-C6 alkoxy, Br, Cl, NO₂; R² is H, C1-C6 alkyl, C1-C6 alkoxy, Br, Cl, NO₂; R³ is H, C1-C6 alkyl, Bn, X is F, Cl. In addition, a method is described for the production of 6-trifluoro(trichloro)methyl-substituted spiro[chromeno [3,4-a]pyrrolizidine-11,3'-indoline]-2'-ones of the general formula I.

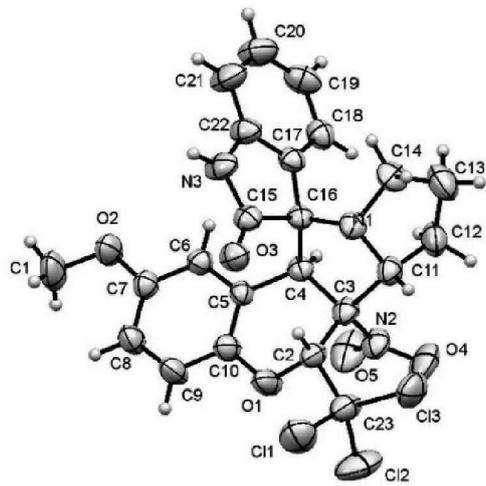
EFFECT: high-effective regio- and stereo-selective

method for the production of 6-trifluoro(trichloro)methyl-substituted spiro[chromeno[3,4-a]pyrrolizidine-11,3'-indoline]-2'-ones, which have cytotoxic activity relatively to cell lines of human cervix carcinoma (HeLa) and human embryonic rhabdomyosarcoma (RD).



2 cl, 1 dwg, 2 tbl, 25 ex

R U 2 7 7 5 6 0 5 C 2



R U 2 7 7 5 6 0 5 C 2

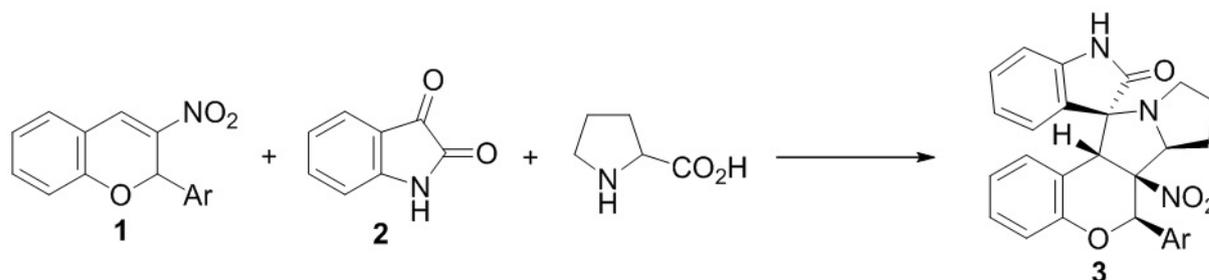
Область техники

Настоящее изобретение относится к области органического синтеза биологически активных соединений и касается ранее неизвестных 6-трифтор(трихлор)метилзамещенных спиро[хромено[3,4-а]пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-онов, обладающих выраженной цитотоксической активностью. Указанные соединения могут быть использованы в качестве противоопухолевых агентов, в первую очередь для лечения рака шейки матки и рабдомиосаркомы человека.

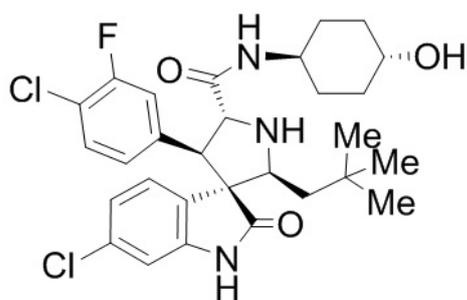
Уровень техники

Сведения о способах получения, биологической активности и области применения 6-трифтор(трихлор)метилзамещенных спиро[хромено[3,4-а]пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-онов общей формулы I в научно-технической и патентной литературе отсутствуют.

Ближайшими аналогами 6-трифтор(трихлор)метилзамещенных спиро[хромено[3,4-а]пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-онов общей формулы I являются 6-арилзамещенные спиро[хромено[3,4-а]пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-оны (3), получаемые из соответствующих 2-арил-3-нитро-2H-хроменов (1) изатина (2) и пролина при кипячении в толуоле в течение 16-24 ч [J.N.S. Rao, R. Raghunathan. An expedient synthesis of pyrrolidinyl spirooxindole grafted 3-nitrochromanes through 1,3-dipolar cycloaddition reaction of azomethine ylides. // Tetrahedron Letters, 2013, DOI: 10.1016/j.tetlet.2013.09.097], либо при 2-х часовом кипячении в этаноле [S. Nayak, S.K. Mishra, S. Bhakta, P. Panda, N. Baral, S. Mohapatra, C.S. Purohit, P. Satha. Green Synthesis of Spirooxindole-pyrrolidine/Piperidine Fused Nitrochromane: One Pot Three Component Stereo and Regioselective Cycloaddition. // Letters in Organic Chemistry, 2016, DOI: 10.2174/1570178612666151030213735]. В первом случае очистка целевых продуктов (3) включала дополнительную стадию колоночной хроматографии, тогда как при использовании этанола в качестве растворителя целевые продукты (3) были очищены от примесей промывкой этим же растворителем. Биологическая активность 6-арилзамещенных спиро[хромено[3,4-а]пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-онов (3) не изучалась.

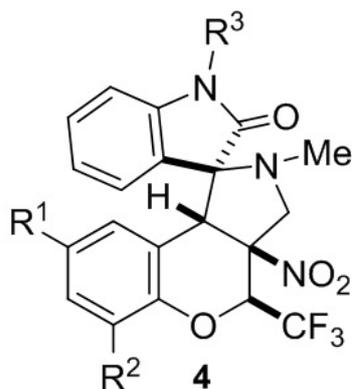


В литературе имеются сведения о высокой противоопухолевой активности спирооксиндолов благодаря ингибированию p53-MDM2 взаимодействия, причем некоторые препараты на их основе, например, SAR405838, в настоящее время успешно проходят клинические испытания [V.A. de Weger, M. de Jonge, M.H.G. Langenberg, J.H.M. Schellens, M.Lolkema, A. Varga, B. Demers, K. Thomas, K. Hsu, G. Tuffal, S. Goodstal, S. Macé, E. Deutsch. // British Journal of Cancer, 2019, DOI: 10.1038/s41416-018-0355-8].



SAR405838

Совсем недавно было показано, что 6-трифторметилзамещенные спиро [хромено-1,3'-оксиндолы] обладают выраженной цитотоксической активностью к клеткам карциномы шейки матки человека HeLa [I.B. Kutyashev, M.V. Ulitko, A.Y. Barkov, N.S. Zimnitskiy, V.Y. Korotaev, V.Y. Sosnovskikh. A regio- and stereocontrolled approach to the synthesis of 4-CF₃-substituted spiro[chromeno-[3,4-c]pyrrolidine-oxindoles] via reversible [3+2] cycloaddition of azomethine ylides generated from isatins and sarcosine to 3-nitro-2-(trifluoromethyl)-2H-chromenes // New Journal of Chemistry, 2019, DOI: 10.1039/c9nj04498a].



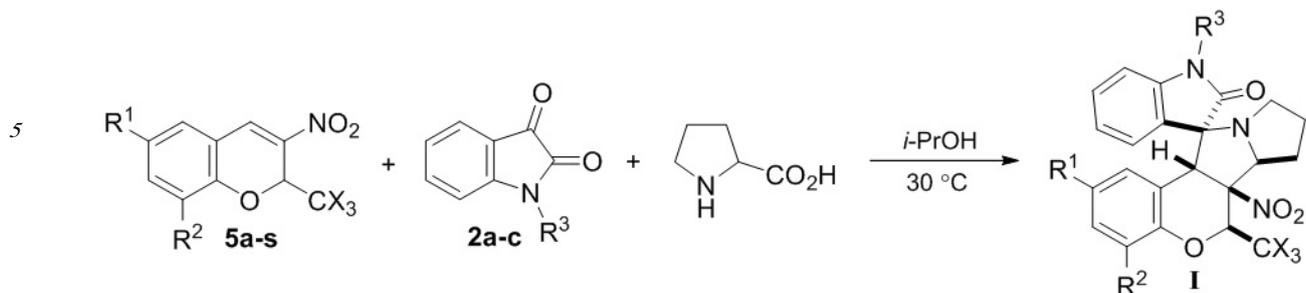
где R¹ = H, Me, MeO, Cl, Br;

R² = H, EtO, Br;

R³ = H, Me.

Задача изобретения: синтезировать новую группу соединений, обладающих противоопухолевой активностью, в мягких условиях, с высоким выходом и без применения методов колоночной хроматографии или перекристаллизации для очистки целевых продуктов. Поставленная задача решается тем, что новые 6-трифтор(трихлор)метилзамещенные спиро[хромено[3,4-а]пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-оны общей формулы I получают трехкомпонентной реакцией 3-нитро-2-трифтор(трихлор)метил-2H-хроменов (5a-s) с изатинами (2a-c) и пролином, взятым в 1,3-кратном избытке, в изопропиловом спирте при 30°C в течение 15-120 мин, после чего реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и отфильтровывают выпавший осадок. С целью очистки от примесей осадок целевого продукта промывается на фильтре сначала изопропиловым спиртом, а затем водой, после чего высушивается при 70°C в течение 7 часов для удаления воды и изопропилового спирта. Исходные 3-нитро-2-трифтор(трихлор)метил-2H-хромены (5a-s) получают согласно методике, описанной в литературе [V.Y. Korotaev, I.B. Kutyashev, V.Y. Sosnovskikh. Synthesis of 3-substituted 2-trifluoro(trichloro) methyl-2H-chromenes by reaction of salicylaldehydes with activated trihalomethyl alkenes.// Heteroatom Chemistry, 2005, DOI: 10.1002/hc.20146]. Выходы соединений общей формулы

I представлены в таблице 1.



Анализ целевых соединений проводят с использованием ЯМР-спектроскопии [Спектры ЯМР ^1H , ^{19}F и ^{13}C зарегистрированы на спектрометрах Bruker AVANCE-500 (500, 471 и 126 МГц, соответственно) или Bruker-DRX400 (400, 376 и 101 МГц, соответственно) в растворе DMSO-d_6 , внутренний стандарт ТМС] и элементного анализа на автоматическом анализаторе Perkin-Elmer PE-2400. Масс-спектры высокого разрешения записаны на спектрометре Bruker maXis Impact HD. Рентгеноструктурное исследование выполнено на дифрактометре Xcalibur Eos (Mo-K α излучение, графитовый монохроматор, ω -сканирование, длина волны = 0.7107 нм).

Краткое описание чертежей

Изображение: Молекулярная структура соединения (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2-метокси-6а-нитро-6-(трихлорметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она в представлении атомов эллипсоидами тепловых колебаний с 30% вероятностью.

Пример 1

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-6а-нитро-6-(трифторметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Смесь 3-нитро-2-трифторметил-2Н-хромена (5а) 245 мг (1.0 ммоль), изатина (2а) 147 мг (1.0 ммоль) и пролина 150 мг (1.3 ммоль) перемешивают в 6 мл изопропилового спирта при 30°C в течение 30 мин (табл. 1). Затем выпавший осадок отфильтровывают и промывают сначала изопропиловым спиртом (3×1 мл), а затем водой (5×1 мл) и высушивали при 70°C в течение 5 часов. Получают (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-6а-нитро-6-(трифторметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-он в виде белого порошка. Выход приведен в табл. 1.

Т. пл. 195-196°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO-d_6) δ (м.д.): 1.71-2.86 (м, 6H), 4.37 (т, J=7.4 Гц, 1H), 4.91 (с, 1H), 6.17 (д, J=7.7 Гц, 1H), 6.33 (к, J=6.6 Гц, 1H), 6.82 (т.д, J=7.9, 1.3 Гц, 1H), 6.88 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.04 (д, J=8.1 Гц, 1H), 7.19 (т.д, J=7.7, 1.4 Гц, 1H), 7.20 (т.д, J=7.5, 0.8 Гц, 1H), 7.41 (т.д, J=7.7, 0.9 Гц, 1H), 7.71 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.52 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{19}F (471 МГц, DMSO-d_6) δ (м.д.): 94.0 (д, J=6.6 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO-d_6) δ (м.д.): 24.4, 28.5, 48.6, 49.2, 67.4 (к, J=2.1 Гц), 74.1, 74.7 (к, J=32.3 Гц), 91.9, 110.3, 116.6, 118.2, 122.6, 122.9 (к, J=281.5 Гц), 123.0, 125.9, 126.2, 126.9, 128.9, 130.6, 142.8, 151.2, 177.6.

Элементный анализ для $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4$ (445.40):

Вычислено (%): С, 59.33; Н, 4.07; N, 9.43.

Найдено (%): С, 59.30; Н, 3.86; N, 9.36.

Пример 2

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2-метил-6а-нитро-6-(трифторметил)-

6a,6b,7,8,9,11a-гексагидро-6H-спиро[хромено[3,4-a]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 6-метил-3-нитро-2-трифторметил-2H-хромена (5b), изатина (2a) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

5 Т. пл. 199-200°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.71-2.91 (м, 6H), 1.94 (с, 3H), 4.37 (т, J=7.5 Гц, 1H), 4.84 (с, 1H), 5.91 (с, 1H), 6.26 (к, J=6.6 Гц, 1H), 6.90 (д, J=7.7 Гц, 1H), 6.92 (д, J=8.4 Гц, 1H), 6.99 (д,д, J=8.4, 1.6 Гц, 1H), 7.20 (т, J=7.6 Гц, 1H), 7.43 (т,д, J=7.7, 0.6 Гц, 1H'), 7.70 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.52 (с, 1H).

10 Спектр ЯМР ^{19}F (471 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 94.2 (д, J=6.6 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 20.2, 24.4, 28.5, 48.6, 49.6, 67.5 (к, J=2.5 Гц), 74.0, 74.9 (к, J=32.1 Гц), 92.2, 110.2, 116.3, 117.8, 122.6, 122.9 (к, J=281.9 Гц), 126.1, 126.2, 126.9, 129.4, 130.6, 131.6, 142.8, 149.2, 177.5.

15 Элементный анализ для $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4$ (459.43):

Вычислено (%): C, 60.13; H, 4.39; N, 9.15.

Найдено (%): C, 60.11; H, 4.15; N, 9.21.

Пример 3

20 Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2-метокси-6a-нитро-6-(трифторметил)-6a,6b,7,8,9,11a-гексагидро-6H-спиро[хромено[3,4-a]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 6-метокси-3-нитро-2-трифторметил-2H-хромена (5c), изатина (2a) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

25 Т. пл. 201-202°C.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.67-3.00 (м, 6H), 3.35 (с, 3H), 4.41 (т, J=7.1 Гц, 1H), 4.90 (с, 1H), 5.65 (д, J=2.9 Гц, 1H), 6.17 (к, J=6.7 Гц, 1H), 6.77 (д,д, J=8.9, 2.9 Гц, 1H), 6.91 (д, J=7.7 Гц, 1H), 6.99 (д, J=8.9 Гц, 1H), 7.21 (т, J=7.6 Гц, 1H), 7.42 (т, J=7.7 Гц, 1H), 7.74 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.57 (с, 1H, NH).

30 Спектр ЯМР ^{19}F (376 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 94.6 (д, J=6.7 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.5, 28.2, 48.5, 50.3, 54.8, 67.7 (к, J=3.1 Гц), 73.9, 75.6 (к, J=32.3 Гц), 93.2, 109.9, 110.3, 114.9, 117.5, 118.9, 122.6, 122.9 (к, J=281.5 Гц), 126.3, 126.9, 130.7, 142.9, 145.4, 154.4, 177.4.

35 Элементный анализ для $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_5$ (475.42):

Вычислено (%): C, 58.11; H, 4.24; N, 8.84.

Найдено (%): C, 57.82; H, 4.16; N, 8.82.

Пример 4

40 Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-6a-нитро-6-(трифторметил)-4-этокси-6a,6b,7,8,9,11a-гексагидро-6H-спиро[хромено[3,4-a]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 3-нитро-2-трифторметил-8-этокси-2H-хромена (5d), изатина (2a) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

45 Т. пл. 205-206°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.31 (т, J=7.0 Гц, 3H), 1.70-2.85 (м, 6H), 4.00 (д,к, J=9.6, 7.0 Гц, 1H), 4.02 (д,к, J=9.6, 7.0 Гц, 1H), 4.36 (т, J=7.3 Гц, 1H), 4.88 (с, 1H), 5.74 (д, J=7.8 Гц, 1H), 6.25 (к, J=6.5 Гц, 1H), 6.72 (т, J=8.0 Гц, 1H), 6.84 6.90 (м, 2H), 7.18

(т.д, J=7.6, 0.8 Гц, 1H), 7.40 (т.д, J=7.7, 0.9 Гц, 1H), 7.69 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.49 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{19}F (376 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 94.3 (д, J=6.5 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 14.5, 24.4, 28.4, 48.5, 49.4, 64.1, 67.4 (к, J=2.2 Гц), 73.9, 74.8 (к, J=31.4 Гц), 92.0, 110.3, 112.9, 117.0, 119.1, 122.5, 122.7, 122.9 (к, J=281.5 Гц), 126.1, 127.0, 130.6, 141.1, 142.7, 147.0, 177.5.

Масс-спектр высокого разрешения: Найдено, m/z: 490.1590 [M+H]⁺. C₂₄H₂₃F₃N₃O₅.
Вычислено, m/z: 490.1584.

Пример 5

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-6а-нитро-6-(трифторметил)-2-хлор-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 3-нитро-2-трифторметил-6-хлор-2Н-хромена (5e), изатина (2a) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 204-205°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 1.72-2.88 (м, 6H), 4.36 (т, J=7.3 Гц, 1H), 4.93 (с, 1H), 6.08 (д, J=2.4 Гц, 1H), 6.35 (к, J=6.5 Гц, 1H), 6.92 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.11 (д, J=8.8 Гц, 1H), 7.21 (т.д, J=7.6, 0.6 Гц, 1H), 7.26 (д.д, J=8.8, 2.4 Гц, 1H), 7.44 (т.д, J=7.7, 0.8 Гц, 1H), 7.69 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.61 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{19}F (376 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 93.8 (д, J=6.5 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 24.4, 28.6, 48.6, 48.9, 67.4 (к, J=3.0 Гц), 74.1, 74.8 (к, J=32.3 Гц), 91.0, 110.3, 118.5, 120.3, 122.6 (к, J=281.5 Гц), 122.7, 125.6, 126.4 (3С), 128.9, 130.9, 142.7, 150.0, 177.5.

Элементный анализ для C₂₂H₁₇ClF₃N₃O₄ (479.84):

Вычислено (%): С, 55.07; Н, 3.57; N, 8.76.

Найдено (%): С, 55.00; Н, 3.36; N, 8.91.

Пример 6

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2-бром-6а-нитро-6-(трифторметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 6-бром-3-нитро-2-трифторметил-2Н-хромена (5f), изатина (2a) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 197-198°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 1.72-2.87 (м, 6H), 4.35 (т, J=7.3 Гц, 1H), 4.93 (с, 1H), 6.22 (д, J=2.5 Гц, 1H), 6.35 (к, J=6.5 Гц, 1H), 6.92 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.05 (д, J=8.8 Гц, 1H), 7.22 (т.д, J=7.6, 0.6 Гц, 1H), 7.37 (д.д, J=8.8, 2.5 Гц, 1H), 7.44 (т.д, J=7.7, 0.9 Гц, 1H), 7.69 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.61 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{19}F (471 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 93.8 (д, CF₃, J=6.5 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 24.4, 28.6, 48.6, 48.8, 67.4 (к, J=2.4 Гц), 74.2, 74.7 (к, J=32.5 Гц), 90.9, 110.3, 114.2, 118.8, 120.7, 122.6 (к, J=281.4 Гц), 122.7, 126.3, 126.4, 128.5, 130.9, 131.7, 142.7, 150.4, 177.5.

Элементный анализ для C₂₂H₁₇BrF₃N₃O₄ (524.29):

Вычислено (%): С, 50.40; Н, 3.27; N, 8.01.

Найдено (%): С, 50.39; Н, 3.40; N, 8.06.

Пример 7

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2,4-дибром-6а-нитро-6-(трифторметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 6,8-дибром-3-нитро-2-трифторметил-2Н-хромена (5g), изатина (2а) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 221-222°C.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.70-2.83 (м, 6H), 4.34 (т, J=6.9 Гц), 5.01 (с, 1H), 6.20 (д, J=2.2 Гц, 1H), 6.45 (к, J=6.3 Гц, 1H), 6.92 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.22 (т, J=7.6 Гц, 1H), 7.44 (т, J=7.7 Гц, 1H), 7.67 (д, J=7.6 Гц, 1H), 7.80 (д, J=2.2 Гц, 1H), 10.63 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{19}F (376 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 93.4 (д, J=6.3 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.4, 28.6, 48.5, 49.1, 67.4 (к, J=3.4 Гц), 74.2, 75.2 (к, J=32.7 Гц), 90.6, 110.4, 111.2, 114.3, 122.1, 122.8, 122.4 (к, J=281.9 Гц), 126.1, 126.4, 128.0, 130.9, 134.2, 142.7, 147.4, 177.4.

Элементный анализ для $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4$ (603.19):

Вычислено (%): С, 43.81; Н, 2.67; N, 6.97.

Найдено (%): С, 43.78; Н, 2.60; N, 6.90.

Пример 8

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2,6а-динитро-6-(трифторметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 3,6-динитро-2-трифторметил-2Н-хромена (5h), изатина (2а) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 223-224°C.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.72-2.82 (м, 6H), 4.34 (т, J=7.3 Гц, 1H), 5.08 (с, 1H), 6.57 (к, J=6.3 Гц, 1H), 6.90 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.03 (д, J=2.7 Гц, 1H), 7.26 (т.д, J=7.6, 0.6 Гц, 1H), 7.35 (д, J=9.1 Гц, 1H), 7.46 (т.д, J=7.7, 0.9 Гц, 1H), 7.70 (д, J=7.5 Гц, 1H), 8.11 (д.д, J=9.1, 2.7 Гц, 1H), 10.56 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{19}F (376 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 93.1 (д, J=6.3 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.5, 28.8, 48.3, 48.7, 67.4 (к, J=2.4 Гц), 74.4, 74.8 (к, J=32.4 Гц), 89.3, 110.5, 117.8, 119.4, 122.0, 122.4 (к, J=282.0 Гц), 122.9, 124.9, 126.0, 126.5, 131.0, 142.1, 142.6, 155.8, 177.6.

Элементный анализ для $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_6$ (490.40):

Вычислено (%): С, 53.88; Н, 3.49; N, 11.43.

Найдено (%): С, 53.91; Н, 3.89; N, 11.35.

Пример 9

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2,4,6а-тринитро-6-(трифторметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 3,6,8-тринитро-2-трифторметил-2Н-хромена (5i), изатина (2а) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 209-210°C.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.74-2.80 (м, 6H), 4.36 (т, J=7.0 Гц, 1H), 5.29 (с, 1H), 6.70 (к, J=6.3 Гц, 1H), 6.92 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.21 (д, J=2.6 Гц, 1H), 7.28 (т, J=

7.6 Гц, 1H), 7.48 (т, J=7.7 Гц, 1H), 7.70 (д, J=7.6 Гц, 1H), 8.77 (д, J=2.6 Гц, 1H), 10.62 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{19}F (376 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 92.9 (д, J=6.0 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.5, 28.6, 48.0, 48.5, 67.3 (к, J=1.9 Гц),

5 74.4, 75.4 (к, J=33.0 Гц), 88.5, 110.7, 120.9, 121.9 (к, J=282.1 Гц), 122.7, 123.0, 125.2, 125.4, 126.6, 131.2, 137.8, 140.6, 142.5, 148.3, 177.4.

Элементный анализ для $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_8$ (535.39):

Вычислено (%): С, 49.35; Н, 3.01; N, 13.08.

Найдено (%): С, 49.36; Н, 3.48; N, 12.69.

10 Пример 10

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-6а-нитро-6-(трихлорметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

15 Данное соединение получают из 3-нитро-2-трихлорметил-2Н-хромена (5j), изатина (2а) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 174-175°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.68-2.73 (м, 6H), 4.85 (с, 1H), 4.98 (д,д, J=9.2, 6.4 Гц, 1H), 6.16 (д, J=7.6 Гц, 1H), 6.40 (с, 1H), 6.79 (т, J=7.9 Гц, 1H), 6.87 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.00 (д, J=8.1 Гц, 1H), 7.14-7.21 (м, 2H), 7.39 (т, J=7.7 Гц, 1H), 7.67 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.43 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.2, 29.3, 47.7, 50.6, 68.0, 73.3, 82.6, 92.2, 96.3, 110.2, 116.2, 118.4, 122.5 (2C), 125.4, 125.9, 127.1, 128.7, 130.5, 142.8, 151.7, 177.5.

25 Элементный анализ для $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_4$ (494.75):

Вычислено (%): С, 53.41; Н, 3.67; N, 8.49.

Найдено (%): С, 53.39; Н, 3.59; N, 8.46.

Пример 11

30 Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2-метил-6а-нитро-6-(трихлорметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 6-метил-3-нитро-2-трихлорметил-2Н-хромена (5k), изатина (2а) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 181-182°C

35 Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.71-2.86 (м, 6H), 1.83 (м, 3H), 4.79 (с, 1H), 4.98 (д,д, J=9.2, 6.4 Гц, 1H), 5.90 (с, 1H), 6.32 (с, 1H), 6.87 (д, J=7.7 Гц, 1H), 6.88 (д, J=8.3 Гц, 1H), 6.98 (д,д, J=8.3, 1.6 Гц, 1H), 7.19 (т, J=7.6 Гц, 1H), 7.41 (т,д, J=7.7, 0.8 Гц, 1H), 7.67 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.44 (с, 1H).

40 Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 20.2, 24.2, 29.2, 47.6, 51.0, 68.1, 73.2, 82.8, 92.5, 96.3, 110.1, 116.0, 118.1, 122.5, 125.6, 125.9, 127.1, 129.2, 130.5, 131.1, 142.9, 149.6, 177.5.

Масс-спектр высокого разрешения: Найдено, m/z: 508.0602 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_4$.
Вычислено, m/z: 508.0592.

45 Пример 12

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2-метокси-6а-нитро-6-(трихлорметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 6-метокси-3-нитро-2-трихлорметил-2Н-хромена (5l),

изатина (2a) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 169-170°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.71-2.82 (м, 6H), 3.34 (с, 3H), 4.84 (с, 1H), 4.97 (д.д, J=8.7, 6.5 Гц, 1H), 5.66 (д, J=2.9 Гц, 1H), 6.21 (с, 1H), 6.76 (д.д, J=9.0, 2.9 Гц, 1H), 6.90 (д, J=7.7 Гц, 1H), 6.95 (д, J=9.0 Гц, 1H), 7.19 (т, J=7.6 Гц, 1H), 7.41 (т.д, J=7.7, 1.0 Гц, 1H), 7.69 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.49 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.2, 29.1, 47.5, 51.5, 54.7, 68.1, 73.0, 83.4, 93.0, 96.3, 109.4, 110.2, 114.5, 117.2, 119.2, 122.6, 126.0, 127.1, 130.5, 143.0, 145.7, 154.1, 177.4.

Элементный анализ для $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_5$ (524.78):

Вычислено (%): С, 52.64; Н, 3.84; N, 8.01.

Найдено (%): 52.35; Н, 3.80; N, 8.06.

Пример 13

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-6a-нитро-6-(трихлорметил)-4-этокси-6a,6b,7,8,9,11a-гексагидро-6H-спиро[хромено[3,4-a]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 3-нитро-2-трихлорметил-8-этокси-2H-хромена (5m), изатина (2a) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 173-174°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.29 (т, J=7.0 Гц, 1H), 1.71-2.70 (м, 6H), 4.00 (д.к, J=9.7, 7.0 Гц, 1H), 4.03 (д.к, J=9.7, 7.0 Гц, 1H), 4.83 (с, 1H), 4.96 (д.д, J=9.1, 6.4 Гц, 1H), 5.74 (д, J=7.8 Гц, 1H), 6.31 (с, 1H), 6.68 (т, J=8.0 Гц, 1H), 6.83-6.88 (м, 2H), 7.16 (т.д, J=7.6, 0.8 Гц, 1H), 7.38 (т.д, J=7.7, 1.0 Гц, 1H), 7.66 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.42 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 14.7, 24.1, 29.2, 47.5, 50.9, 64.6, 68.0, 73.1, 82.9, 92.3, 96.3, 110.2, 113.8, 116.9, 119.4, 122.2, 122.4, 125.8, 127.2, 130.4, 142.0, 142.9, 146.9, 177.4.

Масс-спектр высокого разрешения: Найдено, m/z: 538.0703 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_5$.
Вычислено, m/z: 538.0698.

Пример 14

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-6a-нитро-6-(трихлорметил)-2-хлор-6a,6b,7,8,9,11a-гексагидро-6H-спиро[хромено[3,4-a]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 3-нитро-2-трихлорметил-6-хлор-2H-хромена (5n), изатина (2a) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 185-186°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.71-2.74 (м, 6H), 4.88 (с, 1H), 4.99 (д.д, J=9.4, 6.4 Гц, 1H), 6.06 (д, J=2.5 Гц, 1H), 6.44 (с, 1H), 6.90 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.06 (д, J=8.8 Гц, 1H), 7.20 (т.д, J=7.6, 0.7 Гц, 1H), 7.25 (д.д, J=8.8, 2.5 Гц, 1H), 7.42 (т.д, J=7.7, 0.9 Гц, 1H), 7.67 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.52 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.2, 29.3, 47.9, 50.1, 68.1, 73.4, 82.5, 91.3, 95.9, 110.2, 118.1, 120.4, 122.6, 125.0, 125.8, 126.2, 126.5, 128.6, 130.8, 142.8, 150.4, 177.4.

Масс-спектр высокого разрешения: Найдено, m/z: 528.0048 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{Cl}_4\text{N}_3\text{O}_4$.

Вычислено, m/z: 528.0046.

Пример 15

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2-бром-6а-нитро-6-(трихлорметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

5 Данное соединение получают из 6-бром-3-нитро-2-трихлорметил-2Н-хромена (5о), изатина (2а) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 184-185°C.

10 Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.69-2.75 (м, 6H), 4.88 (с, 1H), 4.99 (д.д, J=9.4, 6.3 Гц, 1H), 6.20 (д, J=2.4 Гц, 1H), 6.44 (с, 1H), 6.90 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.00 (д, J=8.7 Гц, 1H), 7.20 (т.д, J=7.6, 0.6 Гц, 1H), 7.36 (д.д, J=8.7, 2.4 Гц, 1H), 7.42 (т.д, J=7.7, 0.9 Гц, 1H), 7.67 (д, J=7.5 Гц, 1H), 10.52 (с, 1H, NH).

15 Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.2, 29.3, 47.9, 50.1, 68.1, 73.5, 82.4, 91.3, 95.9, 110.2, 113.6, 118.5, 120.9, 122.6, 126.2, 126.5, 128.0, 130.7, 131.5, 142.8, 150.9, 177.4.

Элементный анализ для $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{BrCl}_3\text{N}_3\text{O}_4$ (573.65):

Вычислено (%): С, 46.06; Н, 2.99; N, 7.33.

Найдено (%): 45.91; Н, 2.75; N, 7.29.

20 Пример 16

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2,4-дибром-6а-нитро-6-(трихлорметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

25 Данное соединение получают из 6,8-дибром-3-нитро-2-трихлорметил-2Н-хромена (5р), изатина (2а) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 186-187°C.

30 Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.71-2.72 (м, 6H), 4.96 (с, 1H), 4.98 (д.д, J=9.6, 6.3 Гц, 1H), 6.17 (д.д, J=2.3, 0.7 Гц, 1H), 6.56 (с, 1H), 6.90 (д, J=7.8 Гц, 1H), 7.21 (т.д, J=7.6, 0.7 Гц, 1H), 7.43 (т.д, J=7.8, 0.9 Гц, 1H), 7.65 (д, J=7.6 Гц, 1H), 7.77 (д, J=2.3 Гц, 1H), 10.54 (с, 1H).

35 Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.2, 29.3, 48.1, 50.0, 67.9, 73.6, 82.7, 90.9, 95.5, 110.2, 110.9, 113.6, 121.9, 122.6, 126.1, 126.2, 127.4, 130.8, 133.9, 142.7, 147.8, 177.4.

Элементный анализ для $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_4$ (652.55):

Вычислено (%): 40.49; Н, 2.47; N, 6.44.

Найдено (%): 40.25; Н, 2.44; N, 6.39.

40 Пример 17

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2,6а-динитро-6-(трихлорметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

45 Данное соединение получают из 3,6-динитро-2-трихлорметил-2Н-хромена (5q), изатина (2а) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 177-178°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.72-2.75 (м, 6H), 5.02 (д.д, J=9.9, 6.3 Гц, 1H), 5.04 (с, 1H), 6.68 (с, 1H), 6.88 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.02 (д, J=2.8 Гц, 1H), 7.25 (т.д, J=7.6, 0.9 Гц, 1H), 7.29 (д, J=9.1 Гц, 1H), 7.45 (т.д, J=7.7, 0.8 Гц, 1H), 7.69 (д, J=7.5 Гц, 1H), 8.11

(дд, J=9.1, 2.8 Гц, 1H), 10.46 (с, 1H, NH).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 24.3, 29.4, 48.3, 49.5, 68.2, 73.9, 82.4, 89.9, 95.5, 110.4, 117.3, 119.2, 121.6, 122.7, 124.9, 126.0, 126.4, 130.9, 141.6, 142.6, 156.4, 177.6.

5 Элементный анализ для C₂₂H₁₇Cl₃N₄O₆ (539.75):

Вычислено (%): С, 48.96; Н, 3.17; N, 10.38

Найдено (%): С, 48.66; Н, 3.54; N, 10.35

Пример 18

10 Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-4,6а-динитро-6-(трихлорметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 3,8-динитро-2-трихлорметил-2Н-хромена (5г), изатина (2а) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

15 Т. пл. 186-187°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 1.70-2.74 (м, 6H), 5.01 (д.д, J=10.0, 6.3 Гц, 1H), 5.03 (с, 1H), 6.44 (д, J=7.8 Гц, 1H), 6.71 (с, 1H), 6.87 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.03 (т, J=8.0 Гц, 1H), 7.20 (т.д, J=7.6, 0.8 Гц, 1H), 7.41 (т.д, J=7.7, 0.9 Гц, 1H), 7.67 (д, J=7.5 Гц, 1H), 8.11 (д.д, J=8.2, 1.4 Гц, 1H), 10.48 (с, 1H).

20 Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 24.2, 29.3, 48.2, 49.2, 68.0, 73.9, 82.3, 90.0, 95.3, 110.4, 121.2, 122.1, 122.6, 124.5, 126.3 (2C), 130.3, 130.8, 138.0, 142.7, 144.3, 177.6.

Элементный анализ для C₂₂H₁₇Cl₃N₄O₆ (539.75):

Вычислено (%): С, 48.96; Н, 3.17; N, 10.38

25 Найдено (%): С, 48.73; Н, 3.16; N, 10.28

Пример 19

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2,4,6а-тринитро-6-(трихлорметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

30 Данное соединение получают из 3,6,8-тринитро-2-трихлорметил-2Н-хромена (5s), изатина (2а) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 209-210°C.

35 Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 1.73-2.80 (м, 6H), 5.03 (д.д, J=10.0, 6.2 Гц, 1H), 5.26 (с, 1H), 6.88 (с, 1H), 6.89 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.19 (д, J=2.6 Гц, 1H), 7.27 (т, J=7.6 Гц, 1H), 7.46 (т, J=7.7 Гц, 1H), 7.68 (д, J=7.6 Гц, 1H), 8.77 (д, J=2.6 Гц, 1H), 10.52 (с, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO-d₆) δ (м.д.): 24.4, 29.4, 48.5, 48.7, 68.1, 74.2, 82.9, 88.7, 94.6, 110.6, 120.8, 112.3, 123.0, 124.7, 125.4, 126.6, 131.2, 137.4, 140.2, 142.5, 148.5, 177.6.

40 Элементный анализ для C₂₂H₁₆Cl₃N₅O₈ (584.75):

Вычислено (%): С, 45.19; Н, 2.76; N, 11.98.

Найдено (%): С, 44.94; Н, 2.62; N, 11.66.

Пример 20

45 Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-1'-метил-6а-нитро-6-(трифторметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 3-нитро-2-трифторметил-2Н-хромена (5а), изатина (2b) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 195-196°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.72-2.88 (м, 6H), 2.86 (с, 3H), 4.39 (с, J=7.4 Гц, 1H), 4.95 (с, 1H), 6.07 (д, J=7.7 Гц, 1H, H-1), 6.32 (к, J=6.4 Гц, 1H, H-6), 6.78 (т.д, J=7.6, 1.0 Гц, 1H), 7.03 (д, J=7.6 Гц, 1H), 7.77 (д, J=7.8 Гц, 1H), 7.18 (т.д, J=7.6, 1.4 Гц, 1H), 7.29 (т.д, J=7.5, 0.8 Гц, 1H), 7.53 (т.д, J=7.7, 0.9 Гц, 1H), 7.76 (д, J=7.5 Гц, 1H).

Спектр ЯМР ^{19}F (471 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 94.1 (д, J=6.4 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.4, 25.7, 28.4, 48.6, 49.4, 67.5 (к, J=2.6 Гц, C-6b), 73.8, 74.8 (к, J=32.4 Гц, C-6), 92.0, 109.4, 116.6, 118.0, 122.7, 122.8 (к, J=281.8 Гц, CF₃), 123.3, 125.6, 125.8, 126.1, 129.0, 130.7, 144.1, 151.2, 175.6.

Масс-спектр высокого разрешения: Найдено, m/z: 460.1477 [M+H]⁺. C₂₃H₂₁F₃N₃O₄.
Вычислено, m/z: 460.1479.

Пример 21

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-1'-метил-6a-нитро-6-(трифторметил)-4-этокси-6a,6b,7,8,9,11a-гексагидро-6H-спиро[хромено[3,4-a]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 3-нитро-2-трифторметил-8-этокси-2H-хромена (5d), изатина (2b) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 186-187°C.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.31 (т, J=6.9 Гц, 1H, Me), 1.70-2.85 (м, 6H), 2.86 (с, 3H), 4.01 (к, J=6.9 Гц, 2H), 4.39 (т, J=7.2 Гц, 1H), 4.92 (с, 1H), 5.63 (д, J=8.0 Гц, 1H), 6.25 (к, J=6.5 Гц, 1H), 6.68 (т, J=8.0 Гц), 6.85 (д, J=8.0 Гц, 1H), 7.10 (д, J=7.8 Гц, 1H), 7.27 (т, J=7.5 Гц, 1H), 7.52 (т, J=7.7 Гц, 1H), 7.75 (д, J=7.4 Гц, 1H).

Спектр ЯМР ^{19}F (376 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 94.4 (д, J=6.5 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 14.5, 24.4, 25.7, 28.3, 48.5, 49.6, 64.0, 67.5 (к, J=2.2 Гц), 73.7, 74.9 (к, J=32.2 Гц), 92.1, 109.3, 116.6, 119.0, 122.6, 122.8 (к, J=281.6 Гц), 123.2, 125.7, 126.3, 130.7, 133.7, 141.1, 144.1, 147.0, 175.5.

Масс-спектр высокого разрешения: Найдено, m/z: 504.1737 [M+H]⁺. C₂₅H₂₅F₃N₃O₅.
Вычислено, m/z: 504.1741.

Пример 22

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-1'-метил-2,4-дибром-6a-нитро-6-(трифторметил)-6a,6b,7,8,9,11a-гексагидро-6H-спиро[хромено[3,4-a]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 6,8-дибром-3-нитро-2-трифторметил-2H-хромена (5g), изатина (2b) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 203-204°C.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.73-2.81 (м, 6H), 2.89 (с, 3H), 4.36 (т, J=7.4 Гц, 1H), 5.05 (с, 1H), 6.12 (д, J=2.2 Гц, 1H), 6.43 (к, J=6.3 Гц, 1H), 7.15 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.31 (т.д, J=7.6, 0.8 Гц, 1H), 7.56 (т.д, J=7.7, 1.0 Гц, 1H), 7.72 (д, J=7.6 Гц, 1H), 7.79 (д, J=2.2 Гц, 1H).

Спектр ЯМР ^{19}F (471 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 93.4 (д, J=6.3 Гц).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.4, 25.9, 28.6, 48.5, 49.0, 67.4 (к, J=2.2 Гц), 74.0, 75.0 (к, J=32.6 Гц, C-6), 90.3, 109.4, 111.3, 114.1, 122.0, 122.4 (к, J=282.0 Гц), 123.5,

125.4, 126.1, 127.7, 131.1, 134.2, 144.0, 147.3, 175.5.

Масс-спектр высокого разрешения: Найдено, m/z : 617.9667 $[M+H]^+$. $C_{23}H_{19}Br_2F_3N_3O_4$.
Вычислено, m/z : 617.9668.

5 Пример 23

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-1'-метил-6а-нитро-6-(трихлорметил)-2-хлор-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 3-нитро-2-трихлорметил-6-хлор-2Н-хромена (5n), изатина (2b) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

10 Т. пл. 180-181°C.

Спектр ЯМР 1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.69-2.73 (м, 6H), 2.84 (с, 3H), 4.89 (с, 1H), 5.01 (д,д, J=9.3, 6.4 Гц, 1H), 6.05 (д, J=7.8 Гц, 1H), 6.43 (с, 1H), 6.74 (т.д, J=7.7, 1.0 Гц, 1H), 6.99 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.09 (д, J=7.8 Гц, 1H), 7.17 (т.д, J=7.7, 1.2 Гц, 1H), 7.27 (т.д, J=7.5, 0.8 Гц, 1H), 7.51 (т.д, J=7.7, 1.0 Гц, 1H), 7.73 (д, J=7.5 Гц, 1H).

15 Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.2, 25.7, 29.3, 47.9, 50.6, 68.1, 73.2, 82.6, 92.2, 96.3, 109.3, 116.3, 118.2, 122.3, 123.2, 125.1, 125.7, 126.3, 128.8, 130.7, 144.2, 151.6, 175.6.

20 Элементный анализ для $C_{23}H_{20}Cl_3N_3O_4$ (584.75):

Вычислено (%): С, 54.30; Н, 3.96; N, 8.26.

Найдено (%): С, 54.27; Н, 2.71; N, 8.28.

Пример 24

25 Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-1'-метил-2,4-дибром-6а-нитро-6-(трихлорметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 6,8-дибром-3-нитро-2-трихлорметил-2Н-хромена (5р), изатина (2b) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

Т. пл. 168-169°C.

30 Спектр ЯМР 1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.70-2.70 (м, 6H), 2.88 (с, 3H), 5.00 (с, 1H), 5.01 (д,д, J=9.6, 6.4 Гц, 1H), 6.08 (д, J=2.2, 1H), 6.57 (с, 1H), 7.13 (д, J=7.8 Гц, 1H), 7.30 (т, J=7.5 Гц, 1H), 7.55 (т, J=7.7 Гц, 1H), 7.70 (д, J=7.4 Гц, 1H), 7.77 (д, J=2.2 Гц, 1H).

35 Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.2, 25.9, 29.4, 48.2, 50.0, 68.0, 73.6, 82.7, 90.9, 95.5, 109.3, 110.9, 113.5, 121.8, 123.4, 125.5, 126.0, 127.2, 131.0, 134.0, 144.1, 147.8, 175.6.

Элементный анализ для $C_{23}H_{18}Br_2Cl_3N_3O_4$ (666.57):

Вычислено (%): 41.44; Н, 2.72; N, 6.30.

Найдено (%): 41.25; Н, 2.44; N, 5.92.

40 Пример 25

Получение (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-1'-бензил-6а-нитро-6-(трихлорметил)-2-хлор-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено[3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-она.

Данное соединение получают из 3-нитро-2-трихлорметил-6-хлор-2Н-хромена (5n), изатина (2с) и пролина по способу, аналогичному способу примера 1. Время проведения реакции и выход приведены в таблице 1.

45 Т. пл. 163-164°C.

Спектр ЯМР 1H (500 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 1.66-2.76 (м, 6H), 4.54 (д, J=15.9 Гц, 1H),

4.79 (д, J=15.9 Гц, 1H), 4.98 (с, 1H), 5.01-5.08 (м, 1H), 6.11 (д, J=7.7 Гц, 1H), 6.57 (с, 1H), 6.74 (т, J=7.7 Гц, 1H), 6.76-6.82 (м, 2H), 6.88 (д, J=7.6 Гц, 1H), 7.04 (д, J=8.0 Гц, 1H), 7.12-7.31 (м, 5H), 7.39 (т, J=7.6, 1H), 7.79 (д, J=7.5 Гц, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, DMSO- d_6) δ (м.д.): 24.2, 29.3, 42.6, 47.9, 50.3, 68.1, 73.2, 82.4, 91.6, 96.3, 109.8, 116.3, 117.7, 122.6, 123.2, 125.7, 126.0, 126.1, 126.7 (2C), 127.2, 128.4 (2C), 128.8, 130.5, 135.4, 143.2, 151.5, 176.0.

Элементный анализ для $\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_4$ (584.88):

Вычислено (%): C, 59.55; H, 4.14; N, 7.18.

Найдено (%): C, 59.41; H, 4.24; N, 6.97.

Относительная конфигурация 6-трифтор(трихлор)метилзамещенных спиро[хромено [3,4-а]пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-онов общей формулы I однозначно подтверждена методом рентгеноструктурного анализа, выполненного для (6S*,6aS*,6bS*,11S*,11aR*)-2-метокси-6а-нитро-6-(трихлорметил)-6а,6b,7,8,9,11а-гексагидро-6Н-спиро[хромено [3,4-а]пирролизин-11,3'-индолин]-2'-он (пример 12). Структура соединения расшифрована прямым методом с использованием комплекса программ SHELX-97 [G.M. Sheldrick. A short history of SHELX. // Acta Crystallographica Section A: Foundations and Advances, 2008, DOI: 10.1107/S0108767307043930]. Все неводородные атомы уточнены в анизотропном приближении независимо, атомы водорода помещены в геометрически рассчитанные позиции и включены в уточнение в модели «наездника» с зависимыми тепловыми параметрами. Полный набор рентгеноструктурных данных депонирован в Кембриджском банке структурных данных (депонент CCDC 1875227).

Изображение

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения

Список условных сокращений:

МТТ-тест - метод оценки цитотоксической активности, основанный на восстановлении желтой соли тетразолия (МТТ) митохондриальными дегидрогеназами живых клеток до кристаллов формазана, растворимых в ДМСО

IC_{50} (индекс цитотоксичности) - концентрация вещества, при которой наблюдается гибель 50% клеток, мкмоль/л

OP_o - оптическая плотность раствора формазана опытной группы

OP_k - оптическая плотность раствора формазана контрольной группы

Клеточные линии:

Клеточная линия HeLa - клетки карциномы шейки матки человека

Клеточная линия RD - клетки эмбриональной рабдомиосаркомы человека

Изучение цитотоксической активности *in vitro* заявляемых соединений общей формулы I.

Оценку цитотоксической активности проводили с помощью МТТ-теста. С этой целью клетки рассеивали в 96-луночные планшеты в посевной дозе 2×10^5 кл/мл и культивировали в течение 24 часов в среде DMEM с 1% глутамина в присутствии 10% эмбриональной телячьей сыворотки и гентамицина (50 мг/л) при 37°C в увлажненной атмосфере 5%-ного CO_2 , после чего в лунки добавляли исследуемые вещества в различных концентрациях. Клетки инкубировали с веществами в течение 72 часов, после чего проводили оценку жизнеспособности клеток с помощью стандартного МТТ-теста. Опыты проводили в 3 повторностях, с отрицательным (культуральная среда), положительным (раствор цитотоксического препарата камптотецина в концентрации 3 ммоль/л) контролями и контролем растворителя (ДМСО).

Оценку результатов МТТ-теста проводили путем сравнения оптической плотности раствора формазана, измеренной на планшетном сканере ELx800 (BioTek, USA) при длине волны 570 нм в опытных и контрольных лунках и рассчитывали индекс цитотоксичности (ИК) по формуле:

$$ИК = \left(1 - \frac{ОПо}{ОПк}\right) \times 100\%.$$

На основании полученных данных определялся индекс цитотоксичности для каждой концентрации исследуемых веществ. С помощью пробит-регрессии производился расчет показателя ИК₅₀.

Для проведения статистического анализа использовались программы Microsoft Excell и Statistika 2009. Рассчитывались параметры среднего арифметического значения и стандартной ошибки. За достоверные принимали различия средних величин по критерию Манна-Уитни при $p < 0.05$.

Соединением сравнения является лекарственный препарат Камптотецин (Sigma-Aldrich, USA). Камптотецин и его производные (например, Топотекан) применяют в медицинской практике для лечения рака толстой кишки и яичников, рецидивирующего или персистирующего рака шейки матки, мелкоклеточного рака легкого и часто используют для систематического скрининга противоопухолевых препаратов.

Для изучения цитотоксической активности было проведено определение ИК₅₀ для ряда репрезентативных образцов соединений общей формулы I (примеры 1-5, 7-17, 19, 22, 23, 25) по отношению к линии клеток рака шейки матки человека HeLa и эмбриональной рабдомиосаркомы человека RD, полученных из Коллекции клеточных культур Института цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия. Результаты испытаний представлены в таблице 2.

Таким образом, нами впервые получены 6-трифтор(трихлор)метилзамещенные спиро[хромено[3,4-а]пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-оны, которые проявили выраженную цитотоксическую активность в отношении к клеткам рака шейки матки человека HeLa и эмбриональной рабдомиосаркомы RD, и предложен эффективный способ их получения.

Преимуществами данного способа синтеза являются:

1. Доступность исходных реагентов.
2. Мягкие условия проведения реакций.
3. Высокий выход целевых продуктов (72-91)%.
4. Не требуется дополнительная очистка целевых продуктов с помощью перекристаллизации или колоночной хроматографии.

Все протестированные соединения общей формулы I проявили выраженную цитотоксическую активность в отношении к клеточным линиям HeLa и RD. Кроме того, два соединения общей формулы I, где $R^1 = R^2 = Br$, $R^3 = H$, $X = F$ (пример 7) и $R^1 = R^2 = Br$, $R^3 = H$, $X = Cl$ (пример 16), оказались значительно активнее препарата Камптотецин в отношении к клеткам RD и HeLa соответственно и представляют собой потенциальные противоопухолевые препараты для лечения таких заболеваний, как рабдомиосаркома и рак шейки матки человека.

6-Трифтор(трихлор)метилзамещенные спиро[хромено[3,4-а]пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-оны, проявляющие противоопухолевую активность, и способ их получения

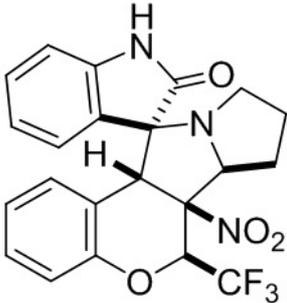
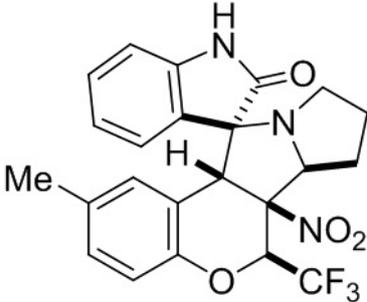
Таблица 1. Синтез соединений общей формулы I (примеры 1-25).

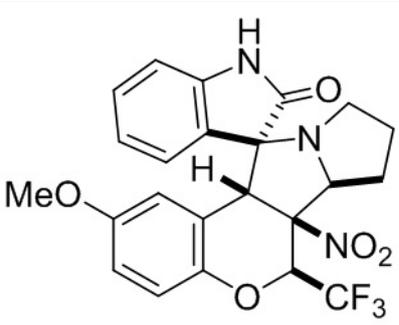
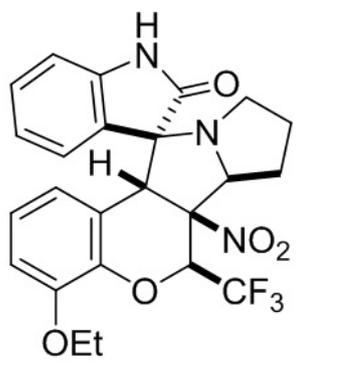
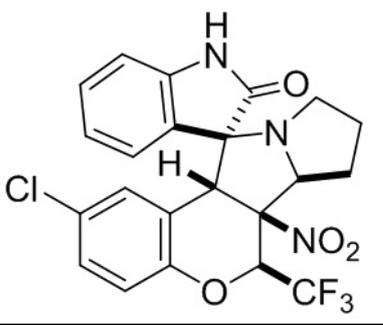
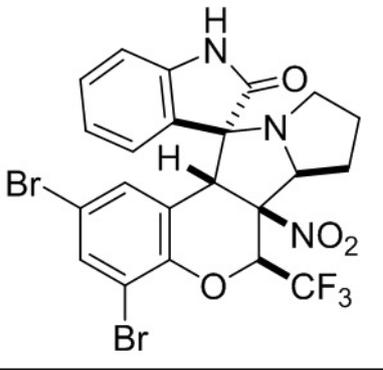
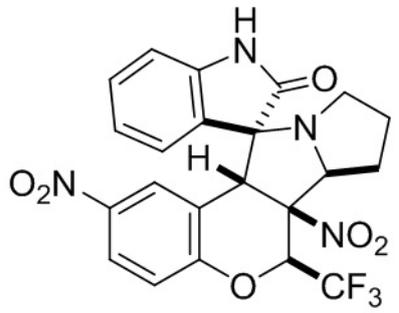
№	Хромен 2	Изатин 3	X	R ¹	R ²	R ³	Время (мин)	Выход (%)
1	5a	2a	F	H	H	H	30	90

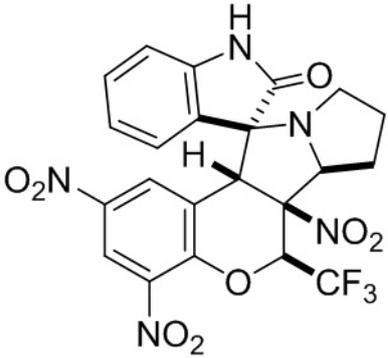
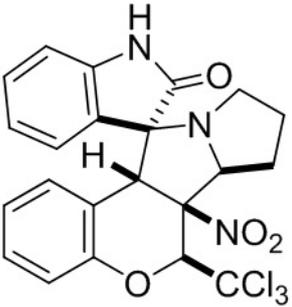
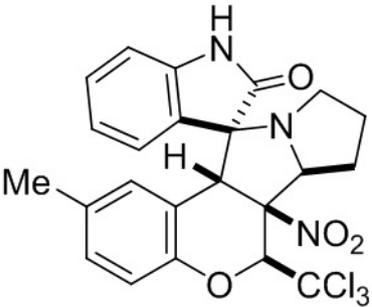
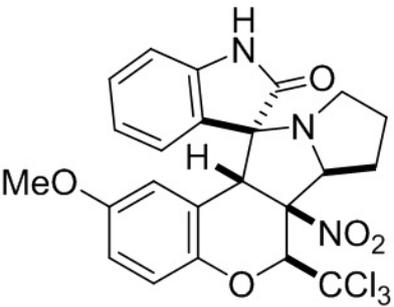
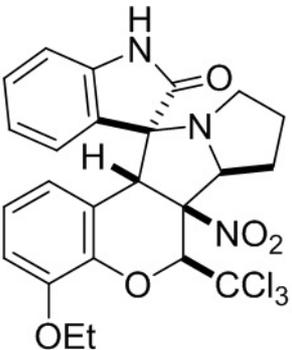
2	5b	2a	F	Me	H	H	40	81
3	5c	2a	F	MeO	H	H	40	83
4	5d	2a	F	H	EtO	H	40	78
5	5e	2a	F	Cl	H	H	20	75
6		2a	F	Br	H	H	20	81
7	5g	2a	F	Br	Br	H	15	83
8	5h	2a	F	NO ₂	H	H	20	95
9	5i	2a	F	NO ₂	NO ₂	H	15	80
10	5j	2a	Cl	H	H	H	35	68
11	5k	2a	Cl	Me	H	H	60	76
12	5l	2a	Cl	MeO	H	H	60	90
13	5m	2a	Cl	H	EtO	H	60	72
14	5n	2a	Cl	Cl	H	H	30	83
15	5o	2a	Cl	Br	H	H	30	85
16	5p	2a	Cl	Br	Br	H	25	91
17	5q	2	Cl	NO ₂	H	H	30	86
18	5r	2a	Cl	H	NO ₂	H	20	93
19	5s	2a	Cl	NO ₂	NO ₂	H	20	97
20	5a	2b	F	H	H	Me	25	90
21	5d	2b	F	H	EtO	Me	40	91
22	5g	2b	F	Br	Br	Me	20	90
23	5j	2b	Cl	H	H	Me	30	79
24	5p	2b	Cl	Br	Br	Me	25	86
25	5j	2c	Cl	H	H	Bn	120	89

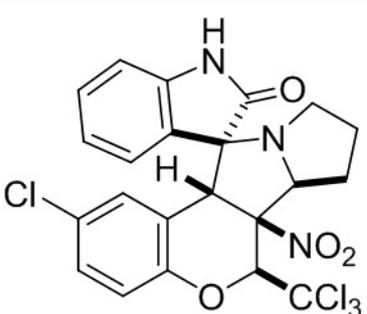
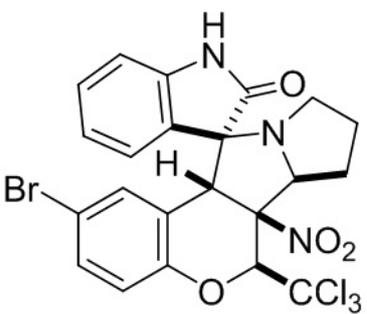
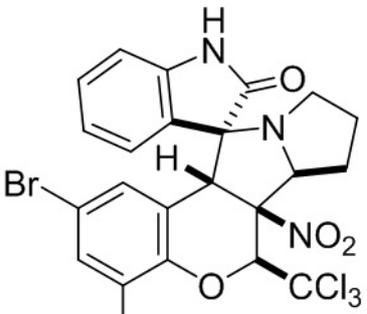
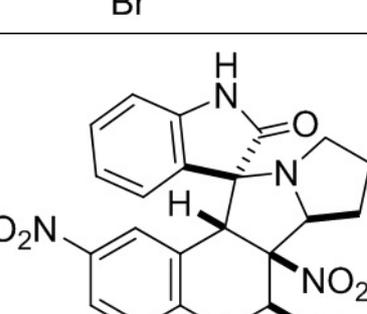
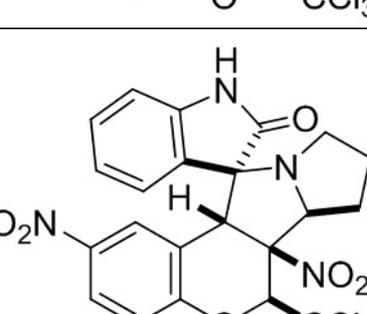
6-Трифтор(трихлор)метилзамещенные спиро[хромено[3,4-а]пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-оны, проявляющие противоопухолевую активность, и способ их получения

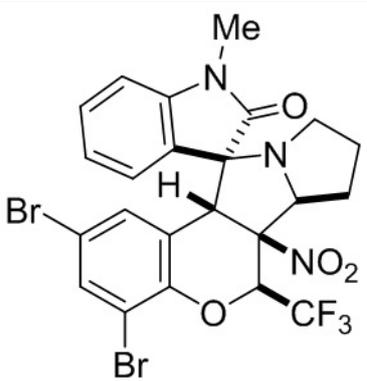
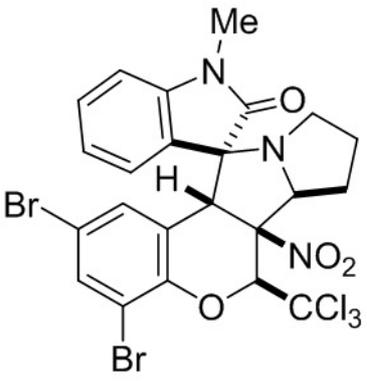
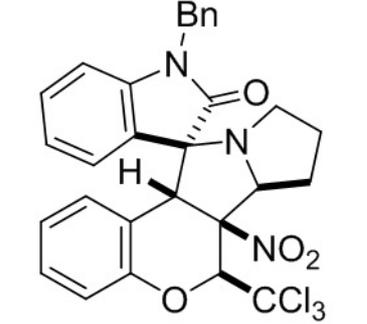
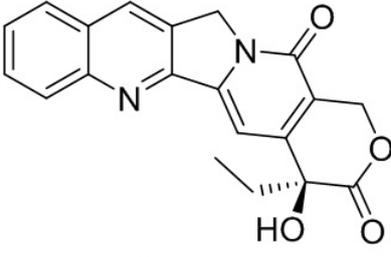
Таблица 2. Значения концентраций соединений общей формулы I, при которых наблюдается гибель 50% клеток (IC₅₀, мкмоль/л) в сравнении с лекарственным препаратом Камптотецин в отношении клеток карциномы шейки матки человека HeLa и рабдомиосаркомы человека RD.

Соединение	ИК ₅₀ (HeLa)	ИК ₅₀ (RD)
	46.11±0.69	56.72±0.65
	7.82±0.19	88.90±6.68

5		1.89±0.37	8.16±0.47
10 15		7.53±0.60	8.56±0.37
20 25		20.34±3.85	76.47±6.95
30 35		10.53±0.88	0.62±0.06
40 45		56.20±8.43	56.20±6.91

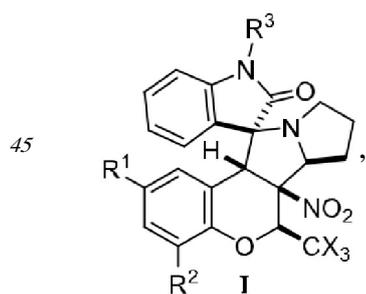
5		40.53±5.67	12.38±1.52
10			
15		1.66±0.28	132.96±7.62
20			
25		11.47±0.66	2.32±0.45
30			
35		7.45±0.74	7.49±0.64
40			
45		17.31±1.55	9.69±0.69

5	 <chem>Clc1ccc(O[C@@H]2[C@H](C(=O)N3C=CC=C3)[C@@H](C4CCCN4)C(=O)N2)cc1</chem>	4.78±0.27	1.65±0.46
10	 <chem>Brc1ccc(O[C@@H]2[C@H](C(=O)N3C=CC=C3)[C@@H](C4CCCN4)C(=O)N2)cc1</chem>	5.57±0.95	7.58±0.93
15	 <chem>Brc1cc(Br)ccc(O[C@@H]2[C@H](C(=O)N3C=CC=C3)[C@@H](C4CCCN4)C(=O)N2)c1</chem>	0.21±0.12	10.15±1.25
20	 <chem>O=[N+]([O-])c1ccc(O[C@@H]2[C@H](C(=O)N3C=CC=C3)[C@@H](C4CCCN4)C(=O)N2)cc1</chem>	56.20±7.31	56.47±6.95
25	 <chem>O=[N+]([O-])c1cc(O[C@@H]2[C@H](C(=O)N3C=CC=C3)[C@@H](C4CCCN4)C(=O)N2)ccc1[N+](=O)[O-]</chem>	64.10±7.05	31.36±3.86

5 10		16.67±2.67	54.29±6.68
15 20		4.43±0.66	5.30±0.65
25 30		28.31±4.25	45.49±5.59
35	 <p>Камптотецин</p>	1.66	1.73

(57) Формула изобретения

1. 6-Трифтор(трихлор)метилзамещенный спиро[хромено[3,4-а]пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-он общей формулы I:



где:

- R¹ представляет собой H, алкил C1-C6, алкокси C1-C6, Br, Cl, NO₂;

- R² представляет собой H, алкил C1-C6, алкокси C1-C6, Br, Cl, NO₂;

5 - R³ представляет собой H, алкил C1-C6, Br;

- X представляет собой F, Cl, обладающий противоопухолевой активностью.

2. Способ получения 6-трифтор(трихлор)метилзамещенных спиро[хромено[3,4-а] пирролизидин-11,3'-индолин]-2'-онов общей формулы I, заключающийся в том, что смесь равных количеств соответствующего хромена (5), изатина (2) и пролина, взятого
10 в 1,3-кратном избытке, перемешивают в изопропиловом спирте при 30°C в течение 15-120 мин в зависимости от заместителей R¹, R² и X в исходном хромене, а затем выпавший осадок отфильтровывают и промывают последовательно изопропиловым спиртом и водой.

15

20

25

30

35

40

45

