

**Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет**

**СЮМКА ЄВГЕНІЯ ІГОРІВНА**

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

**СИНТЕЗ, ХІМІЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МОНО- ТА  
БІС-ПОХІДНИХ СПІРО-2-ОКСІНДОЛ[3,3']ШРОЛУ**

**15.00.02 – фармацевтична хімія і фармакогнозія**

**Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук**

**Харків – 2019**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий керівник: доктор хімічних наук, професор  
**ШЕМЧУК ЛЕОНІД АНТОНОВИЧ**  
Національний фармацевтичний університет,  
завідувач кафедри органічної хімії

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор  
**КОВАЛЕНКО СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ**  
Запорізький державний медичний університет,  
завідувач кафедри органічної та біоорганічної хімії

доктор фармацевтичних наук, професор  
**ДЕМЧЕНКО АНАТОЛІЙ МИХАЙЛОВИЧ**  
ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»,  
завідувач відділу медичної хімії

Захист відбудеться «17» травня 2019 року о 10<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).  
Автореферат розісланий «16» квітня 2019 року.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
професор

В.А. Георгіянц

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

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

Одним із перспективних напрямків по синтезу таких БАР є створення так званих подвійних ліків – сполук, які містять два однакові фармакофорні фрагменти, ковалентно сполучені в одній молекулі. Таке поєднання в багатьох випадках приводить до значущого збільшення рівня біологічної дії. Так, наприклад, відома симетрична молекула ВДНР (яка побудована із двох фрагментів діючої речовини лікарського засобу нітрендипіну) фармакологічно більш активна в 10 разів ніж її вихідний моноаналог. Також серед подвійних ліків з доказаною ефективністю можна виділити антагоністи селективних  $\beta_1$ -адренорецепторів, одержані шляхом дублювання фрагментів окспренололу; впроваджений в медичну практику новий противірусний засіб для лікування гепатиту С «Даклатасвір» тощо. Слід зазначити, що подвійні лікоподібні молекули розповсюджені і в природному світі. Зокрема, це такі відомі сполуки, як дикумарин (*Melilotus officinalis*), госсипол (*Gossypium hirsutum*), алкалоїд із *bis*-індоліновим фрагментом вінкрістін (*Vinca rosea*) тощо.

Перспективними групами сполук для створення на їх основі подвійних, а також бінарних ліків є *bis*-спіроіндоли та *bis*-спірооксіндоли. Ядро спірооксіндолу лежить в основі таких алкалоїдів як горсфілін (*Horsfildea Superba*), гельсемін (*Gelsemium sempervirens*), птероподін (*Uncaria tomentosa*), спіротріпростатини А, В (*Aspergillus fumigatus*) тощо, які виявляють антибактеріальну, протипухлинну, протизапальну активність. Похідні *bis*-спірооксіндолів також знайдено серед алкалоїдів, наприклад, це такі речовини як гелеганідини В і С та гелеганіміни А і В (*Gelsemium elegans*), що виявляють цитотоксичну, протизапальну та болезаспокійливу активність; біснікалатерайн А (*Hunteria zeylanica*), який виявляє антиноцицептивну, жарознижувальну та протизапальну активність. З іншого боку, для багатьох синтетичних похідних спірооксіндолів встановлено наявність вираженої біологічної дії різної фармакологічної спрямованості, наприклад: антивірусна дія, інгібуюча по відношенню до холінестерази, протеази, кінази тощо, а сама спірооксіндолгетероциклічна структура є зручним об'єктом для хімічної модифікації.

В науковій літературі регулярно з'являються публікації присвячені розробці препаративних методів синтезу спіросполучених піроло-2-оксіндолів та вивченню їх фізико-хімічних властивостей. Багато авторів (Grigg R., Fejes I., Курбатов С. В., Lashgari N., Kanagaraju G., Rehn S., Lakshmi N. V., Kumar R. S., Швець А. А. та ін.) вважають, що одним із найкращих підходів для конструювання спіропіроло-оксіндольного ядра є реакція 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів, яка є простим шляхом до синтезу як моно- так і *bis*-похідних даної спірогетероциклічної системи, та зокрема надає змогу створення на їх основі нових подвійних ліків. За допомогою варіювання реагентів в реакціях 1,3-диполярного або [3+2] циклоприєднання можливо синтезувати різноманітні *bis*-похідні спіросполучених піроло-2-оксіндолів, з'єднаних між собою полімерним ланцюгом (зазвичай

метиленовим), ароматичним або гетероароматичним кільцем, що має значний вплив на прояв біологічної дії цільових сполук. Однією із груп диполярофілів, які можливо застосовувати в зазначеному перетворенні, є похідні малеїніміду. З одного боку, вони є зручними у хімічному плані, з іншого – їх використання дозволяє ввести в молекулу фрагмент малеїнової (янтарної) кислоти, що може позитивно вплинути на прояв біологічних властивостей.

Тому, пошук нових потенційних БАР серед похідних *біс*-спіро-2-оксіндол-3,3'-піролу шляхом дослідження та використання реакції 1,3-диполярного циклоприєднання з застосуванням диполярофілів на основі малеїнової кислоти та вивчення впливу подібних комбінувань на прояв біологічних властивостей є перспективним напрямком у створенні нових, ефективних подвійних лікарських засобів.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.**

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

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

#### *Задачі дослідження:*

- шляхом трикомпонентної взаємодії ізатинів,  $\alpha$ -амінокислот та *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїніміду отримати нові ряди спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролів, які поєднують у своїй структурі два високоактивних фармакофори – ядро спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та малеїнімідний фрагмент;
- одержати несиметричні похідні гексаметилен-*N*-малеїнімідопохідні спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу;
- синтезувати симетричні похідні гексаметилен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2*a'*,5*a'*-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону), які містять дві однакові фармакофорні групи, об'єднані ковалентно в одну молекулу;
- дослідити особливості перебігу, вплив природи реагентів та розчинників на реакцію трикомпонентної конденсації ізатинів,  $\alpha$ -амінокислот та *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїніміду;
- дослідити реакції 1,3-диполярного циклоприєднання з використанням у якості диполярофілів *N,N'*-етилен-*біс*-малеїніміду, *N,N'*-*біс*-малеїнімідоксаліламіну та *N,N'*-*m*-фенілен-*біс*-малеїніміду, вивчити хімічні властивості отриманих сполук та одержати їх функціоналізовані похідні;
- довести будову синтезованих сполук з використанням сучасних інструментальних методів аналізу;

- спланувати та провести фармакологічний скринінг синтезованих сполук з метою виявлення потенційних БАР та за його результатами виявити закономірності взаємозв'язку «структура – біологічна дія»;

- базуючись на результатах досліджень біологічної активності обрати найбільш перспективні субстанції для подальшого поглибленого фармакологічного вивчення.

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

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

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

**Наукова новизна отриманих результатів.** Синтезовано нові ряди похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу, зокрема: несиметричні гексаметилен-*N*-малеїнімідопохідні спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та симетричні гексаметилен-*N,N'*-*біс*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піроли, етилен-*N,N'*-*біс*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піроли, симетричні похідні *m*-фенілен-*N,N'*-*біс*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) та їх моно-аналоги та похідні *N,N'*-*біс*-малеїнімідоксаліламіну шляхом трикомпонентної взаємодії ізатину з  $\alpha$ -амінокислотами та диполярфілами на основі *біс*-малеїнімідів (*N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїнімід, *N,N'*-етилен-*біс*-малеїнімід, *N,N'*-*m*-фенілен-*біс*-малеїнімід та *N,N'*-*біс*-малеїнімідоксаліламін відповідно) – потенційні БАР, що поєднують у своїй структурі два високоактивних фармакофори: ядро спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та малеїнімідний фрагмент, а *біс*-похідні спіро-2-оксіндол[3,3']піролу, які містять дві однакові ковалентно сполучені фармакофорні групи, в свою чергу, є потенційними новими подвійними БАР.

Досліджено перебіг трикомпонентної конденсації ізатинів,  $\alpha$ -амінокислот з *N,N'*-гексаметилен-*біс*-малеїнімідом та встановлена її залежність від співвідношення та природи реагентів і розчинників.

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

Вперше одержано дані про біологічну активність синтезованих моно- та *bis*-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу. Знайдено сполуки, які виявили виражену протимікробну, антиоксидантну, протизапальну активності та проявили інгібуючі властивості стосовно рецептора фактора росту фіброblastів (FGFR1) і є перспективними БАР.

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

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

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

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

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

**Апробація результатів дисертації.** Основний зміст дисертаційної роботи доповідався на: Всеукраїнській науковій конференції студентів, аспірантів і молодих

учених з міжнародною участю «Хімічні проблеми сьогодення» (Донецьк, 17-20 березня 2014 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Actual questions of development of new drugs» (Харків, 22-23 квітня 2014 р.), Українській науково-практичній конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження д-ра хім. наук, проф. Павла Олексійовича Петюніна «Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій» (Харків, 24–25 квітня 2014 р.), XII Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії (Дніпропетровськ, 19-21 травня 2014 р.), XV Науковій конференції «Львівські хімічні читання» (Львів, 24-27 травня 2015 р.), III Міжнародній науково-практичній конференції «Химия, био- и нанотехнологии, экология и экономика в пищевой и косметической промышленности» (Харків, 15–16 жовтня 2015 р.), XII Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії (Харків, 11–13 травня 2016 р.), VIII Національному з'їзді фармацевтів України (Харків, 13–16 вересня 2016 р.), XXIV Українській конференції з органічної хімії (Полтава, 19–23 вересня 2016 р.), X Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання» (Харків, 23–25 квітня 2018 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 12-13 квітня 2018 р.), VIII Міжнародній конференції «Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles» (Харків, 12–16 листопада 2018 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опублікована 21 наукова праця, у тому числі 6 статей у фахових виданнях, з них 1 – в іноземному, 2 патенти України на корисну модель, 13 тез доповідей.

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

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** висвітлена актуальність обраної теми, сформульовано мету та завдання досліджень, визначено об'єкт і предмет досліджень, перераховані використані наукові методи дослідження, відзначено наукову новизну і практичну значимість одержаних результатів, зазначено відомості про впровадження і апробацію результатів дисертаційної роботи та представлено її структуру.

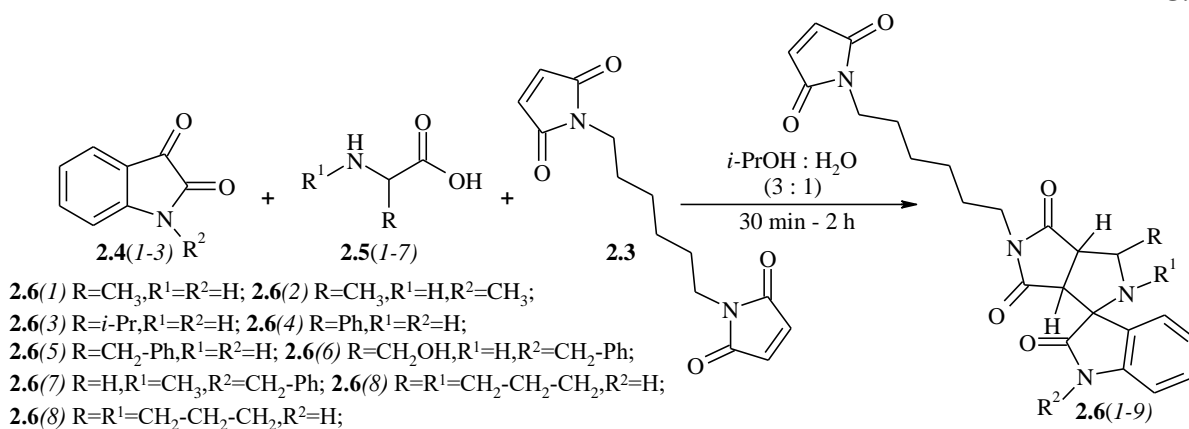
**Розділ 1. Синтез, хімічні властивості та біологічна активність спіро-2-оксіндолів та біс-спірооксіндолів (огляд літератури).** Проаналізовано та узагальнено літературні дані щодо сучасних методів синтезу спіро-2-оксіндолів і біс-спірооксіндолів, їх фізико-хімічних властивостей та можливостей фармакологічного застосування.

## Розділ 2. Синтез та хімічні властивості спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролів на основі трикомпонентної взаємодії ізатинів, $\alpha$ -амінокислот та $N,N'$ -гексаметилен-*біс*-малеїніміду.

Реакція 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів є зручним препаративним методом конструювання спіропіролооксіндольного ядра. Використання в цій взаємодії різноманітних замішених ізатинів, амінокислот та дипольрофілів, зокрема, на основі малеїніміду відкриває широкі межі для синтезу і подальшої хімічної модифікації нових моно- (несиметричних) та *біс*- (симетричних) похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу. Метою нашої роботи стало одержання відповідних речовин, введення до їх структури різноманітних замісників та дослідження впливу таких комбінунвань на прояв біологічних властивостей.

**Синтез несиметричних гексаметилен- $N$ -малеїнімідопохідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу.** Як вихідну сполуку було використано  $N,N'$ -гексаметилен-*біс*-малеїнімід **2.3**<sup>\*</sup>, який має активований електроноакцепторними замісниками  $\pi$ -зв'язок і відіграє роль дипольрофілу у реакціях 1,3-диполярного циклоприєднання. Шляхом трикомпонентної одnoreакторної конденсації ізатинів (ізатин **2.4(1)**,  $N$ -метилізатин **2.4(2)**,  $N$ -бензилізатин **2.4(3)**), амінокислот (L-аланін **2.5(1)**, L-валін **2.5(2)**, L-фенілглїцин **2.5(3)**, L-фенілаланін **2.5(4)**, L-серин **2.5(5)**, саркозин **2.5(6)**, L-пролін **2.5(7)**) та  $N,N'$ -гексаметилен-*біс*-малеїніміду **2.3** синтезовано з високими виходами нові несиметричні похідні 1'-(гексаметилен- $N$ -малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1' $H$ -спіроіндол-3,3'піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1' $H$ ,5' $H$ )-триону **2.6(1-9)** (схема 1).

Схема 1



Проведення цієї реакції потребує чіткого дотримання еквімолярного співвідношення реагентів, оскільки надлишок ізатину та амінокислоти веде до утворення домішки *біс*-похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу. Вибір відповідного розчинника мав велике значення для ефективності синтезу (табл. 1). З'ясовано, що кип'ятіння реагентів у суміші ізопропанол-вода (3:1) дає найкращий результат (м'які умови реакції, економічність, високі виходи, менший час нагрівання). Час перебігу реакції також залежав від природи використаних амінокислот, а завдяки зміні забарвлення реакційного середовища (яке обумовлено утворенням проміжних азометинілідів) було можливим візуально контролювати перебіг реакцій. Так, наприклад, з L-проліном **2.5(7)** конденсація проходила за 30 хвилин, а перебіг реакції супроводжувався зміною кольору реакційної суміші від

\* Нумерація сполук за текстом автореферату відповідає нумерації у дисертації

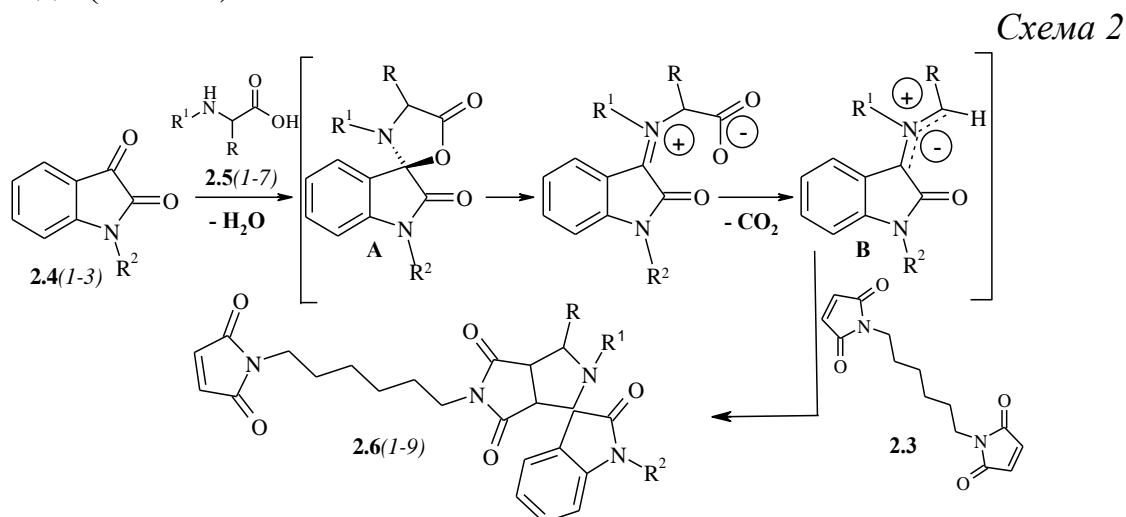


**Оптимізація вибору розчинника  
на прикладі синтезу сполук 2.6(1), 2.6(6), 2.6(8)**

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

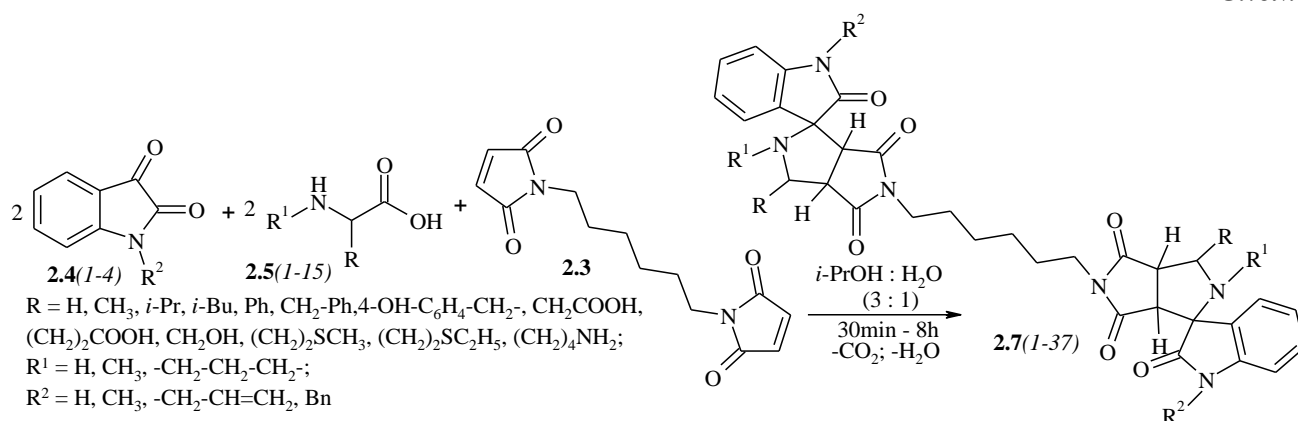
яскраво-червоного через синій (стадія утворення азометиніліду) до знебарвлення. А у випадку з L-фенілглїцином **2.5(3)** реакційну суміш нагрівали протягом двох годин та спостерігали зміну кольору від яскраво-червоного через рожевий (стадія утворення азометиніліду) до безбарвного.

Базуючись на даних літератури можна запропонувати наступний механізм даної взаємодії (схема 2).



На першій стадії внаслідок послідовних процесів приєднання аміногрупи сполук **2.5(1-7)** по  $\beta$ -карбонільній групі ізатинів **2.4(1-3)** та відщеплення молекули води, утворюється аддукт **A**, після чого відбувається розкриття лактонного циклу з наступним декарбоксілюванням; інтермедіат **B**, вступає у реакцію [3+2]-циклоприєднання з *N,N'*-гексаметилен-біс-малеїнімідом **2.3**, останній має активований електроноакцепторним замісником  $\pi$ -зв'язок, завдяки чому таке циклоприєднання є можливим.

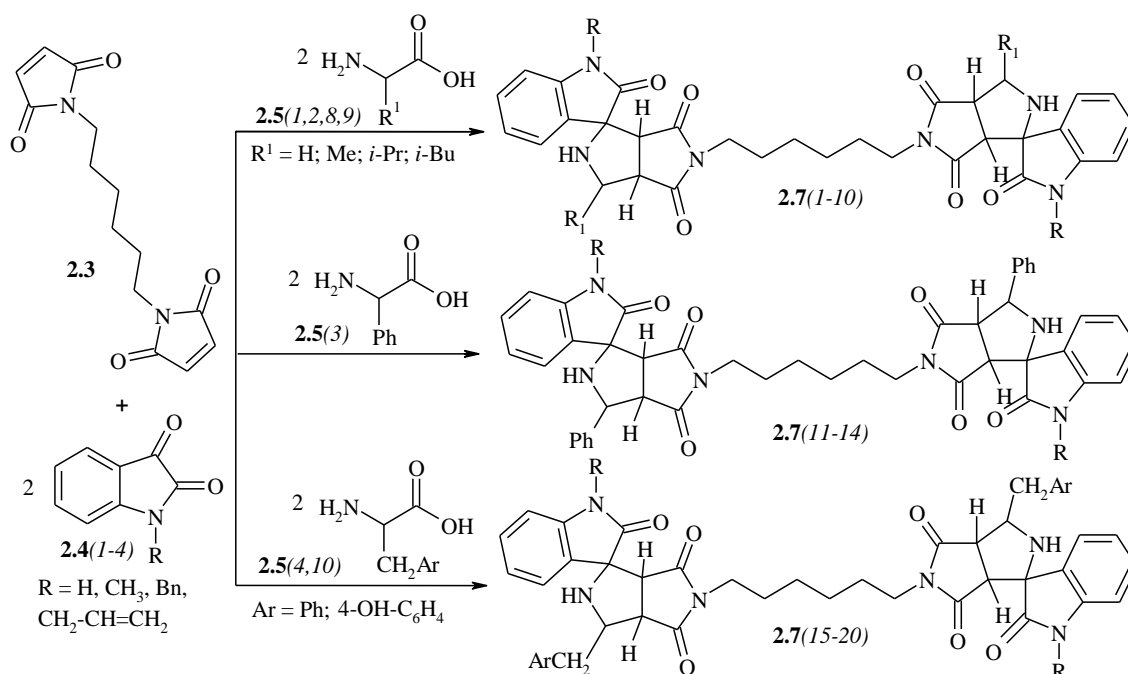
**Синтез та хімічні перетворення симетричних біс-похідних гексаметилен-*N,N'*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу.** Даний підрозділ присвячено синтезу симетричних біс-похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу з різноманітними замісниками у положеннях 1 та 5' **2.7(1-37)**. Шляхом трикомпонентної доміно-конденсації двократного надлишку ізатинів **2.4(1-4)** та  $\alpha$ -амінокислот **2.5(1-15)** з *N,N'*-гексаметилен-біс-малеїнімідом **2.3** в середовищі полярних розчинників синтезовано нові симетричні похідні гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **2.7(1-37)** (схема 3).



Оптимальним розчинником для проведення даної трикомпонентної взаємодії було обрано ізопропанол у суміші з водою в співвідношенні (3:1). Слід зазначити, що при проведенні конденсації в середовищі метанол-вода (3:1) (що широко застосовується в синтезі подібних похідних) збільшувався час перебігу реакції, а продукти утворювалися з меншими виходами або у вигляді маслянистих сполук, які важко піддавались перекристалізації.

Використовуючи первинні амінокислоти (гліцин **2.5(8)**, L-аланін **2.5(1)**, L-валін **2.5(2)**, L-лейцин **2.5(9)**, L-фенілгліцин **2.5(3)**, L-фенілаланін **2.5(4)**, L-тірозин **2.5(10)**) та ізатини (ізатин **2.4(1)**, N-метилізатин **2.4(2)**, N-бензилізатин **2.4(3)**, N-алілізатин **2.4(4)**) в реакціях трикомпонентної конденсації з N,N'-гексаметиленбіс-малеїнімідом **2.3** було одержано відповідні симетричні цільові сполуки **2.7(1-20)** з різними алкільними та арильними радикалами у положеннях 1 та 5' (схема 4).

Схема 4

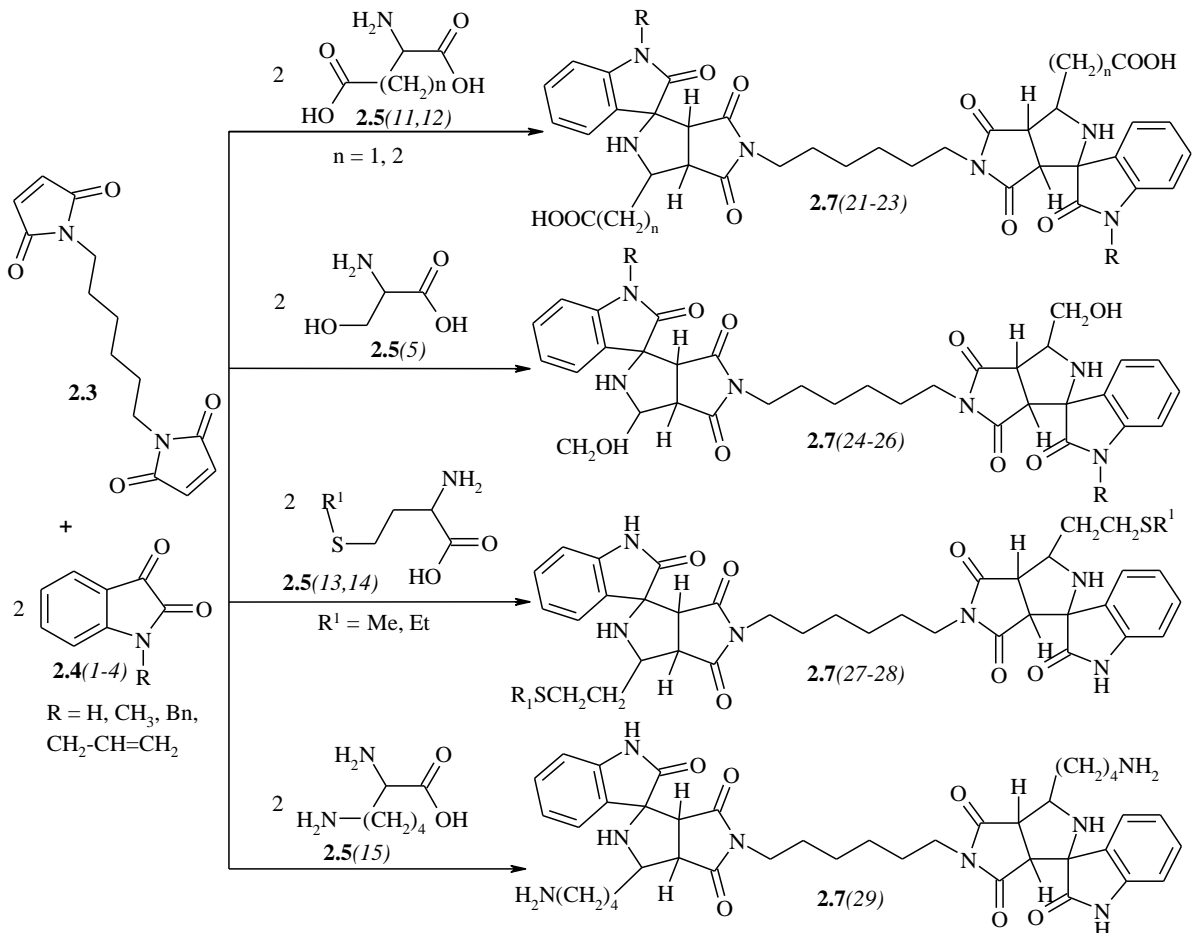


Слід зазначити, що структура  $\alpha$ -амінокислот суттєво впливає на перебіг реакції 1,3-диполярного циклоприєднання, в той час як зміна замісників в ізатині у положенні 1 здебільшого не впливала на проходження даної трикомпонентної взаємодії. Цільові продукти **2.7(11-20)** з арильними радикалами у положенні 5' утворювалися легко, реакція тривала не більше години, а продукти випадали із

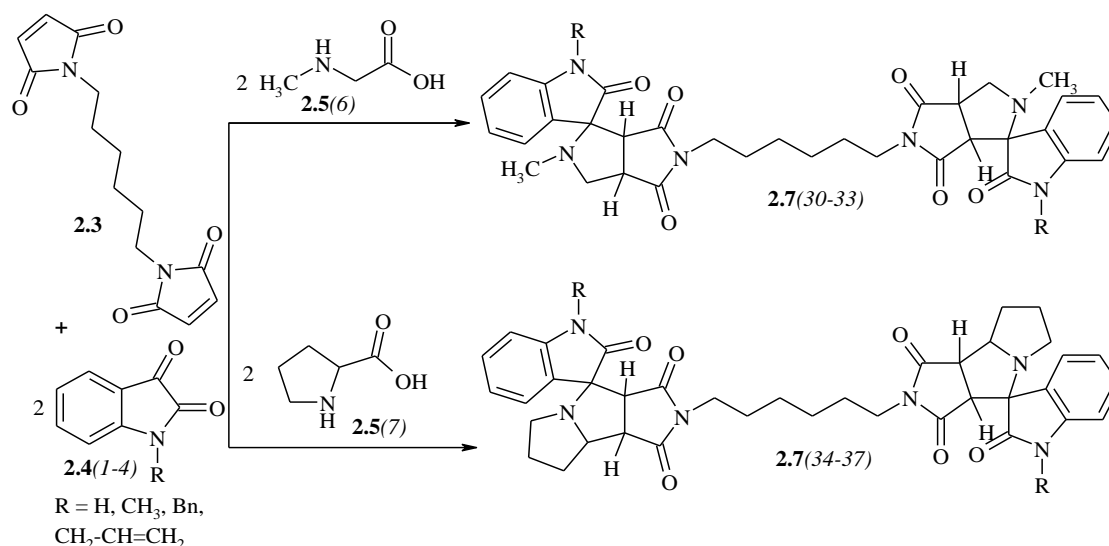
киплячого розчину у вигляді аморфних осадів. Реакції трикомпонентної конденсації з отриманням цільових продуктів **2.7(1-10)** з алкільними радикалами у положенні 5', навпаки тривали довше (до 5 годин у випадку з гліцином та до 8 годин у випадку з L-аланіном), а продукти реакції утворювалися у вигляді маслянистих сполук, які важко кристалізувались, відповідно і виходи реакцій були нижчими.

Згідно з літературними даними похідні спіро-2-оксіндолів з гетерофункціональними замісниками виявляють широкий спектр біологічної дії. Тому було заплановано синтез симетричних похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу, які містять функціоналізовані залишки амінокислот у положенні 5'. Використовуючи первинні амінокислоти (L-лізин **2.5(15)**, L-серин **2.5(5)**, L-етіонін **2.5(14)**, L-метіонін **2.5(13)**, L-глутамінова кислота **2.5(12)**, L-аспарагінова кислота **2.5(11)**) та ізатини (ізатин **2.4(1)**, N-метилізатин **2.4(2)**, N-бензилізатин **2.4(3)**, N-алілізатин **2.4(4)**) в доміно-реакціях трикомпонентної конденсації з N,N'-гексаметилен-біс-малеїнімідом **2.3** було одержано симетричні сполуки **2.7(21-29)** з різними радикалами у положенні 5' до складу яких входять гетероатоми (O, N, S) та з алкільними і арильними замісниками у положенні 1 (схема 5).

Схема 5

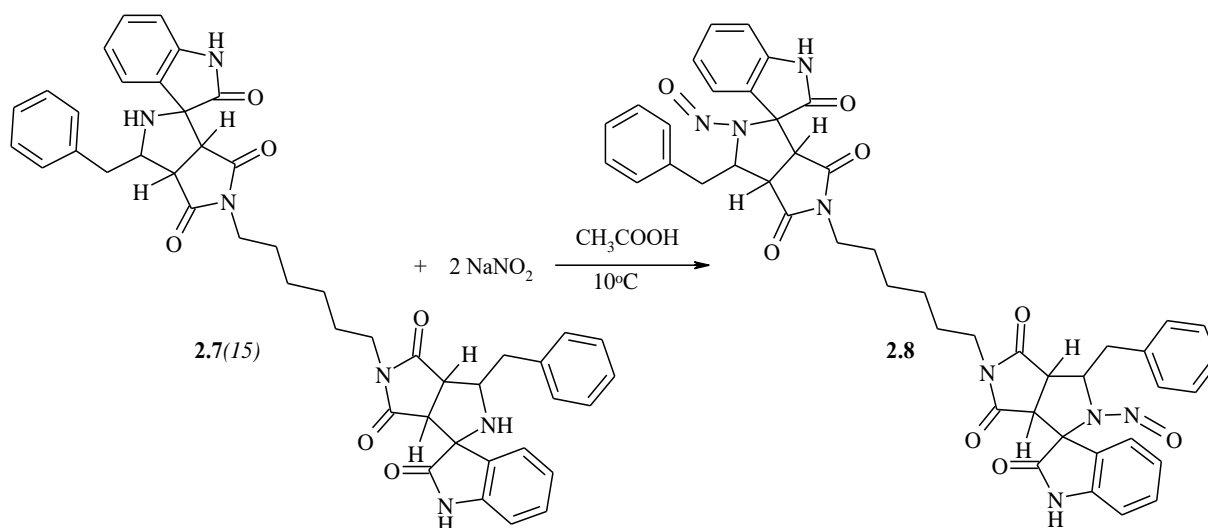


Відомо багато прикладів реакцій 1,3-диполярного циклоприєднання з використанням вторинних амінокислот, зокрема саркозину та L-проліну. Нами шляхом однореакторної трикомпонентної конденсації ізатинів **2.4(1-4)** із саркозином **2.5(6)** або L-проліном **2.5(7)** та N-гексаметилен-біс-малеїнімідом **2.3** в середовищі полярних розчинників були отримані цільові гексаметилен-N,N'-біс-спіроіндол-3,3'-піроло [3,4-с]піроли **2.7(30-37)** (схема 6).



Існує багато наукових публікацій з описанням протипухлинної дії природних та синтетичних сполук, які містять гетероциклічне спіро-2-оксіндольне ядро. З іншого боку, при аналізі хімічної структури вже існуючих лікарських засобів та біологічно активних речовин з протипухлинною активністю встановлено, що деякі з них містять у своїй структурі нітрозогрупу. Так з метою подальшого розширення рядів біологічно активних речовин, було вирішено дослідити можливість введення нітрозогрупи в спірогетероциклічне 2-оксіндольне ядро синтезованих симетричних сполук **2.7(1-37)** та проведено нітразування на прикладі гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-бензил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **2.7(15)**, яке перебігало по 4'-NH групі піроло[3,4-*c*]пірольного фрагменту (схема 7).

Схема 7



Будову одержаних сполук підтверджено методами ІЧ-, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії та елементним аналізом.

### Розділ 3. Дослідження трикомпонентної взаємодії між ізатином, α-амінокислотами та диполярфілами на основі малеїнової кислоти.

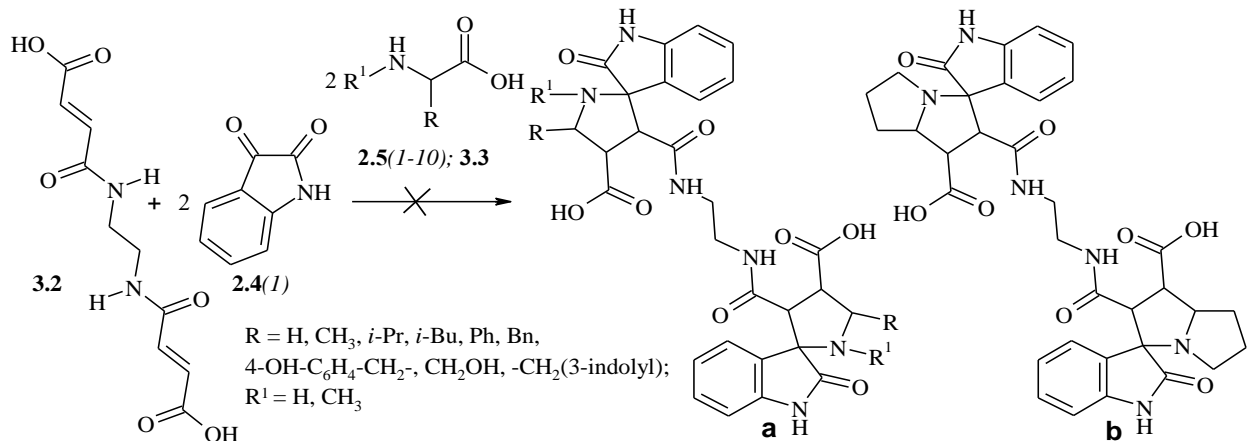
Метою подальшої роботи стало дослідження реакції 1,3-диполярного циклоприєднання ізатину **2.4(1)**, α-амінокислот **2.5(1-10)**, **3.3** з використанням

різноманітних дипольофілів на основі малеїніміду: (*N,N'*-ди(3-карбоксіпропеноїл)-1,2-етилендіамін **3.2**, *N,N'*-етилен-*bis*-малеїнімід **3.5**, *N,N'*-*bis*-малеїнімідоксаліамін **3.12**, *N,N'*-*m*-фенілен-*bis*-малеїнімід **3.16** та вивчення впливу даних комбінувань на прояв біологічних властивостей.

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

Очікувалось, що трикомпонентна взаємодія між ізатином **2.4(1)**,  $\alpha$ -амінокислотами **2.5(1-10)**, **3.3** і *N,N'*-ди(3-карбоксіпропеноїл)-1,2-етилендіаміном **3.2** у середовищі полярних розчинників має привести до утворення похідних *N,N'*-етан-1,2-дііл-*bis*-спіро-2-оксіндол[3,2']-3'*H*,4'*H*,5'*H*-піроло-4'-карбоксі-3'-карбоксаміду **a** та **b** (у випадку використання L-проліну) (схема 8).

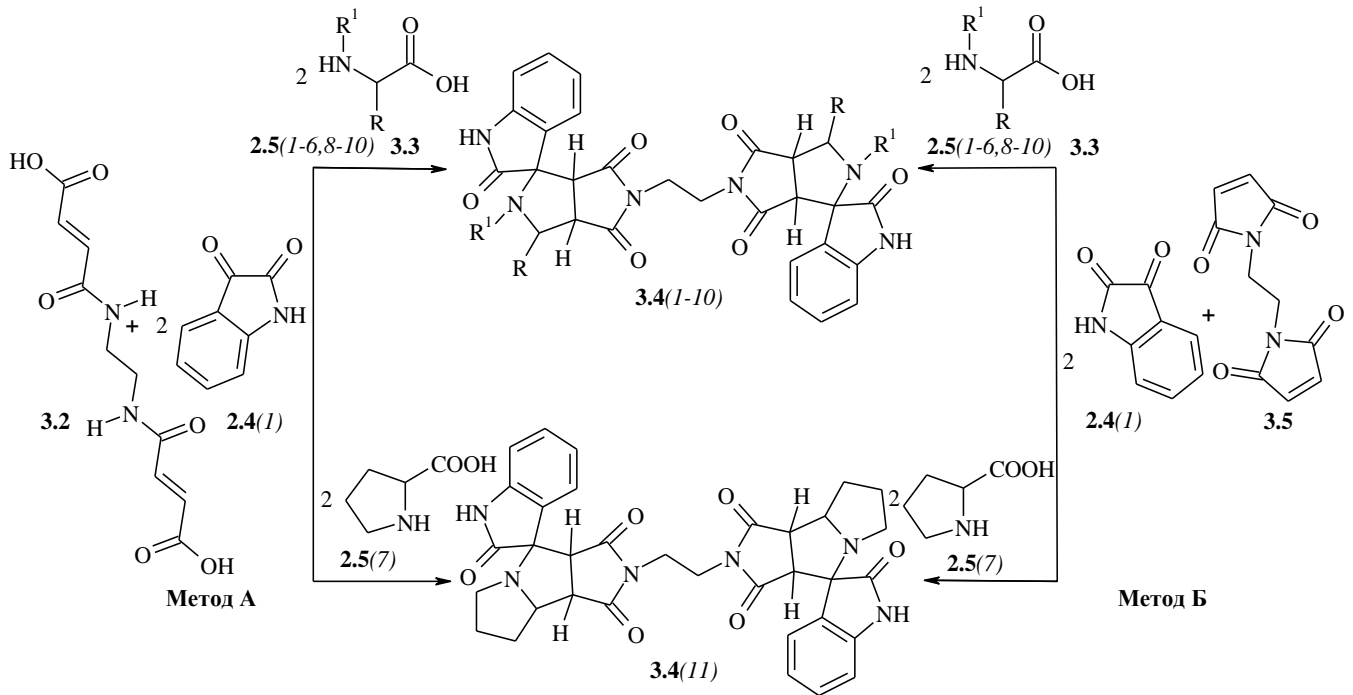
Схема 8



Несподіваним виявилась відсутність сигналів протонів NH та COOH груп в  $^1\text{H}$  ЯМР спектрах синтезованих сполук. Нами було зроблено припущення, що в ході реакції відбувається ще й замикання імідного циклу *N,N'*-ди(3-карбоксіпропеноїл)-1,2-етилендіаміну **3.2**, що веде до утворення сполук **3.4(1-11)** (метод А; схема 9).

Для доведення цього припущення було проведено зустрічний синтез (метод Б), в якому замість *N,N'*-ди(3-карбоксіпропеноїл)-1,2-етилендіаміну **3.2** було використано продукт його циклізації *N,N'*-етилен-*bis*-малеїнімід **3.5**. Отримані в такий спосіб сполуки не відрізнялись за своїми фізико-хімічними характеристиками та спектральними даними від сполук синтезованих за методом А, змішана проба зразків сполук **3.4(1-11)**, одержаних різними способами, не давала депресії температури плавлення. Метод Б порівняно до методу А мав свої переваги: вищі виходи одержаних сполук **3.4(1-11)** та менший час проведення реакції.

Природньо повстало питання: на якому етапі в процесі реакції відбувається утворення малеїнімідного циклу? Можна припустити, що спочатку в умовах реакції відбувається замикання кислоти **3.2** в малеїнімід **3.5**, або ж кислота **3.2** утворює сполуки **a**, **b** (схема 8), а вже на наступному етапі відбувається циклізація. Для вирішення цього питання було проведено холостий дослід: нагрівання кислоти **3.2** за тих самих умов без додавання ізатину та амінокислот. Дані  $^1\text{H}$  ЯМР спектру продукту отриманого в холостому досліді (рис. 1) показали, що за цих умов відбувається лише часткова циклізація сполуки **3.2**. На користь цього свідчить наявність у спектрі синглетного сигналу при 6,97 м.ч., який також спостерігається у спектрі циклічного етилен-*bis*-малеїніміду **3.5** (рис 2).



R = H, CH<sub>3</sub>, *i*-Pr, *i*-Bu, Ph, Bn, 4-OH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH<sub>2</sub>-, CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>(3-індоліл); R<sup>1</sup> = H, CH<sub>3</sub>

Група сигналів в межах 4,2-2,7 м.ч. (рис. 1) свідчить про альтернативні процеси

(приєднання за активованим подвійним зв'язком нуклеофільних реагентів, естерифікацію тощо). Таким чином, можна зробити висновок, що основний шлях даної реакції полягає у взаємодії кислоти **3.2**, ізатину **2.4** та амінокислот **2.5** з утворенням адуктів **a**, **b** та подальшої циклізації з утворенням імідного циклу:  $3.2 + 2.4 + 2.5 \rightarrow [a,b] \rightarrow 3.4$ . Однак, ймовірно, частина вихідних сполук реагує за альтернативним напрямком.

З метою розширення рядів біологічно активних речовин *bis*-похідних етилен-*N,N'*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу було проведено нітрузування етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил (ізопропіл)-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*, 1'*H*,5'*H*)-тріонів) **3.4(2,3)**, яке перебігало по NH групі пірольного фрагменту з утворенням відповідних похідних **3.6(1,2)** (схема 10)

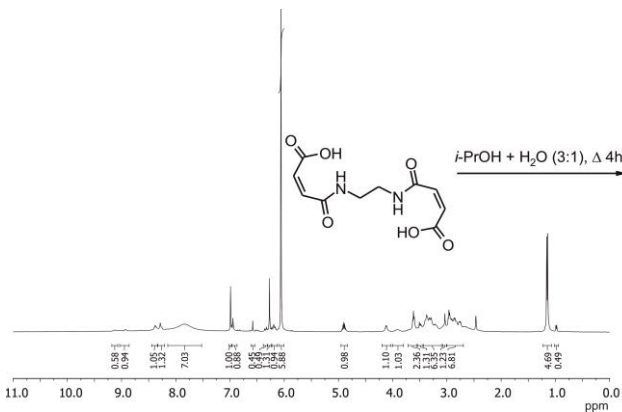


Рис. 1. Спектр <sup>1</sup>H ЯМР продукту реакції холостого дослідження

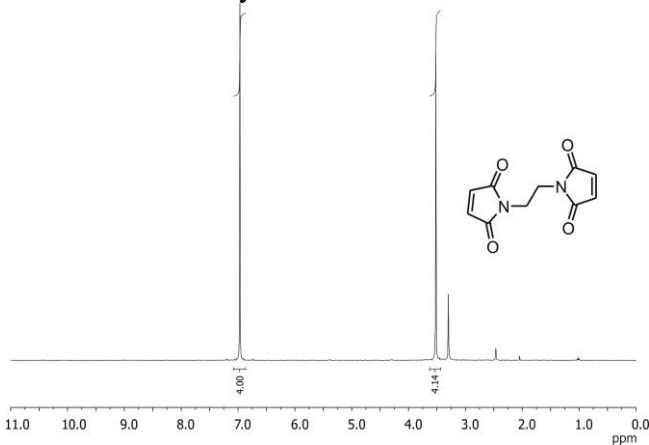
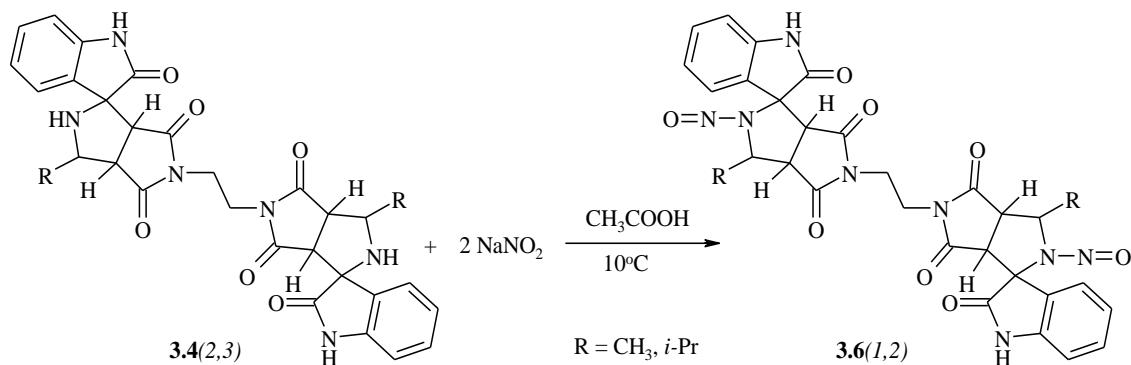
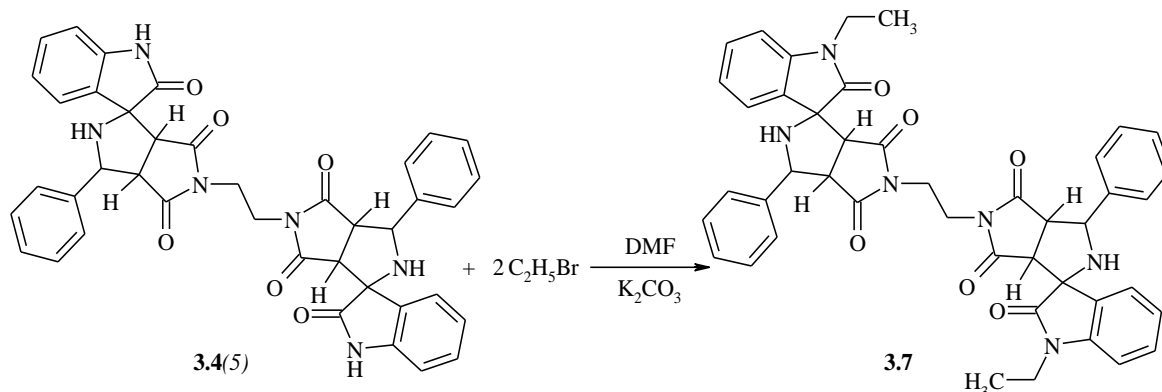


Рис. 2. Спектр <sup>1</sup>H ЯМР етиленбісмалеїніміду **3.5**



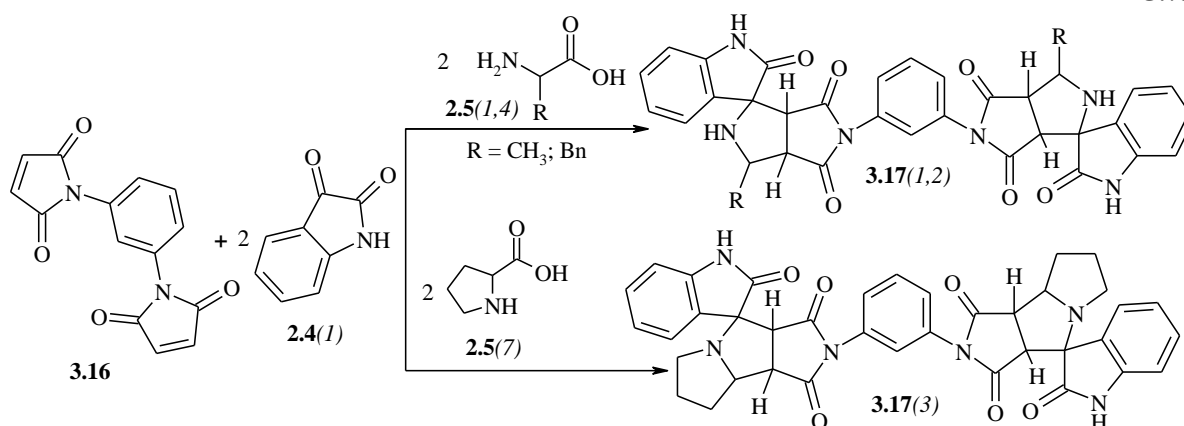
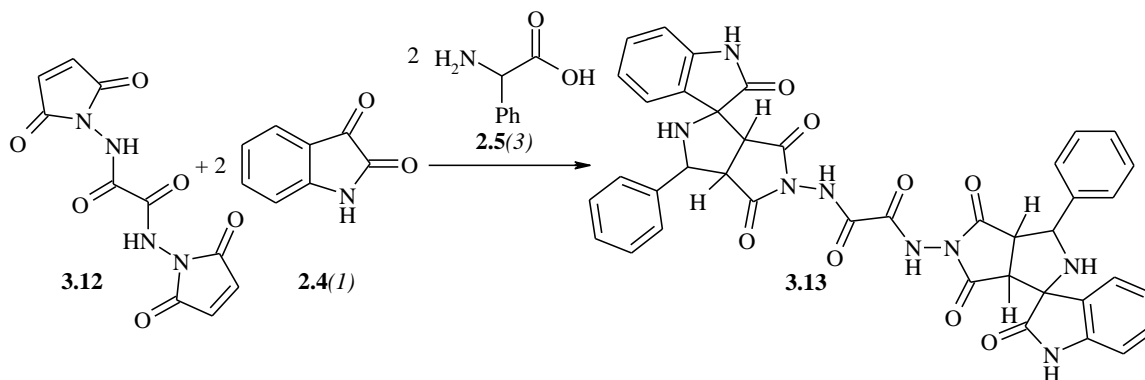
Наявність у сполуках **3.4(1-11)** NH-груп дозволяє ввести їх у реакції алкілювання, що було зроблено на прикладі *біс*-похідного етилен-*N,N'*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу **3.4(5)** (схема 11).



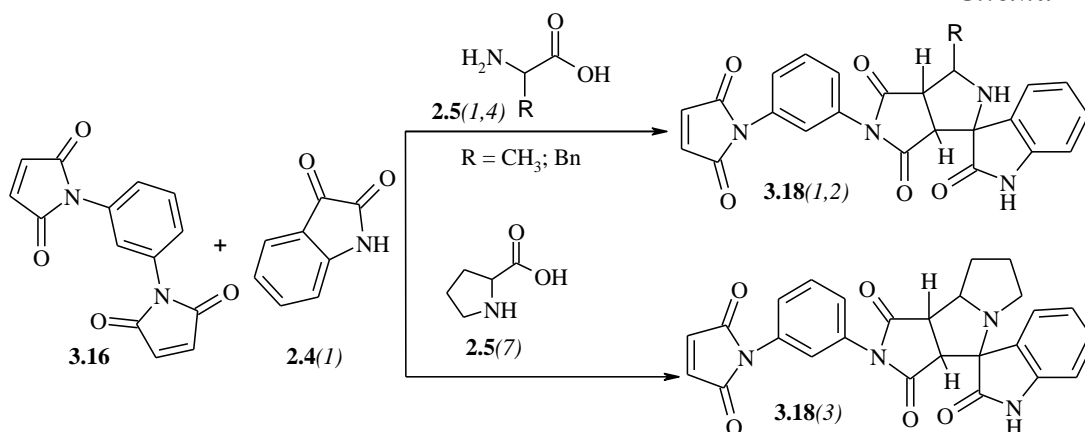
Алкілювання відбувалось за індольними N-1 фрагментами *біс*-сполуки з утворенням *біс*-похідного **3.7**. Пірольні фрагменти *біс*-сполуки, за даних умов не алкілювались, про що свідчать дані  $^1\text{H}$  ЯМР – спектроскопії.

**Синтез і хімічні перетворення похідних біс-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та їх моно аналогів на основі *N,N'*-біс-малеїнімідоксаліаміну та *N,N'*-*m*-фенілен-біс-малеїніміду в якості диполярофілів.** Трикомпонентна реакція синтезу похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу виявилася зручним і ефективним методом конструювання складної гетероциклічної системи з використанням доступних реагентів в м'яких умовах. Продовжуючи дослідження даної взаємодії між ізатином,  $\alpha$ -амінокислотами та диполярофілами на основі малеїнової кислоти, в якості диполярофілу було використано *N,N'*-біс-малеїнімідоксаліамін **3.12**. Шляхом взаємодії двократного надлишку ізатину **2.4(1)** та L-фенілгліцину **2.5(3)** з *N,N'*-біс-малеїнімідоксаліаміном **3.12** було отримано відповідне *біс*-спіропохідне піроло[3,4-*c*]піролу **3.13** (схема 12).

Наступним диполярофілом було обрано *N,N'*-*m*-фенілен-біс-малеїнімід **3.16**. Шляхом трикомпонентної доміно-конденсації двократного надлишку ізатину **2.4(1)** та  $\alpha$ -амінокислот **2.5(1, 4, 7)** з *N,N'*-*m*-фенілен-біс-малеїнімідом **3.16** синтезовано нові симетричні похідні *m*-фенілен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2 $\alpha'$ ,5 $\alpha'$ -дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **3.17(1-3)** (схема 13).



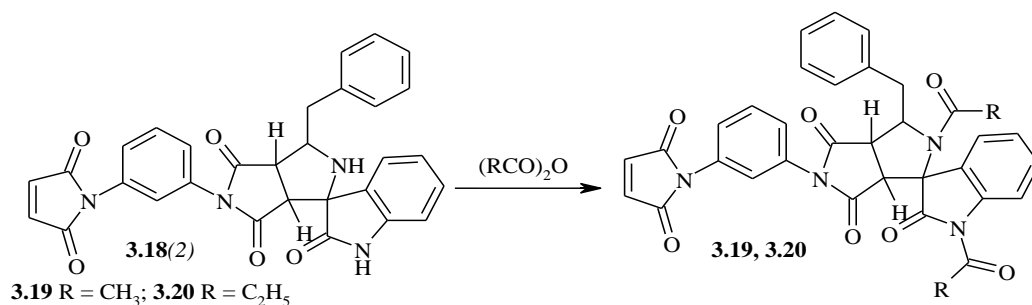
Також було проведено дану реакцію з еквімолярним співвідношенням реагентів і отримано моно аналоги похідних *m*-фенілен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу **3.18(1-3)** (схема 14).



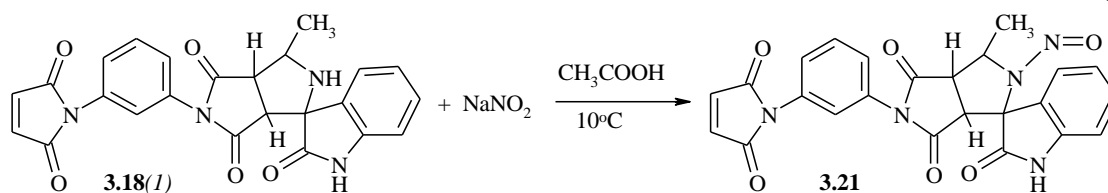
Відомо, що спіропіролооксіндоли легко ацилюються з високими виходами при кип'ятінні в оцтовому ангідриді в присутності каталітичних кількостей оцтової кислоти. Нами було проведено реакцію ацилювання на прикладі сполуки **3.18(2)**, яку кип'ятили в оцтовому або в пропіоновому ангідриді (схема 15). Як результат було виділено речовини **3.19** або **3.20** з високими виходами. При цьому ацилювання відбувалось одразу за двома положеннями: по вторинній аміногрупі пірольного та індольного фрагментів.

Нітрозування 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімід)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **3.18(1)**, на відміну від аци-





лювання, відбувалось виключно за атомом нітрогену пірольного фрагменту з утворенням мононітросопохідного **3.21** (схема 16).



Будову одержаних сполук підтверджено методами ІЧ-, <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії та елементним аналізом.

#### Розділ 4. Дослідження біологічної дії похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу.

**Обговорення результатів дослідження гексаметилен-N-малеїнімідопохідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу та їх біс-аналогів, як потенційних інгібіторів протеїнкіназ.** Алгоритм дослідження включав три етапи: 1) обрахунок та аналіз молекулярних дескрипторів структур за допомогою програмного комплексу *Molinspiration software*; 2) молекулярне моделювання зв'язування колекції сполук із протеїнкіназами CK2 та FGFR1 *in silico* та відбір найактивніших сполук за енергією зв'язування з використанням програми Autodock4; 3) скринінг вибраних сполук *in vitro* відносно протеїнкіназ CK2 та FGFR1.

За даними аналізу молекулярних дескрипторів досліджуваних структур **2.6(3,8)**; **2.7(1-3, 5-32, 34-37)** були відібрані сполуки **2.6(3,8)**; **2.7(1-3, 5-17, 20-32, 34-37)**, серед яких на другому етапі було відібрано чотири сполуки (**2.6(3,8)**; **2.7(2,6)**), які мають високу прогностичну лікоподібність. Для цих сполук за даними докінгу відмічається висока вірогідність утворення водневих зв'язків з важливим шарнірним регіоном кіназного домену, який бере участь у зв'язуванні природного субстрату кіназ – АТФ. На прикладі сполуки **2.6(8)** показана ймовірна схема зв'язування інгібітора за рахунок водневих зв'язків із АТФ-зв'язувальним сайтом FGFR1 (рис. 3) та 3D-модель зв'язування за даними молекулярного моделювання (рис. 4).

Крім того, шляхом комп'ютерного моделювання нами було з'ясовано, що сполука **2.6(8)** має виявляти здатність блокувати активність FGFR1, шляхом зв'язування із шарнірним регіоном кіназного домену за рахунок малеїнімідного лінкера. Такий зв'язок можливий завдяки наявності малеїнімідного фрагменту здатного реагувати з вільними залишками цистеїну поліпептидного ланцюга. Схема утворення кон'юганту між **2.6(8)** та FGFR1<sub>v</sub>-генно-інженерного походження наведена на рис. 5.

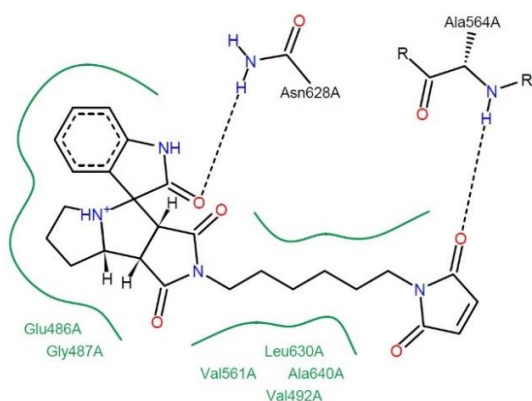


Рис. 3. Схема утворення водневих зв'язків сполукою **2.6(8)** із амінокислотами АТФ-зв'язувальної кишені FGFR1.

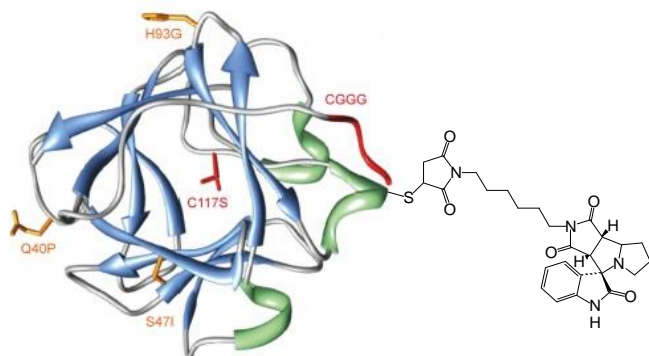


Рис. 5. Схема утворення можливого кон'юганту між сполукою **2.6(8)** та фактором росту фібробластів FGFR1<sub>v</sub>-генно-інженерного походження.

крива залежності активності протеїнкінази FGFR1 від концентрації **2.6(8)** для визначення IC<sub>50</sub>, яка склала 45 мкмоль/л.

Одержані дані дозволяють зробити висновок, що синтез досліджуваних похідних є перспективним для пошуку нових потенційних протипухлинних агентів.

**Обговорення результатів дослідження протимікробної активності похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу.** Вивчення антимікробної активності симетричних похідних гексаметилен(етилден)-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **2.7(1-37)**, **3.4(1-8, 10, 11)** та несиметричних моно похідних 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **2.6(1-9)** проводили відповідно до вимог ДФУ методом кратних серійних розведень або методом дифузії в агар у модифікації колодязів.

Серед похідних гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **2.7(1-37)** найбільшу антибактеріальну активність по відношенню до: *S. aureus*, *S. epidermidis* та *C. albicans* виявили похідні **2.7(6, 9, 10, 17, 18, 23, 24, 26, 30, 31)**. Сполука **2.7(17)** виявила слабо виражені антистафілококові властивості, проте введення *N*-алільних радикалів до її оксіндольних ядер (сполука **2.7(18)**) привело до підвищення активності більш ніж вдвічі відносно стафілококів. Сполука **2.7(30)**, що містить незаміщені NH-оксіндольні ядра, виявилася активною виключно до стафілококів. Серед

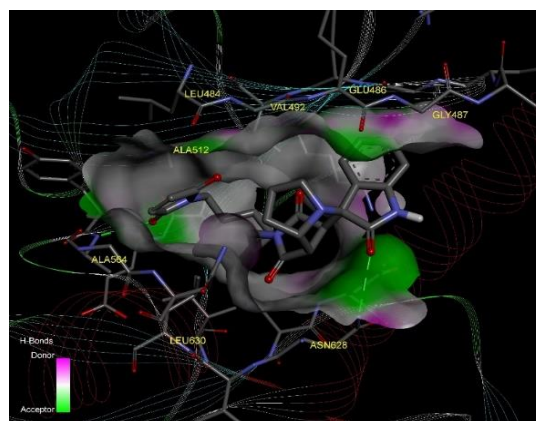


Рис. 4. 3D-модель зв'язування сполуки **2.6(8)** з АТФ-зв'язувальним сайтом протеїнкінази FGFR1.

В дослідженнях *in vitro* використовували активований кіназний домен людської кінази FGFR1. Активність FGFR1 визначали за включенням радіоактивного фосфору в пептидний субстрат кінази при його фосфорилюванні кіназою у присутності  $\gamma$ -<sup>32</sup>P-АТФ. Найбільша здатність інгібувати кіназу FGFR1 була виявлена у 1'-(гексаметилен-*N*-малеїнімідо)-2а',7а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролізидин-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **2.6(8)**. Побудована

досліджених сполук **2.7(1-37)** обрано найактивнішу сполуку гексаметилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-1-бензил-5'-гідроксиметил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон) **2.7(26)**, яка виявляє майже у два рази вищу активність, ніж препарат порівняння ципрофлоксацин.

Несиметричні моно похідні гексаметилен-*N*-малеїнімідоспіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу **2.6(1-9)**, в цілому, виявилися значно активнішими за гексаметилен-*N,N'*-*bis*-похідні спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу **2.7(1-37)**. Так відповідні *bis*-аналоги сполук **2.6(1-5, 8, 9)** виявили незначну антимікробну активність стосовно *S. aureus* і були зовсім неактивні по відношенню до *C. albicans*. Проте, МБК щодо *S. aureus* і МФК сполуки **2.6(6)** виявились нижчими порівняно з відповідним *bis*-похідним **2.7(26)**. Для сполук **2.6(1,3)** мінімальна бактерицидна концентрація дорівнює МБК цефалексину. Зони затримки росту стосовно *C. albicans* для досліджуваних сполук **2.6(1-9)** перевищували майже у два рази препарат порівняння. Для сполук **2.6(1,2)** мінімальна фунгіцидна концентрація дорівнює МФК флуконазолу. Таким чином, за результатами мікробіологічних випробувань серед несиметричних похідних гексаметилен-*N*-малеїнімідоспіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу **2.6(1-9)** знайдені перспективні для подальшого дослідження наступні речовини: відносно *S. aureus* – **2.6(1, 3, 6, 7)**; відносно *C. albicans* – **2.6(1-3)**.

Похідні етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **3.4(1-8, 10, 11)** виявили більш широкий спектр антимікробної активності у порівнянні з гексаметилен-*N,N'*-*bis*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,3'*H*,5'*H*)-тріонами **2.7(1-37)** та їх несиметричними моно аналогами **2.6(1-9)**. Так, усі мікроорганізми виявились чутливими до досліджуваних речовин **3.4(1-8, 10, 11)**. Зони затримки росту *P. vulgaris*, *E. coli* та *P. aeruginosa* були у середньому для всіх сполук на 1, 2 та 5 мм відповідно більшими, ніж препарату порівняння синтоміцину. Стосовно грампозитивних бактерій сполуки **3.4(1-8, 10, 11)** також виявили високу активність: зони затримки росту *S. aureus* та *B. subtilis* виявились у середньому на 3 мм більшими, ніж у препарату порівняння. Але найбільша активність була виявлена стосовно грибів *C. albicans*: зони затримки росту виявились у середньому на 7 мм більшими, ніж для препарату порівняння метронідазолу. За даними мікробіологічного скринінгу найбільш активними виявились сполуки: етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон) **3.4(1)** та етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон) **3.4(2)**, які можуть бути рекомендовані для подальшого фармакологічного вивчення.

**Обговорення результатів дослідження антиоксидантної та протизапальної активності похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу.** Дослідження проводили в умовах *in vitro* на моделі спонтанного перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в гомогенаті печінки. Сполуки **2.6(5), 2.8, 3.6(1)** виявили найбільш потужні антиоксидантні властивості і були відібрані для подальшого вивчення протизапальної (антиексудативної) активності на моделі гострого асептичного запалення задньої кінцівки (карагенинового набряку). Референс-препаратом обрано індометацин, який вводили в дозі 5,25 мг/кг. Протизапальну (антиексудативну)

активність вивчали в дозах 5 мг/кг, 7 мг/кг. В експерименті використовували білих аутбредних щурів масою 170-200 г.

Виявлено, що речовини **2.6(5)** та **2.8**, в дозах 5 та 7 мг/кг виявляють помірну протизапальну активність, яка була нижчою в порівнянні з активністю референс-препарату. Однак, сполука **3.6(1)** в дозах як 5, так і 7 мг/кг проявила виражену протизапальну дію, яка в дозі 7 мг/кг достовірно не відрізнялася від активності індометацину. Таким чином, етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1Н,1'Н,5'Н)-тріон **3.6(1)** виявляє виражену протизапальну дію і може бути рекомендований для подальших поглиблених фармакологічних досліджень.

## ВИСНОВКИ

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

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

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

3. Експериментально підібрана оптимальна система розчинників для проведення трикомпонентної конденсації ізатинів,  $\alpha$ -амінокислот та *bis*-малеїнімідів: встановлено, що використання суміші *i*-PrOH-Н<sub>2</sub>O у співвідношенні 3:1 дозволяє одержати похідні спіро-2-оксіндол[3,3']піролу з високими виходами та чистотою.

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

5. Досліджено особливості перебігу трикомпонентної взаємодії між ізатином,  $\alpha$ -амінокислотами та *N,N'*-ди(3-карбоксіпропеноїл)-1,2-етилендіаміном. Вперше встановлено, що в ході цієї реакції додатково відбувається замикання імідного циклу з утворенням етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-

2а',5а'-дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріонів. Показано, що основний шлях цієї взаємодії передбачає циклізацію в імідний цикл на стадії утворення адукту.

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

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

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

13. Синтез та мішень-орієнтований пошук лікоподібних молекул, виявлення потенціальних інгібіторів кіназ серед синтезованих вперше алкіліден-*N,N'*-біс-

похідних спіро[індол-3,1'-пірол[3,4-с]піролу] / Р. Г. Редькін, Є. І. Сюмка, Л. А. Шемчук, В. П. Черних. *Львівські хімічні читання: мат: XV наукової конференції*, м. Львів 24-27 травня 2015 р. Львів, 2015. С. 135.

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

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

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

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

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

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

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

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

## АНОТАЦІЯ

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

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

Дисертаційна робота присвячена синтезу нових біологічно активних речовин – похідних моно- та *бис*-спіро-2-оксіндол[3,3']піролу та виявленню серед них перспективних сполук, які можуть бути рекомендовані для подальших поглиблених фармакологічних досліджень. Реакцією 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів, отриманих *in situ* із ізатинів та  $\alpha$ -амінокислот з різноманітними диполярофілами на основі *бис*-малеїнімідів були синтезовані нові гексаметилен(етилен, оксалиламін, *m*-фенілен)-*N,N'*-*бис*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а', 5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріони) та їх моноаналоги. Досліджено перебіг цієї реакції в залежності від співвідношення та природи реагентів, розчиннику та її механізм. Досліджено можливості нітרוзування, алкілування та ацилування отриманих речовин. Структури синтезованих сполук підтверджено за допомогою ІЧ-, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії, елементного аналізу. Знайдено сполуки, які виявили виражену протимікробну, антиоксидантну, протизапальну активності та інгібуючі властивості стосовно рецептора фактора росту фібробластів (FGFR1) та є перспективними БАР.

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

## АННОТАЦИЯ

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

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

Диссертация посвящена синтезу новых биологически активных веществ – производных моно- и *бис*-спіро-2-оксіндол[3,3']пірола и поиску среди них перспективных соединений, которые могут быть рекомендованы для дальнейших углубленных фармакологических исследований. Реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинилидов (полученных *in situ* из изатинов и  $\alpha$ -аминокислот) с разнообразными диполярофилами на основе *бис*-малеинимидов синтезированы новые гексаметилен(этилен, оксалиламин, *m*-фенилен)-*N,N'*-*бис*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2а', 5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріони) и их моноаналоги. Исследован процесс протекания реакции в зависимости от соотношения и природы реагентов, растворителя и ее механизм. Проведено нитрозирование, алкилирование и ацилирование полученных веществ. Строение полученных соединений подтверждено с помощью ИК-, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопии, хромато-масс-спектрометрии и элементарным анализом. Найдено соединения с



выраженной противомикробной, антиоксидантной, противовоспалительной активностью и ингибирующими свойствами относительно рецептора фактора роста фибробластов (FGFR1), которые являются перспективными БАВ.

*Ключевые слова:* органический синтез, спиро-2-оксиндол, *бис*-спироциклические системы, изатин,  $\alpha$ -аминокислоты, *бис*-малеинимид, многокомпонентные реакции, нитрозо производные, двойные лекарства, биологическая активность.

## SUMMARY

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

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

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

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

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

In order to optimize the method of synthesis of target compounds, the process of the reaction of three-component one-pot condensation of isatins,  $\alpha$ -amino acids and *N,N'*-hexamethylene-*bis*-maleimide was studied depending on the ratio and nature of the reagents as well as the solvent and the mechanism of this interaction was analyzed. It is shown that the nature of the substituents in position 1 of isatin does not affect the process of this interaction. The structure of  $\alpha$ -amino acids affects its flow. Thus, with the use of primary  $\alpha$ -amino acids with aryl and benzyl radicals, the target compounds were formed with high yields in 30 - 60 minutes. With the use of primary  $\alpha$ -amino acids with alkyl radicals and secondary L-proline and sarcosine, the reaction takes 5 - 8 hours.

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

The peculiarities of the three-component interaction between isatin, amino acids and *N,N'*-di(3-carboxypropenoyl)-1,2-ethylenediamine are investigated. It was found that in the course of this reaction additionally there is a closure of the imide cycle to form ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-2a,5a'-dihydro-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,

5'*H*)-triones. A counter-synthesis was carried out in which, instead of dipolarofil (*N,N'*-di(3-carboxypropenoyl)-1,2-ethylenediamine), a product of its cyclization (*N,N'*-ethylene-*bis*-maleimide) was used. It is shown that the main path of this interaction involves cycling into the imide cycle at the stage of formation of the adduct. To confirm this, a blank experiment was conducted: the heating of *N,N'*-di(3-carboxypropenoyl)-1,2-ethylenediamine under the same conditions without the addition of isatin and amino acids.

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

The structure of compounds synthesized was confirmed by IR-, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR-spectroscopy, mass-spectrometry and elemental analysis.

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

Results allowed to select "leading substances" [(1'-(hexamethylene-*N*-maleimido)-2a',7a'-spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrolizidine-2,2',7'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione; hexamethylene-*N,N'*-*bis*(spiroindol-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-1-benzyl-5'-hydroxymethyl-2a',5a'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione), 1'-(hexamethylene-*N*-maleimido)-5'-methyl-2a',5a'-dihydro-1'*H*-spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione, ethylene-*N,N'*-*bis*(spiro-indole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-2a',5a'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione), ethylene-*N,N'*-*bis*(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-5'-methyl-2a',5a'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione), ethylene-*N,N'*-*bis*(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-4'-nitroso-5'-methyl-2a',5a'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione)] that can be recommended for further pharmacological studies in order to create on their basis new drugs with the above types of pharmacological actions.

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

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

Ar	Арил
BDHP	<i>Біс</i> -дигідропіридин похідне
Bn	Бензіл
Et	Етил
FGFR1	Рецептор фактору росту фібробластів
DMF	Диметилформамід
IC <sub>50</sub>	Концентрація напівмаксимального інгібування
<i>i</i> -Pr	Радикал ізопропіл
<i>i</i> -PrOH	Ізопропиловий спирт
Me	Радикал метил
Ph	Радикал феніл
R	Радикал
АТФ	Аденозинтрифосфат
БАР	Біологічно активні речовини
ДФУ	Державна фармакопея України
DMF	Диметилформамід
ІЧ	Інфрачервона спектроскопія
м. ч.	Мільйонні частки
ЯМР	Ядерний магнітний резонанс

Підписано до друку 12.04.2019 р. Формат 60x84/16. Папір офсетний.  
Гарнітура Times ET. Умов.-друк. арк. 0,9. Наклад 100 прим. Замов. № 0412/5-19.

---

Надруковано з готового оригінал-макета у друкарні ФОП В. В. Петров  
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців.  
Запис № 24800000000106167 від 08.01.2009 р.  
61144, м. Харків, вул. Гв. Широнінців, 79в, к. 137, тел. (057) 78-17-137.  
e-mail:bookfabrik@mail.ua