

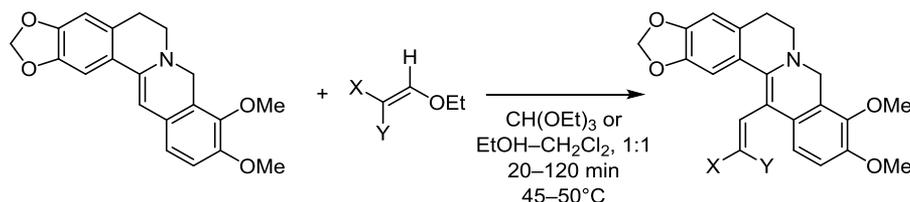
Синтез и исследование новых 13-винилпроизводных берберина

Олег Д. Демехин¹, Олег Н. Буров¹, Михаил Е. Клецкий^{1*}, Антон В. Лисовин¹,
Сергей В. Курбатов¹, Елена А. Березняк², Алена В. Тришина²

¹ Южный федеральный университет, химический факультет,
ул. Зорге, 7, Ростов-на-Дону 344090, Россия; e-mail: mkletsii@yandex.ru

² Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени
научно-исследовательский противочумный институт,
ул. М. Горького, 117/40, Ростов-на-Дону 344002, Россия
e-mail: labbiobez@mail.ru

Поступило 3.11.2021
Принято после доработки 18.01.2022



Экспериментально и при помощи квантово-химических расчетов DFT/B3LYP в базисе 6-31++G(d,p) показана возможность получения электронейтральных замещенных 13-винилберберинов. Введение сопряженных через винильный фрагмент фармакофорных заместителей открывает новые возможности структурной модификации берберина, позволяя резко менять тропность к надмолекулярным биологическим структурам. Новые 13-винилберберины стабильны в восстановленной форме благодаря значительному внутримолекулярному переносу электронной плотности с берберинового остова на винильный фрагмент, содержащий электроноакцепторные группы. Показана возможность существования производных берберина не только в виде ионной пары из органического катиона и неорганического аниона, но и в виде цвиттер-ионных структур со значительным внутримолекулярным переносом заряда. Полученные 13-винилберберины продемонстрировали биологическую активность по отношению к высокопатогенному холерному вибриону.

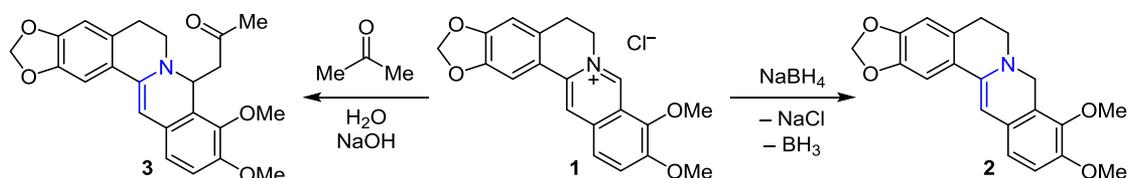
Ключевые слова: берберин, дигидроберберин, СН-кислоты, расчеты DFT, электрофильное замещение.

В последние годы резко возросла устойчивость бактерий к известным антибиотикам. Основными причинами этого являются процессы глобализации и бесконтрольное и часто необоснованное применение антибиотиков, в том числе в ветеринарии. В настоящее время рост антибиотикорезистентности принял настолько угрожающий характер, что Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) разработала и опубликовала "Глобальную стратегию ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам". Проблема осложняется тем, что более 90% бактериальных популяций формируют специфически организованные биопленки, приводящие к генерализации инфекционного процесса, неэффективности методов традиционной антимикробной терапии и повышению резистентности бактерий. Разработка методов синтеза новых соединений, обладающих комплексным эффектом, способных одновременно воздействовать на бактерии, на биопленки, а также на ключевые механизмы

лекарственной резистентности, является чрезвычайно актуальной задачей.

Достаточно перспективными в борьбе с микроорганизмами выглядят так называемые проникающие катионы, и в частности протобербериновые алкалоиды. Родоначальник ряда протобербериновых алкалоидов – берберин – обладает достаточно высоким бактериально-таргетизирующим действием, хорошо координируется с бактериальными стенками¹ и потому исследуется в качестве антибиотика, действующего на широкий класс инфекций. Среди последних такие патогены, как золотистый стафилококк, фекальный энтерококк, синегнойная и кишечная палочки, а также грибы, простейшие, вирусы и гельминты.²⁻⁷ Особенностью берберина можно считать достаточно выраженную способность ингибировать помпу бактериального выброса.^{8,9} Следует также отметить, что в литературе в качестве противомикробного средства описывается сам берберин, в то время как его производные встречаются довольно

Схема 1



редко.¹⁰ В то же время наиболее интересными с точки зрения воздействия на бактерии оказываются именно производные берберина, исследуемые в качестве антибактериальных соединений широкого спектра действия,^{8,10} способные бороться в том числе с высокопатогенными¹¹ и резистивными к антибиотикам формами бактерий.¹² Следует подчеркнуть, что, во-первых, берберин является липофильным катионом, способным эффективно координироваться с бактериальной клеткой; во-вторых, берберин способствует разрушению бактериальных пленок и диссипации бактерий из колонии; в-третьих, берберин является ингибитором помпы бактериального выброса. При этом берберины, замещенные по положению С-13, обладают наиболее выраженной антибактериальной активностью и способны оказывать воздействие на лекарственнорезистентные формы туберкулеза.¹³

По данным исследователей из Пекинского университета, введение заместителей в положение С-13 производных берберина позволяет получать вещества, действующие на резистивные формы золотистого стафилококка наравне с левомецетином или даже лучше.¹⁴ В качестве заместителей в положении С-13 китайские исследователи использовали различные производные бензилхлорида, при этом заместители в бензольном цикле слабо влияли на биоактивность бензилберберинов. Следует также особо подчеркнуть, что в литературе содержатся сведения только о катионных формах замещенных по положению С-13 систем.

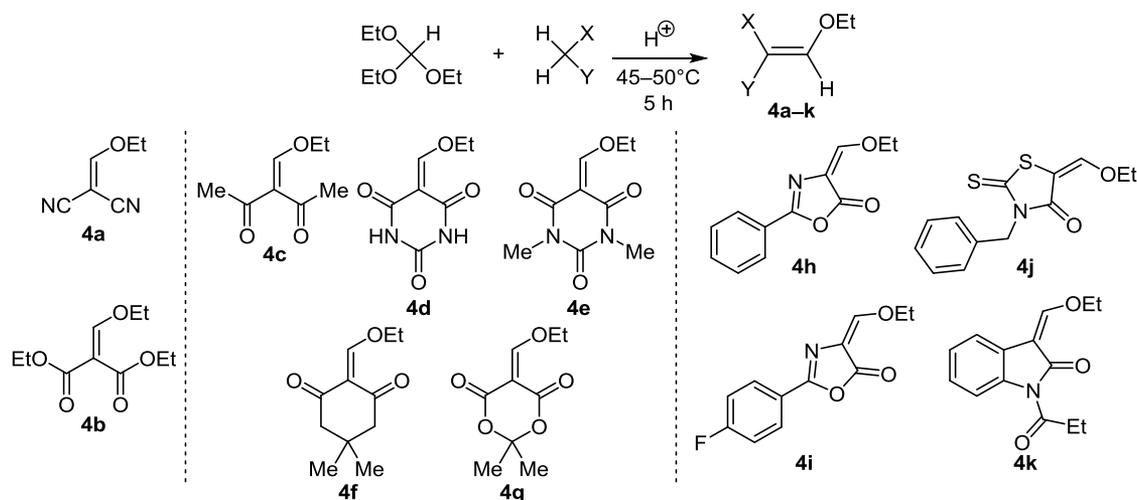
Ранее нами сообщалось о получении нового класса 13-винилберберинов, обладающих глубокой окраской. Во всех этих соединениях винильный фрагмент сопряжен с бербериновым остовом и стабилизирован в электронейтральной форме, благодаря чередованию одинарных и двойных связей, приводящему к значительному внутримолекулярному разделению зарядов.¹⁵

Целью настоящей работы является экспериментальное расширение ряда электронейтральных замещенных по положению С-13 берберинов и исследование механизмов их образования методами квантовой химии. В плане биологических свойств электронейтральных берберинов нами проведено исследование их активности против нескольких патогенов: *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* и *Staphylococcus aureus*.

Хорошо известно, что берберин является липофильным катионом и проявляет выраженные электрофильные свойства. Его взаимодействие с нуклеофильными соединениями различной природы приводит к изменению реакционной способности молекулы в целом, превращая берберин **1** в нуклеофил благодаря наличию енаминового фрагмента (схема 1). Это важнейший путь, открывающий возможность вводить различные электрофильные агенты в положение С-13 восстановленных форм **2** и **3**.

Разработанная нами методология введения винильных заместителей в берберины предполагает использование активированных винилэтиловых эфиров (этоксипропиленов) **4**. Этоксипропилены и енамины являются удобными строительными блоками для различных гетероциклов.^{16–18} При этом под этоксиэтиленами чаще всего понимают соединения, полученные из метиленактивных соединений при взаимодействии с триэтилортоформиатом. Интерес к ацетилацетону, барбитуровой кислоте и другим 1,3-дикетонам связан с повышенной кислотностью, обусловленной подвижностью протонов метиленового звена благодаря таутомерным равновесиям и образованию ароматических систем (пиримидина в случае барбитуровой кислоты). Производные этоксиэтилена (схема 2) условно можно разделить на несколько подклассов: малоновые (соединения **4a,b**), 1,3-дикетоны (соединения **4c–g**) и

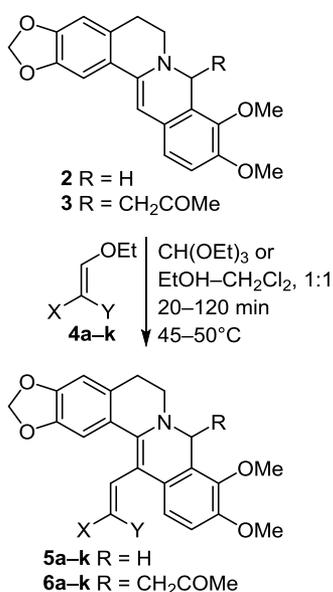
Схема 2



гетероциклические (соединения **4h–k**). Образование этоксиэтиленов **4a–k** — это каталитический процесс, протекающий под действием как минеральных кислот, так и кислот Льюиса (схема 2). Так, при взаимодействии триэтоксиформиата с СН-кислотами на первой стадии происходит протонирование ортоэфира. Далее протонированная форма ортоэфира взаимодействует с енольной формой СН-кислоты. После этого происходит каскад процессов, в которых отщепляются по стадиям две молекулы спирта и образуются производные этоксиэтилена **4a–k**.

Нами установлено, что ряд соединений, объединенных в класс производных этоксиэтилена **4a–k**, может вступать во взаимодействие с восстановленными формами берберина **2** и **3** (схема 3) с образованием электронейтральных производных.

Схема 3



Исходные этоксиэтилены **4** синтезируются из соответствующих метиленактивных соединений с помощью ортоэфира – триэтилортоформиата – и подходящего катализатора (сильных органических или минеральных кислот и кислот Льюиса). Восстановленные формы

берберина **2** и **3** вводились во взаимодействие с производными этоксиэтилена **4** в смеси CH₂Cl₂ и EtOH. Наиболее высокие выходы соединений **5** и **6** наблюдались в средах, в которых присутствовал спирт хотя бы в каталитическом остаточном количестве. Добавление CH₂Cl₂ в качестве растворителя позволило увеличить растворимость всех компонентов, сделав среду гомогенной, и повысить выход в некоторых случаях до 70%. На оптимизацию процесса также повлиял температурный режим, поскольку нагрев реакционной смеси выше 80°C приводил к осмолению и снижению выхода образующегося продукта.

Производное оксиндола **4k** ни при каких условиях не взаимодействовало с восстановленными формами берберина **2** и **3**. Дикетоны **4b,c** приводили к образованию крайне нестойких винилберберинов **5b,c** и **6b,c**, которые за несколько часов деградировали до исходного берберина **1**. Также в качестве исключительного случая стоит выделить взаимодействие дигидроберберина **2** с производным димедона **4f** в среде ортоэфира. Продукт **5f**, аналогичный ранее представленным, являлся минорным – его выход составил ~5%. В качестве основного был выделен продукт присоединения к экзоциклической двойной связи одной молекулы EtOH – соединение **5f'** (схема 4).

Интермедиат **5f** содержит активированную двойную связь, способную присоединять различные производные вида НХ, в том числе EtOH. Повышенная реакционная способность экзоциклической двойной связи димедонового фрагмента в продукте **5f** также объясняется легкостью таутомерных превращений кето-енольного типа в исходном димедоне **4f/4f'**. Димедон в свободном состоянии в большинстве растворителей находится в динамическом равновесии: например, в CHCl₃ он существует в виде смеси соединений **4f/4f'** в соотношении 7:3. В пользу поэтапного образования продукта присоединения EtOH к кратной связи **5f'** свидетельствует то, что при стоянии в спирте минорный продукт **5f** ярко-красного цвета полностью перешел в продукт присоединения **5f'** бледно-оранжевого цвета.

Нами были проведены DFT расчеты механизма образования 13-винилберберинов (схема 5) и изучено

Схема 4

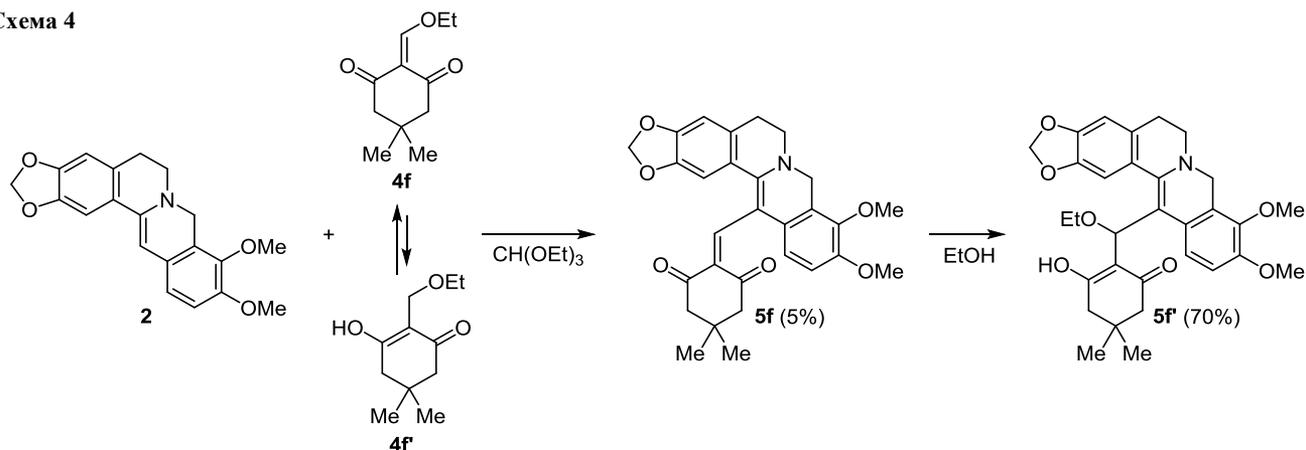
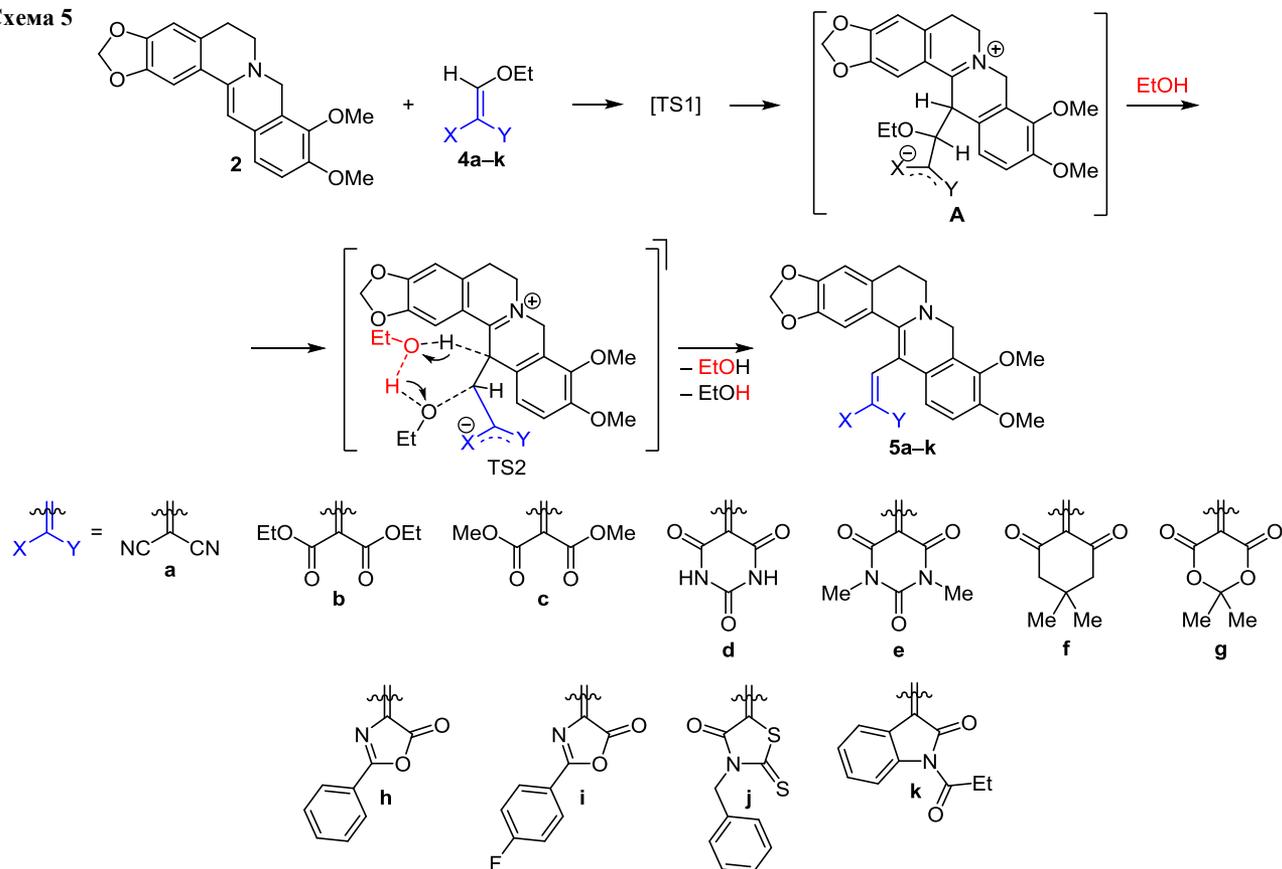


Схема 5



влияние среды на протекание реакций как на уровне специфической сольватации, так и в рамках модели поляризуемого континуума (polarizable continuum model, PCM).

При проведении реакций в различных средах (полярных и неполярных) было замечено, что лучшие выходы продуктов наблюдаются в протондонорных средах (спиртах) в присутствии минимальных количеств кислотного катализатора. Использовать сильно кислую среду нельзя, поскольку восстановленные формы берберина в таких условиях разрушаются. Поэтому кислотный катализатор брался в минимально возможном количестве. Расчеты DFT показали, что энергетические затраты в мономолекулярном отщеплении EtOH от интермедиата **A** в ряде случаев могут

Таблица 1. Активационные барьеры стадий формирования интермедиатов **A** (TS1) и отщепления молекулы EtOH (TS2) (ΔG^\ddagger , ккал/моль)*

Переходное состояние	a	b	d	e	f	g	h	i	j	k
TS1	27.5	37.8	30.3	32.7	35.2	33.3	34.1	34.3	33.6	36.6
TS2	25.2	19.9	36.5	35.5	34.0	33.2	28.0	28.7	25.8	29.8

* Значения свободных энергий активации Гиббса рассчитаны методом DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) в EtOH при температуре 78°C. За ноль отсчета принята суммарная энергия реагентов. Эффекты сольватации учитывались по схеме PCM.

превышать 50 ккал/моль. Однако процессы отщепления EtOH от интермедиатов **A** протекают с куда меньшими барьерами активации (до 36.5 ккал/моль) в присутствии спирта, который является не просто растворителем, но участвует в реакции на молекулярном уровне как бифункциональный катализатор. Энергетические барьеры для стадий формирования интермедиатов **A** и отщепления молекулы EtOH представлены в табл. 1. По данным эксперимента, на особую роль EtOH в формировании реакционного узла указывает также то, что при переходе от CH_2Cl_2 к смеси CH_2Cl_2 –EtOH, 1:1 выходы продуктов **5** и **6** увеличиваются.

По данным расчетов, двустадийный минимально-энергетический путь (МЭП) для всех процессов взаимодействия дигидроберберина **2** с этоксиэтиленами **4a–k** выглядит однотипно. На рис. 1 схематически представлен МЭП для взаимодействия дигидроберберина **2** с малондинитрилом **4a**, протекающего по схеме 5. Процесс в целом является экзотермическим и протекает с энергетическим выигрышем в 5.6 ккал/моль. Барьеры первой и второй стадий близки по энергии.

Полученные нами производные являются первыми примерами стабильных замещенных по положению C-13 дигидроберберининов. Подобную стабилизацию производных можно объяснить наличием сопряжения берберинового остова с электроноакцепторными группами винильных фрагментов, введенных в положение C-13 (схема 6). Вследствие значительного переноса

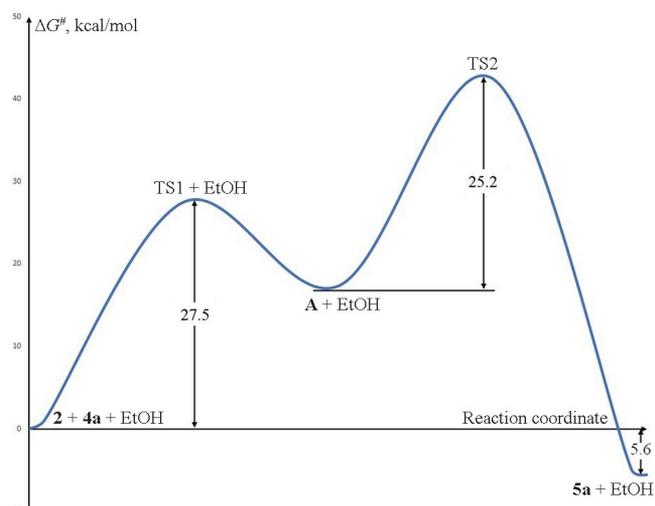
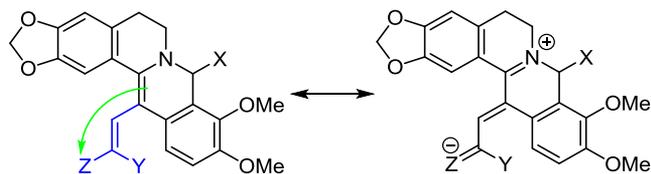


Рисунок 1. Схематический МЭП взаимодействия дигидроберберина **2** и малонодинитрила **4a** с участием молекулы EtOH. За ноль отсчета принята суммарная полная энергия реагентов.

Схема 6



электронной плотности с берберинового скелета на заместитель такие системы могут также рассматриваться как цвиттер-ионы.

Для оценки вклада биполярных структур нами были рассчитаны маллиkenовские заряды на атомах и перенос электронной плотности на заместитель в положении С-13. Разделение зарядов оценивалось по значению суммарного заряда на всех атомах в заместителе или (равному ему по модулю) суммарного заряда на всех атомах берберинового скелета (рис. 2). Расчеты показали, что в восстановленных производных, содержащих в положении С-13 винильный заместитель, перенос заряда с берберинового фрагмента составляет 0.31–0.42 \bar{e} , причем направление дипольного момента в целом совпадает с направлением связи С(13)–С_{exo} и совпадает с плоскостью берберинового остова. Различия во внутримолекулярном переносе заряда между 7,8-дигидро- и 8-ацетонил-производными достаточно малы и не превышают 0.05 \bar{e} .

Все синтезированные соединения были подвергнуты скринингу в качестве потенциальных антимикробных средств диско-диффузионным методом на культурах *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*. Зоны подавления роста культур *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* для всех синтезированных 13-винилберберинов оказались меньше, чем для исходного берберина. Наибольший интерес представляет изучение активности 13-винилберберинов по отношению к холерному вибриону. Значения зон подавления роста *Vibrio cholerae* для производных **5a**, **6d**, **5g**, **6g**,

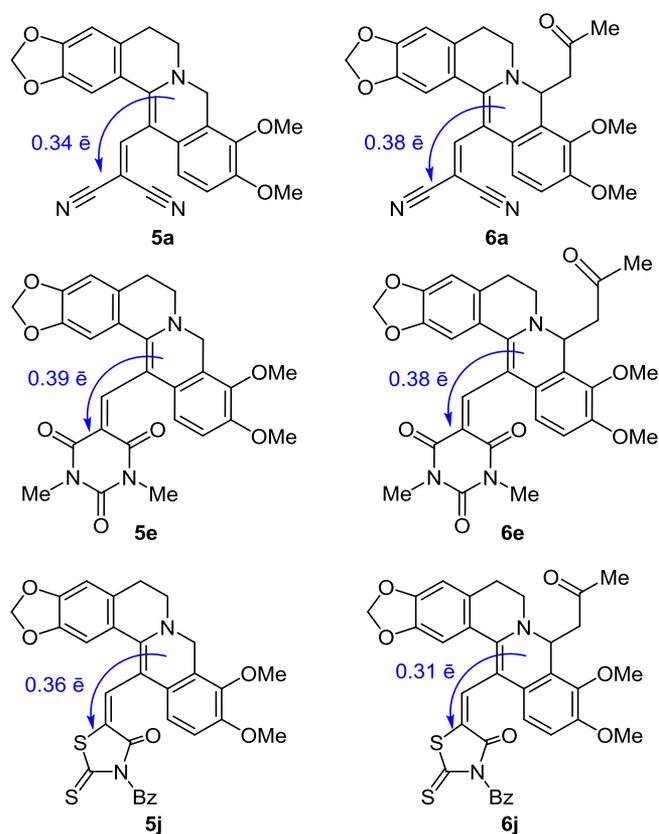


Рисунок 2. Перенос электронной плотности на заместитель в положении С-13 в соединениях **5a,e,j** и **6a,e,j**.

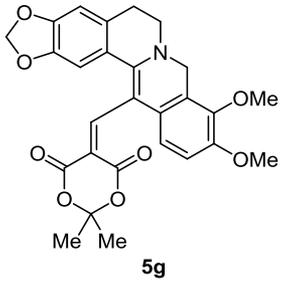
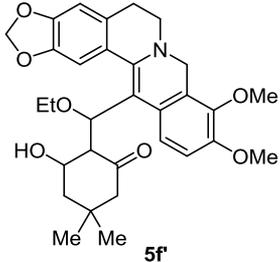
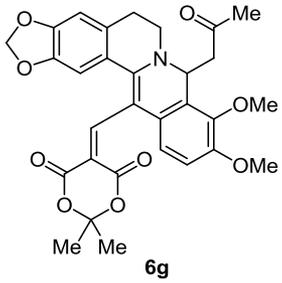
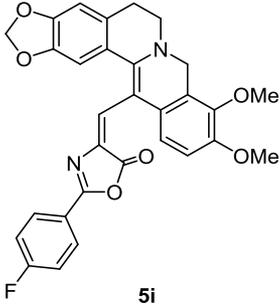
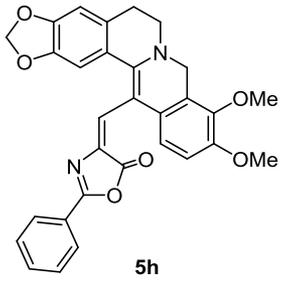
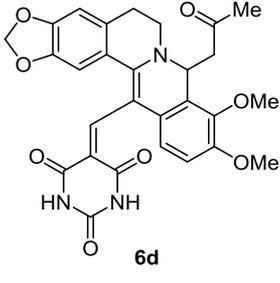
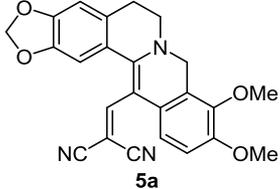
5h,f',i, превосходящих берберин по своей активности, представлены в табл. 2.

В ряде случаев исследованные производные оказались активными по отношению к этому высокопатогенному микроорганизму и формировали достаточно широкие зоны подавления. Интересно, что при этом отмечалось формирование отдельных колоний в зонах подавления. Последнее обстоятельство может указывать на деградацию производных в ходе 72-часового исследования и формирование новых колоний из спящих особей.

Отработанная для восстановленных берберинов методология взаимодействия производных винилового эфира со слабыми нейтральными С-нуклеофилами позволяет трансформировать в мягких условиях связи С–Н в связи С–С. Мягкие условия реакций получения производных виниловых эфиров обеспечивают взаимодействие триэтилортоформиата с СН-кислотами различной природы для получения широкого спектра как циклических, так и ациклических структур. Эта методика позволяет ввести в положение С-13 восстановленных берберинов заместители, сопряженные с π -системой алкалоида. Продемонстрировано формирование связи С–С между двумя sp^2 -гибридизованными атомами углерода с сохранением типа гибридизации для атомов углерода связи С(13)–С_{exo}.

Для берберинов предложен новый тип негидролизуемых линкеров, соединяющих алкалоид и фармакофорную группу через алкеновый фрагмент. Квантово-

Таблица 2. Диаметры зон подавления роста *Vibrio cholerae* для соединений **5a**, **6d**, **5g**, **6g**, **5h**, **f**, **i**, * мм

Соединение	Количество бактерий		Соединение	Количество бактерий
	500 ед.	250 ед.		250 ед.
	14	13**		16**
	10	1		18**
	6	10		13**
				16**

* Концентрация соединений 1 мг/мл в ДМСО.

** Внутри зоны подавления роста есть колонии.

химические DFT расчеты показали однотипность механизмов получения замещенных по положению С-13 восстановленных берберинов для всех экспериментально изученных нуклеофилов. При этом МЭП всех процессов становятся менее энергозатратными в присутствии спирта в качестве бифункционального катализатора.

Введение широкого ряда винилпроизводных в положение С-13 восстановленных форм берберина удалось осуществить благодаря значительному внутримолекулярному переносу электронной плотности с берберинового остова на заместитель. При этом, по данным расчетов, берберин может быть термодинамически устойчив не только в виде ионной пары

из органического катиона и неорганического аниона, но и как цвиттер-ионная структура со значительным внутримолекулярным разделением зарядов. Ряд полученных 13-винилберберинов продемонстрировал биологическую активность по отношению к высокопатогенному холерному вибриону, что может использоваться при создании лекарственных препаратов, в том числе комбинированного типа.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C (250 и 50 МГц соответственно), COSY, NOESY, ^1H - ^{13}C HMQC и ^1H - ^{13}C HMBC зарегистрированы на спектрометре Bruker DPX-250 при 25°C в ДМСО- d_6 или CDCl_3 , внутренний стандарт

ТМС. Масс-спектры записаны на спектрометре Finnigan MAT Incos 50 (ионизация ЭУ, 70 эВ). Температуры плавления определены в стеклянных капиллярах на приборе ПТП и не исправлены. Хроматография проведена на колонках с SiO₂, Al₂O₃ II-III степени активности по Брокману.

Дигидроберберин **2**¹⁹ и 8-ацетонилберберин **3**²⁰ синтезированы по ранее описанным методикам.

Синтез замещенных этоксиэтиленов 4а–к (общая методика). В круглодонной колбе на 10 мл растворяют 1 ммоль метиленактивного соединения в 5 мл триэтилортоформиата, добавляют 0.05–0.10 ммоль толуолсульфокислоты, колбу продувают аргоном, нагревают в течение 5 ч при температуре 45–50°C до растворения осадка и появления желтой или оранжевой окраски. После проведения синтеза проводят отгонку при пониженном давлении (20 торр), собирают фракцию, кипящую при температуре 120–160°C.

Синтез замещенных 13-винилберберинов 5 и 6 (общая методика). В раствор 1 ммоль активированного этилена **4а–к** в 5 мл ортоэфира (или смеси EtOH–CH₂Cl₂, 1:1) добавляют 1 ммоль восстановленного берберина **2** или **3**, продувают аргоном и нагревают в течение 20–120 мин при температуре 45–50°C до получения маслянистого раствора. Реакционную смесь разделяют методом колоночной хроматографии на силикагеле (2 × 20 см), элюент CH₂Cl₂–EtOH, 100:1. Собирают окрашенную фракцию с R_f 0.6–0.7. Продукты перекристаллизовывают из C₂Cl₄.

2-[[9,10-Диметокси-8-(2-оксопропил)-5,8,8а,12а-тетрагидро-6H-[1,3]диоксоло[4,5-g]изохинолино[3,2-a]изохинолин-13-ил]метилиден}малонитрил (6а). Выход 268 мг (57%), красные кристаллы, т. пл. 171–172°C (с разл.). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (J, Гц): 2.10 (3H, с, СОСН₃); 2.88–3.01 (2H, м, СН₂); 3.03–3.08 (1H, м, СН₂); 3.10–3.22 (1H, м, СН₂); 3.70–3.85 (1H, м, СН₂); 3.92 (6H, с, 2ОСН₃); 4.55–4.70 (1H, м, СН₂); 5.65 (1H, д, J = 10.7, J = 3.0, СН); 6.04 (1H, с, СН₂); 6.14 (1H, с, СН₂); 6.92 (1H, с, Н Ar); 7.01 (1H, д, J = 8.8, Н Ar); 7.27 (1H, с, Н Ar); 7.45 (1H, д, J = 8.7, Н Ar); 8.72 (1H, с, Н Ar). Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО-d₆), δ, м. д.: 27.9; 28.9; 44.0; 44.4; 51.8; 53.0; 56.1; 89.7; 102.1; 105.2; 108.8; 112.8; 114.7; 117.8; 120.2; 121.5; 122.3; 122.5; 129.8; 132.4; 133.8; 146.3; 146.7; 147.8; 148.9; 149.9; 194.6. Найдено, m/z: 470.1708 [M+H]⁺. C₂₇H₂₄N₃O₅. Вычислено, m/z: 470.1710.

5-[[9,10-Диметокси-8-(2-оксопропил)-5,8-дигидро-6H-[1,3]диоксоло[4,5-g]изохинолино[3,2-a]изохинолин-13-ил]метилиден}пиримидин-2,4,6(1H,3H,5H)-трион (6d). Выход 281 мг (53%), фиолетовые кристаллы, т. пл. 166–168°C (с разл.). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (J, Гц): 2.42 (3H, с, СОСН₃); 2.73 (1H, д, J = 18.2, СН₂); 2.97 (1H, д, J = 12.8, СН₂); 3.13–3.20 (1H, м, СН₂); 3.47–3.59 (1H, м, СН₂); 3.79–3.84 (1H, м, СН₂); 4.07 (3H, с, ОСН₃); 4.08 (3H, с, ОСН₃); 4.63–4.69 (1H, м, СН₂); 5.63–5.67 (1H, м, СН); 6.06 (2H, д, J = 8.7, СН₂); 6.70 (1H, с, Н Ar); 6.97 (1H, д, J = 8.0, Н Ar); 7.19 (1H, с, Н Ar); 7.28 (1H, с, NH); 7.49 (1H, д, J = 8.0, Н Ar); 7.71 (1H, с, NH); 7.93 (1H, с, Н Ar). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ, м. д.:

29.7; 29.9; 45.0; 50.5; 56.2; 57.3; 61.2; 65.9; 92.3; 102.2; 108.2; 108.4; 110.9; 111.0; 113.5; 120.6; 125.2; 129.1; 134.3; 141.1; 143.2; 146.9; 150.2; 150.6; 152.6; 162.2; 164.9; 207.0. Найдено, m/z: 530.1556 [M–H]⁺. C₂₈H₂₄N₃O₈. Вычислено, m/z: 530.1558.

5-[[9,10-Диметокси-8-(2-оксопропил)-5,8-дигидро-6H-[1,3]диоксоло[4,5-g]изохинолино[3,2-a]изохинолин-13-ил]метилиден}-1,3-диметилпиримидин-2,4,6(1H,3H,5H)-трион (6е). Выход 330 мг (59%), синие игольчатые кристаллы, т. пл. 165–166°C (с разл.). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (J, Гц): 1.63 (6H, с, 2СН₃); 2.14 (3H, с, СОСН₃); 2.33–2.40 (1H, м, СН₂); 2.66–2.71 (1H, м, СН₂); 3.32–3.40 (2H, м, СН₂); 3.61–3.69 (1H, м, СН₂); 3.89 (3H, с, ОСН₃); 3.90 (3H, с, ОСН₃); 4.44–4.50 (1H, м, СН₂); 5.55–5.60 (1H, м, СН); 5.96 (1H, с, СН₂); 6.01 (1H, с, СН₂); 6.66 (1H, с, Н Ar); 6.98 (1H, д, J = 8.6, Н Ar); 7.21 (1H, с, Н Ar); 7.51 (1H, д, J = 8.6, Н Ar); 8.15 (1H, с, Н Ar). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ, м. д.: 27.7; 27.9; 30.0; 44.3; 50.3; 56.2; 57.0; 61.1; 94.0; 102.0; 107.6; 109.5; 111.0; 113.5; 117.3; 121.0; 124.8; 129.6; 134.3; 142.9; 143.2; 146.6; 149.9; 152.1; 153.0; 169.0; 207.4. Найдено, m/z: 560.1869 [M+H]⁺. C₃₀H₃₀N₃O₈. Вычислено, m/z: 560.1871.

2-[[9,10-Диметокси-5,8-дигидро-6H-[1,3]диоксоло[4,5-g]изохинолино[3,2-a]изохинолин-13-ил(этокси)метил]-3-гидрокси-5,5-диметилциклогекс-2-ен-1-он (5f). Выход 277 мг (52%), красные игольчатые кристаллы, т. пл. 159–161°C (с разл.). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (J, Гц): 0.97 (3H, с, СН₃); 1.00 (3H, с, СН₃); 1.10 (3H, с, СН₃); 2.01 (1H, с, СН₂); 2.26 (2H, с, СН₂); 2.42–2.48 (2H, м, СН₂); 2.76–2.87 (1H, м, СН₂); 3.13–3.27 (3H, м, СН₂); 3.51–3.57 (2H, м, СН₂); 3.86 (6H, с, 2ОСН₃); 4.21–4.33 (2H, м, СН₂); 5.92 (2H, с, СН₂); 6.60 (1H, с, Н Ar); 6.74 (1H, с, Н Ar); 6.79 (1H, д, J = 8.4, Н Ar); 6.87 (1H, д, J = 8.4, Н Ar); 9.85 (1H, с, ОН). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ, м. д.: 22.0; 27.0; 29.4; 29.6; 32.2; 36.5; 40.7; 43.0; 50.4; 51.4; 54.0; 55.9; 59.7; 60.2; 100.8; 105.6; 108.4; 111.0; 113.0; 115.3; 123.9; 127.8; 128.7; 130.9; 146.2; 150.3; 165.7; 171.9; 197.2; 198.7. Найдено, m/z: 532.2329 [M–H]⁺. C₃₁H₃₄N₂O₇. Вычислено, m/z: 532.2330.

5-[[9,10-Диметокси-5,8-дигидро-6H-[1,3]диоксоло[4,5-g]изохинолино[3,2-a]изохинолин-13-ил)метилиден]-2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-дион (5g). Выход 344 мг (70%), фиолетовые игольчатые кристаллы, т. пл. 163–165°C (с разл.). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (J, Гц): 1.39–1.45 (6H, м, 2СН₃); 2.74–2.79 (1H, м, СН₂); 3.53–3.55 (1H, м, СН₂); 3.78–3.80 (2H, м, СН₂); 3.83 (6H, м, 2ОСН₃); 4.73–4.85 (2H, м, СН₂); 5.87–5.92 (2H, м, СН₂); 6.71 (1H, с, Н Ar); 6.94 (1H, д, J = 8.6, Н Ar); 7.17 (1H, с, Н Ar); 7.41 (1H, д, J = 8.6, Н Ar); 8.12 (1H, с, Н Ar). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ, м. д.: 27.5; 49.0; 50.8; 56.2; 61.1; 85.6; 101.2; 102.0; 108.6; 109.0; 110.7; 113.5; 117.1; 120.8; 121.5; 130.0; 133.6; 143.2; 144.2; 146.8; 149.9; 151.9; 169.5. Найдено, m/z: 490.1492 [M–H]⁺. C₂₇H₂₄N₂O₈. Вычислено, m/z: 490.1496.

5-[[9,10-Диметокси-8-(2-оксопропил)-5,8-дигидро-6H-[1,3]диоксоло[4,5-g]изохинолино[3,2-a]изохинолин-13-ил]метилиден}-2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-дион (6g). Выход 350 мг (64%), фиолетовые игольчатые кристаллы, т. пл. 160–163°C (с разл.). Спектр ЯМР ¹H

(CDCl₃), δ, м. д. (*J*, Гц): 1.43 (3H, с, CH₃); 1.58 (3H, с, CH₃); 2.21 (3H, с, COCH₃); 2.40–2.47 (1H, м, CH₂); 2.72–2.77 (1H, м, CH₂); 3.27–3.41 (1H, м, CH₂); 3.94 (3H, с, OCH₃); 3.95 (3H, с, OCH₃); 4.04–4.06 (2H, м, CH₂); 4.51–4.58 (1H, м, CH₂); 5.63–5.67 (1H, м, CH); 5.90 (1H, с, CH₂); 6.03 (1H, с, CH₂); 6.77 (1H, с, H Ar); 7.02 (1H, д, *J* = 8.6, H Ar); 7.34 (1H, с, H Ar); 7.52 (1H, д, *J* = 8.6, H Ar); 8.27 (1H, с, H Ar). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ, м. д.: 28.0; 30.1; 44.8; 50.2; 56.3; 57.1; 86.1; 101.3; 102.0; 108.8; 108.9; 111.1; 113.5; 117.2; 120.6; 123.9; 124.6; 129.5; 135.0; 143.2; 144.1; 146.7; 150.0; 152.0; 168.9; 207.4. Найдено, *m/z*: 570.1719 [M+Na]⁺. C₃₀H₂₉NNaO₉. Вычислено, *m/z*: 570.1759.

4-[(9,10-Диметокси-5,8-дигидро-6H-[1,3]диоксо-4,5-g]изохинолино[3,2-a]изохинолин-13-ил)метилиден]-2-фенилоксазол-5(4H)-он (5h). Выход 320 мг (63%), фиолетовые игольчатые кристаллы, т. пл. 170–172°C (с разл.). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (*J*, Гц): 2.82 (2H, с, CH₂); 3.83–3.84 (2H, м, CH₂); 3.86 (3H, с, OCH₃); 3.87 (3H, с, OCH₃); 4.69–4.72 (2H, м, CH₂); 5.96 (1H, с, CH₂); 6.02 (1H, с, CH₂); 6.46 (1H, д, *J* = 8.0, H Ar); 6.58 (1H, с, H Ar); 6.98–7.04 (2H, м, H Ar); 7.23 (1H, с, H Ar); 7.52 (1H, с, H Ar); 7.95 (2H, д, *J* = 8.0, H Ar); 8.10 (1H, с, H Ar); 8.23 (1H, д, *J* = 8.0, H Ar). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ, м. д.: 29.4; 41.4; 41.9; 55.9; 61.0; 61.6; 61.7; 65.9; 101.3; 103.1; 104.5; 108.0; 108.8; 117.7; 122.2; 127.1; 128.7; 131.8; 133.8; 147.0; 150.9; 167.5; 170.2; 173.9; 185.2. Найдено, *m/z*: 507.1547 [M-H]⁺. C₃₀H₂₃N₂O₆. Вычислено, *m/z*: 507.1551.

4-[(9,10-Диметокси-5,8-дигидро-6H-[1,3]диоксо-4,5-g]изохинолино[3,2-a]изохинолин-13-ил)метилиден]-2-(4-фторфенил)оксазол-5(4H)-он (5i). Выход 347 мг (66%), фиолетовые игольчатые кристаллы, т. пл. 159–160°C (с разл.). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (*J*, Гц): 1.26–1.35 (1H, с, CH₂); 2.63–2.87 (2H, м, CH₂); 3.06–3.27 (3H, м, CH₂); 3.53 (1H, д, *J* = 15.5, CH₂); 3.85 (6H, с, 2OCH₃); 4.24 (1H, д, *J* = 15.8, CH₂); 5.91 (1H, с, H Ar); 5.92 (1H, с, H Ar); 6.60 (1H, с, H Ar); 6.74 (1H, с, H Ar); 6.77–6.89 (2H, м, H Ar); 7.13–7.19 (2H, м, H Ar); 7.81–7.90 (1H, м, H Ar). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ, м. д.: 29.6; 36.5; 51.4; 54.0; 55.9; 59.7; 60.2; 100.8; 105.6; 108.4; 111.0; 115.0; 115.5 (2C); 115.9; 116.1; 116.4; 123.9; 127.7; 127.8; 128.7; 129.4; 129.6 (2C); 129.7; 129.8; 130.9; 131.7; 131.8; 131.9; 132.0; 145.1; 145.9; 146.2; 150.3. Найдено, *m/z*: 525.1451 [M-H]⁺. C₃₀H₂₂FN₂O₆. Вычислено, *m/z*: 525.1456.

3-Бензил-5-[(9,10-диметокси-5,8,8a,12a-тетрагидро-6H-[1,3]диоксо-4,5-g]изохинолино[3,2-a]изохинолин-13-ил)метилиден]-2-тиоксотиазолидин-4-он (5j). Выход 309 мг (54%), красные игольчатые кристаллы, т. пл. 156–157°C (с разл.). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (*J*, Гц): 2.08 (2H, с, CH₂); 3.02 (2H, с, CH₂); 3.07–3.16 (1H, м, CH₂); 3.97–4.04 (8H, м, 2OCH₃, CH₂); 6.01 (2H, с, CH₂); 6.07 (1H, д, *J* = 5.6, CH₂); 6.67–6.72 (1H, м, H Ar); 6.97–7.00 (1H, м, H Ar); 7.23–7.26 (3H, м, H Ar); 7.38 (1H, с, H Ar); 7.58–7.74 (2H, м, H Ar); 7.92–7.96 (1H, м, H Ar); 8.08 (1H, с, H Ar). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ, м. д.: 28.4; 47.3; 57.1; 62.3; 96.7; 105.5; 108.2; 108.4; 110.8; 120.2; 125.5; 125.9; 126.8; 127.7; 128.3; 129.2; 130.8; 132.2; 133.3; 133.7; 136.8; 147.3; 148.7; 149.7;

149.9; 150.0; 151.0; 165.1; 188.7; 194.9. Найдено, *m/z*: 571.1352 [M+H]⁺. C₃₁H₂₇N₂O₅S₂. Вычислено, *m/z*: 571.1356.

3-Бензил-5-[(9,10-диметокси-8-(2-оксопропил)-5,8-дигидро-6H-[1,3]диоксо-4,5-g]изохинолино[3,2-a]изохинолин-13-ил)метилиден]-2-тиоксотиазолидин-4-он (6j). Выход 319 мг (51%), красные игольчатые кристаллы, т. пл. 150–152°C (с разл.). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (*J*, Гц): 2.05 (3H, с, COCH₃); 2.63–2.72 (2H, м, CH₂); 2.79–2.92 (1H, м, CH₂); 3.05–3.36 (3H, м, CH₂); 3.41 (2H, с, CH₂); 3.89 (6H, с, 2OCH₃); 4.79–4.83 (1H, м, CH); 5.96 (2H, с, CH₂); 6.64 (1H, с, H Ar); 6.77 (1H, с, H Ar); 6.81–6.95 (2H, м, H Ar); 7.56–7.59 (5H, м, H Ph); 8.55 (1H, с, H Ar). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ, м. д.: 26.8; 40.9; 47.3; 55.7; 57.5; 62.4; 95.4; 102.6; 105.9; 108.9; 120.7; 120.9; 121.9; 124.0; 125.7; 127.3; 127.7; 128.1; 131.2; 133.5; 136.6; 138.0; 148.2; 150.3; 150.9; 165.0; 188.3. Найдено, *m/z*: 627.1460 [M+H]⁺. C₃₄H₃₁N₂O₆S₂. Вычислено, *m/z*: 627.1462.

Квантово-химические расчеты проведены в рамках теории функционала плотности (DFT) в базисе 6-31G++(d,p) с использованием функционала B3LYP, включающего трехпараметрический обменный функционал Беке^{21,22} и корреляционный функционал Ли-Янга-Парра.²³ Выбор базиса, широко используемого для изучения процессов электрофильной активации,^{24,25} продиктован сложностью как алкалоидов, так и механизмов реакций. Учет влияния растворителя осуществлен в рамках поляризационно-континуальной модели (PCM).^{26,27} В качестве растворителя выбран MeOH. Полная оптимизация геометрии структур, отвечающих стационарным точкам на МЭП реакций, проведена до значения градиента 10⁻⁷ хартри/бор по программному комплексу Gaussian 03²⁸ на кластере Silver Южного федерального университета. Природа стационарных точек установлена на основании расчета частот нормальных колебаний (матрицы Гессе).²⁹ МЭП реакций получен при помощи градиентного спуска из переходных состояний в прямом и обратном направлениях переходного вектора.³⁰

Биологическая активность синтезированных соединений исследована диско-диффузионным методом в агаре Мюллер–Хинтона при прямом определении антибактериальной активности соединения при заданной концентрации.³¹

Файл сопроводительных материалов, содержащий спектры ЯМР ¹H и ¹³C, а также масс-спектры высокого разрешения всех синтезированных соединений, доступен на сайте журнала <http://hgs.osi.lv>.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-33-90263.

Список литературы

1. Нечепуреко, И. В.; Салахутдинов, Н. Ф.; Толстикова, Г. А. *Химия в интересах устойчивого развития* 2010, 18(1), 1.
2. Amin, A. H.; Subbaiah, T. V.; Abbasi, K. M. *Can. J. Microbiol.* 1969, 15, 1067.
3. Hwang, B. Y.; Roberts, S. K.; Chadwick, L. R.; Wu, C. D.; Kinghorn, A. D. *Planta Med.* 2003, 69, 623.

4. Okunade, A. L.; Hufford, C. D.; Richardson, M. D.; Petterson, J. R.; Clark, A. M. *J. Pharm. Sci.* **1994**, 83, 404.
5. Basha, S. A.; Mishra, R. K.; Jha, R. N.; Pandey, V. B.; Singh, U. P. *Folia Microbiol. (Prague, Czech Repub.)* **2002**, 47, 161.
6. Nakamoto, K.; Sadamori, S.; Hamada, T. *J. Prosthet. Dent.* **1990**, 64, 691.
7. Yamamoto, K.; Takase, H.; Abe, K.; Saito, Y.; Suzuki, A. *Nippon Yakurigaku Zasshi* **1993**, 101, 169.
8. Rana, T.; Singh, S.; Kaur, N.; pathania, K.; Farooq, U. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **2014**, 26(2), 101.
9. Chen, L.; Bu, Q.; Xu, H.; Liu, Yu.; She, P.; Tan, R.; Wu, Yo. *Microbiol. Res.* **2016**, 186, 44.
10. Ball, A. R.; Casadei, G.; Samosorn, S.; Bremner, J. B.; Ausubel, F. M.; Moy, T. I.; Lewis, K. *ACS Chem. Biol.* **2006**, 1, 594.
11. Morita, Yu.; Nakashima, K.-i.; Nishino, K.; Kotani, K.; Tomida, J.; Inoue, M.; Kawamura, Yo. *Front. Microbiol.* **2016**, 7, 1223.
12. Chu, M.; Xiao, R.-x.; Yin, Yi-n.; Wang, X.; Chu, Zh.-y.; Zhang, M.-b.; Ding, R.; Wang, Yu.-d. *Clin. Microbiol.: Open Access* **2014**, 3, 150.
13. Liu, Ya.-X.; Xiao, Ch.-L.; Wang, Ya.-X.; Li, Ya.-H.; Yang, Ya.-H.; Li, Ya.-B.; Bi, Ch.-W.; Gao, L.-M.; Jiang, J.-D.; Song, D.-Q. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 52, 151.
14. Fan, T.-Yu.; Wang, Ya.-X.; Tang, Sh.; Hu, X.-X.; Zen, Q.-X.; Pang, J.; Yang, Yu.-Sh.; You, Xu.-F.; Song, D.-Q. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 157, 877.
15. Demekhin, O. D.; Zagrebaev, A. D.; Burov, O. N.; Kletskii, M. E.; Pavlovich, N. V.; Bereznyak, E. A.; Tsimbalistova, M. V.; Kurbatov, S. V. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2019**, 55, 1128.
16. Elassar, A.-Z. A.; El-Khair, A. A. *Tetrahedron* **2003**, 59, 8463.
17. Khademi, Z.; Nikoofar, K. *RSC Adv.* **2020**, 10, 30314.
18. Litvinov, V. P.; Yakunin, Ya. Yu.; Dyachenko, V. D. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2001**, 37, 37.
19. Lyamzaev, K. G.; Pustovidko, A. V.; Simonyan, R. A.; Rokitskaya, T. I.; Domnina, L.V.; Ivanova, O. Yu.; Severina, I. I.; Sumbatyan, N. V.; Korshunova, G. A.; Tashlitsky, V. N.; Roginsky, V. A.; Antonenko, Yu. N.; Skulachev, M. V.; Chernyak, B. V.; Skulachev, V. P. *Pharm. Res.* **2011**, 28, 2883.
20. Burov, O. N.; Kurbatov, S. V.; Morozov, P. G.; Kletskii, M. E.; Tatarov, A. V. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2015**, 51, 772.
21. Becke, A. D. *Phys. Rev. A* **1988**, 38, 3098.
22. Becke, A. D. *J. Chem. Phys. Rev.* **1993**, 98, 5648.
23. Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **1988**, 37, 785.
24. Burov, O. N.; Kletskii, M. E.; Gulevskaya, A. V. *Russ. Chem. Bull.* **2013**, 62, 1156.
25. Kletskii, M. E.; Burov, O. N.; Dalinger, I. L.; Shevelev, S. A. *Comput. Theor. Chem.* **2014**, 1033, 31.
26. Simkin, B. Y.; Sheikhet, I. I. *Quantum Chemical and Statistical Theory of Solutions: A Computational Approach*; Ellis Horwood: London, 1995.
27. Cancès, E.; Mennucci, B.; Tomasi, J. *J. Chem. Phys.* **1997**, 107, 3032.
28. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, J. A., Jr.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. *Gaussian 03, Revision E.01*; Gaussian, Inc.: Wallingford, 2004.
29. Schlegel, H. B. *Theor. Chim. Acta* **1984**, 66, 333.
30. Hirsh, M.; Quapp, W. *Chem. Phys. Lett.* **2004**, 395, 150.
31. Семина, Н. А.; Сидоренко, С. В.; Резван, С. П.; Грудинина, С. А.; Страчунский, Л. С.; Стецюк, О. У.; Козлов, Р. С.; Эдельштейн, М. В.; Ведьмина, Е. А.; Столярова, Л. Г.; Власова, И. В.; Серeda, З. С. *Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.* **2004**, 6(4), 306.