

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России)

На правах рукописи



ТРУХАНОВА ЮЛИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С,N-ДИАРИЛФОРМАМИДИНОВ С
АНГИДРИДАМИ ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ - ПУТЬ К СОЗДАНИЮ
НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ N-ЗАМЕЩЕННЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ СУКЦИНИМИДА, ФТАЛИМИДА И
ГЛУТАРИМИДА**

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Научный руководитель:
кандидат фармацевтических наук, доцент Куваева Е.В.

Санкт-Петербург

2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	1
1.1. Имидазолы и конденсированные имидазолы	2
1.2. Пиримидины.....	35
1.3. Хиназолины	41
1.4. Аминохиназолины и их производные	47
1.5. Азагетероциклы с тремя гетероатомами.....	61
2. Синтез и строение новых N-замещенных производных циклических имидов: сукцинимидов, фталимидов и глутаримидов.....	66
2.1. Изучение реакции получения новых N-замещенных производных сукцинимидов	66
2.2. Изучение реакции получения новых N-замещенных производных фталимида (5a-q)	72
2.4. Доказательство строения полученных сукцинимидов, фталимидов, глутаримидов	83
3. Биологическая активность синтезированных соединений	90
3.1. Прогностический анализ острой токсичности и биологической активности.....	90
3.2. Анализ острой токсичности методом <i>in vivo</i>	92
3.3. Анализ анальгезирующей и противовоспалительной активности методом <i>in vivo</i>.....	95
4. Разработка первичного стандартного образца.....	103
4.1. Разработка подходов к аттестации первичных стандартных образцов.....	103
4.2. Аттестация первичного стандартного образца 2-({[4-нитрофенил]имино}(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона 5g	119

5. Экспериментальные данные	137
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	169
СПИСОК ИСТОЧНИКОВ	171
<i>Приложение 1.....</i>	<i>200</i>
<i>Приложение 2.....</i>	<i>204</i>

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ЯМР – ядерный магнитный резонанс;

РСА – рентгеноструктурный анализ;

RT – комнатная температура;

ТСХ – тонкослойная хроматография;

LD₅₀ – полумлетальная доза;

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

NMP – *N*-метил-2-пирролидон;

ДМСО – диметилсульфоксид;

DCE – дихлорэтан;

MeOH – метиловый спирт;

DAVCO – 1,4-диазабцикло[2.2.2]октан;

2,2'-bipy – 2,2'-бипиридил;

Dppf – 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен;

DMFA – *N,N*-диметилформамид;

TMU – тетраметилтиомочевина;

PIDA – фенилйод(III)диацетат;

THF – тетрагидрофуран;

HFIP – гексафтор-2-пропанол;

TFE – 2,2,2-трифторэтанол;

PIFA – бис(трифторацетокси)йодбензол;

Ph₃P – трифенилфосфин;

DMEDA – 1,2-диметилэтилендиамин;

TMEDA – тетраметилэтилендиамин;

TCNE – тетрацианоэтилен

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Получение высокофункционализированных гетероциклических структур является важной задачей современного органического синтеза что, в дальнейшем, позволяет рассматривать их как строительные блоки для создания новых биологически активных органических соединений. Отдельной задачей является модификация, в том числе гетероциклизация, тех структур, которые уже показали себя как перспективные биологически активные соединения. В связи с этим, интересным направлением является химическая модификация *C,N*-диарилформамина, хорошо зарекомендовавших себя в медицинской химии. Известно, что *C,N*-диарилформамидины обладают выраженной анальгезирующей активностью. Они также проявляют противовоспалительную, антимикробную, противогрибковую и антикоагулянтную активности. Однако данные производные являются достаточно токсичными соединениями ($LD_{50} = 10-650$ мг/кг), что накладывает ограничения на их прямое использование. При этом *C,N*-диарилформамидины могут выступать в качестве как моно-, так и бинуклеофильными реагентами. Взаимодействие данных объектов с моно- и полиэлектрофильными соединениями приводит к различным ациклическим либо же гетероциклическим соединениям, сохраняющим общий структурный мотив *C,N*-диарилформамидина. При этом зачастую сохраняется, но модифицируется биологическая активность получаемых продуктов.

В этом смысле, взаимодействие *C,N*-диарилформамина с ангидридами дикарбоновых кислот (янтарной, глутаровой, фталевой) интересно как с точки зрения получения новых классов производных *C,N*-диарилформамидина, так и с точки зрения разработки новых эффективных и малотоксичных лекарственных субстанций.

Следует отметить, что в литературе отсутствуют сведения о взаимодействии *C,N*-диарилформамина с ангидридами дикарбоновых

кислот (помимо публикаций автора), приводящих к получению производных сукцинимида, фталимида, глутаримида.

Степень разработанности темы.

Ранее в работах Колесника Д.А., Куваевой Е.В. и др. были изучены реакции *C,N*-диарилформамидинов с диэтилмалонатами или малонилдихлоридами, приводящие к производным пиримидин-4,6-диона. Ацилирование ангидридами дикарбоновых кислот представителей *C,N*-диарилформамидинов в литературе описано не было.

Цель и задачи исследования

Целью работы является изучение методов получения, строения, свойств и биологической активности ранее не описанных *N*-замещенных производных сукцинимида, фталимида и глутаримида.

Для этого предстояло решить следующие задачи:

1. Разработать лабораторные способы получения новых *N*-замещенных производных сукцинимида, фталимида и глутаримида на основе реакции ацилирования *C,N*-диарилформамидинов янтарным, фталевым и глутаровым ангидридами.
2. Доказать строение и индивидуальность синтезированных соединений с помощью физико-химических методов анализа: РСА, ЯМР-, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, элементного анализа, ТСХ.
3. Установить потенциал биологической активности полученных соединений путем компьютерного анализа с помощью программ *GUSAR* и *PASS* (Prediction of Activity Spectra for Substances).
4. Определить острую токсичность и провести изучение биологической активности синтезированных веществ *in vivo*. Установить взаимосвязь «строение-биологическая активность».
5. Изучить физико-химические свойства соединений с наилучшим профилем безопасности и эффективности в рамках разработки подходов к аттестации первичных стандартных образцов.

Научная новизна. Настоящая работа является первым целенаправленным исследованием реакций *C,N*-диарилформамидинов с ангидридами дикарбоновых кислот (янтарным, фталевым и глутаровым ангидридами), в ходе которого было синтезировано 64 ранее неизвестных гетероциклических соединения, доказано их строение.

На основании изученных физико-химических свойств, включая хроматографическое поведение, разработан полный спектр аналитических методик для аттестации первичных стандартных образцов и контроля качества наиболее активных соединений. Кроме того, проведена валидация некоторых наиболее значимых методик.

Изучена острая токсичность и биологическая активность 15 производных сукцинимида, фталимида, глутаримида.

Проведена аттестация первичного стандартного образца нового соединения с наилучшим профилем эффективности-безопасности.

Впервые показано, что:

➤ Взаимодействие *C,N*-диарилформамидинов с ангидридами янтарной, глутаровой и фталевой кислот позволяет получить *N*-замещенные пирролидин-2,5-дионы с выходами от 24 до 93%, *N*-замещенные пиперидин-2,6-дионы с выходами от 46 до 88%, *N*-замещенные изоиндолин-1,3-дионы с выходами от 26 до 89%, соответственно.

➤ Установлено, что акцепторные заместители R^1 и R^2 в орто- или пара-положениях *C,N*-диарилформамидинов при взаимодействии последних с ангидридами кислот, приводят к снижению выхода целевых продуктов.

➤ Прогноз острой токсичности в программном обеспечении GUSAR для циклических имидов коррелирует с данными эксперимента *in vivo*. Данные соединения являются мало или практически нетоксичными.

➤ Полученные соединения проявляют высокую анальгезирующую и противовоспалительную активности, при этом наиболее активным является 2-([4-нитрофенил]имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион.

➤ Проведена аттестация первичного стандартного образца 2-({[4-нитрофенил]имино}(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона.

Теоретическая и практическая значимость.

Разработаны лабораторные методы синтеза новых ранее не описанных *N*-замещенных производных сукцинимида, фталимида, глутаримида. По результатам оценки острой токсичности и биологической активности полученных соединений, наиболее перспективным соединением оказался 2-({[4-нитрофенил]имино}(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион. Для него разработан первичный стандартный образец.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс (акт внедрения от 22.05.2024 г) и научно-исследовательскую деятельность (акт внедрения от 06.05.2024 г) кафедры органической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Получен патент:

Патент РФ № 2 807 909 С07D 211/88 А61К 31/45 А61Р 29/00
Опубликовано: 21.11.2023 Бюл. № 33, 1-
(фенил{фенилимино}метил)пиперидин-2,6-дион и способ его
получения / Ю.А. Труханова, Е.В. Куваева, Д.Ю. Ивкин, Т.Л. Семакова,
Г.В. Ксенофонтова, И.П. Яковлев. Заявитель и патентообладатель
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. - № 2023105548; заявл.
09.03.2023.

Методология и методы исследования

Исследование проводилось в период с 2021 по 2024 гг. Базовыми объектами являлись *S,N*-диарилформамидины, ангидриды янтарной, глутаровой и фталевой кислот. Теоретическую основу исследования составляли труды зарубежных и отечественных ученых по синтезу и свойствам сукцинимидов, фталимидов, глутаримидов и их производных.

Для доказательства строения полученных соединений были использованы физико-химические методы анализа: РСА, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия.

Для изучения динамики протекания реакций были использованы: высокоэффективная жидкостная хроматография с детектированием в ультрафиолетовой области, тонкослойная хроматография.

Все результаты были статистически обработаны.

Положения, выносимые на защиту

1. Методы синтеза новых *N*-замещенных производных сукцинимида, фталимида и глутаримида.

2. Комплекс данных о строении и свойствах синтезированных соединений с помощью физико-химических методов анализа: РСА, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, ТСХ.

3. Результаты изучения острой токсичности, анальгезирующей и антимикробной активностей синтезированных веществ.

4. Параметры аттестации первичного стандартного образца производного фталимида с наилучшим профилем безопасности и эффективности.

Личный вклад автора в проведённое исследование и получение научных результатов

Все экспериментальные исследования выполнены лично автором или при его непосредственном участии с соавторами научных публикаций. Степень личного участия в общем объёме работ составляет не менее 90%. Автор непосредственно участвовал в обсуждении цели и задач исследования, в разработке плана эксперимента, интерпретации полученных результатов, осуществлял написание статей и текста диссертационной работы.

Соответствие диссертационной работы паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а

именно: пункту 1 – Исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ; пункту 2 – Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств; и пункту 3 – Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.

Степень достоверности и апробация работы

Результаты работы представлены на XI Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2021); Международной научно-практической конференции «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы» (Ташкент, 2021); всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Аспирантские чтения - 2021: молодые ученые - медицине» (Самара, 2021); The 25th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (Сантьяго-де-Компостела, 2021); XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2022); III международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию ташкентского фармацевтического института “Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы” (Ташкент, 2022); 3-й Международной конференции, посвященной 110-летию доктора биологических наук, профессора А.П. Бресткина (Санкт-Петербург, 2022); Научно-методическая конференция с международным участием «Сандеровские чтения», посвященная памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера (Санкт-Петербург, 2023); 1-ой республиканской научно-практической конференции

с международным участием «актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли» (Ташкент, 2023); XIII всероссийская научная конференция «Молодая фармация – потенциал будущего» с международным участием (Санкт-Петербург, 2023); 9-й Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2023» (Воронеж, 2023).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций, а также 4 статьи в изданиях, включенных в международные наукометрические базы данных Scopus и Web of science. Получен патент РФ на изобретение.

Связь задач с проблемным планом фармацевтических наук.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России и в рамках государственного задания № АААА-А20-120121790030-8 «Разработка инновационных методов получения, изучение строения, физических и химических свойств N-, O-, S-содержащих гетероциклических и ациклических систем с целью поиска новых лекарственных средств».

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 204 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературных данных, обсуждения результатов собственных экспериментов, экспериментальной части и выводов, содержит 32 таблиц и 36 рисунков. Библиография включает 129 ссылок.

1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Азагетероциклы вызвали значительный интерес химиков-синтетиков из-за их частого присутствия в фармацевтических препаратах, агрохимикатах и биологически значимых молекулах [1-3].

Амидины, как легкодоступные и универсальные структуры, могут выступать в качестве предшественников синтеза азагетероциклов [4-10], при этом в литературе представлено большое разнообразие синтетических преобразований амидинов, реализованных за счет образования связи C-N (Рисунок 1).

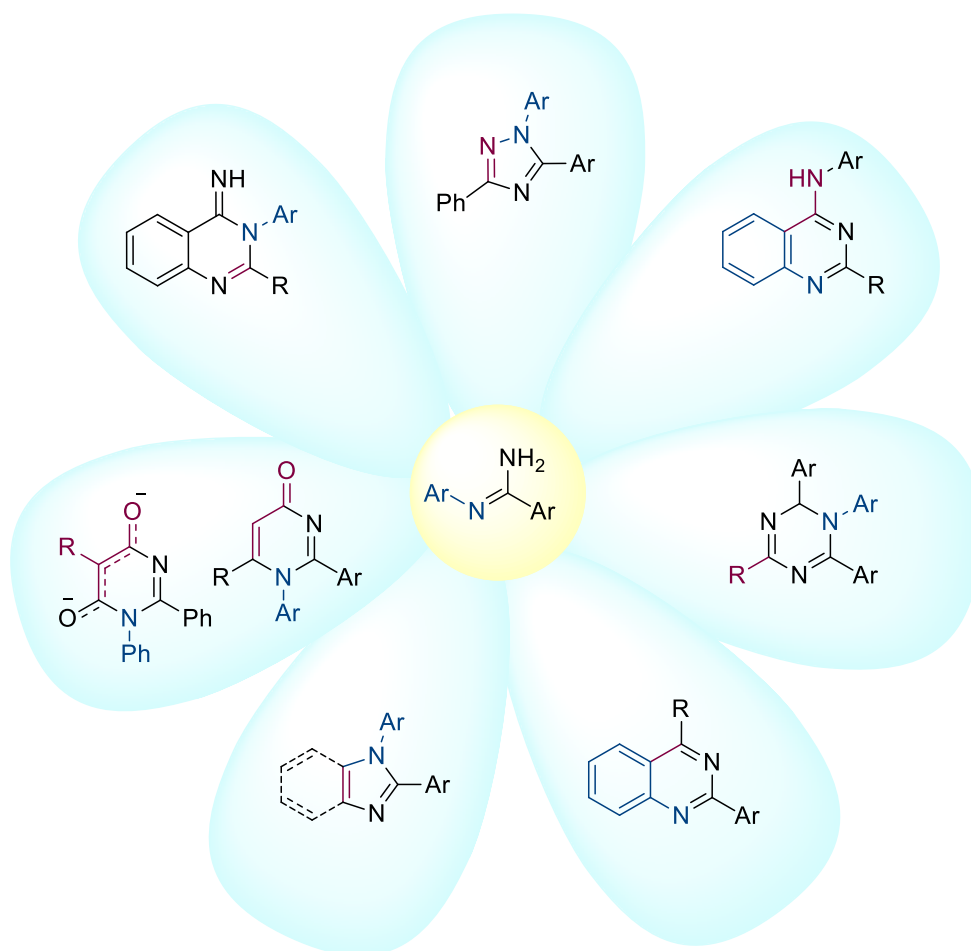


Рисунок 1. Синтетические преобразования *C,N*-диарилформамидинов

В литературе можно найти большое количество обзоров по химии и фармакологии незамещенных бензамидинов [11-13]. Казалось бы, изученные свойства незамещенных бензамидинов могут быть трансферированы на *C,N*-диарилформамидины **1**, так как *C,N*-диарилформамидины **1** также имеют в

своей структуре два нуклеофильных и один электрофильный центр и проявляют основные свойства [14]. Однако, несмотря на схожесть строения *N*-арилбензамидинов с бензамидинами, нуклеофильные центры *C,N*-диарилформаидинов обладают значимо разной нуклеофильностью, что увеличивает селективность реакций и может способствовать гладкому протеканию тандемных и домино процессов [15]. В этой связи реакции гетероциклизации *C,N*-диарилформаидинов **1** имеют свою специфику и в настоящее время в литературе нет систематизированных литературных обзоров реакций гетероциклизации *C,N*-диарилформаидинов **1**.

Кроме того, стоит обратить внимание и на легкость получения данных реагентов. Самым распространенным методом получения *C,N*-диарилформаидинов **1** является реакция анилина и бензонитрила при действии кислоты Льюиса (Рисунок 1) [14-16], что позволяет с легкостью варьировать заместители в бензольных кольцах и, к тому же, не возникает проблем с доступностью исходных реагентов.

С учетом вышесказанного, *C,N*-диарилформаидины **1** нами были рассмотрены, как ценные билдинг-блоки гетероциклов.

Настоящий литературный обзор построен по принципу увеличения числа гетероатомов в получаемых гетероциклических системах.

1.1. Имидазолы и конденсированные имидазолы

Имидазольное кольцо представляет собой важный структурный гетероциклический блок, повсеместно присутствующий в природных продуктах и синтетических молекулах. Производные имидазола обладают широким спектром биологической активности. Соответствующие исследования и разработки в области медицинской химии на основе имидазолов и конденсированных имидазолов стали быстро развивающейся темой [17]. Производные имидазола и его конденсированные аналоги являются полезными

звеньями для разработки молекул, представляющих фармацевтический или биологический интерес [18].

1.1.1. Получение имидазолов реакцией α -галогенкетонов с *C,N*-диарилформамидами **1**

Наиболее известной реакцией получения имидазолов является синтез Brederick [19], который заключается во взаимодействии α -дикетонов или α -галогенкетонов с формамидом. *N*-арилбензамидины также использовались в этой реакции, но второй компонент – α -галогенкарбонильные соединения генерировались *in situ*.

В 2015 году Qu J. [20] с командой исследовали возможность и реакционную способность региоселективной реакции амидинов **1** с метилкетонами **2** и иодом в качестве катализатора с целью получения имидазолов **3** (Схема 1).

Авторы начали свое исследование с изучения реакции *N*-фенилбензамидина **1** и ацетофенона **6** с добавкой I_2 (10%) в качестве катализатора. Реакцию проводили в толуоле при 80 °С в течение 5 часов. При этом желаемый продукт **7** был получен с выходом 48%. Среди растворителей (толуол, ацетонитрил, *N*-метил-2-пирролидон (NMP), диметилсульфоксид (ДМСО), PhCl и EtOH), толуол оказался наиболее подходящим. Повышение температуры не приводило к существенному увеличению выхода продукта, однако, добавка кислоты Льюиса ZnI_2 (10%) способствовала повышению выхода до 63%. Кроме того, добавление молекулярных сит 4 Å (МС) повысило выход до 85%.

Оптимизированные условия позволили изучить влияние заместителей исходных субстратов на выход продуктов реакции.

Как правило, галоген замещенные амидины и амидины с электронодонорными группами обеспечивали выходы от хороших до

превосходных (82-95%). Тем не менее, электронодефицитная группа трифторметил снижала выходы до 62%.

С другой стороны, кетоны **2**, как с электронодонорными, так и с электроноакцепторными заместителями давали продукты с хорошими выходами (от 69% до 96%). В частности, реакция оказалась толерантна к субстратам с трифторметильным заместителем, что позволило получить выход целевого продукта 50%. Более того, субстрат с метоксигруппой в орто-положении дал соответствующий имидазол с выходом 79%, что указывает на то, что реакция может быть нечувствительна к стерическим ограничениям.

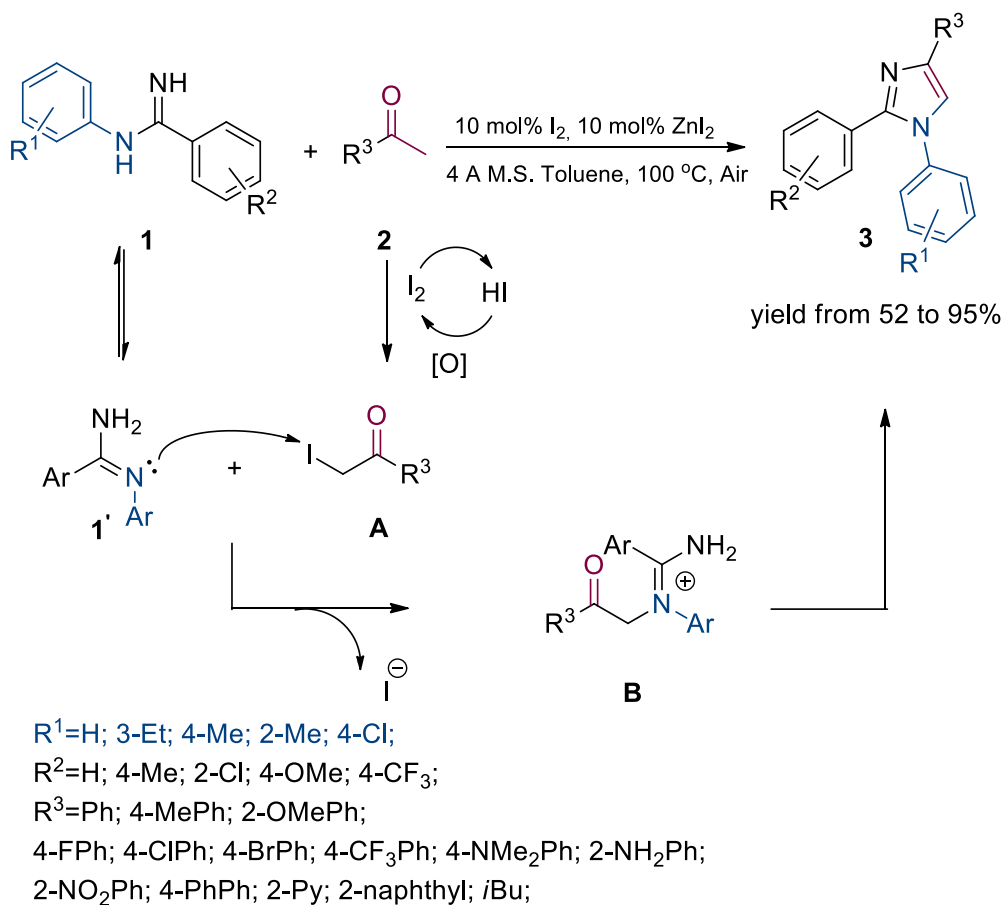


Схема 1. Получение имидазолов **3** по реакции из амидинов **1** и ацетофенона **2**

В рассмотрении механизма реакции (Схема 1), авторами было сделано предположение, что первоначально кетон **2** превращается в α -иодкетон **A** в присутствии I_2 с выделением HI . Затем интермедиат **1'** взаимодействует с α -

иодкетонном **A** с образованием интермедиата **B**. Затем одновременно с выделением воды последующая внутримолекулярная циклизация интермедиата **B** приводит к целевому продукту **7**.

В 2017 группой авторов [21] была выпущена публикация по разработке методики синтеза тетразамещенных имидазолов по реакции амидинов **1** и этилового эфира 3-оксобутаноата **8** (Схема 2).

В стандартной процедуре смесь **1**, **8** и галогенирующего реагента перемешивали в среде ацетонитрила при температуре 70°C. В качестве галогенирующего агента был выбран $CVCl_4$, как реагент, позволяющий проводить реакцию в более мягких условиях по сравнению с другими галогенирующими агентами. Выход желаемого продукта при этом достигал 41%. Увеличение количества катализатора не способствовало увеличению выхода, однако, увеличение концентрации амидина **1** в реакционной массе позволило увеличить выход до 83%. Применение вместо ацетонитрила других растворителей, таких как DCE (17 %) и MeOH (40 %) уменьшало выход реакции.

В оптимизированных условиях авторы исследовали толерантность реакции к ряду амидинов **1** с заместителями в *N*-арильном фрагменте. Было выявлено, что все рассмотренные амидины **1** могут с легкостью реагировать с этил-3-оксобутаноатом **4** с получением целевого вещества **5** с хорошими выходами. Затем реакцию проводили с амидинами **1**, замещенными в *C*-арильном фрагменте. За исключением метоксизамещенных субстратов (34%), желаемые продукты **5** были получены с выходом от среднего до хорошего (67-84%).

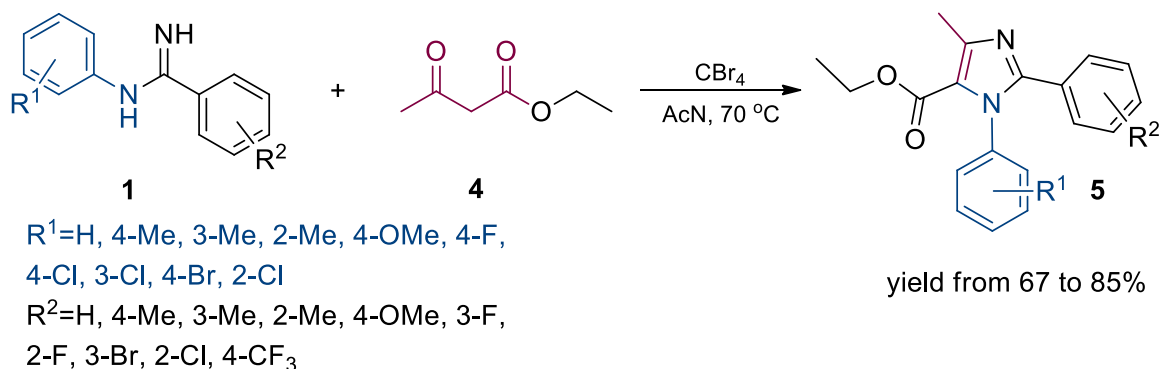


Схема 2. Синтез имидазолов **4** по реакции амидина **1** и этилового эфира 3-оксобутаноата **4**

Разработанная стратегия формирования связи C-N была расширена до ряда β -кетоефиров, 1,3-дионов и кетонов **6**. Было выявлено, что β -кетоефиры с различными заместителями могут давать соответствующие продукты с хорошими выходами (77-81%) (Схема 3), в то время как проведение реакции с 1,3-дионами и кетонами дают умеренные результаты (40-61%).

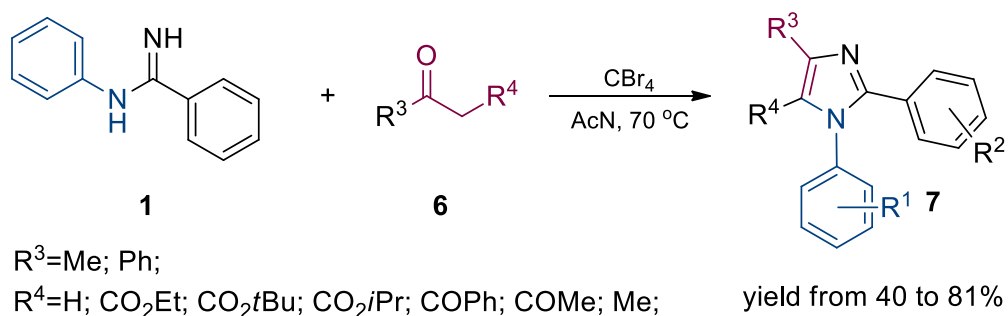


Схема 3. Синтез имидазолов **7** по реакции амидинов **1** и β -кетоефиров **6**

Авторами было сделано предположение, что в ходе реакции происходит образование α -бромированного продукта **A**, после чего происходит нуклеофильное замещение и циклизация в **5** (Схема 4).

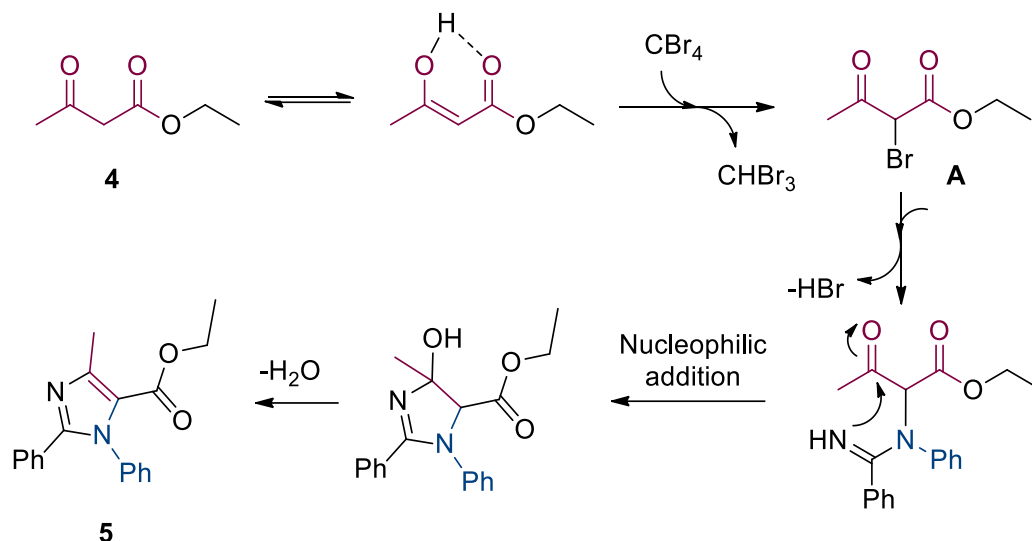


Схема 4. Предполагаемый механизм реакции получения имидазолов **5**

1.1.2. Получение имидазолов реакцией альфа, бета-ненасыщенных альдегидов с амидинами **1**

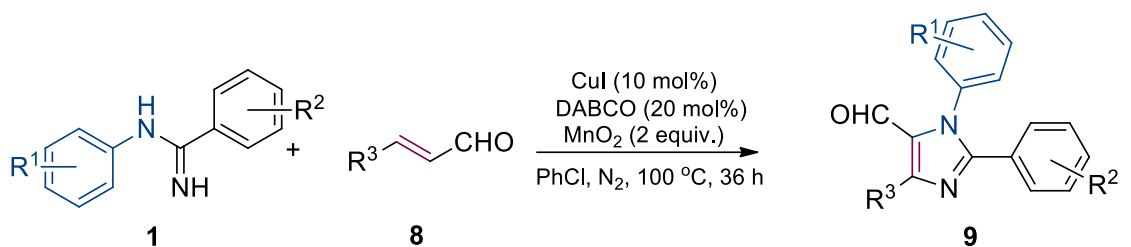
Были изучены и иные варианты образования имидазольного цикла из *C,N*-диарилформамидинов. Так, была рассмотрена методология, когда в качестве двухуглеродного фрагмента выступал активированный алкен. При этом по данной методологии первой стадией обычно являлось присоединение по Михаэлю, а затем окислительная циклизация и ароматизация.

В 2015 году Li Y. [22] инициировали исследование реакции α,β -ненасыщенных альдегидов **8** и амидинов **1** с целью синтеза имидазолов **9** (Схема 5). Для выбора подходящих условий, исследовали модельную реакцию *N*-фенилбензамидина **1** и коричневого альдегида **8**. После первого опыта при проведении реакции в присутствии CuI (10 мол.%), DABCO (1,4-диазабисцикло[2.2.2]октан) (20 мол.%) и PhCl (хлорбензол) (2 мл) при температуре $100\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 36 ч целевой продукт **9** был выделен с выходом 26%. Было обнаружено, что добавление двух эквивалентов MnO_2 и проведение реакции в атмосфере N_2 повышают реакционную способность, когда выход основного продукта достигает 75%.

Среди различных медных катализаторов, которые исследовали авторы, наилучший выход был зафиксирован при использовании CuI. Замена DABCO другими лигандами не способствовала повышению эффективности реакции. Оценка растворителей показала, что хлорбензол был наиболее оптимальным выбором.

При рассмотрении возможных субстратов для введения в реакцию, было получено, что амидины **1**, замещенные электронодонорными заместителями в *C*-арильном фрагменте (*p*-Me и *p*-OMe), давали продукты реакции с отличными выходами (80-82%). Когда оба ароматических кольца были замещены электронодонорными группами, продукт был выделен с оптимальным выходом (88%). Электронодефицитные амидины **1**, содержащие в *C*-арильном фрагменте галогениды (F-, Cl-, Br-) или трифторметильную группу в стандартных условиях реагировали с образованием желаемых продуктов **9** с выходом (38-62%). При использовании субстратов с заместителями в *N*-арильном кольце, наблюдались аналогичные закономерности. При этом имел место стерический эффект орто-заместителей, уменьшающий выход целевого продукта **9**.

Также была изучена широта применения α,β -ненасыщенных альдегидов **8**. Альдегиды **8**, содержащие электронодонорные заместители (метил и метоксил) в ароматическом кольце давали соответствующие продукты с хорошими выходами (75-87%). Наличие электроноакцепторных заместителей (F-, Cl-, Br-) в пара-положении снижало эффективность реакции (57-65%), а реакция с *p*-нитрозамещенным альдегидом вовсе не давала желаемого продукта **9**. Кроме того, альдегиды **8**, содержащие фуран и *n*-пропил также приводили к целевому продукту **9**, но с низкими выходами (34-36%),



$R^1 = \text{H}; 4\text{-Cl}; 4\text{-Me}; 3,4\text{-diMe}; 2\text{-Me}; 2\text{-Et};$
 $R^2 = \text{H}; 4\text{-Cl}; 4\text{-Me}; 4\text{-CF}_3; 4\text{-F}; 3\text{-Cl}; 4\text{-OMe}; 4\text{-Br};$
 $R^3 = \text{Ph}; 4\text{-OMePh}; 4\text{-BrPh}; 4\text{-ClPh}; 2\text{-MePh};$
 $2\text{-OMePh}; \text{Pr}; \text{furfuryl}$

yield from 28 to 87%

Схема 5. Синтез имидазолов **9** по реакции α,β -ненасыщенных альдегидов **8** с амидами **1**

Для понимания предполагаемого механизма этой реакции авторами было проведено несколько контрольных опытов, результатом которых стало доказательство невозможности протекания реакции без окислителя и катализатора, а также исключение радикального механизма. Авторы представили возможный путь реакции (Схема б). Первоначально присоединение по Михаэлю *N*-арилбензамидинов **1** к коричному альдегиду **8** дает соответствующий аддукт Михаэля **A**. Далее атом азота, связанный с бензольным кольцом, связывается с солями Cu^{II} с образованием промежуточного соединения **B**, которое реагирует с енолом с образованием циклического промежуточного соединения Cu^{II} **C**. Затем из промежуточного соединения **C** при окислении образуется соединение **D**. Наконец, промежуточное соединение **D** посредством восстановительного отщепления превращается в **E**, которое путем окислительной ароматизации преобразуется в продукт **9**. Повторное окисление Cu^{I} до Cu^{II} с помощью MnO_2 завершает каталитический цикл.

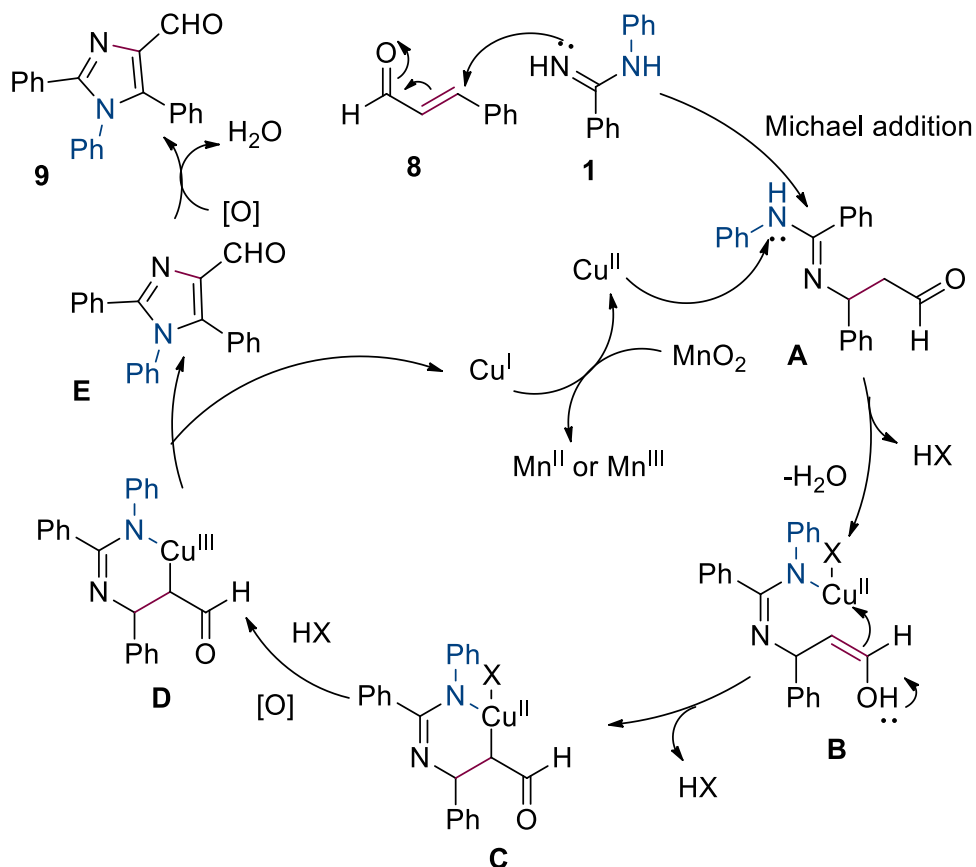


Схема 6. Предполагаемый механизм реакции получения имидазолов **9**

Стоит отметить, что в представленной публикации Li Y. [22] в оптимизированных условиях была проведена реакция халкона **10** с амидином **1**, в результате которой был получен продукт с выходом 70%.

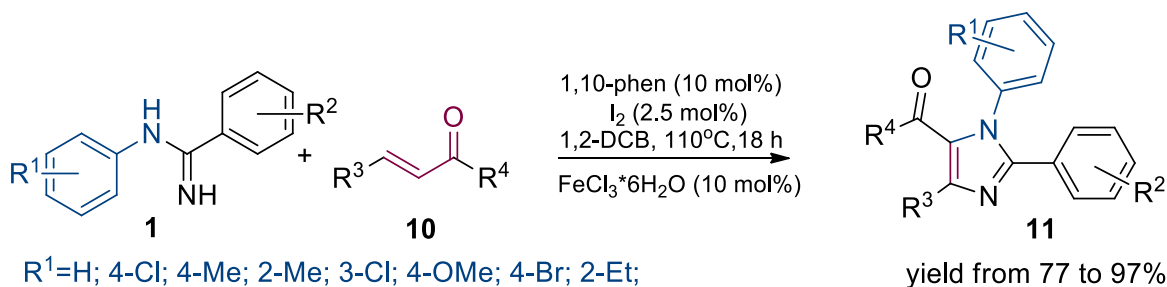
И в том же году Wu P. [23] с командой провели синтез замещенных имидазолов **11** по реакции халконов **10** с диариламидами **1** (Схема 7).

Для подбора оптимальных условий реакции первоначально авторы исследовали реакцию халкона **10** с *N*-фенилбензимидамидом **1** в присутствии $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10 мол.%) и 1,10-фенантролина (10 мол. %). Реакцию проводили в среде хлорбензола при температуре 110 °С в течение 18 часов. В результате желаемый продукт фенил(1,2,4-трифенил-1H-имидазол-5-ил)метанон **11** был получен с выходом 58%. Используя 1,10-фенантролин в качестве лиганда, были опробованы различные источники железа и меди, однако, не были получены столь же успешные результаты. При рассмотрении лигандов, были опробованы 2,2'-бипиридин (2,2'-bipy), 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен (dppf), 1,4-

диазабицикло[2.2.2]октан (DABCO), PPh_3 , однако, наилучшие результаты все же были получены с использованием 1,10-фенантролина. При этом наиболее оптимальным растворителем оказался 1,2-дихлорбензол (1,2-ДХБ), что позволило получить продукт **11** с выходом 92%.

Было показано, что добавление к реакционной массе иода способствует незначительному увеличению выхода. Увеличение температуры снижало выход реакции.

В конце концов, лучший результат (97%) был получен с использованием $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10 мол.%) в качестве катализатора и 1,10-фенантролина (10 мол.%) в качестве лиганда в присутствии йода (2,5 мол. %) в 1,2-ДХБ при температуре 110°C в течение 18 ч.



$\text{R}^1 = \text{H}; 4\text{-Cl}; 4\text{-Me}; 2\text{-Me}; 3\text{-Cl}; 4\text{-OMe}; 4\text{-Br}; 2\text{-Et};$

$\text{R}^2 = \text{H}; 4\text{-Cl}; 4\text{-Me}; 4\text{-CF}_3; 2\text{-Cl}; 4\text{-OMe}; 4\text{-Br}; 4\text{-NH}_2;$

$\text{R}^3 = \text{Ph}; 4\text{-CNPh}; 4\text{-NO}_2\text{Ph}; 3\text{-NO}_2\text{Ph}; 4\text{-EtPh};$

$4\text{-FPh}; 4\text{-ClPh}; 4\text{-BrPh}; 4\text{-MeOPh}; 4\text{-MePh}; \text{piperonyl}; 4\text{-MeOPh};$

$2\text{-BrPh}; 2\text{-FPh}; 2,4\text{-di-ClPh}; \text{propenyl}$

$\text{R}^4 = \text{Ph}; 4\text{-NO}_2\text{Ph}; 3\text{-NO}_2\text{Ph}; 4\text{-ClPh}; 4\text{-IPh}; 4\text{-NH}_2\text{Ph};$

Схема 7. Синтез имидазолов **11** по реакции халконов **10** с амидинами **1**

При рассмотрении влияния заместителей в халконе **10** на протекание реакции, наибольшие выходы были получены, когда заместители R^3 или R^4 (Схема 7) имели электроноакцепторные группы в пара-положении бензольных колец.

Халконы с различными электронодонорными группами в бензольном кольце превращались в целевые продукты с выходами от 79% до 94%. Положение электронодонорного заместителя оказывало незначительное влияние на формирование целевого продукта **11**.

Введение в данную реакцию алкилзамещенных халконов в данных условиях давало смесь целевых и побочных продуктов.

В разработанных условиях авторы рассмотрели реакцию при варьировании заместителей амидинов **1**. Когда R^1 представлял собой электронодонорную группу, реакция шла с выходами 90–96%. Однако при замене R^1 на электроноакцепторную группу, реакция была несколько инактивирована. Варьирование заместителя R^2 не оказало особого влияния на выходы реакции. Стоит отметить, что из проанализированных замещенных амидинов, 4-амино-*N*-фенилбензимидамид не давал желаемого продукта при взаимодействии с халконом **10**, что объясняется сильным электронным эффектом группы NH_2 в стандартных условиях реакции.

Авторами был представлен предполагаемый механизм изученной реакции (Схема 8). Принципиально данный механизм схож с представленным механизмом на схеме 8, однако, в этом случае был использован иной металл-переносчик и окислитель. По их мнению, первоначально происходит присоединение амидина **1** к халкону **10** по Михаэлю с образованием соответствующего аддукта Михаэля **A** в присутствии $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. Затем из аддукта Михаэля **A** образуется **B** после атаки молекулой йода, одновременно с высвобождением H^+ . Далее следует внутримолекулярная циклизация йодсодержащего соединения **B** с образованием **C** и высвобождением молекулы HI . **C** подвергается депротонированию с получением желаемого продукта **11**.

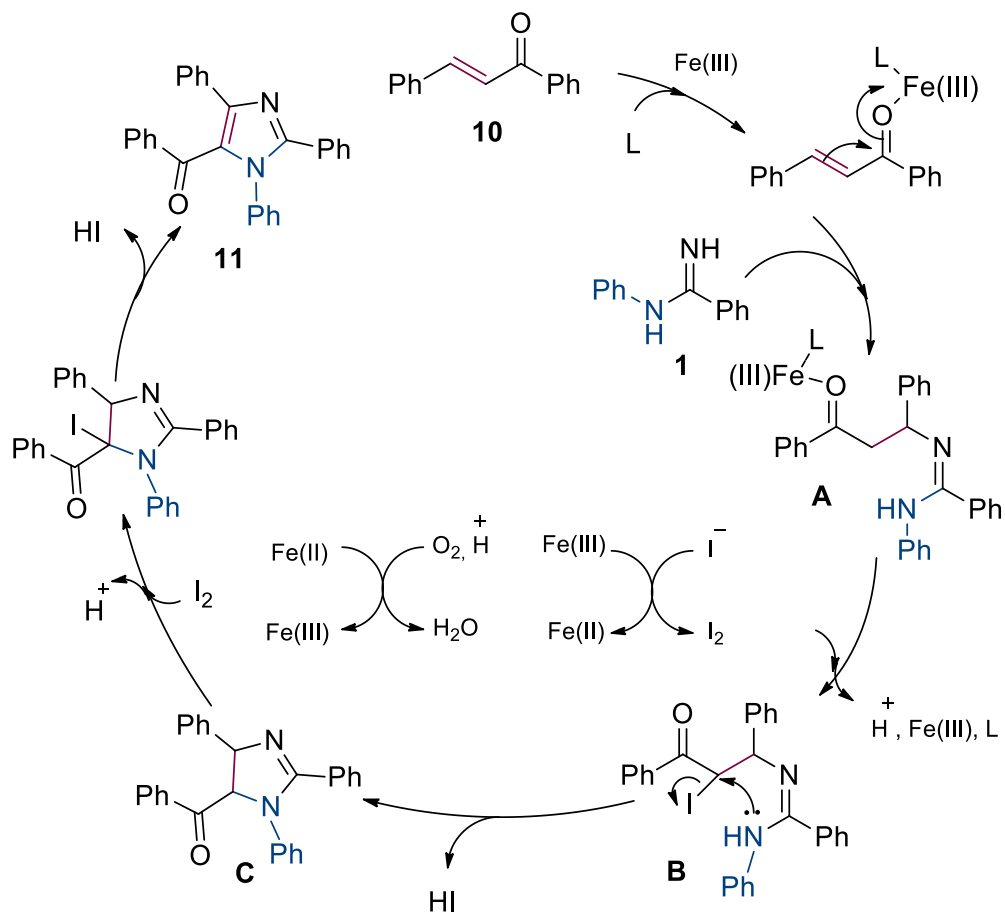


Схема 8. Предполагаемый механизм реакции получения имидазолов **11**

Авторы данной публикации напротив перенесли методику, разработанную на халконах **10** на α,β -ненасыщенные альдегиды **8** с получением желаемых продуктов **9'** с выходами в диапазоне от 43% до 89% (Схема 9). Авторы так же провели исследование реакции при варьировании альдегидов **8**. Реакция с коричневым альдегидом, замещенным в пара-положении электроноакцепторными группами (F, Cl и Br) и электронодонорными группами (Me и OMe) сопровождалась хорошими выходами (78-89%). Заместитель OMe в орто-положении арильного кольца давал более низкий выход (67%) по сравнению с заместителем в пара-положении (78%), что указывает на влияние стерических эффектов.

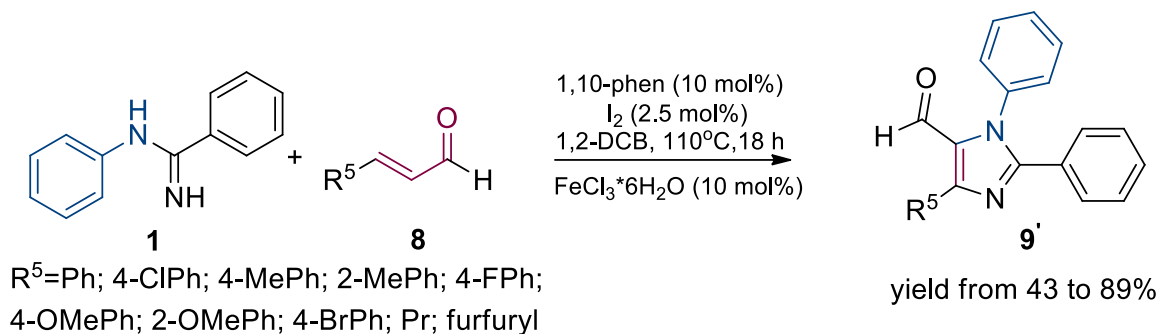


Схема 9. Синтез имидазолов **9'** по реакции альдегидов **8** с амидами **1**

1.1.3. Получение имидазолов реакцией нитроалкенов с *C,N*-диарилформамидами **1**

Другим активатором алкена может служить нитрогруппа, которая затем в ходе реакции выступает в качестве уходящей.

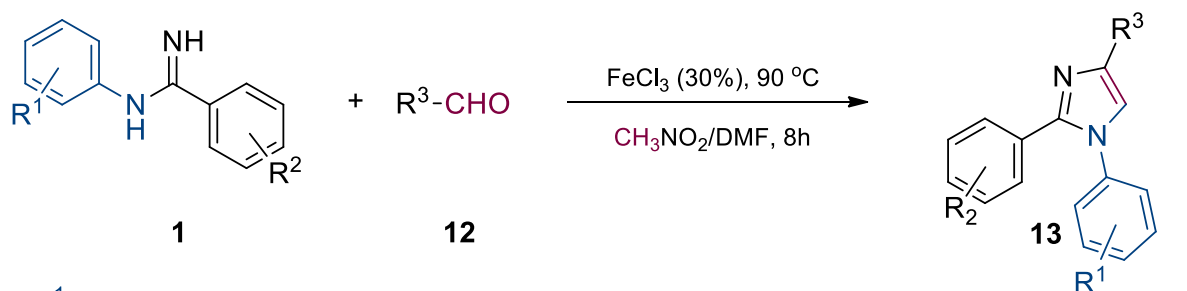
В 2013 году Liu X. [24] с командой представил железо(III)-катализируемый синтез 1,2,4-тризамещенных имидазолов **13** через окислительную активацию СН и NH связи амидинов **1** и альдегидов **12** (Схема 10).

Для синтеза имидазола реакцией амидина **1** и альдегида **12**, в качестве модельной реакции авторы использовали взаимодействие *N*-фенилбензамидина **1** и бензальдегида **12**. Было показано, что осуществление данной реакции в присутствии FeCl_3 (10% ммоль) в нитрометане при температуре 90°C в атмосфере O_2 в течение 8 ч позволяет получить целевой продукт **13** с выходом всего 5%. Выход **13** был увеличен до 42% при использовании в качестве растворителя смеси ДМФА и CH_3NO_2 . Применение различных окислителей не способствовало увеличению выходов реакции. При этом было замечено, что проведение процесса на воздухе дало те же выходы, что и в присутствии кислорода. В качестве наиболее подходящего катализатора был выбран FeCl_3 . При этом увеличение FeCl_3 до 30 мол.% позволило повысить выходы **13** до 62%, но более высокая загрузка катализатора (>30 мол.%) приводила к снижению выхода. Повышение температуры до 110°C не привело к увеличению выхода. При температуре 70°C выход резко снижался. 30 мол.%

FeCl_3 , 90°C и $\text{CH}_3\text{NO}_2/\text{DMF}$ были признаны оптимальными условиями для этой реакции.

Согласно публикации [24], электронные эффекты играли значительную роль: использование бензальдегидов и *N*-арилбензамидинов с электронодонорными группами давало хорошие выходы (59-76%). С электроноакцепторными группами были получены низкие выходы (40-60%). Использование нитрозамещенных субстратов не приводило к желаемому результату.

Алифатические альдегиды были подходящими субстратами для получения 1,2,4-тризамещенных имидазолов **13** с хорошим выходом. Кроме того, выход при использовании 2-замещенных бензальдегидов **12** несколько ниже, чем у 4-замещенных, что, вероятно, связано со стерическими эффектами.



$\text{R}^1 = \text{H}; 3\text{-Me}; 4\text{-Me}; 2\text{-Me}; 4\text{-NO}_2; 4\text{-Cl}; 3\text{-Cl}; 2\text{-Et};$
 $\text{R}^2 = \text{H}; 4\text{-Me}; 2\text{-Cl}; 4\text{-OMe};$
 $\text{R}^3 = \text{Ph}; 4\text{-MePh}; 4\text{-OMePh}; 3,4\text{-OMePh}; 2\text{-OMePh};$
 $4\text{-FPh}; 3\text{-FPh}; 3\text{-FPh}; 4\text{-CF}_3\text{Ph}; 4\text{-CNPh}; 4\text{-NO}_2\text{Ph};$
 $2\text{-NO}_2\text{Ph}; 4\text{-NMe}_2\text{Ph}; n\text{-C}_3\text{H}_7; n\text{-C}_5\text{H}_{11}; n\text{-C}_{11}\text{H}_{23};$
 $2,6\text{-dimethylhept-5-enyl};$

yield from 40 to 76%

Схема 10. Синтез 1,2,4-тризамещенных имидазолов **13** через окислительную активацию СН и NH связи амидинов **1** и альдегидов **12**

Интересно, что по приведенной методологии авторами был проведен синтез 1,2,4,5-тетразамещенных имидазолов **14**, когда в качестве растворителя был использован нитроэтан ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NO}_2/\text{DMF}$ (1:3)) (Схема 11). Продукты были получены с выходами от 24 до 34%, что, вероятно, связано со стерическим эффектом.

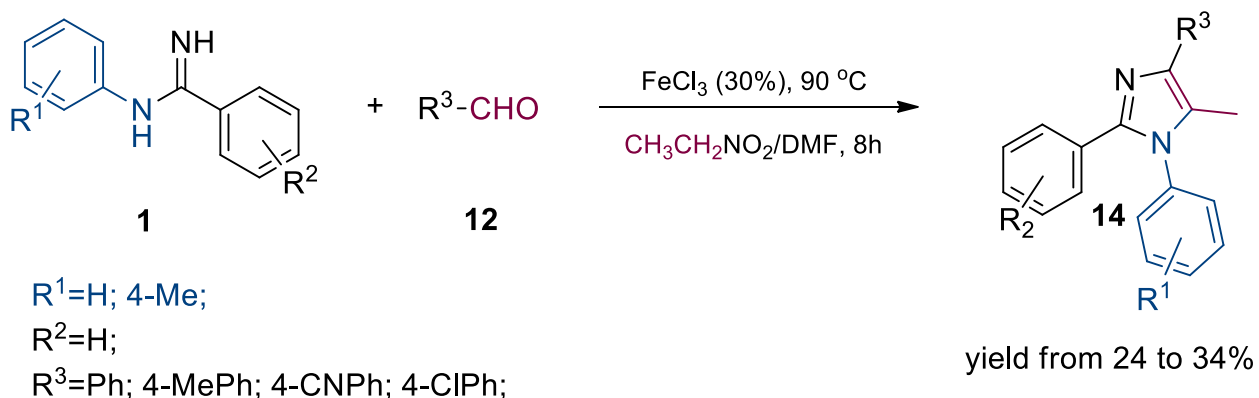


Схема 11. Синтез 1,2,4,5-тризамещенных имидазолов **14** через окислительную активацию СН и NH связи амидинов **1** и альдегидов **12**

Исследователями был описан предполагаемый механизм реакции (Схема 12). В результате конденсации *N*-фенилбензамидина **1** с бензальдегидом **12**, образуется промежуточный продукт **A**. Затем при добавлении нитрометана протекает реакция Михаэля и образуется соединение **B**. Затем происходит окисление до катион-радикала **C** и после удаления водородного радикала образуется **D**. У интермедиата **D** происходит отщепление протона с образованием **E**, которое далее плавно изомеризуется в ацинитроформу **F**. Продукт **13** получается посредством внутримолекулярного присоединения по Михаэлю с удалением легко уходящей HNO_2 [25].

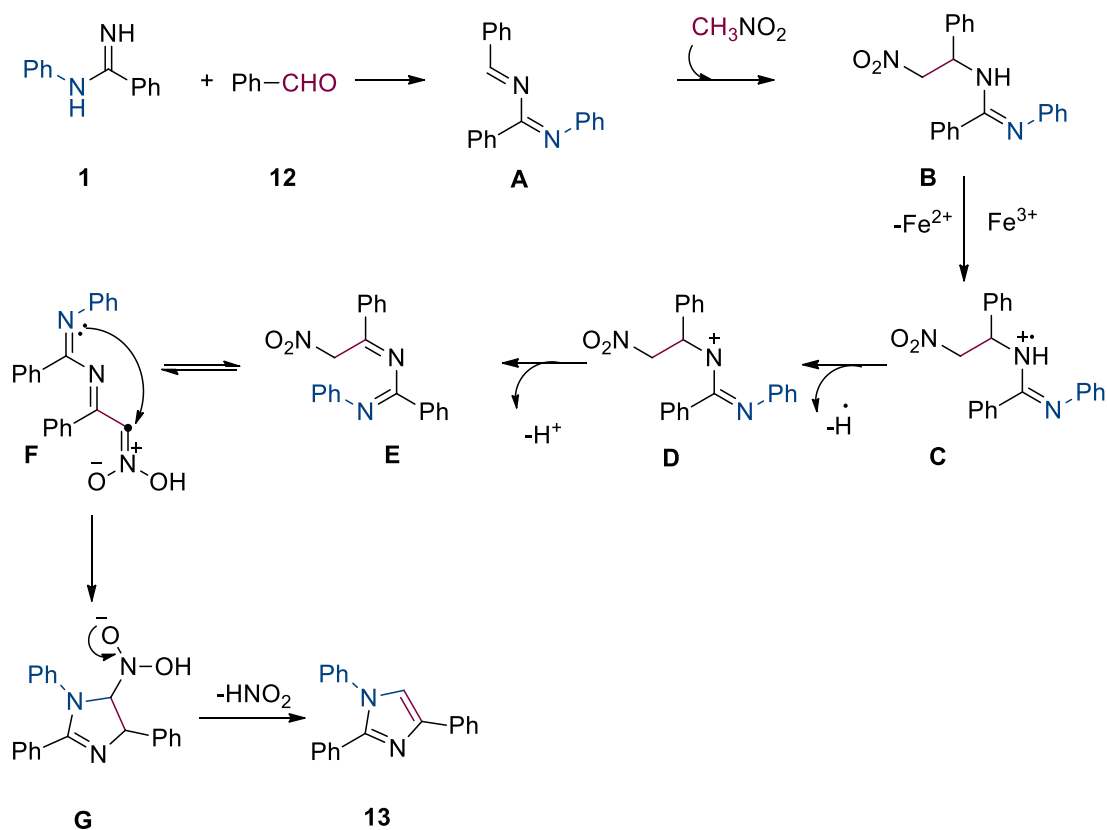


Схема 12. Предполагаемый механизм реакции получения замещенных имидазолов **13**

Однако нами был предложен другой механизм протекания данной реакции (Схема 12'), когда на первом этапе происходит *in situ* образование нитроалкена **A**, присоединение амидаина **1** по Михаэлю и дальнейшая циклизация в имидазол **13** за счет отщепления легко уходящей нитро группы [25].

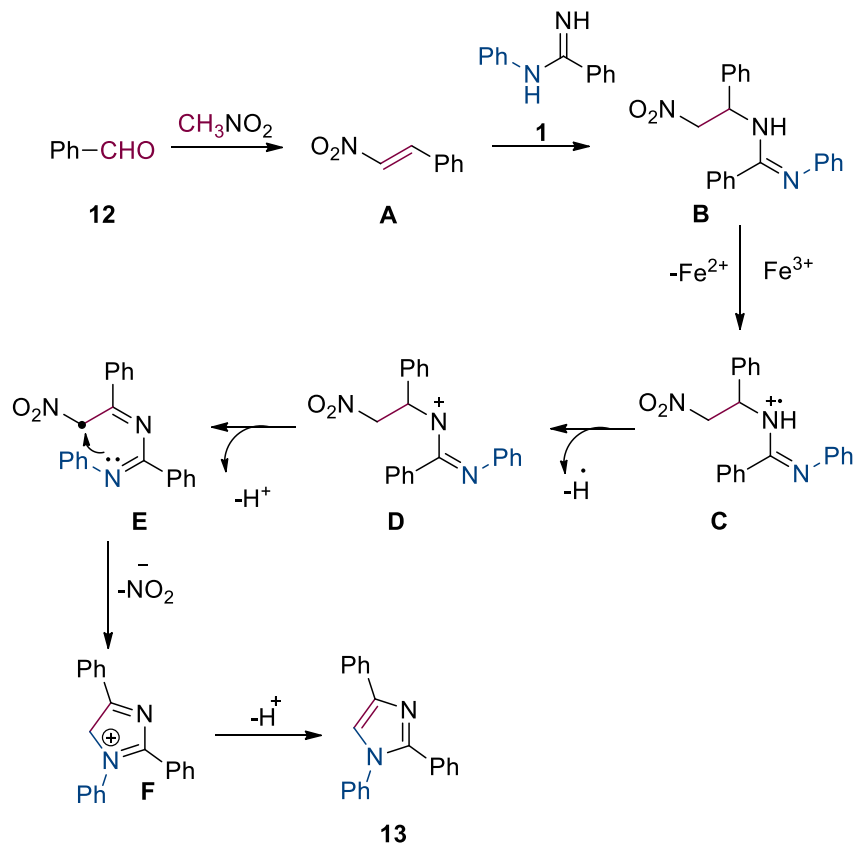


Схема 12'. Предполагаемый механизм реакции получения замещенных имидазолов **13**

Представленная стратегия (Схема 12') близка к осуществлению реакции с использованием нитроалкена, как исходного реагента синтеза.

В 2013 году Dong Tang с соавторами [26] представил эффективную стратегию синтеза три- или тетразамещенных имидазолов, по реакции [3+2] циклоприсоединения амидина **1** и 1-(2-нитровинил)бензола **15** с катализом медью (Схема 13).

Для выбора оптимальных условий была исследована реакция метил-*N*-фенилбензамидина **1** и 1-(2-нитровинил)-бензола **15**. При использовании CuI в качестве катализатора и 2,2-бипиридила (bipy) в качестве лиганда в ДМФА при 90 °С желаемый продукт **16** был выделен с выходом 68%. Затем был проведен скрининг различных лигандов и медных катализаторов, однако, везде были получены худшие результаты. Также было выявлено, что проведение реакции в атмосфере кислорода повышает выходы до 72%.

При изучении влияния заместителей выявлено, что амидины **1** с электронодонорными заместителями в обоих бензольных кольцах имеют лучшую реакционную способность и дают более высокие выходы (63-78%), чем с электроноакцепторными заместителями (58-65%). Функциональные группы в пара-положение показали немного лучший результат, чем в мета-положении.

Заместители в бензольном кольце нитровинильной компоненты не оказывали существенного влияния на выходы реакции, однако, введение метильной группы к двойной связи (R^4) способствовало уменьшению выходов (34-43%), что связано со стерическим эффектом.

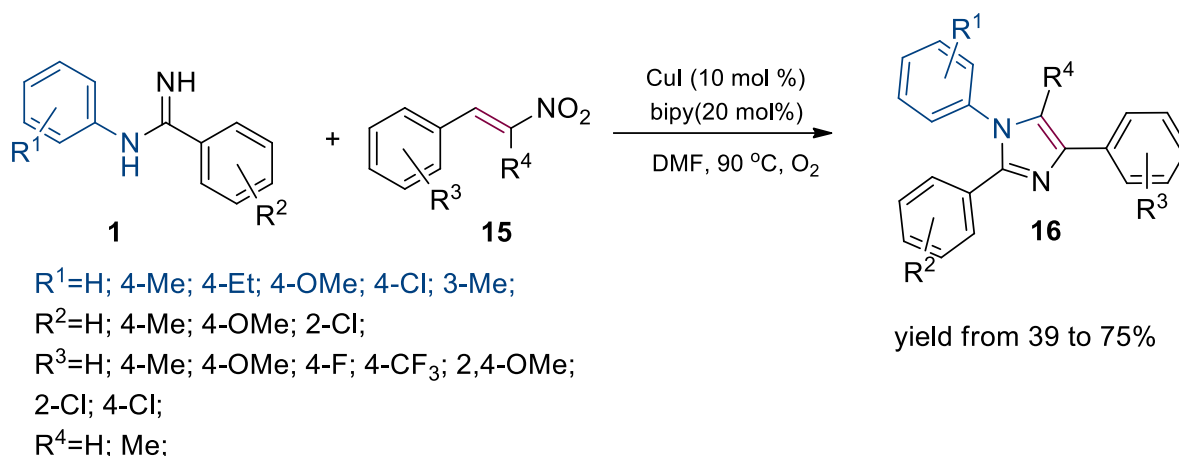


Схема 13. Синтез имидазолов **16** по реакции амидина **1** и 1-(2-нитровинил)-бензола **15**

В своей публикации авторы привели предполагаемый механизм (Схема 14), который в значительной степени отличается от механизма, приведенного на схемах 12 и 12'. Первоначально Cu^{I} окисляется до Cu^{II} при действии кислорода. Амидин **1** теряет один электрон, и под действием Cu^{II} происходит образование монорадикального промежуточного соединения **A**, которое далее окисляется Cu^{II} с образованием бирадикального промежуточного соединения **B**. Затем молекулярный нитроолефин **15** с высокой региоселективностью реагирует с промежуточным соединением **B** посредством [3+2]-циклоприсоединения через переходное состояние **C**. Переходное состояние **C**

занимает стабильное положение **D** с последующим удалением одной молекулы HNO_2 и образованием желаемого продукта **16**. Сравнивая механизмы на схемах 12 и 14 стоит отметить, что первый механизм не подразумевал циклоприсоединения.

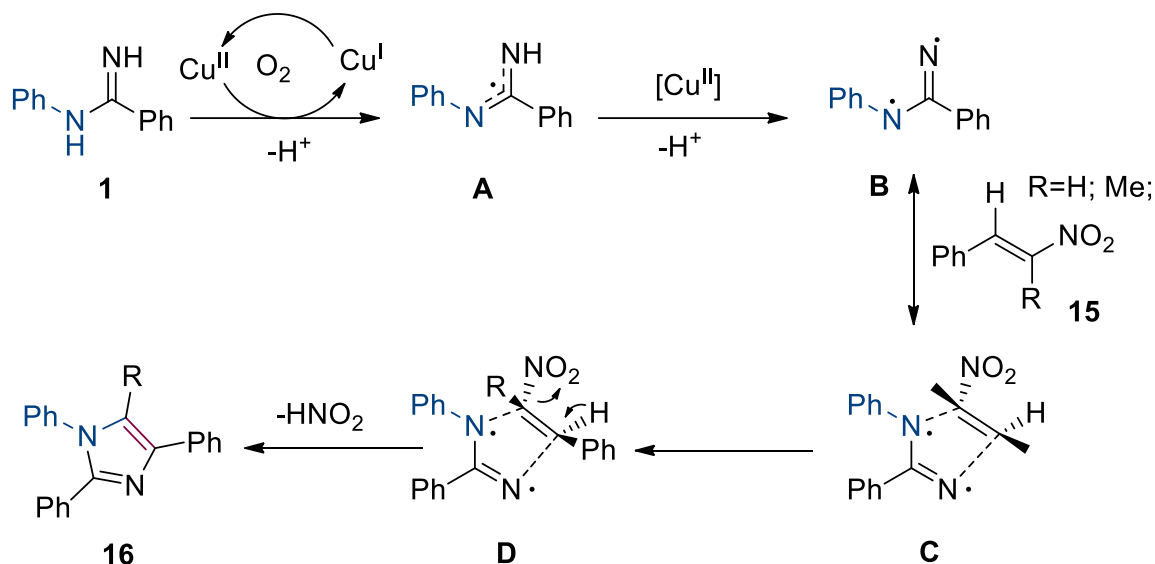


Схема 14. Механизм реакции получения имидазолов **16**

1.1.4. Получение имидазолов реакцией алкинов с амидинами **1** при дополнительном окислении

Помимо активированных алкенов в качестве двухуглеродного фрагмента могут быть использованы и алкины, при этом активирующая электроноакцепторная группа не требуется в силу большей склонности алкинов к нуклеофильному присоединению.

В 2013 году Li J. & Neuville, L. [27] опубликовали методологию синтеза тризамещенных имидазолов **18**, заключающуюся в катализируемом медью взаимодействии амидинов **1** и терминальных алкинов **17** (Схема 15).

Чтобы изучить реакционную способность амидинов **1** по отношению к ацетиленам **17**, первоначально в реакцию вводили *N*-толилбензимидамид **1** и этинилбензол **17**. В ходе оптимизации условий было выявлено, что в качестве основной добавки, комбинация карбоната натрия и пиридина является

наилучшим сочетанием (выход 71%). А наиболее оптимальной температурой процесса является 70 °С.

В оптимизированных условиях были получены ожидаемые 1,2,4-триарилимидазолы **18** с выходами в диапазоне от 39% до 74%. Электронная природа заместителей, что в *S*-арильном, что в *N*-арильном фрагментах амидинов **1** не оказала существенного влияния на исход реакции. Однако оказалось, что реакция чувствительна к стерическим затруднениям, при нахождении заместителей в орто-положении *S*-арильного фрагмента амидина **1** (выход 42%).

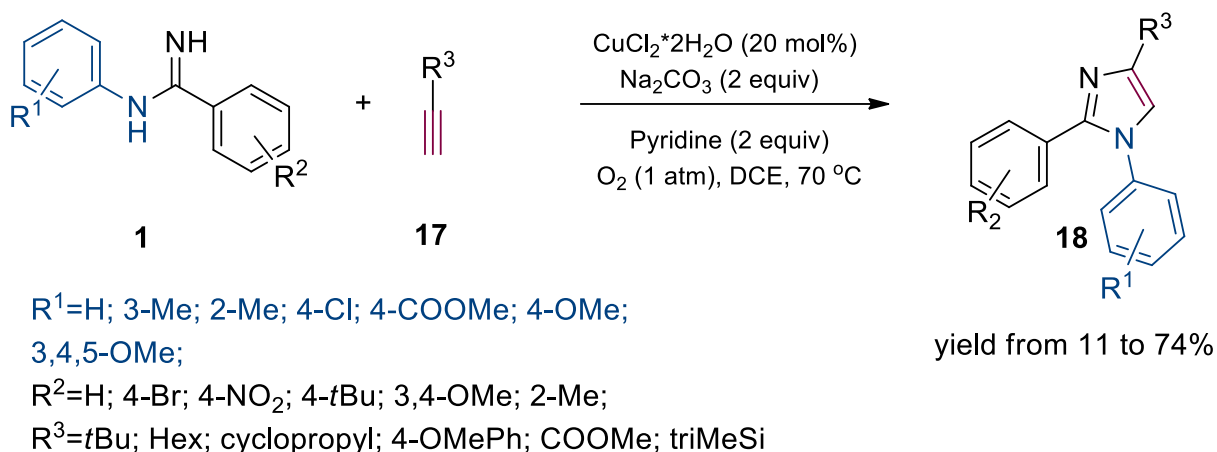


Схема 15. Синтез тризамещенных имидазолов **18** по реакции амидинов **1** и терминальных алкинов **17**.

Авторы также оценили влияние заместителей алкина **17**. Реакция оказалась совместимой с различными терминальными алкинами, такими как арил, алкил, циклопропил и силилзамещенными. Электронная природа заместителя алкина не оказывала значительного влияния на реакцию.

Согласно авторам, реакция должна быть инициирована медной активацией алкина **17** и амидина **1** с образованием комплекса **A** (Схема 16). Окисление комплекса **A** с последующим восстановительным элиминированием приводит к образованию связанных с медью алкинилацетимидамидов **C**. Комплекс **C** подвергается внутримолекулярной циклизации на активированный

алкин, в результате чего, после депротонирования, образуется комплекс имидазол-медь(I) **D**. Наконец, протонолиз высвобождает имидазол **18**, а повторное окисление комплекса Cu^{I} до комплекса Cu^{II} завершает каталитический цикл.

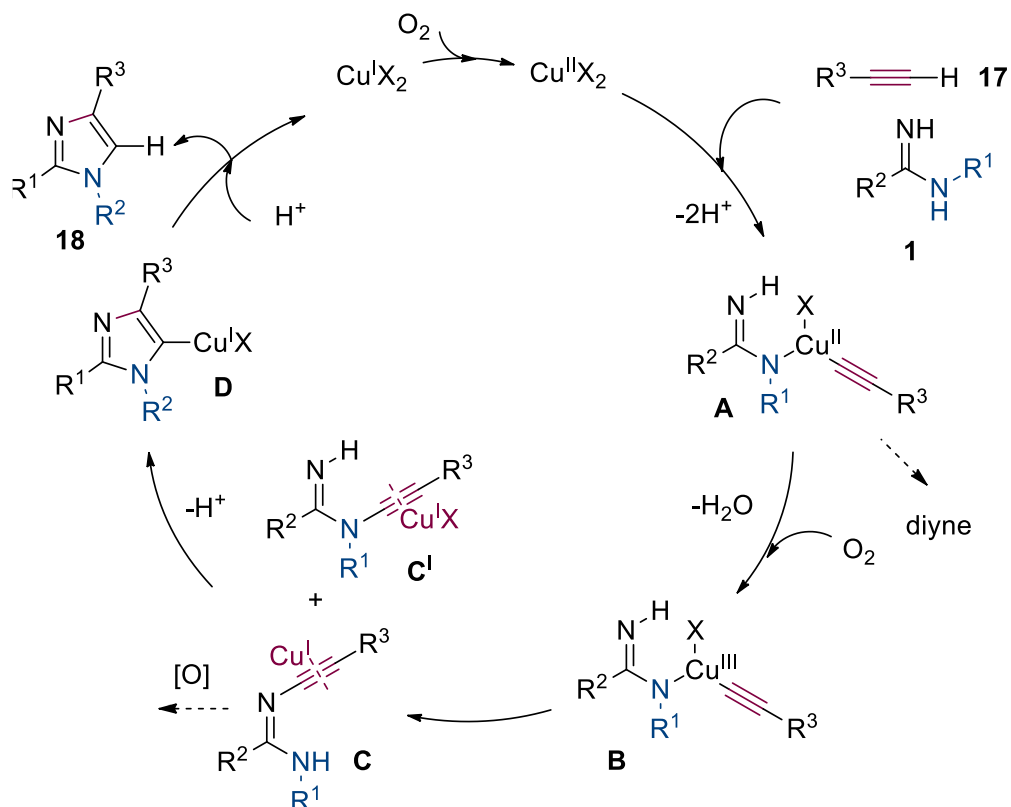


Схема 16. Механизм реакции получения триметилзамещенных имидазолов **18**

1.1.5. Получение (аза)бензимидазолов циклизацией амидинов **1** с 1,2-дигалоген(гет)аренами

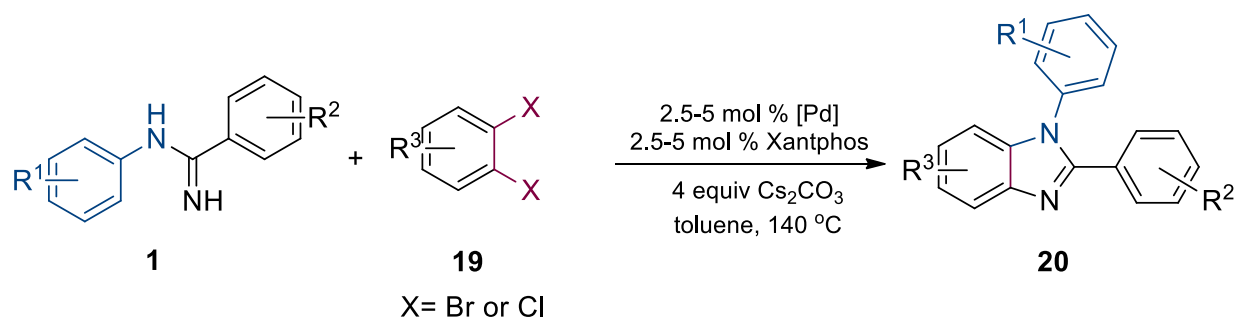
Кроме того, двухуглеродный фрагмент может быть встроен в ароматическое кольцо в виде кратной связи. Данный вариант реализуется при наличии в ароматическом кольце двух галогенов в качестве заместителей в орто-положении, которые также выполняют роль уходящих групп.

В 2011 году Zhao D. с командой [28] представил палладий катализируемое межмолекулярное тандемное двух- или четырехкратное аминирование по реакции *N*-замещенных амидинов **1** с орто-

галогенарилхлоридами или бромидами **19** (Схема 17), что является общим и высоко региоспецифическим методом синтеза структурно разнообразных (гетеро)арилконденсированных имидазолов **20**.

Разработанные оптимальные условия были представлены следующим образом: Pd(OAc)₂ или Pddba₂ (2,5 мол. %) в сочетании с Xantphos (2,5 мол. %), молекулярными ситами 4A° в качестве водоотнимающей добавки и Cs₂CO₃ или NaOtBu в качестве основной добавки в толуоле при 140°C в течение 24 часов. Имея оптимизированные условия, были протестированы различные амидины **1** в реакции с 1,2-дигалогенбензолом **19**.

Независимо от того, несли ли асимметрично замещенные о-дигалоген(гетеро)арены **19** и **21** нейтральные, электронодонорные или электроноакцепторные заместители, все их производные вступали в реакцию с амидинами **1** с образованием структурно разнообразных 1,2-дизамещенных арилконденсированных имидазолов **20**, **22** с превосходными выходами (81-99%). В этих тандемных двукратных аминированиях применение производных о-дигалоген(гетеро)аренов (Схемы 17-18), содержащих два разных атома галогена, может обеспечить полностью региоселективное превращение.



R¹=H, 2-Me; 4-Me; 3,5-diMeO; 4-Cl; 3-NO₂; 4-Me₂N;

R²=H; 4-Me₂N; 4-Ph₂N; 3-CN; 4-Me; 4-Cl;

R³=Cl; Me; OMe; CF₃; COOEt;

yield from 81 to 99%

Схема 17. Синтез 1,2-дизамещенных бензимидазолов **20** по реакции амидинов **1** с 1,2-дигалогенбензолом **19**

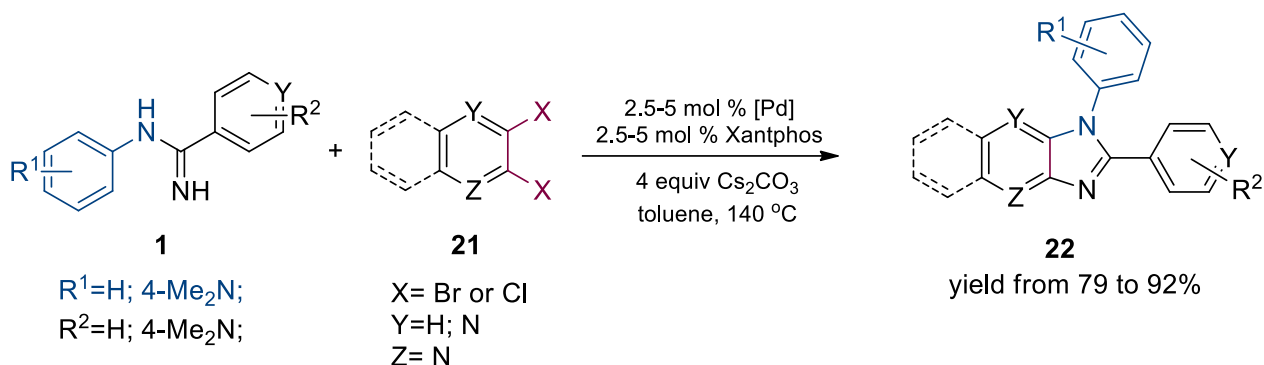


Схема 18. Синтез 1,2-дизамещенных бензимидазолов **22** по реакции амидинов **1** с о-дигалоген(гетеро)аренами **21**

Представленный синтез может быть расширен для прямого и региоселективного получения бензобисимидазолов, когда ранее при синтезе данных производных была получена смесь [29]. По этой же методике были получены с хорошими выходами, как анти-, так и син-продукты **24** (**24'**) при использовании 1,4-дибром-2,5- и 1,5-дибром-2,4-дииодбензола **23** (**23'**), соответственно (Схема 19).

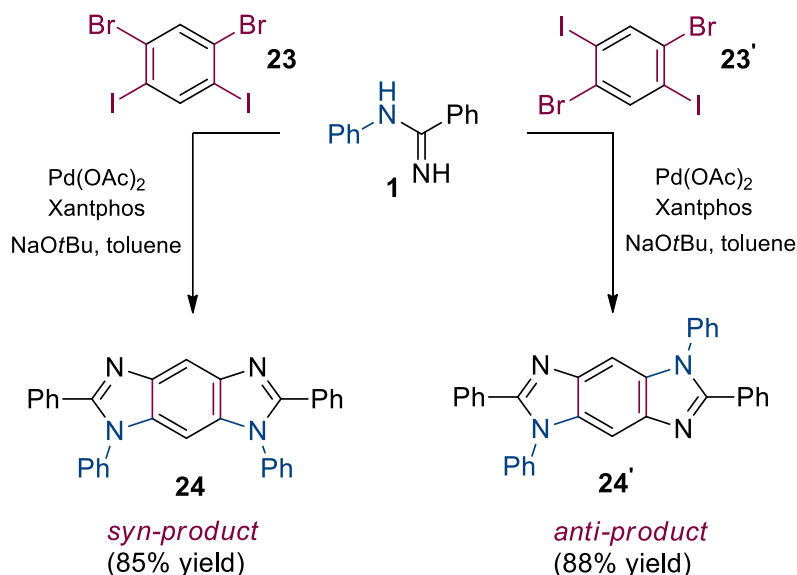


Схема 19. Синтез анти- и син-продуктов **24** (**24'**)

Poorfreidoni A. С коллегами [30] исследовали реакцию *N*-ариламидинов **1** с 4-фенилсульфонилм тетрафторпиридина **25**, в результате которой образуются имидазопиридины **26** с выходами от 35 до 55% (Схема 20).

Реакцию проводили в среде ацетонитрила с добавкой NaHCO_3 при температуре окружающей среды. Конец реакции фиксировали по ^{19}F ЯМР анализу.

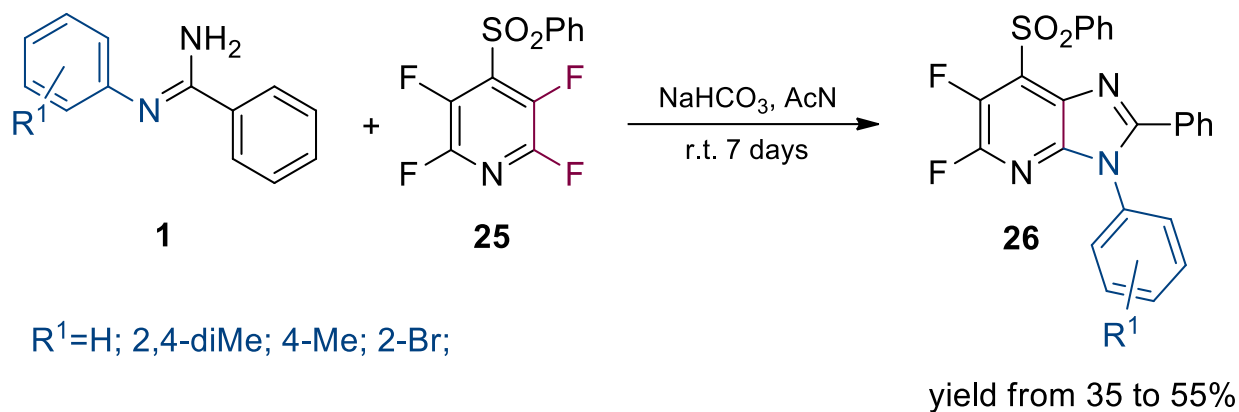


Схема 20. Синтез имидазопиридина **26** по реакции *N*-ариламидинов **1** с 4-фенилсульфонилтетрафторпиридином **25**

1.1.6. Окислительная циклизация *C,N*-диарилформамидинов

Последним вариантом получения имидазольного фрагмента является окислительная циклизация *C,N*-диарилформамидинов, когда алкеновый фрагмент обнаруживается в составе самого амидина в одном из его колец.

В публикации G. Brasche, S. L. Buchwald [31], 2008 года была описана методика получения бензимидазолов **27** из *N*-фенилбензамидина **1** с применением медного катализа (Схема 21). Авторы проводили подбор оптимальных условий на модельной реакции превращения *N*-фенилбензамидина **1** в 2-фенилбензимидазола **27**. После первичного отбора палладиевых и медных катализаторов, растворителей и температуры реакции, было обнаружено, что целевая реакция проходит за 18 часов при использовании 15 мол.% $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ в ДМСО при температуре 100°C в атмосфере кислорода, однако, с низким выходом 19% при низкой конверсии исходного *N*-фенилбензамидина **1**. При использовании 5 экв. пиридина или триэтиламина в качестве основной добавки конверсия повышалась, но это не влияло в значительной степени на выход **27**. Удовлетворительный результат был

получен при использовании 5 эквивалентов уксусной кислоты вместо основной добавки; наблюдался выход 74% бензимидазола **27** и почти полная конверсия **1**. Впоследствии были протестированы другие кислоты и соли меди(II). Только Cu-(изобутират)₂ и пропионовая кислота дали сопоставимые результаты. В статье было отмечено, что каталитическая активность была обнаружена и в атмосфере воздуха, но реакция протекала с меньшей скоростью.

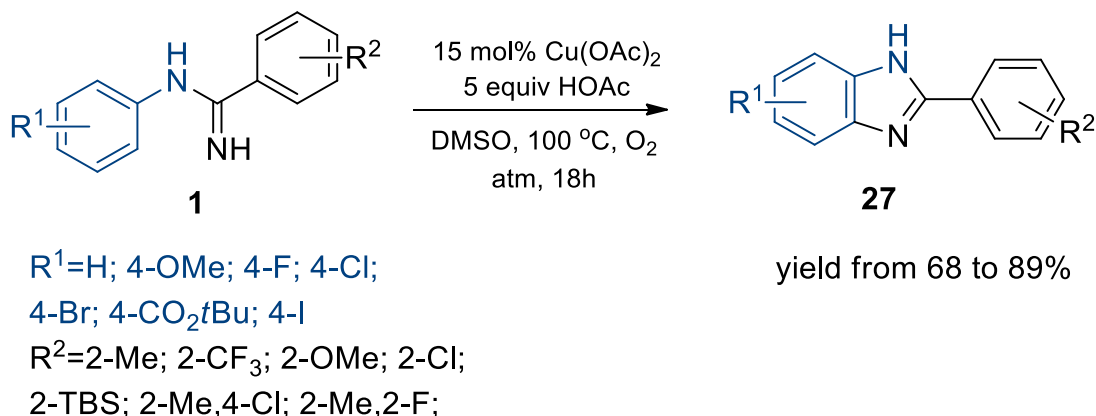


Схема 21. Синтез бензимидазолов **27** по реакции *N*-арилбензамидинов **1** с применением медного катализа

Используя оптимизированные условия, авторы исследовали универсальность данной методики к различным субстратам. Было установлено, что функционализированные амидины **1**, не содержащие в *S*-арильном фрагменте орто заместителей, показали низкую степень превращения в желаемые бензимидазолы **27**, однако, при наличии заместителей в орто положении наблюдалась обратная картина. При этом было выявлено, что в реакции могут быть использованы функционализированные амидины **1** с такими орто-заместителями (R^2), как Me, CF₃, OMe, Cl или TBS. Несколько функциональных групп, включая галогены и электронодонорные или электроноакцепторные заместители, хорошо переносятся в *N*-арильном кольце амидина **1**.

В той же публикации рассмотрена возможность введения в данных условиях *N*-замещенного диариламидаина **1'**, когда продуктами реакции являлись *N*-метил-2-арилбензимидазолы **28** (Схема 22).



Схема 22. Синтез 1,2-дизамещенных бензимидазолов **28** по реакции *N*-замещенного диариламида **1'**

В публикации Q. Xiao с командой [32] в 2009 году был представлен синтез бензимидазолов **27'** из *N*-арилбензамидинов **1** с использованием палладиевого катализатора и добавкой соли меди в качестве окислителя (Схема 23).

После систематических исследований модельной реакции, авторы получили бензимидазол **27'** в присутствии $[\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2]$ в качестве катализатора и $\text{Cu}(\text{OAc})_2/\text{O}_2$ в качестве соокислителя в среде NMP.

Для повышения эффективности превращения была использована TMTU (тетраметилтиомочевина). При этом было отмечено, что в ее отсутствие выходы резко снижались.

Следует отметить, что при реализации описанных условий становится возможным введение в реакцию *S*-арильного фрагмента с мета и пара заместителями и получением продуктов с хорошими выходами (40-75%).

При рассмотрении солей палладия было отмечено, что другие виды палладия снижали каталитическую эффективность.

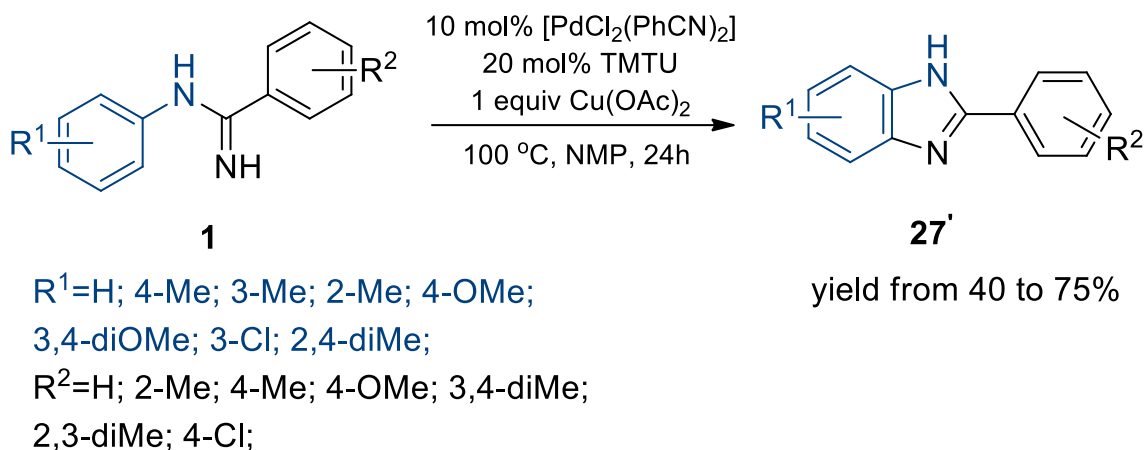


Схема 23. Синтез бензимидазолов **27'** по реакции *N*-арилбензамидинов **1** с использованием палладиевого катализатора и добавкой соли меди

Первоначально было исследовано влияние заместителей *C*-арильного фрагмента амидина **1**. Только электронодонорные группы фенильного кольца были совместимы с разработанными условиями реакции. Стерический эффект не влиял на эффективность этого превращения. Мало того, орто-заместители, как и в публикации G. Brasche, S. L. Buchwald [31] повышали выход реакции. Электроноакцепторные группы снижали эффективность, в частности, сильные электроноакцепторные группы, такие как нитро и циано, полностью подавляли трансформацию.

Были также исследованы амидины **1** с различными заместителями в *N*-арильном фрагменте. Реакция неплохо протекала с электронодонорными заместителями, что нельзя сказать об электроноакцепторных. При введении нитрогруппы в пара-положение реакция не протекала. Говоря о стерическом эффекте, как пара-, так и метаметилированные субстраты показали хорошую реакционную способность, но ортометилированный субстрат явно снижал эффективность.

Авторами было высказано предположение, что это превращение происходит посредством орто-циклопалладирования с образованием палладацикла **A** (Схема 24). После разложения димерного палладацикла с образованием мономера **B** в присутствии TMTU, ацетат играет роль основания

в удалении протона иминной группы с образованием промежуточного соединения **C**. После восстановительного отщепления с получением желаемого продукта **27'** образуются частицы Pd^0 , которые могут быть дополнительно окислены до Pd^{II} для завершения каталитического цикла.

Авторами было сделано предположение, что во время этого каталитического цикла $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ играет двойную роль: как основание для удаления протона мономера или димера палладацикла и как окислитель для окисления Pd^0 до Pd^{II} для облегчения каталитического цикла.

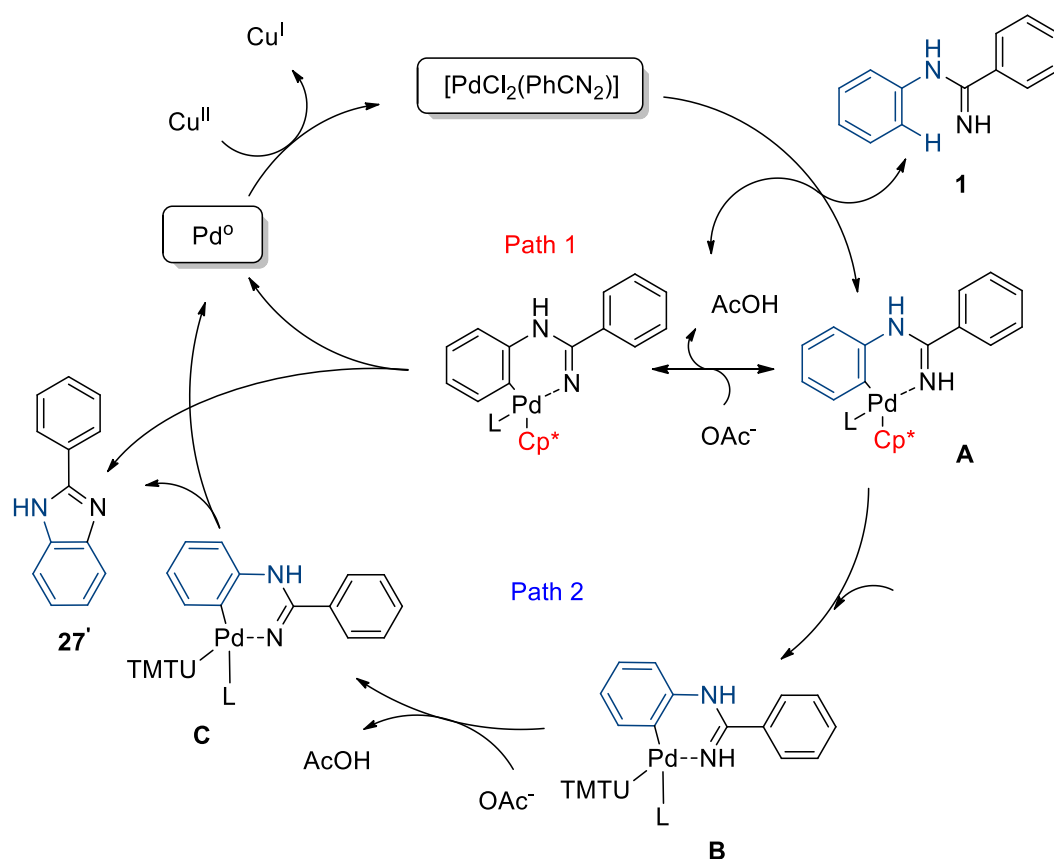


Схема 24. Механизм получения бензимидазолов **27'**

Реакции аминирования/амидирования/имидирования, катализируемые переходными металлами, начиная с арил- или винил(псевдо)галогенидов, были эффективными методами получения азотсодержащих соединений [33-34]. За последнее десятилетие прямое образование связи C-N, катализируемое переходными металлами, стало эффективной и безвредной альтернативой

традиционным методам образования связи C-N. Однако как правило, эти способы требуют высоких температур реакции и высокой загрузки катализатора и/или металлического окислителя. Кроме того, наличие примесей тяжелых металлов в конечном продукте может ограничивать их применение в производстве лекарственных средств. Таким образом, разработка реакций аминирования/амидирования/имидирования без металлов и проводимые в более мягких условиях является актуальным.

В этой связи в 2012 году Huang J. с командой [35] разработали стратегию синтеза бензимидазолов **27'**, основанную на использовании PIDA (фенилйод(III)диацетат) (Схема 25).

Поскольку промотированное гипервалентным йодом (III) амидирование/имидирование ароматических CН-связей обычно проводят при температуре окружающей среды, группой авторов было сделано предположение, что может быть получен более широкий спектр субстратов и более высокие выходы реакции, чем были известны ранее.

В качестве модельной реакции авторы выбрали превращение *N*-фенилбензамидина **1** с использованием PIDA в качестве промотора

Согласно статье, выбор растворителя имел решающее значение: при использовании неполярного толуола или тетрагидрофурана в качестве растворителя, желаемый продукт не образовывался, тогда как полярные растворители, включая ДМФ, CH₃CN, ДМСО и *i*PrOH способствовали образованию продукта, хотя и с низкими выходами (5-35%). В результате был выбран полярный нуклеофильный фторированный спирт HFIP или TFE, при использовании которых при комнатной температуре желаемый продукт был получен с выходами 85 и 87% соответственно.

Два других широко используемых окислителя гипервалентного йода (бис(трифторацетокси)йод)бензол (PIFA) и бис(трет-бутилкарбонилокси)йодбензол (PhI(OPiv)₂), были менее эффективны, чем PIDA. Кроме того, авторами было показано, что добавление неорганических

оснований способствует увеличению выхода. В присутствии Cs₂CO₃ реакция протекала за 30 минут при температуре окружающей среды с выходом до 95%.

Авторами было исследовано разнообразие *N*-арилбензамидиновых субстратов **1** для синтеза 2-арилбензимидазолов **27''** в оптимизированных условиях реакции. В результате скрининга было получено, что реакция протекает с выходами 70-91% с такими функциональными группами, как Me, Cl, Br и F, расположенных в орто- или пара-положениях *N*-арильного фрагмента (R¹).

Субстрат с объемной группой *t*Bu в орто-положении также давал циклизированный продукт с выходом 60%. Однако пара-йодо- и метоксизамещенные амидины были несовместимы с окислительными условиями (выход менее 30%). Циклизация метаметилзамещенного субстрата приводила к смеси двух региоизомеров в соотношении 1,2:1. Интересно, что положения заместителей во втором фенильном кольце (R²) мало влияли на выходы реакции.

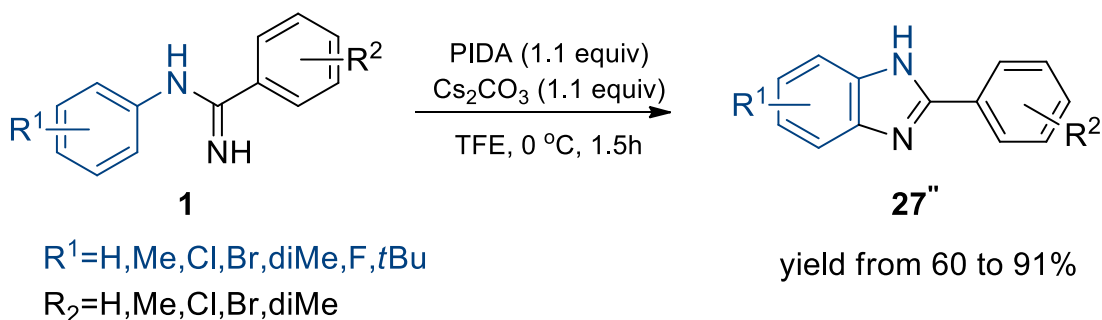


Схема 25. Синтез бензимидазолов **27''** по реакции *N*-арилбензамидинов **1** с использованием PIDA (phenyliodine(III) diacetate)

Авторами был предложен вероятный путь реакции (Схема 26). Первоначально PIDA реагирует с амидиновым субстратом **1** с образованием *N*-йодоимидовида **A** при высвобождении уксусной кислоты. Последующий гомолиз дает *N*-центрированное свободнорадикальное промежуточное соединение **B** и гипервалентный йод-(III)-центрированный радикал **C**. Затем

имицильный радикал присоединяется к ароматическому кольцу с образованием промежуточного соединения **D**, который окисляется до циклогексадиенил-катиона **E** посредством однократного переноса электрона с помощью промежуточного соединения **C**. Последующий трансфер протона ацетат-анионом, генерируемым *in situ*, дает желаемые продукты **27''**.

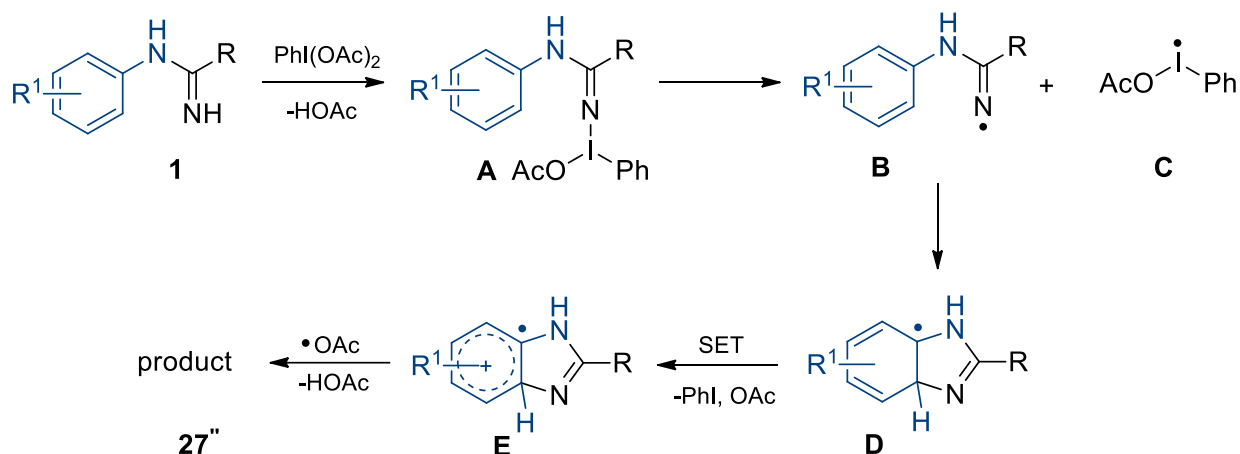


Схема 26. Механизм реакции получения бензимидазолов **27''**

Другой методологией синтеза бензимидазолов является использование предварительно активированных предшественников аминов, чтобы избежать внешних окислителей. Однако это требует дополнительной стадии приготовления аминного реагента, при этом стехиометрические побочные продукты остаются также неизбежны.

В 2017 году Ху L. с соавторами [36] было проведено исследование синтеза бензимидазолов **29** с использованием органического азида **28** в качестве источника азота (Схема 27).

Исследование было начато с реакции между *N*-фенилбензимидамидом **1** и TsN_3 **28** в присутствии $[\text{Cr}^*\text{IrCl}_2]_2$ (2,5 моль.%). Целевой бензимидазол **29** был получен с выходом 32%. Добавление 0,5 экв. уксусной кислоты способствовало повышению выхода до 45%, что побудило авторов к увеличению количества кислотной добавки до 1,0 экв., что привело к выходу 61%. В качестве наиболее оптимального растворителя был выбран 1,2-дихлорэтан. Затем исследователями было обнаружено, что в качестве кислотной добавки наиболее

эффективна фенилуксусная кислота с увеличением загрузки $[\text{Cp}^*\text{IrCl}_2]_2$ до 4 мол., в результате был выделен продукт с выходом 97%.

Среди солей, наиболее оптимальной добавкой оказался AgNTf_2 .

Контрольные эксперименты показали, что при проведении реакции без использования катализатора $[\text{Cp}^*\text{IrCl}_2]_2$, реакция не протекает, что также было замечено при применении других катализаторов ($[\text{Cp}^*\text{RhCl}_2]_2$ или $[\text{Cp}^*\text{CoCl}_2]_2$). Низкие выходы (18%) наблюдались при использовании $[\text{Ru}(\text{p-cymene})\text{Cl}_2]_2$.

Наконец, оптимизированные условия реакции были идентифицированы следующим образом: $[\text{Cp}^*\text{IrCl}_2]_2$ (4 мол. %), AgNTf_2 (16 мол. %) и фенилуксусная кислота (1 экв.) в ДХЭ при 80°C в течение 12 ч на воздухе.

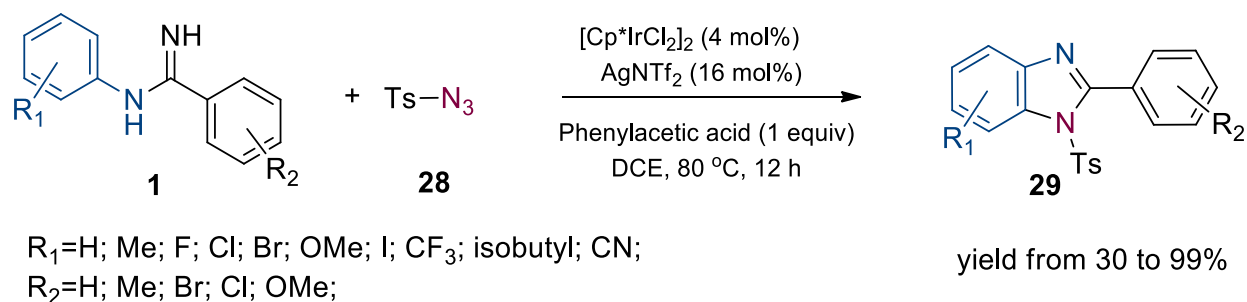


Схема 27. Синтез бензимидазолов **29** с использованием органического азиды **28**

В ходе изучения субстратной устойчивости, найдено, что различные *N*-фенилбензамидины **1**, содержащие электронодонорные или электроноакцепторные группы или галогены хорошо вели себя при оптимизированных условиях реакции.

Метильный заместитель в орто-положении бензольного кольца приводил к более низкому выходу, чем для м- и п-метилзамещенных *N*-фенилбензамидинов **1** из-за стерических затруднений.

Вероятный механизм реакции представлен на схеме 28. Активный катализатор $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{NTf}_2)]_2$ образуется в результате анионного обмена. Координация **1** с катализатором и последующее циклометаллирование

приводит к образованию иридациклического промежуточного соединения **A**. Координация TsN_3 с последующим отщеплением азота дает карбеновую форму иридия **C**. Предполагается, что связь Ir-Ag подвергается мигрирующей вставке в карбеновое звено с образованием промежуточного соединения **D**. Затем связь Ir-N(TsN_3) мигрирует в связь C-N с образованием соединения **E**. Продукт **29** в конечном итоге образуется из **E** путем удаления активного катализатора Ir(III) и одной молекулы NH_3 при протоноллизе.

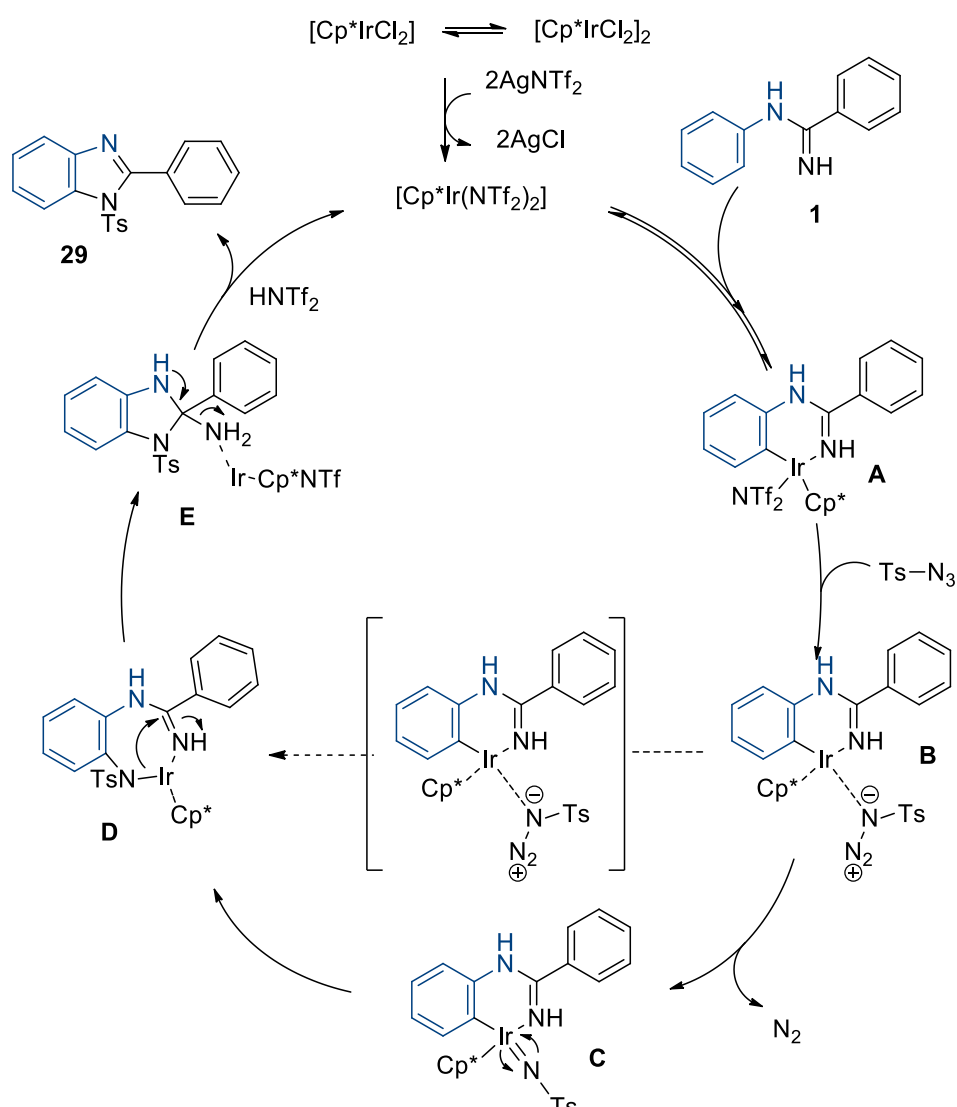


Схема 28. Механизм реакции получения 1,2-дизамещенным бензимидазолов **29**

1.2. Пиримидины

Пиримидины также обладают широким спектром биологической активности и в этой связи они присутствуют в составе многих лекарственных препаратов [37-38].

Интересно, что амидины **1** могут быть пригодны для самого популярного метода синтеза пиримидинов – (3+3)-циклоконденсации с 1,3-биэлектрофилами.

1.2.1. Получение пиримидинов реакцией производных малоновой кислоты и амидинов **1**

Наиболее популярным 1,3-биэлектрофильным реагентом являются производные малоновой кислоты.

В 1999 году Issac Y. [39] представил синтез пиримидиниевых солей **32** и 4-хинолонов **34** из *N*-замещенных фенилбензамидинов **30** (Схема 29).

Пиримидиниевые соли получали по реакции амидинов **34** и бис(2,4,6-трихлорфенил) (2-замещенных)малонатов **31** в течение 10 минут при температуре 175°C. Выход продуктов составлял от 71 до 73%.

4-хинолоны **34** получали при кипячении амидинов **30** с диэтил(2-замещенных)малонатами **33** в тетралине на протяжении 2-6 часов.

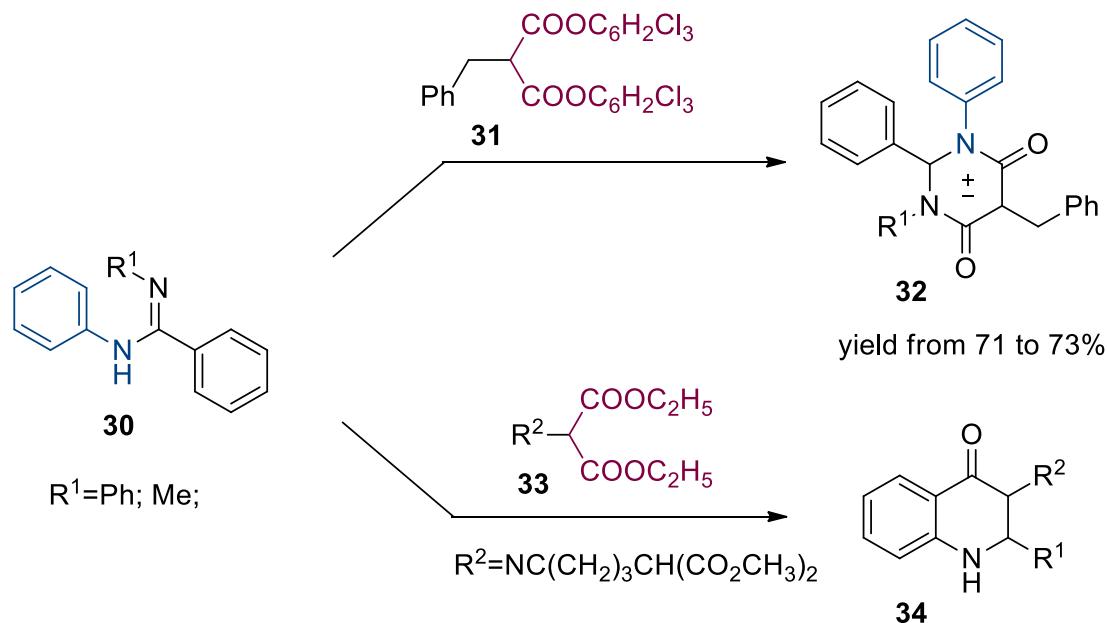


Схема 29. Синтез пиридиниевых солей **32** и 4-хинолонов **34** из *N*-замещенных фенилбензамидинов **30**

В патенте RU 2 738 105 C1 [40] было описано получение 5-замещенных-2,3-дифенил-6-гидроксипиридин-4(3H)-онов **32**. Согласно методике авторов (Схема 30), *N*-фенилбензамидин **1** растворяли в абсолютном *o*-ксилоле, затем добавляли ксилольный раствор 2-метилпропандиоилдихлорида **31** реакционную смесь кипятили при температуре 144°C в течение 4 часов. Выход полученных соединений составлял от 66 до 72%.

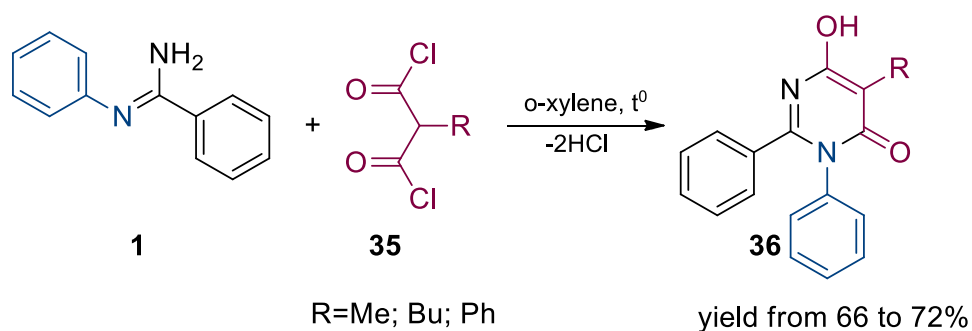


Схема 32. Синтез 5-замещенных-2,3-дифенил-6-гидроксипиридин-4(3H)-онов

В патенте RU 2 738 107 C1 [41] описана иная методика синтеза аналогичных веществ **36'**. Согласно методике авторов (схема 31), *N*-фенилбензамидин **1** растворяли в ДМФА, добавляли гидрокарбонат калия. Затем к реакционной смеси прибавляли диэтил-2-метилпропандиоат **37** и нагревали реакционную массу при 175 °С в течение 1,5 часов. Выход полученных соединений составлял от 60 до 66%.

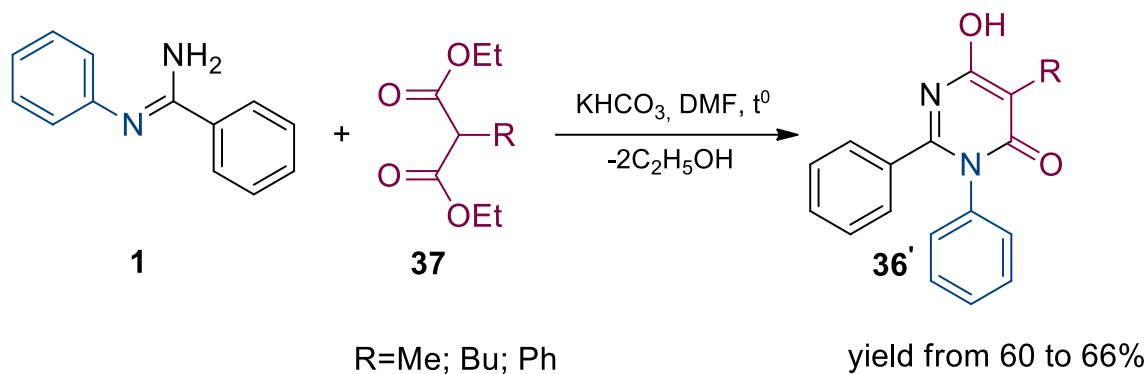


Схема 31. Синтез 5-замещенных-2,3-дифенил-6-гидроксипиримидин-4(3H)-онов **36'**

1.2.2. Получение пиримидинов реакцией амидинов **1** и иналей

Другой популярный тип 1,3-бизэлектрофила -инали – которые также были рассмотрены в реакции с амидинами **1** [42].

Так, в 2018 году Xie Y., Wang J. [43] представили способ синтеза пиримидинов **39** из иналей **38** и амидинов **1** (Схема 32). Первоначально авторами был проведен скрининг катализаторов ННС, в результате было показано, что реакция протекает только в присутствии катализаторов на основе тиазолия, но с низкими выходами (13-33%). Выходы были повышены до 78% при добавлении к катализатору $Mg(OTf)_2$. В результате дальнейшей оптимизации, условия реакции позволяли получить целевое вещество с выходом 92%.

Имея оптимальные условия реакции, авторы стремились изучить широту возможных субстратов. Разнообразный набор электроноакцепторных (например, CO_2Et) и электронодонорных (например, OMe , Et , Me) иналов **38**

были совместимы с выбранными условиями. Касательно амидинов **1**, желаемые продукты можно было получить при замещении амидина галогенидами (например, F, Cl) в мета и пара положениях.

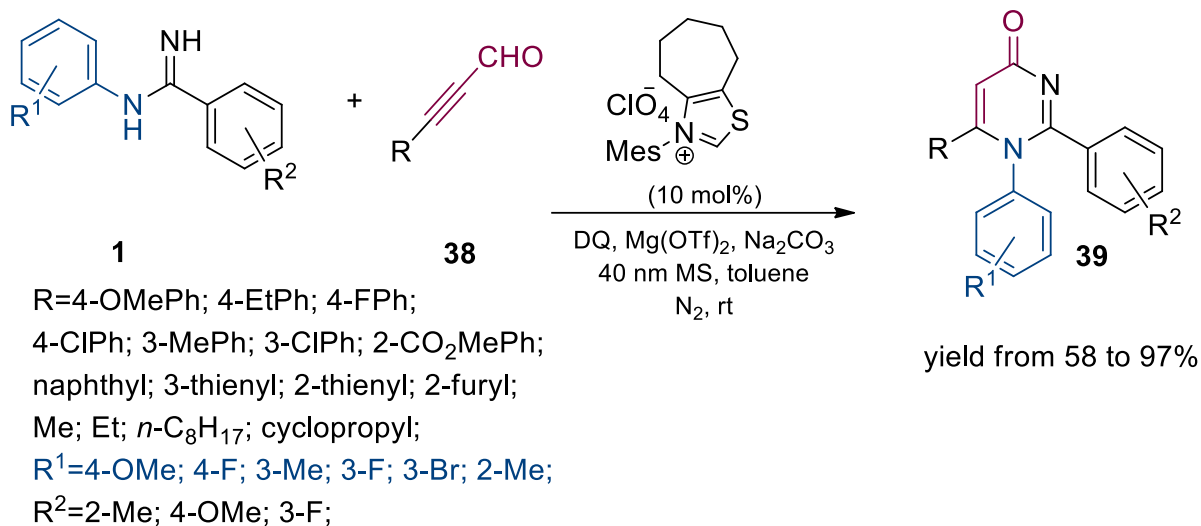


Схема 32. Синтез пиримидинов **39** из иналов **38** и амидинов **1**

Предполагаемый механизм реакции представлен на схеме 33. Инал **38** реагирует с ННС катализатором **A** с образованием промежуточного соединения Бреслоу **B**, связанного с ННС, а затем подвергается окислению с образованием промежуточного соединения - алкинилацилазолия **C**. В присутствии магния(II) *N*-замещенный амидин **1** и алкинилацилазолий **C** активируются за счет координации **D**. Затем происходит перенос **D** к алленолатному промежуточному продукту **E**, а последующий перенос протона приводит к промежуточному продукту **F**. Наконец, внутримолекулярное циклическое присоединение **F** дает конечный продукт **39**, и катализатор ННС **A** высвобождается для следующего каталитического цикла.

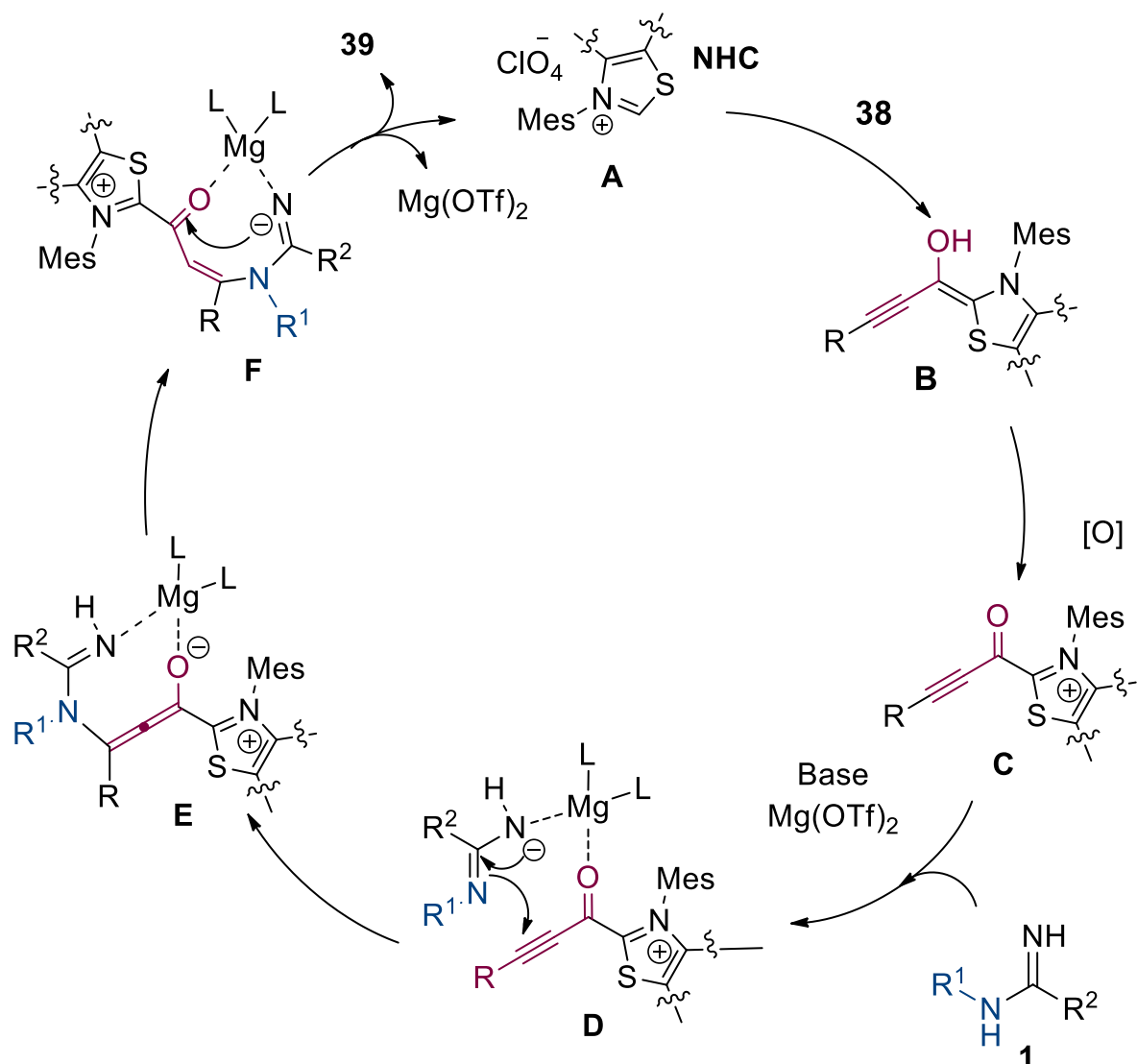
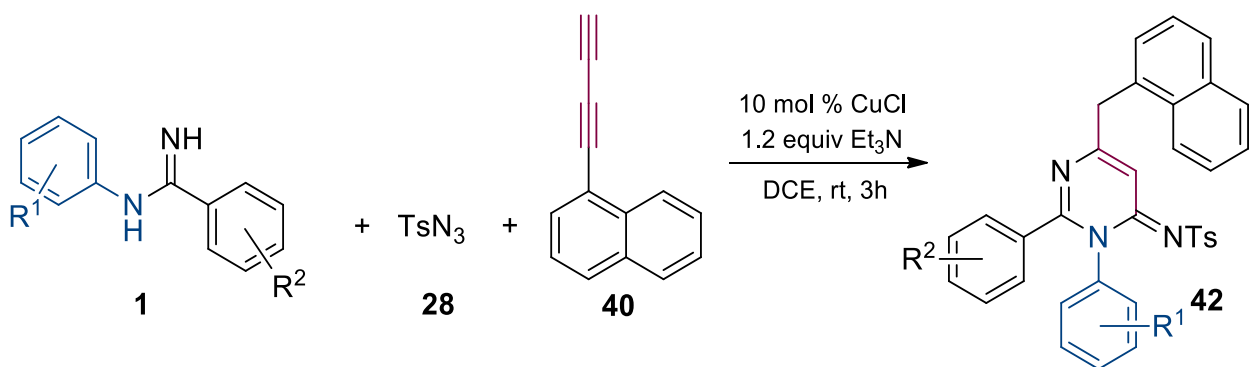


Схема 33. Механизм реакции получения пиримидинов **39**

В 2014 году Xing Y. с командой [44] опубликовали методологию синтеза 4-иминопиримидинов **42** из амидинов **1** и β -алкинил-*N*-сульфонилкетенимина **41**, генерируемого *in situ* из 1-(нафтален-1-ил)-1,3-бутадиина **40** и тозилазида **28** в присутствии CuCl (10 мол. %) и триэтиламина (1,2 экв.) (Схема 34).

Авторами было выявлено, что разработанные условия реакции подходят для различных заместителей в амидинах **1**, что позволило получить 4-иминопиримидины **42** с выходами от 62% до 98%.



$R^1 = \text{H}; 4\text{-Br}; 3\text{-Br}; 4\text{-OMe}; 4\text{-Me};$
 $R^2 = \text{H}; 3\text{-Me}; 2\text{-F}; 3\text{-Cl}; 2\text{-Cl}; 4\text{-Me}; 4\text{-Cl};$

yield from 62 to 98%

Схема 34. Синтез 4-иминопиримидинов **42** из амидинов **1**, 1-(нафтаден-1-ил)-1,3-бутадиина **40** и тозилазида **28**

В рассмотрении механизма реакции (Схема 35), авторы предположили, что первоначально бутадиин **40** реагирует с сульфонилазидом **28** в присутствии Cu^{I} и Et_3N с образованием кетениминового промежуточного соединения **41** через каскадную перегруппировку. Затем **41** атакует амидин **1** с получением **A**. **A** подвергается пропаргил-алленильной изомеризации **B** с последующей циклизацией с получением **42**. Примечательно, что β -алкинил-*N*-сульфонилкетенимин **41** в этом процессе выступает в качестве 1,3-биэлектрофильного компонента.

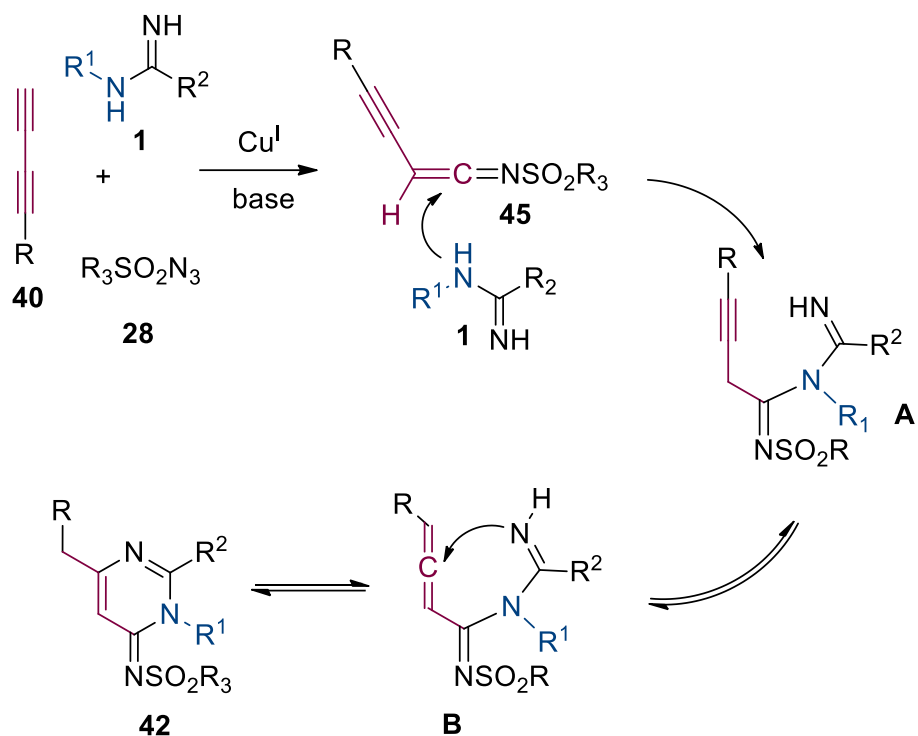


Схема 35. Синтез 4-иминопиримидинов **38** из амидинов **1**, 1-(нафтален-1-ил)-1,3-бутадиина **36** и тозилазида **24**

1.3. Хиназолины

Благодаря фармакологической активности каркасов хиназолина, они вызвали большой интерес у химиков-медиков в разработке новых лекарств или кандидатов на лекарственное средство. Фармакологическая активность хиназолина и родственных ему каркасов включает противораковое, антимикробное, противосудорожное и антигиперлипидемическое действие [45].

Zhang W. с соавторами [46] в 2014 году опубликовали исследование по оптимизации условий синтеза хиназолинов **43** по реакции амидинов **1** и альдегидов **12** (Схема 36).

В качестве модельной реакции они взяли реакцию *N*-(4-хлорфенил)бензимидамида **1** и бензальдегида **12**. Было получено, что наилучшим растворителем в данной реакции является толуол, когда амидин **1** трансформировался в желаемый продукт **43** с полной конверсией и выходом

88%. Среди исследованных лигандов, таких как Ph_3P (трифенилфосфин), DMEDA, TMEDA, 2,2-дипиридил и 1,10-фенантролин, лучшим оказался 1,10-фенантролин.

Медные катализаторы, такие как $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, CuSO_4 , CuCl_2 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, CuO (200 меш), и аналогичные дали относительно низкие выходы хиназолинов, при этом наночастицы CuO диаметром 6,5 нм оказались лучшим катализатором.

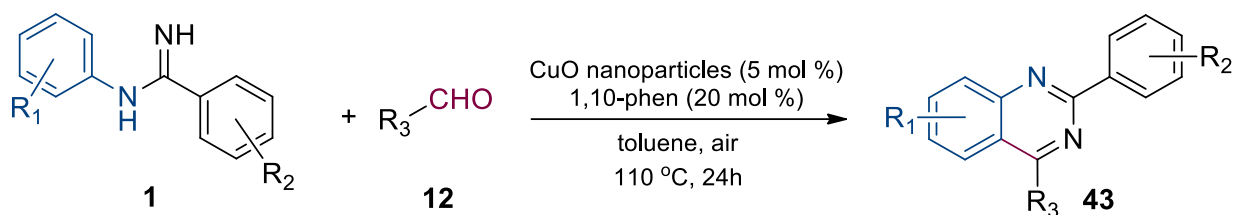
Таким образом, были выбраны оптимальные условия реакции. 5 моль. % наночастиц CuO в присутствии 20 моль. % 1,10-фенантролина в кипящем толуоле в течение 24 часов.

В оптимизированных условиях реакции авторы оценили возможность использования *N*-ариламидинов **1** с различными заместителями.

Значимого эффекта заместителей не наблюдалось, отличные выходы были получены для *N*-ариламидинов, как с электронодонорным, так и с электроноакцепторными заместителями.

Кроме того, различные ароматические альдегиды **12** были исследованы в оптимизированных условиях реакции. Результат показал, что несколько функциональных групп, таких как метил, метокси, хлор, нитро и циан хорошо переносились и давали соответствующие продукты с выходом от среднего до хорошего (73-96%).

В целом, наличие электронодонорных и слабых электроноакцепторных групп в пара-положении бензальдегидов **12** показали несколько лучшую эффективность, чем те, у кого были сильные электроноакцепторные заместители. При этом в случае использования 2-этоксibenзальдегида, был получен выход только 73%, что, по мнению авторов, связано со стерическими затруднениями.

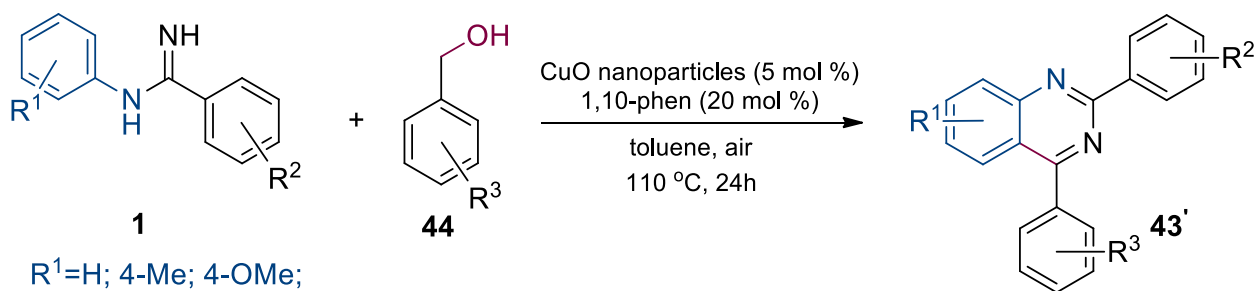


$R_1 = \text{H}; 4\text{-Cl}; 4\text{-F}; 2\text{-Me}; 4\text{-Me}; 3\text{-Me}; 4\text{-OMe};$
 $R_2 = \text{H}; 2\text{-Me}; 3\text{-Cl}; 2\text{-Cl}; 3\text{-Me}; 4\text{-Cl}; 4\text{-Me};$
 $R_3 = \text{Ph}; 4\text{-FPh}; 4\text{-CNPh}; 4\text{-OMePh}; 4\text{-MePh};$
 $2\text{-OEtPh}; 4\text{-NO}_2\text{Ph}$

yield from 73 to 98%

Схема 36. Синтез хиназолинов **43** по реакции между амидами **1** и альдегидами **12**

В продолжение работы по данной теме, авторы предположили, что спирты могут быть использованы в качестве латентных альдегидов для синтеза хиназолинов **43'** (Схема 37). Авторы исследовали в данной реакции в качестве субстратов замещенные бензиловые спирты **44**, использование которых позволило получить желаемый продукт с выходами **43'** от 54 до 95%.



$R^1 = \text{H}; 4\text{-Me}; 4\text{-OMe};$
 $R^2 = \text{H}; 4\text{-Cl}; 4\text{-Me}$
 $R^3 = \text{H}; 4\text{-Cl}; 4\text{-OMe}; 4\text{-NO}_2; 3\text{-NO}_2; 2\text{-NO}_2;$

yield from 54 to 95%

Схема 37. Синтез хиназолинов **43'** по реакции между амидами **1** и замещенными бензиловыми спиртами **44**

Ху Ф. с соавторами [47] рассмотрели в своей публикации реакцию *N*-фенилбензамидина **1** и NTs-диина **45** в качестве партнеров связывания для образования хиназолинов **46** (Схема 38).

После обширного скрининга условий реакции, оптимальные условия были установлены следующим образом: $[\text{Cp}^*\text{RhCl}_2]_2$ (5 мол. %), Ag_2CO_3 (10 мол. %), 2,6-диметилбензойная кислота (1 экв), H_2O (4 экв), Li_2CO_3 (80 мол. %), DMA/EtOH/NMP (6 мл, 2:1:2), 80°C в течение 21 часа. В этих условиях был

проверен объем возможных исходных реагентов. В рассмотрении амидинов **1**, в целом, в реакцию могли вводиться как электронодонорными, так и электроноакцепторные заместители (выходы 33-91%, 39 примеров).

При анализе заместителей в *N*-бензольном кольце важно отметить, что ряд перспективных групп, таких как галоген, алкил, арил, метокси, или даже заместитель $-\text{OCF}_3$, были совместимы для реакции в разработанных условиях.

Замещение в орто-положении, к примеру, метильной группой, отрицательно влияло на реакцию, давая продукт в следовых количествах. Напротив, введение орто-МеО в *N*-бензольное кольцо давало продукт с рациональным выходом (55%).

Далее авторы сосредоточились на изучении охвата амидинов **1** по *C*-бензольному кольцу. Электронный фактор сыграл решающую роль в синтезе из орто замещенных амидинов **1**. Когда в этом кольце была заменена орто-Ме группа - группой $-\text{CF}_3$, было получено резкое увеличение выхода (90% по сравнению с 37%).

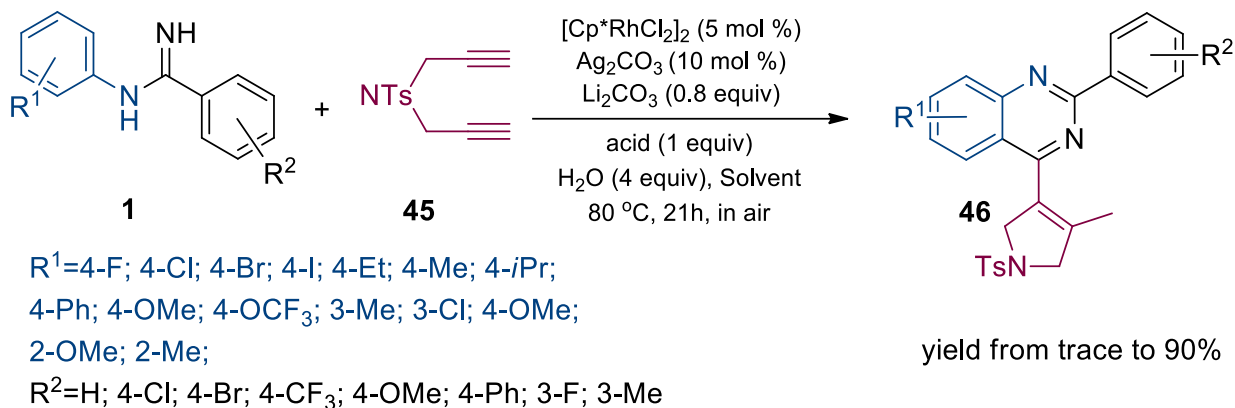


Схема 38. Синтез хиназолинов **46** по реакции между амидинами **1** и NTs-дином **45**

Предложенный механизм представлен на схеме 39. При образовании Rh(III)-комплекса **A** активация C-H в орто-Н амидиновой связи приводит к шестичленному родациклу **B**, который затем подвергается лигандному обмену

для получения родацикла **C**. Дальнейшая 5-экзоциклизация **C** приводит к образованию **D**. Последующая мигрирующая вставка **D** генерирует промежуточное соединение **E**. В результате восстановительного отщепления **E**, образуется промежуточное соединение **F** с высвобождением $\text{Cp}^*\text{Rh(I)}$, которое может быть повторно окислено до $\text{Cp}^*\text{Rh(III)}$ с помощью Ag_2CO_3 . Затем деметаллирование **F** приводит к образованию целевых продуктов **46**.

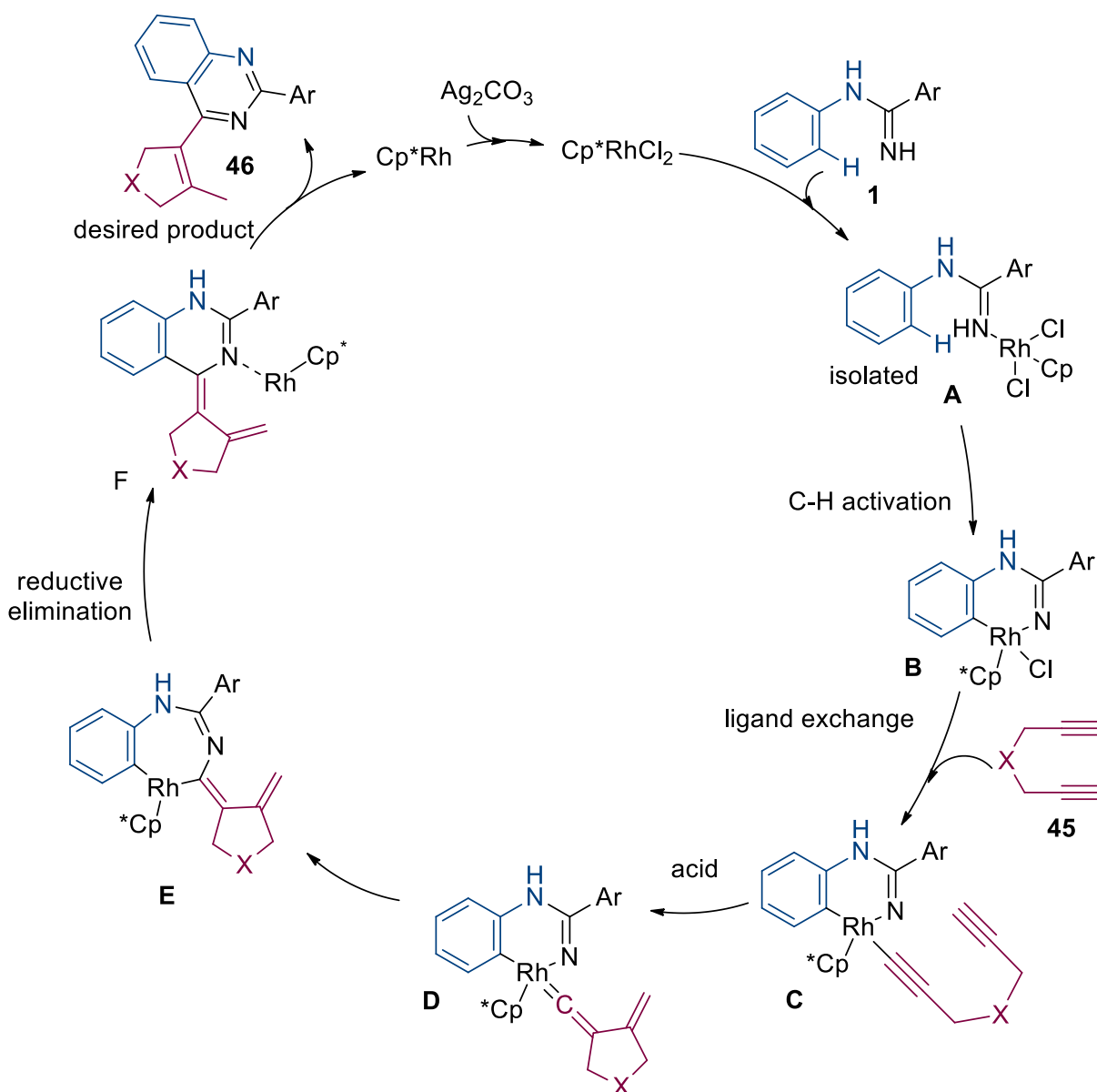


Схема 39. Предполагаемый механизм реакции получения хиназолинов **46**

В 2014 году Szczepankiewicz W. [48] представили реакцию 2-амино-*N'*-арилбензамидинов **1''** с бутандионом **47**.

Авторами было отмечено, что попытки циклизации 2-амино-*N'*-фенилбензамидина **1''** с использованием монокетонов (ацетона, бутанона или ацетофенона) заканчивались неуспешно. Длительное нагревание реагентов в кипящем этаноле или толуоле не приводило к образованию продуктов циклизации, и только использование более реакционноспособного бутандиона позволило получить циклические продукты **49** с выходами 45-57%. Реакцию при этом проводили с добавлением воды.

Основываясь на своих более ранних исследованиях, авторы ожидали получить 2-ацетил-4-ариламино-2-метил-1,2-дигидрохиназолины **50** (или их таутомерные формы), как продукты циклизации. Вместо этого в качестве основных продуктов были выделены 2-ацетил-3-арил-2-метил-2,3-дигидрохиназолин-4(1H)-оны **49** с умеренными выходами (схема 40). Авторы предположили, что интермедиатами этой реакции являются 1-(3-арил-4-имино-2-метил-1,2,3,4-тетрагидрохиназолин-2-ил)этаноны **48**, которые превращаются в конечные продукты **50** посредством гидролиза иминного фрагмента водой, образующейся в результате реакции или добавляемой в реакционную среду. При этом без дополнительной добавки воды в реакционной массе были получены только смеси трудноразделимых соединений.

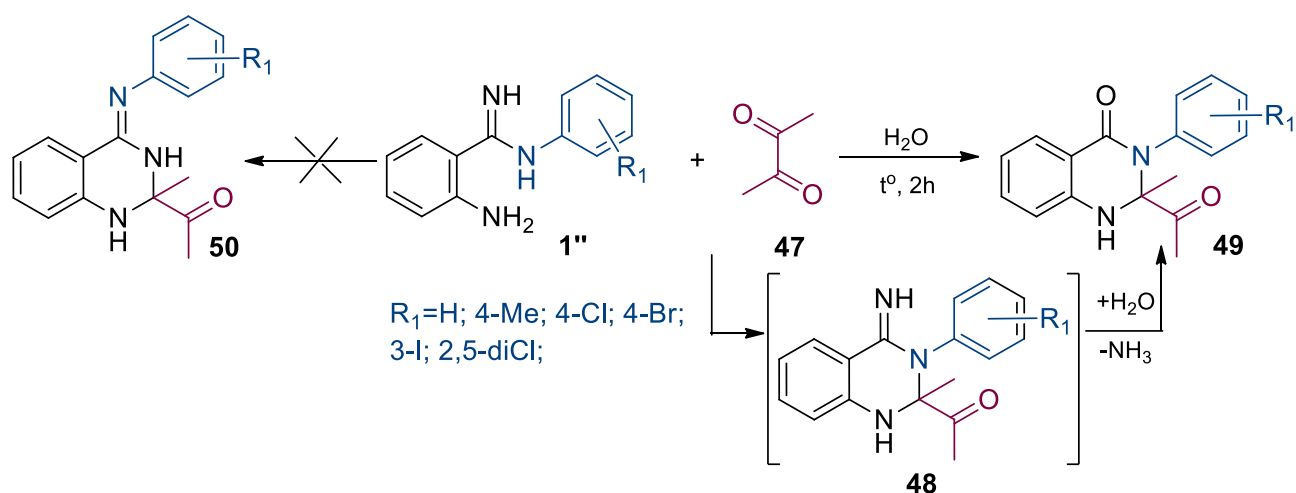


Схема 40. Синтез 2-ацетил-3-арил-2-метил-2,3-дигидрохиназолин-4(1H)-онов

Несмотря на то, что авторами были получены несколько другие продукты, чем предполагалось, получение 3-арилхиназолинов послужило основой для дальнейших исследований данной группы авторов.

1.4. Аминохиназолины и их производные

4-аминохиназолиновое ядро является интересным фармакофором, имеющее большое значение в медицинской химии. 4-аминохиназолиновое ядро в последние несколько лет используется для разработки многих ингибиторов киназ [49].

Реакции циклизации в аминохиназолины являются специфическими и заметно отличающимися от подходов к синтезу самих хиназолинов.

1.4.1. Получение 4-фениламинохиназолинов

Szczepankiewicz с коллегами [50] в 1998 году обнаружили, что 2-амино-*N*-арилбензамидины **1''** при нагревании с 85% муравьиной кислотой могут быть преобразованы в соответствующие 4-ариламинохиназолины **51** с выходами 70-92% (схема 41).

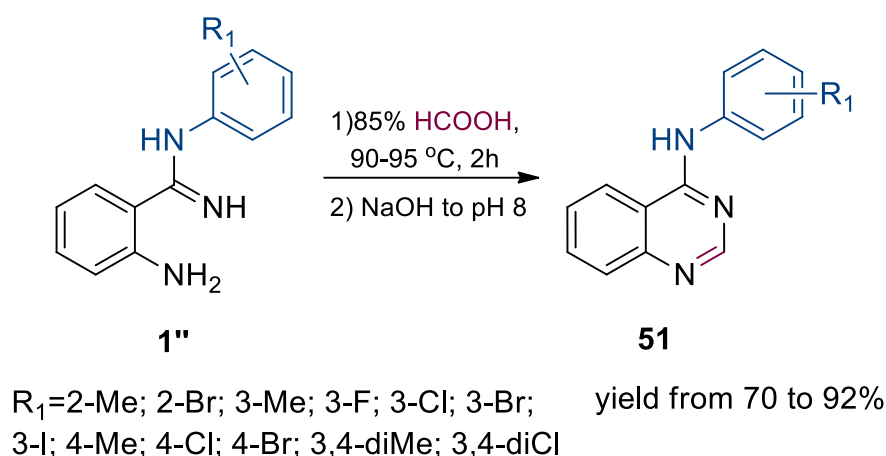


Схема 41. Синтез 4-ариламинохиназолинов **1''** из 2-амино-*N*-арилбензамидинов **51** при нагревании с 85% муравьиной кислотой

Позже авторами было отмечено [51], что с помощью этой реакции можно получить только 2-незамещенные 4-аминохиназолины **1''**. Было сделано предположение, что критической для образования хиназолиновой системы является формильная группа, формально присутствующая в муравьиной кислоте, а не карбоксильная, что может позволить получить замещенные аминохиназолины.

В результате исследователи разработали одnoreакторный синтез 2-арил-4-аминохиназолинов **52**, заключающийся во взаимодействии 2-амино-*N*-арилбензамидинов **1''** с арилальдегидами **12** в среде этанола при кипячении в течение 2,5 часов и дальнейшей заменой растворителя на ацетон для обработки полученного полупродукта перманганатом калия (Схема 42).

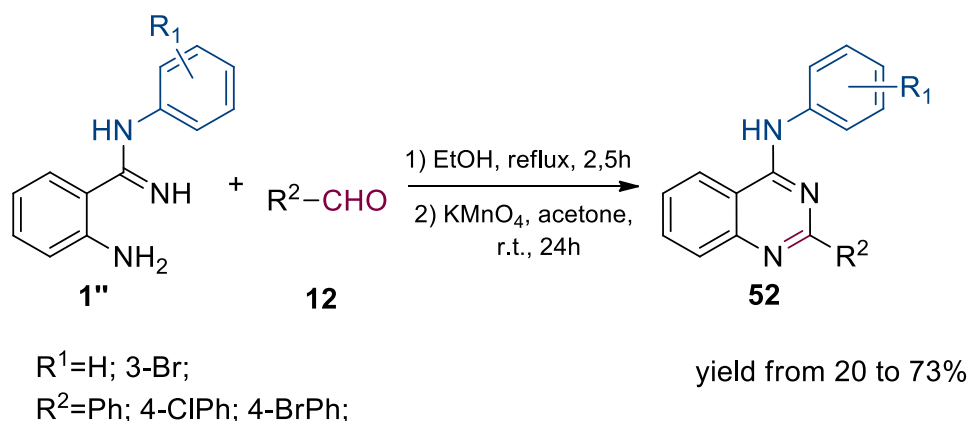
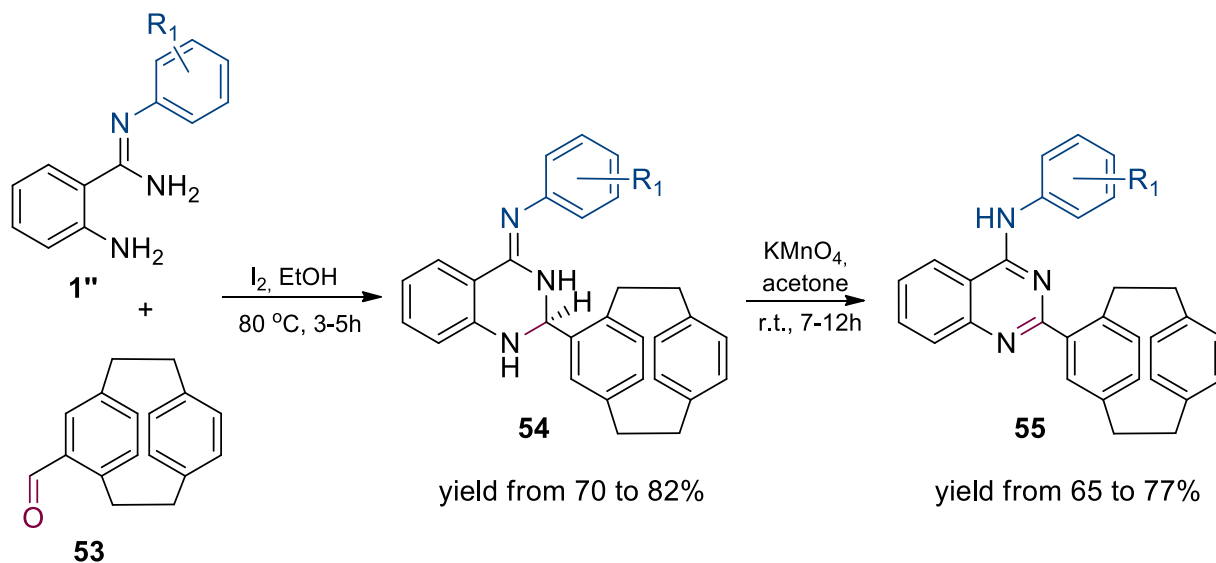


Схема 42. Синтез 2-арил-4-аминохиназолинов **52** из 2-амино-*N*-арилбензамидинов **1''** при нагревании с 85% муравьиной кислотой

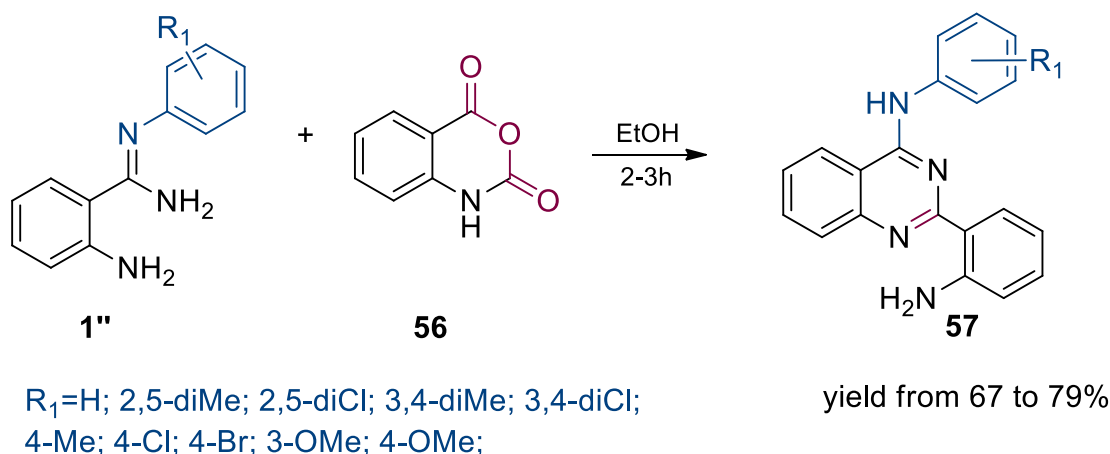
По схожей методике, El-Shaieb в 2009 с соавторами [52] представил способ синтеза аминохиназолинов **55** по реакции аминоарилбензамидина **1''** и 4-формил[2.2]парациклофана **53**, осуществляемую в среде абсолютного этанола в атмосфере азота с добавкой иода при кипячении в течение 3-5 часов (Схема 45). После этого промежуточные продукты 2,3-дигидрохиназолины **54** подвергали окислению перманганатом калия в среде ацетона при температуре окружающей среды до 2-([2.2]парациклофанил)хиназолинов **55**. Выход последних составлял от 65 до 77%.



$R_1 = \text{H}; 4\text{-Me}; 4\text{-Cl}; 4\text{-Br}; 2\text{-I}; 3\text{-Me};$
 $3\text{-OMe}; 4\text{-OMe}; 3\text{-Cl};$

Схема 43. Синтез 2-([2.2]парациклофанил)хиназолинов **55** по реакции 2-амино-*N*-арилбензамидинов **1''** и 4-формил[2.2]парациклофана **54**

Та же группа ученых в 2009 году [53] исследовала реакцию 2-аминоарилбензимидамидов **1''** с изатовым ангидридом **56**. Было получено, что в результате кипячения данных субстратов в абсолютном этаноле в течение 2-3 часов, образуются производные 2-(2-аминофенил)-4-арилхиназолина **57** с выходом 67-79 % (Схема 44). Следует отметить, что данная методология позволила уйти от дополнительной стадии окисления перманганатом калия.



$R_1 = \text{H}; 2,5\text{-diMe}; 2,5\text{-diCl}; 3,4\text{-diMe}; 3,4\text{-diCl};$
 $4\text{-Me}; 4\text{-Cl}; 4\text{-Br}; 3\text{-OMe}; 4\text{-OMe};$

Схема 44. Синтез производных 2-(2-аминофенил)-4-арилхиназолина **57**

Авторы предположили, что реакция конденсации начинается с декарбоксилирования **56** с получением орто-хиноидного промежуточного

соединения **A** (Схема 45). Этот иминокетен впоследствии может быть атакован **43** образованием промежуточного соединения **B**, которые могут циклизоваться до **C** с потерей воды. Два процесса сдвига водорода в конечном итоге приводят к образованию **57**, причем движущая сила в значительной степени обеспечивается реароматизацией.

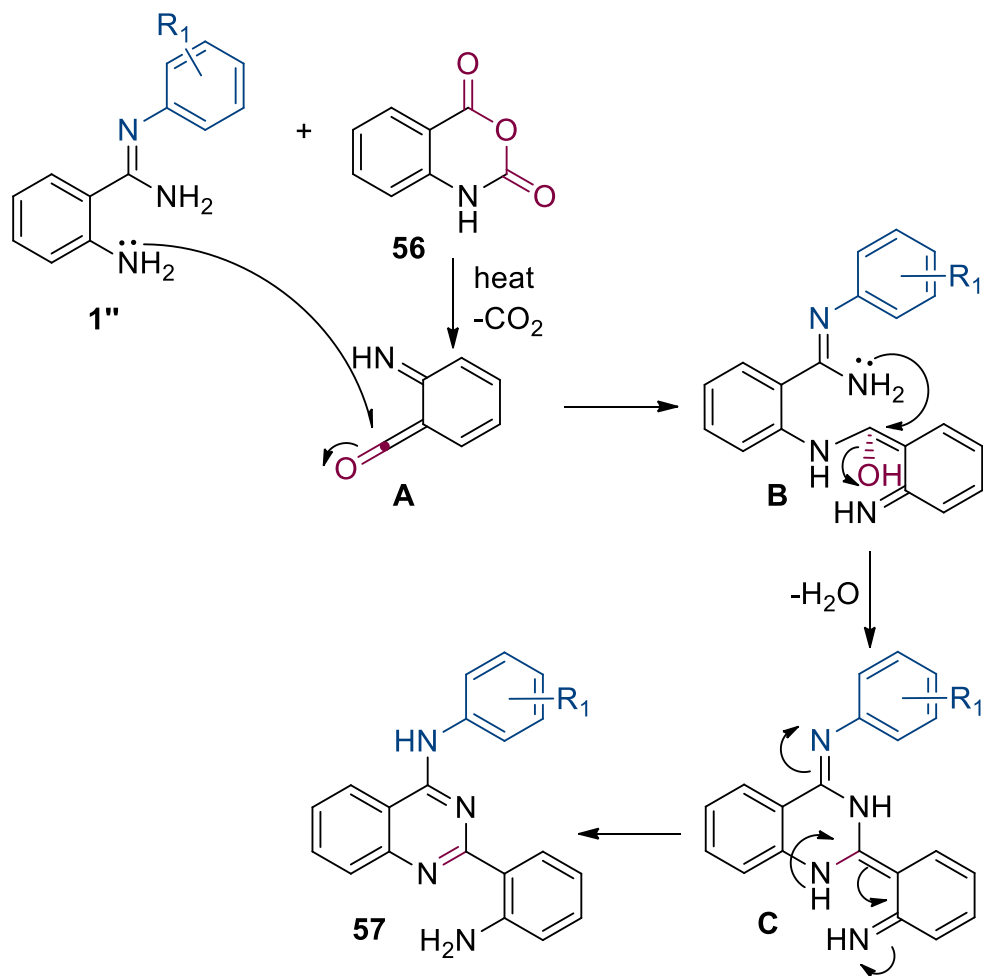


Схема 45. Механизм реакции получения 2-(2-аминофенил)-4-арилхиназолина

57

Аналогично реакции, рассмотренной выше, El-Shaieb К. М. [54] получил новый ряд производных 4-ариламинохиназолин-2-карбоновой кислоты **59** с хорошими выходами (79-87%) по реакции 2-амино-*N*-арилбензимидамов **1''** с различными ангидридами **58** в сухом этаноле при кипячении (Схема 46). Мало того, было исследовано что в данную реакцию могут вступать дифеновый ангидрид, фталевый ангидрид и янтарный ангидрид.

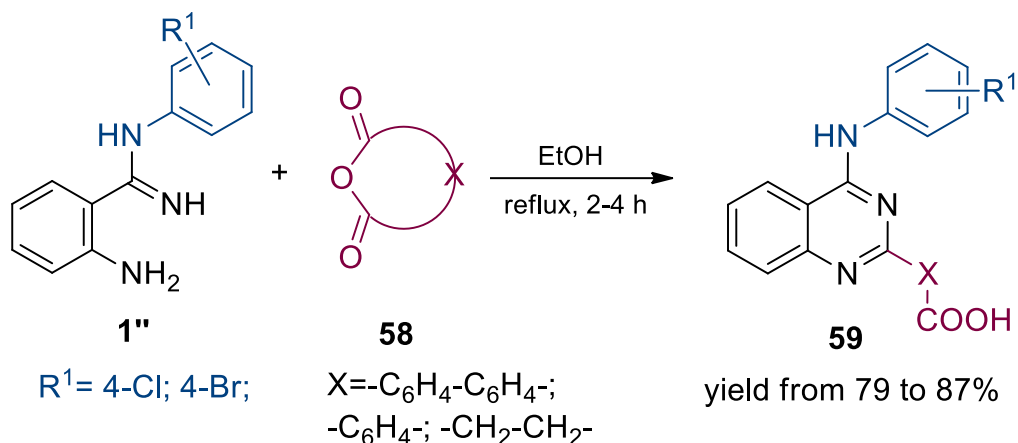


Схема 46. Синтез производных 4-ариламинохиназолин-2-карбоновой кислоты

59

Согласно предложенному механизму, нуклеофильная атака аминогруппы на карбонильную группу приводит к образованию нескольких последовательных интермедиатов, когда в конечном счете в результате внутримолекулярного замыкания кольца, образуется целевая молекула **59**.

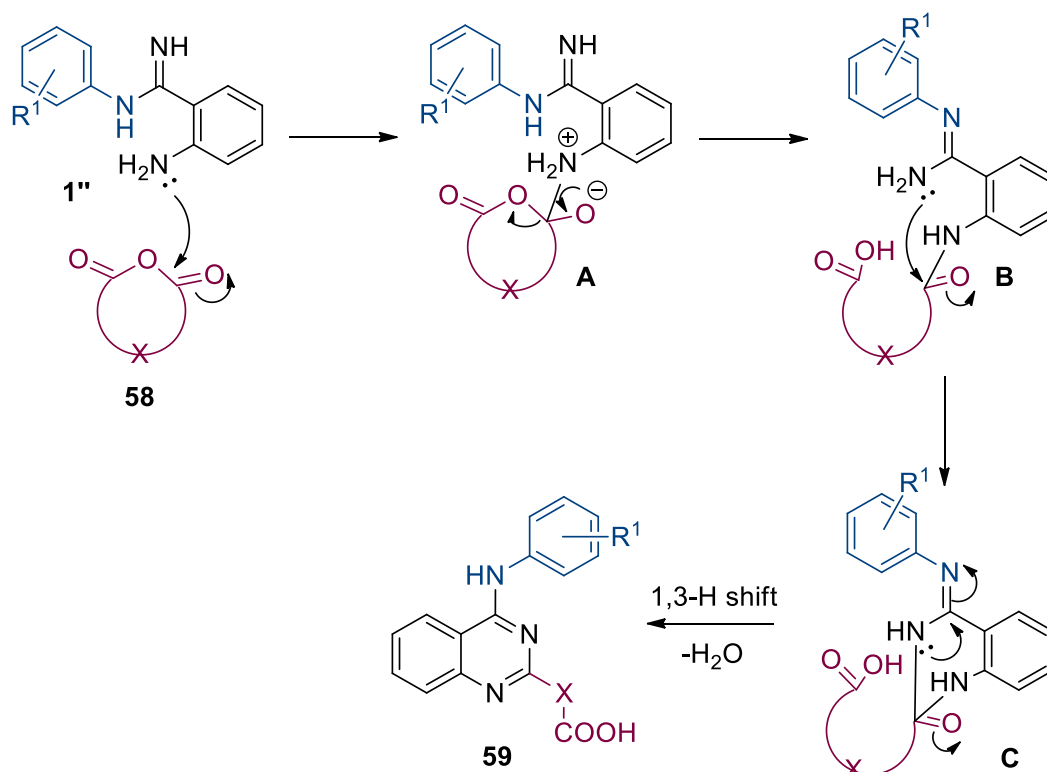


Схема 47. Механизм реакции получения производных 4-ариламинохиназолин-2-карбоновой кислоты **59**

Та же группа исследователей [55] также изучили реакцию 2-амино-*N*-арилбензамидинов **1''** с тетрацианоэтиленом (TCNE) **60**, желая получить производные 4-ариламинохиназолин-2-карбонитрила **61**. Согласно авторам, желаемые продукты удавалось получить при выдержке исходных реагентов в этилацетате при температуре окружающей среды на протяжении 4-6 часов. (Схема 48). Выход продуктов **61** составлял 46-71%.

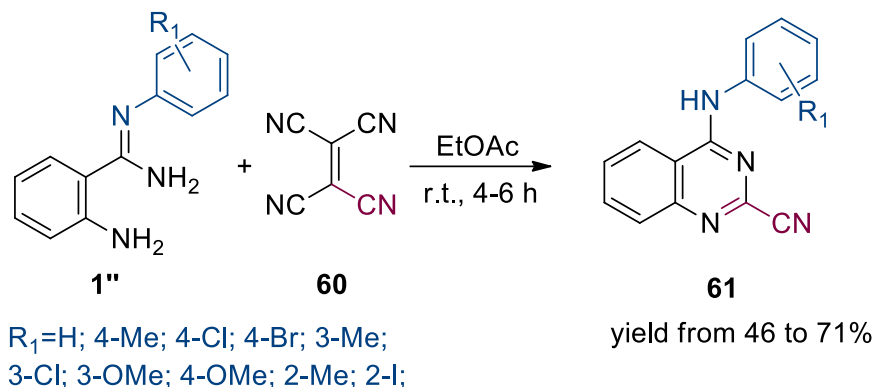


Схема 48. Синтез производных 4-ариламинохиназолин-2-карбонитрила **61**

Предложенный механизм образования соединений **61** представлен на схеме 49. Ароматическая аминогруппа сначала атакует олефиновый атом углерода TCNE с образованием **A**, высвобождая при этом один эквивалент HCN. Впоследствии аминогруппа амидина **1''** атакует тот же олефиновый атом углерода, что приводит к образованию интермедиата **B**, который теряет молекулу малонитрила и перестраивается в продукт **61**.

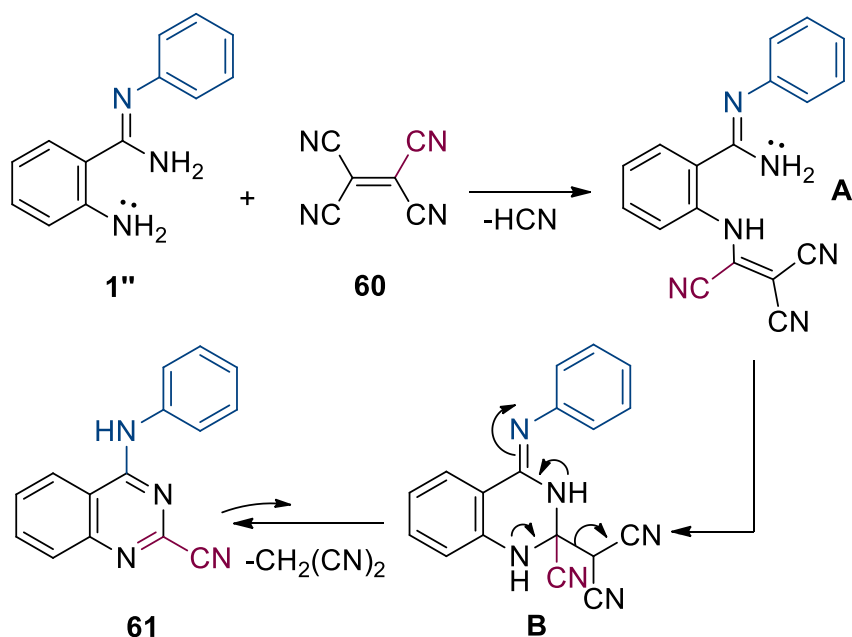


Схема 49. Синтез производных 4-ариламинохиназолин-2-карбонитрила **61**

1.4.2. Получение 4-иминохиназолинов

В следующем году Szczepankiewicz W. с соавторами [56] была выпущена публикация о синтезе 3-арилхиназолин-4(3H)-иминов **63** по реакции 2-амино-N'-арилбензамидинов **1''** с триэтилортоформиатом **62** (Схема 50). Первоначальные попытки провести реакцию амидинов **1''** с триэтилортоформиатом **62** при его температуре кипения (146°C) не увенчались успехом, и были получены сложные смеси продуктов. Однако снижение температуры до 100°C позволило получить 3-арилхиназолин-4(3H)-имины **63** за 2 часа с выходами от 49 до 94% (Схема 50).

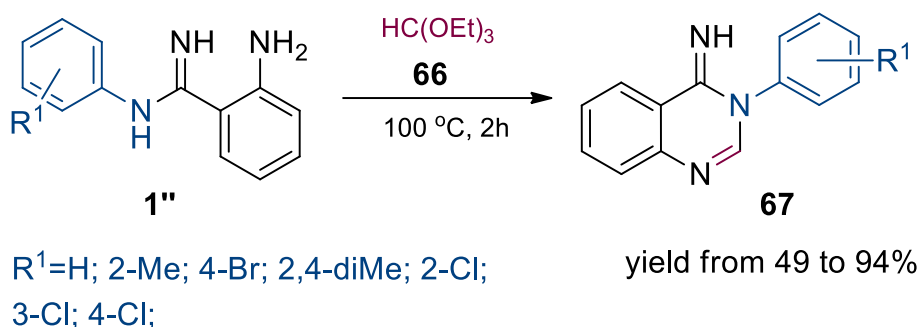
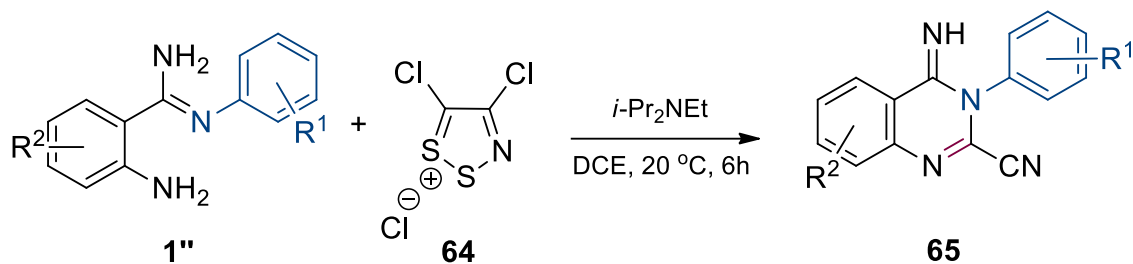


Схема 50. Синтез 3-арилхиназолин-4(3*H*)-иминов **63** по реакции 2-амино-*N'*-арилбензамидинов **1''** с триэтилортоформиатом **62**

Mirallai S. I в 2013 году [57] была разработана методика получения иминохиназолинов реакцией 2-амино-*N'*-фенилбензамидина **1''** с 4,5-дихлор-1,2,3-дифтазолия хлоридом **64** в ДХМ при температуре окружающей среды в течение 4 часов с основным катализом (Схема 51).

При использовании в качестве основания пиридина (2-4 экв.) были получены только следы иминохиназолина **65** в то время, как более основные триалкиламины, такие как Et₃N (2-4 экв.) или основание Хюнига (i-Pr₂NEt) (2-4 экв.), давали выход 55-61 и 72-75%, соответственно. Интересно, что дальнейшее увеличение силы основания за счет использования бициклического амидина DBU (2-3 экв.) приводило к низким выходам продукта **65** (32-36%). С учетом этих данных, авторы провели реакцию хлорида 4,5-дихлор-1,2,3-дифтазолия **64** с различными замещенными 2-амино-*N'*-арилбензамидинами **1''** в присутствии основания Хюнига (2 экв.) и получили иминохиназолины **65**, соответственно.



$R^1 = \text{H}; 4\text{-Me}; 4\text{-OMe}; 4\text{-F}; 4\text{-Cl}; 4\text{-Br}; 3,4\text{-Cl};$
 $R^2 = \text{H}; 4,5\text{-OMe};$

yield from 53 to 81%

Схема 51. Синтез иминохиназолинов **65** по реакции 2-амино-*N'*-фенилбензамидина **1''** с 4,5-дихлор-1,2,3-дитиазолия хлоридом **64**

Для незамещенных бензамидинов ($R = \text{H}$) на выходы влияла природа *N'*-арильной группы; нейтральные или электронодонорные группы Ar (Ar = Ph, 4-Tol и 4-MeOC₆H₄) давали более высокие выходы (74-81%), однако, с электроноакцепторными группами (Ar = 4-FC₆H₄, 4-ClC₆H₄, 4-BrC₆H₄ и 3,4-Cl₂C₆H₄) выходы снижались (57-65%). Реакция также допускала использование диметоксизамещенных бензамидинов, которые давали ожидаемые иминохиназолины **65** с умеренными выходами (53-61%).

Согласно авторам, существует два возможных пути получения иминохиназолинов **65**: соль Аппеля **64** конденсируется с 2-амино-*N'*-арилбензамидином **1''** на первой амино группе с образованием аддукта **A** или, альтернативно, происходит конденсация на второй амино группе, что дает аддукт **B**. Затем они могут подвергаться внутримолекулярной циклизации через общий спироциклический интермедиат **C**, который затем расщепляется с образованием иминохиназолина **65** (Схема 52).

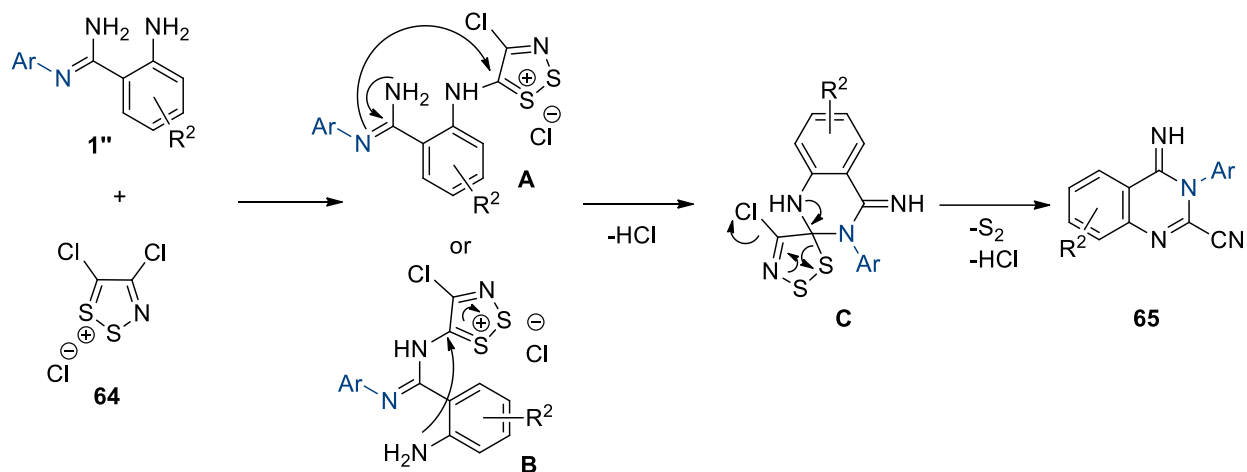


Схема 52. Механизм реакции получения иминохиназолинов **65**

1.4.3. Получение аминохиназолинов окислительной циклизацией

В 2011 году Van Baelen G. совместно с командой [58] поставили перед собой задачу исследовать потенциал внедрения Pd-катализируемого изоцианида в синтез 4-аминохиназолинов, используя реакцию между амидином **1** ($R^1=H$, $R^2=Ph$) и трет-бутилизоцианидом **66** в качестве модели (Схема 53).

Авторами было получено, что использование $[Pd(dba)_2]$ (5 мол.%; dba=дибензилиденацетон), XPhos (10 мол.%; XPhos=2-дициклогексилфосфино-2',5',6'-триизопропилбифенил), изоцианида (1,5 экв.) и KOAc (3,0 экв.) приводили к полной конверсии исходного амидинового материала и, кроме того, давали желаемый 4-аминохиназолин **67** с выходом 95% [59]. Тем не менее, авторы решили дополнительно оптимизировать эту модельную реакцию с точки зрения загрузки катализатора, лиганда, растворителя и температуры для достижения оптимальной процедуры.

Исследователи остановились на системе, содержащей $Pd(OAc)_2$ (3 мол. %) и ДХФБ (6 мол. %) в качестве каталитической системы, KOAc (1,5 экв.) в качестве основания и ДМФА в качестве растворителя.

Оптимизированные условия привели к столь же высокому изолированному выходу (89%), как и исходные условия, но нельзя не отметить их преимущество, заключающиеся в простоте обращения с Pd^{II} по сравнению с

источниками Pd⁰ и более низкую стоимость DCPB по сравнению с XPhos. Изменения растворителя, температуры, количества и типа основания не привели к дальнейшему повышению выхода выделенного.

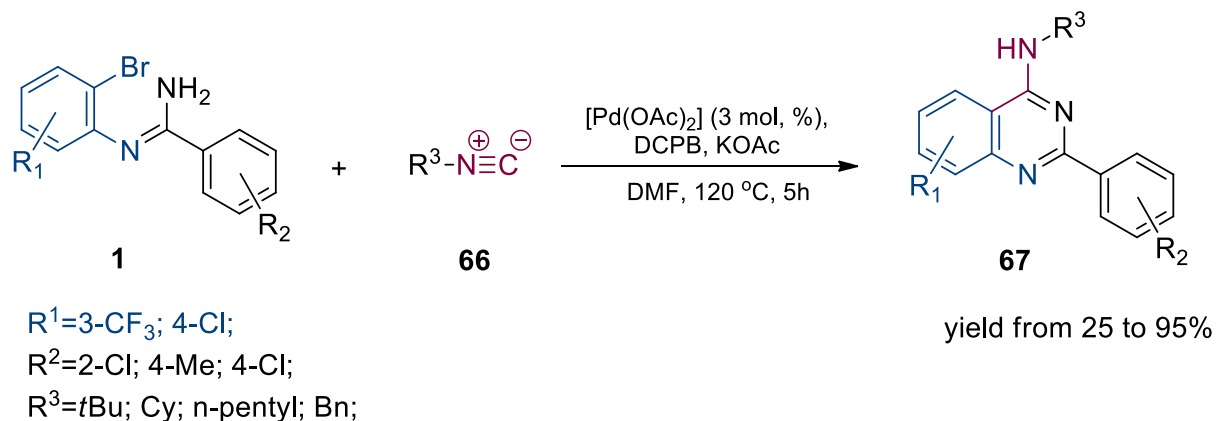


Схема 53. Синтез 4-аминохиназолинов **67** по реакции между амидином **1** (R¹=H, R²=Ph) и замещенными изоцианидами **66**

Разработанные условия оказались оптимальными не для всех амидинов **1** и изоцианидов **66**, целевые 4-аминохиназолины **67** иногда выделялись с низкими выходами.

Однако простое увеличение загрузки катализатора до 5 мол.% Pd привело к значительному повышению выхода многих амидиновых исходных материалов.

В рассмотрении механизма реакции, авторами была представлена схема 56. Сначала палладий окислительно встраивается в CBr связь в **67**, а затем координируется с амидиновой частью. В качестве альтернативы может иметь место направленное окислительное присоединение, включающее предварительную координацию амидина **1**.

Затем изоцианид **66** встраивается в комплекс окислительного присоединения с образованием **A**. Последующее депротонирование амидина приводит к семичленному палладациклу **B**, который затем претерпевает восстановительное отщепление с образованием **C** и его последующей таутомеризацией/ароматизацией дает желаемый 4-аминохиназолин **67**.

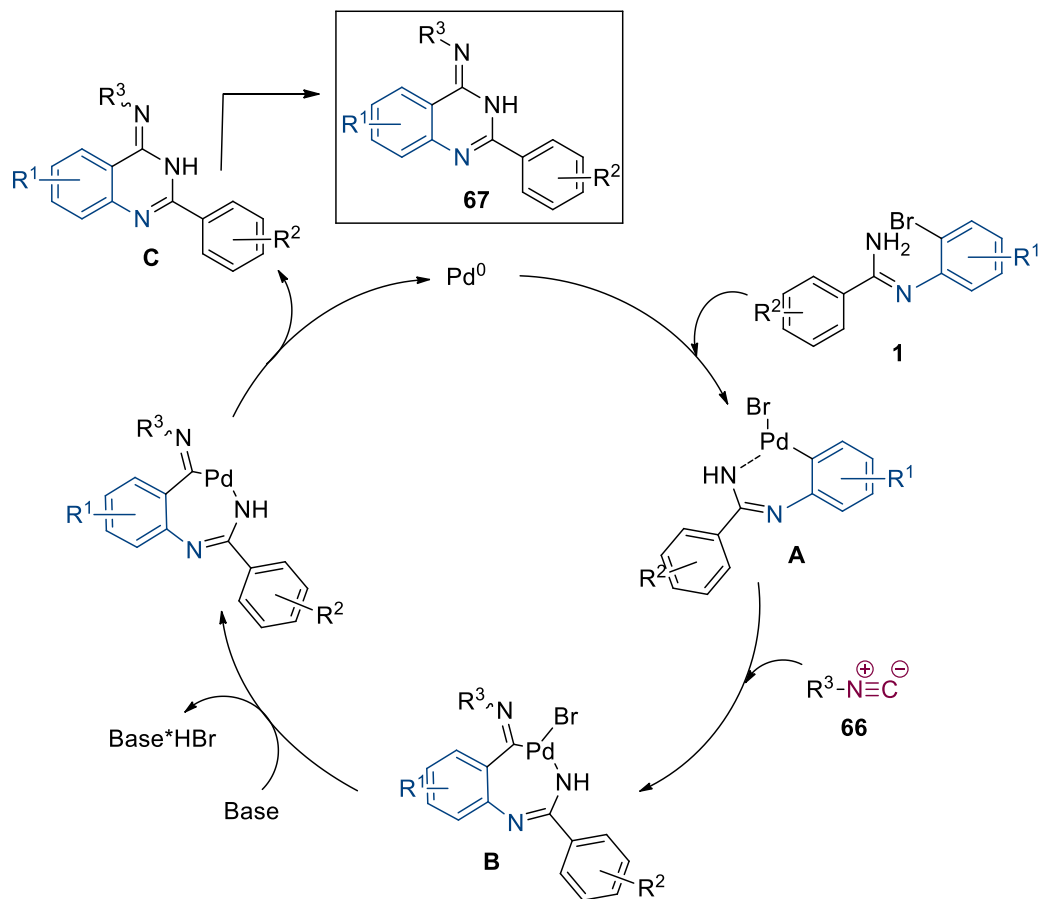


Схема 54. Механизм реакции образования 4-аминохиназолинов **67**

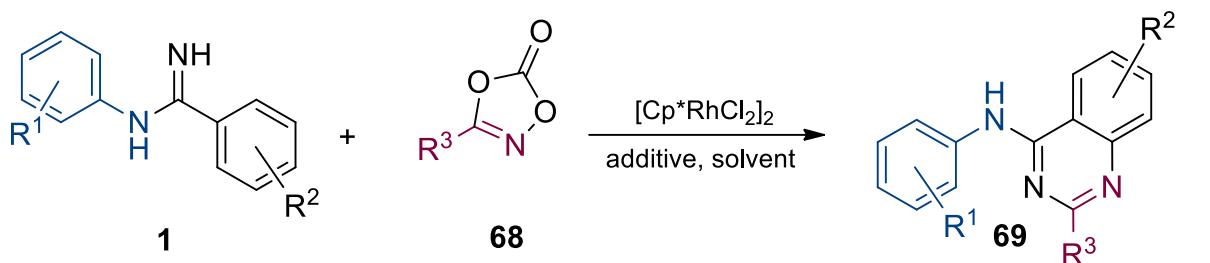
Ren J. с коллегами [60] в 2021 году сообщил о новой процедуре получения производных 4-аминохиназолина **73** с использованием *N*-арилбензамидинов **1** и 3-фенил-1,4,2-диоксазол-5-онов **68** с катализом родием в присутствии AgOTf , $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ и $\text{MS } 4^\circ\text{A}$ в среде 1,2-дихлорэтана (Схема 55).

Несомненными достоинствами этой реакции стала превосходная региоселективность, экономичность и широкий спектр возможных субстратов.

Результаты оценки субстратной устойчивости в оптимизированных условиях продемонстрировали, что стерические затруднения *N*-фенильного кольца имеют пренебрежимо малое значение на реакционную способность. *N*-арилбензамидины **1**, как с электронодонорными (Me , OMe , Et , $i\text{Pr}$ и $t\text{Bu}$), так и с электроноакцепторными (F , Cl , Br) заместителями в пара-, орто- или мета-положениях *N*-фенильного кольца (R^1), кроме нитрозамещенного, давали целевые продукты с выходами 53-78%.

Кроме того, было обнаружено, что дизамещенные *N*-арилбензамидины **1** были хорошими субстратами для этой реакции (выход 74-76%). Кроме того, *N*-арилбензамидины с замещением в пара- и мета-положении *C*-фенильного кольца (R^2), кроме орто-Cl и орто-Me, были превращены в желаемые продукты **69** с выходом 62-78%.

В рассмотрении применимости диоксазолонов **68**, различные пара-, мета-, орто- и полизамещенные 1,4,2-диоксазол-5-оны могут реагировать с *N*-фенилбензамидинами **1** с хорошими выходами продуктов реакции. Кроме того, было установлено, что субстраты с адамантином, нафталином, бифенилом, тиофеном и бензотиофен так же хорошо работали в данных условиях.



$R^1 = \text{H}; 4\text{-F}; 4\text{-Cl}; 4\text{-Br}; 4\text{-Et}; 4\text{-Me}; 4\text{-}i\text{Pr}; 4\text{-}i\text{Bu};$
 $4\text{-OMe}; 3\text{-OMe}; 3\text{-Me}; 3\text{-Cl}; 3\text{-F}; 2\text{-Me}; 2\text{-F};$
 $2,4\text{-diMe}; 3,5\text{-diMe}; 4\text{-Bn};$
 $R^2 = \text{H}; 4\text{-Me}; 4\text{-F}; 4\text{-OMe}; 3\text{-Cl}; 2\text{-Cl}; 2\text{-Me};$
 $R^3 = \text{Ph}; 3\text{-MePh}; 3\text{-BrPh}; 2\text{-FPh}; 3\text{-ClPh}; 3,5\text{-diMePh};$
 $\text{Ph-Ph}; 2\text{-naphthyl}; 2\text{-thienyl}; \text{adamantyl}; 2\text{-benzothienyl}$

yield from trace to 82%

Схема 55. Синтез производных 4-аминохиназолина **69**

Механизм реакции [4+2]-циклоприсоединения был предложен на схеме 56. Первоначально лигандный обмен $[\text{Cp}^*\text{RhCl}_2]_2$ в присутствии OTf и OAc- дает активный комплекс $[\text{Cp}^*\text{RhX}_2]$ ($\text{X} = \text{OTf}^-, \text{OAc}^-$). Обратимый разрыв связи C-H с *N*-фенилбензамидином **1** давал пятичленный циклородиевый промежуточный продукт **A**.

Далее координация 3-фенил-1,4,2-диоксазол-5-она **72** с промежуточным соединением **A** дает промежуточное соединение **B**, которое претерпевает миграционную вставку с образованием промежуточного соединения **C** путем удаления CO_2 . Наконец, протонирование **C** регенерирует активный комплекс

$[\text{Cp}^*\text{RhX}_2]$ для следующего каталитического цикла и одновременно приводит к амидированному продукту **D**, который подвергается внутримолекулярному нуклеофильному присоединению с образованием желаемого продукта **69**.

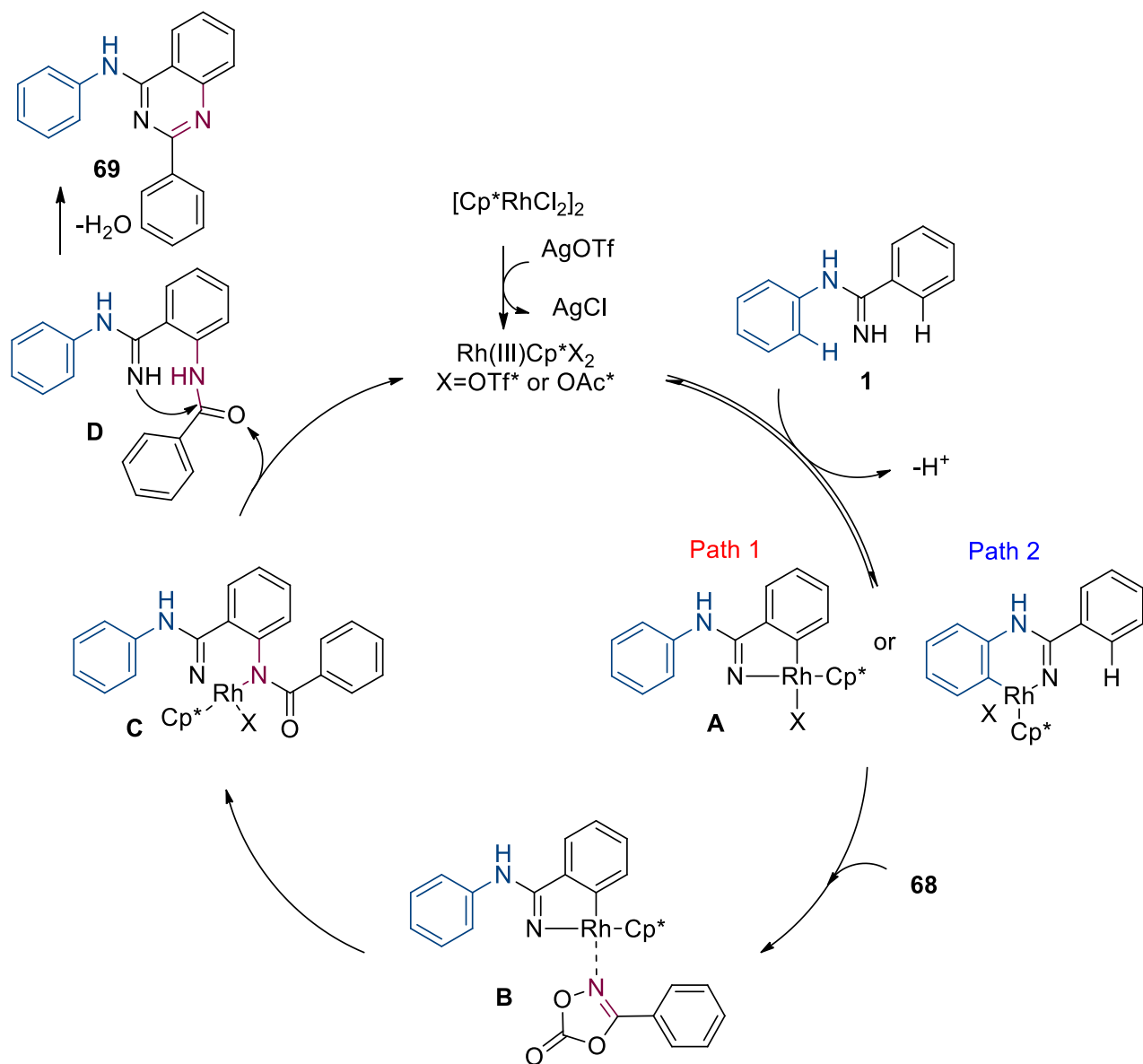


Схема 56. Механизм реакции получения производных 4-аминохиназолина **69**

1.5. Азагетероциклы с тремя гетероатомами

1.5.1. Триазолы

Производные 1,2,4-триазола играют ключевую роль в медицинской химии, в частности, есть обзоры о противоопухолевой и противовирусной активностях [61-63].

В своей публикации Zhang L. с соавторами [64] 2016 года сообщил о возможности синтеза 1,3,5-тризамещенных 1H-1,2,4-триазолов из легкодоступных N-фенилбензамидинов **1** и арилнитрилов **70** (Схема 57).

Авторы проводили свои исследования с реакции N-фенилбензамидина **1** и бензонитрила **74** в качестве модельных субстратов. Реакцию проводили с использованием комбинации CuI (10 мол.%), ZnI₂ (10 мол.%) и фенантролина (Phen) (10 мол.%) в дихлорбензоле (ДХБ) при температуре 130 °С в атмосфере воздуха в течение 24 часов; целевой продукт **71** был получен с выходом 36%. Было отмечено, что выход уменьшается, когда реакцию проводят при более высокой или более низкой температуре. Было установлено, что реакция с тем же успехом протекает в хлорбензоле, при этом, учитывая упрощение обработки реакционной массы, именно хлорбензол был выбран, как наиболее подходящий.

Исследование различных медных катализаторов, в том числе Cu(OAc)₂, Cu(OTf)₂, CuBr и CuCl, показало, что CuI является наиболее оптимальным. Среди испытанных добавок кислоты Льюиса (ZnI₂, BF₃, FeCl₃), ZnI₂ давал лучший результат.

Выход **71** был дополнительно повышен до 74% с увеличением времени реакции на 36 часов.

Авторы отмечали, что реакция легко протекает с N-фенилбензамидинами **1**, как с электронодонорными, так и с электроноакцепторными заместителями.

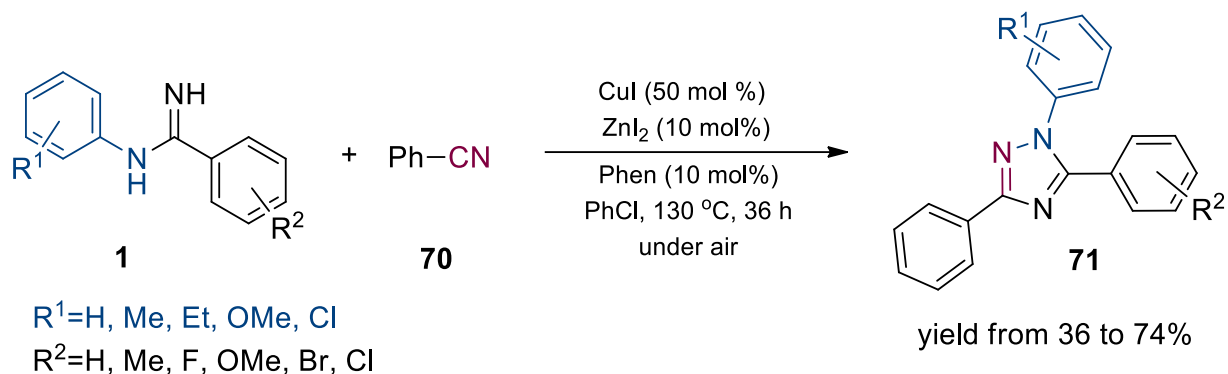


Схема 57. Синтез 1,2,4-Триазолов **71** по реакции *N*-фенилбензамидинов **1** и арилнитрилов **70**

Авторами был описан подробный механизм реакции (Схема 58). Согласно авторам, процесс начинается с активации *N*-фенилбензамидина **1** под действием Cu^{I} с образованием интермедиата **A**. Затем путем таутомеризации образуется **B**. Одновременно, бензонитрил **70** координируется с Cu^{I} с образованием **A'**, затем **B'**. Затем **B'** соединяется с **B** с образованием интермедиата **C**. Нуклеофильная атака нитрила амидином приводит к образованию промежуточного соединения **D**, затем к аддукту **E**. Восстановительное элиминирование **E** дает конечный циклический продукт **71**. Далее Cu^0 окисляется до Cu^{I} для завершения каталитического цикла.

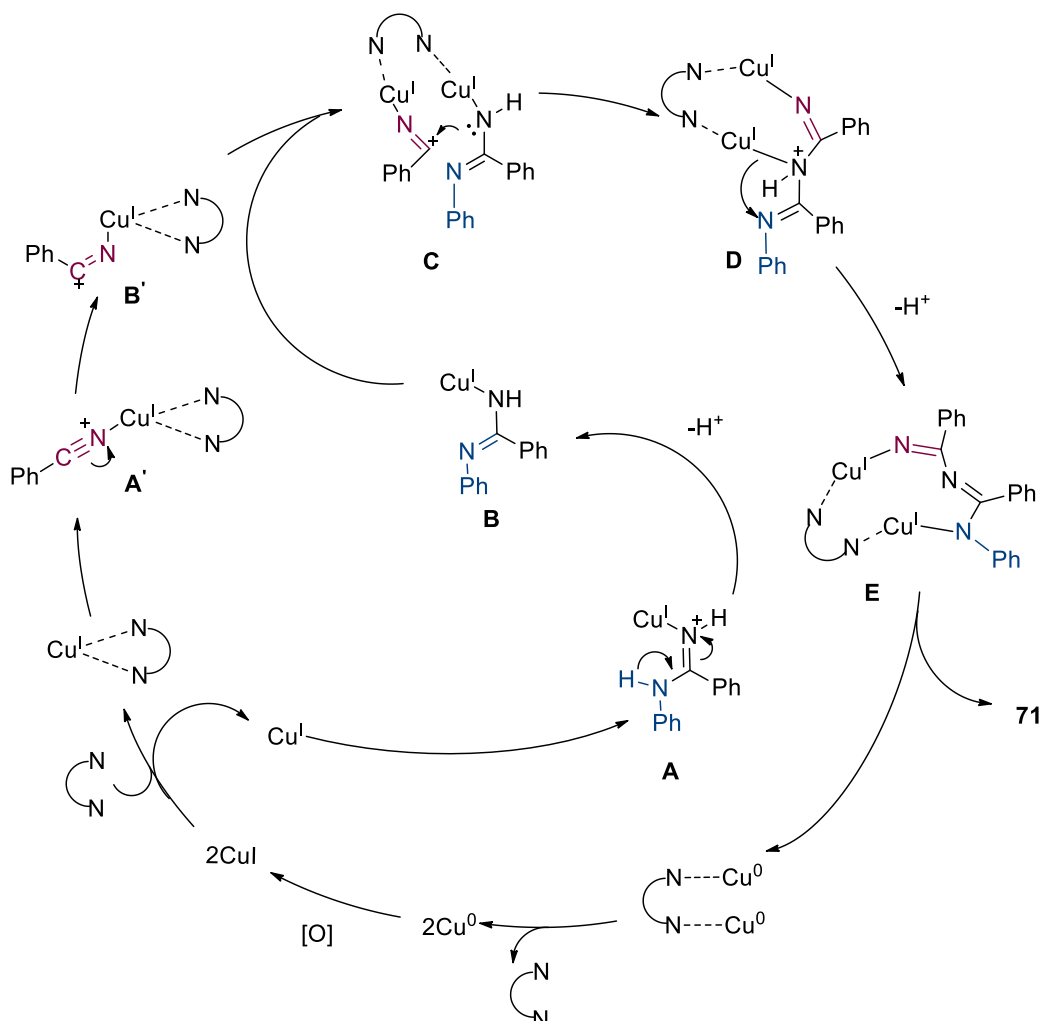


Схема 58. Механизм реакции получения 1,2,4-триазолов **71**

1.5.2. Триазины

Полифункциональный дигидро-1,3,5-триазины являются важнейшими азотсодержащими гетероциклами из-за проявления различной биологической активности, такой как антибактериальная, противомаларийные, противоопухолевые и противовоспалительные свойства [65].

Meng, X. с соавторами [66] в своей публикации 2017 года предложили получение дигидро-1,3,5-триазина из спиртов **44** и *N*-ариламидинов **1** (Схема 59). Авторами был проведен скрининг для оптимизации условия реакции при взаимодействии бензилового спирта **44** и *N*-ариламидина **1**. Первоначально реакции проводились в толуоле на воздухе при температуре 90 °С, однако,

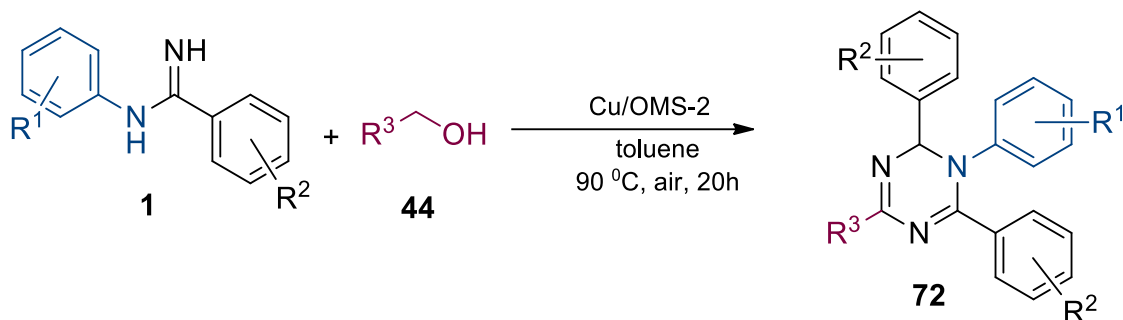
реакция не протекала без катализатора или только в присутствии octahedral manganese oxide molecular sieve (OMS-2).

Каталитические количества коммерческого CuO и наноразмерного CuO не могли катализировать реакцию и в стандартных условиях. Точно так же смесь CuO и OMS-2 не проявляла какую-либо каталитическую активность в реакции. Однако добавление Cu/OMS-2 (Cu: 0,25 мол.%) привело к желаемому продукту 1,2-дигидро-1,3,5-триазину **72** с выходом 91%.

Было сделано предположение, что OMS-2 усиливала окислительную способность нанесенной меди Cu в реакции окисления бензилового спирта, после чего повышалась способность к нуклеофильной атаке амидина на карбонильную группу.

Авторами была проверена субстратная устойчивость реакции. Было отмечено, что бензиловый спирт **44**, как с электроноакцепторными, так и электронодонорными заместителями очень хорошо и селективно реагируют с *N*-фенилбензамидином **1**. Однако авторы отметили, что стерический эффект мета заместителей бензилового спирта значительно влиял на реакцию. Бензиловый спирт с заместителем -NO₂ также был совместим с условиями реакции, хотя целевой продукт был выделен с низким выходом 37%.

Авторы исследовали субстратную устойчивость *N*-фенилбензамидинов **1**. В оптимальных условиях реакции многие *N*-фенилбензамидины **1** с разными заместителями гладко реагировали с бензиловыми спиртами. В частности, *N*-фенилбензамидины **1** с электронодонорными заместителями давали несколько более высокие выходы продуктов, чем с электроноакцепторными.



$\text{R}^1 = \text{H}; \text{OEt};$
 $\text{R}^2 = \text{H}; 4\text{-Cl}; 4\text{-Me}; 3\text{-Me};$
 $\text{R}^3 = 4\text{-MePh}; 4\text{-CF}_3\text{SPh}; 3,4\text{-diMe}; 3,4\text{-diCl};$
 $4\text{-Et}; 4\text{-NO}_2; 2\text{-pyridinyl}; 2\text{-tienyl};$
 $\text{Et}; \text{Pr}; 2\text{-naphthyl}$

yield from 37 to 95%

Схема 59. Синтез триазинов **72** по реакции *N*-ариламидинов **1** со спиртами **44**

После ряда проведенных экспериментов, авторы сделали заключение, что первоначально бензиловый спирт **44** окисляется *in situ* Cu/OMS-2 до бензальдегида **12** посредством многостадийного окисления с использованием O₂ в качестве конечного окислителя (Схема 62). Затем образуется иминный интермедиат **A** между бензальдегидом и *N*-ариламидином при катализе Cu/OMS-2 с отщеплением H₂O. Предполагается, что другая молекула *N*-ариламидина **1**, обладающая более сильной нуклеофильностью, с помощью OMS-2, атакует иминовый промежуточный продукт **A** посредством межмолекулярного нуклеофильного присоединения аминогруппы с образованием промежуточного продукта **B** после переноса протона. Затем быстро происходит внутримолекулярное нуклеофильное присоединение аминогруппы к **B** с образованием промежуточного соединения **C**. Симметричный дигидротриазин **D** образуется после отщепления анилина. В конце концов, желаемый продукт 1,2-дигидро-1,3,5-триазин **72** получается после таутомеризации **D**.

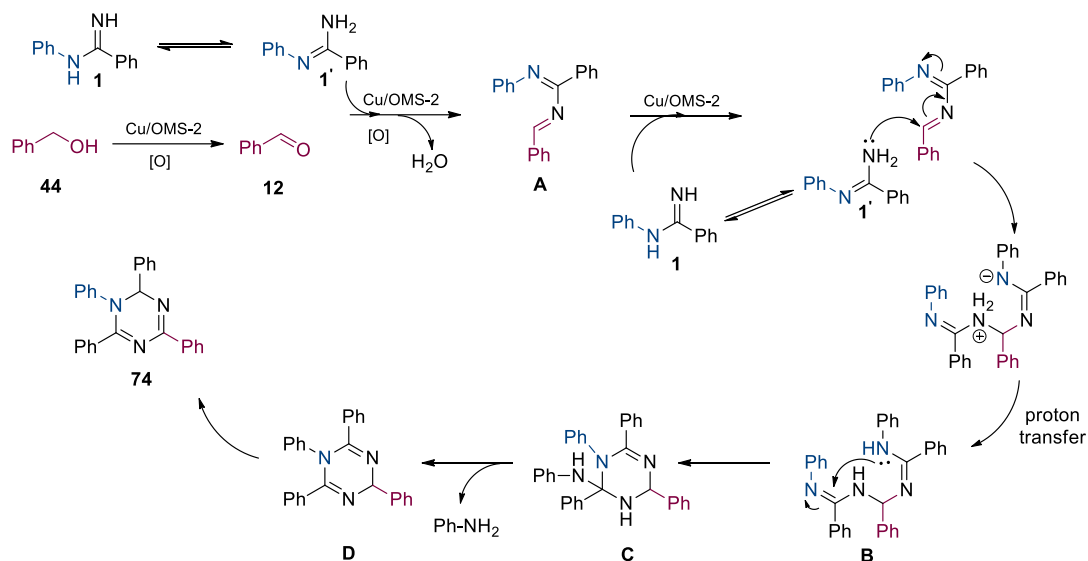


Схема 60. Механизм реакции получения 1,2-дигидро-1,3,5-триазинов **72**

Согласно представленному литературному обзору, всего за 2 последних десятилетия было исследовано большое количество способов гетероциклизации *C,N*-диарилформаминов. При этом *C,N*-диарилформамины выступают типичными нуклеофильными реагентами с электрофилами. Так как целью нашей работы является получение производных сукцинимида, фталимида и глутаримида, то важным аспектом является изучение реакций с такими электрофилами, как ангидриды дикарбоновых кислот, информация о которых отсутствует в научной литературе. На данный момент известны только реакции амина замещенных *C,N*-диарилформаминов с получением аминохиназолинов (Схема 47), поэтому изучение реакции нефункционизированных *C,N*-диарилформаминов с ангидридами дикарбоновых кислот является актуальным направлением.

2. Синтез и строение новых *N*-замещенных производных циклических имидов: сукцинимидов, фталимидов и глутаримидов

2.1. Изучение реакции получения новых *N*-замещенных производных сукцинимида

Замещенные сукцинимиды (пирролидин-2,5-дионы) являются важными соединениями в медицинской химии [67-74]. Благодаря наличию амидной

группы они показали превосходную активность *in vivo*, поскольку легко проникают через биологическую мембрану [75].

Из литературы известно несколько подходов к синтезу *N*-замещенных производных пирролидин-2,5-диона [76-78].

Исходя из возможных ретросинтетических схем получения пирролидин-2,5-дионов, при использовании в качестве исходного субстрата – *C,N*-диарилформамидина, было сделано заключение, что наиболее оптимальной методологией является реакция *C,N*-диарилформамидина с ангидридом янтарной кислоты.

Первоначально производные сукцинимида были получены нами реакцией *C,N*-диарилформамидинов **1a-c**, **1h**, **1j** с янтарным ангидридом **2** в среде абсолютного хлороформа в течение 4-6 часов при температуре 20 ± 2 °C [79-80].

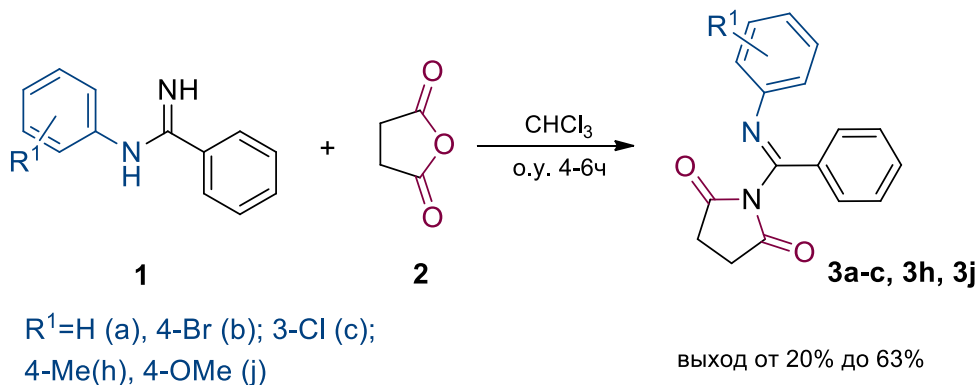


Схема 61. Синтез производных сукцинимида **3a-c**, **3h**, **3j**

Однако было установлено, что в данных условиях продукты с акцепторными заместителями (**3b**, **3c**) получают с выходом всего 20%. При увеличении времени процесса до 20 часов, выход целевого продукта повышался незначительно. Кроме того, было синтезировано всего 5 новых производных, исходя из чего не представляется возможным сделать выводы об устойчивости реакции при варьировании субстратов.

В этой связи было решено установить оптимальные условия протекания реакции, а также расширить ряд производных пирролидин-2,5-диона.

В качестве модельной реакции для оптимизации условий синтеза было выбрано взаимодействие *N*-фенилбензамидина **1a** с янтарным ангидридом **2**. Анализ проводили методом ВЭЖХ при 254 нм.

Было установлено, что при избытке янтарного ангидрида 1,2-моль.экв. по отношению к амидину [79-80], через 4 часа наблюдается только 58 % доли целевой молекулы, затем скорость реакции заметно снижается и через 20 часов можно видеть 72% (определение по методу внутренней нормализации). Пример хроматограммы анализа представлен на рисунке 2.

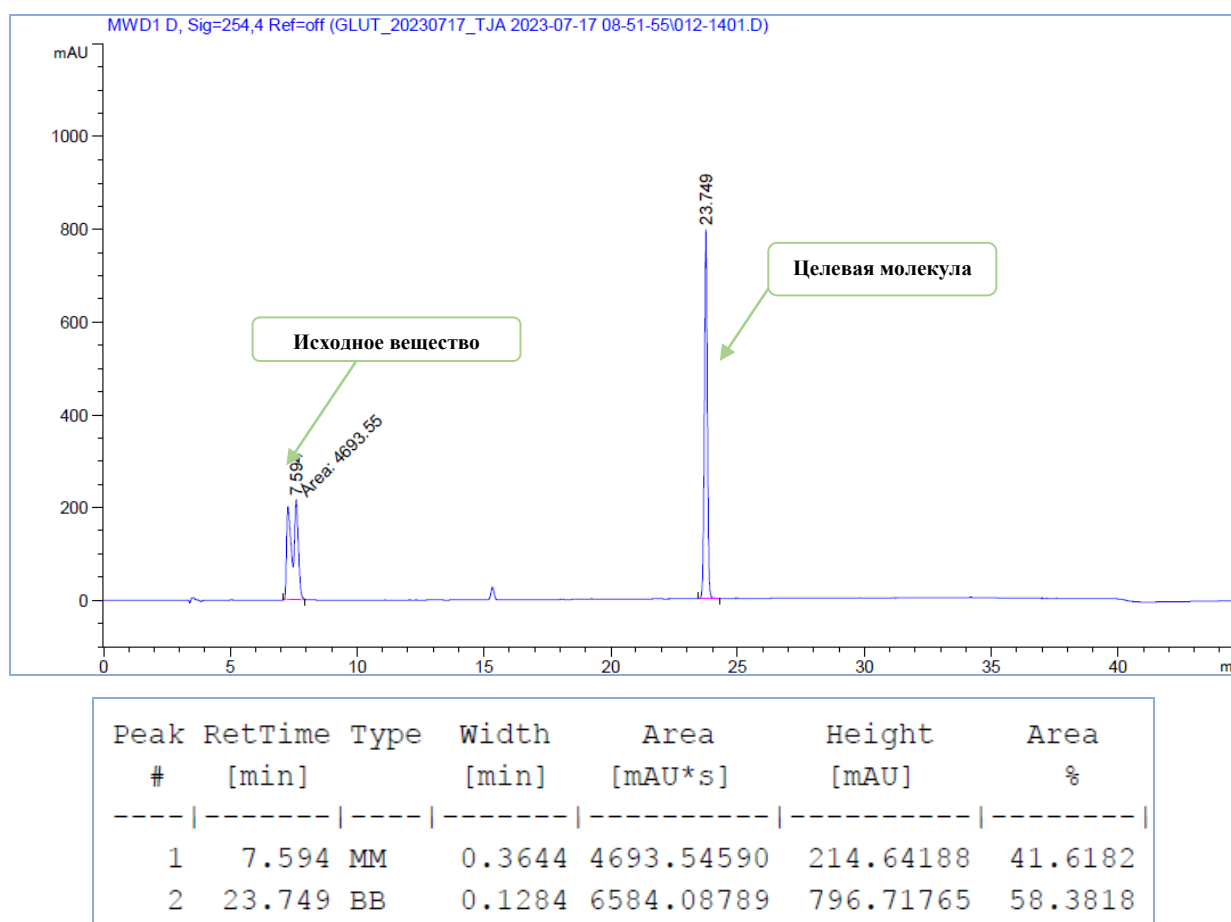
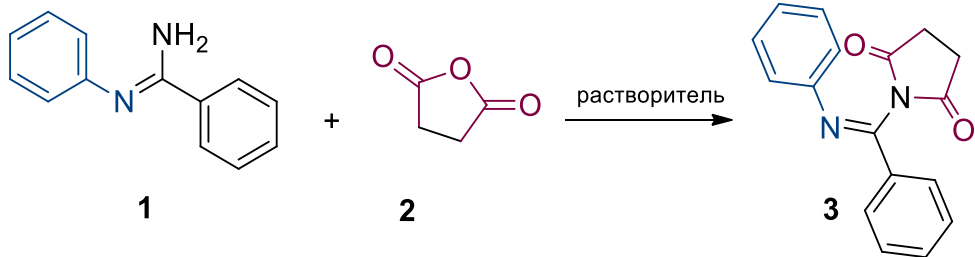


Рисунок 2. Реакция *N*-фенилбензамидина **1a** с янтарным ангидридом **2** (1:1,2 моль-экв.) в хлороформе в течение 4 часов.

В результате дальнейшего скрининга было установлено, что наиболее подходящим растворителем является толуол, выход в данном растворителе составил 76%, время протекания реакции - 2 часа. Избыток янтарного ангидрида 2,0 моль-экв. позволяет получить желаемый продукт с выходом 88% (таблица 1). Стоит отметить, что оптимальным условием образования *N*-

замещенных производных сукцинимида является применение неполярных растворителей, в то время как использование полярных протонных растворителей не приводит к образованию *N*-замещенных производных сукцинимида [79-83].

Таблица 1^[a] – Влияние природы растворителя и соотношения реагентов на протекание реакции получения (Z)-1-(фенил[фенилимино]метил)пирролидин-2,5-диона **3a**



Растворитель	Температура, °С	Время реакции, ч	Выход, %
Ацетонитрил	20	4	47
Ацетонитрил	80	24	58
Этилацетат	20	24	29
Этилацетат	77	4	30
Тetraгидрофуран	20	24	50
Тetraгидрофуран	66	4	57
Диоксан	20	4	68
Диоксан	101	2	75
Толуол	20	4	26
Толуол	110	2	76
Толуол ^b	110	2	80
Толуол ^c	110	2	88

^a0,5 г (2,6ммоль) *N*-фенилбензамидина, 30 мл растворителя, избыток янтарного ангидрида 1,2 моль-экв.; ^b0,5 г (2,6ммоль) *N*-фенилбензамидина, 30 мл растворителя, избыток янтарного ангидрида 1,5 моль-экв.; ^c0,5 г (2,6ммоль) *N*-фенилбензамидина, 30 мл растворителя, избыток янтарного ангидрида 2,0 моль-экв.;

Для уточнения времени протекания реакции был проведен мониторинг синтеза методом ВЭЖХ (Рисунок 3).

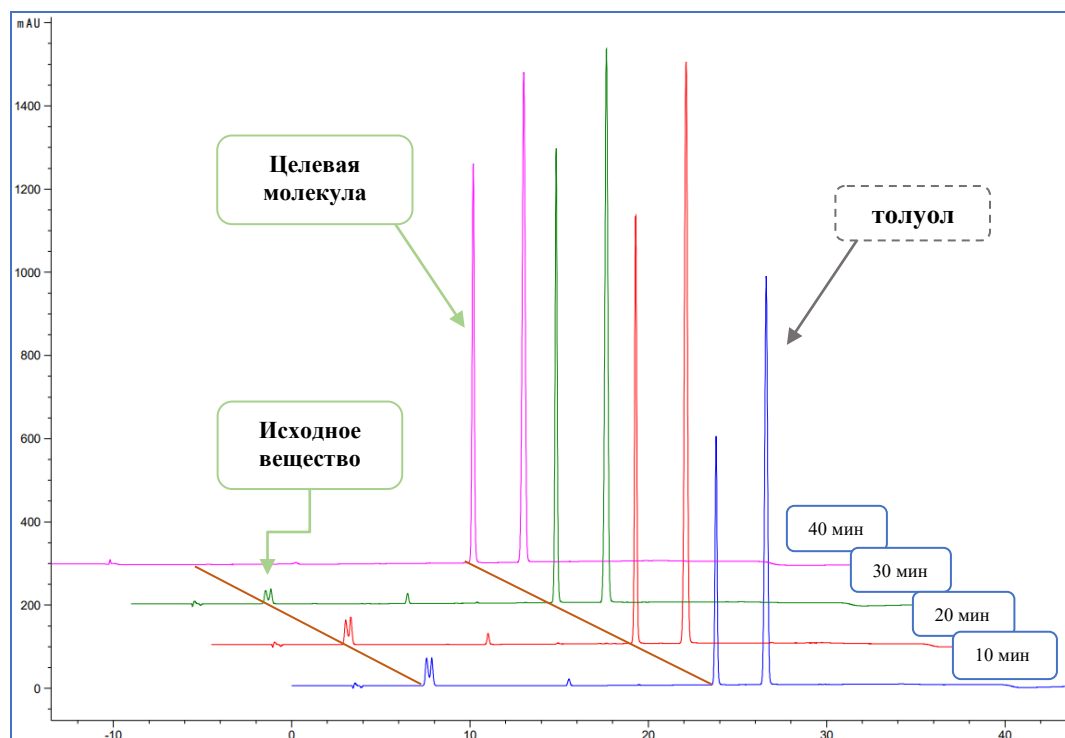
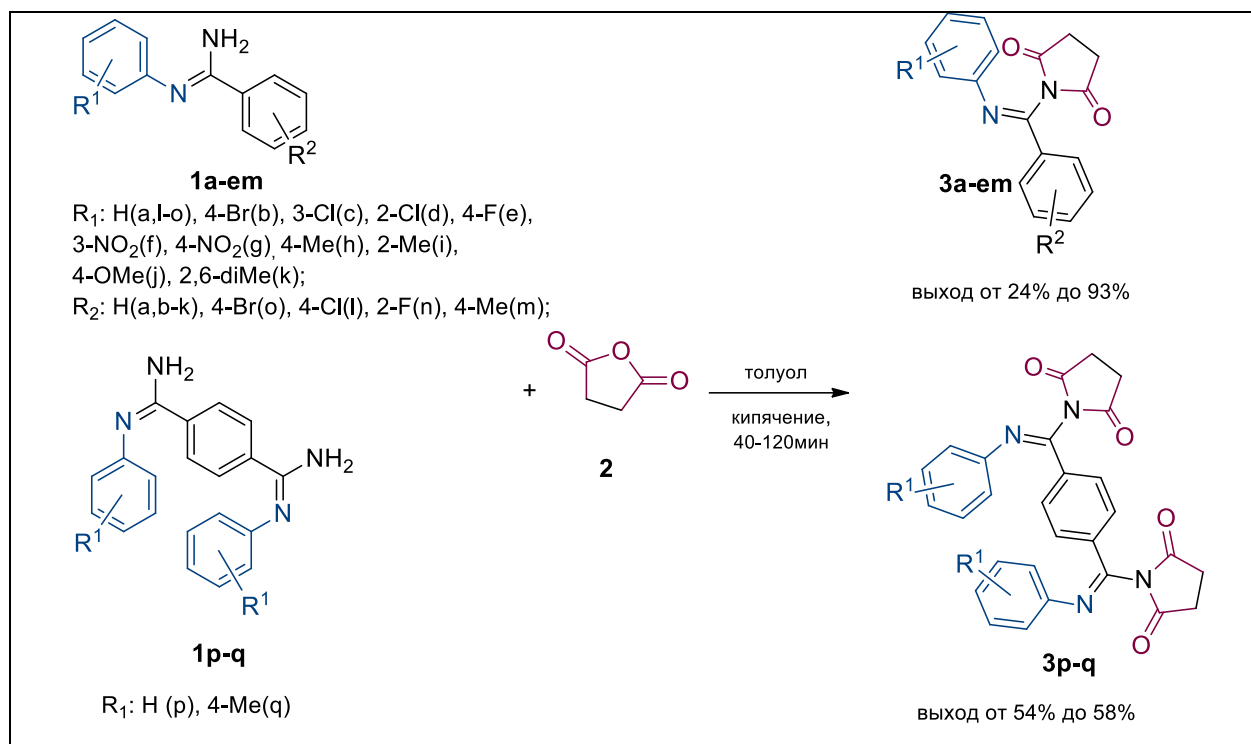


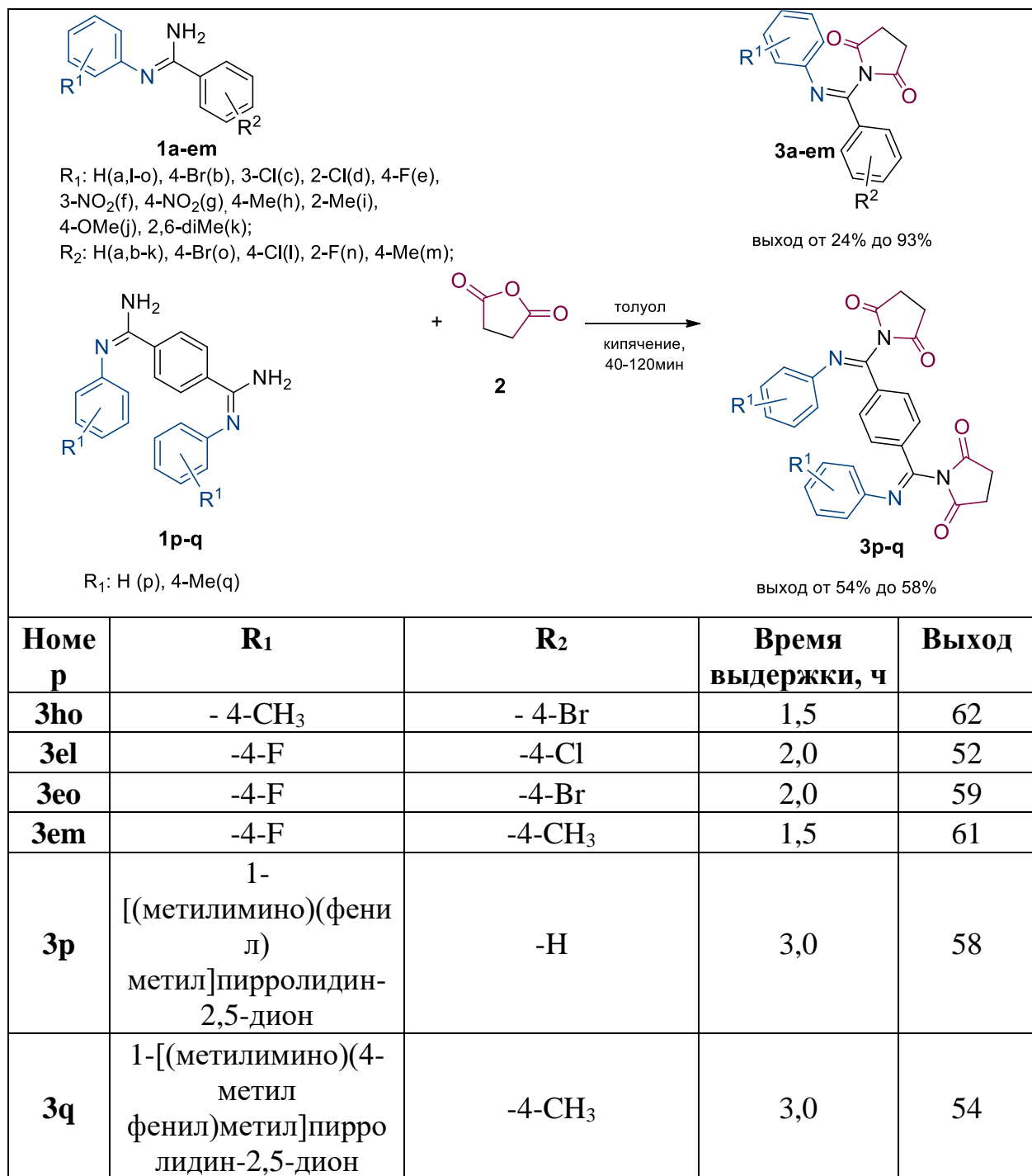
Рисунок 3. Мониторинг реакции *N*-фенилбензамидина **1a** с янтарным ангидридом **2** (1:2,0 моль-экв.) в среде толуола

По разработанной методике нами был проведен синтез нового ряда производных пирролидин-2,5-диона (Таблица 2). По оптимизированной методике было синтезировано 25 новых соединений **3a-q** (Рисунок 3). Стоит отметить, что реакция с амидинами, имеющими электроноакцепторные заместители **1f**, **1g** и бис(амидинами) **1p-q** протекала на 2-2.5 часа дольше. Заместители в орто-положении за счет стерического эффекта также увеличивают время протекания реакции. Увеличение при этом времени реакции только в незначительной степени способствовало повышению выходов.

Таблица 2 – Получение 1-(арил(арилимино)метил)пирролидин-2,5-дионов
(3 a-q). Влияние природы заместителя на время и выходы реакции



Номер	R_1	R_2	Время выдержки, ч	Выход
3a	-H	-H	1,5	88
3b	-4-Br	-H	2,0	64
3c	-3-Cl	-H	2,0	71
3d	-2-Cl	-H	2,0	36
3e	-4-F	-H	2,0	76
3f	-3-NO ₂	-H	3,0	24
3g	-4-NO ₂	-H	3,0	40
3h	-4-CH ₃	-H	1,5	93
3i	-2-CH ₃	-H	1,5	50
3j	-4-OCH ₃	-H	1,5	80
3k	2,6-diMe	-H	3,0	54
3l	-H	-4-Cl	1,5	72
3m	-H	-4-CH ₃	1,5	82
3n	-H	-2-F	1,5	34
3o	-H	-4-Br	1,5	67
3hm	-4-CH ₃	- 4-CH ₃	1,5	80
3hl	-4-CH ₃	- 4-Cl	1,5	67
3bl	-4-Br	- 4-Cl	3,0	46
3bm	- 4-Br	-4-CH ₃	1,5	67



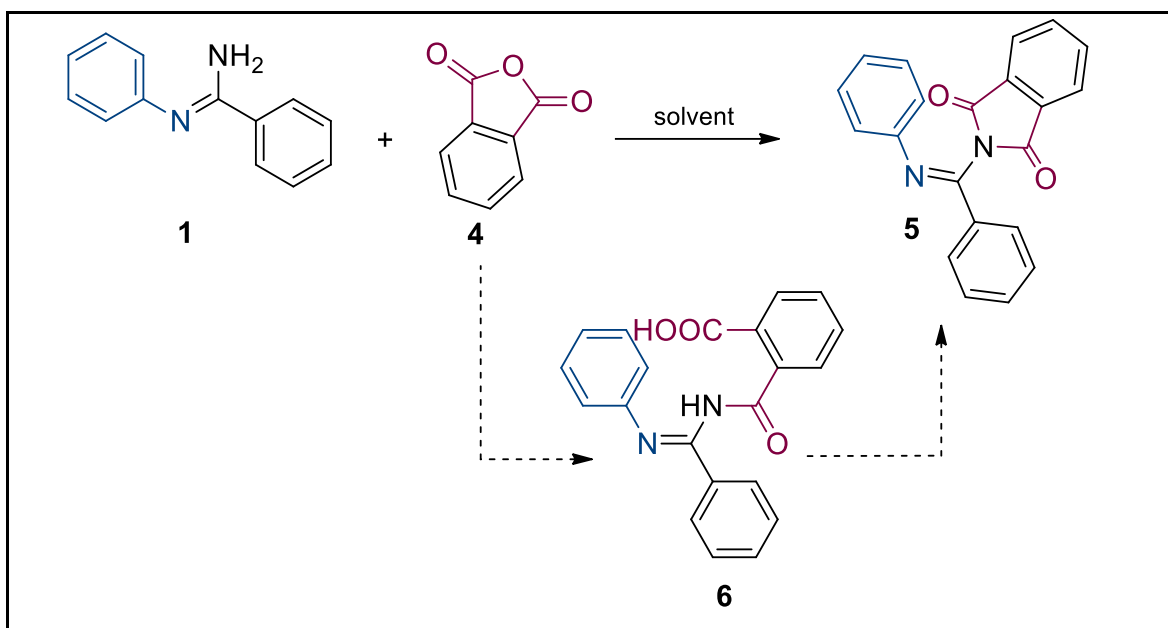
2.2. Изучение реакции получения новых *N*-замещенных производных фталимида (5a-q)

N-фталимидный фрагмент присутствует в молекулах таких лекарственных препаратов, как талидомид, алидомид, амфоталид, тальтримид и тал-метоприм. Известны *N*-замещенные производные фталимида, которые обладают анальгезирующей, гипополидемической, противовоспалительной,

противосудорожной активностями [84-86]. Из литературы известно несколько основных подходов к синтезу *N*-замещенного фталимида.

На первом этапе изучения данной реакции, было решено воспроизвести условия синтеза, как и в случае производных сукцинимидов (толуол, кипячение) с аналогичным варьированием соотношения реагентов (1.2, 1.5, 2.0 моль-экв.). В качестве модельной реакции для разработки оптимальных условий синтеза, было рассмотрено взаимодействие *N*-фенилбензамидина **1a** и фталевого ангидрида **4**. Было показано, что при избытке фталевого ангидрида 1,2 моль-экв по отношению к амидину **1a** через 4 часа содержание целевого вещества на хроматограмме составило 62%, затем скорость образования целевого продукта значительно уменьшалась и дальнейшее ведение процесса было нецелесообразно (Рисунок 6). Для увеличения скорости протекания реакции было решено увеличить избыток фталевого ангидрида **4** по отношению к амидину **1a**. Было установлено, что наиболее оптимальным является избыток 2 моль-экв. фталевого ангидрида **4** (Таблица 3).

Таблица 3^[a] – Влияние соотношения реагентов на протекание реакции получения (Z)-1-(фенил[фенилимино]метил)изоиндолин-1,3-диона **5a**



Растворитель	Температура, °C	Время реакции, ч	Соотношение площадей по ВЭЖХ 5a : 6a , %
Толуол	110	4	62 : 0
Толуол ^b	110	4	71 : 0
Толуол ^c	110	4	91 : 0

^a- Условия реакции: 500 мг (2,6 ммоль) **1a**, 440 мг (3,1 ммоль) **4**, 30 мл толуола; ^bфталевый ангидрид (1,5 моль-экв); ^cфталевый ангидрид (2,0 моль-экв)

Согласно уточненным данным при мониторинге реакции методом ВЭЖХ, проведение реакции при кипячении в толуоле позволило получить целевой продукт за 4 часа (Рисунок 4).

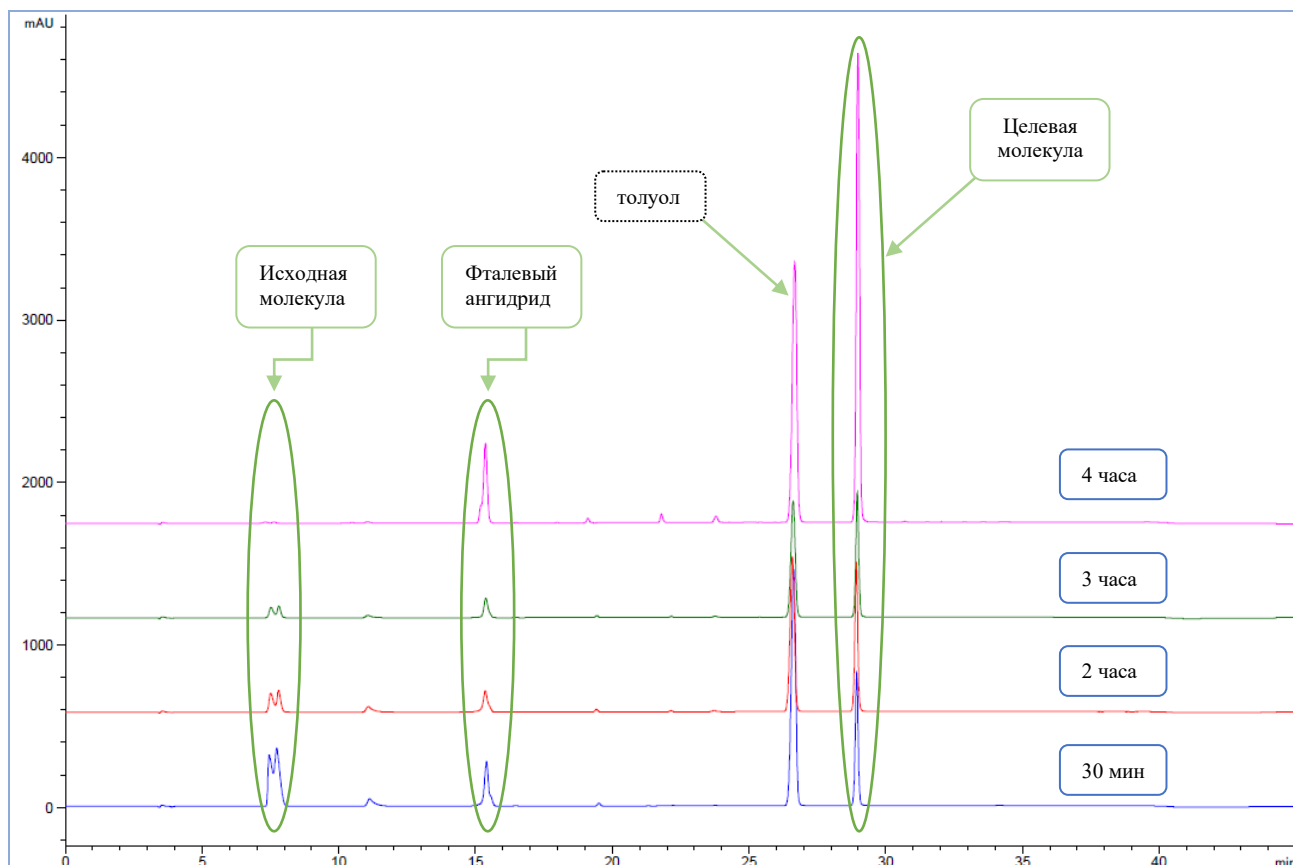


Рисунок 4. Мониторинг реакции *N*-фенилбензамидина **1a** с фталевым ангидридом **4** (1:2,0 моль-экв.) в толуоле в течение 4 часов

Так как в литературе есть информация о применении в подобных реакциях катализаторов основной реакции, было решено апробировать данную методологию. В качестве катализатора был выбран триэтиламин (1 моль-экв. по отношению к амидину), скрининг реакции также осуществляли методом ВЭЖХ.

Стоит отметить, что реакция протекала незначительно быстрее, кроме того, в ходе синтеза было замечено образование неидентифицированной примеси (Рисунок 5). В этой связи от использования катализаторов было решено отказаться.

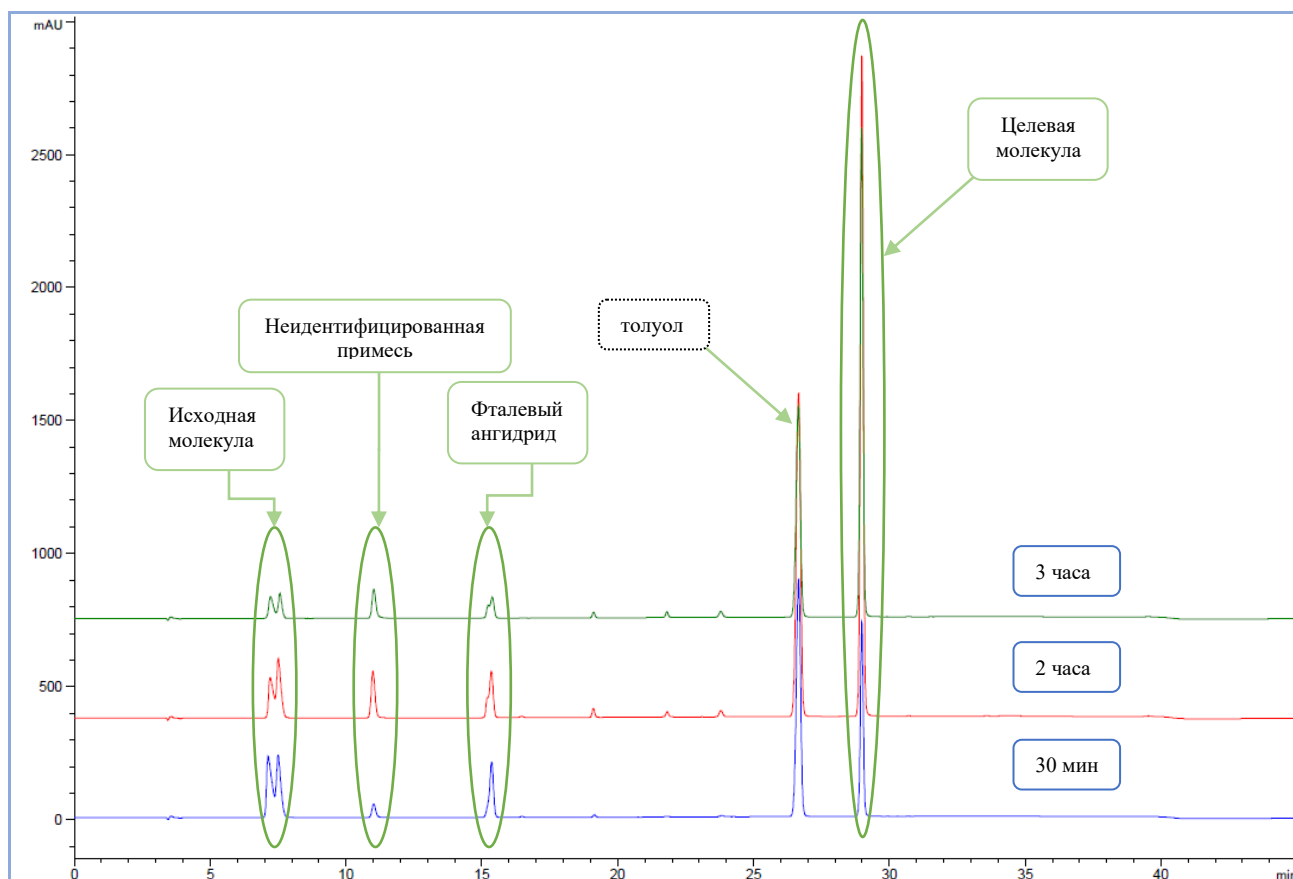
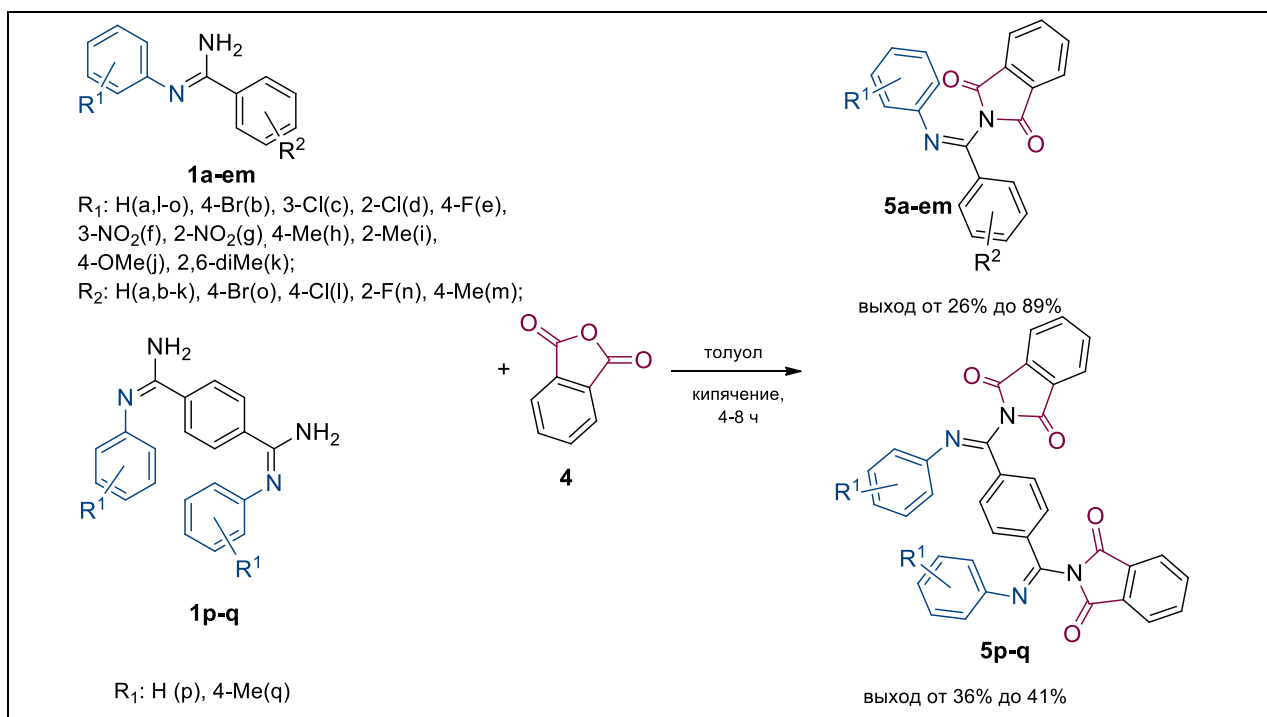


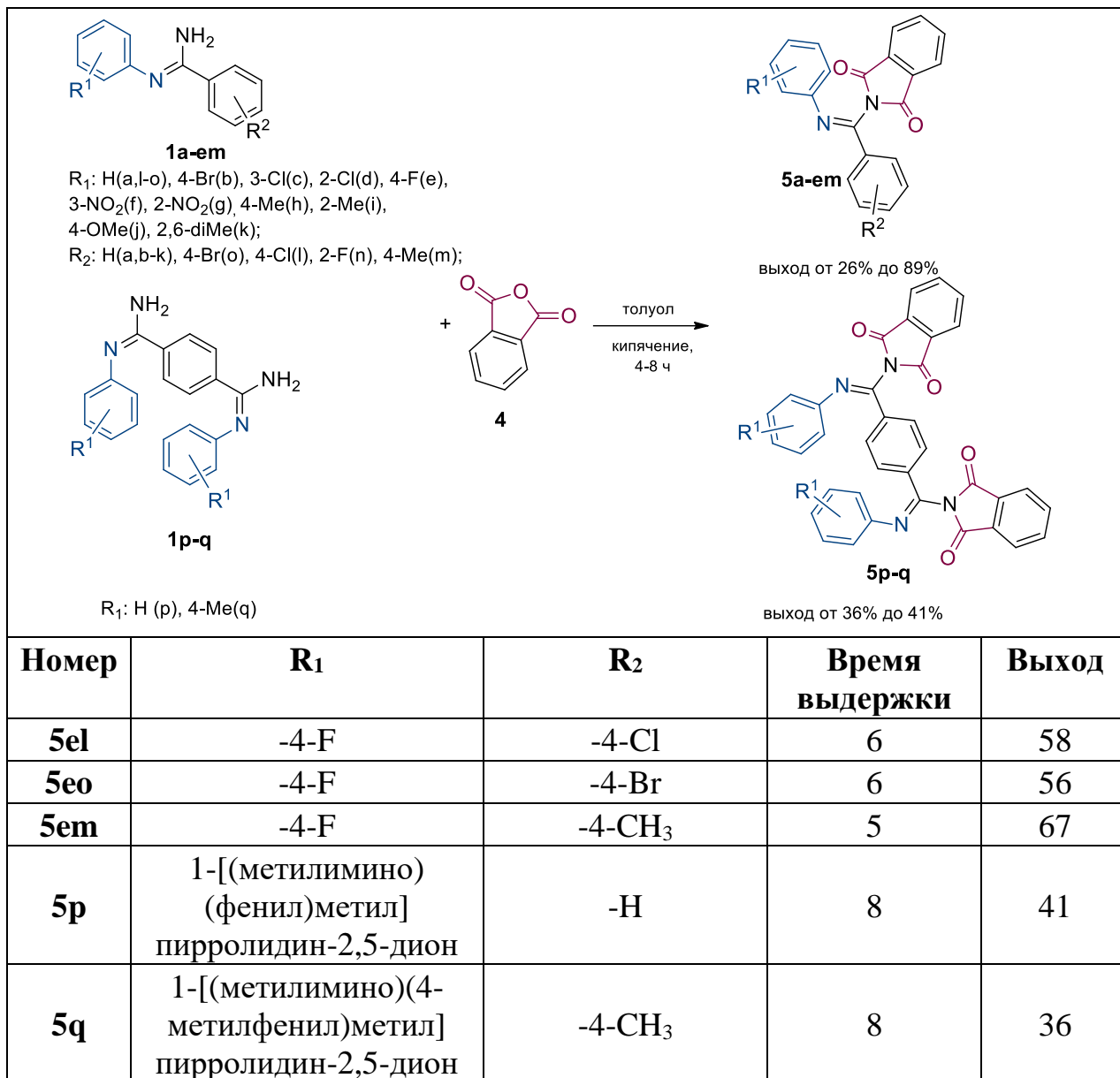
Рисунок 5. Мониторинг реакции *N*-фенилбензамидина **1a** с фталевым ангидридом **4** (1:2,0 моль-экв.) в толуоле при катализе триэтиламино (1 моль-экв.)

По разработанной методике нами был проведен синтез 24 новых производных фталимида (**5a-q**) (Таблица 4). Контроль реакции осуществляли по методу ТСХ. Было установлено, что с амидинами, имеющими электроноакцептные заместители (**1f**, **1g**) и бис(амидинами) (**1p-q**) реакция сопровождалась увеличением времени выдержки до 6-8 часов. Увеличение при этом времени реакции только в незначительной степени способствовало повышению выходов [87-88].

Таблица 4 – Получение 1-(арил(арилимино)метил)изоиндолин-1,3-дионов
(5 a-q). Влияние природы заместителя на время и выходы реакции



Номер	R_1	R_2	Время выдержки	Выход
5a	-H	-H	4	87
5b	-4-Br	-H	4	78
5c	-3-Cl	-H	6	75
5d	-2-Cl	-H	6	45
5e	-4-F	-H	5	71
5f	-3-NO ₂	-H	6	26
5g	-4-NO ₂	-H	6	53
5h	-4-CH ₃	-H	4	85
5i	-2-CH ₃	-H	6	51
5j	-4-OCH ₃	-H	4	89
5k	2,6-diMe	-H	6	51
5l	-H	-4-Cl	4	62
5m	-H	-4-CH ₃	4	82
5n	-H	-2-F	4	38
5o	-H	-4-Br	5	65
5hm	-4-CH ₃	-4-CH ₃	4	76
5hl	-4-CH ₃	-4-Cl	5	71
5bm	-4-Br	-4-CH ₃	4	61
5ho	-4-CH ₃	-4-Br	4	59



2.3. Изучение реакции получения новых *N*-замещенных производных глутаримида (8a-p)

Шестичленные циклические имиды представляют собой важнейший класс органических соединений, в частности, скелет глутаримида присутствуют во многих коммерчески доступных лекарственных препаратах [89-91].

Особый интерес представляют *N*-замещенные производные глутаримидов, которые проявляют широкий спектр биологической активности и могут быть преобразованы в структурно более сложные гетероциклические структуры [92-97].

Получение новых

N-замещенных производных глутаримида способствует выявлению новых закономерностей в определении структура-биологическая активность, что расширяет знания данной немаловажной области органической и медицинской химии. В литературе можно найти достаточно большое количество публикаций по способам получения *N*-замещенных производных глутаримида [98].

Ранее нами были исследованы реакции получения *N*-замещенных производных пирролидин-2,5-диона **3** и изоиндолин-1,3-диона **5** (Рисунок 2), осуществляемые путем взаимодействия янтарного и фталевого ангидридов с первичными аминами, а именно, *N*-арилариламидинами **1**.

Изначально нами было сделано предположение, что производные пиперидин-2,6-диона могут быть успешно получены в тех же условиях, что и производные пирролидин-2,5-диона. Однако, несмотря на структурную близость глутаровой и янтарной кислот, реакционная способность глутарового ангидрида не сводится к реакционной способности янтарного ангидрида [99-100]. Образование глутаримидов по реакции глутарового ангидрида и первичных аминов наиболее часто протекает в две стадии, когда сперва осуществляется первая нуклеофильная атака, а затем одновременно с циклизацией в глутаримид – вторая [101-102]. Нашей целью была разработка одностадийной методики получения глутаримидов.

Основываясь на ранее полученные данные при изучении реакций получения производных сукцинимида и фталимида, для получения производных глутаримида были апробированы ранее описанные условия (толуол, кипячение) с аналогичным варьированием соотношения реагентов (1.2, 1.5, 2.0 моль-экв.). В качестве модельной реакции для разработки оптимальных условий синтеза, было рассмотрено взаимодействие *N*-фенилбензамидина **1a** и глутарового ангидрида **7** (Таблица 5) [103-104].

Таблица 5 – Влияние соотношения реагентов на протекание реакции получения (Z)-1-(фенил[фенилимино]метил)пиперидин-2,6-диона **8a**^[a]

№	Растворитель	t, °C	Время реакции, ч	Соотношение площадей 1:9:8 (ВЭЖХ), %
1	Толуол	110	1	8:0,5:91,5
2	Толуол ^b	110	1	4,8:0,4:94,8
4	Толуол ^c	110	1	2,2:0,3:97,5

^a- Условия реакции: 500 мг (2,6 ммоль) **1a**, 356 мг (3,1 ммоль) **7**, 30 мл толуола; ^b глутаровый ангидрид (1,5 моль-экв); ^c глутаровый ангидрид (2,0 моль-экв)

В ходе изучения реакции, мы варьировали избыток ангидрида **7** при фиксированном времени реакции (1 час). В результате процент **8a** (по ВЭЖХ) увеличился с 91,5 до 97,5% при увеличении избытка ангидрида **7** от 1.2 до 2 моль-экв. Было также установлено, что при кипячении после 1 часа выдержки реакция выходит на «плато» и доля **8a** не увеличивается. В этой связи, при условии двукратного избытка глутарового ангидрида **7**, был проведен уточненный мониторинг целевой реакции с дискретностью в 10 минут в течение 60 минут (Рисунок 6), что позволило зафиксировать конец реакции через 50 минут. Вместе с тем было отмечено, что наибольшая скорость реакции наблюдается в первые 10 минут, когда уже через 10 минут доля **8a** составляет 87,5%.

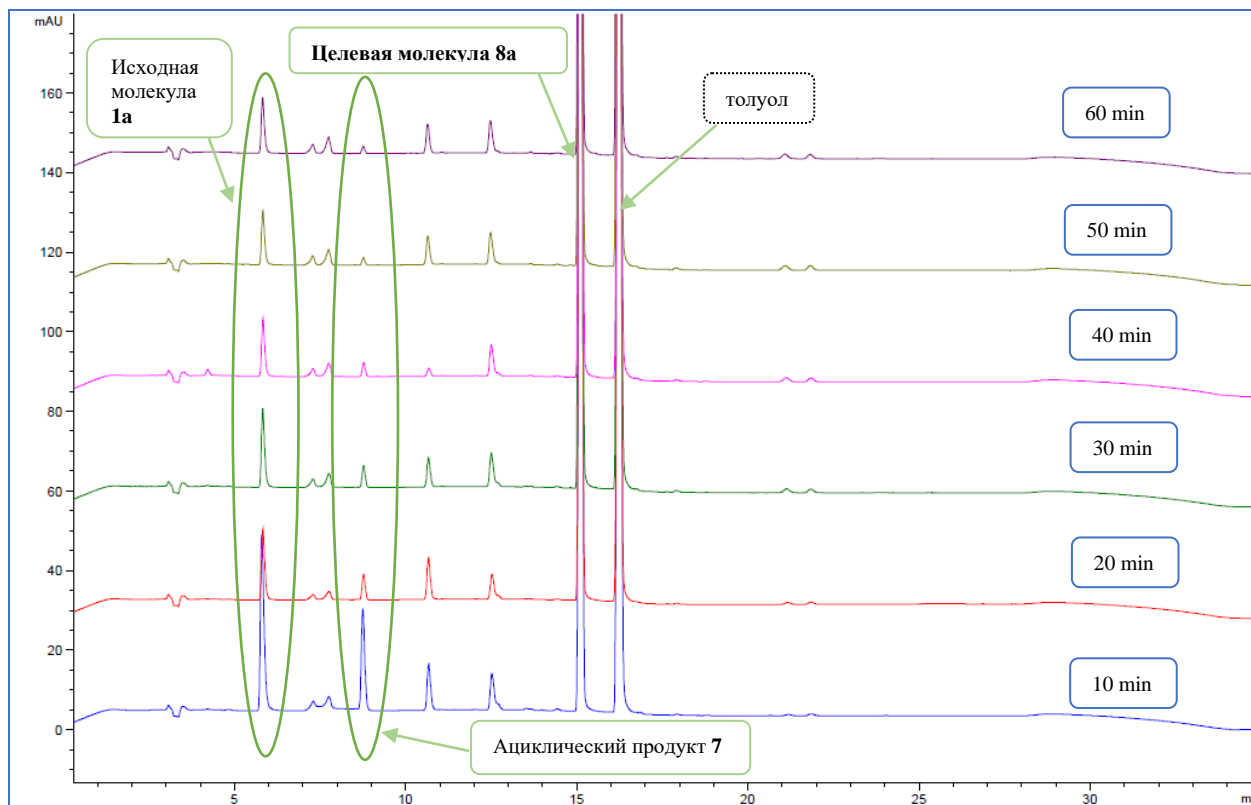
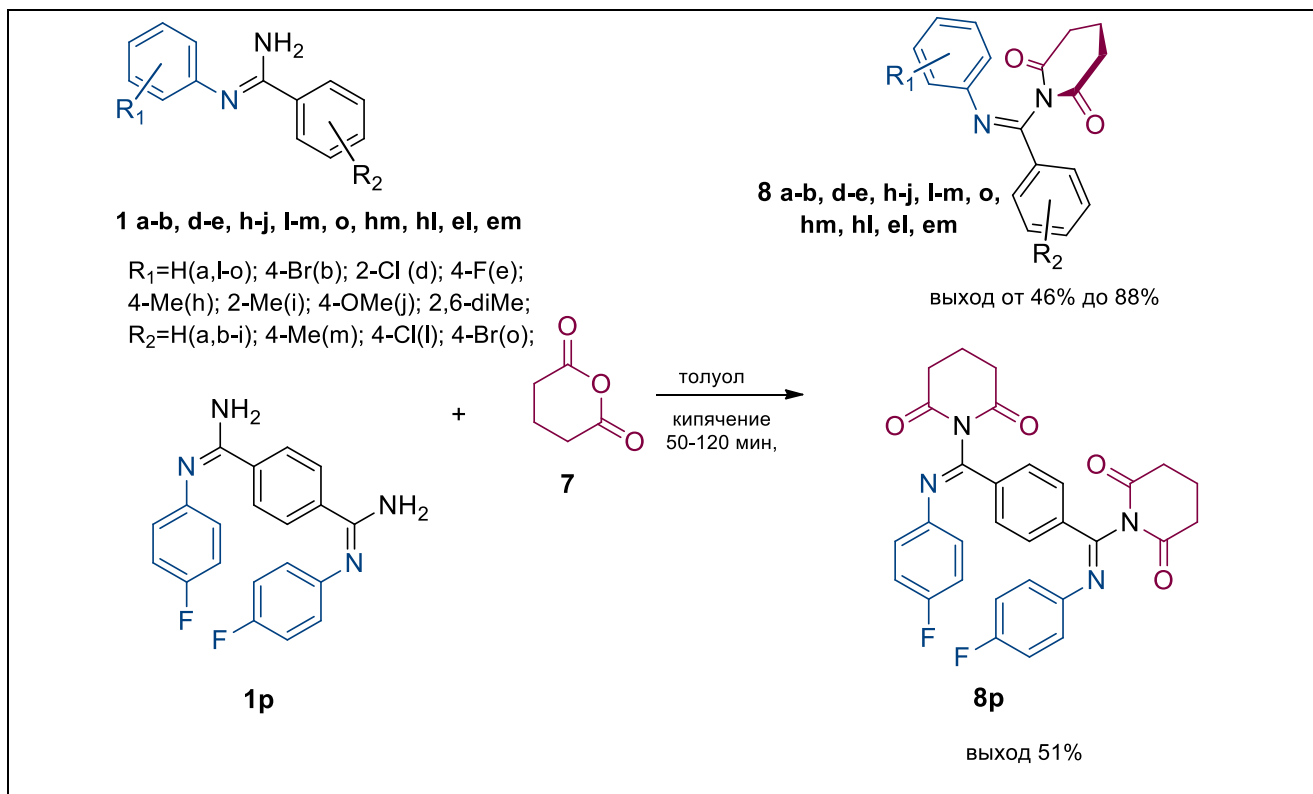


Рисунок 6. Мониторинг реакции *N*-фенилбензамида **1a** с глутаровым ангидридом **7** (1:2,0 моль-экв.) в толуоле

Оптимизированные условия были использованы для получения ряда новых (*Z*)-1-(арил(арилимино)метил)пиперидин-2,6-дионов **8a-r** (Таблица 6) и определения субстратной толерантности синтеза при варьировании исходных *C,N*-диарилформамидинов. Время окончания реакции контролировали с помощью ТСХ (этилацетат-гексан 3:1).

Таблица 6 – Получение (Z)-1-(арил(арилимино)метил)пиперидин-2,6-дионов (**8a-r**). Влияние природы заместителя на время и выходы реакции



Номер	R_1	R_2	Время выдержки, ч	Выход
8a	-H	-H	1	83
8b	-4-Br	-H	1	64
8d	-2-Cl	-H	1,5	46
8e	-4-F	-H	1	66
8h	-4-CH ₃	-H	1	88
8i	-2-CH ₃	-H	1,5	74
8j	-4-OCH ₃	-H	1	68
8l	-H	-4-Cl	1	80
8m	-H	-4-CH ₃	1	84
8o	-H	-4-Br	1	68
8hm	-4-CH ₃	-4-CH ₃	1	52
8hl	-4-CH ₃	-4-Cl	1	49
8el	-4-F	-4-Cl	2	67
8em	-4-F	-4-CH ₃	1	59
8r	1-((метилимино)(4-фторфенил)метил)пирролидин-2,5-дион	-4-F	2	51

Согласно анализу выходов получаемых производных, очевидно, что заместители в орто-положениях бензольного кольца анилинового фрагмента за счет стерического эффекта ингибируют скорость протекания целевой реакции (соединения **8d**, **8i**, **8p**) и приводят к снижению выходов. Так, реакция абсолютно не протекала при введении в орто-положение *N*-арильного кольца (R^1) изопропил-заместителя. Введение акцепторных заместителей, как в *N*-арильный (R^1), так и *C*-арильный фрагмент (R^2), также приводит к увеличению времени протекания реакции, а также, в некоторой степени, к снижению выходов.

2.4. Доказательство строения полученных сукцинимидов, фталимидов, глутаримидов

2.4.1. Доказательство строения *N*-замещенных производных сукцинимида

В качестве примера приведен спектр (*Z*)-1-(фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-диона **3a**. В спектре ЯМР ^1H соединения **3a** в ДМСО- d_6 400 МГц присутствуют сигналы протонов бензольных колец при δ 7.98 (d, 2H, $J=7.0$ Гц); 7.64 (t, 1H, $J=7.4$ Гц); 7.54 (t, 2H, $J=7.4$ Гц); 7.36 (t, 2H, $J=7.8$ Гц); 7.16 (t, 1H, $J=7.4$ Гц); 6.77 (d, 2H, $J=7.0$ Гц), а также сигналы двух метиленовых групп пирролидин-2,5-диона, протоны которых находятся в аксиальном и экваториальном расположениях 2.88 (dd, 2H, $J=4.6, 18.0$ Гц) 2.48 (dd, 2H, $J=4.6, 18.0$ Гц) (Рисунок 7).

Характерные сдвиги и расщепление в спектрах ^1H и ^{13}C доказывают подлинность 2-(фенил{фенилимино}метил)пирролидин-2,5-диона **3a**.

Для представителя класса пирролидин-2,5-дионов **3a** был также проведен рентгено-структурный анализ.

Кристаллы $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ ($M = 278,30$) орторомбические, пространственная группа $\text{P}2_12_12_1$, при 100 (2) К: $a = 8,65130$ (10), $b = 8,7289$ (2) и $c = 18,1058$ (3) Å, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 90^\circ$, $\gamma = 90^\circ$, $V = 1367,28$ (4) Å³, $Z = 4$, $d_{\text{calc}} = 1,352$ г/см³, $\mu = 0,729$ мм⁻¹, $F(000) = 584,0$. Было измерено 14146 отражений и 2582 независимых отражения ($R_{\text{int}} = 0,0493$) были использованы для дальнейшего уточнения. Окончательный $R1$ составил 0,0269 ($I \geq 2\sigma(I)$), а $wR2$ - 0,0689 (все данные) (Рисунок 9). CCDC 2089063 содержит дополнительные кристаллографические данные.

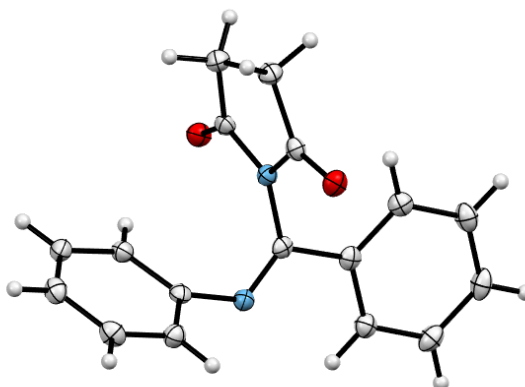


Рисунок 9. Структура **3a** согласно данным РСА (при 100 ± 2 К с использованием излучения $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,54184$ Å))

2.4.2. Доказательство строения *N*-замещенных производных фталимида

В качестве примера приведен спектр 2-(фенил{фенилимино}метил)изоиндолин-1,3-диона **5a**. В спектре ЯМР ^1H соединения **5a** в $\text{DMSO-}d_6$ 400 МГц присутствуют сигналы протонов бензольных колец от *N*-фенилбензамидина δ 8.03 (d, 2H, $J=7.1$ Гц); 7.64 (t, 1H, $J=7.4$ Гц); 7.54 (t, 2H, $J=7.6$ Гц); 7.26 (t, 2H, $J=7.9$ Гц); 7.03 (t, 1H, $J=7.5$ Гц); 6.82

(d, 2H, $J=7.1$ Гц), а также сигналы протонов бензольного кольца от фталевого ангидрида 7.89 (m, 4H) (Рисунок 10).

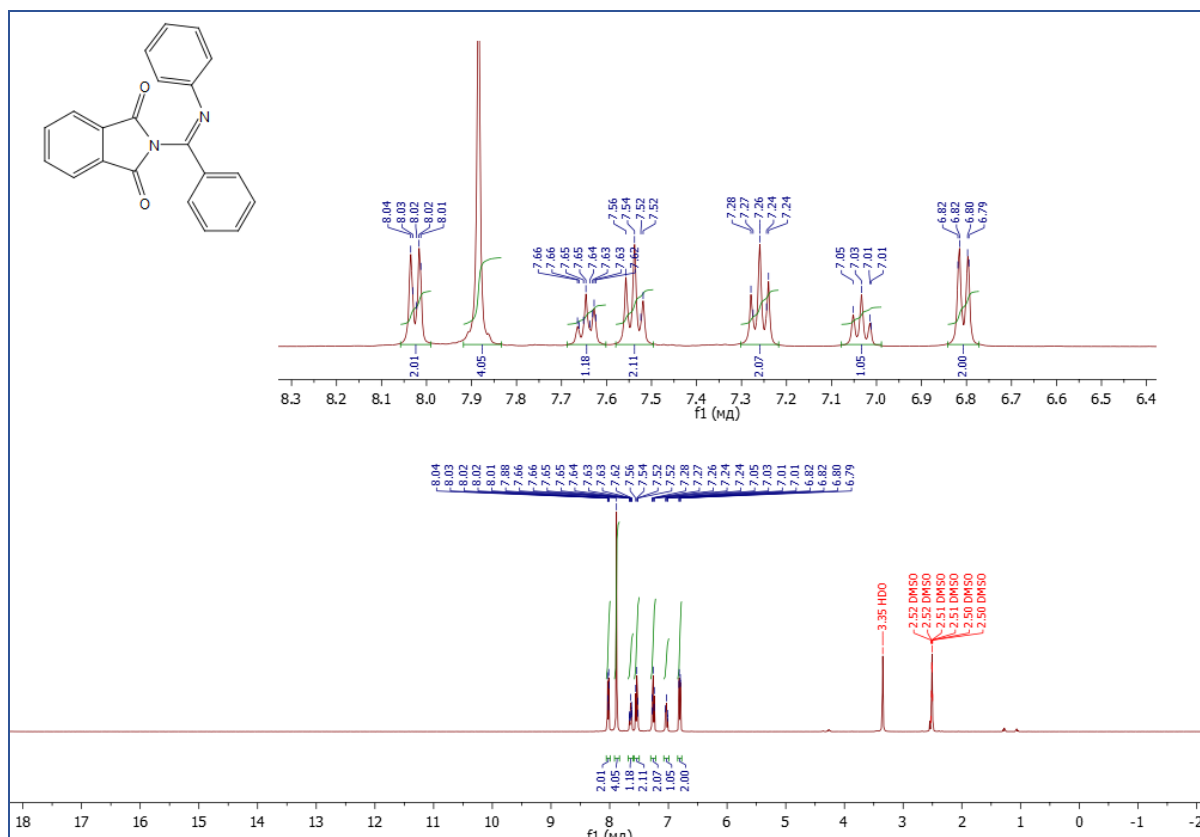


Рисунок 10. Спектр ЯМР ^1H в $\text{DMSO-}d_6$ (400 МГц) соединения **5a**

Спектр ЯМР ^{13}C соединения **5a** характеризуется сигналами ядер углерода бензольных колец (135.78, 133.76, 133.04, 131.21, 129.47, 128.85, 128.79, 125.38, 124.57, 119.31, 146.96 м.д.), карбонильных атомов углерода фталимидного цикла (166.33 м.д.) и атомом углерода имино группы (148.16 м.д.) (Рисунок 11).

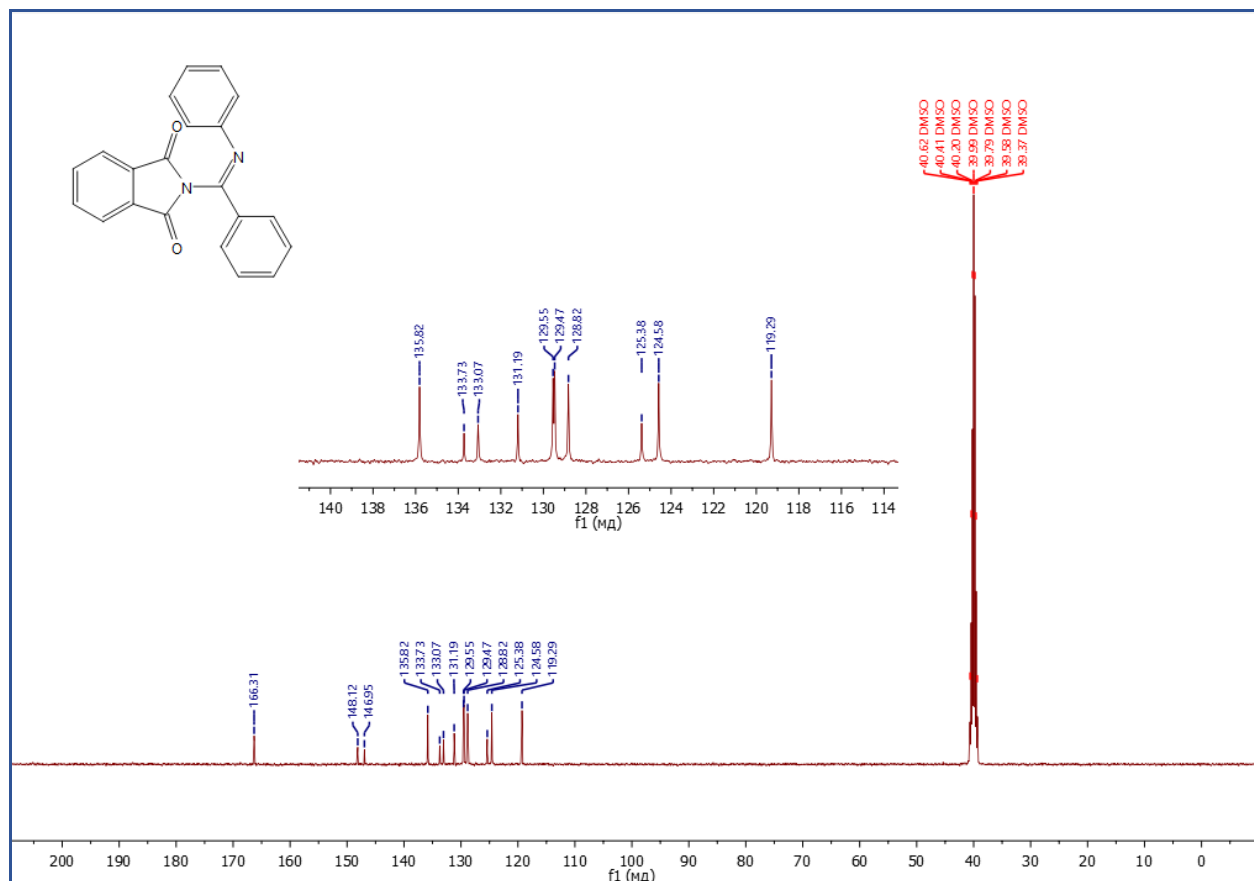


Рисунок 11. Спектр ЯМР ^{13}C в ДМСО- d_6 (100 МГц) соединения **5a**

Характерные сдвиги и расщепление в спектрах ^1H и ^{13}C доказывают подлинность 2-(фенил{фенилимино}метил)изоиндолин-1,3-диона **5a**.

2.4.3. Доказательство строения *N*-замещенных производных глутаримида

На примере (Z)-1-(фенил(фенилимино)метил)пиперидин-2,6-диона **8a**, в спектре ЯМР ^1H можно выделить характерные сигналы трех метиленовых групп пиперидин-2,6-диона в виде 4-х мультиплетов: два мультиплета метиленовых групп, расположенных возле карбонильных групп при 2.75 (m, 2H), 2.34 (m, 2H), и два мультиплета двух протонов метиленовой группы, находящихся в аксиальном и экваториальном положениях 1.87 (m, 1H), 1.22 (m, 1H) (Рисунок 12).

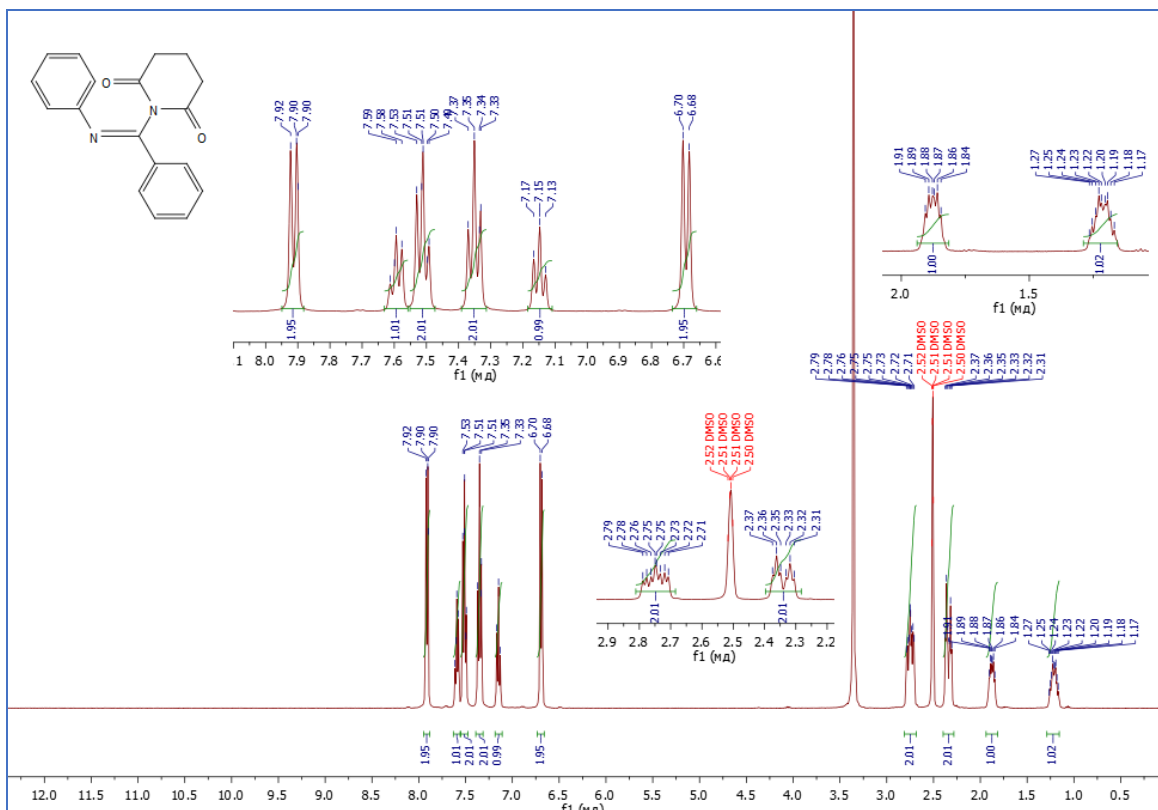


Рисунок 12. Спектр ЯМР ¹H в ДМСО-*d*₆ (400 МГц) соединения **8a**

В спектре ЯМР ¹³C соединения **8a** можно выделить характерный сигнал углерода имино группы при 150.38 м.д., сигнал углеродов карбонильных групп гетероциклического кольца при 172.65 м.д., а также сигналы углеродов метиленовых групп гетероциклического кольца при 31.94, 17.09 м.д (Рисунок 13) [105].

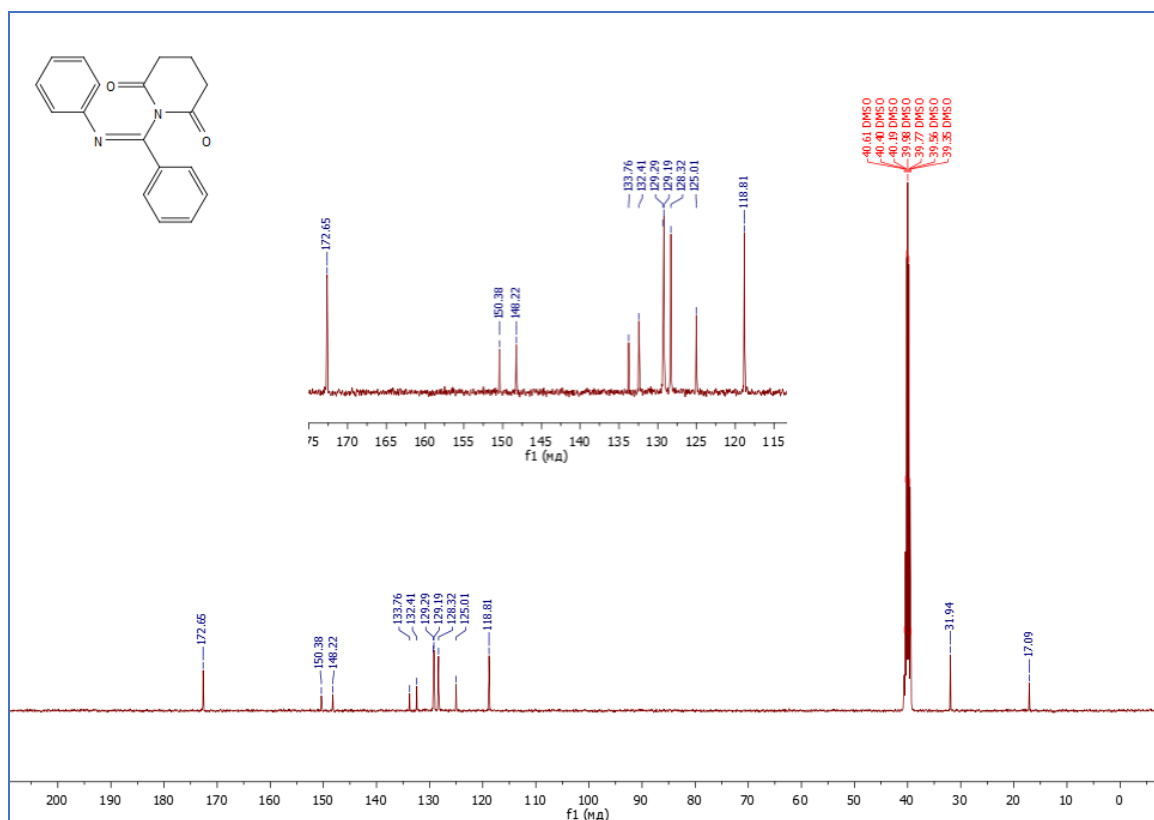


Рисунок 13. Спектр ЯМР ^{13}C в ДМСО- d_6 (100 МГц) соединения **8a**

Для незамещенного производного **8a** и производного с о-хлор заместителем в *N*-арильном фрагменте **8d** был проведен рентгеноструктурный анализ (Рисунок 14).

При сравнении данных выявлено, что о-заместитель серьезно влияет на конформацию молекулы в кристалле. Основным различием в строении полученных структур является разница торсионного угла поворота фенильного кольца относительно плоскости кратной связи $-\text{C}=\text{N}-$ ($\text{C}12-\text{N}2-\text{C}11(\text{C}6)-\text{C}6(\text{C}11)$). В молекуле **8a** данный торсионный угол составляет минус $59,0(3)^\circ$, когда **8d** имеет угол минус $122,6(2)^\circ$.

(*Z*)-1-(фенил(фенилимино)метил)пиперидин-2,6-дион **8a**

Кристаллы $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$ ($M = 292.33$) орторомбические, пространственная группа $P2_12_12_1$, at 100(2) K: $a = 9.6836(4)$, $b = 10.1347(4)$ и $c = 15.0922(7)$ Å, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 90^\circ$, $\gamma = 90^\circ$, $V = 1481.15(11)$ Å³, $Z = 4$, $d_{\text{calc}} = 1.311$ g/cm³, $\mu = 0.697$ mm⁻¹, $F(000) = 616.0$. Было измерено 9208 независимых отражений и 2780 независимых отражений ($R_{\text{int}} = 0.0708$) были использованы для дальнейшего

уточнения. Окончательное значение R_1 составило 0.0495 ($I \geq 2\sigma(I)$) и wR_2 составило 0.1297 (все данные) (Рисунок 16, слева).

(Z)-1-(((2-хлорфенил)имино)(фенил)метил)пиперидин-2,6-дион **8d**

Кристаллы $C_{18}H_{15}ClN_2O_2$ ($M = 326.77$) орторомбические, пространственная группа $Fdd2$, at 100(2) К: $a = 30.9323(4) \text{ \AA}$, $b = 25.2894(3) \text{ \AA}$ и $c = 8.03480(10) \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 90^\circ$, $\gamma = 90^\circ$, $V = 6285.30(14) \text{ \AA}^3$, $Z = 16$, $d_{calc} = 1.381 \text{ г/см}^3$, $\mu = 2.246 \text{ мм}^{-1}$, $F(000) = 2720.0$. Было измерено 9021 и 2294 независимых отражений ($R_{int} = 0.0353$) были использованы для дальнейшего уточнения. Окончательное значение R_1 составило 0.0339 ($I \geq 2\sigma(I)$) и $wR_2 = 0.0945$ (все данные).

CCDC 2239779 (рисунок 14, слева), 2262924 (рисунок 14, справа) содержат дополнительные кристаллографические данные.

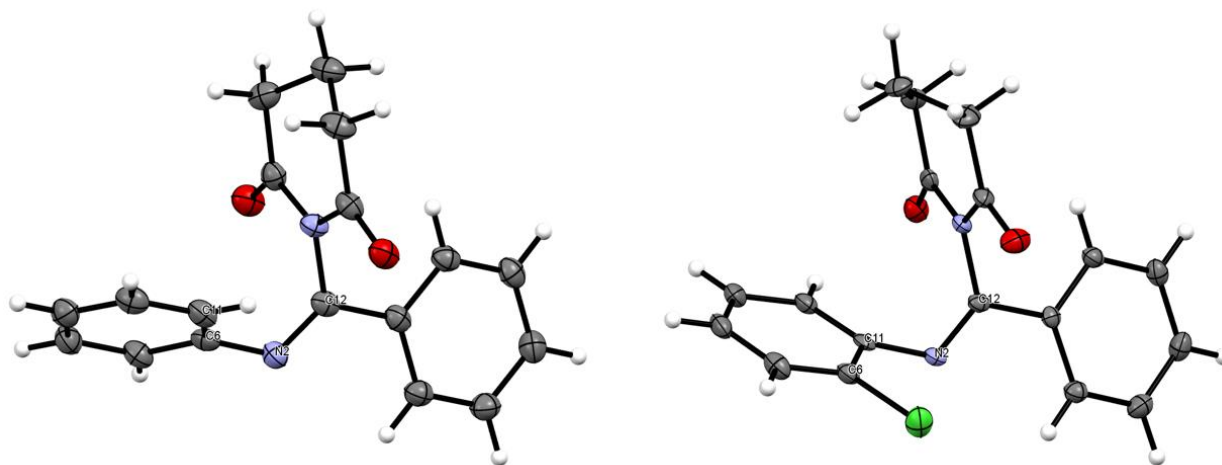


Рисунок 14. Рентгеноструктурный анализ соединений **8a** (слева), **8d** (справа)

3. Биологическая активность синтезированных соединений

3.1. Прогностический анализ острой токсичности и биологической активности

Прогнозирование острой токсичности с использованием локальной версии программного обеспечения GUSAR [106] позволило определить начальные дозировки для проведения эксперимента методом *in vivo*, а также способствовало минимизации использования экспериментальных животных (Таблица 7).

Прогнозируемая токсичность исследуемых соединений составила от 405 до 2202 мг/кг при введении мышам внутрибрюшинно. При этом наименьшая острая токсичность прогнозируется у фталимидов. Согласно скринингу биологической активности, основанному на программном обеспечении Pass-online [107], все синтезированные сукцинимиды, фталимиды и глутаримиды с высокой степенью вероятности (более 70%) обладают анальгезирующей и противовоспалительной активностью [108].

Таблица 7 – Скрининг острой токсичности синтезированных соединений

Буквенное обозначение	R ₁	R ₂	Острая токсичность <i>in silico</i> , мыши (мг/кг)		
			Для соединений 3	Для соединений 5	Для соединений 8
a	-H	-H	1611,8	1445,2	1481,4
b	-Br	-H	1460,0	1317,4	2202,0
c	-3-Cl	-H	884,4	1448,4	-
d	-2-Cl	-H	1213,6	1334,4	958,0
e	-4-F	-H	538,0	854,2	767,4
f	-3-NO ₂	-H	505,6	671,8	-
g	-4-NO ₂	-H	620,2	716,0	-
h	-4-CH ₃	-H	1137,4	815,2	1160,4
i	-2-CH ₃	-H	753,0	588,8	5556,8
j	-4-OCH ₃	-H	1310,8	1144,8	1125,4
k	2,6-diMe	-H	991,0	731,8	-
l	-H	-4-Cl	1213,6	1349,6	1402,8
m	-H	-4-CH ₃	1199,8	831,2	1187,4
n	-H	-2-F	554,2	1160,4	-
o	-H	-4-Br	1662,8	1322,2	2206,0
hm	-4-CH ₃	- 4-CH ₃	1027,8	830,6	1020,0
hl	-4-CH ₃	- 4-Cl	1097,0	1227,2	1205,2
bl	-4-Br	- 4-Cl	1349,0	1666,2	-
bm	- 4-Br	-4-CH ₃	1956,4	1748,0	-
ho	- 4-CH ₃	- 4-Br	1856,8	1742,4	-
el	-4-F	-4-Cl	445,2	1947,2	1415,0
eo	-4-F	-4-Br	1149,8	1581,2	-

Буквенное обозначение	R ₁	R ₂	Острая токсичность <i>in silico</i> , мыши (мг/кг)		
			Для соединений 3	Для соединений 5	Для соединений 8
em	-4-F	-4-CH ₃	652	711,0	420,0
p	1-((метил имино)(фенил)метил)пирролидин-2,5-дион	-H	1860,8	2060	-
q	1-((метил имино)(4-метил фенил)метил)пирролидин-2,5-дион	-4-CH ₃	2036,0	1028	-
r	1-((метил имино)(4-фтор фенил)метил)пирролидин-2,5-дион	-4-F	-	-	405,4

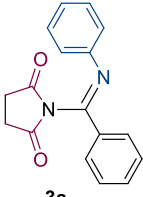
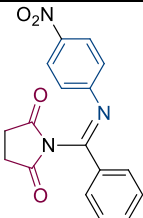
3.2. Анализ острой токсичности методом *in vivo*

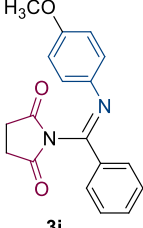
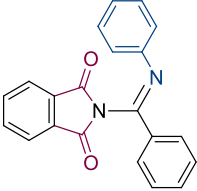
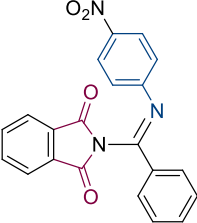
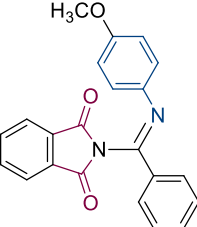
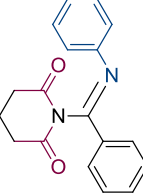
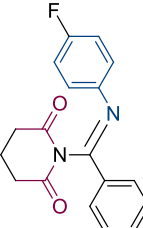
Определение острой токсичности *in vivo* проводили на белых аутбредных мышцах самцах массой 20±2 г. Соединения вводили однократно, внутрибрюшинно в интервале доз от 600 до 2500 мг/кг в виде суспензий в смеси диметилсульфоксид (ДМСО): вода для инъекций (1:5) с использованием в качестве стабилизатора образующейся суспензии гидроксиэтилированного

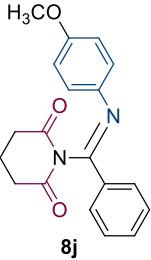
сорбитана – твин-80. Выживаемость животных определяли, наблюдая за ними через 24 и 48 ч от момента введения препарата. Наблюдение за животными осуществляли в течение 72 ч. Регистрировали развитие основных симптомов и время гибели животных. Экспериментальная среднелетальная доза (LD_{50}) рассчитана с использованием инсталлированного программного обеспечения «STATISTICA 7.0», которое использует для расчёта LD_{50} метод наименьших квадратов [109-110].

Британскими учеными У. Расселом и Р. Берчем была разработана национальная концепция «3R» (от англ. Reduction, Refinement, Replacement) [111-112], основной целью которой является повышение сочувствия к животным, участвующим в научных экспериментах. Согласно одному из постулатов данной концепции, а именно «Reduction», все исследования *in vivo* были проведены только для соединений, представляющих наибольший научный интерес. В этой связи исследование острой токсичности осуществлялось на производных, имеющих высокоэлектроноакцепторный заместитель и высокоэлектронодонорный заместитель (Таблица 8).

Таблица 8 - Экспериментальная среднелетальная доза

Исследуемое соединение	Экспериментальная среднелетальная доза (внутрибрюшинно, мыши, LD_{50}) (мг/кг)	Прогнозируемая среднелетальная доза (внутрибрюшинно, мыши, LD_{50}) (мг/кг)
 <p>3a</p>	1200	1611,8
 <p>3g</p>	900	620,2

Исследуемое соединение	Экспериментальная среднелетальная доза (внутрибрюшинно, мыши, LD ₅₀) (мг/кг)	Прогнозируемая среднелетальная доза (внутрибрюшинно, мыши, LD ₅₀) (мг/кг)
 <p>3j</p>	750	1310,8
 <p>5a</p>	1300	1445,2
 <p>5g</p>	2000	716,0
 <p>5j</p>	1200	1144,8
 <p>8a</p>	1200	1481,4
 <p>8e</p>	900	767,4

Исследуемое соединение	Экспериментальная среднелетальная доза (внутрибрюшинно, мыши, LD ₅₀) (мг/кг)	Прогнозируемая среднелетальная доза (внутрибрюшинно, мыши, LD ₅₀) (мг/кг)
	850	1125,4

В результате сопоставления данных прогноза острой токсичности *in silico* с экспериментально полученными *in vivo* установлено, что значения LD₅₀ имеют достаточно высокую степень корреляции между собой, исследуемые соединения по классификации Сидорова К.К. относятся к классу 4 (мало токсичны) и 5 (практически нетоксичны). Однако данная корреляция не соблюдается у 2-((4-нитрофенил)имино)(фенил)метилизоиндолин-1,3-диона, острая токсичность которого, определенная *in vivo*, значительно ниже, чем спрогнозированная [113-115].

3.3. Анализ анальгезирующей и противовоспалительной активности методом *in vivo*

Для исследования анальгезирующей активности использовали модель уксуснокислые «корчи» и модель «отдергивания хвоста от теплового излучения (tail-flick)» [113].

Для моделирования уксуснокислых «корчей» использовали белых аутбредных мышей-самцов массой 20±2 г., из которых были сформированы 3 группы по 5 особей в каждой. Судороги у животных вызывали при помощи внутрибрюшинного введения 0.5 % раствора уксусной кислоты. Исследуемые соединения суспендировали в смеси диметилсульфоксид (ДМСО): вода для инъекций (1:5) с использованием в качестве стабилизатора образующейся суспензии гидроксиэтилированного сорбитана (твин-80) и вводили

внутрибрюшинно в дозе 20-100 мг/кг. Препарат сравнения – метамизол натрия, вводили тем же путём в дозе 168.57 мг/кг. Животные первой опытной группы внутрибрюшинно получали исследуемое соединение за 40 минут до начала эксперимента. Животные второй опытной группы внутрибрюшинно получали препарат сравнения за 40 минут до начала эксперимента. Особям контрольной группы внутрибрюшинно вводили только раствор 0.5 % уксусной кислоты. Регистрировали время начала судорог и их количество в течение 20 минут. Анальгезирующую активность исследуемого соединения оценивали по достоверному уменьшению числа корчей в получавшей препарат группе относительно контрольной группы. Показателем эффективности являлся коэффициент угнетения болевой реакции (УБР), который рассчитывался по формуле:

$$\text{УБР, \%} = \left(1 - \frac{\text{среднее число корчей в группе}}{\text{среднее число корчей в контроле}} \right) * 100\%$$

Результаты изучения анальгезирующей активности на модели «уксуснокислые корчи» для производных сукцинимиды представлены в таблице 9, для производных фталимида – в таблице 10, для производных глутаримида – в таблице 11.

Таблица 9 – Результаты изучения анальгезирующей активности на модели «уксуснокислые корчи» для производных сукцинимиды

Группа	R ₁	R ₂	Доза (мг/кг)	Количество корчей за 20 мин.	Латентное время развития, с	УБР, %
Контроль			-	75.3±1.80	344.50±18.35	-
Метамизол натрия	-	-	100	21.6±0.41	911.80±3.99*	71,3
3a	H	H	100	5.60±2.85*#	896.6±94.88*	92,56
3l	H	4-Cl	100	10.87±1,05	823.4±58.38*	85,56
3m	H	4-Me	20	25.16±1,17	812.2±29.29*	66,59

Группа	R ₁	R ₂	Доза (мг/кг)	Количество корчей за 20 мин.	Латентное время развития, с	УБР, %
3hl	4-Me	4-Cl	100	0.29±0,52	837.2±47.18*	99,61
3p	1- [(метили мино)(ф енил) метил]п ирролид ин-2,5- дион	H	20	14.12±1,07	915.6±27.12*	81,25

* Различия с группой «контроль» статистически значимы $p \leq 0.05$

Различия с группой «метамизол натрия» статистически значимы $p \leq 0.05$

Таблица 10 – Результаты изучения анальгезирующей активности на модели «уксуснокислые корчи» для производных фталимида

Группа	R ₁	R ₂	Доза, мг/кг	Кол-во «корчей» за 20 мин., абс.	Латентное время развития, с	УБР, %
Контроль	-	-	-	74.30±3.85	355.50±10.42	-
Метамизол натрия	-	-	100	24.7±0.26	1026.20±4.03*	66,8
5a	H	H	100	3.40±0.96*#	837.61±4.64*#	95.43
5g	4-NO ₂	H	20	1.40±0.87*#	977.62±7.53*#	98.12
5i	4-OMe	H	20	10,30±1.21*#	816.21±8.13*#	86,14
5l	H	4-Cl	20	2,60±0.31*#	897.32±8.53*#	96,50
5hm	4-Me	4-Me	20	4,10±0.37*#	827.02±9.11*#	94,48
5hl	4-Me	4-Cl	20	3,15±0.18*#	949.21±7.59*#	95,76
5p	1- [(мети лимин о)(фен ил)	H	20	1,60±0.31*#	1031.18±7.12*#	97,85

	метил]изоин долин -1,3- дион					
--	---	--	--	--	--	--

* Различия с группой «контроль» статистически значимы $p \leq 0.05$

Различия с группой «метамизол натрия» статистически значимы $p \leq 0.05$

Таблица 11 – Результаты изучения анальгезирующей активности на модели «уксуснокислые корчи» для производных глутаримида

Группа	R ₁	R ₂	Доза (мг/кг)	Количество корчей за 20 мин.	Латентное время развития, с	УБР, %
Контроль			-	82.30±3.85	336.30±20.18	-
Метамизол натрия	-	-	100	22.3±0.31	998.40±4.02*	72,9
8a	H	H	100	4.11±1.17*#	934±17.14*	95,01
8j	4-OMe	H	100	10.87±1,05	573±12.13*	85,6
8d	2-Cl	H	20	0,37±0,27*#	902±23.56*	100

* Различия с группой «контроль» статистически значимы $p \leq 0.05$

Различия с группой «метамизол натрия» статистически значимы $p \leq 0.05$

Для моделирования «отдергивания хвоста от теплового излучения (tail-flick)» опытным животным внутрибрюшинно вводили исследуемые соединения, препарат сравнения и физиологический раствор за 30 минут до начала эксперимента, болевое раздражение наносили каждой особи на хвост локально, воздействуя постепенно увеличивающимся тепловым излучением (лампа накаливания, 40 Вт). Регистрировали латентный период реакции отдергивания хвоста (время избавления от болевого раздражителя). Анальгезирующую активность оценивали по достоверному увеличению латентного периода реакции (Таблица 12).

Таблица 12 – Влияние исследуемых соединений на болевую чувствительность мышей-самцов на модели оценки химического болевого раздражения – тест «tail-flick»

Группа Латентный период реакции (после введения вещества)	Доза (мг/кг)	Время, сек (от начала воздействия раздражителя)
Латентный период реакции (контроль)	-	18,67±0,63
Латентный период реакции (после введения метамизола натрия)	20,0	23,03±1,47
3a	20,0	22,25±1,15*
3l	20,0	23,81±1,48*
3m	20,0	25,80±1,64*#
3hl	20,0	23,50±1,92*
3p	20,0	26,22±1,78*#
5a	20,0	19,40±0,86
5g	20,0	28,50±0,84*#
5i	20,0	27,60±1,00*#
5l	20,0	24,00±0,96*#
5hm	20,0	28,00±1,07*#
5hl	20,0	22,50±1,15*
5p	20,0	25,30±1,23*#
8a	20,0	22,50±1,03*
8j	20,0	24,16±0,83*
8d	20,0	27,14±1,07*#

* Различия с группой «контроль» статистически значимы $p \leq 0.05$

Различия с группой «метамизол натрия» статистически значимы $p \leq 0.05$

На рисунке 15 приведено графическое изображение результатов эксперимента на модели оценки химического болевого раздражения – тест «tail-flick»

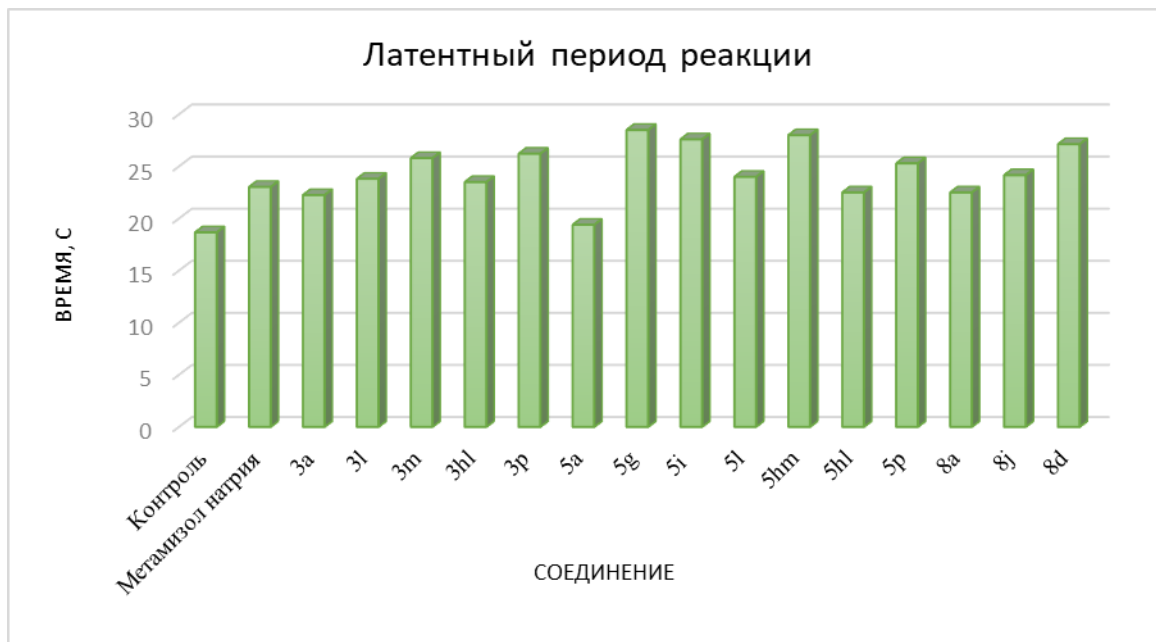


Рисунок 15. Графическое изображение результатов эксперимента на модели оценки химического болевого раздражения – тест «tail-flick»

Установлено, что все анализируемые соединения обладают выраженной анальгезирующей активностью, при этом наибольшая выраженность действия наблюдается при введении электрооакцепторных заместителей у производных фталимида, в частности, у 2-((4-нитрофенил)имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона **5g** и у производных глутаримида, в частности, у 1-(((2-хлорфенил)имино)(фенил)метил)пиперидин-2,6-диона **8d**. Для данных соединений была исследована противовоспалительная активность.

Для экспериментальной оценки противовоспалительной активности были использованы две модели: «формалиновый отек лап мышей» и «ватная гранулема у крыс» [113]. Для моделирования «формалинового отека» использовали белых аутбредных мышей-самцов массой 20 ± 2 г., из которых были сформированы 3 группы по 10 особей в каждой. Особям контрольной группы вводили только 2 % раствор формалина. Животные опытных групп получали исследуемые соединения и препарат сравнения, которые вводили

внутрибрюшинно за 1 час до начала эксперимента. Острый отек вызывали субплантарным введением (под подошвенный апоневроз) 2 % раствора формалина в количестве 0,5 мл каждому животному. Исследуемое соединение вводили внутрибрюшинно в дозе 20 мг/кг в виде суспензии в воде для инъекций с добавкой ДМСО. Препарат сравнения - диклофенак вводили тем же путем в дозе 12.6 мг/кг. Выраженность отека оценивали по изменению толщины лапки (мм) с помощью электронного микрометра до и через 1, 2, 24 и 48 часов после введения раствора формалина. Противовоспалительную активность оценивали по показателю «% угнетения воспаления», рассчитанному по формуле:

$$\% \text{ угнетения воспаления} = \left(1 - \frac{S_1 - S_2}{S_3 - S_4} \right) * 100\%$$

где S_1 - толщина лапки, измеренной через определенный промежуток времени после введения формалина у животного, получавшего исследуемый препарат; S_2 - толщина лапки, измеренной до введения формалина у животного, получавшего исследуемый препарат; S_3 - толщина лапки, измеренной через определенный промежуток времени после введения формалина у контрольного животного; S_4 - толщина лапки до введения формалина у контрольного животного

Для моделирования «ватной гранулемы» брали белых крыс-самок массой 300 ± 20 грамм, из которых были сформированы 3 группы по 5 особей в каждой. Крысам, находящимся под хлоралгидратным наркозом (300 мг/кг), в области спины выбривали шерсть и делали продольный надрез кожи и подкожной клетчатки. Затем пинцетом в подкожной клетчатке формировали полости, в которые помещали стерильные ватные шарики (15 мг) в количестве 5 штук и накладывали швы. Испытуемые вещества в эквимольной концентрации, приготовленные в виде суспензии в воде и препарат сравнения диклофенак в дозе 6.32 мг/кг вводили перорально с помощью зонда 1 раз в сутки в течение 7 дней. Контрольная группа в течение 7 дней перорально получала воду. На 8

день имплантированные шарики с образовавшейся фиброзно-грануляционной тканью извлекали и высушивали до постоянной массы при 60 °С. Противовоспалительную активность оценивали по расчетным величинам массы гранулемы, характеризующим воспаление.

Для 2-([4-нитрофенил]имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона **5g** и 1-(((2-хлорфенил)имино)(фенил)метил)пиперидин-2,6-диона **8d**, как наиболее эффективных, было дополнительно проведено исследование противовоспалительной активности. В ходе экспериментальной оценки было выявлено, что 2-([4-нитрофенил]имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион **5g** обладает выраженной противовоспалительной активностью, действуя как на этапе острого экссудативного воспаления (модель «формалиновый отек»), так и на стадии хронического пролиферативного и иммунного воспаления (модель «ватная гранулема») [114-115]. А также находится на одном уровне с препаратом сравнения (диклофенак) (Таблицы 13, 14). Соединение **8d** имеет слабовыраженную противовоспалительную активность.

Таблица 13 – Результаты оценки противовоспалительной активности на модели «формалиновый отек» лап мышей, n=10

Группа	% угнетения воспаления через 1 час, %	% угнетения воспаления через 2 часа, %	% угнетения воспаления через 24 часа, %	% угнетения воспаления через 48 часов, %
Диклофенак	9,1±2,86	28,93±5,16	48,88±3,38	67,84±4,05
Исследуемое соединение 5g	8,08±9,88	28,59±9,02*	47,28±4,83*	67,64±5,63*
Исследуемое соединение 8d	5,01±3,12	18,11±4,02*	24,28±9,59*	31,27±3,13*

* Статистически значимых различий с группой «диклофенак» нет

Таблица 14 – Результаты оценки противовоспалительной активности на модели «ватная гранулема» у крыс, n=5

Группа животных	Масса гранулемы, г		Масса грануляционной ткани, г	
	сырая (M ₁)	сухая (M ₂)	экссудативная фаза (M ₁ -M ₂)	пролиферативная фаза (M ₂ -M _ш)
Контроль	0,2961±0,0116	0,0730±0,0039	0,2231±0,0093	0,0578±0,0036
Диклофенак	0,2476±0,0127*	0,0552±0,0065*	0,1924±0,0069*	0,0400±0,0061*
Исследуемое соединение 5g	0,2479±0,0083*#	0,0575±0,0050*#	0,1905±0,0043*#	0,0422±0,0049*#
Исследуемое соединение 8d	0,2539±0,0099*#	0,0605±0,0061*#	0,1933±0,0043*#	0,0455±0,0021*#

M_ш – масса шарика (0,015 г); * Различия с группой «контроль» статистически значимы при $p \leq 0,05$; # Статистически значимых различий с группой «диклофенак» нет

По результатам оценки противовоспалительной активности, установлено, что наибольшей выраженностью противовоспалительного действия на моделях «формалиновый отек» и «ватная гранулема» обладает 2-({4-нитрофенил}имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион **5g** [114-115].

4. Разработка первичного стандартного образца

4.1. Разработка подходов к аттестации первичных стандартных образцов

На данный момент имеется сравнительно немного работ по аттестации первичных стандартных образцов фармацевтических субстанций. Наиболее важные рекомендации по аттестации стандартных образцов приведены в Государственной Фармакопее Российской Федерации [116]. Нами было решено разработать собственный подход к аттестации первичного стандартного образца на примере представителя ряда сукцинимидов. Разработка новых

биоактивных молекул является актуальным вопросом развития сферы здравоохранения. При этом одним из ключевых аспектов является комплексность подхода к процессу разработки, в частности, синтез потенциальных биоактивных молекул должен иметь аналитическое сопровождение с целью анализа качества сырья для дальнейшей оптимизации схемы синтеза, а также для проведения доклинических исследований [117-118]. Обзор фармакопейных статей позволяет сделать заключение, что для установления подлинности, анализа чистоты и количественного определения субстанций преимущественно используются такие методы, реализация которых предусматривает использование стандартных образцов.

Вещество, принимаемое в качестве первичного стандартного образца, должно быть охарактеризовано с помощью различных физических и физико-химических методов анализа. Первостепенной задачей является доказательство подлинности структуры, что, согласно ЕР, возможно с помощью: спектрометрии ядерного магнитного резонанса (ЯМР), масс-спектрометрии, элементного анализа и спектрофотометрии в инфракрасной области. В перечне методов отсутствует рентгеноструктурный анализ (РСА), что, по нашему мнению, является альтернативным и однозначным способом подтверждения подлинности (структуры). После подтверждения структуры образец количественно оценивают на наличие неорганических и родственных органических примесей, а также на содержание воды и остаточных органических растворителей. Наиболее специфичным и чувствительным методом определения родственных примесей по праву считается метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Однако в случае применения УФ-детектора важно понимать, что в субстанции могут присутствовать органические примеси, не поглощающие УФ-излучение, в силу чего необходимо проводить анализ количественного определения основного вещества в субстанции прямым методом.

Нами было решено разработать собственную методологию аттестации первичного стандартного образца на примере 1-(фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-диона **3a**. Данное соединение было выбрано, как наиболее простое с точки зрения дополнительной наработки для отработки методик аттестации.

Объект анализа - 1-(фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-дион **3a** - кристаллический порошок светло-бежевого цвета без запаха, легко растворимый в диметилсульфоксиде, умеренно растворимый в этиловом спирте, нерастворимый в воде.

Брутто-формула: $C_{17}H_{14}N_2O_2$; т.пл. 172-174 °С. Исследование спектральных характеристик в УФ-диапазоне электромагнитного излучения показало, что соединение **3a** имеет максимум поглощения при 257 ± 2 нм и характерное плечо в диапазоне $(302-320) \pm 2$ нм (Рисунок 16).

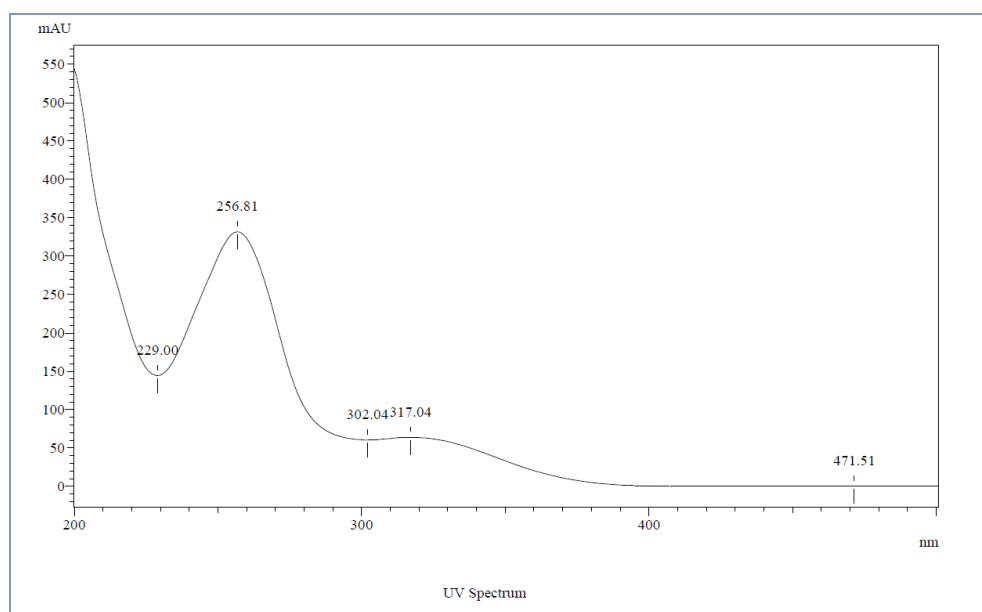


Рисунок 16. УФ-спектр соединения **3a**

4.1.1. Определение значения аттестуемой величины

Определение подлинности структуры методами ЯМР-спектроскопии и РСА-анализа описано в разделе 2.4.

HPLC-ESI/MS анализ

В ходе анализа испытуемого образца получено значение молекулярной массы молекулярного иона (279,20 г/моль) и его изотопное распределение (Рисунок 17), что согласуется с расчетными данными, полученными с помощью программы ChemDraw для молекулярного иона $C_{17}H_{14}N_2O_2$ $[M+H]^+$.

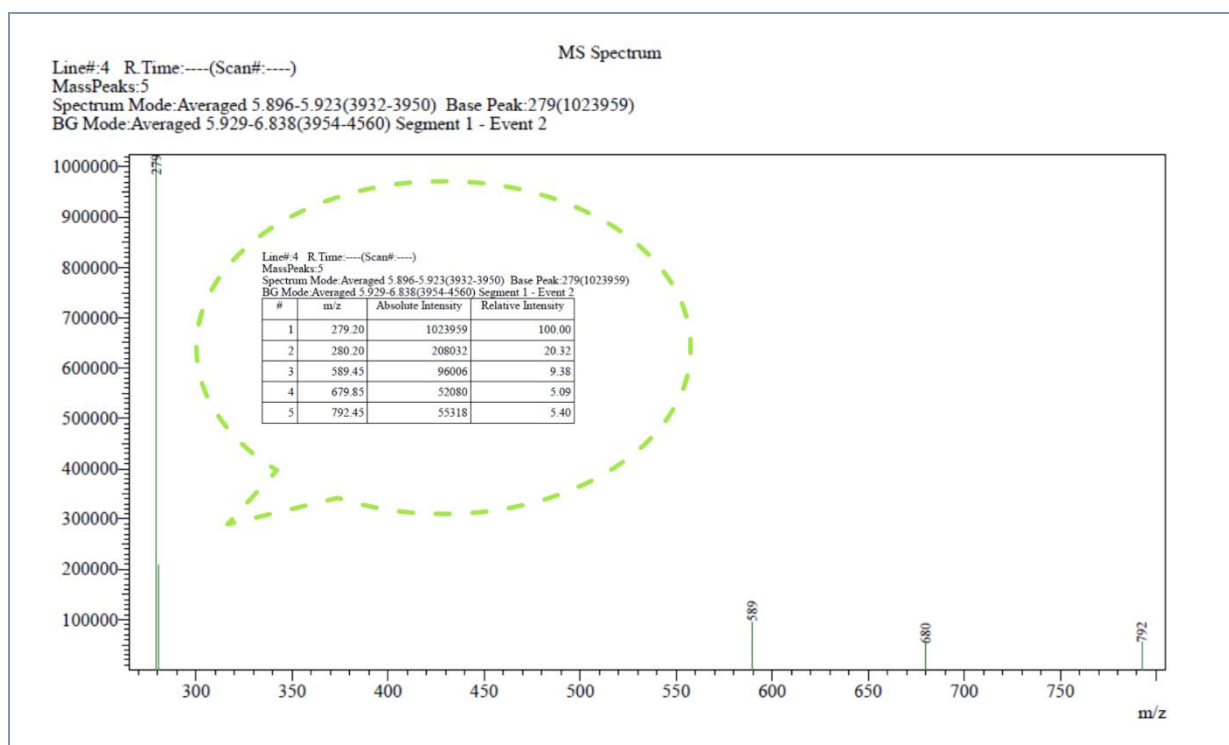


Рисунок 17. Масс-спектр соединения **3a** (ESI⁺) detection at SCAN 100-400 m/z

Анализ спектроскопии в инфракрасной области

ИК-спектр **3a** характеризуется следующими основными частотами поглощения: 3477 cm^{-1} overtone (C=O); 3065 – 2947 cm^{-1} ν (C-H); 1724 cm^{-1} ν (C=O); 1630 ν (C=N); 1341 cm^{-1} δ (-CH₂-), 1177 cm^{-1} δ (C-H); 729 cm^{-1} δ (C-H) (Рисунок 18).

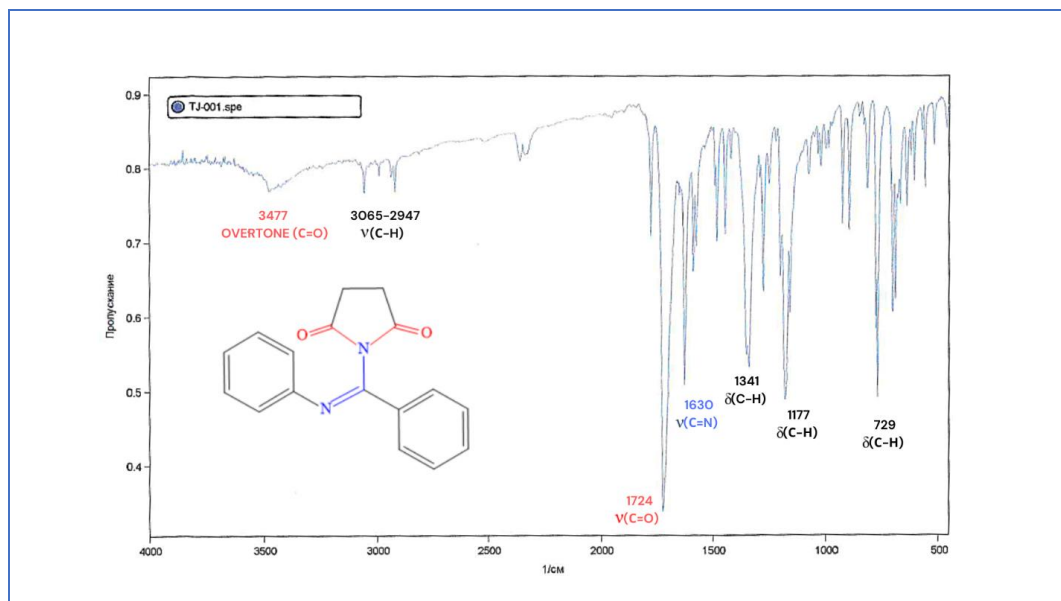


Рисунок 18. ИК-спектр соединения **3a** (KBr, ν_{\max} , cm^{-1})

Анализ образца 3a по показателю «Родственные примеси» методом ВЭЖХ

Исходя из схемы синтеза и структуры анализируемой субстанции предполагается наличие следующих посторонних примесей:

- примесь исходного соединения **2** (янтарная кислота). Янтарная кислота хорошо растворима в воде, спирте, ацетоне, нерастворима в толуоле. Имеет максимум поглощения при длине волны 208 ± 2 нм. Умеренно опасна (перорально для крыс $LD_{50} = 2260$ мг/кг). При исследовании нескольких серий испытуемых образцов примесь янтарной кислоты не была обнаружена вследствие выделения субстанции **3a** из водного раствора.

- примесь исходного соединения **1a** (*N*-фенилбензамидин (NPB)). NPB нерастворим в воде, растворим в этиловом спирте при нагревании. Имеет максимум поглощения при длине волны 234 ± 2 нм. Умеренно токсичен (внутрибрюшинно для крыс $LD_{50} = 76,2$ мг/кг), поэтому данную примесь необходимо контролировать. В ряде серий неочищенной субстанции **3a** (до перекристаллизации из спирта этилового) было выявлено содержание примеси NPB в пределах от 0,05 до 0,15 %.

На рисунках 19 и 20 представлены хроматограммы очищенной субстанции **3a**, полученной после перекристаллизации из спирта этилового при длинах волн 234 и 257 нм. Как видно из приведенных хроматограмм, пики примесей в описанных условиях не обнаружены.

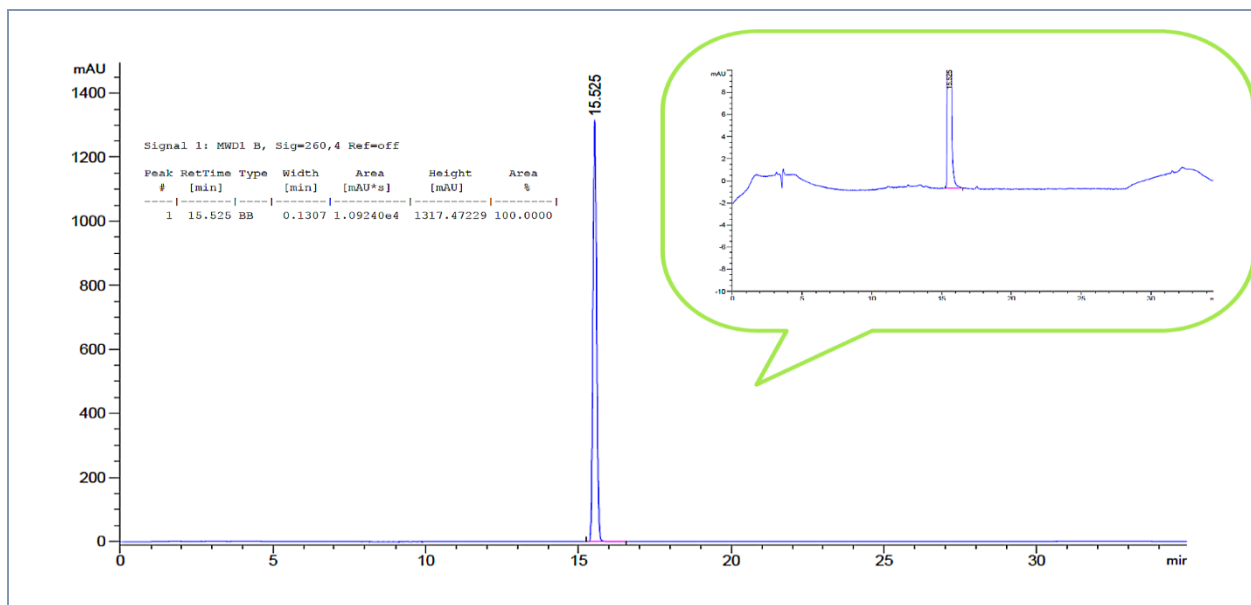


Рисунок 19. Хроматограмма испытуемого образца **3a** при длине волны 257 нм.
Фаза: 0,15 % раствор муравьиной кислоты (А)/ацетонитрил (В)

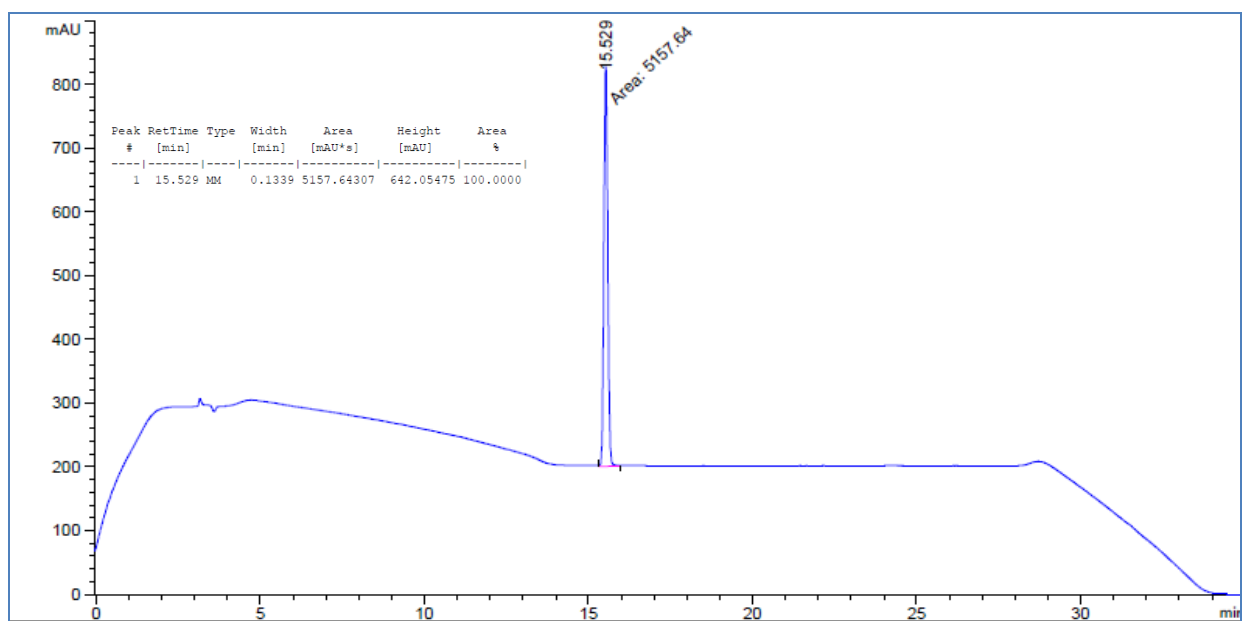


Рисунок 20. Хроматограмма испытуемого образца **3a** при длине волны 234 нм.
Подвижная фаза: 0,15 % раствор муравьиной кислоты (А)/ацетонитрил (В)

В ходе анализа образца **За** по показателю «Родственные примеси» записывали хроматограмму растворителя проб (ацетонитрил) в двух повторностях с объемом инъекции 6 мкл, хроматограмму раствора СО примеси NPВ с концентрацией равной пределу обнаружения при 234 нм в шести повторностях с объемом инъекции 6 мкл и испытуемый раствор **За** для анализа по показателю «Родственные примеси» в шестикратной повторности с объемом инъекции 6 мкл. По шести хроматограммам рассчитывали стандартное отклонение площадей пиков испытуемого раствора и раствора СО примеси NPВ с концентрацией равной пределу обнаружения и неопределенность предела обнаружения примеси NPВ (Таблица 17).

*Анализ образца **За** по показателю «Количественное определение» методом Кьельдаля*

Значение содержания основного вещества в субстанции определяли по результатам титрования 6 проб. По результатам анализа находили среднее значение и рассчитывали величину % RSD, которое не должно превышать 0,35 %. Результаты исследования приведены в таблице 15.

Таблица 15 - Результаты анализа **За** по показателю «Количественное определение» методом Кьельдаля

№ пробы	Масса навески, мг	Объем титранта, мл	Результат (Р), %	Статистическая обработка
1	198,2	12,9	99,7	$\bar{P}=99,7\%$
2	203,2	12,7	99,5	SD=0,22
3	196,8	12,9	100,1	RSD=0,2 %
4	200,3	12,8	99,5	
5	203,2	12,7	99,7	
6	199,9	12,8	99,8	

*Присвоение значение содержания основного вещества в субстанции **За***

Расчет содержания основного вещества в субстанции 3а и расчет неопределенностей метода «баланса масс»

Результаты анализа субстанции **3а** по показателям «Родственные примеси», «Остаточные органические растворители», «Вода», «Сульфатная зола» значений представлены в таблице 16.

Таблица 16 - Результаты анализа субстанции **3а** по показателям «Родственные примеси», «Остаточные органические растворители», «Вода», «Сульфатная зола»

Показатель	Результат анализа, %
Родственные примеси	Не обнаружено
Остаточные органические растворители (хлороформ, этиловый спирт)	0,08
Вода	0,06
Сульфатная зола	0,03

Содержание основного вещества в субстанции методом «баланса масс» вычисляли по формуле [119-120]:

$$P_{Att} = 100 - X_{InorSub} - X_{RelSub} - X_W - X_S \quad (1), \text{ где}$$

P_{Att} – содержание основного вещества в субстанции;

X_{RelSub} – содержание родственных органических примесей в субстанции;

$X_{InorSub}$ – содержание неорганических примесей в субстанции;

X_W – содержание воды в субстанции;

X_S – содержание остаточных органических растворителей в субстанции;

Результаты расчета неопределенностей значений для метода баланса масс представлены в таблице 17.

Таблица 17 - Результаты расчета неопределенностей значений для метода баланса масс

Показатель	Неопределенность, %	Обозначение
Родственные примеси	0,17	$U(X_{RelSub})$
Предел обнаружения примесей	0,003	$U(LOD)$
Остаточные органические растворители	0,19	$U(X_S)$
Вода	0,17	$U(X_W)$
Сульфатная зола	0,04	$U(X_{InorSub})$

Комбинированную неопределенность содержания основного вещества в субстанции рассчитывали по формуле:

$$U(X_{Att}) = \sqrt{U(X_{RelSub})^2 + U(X_W)^2 + U(X_S)^2 + U(X_{InorSub})^2 + U(LOD)^2} \quad (2), \text{ где}$$

$U(X_{Att})$ – комбинированная неопределенность содержания основного вещества в субстанции;

$U(X_{RelSub})$ – неопределенность определения органических примесей;

$U(X_W)$ – неопределенность определения содержания воды в субстанции;

$U(X_{InorSub})$ – неопределенность определения неорганических примесей;

$U(X_S)$ - неопределенность определения остаточных органических растворителей;

$U(LOD)$ - неопределенность предела обнаружения при определении содержания родственных примесей;

Согласно формулам 1 и 2 было рассчитано содержание основного вещества в субстанции и найдена неопределенность полученного значения. Содержание основного вещества в субстанции **3а** составило $99,7 \pm 0,2$ %.

*Оценка эквивалентности результатов определения содержания основного вещества в субстанции **За**, полученных методом «баланса масс» и титрованием по методу Кьельдаля*

Для сравнения двух средних значений, полученных методом «баланса масс» и титрованием по методу Кьельдаля рассчитывали t-критерий Стьюдента $t_a < t_{\text{табл}} = 2,18$ (P=95 %, n=12) и F-критерий Фишера $F < F_{\text{табл}} = 5,05$ (P=95 %, (f=n-1) $f_1=5$; $f_2=5$). Значения обоих критериев были меньше табличных $F=1,00$; $t_a=0,83$.

Согласно полученным результатам, значения определения содержания основного вещества в субстанции **За**, полученных методом «баланса масс» и титрованием по методу Кьельдаля признаются эквивалентными [121].

4.1.2 Валидация методики количественного определения основного вещества методом ВЭЖХ

Линейность и линия градуировки [122-124]

Линия градуировки и результаты хроматографирования калибровочных растворов для исследования линейности представлены на рисунке 21 и в таблице 18.

Таблица 18 - Результаты хроматографирования калибровочных растворов для исследования линейности

Концентрация, мг/мл	Площадь, mAU*s	R	b	a	Δa	t
0,05	422	0,9994	7724	-4,436	111,0	0,1
0,10	788,1					
0,25	1861					
0,40	3073					
0,45	3471					
0,50	3799					

Концентрация, мг/мл	Площадь, mAU*s	R	b	a	Δa	t
0,55	4226					
0,60	4725					

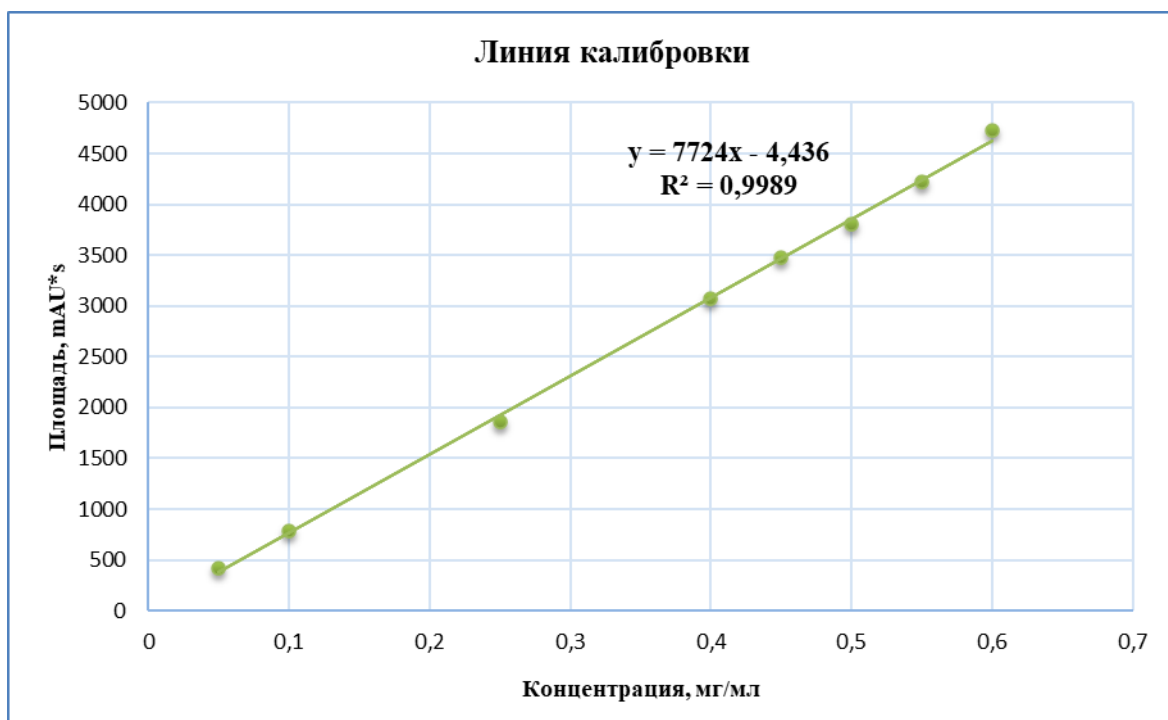


Рисунок 21. Калибровочная прямая исследования линейности методики

В качестве дополнительных критериев для оценки линейности, согласно рекомендациям ИСН, дополнительно был построен график остатков, а также, так называемый, «график чувствительности» (график зависимости отношения площади пиков к концентрации от концентрации) (Рисунки 22-23).



Рисунок 22. График остатков

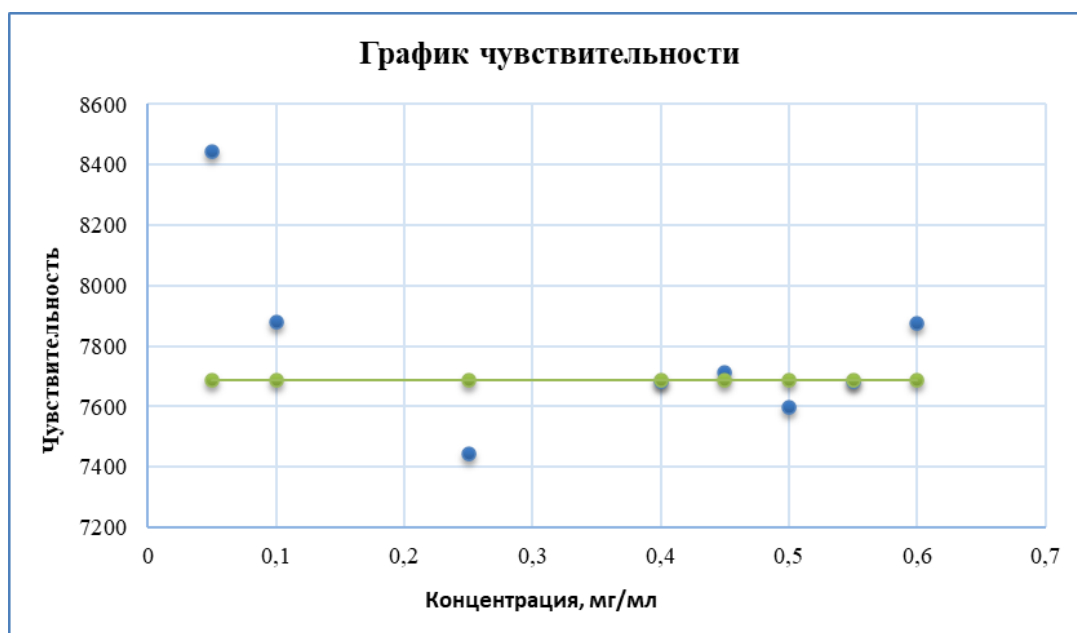


Рисунок 23. График чувствительности

Из рисунков 22-23 и таблицы 18 видно, что наблюдается линейная зависимость между концентрацией Z_a и площадью пика при коэффициенте корреляции более 0,998. Расчетные значения t_a , полученные из уравнений линейной регрессии в диапазоне концентраций от 0,05 до 0,6 мг/мл, менее табличного значения, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки количественного определения.

Специфичность

На хроматограммах растворителя проб (бланк-раствор) отсутствуют системные пики с временами удерживания пиков **3а**. На хроматограммах стресс-тестирования разрешение между пиком основного вещества и пиком наиболее близко расположенной примеси составляет более 1.5, что соответствует заданным критериям приемлемости.

Прецизионность

По полученным результатам при исследовании сходимости было рассчитано % RSD средних результатов количественного определения **3а** в субстанции, которое не должно превышать 2,0 %. Результаты исследования сходимости валидируемой методики на трех уровнях концентрации приведены в таблице 19.

Таблица 19 – Результаты исследования сходимости валидируемой методики на трех уровнях концентрации.

№ испытуемого раствора	Сходимость при концентрации 0,40 мг/мл (80 %)	Сходимость при концентрации 0,50 мг/мл (100 %)	Сходимость при концентрации 0,60 мг/мл (120 %)
	Площадь, мАУ*s		
1	3081,2	3841,1	4673,6
2	3067,9	3849,4	4595,3
3	3057,0	3783,0	4724,0
4	3062,3	3816,7	4718,7
5	3080,0	3738,5	4698,5
6	3087,5	3766,6	4714,9
Среднее значение	3072,7	3799,2	4687,5
SD	12,02	43,7	48,7

№ испытуемого раствора	Сходимость при концентрации 0,40 мг/мл (80 %)	Сходимость при концентрации 0,50 мг/мл (100 %)	Сходимость при концентрации 0,60 мг/мл (120 %)
	Площадь, мАУ*s		
RSD, %	0,39	1,15	1,04

Из таблицы 19 видно, что заданный критерий приемлемости выполняется и можно сделать заключение о сходимости валидируемой методики.

Правильность

Результаты испытаний модельных растворов стандартного образца **За** в концентрациях 0,40 мг/мл, 0,50 и 0,60 мг/мл представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Результаты испытаний модельных растворов при изучении правильности методики.

№ испытуемого раствора	Взято*, мг/мл	Площадь, мАУ*s	Найдено, мг/мл	Открываемость $\frac{[\text{найдено}]}{[\text{взято}]} \times 100\%$
1	0,399	3067,9	0,398	99,6
2	0,399	3062,3	0,397	99,5
3	0,399	3080,0	0,399	100,0
4	0,499	3841,1	0,498	99,8
5	0,499	3783,0	0,490	98,3
6	0,499	3816,7	0,495	99,1
7	0,599	4673,6	0,606	101,1
8	0,599	4595,3	0,596	99,5
9	0,599	4714,9	0,611	102,0
Среднее значение открываемости				99,9±1,05

* - с учетом аттестованного значения содержания основного вещества в стандартном образце **3а**.

Из таблицы 20 видно, что истинные значения концентраций модельных растворов лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних результатов анализов, полученных в ходе эксперимента, что свидетельствует о высокой степени достоверности результатов.

Устойчивость

Оценка проводится по критерию относительной разности результата:

$$X = \frac{|X_1 - X_{изм}|}{X_1} * 100 \%, \text{ где}$$

X_1 - результат, полученный по валидируемой методике;

$X_{изм}$ - результат, полученный по измененной методике

Результаты испытаний по критерию «Устойчивость» представлены в таблице 21.

Таблица 21 – Результаты испытаний по критерию «Устойчивость».

Условие		Параметр	$X_{изм}$	X, %
Скорость потока, мл/мин	0,9	Eff	83933	1,9
		K'	3,22	0,3
		S	3897,9	0,3
	1,1	Eff	86689	1,4
		K'	3,24	0,3
		S	3905,5	0,1
рН подвижной фазы	2,4	Eff	84951	0,7
		K'	3,23	0,0
		S	3915,0	0,1
	2,6	Eff	85178	0,0
		K'	3,23	0,0
		S	3931,1	0,5

Условие		Параметр	X _{изм}	X, %
Температура колонки, °С	36	Eff	83843	2,0
		K'	3,20	0,9
		S	3941,8	0,8
	44	Eff	85977	0,5
		K'	3,24	0,3
		S	3895,0	0,4

Eff – эффективность; K' -фактор емкости; S- площадь пика.

Из результатов, приведенных в таблице 21, можно сделать вывод об устойчивости методики. Относительные отклонения для каждого параметра не превышают 2,0 %.

Диапазон применения методики

Диапазон концентраций, в пределах которого методика обеспечивает требуемую линейность, правильность и прецизионность, составил от 0,40 мг/мл до 0,60 мг/мл, что следует из соответствия показателей «Линейность», «Правильность» и «Прецизионность» предписанным критериям приемлемости.

Стабильность растворов

Результаты изучения стабильности испытуемого раствора с концентрацией 0,5 мг/мл в течение 72 часов хранения при температуре окружающей среды приведены в таблице 22.

Таблица 22 - Результаты изучения стабильности испытуемого раствора с концентрацией 0,5 мг/мл в течение 72 часов хранения при температуре окружающей среды

Время хранения, ч	Площадь, MAU*s	Содержание*, %	Допустимый диапазон
0	3849,0	99,8	98,0-102,0 %
12	3908,5	101,3	

Время хранения, ч	Площадь, мАУ*s	Содержание*, %	Допустимый диапазон
24	3875,0	100,5	
48	3941,8	102,2	
72	3992,0	103,5	

* - с учетом аттестованного значения содержания основного вещества в стандартном образце **3а**

В ходе анализа было определено, что испытуемые растворы стабильны в течение 24 часов.

По методу «баланса масс» был аттестован первичный стандартный образец 1-(фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-диона **3а**, который проявляет выраженную анальгезирующую активность, действуя при боли, вызванной химическими раздражителями-альгогенами (модель перитовисцеральной боли). Разработана и валидирована методика количественного определения основного вещества **3а** методом ВЭЖХ, которая может использоваться для контроля качества субстанции при дальнейших полных доклинических и клинических исследованиях [121].

4.2. Аттестация первичного стандартного образца 2-({[4-нитрофенил]имино}(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона **5g**

2-({[4-нитрофенил]имино}(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион **5g** (Рисунок 24) обладает выраженными анальгезирующим и противовоспалительным действиями [114-115] и, вместе с тем, низкой токсичностью ($LD_{50}=2000$ мг/кг), что позволяет рассматривать его в качестве потенциального лекарственного кандидата.

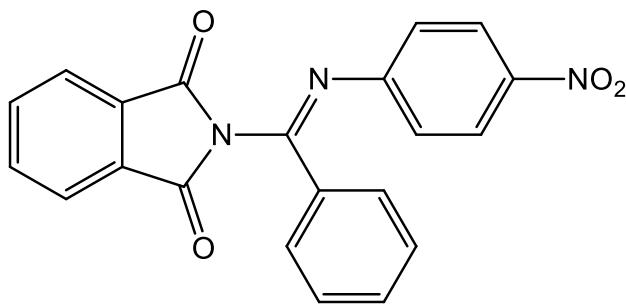


Рисунок 24. Структурная формула 2-((4-нитрофенил]имино}(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона **5g**

Доказательство структуры было выполнено несколькими методами. Однозначное доказательство выполнено с помощью рентгеноструктурного анализа.

Кристаллы $C_{21}H_{13}N_3O_4$ ($M = 371.34$) моноклинные, пространственная группа $P2_1/n$, при 100(2) К: $a = 9.9256(4)$, $b = 16.4132(7)$ и $c = 10.6743(4)$ Å, $\beta = 96.290(4)^\circ$, $V = 1728.49(12)$ Å³, $Z = 4$, $d_{calc} = 1.427$ g/cm³, $\mu = 0.840$ mm⁻¹, $F(000) = 768.0$. Измерено 7649 отражений и при дальнейшем уточнении использовано 3177 независимых отражений ($R_{int} = 0.0193$). Итоговый R_1 составил 0.0399 ($I \geq 2\sigma(I)$) и wR_2 составил 0.1023 (все данные). CCDC 2184644 содержит дополнительные кристаллографические данные (Рисунок 25).

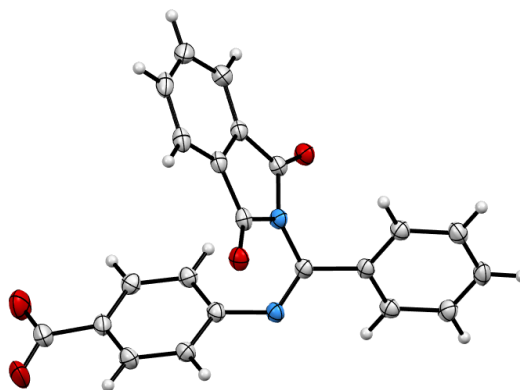


Рисунок 25. Рентгеноструктурный анализ соединения **5g**

Также строение было доказано методом ЯМР-спектроскопии. В спектре ЯМР ¹H полученного соединения в ДМСО-*d*₆ (400 МГц) присутствуют сигналы протонов бензольных колец фрагмента *N*-(4-

нитрофенил)бензолкарбоксимидамида (δ 8.17 (d, 2H, $J=7.8$ Гц); 8.05 (d, 2H, $J=7.8$ Гц); 7.68 (t, 1H, $J=7.5$ Гц); 7.55 (t, 2H, $J=7.7$ Гц); 7.06 (d, 2H, $J=7.8$ Гц) и сигналы протонов бензольного кольца фрагмента фталевого ангидрида 7.90 (m, 4H) (Рисунок 26).

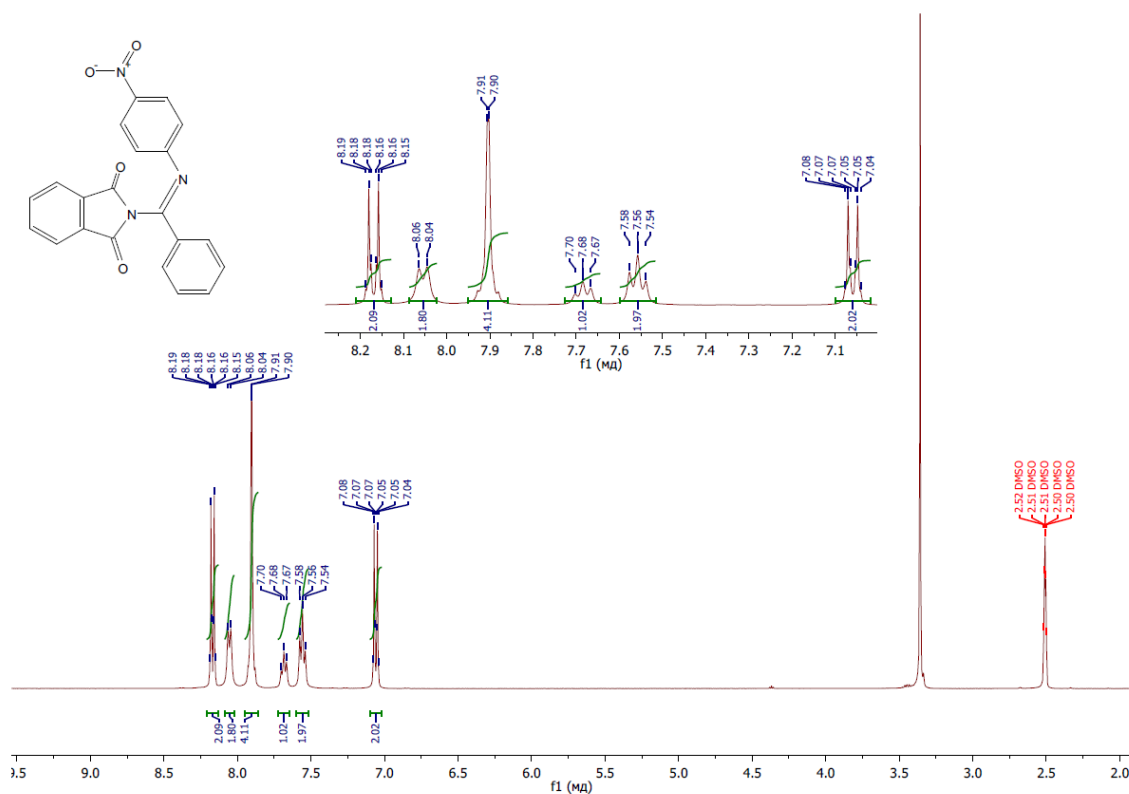


Рисунок 26. ^1H ЯМР спектр в $\text{DMSO}-d_6$ (400 МГц)

Спектр ЯМР ^{13}C соединения характеризуется сигналами ядер углерода бензольных колец (125.33, 125.40, 129.56, 130.15, 134.06, 134.37, 135.82, 138.45, 140.75, 149.42, 153.14 м.д.), карбонильных атомов углерода фталимидного цикла (170.74 м.д.) и атома углерода, связанного с иминогруппой (158.65 м.д.) (Рисунок 27).

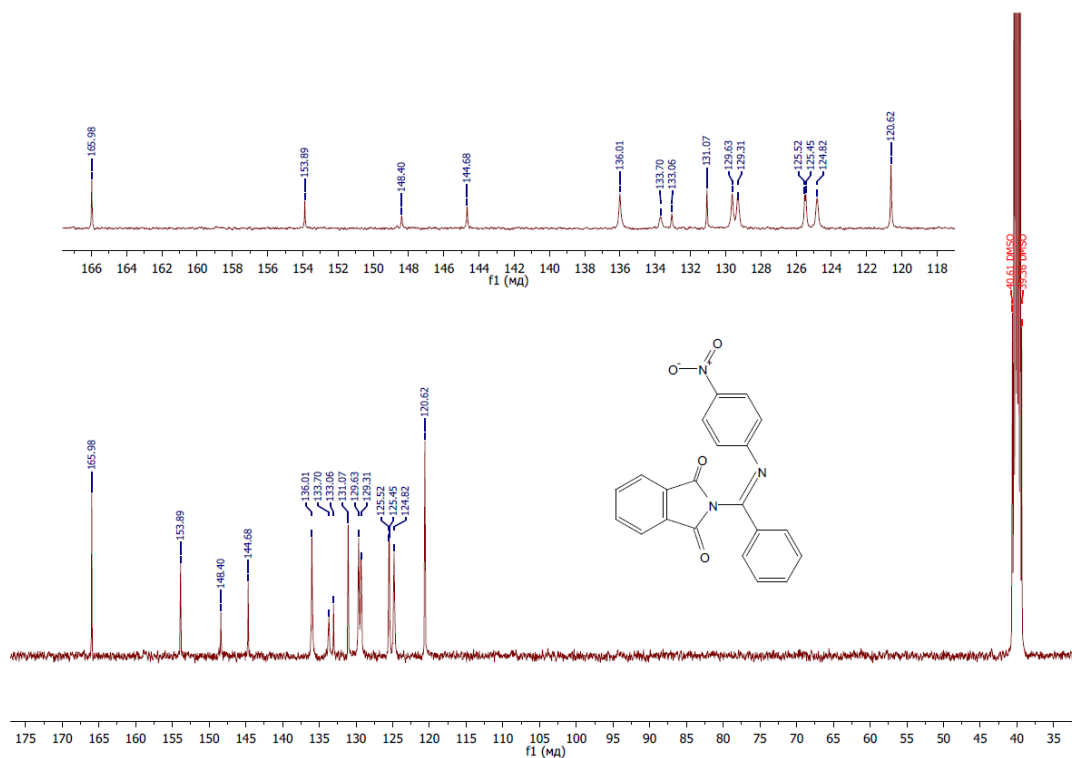


Рисунок 27. ^{13}C ЯМР спектр в $\text{DMSO-}d_6$ (100 МГц)

Характерная расщепление и химические сдвиги, представленные на рисунках 26-27 подтверждают структуру **5g**.

Также строение было доказано методом ИК-спектроскопии. ИК-спектр **5g** характеризуется следующими основными частотами поглощения (KBr , ν_{max} , cm^{-1}): 3445 overtone (C=O); 2924 $\nu(\text{C-H})$; 1732 $\nu(\text{C=O})$; 1639 $\nu(\text{C=N})$; 1334 $\delta(\text{C-H})$, 1103 $\delta(\text{C-H})$; 721 $\delta(\text{C-H})$.

В ходе анализа испытуемого образца методом масс-спектрометрии, получено значение молекулярной массы молекулярного однозарядного иона $[\text{M}+\text{H}]^+=372.39$, что согласуется с расчетными данными, полученными с помощью программы ChemDraw для молекулярного иона $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ (372.10).

Анализ по показателю «Остаточные органические растворители»

Методом газовой хроматографии было установлено содержание остаточных органических растворителей – о-ксилола и этанола. Пригодность хроматографической системы оценивали по следующим критериям:

разрешение между соседними пиками органических растворителей на хроматограмме стандартного раствора – не менее 1,2; эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику каждого растворителя на хроматограмме стандартного раствора – не менее 10000 теоретических тарелок; фактор асимметрии пика каждого органического растворителя на хроматограмме стандартного раствора – не более 2,0; отношение сигнал-шум для пика каждого растворителя на хроматограмме раствора для оценки чувствительности хроматографической системы – не менее 10;

Хроматограмма испытуемого раствора представлена на рисунке 28. Хроматографические параметры пиков приведены в таблице 23.

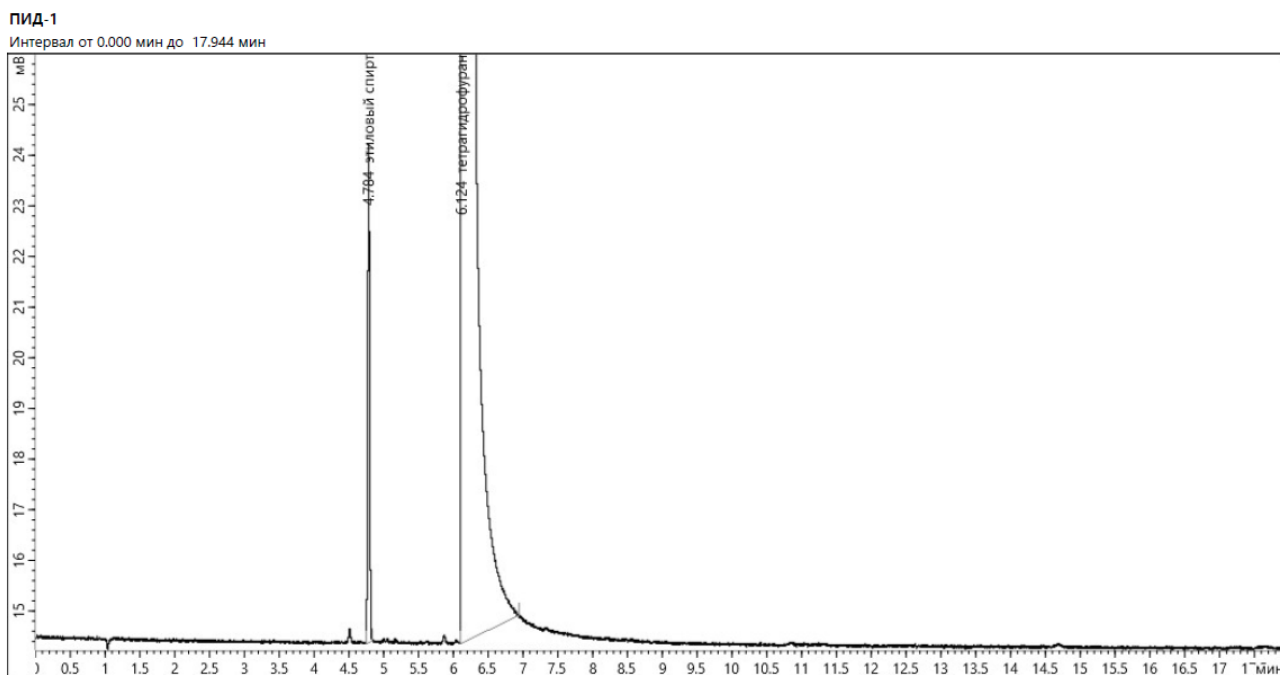


Рисунок 28. Хроматограмма при анализе раствора испытуемого образца по показателю «Остаточные органические растворители»

Таблица 23 – Хроматографические параметры анализа испытуемого раствора по показателю «Остаточные органические растворители» методом ГХ

Параметры пиков						
Компонент	Время (мин)	Площадь, mV*s	Высота, mV	ЧТТ	Асимметрия	Сигнал/шум
Этиловый спирт	4,784	18,612	9,823	144191	1,05	152
Тетрагидрофуран	6,124	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

По результатам анализа содержания остаточных органических растворителей было найдено, что содержание этилового спирта составляет 0,19 %, содержание о-ксилола - ниже предела обнаружения методики, следовательно, этим значением можно пренебречь.

Анализ по показателю «Родственные примеси»

После подтверждения пригодности хроматографической системы был проведен анализ испытуемого образца. На рисунке 29 представлена репрезентативная хроматограмма субстанции **5g**, полученной после перекристаллизации из спирта этилового.

Хроматографические параметры пиков приведены в таблице 24.

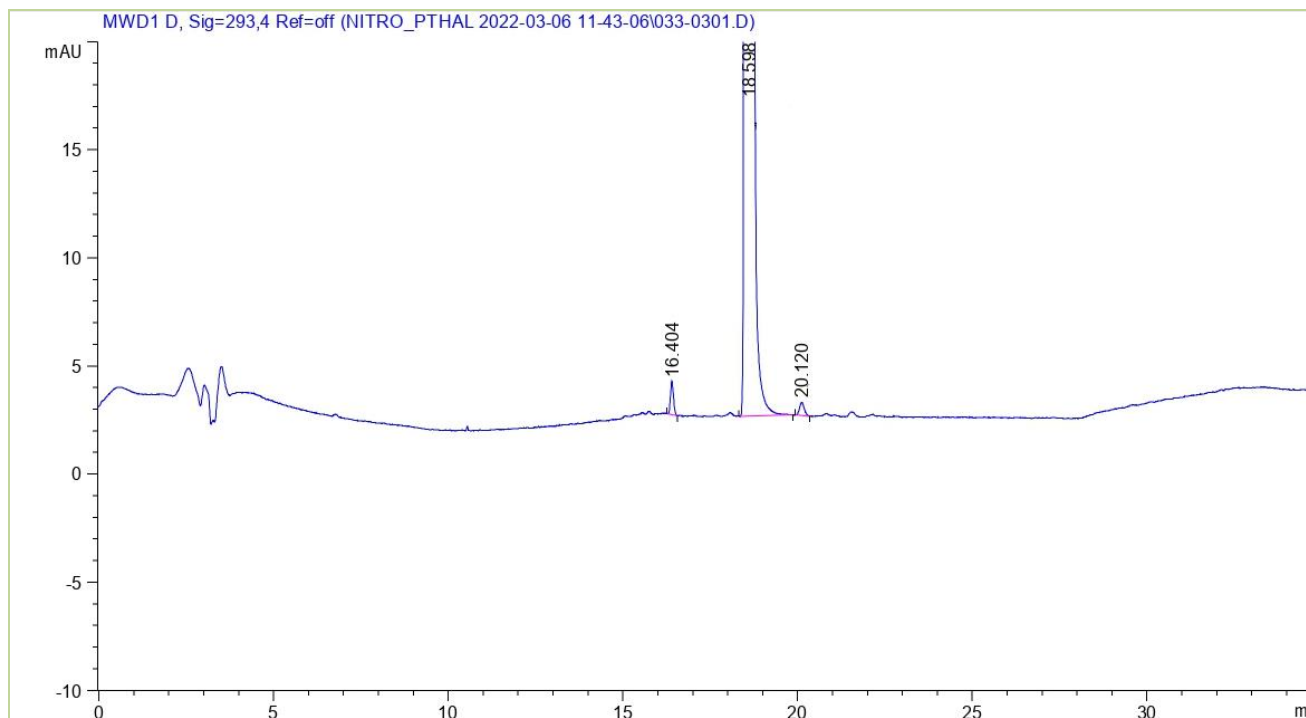


Рисунок 29. Хроматограмма при анализе раствора испытуемого образца по показателю «Родственные примеси» методом ВЭЖХ

Таблица 25 – Хроматографические параметры анализа испытуемого раствора по показателю «Родственные примеси» методом ВЭЖХ

Параметры пиков							
№ пика	Время удерживания (мин)	Площадь, мAU*s	Высота, мAU	Площадь, %	Симметрия	ЧТТ	Разрешение
1	16,404	9,34010	1,53778	0,0702	0,85	163280	-
2	18,598	1,32903e4	1657,5355	99,8857	0,79	120176	11,62
3	20,120	5,86229	6,1951e-1	0,0441	0,79	104236	6,55

Анализ данных рисунка 29 и таблицы 25 позволил установить в субстанции наличие двух примесей с временами удерживания (RT) 16,404 мин и 20,120 мин, общее содержание которых, рассчитанное по методу нормализации, составило 0,11 %.

Для подтверждения пригодности применяемой методики исследования была проведена ее валидационная оценка.

Валидация методики анализа по показателю «Родственные примеси» (предельное содержание) [125]

При валидации методики определения родственных примесей, в ходе аттестации стандартных образцов, необходимо наличие стандартных образцов каждой единичной примеси с целью их количественной оценки. Как видно из хроматограмм, в аттестуемом образце присутствуют две примеси с содержанием менее 0,1 % каждой. В данном случае, хроматографическая чистота образца близка к 100,0 % и сумма содержания примесей меньше предполагаемой комбинированной неопределенности метода баланса масс. При этом, при использовании стандартных образцов примесей и количественного определения каждой примеси методом внешнего стандарта, неопределенность хроматографического определения будет состоять из неопределенностей каждого стандартного образца и неопределенности пробоподготовки с многократным разведением. Получаемая неопределенность будет значительно выше неопределенности, полученной при расчете содержания примесей методом нормализации по основному веществу. В силу этого, наиболее целесообразным является применение метода нормализации для оценки примесей при их содержании менее 0,1 % каждой.

Специфичность доказывали отсутствием системных пиков с временами удерживания пиков основного вещества на хроматограммах растворителя проб (бланк-раствор) и на хроматограммах испытуемого вещества после проведения принудительной деградации растворов методами кислотного гидролиза и окисления перекисью водорода (Рисунки 30-31). Разрешение между пиком основного вещества и пиком наиболее близко расположенной примеси составило более 1.5.

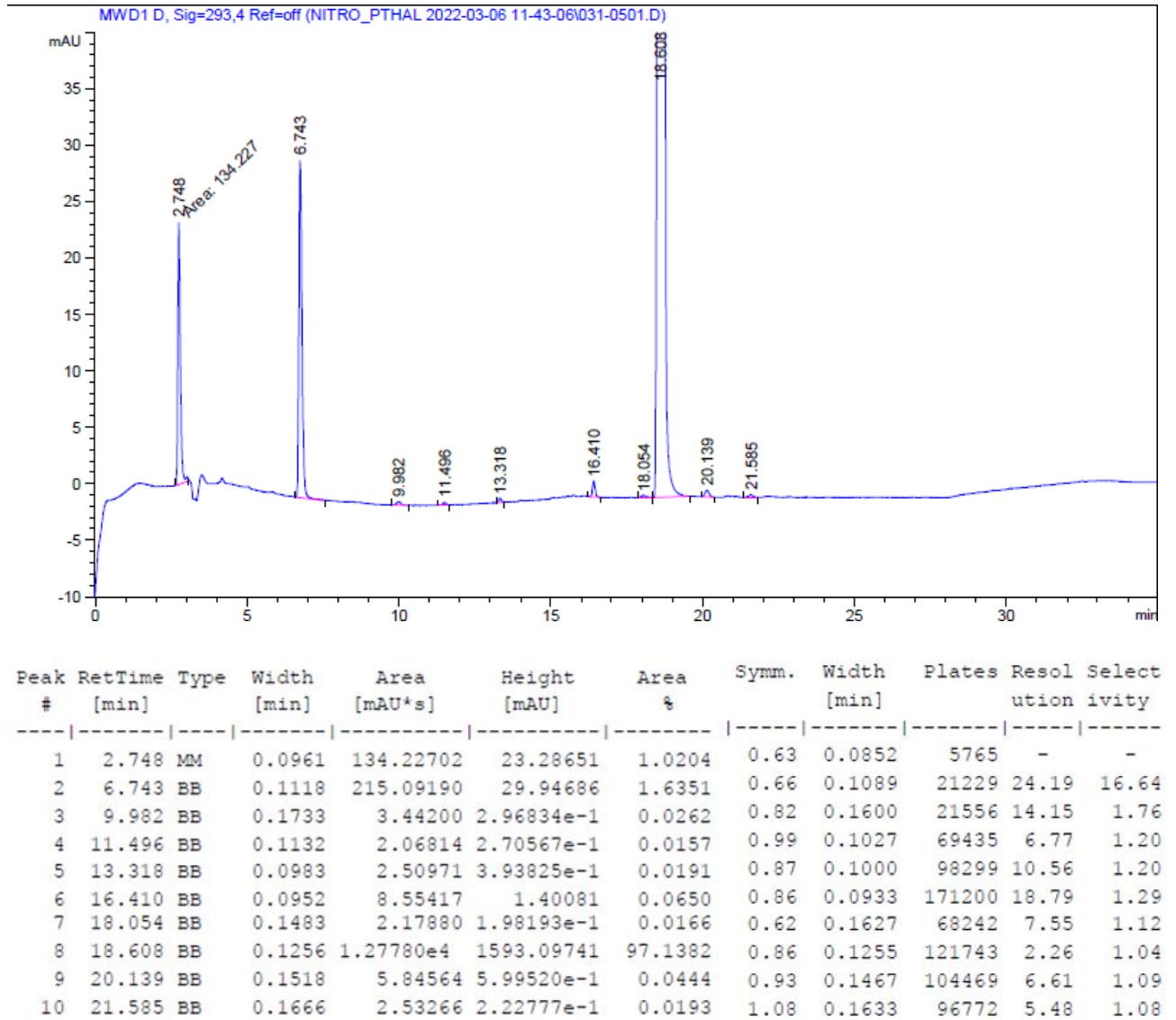


Рисунок 30. Хроматограмма и параметры пиков раствора испытуемого образца после окисления перекисью водорода

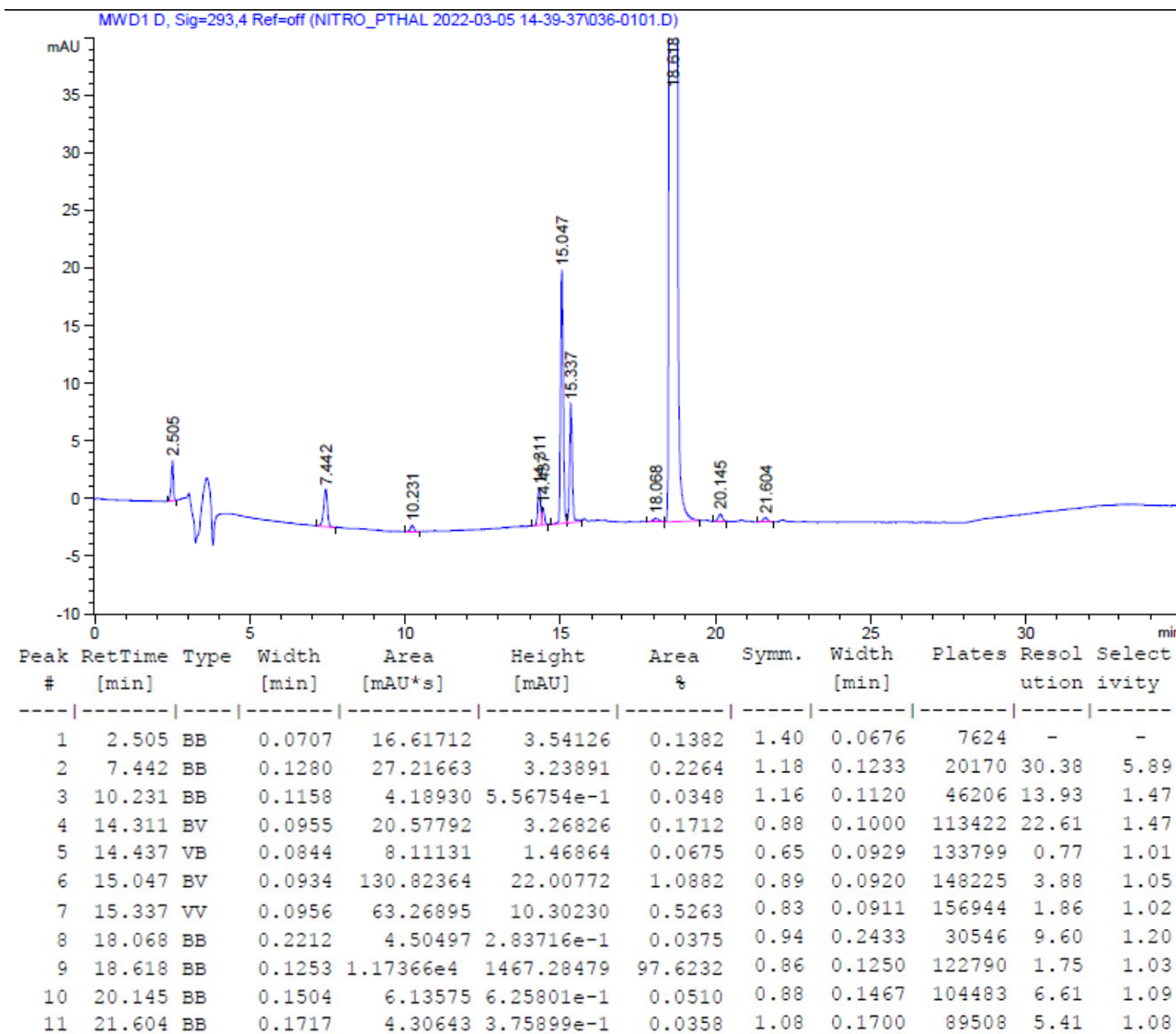


Рисунок 31. Хроматограмма и параметры пиков раствора испытуемого образца после воздействия 0,1 М хлористоводородной кислоты

Линейность, линия калибровки и правильность

Для уровня 80-120 % от номинальной концентрации испытуемого образца линейность оценивалась с целью подтверждения возможности применения метода нормализации при оценке содержания примесей. Для уровня концентраций содержания примесей, линейность оценивалась с целью достоверного расчета предела обнаружения.

На рисунках 32-33 представлены калибровочные графики для двух диапазонов концентраций. В таблицах 26 и 27 приведены параметры линейной зависимости для двух диапазонов.

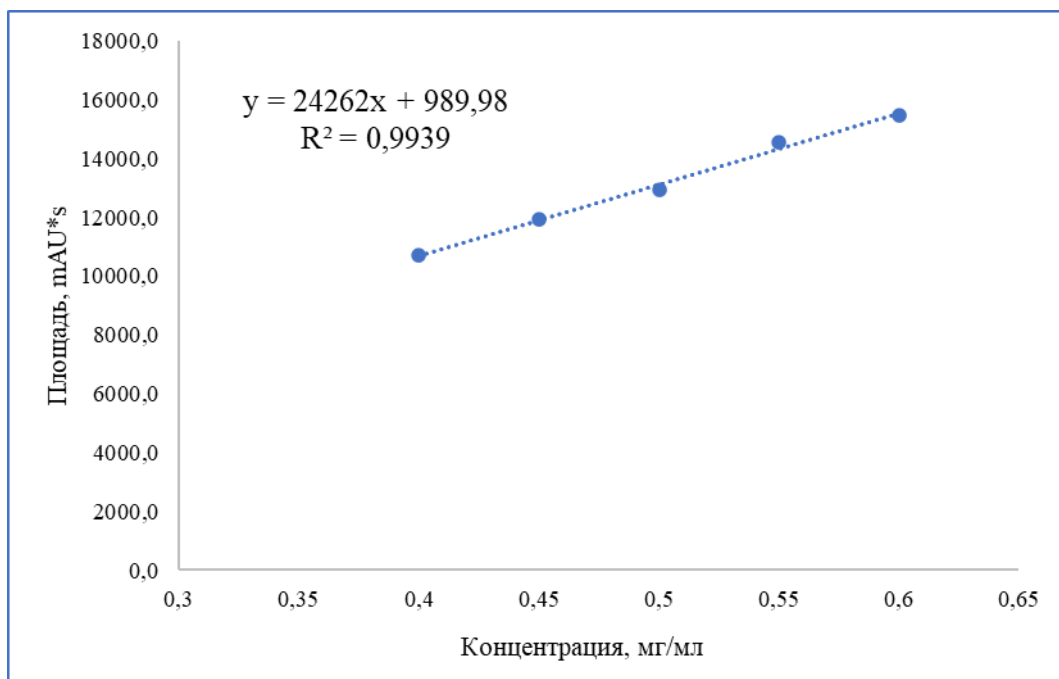


Рисунок 32. Калибровочная прямая для уровня концентраций 80-120 % от номинального содержания испытуемого образца (0,5 мг/мл).

Таблица 26 – Параметры калибровочного графика для уровня концентраций 80-120 % от номинального содержания испытуемого образца (0,5 мг/мл)

Концентрация, mg/mL	Площадь, мАУ*s	R	a	Δa	t	b
0,40	10699,7	0,9969	990	1764	1,80	24262
0,45	11937					
0,50	12952,4					
0,55	14562,4					
0,60	15452,4					

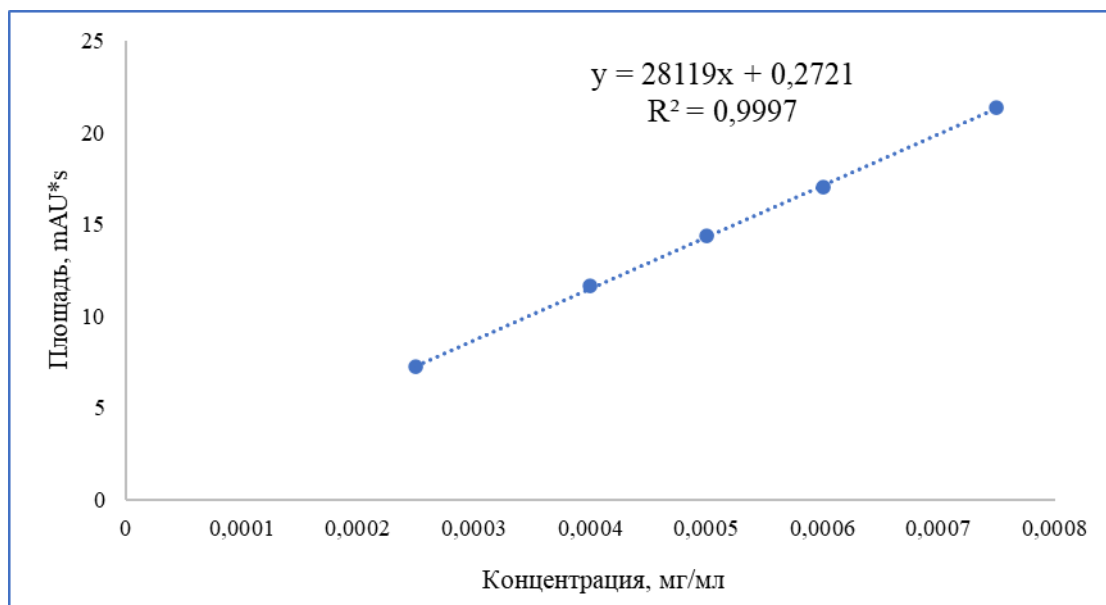


Рисунок 33. Калибровочная прямая для уровня концентраций 0,05-0,15 % от номинального содержания испытуемого образца (0,5 мг/мл).

Таблица 27 - Результаты хроматографирования калибровочных растворов для исследования линейности

Концентрация, мг/мл	Площадь, mAU*s	R	a	Δa	t	b
0,00025	7,24	0,9999	0,272	0,4689	1,85	28119
0,0004	11,62					
0,0005	14,38					
0,0006	17,02					
0,00075	21,39					

Из рисунков 32-33 и соответствующих таблиц 26 и 27 видно, что наблюдается линейная зависимость между концентрацией **5g** и площадью пика на обоих уровнях концентраций при коэффициенте корреляции более 0,99. Расчетные значения t_a , полученные из уравнений линейной регрессии обоих уровней концентраций, менее табличного значения, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки. Было показано, что свободные члены

линейных регрессий достоверно не отличаются от нуля и признаются незначимыми, что свидетельствует о правильности методики.

Прецизионность

В таблице 28 представлены результаты статистической обработки площадей примесей, полученные хроматографированием растворов в концентрациях 80, 100, 120 % от номинального содержания.

Таблица 28 – Результаты исследования сходимости валидируемой методики на трех уровнях концентраций.

№ тестового раствора	80 % (0,4 мг/мл)		100 % (0,5 мг/мл)		120 % (0,6 мг/мл)	
	Примесь 1	Примесь 2	Примесь 1	Примесь 2	Примесь 1	Примесь 2
	Площадь, мАУ*s					
1	13,46	4,14	16,22	6,29	19,24	7,33
2	13,11	4,25	16,49	5,98	19,38	6,97
3	13,48	4,62	16,74	6,29	19,4	7,27
4	13,39	4,39	16,27	6,29	19,13	7,6
5	13,85	4,18	16,16	6,34	19,54	7,17
6	13,11	4,06	16,02	5,94	19,49	7,48
Среднее значение	13,40	4,27	16,32	6,19	19,36	7,30
SD	0,28	0,20	0,26	0,18	0,15	0,22
RSD, %	2,06	4,75	1,58	2,88	0,80	3,06

Полученные относительные стандартные отклонения для каждой примеси не превышают заданный критерий приемлемости 5,0 %, что свидетельствует о сходимости результатов определения примесей валидируемой методики.

Предел обнаружения

После доказательства линейности и правильности методики на уровне концентраций обнаружения примесей, по калибровочному графику для уровня концентраций 0,05-0,15 % был рассчитан предел обнаружения, который составил $6 \cdot 10^{-6}$ мг/мл, что составляет $1 \cdot 10^{-5}$ % от концентрации испытуемого раствора (0,5 мг/мл).

Количественное определение содержания основного вещества в субстанции 5g

Расчет содержания основного вещества в субстанции 5g и расчет неопределенностей метода «баланса масс»

Суммарные результаты анализа **5g** по показателям «Родственные примеси», «Остаточные органические растворители», «Вода», «Сульфатная зола», «Хлориды», «Металлы» значений представлены в таблице 29.

Таблица 29 - Результаты анализа **5g** по анализируемым показателям

Показатель	Результат анализа, %
Родственные примеси	0,11
Остаточные органические растворители	0,19
Вода	0,05
Сульфатная зола	<0,01
Хлориды	0,01
Металлы (алюминий, натрий)	0,0006

Согласно полученным результатам, содержание неорганических примесей составило менее 0,01%, но учитывая, что был проведен анализ примеси металлов, за значение содержания неорганических примесей следует принять результат 0,0006 %. Однако данное значение незначимо при расчете содержания основного вещества.

Содержание основного вещества в субстанции методом «баланса масс» и неопределенность для каждого показателя была вычислена согласно формуле 1 и согласно [119-120].

Результаты расчета неопределенностей значений для метода баланса масс представлены в таблице 30.

Таблица 30 - Результаты расчета неопределенностей значений для метода баланса масс

Показатель	Неопределенность, %	Обозначение
Родственные примеси	0,04	$U(X_{RelSub})$
Остаточные органические растворители	0,16	$U(X_S)$
Вода	0,17	$U(X_W)$
Хлориды	0,009	$U(X_{InorSub})$

Комбинированную неопределенность содержания основного вещества в субстанции рассчитывали по формуле 2.

Содержание основного вещества в субстанции **5g** составило 99,64 ± 0,24 %, с учетом округления – 99,6 ± 0,3 %.

Анализ по показателю «Количественное определение» методом ЯМР-спектроскопии

На рисунке 36 представлен спектр, полученный при анализе по показателю «Количественное определение» субстанции **5g** методом ЯМР-спектроскопии. В качестве внутреннего стандарта был использован образец 1-фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-диона (Рисунок 34), имеющий схожее строение с аттестуемой субстанцией.

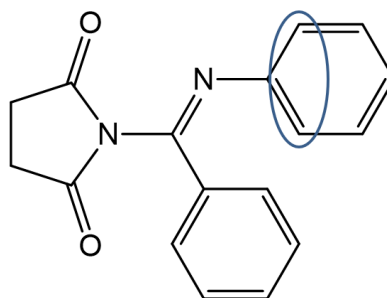


Рисунок 34. Структурная формула 1-фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-диона

Для расчетов были выбраны дублетные сигналы от одинаково расположенных в обеих структурах протонов бензольного кольца (Рисунок 35).

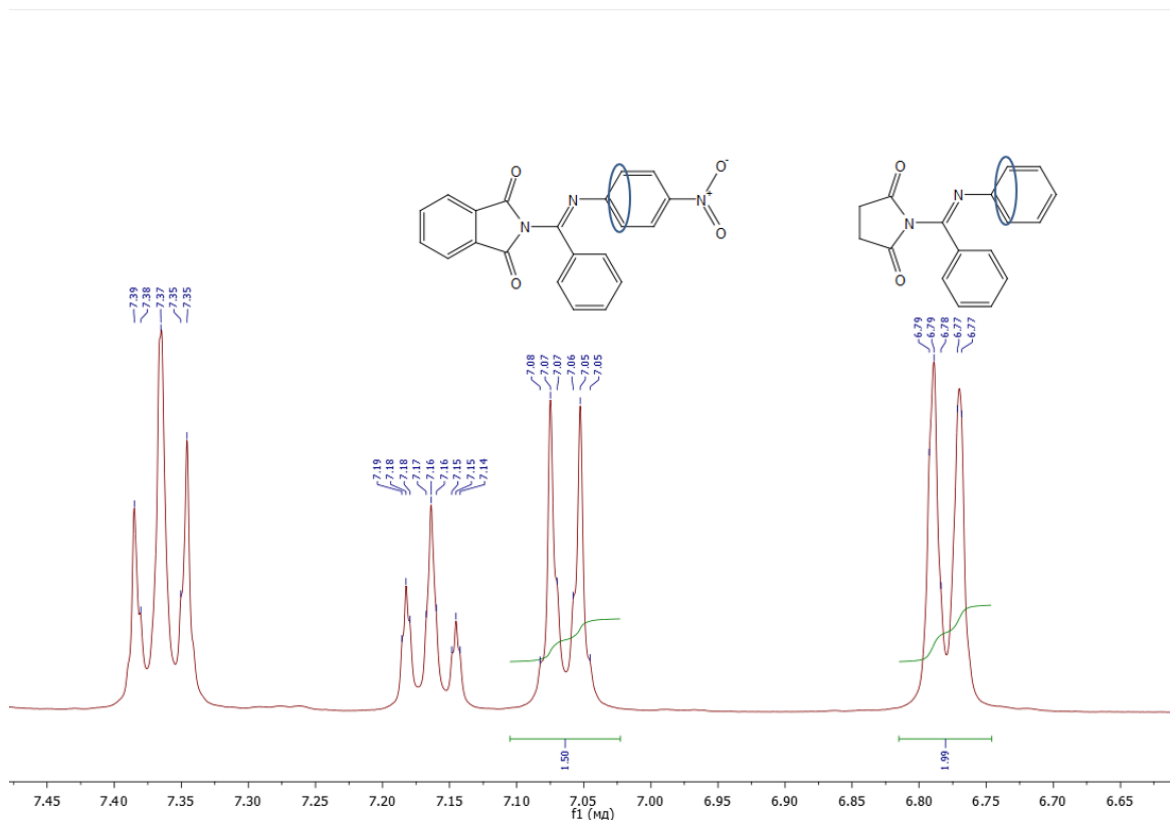


Рисунок 35. ЯМР спектр количественного определения ^1H в $\text{DMSO-}d_6$ (400 MHz)

На полученном спектре можно наблюдать высокое разрешение между сигналами стандартного образца и сигналами аттестуемого образца. При этом сигналы расположены достаточно близко друг к другу.

Значение содержания основного вещества в субстанции определяли по результатам спектрометрии 6 проб. Результаты представлены в таблице 31.

Таблица 31 - Результаты анализа **5g** по показателю «Количественное определение» методом ЯМР [126]

№ образц а	Результат (P), %	Статистическая обработка
1	99,39	$\bar{P}=99,7\%$
2	99,27	SD=0,84
3	99,05	RSD=0,84 %
4	98,95	

№ образца	Результат (P), %	Статистическая обработка
5	100,80	$\bar{P} \pm \Delta P = 99,7 \pm 2,1\%$
6	100,71	

С учетом коэффициента Стьюдента (2,571), односторонний относительный доверительный интервал составляет 2,13 %, поэтому для количественного определения субстанции **5g** по данной методике рекомендован интервал от 97,5 до 102,5 %.

Анализ образца 5g по показателю «Количественное определение» методом Кьельдаля

Значение содержания основного вещества в субстанции определяли по результатам титрования 6 проб. Результаты исследования приведены в таблице 32.

Таблица 32 - Результаты анализа **5g** по показателю «Количественное определение» методом Кьельдаля

№ образца	Масса навески, мг	Объем титранта, мл	Результат (P), %	Статистическая обработка
1	150,7	17,1	99,3	$\bar{P} = 99,6\%$ $SD = 0,54$
2	151,5	17,0	99,2	
3	150,2	16,9	100,4	RSD=0,54 % $\bar{P} \pm \Delta P = 99,6 \pm 1,4\%$
4	150,2	17,0	100,1	
5	151,2	17,1	99,0	%
6	153,6	16,5	99,7	

С учетом коэффициента Стьюдента (2,571), односторонний относительный доверительный интервал составляет 1,4 %, поэтому для количественного определения субстанции **5g** по данной методике рекомендован интервал от 98,5 до 101,5 %.

Оценка эквивалентности результатов определения содержания основного вещества в субстанции 5g, полученных методом «баланса масс», титрованием по методу Кьельдаля и по методу ЯМР-спектроскопии

По результатам определения содержания основного вещества была построена блочная диаграмма (Рисунок 36).

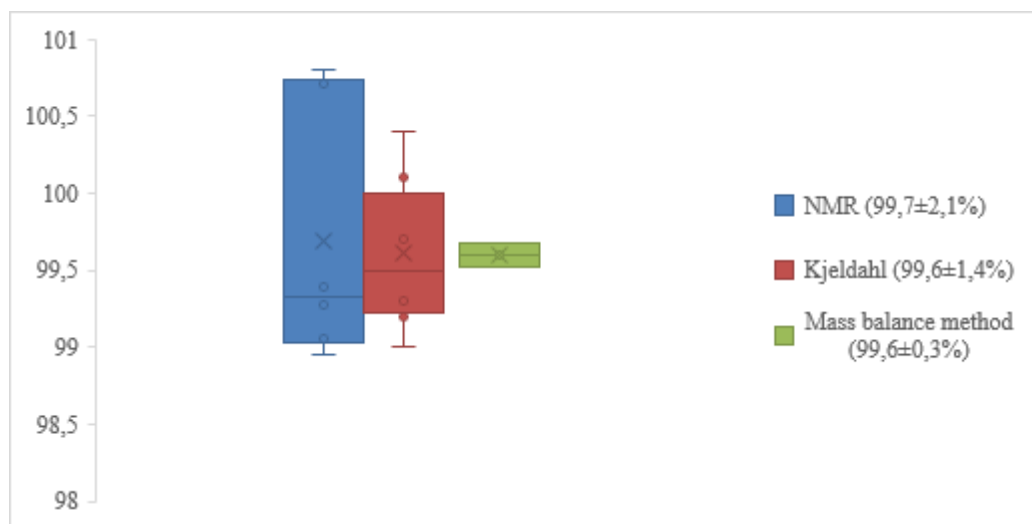


Рисунок 36. Блок-схема средних значений применяемых методов количественного определения

Из блочной диаграммы видно, что средние значения трех выборок находятся на одном уровне и может быть высказана гипотеза об их сходимости. Также, согласно диаграмме, наиболее прецизионным является метод «баланса масс», наименьшей прецизионностью обладает метод ЯМР.

Для сравнения трех выборок, полученных по трем разным методами, применяли однофакторный ANOVA-анализ. При выполнении условия: P-Value должно быть больше уровня значимости ($P\text{-Value} > \alpha = 0,05$); F-критерий Фишера должен быть меньше табличного $F < F_{\text{табл}} = 4,10$ ($P=95\%$; 2; 10). По результатам статистической обработки критерий Фишера (F) составил 0.04, что говорит о равномерности полученных выборок. Критерий P-Value составил 0.9549, поэтому принимается гипотеза о сходимости средних значений трех выборок. За аттестованное значение принимается значение, полученное методом «баланса масс», а именно $99,6 \pm 0,3\%$.

В результате исследования содержание основного вещества в субстанции **5g** было определено с применением принципа «баланса масс», а также путем титрования по методу Кьельдаля и с помощью ЯМР-спектроскопии по методу внутреннего стандарта. С помощью ANOVA-анализа доказана эквивалентность полученных результатов и присвоено аттестованное значение измеряемой величины, рассчитанное по методу «баланса масс», которое составило $99,6 \pm 0,3\%$ с целью дальнейшего использования данного образца при разработке и валидации аналитических методик, а также для рутинного контроля качества субстанции **5g** при расширенных доклинических исследованиях [127].

5. Экспериментальные данные

5.1. Общие методы и используемое оборудование

Для доказательства строения получаемых соединений использовали спектроскопию ядерного магнитного резонанса, рентгеноструктурный анализ и масс-спектрометрию. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C растворов соединений в ДМСО- d_6 регистрировали на спектрометре Bruker Avance III (400,13 МГц для ^1H и 100,62 МГц для ^{13}C) относительно остаточного сигнала дейтерированного растворителя, химические сдвиги выражались в миллионных долях (м.д.). Работу проводили в Научно-исследовательском институте гигиены, профпатологии и экологии человека.

Рентгеноструктурное исследование проводили при 100 ± 2 К на дифрактометре Rigaku XtaLAB Synergy-S (Япония) (детектор типа HyPix-6000HE) с использованием Cu Ka-излучения ($\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$) в Санкт-Петербургском государственном университете. Структура была определена с помощью программы решения структуры ShelXT [128] с использованием внутреннего фазирования и уточнена с помощью пакета усовершенствований ShelXL [129], включенного в программный пакет OLEX2, с использованием минимизации наименьших квадратов. В программном комплексе CrysAlisPro применена эмпирическая коррекция поглощения с использованием

сферических гармоник, реализованная в алгоритме масштабирования SCALE3 ABSPACK. Положения атомов водорода фиксировались геометрически на расчетных расстояниях и позволяли перемещаться по родительским атомам.

Масс-спектры были записаны на жидкостном хроматографе Shimadzu, оснащенном диодно-матричным детектором и хромато-масс-спектрометром LCMS-8040 (ионизация электрораспылением с регистрацией положительных ионов) с использованием колонки ВЭЖХ Kinetex Phenyl-Hexyl, 150 × 4,6 мм, 2,6 мкм, размер пор 100 Å (либо на одно квадрупольном масс-спектрометре SQ300 (PerkinElmer, США), оснащенном интерфейсом ионизации электрораспылением (ESI) (режим положительной ионизации) Тонкослойную хроматографию (ТСХ) для доказательства индивидуальности соединения и полноты прохождения реакции выполняли на пластинах Silicagel 60 F254 (Merck). В качестве элюента использована смесь: этилацетат-гексан (2:1), проявление в УФ свете. Температуру плавления определяли капиллярным методом и не корректировали.

ВЭЖХ-анализ проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1100, оснащенном УФ-детектором (модель G1365B), системой насосов (модель G1312A), автосамплером (модель G1367A), термостатом (модель G1367A).

Инфракрасные (ИК)-Фурье спектры получали на ИК-Фурье спектрометре ФСМ-1201 (Россия). ИК-спектр записывали в диапазоне 4000-400 см⁻¹ в таблетке калия бромиде согласно ГФ РФ ОФС.1.2.1.1.0002.15 [110]. Анализ количественного определения по методу Кьельдаля проводили согласно ГФ РФ ОФС.1.2.3.0011.15 на анализаторе фирмы BUCHI (Швейцария), оснащенном дигестором SpeedDigester K-425, скруббером Scrubber K-415 DuoScrub и дистиллятором Unit K-350. Титрование осуществляли на титраторе Eco Titrator фирмы Metrohm, оснащенном комбинированным рН-электродом. Анализ остаточных органических растворителей осуществляли на газовом хроматографе Кристалл 5000 (Хроматек, Россия) с пламенно-ионизационным детектором на капиллярной колонке DB-624 (60 м × 0,32 мм «Agilent

Technologies»). Содержание воды определяли кулонометрически по методу К. Фишера на приборе 899 Coulometer Metrohm (Швейцария) согласно ГФ РФ ОФС.1.2.3.0002.15. Атомно-эмиссионную спектрометрию (АЭС) с индуктивно связанной плазмой проводили на спектрометре Optima 8000 (Perkin Elmer, США) с предварительной пробоподготовкой методом «мокрой» минерализации. Анализ проводили в центре контроля качества СПХФУ. Для взвешивания использовали аналитические весы Ohaus EX225D с дискретностью 0,01 мг.

5.2. Методики синтеза производных сукцинимида, фталимида и глутаримида

Синтез целевых продуктов осуществлен в лабораторных условиях на товарном сырье квалификации «х.ч.». Исходные *C,N*-диарилформамидины синтезированы на кафедре органической химии нашего университета (СПХФУ) [14].

5.2.1. Общая методика синтеза соединений **3a-q**

В плоскодонную колбу объемом 100 мл помещали 2,6 ммоль *C,N*-диарилформамидина **1a-q**, 30 мл толуола и 5,2 ммоль янтарного ангидрида **2**. Реакционную смесь кипятили в течение 1-3 часов с ловушкой Дина-Старка, обратным холодильником и хлоркальциевой трубкой до исчезновения исходного *C,N*-диарилформамидина **1a-q** (контроль ТСХ, этилацетат-гексан (2:1), проявление в УФ-свете), затем образовавшийся осадок отфильтровывали, оставляя маточный раствор. Маточный раствор затем упаривали досуха на ротационно-пленочном испарителе. Полученный осадок перекристаллизовывали из этилового спирта и высушивали при температуре окружающей среды.

5.2.2. Общая процедура синтеза соединений **5a-q**

В плоскодонную колбу объемом 100 мл помещали 2,6 ммоль *C,N*-диарилформамидина **1a-q**, 30 мл толуола и 5,2 ммоль фталевого ангидрида **4**.

Реакционную смесь кипятили в течение 4-8 часов с Ловушка Дина-Старка, обратным холодильником и хлоркальциевой трубкой до исчезновения исходного *C,N*-диарилформамида **1a-q** (ТСХ, этилацетат-гексан (2:1), проявление в УФ-свете), затем образовавшийся осадок отфильтровывали, оставляя маточный раствор. Маточный раствор упаривали досуха на ротационном пленочном испарителе. Полученный осадок перекристаллизовывали из этилового спирта и высушивали при температуре окружающей среды.

5.2.3. Общая методика синтеза (*Z*)-1-(арил(арилимино)метил)пиперидин-2,6-дионов **8a-p**

В плоскодонную колбу объемом 100 мл помещали 2,6 ммоль *C,N*-диарилформамида **1a-q**, 30 мл толуола и 3 ммоль глутарового ангидрида **7**. Реакционную смесь кипятили в течение 1-2 часов с ловушкой Дина-Старка, обратным холодильником и хлоркальциевой трубкой до исчезновения исходного *C,N*-диарилформамида **1a-q** (контроль ТСХ, этилацетат-гексан (2:1), проявление в УФ-свете), затем образовавшийся осадок отфильтровывали, оставляя маточный раствор. Маточный раствор затем упаривали досуха на ротационно-пленочном испарителе. Полученный осадок перекристаллизовывают из этилового спирта и высушивали при температуре окружающей среды.

5.3. Методики для мониторинга основных реакций и контроля чистоты получаемых соединений

5.3.1. Мониторинг реакций получения *N*-замещенных производных сукцинимида и фталимида:

Для мониторинга реакции отбирали из реакционной массы аликвоту 100 мкл и вносили ее в эппендорф, заполненный 1,5 мл ацетонитрила или метанола (в зависимости от органического компонента подвижной фазы). Содержимое

эппендорфа переносили в мерную колбу объемом 10,0 мл и доводили объем раствора ацетонитрилом или метанолом до метки, перемешивали.

Хроматографическое разделение проводили на колонке с обращенной фазой Restek Roc C8 (4,6×150 мм, размер частиц 5 мкм). Подвижная фаза: 0,15% раствор муравьиной кислоты (А) (рН 2,5 ± 0,1) и метанол (Б). Анализ проводился в градиентном режиме (Время, мин (В, %)): 0(25)→30(90); 30(90)→35(90); 35(90)→40(25); 40(25)→45(25). Скорость потока составляла 0,5 мл/мин. Температура колонки - 40°C. Автосамлер находился при температуре окружающей среды. Объем инъекции составлял 5 мкл, УФ-детектирование осуществляли при длине волны 254 нм.

5.3.2. Мониторинг реакций получения N-замещенных производных глутаримида

Хроматографическое разделение проводили на колонке с обращенной фазой Tosoh ODS (4,6×250 мм, размер частиц 5 микрон). Подвижная фаза: 0,15 % раствор муравьиной кислоты (А) (рН 2,5 ± 0,1) и ацетонитрил (Б). Анализ проводился в градиентном режиме (Время, мин (В, %)): 0(25)→5(38); 5(38)→13(75); 13(75)→25(75); 25(75)→30(100); 30(100)→32(100); 32(100)→33(25); 33(25)→35(25). Скорость потока составляла 1,0 мл/мин. Температура колонки 30°C. Автосамплер находился при температуре окружающей среды. Объем инъекции составлял 10 мкл, УФ-детектирование осуществляли при длине волны 254 нм.

5.3.3. ВЭЖХ-УФ исследование чистоты N-замещенных производных глутаримида

Для исследования чистоты получаемых веществ **8a-8em** хроматографическое разделение проводили на колонке с обращенной фазой, Phenomenex Prodigy 3 мкм, 250x4.6 мм или YMC-Pack C8, 5 мкм, 250x4.6 мм. Подвижная фаза: фосфатный буфер (А) (рН 7.5 ± 0.1) и ацетонитрил (В). Анализ проводился в градиентном режиме (Время, мин (В, %)): 0(15)→10(30); 10(30)→35(70); 35(70)→50(70); 50(70)→55(15); 55(15)→65(15). Скорость

потока составляла 0.5 мл/мин. Температура колонки 40 °С. Автосамплер находился при температуре окружающей среды. Объем инъекции составлял 10 мкл, УФ-детекция осуществлялась при длине волны 210 nm.

Для исследования чистоты соединения **8r** в силу его высокой гидрофобности и, кроме того, невозможности повышения концентрации органической фазы из-за работы на фосфатном буфере, была использована методика с добавкой органической кислоты. Подвижная фаза: 0.15 % раствор муравьиной кислоты (А) (рН 2,5±0,1) и ацетонитрил (Б). Анализ проводился в градиентном режиме (Время, мин (В, %)): 0(25)→5(38); 5(38)→13(75); 13(75)→25(75); 25(75)→30(100); 30(100)→32(100); 32(100)→33(25); 33(25)→35(25). Скорость потока составляла 1,0 мл/мин. Температура колонки 30°С. Автосамплер находился при температуре окружающей среды. Объем инъекции составлял 10 мкл, УФ-детектирование осуществляли при длине волны 254 нм.

5.4. Методики, используемые при аттестация первичного стандартного образца соединения 3a

Аттестация первичных стандартных образцов осуществлялась, основываясь на положениях ГФ XIV издания ОФС.1.1.0007.18 «Стандартные образцы» [110].

5.4.1. Анализ по показателю «Родственные примеси» и «Количественное определение» методом ВЭЖХ

Хроматографическое разделение ВЭЖХ-УФ проводили на колонке с обращенной фазой, Tosoh ODS (4,6 × 250 мм, размер частиц 5 мкм). Подвижная фаза состояла из 0,15 % раствора муравьиной кислоты (А) (рН 2,5 ± 0,1) и ацетонитрила (Б). Программа градиентного элюирования была подобрана следующим образом (мин→% фазы А): 0→90, 10→50, 25→50, 30→10, 32→10, 33→90, 35→90.

Скорость потока составляла 1,0 мл/мин. Температура колонки была установлена на 40 °С. Автосамплер находился при температуре окружающей

среды. При анализе по показателю «Родственные примеси» объем инъекции составлял 6 мкл, УФ-детектирование проводили при длинах волн 257 и 234 нм. При анализе по показателю «Количественное определение» объем инъекции составлял 2 мкл, УФ-детектирование проводили при 257 нм.

5.4.1.1. *Приготовление испытуемых растворов субстанции FFMP для анализа по показателю «Родственные примеси» методом ВЭЖХ*

Испытуемый раствор 3a для анализа по показателю «Родственные примеси». Около 50 мг (точная навеска) испытуемой субстанции **3a** помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл ацетонитрила. Перемешивали до полного растворения навески испытуемой субстанции. Доводили объем раствора до метки ацетонитрилом и перемешивали. Фильтровали через шприцевой мембранный фильтр с размером пор не более 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата.

Раствор стандартного образца (СО) N-фенилбензамидина (NPB). Около 5 мг (точная навеска) СО примеси NPB помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 30 мл ацетонитрила. Перемешивали до полного растворения навески. Доводили объем раствора до метки ацетонитрилом и перемешивали. Фильтровали через шприцевой мембранный фильтр с размером пор не более 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата.

Раствор СО примеси NPB с концентрацией равной пределу обнаружения на 234 нм ($8 \cdot 10^{-5}$ мг/мл). 2,0 мл раствора СО примеси NPB переносили в мерную колбу объемом 100 мл, прибавляли 50 мл ацетонитрила, перемешивали, затем доводили объем раствора ацетонитрилом до метки и перемешивали. 2,0 мл приготовленного раствора помещали в мерную колбу объемом 50 мл, прибавляли 30 мл ацетонитрила, перемешивали. Доводили объем раствора до метки ацетонитрилом и перемешивали. Фильтровали через шприцевой мембранный фильтр с размером пор не более 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата

5.4.2. Масс-спектрометрия

Хроматографическое разделение было достигнуто с использованием колонки Phenomenex Kinetex Phenyl-Hexyl (150 мм × 4,6 мм, размер частиц 2,6 мкм). Температуру колонки устанавливали на уровне 40 °С. Подвижная фаза А состояла из 0,05 % раствора муравьиной кислоты в воде, фаза В – ацетонитрил. Элюирование в градиентном режиме от 30 % до 100 % фазы В за 25 минут со скоростью потока 0,6 мл/мин. Масс-спектрометрические условия: положительная электрораспылительная ионизация (ESI⁺), температура линии интерфейса 350°С; температура линии десольвации 250°С; поток осушающего газа (азот) - 15 л/мин, поток распыляющего газа (азот) – 3 л/мин, объем впрыска 2 мкл. Сканирование на первом (Q1) и третьем (Q3) квадрупольях. Скорость сканирования на Q1 – 5000 ед/с, скорость сканирования на Q3 – 15000 ед/с.

*5.4.2.1. Приготовление испытуемого раствора субстанции **3a** для анализа HPLC-ESI/MS*

*Испытуемый раствор субстанции **3a** для анализа HPLC-ESI/MS.* Около 6 мг (точная навеска) испытуемой субстанции **3a** помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл ацетонитрила. Перемешивали до полного растворения навески испытуемой субстанции. Доводили объем раствора до метки ацетонитрилом и перемешивали. Фильтровали через шприцевой мембранный фильтр с размером пор не более 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата.

5.4.3. Валидация методики количественного определения основного вещества методом ВЭЖХ

Линейность и линия градуировки

Анализировали восемь испытуемых растворов с двукратной инъекцией в диапазоне концентраций от 10 % до 120 %. По средним значениям площадей пиков была построена линия градуировки, описывающая зависимость площади пика от концентрации образца. Выполнение требования линейности оценивалось по следующим критериям приемлемости: для полученного

графика коэффициент корреляции (r) должен иметь значение не менее 0,998, значение t -критерия Стьюдента свободного члена (a) уравнения линейной регрессии, должно быть меньше табличного значения: $t_a < t_{\text{табл}} = 2,45$ ($P=95\%$, $f=6$).

Специфичность

Специфичность устанавливали, исходя из условий: на хроматограмме бланк-раствора (ацетонитрил) не должно быть пика, время удерживания которого совпадает с временем удерживания пика стандартного образца FFMP; на хроматограммах стресс-тестирования при добавлении перекиси водорода и соляной кислоты разрешение между пиком основного вещества и пиком ближайшей к нему примеси должно быть не менее 1,5.

Прецизионность

Прецизионность оценивали по сходимости результатов определения площадей пиков при 80, 100, 120 % от номинального содержания путем инъекции трех растворов каждой концентрации в двух повторностях (18 инъекций).

Заключение о прецизионности методики устанавливали при выполнении следующего критерия приемлемости: относительное стандартное отклонение (RSD, %) средних результатов количественного определения FFMP в субстанции не должно превышать 2,0 %.

Правильность

Правильность исследовали на трех модельных растворах стандартного образца FFMP в концентрациях 0,40 мг/мл, 0,50 и 0,60 мг/мл. Для подтверждения правильности необходимо и достаточно выполнение критерия - открываемость с учетом доверительных интервалов должна быть в диапазоне от 98,0 до 102,0 % и включать истинное значение.

Устойчивость

Устойчивость предложенного метода была установлена путем варьирования экспериментальных параметров, таких, как температура колонки

± 1 ° С, скорость потока $\pm 0,1$ мл/мин и рН подвижной фазы $\pm 0,1$. Оценку проводили по относительной разности результатов, которая должна быть менее 2,0 % для параметров: эффективность, фактор емкости и площадь пика.

Аналитический диапазон методики

Определяли, как диапазон концентраций, в пределах которого методика обеспечивает требуемую линейность, правильность и прецизионность.

Стабильность растворов

Стабильность растворов образца изучали с использованием испытуемого раствора в концентрации 0,5 мг/мл (100 %) через 24, 48, 72 часа хранения после приготовления при температуре окружающей среды. При точном воспроизведении описанной методики, полученные результаты количественного определения должны попадать в заданный допустимый диапазон от 98,0 до 102,0 %

*5.4.3.1. Приготовление испытуемых растворов субстанции **3a** для валидации методики количественного определения методом ВЭЖХ*

*Испытуемый раствор стандартного образца (СО) **3a** в концентрации 0,05 мг/мл. Около 5,0 мг (точная навеска) СО **3a** помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл ацетонитрила. Перемешивали до полного растворения навески испытуемой субстанции. Доводили объем раствора до метки ацетонитрилом и перемешивали. Фильтровали через шприцевой мембранный фильтр с размером пор не более 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата.*

Аналогичным образом поточной навеске готовили испытуемые растворы стандартного образца **3a** в концентрациях 0,10; 0,25; 0,40; 0,45; 0,50; 0,55; 0,60 мг/мл.

5.5. Методики, используемые при аттестация первичного стандартного образца соединения **3a**

5.5.1. Анализ методом спектрометрии ядерно-магнитного резонанса

Количественное определение выполняли в соответствии с ОФС.1.2.1.1.0007.15 по методу внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта использовали стандартный образец 1-фенил(фенилимино)метилпирролидин-2,5-диона (**3a**) ($99,83 \pm 0,31$ %) [110, 115].

Для проведения испытания в мерную колбу вместимостью 5,0 мл помещали около 50 мг (точная навеска) стандартного образца 1-(фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-диона, добавляли около 50 мг (точная навеска) 2-({[4-нитрофенил]имино}(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона. Добавляли 3,0 мл диметилсульфоксида- d_6 , перемешивали до полного растворения навески и доводили объем раствора до метки тем же растворителем, перемешивали. Отбирали при помощи дозатора по 0,5 мл испытуемого раствора и переносили в ампулу для ЯМР-спектроскопии.

5.5.2. Анализ по показателю «Родственные примеси» методом ВЭЖХ-УФ

Хроматографическое разделение ВЭЖХ-УФ проводили на колонке с обращенной фазой, Tosoh ODS ($4,6 \times 250$ мм, размер частиц 5 мкм). Подвижная фаза: 0,15 % раствор муравьиной кислоты (А) ($\text{pH } 2,5 \pm 0,1$) и ацетонитрил (Б). Анализ осуществляли в градиентном режиме (Время, мин; В, %) :0(25)→5(38); 5(38)→13(75); 13(75)→25(75); 25(75)→30(100); 30(100)→32(100); 32(100)→33(25); 33(25)→35(25). Скорость потока составляла 1,0 мл/мин. Температура колонки - 30 °С. Автосамлер находился при температуре окружающей среды. Объем инъекции - 10 мкл, УФ-детектирование проводили при длине волны 293 нм.

Была проведена валидационная оценка аналитической методики для анализа по показателю «Родственные примеси» по показателям: специфичность, линейность и линия калибровки, правильность, прецизионность и предел обнаружения.

Специфичность устанавливали, исходя из условия: на хроматограмме бланк-раствора (ацетонитрил) не должно быть пика, время удерживания которого совпадает с временем удерживания пика аттестуемого образца. На хроматограммах растворов после стресс-тестирования разрешение между пиком основного вещества и пиком ближайшей к нему примеси должно быть не менее 1,5. Стресс-тестирование проводили 1М раствором соляной кислоты и перекисью водорода.

Для анализа линейности инжестировали испытуемые растворы на двух уровнях концентраций (уровень 80-120 % от номинальной концентрации испытуемого образца и уровень 0,05-0,15% от номинальной концентрации испытуемого образца (уровень содержания примесей)). По средним значениям площадей пиков были построены линии калибровки, описывающие зависимость площади пика от концентрации образца. Выполнение требования линейности оценивалось по следующим критериям приемлемости: для полученного графика коэффициент корреляции (r) должен иметь значение не менее 0,99, значение t -критерия Стьюдента свободного члена (a) уравнения линейной регрессии, должно быть меньше табличного значения: $t_a < t_{\text{табл}} = 3,18$ ($P=95\%$, $f=3$).

Правильность оценивали по свободному члену линейной регрессии (коэффициент a) для двух диапазонов концентраций при условии линейности калибровочного графика. Заключение о правильности методики устанавливали при статистической незначимости свободного члена линейной регрессии ($a < \Delta a$).

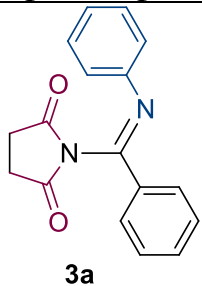
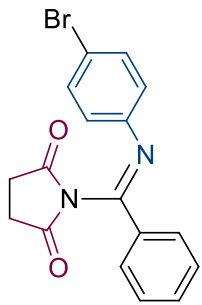
Прецизионность оценивали по сходимости результатов определения площадей пиков примесей при концентрации основного вещества 80, 100 и 120 % от номинального содержания путем инъекции двух растворов каждой концентрации в трех повторностях (18 инъекций).

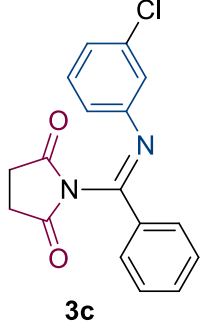
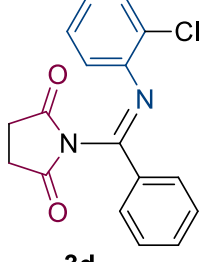
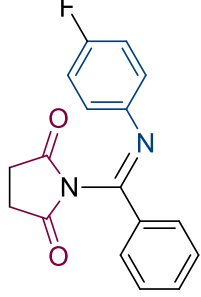
Заключение о прецизионности методики устанавливали при выполнении следующего критерия приемлемости: относительное стандартное отклонение

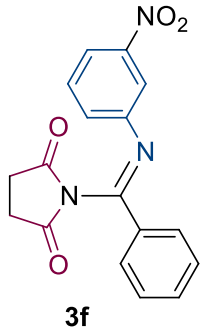
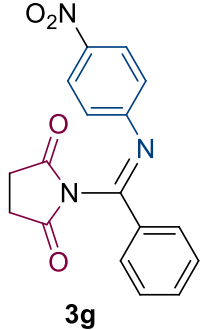
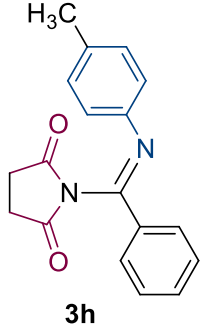
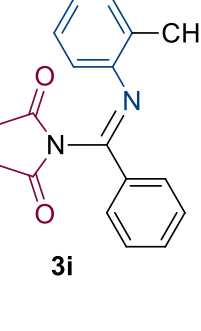
(RSD, %) средних результатов определения площадей примесей в субстанции 2-({[4-нитрофенил]имино})(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона не должно превышать 5,0 %.

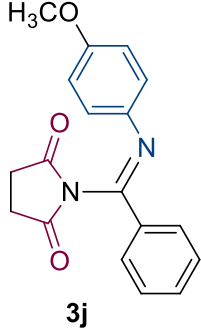
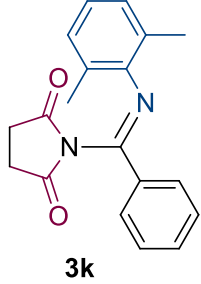
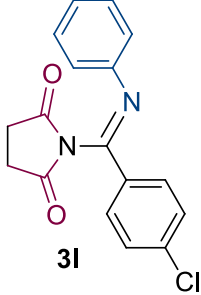
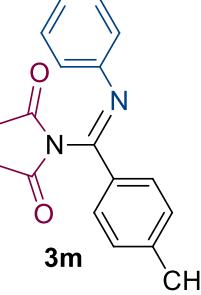
При условии выполнения критериев линейности и правильности, по линии калибровки для диапазона концентраций 0,05-0,15% от номинального содержания субстанции (0,5 мг/мл) рассчитывали концентрацию предела обнаружения примесей.

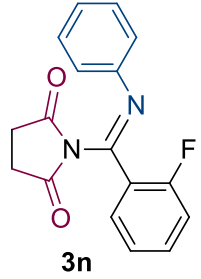
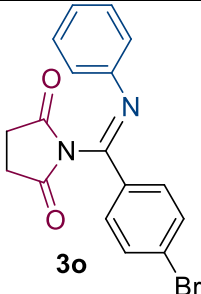
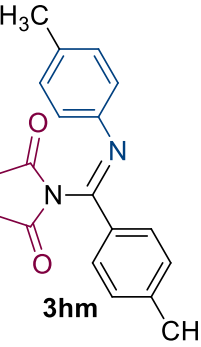
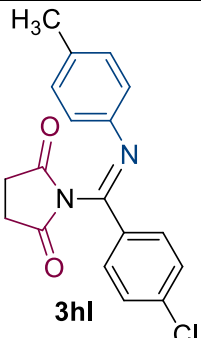
Характеристика и спектральные данные соединений **3 а-г**.

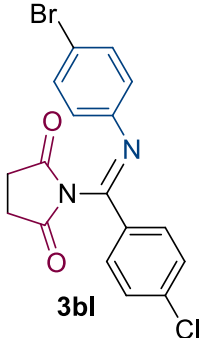
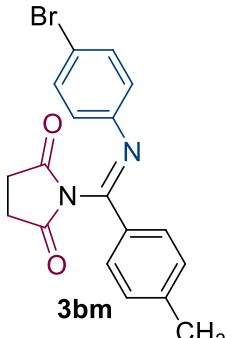
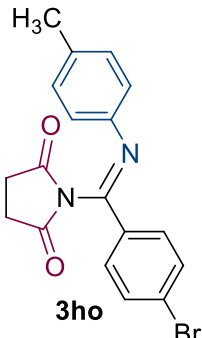
(Z)-1-[фенил(фенилимино)метил]пирролидин-2,5-дион (3а) C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ ,	
 <p style="text-align: center;">3а</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 88 %; т. пл. 172-174 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.48 (dd, J=18.0, 4.6 Hz, 2H), 2.88 (dd, J=18.0, 4.6 Hz, 2H), 6.77 (d, J=7.0 Hz, 2H), 7.16 (t, J=7.4 Hz, 1H), 7.36 (t, J=7.8 Hz, 2H), 7.54 (t, J=7.4 Hz, 2H), 7.64 (t, J=7.4 Hz, 1H), 7.98 (d, J=7.0 Hz, 2H); ЯМР ¹³C δ, ppm: 29.1, 119.3, 125.5, 128.6, 128.7, 129.5, 133.0, 133.1, 147.7, 147.8, 176.3. ESI-MS [M+H]⁺ 279,12.</p>
(Z)-1-{{[(4-бромфенил)имино]}(фенил)метил}пирролидин-2,5-дион (3b) C ₁₇ H ₁₃ BrN ₂ O ₂	
 <p style="text-align: center;">3b</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 64 %; т. пл. 118-120 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.53 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 2.91 (dd, J=18.0, 4.6 Hz, 2H), 6.75 (d, J=7.0 Hz, 2H), 7.55 (m, 4H), 7.64 (t, J=7.4 Hz, 1H), 7.98 (d, J=7.4 Hz, 2H); ЯМР ¹³C δ, ppm: 29.2, 117.9, 121.6, 128.8, 129.5, 132.4, 132.9, 133.2, 147.0, 148.3, 176.3. ESI-MS [M+H]⁺ 357,17.</p>

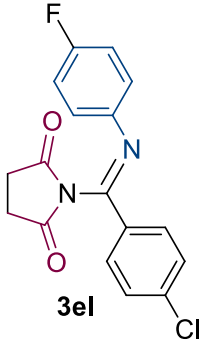
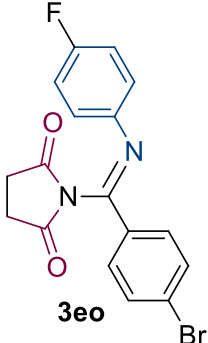
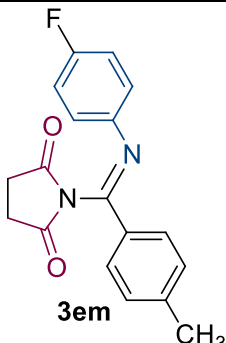
<p>(Z)-1-[[3-хлорфенил]имино](фенил)метил}пирролидин-2,5-дион (3c) $C_{17}H_{13}ClN_2O_2$</p>	
 <p style="text-align: center;">3c</p>	<p>Серого цвета кристаллический порошок; Выход 71 %; т. пл. 88-90 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.54 (dd, 2H, $J=18.0$, 4.6 Hz), 2.93 (dd, 2H, $J=18.0$, 4.6 Hz), 6.71 (d, 1H, $J=18.0$ Hz), 6.84 (s, 1H), 7.24 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.40 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.55 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.66 (t, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.99 (d, 2H, $J=7.8$ Hz); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 29.2, 117.6, 119.6, 119.6, 125.3, 128.8, 128.9, 129.5, 131.3, 132.7, 133.3, 133.8, 148.9, 149.2, 176.3. ESI-MS $[M+H]^+$ 313,20.</p>
<p>(Z)-1-[[2-хлорфенил]имино](фенил)метил}пирролидин-2,5-дион (3d) $C_{17}H_{13}ClN_2O_2$</p>	
 <p style="text-align: center;">3d</p>	<p>Светло-бежевого цвета кристаллический порошок. Выход 36 %; т. пл. 84-86 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.58-2.54 (m, 2H), 2.95-2.82 (m, 2H), 6.72 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.31 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.56 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.66 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H). ЯМР ^{13}C δ, ppm: 29.2, 119.4, 126.0, 127.0, 128.1, 129.0, 129.4, 130.4, 133.1, 133.2, 144.7, 148.9, 176.0. ESI-MS $[M+H]^+$ 313,42.</p>
<p>(Z)-1-{(4-фторфенил)[фенилимино]метил}пирролидин-2,5-дион (3e) $C_{17}H_{13}FN_2O_2$</p>	
 <p style="text-align: center;">3e</p>	<p>Светло-фиолетового цвета кристаллический порошок; Выход 76 %; т. пл. 98-100 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.64-2.50 (m, 2H), 2.99-2.82 (m, 2H), 6.83-6.79 (m, 2H), 7.24-7.18 (m, 2H), 7.56-7.52 (m, 2H), 7.64-7.62 (m, 1H), 7.99-7.96 (m, 2H). ЯМР ^{13}C δ, ppm: 29.2, 116.2, 116.4, 121.2, 121.3, 128.7, 129.4, 133.1, 144.2, 148.2, 158.8, 161.2, 176.3. ESI-MS $[M+H]^+$ 297,15.</p>

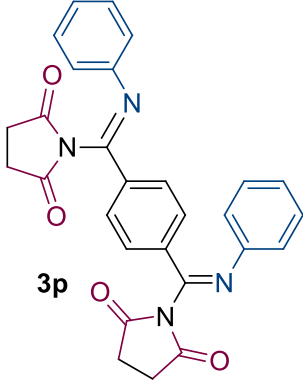
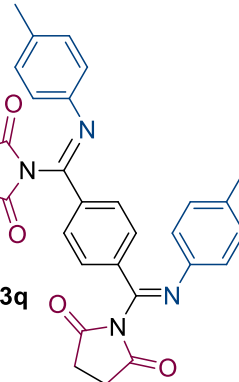
<p>(Z)-1-[[3-нитрофенил]имино](фенил)метил} пирролидин-2,5-дион (3f) $C_{17}H_{13}N_3O_4$</p>	
 <p style="text-align: center;">3f</p>	<p>Светло-бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 24 %; т. пл. 134-136 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.56 (dd, $J = 14.7, 3.3$ Hz, 2H), 2.98- 2.82 (m, 2H), 7.26-7.23 (m, 1H), 7.61-7.50 (m, 3H), 7.73-7.63 (m, 2H), 8.06-8.01 (m, 3H); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 29.2, 113.9, 120.3, 126.5, 129.0, 129.6, 131.2, 132.5, 133.6, 148.6, 149.9, 176.3. ESI-MS $[M+H]^+$ 324,15.</p>
<p>(Z)-1-[[4-нитрофенил]имино](фенил)метил} пирролидин-2,5-дион (3g) $C_{17}H_{13}N_3O_4$</p>	
 <p style="text-align: center;">3g</p>	<p>Темно-коричневого цвета кристаллический порошок; Выход 40 %; т. пл. 170-172 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.58 (dd, $J=18.0, 4.6$ Hz, 2H), 2.88 (dd, $J=18.0, 4.6$ Hz, 2H), 6.98 (d, $J=18.0$ Hz, 2H), 7.57 (t, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.68 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 8.26 (d, $J=7.3$ Hz, 2H); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 29.2, 120.4, 125.5, 129.1, 129.6, 132.4, 133.7, 144.8, 149.4, 153.7, 176.2. ESI-MS $[M+H]^+$ 324,15.</p>
<p>(Z)-1-[фенил(п-толилимину)метил]пирролидин-2,5-дион (3h) $C_{18}H_{16}N_2O_2$</p>	
 <p style="text-align: center;">3h</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 93 %; т. пл. 110-112 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.29 (s, 3H), 2.59-2.51 (m, 2H), 2.90 (dd, 2H, $J=4.6, 18.0$ Hz), 6.70 (d, 2H, $J=8.0$ Hz), 7.17 (d, 2H, $J=8.0$ Hz), 7.53 (t, 2H, $J=7.6$ Hz), 7.62 (t, 1H, $J=7.4$ Hz), 7.97 (d, 2H, $J=8.0$ Hz); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 21.0, 29.2, 119.4, 119.4, 128.5, 128.6, 129.4, 130.0, 132.8, 133.3, 134.6, 145.3, 147.2, 176.3. ESI-MS $[M+H]^+$ 293,37.</p>
<p>(Z)-1-[[2-метилфенил]имино](фенил)метил} пирролидин-2,5-дион (3i) $C_{18}H_{16}N_2O_2$</p>	
 <p style="text-align: center;">3i</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 50 %; т. пл. 109-111 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.15 (s, 3H), 2.52-2.43 (m, 2H), 2.97-2.80 (m, 2H), 6.51 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.07 (td, $J = 7.4, 1.4$ Hz, 1H), 7.15 (td, $J = 7.6, 1.6$ Hz, 1H), 7.26-7.19 (m, 1H), 7.55 (dd, $J = 8.3, 6.8$ Hz, 2H), 7.68-7.59 (m, 1H), 8.05-7.97 (m, 2H). ЯМР ^{13}C δ, ppm: 17.9, 29.1, 116.6, 125.6, 126.6, 128.6, 129.4, 129.9, 130.8, 132.9, 133.3, 146.6, 147.2, 176.4. ESI-MS $[M+H]^+$ 293,35.</p>

<p>(Z)-1-[[[(4-метоксифенил)имино](фенил)метил}пирролидин-2,5-дион C₁₈H₁₆N₂O₃</p>	<p>(3j)</p>
 <p>3j</p>	<p>Светло-коричневого цвета кристаллический порошок; Выход 80 %; т. пл. 111-113 °С. ЯМР ¹Н δ, ppm: 2.58 (dd, J=4.6, 18.0 Hz, 2H), 2.91 (dd, J=4.6, 18.0 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 6.78 (d, J=8.8 Hz, 2H), 6.94 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.52 (t, J=7.5 Hz, 2H), 7.61 (t, J=7.3 Hz, 1H), 7.95 (d, J=7.2 Hz, 2H); ЯМР¹³С δ, ppm: 29.2, 55.6, 114.8, 121.1, 128.4, 129.4, 132.6, 133.5, 140.7, 146.7, 157.3, 176.4. ESI-MS [M+H]⁺ 309,21.</p>
<p>(Z)-1-[[[(2,6-диметилфенил)имино](фенил)метил}пирролидин-2,5-дион C₁₉H₁₈N₂O₂</p>	<p>(3k)</p>
 <p>3k</p>	<p>Светло-розового цвета кристаллический порошок; Выход 54 %; т. пл. 136-138 °С. ЯМР ¹Н δ, ppm: δ 2.04 (s, 6H), 2.57-2.52 (m, 2H), 2.91-2.80 (m, 2H), 6.92-6.88 (m, 1H), 7.00 (d, J = 7.5 Hz, 3H), 7.53 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.62 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 7.7 Hz, 2H). ЯМР¹³С δ, ppm: 18.2, 29.2, 124.2, 126.8, 128.1, 128.7, 129.2, 132.5, 133.6, 145.4, 147.5, 175.6. ESI-MS [M+H]⁺ 307,20.</p>
<p>(Z)-1-[(4-хлорфенил)[фенилимино]метил}пирролидин-2,5-дион C₁₇H₁₃ClN₂O₂</p>	<p>(3l)</p>
 <p>3l</p>	<p>Светло-бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 72 %; т. пл. 165-167 °С. ЯМР ¹Н δ, ppm: 2.54-2.45 (m, 2H), 2.86 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 6.80-6.73 (m, 2H), 7.17 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.37 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.61 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 8.01 (d, J = 8.6 Hz, 2H). ЯМР¹³С δ, ppm: 29.20, 119.28, 125.65, 129.50, 130.50, 132.15, 137.87, 146.82, 147.58, 176.20. ESI-MS [M+H]⁺ 313,15.</p>
<p>(Z)-1-[[[фенилимино](п-толил)метил}пирролидин-2,5-дион (3m) C₁₈H₁₆N₂O₂</p>	<p>(3m)</p>
 <p>3m</p>	<p>Светло-бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 82 %; т. пл. 178-180 °С. ЯМР ¹Н δ, ppm: 2.40 (s, 3H), 2.50 (m, dd, J=18.0, 4.6, Hz, 2H), 2.87 (dd, J=18.0, 4.6 Hz, 2H), 6.76 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.15 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.35 (t, J = 7.9 Hz, 5H), 7.86 (d, J = 8.3 Hz, 2H). ЯМР¹³С δ, ppm: 21.6, 29.1, 119.3, 125.3, 128.7, 129.4, 130.0, 130.5, 143.3, 147.6, 147.9, 176.3. ESI-MS [M+H]⁺ 293,36.</p>

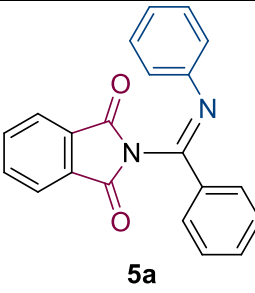
<p>(Z)-1-{(2-фторфенил)[фенилимино]метил}пирролидин-2,5-дион C₁₇H₁₃FN₂O₂</p>	<p>(3n)</p>
 <p>3n</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 34 %; т. пл. 154-156 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.92-2.81 (m, 2H), 2.56-2.43 (m, 2H), 6.83-6.73 (m, 2H), 7.20-7.14 (m, 3H), 7.42-7.31 (m, 2H), 8.10-8.04 (m, 2H). ЯМР¹³C δ, ppm: 29.2, 116.7, 119.4, 125.8, 129.8, 131.6, 134.9, 146.7, 147.7, 176.2. ESI-MS [M+H]⁺ 297,20.</p>
<p>(Z)-1-{(4-бромфенил)[фенилимино]метил}пирролидин-2,5-дион C₁₇H₁₃BrN₂O₂</p>	<p>(3o)</p>
 <p>3o</p>	<p>Серого цвета кристаллический порошок; Выход 67 %; т. пл. 160-162 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.52-2.43 (m, 2H), 2.86 (dd, J=4.6, 18.0 Hz, 2H), 6.77 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.18 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.36 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.75 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.94 (d, J = 8.3 Hz, 2H). ЯМР¹³C δ, ppm: 29.2, 119.3, 125.7, 126.9, 129.5, 130.6, 132.5, 147.0, 147.6, 176.2. ESI-MS [M+H]⁺ 357,14.</p>
<p>(Z)-1-[п-толил(п-толилимино)метил]пирролидин-2,5-дион (3hm) C₁₉H₁₈N₂O₂</p>	<p>(3hm)</p>
 <p>3hm</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 80 %; т. пл. 118-120 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.28 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.54-2.50 (m, 2H), 2.88 (d, J = 14.8 Hz, 2H), 6.67 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.15 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.33 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.84 (d, J = 7.8 Hz, 2H). ЯМР ¹³C δ, ppm: 21.0, 21.5, 29.1, 119.4, 128.6, 129.9, 130.7, 134.4, 143.1, 145.3, 147.1, 176.3. ESI-MS [M+H]⁺ 307,31.</p>
<p>(Z)-1-[4-хлорфенил(п-толилимино)метил]пирролидин-2,5-дион C₁₈H₁₅ClN₂O₂</p>	<p>(3hl)</p>
 <p>3hl</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 67 %; т. пл. 144-146 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.28 (s, 2H), 2.55-2.50 (m, 2H), 2.93-2.82 (m, 2H), 6.69 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.17 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.59 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 8.00 (d, J = 8.0 Hz, 2H). ЯМР ¹³C δ, ppm: 21.0, 29.2, 119.4, 129.5, 130.0, 130.4, 132.3, 134.9, 137.7, 145.0, 146.2, 176.3. ESI-MS [M+H]⁺ 327,12.</p>

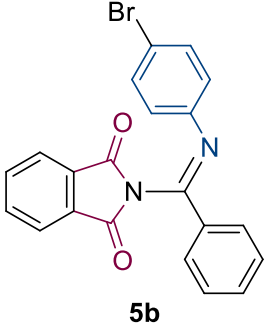
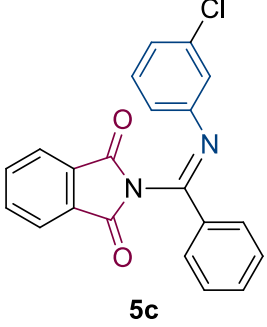
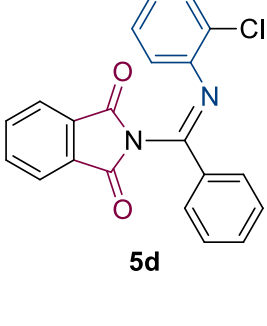
<p>(Z)-1-[[4-бромфенил)имино](4-хлорфенил)метил}пирролидин-2,5-дион (3bl) $C_{17}H_{12}BrClN_2O_2$</p>  <p>3bl</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 46 %; т. пл. 148-150 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.64-2.55 (m, 2H), 2.94-2.80 (m, 2H), 6.73 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.61 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 8.01 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H). ЯМР ^{13}C δ, ppm: 29.3, 118.1, 121.7, 129.6, 130.6, 132.0, 132.5, 138.1, 146.7, 147.4, 176.2. ESI-MS $[M+H]^+$ 391,01.</p>
<p>(Z)-1-{(4-бромфенил)[п-толилимино]метил}пирролидин-2,5-дион (3bm) $C_{18}H_{15}BrN_2O_2$</p>  <p>3bm</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 67 %; т. пл. 127-129 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.28 (s, 2H), 2.59-2.53 (m, 2H), 2.93-2.86 (m, 2H), 6.74 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.34 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.85 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H). ЯМР ^{13}C δ, ppm: 21.6, 29.2, 117.7, 121.7, 128.8, 130.0, 132.4, 143.5, 147.1, 148.2, 176.3. ESI-MS $[M+H]^+$ 371,00.</p>
<p>(Z)-1-{(4-бромфенил)[(4-фторфенил)имино]метил}пирролидин-2,5-дион (3ho) $C_{17}H_{12}BrFN_2O_2$</p>  <p>3ho</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 62 %; т. пл. 134-136 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.64-2.51 (m, 2H), 2.97-2.80 (m, 2H), 6.80 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.17 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.74 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.94 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H). ЯМР ^{13}C δ, ppm: 21.0, 29.2, 119.4, 126.7, 130.0, 130.5, 132.4, 132.7, 134.9, 145.0, 146.4, 176.3. ESI-MS $[M+H]^+$ 371,12.</p>

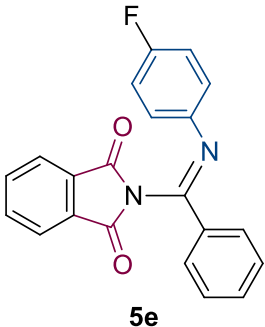
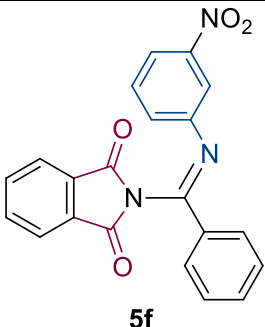
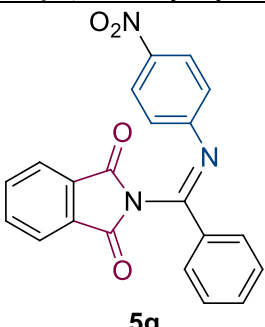
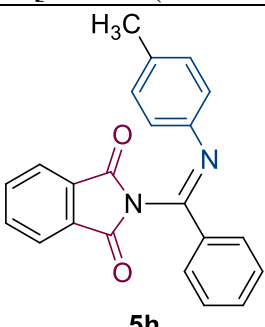
<p>(Z)-1-{(4-хлорфенил)[(4-фторфенил)имино]метил}пирролидин-2,5-дион (3el) C₁₇H₁₂ClFN₂O₂</p>  <p style="text-align: center;">3el</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 52 %; т. пл. 128-130 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.64-2.50 (m, 2H), 2.96-2.80 (m, 2H), 6.83-6.79 (m, 2H), 7.21 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 7.60 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 8.01 (d, J = 8.3 Hz, 2H). ЯМР ¹³C δ, ppm: 29.3, 116.3, 116.5, 121.3, 121.4, 129.6, 130.5, 132.1, 138.0, 143.9, 147.3, 176.2. ESI-MS [M+H]⁺ 331,19.</p>
<p>(Z)-1-{[(4-бромфенил)(4-фторфенил)имино]метил}пирролидин-2,5-дион (3eo) C₁₇H₁₂BrFN₂O₂</p>  <p style="text-align: center;">3eo</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 59 %; т. пл. 164-166 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 6.90-6.81 (m, 2H), 7.16-7.07 (m, 2H), 7.78 – 7.70 (m, 2H), 7.90 (s, 4H), 8.02-7.95 (m, 2H). NMR¹³C δ, ppm: 116.30, 116.52, 121.32, 121.41, 124.67, 127.08, 130.89, 131.23, 132.57, 133.03, 135.90, 144.32, 146.66, 166.14. ESI-MS [M+H]⁺ 375,20.</p>
<p>(Z)-1-{[(4-фторфенил)имино](п-толил)метил}пирролидин-2,5-дион (3em) C₁₈H₁₅FN₂O₂</p>  <p style="text-align: center;">3em</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 61 %; т. пл. 180-182 °С. ЯМР¹H δ, ppm: 2.40 (s, 3H), 2.60-2.50 (m, 2H), 2.90 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 6.84-6.76 (m, 2H), 7.19 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 7.34 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.86 (d, J = 7.9 Hz, 2H). ЯМР¹³C δ, ppm: 21.6, 29.1, 116.1, 116.4, 121.2, 121.3, 128.7, 130.0, 130.5, 143.4, 144.3, 148.2, 176.3. ESI-MS [M+H]⁺ 311,20.</p>

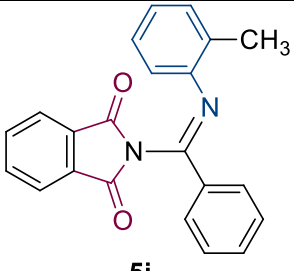
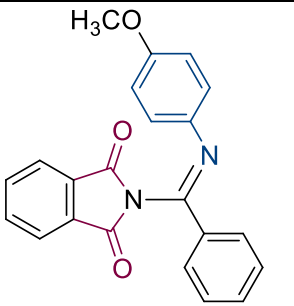
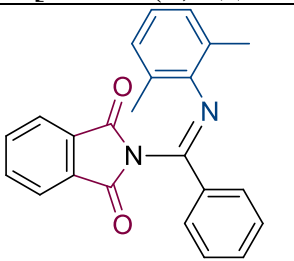
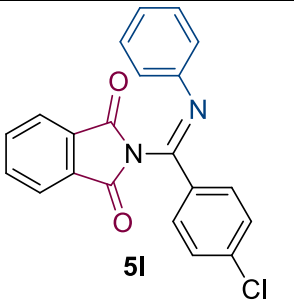
1,1'-{1,4-фениленбис[(фенилимино)метилен]}бис(пирролидин-2,5-дион) (3p) C ₂₈ H ₂₂ N ₄ O ₄	
	Порошок темно коричневого цвета; Выход 58 %; т. пл. 210-212 °С. ЯМР ¹ H δ, ppm: 2.61-2.45 (m, 4H), 2.95-2.82 (m, 4H), 6.83 (d, J = 7.8 Hz, 4H), 7.20 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.40 (t, J = 7.7 Hz, 4H), 8.12 (s, 4H). ЯМР ¹³ C δ, ppm: 29.3, 119.3, 125.9, 129.2, 129.6, 136.5, 147.0, 147.6, 176.2. ESI-MS [M+H] ⁺ 479,20.
1,1'-{1,4-фениленбис[(п-толилимино)метилен]}бис(пирролидин-2,5-дион) (3q) C ₃₀ H ₂₆ N ₄ O ₄	
	Порошок светло бежевого цвета, выход 54 %, т. пл. 214-216 °С. ЯМР ¹ H δ, ppm: 2.30 (s, 6H), 2.66-2.52 (m, 4H), 2.95-2.82 (m, 4H), 6.77 -6.70 (d, J = 7.8 Hz, 4H), 7.19 (d, J = 8.0 Hz, 4H), 8.07 (s, 4H). ЯМР ¹³ C δ, ppm: 21.0, 29.2, 119.5, 129.0, 130.1, 135.1, 136.5, 145.0, 146.4, 176.3. ESI-MS [M+H] ⁺ 507,19.

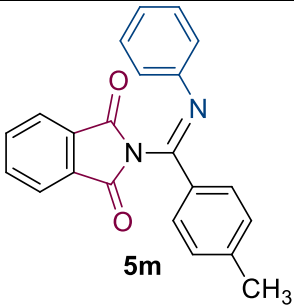
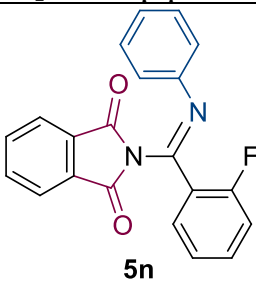
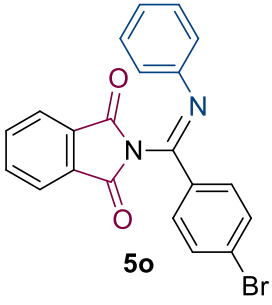
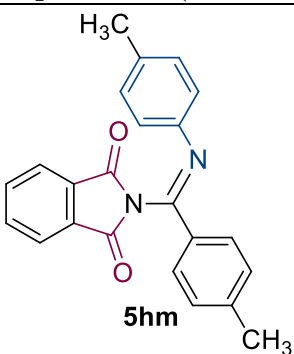
Характеристика и спектральные данные соединений **5a-q**

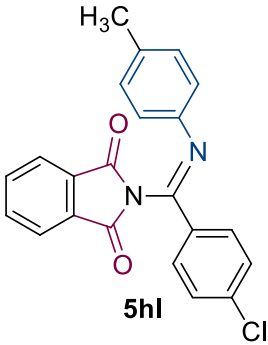
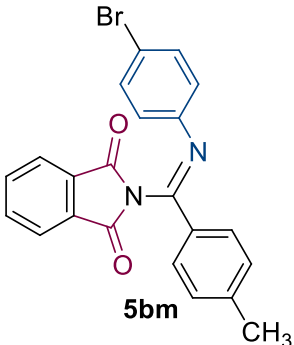
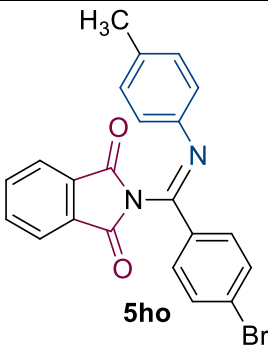
2-[Фенил(фенилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион (5a) C ₂₁ H ₁₄ N ₂ O ₂ ,	
	Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 87%, т. пл. 144-146 °С. ЯМР ¹ H δ, ppm: 6.85 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.03 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.26 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.53 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 7.63 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.93–7.82 (m, 4H), 8.04 (d, J = 7.3 Hz, 2H). ЯМР ¹³ C δ, ppm: 135.8, 133.8, 133.0, 131.2, 129.5, 128.9, 128.8, 125.4, 124.6, 119.3, 147.0, 148.2, 166.3. ESI-MS [M+H] ⁺ 327,21.

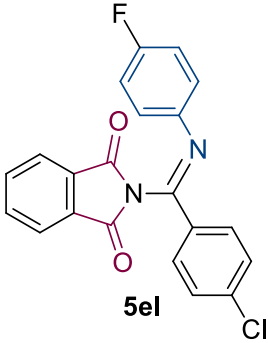
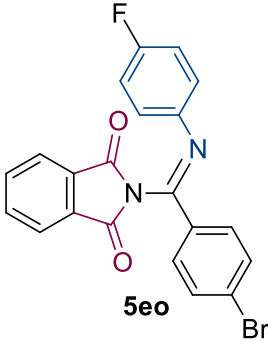
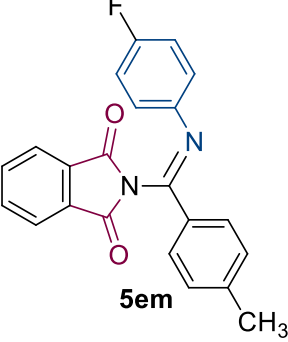
<p>2-[[4-Бромфенил]имино](фенил)метил}изоиндолин-1,3-дион C₂₁H₁₃BrN₂O₂</p>	<p>(5b)</p>
 <p style="text-align: center;">5b</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 78%, т. пл. 118-120 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 6.80 (d, J=8.6 Hz, 2H), 7.46 (d, J=8.6 Hz, 2H), 7.53 (t, J=7.7 Hz, 2H), 7.64 (t, J=7.4 Hz, 1H), 7.90 (m, 4H), 8.03 (d, J=7.3 Hz, 2H). ЯМР ¹³C δ, ppm: 117.8, 121.7, 124.7, 128.9, 129.0, 129.6, 131.2, 132.5, 133.3, 133.6, 135.9, 147.3, 147.5, 166.2. ESI-MS [M+H]⁺ 405,17.</p>
<p>2-[[3-Хлорфенил]амино](фенил)метил}изоиндолин-1,3-дион (5c) C₂₁H₁₃ClN₂O₂</p>	<p>(5c)</p>
 <p style="text-align: center;">5c</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 75%, т. пл. 148-150 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 6.76 (d, J=7.9 Hz, 1H), 6.90 (s, 1H), 7.10 (d, J=8.0 Hz, 1H), 7.27 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.54 (t, J=7.7 Hz, 2H), 7.65 (t, J=7.3 Hz, 1H), 7.90 (m, 4H), 8.04 (d, J=7.6 Hz, 2H). ЯМР ¹³C δ, ppm: 117.8, 117.8, 119.7, 119.7, 124.7, 125.2, 129.0, 129.1, 129.6, 131.1, 131.3, 133.4, 133.8, 135.9, 148.1, 149.5, 166.2. ESI-MS [M+H]⁺ 361,36.</p>
<p>2-[[2-Хлорфенил]амино](фенил)метил}изоиндолин-1,3-дион (5d) C₂₁H₁₃ClN₂O₂</p>	<p>(5d)</p>
 <p style="text-align: center;">5d</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 45%; т. пл. 184-186 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 6.76 (d, J=7.9 Hz, 1H), 7.07 (d, J=7.7 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.46 (d, J=7.9 Hz, 1H), 7.54 (t, J=7.7 Hz, 2H), 7.65 (t, J=7.3 Hz, 1H), 7.90 (m, 4H), 8.06 (d, J=7.6 Hz, 2H); ЯМР ¹³C δ, ppm: 119.7, 124.7, 125.8, 126.8, 128.1, 129.2, 129.5, 130.4, 131.2, 133.3, 133.7, 135.9, 145.2, 148.3, 165.9. ESI-MS [M+H]⁺ 361,52.</p>

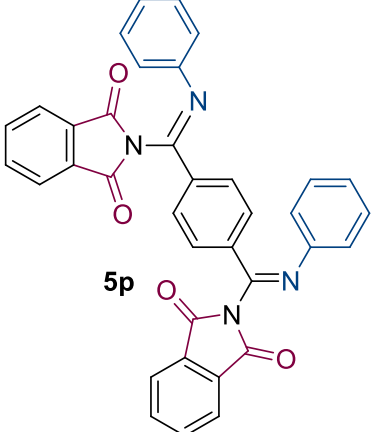
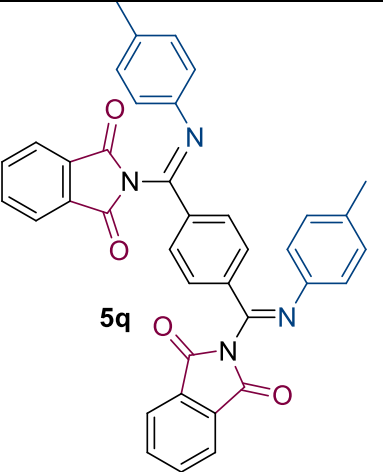
<p>2-[[4-Фторфенил)амино](фенил)метил}изоиндолин-1,3-дион (5e) $C_{21}H_{13}FN_2O_2$</p>  <p>5e</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 71%; т. пл. 120-122 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 6.91-6.81 (m, 2H), 7.12 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 7.38 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 7.58-7.49 (m, 3H), 7.64 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.91 (t, J = 3.9 Hz, 5H), 8.06-8.00 (m, 2H); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 116.2, 116.5, 121.3, 121.4, 123.9, 124.7, 128.9, 129.5, 130.1, 130.2, 131.2, 132.1, 133.1, 133.7, 135.2, 135.9, 144.50, 147.4, 158.7, 166.3. ESI-MS $[M+H]^+$ 345,02.</p>
<p>2-[[3-Нитрофенил)амино](фенил)метил}изоиндолин-1,3-дион (5f) $C_{21}H_{13}N_3O_4$</p>  <p>5f</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 26%; т. пл. 220-222 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 7.30-7.27 (m, 1H), 7.73-7.52 (m, 5H), 8.00-7.84 (m, 5H), 8.11-8.04 (m, 2H). ESI-MS $[M+H]^+$ 372,02.</p>
<p>2-[[4-Нитрофенил)имино](фенил)метил}изоиндолин-1,3-дион (5g) $C_{21}H_{13}N_3O_4$</p>  <p>5g</p>	<p>Темно-коричневого цвета кристаллический порошок, выход 53%, т.пл. 184-186 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 7.06 (d, J=12 Hz, 2H), 7.55 (t, J=7.7 Hz, 2H), 7.68 (t, J=7.5 Hz, 2H), 7.90 (m, 4H), 8.05 (d, J=7.8 Hz, 2H), 8.17 (d, J=7.8 Hz, 2H). ЯМР ^{13}C δ, ppm: 120.6, 124.8, 125.5, 125.5, 129.3, 129.6, 131.1, 133.1, 133.7, 136.0, 144.7, 148.4, 153.9, 166.0. ESI-MS $[M+H]^+$ 372,32.</p>
<p>2-[Фенил(п-толилимину)метил}изоиндолин-1,3-дион (5h) $C_{22}H_{16}N_2O_2$</p>  <p>5h</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 78%, т. пл. 118-120 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.16 (s, 3H), 6.73 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.06 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.52 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.62 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.92-7.87 (m, 4H), 8.00 (d, J = 7.4 Hz, 2H). ЯМР ^{13}C δ, ppm: 20.9, 119.3, 123.9, 127.7, 128.7, 130.0, 131.2, 133.9, 134.6, 135.8, 145.6, 146.4, 166.3. ESI-MS $[M+H]^+$ 341,27.</p>

<p>2-[Фенил(2-толилимину)метил]изоиндолин-1,3-дион (5i) $C_{22}H_{16}N_2O_2$</p>  <p>5i</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 51%, т. пл. 148-150 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.16 (s, 3H), 6.50 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 6.99-6.92 (m, 2H), 7.20 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.52 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.66-7.62 (m, 1H), 7.91-7.85 (m, 4H), 8.05 (d, J = 7.4 Hz, 2H); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 18.1, 116.5, 124.6, 125.5, 126.6, 128.8, 129.5, 130.0, 130.9, 131.2, 132.9, 133.9, 135.8, 146.5, 147.0, 166.4. ESI-MS $[M+H]^+$ 341,26.</p>
<p>2-{Фенил[(4-метоксифенил)имино]метил}изоиндолин-1,3-дион (5j) $C_{22}H_{16}N_2O_3$</p>  <p>5j</p>	<p>Темно-коричневого цвета кристаллический порошок, выход 89%, Тпл 126-128 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 3.64 (s, 3H), 6.80 (m, 4H), 7.51 (t, J=7.6 Hz, 2H), 7.61 (t, J=7.4 Hz, 1H), 7.91 (m, 4H), 7.98 (d, J=7.4 Hz, 2H). ЯМР ^{13}C δ, ppm: 55.5, 55.6, 114.8, 121.1, 124.6, 128.5, 128.6, 129.5, 131.3, 132.7, 134.1, 135.8, 141.1, 145.8, 157.2, 166.4. ESI-MS $[M+H]^+$ 357,21.</p>
<p>2-[Фенил(2,5-диметилфенилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион (5k) $C_{23}H_{18}N_2O_2$</p>  <p>5k</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 51%, т. пл. 118-120 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.09 (s, 6H), 6.82 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.52 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.63 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.88 (s, 4H), 8.01 (d, J = 7.7 Hz, 2H). ESI-MS $[M+H]^+$ 355,15.</p>
<p>2-[4-Хлорфенил(фенилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион (5l). $C_{21}H_{13}ClN_2O_2$</p>  <p>5l</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 62%, т. пл. 165-167 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 6.84-6.77 (m, 2H), 7.05 (t, J=7.4 Hz, 1H), 7.26 (t, 2H, J=7.4 Hz), 7.60 (d, J=7.4 Hz, 2H), 7.88 (s, 4H), 8.09 (d, J=7.4 Hz, 2H); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 119.3, 124.6, 125.6, 129.3, 129.5, 129.6, 130.7, 131.3, 132.7, 135.8, 138.0, 146.1, 147.9, 166.2. ESI-MS $[M+H]^+$ 361,15.</p>

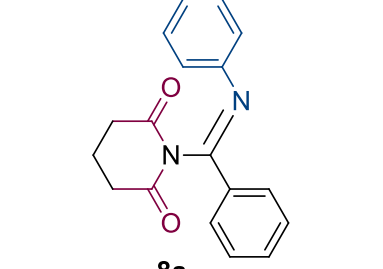
<p>2-[4-толил(фенилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион (5m) C₂₂H₁₆N₂O₂</p>  <p>5m</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 82%, т. пл. 188-190 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.40 (s, 3H), 6.82-6.74 (m, 2H), 7.06-6.97 (m, 1H), 7.29-7.20 (m, 2H), 7.34 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.45 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.58-7.50 (m, 1H), 8.03-7.89 (m, 4H). ESI-MS [M+H]⁺ 341,36.</p>
<p>2-[2-Фторфенил(фенилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион (5n) C₂₁H₁₃FN₂O₂</p>  <p>5n</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 38%, т. пл. 119-121 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 6.78 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.03 (t, J=7.4 Hz, 1H), 7.25 (t, J=7.4 Hz, 2H), 7.37 (t, J=7.4 Hz, 2H), 7.88 (s, 4H), 8.16-8.10 (m, 2H). NMR ¹³C δ, ppm: 116.6, 116.7, 119.3, 124.6, 125.4, 129.5, 130.4, 131.3, 131.7, 135.8, 146.0, 148.0, 166.3. ESI-MS [M+H]⁺ 345,11.</p>
<p>2-[4-Бромфенил(фенилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион (5o) C₂₁H₁₃BrN₂O₂</p>  <p>5o</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 65%, т. пл. 172-174 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 6.80 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.04 (t, J=7.4 Hz, 1H), 7.26 (t, J=7.4 Hz, 2H), 7.73 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.88 (s, 4H), 7.99 (d, J = 8.0 Hz, 2H). ЯМР ¹³C δ, ppm: 119.3, 124.6, 125.6, 127.0, 129.5, 130.9, 131.2, 132.6, 133.1, 135.8, 146.2, 147.9, 166.2. ESI-MS [M+H]⁺ 405,14.</p>
<p>2-[4-Толлил(4-толилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион (5hm) C₂₃H₁₈N₂O₂</p>  <p>5hm</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 76%, т. пл. 166-168 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.16 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 6.75-6.68 (m, 2H), 7.05 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.32 (d, J = 7.3 Hz, 4H), 7.98-7.86 (m, 4H). NMR ¹³C δ, ppm: 21.2, 21.6, 119.4, 123.9, 124.6, 127.7, 128.7, 129.74, 129.82, 130.0, 130.1, 131.2, 131.3, 132.0, 134.4, 135.1, 135.8, 138.1, 143.2, 166.4, 167.6. ESI-MS [M+H]⁺ 355,14.</p>

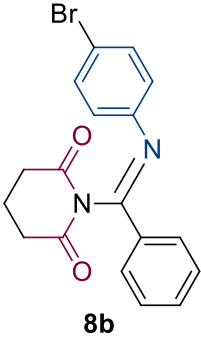
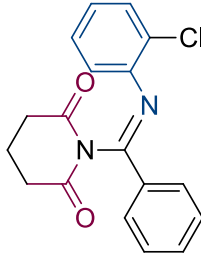
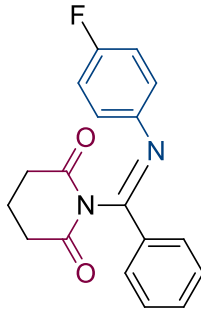
<p>2-[4-хлорфенил(4-толилимину)метил]изоиндолин-1,3-дион (5hl) C₂₂H₁₅ClN₂O₂</p>  <p>5hl</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 71%, т. пл. 170-172 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.18 (s, 3H), 6.71 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.07 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.58 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.90 (m, 4H), 8.05 (d, J = 8.0 Hz, 2H). NMR ¹³C δ, ppm: 20.9, 119.4, 124.7, 127.2, 129.6, 130.0, 130.6, 131.3, 132.9, 134.8, 135.8, 137.8, 145.3, 145.4, 166.2. ESI-MS [M+H]⁺ 375,06.</p>
<p>2-[4-толил(4-бромфенилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион (5bm) C₂₂H₁₅BrN₂O₂</p>  <p>5bm</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 61%, т. пл. 148-150 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.40 (s, 3H), 6.76 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.34 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.44 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.91 (s, 4H); ESI-MS [M+H]⁺ 419,46.</p>
<p>2-[4-бромфенил(4-толилимину)метил]изоиндолин-1,3-дион (5ho) C₂₂H₁₅BrN₂O₂</p>  <p>5ho</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 59%, т. пл. 140-142 °С. ЯМР ¹H δ, ppm: 2.18 (s, 3H), 6.71 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.07 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.72 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.90 (s, 4H), 7.97 (d, J = 8.3 Hz, 2H); ЯМР ¹³C δ, ppm: 20.9, 119.4, 124.7, 126.8, 130.0, 130.7, 131.3, 132.5, 133.3, 134.8, 135.9, 145.4, 145.6, 166.2. ESI-MS [M+H]⁺ 419,50.</p>

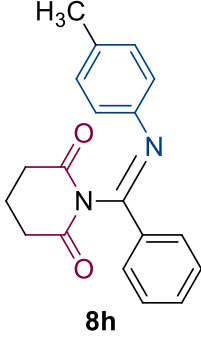
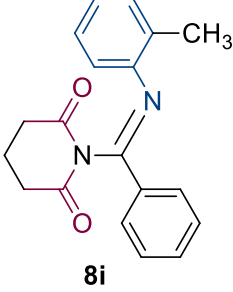
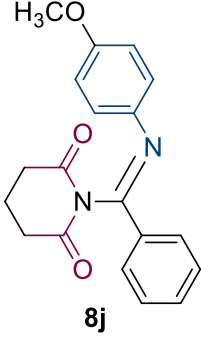
<p>2-[4-хлорфенил(4-фторфенилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион (5el) $C_{21}H_{12}ClFN_2O_2$</p>	
 <p style="text-align: center;">5el</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 58%, т. пл. 149-151 °С. NMR 1H δ, ppm: 6.90-6.80 (m, 2H), 7.12 (t, J=7.4 Hz, 2H), 7.58 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.90 (s, 4H), 8.08 (d, J = 8.4 Hz, 2H); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 116.3, 116.5, 121.3, 121.4, 124.7, 129.6, 130.8, 131.2, 132.7, 135.9, 138.0, 144.3, 146.5, 161.2, 166.2. ESI-MS $[M+H]^+$ 379,90.</p>
<p>2-[4-бромфенил(4-фторфенилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион (5eo) $C_{21}H_{12}BrFN_2O_2$</p>	
 <p style="text-align: center;">5eo</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 56%, т. пл. 138-140 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 6.87-6.82 (m, 2H), 7.12 (t, J=7.4 Hz, 2H), 7.74 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.90 (s, 4H), 7.99 (d, J = 8.4 Hz, 2H); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 116.3, 116.5, 121.3, 121.4, 124.7, 127.1, 130.9, 131.2, 132.6, 133.0, 135.9, 144.3, 146.7, 166.1. ESI-MS $[M+H]^+$ 422,99.</p>
<p>2-[4-толил(4-фторфенилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион (5em) $C_{22}H_{15}FN_2O_2$</p>	
 <p style="text-align: center;">5em</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок, выход 67%, т. пл. 128-130 °С. ЯМР 1H δ, ppm: 2.40 (s, 3H), 6.84-6.81 (m, 2H), 7.10 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 7.34 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 7.39 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.56-7.48 (m, 1H), 7.95-7.86 (m, 4H); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 21.6, 116.2, 116.4, 121.3, 121.4, 123.9, 124.6, 128.9, 130.1, 130.2, 131.0, 131.2, 132.1, 135.2, 135.9, 143.5, 144.6, 147.3, 166.3, 167.5. ESI-MS $[M+H]^+$ 359,12.</p>

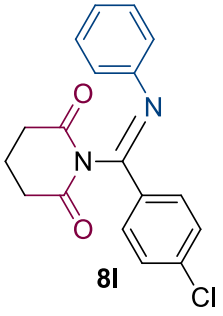
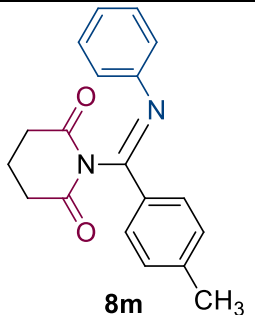
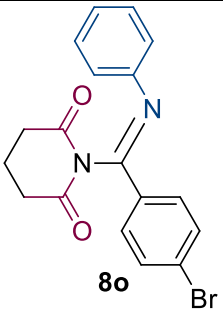
<p>1,1'-(1,4-фениленбис((фенилимино)метил)ен)бис(изоиндолин-1,3-дион) (5p) $C_{36}H_{22}N_4O_4$</p>	
 <p>5p</p>	<p>Желтого цвета кристаллический порошок, выход 41%, Тпл >300°C. ЯМР 1H δ, ppm: 6.84 (d, J = 7.8 Hz, 4H), 7.07 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 7.28 (t, J = 7.7 Hz, 4H), 7.90 (s, 8H), 8.16 (s, 4H); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 119.3, 124.3, 125.8, 126.2, 128.9, 130.17 – 127.55 (m), 131.2, 136.2, 137.1, 147.9, 166.2, 168.6. ESI-MS [M+H]⁺ 575,12.</p>
<p>1,1'-(1,4-фениленбис((4-толилимину)метил)ен)бис(изоиндолин-1,3-дион) (5q) $C_{38}H_{26}N_4O_4$</p>	
 <p>5q</p>	<p>Желтого цвета кристаллический порошок, выход 26%, Тпл >300°C. ЯМР 1H δ, ppm: 8.16 (s, 4H), 7.90 (s, 8H), 7.28 (t, J = 7.7 Hz, 5H), 7.08 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 6.75 (d, J = 7.8 Hz, 4H); ЯМР ^{13}C δ, ppm: 168.55, 166.19, 147.92, 137.13, 136.51, 135.89, 131.19, 129.86, 129.56, 128.91, 126.19, 125.75, 124.66, 119.32. ESI-MS [M+H]⁺ 603,21.</p>

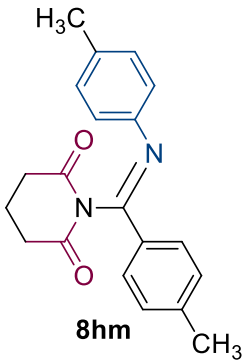
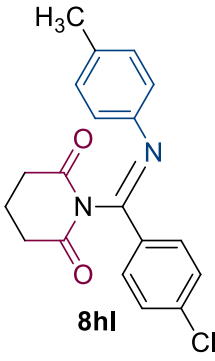
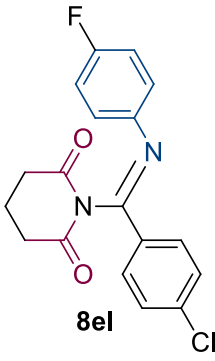
Характеристика и спектральные данные соединений **8a-r**

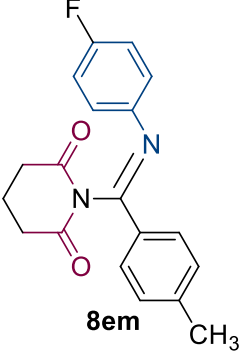
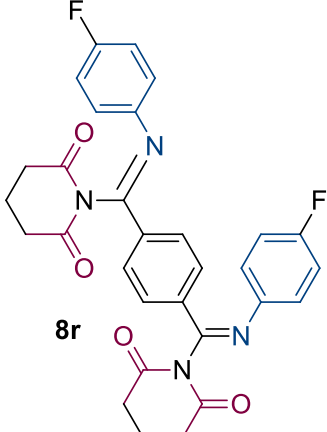
<p>(Z)-1-(фенил(фенилимино)метил)пиперидин-2,6-дион (8a) $C_{18}H_{16}N_2O_2$</p>	
 <p>8a</p>	<p>Почти белого цвета кристаллический порошок, выход 83%, Т.пл.= 156-158 °С. Хроматографическая чистота: 98,81%. 1H ЯМР (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 1.27-1.17 (m, 1H), 1.91-1.84 (m, 1H), 2.37-2.31 (m, 2H), 2.81-2.68 (m, 2H), 6.69 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.15 (m, 1H), 7.35 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.53-7.49 (m, 2H), 7.60-7.58 (m, 1H), 7.91 (d, J = 7.8 Hz, 2H),. ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): δ 17.1, 31.9, 118.8, 125.0, 128.3, 129.2, 132.4, 133.8, 148.2, 150.4, 172.65, ESI-MS [M+H]⁺ 293.15.</p>

<p>(Z)-1-(((4-бромфенил)имино)(фенил)метил)пиперидин-2,6-дион C₁₈H₁₅BrN₂O₂</p>	<p>(8b)</p>
 <p style="text-align: center;">8b</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 64%, Т.пл.= 126-128 °С. Хроматографическая чистота: 96,75% ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.94 – 7.87 (m, 2H), 7.65 – 7.57 (m, 1H), 7.57 – 7.47 (m, 4H), 6.70 – 6.62 (m, 2H), 2.81-2.73 (m, 2H), 2.44-2.39 (m, 2H), 1.98-1.89 (m, 1H), 1.38-1.28 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.70, 150.85, 147.30, 133.52, 132.64, 132.18, 129.35, 128.38, 121.23, 117.37, 31.91, 17.16. ESI-MS [M+H]⁺ 371.26.</p>
<p>(Z)-1-(((2-хлорфенил)имино)(фенил)метил)пиперидин-2,6-дион C₁₈H₁₅ClN₂O₂</p>	<p>(8d)</p>
 <p style="text-align: center;">8d</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 46%, Т.пл.=164-166 °С. Хроматографическая чистота: 98,21%. ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.96 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.61 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.57 – 7.46 (m, 3H), 7.32 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.19 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 2.85 – 2.73 (m, 2H), 2.51 (s, 1H), 2.42 (s, 1H), 1.98 – 1.89 (m, 1H), 1.44-1.35 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.57, 151.21, 144.60, 133.86, 132.67, 130.44, 129.34, 128.51, 127.86, 126.81, 126.01, 119.16, 32.04, 17.07. MS-ESI: m/z [M+H]⁺ найдено для C₁₈H₁₅ClN₂O₂: 327.23.</p>
<p>(Z)-1-(((4-фторфенил)имино)(фенил)метил)пиперидин-2,6-дион C₁₈H₁₅FN₂O₂</p>	<p>(8e)</p>
 <p style="text-align: center;">8e</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход (66%), Т.пл.=142-144 °С. Хроматографическая чистота: 99,41%. ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.95 – 7.87 (m, 2H), 7.64 – 7.55 (m, 1H), 7.53 – 7.49 (m, 2H), 7.25 – 7.15 (m, 2H), 6.77 – 6.68 (m, 2H), 2.81–2.73 (m, 2H), 2.44 – 2.37 (m, 2H), 1.97 – 1.88 (m, 1H), 1.39 – 1.28 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.68, 150.89, 144.44, 133.67, 132.51, 129.31, 128.32, 120.77, 120.69, 116.16, 115.94, 31.93, 17.14. MS-ESI: m/z [M+H]⁺ найдено для C₁₈H₁₅FN₂O₂: 311.12.</p>

<p>(Z)-1-(фенил(п-толилимино)метил)пиперидин-2,6-дион (8h) C₁₉H₁₈N₂O₂</p>  <p style="text-align: center;">8h</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 88%; Т. пл.= 160-162 °С. Хроматографическая чистота: 98,35% ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.89 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.60-7.56 (m, 1H), 7.52-7.48 (m, 2H), 7.15 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 6.60 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 2.79-2.71 (m, 2H), 2.41-2.34 (m, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.93-1.87 (m, 1H), 1.34-1.28 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.63, 149.92, 145.58, 133.99, 132.26, 129.66, 129.25, 128.22, 118.92, 31.98, 20.97, 17.13. MS-ESI: m/z [M+H]⁺ найдено для C₁₉H₁₈N₂O₂: 307.21.</p>
<p>(Z)-1-(фенил(о-толилимино)метил)пиперидин-2,6-дион (8i) C₁₉H₁₈N₂O₂</p>  <p style="text-align: center;">8i</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход (74%), Т.пл.= 108-110 °С. Хроматографическая чистота: 99,09% ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.94 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.61-7.57 (m, 1H), 7.54-7.50 (m, 2H), 7.22-7.17 (m, 1H), 7.15-7.13 (m, 1H), 7.06-7.04 (m, 1H), 6.52 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 2.80-2.76 (m, 2H), 2.42-2.36 (m, 2H), 2.12 (s, 3H), 1.92-1.86 (m, 1H), 1.37-1.27 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.75, 149.38, 146.56, 134.11, 132.26, 130.82, 129.63, 129.30, 128.22, 126.33, 125.28, 116.62, 32.01, 17.68, 17.05. MS-ESI: m/z [M+H]⁺ найдено для C₁₉H₁₈N₂O₂: 307.26.</p>
<p>(Z)-1-(((4-метоксифенил)имино)(фенил)метил)пиперидин-2,6-дион (8j) C₁₉H₁₈N₂O₃</p>  <p style="text-align: center;">8j</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 66%, Т. пл.=118-120 °С. Хроматографическая чистота: 99,40%. ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.94 (d, J = 7.2, 2H), 7.61-7.59 (m, 1H), 7.57-7.50 (m, 2H), 7.21 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.15 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.06 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.53 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 2.42-2.40 (m, 2H), 2.39-2.35 (m, J = 17.4, 5.3 Hz, 2H), 2.12 (s, 3H), 1.92-1.86 (m, 1H), 1.37-1.27 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.73, 149.39, 146.58, 134.13, 132.25, 130.82, 129.63, 129.29, 128.23, 126.33, 125.27, 116.63, 32.02, 17.69, 17.06. MS-ESI: m/z [M+H]⁺ найдено для C₁₉H₁₈N₂O₃: 323.20.</p>

<p>(Z)-1-((4-хлорфенил)(фенилимино)метил)пиперидин-2,6-дион (8l) C₁₈H₁₅ClN₂O₂</p>  <p>8l</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 80%, Т. пл.=145-147 °С. Хроматографическая чистота: 96,26%. ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.98 – 7.89 (m, 2H), 7.62 – 7.53 (m, 2H), 7.40 – 7.31 (m, 2H), 7.20 – 7.11 (m, 1H), 6.72 – 6.65 (m, 2H), 2.78-2.70 (m, 2H), 2.40 – 2.27 (m, 2H), 1.92-1.83 (m, 1H), 1.24-1.18 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.69, 149.64, 147.97, 137.28, 132.78, 130.16, 129.33 (d, J = 16.7 Hz), 125.20, 118.79, 31.92, 17.03. MS-ESI: m/z [M+H]⁺ найдено для C₁₈H₁₅ClN₂O₂: 327.09.</p>
<p>(Z)-1-((фенилимино)(п-толил)метил)пиперидин-2,6-дион (8m) C₁₉H₁₈N₂O₂</p>  <p>8m</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 84%, Т. пл.=183-185 °С. Хроматографическая чистота: 99,35%. ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.84 – 7.77 (m, 2H), 7.38 – 7.28 (m, 4H), 7.18 – 7.09 (m, 1H), 6.73 – 6.65 (m, 2H), 2.74-2.71 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 2.37 – 2.27 (m, 2H), 1.90-1.81 (m, 1H), 1.27 – 1.12 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.59, 150.28, 148.36, 142.55, 131.19, 129.84, 129.15, 128.36, 124.87, 118.89, 31.95, 21.52, 17.10. MS-ESI: m/z [M+H]⁺ найдено для C₁₉H₁₈N₂O₂: 307.23.</p>
<p>(Z)-1-((4-бромфенил)(фенилимино)метил)пиперидин-2,6-дион C₁₈H₁₅BrN₂O₂</p>	<p>(8o)</p>
 <p>8o</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 68%, Т. пл.=134-136 °С. Хроматографическая чистота: 98,81%. ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.91 – 7.83 (m, 2H), 7.75 – 7.67 (m, 2H), 7.35 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.20 – 7.11 (m, 1H), 6.72 – 6.65 (m, 2H), 2.78-2.70 (m, 2H), 2.42 – 2.28 (m, 2H), 1.92-1.83 (m, 1H), 1.24-1.18 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.69, 149.81, 147.98, 133.14, 132.35, 130.32, 129.25, 126.27, 125.21, 118.77, 31.92, 17.04. Масс-спектрометрия MS-ESI: m/z [M+H]⁺ найдено для C₁₈H₁₅BrN₂O₂: 371.04.</p>

<p>(Z)-1-(п-толил(п-толилимино)метил)пиперидин-2,6-дион (8hm) C₂₀H₂₀N₂O₂</p>  <p>8hm</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 52%, Т. пл.=184-186 °С. Хроматографическая чистота: 97,66%. ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.81 – 7.75 (m, 2H), 7.30 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.18 – 7.11 (m, 2H), 6.64 – 6.56 (m, 2H), 2.78 – 2.70 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.40 – 2.33 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 1.92 – 1.84 (m, 1H), 1.35 – 1.20 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.57, 149.83, 145.71, 142.37, 133.87, 131.37, 129.81, 129.61, 128.26, 118.97, 31.99, 21.51, 20.96, 17.14. Масс-спектрометрия MS-ESI: m/z [M+H]⁺ найдено для C₂₀H₂₀N₂O₂: 321.36.</p>
<p>(Z)-1-(4-хлорфенил)(п-толилимино)метил)пиперидин-2,6-дион (8hl) C₁₉H₁₇ClN₂O₂</p>  <p>8hl</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 49%, Т. пл.=203-205 °С. Хроматографическая чистота: 96,75%. ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.92 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.62 – 7.53 (m, 2H), 7.16 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.61 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 2.76-2.72 (m, 2H), 2.42-2.35 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 1.94-86 (m, 1H), 1.33-1.23 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.70, 149.12, 145.29, 137.12, 134.33, 132.94, 130.05, 129.71, 129.38, 118.92, 31.95, 20.96, 17.06. Масс-спектрометрия MS-ESI: m/z [M+H]⁺ найдено для C₁₉H₁₇ClN₂O₂: 341.16.</p>
<p>(Z)-1-(4-хлорфенил)(4-фторфенил)имино)метил)пиперидин-2,6-дион (8el) C₂₂H₁₅BrN₂O₂</p>  <p>8el</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 67%, Т. пл.=160-162 °С. Хроматографическая чистота: 94,79%. ¹H NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz): δ 7.98 – 7.89 (m, 2H), 7.62 – 7.53 (m, 2H), 7.26 – 7.15 (m, 2H), 6.78 – 6.68 (m, 2H), 2.80-2.72 (m, 2H), 2.44-2.37 (m, 2H), 1.97-1.88 (m, 1H), 1.40 – 1.25 (m, 1H). ¹³C NMR (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz): δ 172.71, 161.06, 150.11, 144.18, 137.38, 132.69, 130.16, 129.43, 120.80, 120.72, 116.22, 116.00, 31.91, 17.08. MS-ESI: m/z [M+H]⁺ найдено для C₁₈H₁₄ClFN₂O₂: 345.08.</p>

<p>(Z)-1-(((4-фторфенил)имино)(п-толил)метил)пиперидин-2,6-дион (8em) $C_{22}H_{15}FN_2O_2$</p>	
 <p style="text-align: center;">8em</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 59%, Т.пл.=200-202 °С. Хроматографическая чистота: 98,38%. 1H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 7.79 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.19 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 6.76 – 6.67 (m, 2H), 2.78-2.72 (m, 2H), 2.42-2.37 (m, 5H), 1.95-1.87 (m, 1H), 1.37-1.26 (m, 1H). ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): δ 172.65, 150.78, 144.54, 142.70, 131.06, 129.88, 128.34, 120.81, 120.73, 116.10, 115.88, 31.92, 21.51, 17.13. MS-ESI: m/z $[M+H]^+$ найдено для $C_{19}H_{17}FN_2O_2$: 325.36.</p>
<p>1,1'-((1E,1'E)-1,4-фениленбис(((4-фторфенил)имино)метиле))бис(пиперидин-2,6-дион) (8r) $C_{30}H_{24}F_2N_4O_4$</p>	
 <p style="text-align: center;">8r</p>	<p>Бежевого цвета кристаллический порошок; Выход 51%, Т.пл.>300 °С. Хроматографическая чистота: 94,29%. 1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.01 (s, 4H), 7.23 (t, J = 8.8 Hz, 4H), 6.82 – 6.73 (m, 4H), 2.82 – 2.72 (m, 4H), 2.50 – 2.39 (m, 4H), 2.01 – 1.89 (m, 2H), 1.42 - 1.36 (m, 2H). ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): δ 172.72, 161.15, 158.75, 150.25, 144.16, 136.67, 128.74, 120.87, 120.79, 116.28, 116.05, 31.95, 17.13. MS-ESI: m/z $[M+H]^+$ найдено $C_{30}H_{24}F_2N_4O_4$: 543.17.</p>

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1) Разработаны лабораторные способы получения новых *N*-замещенных производных сукцинимида, фталимида и глутаримида реакцией ацилирования *C,N*-диарилформамидинов янтарным, фталевым и глутаровым ангидридами. Установлено, что взаимодействие *C,N*-диарилформамидинов с ангидридами янтарной, глутаровой и фталевой кислот позволяет получить *N*-замещенные пирролидин-2,5-дионы с выходами от 24 до 93%, *N*-замещенные пиперидин-2,6-дионы с выходами от 46 до 88%, *N*-замещенные изоиндолин-1,3-дионы с выходами от 26 до 89%, соответственно.

2) Доказано строение и индивидуальность всех синтезированных соединений с помощью физико-химических методов анализа: РСА, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, ТСХ.

3) Проведено прогнозирование острой токсичности и биологической активности полученных соединений путем компьютерного анализа с помощью программ *GUSAR* и *PASS* (Prediction of Activity Spectra for Substances), в ходе которого спрогнозированы предполагаемые дозы острой токсичности для последующих исследований *in vivo* и предсказана высокая вероятность проявления анальгезирующей и противовоспалительной активностей.

4) Проведено исследование острой токсичности и биологической активности полученных соединений методом *in vivo*. Показано, что они относятся к классам «практически нетоксично» и «нетоксично» согласно классификации Сидорова К.К. Установлено, что все анализируемые соединения обладают выраженной анальгезирующей активностью. Наибольшей анальгезирующей активностью обладают 2-({4-нитрофенил}имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион и 1-(((2-хлорфенил)имино)(фенил)метил)пиперидин-2,6-дион. По результатам анализа противовоспалительной активности наибольшим действием обладает 2-({4-нитрофенил}имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион, превышающий по силе действия препарат сравнения – метамизол натрия.

5) Для 2-([4-нитрофенил]имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона разработаны аналитические методики контроля качества и проведена аттестация первичного стандартного образца.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Quek J. Y. Amidine functionality as a stimulus-responsive building block/ J. Y. Quek, T. P. Davis, A. B. Lowe //Chemical Society Reviews. – 2013. – Vol. 42. – №. 17. – P. 7326-7334.
2. Jung S. Heterocyclic Mechanophores in Polymer Mechanochemistry/ S. Jung, H. J. Yoon //Synlett. – 2022. – Vol. 33. – №. 09. – P. 863-874.
3. Kang S. N-Heterocyclic Carbene Anchors in Electronics Applications / S. E. Byeon, H. J. Yoon //Bulletin of the Korean Chemical Society. – 2021. – Vol. 42. – №. 5. – P. 712-723.
4. Chao, B. Copper (I)-mediated cascade reactions: An efficient approach to the synthesis of functionalized benzofuro [3,2-d] pyrimidines / B. Chao, S. Lin, , Q. Ma, D. Lu, Y. Hu //Organic letters. – 2012. – Vol. 14. – №. 9. – P. 2398-2401.
5. Yang, X. Easy and efficient one-pot synthesis of pyrazolo[1,5-c]quinazolines under mild copper-catalyzed conditions / X. Yang, Y. Jin, H. Liu, Y. Jiang, H. Fu //RSC advances. – 2012. – Vol. 2. – №. 29. – P. 11061-11066.
6. Xu L. Synthesis of 3-substituted and 2, 3-disubstituted quinazolinones via Cu-catalyzed aryl amidation / L. Xu, Y. Jiang, D. Ma //Organic letters. – 2012. – Vol. 14. – №. 4. – P. 1150-1153.
7. McGowan M. A. Palladium-catalyzed *N*-monoarylation of amidines and a one-pot synthesis of quinazoline derivatives / M. A. McGowan, C. Z. McAvoy, S. L. Buchwald //Organic letters. – 2012. – Vol. 14. – №. 14. – P. 3800-3803.
8. Li, S. Gold (I)-Catalyzed Aminohalogenation of Fluorinated *N'*-Aryl-*N*-Propargyl Amidines for the Synthesis of Imidazole Derivatives under Mild Conditions/ S. Li, Z. Li, Y. Yuan, Y. Li, L. Zhang, Y. Wu //Chemistry–A European Journal. – 2013. – Vol. 19. – №. 4. – P. 1496-1501.
9. Li, B. Synthesis of quinazolin-4 (3 H)-ones via amidine *N*-arylation / B. Li, L. Samp, J. Sagal, C. M. Hayward, C. Yang, Z. Zhang //The Journal of Organic Chemistry. – 2013. – Vol. 78. – №. 3. – P. 1273-1277.

10. Guo, W. Developments towards synthesis of *N*-heterocycles from amidines via C–N/C–C bond formation / W. Guo, M. Zhao, W. Tan, L. Zheng, K. Tao, X. Fan // *Organic Chemistry Frontiers*. – 2019. – Vol. 6. – №. 13. – P. 2120-2141.
11. Soeiro, M. N. C. Novel amidines and analogues as promising agents against intracellular parasites: a systematic review/ M. N. C. Soeiro, K. Werbovetz, D. W. Boykin, W. D. Wilson, M. Z. Wang, A. Hemphill // *Parasitology*. – 2013. – Vol. 140. – №. 8. – P. 929-951.
12. Borah G. Ortho-Functionalization of Benzimidates and Benzamidines/ G. Borah, B. Dam, B. K. Patel // *ChemistrySelect*. – 2022. – Vol. 7. – №. 12. – P. e202104583.
13. Quek J. Y. Amidine functionality as a stimulus-responsive building block / J. Y. Quek, T. P. Davis, A. B. Lowe // *Chemical Society Reviews*. – 2013. – Vol. 42. – №. 17. – P. 7326-7334.
14. Kuvaeva, E. V. Synthesis and structure of aroylamidines and *N*-arylbenzamidines hydrochlorides / E.V. Kuvaeva, E.V. Fedorova, V. V. Zaitsev, I. P. Yakovlev, V. I. Zakharov, T. L. Semakova // *Russian Journal of Organic Chemistry*, – 2012. – Vol. 48.– P. 209-213
15. Ramón D. J. Asymmetric multicomponent reactions (AMCRs): the new frontier / D. J. Ramón, M. Yus // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2005. – Vol. 44. – №. 11. – P. 1602-1634.
16. Koutentis P. A. Reinvestigating the synthesis of *N*-arylbenzamidines from benzonitriles and anilines in the presence of AlCl₃ / P. A. Koutentis, S. I. Mirallai // *Tetrahedron*. – 2010. – Vol. 66. – №. 27-28. – P. 5134-5139.
17. Zhang, L. Comprehensive review in current developments of imidazole-based medicinal chemistry / L. Zhang, X. M. Peng, G. L. Damu, R. X. Geng, C. H. Zhou, // *Medicinal research reviews*. – 2014. – Vol. 34. – №. 2. – P. 340-437.

18. Keri, R. S. Comprehensive review in current developments of benzimidazole-based medicinal chemistry / R. S. Keri, A. Hiremathad, S. Budagumpi, B. M. Nagaraja, //Chemical biology & drug design. – 2015. – Vol. 86. – №. 1. – P. 19-65.
19. Kamijo S. Recent progress in the catalytic synthesis of imidazoles / S. Kamijo, Y. Yamamoto //Chemistry–An Asian Journal. – 2007. – Vol. 2. – №. 5. – P. 568-578.
20. Qu, J. I₂-Catalyzed diamination of acetyl-compounds for the synthesis of multi-substituted imidazoles / J. Qu, P. Wu, D. Tang, X. Meng, Y. Chen, S. Guo, B. Chen //New Journal of Chemistry. – 2015. – Vol. 39. – №. 6. – P. 4235-4239.
21. Zhou, X. Facile Synthesis of Polysubstituted Imidazoles through CBr₄-Mediated Tandem Cyclization of Amidines with 1, 3-Dicarbonyl Compounds or Ketones / J. Qu, P. Wu, D. Tang, X. Meng, Y. Chen, S. Guo, B. Chen, //European Journal of Organic Chemistry. – 2017. – Vol. 2017. – №. 2. – P. 237-240.
22. Li, Y. Copper-catalyzed oxidative coupling reaction of α,β -unsaturated aldehydes with amidines: synthesis of 1, 2, 4-trisubstituted-1 H-imidazole-5-carbaldehydes / Y. Li, Y. Fu, C. Ren, D. Tang, P. Wu, X. Meng, B. Chen //Organic Chemistry Frontiers. – 2015. – Vol. 2. – №. 12. – P. 1632-1636.
23. Wu, P. Iron (III)/Iodine-Catalyzed C (sp²) H Activation of α,β -Unsaturated Aldehydes/Ketones with Amidines: Synthesis of 1, 2, 4, 5-Tetrasubstituted Imidazoles / P. Wu, J. Qu, Y. Li, X. Guo, D. Tang, X. Meng, B. Chen, //Advanced Synthesis & Catalysis. – 2015. – Vol. 357. – №. 18. – P. 3868-3874.
24. Liu, X. Iron (III)-Catalyzed Synthesis of 1, 2, 4-Trisubstituted Imidazoles through the Reactions of Amidines and Aldehydes in Air / X. Liu, D. Wang, Y. Chen, D. Tang, B. Chen //Advanced Synthesis & Catalysis. – 2013. – Vol. 355. – №. 14-15. – P. 2798-2802.

25. Mo Y. Highly stereoselective synthesis of 2, 3-dihydrofurans via a cascade Michael addition-alkylation process: a nitro group as the leaving group // *Chemical communications*. – 2019. – Vol. 55. – №. 44. – P. 6285-6288.
26. Tang, D. Synthesis of multisubstituted imidazoles via copper-catalyzed [3+2] cycloadditions / D. Tang, P. Wu, X. Liu, Y. X. Chen, S. B. Guo, W. L. Chen, B. H. Chen // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2013. – Vol. 78. – №. 6. – P. 2746-2750.
27. Li J. Copper-catalyzed oxidative diamination of terminal alkynes by amidines: synthesis of 1, 2, 4-trisubstituted imidazoles / J. Li, L. Neuville // *Organic letters*. – 2013. – Vol. 15. – №. 7. – P. 1752-1755.
28. Zhao, D. Regiospecific synthesis of 1, 2-disubstituted(hetero)aryl fused imidazoles with tunable fluorescent emission / D. Zhao, J. Hu, N. Wu, X. Huang, X. Qin, J. Lan, J. You // *Organic Letters*. – 2011. – Vol. 13. – №. 24. – P. 6516-6519.
29. Boydston, A. J. Modular fluorescent benzobis (imidazolium) salts: Syntheses, photophysical analyses, and applications / P. D. Vu, O. L. Dykhno, V. Chang, A. R. Wyatt, A. S. Stockett, C. W. Bielawski // *Journal of the American Chemical Society*. – 2008. – Vol. 130. – №. 3143. – P. 10.1021.
30. Poorfreidoni A. Synthesis of substituted imidazopyridines from perfluorinated pyridine derivatives / A. Poorfreidoni, R. Ranjbar-Karimi // *Tetrahedron Letters*. – 2016. – Vol. 57. – №. 51. – P. 5781-5783.
31. Brasche G. C-H Functionalization/C-N Bond Formation: Copper-Catalyzed Synthesis of Benzimidazoles from Amidines / G. Brasche, S. L. Buchwald // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2008. – Vol. 47. – №. 10. – P. 1932-1934.
32. Xiao, Q. Direct Imidation to Construct 1H-Benzo [d] imidazole through PdII-Catalyzed C-H Activation Promoted by Thiourea / Q. Xiao, W. H. Wang, G. Liu, F. K. Meng, J. H. Chen, Z. Yang, Z. J. Shi // *Chemistry–A European Journal*. – 2009. – Vol. 15. – №. 30. – P. 7292-7296.

33. Cho, S. H. Recent advances in the transition metal-catalyzed twofold oxidative C–H bond activation strategy for C–C and C–N bond formation / S. H. Cho, J. Y. Kim, J. Kwak, S. Chang, //Chemical Society Reviews. – 2011. – Vol. 40. – №. 10. – P. 5068-5083.
34. Sunny S. Recent Advances in Cobalt-Catalyzed, Directing-Group-Assisted C-H Bond Amidation Reactions / S. Sunny, R. Karvembu //Advanced Synthesis & Catalysis. – 2021. – Vol. 363. – №. 18. – P. 4309-4331.
35. Huang, J. Synthesis of Benzimidazoles by PIDA-Promoted Direct C (sp²) H Imidation of *N*-Arylamidines / J. Huang, Y. He, Y. Wang, Q. Zhu //Chemistry–A European Journal. – 2012. – Vol. 18. – №. 44. – P. 13964-13967.
36. Xu, L. Iridium (III)-catalyzed one-pot access to 1, 2-disubstituted benzimidazoles starting from imidamides and sulfonyl azides / L. Xu, L. Wang, Y. Feng, Y. Li, L. Yang, X. Cui //Organic letters. – 2017. – Vol. 19. – №. 16. – P. 4343-4346.
37. Basha J. A comprehensive review on pyrimidine analogs-versatile scaffold with medicinal and biological potential / J. Basha, N. M. Goudgaon //Journal of Molecular Structure. – 2021. – Vol. 1246. – P. 131168.
38. Chiacchio, M. A. Pyridine and pyrimidine derivatives as privileged scaffolds in biologically active agents / M. A. Chiacchio, D. Iannazzo, R. Romeo, S. V. Giofrè, L. Legnani, //Current medicinal chemistry. – 2019. – Vol. 26. – №. 40. – P. 7166-7195.
39. Issac Y. A. E. S. Model Studies Related to Synthesis and 1, 4-Dipolar Cycloaddition Reactions of Mesoionic Heterocycles //Bulletin of the Chemical Society of Japan. – 1999. – Vol. 72. – №. 3. – P. 503-509.
40. D. A. Kolesnik, E. V. Kuvaeva, T. L. Semakova, O. Y. Strelova, I. P. Yakovlev, patent RU 2 738 605, 2020, bull. 35.
41. E. V. Kuvaeva, D. A. Kolesnik, K. E. Kirpikova, G. V. Ksenofontova, E. N. Kirillova, patent RU 2 738 107, 2020, bull. 34.

42. Gao J. Alkynyl Acylazolium: A Versatile 1, 3-Bielectrophilic 3C-Synthon in NHC-Organocatalysis / J. Gao, S. Zhang, D. Du //The Chemical Record. – 2023. – Vol. 23. – №. 7. – P. e202300046.
43. Xie Y. *N*-Heterocyclic carbene-catalyzed annulation of ynals with amidines: access to 1,2,6-trisubstituted pyrimidin-4-ones / Y. Xie, J. Wang //Chemical communications. – 2018. – Vol. 54. – №. 36. – P. 4597-4600.
44. Xing, Y., Cheng, B., Wang, J., Lu, P., Wang, Y. Copper-catalyzed three-component synthesis of 3-aminopyrazoles and 4-iminopyrimidines via β -alkynyl-*N*-sulfonyl ketenimine intermediates / Y. Xing, B. Cheng, J. Wang, P. Lu, Y. Wang //Organic letters. – 2014. – Vol. 16. – №. 18. – P. 4814-4817.
45. Auti P. S. Recent advances in the pharmacological diversification of quinazoline/quinazolinone hybrids / P. S. Auti, G. George, A. T. Paul //RSC advances. – 2020. – Vol. 10. – №. 68. – P. 41353-41392.
46. Zhang, W. Synthesis of quinazolines via CuO nanoparticles catalyzed aerobic oxidative coupling of aromatic alcohols and amidines / W. Zhang, F. Guo, F. Wang, N. Zhao, L. Liu, J. Li, Z. Wang //Organic & Biomolecular Chemistry. – 2014. – Vol. 12. – №. 30. – P. 5752-5756.
47. Xu, F. Rhodium (III)-Catalyzed cascade [5+1] annulation/5-exo-cyclization initiated by C–H activation: 1,6-Diynes as one-carbon reaction partners / F. Xu, W. F. Kang, Y. Wang, C. S. Liu, J. Y. Tian, R. R. Zhao, M. Du //Organic letters. – 2018. – Vol. 20. – №. 11. – P. 3245-3249.
48. Szczepankiewicz, W. Unexpected Formation of 2-Acetyl-3-Aryl-2-Methyl-2, 3-Dihydroquinazolin-4 (1H)-Ones in the Reaction of 2-Amino-*N'*-Arylbenzamidines with Butanedione / W. Szczepankiewicz, N. Kuźnik, S. Boncel, A. Siewniak //Chemistry of Heterocyclic Compounds. – 2014. – Vol. 50. – P. 1291-1297.
49. Das D. Recent advancements of 4-aminoquinazoline derivatives as kinase inhibitors and their applications in medicinal chemistry / D. Das, J. Hong //European Journal of Medicinal Chemistry. – 2019. – Vol. 170. – P. 55-72.

50. Szczepankiewicz W. Synthesis of 4-Arylaminoquinazolines via 2-Amino-N-arylbenzamidines / W. Szczepankiewicz, J. Suwiński //Tetrahedron letters. – 1998. – Vol. 39. – №. 13. – P. 1785-1786.
51. Szczepankiewicz W. Synthesis of 4-arylaminoquinazolines and 2-aryl-4-arylaminoquinazolines from 2-aminobenzonitrile, anilines and formic acid or benzaldehydes / W. Szczepankiewicz, J. Suwiński, R. Bujok //Tetrahedron. – 2000. – Vol. 56. – №. 47. – P. 9343-9349.
52. El-Shaieb K. M. Synthesis and structural properties of 2-([2.2]paracyclophanyl)-2, 3-dihydroquinazolines by cyclocondensation of 2-aminoarylbenzimidamides with 4-formyl [2.2] paracyclophane catalyzed efficiently by iodine / K. M. El-Shaieb, H. Hopf, P. G. Jones //Arkivoc. – 2009. – Vol. 10. – P. 146-160.
53. El-Shaieb K. M. Synthesis of 2-(2-aminophenyl)-4-arylquinazoline derivatives by reaction of 2-aminoarylbenzimidamides with isatoic anhydride / K. M. El-Shaieb, P. G. Jones //Zeitschrift für Naturforschung B. – 2009. – Vol. 64. – №. 8. – P. 945-951.
54. El-Shaieb K. M. Synthesis of 4-arylaminoquinazoline-2-carboxylic acid derivatives by the reaction of (Z)-2-amino-N'-aryl-benzimidamides with some selected anhydrides //Zeitschrift für Naturforschung B. – 2019. – Vol. 74. – №. 7-8. – P. 603-606.
55. El-Shaieb K. M., Hopf H., Jones P. G. A general synthesis of 4-arylaminoquinazoline-2-carbonitriles //Zeitschrift für Naturforschung B. – 2009. – Vol. 64. – №. 7. – P. 858-864.
56. Szczepankiewicz W. Synthesis of 3-arylquinazolin-4 (3H)-imines from 2-amino-N'-arylbenzamidines and triethyl orthoformate / W. Szczepankiewicz, N. Kuźnik //Tetrahedron letters. – 2015. – Vol. 56. – №. 10. – P. 1198-1199.
57. Mirallai S. I. One-Step Conversion of 2-amino-N'-arylbenzamidines into 3-aryl-4-imino-3, 4-dihydroquinazoline-2-carbonitriles using 4, 5-dichloro-1, 2, 3-dithiazolium chloride / S. I. Mirallai, M. J Manos, P. A. Koutentis //The Journal of Organic Chemistry. – 2013. – Vol. 78. – №. 19. – P. 9906-9913.

58. Van Baelen, G. Synthesis of 4-Aminoquinazolines by Palladium-Catalyzed Intramolecular Imidoylation of *N*-(2-Bromoaryl) amidines G. Van Baelen, S. Kuijer, L. Rýček, S. Sergeyev, E. Janssen, F. J. de Kanter, R. V. Orru // *Chemistry—A European Journal*. – 2011. – Vol. 17. – №. 52. – P. 15039-15044.
59. G. Van Baelen, G. L. F. Lemire, R. A. Dommissie, B. U. W. Maes, *Arkivoc*. – 2009. – Vol. 99. – P. 174-182.
60. Ren, J. Rhodium (III)-catalyzed [4+2] annulation of *N*-arylbenzamidines with 1, 4, 2-dioxazol-5-ones: Easy access to 4-aminoquinazolines via highly selective CH bond activation/ J. Ren, Y. Huang, C. Pi, X. Cui, Y. Wu // *Chinese Chemical Letters*. – 2021. – Vol. 32. – №. 8. – P. 2592-2596.
61. Alam M. M. 1, 2, 3-Triazole hybrids as anticancer agents: a review // *Archiv der Pharmazie*. – 2022. – Vol. 355. – №. 1. – P. 2100158
62. El-Sebaey S. A. Recent advances in 1,2,4-triazole scaffolds as antiviral agents // *ChemistrySelect*. – 2020. – Vol. 5. – №. 37. – P. 11654-11680.
63. Guo, W., Zhao, M., Tan, W., Zheng, L., Tao, K., Fan, X. Developments towards synthesis of *N*-heterocycles from amidines via C–N/C–C bond formation / W. Guo, M. Zhao, W. Tan, L. Zheng, K. Tao, X. Fan, // *Organic Chemistry Frontiers*. – 2019. – Vol. 6. – №. 13. – P. 2120-2141.
64. Zhang, L. Direct Access to 1,3,5-Trisubstituted 1*H*-1,2,4-Triazoles from *N*-Phenylbenzamidines via Copper-Catalyzed Diamination of Aryl Nitriles / L. Zhang, D. Tang, J. Gao, J. Wang, P. Wu, X. Meng, B. Chen, // *Synthesis*. – 2016. – P. 3924-3930.
65. Singh, S. 1,3,5-Triazine: A versatile pharmacophore with diverse biological activities / S. Singh, M. K. Mandal, A. Masih, A. Saha, S. K. Ghosh, H. R. Bhat, U. P. Singh, // *Archiv der Pharmazie*. – 2021. – Vol. 354. – №. 6. – P. 2000363.
66. Meng, X. Heterogeneous selective synthesis of 1, 2-dihydro-1, 3, 5-triazines from alcohols and amidines via Cu/OMS-2-catalyzed multistep oxidation / X. Meng, X. Bi, Y. Wang, G. Chen, B. Chen, Z. Jing, P. Zhao // *Catalysis Communications*. – 2017. – Vol. 89. – P. 34-39.

67. Nefzi A. The current status of heterocyclic combinatorial libraries / A. Nefzi, J. M. Ostresh, R. A. Houghten //Chemical reviews. – 1997. – Vol. 97. – №. 2. – P. 449-472.
68. Aeberli, P. Synthesis and central nervous system depressant activity of some bicyclic amides / P. Aeberli, J. H. Gogerty, W. J. Houlihan, L. C. Iorio, //Journal of Medicinal Chemistry. – 1976. – Vol. 19. – №. 3. – P. 436-438.
69. Hall I. H. The cytotoxicity of *N*-pyridinyl and *N*-quinolinyll substituted derivatives of phthalimide and succinimide / I. H. Hall, O. T. Wong, J. P. Scovill //Biomedicine & pharmacotherapy. – 1995. – Vol. 49. – №. 5. – P. 251-258.
70. Hazra, B. Bile acid amides derived from chiral amino alcohols: novel antimicrobials and antifungals / B. Hazra, V. Pore, S. Dey, S. Datta, M. Darokar, D. Saikia, , A. Thakur, //Bioorganic & medicinal chemistry letters. – 2004. – Vol. 14. – №. 3. – P. 773-777.
71. Coram W. M. The antihypertensive effect of a selective central muscarinic cholinergic antagonist: *N*-(4-diethylamino-2-butynyl)-succinimide / W. M. Coram, H. E. Brezenoff //Drug development research. – 1983. – Vol. 3. – №. 6. – P. 503-516.
72. Obniska J. Synthesis and anticonvulsant activity of new *N*-Mannich bases derived from 3-(2-fluorophenyl)-and 3-(2-bromophenyl)-pyrrolidine-2, 5-diones. Part II / J. Obniska, S. Rzepka, K. Kamiński //Bioorganic & medicinal chemistry. – 2012. – Vol. 20. – №. 15. – P. 4872-4880.
73. Crider, A. M. Ergot alkaloids. Synthesis of nitroso-urea derivatives of ergolines as potential anticancer agents / A. M. Crider, C. K. Lu, H. G. Floss, J. M. Cassady, J. A. Clemens //Journal of Medicinal Chemistry. – 1979. – Vol. 22. – №. 1. – P. 32-35.
74. Zentz, F. Synthesis and antimicrobial activities of *N*-substituted imides / F. Zentz, Valla, A, R. Le Guillou, R. Labia, A. G. Mathot, D. Sirot, //Il Farmaco. – 2002. – Vol. 57. – №. 5. – P. 421-426.

75. Shul'ts, E. E. Synthesis and analgesic activity of pyrrolidinomorphinan derivatives / E. E. Shul'ts, T. G. Tolstikova, S. E. Tolstikov, V.T. Daibova, M. M. Shakirov, A. V. Bolkunov, M. P. Dolgikh, //Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2007. – Vol. 41. – P. 74-77.
76. Musso D. L. Design and Synthesis of 2-(4,6-Difluoro-1-indanylidene)acetamide, a Potent, Centrally Acting Muscle Relaxant with Antiinflammatory and Analgesic Activity / D. L. Musso, F. R. Cochran [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. – 2003. – Vol. 46. – P. 399–408.
77. Moutevelis-Minakakis, P. Synthesis, in silico docking experiments of new 2-pyrrolidinone derivatives and study of their anti-inflammatory activity / P. Moutevelis-Minakakis, E. Papavassilopoulou, G. Michas, K. Georgikopoulou, M. E. Ragoussi, N. Neophytou, D. Hadjipavlou-Litina //Bioorganic & medicinal chemistry. – 2011. – Vol. 19. – №. 9. – P. 2888-2902.
78. Kamiński, K. Synthesis and biological properties of new *N*-Mannich bases derived from 3-methyl-3-phenyl-and 3, 3-dimethyl-succinimides. Part V / K. Kamiński, J. Obniska, I. Chlebek, P. Liana, E. Pȩkala, //European Journal of Medicinal Chemistry. – 2013. – Vol. 66. – P. 12-21.
79. Trukhanova, Y.A. An efficient synthesis and characterization of novel (Z)-1-phenyl(arylamino)methylpyrrolidine-2,5-dione derivatives as potential analgesic agents / Y.A. Trukhanova, D.A. Kolesnik, I.P. Yakovlev, D.V. Spiridonova, V.N. Yuskovets, E.V. Kuvaeva, Ksenofontova, G.V., Semakova, T.L. //Chemical Data Collections. – 2021. – Vol. 35. – P. 100770.
80. Патент РФ № 2 777 444, C07D 207/404, A61K 31/4015, A61P 29/00, Опубликовано 03.08.2022. Бюл. № 22. 1-(фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-дион и способ его получения / Ю.А. Труханова, Д.А. Колесник, И.П. Яковлев, В.Н. Юсковец, Е.В. Куваева, Н.М. Чернов, М.В. Сопова, Е.В. Федорова, Г.В. Ксенофонтова, Т.Л. Семакова; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. - № 2021119121; заявл. 29.06.2021.

81. Дубовицкая, О.В. Синтез и биологическая активность новых бис(пирролидин-2,5-дионов). / О.В. Дубовицкая, Ю.А. Труханова, Е.В. Куваева // Сборник материалов Научно-методической конференции с международным участием «Сандеровские чтения», посвященной памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера, Санкт-Петербург, 27 января 2023 г. С. 180-182.

82. Труханова Ю.А. Расширение ряда новых потенциальных анальгезирующих средств / Ю.А. Труханова, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев // Сборник материалов Научно-методической конференции с международным участием «Сандеровские чтения», посвященной памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера, Санкт-Петербург, 27 января 2023 г. – С. 216-218.

83. Дубовицкая, О.В. Синтез и биологическая активность новых бис(пирролидин-2,5-дионов). / О.В. Дубовицкая, Ю.А. Труханова, // Сборник материалов конференции «Молодая фармация – потенциал будущего», XIII всероссийская научная конференция школьников, студентов и аспирантов с международным участием, 1 марта – 11 апреля 2023 г. Изд-во СПХФУ, 2023. – С. 12-14.

84. Zhang, H. Phthalimide-(*N*-alkylbenzylamine)cysteamide hybrids as multifunctional agents against Alzheimer's disease: Design, synthesis, and biological evaluation / H. Zhang, Q. Song, G. Yu, Z. Cao, X. Qiang, X. Liu, Y. Deng, //Chemical Biology & Drug Design. – 2021. – Vol. 98. – №. 4. – P. 493-500.

85. Hassanzadeh, M. Design, synthesis, and bio-evaluation of new isoindoline-1, 3-dione derivatives as possible inhibitors of acetylcholinesterase / M. Hassanzadeh, F. Hassanzadeh, M. Rostami, F. Azimi, H. Nadri, F. H. Moghadam, //Research in Pharmaceutical Sciences. – 2021. – Vol. 16. – №. 5. – P. 482-492.

86. Szkatuła, D. A New *N*-Substituted 1*H*-Isoindole-1,3 (2*H*)-Dione Derivative-Synthesis, Structure and Affinity for Cyclooxygenase Based on In Vitro Studies and Molecular Docking / D. Szkatuła, E. Krzyżak, P. Stanowska, M. Duda,

B. Wiatrak //International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – №. 14. – P. 7678.

87. Trukhanova Y. A. Synthesis and biological activity of new derivatives of isoindoline-1,3-diones as non-steroidal analgesics / Y. A. Trukhanova, E. V. Kuvaeva, D. A. Kolesnik, E. V. Kuvaeva, G. V. Ksenofontova, M. V. Sopova, I. P. Yakovlev // Chemistry Proceedings, – 2022. – Vol. 8. – P. 9

88. Труханова Ю.А. Синтез новых производных пирролидин-2,5-диона, обладающих анальгезирующей активностью / Ю.А. Труханова, Д.А. Колесник, И.П. Яковлев, Е.В. Куваева, А.Э. Потапова, А.Е. Щеголев, Е.В. Федорова // Бутлеровские сообщения. – 2022. – Т.70. – № 4. – С.14-20.

89. Teng, B., Zheng, J., Huang, H., Huang, P. Enantioselective synthesis of glutarimide alkaloids cordiarimides A, B, crotonimides A, B, and julocrotine //Chinese Journal of Chemistry. – 2011. – Т. 29. – №. 7. – С. 1312-1318.

90. Guimarães, L. R. Activity of the julocrotine, a glutarimide alkaloid from *Croton pullei* var. *glabrior*, on *Leishmania (L.) amazonensis* / L. R. Guimarães, A. P. D. Rodrigues, P. S. Marinho, A. H. Muller, G. M. Guilhon, L. S. Santos, E. O. Silva //Parasitology research. – 2010. – Vol. 107. – P. 1075-1081.

91. Schneider-Poetsch, T. Inhibition of eukaryotic translation elongation by cycloheximide and lactimidomycin / T. Schneider-Poetsch, J. Ju, D. E. Eyler, Y. Dang, S. Bhat, W. C. Merrick, J. O. Liu //Nature chemical biology. – 2010. – Vol. 6. – №. 3. – P. 209-217.

92. Glotter, E. The chemistry of glutarimide antibiotics / E. Glotter, D. Goldsmith, D. Gross, J. R. Hanson, S. Huneck, F. Johnson //Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products 29. – 1971. – P. 140-208.

93. Kaliraj S. Design, synthesis of Dioxopiperidinamide derivatives by amide coupling reaction and study of their biological activity / S. Kaliraj, J. Radhakrishnan //ChemistrySelect. – 2023. – Vol. 8. – №. 2. – P. e202203639.

94. Kelm, J. M. PROTAC'ing oncoproteins: targeted protein degradation for cancer therapy / J. M. Kelm, D. S. Pandey, E. Malin, H. Kansou, S. Arora, R. Kumar, N. S. Gavande //Molecular Cancer. – 2023. – Vol. 22. – №. 1. – P. 62.

95. Krasavin, M. Synthesis of novel glutarimide ligands for the E3 ligase substrate receptor Cereblon (CRBN): Investigation of their binding mode and antiproliferative effects against myeloma cell lines / M. Krasavin, M. Adamchik, A. Bubyrev, C. Heim, S. Maiwald, D. Zhukovsky, M. D. Hartmann //European Journal of Medicinal Chemistry. – 2023. – Vol. 246. – P. 114990.

96. Kotb, A. R., Abdallah, A. E., Elkady, H., Eissa, I. H., Taghour, M. S., Bakhotmah, D. A., El-Zahabi, M. A. Design, synthesis, anticancer evaluation, and in silico ADMET analysis of novel thalidomide analogs as promising immunomodulatory agents //RSC advances. – 2023. – T. 13. – №. 16. – C. 10488-10502.

97. Heim, C. Identification and structural basis of C-terminal cyclic imides as natural degrons for cereblon / C. Heim, A. K. Spring, S. Kirchgäßner, D. Schwarzer, M. Hartmann //Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2022. – Vol. 637. – P. 66-72.

98. Trukhanova Y. A. Preparation of N- and C-Functionally-Substituted Glutarimides: A Review / Y. A. Trukhanova, N. M. Chernov, E. V. Kuvaeva, I. P. Yakovlev //Synthesis. – 2023. – Vol. 55. – №. 16. – P. 2415

99. Abell A. D., Doyle I. R., Massy-Westropp R. A. The Wittig reaction with glutaric and succinic anhydrides / A. D. Abell, I. R. Doyle, R. A. Massy-Westropp //Australian Journal of Chemistry. – 1982. – Vol. 35. – №. 11. – P. 2277-2287.

100. Ebersson L., Landström L. Studies on cyclic anhydrides //Acta Chemica Scandinavica. – 1972. – Vol. 26. – P. 239-249.

101. Govindan, K. Unlocking Amides through Selective C-N Bond Cleavage: Allyl Bromide-Mediated Divergent Synthesis of Nitrogen-Containing Functional

Groups / K. Govindan, N. Q. Chen, Y. W. Chuang, W. Y. Lin //Organic Letters. – 2021. – Vol. 23. – №. 24. – P. 9419-9424

102. Sallio, R., Lebrun, S., Agbossou-Niedercorn, F., Michon, C., Deniau, E. / Alternative strategies for the stereoselective synthesis of enantioenriched 6-arylated piperidin-2-ones //Tetrahedron: Asymmetry. – 2012. – Т. 23. – №. 13. – С. 998-1004.

103. Trukhanova, Y. Facile directed synthesis of (Z)-1-(aryl(arylimino)methyl)piperidine-2,6-diones from C,N-diarylformamidines. / Y. A. Trukhanova, D. V. Spiridonova, E.V. Kuvaeva, N. M. Chernov, G. M. Alekseeva, M. V. Sopova, I. P. Yakovlev // Asian Journal of Organic Chemistry. - 2023. - Vol. 12. - No. 8. - P. e202300324.

104. Труханова Ю.А. Синтез нового *N*-замещенного производного глутаримида, как потенциального анальгезирующего средства / Ю.А. Труханова, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев // Материалы 1-ой республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли», Ташкент, 2023. – С. 16-17.

105. Патент РФ № 2 807 909 С07D 211/88 (2006.01) А61К 31/45 (2006.01) А61Р 29/00 (2006.01) Опубликовано: 21.11.2023 Бюл. № 33, 1-(фенил{фенилимино}метил)пиперидин-2,6-дион и способ его получения. Ю.А. Труханова, Е.В. Куваева, Д.Ю. Ивкин, Т.Л. Семакова, Г.В. Ксенофонтова, И.П. Яковлев. Заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. - Заявка: 2023105548, 09.03.2023.

106. GUSAR V. 2011.1: система моделирования острой токсичности [для моделирования] / разработчики А. Захаров, В. Поройков. – Москва: 2011. – (Электронная дистрибьюция). – Загл. с титул. экрана. Электронная программа: электронная.

107. PASS Online. Way2Drug: [веб-ресурс]. – Москва. - URL: www.way2drug.com/PASSOnline (дата обращения 01.05.2022). – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст: электронный.

108. Труханова Ю.А. Исследование токсичности и анальгезирующей активности новых производных пирролидин-2,5-диона / Ю.А. Труханова, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев / Сборник научных трудов 3-й Международной конференции, посвященной 110-летию доктора биологических наук, профессора А.П. Бресткина, Санкт-Петербург, 1-2 декабря 2022 г. – С. 112-118.

109. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.

110. STATISTICA 7.0: система статистического анализа [для статистического анализа] / разработчик «Statsoft» – Америка: 1984. – (Электронная дистрибуция). – Загл. с титул. экрана. – Электронная программа: электронная.

111. Flecknell, P. (2002) “Replacement, Reduction, Refinement”, ALTEX - Alternatives to animal experimentation, Vol. 19(2), P. 73–78. URL: <https://www.altex.org> (Дата обращения 01.04.2022).

112. National Centre for the Replacement Refinement and Reduction of Animals in Research. URL: <https://www.nc3rs.org.uk/> (Дата обращения 01.04.2022).

113. Методические указания МУ 1.2.1105-02 "Оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств" (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 10 февраля 2002 г.). – URL: <https://base.garant.ru/4179159/> (дата обращения 01.04.2022). – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст: электронный.

114. Патент РФ № 2 789 687 С07D 209/48 (2006.01) А61К 31/4035 (2006.01) А61Р 29/00 (2006.01) Опубликовано: 07.02.2023 Бюл. № 4. 2-({4-Нитрофенил}имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион, способ его получения, анальгезирующее и противовоспалительное средство на его основе. Ю.А. Труханова, Д.С. Дмитриева, Д.Ю. Ивкин, И.П. Яковлев, Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, Е.В. Федорова, А.Е. Щеголев, А.Э. Потапова. Заявитель и

патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. - № 2022110821; заявл 20.04.2022.

115. Труханова Ю.А. Оценка анальгезирующей и противовоспалительной активностей нового производного изоиндолин-1,3-диона / Ю.А. Труханова, Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, Е.Н. Кириллова, Д.Ю. Ивкин // Фармация. – 2022. – Т. 71. № 4. – С. 40-45.

116. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XV изд. – Т.2. – Москва, 2023 – 3262 с.

117. Gong, N. Characterization and uncertainty evaluation of a new certified reference material of baicalein / N. Gong, X. Wang, B. Zhang, Z. Gao, G. Du, Y. Lv //Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2014. – Vol. 89. – P. 106-110.

118. Williams, R. L. Official USP Reference Standards: Metrology concepts, overview, and scientific issues and opportunities / R. L. Williams, P. Team, U. S. P. Staff //Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. – 2006. – Vol. 40. – №. 1. – P. 3-15.

119. Davies S. R. et al. The development of an efficient mass balance approach for the purity assignment of organic calibration standards //Analytical and bioanalytical chemistry. – 2015. – Vol. 407. – P. 7983-7993.

120. Epstein N. A. On certification of reference materials in pharmacy: mass balance method //Pharmaceutical Chemistry J. – 2017. – Vol. 51. – №. 10. – P. 48-57.

121. Trukhanova Y. A. Attestation of the primary standard sample of a new analgesic agent 1-phenyl(phenylimino)methylpyrrolidine-2,5-dione, development and validation of a method for quantitative determination of the substance by HPLC / Y. A. Trukhanova, G. M. Alekseeva, I. P. Yakovlev, D.V. Spiridonova //Microchemical Journal. – 2022. – Vol. 173. – P. 106991

122. Труханова Ю.А. Оценка линейности и правильности при аттестации первичного стандартного образца / Ю.А. Труханова, Е.В. Куваева, Г.М. Алексеева // Сборник материалов Научно-методической конференции с

международным участием «Сандеровские чтения», посвященной памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера, Санкт-Петербург, 27 января 2023 г. – С. 245-247.

123. Труханова Ю.А. Разработка методики количественного определения нового анальгезирующего средства / Ю.А. Труханова, Г.М. Алексеева, Е.В. Куваева // Сборник научных трудов 3-й Международной конференции, посвященной 110-летию доктора биологических наук, профессора А.П. Бресткина, Санкт-Петербург, 1–2 декабря 2022 г. – С. 179-182.

124. Труханова Ю.А. Разработка методики количественного определения для аттестации первичного стандартного образца нового анальгезирующего средства – 1-(фенил[фенилимино]метил)пирролидин-2,5-диона / Ю.А. Труханова, Г.М. Алексеева, И.П. Яковлев, Е.В. Куваева // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2022. – № 3. – С.18-24.

125. Труханова Ю.А. Проверка пригодности методики ВЭЖХ для анализа 2-(4-нитрофенилимино)(фенил)(метил)изоиндолин-1,3-диона / Алексеева Г.М., Куваева Е.В., Фатхуллаева М.Ф. // Материалы III международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию ташкентского фармацевтического института «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы», Ташкент, 25-26 ноября 2022 г. – Ташкент, 2022, – С. 140-141.

126. Труханова Ю.А. Количественное определение методом ЯМР-спектроскопии / Ю.А. Труханова, Ю.В. Маркелова, Г.М. Алексеева, Е.В. Куваева // Сборник материалов Научно-методической конференции с международным участием «Сандеровские чтения», посвященной памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера, Санкт-Петербург, 27 января 2023 г. С. 247-249.

127. Trukhanova Y. A. The Practice of Attestation Primary Reference Samples on the Example of a New Potential Analgesic Agent–2-([4-Nitrophenyl]imino)(phenyl)methyl isoindoline-1, 3-dione / Y. A. Trukhanova, I. I. Terninko, D.

V. Spiridonova, Y. E. Generalova, R. Ermachenkov, G. M. Alekseeva, E.V. Kuvaeva, I. P. Yakovlev // ChemistrySelect. – 2023. – Vol. 8. – №. 1. – P. e202204295.

128. Sheldrick G. M. SHELXT–Integrated space-group and crystal-structure determination //Acta Crystallographica Section A: Foundations and Advances. – 2015. – Vol. 71. – №. 1. – P. 3-8.

129. Sheldrick G. M. Crystal structure refinement with SHELXL //Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry. – 2015. – Vol. 71. – №. 1. – P. 3-8.

Приложение 1
Акты внедрения

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО СПХФУ
Минздрава России,
д.фарм.н., профессор



И.А. Наркевич

2024 г.




**Акт внедрения
результатов научно-практической работы
в учебный процесс**

Комиссия в составе:

Председателя	проректора по учебной работе, канд. фармацевт. наук, доцента	Ю.Г. Ильиновой
и членов комиссии	директора департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. биол. наук, доцента и.о. начальника учебно-методического отдела	И.А. Титович А.В. Храброва

назначенная приказом ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России от «16» февраля 2024 г. № 184ст, составила акт о нижеследующем.

Результаты диссертационного исследования Трухановой Юлии Александровны на тему «Взаимодействие *C,N*-диарилформамидинов с ангидридами дикарбоновых кислот - путь к созданию новых биологически активных *N*-замещенных производных сукцинимиды, фталимида и глутаримида», представленного на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, а именно: индивидуальный проект на тему «2-[(E)-(4-бромфенил)(фенилимино)метил]изоиндолин-1,3-дион» студентки группы ФБ-0492 Дубовицкой Ольги Вячеславовны внедрен в учебный процесс на факультете промышленной технологии лекарств по учебной дисциплине «Методы органического синтеза» в рамках программы высшего образования – программы бакалавриата по специальности 04.03.01 «Химия» очной формы обучения.

Председатель	проректор по учебной работе, канд. фармацевт. наук, доцент		Ю.Г. Ильинова
члены комиссии	директор департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. биол. наук, доцент и.о. начальника учебно-методического отдела		И.А. Титович
			А.В. Храброва

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО СПХФУ
Минздрава России,
д.фарм.н., профессор


И.А. Наркевич

« 06 »

2024 г.






**Акт внедрения
результатов научно-практической работы
в научно-исследовательский процесс**

Комиссия в составе:

Председателя	проректора по научной работе, д-р. фармацевт. наук, профессора	Е.В. Флисюк
и членов комиссии	научного сотрудника департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. фармацевт. наук	К.О. Сидорова
	директора департамента науки и подготовки научно- педагогических кадров, канд. биол. наук, доцента	И.А. Титович

назначенная приказом ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России от «12» марта 2021 г. № 100, составила акт о нижеследующем:

Результаты диссертационного исследования Трухановой Юлии Александровны на тему «Взаимодействие *C,N*-диарилформамидинов с ангидридами дикарбоновых кислот - путь к созданию новых биологически активных *p*-замещенных производных сукцинимида, фталимида и глутаримида», представленного на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, использовано в научно-исследовательской деятельности кафедры органической химии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России в рамках выполнения государственного задания № АААА-А20-120121790030-8 «Разработка инновационных методов получения, изучение строения, физических и химических свойств *N*-, *O*-, *S*-содержащих гетероциклических и ациклических систем с целью поиска новых лекарственных средств».

Председатель	проректор по научной работе, д-р. фармацевт. наук, профессор		Е.В. Флисюк
члены комиссии	научный сотрудник департамента науки и подготовки научно- педагогических кадров, канд. фармацевт. наук		К.О. Сидоров
	директора департамента науки и подготовки научно- педагогических кадров, канд. биол. наук, доцента		И.А. Титович

Приложение 2
Патенты на изобретения

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2807909

1-(Фенил{ фенилимино} метил)пиперидин-2,6-дион и способ его получения

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России) (RU)*

Авторы: *Труханова Юлия Александровна (RU), Куваева Елена Владимировна (RU), Ивкин Дмитрий Юрьевич (RU), Семакова Тамара Леонидовна (RU), Ксенофонтова Галина Владимировна (RU), Яковлев Игорь Павлович (RU)*

Заявка № 2023105548

Приоритет изобретения **09 марта 2023 г.**

Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **21 ноября 2023 г.**

Срок действия исключительного права на изобретение истекает **09 марта 2043 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

