MINISTERUL EDUCAŢIEI ŞI CERCETĂRII
UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 547.5 547.7/.8 547.91
544.12 544.164/165

BILAN DMITRI IAROSLAV

SINTEZA ȘI STUDIUL OXINDOLILOR OPTIC ACTIVI

143.01 – CHIMIE ORGANICĂ

Rezumatul tezei de doctor în științe chimice

CHIȘINĂU, 2022

Teza de doctorat a fost elaborată în cadrul Școalii doctorale Științe Chimice și Tehnologice a Universității de Stat „Dimitrie Cantemir” și Institutul de Chimie

Conducător științific:

MACAEV Fliur – doctor habilitat în științe chimice, profesor cercetător

Componența Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

GUȚU Iacob	doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, USM – *președinte*
MACAEV Fliur	doctor habilitat în științe chimice, profesor cercetător, Institutul de Chimie – *membru*
ARÎCU Aculina	doctor habilitat în științe chimice, conferenţiar cercetător, Institutul de Chimie – *membru*
KULCIȚKI Veaceslav	doctor habilitat în științe chimice, conferențiar universitar, Institutul de Chimie – *membru*
UNGUR Nicon	doctor habilitat în științe chimice, conferențiar universitar, Institutul de Chimie – *referent*
TATAROV Pavel	doctor habilitat în științe chimice, profesor, Universitate Tehnică a Moldovei – *referent*
MAȘCENCO Natalia	doctor în științe chimice, conferențiar cercetător, Institutul de Genetică şi Fiziologie a Plantelor – *referent*
LUNGU Lidia	doctor în științe chimice, Institutul de Chimie – *secretar*

Susţinerea va avea loc pe data de 21.01.2022, la ora 14.00, în cadrul Ședinței Comisiei de susţinere publică a Școlii Doctorale la specialităţile: Științe Biologice, Geonomice, Chimice și Tehnologice; Sala Senatului Universităţii de Stat din Moldova, str. Academiei 3/2, Chișinău. *(http://www.usm.md)*

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la Biblioteca Națională a Republicii Moldova, Biblioteca Științifică „Andrei Lupan”, Biblioteca USM, pe pagina web a ANACEC (http://www.cnaa.md/) și pe pagina web a USM (http://usm.md/).

Rezumatul a fost expediat la data _____

Conducător științific:

MACAEV Fliur, doctor habilitat în științe chimice, profesor cercetător _____

Autor:

BILAN Dmitri _____

© Bilan Dmitri, 2022

CUPRINS

CARACTERISTICA GENERALĂ A LUCRĂRII 4
CONȚINUTUL SUCCINCT AL TEZEI 5
1. ANALIZA METODELOR CUNOSCUTE DE SINTEZĂ A OXINDOLILOR SUBSTITUIŢI ȘI CĂILE DE TRANSFORMARE ALE ACESTORA 5
2. SINTEZA 2-OXINDOLILOR-3-SUBSTITUIȚI ȘI TRANSFORMĂRILE ACESTORA 6
2.1 Sinteza oxindolpirolilor 6
2.2 Sinteza 3-hidroxi-2-oxindolilor 9
2.3 Reacţia aldolilor isatinici cu cetone ciclice 11
2.4 Rezultatele biotestării 14
3. SINTEZA SPIROOXINDOLILOR 14
3.1 Obținerea de spiro[oxindoltiadiazoli] *N*-glicozilaţi 14
3.2 Sinteza spiro[oxindolpirolizidinelor] 16
3.3 Rezultatele biotestării 19
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI 20
BIBLIOGRAFIE 21
PUBLICAȚIILE AUTORULUI PE TEMA TEZEI 25
ADNOTARE 28
АННОТАЦИЯ 29
ANNOTATION 30

CARACTERISTICA GENERALĂ A LUCRĂRII

Actualitatea și importanța temei abordate

Tendințele chimiei organice din ultimele decenii, orientate spre dezvăluirea potențialului substanțelor optic active, sunt asociate cu un fenomen binecunoscut, conform căruia structura spațială a unei moleculei chirale îi influenţează semnificativ proprietăților, inclusiv cele biologice.

Există două abordări principale de generare a substanțelor optic active - sinteza reieşind din substanțe naturale chirale sau utilizarea acestora din urmă în calitate de catalizatori. În aceast sens, identificarea unor metode sintetice simple și eficiente de preparare selectivă a oxindolilor polifuncționalizaţi pe baza isatinelor disponibile reprezintă o problemă actuală şi de interes practic. Creșterea continuă a numărului de publicații științifice ce vizează oxindolii vine să demonstreaze importanța acestei clase de compuși, în special pentru chimia farmaceutică, potențialul careia devine şi mai evident în lumina descoperirilor recente. Cercetările din acest domeniu au condus la crearea de noi medicamente eficiente, care fac parte din terapia mai multor boli umane. Studiul caracteristicilor chimice și stereochimice ale oxindolilor polifuncționalizați, proprietăților fizico-chimice și a legităților de formare ale acestora necesită dezvoltarea unor metode cât mai simple și eficiente pentru sinteza izomerilor geometrici individuali. Cea mai accesibilă și universală strategie de sinteză a oxindolilor substituiți reprezintă transformarea isatinelor în derivați din seria oxindolului 3-substituit, strategie ce poate fi realizată cu sau fără catalizatori.

Scopul lucrării

Cercetarea modalităților de sinteză selectivă a oxindolilor substituiți optic activi, reieşind din isatine, evaluarea structurii și proprietăților acestora.

Principalele obiective ale lucrării

În conformitate cu scopul stabilit al tezei, au fost identificate următoarele obiective: elaborarea unor scheme de sinteză simple și eficiente pentru obținerea noilor oxindoli substituiți din isatine; studierea regularităților parcurgerii reacției aldolice cu participarea catalizatorilor chirali; cercetarea căilor de sinteză a isatinelor *N*-substituite optic active; investigarea reacției de obținere a spirooxindolilor pe baza isatinei, aminoacizilor naturali și calconelor; evaluarea relației "structură-activitate" în seria oxindolilor sintetizați

Ipoteza cercetării

Cercetările descrise în această lucrare se bazează pe posibilitate de a obține cu o stereoselectivitate înaltă izomeri geometrici ai derivaților oxindolici, utilizând metode cunoscute ale chimiei organice, cum ar fi reacțiile de condensare aldolică în prezența catalizatorilor chirali, cicloadiția [3+2]-dipolară, *N*-alchilarea isatinelor cu compuși optic activi etc.

Metodologia și justificarea metodelor de cercetare alese.

La realizarea lucrării au fost antrenate metode moderne de sinteză organică determinate de obiectivele ce stau la baza cercetării curente, ce ţin de studiul reacției de obţinere a oxindolilor 3-hidroxi-3-substituiți stereoizomeri cu participarea aminelor primare și secundare; studiul perspectivelor de generare a isatinelor *N*-glicozilate prin metoda lui Stolle și Sandmeer. În baza datelor din literatură, investigarea influenţei substituenților din componenţa substratelor asupra evoluţiei reacției de cicloadiție [3+2]-dipolară, a stereo- și regioselectivității; determinarea relației dintre structură şi activitatea biologică a noilor oxindoli optic activi.

Cu ajutorul cromatografiei în strat subțire au fost monitorizate mersului reacției și puritatea produselor. Substanțele de interes au fost purificate prin recristalizare, cromatografie pe coloană și cromatografie preparativă în strat subțire. Structura și puritatea compușilor chimici au fost stabilete prin metode fizico-chimice moderne de analiză, cum ar fi spectroscopia în infraroșu, spectroscopia RMN, analiza cu raze X, analiză elementară, HPLC, unghiul de rotație specifică, punctul de topire.

CONȚINUTUL SUCCINCT AL TEZEI

INTRODUCEREA include argumentarea relevanței subiectului cercetării, scopul și obiectivele principale ale lucrării, ipoteza cercetării, metodologia și justificarea metodelor de cercetare alese, rezumatul lucrării**.**

1. ANALIZA METODELOR CUNOSCUTE DE SINTEZĂ A OXINDOLILOR SUBSTITUIŢI ȘI CĂILE DE TRANSFORMARE ALE ACESTORA

Acest capitol este dedicat studiului literaturii de specialitate cu privire la prepararea isatinei și transformarea acesteia în derivați optic activi din seria oxindolului. În acest capitol sunt descrise metodele recente de prepararea a isatinei, iar în baza acesteia a oxindolilor, inclusiv a 3-hidroxioxindolilor și a spirooxindolilor cu diferite heterocicluri în componenţa moleculei.

2. SINTEZA 2-OXINDOLILOR-3-SUBSTITUIȚI ȘI TRANSFORMĂRILE ACESTORA

În ultimele decenii, chimia farmaceutică a acumulat o serie de exemple prin care se pot obţine derivaţi cu fragmente heterociclice ai compuşilor naturali, astfel îmbunătăţind activitatea biologică nativă ale acestora. Studiul caracteristicilor chimice și stereochimice ale oxindolilor polifuncționalizați, proprietăților fizico-chimice și legităţile de formare ale acestora necesită dezvoltarea, pe cât este de posibil, a unor metode simple și eficiente de sinteză a izomerilor geometrici individuali. După cum s-a menționat în primul capitol, cea mai accesibilă și universală strategie de sinteză a diverşilor oxindoli substituiți este calea ce are la bază reacțiile de conversie a isatinelor în derivați heterociclici din seria oxindolului.

2.1 Sinteza oxindolpirolilor

Derivaţii azobenzenului au atras o mare atenție datorită faptului că configurația *cis* instabilă termodinamic, sub acțiunea luminii vizibile sau a căldurii, este supusă transformării chimice fotoreversibile în configurația *trans,* iar reacția inversă poate fi inițiată de radiațiile din spectrul UV [1]. În aspect biologic, fenomenul de fotocromism poate fi utilizat pentru a obține inhibitori ai enzimelor în canalele ionice. Astfel, identificarea unor metode sintetice de generare selectivă a materialelor hibride optic active cu fragmente de isatină **1** prezintă un interes practic, de exemplu, în terapia fotodinamică, bazată pe utilizarea substanțelor fotosensibile din grupul azobenzenoxindolilor și a radiației cu o anumită lungime de undă. [2].

În cadrul acestui studiu s-a constatat că tratarea 4-aminoacetofenonei **4** cu $NaNO_2$, urmată de prelucrarea amestecului de reacție cu fenol (Fig. 2.1) a condus la formarea unui derivat al azobenzenului **5** [3-6].

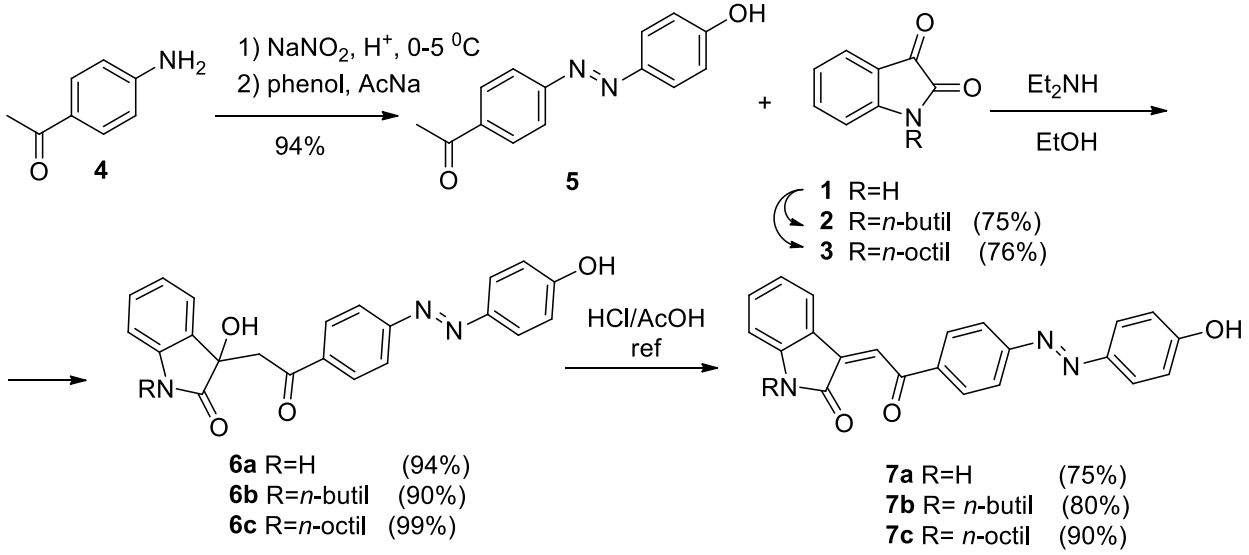


Fig. 2.1 Schema de sinteză a derivaţilor azobenzenului cu isatine.

Menţinerea la temperatura camerei a unor cantităților echimolare de isatină **1** şi azobenzen **5**, în prezența a 10 mol% Et_2NH în 96% etanol, favorizează formarea aldolului **6a**. a Ulterioară, alcoolul **6a** este refluxat într-un amestec de HCl/AcOH ce conduce la eliminarea apei și formarea enonei **7a**. Totodată, isatina **1** este alchilată cu bromură de butil și iodură de octil mediu de K_2CO_3/DMF cu formarea produşilor **2** și **3** care, împreună cu **1**, au fost implicaţi în reacția cu metil cetona **5.** Deshidratarea intermediarilor **6b-c** a generat compuşii **7b-c**.

Având în vedere faptul că pirolii naturali și sintetici manifestă o gamă largă de activități biologice, diversificarea ulterioară a moleculei a decurs în direcţia introducerii unui heterociclu pirolic.

La începutul studiilor menţionate mai sus, în literatura de specialitate lipseau date privind sinteza 2,3-dihidro-1*H*-3-indolil-5-aril-1*H*-3-pirolcarboxilaților funcționalizați cu sesquiterpene. O cale de sinteză a acestui tip de oxindoli ar putea include interacţiunea enonelor **7a-c** cu acetoacetatul **11**, ce posedă o joncţiune *cis* a fragmentului decalinic, şi se întâlneşte în componenţa moleculei substanței naturale aureol, care prezintă citotoxicitate selectivă în raport cu celulelor tumorale umane, inclusiv cancerul pulmonar A549, celulele de adenocarcinom de colon HT-29 [7], fiind activ şi împotriva virusului gripal A [8]. Deși au fost înregistrate progrese evidente în acest domeniu, chimia substanțelor asamblate similar, cu activitate anti-HIV, rămâne puţin studiată [9, 10], inclusiv cea bazată pe sclareolul optic activ, ceea ce deschide o perspectivă în sintetza de noi compuși biologic activi [11].

Sinteza acetoacetatului optic activ **11** (Fig. 2.2), iniţial a inclus reducerea lactonei **8** la diolul **9a**, care a fost transformat în esterul **9b** sub acțiunea unui amestec de anhidridă acetică cu *N*,*N*-dimetilaminopiridină în piridină. Interacţiunea compusului **9b** cu eteratul de trifluorură de bor este însoțită de regrupare stereospecifică şi formarea produsului **10a**.

La hidroliza esterului **10a** cu KOH /MeOH are loc formarea alcoolului **10b**. S-a stabilit că menţinerea la temperatura camerei a amestecului echimolar de alcool **10b** şi dicetenă în benzen, în prezența unei cantități catalitice de piridină, favorizează formarea acetilacetatului **11**.

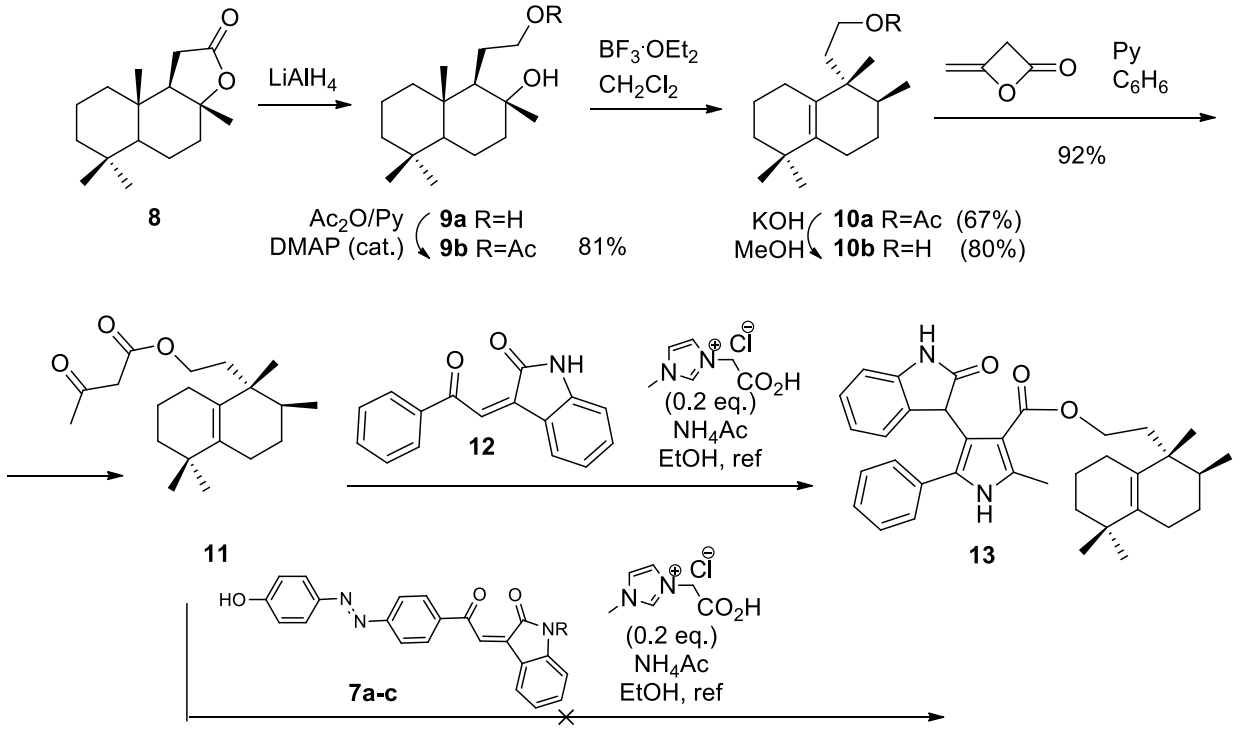


Fig. 2.2 Schema de sinteză a oxindolilor 3-pirol-funcționalizați.

Interacțiunea enonelor **7a-c** cu acetatului de amoniu şi acetilacetatului **11**, în prezența unui lichid ionic carboxi-funcţionalizat, nu conduce la formarea pirolilor scontaţi. Pe când, înlocuirea substratelor **7a-c** cu compusul **12** a condus la formarea produsului **13**.

Este cunoscut că derivații esterului ciclopentil al *L*-leucinei **14** pot pătrunde cu ușurință în celulă, unde sunt hidrolizaţi sub acțiunea esterazei intracelulare, pe când compuşii cu grupa carboxilică liberă nu sunt eliminaţi din celulă, crescând astfel concentrația substanței bioactive în interiorul celulei.

Sinteza piroloxindolului funcționalizat cu un fragment de leucină **16** (Fig. 2.3) a fost realizată prin condensarea enonei **12** cu esterul ciclopentilic al leucinei **14** și esterul acetoacetic **15**.

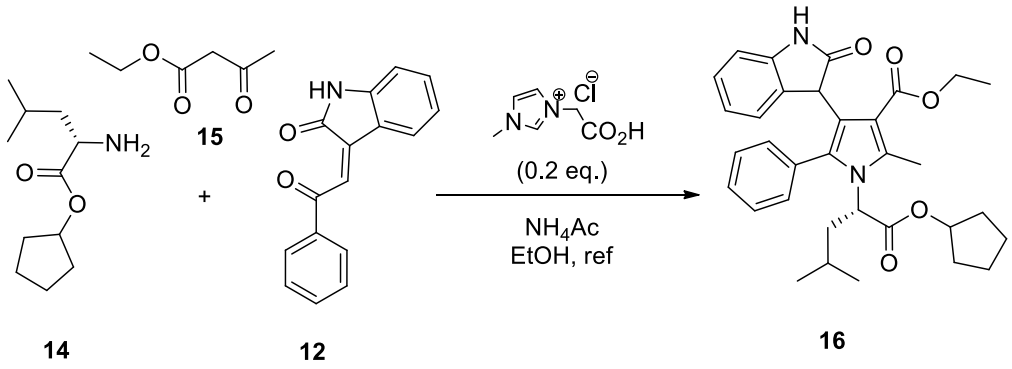


Fig. 2.3 Schema de sinteză a compusului 16.

.

Trebuie de remarcat că tautomeria produşilor **13** şi **16** în soluții a fost stabilită prin metoda spectroscopiei RMN, compuşii demonstrând un comportament de lactimă sau lactamă.

2.2 Sinteza 3-hidroxi-2-oxindolilor

3-Hidroxi-2-oxindolii 3-substituiți sunt reprezentați pe scară largă printre substanțele biologic active [12,13]. Convolutamidina **21c**, fragmentul structural 4,6-dibromo-3-hidroxioxindol al cărei este legat în poziţia C-3 cu un rest de 2-oxopropil, manifestă atât activitatea antitumorală [14,15], cât și efecte analgezice în comparație cu analogii săi **21a** și **21b** [16].

Sinteza unor compuşi hibrizi, ce conțin fragmente ale unor substanțe biologic active cunoscute, reprezintă una dintre metodele de obținerere a medicamentelor cu potențial [17]. Astfel, urmează un studiu dedicat sintezei moleculelor hibride pe baza oxindolilor **21a-e** (Fig. 2.4), în care fragmentul 3-hidroxi-2-oxindol este legat printr-o punte 2-oxopropil. [18,19,20].

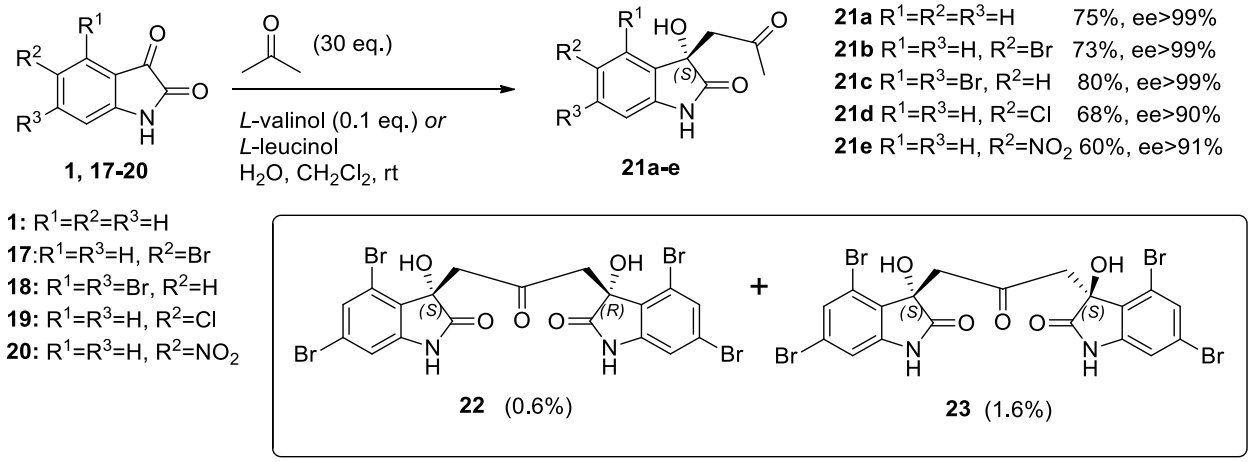


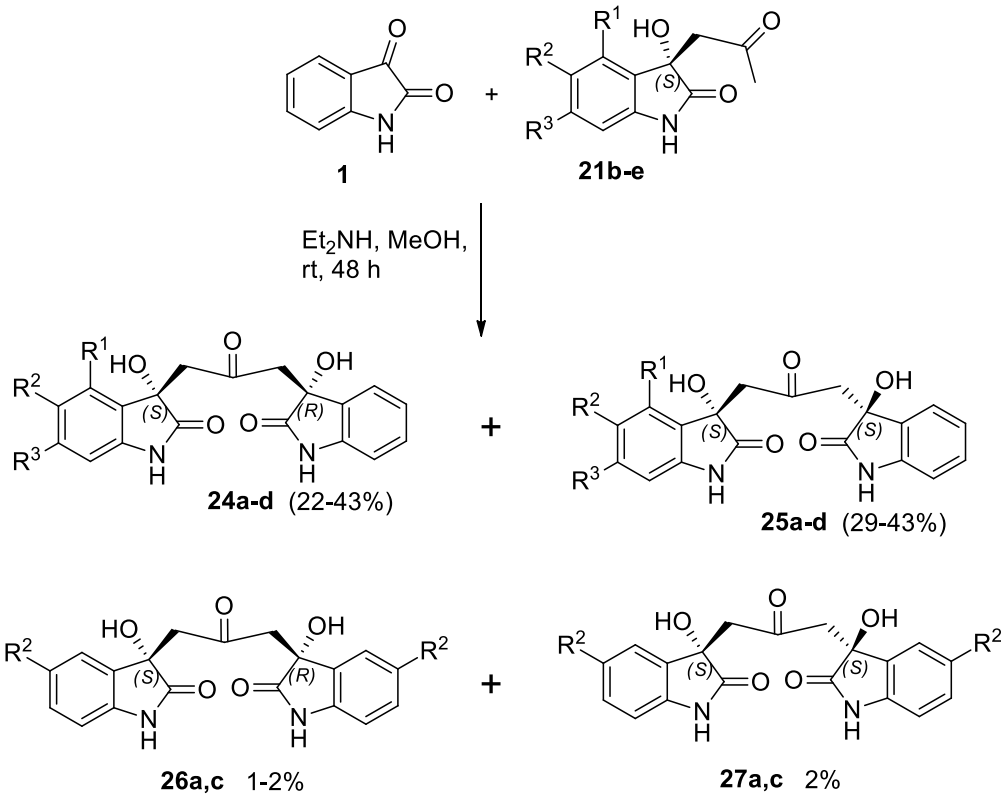
Fig. 2.4 Sinteza analogilor convolutamidinei A.

Metodele cunoscute de sinteză a (-)-convolutamidinei A **21c** includ interacțiunea a 4,6-dibromisatinei **18** cu acetona, proces catalizat de *L*-leucină [21, 22, 23]. S-a constatat că în condițiile descrise în sursa [20] se formează un amestec din trei compuşi. Astfel, împreună cu compusul **21c** (80%) au fost izolaţi şi dimerii **22** și **23**, cu un randament de 1.6% și 0.6%, respectiv.

Unul dintre factorii ce impiedică formarea produselor de condensare aldolică ar putea fi solubilitatea slabă a compusului **21c** în amestecul CH_2Cl_2-H_2O, acest sistem fiind înlocuit cu MeOH. Însă noile condiții de reacţie nu au condus la o creștere a randamentului produselor, întrucât produsul principal **21c** se obține sub forma unui racemat, fenomen ce corespunde datelor literare privind influența naturii solventului asupra enantioselectivității reacției [23]. Au eşuat şi

tentativele de utilizarea a altor amine primare în calitate de catalizatori, cum ar fi: *L*-valinolul, *L*-prolinolul și *trans*-4-hidroxi-*L*-prolina. În cazul cinconidinei sau DABCO, atât în clorură de metilen, cât și în metanol, s-au observat doar nişte urme de produşi. Utilizarea piperidinei a condus la formarea mai multor compuşi minori, în timp ce cataliza cu dietilamină a permis obţinerea produșilor **22** și **23** cu un randament de 40% și 37%, respectiv. Astfel, dietilamina s-a dovedit a fi cel mai optim catalizator în reacția de obţinere a dimerilor.

Următoarea etapă a cercetării ţine de sinteza derivaților nesimetrici ai (-)-convolutamidinei A **21c** și a analogilor săi, 2-oxopropilul servind drept punte de legătură (Fig. 2.5).



21-27a: R^1=R^3=H, R^2=Br **21-25b** R^1=R^3=Br, R^2=H **21-27c** R^1=R^3=H, R^2=Cl **21-25d** R^1=R^3=H, R^2=NO_2

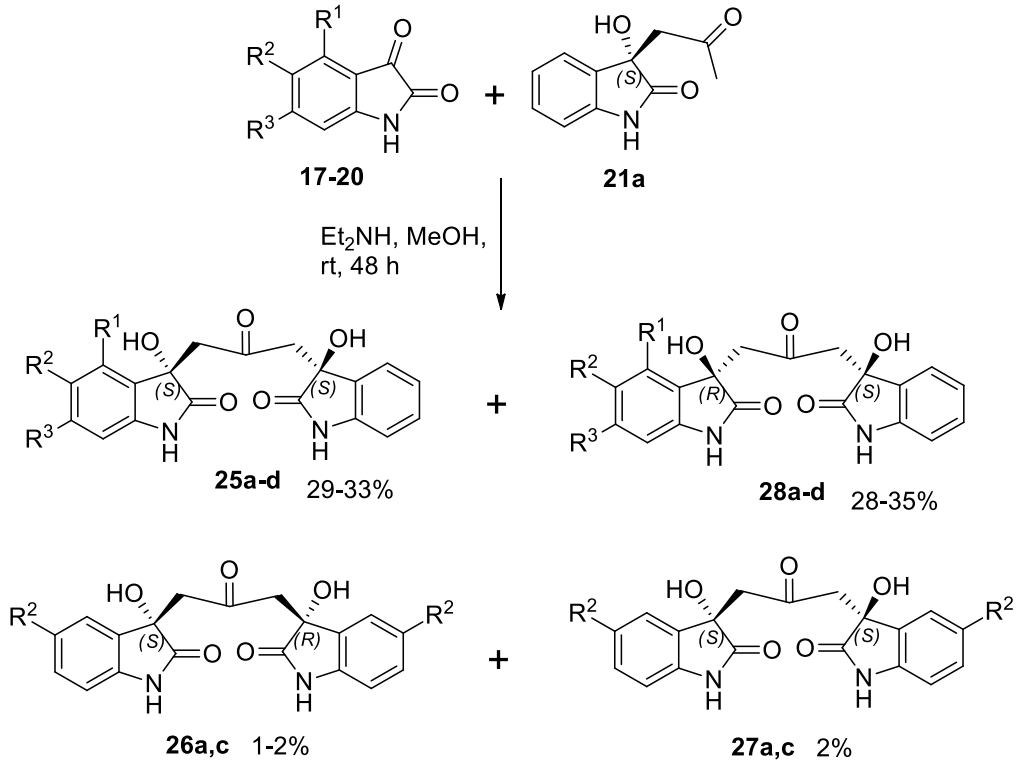
Fig. 2.5 Sinteza bis-derivaţilor prin condensare aldolică.

Folosind condițiile optime elaborate, la interacţiunea isatinei **1** cu aldolii substituiţi **21b-e** s-a obținut o serie de derivaţi **24a-d** și **25a-d**, cu un randament individual de 22–43%. De asemenea, au fost observate urme de dimeri simetrici **26a**,**c** și **27a**,**c** generaţi în urma condensării aldolice.

Stereochimia substanțelor obținute a fost determinată pe cale chimică, prin sinteza compuşilor **25a-d** pornind de la alte substrate. În reacția cu aldol **21a**, isatina **1** a fost înlocuită cu derivaţii săi substituiţi **17-20** (Fig. 2.6).

Astfel, în ambele reacții se formează un diastereomer comun **25a-d**. Stereochimia substanțelor **24, 25, 28** a fost stabilită în baza unghiul de rotație specific al luminii polarizate în

plan. Stereomerul **25** din ambele sinteze a prezentat același semn și valoare $[\alpha]_D^{25}$, pe când valoare $[\alpha]_D^{25}$ a compusul **28** este similară compusului **24**, doar cu semn opus, ceea ce indică că substanțele **28** și **24** sunt enantiomeri.



25-28a R^1=R^3=H, R^2=Br **25b,28b** R^1=R^3=Br, R^2=H **25-28c** R^1=R^3=H, R^2=Cl **25d,28d** R^1=R^3=H, R^2=NO_2

Fig. 2.6 Sinteza bis-derivaţilor prin condensare aldolică

2.3 Reacţia aldolilor isatinici cu cetone ciclice

Anterior, a fost raportată condensarea ciclohexanonei cu isatina **1** [24, 25] şi formarea unui amestec racemic de oxindoli 3-hidroxi-3-substituiți, ce manifestă activitate anticonvulsantă.

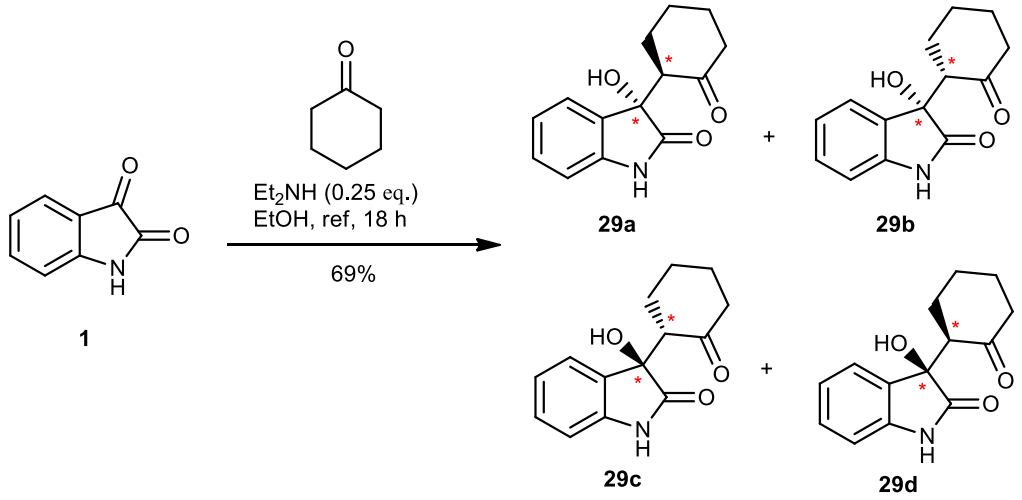


Fig. 2.7 Interacţiunea isatinei cu ciclohexanonă, catalizată de Et_2NH.

În condițiile indicate de către autori [24] (25% mol dietilamină în etanol absolut, reflux), a fost obținut un amestec de produşi care, conform analizei cromatografice pe coloană chirală, este alcătuit din cantități egale a patru compuși **29a, 29b, 29c, 29d** (Fig. 2.7).

Cu scopul de a elabora o metodă stereoselectivă de sinteză a compusului descris, a fost investigată influenţa solventului asupra reacţiei de condensare aldolică a ciclohexanonei cu isatina **1** [26, 27, 28, 29]. În rezultat, s-a constatat că în reacţia dată înlocuirea etanolului absolut cu un amestec CH_2Cl_2-H_2O, în combinaţie cu scăderea cantității catalizatorului de dietilamină la 10 mol%, la temperatura camerei timp de 48 de ore, conduce la o creștere a diastereoselectivității cu un raport al diastereomelor de 87:13 și un randament de 63%.

Totodată, reacţia de condensare aldolică a ciclohexanonei cu isatina **1** în mediu de CH_2Cl_2-H_2O, poate fi catalizată cu 10% mol (-)-valinol, iar conversia completă a isatinei **1** la temperatura camerei are loc timp de 48 de ore (Fig. 2.8). În aceste condiții se formează doar doi din cei patru compuși, cu un raport diastereomeric de 98:2 și o enantioselectivitate de 99%, randament total fiind de 65%.

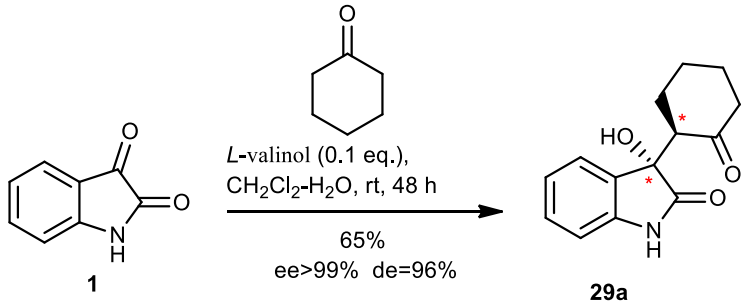


Fig. 2.8 Schema de sinteză asimetrică a 3-hidroxi-3-(2-oxociclohexil)indolin-2-onei 29a.

Structura compusului **29a** a fost determinată prin metoda RMN. În spectrul NOESY (Fig. 2.9), se observă o interacțiune între grupele OH (δH 5,83 ppm) și CH (δH 3,08 ppm), ceea ce sugerează următoarea structură (*S*)-3-hidroxi-3-[(R)-2-oxociclohexil]indolin-2-onă **29a**. Configurațiile absolute au fost determinate prin compararea datelor spectrale RMN și $[\alpha]_D^{25}$ cu cele din literatură [30, 31].

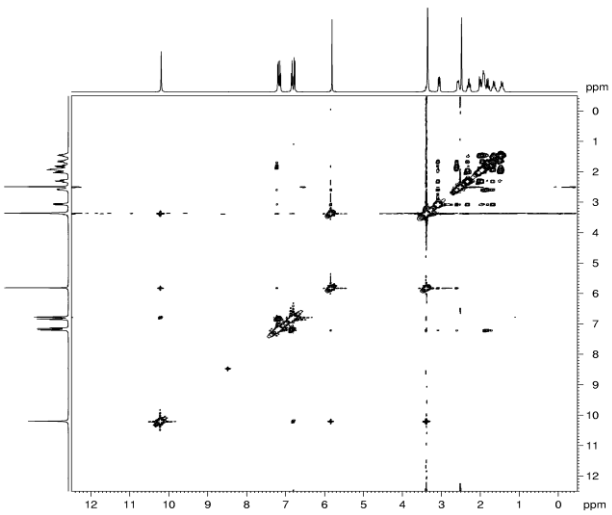
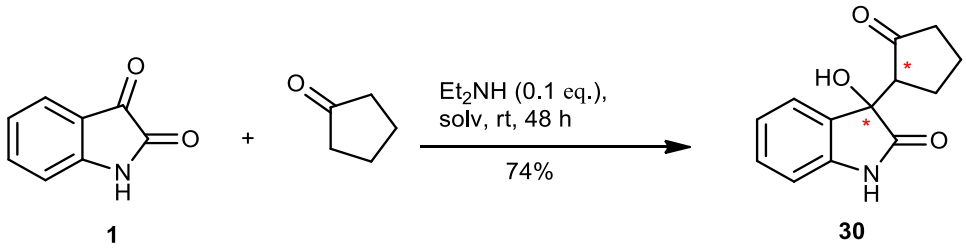


Fig. 2.9 Spectrul NOESY al compusului 29a.

Totodată, s-a observat că înlocuirea MeOH cu CH_2Cl_2-H_2O în reacția de condensare aldolică a ciclopentanonei cu isatina **1** conduce, de asemenea, la o creștere a diastereoselectivității.

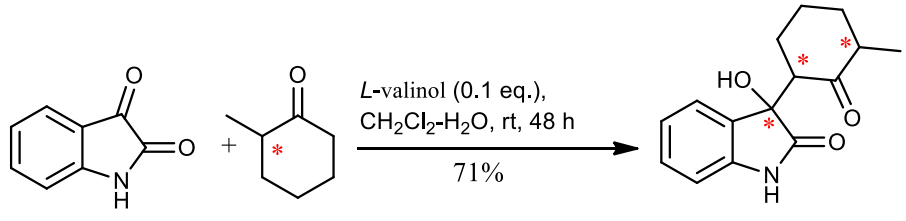


1 **30**

Fig. 2.10 Schema de sinteză a 3-hidroxi-3-(2-oxociclopentil)indolin-2-onei 30.

Conform cromatografiei pe coloană chirală, se formează doi dintre cei patru compuși **30** cu un raport diastereomeric de 94: 6.

2-Metilciclohexanona a fost, de asemenea, investigată în calitate de nucleofil în reacţia de condensare aldolică cu isatină **1** (Fig. 2.11).



1 **31**

Fig. 2.11 Schema de sinteză a 3-hidroxi-3-(3-metil-2-oxociclohexil)indolină-2-onei 31.

Interacțiunea metilciclohexanonei racemice cu isatina **1**, în sistemul de solvenţi diclormetan – apă, reacţia fiind catalizată cu 10 mol% *L*-valinol timp de 2 zile, generează cu un

randament total de 71% numai trei dintre cei opt produși potențial posibili, compușii fiind diastereomeri.

2.4 Rezultatele biotestării

Compușii sintetizați au fost testați la abilitatea de a inhiba replicarea HIV-1 (tulpina IIIb) și HIV-2 (tulpina ROD) în linia MT-4 de celule T leucemice acut infectate, și determinarea paralelă a citotoxicității acestora în celulele date. Aldolul **6a** și produsul său de deshidratare **7a** manifestă un nivel diferit de citotoxicitate, cu valori CC_{50} de 0.0301 și 0.0031 mM, respectiv. Azoderivatul **5** prezintă cea mai mică citotoxicitate dintre toți azocompușii studiați, cu valoarea CC_{50} de 0.1878 mM. Citotoxicitatea în seria derivaţilor sesquiterpenici crește în comparație cu lactona inițială **8** (CC_{50} 0.2690 mM), în urma tranziției de la ciclul cu cinci membri la diolul **9a**, creșterea continuă cu modificarea structurală a fragmentului biciclic în **10b** și scade în cazul pirol-derivatului polifuncționalizat al oxindolului. În același timp, acetoacetatul **11** (CC_{50} = 0.0315 mM) manifestă cea mai mare citotoxicitate dintre derivații sesquiterpenici. Substanța hibridă **16**, cu un fragment al esterul ciclopentilic al leucinei, prezintă o citotoxicitate mult mai înaltă în comparaţie cu compusul **13**, cu valori de 0.1602 și 0.0116 mM, respectiv.

Citotoxicitatea aldolilor bromuraţi este aproximativ aceeași și se află în intervalul de valori 0.1970-0.2470 mM. Citotoxicitatea enantiomerilor **24b** și **28b** diferă puțin (0.2050 și 0.2450 mM). Citoxicitatea aldolului **21a** este mai mică decât cea a derivatului bromurat **21b**, având valoarea de 0.570 mM.

Activitatea inhibitorie HIV în toate cazurile este similară sau mai mică decât citotoxicitatea.

3. SINTEZA SPIROOXINDOLILOR

3.1 Obținerea de spiro[oxindoltiadiazoli] *N*-glicozilaţi

Modificarea substituenților fragmentului oxindol cu o grupă amină reactivă în molecula de 1,3,4-tiadiazolină poate duce la formarea de noi compuși cu activitate antivirală. Anterior, a fost raportat compusul spiro[oxindol-(1,3,4-tiadiazolina)] ce manifestă o activitate bună împotriva liniei de celule MT-4 și activitate promiţătore împotriva HIV-1 [32,33].

Cu scopul de a obține isatine glicozidice, a fost studiată interacţiunea 5-metilisatinei cu glucoza în metanol, etanol și apă [34, 35, 36, 37]. În acest caz, a fost variat timpul de reacție, temperatura, concentrația reactivilor și pH-ul mediului, însă obținerea substanţelor de interes nu a fost posibilă. Nici înlocuirea glucozei cu manoză nu a schimbat situația, ceea ce a sugerat că un rol important în reactivitatea moleculei îl joacă prezența unei grupe amine libere în locul unei

grupe amidice. Astfel, pentru a obține produşii scontaţi s-a recurs mai întâi la sinteza anilidelor, care pot fi apoi transformate în isatine *N*-glicozilate prin metoda Stolle.

În acest sens, soluția metanolice de 4-metilanilină **32a** şi glucoză este refluxată timp de 24 de ore, iar tratarea ulterioră cu anhidridă acetică în piridină duce la formarea produsului **33a** izolat sub formă de tetraacetat (Fig. 3.1).

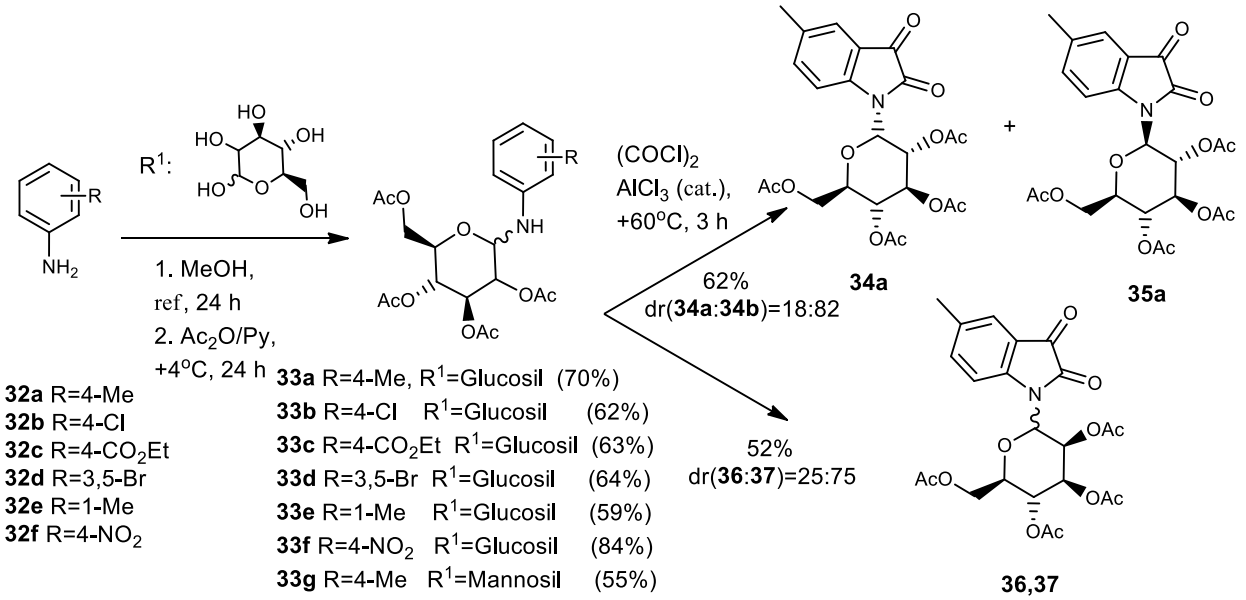


Fig. 3.1 Schema obținerii isatinelor glicozilate prin metoda Stolle.

Introducerea a două grupe carbonil în molecula de aminoglicozidă a fost posibilă prin acilarea atomul de azot şi substituția electrofilă Friedel-Crafts simultană. Agitarea, timp de 3 ore la temperatura de 55-60 °C, a amestecului format din compusul **33a** şi clorură de oxalil cu $AlCl_3$ a condus la formarea unui mix de produşi ciclici, care a fost separat în anomeri *α*, *β* individuali **34a** și **35a.** Trebuie remarcat că, la adăugarea catalizatorului $AlCl_3$ la 40 °C substanțele **33b, 33c, 33d, 33e, 33f** s-au polimerizat, astfel produşii scontaţi nu au fost identificaţi. Glicozidele isatinice anomere **36** și **37** au fost obținute cu randament moderat reieşind din **33g**, separarea lor ne fiind posibilă.

Prin urmare, se poate conclude că prepararea isatinelor glicozilate nu poate fi realizată prin metoda Sandmeer din cauza prezenței unui fragment de glucoză în moleculă. Totodată, şi metoda Stolle impune anumite restricții ce ţin de structura reactivului, care nu trebuie să conțină grupele funcționale: iod, brom, clor, ester, carboxil, hidroxil și amină primară.

Interacțiunea isatinei **35a** cu tiosemicarbazida generează, cu un randament de 65%, tiosemicarbazona **38** (Fig. 3.2), care, la tratarea cu o soluție de NaOMe în MeOH, se transformă în derivatul **39**.

Tiosemicarbazona **38**, fiind încălzită în anhidridă acetică timp de 6 ore, suferă o heterociclizare şi acilare simultană, generând spiro[oxindoltiadiazolilor] stereoizomeri obținuți în formă individuală **40a** și **40b**.

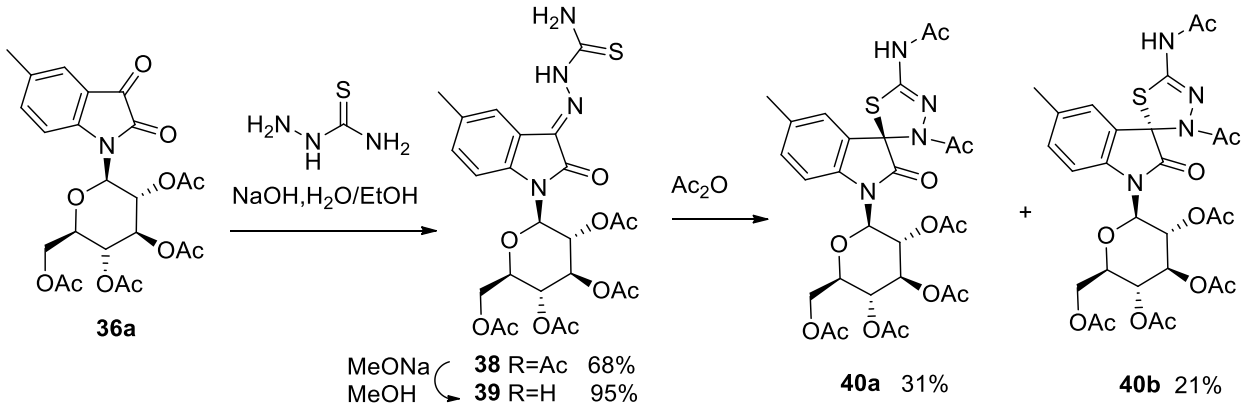


Fig. 3.2 Schema de sinteză a spiro[oxindoltiadiazolilor] *N*-glicozilați 40a,b.

Configurația absolută a compusului **40a** a fost determinată în baza difracţiei cu raze X (Fig. 3.3).

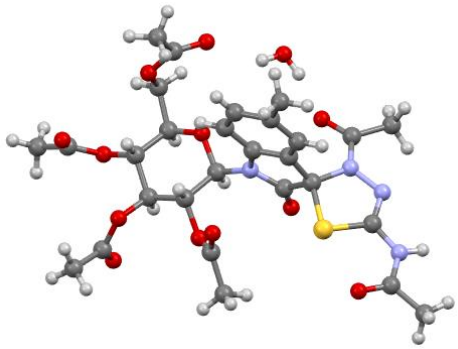
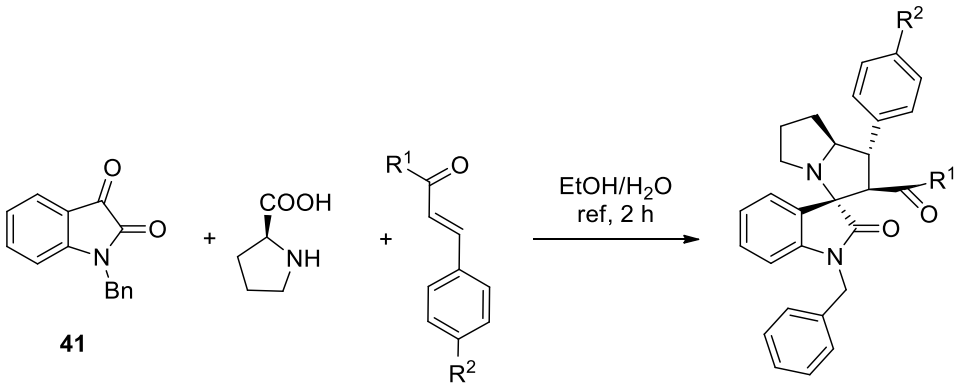


Fig. 3.3 Structura cristalină a compusului 40a.

3.2 Sinteza spiro[oxindolpirolizidinelor]

Derivații pirolizidinei se regăsesc pe scară largă atât în componemţa alcaloizii biologic activi, cât și în substanțe sintetice obținute prin introducerea unui substituent oxindolic. Reacțiile de cicloadiție 1,3-dipolară [38-42] reprezintă una dintre metodele promițătoare de preparare a spiro[oxindolpirolizidinelor]. În scopul dezvoltării acestei direcții a fost studiată selectivitatea reacției de interacțiune a *L*-prolinei, isatinei şi calcone.

S-a constatat că reacția se desfășoară stereospecific, procesul având loc la fierbere în mediu apă-alcool timp de 2 ore (Fig. 3.4).



42a R^1=Me, R^2=H	**43a** R^1=Me, R^2=H (40%)
42b R^1=C_6H_5, R^2=H	**43b** R^1=C_6H_5, R^2=H (53%)
42c R^1=C_6H_5, R^2=$N(CH_3)_2$	**43c** R^1=C_6H_5, R^2=$N(CH_3)_2$ (50%)
42d R^1=4-$MeOC_6H_4$, R^2=$N(CH_3)_2$	**43d** R^1=4-$MeOC_6H_4$, R^2=$N(CH_3)_2$ (46%)
42e R^1=C_6H_5, R^2=F	**43e** R^1=C_6H_5,, R^2=F (60%)

Fig. 3.4 Schema sintezei spiro[oxindolpirolizidinelor] 43a-e.

Interacțiunea calconelor **42a-e** cu *L*-prolină și isatina **41** duce la formarea spirooxindolilor **43a-e**, randamentele de izolare fiind de 40-60%. Această reacție are loc cu o diastereoselectivitate înaltă.

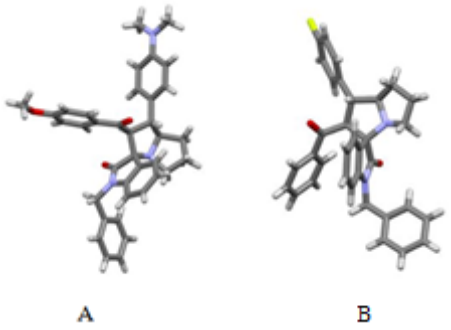


Fig. 3.5 Structură cristalină a spirooxindolilor 43d (A) și 43e (B)

În cazul prezenţei *trans*-4-hidroxi-*L*-prolinei, cetonele *α,β*-nesaturate **42b, 47** interacționează cu isatinele **1, 17, 41, 44, 45, 46** la temperatura camerei timp de o zi sau la fierbere în etanol timp de 15 min, astfel, reacția desfășurându-se mai rapid decât în cazul *L*-prolinei, cu formarea doar a doi stereoizomeri din cei 32 posibili (Fig. 3.6). Trebuie de subliniat că aceasta este o metodă simplă de obținere a spirooxindolilor optic activi ușor separabili **48a-h** și **49a-h**, ceea ce a permis studiul proprietățile lor biologice.

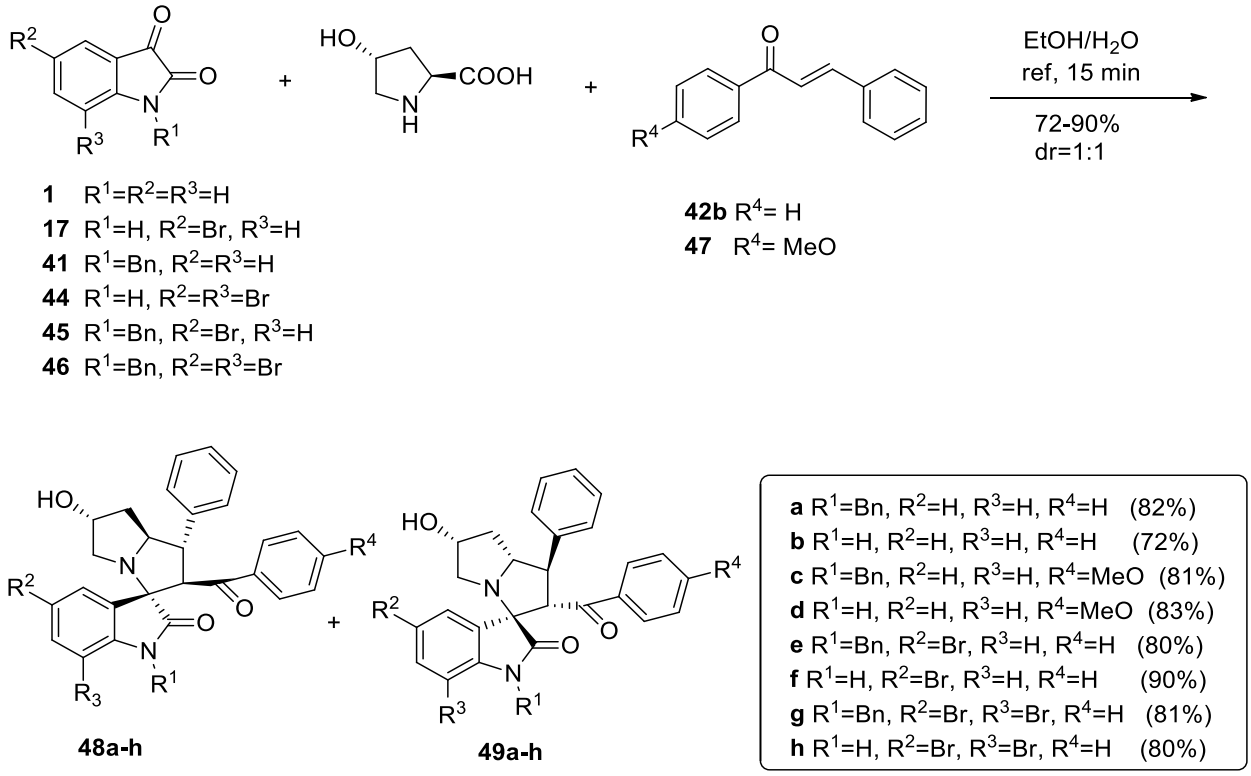
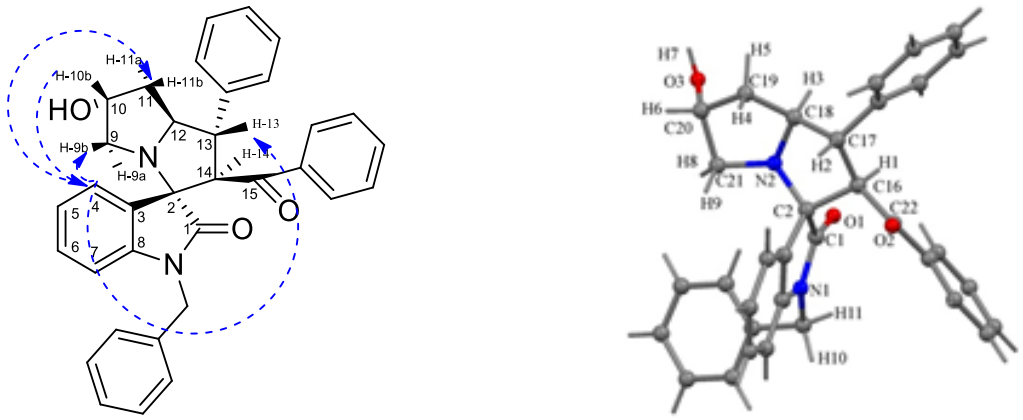


Fig. 3.6 Schema de sinteza a spiro[oxindolpirolizidinelor] 48a-h şi 49a-h.

Folosind experimentul NOESY a fost stabilită configurația absolută a diastereomerilor **48a-h** şi **49a-h**, ținând cont de stereochimia hidrogenului geminal grupei hidroxil. Reieşind din configurația cunoscută a protonului H-10, a fost determinată configurația absolută a atomilor chirali C-10, 12, 13, 14. Stereochimia centrului C-2 a fost stabilită cu ajutorul interacțiunea H-4 cu unul dintre hidrogenii din C-9.

În cazul compusului **48a**, configurația centrului C-10 (Fig. 3.5) se păstrează în timpul reacției și este cunoscută (Fig.3.7). Semnalul hidrogenului grupei hidroxil nu se observă în spectru, dar este prezent H-10 (4.54-4.49 ppm), care, conform spectrul NOESY, interacțiunează cu H-4 (7.22 ppm), care la rândul său interacționează cu H-9b (2.99 ppm.), H-11b (2.04 ppm.) și H-13 (4.00 ppm). Fragmentul isatinic are o structură plană și este amplasat perpendicular inelului pirolizidinic, care are forma unei cărți (este pliat de-a lungul legăturii N-C-12); inelul benzenic este rotit în aceeași direcție cu hidrogenii H-9b,10,11b,13, cu care interacționează protonul H-4.



A ***B***

A – interacțiunea spațială a hidrogenilor în compusul **48a**, conform spectrului NOESY;
B – structura cristalină a substanței **48a**.

Fig. 3.7 Determinarea structuri compusului 48a.

Totodată, configurația absolută a centrelor chirale ale spiranului **48a** a fost confirmată folosind metoda difracției cu raze X.

3.3 Rezultatele biotestării

Glucopiranozilamine **33a-d**,**e**,**g** prezintă un nivel diferit de citotoxicitate în raport cu linia celulară MT-4, cu valori CC_{50} între 0.0087-0.7430 mM. Substanța **33b** manifestă cea mai pronunțată citotoxicitate dintre toți compușii studiați, pe când derivatul 4-metil clorurat **33g** prezintă cea mai slabă citotoxicitate. Citotoxicitatea substanței **33a**, cu valoarea CC_{50} de 0.0469 mM, este de două ori mai mare decât citotoxicitatea substanței **33c.** Produşii **33d** și **33e** manifestă acelaşi nivel de citotoxicitate, CC_{50} egală cu 0.28 mM.

Modificarea ulterioară a citotoxicității este asociată schimbării scheletului carbonic. În cazul anomerilor **36**, **37**, a isatinei **35a** şi derivaților ei tiosemicarbazonici **38**, **39**, a spiro[oxindoltiodiazolilor] **40a** şi **40b**, citotoxicitatea fluctuează într-un interval mic de valori CC_{50} 0.11-0.31 mM.

În gama spiro[oxindolpirolizidinelor] cu inel benzenic substituit, citotoxicitatea derivaților **43c**,**d**,**e**, cu CC_{50} 0.1633-0.2419 mM, este cu mult mai mică decât cea a compusului **43b**, cu CC_{50} 0.0719 mm. În prezența grupei OH în fragmentul pirolizidinic, citotoxicitatea substanțelor **48c,d,f,g,h** și **49g** crește de câteva ori şi cuprinde valori de 0.0185-0.0265 mM, aceasta nefiind afectată nici de substituenții din inelul aromatic oxindolic, nici de grupa benzilică de la atomul de azot. În cazul diastereomerilor **48g** și **49g**, citotoxicitatea diferă neconsiderabil, compusul **48e** având o citotoxicitate mai slabă, cu CC_{50} de 0.0821 mM.

Substanţele date au fost, de asemenea, testate la capacitatea de a inhiba replicarea HIV, aceasta dovedindu-se a fi mai mică sau egală cu citotoxicitatea.

Totodată, trebuie remarcat faptul că s-au efectuat studii ce ţin de activitatea antimicrobiană împotriva bacteriilor *Xantomonas campestris*, *Bacillus subtilis* și a ciupercii asemănătoare drojdiilor - *Saccharomyces cerevisae*. Compușii **34a, 35a, 40a** și **40b** s-au dovedit a fi inactivi, în timp ce **38** a inhibat creșterea *Xantomonas campestris, Bacillus subtilis* la concentraţia MIC = 2,5 * 10-5 mM și *Saccharomyces cerevisae* la MIC = 5 * 10-5 mM.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

1. A fost efectuată o serie de studii privind elaborarea unor căi selective de sinteză organică a 75 compuși din seria oxindolului și spirooxindolului, inclusiv 58 neraportaţi anterior, structura a patru dintre care a fost demonstrată prin difracție cu raze X, de asemenea, au fost studiate proprietățile lor biologice.
2. Au fost ilustrate perspectivele utilizării derivatului optic activ al alcoolului diterpenic sclareol la asamblarea unui derivat polifuncțional al oxindolului cu un fragment pirol.
3. Pentru prima dată a fost efectuat studiul dependenței cursului reacțiilor de condensare aldolică de tipul catalizatorului, solventului și a substituentului în cazul indol-2,3-dionei prochirale și a derivatului obţinut la interacţiunea cu acetona, în sinteza dirijată a derivațiilor simetrici și asimetrici ai (-)-convolutamidinei A și analogilor săi, în care fragmentele 3-hidroxi-2-oxindol sunt legate printr-o punte 2-oxopropilică.
4. Pe exemplul interacţiunii isatinei cu cetonele ciclice, a fost demonstrată posibilitatea dirijării regio- și enantioselectivității cu ajutorul sistemul de solvenţi CH_2Cl_2 - H_2O, în prezența a 10 mol% (-)-valinol. În cazul reacţie isatinei cu ciclohexanonă, din cei patru compuși potențiali, (*S*)-3-hidroxi-3-((*R*)-2-oxociclohexil)indolin-2-ona se formează cu o diastereoselectivitate de 96% și o enantioselectivitate de 99%.
5. Au fost investigate scheme logice de obținere a isatinelor *N*-glicozilate. Pentru prima dată a fost prezentată sinteza spiro[oxindoltiadiazolilor] *N*-glicozilați reieşind din 4-metilanilină și a fost stabilită configurația absolută a acestora.
6. A fost efectuată optimizarea condițiilor de reacţie a isatinei cu cetone *α,β*-nesaturate și prolina, ceea ce a condus la formarea stereoselectivă a spiro[oxindolpirolizidinelor]. Utilizarea *trans*-4-hidroxi-*L*-prolinei face posibilă obţinerea spiro-[oxindolepirolizidinelor] hidroxi funcționalizate enantiomeric pure, cu o diastereoselectivitate ridicată.

7. În urma biotestării substanțele sintetizate la activitate antivirală, antibacteriană, antifungică și citotoxicitate, au fost identificați compuși cu potenţial înalt pentru studiile ulterioare ale produselor cu proprietățile programate.

Rezultatele obținute în această lucrare permit formularea următoarelor r**ecomandări**:

1. Determinarea legităților și caracteristicilor de transformre sintetică a 2-indolonelor deschide noi posibilități în modificarea lor structurală dirijată și extind percepţia teoretică a proprietăților chimice ale oxindolilor funcţionalizaţi. Datele noi obținute, ce ţin de reacția de condensare aldolică şi ciclocondiția dipolară vin să completează aspectul teoretic al reactivităţii oxindolilor și pot fi utilizate la obţinerea substanțelor similare cu proprietăți specifice.
2. Aplicarea sistemului brevetat (-)-valinol – CH_2Cl_2 – H_2O permite sinteza derivaților optic activi ai oxindolului și poate fi utilizată la obținerea altor substanțe organice hidroxi-funcționalizate de interes.
3. Metodele elaborate au stat la baza sintezei selective a unei serii de compuși heterociclici. Analiza relației "structură-proprietate'' a demonstrat că compuşii daţi manifestă o bioactivitate diversă și prezintă un interes practic, atât pentru chimia farmaceutică, cât și în calitate de agenţi chimici de protejare a plantelor agricole în Republica Moldova.

BIBLIOGRAFIE

1. MESHALKIN, A., *et al*. Carbazole-based azopolymers as media for polarization holographic recording. In: *Advanced Physical Research*. 2019, vol. 1, nr. 2, pp. 86-98. ISSN 2663-8436
2. RUNTSCH L.S., *et al*. Azobenzene-based inhibitors of human carbonic anhydrase II. In: *Beilstein J. Org. Chem.* 2015, vol. 11, pp. 1129-1135. ISSN 1860-5397
3. BILAN, D., MACAEV, F. Agenţii noi anti-HIV pe bază de isatină, sclareol şi leucină. În: *Akademos*. 2019, vol. 4, nr. 54, pp. 16-23. ISSN 1857-0461
4. BILAN, D., *et al*. Synthesys and NMR characterization of some new compounds with combined skeleton containing heterocycle pharmacophores. In: *19th Central and Eastern European NMR Symposium & BruckerrUser's Meeting*, 5-8 septembrie 2017, Timișoara, p.22
5. БИЛАН, Д.Я. Синтез хиральных диазобензолфункционализированных оксиндолов. В: *III Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки»*, Май 17-20, 2017, Уфа, с. 71-72.

6. BILAN, D., MACAEV, F. Sinteza și investigarea proprietăților compușilor fotosensibili pe baza azocoloranților cu fragment indolic. În: *Conferința Științifică a Doctoranzilor (cu participare internațională), ediția a VI-a, Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători*. 15 iunie 2017, Chișinău, pp.103-107.
7. KUAN, K.K.W., *et al*. Total Synthesis of (+)-Aureol. In: *Org. Lett*. 2012, vol. 14, nr. 18, pp. 4710-4713. ISSN 1523-7060
8. LONGLEY, R.E., *et al*. Evaluation of Marine Sponge Metabolites for Cytotoxicity and Signal Transduction Activity. In: *J. Nat. Prod*. 1993, vol. 56, pp. 915-920. ISSN 0163-3864
9. ZHAN, P., *et al*. Anti-HIV drug discovery and development: current innovations and future trends: miniperspective. In: *J. Med. Chem.* 2015, vol. 59, nr. 7, pp. 2849-2878. ISSN 0022-2623
10. CURLAT, S.N., *et al*. Synthesis of aminoalkylated aziridines based on (+)-3-carene. In: *Chem. Natur. Compds*. 2019, vol. 2, pp. 232-236. ISSN 0009-3130
11. ARICU, A., UNGUR, N., DUCA, GH. Desigh, targeted synthesis and study of biological activity of some polifunctional chiral terpenic compounds. In: *Compounds and Materials for Drug Development and Biomedical Applications*. pp. 101-126. Ed. Duca Gh.G., Macaev F. Editura Academiei Române-Editura Istros, București-Brăvila. 2018, 307 p. ISBN 978-973-27-2944-1.
12. PEDDIBHOTLA, S. 3-Substituted-3-hydroxy-2-oxindole, an Emerging New Scaffold for Drug Discovery with Potential Anti-Cancer and other Biological Activities. In: *Curr. Bioactive Comps*. 2009, vol. 5, pp. 20-38. ISSN 1573-4072
13. KUMAR, A., CHIMNI, S.S. Catalytic asymmetric synthesis of 3-hydroxyoxindole: a potentially bioactive molecule. In: *RSC Adv*. 2012, vol. 2, pp. 9748-9762. ISSN 2046-2069
14. KAMANO, Y., *et al*. Convolutamydine A, a Novel Bioactive Hydroxyoxindole Alkaloid from Marine Bryozoan Amathia convoluta. In: *Tetrahedron Lett.* 1995, vol. 36, pp. 2783-2784. ISSN 0040-4039
15. ZHANG, H., *et al*. Isolation and structure of convolutamydines B ~ D from marine bryozoan Amathia convoluta. In: *Tetrahedron.* 1995, vol. 51, pp. 5523-5528. ISSN 0040-4020
16. FIGUEIREDO, G.S.M., *et al*. Convolutamydine A and synthetic analogues have antinociceptive properties in mice. In: *Pharmacol. Biochem. Behav.*. 2013, vol. 103, pp. 431-439. ISSN 0091-3057

17. KUMAR, H.M.S., HERRMANN, L., TSOGOEVA, S.B. Structural hybridization as a facile approach to new drug candidates. In: *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2020, vol. 30, 127514. ISSN 0960-894X
18. БИЛАН, Д.Я.; *и др*. Синтез кросс-альдольных оптически активных бис-продуктов на основе изатина с ацетоном. В: *IV Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки»*. 16-19.05.2018, Уфа, Россия, с. 95-96.
19. БИЛАН, Д.Я., ДРАГАЛИН, И.П., МАКАЕВ, Ф.З. Получение бис-аддукта кросс-альдольной конденсации индолин-2,3-диона с пропан-2-оном при использовании в качестве катализатора аминокаранола. В: *Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – Людині»*. 12-13 березня 2020 року, Харків, Том 2, стр.136.
20. БИЛАН, Д.Я., *и др*. Синтез производных (-)-конволатомидина А и аналогов. В: *Химия Природных Соединений.* 2021, №3, стр 440-443. ISSN 0023-1150
21. KABESHOV, M. A., KYSILKA, O. *et al*. Cross-Aldol Reaction of Isatin with Acetone Catalyzed by Leucinol: A Mechanistic Investigation. In: *Chem. Eur. J*. 2015, vol. 21, pp. 12026-12033. ISSN 0947-6539
22. WEI, S., *et al*. One-pot synthesis of (R)-convolutamydine A involving in situ chiral organocatalyst formation. In: *Asymmetric Catalyst*. 2014, vol. 2, pp. 1-6.
23. MALKOV, A.V., *et al*. Vicinal Amino Alcohols as Organocatalysts in Asymmetric Cross-Aldol Reaction of Ketones: Application in the Synthesis of Convolutamydine A. In: *Org. Lett.* 2007, vol. 9, pp. 5473-5476. ISSN 1523-7060
24. POPP, F.D., PARSON, R., DONIGAN, B.E. Synthesis of potential anticonvulsants: condensation of isatins with acetone and related ketones. In: *J. Pharm. Sci.*, 1980, vol. 69, nr. 10, pp. 1235-1237. ISSN 1520-6017
25. PAJOUHESH, H., PARSON, R., POPP, F.D. Potential anticonvulsants VI: Condensation of isatins with cyclohexanone and other cyclic ketones. In: *J. Pharm. Sci*. 1983, vol. 72, pp. 318–321. ISSN 1520-6017
26. BILAN, D., *et al*. Selective synthesis of anticonvulsant via direct aldol reaction of isatin with cyclohexanone. In: *XXIII International scientific and practical conference of young scientists and students. «Topical issues of new drugs development»*. April 21, 2016, NUPh, Kharkiv, p.13-14.
27. BILAN, D., RADUL, O., GERONIKAKI, A. «Synthesis and antimicrobial activity of hydroxy substituted cyclohexanes». В: *2nd Russian National Youth Conference-School with*

international participation "Achievements of chemistry in the agricultural sector". 1 - 3 June 2016, Russia. Ufa, p. 50-53. ISBN 978-5-7456-0499-7.

28. MACAEV, F., BILAN, D., și alte. «Obținerea enantioselectivă a unui anticonvulsivant din isatină și ciclohexanonă». În: *Congresul național de Farmacie din România. Ediția a XVI-a. «Farmacia – centru al interdisciplinarității științelor vieții»*. 28 Septembrie -1 octombrie 2016, România. București, p.48.
29. MACAEV, F., BILAN, D., *și alte*. Procedeu de sinteză diastereo- și enantioselectivă a (S)-3-hidroxi-3-[(R)-2-oxociclohexil]indolin-2-onei. Institutul de Chimie. Brevet de invenție MD4689 B1 acordat din 30.04.2020.
30. LIU, Z.Q., *et al*. Enzymatic enantioselective aldol reactions of isatin derivatives with cyclic ketones under solvent-free conditions. In: *Biochimie*, 2014, vol. 101, pp. 156-160. ISSN 0300-9084
31. KUMAR, A., CHIMNI, S.S. Organocatalyzed direct asymmetric aldol reaction of isatins in water: low catalyst loading in command. In: *Tetrahedron*, 2013, vol. 69, nr. 25, pp. 5197-5204. ISSN 0040-4020
32. BOON, R. Antiviral Treatment: From Concept to Reality. In: *Antiviral Chem.Chemother*. 1997, vol. 8, pp. 5-10. ISSN 0956-3202
33. RADUL, O., *et al*. Synthesis and antiviral activity of new thiazole, 1,2,4-triazol and oxindole derivatives. In: *Chem. J. Moldova.* 2011, vol. 6, pp. 101-109. ISSN 1857-1727
34. BILAN D. Sinteza isatinelor glicozidice. În: *Tendinţe contemporane ale dezvoltării ştiinţei: viziuni ale tinerilor cercetători.* 15.06.2018, Chisinau, vol.1, p.90-94.
35. BILAN D. Sinteza derivaților spiro isatinici. În: *A XXXV-a conferință națională de chimie.* 2-5.10.2018, Călimanești-Căciulata, p.23.
36. BILAN, D., *et al*. The structure of N-glycosylated spiro[oxindol-thiadiazole]. În: *9th Iternational conference on materials science and condensed matter physics.* , 25-28.09.2018, Chișinău, p.167.
37. СУКМАН, Н.С., БИЛАН, Д., МАКАЕВ, Ф.З. Синтез модифицированных производных спирооксиндолов а антивирусной активностью. В: *IV Всероссийская молодежная конференция-школа с международным участием «Достижения химии в агропромышленном комплексе»*, 3 – 5.05. 2018 года, Уфа.
38. БИЛАН, Д.Я., *и др*. Диастереоселективный синтез энантиомерно чистых 6-гидроксизамещенных спиро-пирролизидиноксиндолов. В: *Материалы « V Всероссийская молодежная конференция».* 21-22 мая 2020, Уфа, стр.62-64.
39. БИЛАН Д.Я., *и др*. Синтез 1'-арилзамещенных (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(ацетоксиметил)-6-((1'S,2'R,3S,7a'S)-2'-бензоил-5-метил-2-оксо-1',2',5',6',7',7a'-

гексагидроспиро[индолин-3,3'-пирролизин]-1- ил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетатов. В: *Материалы « V Всероссийская молодежная конференция»*. 21-22 мая 2020, Уфа, стр.64-65.

40. BILAN, D., *et al*. Synthesis and Molecular Structure of Methyl 6'-Amino-5'-Cyano-2-oxo-3'*H*-Spiro[Indoline-3,4'-Pyrano[2,3-c]Pyrazole]-3'-Carboxylate. În: *The 6th International Conference Ecological & Environmental Chemistry 2017*. March 2-3, 2017, Republic of Moldova. Chișinău, p. 152.
41. BILAN, D., *et al*. Synthesis Of Enatiomerically Pure Highly Functionalised Spiro-[Indolin-3,3'-Pyrrolizin]-2-Ones. În: *International Conference "Achievements And Perspectives Of Modern Chemistry"*. 9-11.10.2019, Chisinau, p.142
42. GALVIS, C.E.P., KOUZNETSOV, V.V. Regio- and stereoselective synthesis of spirooxindole 1'-nitro pyrrolizidines with five concurrent stereocenters under aqueous medium and their bioprospection using the zebrafish (Danio rerio) embryo model. In: *Org. Biomol. Chem.* 2013, vol. 11, pp. 7372–7386. ISSN 1477-0520

PUBLICAȚIILE AUTORULUI PE TEMA TEZEI

Articole științifice în reviste și colecții

1) **БИЛАН, Д.Я**., СУКМАН, Н.С. *и др*. Синтез производных (-)-конволатомидина и аналогов. В: *Химия Природных Соединений.* 2021, №3, стр 440-443. ISSN 0023-1150

2) **BILAN, D**., MACAEV, F. Agenţii noi anti-HIV pe bază de isatină, sclareol şi leucină. În: *Akademos*. 2019, vol. 4, nr. 54, pp. 16-23. ISSN 1857-0461

3) **BILAN D.** Sinteza isatinelor glicozidice. În: *Tendinţe contemporane ale dezvoltării ştiinţei: viziuni ale tinerilor cercetători.* 15.06.2018, Chisinau, vol.1, p.90-94.

4) СУКМАН, Н.С., **БИЛАН, Д.,** МАКАЕВ, Ф.З. Синтез модифицированных производных спирооксиндолов а антивирусной активностью. В: *IV Всероссийская молодежная конференция-школа с международным участием «Достижения химии в агропромышленном комплексе»,* 3 – 5.05. 2018 года, Уфа

Brevete

5) MACAEV, F., **BILAN, D**., RADUL, O., BOLDESCU, V. Procedeu de sinteză diastereo- și enantioselectivă a (S)-3-hidroxi-3-[(R)-2-oxociclohexil]indolin-2-onei. Institutul de Chimie. Brevet de invenție MD4689 B1 acordat din 30.04.2020

Rezumate de articole din colecții

6) **БИЛАН Д.Я**., МАКАЕВ Ф.З. «Асимметрический синтез аддуктов изатина с циклопентаноном и циклогексаноном». Материалы II Всероссийской молодежной научно-практическая конференции, «Вершины науки – покорять молодым! Современные достижения химии в работах молодых ученых», Уфа, 25-28 мая 2021

7**) БИЛАН, Д.Я.,** КОЖОКАРЬ, С.В., БАРБА, А.Н., ДРАГАЛИН, И.П., МАКАЕВ, Ф.З. Диастереоселективный синтез энантиомерно чистых 6- гидроксизамещенных спиро-пирролизидиноксиндолов. В: *Материалы « V Всероссийская молодежная конференция».* 21-22 мая 2020, Уфа, стр.62-64.

8) **БИЛАН Д.Я.**, КОЖОКАРЬ С.В., БАРБА А.Н., ДРАГАЛИН И.П., МАКАЕВ Ф.З. Синтез 1'-арилзамещенных (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(ацетоксиметил)-6-((1'S,2'R,3S,7a'S)-2'-бензоил-5-метил-2-оксо-1',2',5',6',7',7a'- гексагидроспиро[индолин-3,3'-пирролизин]-1-ил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетатов. В: *Материалы « V Всероссийская молодежная конференция»*. 21-22 мая 2020, Уфа, стр.64-65.

9**) БИЛАН, Д.Я**., ДРАГАЛИН, И.П., МАКАЕВ, Ф.З. Получение бис-аддукта кросс-альдольной конденсации индолин-2,3-диона с пропан-2-оном при использовании в качестве катализатора аминокаранола. В: *Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – Людині»*. 12-13 березня 2020 року, Харків, Том 2, стр.136

10) **BILAN, D**., COJOCARI, S., BARBA, A., KRAVTSOV, V., MACAEV F. "Stereoselective Synthesis And Structural Study Of Derivatives Of 2'-Benzoyl-1-Benzyl-1'-Phenyl -1',2', 5',6',7',7a'-Hexahydrospiro [Indolin-3,3'-Pyrrolizine]-2-One", International Conference "Achievements And Perspectives Of Modern Chemistry", Chisinau, 9-11.10.2019, p.141

11) **BILAN, D**., COJOCARI, S., GORINCIOI, E., KRAVTSOV, V., MACAEV F. Synthesis Of Enatiomerically Pure Highly Functionalised Spiro-[Indolin-3,3'-Pyrrolizin]-2-Ones. În: *International Conference "Achievements And Perspectives Of Modern Chemistry"*. 9-11.10.2019, Chisinau, p.142

12) ***BILAN D.*** Sinteza derivaților spiro isatinici. În: *A XXXV-a conferință națională de chimie.* 2-5.10.2018, Călimanețti-Căciulata, p.23

13) **BILAN, D**., SUCMAN, N., POGREBNOI, V., KRAVTSOV, V.CH., MACAEV, F.Z. The structure of N-glycosylated spiro[oxindol-thiadiazole]. În: *9th Iternational conference on materials science and condensed matter physics. ,* 25-28.09.2018, Chișinău, p.167

14) **БИЛАН, Д.Я.,** РАДУЛ, О.М., ДРАГАЛИН, И.П., МАКАЕВ, Ф.З. Синтез кросс-альдольных оптически активных бис-продуктов на основе изатина с ацетоном. В: *IV Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки»*. 16-19.05.2018, Уфа, Россия, с. 95-96.

15) **BILAN, D**., *et al*. Synthesys and NMR characterization of some new compounds with combined skeleton containing heterocycle pharmacophores. In: *19th Central and Eastern European NMR Symposium & BruckerrUser's Meeting*, 5-8 septembrie 2017, Timișoara, p.22

16) **BILAN, D**., MACAEV, F. Sinteza și investigarea proprietăților compușilor fotosensibili pe baza azocoloranților cu fragment indolic. În: *Conferința Științifică a Doctoranzilor (cu participare internațională), ediția a VI-a, Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători*. 15 iunie 2017, Chișinău, pp.103-107

17) **БИЛАН, Д.Я**. Синтез хиральных диазобензолфункционализированных оксиндолов. В: *III Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки»*, Май 17-20, 2017, Уфа, с. 71-72

18) **BILAN, D**., MELNIC, E.; KRAVTSOV, V., DUCA, G., MACAEV, F. Synthesis and Molecular Structure of Methyl 6'-Amino-5'-Cyano-2-oxo-3'*H*-Spiro[Indoline-3,4'-Pyrano[2,3-c]Pyrazole]-3'-Carboxylate. În: *The 6th International Conference Ecological & Environmental Chemistry 2017*. March 2-3, 2017, Republic of Moldova. Chișinău, p. 152.

19) MACAEV, F., **BILAN, D**., RADUL, O., BARBA, A., DRAGALIN, I., VALICA, V., UNCU, L. «Obținerea enantioselectivă a unui anticonvulsivant din isatină și ciclohexanonă». În: *Congresul național de Farmacie din România. Ediția a XVI-a. «Farmacia – centru al interdisciplinarității științelor vieții»*. 28 Septembrie -1 octombrie 2016, România. București, p.48.

20) **BILAN, D**., RADUL, O., GERONIKAKI, A. «Synthesis and antimicrobial activity of hydroxy substituted cyclohexanes». В: *2nd Russian National Youth Conference-School with international participation "Achievements of chemistry in the agricultural sector"*. 1 - 3 June 2016, Russia. Ufa, p. 50-53. ISBN 978-5-7456-0499-7.

21) **BILAN, D**., RADUL, O., DRAGALIN, I., BARBA, A., UNCU, L., VALICA, V., MACAEV, F. Selective synthesis of anticonvulsant via direct aldol reaction of isatin with cyclohexanone. In: *XXIII International scientific and practical conference of young scientists and students*. *«Topical issues of new drugs development»*. April 21, 2016, NUPh, Kharkiv, p.13-14.

ADNOTARE

Bilan Dmitri Iaroslav„Sinteza și studiul oxindolilor optic activi”. Teză de doctor în științe chimice. Chișinău, Republica Moldova, 2022

Structura tezei. Teza constă din introducere, 3 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie ce include 144 de titluri, 108 de pagini de text de bază, 76 de figuri, 3 tabele. Rezultatele cercetărilor efectuate sunt expuse în 21 de lucrări științifice.

Cuvinte cheie: oxindol, isatină, substanța chirală, cicloadiție, sinteză asimetrică.

Scopul lucrării constă în: cercetarea modalităților de sinteză selectivă a oxindolilor optic activi substituiți, pe bază de isatine, evaluarea structurii și proprietăților acestora.

Obiectivele cercetării: elaborarea unor scheme de sinteză simple și eficiente pentru obținerea noilor oxindoli substituiți din isatine; studierea regularităților parcurgerii reacției aldolice cu participarea catalizatorilor chirali; cercetarea căilor de sinteză a isatinelor *N*-substituite optic active; investigarea reacției de obținere a spirooxindolilor pe baza isatinei, aminoacizilor naturali și calconelor; evaluarea relației "structură-activitate" în seria oxindolilor sintetizați.

Noutatea și originalitatea științifică a lucrării constă în dezvoltarea căilor selective de sinteză a unei serii de compuși necunoscuți anterior din seria oxindolului, structura a patru dintre aceștia fiind demonstrată prin metoda difracției cu raze X, și studierea proprietăților acestora; a fost demonstrată posibilitatea obținerii noilor compuși cu potențial înalt de bioactivitate isatinici și spirooxindolici *N*-glicozilați; au fost studiate căi de sinteză a unei noi serii de compuși chirali hibrizi, conținând fragment pirolizidinic caracteristic pentru alcaloizi; a fost dezvoltată o metodă de preparare a derivaților simetrici și asimetrici ai convolutamidinei A naturale și analogilor, în care fragmentele 3-hidroxi-2-oxindolului sunt legate prin linkerul 2-oxipropil.

Soluționarea unei probleme științifice constă în determinarea condițiilor optime de sinteză a noilor compuși heterociclici din seria oxindolică cu potențial de activitate biologică, determinarea relației „structură-bioactivitate”. Au fost stabilite condițiile optime de sinteză a bis-aducților isatinei cu acetona. Pentru prima dată a fost propusă o metodă cu stereoselectivitate înaltă de obținere a (*S*)-3-hidroxi-3-((*R*)-2-oxociclohexil)indolin-2-onei.

Semnificația teoretică a lucrării. A fost demonstrată perspectiva utilizării derivatului diterpenoidei naturale sclareol și a esterului *L*-leucinei cu ciclopentanolul, pentru prepararea derivatului oxindolic polifuncționalizat chiral conținând fragmentul pirolului. Au fost relevate unele particularități, privind rolul catalitic al α-aminoalcoolilor în reacția aldolică cu participarea isatinelor și acetonei. A fost stabilit, că natura solventului și catalizatorului influențează stereoselectivitatea reacției aldolice cu participarea indolindionei și cetonelor ciclice.

Valoarea aplicată a lucrării. Metodele elaborate au servit pentru sinteza selectivă a câtorva serii de compuși heterociclici oxindolici. Analiza relației "structură-proprietăți" a demonstrat, că unii compuși manifestă citotoxicitate pentru leucemia cu celule T MT-4, activitate fungicidă și bactericidă și prezintă interes practic, inclusiv pentru terapia fotodinamică.

Implementarea rezultatelor științifice: Metoda brevetată de construire diastereo- și enantioselectivă a oxindolilor optic activi și-a găsit aplicare în cadrul activității științifice a Laboratorului de Sinteză Organică a Institutului de Chimie. Datele privind citotoxicitatea au identificat substanțe promițătoare pentru cercetări aprofundate ulterioare.

АННОТАЦИЯ

Билан Дмитрий Ярославович, «Синтез и исследование оптически активных оксиндолов». Диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук. Кишинёв, Республика Молдова, 2022.

Структура диссертации: диссертация включает введение, 3 главы, общие выводы и рекомендации, библиографию из 144 наименований, 108 страниц основного текста, 76 рисунков, 3 таблицы. Результаты опубликованы в 21 научной публикации.

Ключевые слова: оксиндол, изатин, хиральное вещество, циклоприсоединение, асимметрический синтез.

Цель научной работы: исследование путей селективного синтеза оптически активных замещенных оксиндолов на основе изатинов, изучение их строения и свойств.

Задачи исследования: разработка простых и эффективных схем синтеза новых замещенных оксиндолов на основе изатинов; изучение закономерностей протекания кросс-альдольной реакции при участии хиральных катализаторов; исследование путей синтеза оптически активных *N*-замещенных изатинов; исследование реакции получения спирооксиндолов с участием изатина, природных аминокислот и халконов; на основании полученных данных, оценить взаимосвязь «структура-биоактивность» в ряду синтезированных оксиндолов.

Новизна и научная оригинальность работы заключается в разработке селективных путей синтеза серии ранее неизвестных соединений оксиндольного ряда, для четырех из которых структура была доказана методом РСА, а также изучении их свойств; показана возможность получения потенциально биоактивных *N*-гликозилированных изатинов и спирооксиндолов; изучены пути синтеза серии новых хиральных гибридных молекул с фрагментом пирролизидина, содержащегося в алкалоидах; разработан метод получения симметричных и несимметричных производных природного конволутамидина А и аналогов, у которых 3-гидрокси-2-оксиндольные фрагменты связаны через 2-оксопропильный линкер.

Решенная важная научная проблема заключается в определении оптимальных условий синтеза новых гетероциклических соединений оксиндольного ряда, с потенциальной биологической активностью, изучении взаимосвязи «структура-биоактивность». Выявлены оптимальные условия синтеза бис-аддуктов ацетона с изатинами. Впервые предложен высокостереоселективный метод получения (*S*)-3-гидрокси-3-((*R*)-2-оксоциклогексил)индолин-2-она.

Теоретическая значимость работы. Проиллюстрирована перспективность использования производного природного дитерпеноида склареола и циклопентилового эфира *L*-лейцина, для построения оптически активного полифункционализированного производного оксиндола с фрагментом пиррола. Выявлены особенности катализа *α*-аминоспиртами реакции альдольной конденсации изатинов с ацетоном. Установлено, что на стереоселективность реакции альдольной конденсации индолиндиона с циклическими кетонами влияет природа растворителя и катализатора.

Прикладная значимость работы. Разработанные методы легли в основу селективного синтеза нескольких серий гетероциклических соединений оксиндольного ряда. Анализ взаимосвязи «структура-свойство» показал, что некоторые соединения обладают цитотоксичностью в отношении к линии Т-клеточной лейкемии МТ-4, фунгицидной и бактерицидной активностью, и представляет практический интерес, в том числе для фотодинамической терапии.

Внедрение научных результатов. Запатентованный метод диастерео- и энантиоселективного построения оптически активных оксиндолов нашел применение в научно-исследовательской деятельности Лаборатории Органического Синтеза Института Химии. Данные по цитотоксичности выявили перспективные вещества для дальнейших углубленных исследований.

ANNOTATION

Bilan Dmitri Iaroslav, "Synthesis and study of optically active oxindoles". oxindoles". The doctor dissertation in chemical sciences. Chisinau, Republic of Moldova, 2022.

Dissertation contents: the thesis includes an introduction, 3 chapters, general conclusions and recommendations, a list of references of 144 titles, 108 pages of the main text, 76 figures, 3 tables. The results are published in 21 scientific papers.

Keywords: oxindole, isatin, chiral substance, cycloaddition, asymmetric synthesis.

The goal of the scientific work: investigation of the routes for selective synthesis of optically active substituted oxindoles on the basis of isatins, investigation of their structure and properties.

The research objectives: the elaboration of simple and effective synthetic schemes for obtaining the new substituted oxindoles starting from isatins; study of the regularities of cross-aldol reaction by using chiral catalysts; exploration of the synthetic routes towards the optically active *N*-substituted isatins; investigation of the reactions of obtaining spirooxindoles from isatin, natural amino acids and chalcones; evaluation of the "structure-bioactivity" relationship for a number of the synthesized substituted oxindoles based on the obtained data.

The novelty and the scientific originality of the work consists in the development of selective routes for the synthesis of previously unknown compounds belonging to the oxindole series, four of them being characterized by X-ray structural analysis, as well as study of their properties; the possibility of obtaining the potentially bioactive *N*-glycosylated isatins and spirooxindoles has been presented; the synthetic routes towards a series of new chiral hybrid molecules containing the pyrrolizidine fragment, found in alkaloids, have been investigated; a method was developed for the preparation of symmetrical and unsymmetrical derivatives of natural convolutamidine A and analogs, in which the 3-hydroxy-2-oxindole fragments are linked through an 2-oxopropyl linker.

The solved scientific problem consists in the determination of the optimal conditions for the synthesis of heterocyclic compounds of the oxindole series potentially endowed with biological activity and investigation of the "structure-bioactivity" relationship, as well. The optimal conditions for the synthesis of bis-adducts of isatins with acetone have been established. For the first time, a highly stereoselective method for the preparation of (*S*)-3-hydroxy-3-((*R*)-2-oxocyclohexyl)indolin-2-one has been proposed.

Theoretical significance of the dissertation. The perspective of using a derivative of the natural diterpenoid sclareol and the cyclopentyl ester of *L*-leucine for the construction of an optically active polyfunctionalized derivative of oxindole containing the pyrrole moiety, has been illustrated. The features have been revealed, regarding the α-aminoalcohols- catalyzed aldol condensation reaction of isatins with acetone. It was found, that the stereoselectivity of the aldol condensation of indolinedione with cyclic ketones is influenced by the nature of the solvent and catalyst.

Applicative value of the dissertation: The developed methods formed the basis for the selective synthesis of a series of heterocyclic compounds of oxindole series. The analysis of the "structure-property" relationship revealed the cytotoxicity of some compounds against the T-cell leukaemia MT-4, and fungicidal and bactericidal activity too, thus being of practical interest, including also photodynamic therapy.

Implementation of the scientific results: The patented method of diastereo- and enantioselective construction of optically active oxindoles has been applied in the scientific research activity of Laboratory of Organic Synthesis of the Institute of Chemistry. Data on the cytotoxicity pointed out the promising substances for further in-depth research.

BILAN DMITRI IAROSLAV

SINTEZA ȘI STUDIUL OXINDOLILOR OPTIC ACTIVI

143.01 – CHIMIE ORGANICĂ

Rezumatul tezei de doctor în științe chimice

Aprobat spre tipar 18.11.2021	Formatul hârtiei 21x29,7
Hârtie ofset. Tipar laser.	Tiraj. 30 ex.
Coli de tipar: 31	Comanda nr. *201*

Tipografia *S.R.L. Luminvideo*

Republica Moldova, Chişinău, bd.Moscova 5.