

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Дальневосточный федеральный университет»

На правах рукописи

Сидорова Мария Александровна

Использование химических превращений алкалоида фаскаплизин для
получения некоторых его производных, а также оценка их биологической
активности

1.4.3 – Органическая химия (химические науки)

Диссертация на соискание ученой
степени кандидата химических наук

Научный руководитель:
к.х.н, доцент Жидков Максим Евгеньевич

г. Владивосток – 2024

Оглавление

Введение.....	5
1 Обзор литературы.....	11
1.1 Пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндолные алкалоиды и родственные соединения: структурное разнообразие и область распространения	11
1.2 Биологическая активность фаскаплизиновых алкалоидов, механизм их действия и перспективы практического применения	14
1.3 Непланарные аналоги фаскаплизина	21
1.4 Химические свойства фаскаплизина	22
1.5 Методы синтеза фаскаплизина и родственных соединений	24
2 Обсуждение результатов.....	39
2.1 Изучение взаимодействия фаскаплизина и его производных с эфирами щавелевой кислоты.....	39
2.1.1 Оптимизация условий проведения реакции фаскаплизина с диметилowym и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты.....	43
2.1.1.1 Взаимодействие фаскаплизина с диметилowym и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты под действие MW.....	45
2.1.1.2 Изучение влияния восстановителей на исследуемую реакцию.....	48
2.1.2 Первый синтез 3-бромгомофаскаплизинов В и В-1.....	52
2.1.3 Синтез гомофаскаплизина С.....	57
2.1.4 Исследования в области синтеза серии производных гомофаскаплизина В.....	59
2.1.4.1 Синтез 6-метилфаскаплизина (91) и 6-фенилфаскаплизина (92):.....	59
2.1.4.2 Синтез 9-бромфаскаплизина (94) и 9-йодфаскаплизина (95):.....	63
2.1.4.3 Синтез 2-бромфаскаплизина (4а).....	68
2.1.4.4 Синтез производных гомофаскаплизина В:.....	71
2.2 Изучение реакции прямого йодирования фаскаплизина	72
2.2.1 Прямое йодирования фаскаплизина (1) в различных условиях.....	74
2.2.2 Получение 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина.....	76

2.2.3	Замещение атома йода в 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболине в реакции палладий катализируемого кросс-сочетания	80
2.2.4	Конверсия полученного продукта в производное фаскаплизина	85
2.2.5	Изучение биологической активности 9-фенилфаскаплизина (104).....	87
2.2.6	Оптимизация схемы получения 9-фенилфаскаплизина (104).....	89
2.2.7	Исследование острой и подострой токсичности 9-фенилфаскаплизина (104) на мышах по методу Кербера.....	91
2.2.8	Исследование противоопухолевой активности 9-фенилфаскаплизина in vivo	92
2.2.9	Расширение линейки производных фаскаплизина.....	93
2.2.9.1	Получение изомеров 9-фенилфаскаплизина: 10-фенилфаскаплизин (107) и 8-фенилфаскаплизина (108)	93
2.2.9.2	Взаимодействие 6-йод-1-(2-хлорбензоил)-β-карболина с серией арилборных кислот в реакции Сузуки	95
3	Экспериментальная часть	98
3.1	Материалы и методы	98
3.2	Взаимодействие фаскаплизина (1) с диметилксалатом и диэтилксалатом 98	
3.2.1	При нагревании с обратным холодильником.....	98
3.2.2	При нагревании в автоклаве.....	99
3.3	Оптимизация условий исследуемой реакции.....	100
3.3.1	Взаимодействие фаскаплизина с диметилксалатом и диэтилксалатом под действие микроволнового излучения	100
3.3.2	Изучение влияния восстановителей на протекание реакции фаскаплизина с диметилковым эфиром щавелевой кислоты	101
3.4	Взаимодействие 3-бромфаскаплизина с диметилксалатом и диэтилксалатом	103
3.4.1	В присутствии гидрохинона (ГХ)	103
3.4.2	Под действием микроволнового излучения	104
3.4.3	При нагревании в автоклаве.....	105
3.5	Получение гомофаскаплизина С	106
3.6	Получение 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина	106

3.7	Взаимодействие триптамина с 2-бромацетофеноном в ДМСО при нагревании.	107
3.8	Взаимодействие триптамина с 2-бромацетофеноном в ДМСО под действием микроволнового излучения	109
3.9	Реакция йодирования 1-(2'-бромбензоил)- β -карболина	110
3.10	Циклизация полученного продукта в замещенный фаскаплизин.....	111
3.11	Йодирование фаскаплизина под действием микроволнового излучения.....	111
3.12	Йодирование фаскаплизина при кипячении в ДМСО	113
3.13	Реакция Сузуки между 1-(2'-бромбензоил)-6-йод- β -карболином и фенилборной кислотой	114
3.14	Получение 9-фенилфаскаплизина	115
3.15	Взаимодействие 1-(2'-хлорбензоил)-6-йод-β-карболина	115
	Выводы	117
	Список публикаций	118
	Список литературы	120
	Приложение А.....	132
	Приложение Б	133
	Приложение В.....	134
	Приложение Г	135

Введение

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

На сегодняшний день к одним из основных источников смертности в России и мире относятся онкологические заболевания. Всего известно около 200 разновидностей раковых заболеваний. Наряду с ними все большую озабоченность вызывают инфекционные заболевания, вызываемые болезнетворными бактериями, устойчивыми к современным антибиотикам. Основные трудности при использовании химиотерапевтических препаратов заключаются в том, что наряду с лечебным эффектом наблюдаются интоксикация организма, аллергические реакции и возникновение резистентности, ввиду высокой адаптационной способности микроорганизмов и опухолей. Поэтому поиск новых соединений, обладающих противобактериальной и противоопухолевой активностью, является крайне важной задачей.

В последнее время природные соединения, выделенные из организмов Мирового океана, все чаще рассматриваются в качестве перспективных соединений для создания новых лекарственных препаратов. Среди широкого спектра вторичных метаболитов морского происхождения, известных на сегодняшний день, особое место занимает группа фаскаплизиновых алкалоидов, в основе которых лежит пентациклическая система пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндола. Наиболее изученным представителем этой серии природных соединений является красный пигмент фаскаплизин (**1**), впервые выделенный из губки *Fascaplysinopsis* sp. в 1988 году. Это соединение обладает широким спектром биологической активности. Механизм его действия включает избирательное ингибирование фермента CDK-4, индукцию Р-гликопротеина совместно с ингибированием ацетилхолинэстеразы, также он является агонистом опиатных μ -рецепторов, по действию схожим с эндорфинами. Эти факты демонстрируют огромный

потенциал фаскаплизина и родственных соединений для терапевтических исследований.

Тщательное изучение фаскаплизина стало возможным благодаря его синтетической доступности. Однако, как показали исследования, сам фаскаплизин обладает высокой токсичностью, что ограничивает его применение в качестве лекарственного средства. Таким образом, актуальной задачей является разработка путей синтеза производных фаскаплизина, обладающих сходной или большей активностью, но меньшей токсичностью. В тоже время другие представители алкалоидов, родственных фаскаплизину, были изучены значительно меньше. В частности, синтезы гомофаскаплизинов В и С были описаны в литературе, но большинство из них включает большое количество стадий или требует труднодоступных исходных реагентов.

Степень разработанности темы

Красный пигмент морских губок и асцидий фаскаплизин известен уже давно. Для него в литературе существует большое количество различных способов синтеза. Это позволило широко изучить биологическую активность фаскаплизина, включая механизмы его действия. Как известно, достаточно высокая токсичность фаскаплизина ограничивает сферу его применения, что определяет потребность создания на его основе соединений, обладающих лучшими показателями терапевтического индекса. Что касается производных фаскаплизина, то некоторые из них не только не уступают в биологическом действии, но и превосходят нативный алкалоид. В случае родственных соединений, таких как гомофаскаплизины В и С в литературных данных представлено лишь несколько синтезов, включающие труднодоступные исходные соединения и достаточно большое число стадий. Всё это указывает на перспективность поиска оптимальных методов синтеза родственных фаскаплизину соединений, обладающих улучшенными свойствами (характеристиками).

Цель и задачи работы

Целью работы является применение химических свойств фаскаплизина для получения новых биологически активных веществ на его основе - перспективных лекарственных кандидатов.

Для достижения поставленной цели предстояло решить следующие задачи:

1. Разработать метод конверсии фаскаплизина в гомофаскаплизины В и С на основе реакции восстановительного ацилирования.
2. Исследовать возможность получения серии производных алкалоидов гомофаскаплизин В и гомофаскаплизин С, содержащих различные заместители в базовой структуре, в рамках разработанного метода.
3. Расширить серию известных производных фаскаплизина, содержащих заместители в положении 9 – перспективных противобактериальных агентов – путем получения 9-иодфаскаплизина и его арилзамещенных аналогов.
4. Изучить противоопухолевую и антибактериальную биологическую активность полученных производных фаскаплизиновых алкалоидов в условиях *in vitro*.
5. Для наиболее перспективных соединений, отобранных на предварительном этапе, провести испытания целевой активности в условиях *in vivo*, а также определить их токсикологические характеристики.

Научная новизна

В рамках работы изучена необычная реакция восстановительного ацилирования, позволившая разработать эффективные методы синтеза двух классов природных алкалоидов: гомофаскаплизинов В и С. Впервые синтезированы алкалоиды 3-бромгомофаскаплизины В и В-1. Для производного фаскаплизина, содержащего фенильный заместитель в положении 9 базовой молекулы, показано мощное антибактериальное

действие в отношении бактерий, устойчивых к современным антибактериальным препаратам.

Структура и объем диссертации

Содержание работы состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка публикаций, списка литературы и 4-х приложений. Диссертация изложена на 135 страницах, содержит 82 рисунка, 10 таблиц и 84 литературных источника.

Практическая и теоретическая ценность работы

Разработанные простые подходы к синтезу исходя из алкалоида фаскаплизин двух групп родственных природных соединений обеспечили возможность проведения испытаний их биологического действия, а также установления зависимости между их строением и биоактивностью. Кроме того, в ходе работы было выявлено высокая эффективность 12,13-дигидро-9-фенил-13-оксопиридо[1,2-а:3,4-б']дииндол-5-иум хлорида в отношении резистентных болезнетворных бактерий, что открывает перспективу создания на его основе новых противобактериальных лекарственных препаратов и в полной мере соответствует Направлению 3 Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации (*Указ Президента Российской Федерации от 01.12.2016 № 642*).

Методология и методы исследования

При выполнении данных исследований использованы различные методы органического синтеза. Для выделения и очистки полученных соединений применялись классические методы экстракции, тонкослойной и колоночной хроматографии. Идентификацию строения синтезированных веществ проводили при помощи методов спектроскопии ЯМР, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения, ВЭЖХ-МС.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработан метод одностадийной конверсии фаскаплизина в гомофаскаплизины В и В-1, а также 3-бромфаскаплизина в 3-бромгомофаскаплизины В и В-1.

2. Показана возможность одностадийной конверсии гомофаскаплизина В в гомофаскаплизин С.

3. Цитотоксическое действие гомофаскаплизина С в отношении опухолевых клеток рака простаты человека DU145, LNCaP как минимум в шесть раз превосходит аналогичный показатель для неопухолевых клеток PNT2 и HEK293.

4. Разработана синтетическая схема, позволяющая внедрение фенильного заместителя в положение 9 фаскаплизина.

5. Для производного фаскаплизина, содержащего фенильный заместитель в положении 9, в условиях *in vitro* показана высокая цитотоксическая активность в отношении болезнетворных бактерий, в том числе резистентных.

6. Для 9-фенилзамещенного фаскаплизина в условиях *in vivo* выявлена способность в дозе 5 мг/кг тормозить рост опухоли на солидной модели аденокарциномы Эрлиха на 30,9% по сравнению с контролем. Значение параметра ЛД₅₀ для данного соединения составило 25 мг/кг, что позволило его отнести к умеренно токсичным веществам.

Личный вклад автора

Цели и задачи работы были определены совместно с научным руководителем. Личное участие автор принимал в подборе материала, проведения экспериментальной работы, включая выделение, очистку и интерпретацию полученных результатов.

Апробация работы и публикации

Материалы диссертации опубликованы в семи работах: в трех статьях в журналах, рекомендованных ВАК РФ и входящих в базы данных Scopus и

Web of Science, а также в четырех тезисах докладов на российских и международных конференциях.

Основные результаты диссертационной работы были представлены на: региональной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных по естественным наукам (Владивосток, 2016), Международной научной конференции «Актуальные вопросы развития образования и науки в АТР» (Владивосток, 2018), VIII Международном симпозиуме "Химия и химическое образование" (Владивосток, 2021 г.), 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» (Волгоград, 2022).

1 Обзор литературы

1.1 Пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндольные алкалоиды и родственные соединения: структурное разнообразие и область распространения

Уже не одно десятилетие усилия химиков и фармакологов сосредоточены на поиске среди вторичных метаболитов, выделенных из различных организмов, физиологически активных соединений – основы для создания новых лекарственных препаратов. В этой связи особый интерес представляют алкалоиды, отличающиеся огромным разнообразием структур и проявляющие значительную физиологическую активность. В частности, в последние годы пристальное внимание уделяется изучению одной из групп природных соединений из морских беспозвоночных, называемых фаскаплизиновыми алкалоидами.

Первым представителем данной серии веществ был красный пигмент фаскаплизин (1), впервые выделенный в 1988 году из губки *Fascaplysinopsis* sp. [1] и содержащий в качестве структурной основы пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндольную гетероциклическую систему (2) (рисунок 1), не встречавшуюся до этого среди вторичных метаболитов. Впоследствии этот алкалоид был неоднократно обнаружен в других беспозвоночных, наряду с неизвестными ранее соединениями, близкими ему по строению.

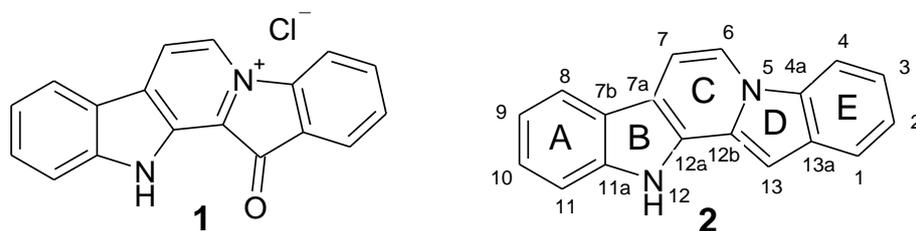
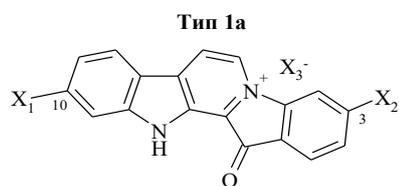


Рисунок 1 – Фаскаплизин (1) и пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндол (2)

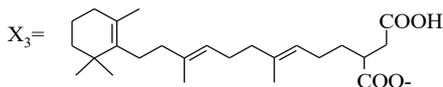
Для ликвидации существующих в литературе противоречий в классификации фаскаплизиновых алкалоидов Сегравесом и соавт. [2] был предложен такой подход для их систематизации, который охватывает всё

разнообразие данной группы природных соединений, представленное на рисунке 2. В его рамках они выделяют три основных типа структур.

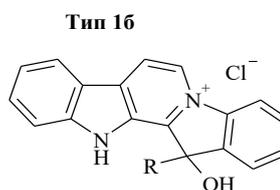
Тип 1



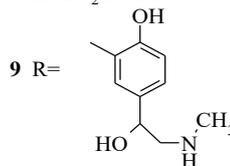
- 1** $X_1 = H, X_2 = H, X_3 = Cl^-$
3 $X_1 = H, X_2 = H,$



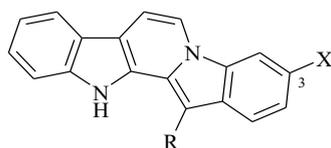
- 4** $X_1 = H, X_2 = Br, X_3 = Cl^-$
5 $X_1 = Br, X_2 = H, X_3 = Cl^-$
6 $X_1 = X_2 = Br, X_3 = Cl^-$



- 7** $R = CH_2-CO-CH_3$
8 $R = CH_2COOH$

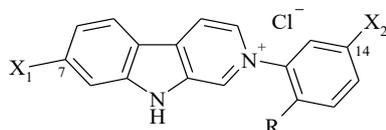


Тип 1в



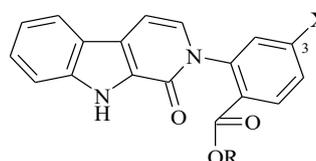
- 10** $R = C(O)C(O)OCH_3$
11 $R = C(O)C(O)OCH_2CH_3, X = H$
12 $R = C(O)C(O)OCH_3, X = Br$
13 $R = C(O)C(O)OCH_2CH_3, X = Br$
14 $R = C(O)H, X = H$
15 $R = C(O)H, X = Br$

Тип 2



- 16** $R = C(O)OCH_3, X_1 = X_2 = H$
17 $R = C(O)OCH_3, X_1 = H, X_2 = Br$
18 $R = C(O)OCH_3, X_1 = X_2 = Br$
19 $R = C(O)OH, X_1 = X_2 = H$
20 $R = C(O)OH, X_1 = H, X_2 = Br$
21 $R = OH, X_1 = X_2 = H$
22 $R = OH, X_1 = H, X_2 = Br$

Тип 3



- 23** $R = CH_3, X = H$
24 $R = CH_3, X = Br$
25 $R = H, X = Br$

Рисунок 2 – Классификация фаскаплизиновых алкалоидов

Тип 1 объединяет соединения, в основе которых лежит система пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндола. Он включает в себя 14 представителей и, исходя из характера заместителей, разделён на три подтипа. Помимо фаскаплизина к подтипу 1а относятся фаскаплизин А (3), 3-бромфаскаплизин (4), 10-бромфаскаплизин (5) и 3,10-дибромфаскаплизин (6).

Гомофаскаплизин А (7), гомофаскаплисат А (8) и тхорестандрамин (9) составляют подтип 1б. Подтип 1в представлен гомофаскаплизином В (10), гомофаскаплизином В-1 (11), 3-бромгомофаскаплизином В (12), 3-бромгомофаскаплизином В-1 (13), гомофаскаплизином С (14) и 3-бромгомофаскаплизином С (15).

Два других структурных типа содержат β -карболины, арилированные по пиридиновому атому азота, и отличаются между собой по степени окисленности пиридинового цикла. Тип 2 объединяет семь алкалоидов: ретикулатин (16), 14-бромретикулатин (17), 7,14-дибромретикулатин (18), ретикулатат (19), 14-бромретикулатат (20), ретикулатол (21) и 14-бромретикулатол (22), тогда как тип 3 представлен всего тремя соединениями: секофаскаплизином (23), 3-бромсекофаскаплизином А (24) и 3-бромсекофаскаплизином В (25).

В основе данного подхода к классификации лежит предположение авторов работы [2] о едином пути биосинтеза соединений 1, 3-25 исходя из бис-триптофана и, соответственно, его бромзамещенных производных. Эту гипотезу подтверждает недавнее открытие специфического гена, обеспечивающего биосинтез бис-триптофана [3, 4].

Среди организмов, продуцирующих рассматриваемые соединения, чаще всего встречаются морские губки – представители рода Thorectidae, обитающие в бассейнах Тихого и Индийского океанов: *Fascaplysinopsis reticulata*, собранные у побережья Фиджи и Индонезии [2, 5, 6, 7], *Fascaplysinopsis* sp. с Фиджи и Палау [1, 8], *Hyrtios* cf. *erecta* с Фиджи [9], *Thorectandra* sp. с Палау [10] и *Smenospongia* sp. с островов Кука [11, 12]. Фаскаплизины, относящиеся к типу 1а были также выделены из асцидий *Didemnum* sp., встречающиеся в разных областях Мирового океана, включая Фиджи, Соломоновы острова, острова Микронезии и Полинезии [2, 7, 13].

1.2 Биологическая активность фаскаплизиновых алкалоидов, механизм их действия и перспективы практического применения

Говоря о физиологической активности данной группы природных соединений в целом, необходимо констатировать, что на сегодняшний день из-за недоступности большинства представителей этого семейства алкалоидов для исследований их биологические свойства мало изучены. Последнее не относится к фаскаплизину (**1**), получаемому синтетически. В настоящее время доказано, что фаскаплизин обладает противогрибковым, противомаларийным [7, 14], антимикробным [1] и анальгетическим [15] действиями; цитотоксической [1], противовирусной (против HIV-1-RT) [16], противогельминтной [17], противоопухолевой [11, 12] активностями; способностью ингибировать тирозиновую киназу p56, ацетилхолинэстеразу [7, 14], а также активировать Р-гликопротеин, что должно способствовать удалению избыточного β -амилоида из головного мозга при болезни Альцгеймера [18]. Наличие у фаскаплизина столь широкого спектра биологической активности стимулировало изучение молекулярных механизмов, лежащих в её основе. На сегодняшний день достоверно установлено несколько основных направлений его действия.

По данным литературы, до сих пор основной упор в исследованиях фаскаплизина делается на изучение его противоопухолевой активности. Она достоверно установлена для широкого спектра культур опухолевых клеток в условиях *in vitro*, включая опухоли нервной системы (SF-295, SNB-19, U251) [2], молочной железы (HS 578T, BT-549, H125 [2], MDAMB-321 [19]), почек (HEK-293 [19], RXF-393, CAKI-1, SN12C, UO-31 [2]), яичников (A2780, OVCAR-3 [20], IGROV1, OVCAR-4, OVCAR-8 [2]), меланому (MALME-3M, M14, SK-MEL-5, UACC-62 [2]), лёгкого (HOP-62, NCI-H23, NCI-H322M, NCI-H522 [2]), толстого кишечника (COLO-205, HCC-2998, HCT-116 [2]), лейкоз (L-1210 [1], HL-60 [21]), эндотелия (HUVES) [19], глиому (C6) [22,

23]. При этом существует два хорошо изученных «классических» механизма, которые обуславливают противоопухолевое действие фаскаплизина.

В работе [24] с помощью методов калориметрического титрования, абсорбционной спектроскопии и кругового дихроизма была изучена ассоциация фаскаплизина с двухцепочечной ДНК из тимуса телёнка. В результате проведённых исследований было показано, что соединение **1** является мощным интеркалятором¹ ДНК.

Другим важнейшим свойством фаскаплизина является его способность избирательно ингибировать фермент циклинзависимую киназу 4, что приводит к прекращению пролиферации активно делящихся клеток [25]. Циклинзависимые киназы (CDK, ЦЗК) [26] являются важнейшими регуляторами клеточного цикла (рисунок 3, а).

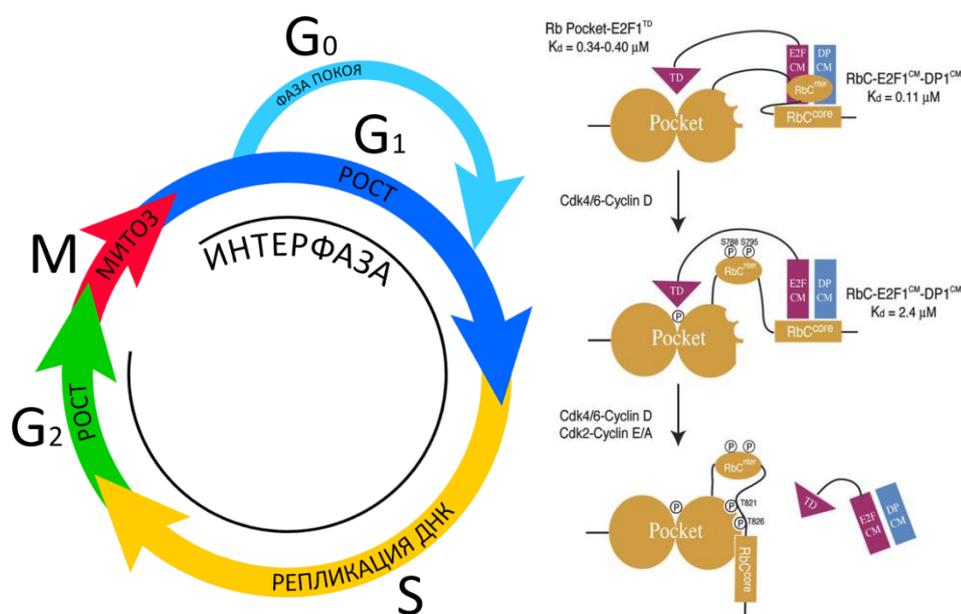


Рисунок 3 – а) Общая схема клеточного цикла, б) механизм действия CDK-4

В частности, фермент CDK-4 обеспечивает прохождение между фазами G₀ и G₁. Для реализации этого перехода (рисунок 3, б) необходимо наличие

¹Интеркаляция – вклинивание соединений между парами оснований ДНК, препятствующее расплетению её цепей и нарушающее процессы транскрипции и репликации.

особых факторов транскрипции, относимых к группе E2F. Их непрерывному синтезу препятствует белок-репрессор ретинобластома (pRb). Циклинзависимая киназа 4 в комплексе с циклином D1 селективно фосфорилирует два аминокислотных остатка (Ser 780 и Ser 795) на С-конце этого белка, что приводит к его дезактивации и обеспечивает синтез факторов, необходимых для перехода к следующей стадии клеточного цикла. В здоровых клетках организма человека предусмотрена система регуляции активности CDK-4 естественными ингибиторами этого фермента, такими как p16. Для большинства видов опухолевых клеток характерно нарушение работы этого механизма, что обеспечивает их бесконтрольное деление. Следовательно, использование низкомолекулярных ингибиторов CDK-4 должно останавливать прогрессирующее развитие опухоли.

Тем не менее, названные механизмы не позволяют объяснить весь спектр противоопухолевого действия фаскаплизина, а это значит, у него есть другие мишени. Это подтверждается тем, что фаскаплизин способен при низких концентрациях индуцировать апоптоз² опухолевых клеток за счет активации не «ядерного», а митохондриального и также рецепторного путей. В другой работе [21] на примере линии лейкозных клеток HL-60 впервые было показано, что наряду с активацией апоптоза, фаскаплизин индуцирует в обработанных им клетках аутофагию³ за счет повышения экспрессии соответствующих медиаторов, в первую очередь ATG7. Эти данные хорошо дополняют результаты работы [27]. Ее авторы показали, что фаскаплизин вызывает эриптоз, т.е. гибель эритроцитов, с усадкой клеток и

²Апоптоз – процесс программируемой клеточной смерти, в результате которого клетка фрагментируется на отдельные апоптотические тельца, ограниченные плазматической мембраной.

³Аутофагия (от [др.-греч. αὐτόσαυτο-](#) — сам и [φαγείν](#) — «есть») — это процесс, при котором внутренние компоненты [клетки](#) доставляются внутрь её [лизосом](#) (у млекопитающих) или [вакуолях](#) (клетки [дрожжей](#)) и подвергаются в них деградации.

скремблированием клеточной мембраны, что частично связано с поступлением Ca^{2+} , окислительным стрессом и продукцией церамида.

Кроме того, при подавлении роста модельной опухоли в условиях *in vivo* немалое значение приобретает способность фаскаплизина подавлять ангиогенез⁴ за счет нарушения процессов агрегации клеток [28], в частности, путем подавления экспрессии и секреции т.н. васкулярного эндотелиального фактора роста (VEFG) [29]. Также данный механизм бы продемонстрирован в работах [19], [20] и [30]. Ангиогенез является одним из распространенных проявлений всех видов рака, это основное событие в развитии опухолевого роста и злокачественности [31, 32]. Переход от неактивной стадии рака, в основном, зависит от патологической формы ангиогенеза, который обеспечивает для опухоли поступление кислорода и питательных веществ.

Благодаря открытию способности данного алкалоида ингибировать сигнальный каскад PI3K / Akt / mTOR, наконец, прояснилась общая картина третьего направления действия фаскаплизина, объединяющего под собой такие разрозненные, на первый взгляд, эффекты, как апоптоз по митохондриальному пути, аутофагию и подавление ангиогенеза [21] (рисунок 4). Каскад PI3K / АКТ / mTOR регулирует несколько клеточных функций, которые также являются критическими для опухолеобразования, таких как пролиферация клеток, клеточный метаболизм, ангиогенез, прогрессирование клеточного цикла, апоптоз и аутофагия. В работе [33] показано, что фаскаплизин увеличивает фосфорилирование протеинкиназы В (PKB), также известной как АКТ, и аденозинмонофосфат-активированной протеинкиназы (АМРК). Кроме того, было показано, что фармакологическое подавление АКТ с использованием селективных ингибиторов данного фермента усиливает эффект фаскаплизина на различные типы раковых клетках. В других работах [30, 33] было показано, что фаскаплизин эффективно ингибирует рецептор 2 фактора роста эндотелия сосудов

⁴Ангиогенез — процесс образования новых кровеносных сосудов в органе или ткани.

(VEGFR2) и тропомиозин-связывающую киназу А (TRKA) посредством DFG неконкурентного ингибирования.

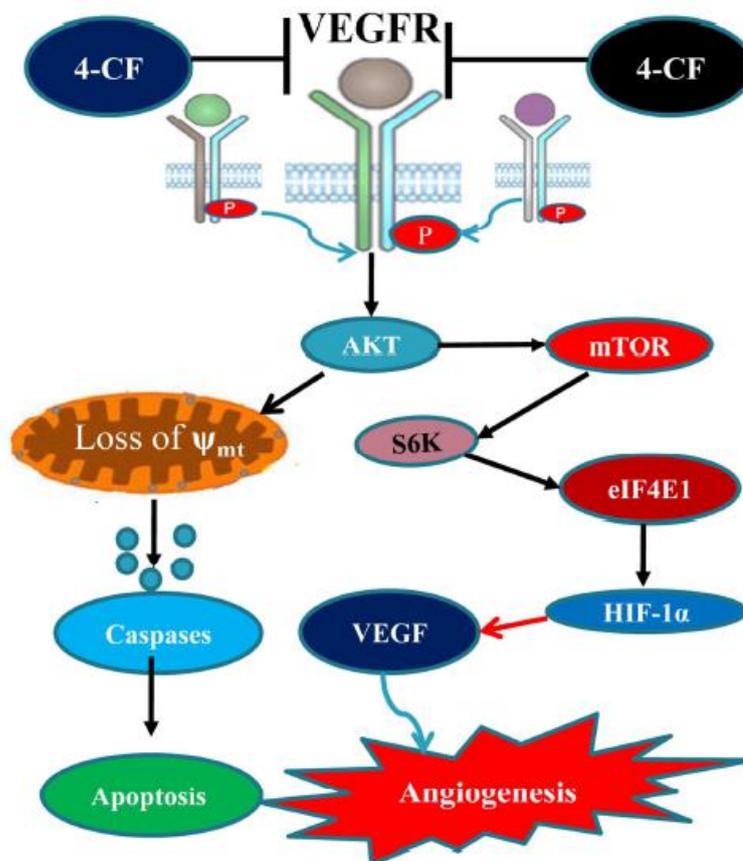


Рисунок 4 – Схема ингибирования сигнального каскада PI3K / Akt / mTOR

Абсолютно другой аспект действия фаскаплизина был открыт группой американских исследователей [15]. Они показали, что фаскаплизин является селективным агонистом μ -опиоидных рецепторов, сигнальный профиль которого напоминает эндорфины.

Опиоидные рецепторы (ОР) – рецепторы нервной системы, относящиеся к семейству GPCR (рецепторов, сопряжённых с G-белком) и ответственные за регуляцию болевых ощущений. Эндогенными лигандами ОР являются эндорфины. Различают четыре основных типа ОР: μ - (мю), δ - (дельта), κ - (каппа) и ноцицептиновые (ORL1) рецепторы, в свою очередь подразделяющиеся на подтипы. μ -Опиоидный рецептор (морфиновый опиоидный рецептор, MOR), широко распространенный в головном мозге и

ЖКТ, представлен тремя подтипами рецепторов, среди которых $\mu 1$ ответственен за анальгезию. Обратной стороной обширного сигнального пути активации MOR с участием G-белка, посредством которого регулируется множество процессов ЦНС (например, система поощрения) является возникновение серьезных побочных эффектов, ограничивающих применение опиоидных анальгетиков: зависимость, абстиненция, толерантность, угнетение дыхания и ряд других [34].

Одной из успешных стратегий создания анальгетиков с меньшим числом побочных эффектов является разработка «сбалансированных» агонистов MOR, при активации которыми реализуются оба сигнальных пути, связанных с данными рецепторами (с G-белком и с β -аррестином) [35]. Именно такой механизм активации имеет место в случае эндогенных лигандов, эндорфинов, в то время как морфин задействует путь только с G-белком без участия β -аррестина. Полученные результаты свидетельствуют о том, что фаскаплизин (**1**) является перспективным соединением для разработки анальгетиков, не вызывающих зависимости и толерантности.

Как уже отмечалось выше, о биологической активности других представителей группы фаскаплизиновых алкалоидов известно намного меньше. Тем не менее, среди них есть соединения, которые по проявляемой биологической активности ни только не уступают фаскаплизину, но и даже превосходят его по ряду свойств. В частности, Национальным Институтом Рака (NCI) в США было проведено сравнительное изучение цитотоксического действия фаскаплизина (**1**), фаскаплизина А (**3**) и 3-бромфаскаплизина (**4**) на семь линий разных опухолевых клеток [2]. По его результатам, представленным в таблице (приложение А), для соединения **4** показана в несколько раз большая активность по сравнению с фаскаплизином. Тогда же была продемонстрирована избирательная токсичность 10-бромфаскаплизина (**5**) против человеческих опухолевых клеток линии H125 (рак молочной железы) [2]. В другом эксперименте этой

же работы была изучена цитотоксическая активность 10-ти фаскаплизиновых алкалоидов, включая фаскаплизин (1), 3-бромфаскаплизин (4), 10-бромфаскаплизин (5), ретикулатин (16), 14-бромретикулатин (17), 7,14-дибромретикулатин (18), ретикулат (19), 14-бромретикулат (20), ретикулатол (21) и 14-бромретикулатол (22) в отношении нескольких линий опухолевых клеток мышей и человека [2]. Среди них лучшие показатели активности и селективности вновь продемонстрировал 10-бромфаскаплизин.

В работе [23] на модели глиомы C6 *in vitro* была изучена противоопухолевая активность серии природных и синтетических производных фаскаплизина: 7-фенилфаскаплизина (26), 3-хлорфаскаплизина (27), 3-бромфаскаплизина (4), 10-бромфаскаплизина (5). В результате проделанной работы показано, что цитотоксическая эффективность всех протестированных соединений превосходит незамещенный фаскаплизин (1), а наилучший результат продемонстрировали 7-фенилфаскаплизин (26) и 3-бромфаскаплизин (4). При этом цитотоксическое действие представленных соединений зависит от времени воздействия и концентрации.

В работе [19] показано, что среди серии галогензамещенных производных фаскаплизина 3-хлорфаскаплизин (27) лучше всех ингибирует клеточную пролиферацию различных линий раковых клеток, а также эндотелиальных клеток HUVEC в зависимости от дозы и времени действия. Также для него были показаны все описанные выше механизмы молекулярного действия фаскаплизина. В условиях *in vivo* данное соединение 27 тормозит рост сосудов, обусловленный фактором VEGF, образование кровеносных сосудов и рост опухоли на модели мышей. При всем спектре проявляемых возможностей профиль безопасности полученного производного является допустимым (IC₅₀ для нормальных клеток в 5 раз больше по сравнению с опухолевыми, также отсутствует явная токсичность для животных в терапевтических дозах). Данные результаты свидетельствуют о перспективности поиска среди производных

фаскаплизина перспективных лекарственных кандидатов, что, в свою очередь, определяет необходимость разработки методов их синтеза.

1.3 Непланарные аналоги фаскаплизина

Основным недостатком фаскаплизина (1) с точки зрения терапевтического использования является его высокая токсичность, обусловленная способностью его планарной структуры интеркалировать в ДНК. Это, в свою очередь, стимулировало проведение исследований в области получения селективных ингибиторов CDK-4 на основе непланарных аналогов фаскаплизина (1) [36].

В настоящее время большинство синтетических аналогов фаскаплизина являются производными триптамина и β -карболина. Так на основе структуры триптамина учеными из университета Листера были получены 1,1- и 1,3-бис-индольные аналоги фаскаплизина [37, 38], а результатом их дальнейших исследований стало открытие индолов [39, 40, 41]. В литературе так же описан синтез N-замещенных β -карболинов [42, 43, 44], полученных путем ацилирования тетрагидро- β -карболина хлорангидами замещенных бензойных кислот.

Несмотря на то, что синтетические непланарные аналоги фаскаплизина, обладающие заведомо меньшей токсичностью, показали свою перспективность для терапевтического применения, они все же демонстрируют гораздо меньшую биологическую активность по сравнению с фаскаплизином. Поэтому большее значение имеет получение производных фаскаплизина, синтез которых может быть осуществлен либо непосредственно из фаскаплизина путем проведения с ним различных химических превращений, либо путем применения существующих методов синтеза родоначального алкалоида.

1.4 Химические свойства фаскаплизина

Высокая биологическая активность и относительная доступность фаскаплизина в сочетании с необычным строением послужили основанием для изучения взаимодействия данного алкалоида с широким набором основных, нуклеофильных и электрофильных реагентов, что привело к получению ряда интересных результатов [45, 46]. Так, при действии на фаскаплизина (**1**) оснований, включая триэтиламин, N, N-диизопропилэтиламин и 1,8-дiazобикарбодиимид (DBU), происходит отщепление протона от индольной NH-группы с образованием его устойчивой депротонированной формы **1'** (рисунок 5).

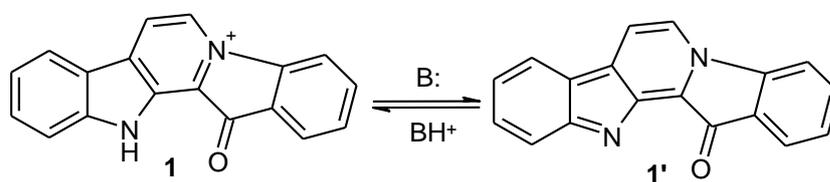


Рисунок 5 – Равновесие между фаскаплизином и его депротонированной формой **1'**

Интересно, что характер взаимодействия фаскаплизина с нуклеофилами напрямую зависит от природы используемого реагента. Так, реакция фаскаплизина с металлоорганическими реагентами протекает селективно по карбонильной группе с образованием третичных спиртов **28** и **29** (рисунок 6), что, в свою очередь, открывает перспективы для получения алкалоидов типа **16** (стр. 5, рис. 2) и их аналогов непосредственно из фаскаплизина. При взаимодействии фаскаплизина с солянокислым гидроксиламином первоначально образуется оксим депротонированной формы фаскаплизина **30**, который находится в таутомерном равновесии с изомерным ему нитрозопроизводным **31**. При добавлении к этой смеси соляной кислоты образуется оксим **32**, для которого подобная изомеризация невозможна. С более слабыми нуклеофилами фаскаплизин не реагирует, в частности, он не вступает в реакцию Виттига.

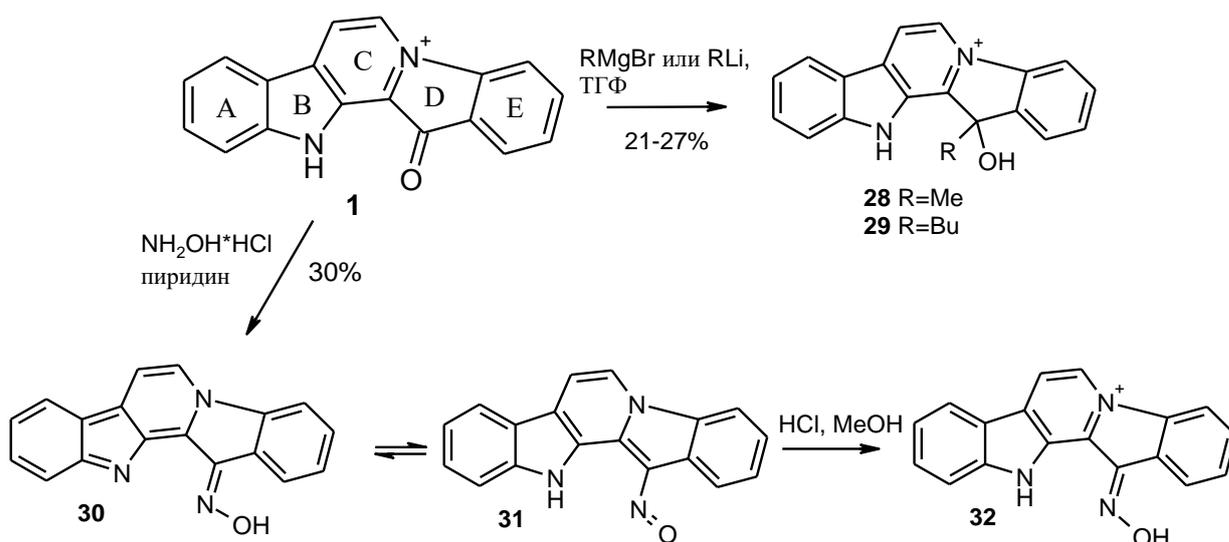


Рисунок 6 – Взаимодействие фаскаплизина с металлоорганическими соединениями и NH_2OH

Неожиданными оказались результаты взаимодействия фаскаплизина с *O*-нуклеофилами. Так, действие метилата натрия приводит к получению смеси соединений **33** и **34** - диастереоизомерных продуктов присоединения метилового спирта к пиридиновому циклу C с сохранением пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндольной гетероциклической системы. Однако при добавлении к фаскаплизину раствора гидроксида натрия в воде или метаноле, напротив, наблюдается раскрытие цикла D с образованием кислоты **35** и её метилового эфира – алкалоида ретикулатина **16** (рисунок 7).

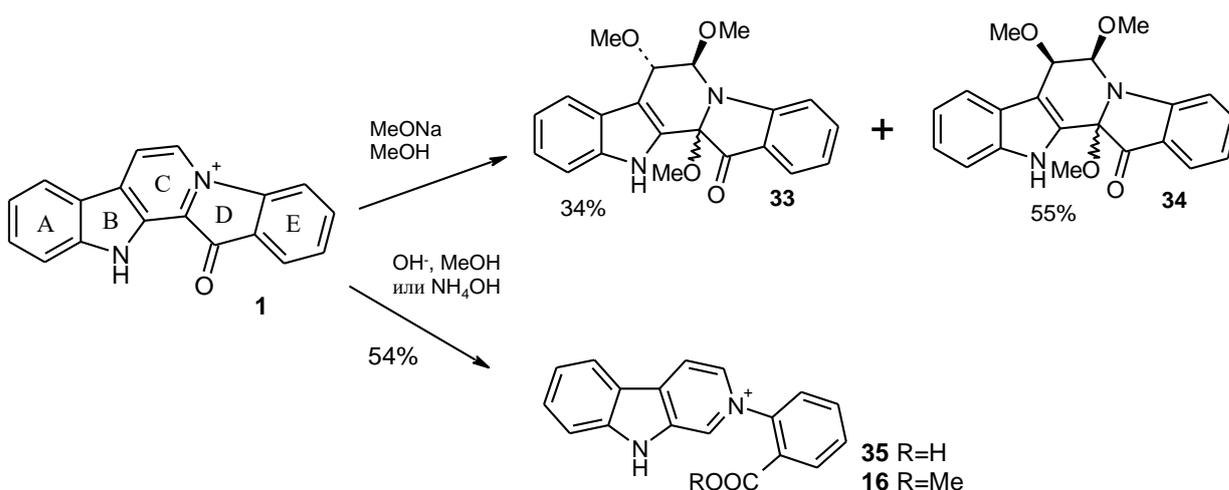


Рисунок 7 – Взаимодействие фаскаплизина с *O*-нуклеофилами

Из всего разнообразия реакций электрофильного ароматического замещения для фаскаплизина характерно галогенирование и сульфирование

(рисунок 8). Его хлорирование приводит к получению продукта **36**, а бромирование – к соединению **37**. Сульфирование под действием концентрированной серной кислоты протекает менее эффективно, давая продукт **38** лишь с умеренным выходом. Во всех случаях замещение происходит в положение 9 нативного алкалоида (**1**). Фаскаплизин не вступает в реакцию нитрования; алкилирование и ацилирование также не реализуются.

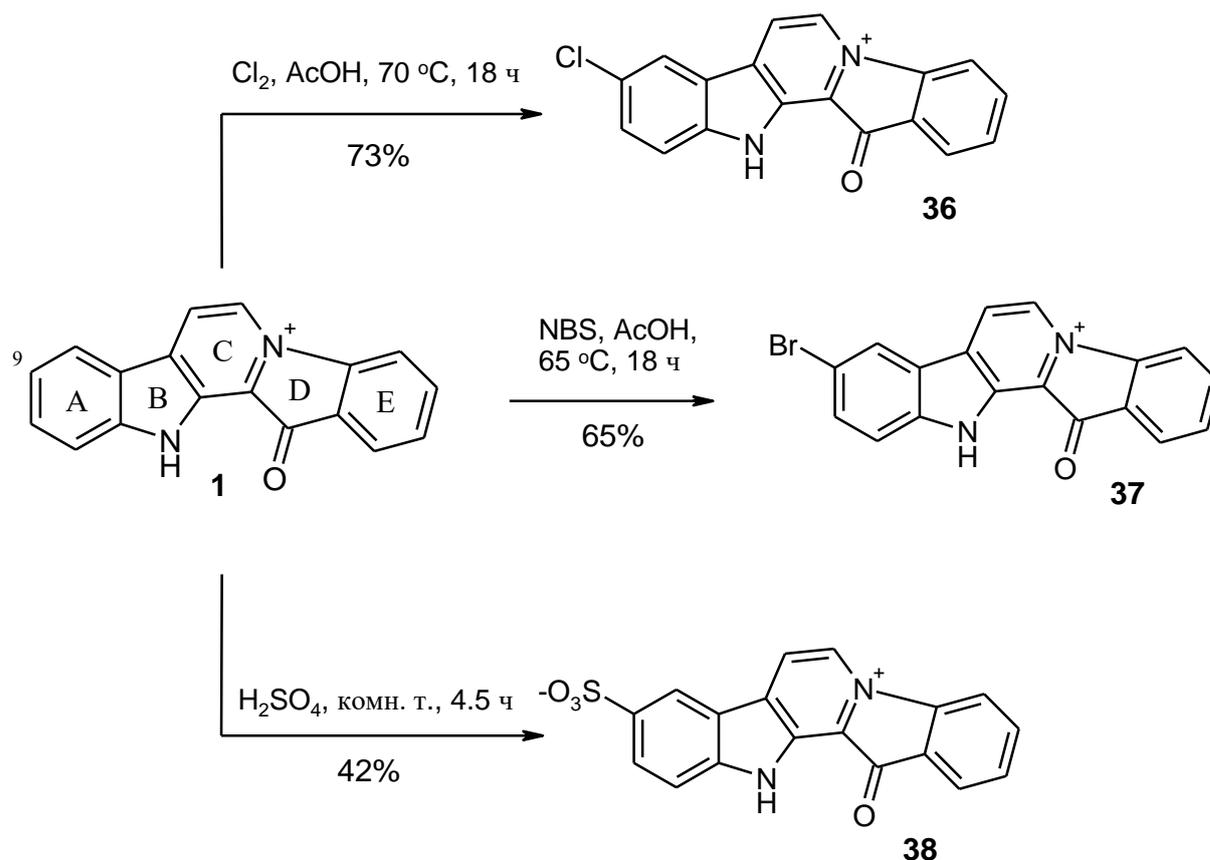


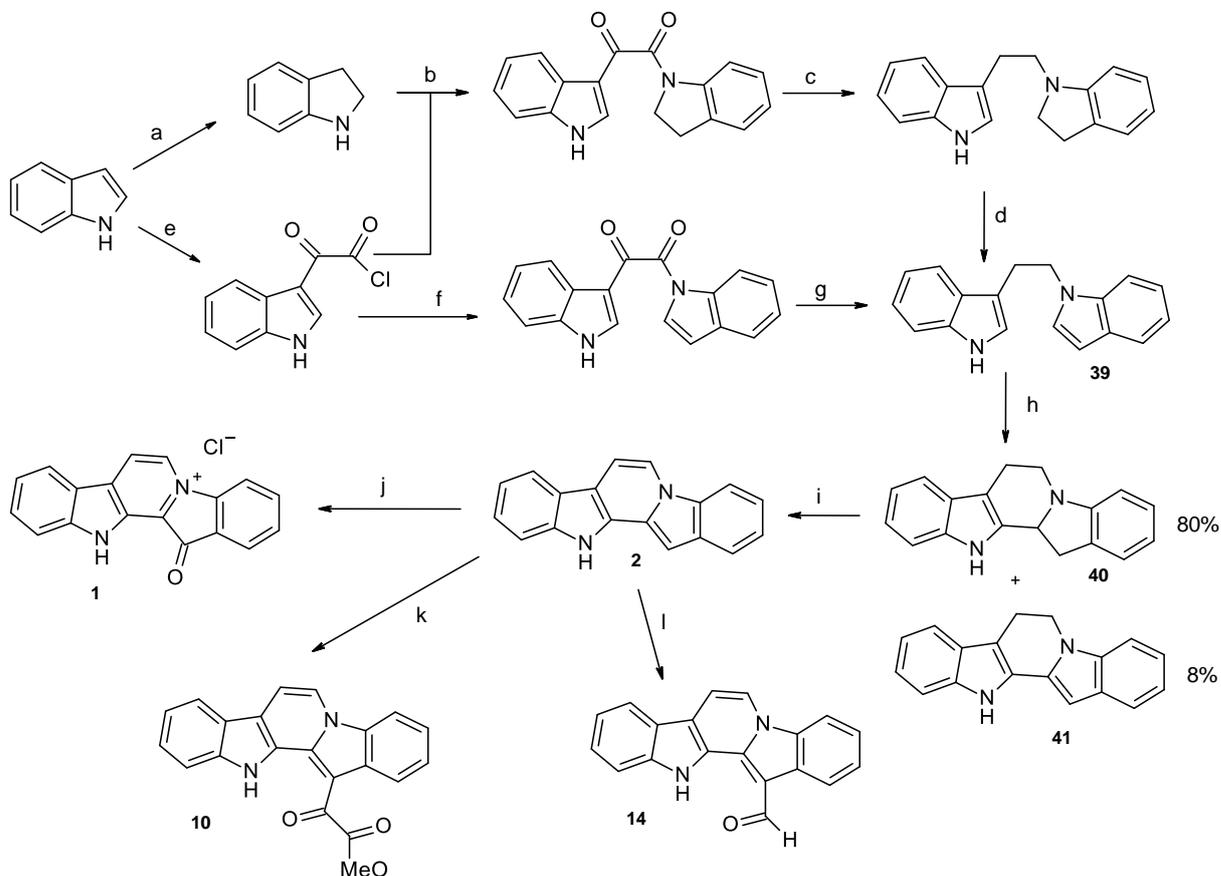
Рисунок 8 – Реакции фаскаплизина с электрофильными реагентами

1.5 Методы синтеза фаскаплизина и родственных соединений

Фаскаплизин (**1**) и его природные аналоги были синтезированы несколькими способами, которых на данный момент известно более десяти. Из фаскаплизиновых алкалоидов, содержащих гетероциклическую систему **2**, было опубликовано получение только соединений **1**, **4-6**, **10** и **14** (стр. 5, рис. 2).

Первый полный синтез фаскаплизина был осуществлен Gribble и Pelman в 1992 году [47, 48]. Ключевой стадией формирования пиридо[1,2-

a:3,4-b']дииндольной структуры в рамках этого подхода являлась циклизация двух индольных фрагментов в соединении **39**, которая привела к образованию двух тетрагидропиридо[1,2-*a:3,4-b'*]дииндолов **40** и **41** (рисунок 9).



Реагенты и условия: (a). NaBH_3CN , AcOH , 15°C , 94%; (b). K_2CO_3 , THF, rt, 2 часа, 93%; (c). AlH_3 , THF, rt, 75 мин, 97%; (d). MnO_2 , CHCl_3 , нагрев, 4 часа, 99%; (e). COCl_2 , Et_2O , 5°C , 92%; (f). Индол, NaN , THF, DMF, rt, 90 мин, 86%; (g). $\text{NaNH}_3\text{OCOCF}_3$, THF, нагрев, 20 часов, 60%; (h). TFA, rt, 30 мин, 80%; (i). Pd/C, $(\text{EtOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$, нагрев, 6 часов, 93%; (j). $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$, THF, 0°C , HCl, EtOH, 85%; (k). $(\text{COCl})_2$, MeOH, 99%; (l). POCl_3 , DMF, 88%.

Рисунок 9 – Схема синтеза Gribble и соавт. фаскаплизина (**1**), гомофаскаплизина В (**10**) и С (**14**)

Последующее кипячение раствора этих соединений в высококипящем растворителе с Pd/C позволило получить незамещённый пиридо[1,2-*a:3,4-b'*]дииндол (**2**) с выходом 93 %. Данный полупродукт (**2**) в дальнейшем был использован в качестве исходного соединения для синтеза фаскаплизина и гомофаскаплизинов В (**10**) и С (**14**) под действием, соответственно, надуксусной кислоты и хлористого оксалила с последующей обработкой

полученного хлорангидрида метиловым спиртом, а также действием на соединение **2** смесью диметилформаида с POCl_3 в классических условиях реакции Вильсмейера. Ключевой полупродукт **39** в свою очередь был получен в четыре стадии исходя из индола с суммарным выходом 82 %.

Позднее в работе 2013 года данная стратегия была использована для получения ряда аналогов гомофаскаплизинов В (**10**) и С (**14**) [49] (рисунок 10).

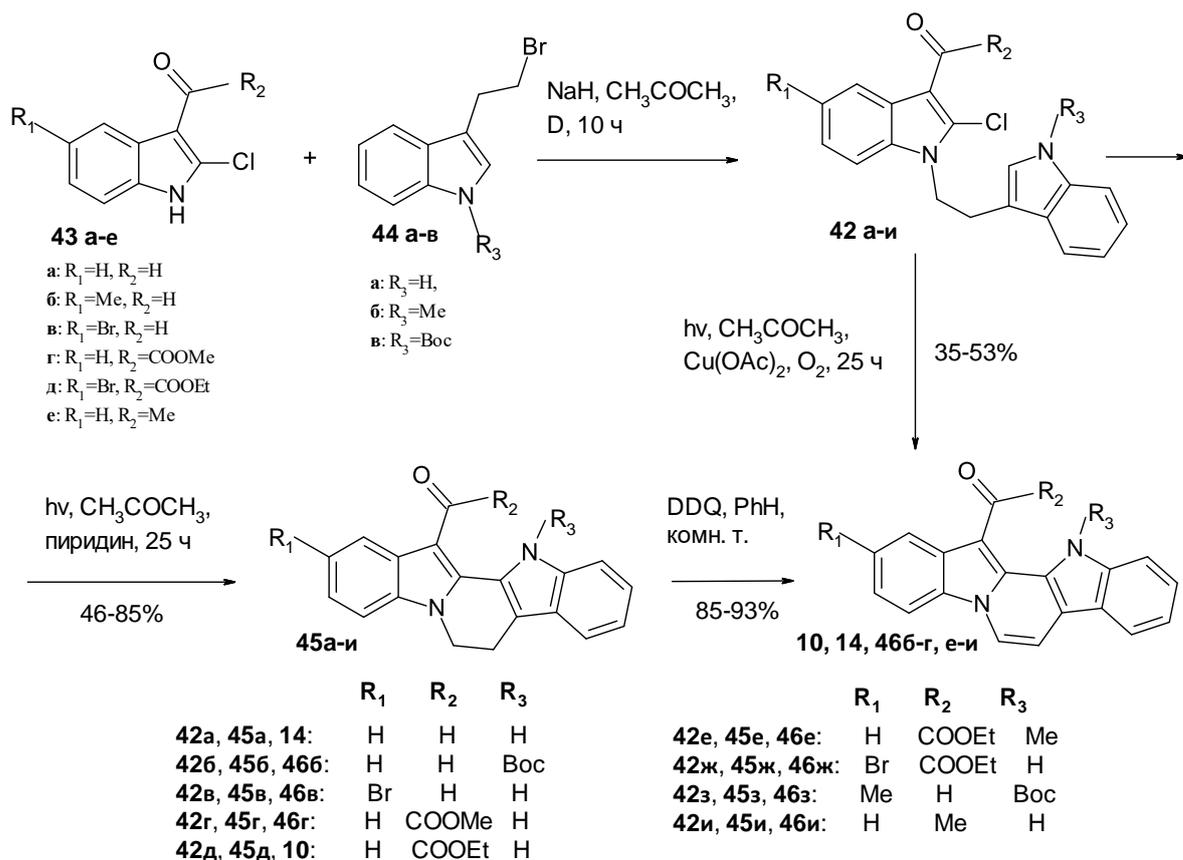
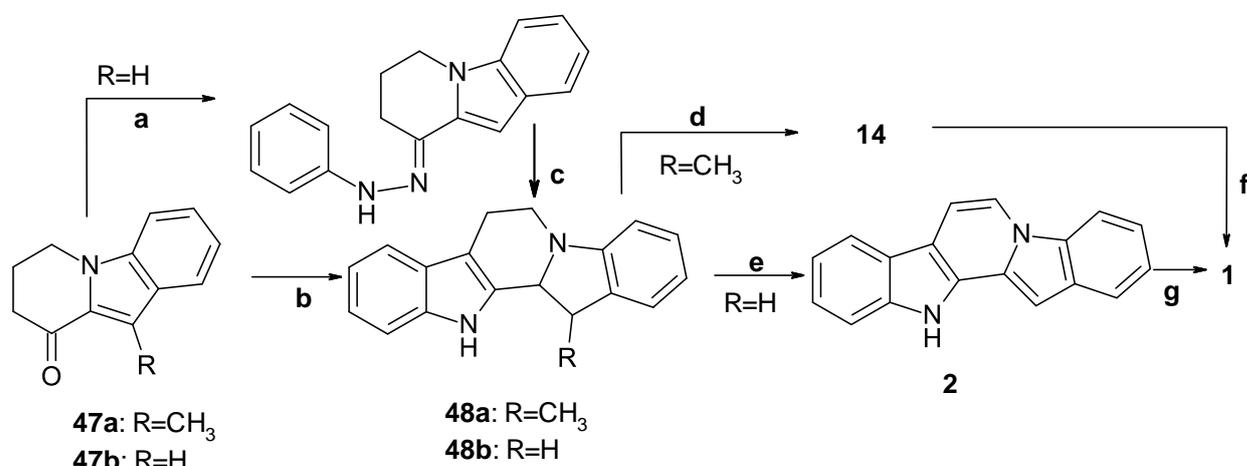


Рисунок 10 – Получение серии аналогов алкалоидов гомофаскаплизинов В и С

Ключевой стадией описываемого подхода являлась фотохимическая циклизация аддуктов **42a-и**, полученных конденсацией 3-ацил-2-хлориндолов **43a-e** с производными 3-(2-бромэтил)индола **44a-в**. В дальнейшем при увеличении времени проведения реакции происходило дегидрирование полупродуктов **45a-и** с образованием продуктов **46б-г, 10, 14** и **46е-и**, однако лучшие результаты были получены при проведении завершающей стадии под действием DDQ при комнатной температуре.

В 1997 году Дубовицкий С. В. предложил принципиально иной подход к получению замещенных пиридоиндолов и осуществил в рамках него синтез гомофаскаплизина С (**14**) исходя из 3-метилиндола [50]. В данном случае скелет базовой системы был сформирован в результате реакции Фишера между индолокетоном **47a** и солянокислым фенилгидразином в кипящей уксусной кислоте (рисунок 11). При кипячении промежуточного продукта **48a** в диоксане с 2,3-дихлор-5,6-дицианопарабензохиноном (DDQ) происходило одновременное дегидрирование и окисление метильной группы до формильной, что приводило к получению гомофаскаплизина С (**14**).



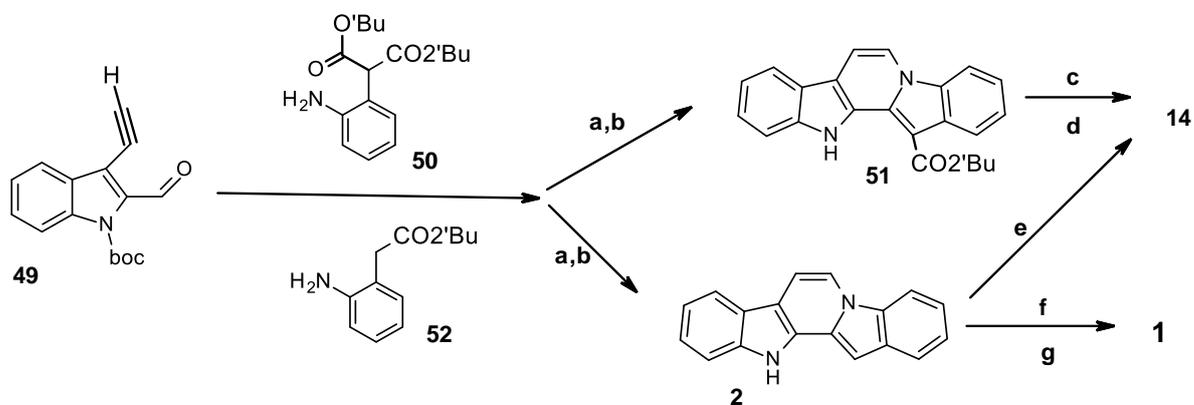
Реагенты и условия: (а). Ph-NHNH₂, HCl, EtOH, 2 часа, 78%; (б). Ph-NH-NH₂, HCl, AcOH, нагрев 4 часа, 91%; (с). TsOH, PhH, нагрев, 20 мин, 60%; (д). DDQ, 1,4-диоксан, нагрев, 2 часа, 50%; (е). Pd/C, (EtOCH₂CH₂)₂, нагрев, 6 часов, 75%; (ф). m-CPBA, EtOAc, 24 часа, 67%; (г). CH₃CO₃H, MeOH, 0 °C, 45 мин, 85%

Рисунок 11 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) и гомофаскаплизина С (**14**) из индолокетонов **47**

Жидков с соавт. [51] сообщили о дальнейшем развитии данного метода. Интермедиат **48б** был получен из индолокетона **47б** и дегидратирован над катализатором Pd/C. Обработка соединения **14** 3-хлорпербензойной кислотой привела к образованию фаскаплизина (**1**), что явилось первым примером химической конверсии одного представителя серии фаскаплизиновых алкалоидов в другой (рисунок 11).

В работе 2010 года был реализован еще один подход к формированию системы пиридо[1,2-*a*: 3,4-*b'*]дииндола (рисунок 12) [52]. В рамках данного

метода исходным соединением являлся защищенный по NH-группе 3-этилиндо-2-карбальдегид (**49**), который подвергали микроволновому облучению в смеси с замещенным анилином **50** в присутствии трифлата серебра, что позволило сразу получить пентациклический продукт **51**. Восстановление сложноэфирной группы в данном соединении до альдегидной привело к синтезу гомофаскаплизина С (**14**). При использовании на первой стадии анилина **52** образовался незамещенный пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндол (**2**), из которого, как отмечалось выше (рисунок 9), в одну стадию можно перейти к гомофаскаплизину С (**14**) и фаскаплизину (**1**).



Реагенты и условия: (a). AgOTf, 2,6-лютидин, MW (150 Вт), EtOH, 150 °C, 45 мин; (b). HCl, 24 часа; (c) пиперидин, *n*-BuLi, DIBAL, THF, 0 °C; (d). 1N HCl, 53% после стадий с и d; (e). POCl₃, DMF, 85%; (f). CH₃CO₃H, MeOH, HOAc, 0 °C; (g). конц. HCl, 85% после стадий f и g.

Рисунок 12 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) и гомофаскаплизина С (**14**)

Waldman и соавт.

Как уже отмечалось ранее [2], биосинтез пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндольных алкалоидов вероятнее всего начинается с димеризации триптофана по C-2 атомам индольной системы. В этой связи примечательны исследования, проведенные Van Vranken и Carter [53]. Они изучали внутримолекулярную реакцию Манниха N-ацилиминиевых катионов, подобных изображенному на рисунке 13. Целью данного исследования было показать, что подобные соединения могут являться непосредственными предшественниками при биосинтезе производных как пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндола, так и индоло[2,3-*a*]карбазола, при этом результат реакции

зависит от регионаправленности внутримолекулярной нуклеофильной атаки второго индольного фрагмента исходного бис-индола.

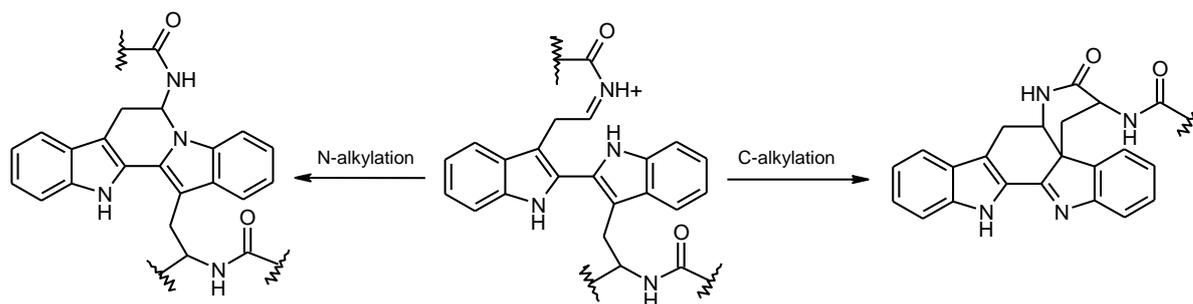


Рисунок 13 – Варианты циклизации бис-индольных субстратов в пиридо[1,2-*a*:3,4-*b'*]дииндолы и индоло[2,3-*a*]карбазолы

В качестве объекта для исследования авторами данной работы был выбран аминаль **53**, полученный окислительной димеризацией метилового эфира *N*-ацетилтриптофана с последующим гидразинолизом одной из сложноэфирных групп, конверсией полученного гидразида в азид под действием нитрита натрия и проведением на завершающей стадии перегруппировки Курциуса в присутствии бутиламина. Регионаправленность циклизации соединения **53** зависела от природы используемой кислоты (рисунок 14).

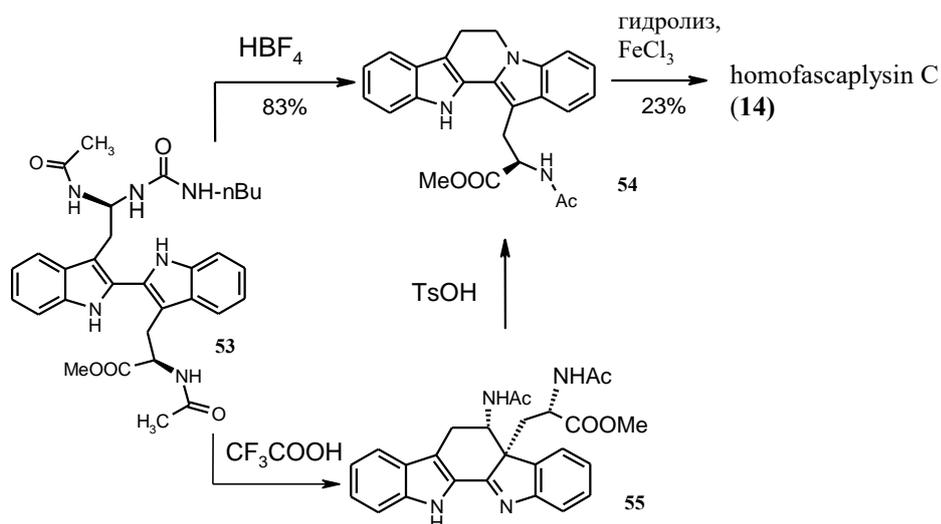
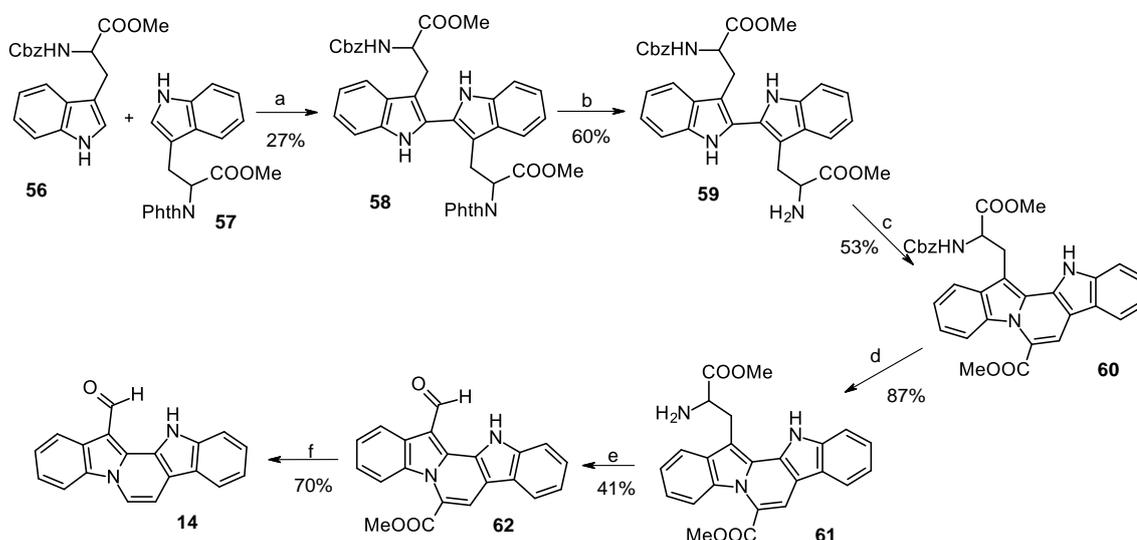


Рисунок 14 – Зависимость направления циклизации соединения **53** от условий реакции

Так, при действии HBF_4 был получен пиридоиндол **54**, который после гидролиза и обработки хлоридом железа (III) был конвертирован в гомофаскаплизин С (**14**). При проведении в трифторуксусной кислоте

основным продуктом реакции было соединение **55**, которое в присутствии TsOH гладко конвертировалось в соединение **54**.

Представленные результаты стали отличным заделом для Mei Xu и соавт [54]. В начале их исследования главной задачей была разработка условий, позволяющих объединить две субъединицы триптофана с образованием 2,2'-бис-триптофана **58**. В реакцию гетеродимеризации вводили защищенные по аминогруппе триптофаны **56** и **57**, которые под действием трифторуксусной кислоты с последующим окислением давали целевой дитриптофан **58** с выходом 27 % (рисунок 15).



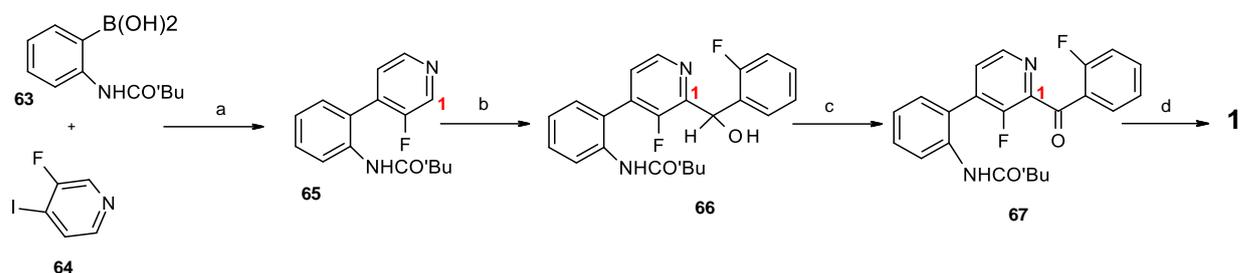
Реагенты и условия: (a) (i) TFA, rt; (ii) DDQ, 1,4-диоксан, 0 °C to rt. (b) 80% гидразин гидрат, DCM/MeOH, rt. (c) (i) ZnSO₄, CHOCOONa·H₂O, MeCN/ацетатный буфер, rt. (ii) TFA, 1, 4-диоксан, 100 °C. (d) BF₃·Et₂O, EtSH, rt. (e) CuSO₄, CHOCOONa·H₂O, MeCN/ ацетатный буфер, O₂, rt. (f) (i) NaOH, MeOH/H₂O/DMSO, 40 °C. (ii) 200 °C

Рисунок 15 – Схема биомимического синтеза гомофаскаплизина С (**14**)

Селективное удаление защиты в полупродукте **58** обеспечило получение амина **59**, который подвергали селективному окислению в кетоэфир с последующей внутримолекулярной циклизацией при нагревании в диоксане в присутствии трифторуксусной кислоты. Таким образом, сложный эфир **60** получали с выходом 53 %. Далее произвели удаление Cbz-защиты для получения амина **61**, который в последствии ввели в реакцию окислительного расщепления. В отличие от ранее рассмотренной работы [53] в данном случае в качестве окислителя использовали ионы меди (II), которые значительно ускоряли вышеуказанное окислительное расщепление. На

заключительной стадии субстрат **62** гидролизовали и декарбоксилировали при 200 °С, что привело к целевому продукту **14**.

Росса и соавт. предложили другой способ синтеза фаскаплизина (**1**) (рисунок 16) [55]. Катализируемое трифенилфосфинпалладиевым комплексом кросс-сочетание арилборной кислоты **63** и пиридина **64** привело к получению продукта **65**. Далее, региоселективное металлирование этого соединения бутиллитием и последующая реакция полученного литиевого производного с 2-фторбенальдегидом позволили синтезировать трёхзамещённый пиридин **66**. После окисления гидроксильной группы данного соединения до карбонильной группы под действием диоксида марганца (IV) был получен полупродукт **67**. Его последующая двойная циклизация нагреванием при 170 °С в присутствии гидрохлорида пиридиния привела к получению фаскаплизина (**1**) с суммарным выходом 76 %. Несмотря на малое число стадий, высокие выходы на отдельных этапах, а также, в целом, привлекательную стратегию формирования скелета фаскаплизина из трех структурных блоков, использование данного метода ограничивает недоступность широкого набора производных *o*-аминофенилборных кислот, а также применение на второй стадии высокоактивного бутиллития, что исключает возможность введения многих функциональных групп в структуру фаскаплизина.

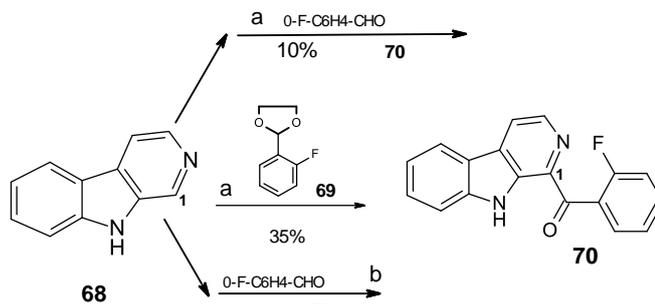


Реагенты и условия: (a). Pd(PPh₃)₄/ 2M K₂CO₃, толуол, кипячение с обратным холодильником, 48 часов, 98%; (b). BuLi, THF, -75 °С, 1 час, 2-F-PhCHO, 1 час, -75 °С, 95%; (c). MnO₂, толуол, кипячение с обратным холодильником, 2 часа, 99%; (d). Пиридин, HCl, 170 °С, 10 мин, NH₄OH, лед.

Рисунок 16 – Синтез фаскаплизина (**1**) по Росса и соавт.

В публикации Жидкова и Каминского удалось избежать указанного недостатка [56]. В данном методе происходит ацилирование незамещенного

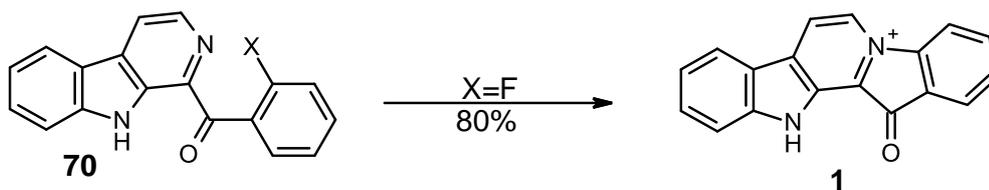
β -карболина **68** по положению 1 с использованием реакции Минисци, что позволяет вводить различные функциональные группы в структуру фаскаплизина. Для генерации нуклеофильных радикалов применяли смесь 2-фторбензальдегида или его ацельного производного **69** и *tert*-бутилгидропероксида в присутствии солей железа (II), однако это привело неудовлетворительному выходу. Использование микроволнового излучения для инициации радикального распада позволило получить продукт **70** с препаративным выходом 65 % (рисунок 17).



Реагенты и условия: (а) 70% *t*-BuOOH, FeSO₄·7H₂O, CF₃COOH, CH₃COOH, H₂O, 4 °С, 30 мин, дважды; (b) 70% *t*-BuOOH, MW, 10 Вт, CF₃COOH, 40 мин, несколько раз.

Рисунок 17 – Схема синтеза 1-(2-фторбензоил)- β -карболина под действием микроволнового излучения

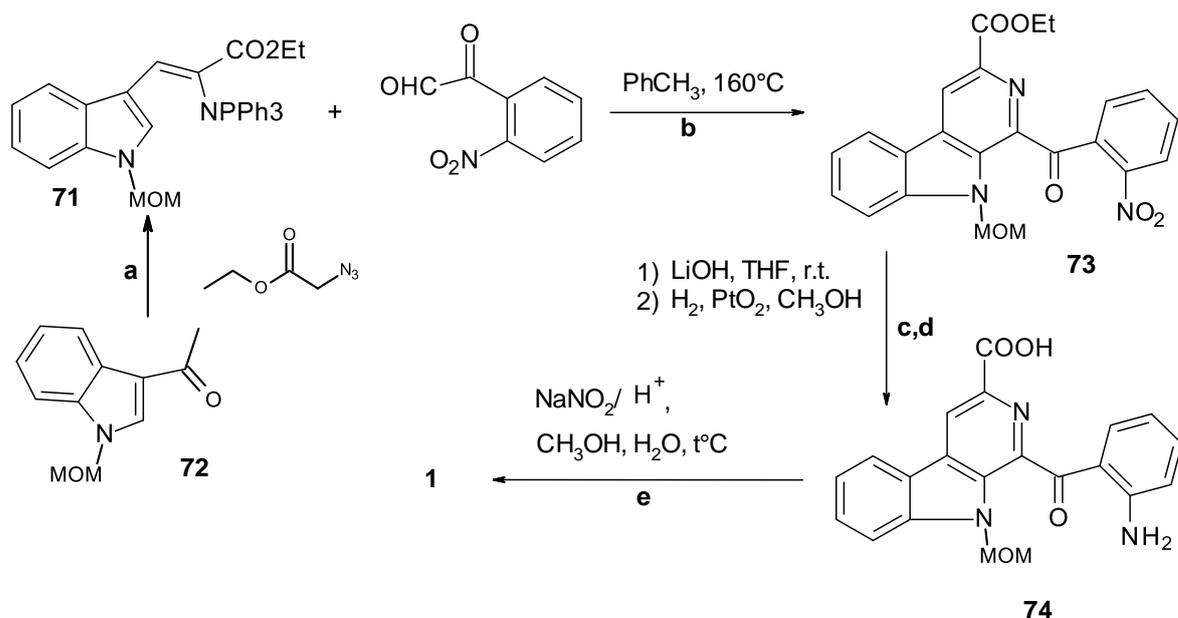
На завершающей стадии синтеза проводили циклизацию β -карболина **70** при нагревании до 220 °С в присутствии каталитических количеств гидрохлорида пиридиния по аналогии с работой [55], что позволило получить фаскаплизин (**1**) с выходом 80 % (рисунок 18).



Реагенты и условия: Py·HCl, 200-220 °С, 40 мин

Рисунок 18 – Циклизация соединения **70** в фаскаплизин

В 1994 году Molina и соавт. реализовали новый метод синтеза фаскаплизина исходя из соединения **71**, являющегося продуктом взаимодействия защищенного по азоту 3-форминдола (**72**) с этилазидоформиатом и трифенилфосфином, и производного фенилглиоксаля (рисунок 19) [57].

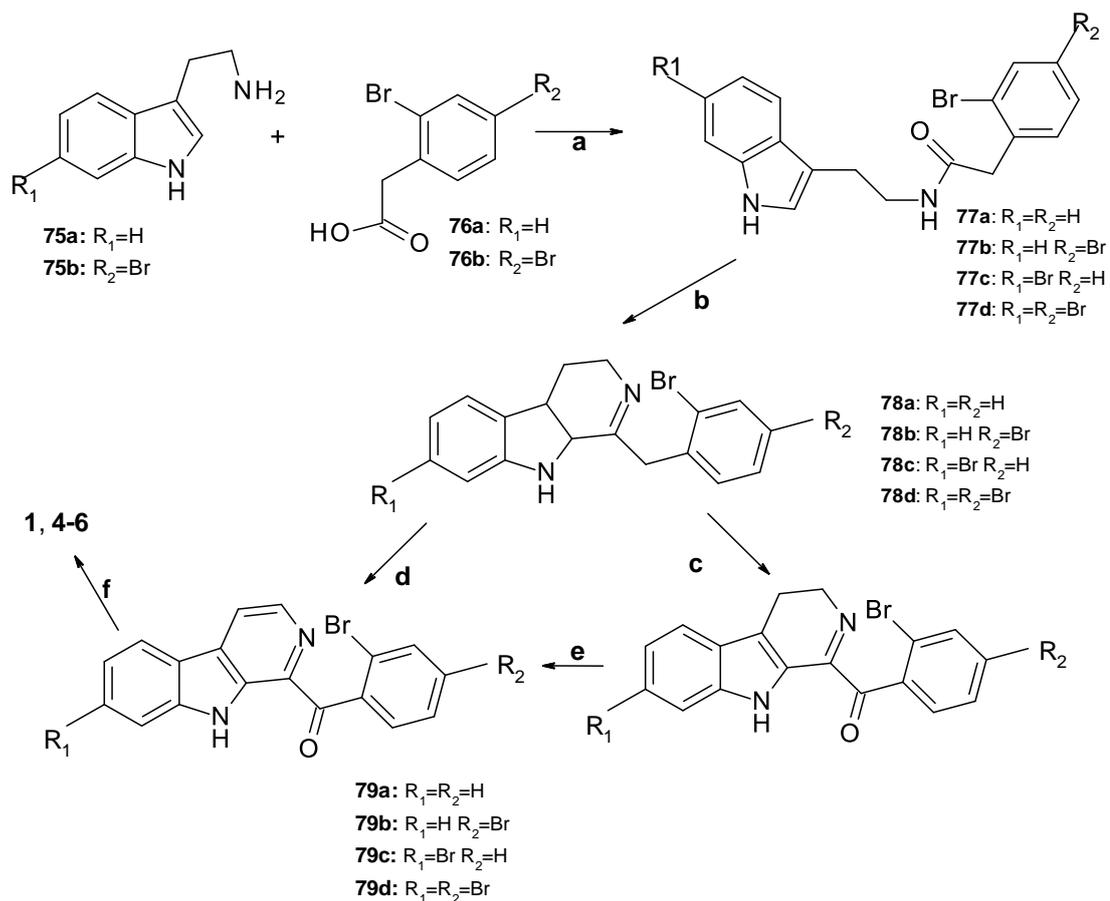


Реагенты и условия: (а). PPh_3 ; (b). $\text{C}_6\text{H}_4(o\text{-NO}_2)\text{COCHO}$, толуол, 160°C , 60-65%; (с). LiOH , $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, количественный выход; (d). H_2 , PtO_2 , MeOH , 80%; (е). NaNO_2 , $\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$, HCl , 0°C , 60%.

Рисунок 19 – Схема синтеза фаскаплизина по Molina и соавт.

В ходе последующей трансформации сложноэфирная группа в продукте конденсации **73** была гидролизована, а нитрогруппа восстановлена до аминогруппы. Далее действием на образовавшееся соединение **74** азотистой кислоты была получена соответствующая диазониевая соль, нагревание которой в метаноле привело к образованию фаскаплизина. К сожалению, в данной работе не приведены сведения о выходах на отдельных стадиях синтеза.

Позднее Радченко и соавт. был предложен метод синтеза фаскаплизина с использованием более доступных реагентов [58] (рисунок 20). Так, труднодоступное соединение **71** заменили на триптамин (**75a**). На первом этапе было проведено его ацилирование *o*-бромфенилуксусной кислотой (**76a**), что привело к получению амида **77a**, содержащего все 18 атомов углерода, необходимых для формирования структуры фаскаплизина.



Реагенты и условия: (а). Тетралин, азетропная перегонка, 40 мин, 83% для **77a**; DCC, CH₃CN, кипячение с обратным холодильником, 30 мин, 88-89% для **77b-г**; (б). POCl₃, PhH (или ACN), кипячение с обратным холодильником, 30 мин, 68%; (с). MnO₂, CHCl₃, 3 часа, 94%; (д). MnO₂, CHCl₃, кипячение с обратным холодильником 15 мин, 3 часа при комн. температуре, 86%; (е). MnO₂, CHCl₃ (or PhH), кипячение с обратным холодильником, 3 часа, 91%; (ф). 220 °С, 20 мин, HCl/MeOH, 90%.

Рисунок 20 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) по Радченко и соавт. и бромфаскаплизинов **4-6** по Жидкову и соавт.

Последующие стадии синтеза направлены на трансформацию полученной «заготовки» **77a-d** в алкалоид **1**: циклизация по Бишлеру-Напиральскому обеспечила получение дигидро-β-карболина **78a**, далее окисленного оксидом марганца (IV) до α-ацил-β-карболина **79a**. Позднее авторами работы [59] аналогичным образом была получена серия замещенных 1-бензоил-β-карболинов, при этом в качестве окислителя ими был использован молекулярный кислород под действием ультрафиолетового излучения. При пиролизе соединения **79a** атом брома был замещен на азот пиридинового цикла, что привело к замыканию цикла D фаскаплизина. Суммарный выход соединения **1** составил 44 %.

Данная стратегия построения системы фаскаплизина оказалась крайне удачной и была использована в дальнейшем для разработки улучшенных методов его синтеза, а также для получения некоторых производных фаскаплизина. В частности, в 2007 г Жидков с соавт. [60] применив данный синтетический подход синтезировали бромфаскаплизины **4-6**, используя 6-бромтриптамин (**756**) как исходное соединение.

S. V. Bharate и соавт. в 2012 году [14] реализовали двухстадийный способ синтеза фаскаплизина на основе комбинированного подхода Molina и Радченко путем кипячения смеси триптамина с *o*-хлорфенилглиоксалем (**80**) в присутствии палладия на углеводе (рисунок 21). В данном случае реализуется стратегия «one pot»: сначала из исходных соединений происходит образование соответствующего имида, который в условиях кислотного катализа циклизуется по Пикте-Шпенглеру в дигидро- β -карболин и последовательно дегидрируется в β -карболин **81**. На второй стадии проводится кватернизация полупродукта **81** по методу, описанному в [58].

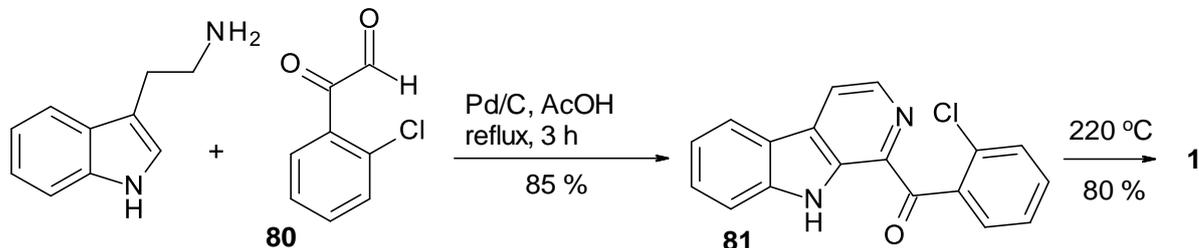


Рисунок 21 – Получение фаскаплизина из триптамина по Bharate и соавт.

Апофеозом оптимизации рассматриваемой стратегии можно считать работу китайских авторов [61]. Они разработали получение сложнодоступного фенилглиоксаля путем окисления бромацетофенона «one pot». Таким образом, им удалось создать общий метод синтеза широкого набора замещенных изохинолинов и β -карболинов путем нагревания в растворе ДМСО соответствующих аминов, ацетофенонов и молекулярного йода в присутствии пероксида водорода в качестве окислителя. Применительно к предмету данного обзора это вылилось в разработку нового

двухстадийного метода синтеза фаскаплизина исходя из триптамина и *o*-бромацетофенона (**82**), представленного на рисунке 22.

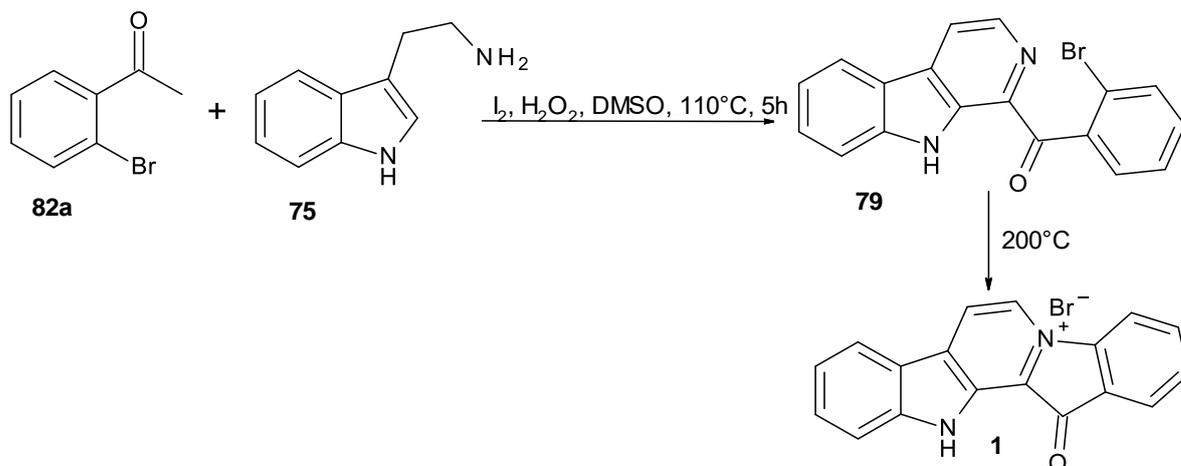


Рисунок 22 – Получение фаскаплизина (**1**) из триптамина (**75**) и *o*-бромацетофенона (**82a**)

В 2014 году другой группой ученых [62] был представлен аналогичный метод синтеза фаскаплизина, но в данном случае ключевую стадию проводили без участия *трет*-бутилгидропероксида, при этом выход целевого соединения оставался таким же высоким. На сегодняшний день последней модификацией данного подхода является работа Shashikant и соавт. [63]. Вместо галогензамещенных ацетофенонов в реакцию с триптамином были введены терминальные алкины, что позволило получить широкий набор замещённых 1-бензоил- β -карболинов с выходами 74–95 %. Так, по схеме, приведённой на рисунке 23, фаскаплизин был получен из алкина **83** с выходом 84 %.

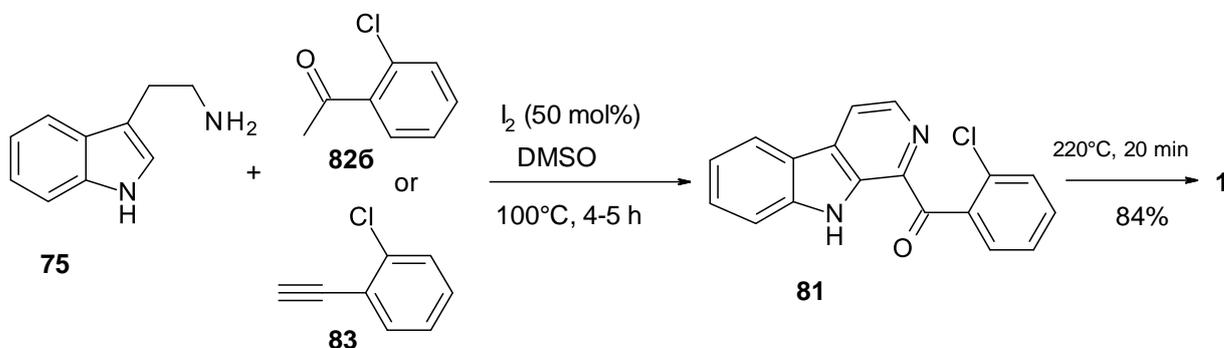


Рисунок 23 – Получение фаскаплизина (**1**) из триптамина (**75**) и терминального алкина **83**

Изучая структуру фаскаплизина, можно сделать вывод, что в качестве фрагмента в ней содержится скелет известного красителя индиго (**84**). Это дает основания предположить, что фаскаплизин можно получить непосредственно из индиго, и такие примеры существуют в литературе. Ещё в 20-е годы прошлого века Posner [64, 65] изучал взаимодействие индиго с этиловыми эфирами малоновой и фенилуксусной кислот (рисунок 24) с целью доказать, что соединению **84** соответствует структура транс-изомера. Полученные им продукты конденсации **85a** и **85b** исторически являются первыми известными производными пиридо[1,2 -a:3,4 -b']дииндола **2**. И лишь спустя 95 лет эти работы получили дальнейшее развитие.

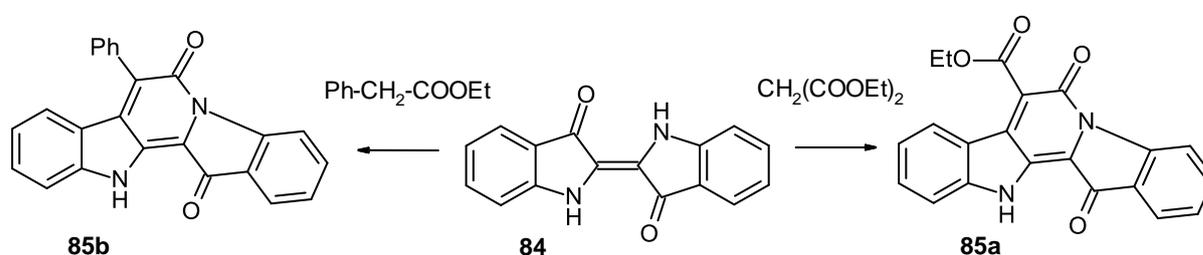
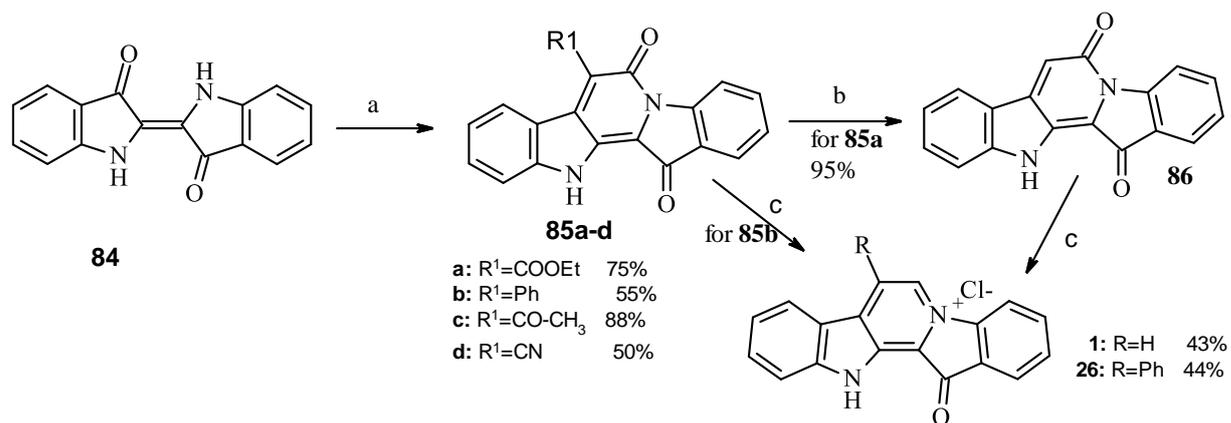


Рисунок 24 – Первый синтез производных пиридо[1,2 -a:3,4 -b']дииндола

В 2018 году вышла статья Жидкова и соавт., авторы которой на первом этапе осуществили конденсацию индиго с серией метиленактивных соединений [66] (рисунок 25). На втором этапе продукт гидролиза и декарбоксилирования соединения **85a** – алкалоид 6-оксофаскаплизин (**86**), который ранее был выделен из губки *Hyrtios* sp. [67], а также соединение **85b** подвергли восстановлению под действием комплекса боран-тетрагидрофуран. В результате последующего гидролиза и окисления кислородом воздуха были получены, соответственно, фаскаплизин (**1**) и его фенилзамещенное производное **26**.



Реагенты и условия: (a) R-CH₂-COOEt (8 экв.), NaNH (4 экв.), DMF, Δ, 0.5 ч; (b) 40% HBr (избыток), Δ, 2 h; (c) BH₃*THF (24 экв.), THF, Ag, Δ, 2 ч, затем H₂O/H⁺, воздух, Δ, 2 ч.

Рисунок 25 – Схема синтеза 6-оксофаскаплизина (**86**), фаскаплизина (**1**) и их производных

2 Обсуждение результатов

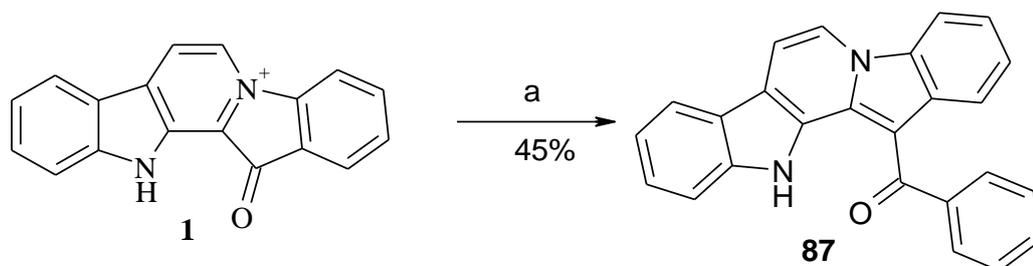
Данная работа состоит из двух основных разделов, посвященных химическим превращениям на основе фаскаплизина (**1**).

Первый из них посвящен обнаруженной нами реакции восстановительного ацилирования, которая в одну стадию позволяет из фаскаплизина получить гомофаскаплизин В (**10**). Данное превращение основано на взаимодействии нативного алкалоида **1** с эфирами щавелевой кислоты.

Отправной точкой второй части работы является изучение реакции прямого йодирования фаскаплизина. Поскольку реакции электрофильного замещения являются характерными для данного алкалоида, мы решили дополнить их реакцией прямого йодирования, так как введение йода в молекулу фаскаплизина открывает большие возможности для проведения широкого спектра реакций палладий-катализируемого кросс-сочетания.

2.1 Изучение взаимодействия фаскаплизина и его производных с эфирами щавелевой кислоты

Ранее было проведено изучение взаимодействия фаскаплизина и бензоилхлорида в присутствии хлорида алюминия с целью получения бензоильного производного данного алкалоида [68]. В результате не было получено новых соединений. Однако новый продукт был выделен после кипячения с обратным холодильником фаскаплизина с бензоилхлоридом без каких-либо катализаторов. Анализ спектральных данных полученного соединения позволил присвоить ему структуру **87** (рисунок 26). Выход в реакции составил 45 %.

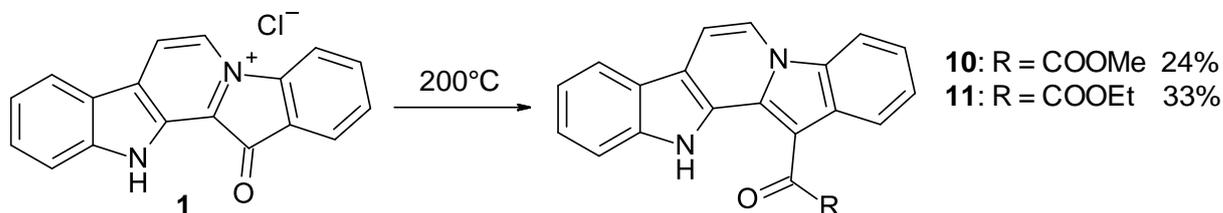


Реагенты и условия: (а) Ph-CO-Cl, Δ , 0,5 ч.

Рисунок 26 – Схема синтеза соединения **87**

Структурное сходство соединения **87** с гомофаскаплизинами В (**10**) и В-1 (**11**) подтолкнуло нас сосредоточиться на изучении возможного взаимодействия фаскаплизина с диметилowym и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты в найденных условиях. Для начала нам необходимо было наработать достаточно большое количество исходного фаскаплизина, что было сделано по методу из работы [62] с небольшими изменениями и дополнениями (рисунок 23).

На первом этапе исследуемую реакцию проводили в избытке соответствующих эфиров без растворителя при кипячении с обратным холодильником. При этом ожидаемый продукт был получен при использовании диэтилового эфира щавелевой кислоты. В случае диметилксалата, имеющего меньшую температуру кипения, целевое соединение не образовывалось. Поэтому было решено провести реакцию в автоклаве в избытке соответствующих эфиров при температуре 200 °С (рисунок 27).



Реагенты и условия: (CO-OMe)₂ или (CO-OEt)₂, автоклав, 200 °С, 1-1.5 ч.

Рисунок 27 – Схема синтеза гомофаскаплизинов В (**10**) и В-1 (**11**).

Для гомофаскаплизина В время протекания реакции составило 1 час, а для гомофаскаплизина В-1 – 1 час 30 минут. Контроль реакции осуществляли при помощи ТСХ. Обнаружили, что наряду с ожидаемым продуктом реакции

в смеси присутствуют минорные соединения. После отгонки избытка сложных эфиров при пониженном давлении и выделения целевых соединений методом препаративной тонкослойной хроматографии (ПТСХ) выход для гомофаскаплизина В составил 24 %, а для гомофаскаплизина В-1 – 33 %. Структуру полученных продуктов установили спектроскопией ЯМР на протонах и ядрах углерода. Далее в качестве примера будут рассмотрены соответствующие спектры гомофаскаплизина В. Спектральные характеристики его гомолога представлены в приложении Б.

В спектре ЯМР ^{13}C полученного продукта присутствуют сигналы 21 атомов углерода (рисунок 28).

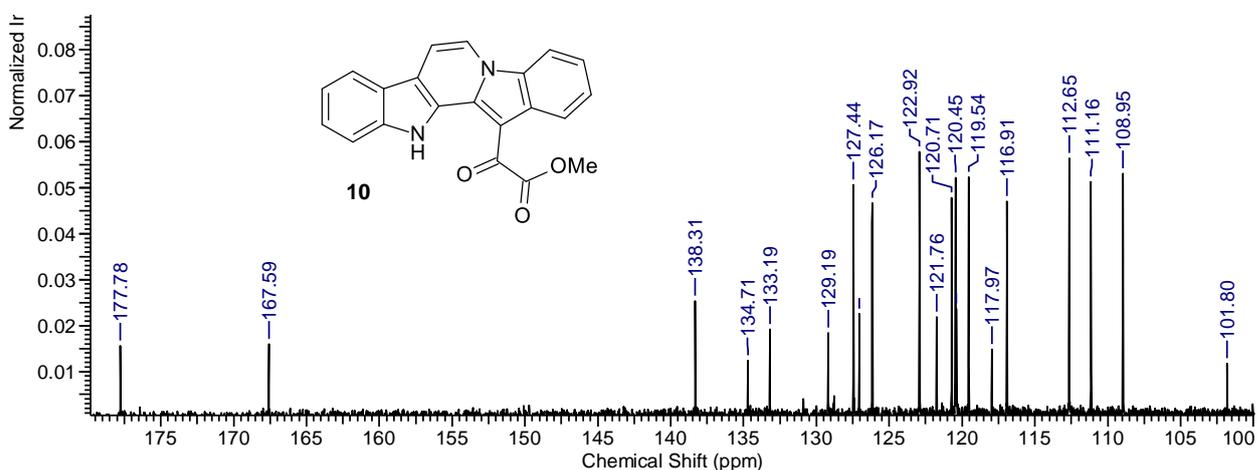


Рисунок 28 – ЯМР ^{13}C спектр соединения **10**

Среди них отнесение возможно только для сигналов атомов углерода карбонильной (177,8 м.д.), сложноэфирной (167,6 м.д.) и метильной (53,0 м.д.) групп. Остальные сигналы наблюдаются в области резонанса ароматических атомов углерода.

В спектре ЯМР ^1H соединения **10** (рисунок 29) общая интегральная интенсивность соответствует 14 протонам. Уширенный синглет при 12,53 м.д. соответствует сигналу протона NH-группы. Сигнал протонов метильной группы находится в сильном поле при 4,13 м.д. Два дублета с интенсивностью по 1 Н при 8,41 м.д и 7,81 м.д. соответствуют сигналам протонов Н-6 и Н-7 (сигнал Н-6 сдвинут в более слабое поле из-за

электроакцепторного влияния атома азота). Для остальных четырех триплетов и четырех дублетов не удалось сделать точное отнесение сигналов.

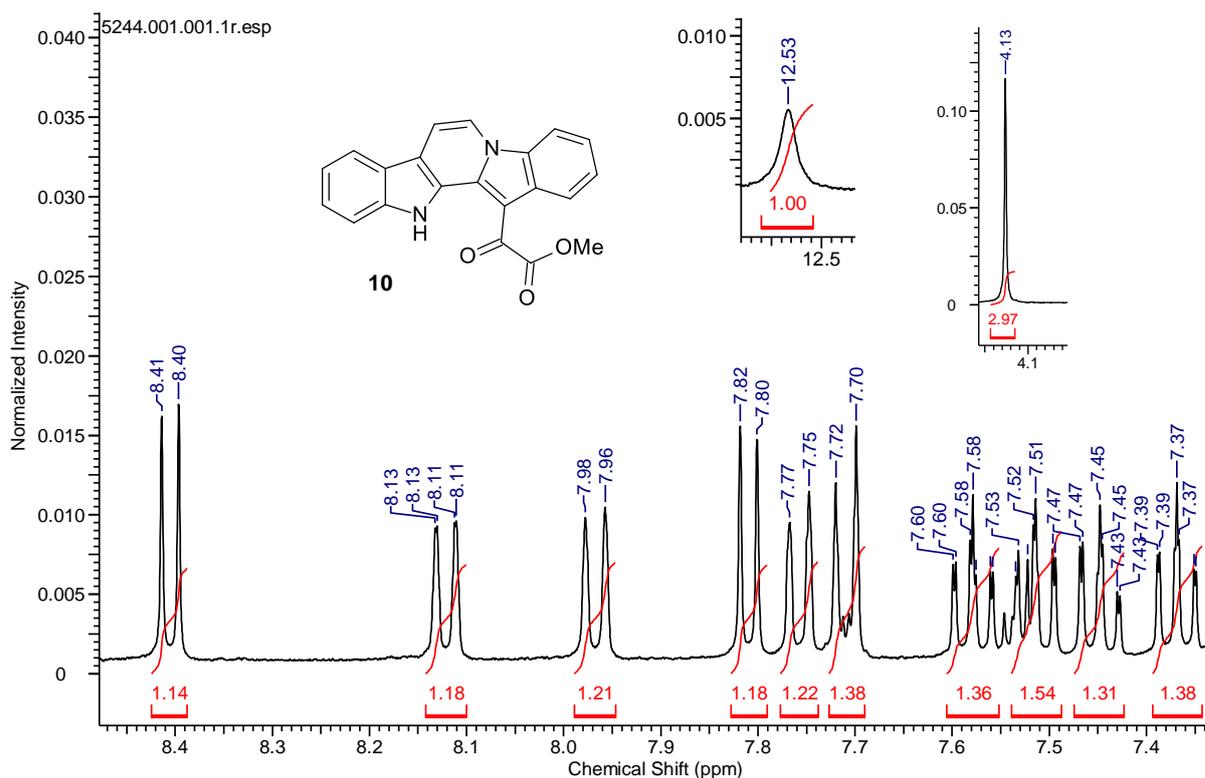


Рисунок 29 – ЯМР ^1H спектр соединения **10**

Для доказательства структуры спектры продукта **10** были соотнесены с аналогичными данными, известными в литературе (приложения В) в одном и том же растворителе – CDCl_3 . Для продукта **11** в литературе спектральные характеристики получены в другом растворителе (CD_2Cl_2), поэтому сравнение спектров проводили с данными природного гомофаскаплизина В (**10**) (приложения Г). По данным сравнения, представленным в таблицах, мы видим, что они хорошо согласуются, поэтому можем утверждать, что полученные соединения являются гомофаскаплизинами В (**10**) и В-1 (**11**).

Основываясь на полученных результатах, можно описать предполагаемый механизм новой, нехарактерной для фаскаплизина, реакции восстановительного ацилирования (рисунок 30). Отдельные стадии реакции, по-видимому, включают восстановление двух структурных фрагментов в соединении **1**: пиридиниевого катиона [1a] и кето-группы [1b] с последующей дегидратацией и образованием в качестве интермедиата

незамещенной 12*H*-пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндольной гетероциклической системы (2). В качестве восстановителя в данных условиях, скорее всего, выступают соответствующие эфиры щавелевой кислоты, присутствующие в реакционной смеси в значительном избытке. Дальнейшее электрофильное ацилирование индольного фрагмента в положение 13 рассматриваемой системы приводит к целевому продукту.

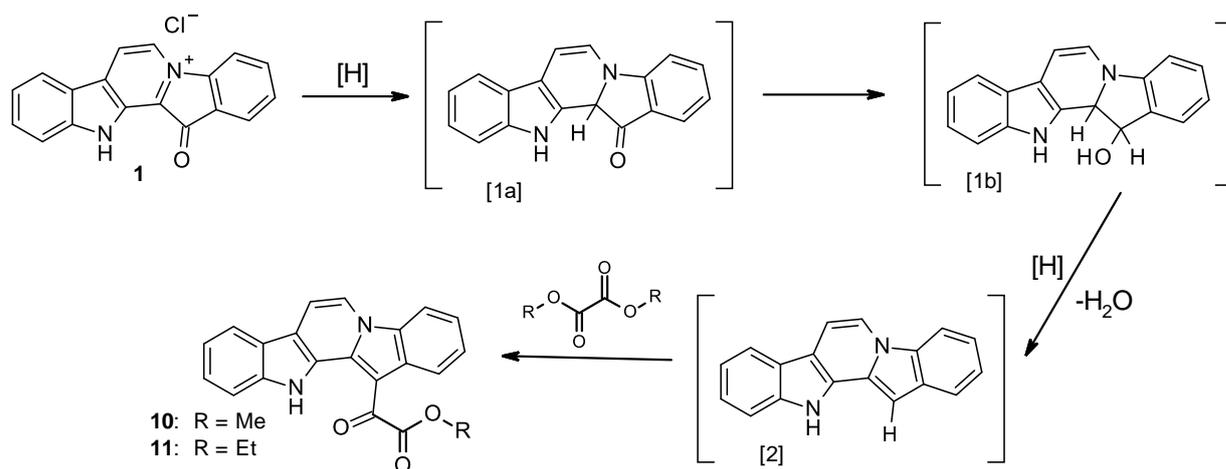


Рисунок 30 – Предполагаемый механизм реакции восстановительного ацилирования фаскаплизина.

Представление о механизме протекающего процесса подтолкнуло нас к разработке методов оптимизации данной реакции.

2.1.1 Оптимизация условий проведения реакции фаскаплизина с диметилowym и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты

Выходы целевых продуктов реакции составляют около 20-30 процентов, что является довольно низким показателем. В настоящее время в органическом синтезе для увеличения выхода целевых соединений используют микроволнового излучения (MW), так как оно обладает широким набором положительных характеристик.

Микроволновая химия возникла на стыке физики и химии [69]. Она включает химические превращения с участием твердых диэлектриков и жидкостей, связанные с использованием энергии микроволнового поля или, как было принято говорить ранее, сверхвысокочастотного поля, то есть СВЧ-

излучения. Это излучение является следствием взаимодействия электрической компоненты электромагнитной волны с заряженными или полярными частицами. В электрическом поле такие частицы упорядочиваются, и если поле осциллирует с высокой частотой, то их ориентация изменяется с каждой осцилляцией. Так, переориентации частиц в фазе, активируемые переменным электрическим полем, вызывают интенсивное внутреннее нагревание.

Существует два основных механизма взаимодействия микроволнового излучения с веществом. Если в конденсированной фазе существуют свободные заряженные частицы, то они будут двигаться в соответствии с изменением электрического поля, создавая электрический ток. Такая ситуация характерна для металлов, графита, где в качестве подвижных заряженных частиц выступают электроны, и для растворов электролитов, где ионы являются носителями заряда. Если фаза содержит полярные молекулы, то они будут ориентироваться в приложенном электрическом поле и переориентироваться при его осцилляциях. Такое движение и соударения молекул в конденсированной фазе обуславливают нагревание. Таким образом, микроволновое нагревание, в отличие от традиционного, является как бы «нагреванием изнутри». Другим свойством микроволнового нагревания является то, что оно не затрагивает неполярные молекулы и такие материалы как кварц, керамика и стекло, не содержащие воду, тефлон, полиэтилен, алканы и др. остаются холодными при облучении. Это позволяет использовать их (кварц, керамика, стекло, тефлон) в качестве посуды для проведения химических реакций, а также в качестве специфической реакционной среды (неполярные растворители), в которой микроволновому нагреванию подвержены только полярные молекулы реагирующих соединений, но не растворителя. Однако применение таких растворителей для проведения реакций под микроволновым излучением является скорее

исключением. Обычно же, для этого используют полярные растворители, эффективно поглощающие микроволновое излучение.

Итак, использование MW-излучения в органическом синтезе позволяет в десятки раз ускорить осуществление многих органических реакций, повысить выход целевого продукта, направить реакцию по нужному пути (с использованием MW-катализа). MW-излучение применяют в органическом синтезе при проведении реакций в условиях нормального давления, а также под повышенным давлением с использованием автоклавов, изготовленных из материалов, прозрачных к MW-полю [70].

2.1.1.1 Взаимодействие фаскаплизина с диметилловым и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты под действие MW

Первый эксперимент был проведен в автоклаве в избытке диметиллоксалата при мощности облучения 30 Вт в течение 5 минут. Показано, что в данных условиях реакция не происходит. После увеличения мощности до 100 Вт по данным ТСХ наблюдали образование целевого продукта с небольшой примесью. Полное время протекания реакции составило 30 минут, при этом отбор проб осуществлялся через каждые 5 минут. Затем эту же смесь поместили в автоклав еще на 30 минут. По данным ТСХ увеличение содержания целевого продукта не происходит.

Следующий эксперимент был проведен при 150 Вт при том же мольном соотношении исходных реагентов в течение 1-го часа 30 минут. Отбор проб осуществляли через каждые 30 минут. По данным ТСХ наряду с основным продуктом реакции наблюдали образование значительного количества ранее неизвестного побочного продукта **88**. При этом соотношение целевого (**10**) и побочного (**88**) продуктов после увеличения времени протекания реакции не изменяется. Повторили опыт при увеличенной загрузке исходных реагентов при 150 Вт в течение 30 минут. После выделения методом ПТСХ на закрепленном слое сорбента получили целевой гомофаскаплизин В (14 %) и неизвестный продукт (**88**) оранжевого

цвета. Для установления структуры соединения **88** были получены данные ЯМР-спектроскопии (^1H , ^{13}C) и масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС).

В масс-спектре соединения **88** (рисунок 31) присутствует пик молекулярного иона $(\text{M}+\text{H})^+$ с m/z 357. Наблюдаемое значение m/z соответствует внедрению в структуру целевого гомофаскаплизина В метильного фрагмента.

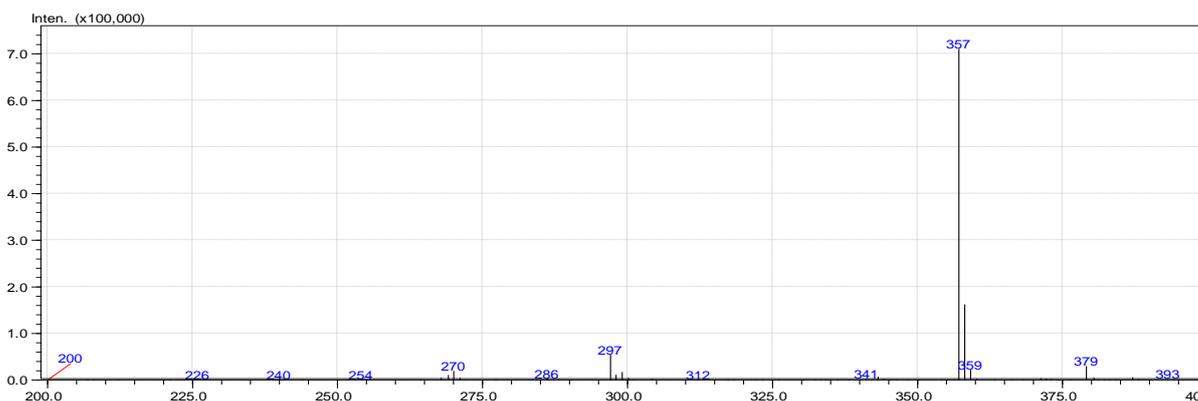


Рисунок 31 – Масс – спектр соединения **88**

Соотнесение спектров соединения **88** со спектрами гомофаскаплизина В (**10**), позволяют выявить следующие отличия в его структуре. В спектре ЯМР ^{13}C (рисунок 32) присутствуют сигналы 22 атомов углерода, что говорит о появлении дополнительного сигнала углерода, который мы наблюдаем в сильном поле при 35,4 м.д. Также в спектре присутствуют сигналы атомов углерода карбонильной (178,1 м.д.) и сложноэфирной (166,5 м.д.) групп, а также метильного заместителя при 53,0 м.д. Остальные сигналы наблюдаются в области резонанса ароматических атомов углерода и точное отнесение для них провести нельзя.

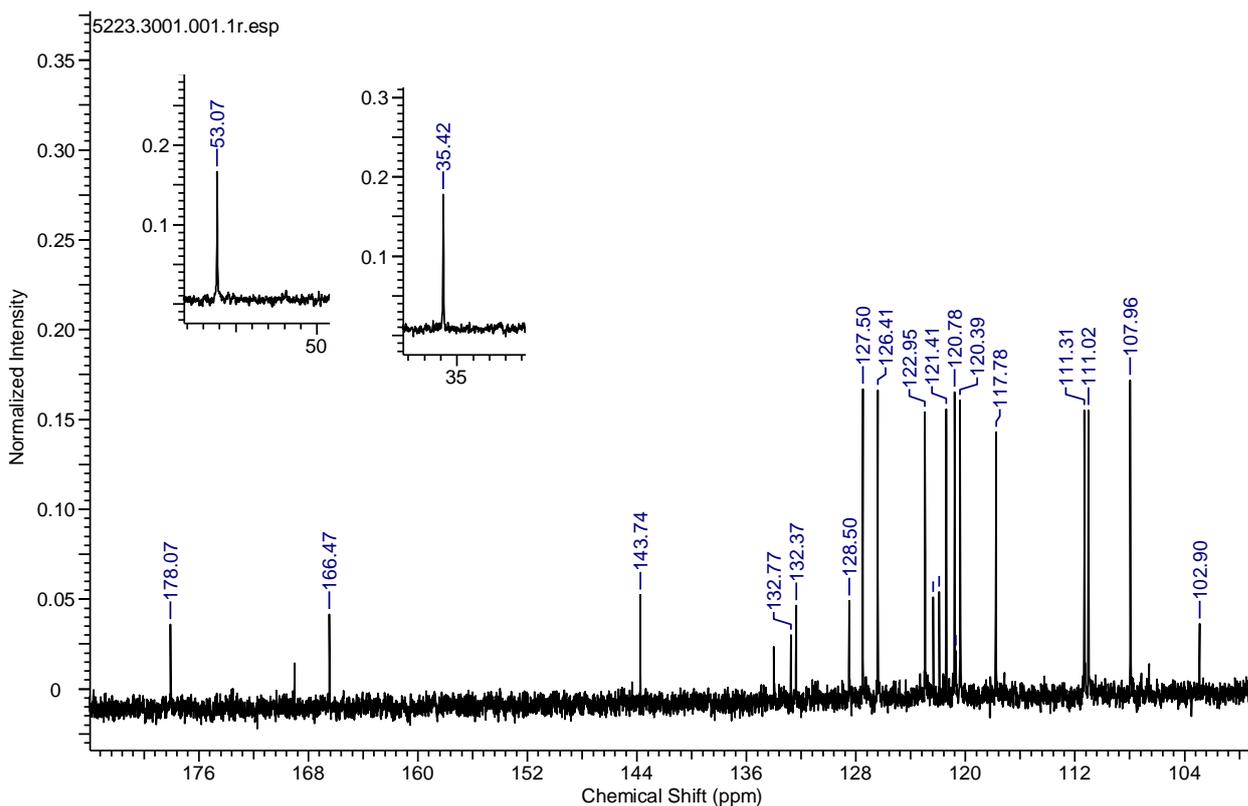


Рисунок 32 – ЯМР ^{13}C спектр соединения **88**

В спектре ЯМР ^1H соединения (рисунок 33) общая интегральная интенсивность соответствует 12 протонам. Уширенный синглет, соответствующий сигналу протона NH-группы, в слабом поле отсутствует. В сильном поле наблюдаем наличие сигналов двух метильных групп при 4.00 м.д. и 3.97 м.д. Также в данном спектре присутствуют четыре триплета и четыре дублета, которые не могут быть точно соотнесены из-за частичного наложения сигналов.

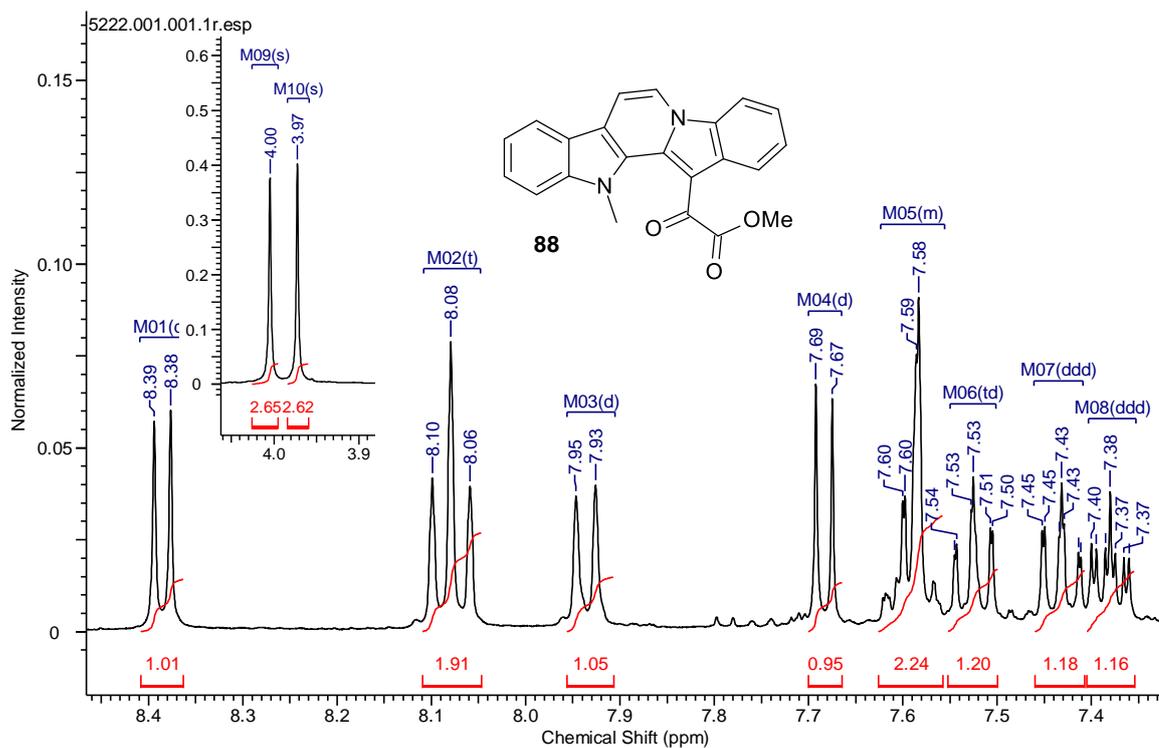


Рисунок 33 – ЯМР ^1H спектр соединения **88**

Таким образом, из-за отсутствия сигнала NH-группы в спектре ПМР, а также основываясь на данных спектра ЯМР ^{13}C , можно заключить, что в найденных нами условиях наряду с основной реакцией протекает процесс метилирования по атому азота и полученному продукту **88** соответствует структура метил-2-оксо-2-(12-метил-12*H*-пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*']дииндол-13-ил)ацетата. Выход соединения **88** составил 52 %.

В случае проведения реакции в автоклаве с избытком диэтилового эфира щавелевой кислоты в течение 30 минут при 150 Вт показано, что реакция не происходит. Возможно, это связано с меньшей реакционной способностью диэтилового эфира по сравнению с диметиловым эфиром щавелевой кислоты.

2.1.1.2 Изучение влияния восстановителей на исследуемую реакцию

Как следует из предполагаемого нами механизма (стр. 43, рис. 30), данная реакция является восстановительной, но на начальном этапе мы проводили ее без внедрения дополнительных восстановителей. Поэтому для увеличения выхода в изучаемой реакции было решено ввести в реакцию

доступные восстановители. Практически все использованные нами соединения представляют собой либо соли, либо металлы, поэтому целесообразно было проводить реакцию при нагревании в автоклаве во избежание негативных побочных процессов, свойственных реакциям под действием микроволнового излучения. Реакции с фаскаплизином проводили в присутствии диметилового эфира щавелевой кислоты и 10-кратного избытка восстановителя в автоклаве при 200 °С в течение получаса. Среди изученного набора реагентов только гидрохинон (далее ГХ) имеет не ионную структуру, что позволило провести реакцию с ним под действием микроволнового излучения. Условия и результаты экспериментов сведены в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние различных восстановителей на протекание реакции восстановительного ацилирования фаскаплизина

№	Восстановители	Условия	Результат
1	NaBH ₄	Автоклав	Реакция не идет
2	Na ₂ S ₂ O ₃	200°С 30 минут	Образуется смесь продуктов гомофаскаплизина В (10) (30 %) и соединения 89 (22 %)
3	Na ₂ SO ₃		Образуется смесь продуктов в следовых количествах
4	FeSO ₄ ·7H ₂ O		Реакция не идет
5	KI		Образуется новый продукт, не выделен
6	LiAlH ₄		Образуется смесь продуктов в следовых количествах
7	Pd/C/H ₂		Реакция не идет
8	Ni(Re)/N ₂ H ₄		Образуется смесь продуктов в следовых количествах
9	Гидрохинон	MW 100 Вт 30 минут	Образуется гомофаскаплизин В (10), выход 52 %

В рамках проведенных экспериментов значимые результаты были получены при использовании тиосульфата натрия и ГХ. Оба опыта были проведены повторно при увеличенной загрузке реагентов. В случае использования ГХ выход гомофаскаплизина В удалось увеличить до 52 %. При проведении исследуемой реакции в присутствии тиосульфата натрия получили два продукта: гомофаскаплизин В (**10**) с выходом 30 % и ранее неизвестное соединение **89** (рисунок 34). Для соединения **89** были получены спектры ЯМР ^1H и ^{13}C .

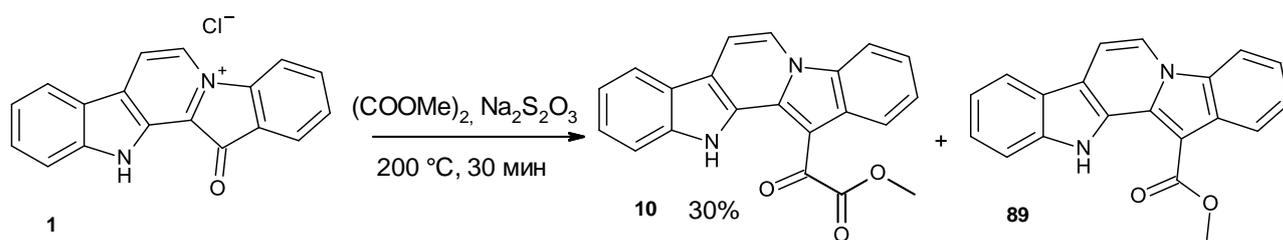


Рисунок 34 – Взаимодействие фаскаплизина (**1**) с диметилноксалатом в присутствии тиосульфата натрия

Соотнесение спектров соединения **89** со спектрами гомофаскаплизина В (**10**), позволяет выявить следующие отличия в его структуре.

В спектре ЯМР ^1H соединения **89** (рисунок 35) общая интегральная интенсивность соответствует 12 протонам. Уширенный синглет при 12.04 м.д. соответствует сигналу протона NH-группы. Сигнал протонов метильной группы находится в сильном поле при 4.07 м.д. Также в данном спектре присутствуют два триплета и восемь дублетов, для которых точное соотнесение сигналов сделать не удалось.

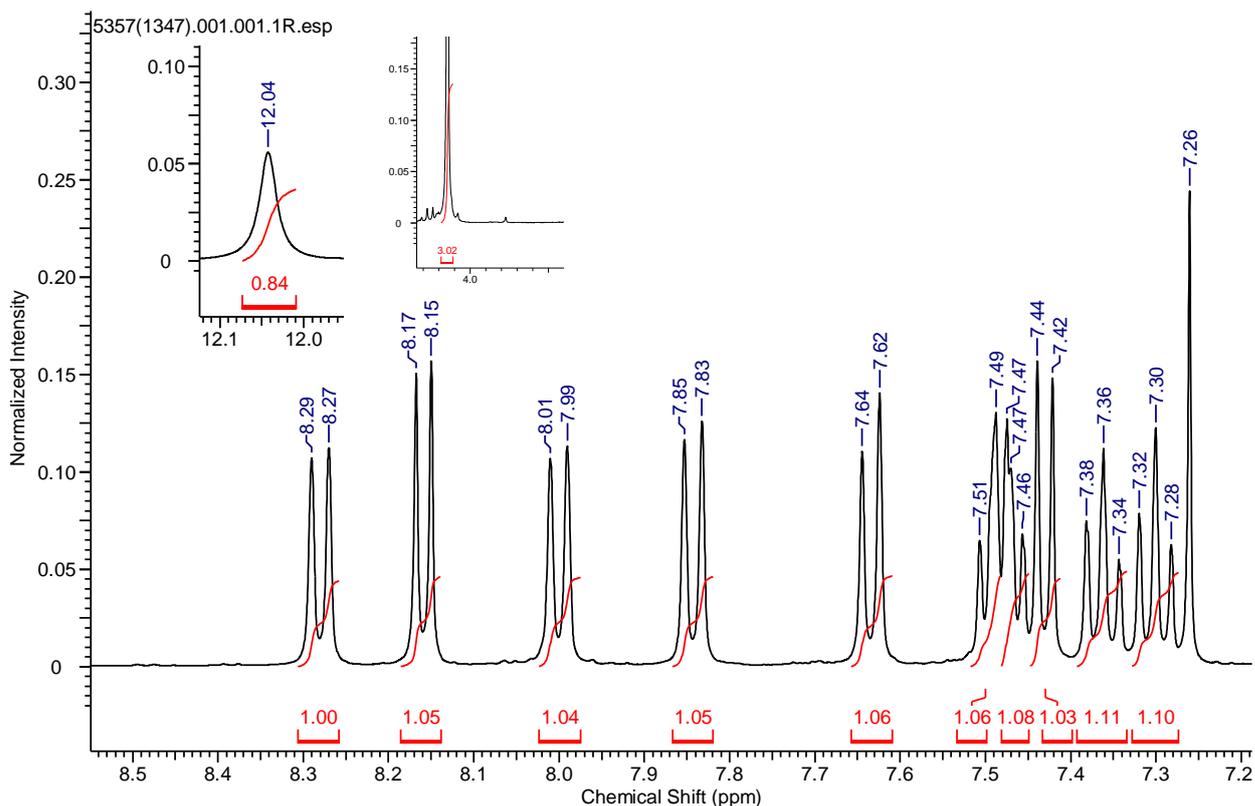


Рисунок 35 – ЯМР ¹H спектр соединения **89**

В спектре ЯМР ¹³C (рисунок 36) присутствуют сигналы 20 атомов углерода. В нем отсутствует сигнал карбонильного углерода. При этом сигналы сложноэфирной группы (167,9 м.д.) и метильного заместителя (51,3 м.д.) сохранились. Остальные сигналы наблюдаются в области резонанса ароматических атомов углерода и точное отнесение для них без применения специальных методов провести нельзя.

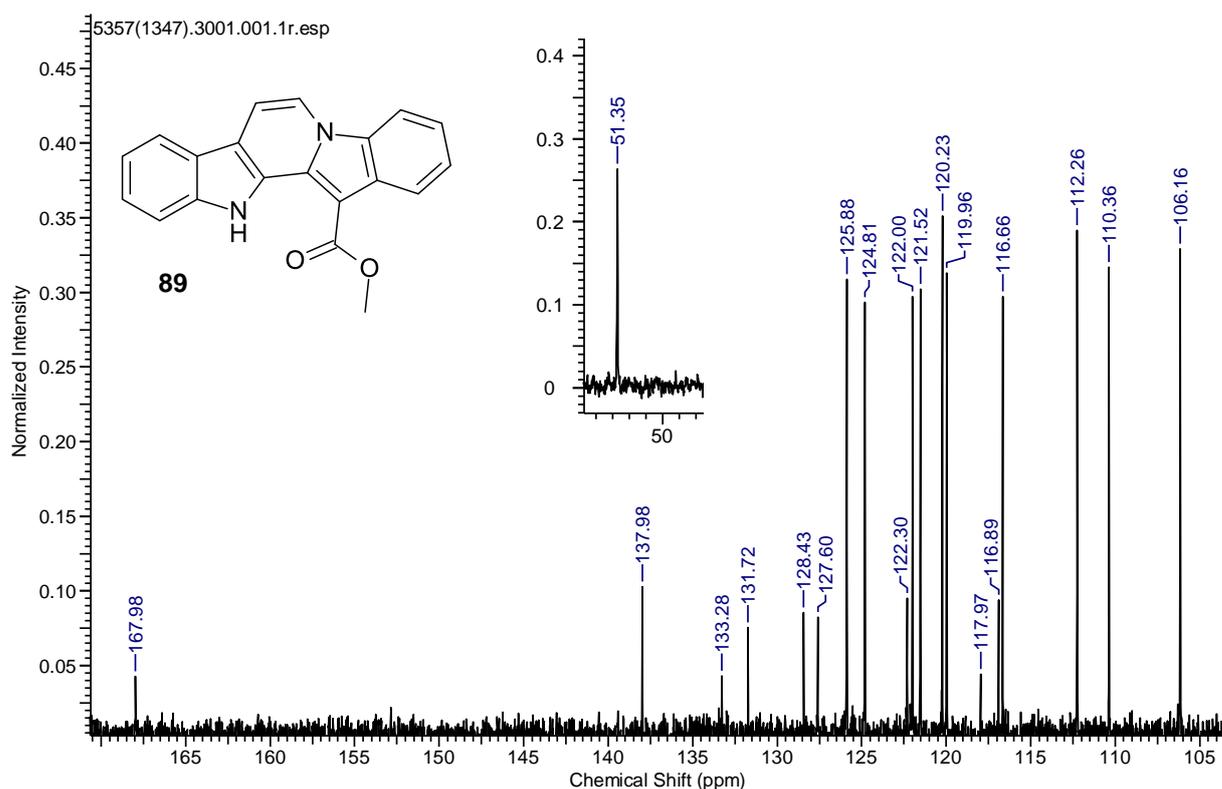


Рисунок 36 – ЯМР ^{13}C спектр соединения **89**

Таким образом, основываясь, с одной стороны, на сходстве спектров соединения **89** с аналогичными данными гомофаскаплизина В, а с другой, на отсутствии в спектре ЯМР ^{13}C характерного сигнала атома углерода карбонильной группы, можно предположить, что наряду с целевым гомофаскаплизином В в данном случае имело место образование метил-12*H*-пиридо[1,2-*a*:3,4-*b'*]дииндол-13-карбоксилата – продукта формального декарбонилирования гомофаскаплизина В с выходом 22 %.

2.1.2 Первый синтез 3-бромгомофаскаплизинов В и В-1

Далее задачей нашего исследования было осуществить первый синтез алкалоидов 3-бромгомофаскаплизинов В (**12**) и В-1 (**13**). Поскольку они являются природными производными гомофаскаплизинов В (**10**) и В-1 (**11**), мы можем осуществить их первый синтез исходя из 3-бромфаскаплизина (**4**) и соответствующих эфиров щавелевой кислоты в разработанных нами условиях.

Для начала нам необходимо было получить 3-бромфаскаплизин, необходимый в качестве исходного соединения. Он был наработан по методу

из работы [62], который который ранее был использован для синтеза незамещенного фаскаплизина (рисунок 37) [71].

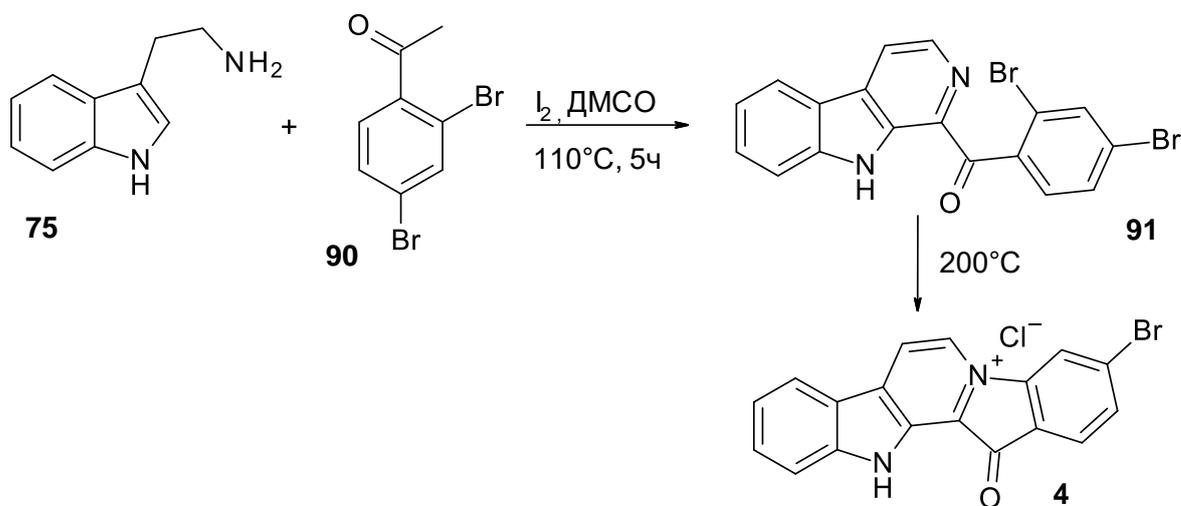


Рисунок 37 – Схема синтеза 3-бромфаскаплизина (4) из триптамина (75) и 2,4-дибромацетофенона (90)

Для получения 3-бромгомофаскаплизина В (12) и В-1 (13) из 3-бромфаскаплизина (4) были использованы лучшие условия отработанные ранее для синтеза гомофаскаплизинов В и В-1. Реакцию проводили в избытке соответствующих эфиров в присутствии 1,4-дигидрохинона в автоклаве при температуре $200^\circ C$ в течение 30 минут (рисунок 38). По результатам ТСХ наблюдали образование нового продукта, который был выделен методом ПТСХ на закрепленном слое сорбента, однако в силу его неустойчивости структуру полученного соединения установить не удалось.

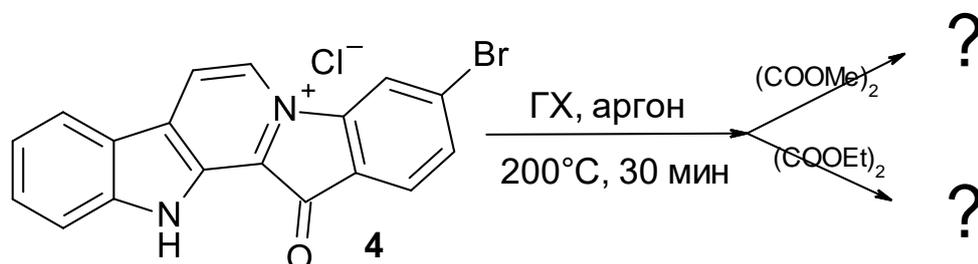


Рисунок 38 – Схема взаимодействия 3-бромфаскаплизина (4) с диметил- и диэтилоксалатами в присутствии гидрохинона

Поскольку с использованием ГХ нужный продукт не образуется, то дальнейшую работу проводили без участия восстановителя. В результате, 3-

бромфаскаплизин (**4**) ввели в реакцию с избытком диметилового эфира щавелевой кислоты под действием микроволнового излучения. Показано, что наряду с ожидаемым продуктом **12** в смеси присутствуют сопоставимые количества гомофаскаплизина В (**10**) (рисунок 39). Можно предположить, что в данных условиях процесс восстановительного ацилирования сопровождается дегалогенированием пиридоиндольной структуры.

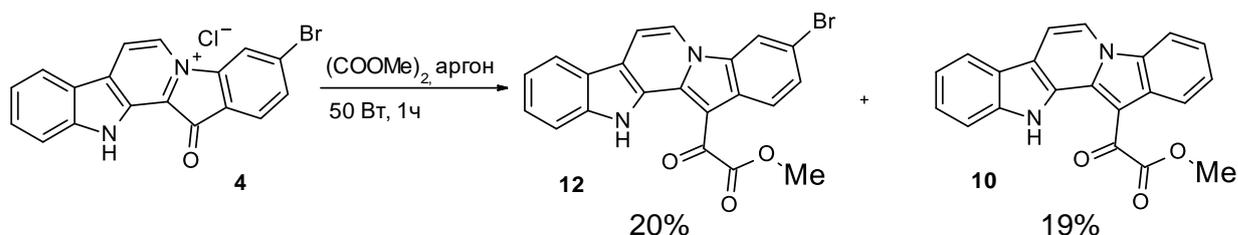


Рисунок 39 – Схема взаимодействия 3-бромфаскаплизина с диметилловым эфиром щавелевой кислоты

При проведении реакции с диэтиловым эфиром щавелевой кислоты в аналогичных условиях соединение **13** образуется лишь в следовых количествах. Увеличение мощности облучения не привело к росту выхода целевого продукта **13**. В результате реакцию проводили при нагревании до 200 °С в избытке соответствующего сложного эфира в инертной атмосфере в течение 2 часов (рисунок 40). Были получены продукты **12** и **13** с выходами 24 % и 23 % соответственно.

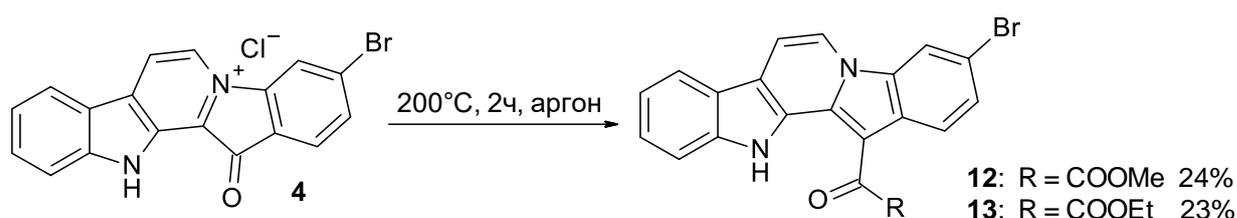


Рисунок 40 – Схема взаимодействия 3-бромфаскаплизина (**4**) с диметилловым и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты

Строение полученных соединений было доказано на основании анализа данных масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии.

В масс-спектре прямого ввода реакционной смеси, полученной после взаимодействия 3-бромфаскаплизина (**4**) с диметилксалатом, присутствует

ожидаемый кластер пиков молекулярного иона $[M+H]^+$ с m/z 421/423, обусловленный наличием в структуре атома брома (рисунок 41).

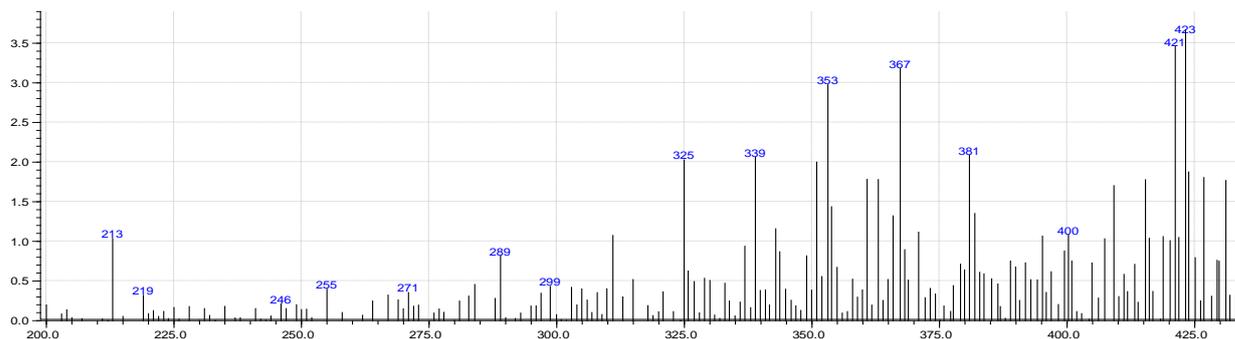


Рисунок 41 – Масс-спектр реакционной смеси после взаимодействия 3-бромфаскаплизина с диметилноксалатом.

В спектрах ПМР полученных продуктов присутствуют характеристичные сигналы основных структурных фрагментов целевых соединений. В качестве примера на рисунке 42 приведен спектр ЯМР 1H 3-бромгомофаскаплизина В-1 (**13**). В представленном ниже спектре сигнал протона индольного NH наблюдается в виде уширенного синглета при 12.36 м.д. Также в спектре присутствуют сигналы этильного фрагмента в виде квартета при 4.59 м.д. и триплета при 1.50 м.д. В области резонанса ароматических протонов наблюдаются сигналы девяти атомом, точное отнесение которых не может быть выполнено из-за их частичного перекрывания.

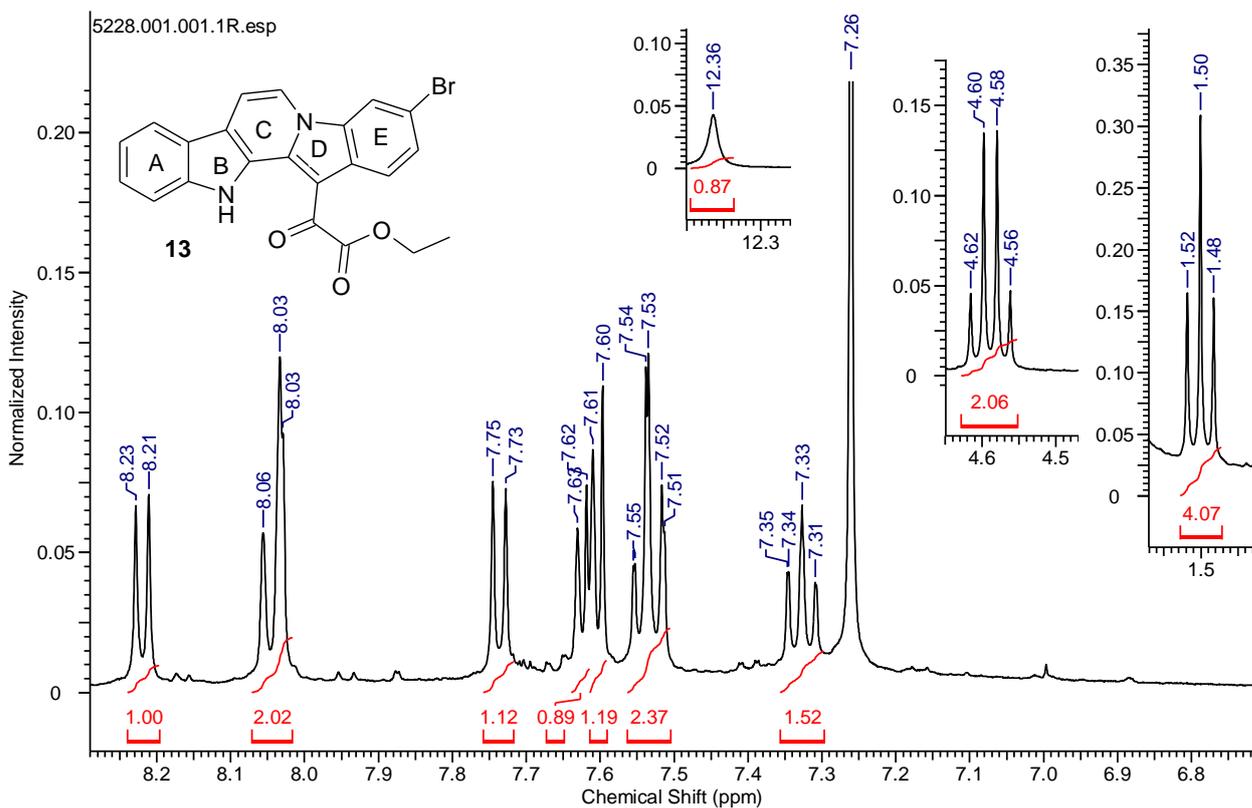


Рисунок 42 – ЯМР ^1H спектр соединения **13**

В спектре ЯМР ^{13}C соединения **13** (рисунок 43) присутствуют сигналы 22 атомов углерода, из которых характеристичными являются сигналы карбонильной группы при 178.1 м.д., сложноэфирной группы при 168.8 м.д., этильного фрагмента при 62.3 м.д и 29.7 м.д. На основании этого мы считаем строение полученных продуктов доказанным.

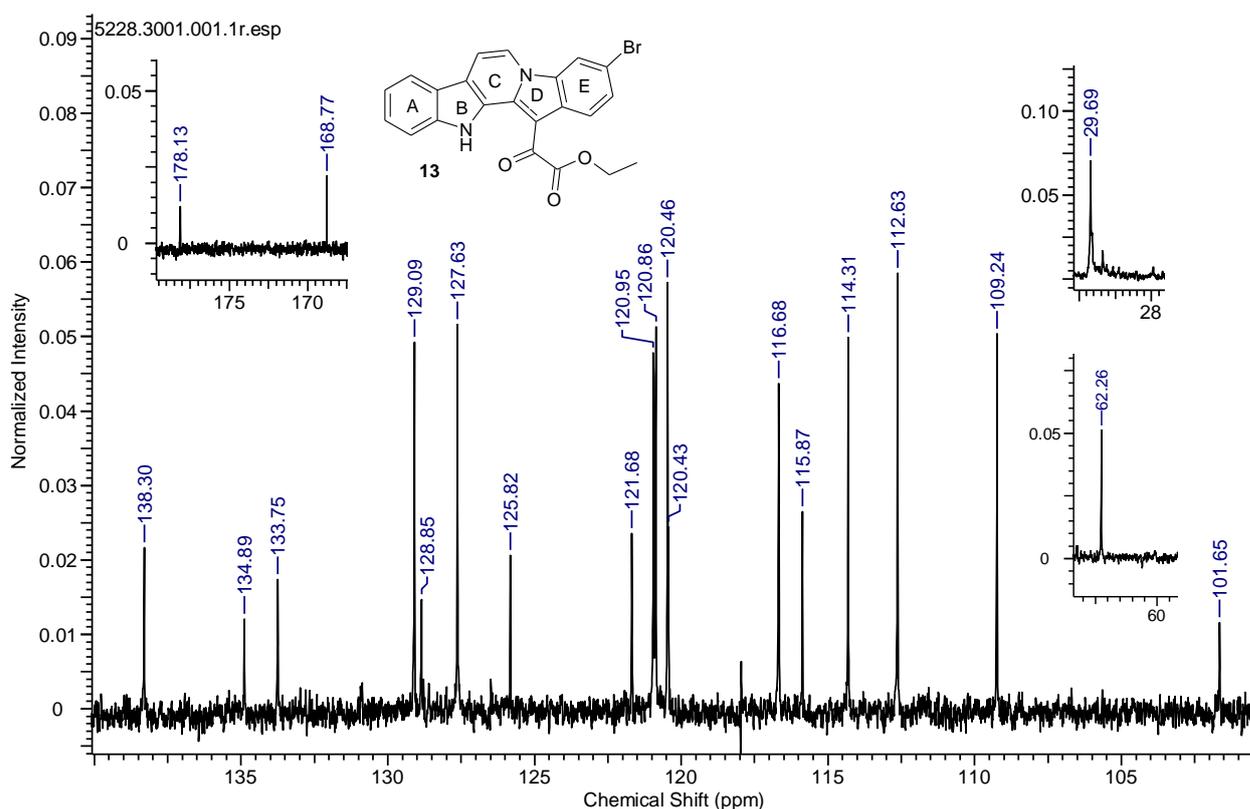


Рисунок 43 – ЯМР ^{13}C спектр соединения **13**

После наработки необходимых количеств полученные соединения гомофаскаплизин В (**10**), гомофаскаплизин В-1 (**11**), 3-бромгомофаскаплизин В (**12**) и 3-бромгомофаскаплизин В-1 (**13**) были переданы для проведения биологических испытаний в Лабораторию молекулярной и клеточной нейробиологии Школы биомедицины Дальневосточного федерального университета. Результаты предварительных испытаний *in vitro* методом проточной цитометрии показали, что гомофаскаплизин В (**10**) и 3-бромгомофаскаплизин В-1 (**13**) индуцируют гибель опухолевых клеток глиомы С6. Через 48 ч наблюдения доля живых клеток в среде, содержащей соединения **10** и **13** составляла 84,0% и 84,5% (1 мкМ), 68,2% и 69,3% (1,5 мкМ). Результаты фаскаплизина в аналогичных условиях составили 77,7% (1 мкМ) и 67,4% (1,5 мкМ).

2.1.3 Синтез гомофаскаплизина С

Полученная реакция восстановительного ацилирования фаскаплизина в присутствии эфиров щавелевой кислоты обеспечила доступность

гомофаскаплизина В для всестороннего изучения. Это, в свою очередь, позволило получить алкалоид гомофаскаплизин С (**14**) путем гидролиза сложноэфирной группы гомофаскаплизина В (**10**) с последующим декарбоксилированием под действием щелочи в смеси тетрагидрофурана и воды в течение двух суток (рисунок 44). Выход целевого соединения составил 50%. Для подтверждения структуры спектральные характеристики полученного образца сравнили с известным в литературе для гомофаскаплизина С.

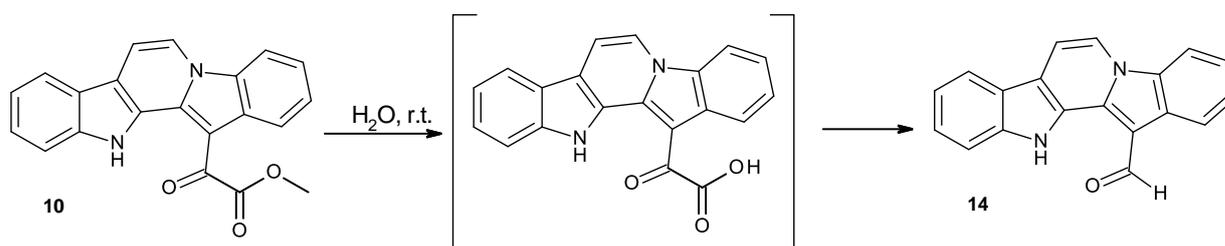


Рисунок 44 – Схема синтеза гомофаскаплизина С (**14**)

Предварительные испытания полученного гомофаскаплизина С в отношении серии опухолевых клеток рака простаты человека, а также неопухолевых клеток выявили наличие значительной селективности его действия по отношению к опухолевым клеткам (таблица 2).

Таблица 2 – Сравнительная оценка цитотоксического действия фаскаплизина и гомофаскаплизина С

Культура клеток		IC ₅₀ , μM	
опухолевая	неопухолевая	фаскаплизин	Гомофаскаплизин С
DU145		0,7984	6,38
LNCaP		0,4088	10,60
	PNT2	0,4566	>50
	HEK293	0,4576	>50

2.1.4 Исследования в области синтеза серии производных гомофаскаплизина В

Полученные выше результаты биологических испытаний показали перспективность изучения данной группы алкалоидов. Следовательно, следующая задача, которая встала перед нами – это расширение линейки производных гомофаскаплизинов В и С исходя из соответствующим образом замещенных фаскаплизинов. Для ее решения была наработана серия ранее полученных производных фаскаплизина, которая включала 6-метил-, 6-фенил-, 9-бром-, 2-бромфаскаплизины, а также 9-иодфаскаплизин в количествах, необходимых для проведения дальнейших исследований.

2.1.4.1 Синтез 6-метилфаскаплизина (91) и 6-фенилфаскаплизина (92):

Производные фаскаплизина по шестому положению, а именно 6-метилфаскаплизин (91) и 6-фенилфаскаплизин (92) получали по методу [61] с использованием α -метилтриптамина (75a) и α -фенилтриптамина (75b) (рисунок 45). Синтезы данных исходных соединений исходя из изатина описаны в литературе [72].

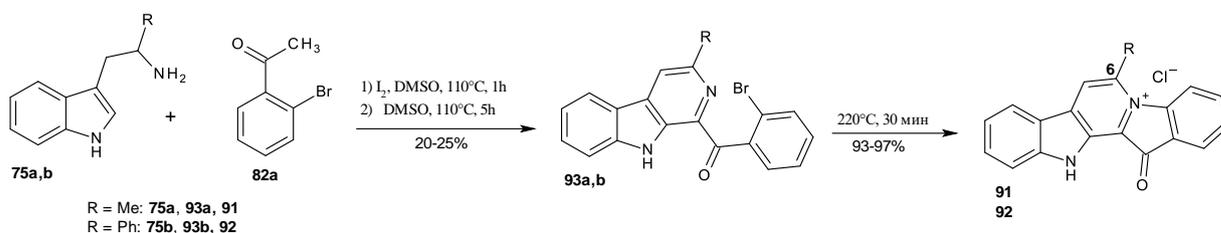


Рисунок 45 – Схема синтеза 6-метилфаскаплизина (91) и 6-фенилфаскаплизина (92)

Полученные соединения были выделены и их строение подтверждено с помощью ЯМР-спектроскопии.

В спектре ЯМР ^1H соединения 91 общая интегральная интенсивность соответствует 12 протонам (рисунок 46). Сигналы протонов интенсивностью 8 Н в области 7.43–8.36 м.д. соответствуют сигналам ароматических протонов двух 1,2-дизамещенных фенильных фрагментов. Синглет с интенсивностью 1 Н при 8.76 м.д. соответствует протону при седьмом атоме

углерода. Синглет интенсивностью 3 Н при 3.40 м.д. соответствуют метильному заместителю в шестом положении.

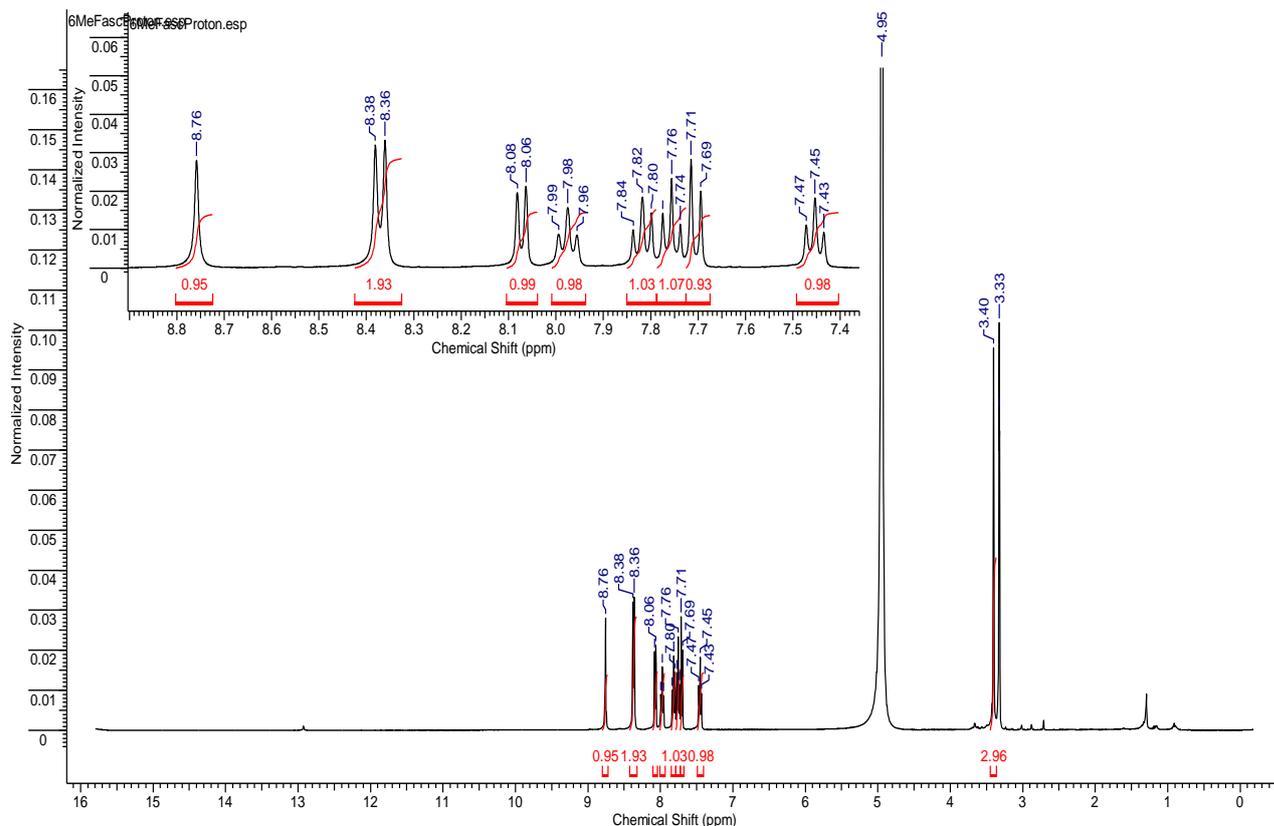


Рисунок 46 – ЯМР ^1H -спектр 6-метилфаскаплизина (**91**)

В спектре ЯМР ^{13}C соединения **91** общее количество сигналов соответствует 19 атомам углерода (рисунок 47). Сигнал при 183.8 м.д. принадлежит атому углерода карбонильной группы. Сигнал при 23.4 м.д. соответствуют сигналу атома углерода метильного заместителя фрагмента. Остальные сигналы принадлежат атомам углерода из ароматических циклов молекулы.

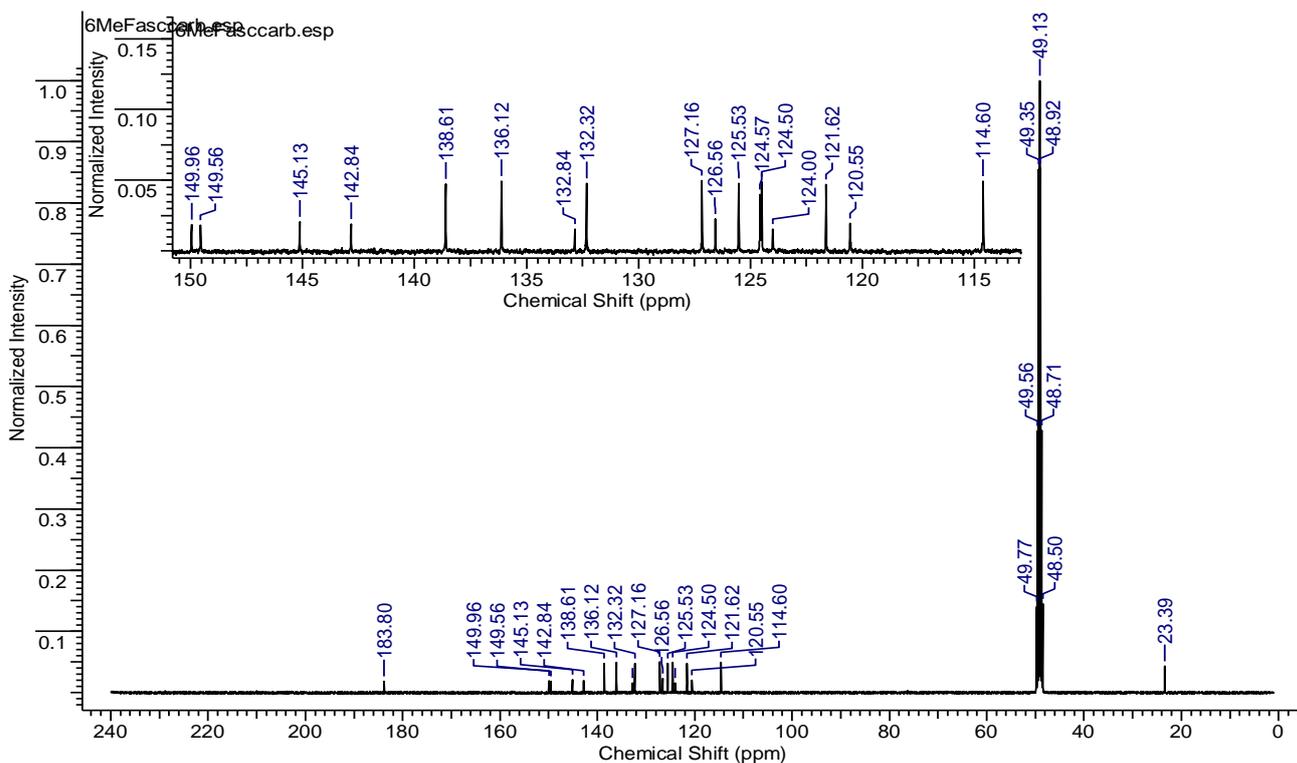


Рисунок 47 – ЯМР ^{13}C -спектр 6-метилфаскаплизина (**91**)

В спектре ЯМР ^1H соединения **92** сигналы протонов интенсивностью 14 Н в области 6.48 – 8.47 м.д. соответствуют сигналам ароматических протонов двух 1,2-дизамещенных фенильных фрагментов и фенильного заместителя по положению 6. Синглет с интенсивностью 1 Н при 8.86 м.д. соответствует протону в седьмом положении (рисунок 48).

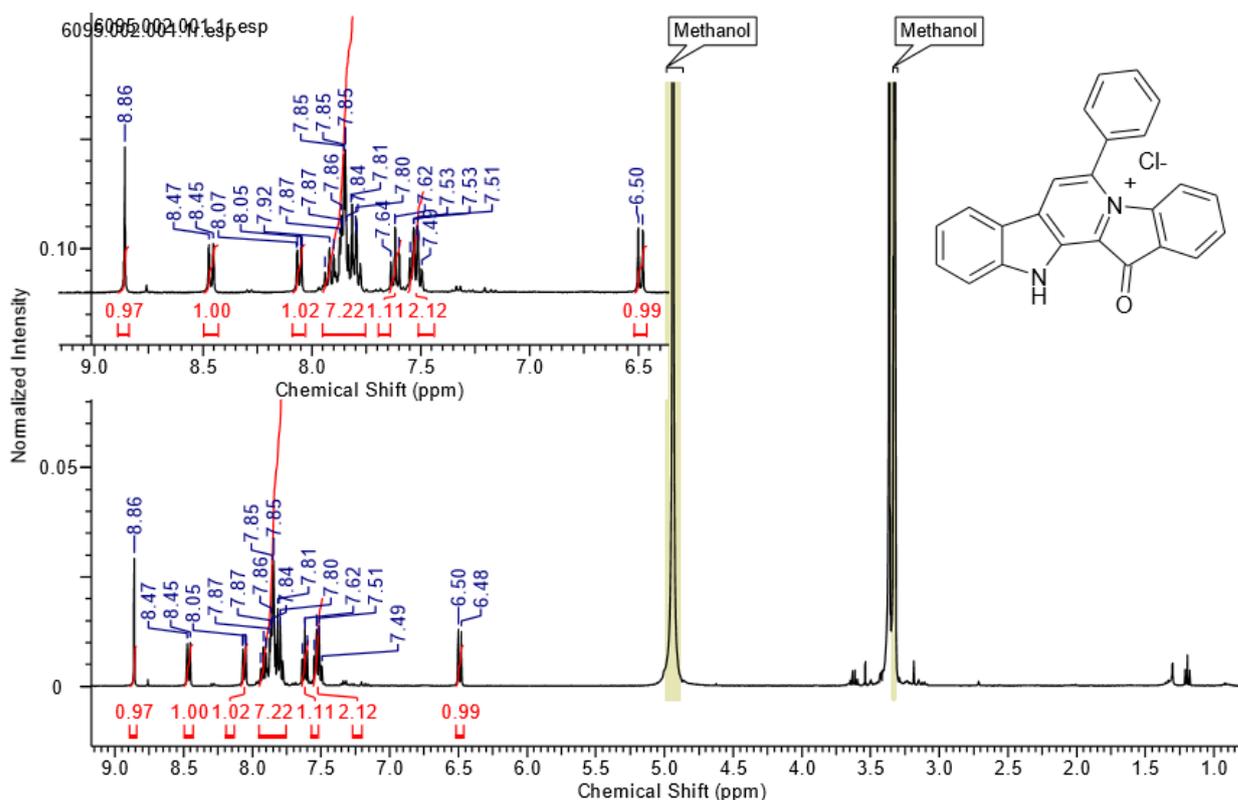


Рисунок 48 – ЯМР ¹H-спектр 6-фенилфаскаплизина (**92**)

В спектре ЯМР ¹³C соединения **92** общее количество сигналов соответствует 24 атомам углерода (рисунок 49). Сигнал при 183.8 м.д. принадлежит атому углерода карбонильной группы. Характеристичные сигналы с удвоенной интенсивностью при 131.1 и 130.8 м.д. соответствуют двум эквивалентным атомам углерода в *орто*- и двум эквивалентным атомам углерода в *мета*-положениях фенильного заместителя. Остальные сигналы принадлежат оставшимся атомам углерода пиридоиндольной системы и фенильного заместителя.

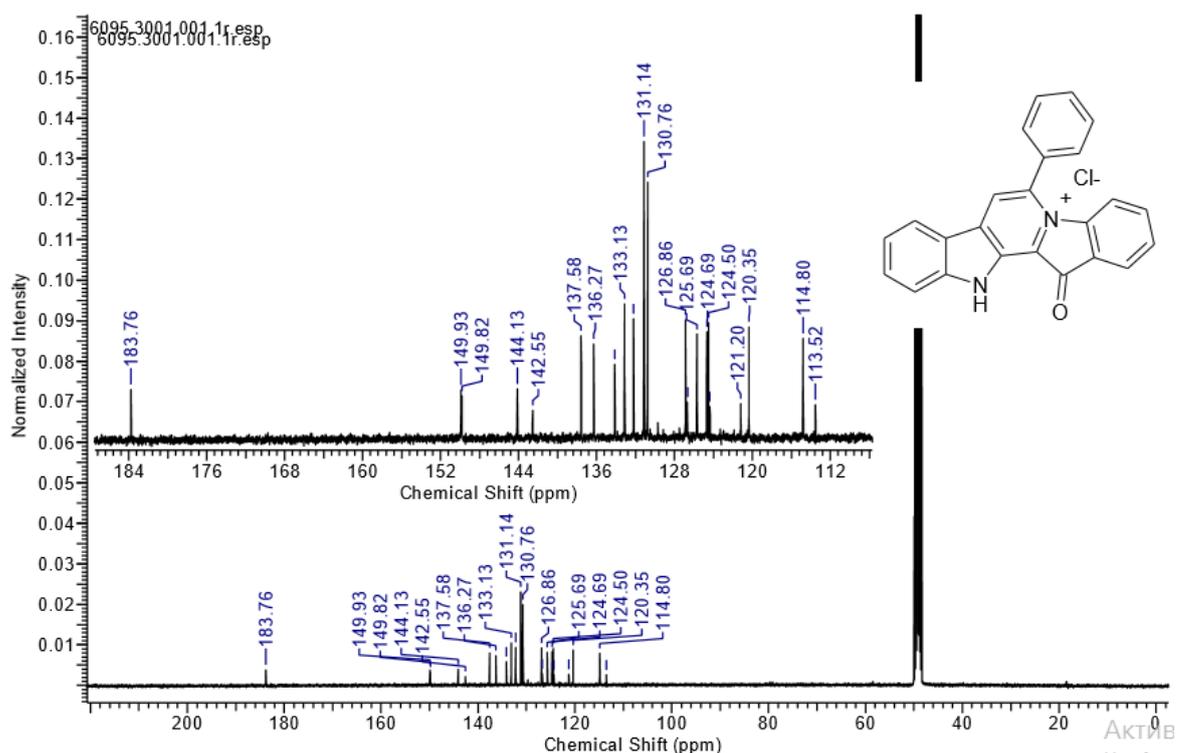


Рисунок 49 – ЯМР ^{13}C -спектр 6-фенилфаскаплизина (**92**)

2.1.4.2 Синтез 9-бромфаскаплизина (**94**) и 9-йодфаскаплизина (**95**):

Соединения **94** и **95** были получены прямым бромированием и йодированием 1-(2'-бромбензоил)- β -карболина (последнее превращение подробно описано следующем разделе) с последующей конверсией в производные фаскаплизина с выходами 58-85% (рисунок 50) [46, 60]. Полученные соединения были выделены в индивидуальном виде и их структуры были подтверждены с помощью ЯМР-спектроскопии.

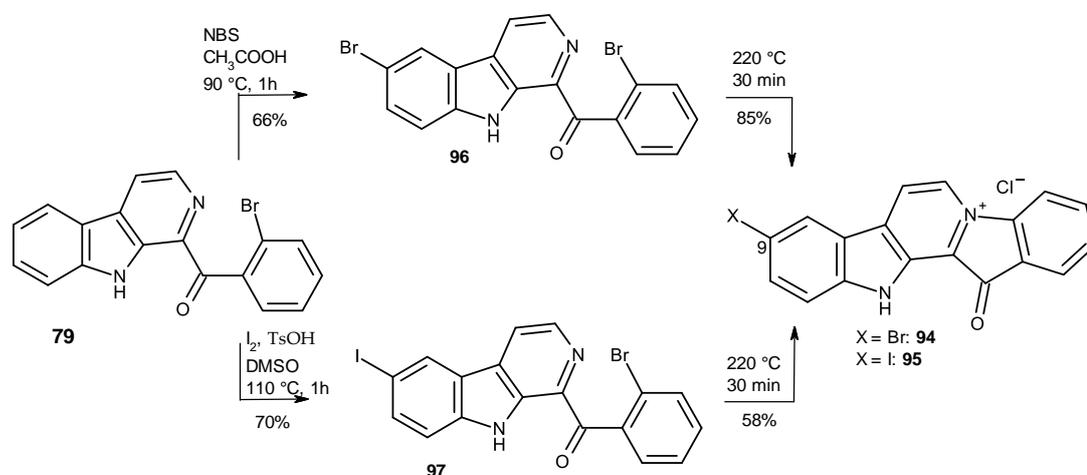


Рисунок 50 – Схема синтеза 9-бромфаскаплизина (**94**) и 9-йодфаскаплизина (**95**)

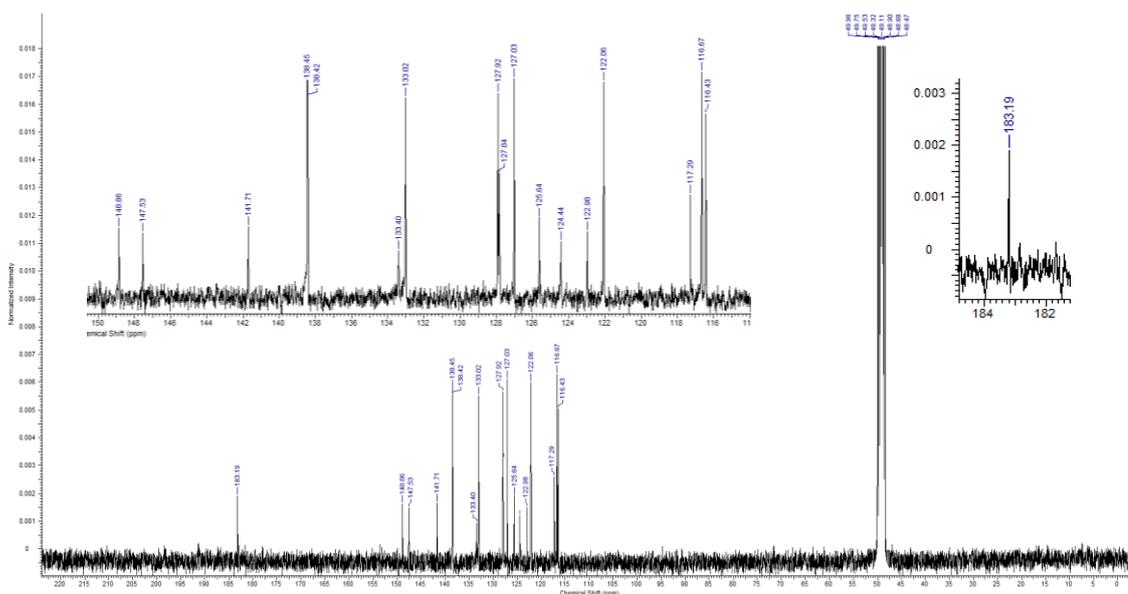


Рисунок 52 – ЯМР ¹³C спектр 9-бромфаскаплизина (**94**)

В спектре ЯМР ¹³C продукта **95** (рисунок 53) присутствует 18 сигналов атомов углерода. 16 сигналов ароматических углеродов располагаются в области 115-147 м.д., сигнал при 181,9 м.д. соответствует карбонильному атому углерода. Сигнал при 85,5 м.д. атому углерода в девятом положении с иодом в качестве заместителя, сдвигающим сигнал в область более сильного поля.

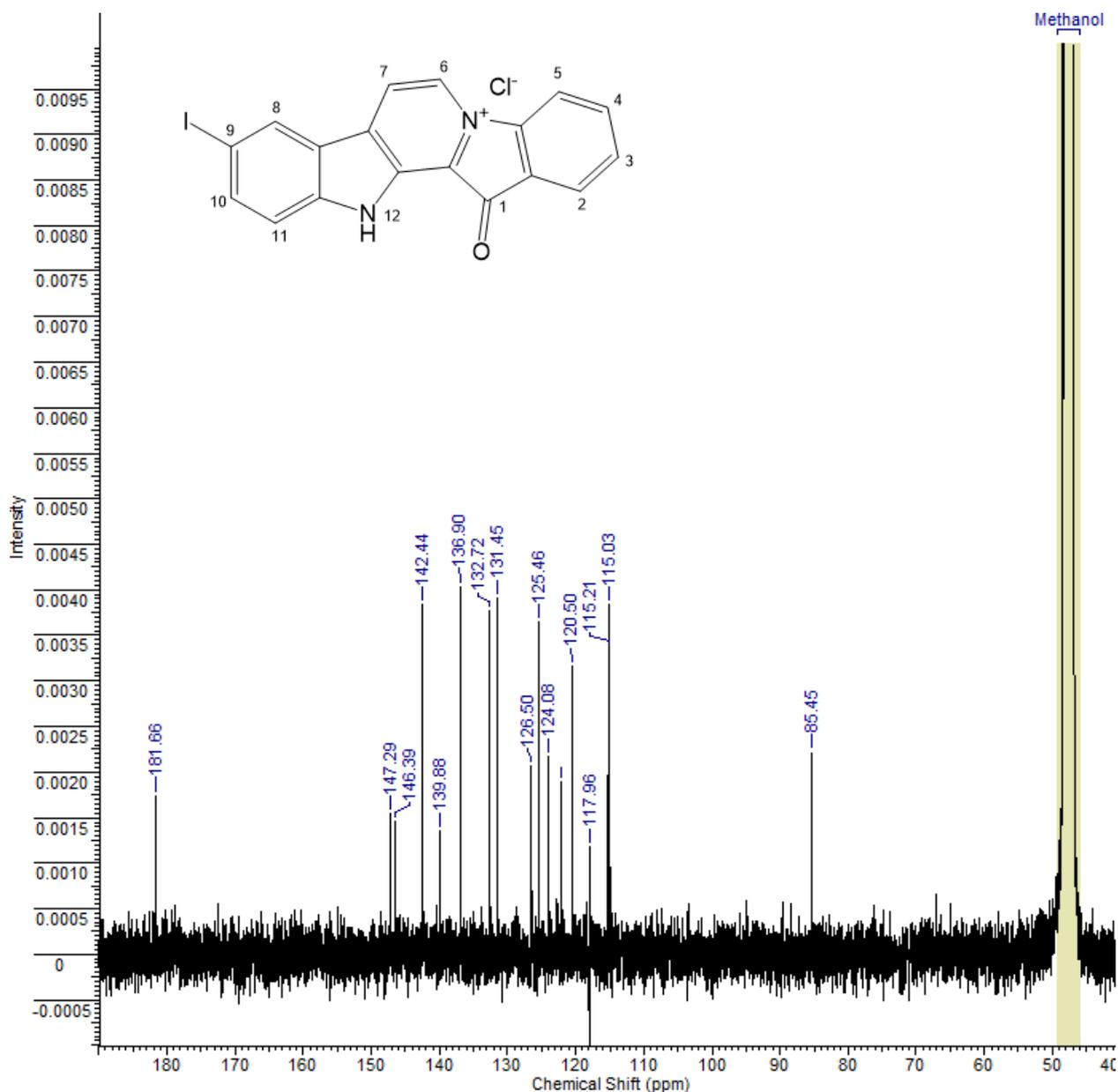


Рисунок 53– ЯМР ¹³C спектр 9-йодфаскаплизина (**95**)

В спектре ЯМР ¹H полученного продукта **95** (рисунок 54) общая интегральная интенсивность соответствует 9 протонам. Два сигнала с интенсивностью по 1H при 9.40 м.д. и 8.96 м.д. соответствуют сигналам протонов Н-6 и Н-7 (сигнал атома Н-6 ожидаемо сдвинут в более слабое поле). Так же в данном спектре присутствует сигнал с интенсивностью 1H при 8.89 м.д., который соответствует сигналу протона Н-8. Два сигнала с интегральной интенсивностью по 1H при 8.05 м.д. и 8.34 м.д. соответствуют сигналам протонов Н-1 и Н-4. Два дуплета с суммарной интегральной интенсивностью 2H при 8.13 м.д. и 7.61 м.д. соответствуют сигналам

протонов Н-10 и Н-11. Два триплета интенсивностью по 1Н при 7.97 м.д. и 7.75м.д. соответственно отвечают сигналам протонов Н-3 и Н-2.

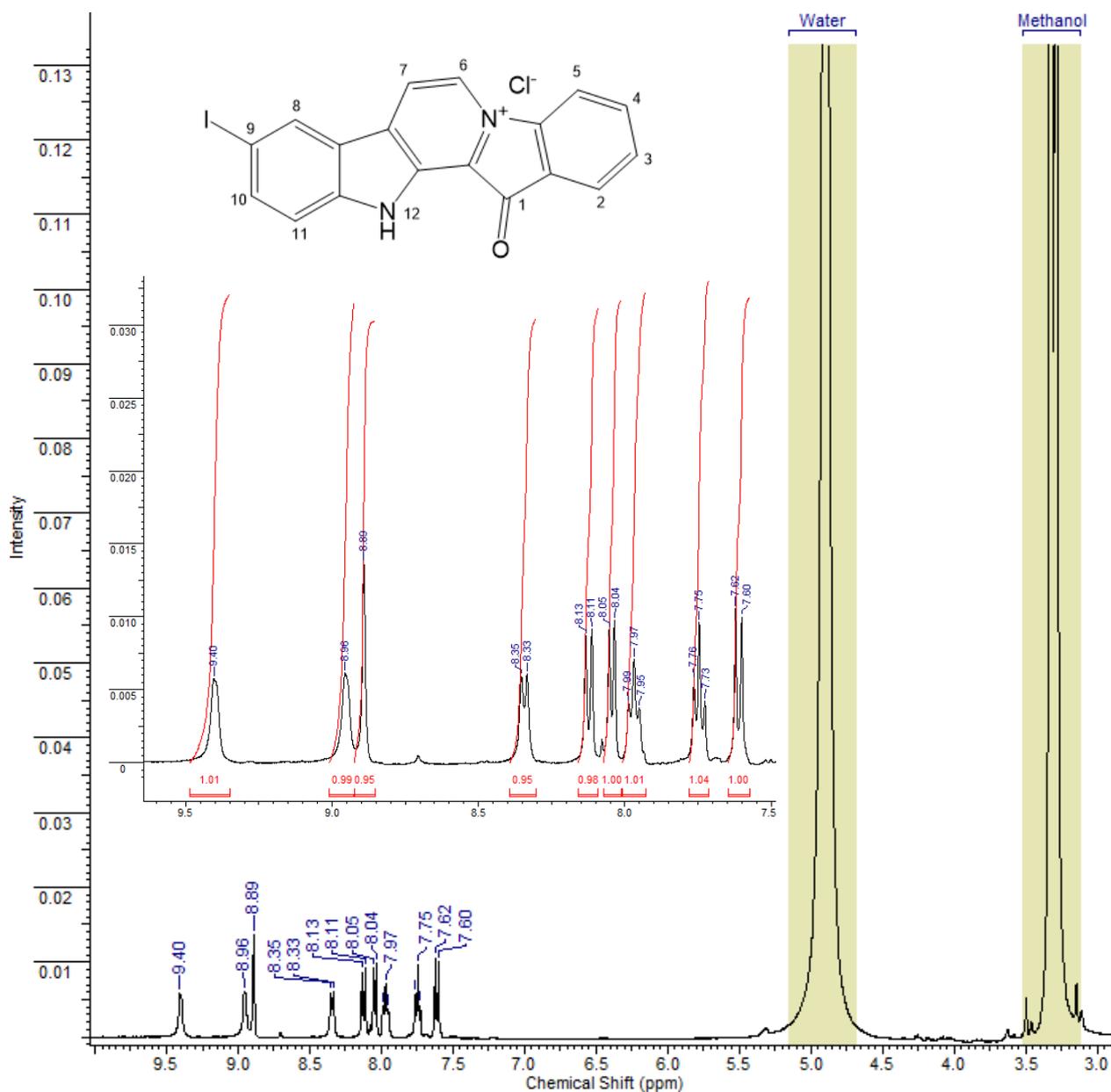


Рисунок 54 – ЯМР ¹Н спектр 9-йодфаскаплизина (95)

Для отнесения сигналов спектр продукта был соотнесен с аналогичными данными, известными в литературе для фаскаплизина (таблица 3, использован один и тот же растворитель MeOH – d₄).

Таблица 3 - Сравнение спектров ЯМР ^1H фаскаплизина (1) и 9-иодфаскаплизина (95)

Номер атома углерода	Литературные данные фаскаплизина	Данные 9-иодфаскаплизина
	^1H	^1H
1a		
1	8.11	8,05
2	7.80	7,75
3	8.03	7,97
4	8.37	8,34
4a		
4b		
6	9.41	9.40
7	9.00	8.96
7a		
7b		
8	8.53	8.89
9	7.59	-
10	7.94	8,13
11	7.86	7.61
11a		
12		
12a		
12b		
13		

2.1.4.3 Синтез 2-бромфаскаплизина (4a)

2-Бромфаскаплизин (**4a**) получали по аналогии с 3-бромфаскаплизином по методу, предложенному Zhu и соавт. [61] из замещенного 2,5-дибромацетофенона и триптамина с последующей конверсией по Радченко [58] (рисунок 55).

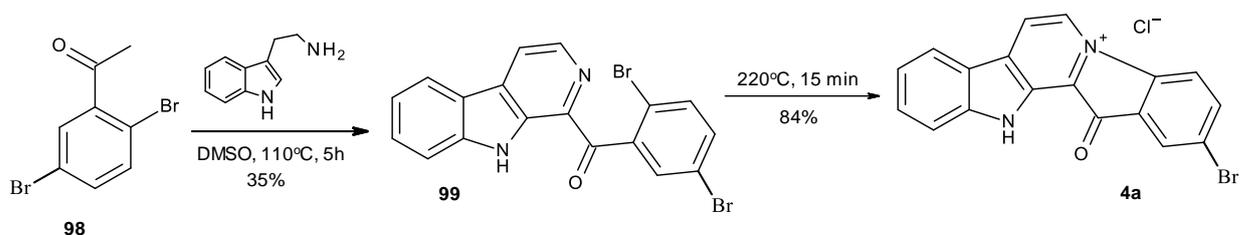


Рисунок 55 – Схема синтеза 2-бромфаскаплизина (4a)

В спектре ЯМР ^{13}C продукта (рисунок 56) присутствует 18 сигналов атомов углерода: 17 сигналов ароматических углеродов располагаются в области 115-149 м.д., ещё один сигнал при 182,1 м.д. соответствует карбонильному атому углерода.

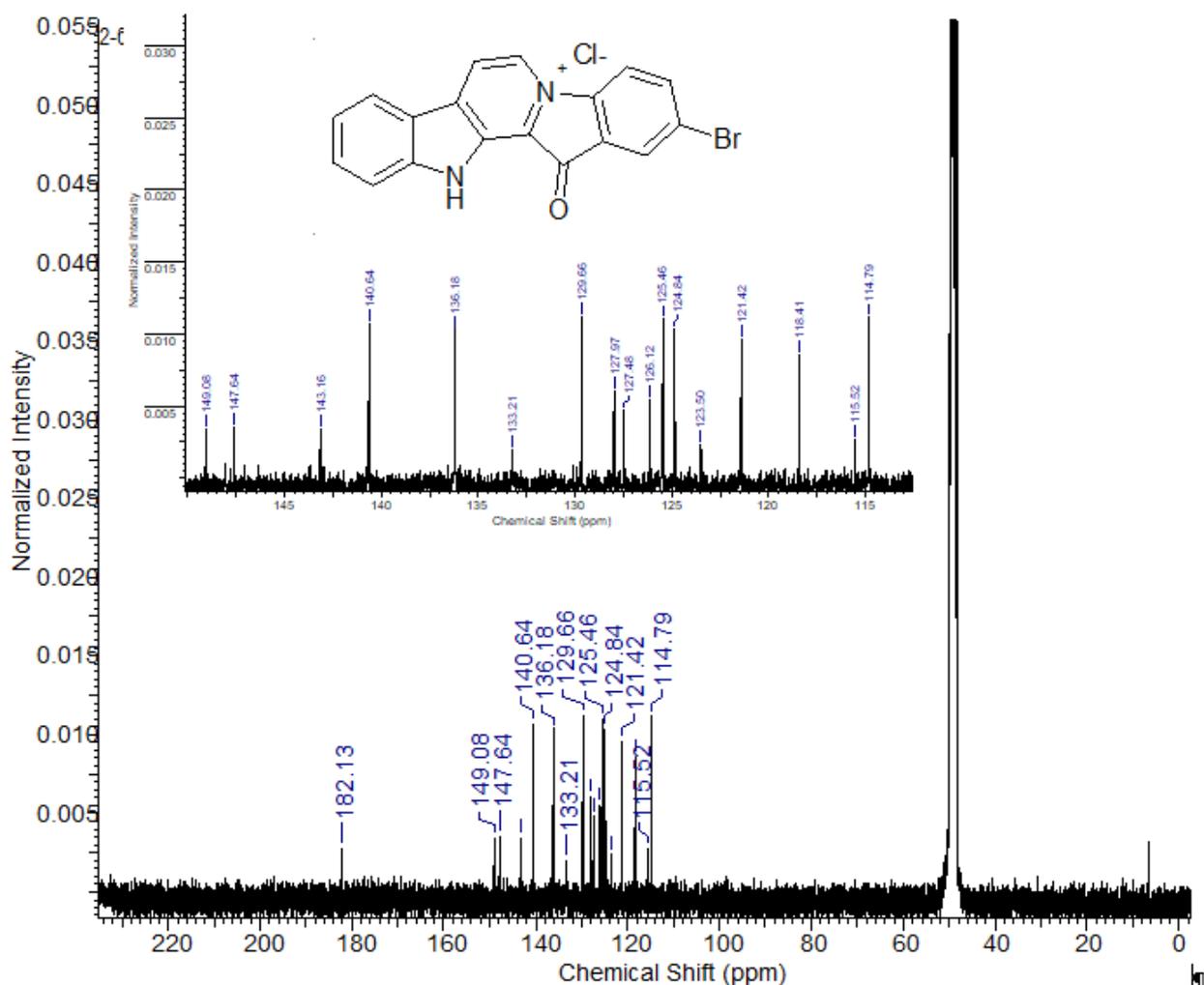


Рисунок 56 – ЯМР ^{13}C спектр 2-бромфаскаплизина (4a)

В спектре ЯМР ^1H полученного продукта (рисунок 57) общая интегральная интенсивность соответствует 9 протонам. Два дублета при 9.38 м.д. и 8.97 м.д. можно отнести протонам Н-6 и Н-7. Два дублета при 8.48 м.д.

и 8.29 м.д. можно отнести к протонам Н-8 и Н-4. Сигналы при 8.19 м.д., 8.13 м.д., 7.88 м.д., 7.79 м.д., 7.53 м.д. соответственно относятся к протонам: Н-1, Н-3, Н-10, Н-11, Н-9.

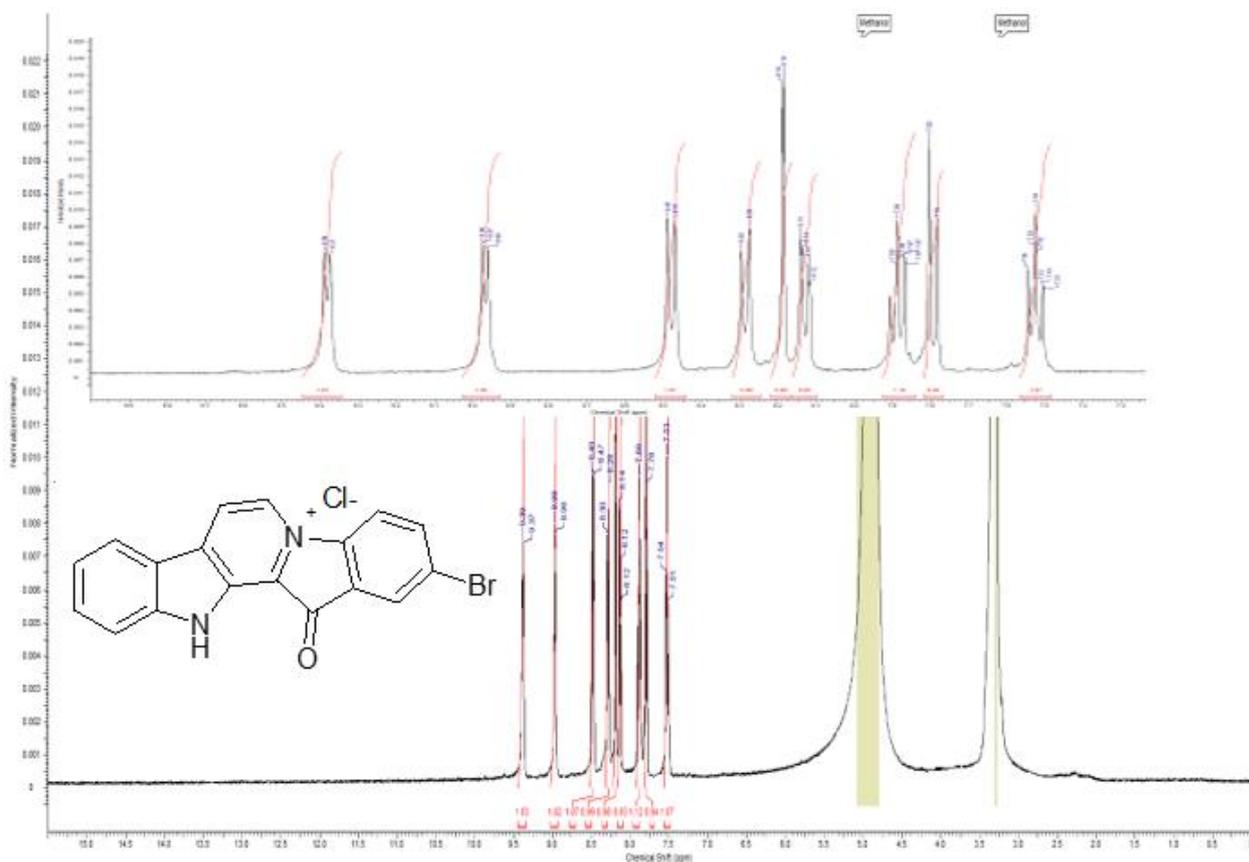


Рисунок 57 – ЯМР ^1H спектр 2-бромфаскаплизина (**4a**)

Для отнесения сигналов спектр продукта был соотнесен с аналогичными данными, известными в литературе для фаскаплизина (таблица 4, использован один и тот же растворитель MeOH-d_4).

Таблица 4 - Сравнение спектров ЯМР ^1H фаскаплизина и 2-бромфаскаплизина (**4a**)

Номер атома углерода	Литературные данные фаскаплизина	Данные 2-бромфаскаплизина
	^1H	^1H
1a		
1	8.11	8.19
2	7.80	-
3	8.03	8.13
4	8.37	8.29
4a		
4b		
6	9.41	9.38
7	9.00	8.97
7a		
7b		
8	8.53	8.48
9	7.59	7.53
10	7.94	7.88
11	7.86	7.79
11a		
12		
12a		
12b		
13		

2.1.4.4 Синтез производных гомофаскаплизина В:

Синтезированные производные фаскаплизина **91**, **92**, **94**, **95**, **4a** были введены в реакцию восстановительного ацилирования, которая показала, что в данных условиях ожидаемые продукты синтеза не образуются.

2.2 Изучение реакции прямого йодирования фаскаплизина

Недавно китайскими учеными был синтезирован ряд производных фаскаплизина по положению 9 и изучено их антибактериальное действие в отношении метициллин-резистентного золотистого стафилококка (MRSA) [73]. Результаты показали, что большинство фаскаплизинов проявляют более высокую противомикробную активность против MRSA ATCC43300. Более того, несколько соединений по силе воздействия в 10 раз превосходят ванкомицин (антибиотик, широко используемый для лечения бактериальных инфекций). Так же была продемонстрирована способность производных фаскаплизина ингибировать образование биопленки MRSA *in vitro* и бактериальную инфекцию *in vivo*. Все эти показатели говорят о перспективности изучения производных фаскаплизина по 9-му положению.

Поскольку характерным химическим свойством фаскаплизина являются реакции электрофильного замещения в положение 9, мы решили дополнить их реакцией прямого йодирования, поскольку введение йода дополнительно открывает широкие возможности для проведения широкого спектра реакций кросс-сочетания, катализируемых нуль-валентным палладием. Важно отметить, что в стандартных условиях электрофильного замещения йодирование провести не удастся, поэтому обычно для введения атома йода в бензольное кольцо используют обходной путь, основанный на разложении солей фенилдиазония. Вместе с тем в литературе описаны примеры прямого йодирования в ароматическое ядро. Ближайшей литературной аналогией нашего примера является работа Mahavir S. Naykode и соавт. [74], где тетрагидрокарбазол (**100**) был введен в реакцию с молекулярным йодом в ДМСО при температуре 110 °С (Рисунок 58).

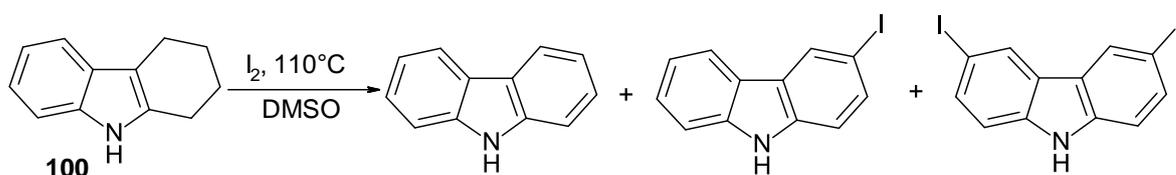


Рисунок 58 – Реакция ароматизации и йодирования гидрокарбазола **100**

В литературе известны и другие примеры непосредственного йодирования в ароматическую структуру различными системами. В 2004 году D. Bogdal, M. Lukaszewicz и J. Pielichowski применили микроволновое излучение к йодированию ароматических соединений в присутствии системы кислота – перекись водорода [75]. Годом позже польские ученые предложили простой, довольно эффективный и экологически безопасный метод йодирования в ароматическое кольцо, где бензол хорошо реагирует со смесью NaIO_4 и H_2SO_4 , при температуре 60-70 °С в течение двух часов [76]. Поливинилпиррилдон в смеси с перекисью использовали Pourali A. R. и Ghanei M. при прямом йодировании ароматических соединений с добавлением молекулярного йода и $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ в качестве катализатора [77]. Простой и экологически безопасный метод йодирования с хорошим выходом (80-90%) приведен в статье 2007 года, где ключевыми реагентами являются I_2 и AgNO_3 [78]. Еще один интересный метод йодирования представили Rodrigo da S. Ribeiro и соавт. [79], заключающийся во взаимодействии аренов с трийодизоциануровой кислотой (TICA) в ацетонитриле при комнатной температуре. В результате образуются монозамещенные йодарены, которым не требуется дальнейшая очистка, при этом достигается достаточно высокий выход. Механизм подобных превращений можно проиллюстрировать на примере работы K. S. K. Reddy и соавт. 2008 года (Рисунок 59) [80]. В этом региоселективном и экологически чистом методе используется KI и H_2O_2 в качестве окислителя.

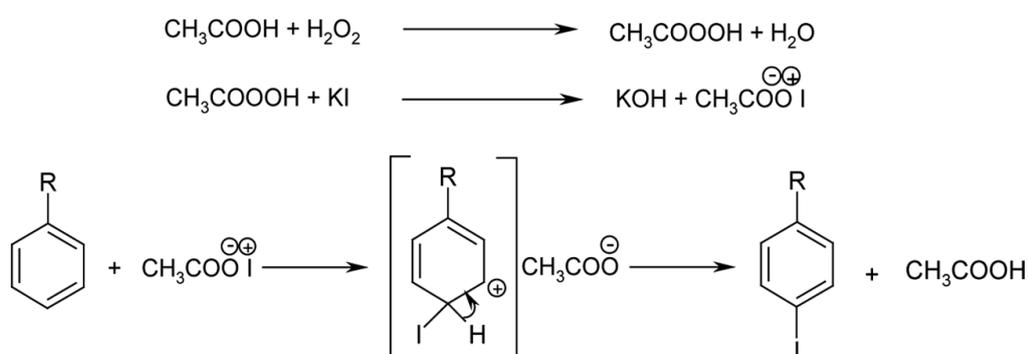


Рисунок 59 – Механизм прямого ароматического йодирования из работы [80]

2.2.1 Прямое йодирования фаскаплизина (1) в различных условиях

Мы решили изучить данную реакцию на нативном алкалоиде **1** при нагревании, а также под действием микроволнового излучения (рисунок 60).

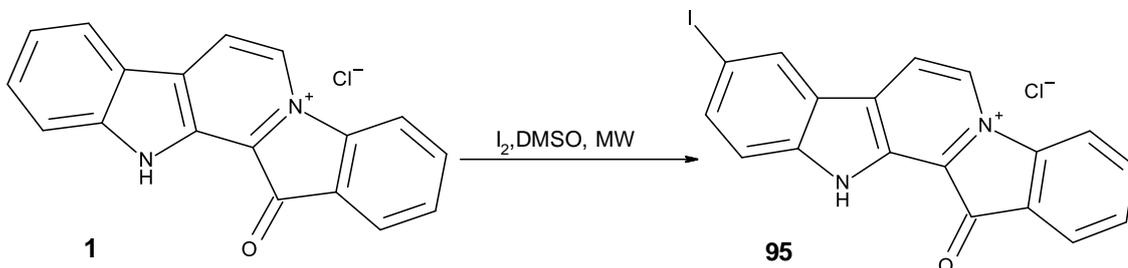


Рисунок 60 – Прямое йодирование фаскаплизина (**1**)

Поскольку фаскаплизин представляет собой соль, он весьма чувствителен к микроволновому излучению, поэтому время проведения реакции выбирали минимальным. Мы изучили реакцию при 50 Вт в течение 3-х, 18-ти и 30-ти минут. При этом было показано, что при 3-х минутах целевой продукт не образуется. При протекании реакции в течение 18 минут наравне с фаскаплизином присутствует продукт йодирования (ТСХ – контроль с образцом **95**). При увеличении времени реакции до 30 минут реакционная смесь разлагается.

Следующим изменяемым параметром стало понижение мощности излучения при проведении реакции в автоклаве и с обратным холодильником. В автоклаве при мощности излучения 50 Вт после первых 3-х минут происходит резкое повышение давления и выключение прибора. Снижение мощности до 30 Вт с постепенным увеличением до 45 Вт приводит смеси продуктов **1** и **95** (в минорном количестве).

При проведении реакции при 45 Вт с обратным холодильником также образуется смесь компонентов, но уже в примерно равном соотношении. Далее было показано, что увеличение продолжительности и введение большого избытка йода не влияет на результат реакции, т.к. образуется смесь продуктов. Результаты суммированы в таблице 5.

Таблица 5 – Йодирование фаскаплизина под действием микроволнового излучения.

№	Температурный режим	Время реакции	Соотношение реагентов			Результат реакции
			Фаскаплизин (1)	I ₂ , экв	ДМСО, объем	
1	50 Вт	18 минут	1	5,3	1 мл	Смесь: 1 и 95
2	50 Вт	28 минут	1	5,3	1 мл	Через 15 минут: 1 и 95 (в минорном количестве), через 28 минут – сгорает.
3	50 Вт	30 минут	1	5,3	2 мл	Реакция не идет
4	4.1 50 Вт 4.2 30-45 Вт	4.1 3 минуты 4.2 30 минут	1	5,3	1 мл (автоклав)	1 и 95 (в минорном количестве)
5	45 Вт	23 минуты	1	5,3	1 мл	смесь 1 и 95 в примерно равных количествах
6	45 Вт	30 минут	1	5,3	1 мл	1 и 95 (в минорном количестве)
7	45 Вт	42 минуты	1	18,8	1 мл (кипелка)	1 и 95 (в минорном количестве)
8	50 Вт	1 час	1	18,8	1 мл (кипелка)	Через 30 мин 1 и 95 (в минорном количестве)

Подводя итог, можно констатировать, что мы столкнулись с невоспроизводимостью реакции, часто сопровождающейся разложением реакционной смеси, при этом мы не смогли выявить критерии, от которых зависит ее протекание. Аналогично мы изучили процесс йодирования фаскаплизина при нагревании в ДМСО (таблица 6). При этом также наблюдается образование целевого продукта, но реакция не проходит до конца. При увеличении времени реакции содержание продукта увеличивается, но реакционная смесь постепенно разлагается.

Таблица 6 – Йодирование фаскаплизина в ДМСО при нагревании

№	Температурный режим	Время реакции	Соотношение реагентов			Результат реакции
			Фаскаплизин (1)	I ₂ , экв.	ДМСО, объем	
1	Кипячение смеси	4 часа 40 минут	1	18,8	1 мл	Смесь: 1 и 95 , с увеличением времени концентрация 1 не уменьшается
2	Кипячение смеси	4 часа	1	28	0,5	Смесь: 1 и 95
3	Кипячение смеси	2 часа	1	28	1 мл	через 30 минут: 1 и 95 Через 1 час: накопление целевого продукта 95 через 2 часа 1 и 95 сгорают.

Поскольку целевое соединение образуется в следовых количествах либо не образуется, решили получить 9-йодфаскаплизин (**95**), инвертировав стадии синтеза, а именно сначала осуществить введение атома йода посредством йодирования 1-(2'-бромбензоил)-β-карболина, а далее провести термическую кватернизацию полученного продукта в пиридодиндольную систему.

2.2.2 Получение 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина

На первом этапе был получен 1-(2'-бромбензоил)-β-карболин (**79**) по известной методике [61], затем ввели данное соединение в отработанную нами реакцию йодирования. За один час реакция протекает селективно с образованием целевого продукта, выход которого составил 70 процентов (рисунок 61).

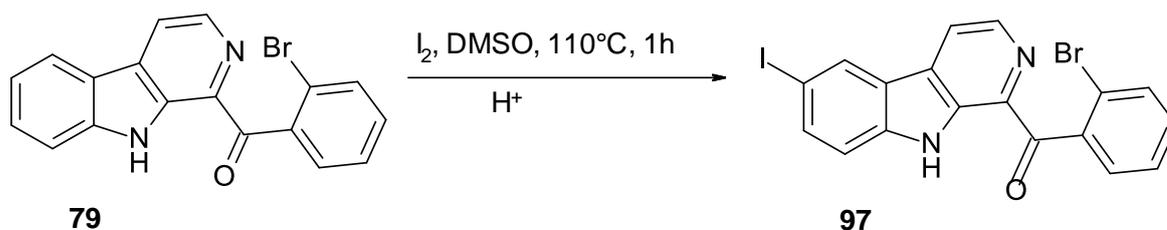


Рисунок 61 – Схема взаимодействия 1-(2'-бромбензоил)-β-карболина (**79**) с молекулярным йодом в ДМСО при 110 °С.

Полученный продукт был выделен двукратным хроматографированием: сначала методом флеш-хроматографии выделили фракцию β -карболинов, которую дополнительно разделили с помощью препаративной тонкослойной хроматографии на незакрепленном слое сорбента. Собирали три окрашенные зоны, нижняя из которых содержит чистый продукт **97**. В результате было выделено 37 мг индивидуального соединения, которое после растирания с гексаном использовали для установления структуры методами ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии (^1H , ^{13}C).

В масс-спектре высокого разрешения полученного продукта (рисунок 62) присутствует кластер пиков молекулярных ионов $(\text{M}+\text{H})^+$, обусловленный наличием в структуре атома брома. Наблюдаемое значение m/z соответствует внедрению в структуру ожидаемого продукта **79** атома йода ($(\text{M}+\text{H})^+_{\text{расч.}} 476,9099 m/z$, $(\text{M}+\text{H})^+_{\text{найд.}} 476,9123 m/z$).

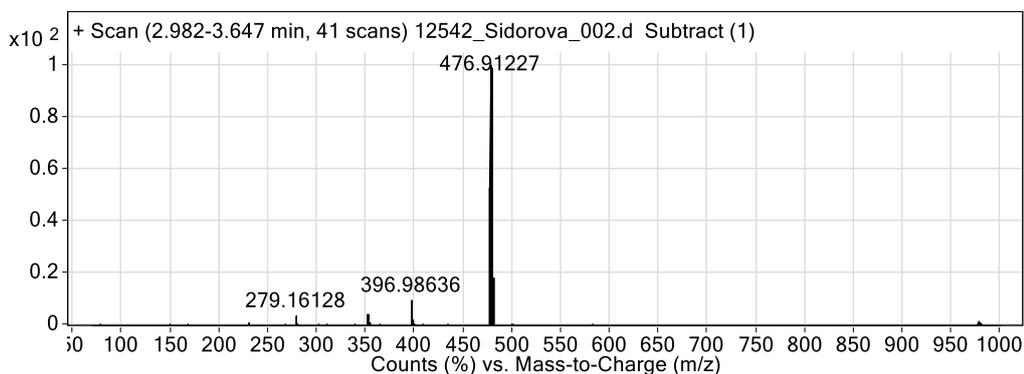


Рисунок 62 – Масс – спектр соединения **97**

В ИК-спектре полученного соединения (Рисунок 63) имеются характеристические полосы поглощения NH-группы (3412 cm^{-1}), ароматических CH-связей (3055 cm^{-1}), карбонильной группы (1650 cm^{-1}) и ароматических валентных C-C связей (1621 cm^{-1} , 1589 cm^{-1} , 1470 cm^{-1}). Связи C-галоген (591 cm^{-1} и 532 cm^{-1}) проявляются в области «отпечатков пальцев», поэтому эти полосы не являются характеристическими.

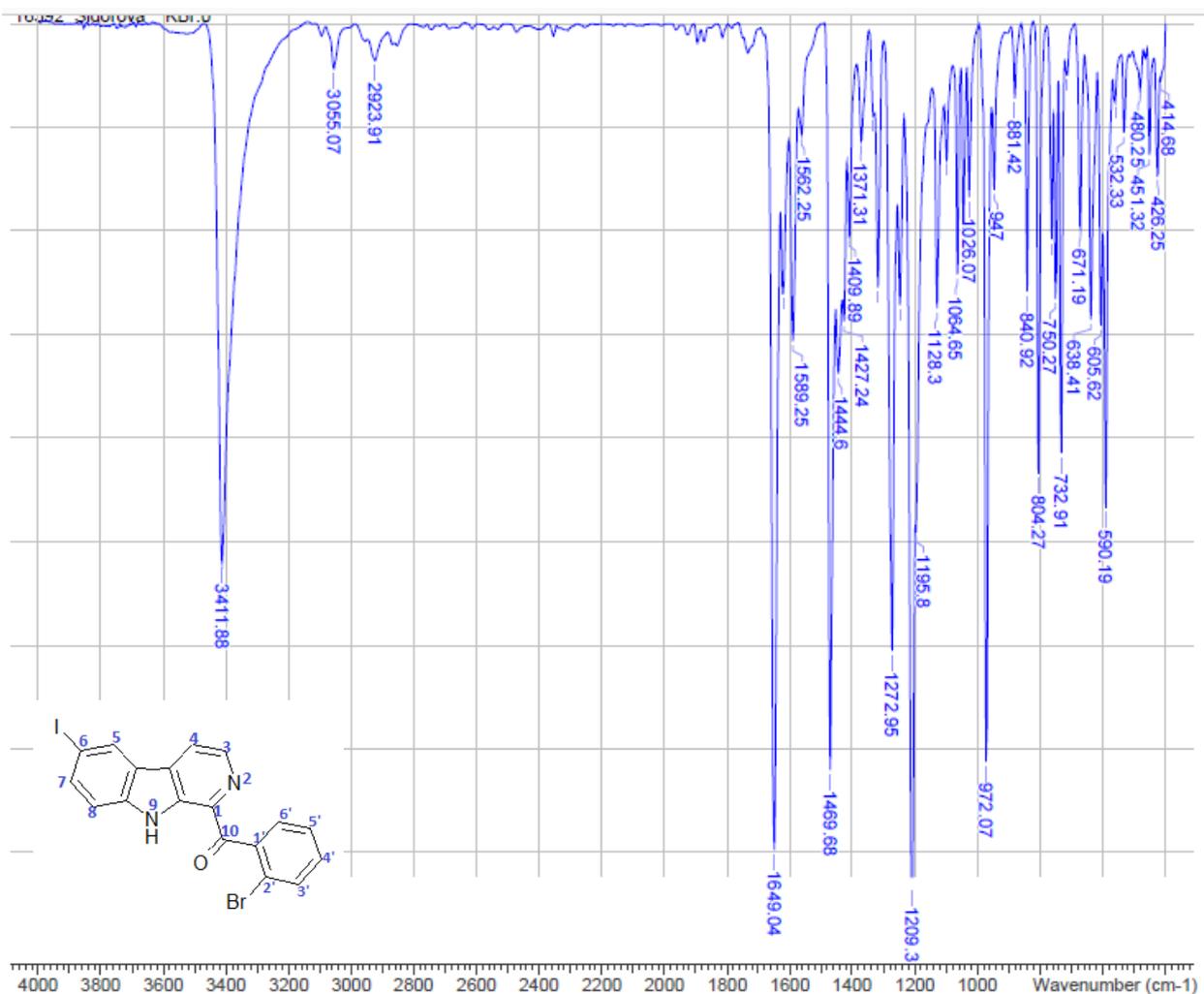


Рисунок 63 – ИК-спектр соединения **97**

В спектре ЯМР ¹³C (Рисунок 64) присутствуют сигналы 18 атомов углерода, из которых отнесение возможно только для углерода карбонильной группы (197,8 м.д.). Остальные сигналы наблюдаются в области резонанса ароматических атомов углерода.

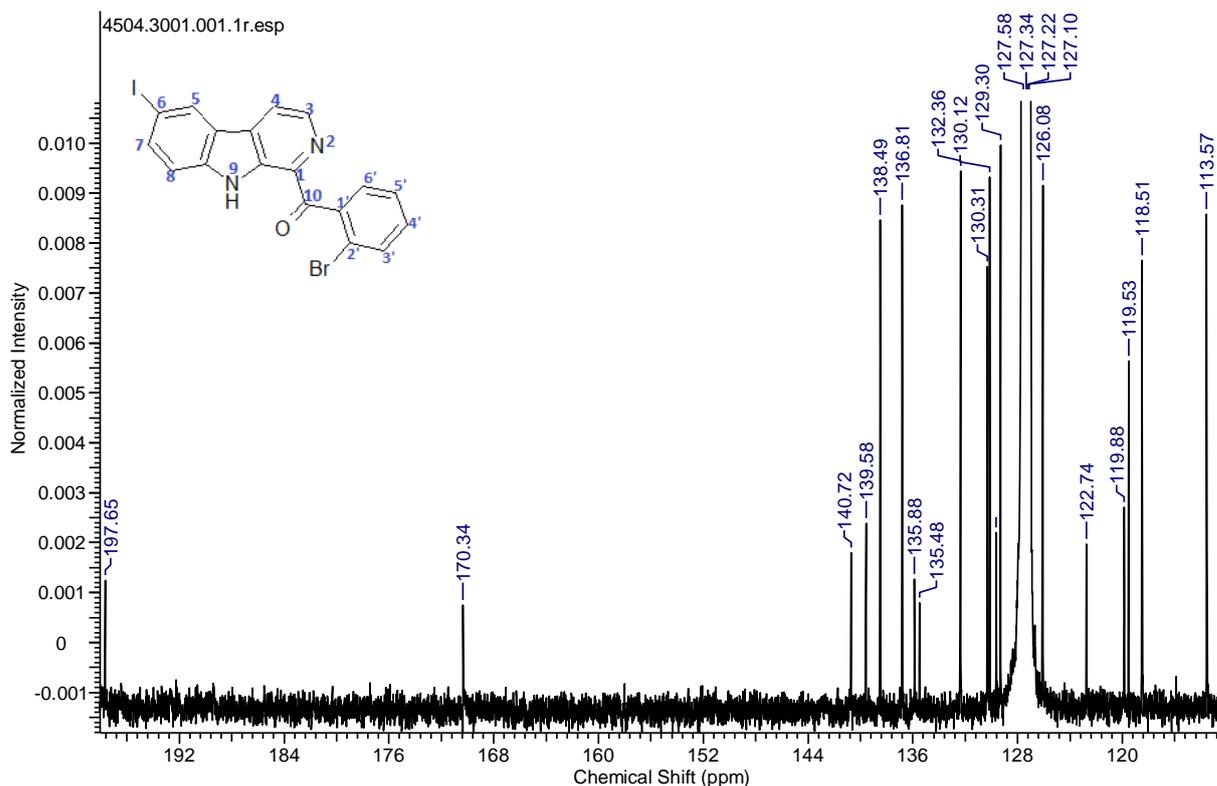


Рисунок 64 – ЯМР ^{13}C -спектр соединения **97**

В спектре ЯМР ^1H (рисунок 65) общая интегральная интенсивность соответствует 10 протонам. Уширенный синглет при 9.98 м.д. соответствует сигналу протона NH-группы. Два дублета с интенсивностью по 1 Н при 8.28 м.д. и 7.24 м.д. соответствуют сигналам протонов Н-3 и Н-4 (сигнал Н-3 сдвинут в более слабое поле из-за электроноакцепторного влияния атома азота). В данном спектре также присутствует дуплет с малой константой с интегральной интенсивностью 1Н при 8.12 м.д., что соответствует сигналу протона Н-5. Два сигнала с интенсивностью по 1Н при 7.51 м.д. и 7.40 м.д. соответствуют сигналам протонов Н-7 и Н-8 и формируют с сигналом протона Н-5 единую спиновую систему АВХ-типа. Два дублета при 6.33 м.д. и 7.37 м.д., а также два сигнала (дд) при 6.76 м.д. и 6.96 м.д. с общей интенсивностью 4Н соответствуют сигналам протонов бензоильного заместителя (Н-6' и Н-3', Н-4' и Н-5' соответственно), точное отнесение не может быть выполнено без привлечения методов двумерной спектроскопии.

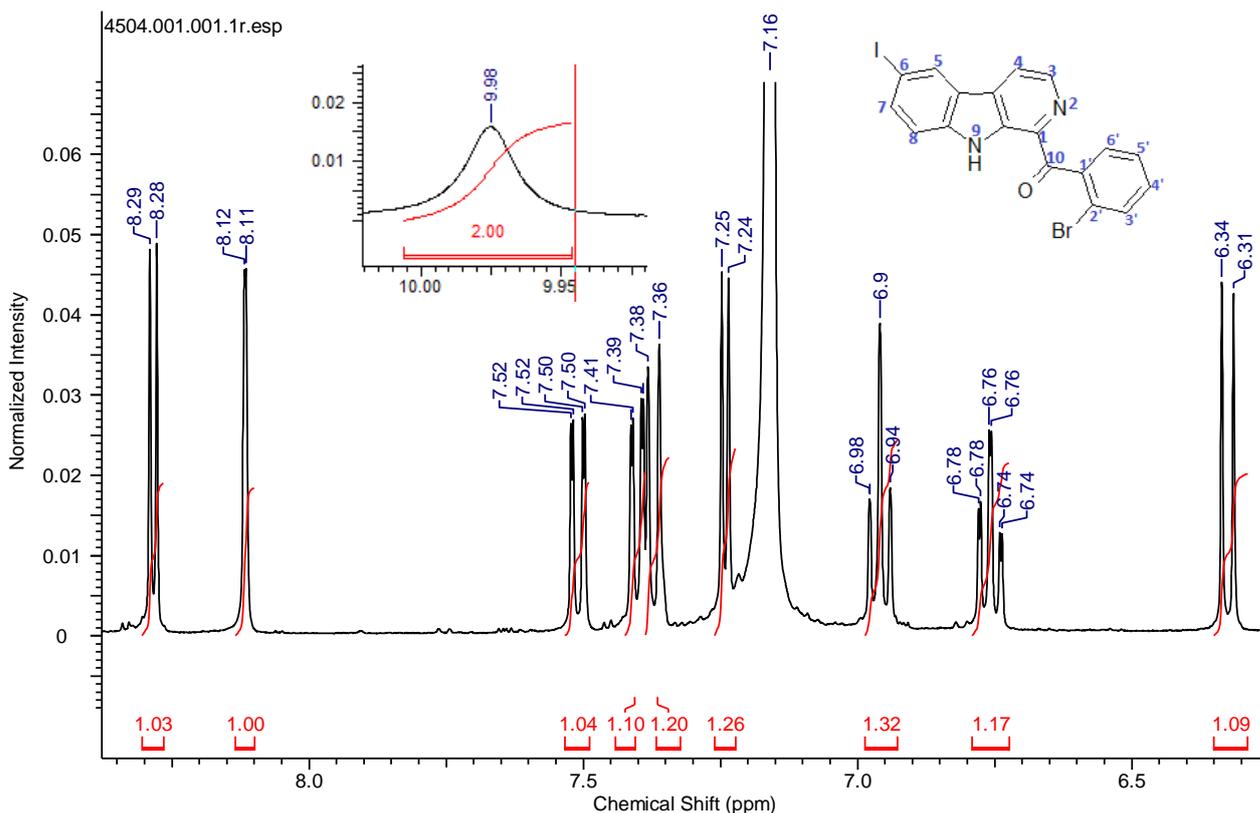


Рисунок 65 – ЯМР ^1H спектр соединения **97**

Наличие в спектре полученного продукта спиновой системы типа АВХ свидетельствует о внедрении атома йода в положение 6 β -карболина. Таким образом, на основании спектральных данных можно утверждать, что полученному продукту соответствует структура 1-(2'-бромбензоил)-6-йод- β -карболина.

2.2.3 Замещение атома йода в 1-(2'-бромбензоил)-6-йод- β -карболине в реакции палладий катализируемого кросс-сочетания

Важнейшей задачей органической химии является разработка высокоселективных реакций, в которых происходит образование связи между sp^2 - sp^2 гибридизированными атомами углерода. Одной из таких реакций является кросс-сочетание по Сузуки, включающее взаимодействие арил- и винилборных кислот с арил- или винилгалогенидами, катализируемое комплексами Pd (0). Атом йода, находящийся в положении 6 соединения **97**, теоретически позволяет провести данную реакцию и получить промежуточный 1-(2'-бромбензоил)-6-фенил- β -карболин (**101**), который при дальнейшей циклизации позволяет синтезировать ранее неизвестное

производное фаскаплизина, содержащее фенильный заместитель в положении 9. В случае успеха соединение **90** может быть использовано для получения широкого набора производных фаскаплизина по циклу А путем применения всего разнообразия реакций палладий катализируемого кросс-сочетания.

На начальном этапе из всего разнообразия известных в литературе методов проведения данной реакции нами были выбраны два примера селективного замещения атома йода на фенильный фрагмент в субстратах, содержащих одновременно атомы брома, который, как известно, также активно вступает в данную реакцию замещения. При воспроизведении методики из работы [81] (рисунок 66) в качестве растворителя использовали толуол, а нагревание реакционной смеси вели при 110 °С в течение 7 часов.

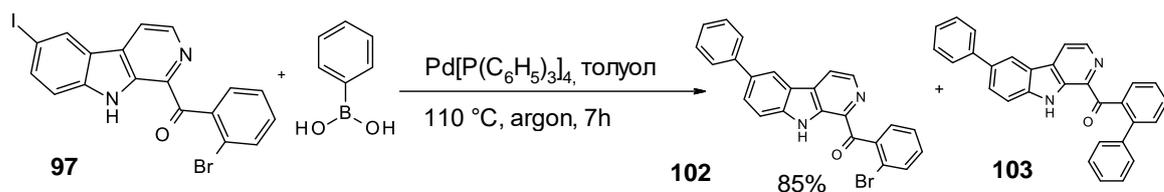


Рисунок 66 – Введение соединения **97** в реакцию кросс-сочетания по Сузуки

По данным ТСХ в результате реакции была получена смесь соединений: исходного 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина, а также двух продуктов реакции, предположительно моно- и дизамещения. Использование методики из работы [82], в которой реакция проходит за 1 час, но в качестве растворителя используется 1,4-доксан, показало, что применительно к субстрату **97** продукты замещения не образуются.

Полученные продукты были выделены с помощью препаративной тонкослойной хроматографии на незакрепленном слое сорбента. Собрали три зоны: верхняя часть представляет собой исходное соединение **97**, средняя – предположительно продукт монозамещения **102**, нижняя часть - продукт дизамещения **102**. Выход соединения **102** составил 85 процентов. Для

установления структуры соединений **102** и **103** использовали методы ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии (^1H , ^{13}C).

В ИК-спектре полученного соединения **102** (рисунок 67) имеются характеристические полосы поглощения NH-группы (3344 см^{-1}), ароматических СН-связей (3049 см^{-1}), карбонильной-группы (1655 см^{-1}) и ароматических валентных С-С связей (1593 см^{-1} , 1479 см^{-1} , 1464 см^{-1}).

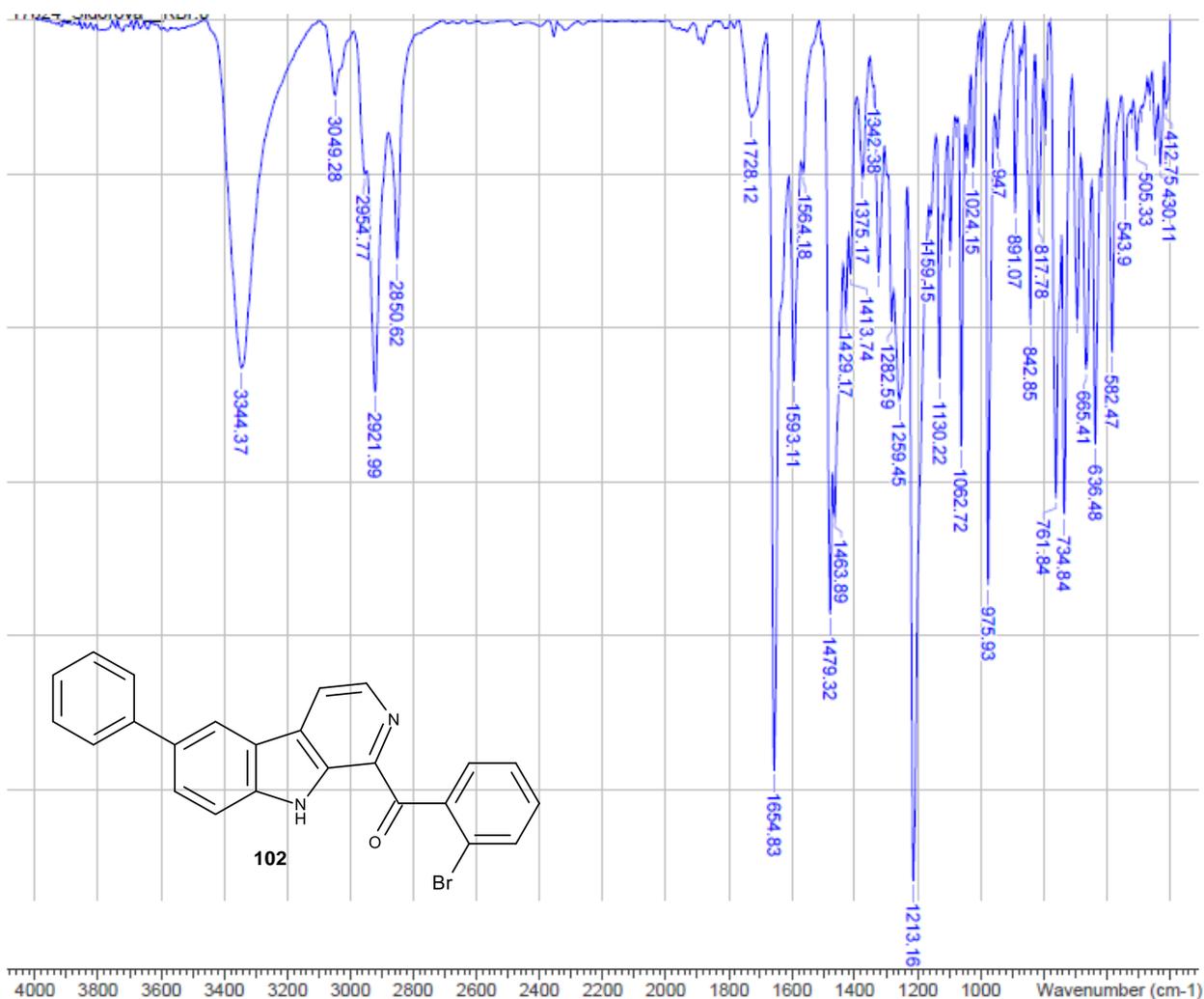


Рисунок 67 – ИК-спектр соединения **102**

В масс-спектре высокого разрешения полученного продукта (рисунок 68) присутствует кластер пиков молекулярных ионов $(\text{M}+\text{H})^+$, обусловленный наличием в структуре атома брома. Наблюдаемое значение m/z соответствует внедрению в структуру целевого продукта **102** фенольного фрагмента $((\text{M}+\text{H})^+)_{\text{расч.}} 429,0426\text{ m/z}$, $((\text{M}+\text{H})^+)_{\text{найд.}} 429,0443\text{ m/z}$.

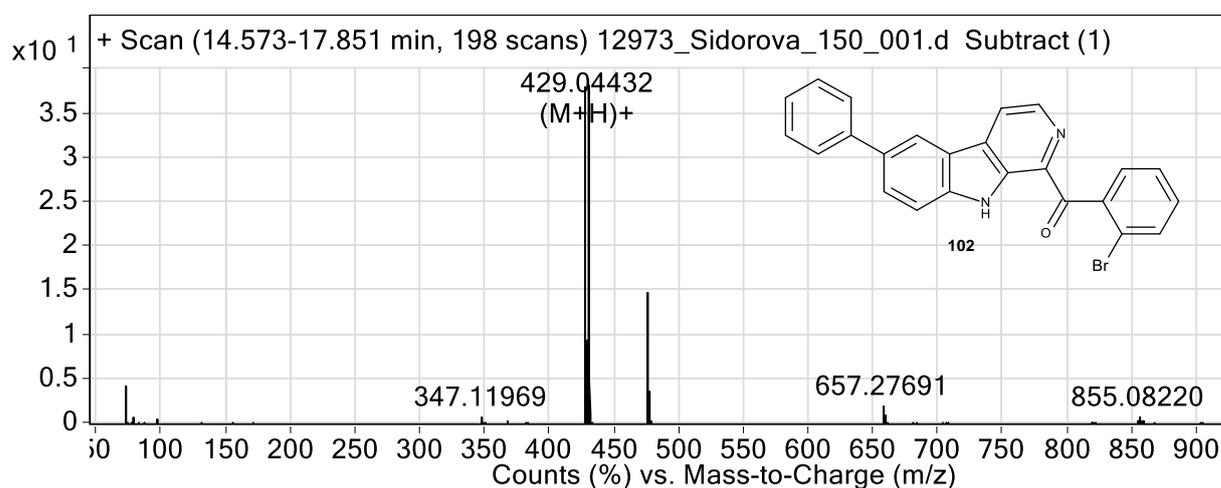


Рисунок 68 – Масс – спектр соединения **102**

В спектре ЯМР ^{13}C (Рисунок 69) присутствуют сигналы 24 атомов углерода, из которых отнесение возможно только для атома углерода карбонильной группы (199,8 м.д.).

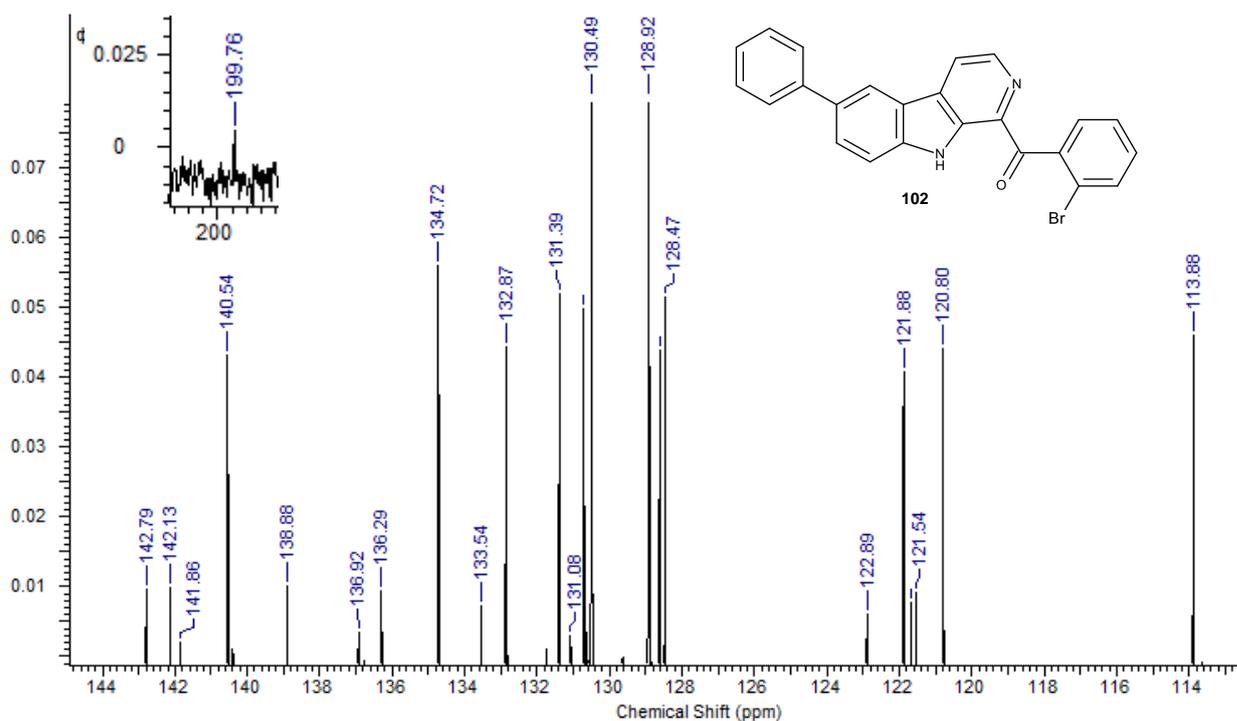


Рисунок 69 – Спектр ЯМР ^{13}C соединения **102**

В спектре ЯМР ^1H полученного продукта **102** (рисунок 70) общая интегральная интенсивность соответствует 15 протонам. Уширенный синглет при 10.48 м.д. соответствует сигналу протона NH-группы. Два дублета с интенсивностью по 1 Н при 8.60 м.д. и 8.23 м.д. соответствуют сигналам протонов Н-3 и Н-4 (сигнал Н-3 сдвинут в более слабое поле из-за

электроноакцепторного влияния атома азота). В данном спектре также присутствует синглет с интегральной интенсивностью 1Н при 8.40 м.д., что соответствует сигналу протона Н-5. Два сигнала с интенсивностью по 1Н при 7.60 м.д. и 7.92 м.д. соответствуют сигналам протонов Н-7 и Н-8 и формируют с сигналом протона Н-5 единую спиновую систему АВХ-типа. Химические сдвиги сигналов оставшихся протонов не могут быть соотнесены из-за их взаимного наложения.

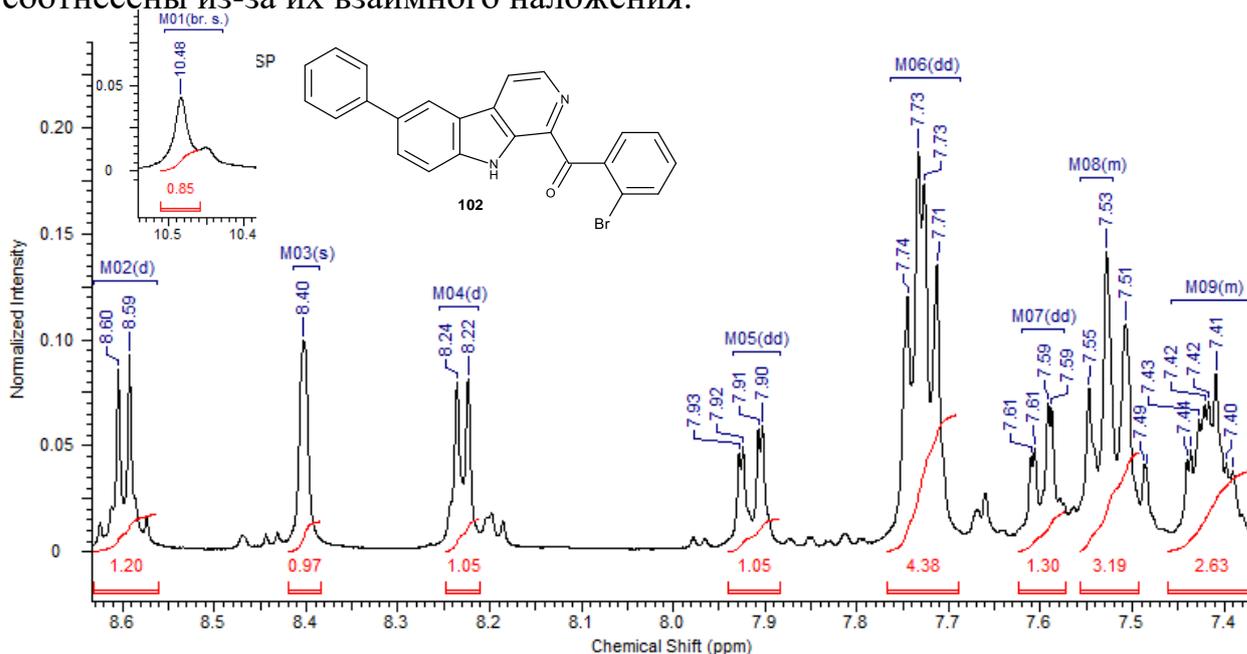


Рисунок 70 – ЯМР (^1H) спектр соединения **102**

Для второго выделенного продукта нам удалось записать только масс-спектр, представленный на рисунке 71. Масс-спектр высокого разрешения соответствует ожидаемому продукту **103** $((\text{M}+\text{H})^+_{\text{расч.}} 425,1654 \text{ m/z}, (\text{M}+\text{H})^+_{\text{найд.}} 425,1668 \text{ m/z})$.

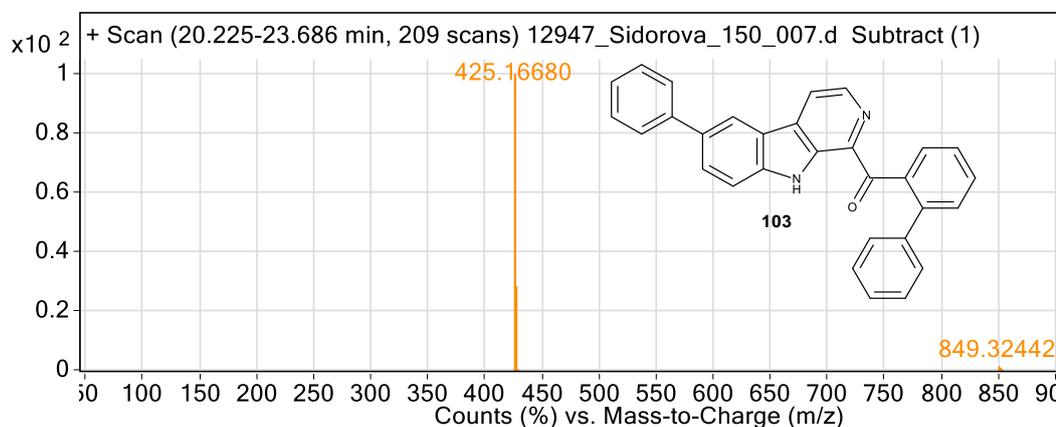


Рисунок 71 – Масс – спектр соединения **103**

2.2.4 Конверсия полученного продукта в производное фаскаплизина

Полученный 1-(2'-бромбензоил)-6-фенил- β -карболин (**102**) конвертировали по методике из работы [58] в замещенный 9-фенилфаскаплизин (**104**), после очистки полученный продукт был исследован методами ЯМР-спектроскопии на протонах и ядрах углерода. Схема синтеза представлена на рисунке 72.

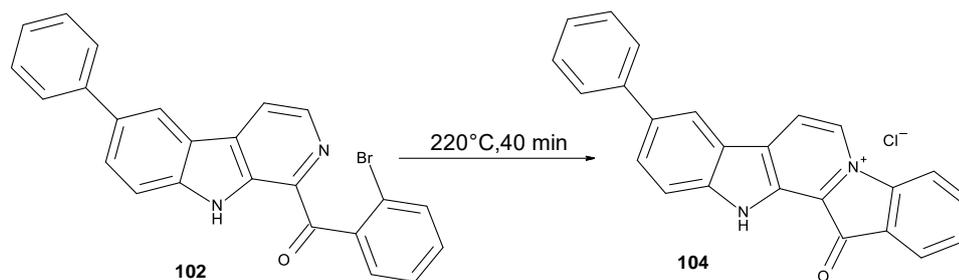


Рисунок 72 – Кватернизация соединения **102** в целевой продукт **104**

В спектре ЯМР ¹H полученного продукта **104** (рисунок 73) общая интегральная интенсивность соответствует 14 протонам. Сигналы при 9.33 и 8.97 м.д. можно отнести протонам Н-6 и Н-7. Сигналы при 8.59, 8.28 и 8.05 м.д. соответствуют протонам Н-8 и Н-4 и Н-3. Отнесение остальных сигналов без привлечения методов двумерной спектроскопии затруднительно.

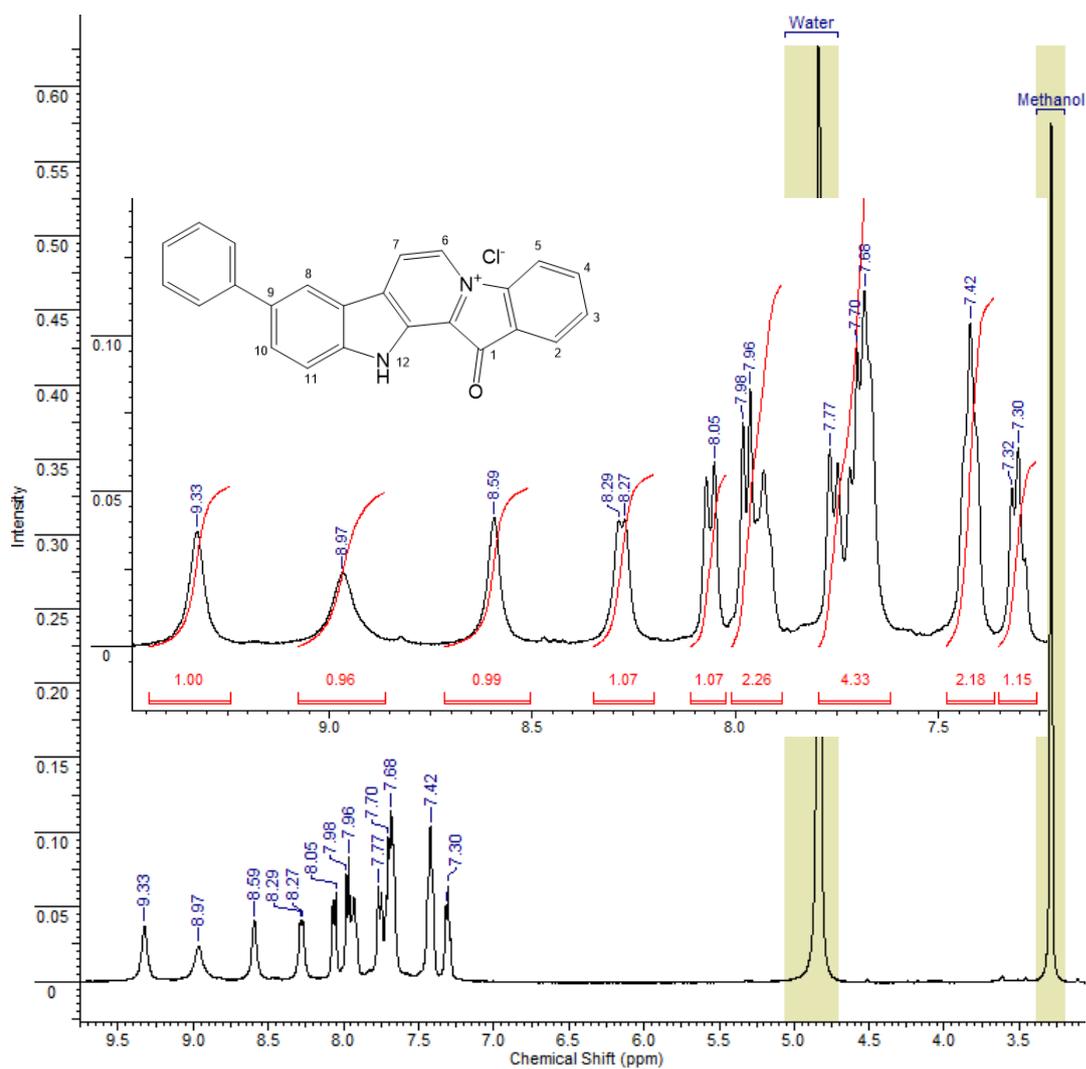


Рисунок 73 – ЯМР ¹H спектр соединения **104**

В спектре ЯМР ¹³C продукта (рисунок 74) присутствуют 23 сигнала атомов углерода: 22 сигнала ароматических протонов и сигнал при 181,9 м.д., соответствующий карбонильному атому углерода.

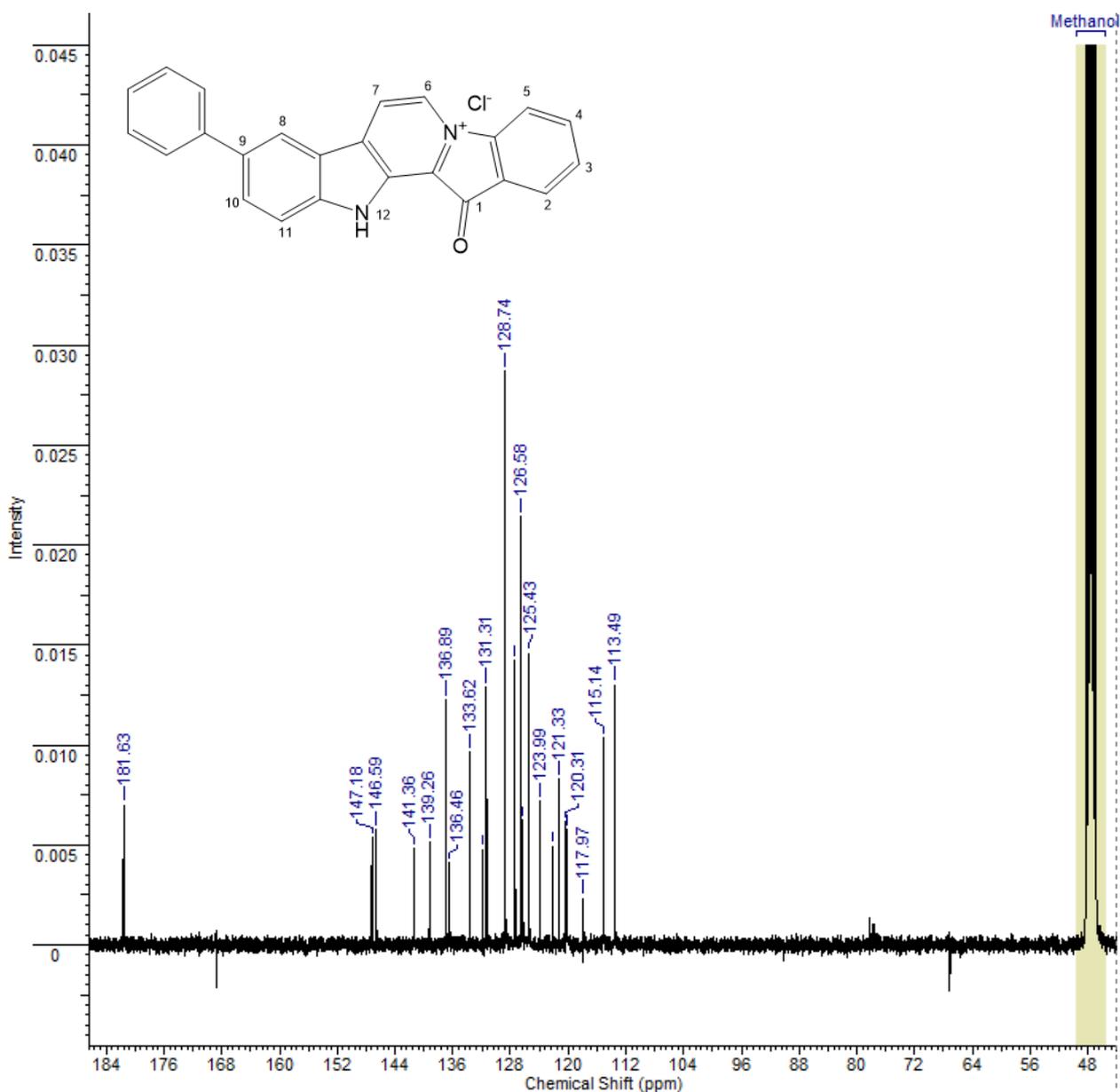


Рисунок 74 – Спектр ЯМР ^{13}C соединения **104**

2.2.5 Изучение биологической активности 9-фенилфаскаплизина (104)

Для незамещенного фаскаплизина и ряда его производных по 9 положению была изучена цитотоксическая активность и селективность на культурах опухолевых и неопухолевых клеток. Выявлено, что 9-йодфаскаплизин (**95**) относительно фаскаплизина (**1**) демонстрирует более высокие показатели цитотоксической активности, а 9-фенилфаскаплизин

(104) чуть менее, но незначительно. При этом 9-бромфаскаплизин (94) имеет лучшие показатели селективности (таблица 7).

Таблица 7 – Изучение цитотоксической активности и селективности фаскаплизина и его производных

	Культура	IC ₅₀ , мкмоль/л			
		Fasc	9-Br	9-I	9-Ph
Опухолевые клетки	PC-3	0,77	2,78	3,67	1,95
	22Rv1	0,24	1,07	0,55	0,31
	DU145	0,80	2,24	0,32	0,66
	LNCaP	0,41	1,41	0,17	0,57
	VCaP	0,58	2,56	2,22	1,27
Неопухолевые клетки	MRC-9	0,89	15,54	0,92	4,25
	PNT2	0,46	2,45	0,15	0,76
	RWPE-1	0,50	1,54	0,14	1,50
	HEK293	0,46	2,54	0,81	1,94
Индекс селективности		1,03	2,74	0,36	1,47

В тоже время была изучена противомикробная активность фаскаплизина и его производных в условиях *in vitro*. Было показано уникальное сверхвысокое антибактериальное действие 9-фенилфаскаплизина (104) в отношении резистентных бактерий, в отношении которых современные антибиотики не эффективны. Результаты исследования приведены в таблице 8.

Таблица 8 – Противомикробная активность фаскаплизина и его производных

Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) мкг/мл					
Тест-микрорганизмы	FASC	6-Me-FASC	9-Ph-FASC	2-Br-FASC	Ванкомицин
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	1,0	0,5	0,0075	0,25	0,5
<i>B.cereus</i> ATCC 10702	0,5	0,5	0,0019-0,0009	0,25	
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	16,0	2,0	0,0075	0,5	2,0
<i>E. faecium</i> 132	8,0	32,0	4,0	8,0	0,5
<i>E. faecium</i> 130	8,0	1,0	4,0	8,0	>32
<i>E. faecalis</i> 583 (VanR)	16,0	2,0	0,015-0,03	0,5	32
MRSA 88	0,5	0,5	0,0019-0,0009	0,25	0,5
MRSA PE3*	0,5	0,5	0,0019-0,0009	0,125-0,25	1,0
<i>S. epidermidis</i> 2001 MR	0,125	0,25	0,0019-0,0009	0,125	1,0
<i>S. aureus</i> 21555	0,06	0,06	0,0075	0,125-0,25	
<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC	0,06	0,25	0,03	0,25	

2.2.6 Оптимизация схемы получения 9-фенилфаскаплизина (104)

Для того чтобы провести детальные испытания биологического действия 9-фенилфаскаплизина, необходимо его наработать в достаточно больших количествах. По ранее отработанной схеме (рисунок 75) на стадии реакции Сузуки – образуется смесь продуктов, что снижает выход целевого соединения для дальнейшей конверсии в соответствующий фаскаплизин, а также осложняет его выделение.

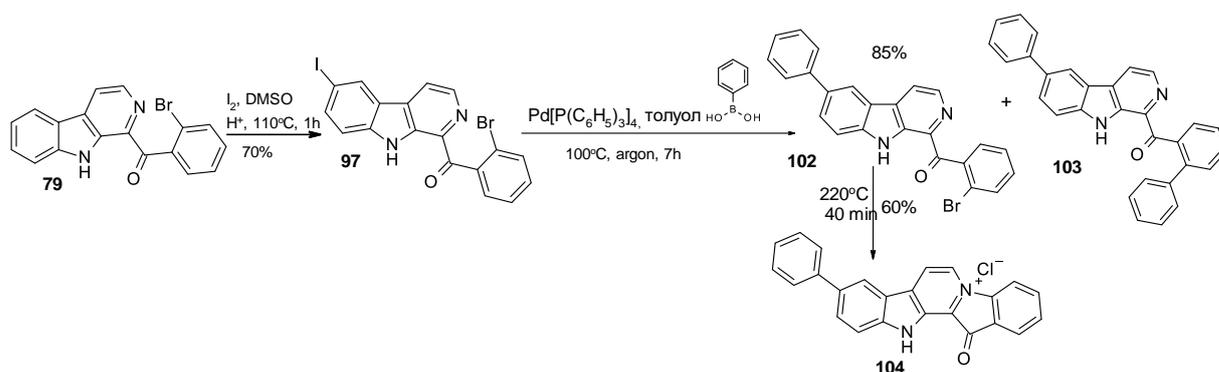


Рисунок 75 – Исходная схема синтеза 9-фенилфаскаплизина (**104**)

Для преодоления данного затруднения нами было принято решение заменить атом брома в бензоильном фрагменте соединения **79** на хлор, поскольку последний в реакцию Сузуки не вступает. При этом на стадии его конверсии в замещенный фаскаплизин возникли значительные сложности (рисунок 76).

Замена брома на хлор позволила нам убрать минорный продукт и сделать ключевую реакцию кросс-сочетания более селективной, но в тоже время финальная стадия циклизации сопровождается частичным разложением реакционной смеси, обеспечивая выход целевого продукта всего 20-30%. Затратив значительные усилия на отработку этой стадии, мы добились удовлетворительного выхода в 54%, используя силикагель в качестве носителя для ее проведения.

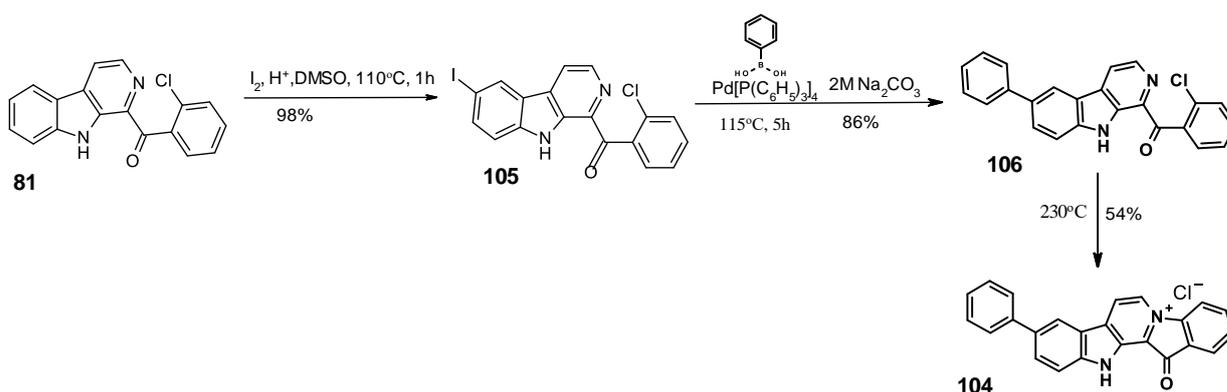


Рисунок 76 – Новая схема синтеза 9-фенилфаскаплизина (**104**)

В результате полученный 9-фенилфаскаплизин (**104**) был наработан в необходимых количествах и дополнительно очищен методом препаративного ВЭЖХ, что позволило обеспечить испытание его противомикробной и

противоопухолевой активности в условиях *in vivo*, а также провести токсикологические исследования.

2.2.7 Исследование острой и подострой токсичности 9-фенилфаскаплизина (104) на мышах по методу Кербера

Было проведено исследование острой и подострой токсичности 9-фенилфаскаплизина на белых аутбредных мышах-самках ICR (CD-1), используя метод Кербера. Изучаемый препарат вводили в брюшинную полость однократно в объеме 0,2 мл. Токсичность вещества оценивали путем мониторинга выживаемости (таблица 9).

Таблица 9 – Определение токсичности ФПФ на мышах по методу Кёрбера (n=5)

Показатель	№ группы				
	1	2	3	4	5
Доза, мг/кг	10	20	30	40	Контроль на растворитель
Доза, мг/мышь	0,3	0,6	0,9	1,2	-
Доза мг/мл	1,5	3	4,5	6	-
% погибших животных	0	40	60	100	0
Число животных общее/погибшие	5/0	5/2	5/3	5/5	5/0
Z	1		2,5	4	
d	10	10	10	10	10
n	5	5	5	5	5
Zd/n	2		5	8	-
<i>Примечание: Z – среднее арифметическое из числа животных, у которых отмечен токсический эффект под влиянием 2-х смежных доз; d – интервал между двумя смежными дозами, n – количество животных в каждой группе</i>					

Эксперимент проводили в течение 14 дней, наблюдая за животными. Таким образом, показано, что показатели острой токсичности фаскаплизина (1) и 9-фенилфаскаплизина (104) сопоставимы. При этом у фенильного производного отмечена меньшая растворимость по сравнению с нативным

алкалоидом. Определено, что средняя летальная доза (ЛД₅₀) для исследуемого вещества составила 25 мг/кг при внутрибрюшинном введении. На основании этого вещество признано умеренно токсичным (Таблица 10).

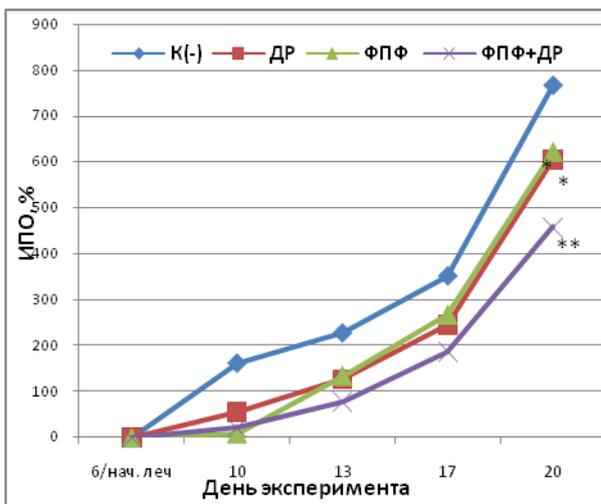
Таблица 10 – Классы токсичности веществ в соответствии с модифицированной классификацией Организации экономического содействия и развития (ОЕСД)

Класс	Степень токсичности	внутрибрюшинно
I	Чрезвычайно токсично	<1
II	Высокотоксично	1-10
III	Умеренно токсично	11-75
IV	Малотоксично	76-500
V	Практически нетоксично	501-1250
VI	Относительно безвредно	>1250

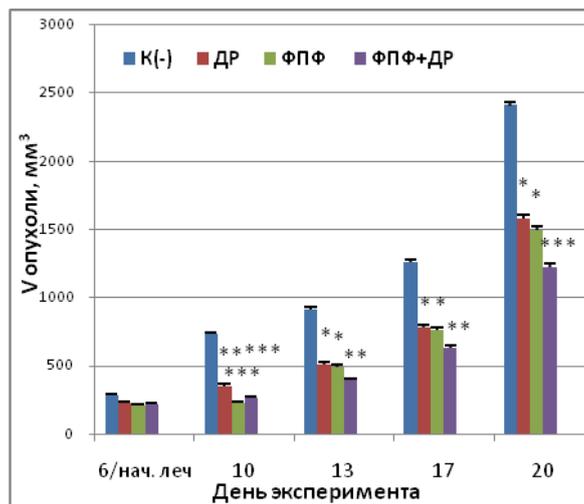
2.2.8 *Исследование противоопухолевой активности 9-фенилфаскаплизина in vivo*

Было проведено сравнительное исследование противоопухолевой активности на модели солидной опухоли для соединения **104** и для его совместного применения с доксорубицином. В результате испытаний изучена динамика опухолевого роста с последующим расчётом торможения роста опухоли в опытных группах (ТРО, %) по сравнению с контролем.

Показано, что во время проведения лечения веществом **104**, опухоль не развивается, но как только терапия прекращается, происходит экспоненциальный рост опухоли. Также показано, что комбинированная терапия 9-фенилфаскаплизина с доксорубицином приводила к незначительному повышению эффективности химиотерапии (рисунок 46).



а



б

Рисунок 46 – Динамика опухолевого роста. ИПО – индекс прироста опухоли (**а**) и изменение объёма опухоли (**б**). К(-) – контрольная группа животных (нелеченые), ДР – группа животных, леченых Доксорубицином в дозе 0,25 мг/кг, ФПФ – синтетическое фенильное производное алкалоида фаскаплизин в дозе 5 мг/кг, ФПФ+ДР – синтетическое фенильное производное алкалоида фаскаплизин в дозе 2,5 мг/кг в сочетании с доксорубицином в дозе 0,25 мг/кг. Результаты представлены, как среднее \pm SEM (n=10), $p \leq 0,05^*$, $p \leq 0,01^{**}$, $p \leq 0,001^{***}$, в сравнении с группой К(-) (тест Стьюдента).

По заключению, которое было получено из организации ТИБОХ ДВО РАН, препарат рекомендован для доклинических испытаний с необходимостью подбора схемы лечения.

2.2.9 Расширение линейки производных фаскаплизина

Для того чтобы лучше изучить влияние вводимых в положение 9 заместителей, нам необходимо как расширить линейку производных по 9-му положению, так и изучить корреляцию структура/активность при перемещении фенильного заместителя в другие положения в цикле А.

2.2.9.1 Получение изомеров 9-фенилфаскаплизина: 10-фенилфаскаплизин (107) и 8-фенилфаскаплизина (108)

Смесь исходных триптаминов **109** и **110** была получена по методу Гранберга [83] и затем введена в реакцию с коммерчески доступным 2-хлорацетофеноном (**826**). Далее продукты **111a** и **111b** были разделены

методом ВЭЖХ и введены в реакцию кросс-сочетания с фенолборной кислотой с дальнейшей конверсией в целевые фаскаплизины **107** и **108** (рисунок 77).

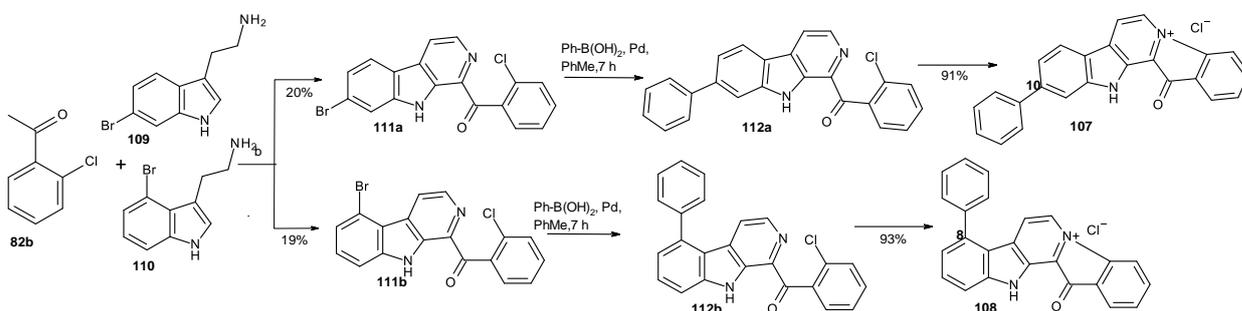


Рисунок 77 – Схема синтеза 10-фенилфаскаплизин (**107**) и 8-фенилфаскаплизина (**108**)

Для полученных соединений приведены ЯМР-спектры ¹³C: на рисунке 78 для 10-фенилфаскаплизин (**107**) и на рисунке 49 для 8-фенилфаскаплизина (**108**). В спектре ЯМР ¹³C (рисунок 78) присутствует 22 сигнала атомов углерода: 21 сигнала ароматических углеродов располагаются в области 110-149 м.д., ещё один сигнал при 181,8 м.д. соответствует карбонильному атому углерода.

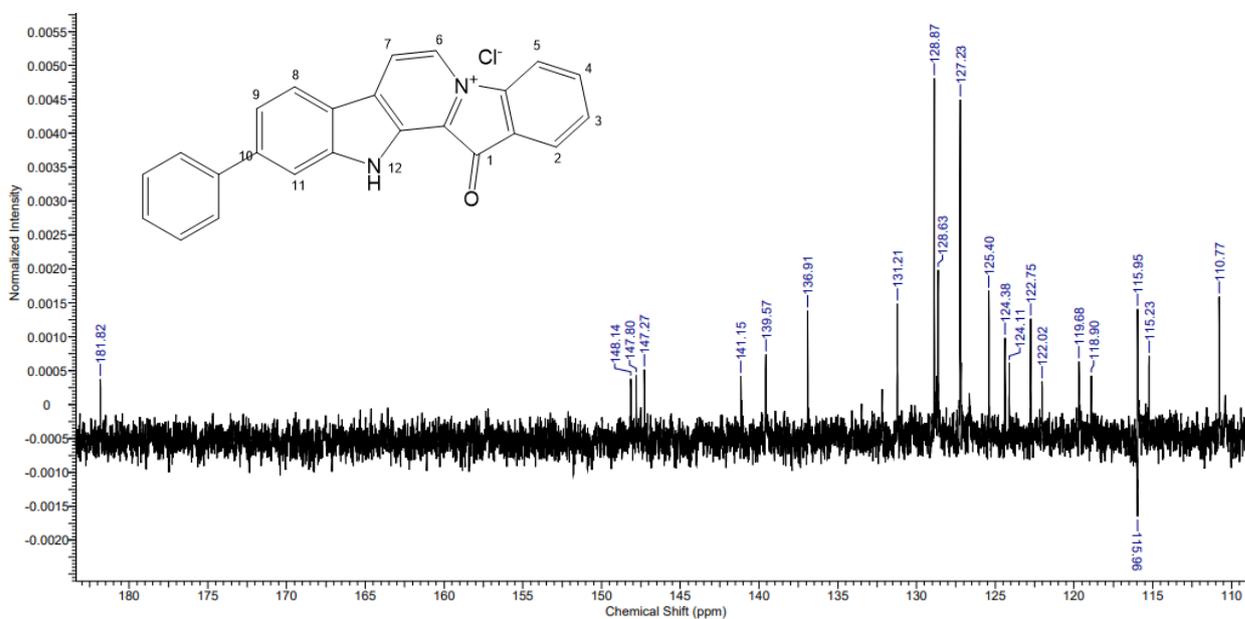


Рисунок 78– ЯМР ¹³C спектр 10-фенилфаскаплизина (**107**)

В спектре ЯМР ¹³C (рисунок 79) присутствует 23 сигнала атомов углерода: 22 сигнала ароматических углеродов располагаются в области 112-

147 м.д., ещё один сигнал при 181,8 м.д. соответствует карбонильному атому углерода.

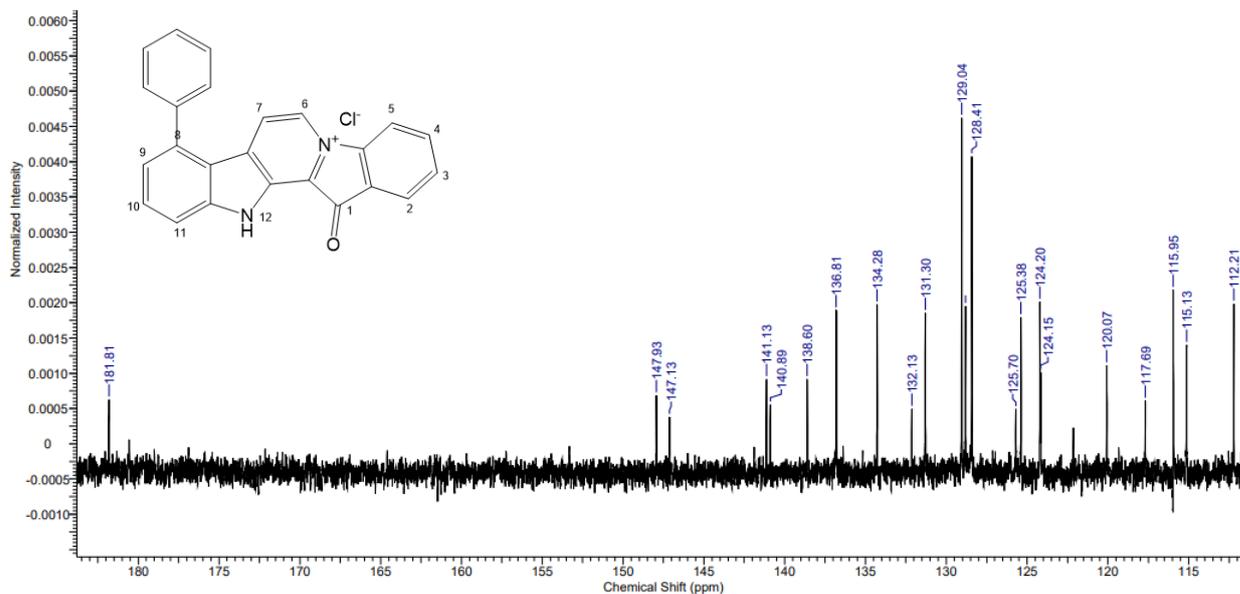


Рисунок 79– ЯМР ^{13}C спектр 8-фенилфаскаплизина (**108**)

2.2.9.2 Взаимодействие 6-иод-1-(2-хлорбензоил)- β -карболина с серией арилборных кислот в реакции Сузуки

Для расширения линейки 9-арилпроизводных проводили реакцию 6-иод-1-(2-хлорбензоил)- β -карболина с четырьмя арилборными кислотами по оптимизированной методике из работы G. Rizzo и соавт в толуоле при 75 °С в течение 7 часов [84] (рисунок 80).

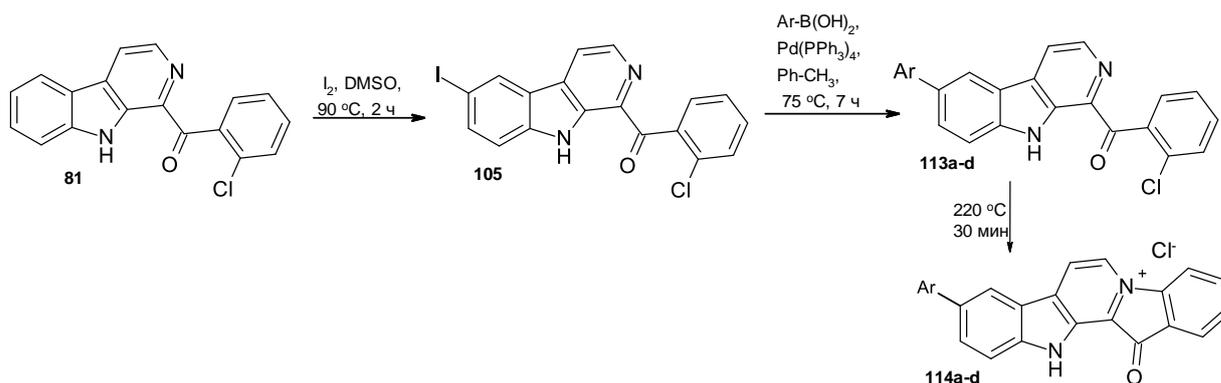


Рисунок 80 – Схема синтеза производных фаскаплизина в 9 положении
Строение предполагаемых продуктов приведено на рисунке (рисунок 81). Полученные реакционные смеси изучены методом ВЭЖХ-МС.

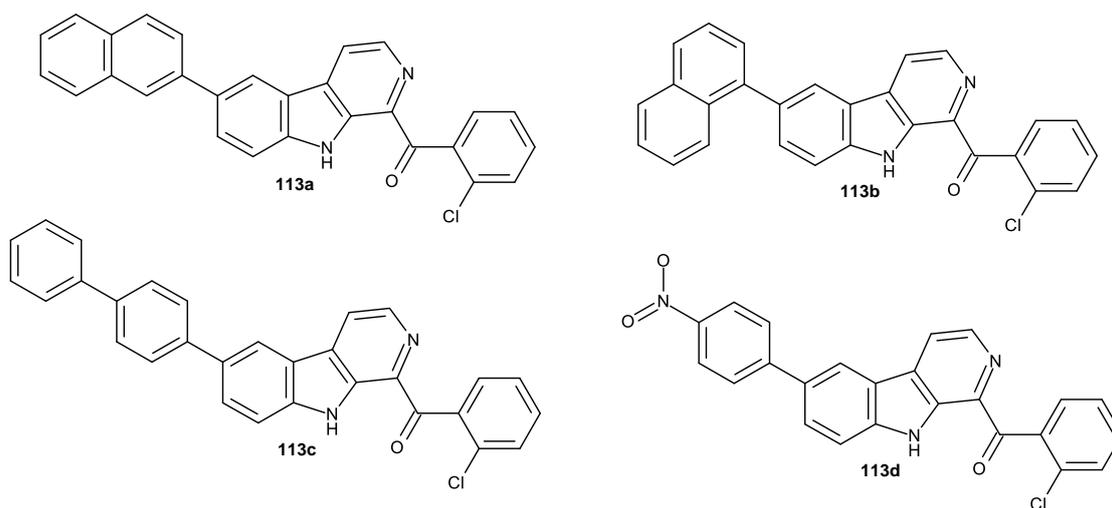
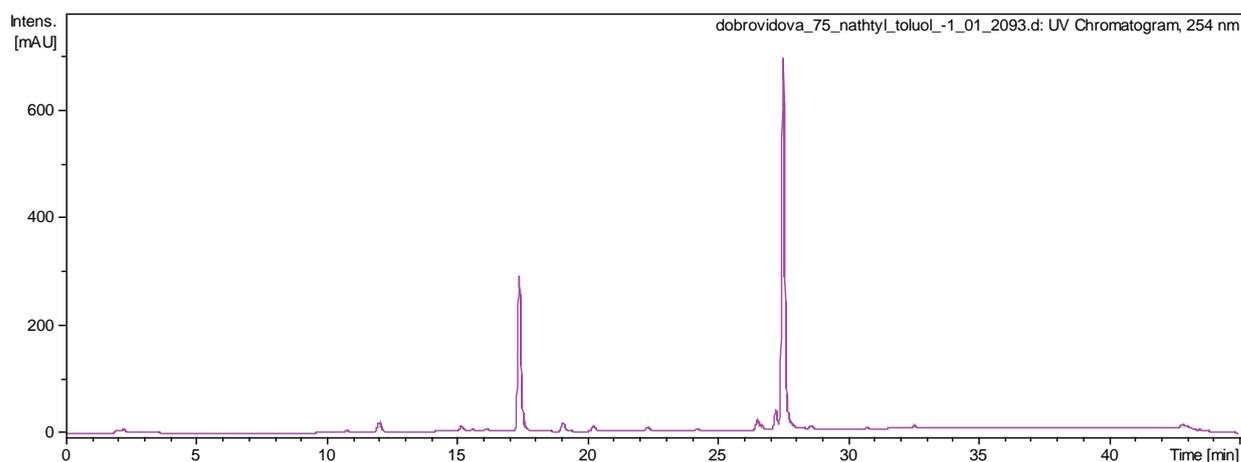


Рисунок 81 – Продукты реакции **113a-d**

На рисунке 82 в качестве примера приведена хроматограмма ВЭЖХ (А) и масс-спектр (Б) реакционной смеси, полученной при взаимодействии 6-иод-1-(2-хлорбензоил)- β -карболина с 1-нафтилборной кислотой. Остальные результаты приведены в Экспериментальной части. Как следует из хроматограммы, исходное соединение в полученной смеси отсутствует, при этом наблюдается пик целевого продукта с временем удерживания 27,6 минут, которому соответствует кластер пиков молекулярного иона с m/z 433,0.



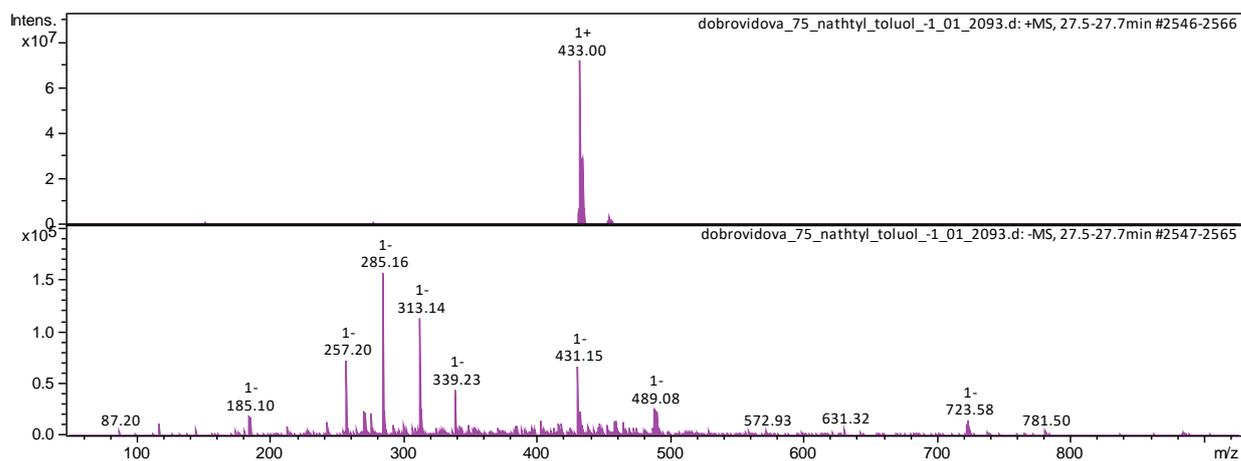


Рисунок 82— а) Хроматограмма ВЭЖХ и б) масс-спектр соединения **113b**

В ходе дальнейших работ это и другие арилпроизводные фаскаплизины будут выделены в индивидуальном виде, полностью охарактеризованы с применением спектральных методов, после чего будет проведено изучение их противобактериальной и противоопухолевой биологической активности.

3 Экспериментальная часть

3.1 Материалы и методы

ИК-спектры записаны на ИК-фурье-спектрометре Perkin-Elmer SpectrumBX-II в таблетках с KBr и в растворах в хлороформе. Полосы поглощения указаны в обратных сантиметрах (cm^{-1}). Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C получены на спектрометре Bruker Avance 400 (400 МГц для ядер ^1H и 100 МГц для ядер ^{13}C) в CDCl_3 , MeOH-d_4 при 30 °С, внутренний стандарт – ТМС. Химические сдвиги приведены в м.д. в δ -шкале относительно ТМС, константы спин-спинового взаимодействия (J) в Гц. Для снятия масс-спектров EI индивидуальных соединений использовали систему прямого ввода образца HPP7 & ProbeDirect™ в комбинации с MSD HP 5973.

Реакции под действием микроволнового облучения проводили в микроволновой печи SEM Discover в режиме фиксированной мощности при атмосферном и повышенном давлении. Степень протекания реакции контролировали с помощью ТСХ (сорбфил, 5-17 мкм). Использовали системы этилацетат/гексан (1:2, 1:5), хлористый метилен; пластинку размером 1,5 см:5,0 см. Для препаративного выделения вещества использовали пластинку (20×20 см) на незакрепленном слое сорбента (SiO_2 , 15-40 мкм) в указанных выше системах растворителей.

В ходе данной работы по известным методикам были получены следующие соединения: 2-бромфаскаплизин (**4a**), 6-метилфаскаплизин (**91**), 6-фенилфаскаплизин (**92**), 9-бромфаскаплизин (**94**), 10-фенилфаскаплизин (**107**), 8-фенилфаскаплизин (**108**).

3.2 Взаимодействие фаскаплизина (1) с диметилксалатом и диэтилксалатом

3.2.1 При нагревании с обратным холодильником

Фаскаплизин (10 мг, 0.028 ммоль) поместили в круглодонную колбу, добавили 0,5 мл диэтилового эфира щавелевой кислоты, после чего кипятили

с обратным холодильником в течение 1 часа. После охлаждения эфир удалили в вакууме. Остаток растворили в этиловом спирте, нанесли на ПТСХ (пластина 20x20 см, SiO₂, 15-40 мкм) и хроматографировали в системе этилацетат : гексан 1:2. Выход соединения **11** – 2 мг (20 %). В аналогичных условиях для диметилового эфира щавелевой кислоты ожидаемый продукт не образуется.

3.2.2 При нагревании в автоклаве

Опыт 1

Фаскаплизин (11 мг, 0.03 моль) поместили в автоклав (стеклянная пробирка от микроволнового реактора SEM Discover, снабженная септой), добавили 0,5 г диметилового эфира щавелевой кислоты, после чего зафиксировали в аттенюаторе и герметизировали сосуд. Основание пробирки выдерживали в металлической бане с температурой 200 °С в течение получаса, при этом давление в сосуде достигало 15 бар. После охлаждения реакционного сосуда отогнали эфир на вакуумном насосе. Остаток растворили в этиловом спирте, после чего нанесли на ПТСХ (пластина 20x20, SiO₂, 15-40 мкм) и хроматографировали в системе этилацетат :гексан 1:2. Собрали два продукта: выход нижнего составил 1 мг, а верхнего (соединения **10**) – 2 мг (24%).

Масс-спектр (ESI, регистрация положительный ионов): 343 (M+H)⁺. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 12.54 (br. s, 1H), 8.41 (d, 1H, J=7.1), 8.12 (dd, 1H, J1=8.0, J2=0.8), 7.97 (d, 1H, J=8.2), 7.81 (d, 1H, J=6.9), 7.76 (d, 1H, J=7.9), 7.71 (d, 1H, J=7.3), 7.58 (t, 1H, J=7.3), 7.52 (t, 1H, J=7.0), 7.45 (t, 1H, J=7.4), 7.37 (t, 1H, J=8.7), 4.13 (s, 3H). Спектр ЯМР-¹³C (CDCl₃): 177.9, 167.8, 138.5, 134.8, 133.4, 129.3, 127.6, 127.2, 126.3, 123.1, 121.9, 120.9, 120.7, 120.6, 119.7, 117.1, 112.8, 111.3, 109.1, 101.9, 53.0.

Опыт 2

Провели реакцию аналогично методике, указанной выше. Взяли 8 мг (0.02 ммоль) фаскаплизина и 0.5 г диэтилового эфира щавелевой кислоты. По данным ТСХ наблюдали два продукта: целевой продукт желтого цвета и следовые количества побочного продукта розового цвета. Выход соединения **11** составил 2 мг (33%).

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): 12.55 (br. s), 8.40 (d, $J=7.1$), 8.11 (dd, $J=8.0$; 0.9), 7.96 (d, $J=8.1$), 7.80 (d, $J=6.7$), 7.70 (d, $J=8.4$), 7.57 (ddd, $J=8.2, 7.1, 1.2$), 7.51 (t), 7.45 (t), 7.36 (ddd, $J=8.0, 7.1, 0.9$), 4.61 (2H, q), 0.87 (3H, t).

Спектр ЯМР- ^{13}C (CDCl_3): 195.8, 168.3, 138.3, 132.6, 131.4, 129.5, 128.3, 126.2, 125.1, 122.3, 122.1, 121.8, 121.0, 120.5, 120.2, 118.8, 117.0, 112.5, 112.2, 110.6, 106.5, 51.6, 29.9.

3.3 Оптимизация условий исследуемой реакции

3.3.1 Взаимодействие фаскаплизина с диметилксалатом и диэтилксалатом под действие микроволнового излучения

Опыт 1

Фаскаплизин (4 мг, 0.01 ммоль) поместили в автоклав, добавили 0,5 г (0,01 ммоль) диметилксалата, закрыли септой и поместили в прибор на 30 минут при 100 Вт. По данным ТСХ образуется целевое соединение **10** наряду с побочными продуктами, также мы видим, что в реакционной смеси остался фаскаплизин.

Опыт 2

Фаскаплизин (22 мг, 0.06 ммоль) поместили в автоклав, добавили 0,5 г (0,004 моль) диметилксалата, продули аргоном, закрыли септой и поместили в прибор на 30 минут при 150 Вт. По данным ТСХ образуется целевое соединение **10** наряду с побочным продуктом. После охлаждения реакционного сосуда отогнали эфир на вакуумном насосе. Остаток растворили в этиловом спирте, после чего нанесли на ПТСХ (пластина 20x20, SiO_2 , 15-40 мкм) и хроматографировали в системе этилацетат :гексан 1:2.

Собрали два продукта: выход верхнего (соединения **10**) составил 3 мг (14%), нижнего (соединение **88**) – 11 мг (52%).

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): 8.39 (d, 1 H, $J=7.02$), 8.08 (t, 2 H, $J=7.95$), 7.94 (d, 1 H, $J=8.29$), 7.68 (d, 1 H, $J=6.93$), 7.58 - 7.60 (m, 2 H), 7.53 (td, 1 H, $J=7.63$), 7.43 (ddd, 1 H, $J=8.22$), 7.35 - 7.40 (m, 1 H), 4.00 (s, 3 H), 3.97 (s, 3 H).

Спектр ЯМР- ^{13}C (CDCl_3): 178.1, 166.5, 143.7, 133.9, 132.8, 132.4, 128.5, 127.5, 126.4, 122.9, 122.4, 121.9, 121.4, 120.8, 120.4, 117.8, 111.3, 111.0, 107.9, 102.9, 53.1, 35.4.

Опыт 3

Провели реакцию с диэтилоксалатом по методике, указанной выше. По данным ТСХ реакция не идет.

3.3.2 Изучение влияния восстановителей на протекание реакции фаскаплизина с диметиловым эфиром щавелевой кислоты

Опыт 1

Фаскаплизин (5 мг, 0.014 ммоль) поместили в автоклав, добавили 0,5 г (0,004 моль) диметилового эфира щавелевой кислоты, 10-кратный избыток (0,14 ммоль) NaBH_4 , продули аргоном и нагревали на металлической бане (200°C) в течение 30 минут. По данным ТСХ реакция не идет.

Опыт 2

Фаскаплизин (5 мг, 0.014 ммоль) поместили в автоклав, добавили 0,5 г (0,004 моль) диметилового эфира щавелевой кислоты, 10-кратный избыток (0,14 ммоль) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, продули аргоном и нагревали на металлической бане (200°C) в течение 30 минут. По данным ТСХ образуется смесь продуктов, при этом целевое соединение преобладает. Увеличили загрузку исходных реагентов в 10 раз и повторили реакцию. Выход гомофаскаплизина В составил 14 мг (30%), а метил-12*H*-пиридо[1,2-*a*:3,4-*b'*]дииндол-13-карбоксилата – 10 мг (22%).

Спектр ЯМР ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 12.04 (br. s., 1H, NH), 8.28 (d, $J=8.10$ Hz, 1 H), 8.16 (d, $J=7.12$ Hz, 1 H), 8.00 (d, $J=8.00$ Hz, 1 H), 7.84 (d, $J=8.20$ Hz, 1 H), 7.63 (d, $J=8.20$ Hz, 1 H), 7.48 - 7.52 (m, 1 H), 7.45 - 7.48 (m, 1 H), 7.43 (d, $J=7.12$ Hz, 1 H), 7.33 - 7.39 (m, 1 H), 7.30 (t, $J=7.51$ Hz, 1 H), 4.07 (s, 3 H).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3) δ : 167.9, 137.9, 133.2, 131.7, 128.4, 127.6, 125.8, 124.8, 122.3, 122.0, 121.5, 120.2, 119.9, 117.9, 116.8, 116.6, 112.2, 110.3, 106.1, 51.3.

Опыт 3

Фаскаплизин (5 мг, 0.014 ммоль) поместили в автоклав, добавили 0,5 г (0,004 моль) диметилового эфира щавелевой кислоты, 10-кратный избыток (0,14 ммоль) Na_2SO_3 , продули аргоном и нагревали на металлической бане (200°C) в течение 30 минут. По данным ТСХ образуется смесь продуктов в следовых количествах.

Опыт 4

Фаскаплизин (5 мг, 0.014 ммоль) поместили в автоклав, добавили 0,5 г (0,004 моль) диметилового эфира щавелевой кислоты, 10-кратный избыток (0,14 ммоль) $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, продули аргоном и нагревали на металлической бане (200°C) в течение 30 минут. По данным ТСХ реакция не идет.

Опыт 5

Фаскаплизин (5 мг, 0.014 ммоль) поместили в автоклав, добавили 0,5 г (0,004 моль) диметилового эфира щавелевой кислоты, 10-кратный избыток (0,14 ммоль) KI, продули аргоном и нагревали на металлической бане (200°C) в течение 30 минут. По данным ТСХ образуется новый продукт.

Опыт 6

Фаскаплизин (5 мг, 0.014 ммоль) поместили в автоклав, добавил 0,5 г (0,004 моль) диметилового эфира щавелевой кислоты, 10-кратный избыток (0,14 ммоль) LiAlH_4 , продули аргоном и нагревали на металлической бане

(200 °C) в течение 30 минут. По данным ТСХ образуется смесь продуктов в следовых количествах.

Опыт 7

Фаскаплизин (5 мг, 0.014 ммоль) поместили в автоклав, добавили 0,5 г (0,004 моль) диметилового эфира щавелевой кислоты, Pd/C (10%, на кончике шпателя), автоклав заполнили молекулярным водородом и нагревали на металлической бане (200 °C) в течение 30 минут. По данным ТСХ реакция не идет.

Опыт 8

Фаскаплизин (5 мг, 0.014 ммоль) поместили в автоклав, добавили 0,5 г (0,004 моль) диметилового эфира щавелевой кислоты, 10-кратный избыток (0,14 ммоль) N₂H₄, добавили на кончике шпателя Ni(Re), продули аргоном и нагревали на металлической бане (200 °C) в течение 30 минут. По данным ТСХ образуется смесь продуктов в следовых количествах.

Опыт 9

Фаскаплизин (5 мг, 0.014 ммоль) поместили в автоклав, добавили 0,5 г (0,004 моль) диметилового эфира щавелевой кислоты, 10-кратный избыток (0,14 ммоль) ГХ, продули аргоном. Реакцию проводили в микроволновой печи при 100 Вт в течение 30 минут. По данным ТСХ образуется смесь продуктов, при этом целевое соединение преобладает. Увеличили загрузку исходных реагентов в 10 раз и повторили реакцию. Выход гомофаскаплизина В составил 26 мг (52 %).

3.4 Взаимодействие 3-бромфаскаплизина с диметилксалатом и диэтилксалатом

3.4.1 В присутствии гидрохинона (ГХ)

Опыт 1.

В автоклав поместили 12 мг (0,028 ммоль) 3-бромфаскаплизина, 0.5 г (0,004 моль) диметилового эфира щавелевой кислоты, 10-кратный избыток (0,28 ммоль) ГХ, продули аргоном. Нагрев проводили на металлической бане при 200 °С в течение 30 минут. По результатам ТСХ происходит образование нового продукта.

Опыт 2.

Реакцию с диэтиловым эфиром щавелевой кислоты проводили в аналогичных условиях. Контроль по ТСХ показал образование нового продукта.

Оба продукта были выделены методом ПТСХ на закрепленном слое сорбента (пластина 20x20, SiO₂, 15-40 мкм) в чистом CH₂Cl₂, но их структуру не удалось установить в силу неустойчивости полученных соединений.

3.4.2 Под действием микроволнового излучения

Опыт 1.

В автоклаве смешали 0,026 г (0,06 ммоль) 3-бромфаскаплизина, 0,5 г диметилового эфира щавелевой кислоты, продули аргоном и нагревали под действием микроволнового излучения в течение одного часа (50 Вт). Контроль реакции осуществляли при помощи ТСХ. Обнаружили, что наряду с ожидаемым продуктом в смеси присутствует гомофаскаплизин В. Для выделения вещества использовали ПТСХ на незакрепленном слое сорбента (пластина 20x20, SiO₂, 15-40 мкм) и хроматографировали в системе этилацетат : гексан 1:5. Выход соединения **12** составил 5 мг (20%), а гомофаскаплизина В – 4 мг (19%).

Спектр ЯМР ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 12.37 (br s, 1H, NH), 8.25 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 8.06-8.08 (m, 2H), 7.76 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.52-7.60 (m, 3H), 7.34 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 4.11 (s, 3H).

Спектр ЯМР ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 177.9, 166.0, 138.5, 135.9, 134.0, 129.4, 128.9, 127.9, 126.0, 121.9, 121.1, 120.7, 120.0, 117.0, 116.2, 115.5, 114.6, 112.9, 109.5, 103.1, 53.2.

Опыт 2.

Реакцию с диэтиловым эфиром щавелевой кислоты проводили в аналогичных условиях. Контроль по ТСХ показал образование целевого соединения **13** в следовых количествах.

3.4.3 При нагревании в автоклаве

Опыт 1.

В автоклаве смешали 0,022 г (0,05 ммоль) 3-бромфаскаплизина, 0,5 г диэтилового эфира щавелевой кислоты, продули аргоном и проводили реакцию 2 часа при нагревании до 200 °С. Контроль реакции осуществляли при помощи ТСХ. Обнаружили, что образуется смесь веществ и преобладает целевое соединение. Далее продукт был выделен ПТСХ на незакрепленном слое сорбента (пластина 20x20, SiO_2 , 15-40 мкм) и хроматографирован в системе этилацетат : гексан 1:5. Выход соединения **13** составил 5 мг (22-23%).

Спектр ЯМР ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 12.36 (br s, 1H, NH), 8.22 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 8.03-8.06 (m, 2H), 7.74 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.60-7.63 (m, 2H), 7.51-7.56 (m, 2H), 7.33 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 4.59 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.50 (t, $J = 7.21$ Hz, 3H).

Спектр ЯМР ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 178.1, 168.8, 138.3, 134.9, 133.8, 129.1, 128.9, 127.6, 125.8, 121.7, 121.0, 120.9, 120.5, 120.4, 116.7, 115.9, 114.3, 112.6, 109.2, 101.7, 62.3, 29.7.

Опыт 2.

Реакцию с диметилксалатом проводили в аналогичных условиях. Выход соединения **12** составил 5 мг (24%).

3.5 Получение гомофаскаплизина С

Реакцию с 7 мг (0,02 ммоль) гомофаскаплизина В проводили в смеси тетрагидрофурана и воды (2 мл) под действием щелочи. Реакционную смесь перемешивали в течение двух суток при комнатной температуре, затем выделяли методом экстракции с помощью этилацетата. Контроль реакции осуществляли при помощи ТСХ. Выход целевого соединения составил 3 мг (50%).

3.6 Получение 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина

Смешали в плоскодонной колбе на 10 мл *m*-бутилгидропероксид (123 мг, 0,00096 моль), 2-бромацетофенон (159 мг, 0,0008 моль), триптамин (128 мг, 0,0008 моль) и I₂ (162 мг, 0,00064 моль) в 3 мл DMSO при комнатной температуре. Данную смесь нагревали при перемешивании с магнитной мешалкой при температуре 110 °С в течение 5 часов. Охлажденный раствор разбавили 50 мл воды и экстрагировали этилацетатом 3 раза. Экстракт промыли 10%-ым раствором тиосульфата натрия, высушили безводным Na₂SO₄ и упарили под уменьшенным давлением. Остатки воды отделяли азеотропной перегонкой с хлороформом. Остаток хроматографировали через короткую колонку с силикагелем бензолом или толуолом до отсутствия β-карболинов. Элюат упаривали при пониженном давлении. Остаток хроматографировали методом ПТСХ. После выделения целевого продукта выход составил 20 мг (5%).

Модификация 1.

Провели опыт по описанной выше методике, заменив перекись на избыток I₂ (328 мг, 0,0013 моль). По данным ТСХ, обнаружили неизвестное вещество близкое по свойствам к 1-(2'-бромбензоил)-β-карболину.

Модификация 2.

Провели опыт по описанной выше методике, заменив перекись на избыток I₂ (328 мг, 0,0013 моль) и увеличив время реакции до 24 часов. По данным ТСХ, наблюдали наряду с целевым продуктом обнаруженный

минорный продукт. Выход нового соединения был по-прежнему незначительным.

Модификация 3.

Провели опыт по описанной выше методике, заменив плоскодонную колбу на автоклав с септой, перекись водорода на еще больший избыток I₂ (648 мг, 0,0026 моль) и увеличив время реакции до 24 часов. В результате реакционная смесь осмолилась.

Модификация 4

Провели опыт по описанной выше методике в колбе с обратным холодильником, заменив перекись водорода на I₂ (648 мг, 0,0026 моль) и увеличив время реакции до 24 часов. Выход не изменился.

Модификация 5

Провели опыт по описанной выше методике, заменив перекись водорода на I₂ (648 мг, 0,0026 моль), водяную баню на масляную, колбу снабдили обратным холодильником, увеличили температуру до 150 °С и количество растворителя до 5 мл. Время реакции контролировали по ТСХ и остановились на 20 ч. Выход соединения **90** составил 37 мг (10%).

ИК-спектр (KBr), ν , см⁻¹: 3413, 3055, 2923, 1650, 1621, 1589, 1470, 591, 532.

Масс-спектр (M+H)⁺, m/z: расч. 476,9099, найд. 476,9123.

Спектр ЯМР ¹H (BENZENE-d₆): 8.28 (д., 1 H), 8.12 (д., 1 H), 7.51 (дд., 1 H), 7.40 (дд., 1 H), 7.37 (д., 1 H) 7.24 (д., 1 H), 6.92 - 6.99 (м., 1 H), 6.76 (тд., 1 H), 6.33 (д., 1 H).

Спектр ЯМР-¹³C (BENZENE-d₆): 197.7, 140.7, 139.6, 138.5, 136.8, 135.132.4, 9113.6, 118.5, 119.5, 119.8, 122.7, 126.1, 129.3, 129.6, 130.1, 130.3.

3.7 Взаимодействие триптамина с 2-бромацетофеноном в ДМСО при нагревании.

Опыт 1.

В плоскодонную колбу на 10 мл поместили 128 мг (0,0008 моль) триптамина, растворили в 3 мл ДМСО, затем добавили молекулярного йода (162 мг, 0,00096 моль), 2-бромацетофенона (159 мг, 0,0008 моль), перекись водорода (215 мг, 0,0012 моль). Нагревали на глицериновой бане в течение полутора часов при 110 °С. По данным ТСХ видно, что реакция с перекисью водорода не идет

В реакционную смесь добавили ТВН (154 мг, 0,0012 моль) и нагревали в течение 3-х часов. По данным ТСХ заметно появление продукта.

После 5 часов кипячения наблюдаем образование целевого продукта, но лучше или хуже протекает реакция, сказать нельзя.

Опыт 2.

В плоскодонную колбу на 10 мл поместили 128 мг (0,0008 моль) триптамина, растворили в 3 мл ДМСО, добавили молекулярный йод 162 мг (0,00096 моль), 2-бромацетофенон 159 мг (0,0008 моль), *трет*-бутилгидропероксид (154 мг, 0,0012 моль). Нагревали на глицериновой бане в течение 5 часов при 110 °С. По данным ТСХ в реакционной смеси присутствует 1-(2'-бромбензоил)-β-карболин с побочным продуктом **90**.

В реакционную смесь добавили избыток ТВН 154 мг (0,0012 моль), оставили нагреваться на глицериновой бане при 110 °С в течение еще 5 часов. Контроль ТСХ: реакционная смесь содержит 1-(2'-бромбензоил)-β-карболин и следовое количество целевого продукта.

Затем в реакционную колбу добавили избыток молекулярного йода 162 мг (0,00096 моль) и нагревали при 150 °С в металлической бане в течение 5 часов. По данным ТСХ существенно изменения не происходит.

3.8 Взаимодействие триптамина с 2-бромацетофеноном в ДМСО под действием микроволнового излучения

В круглодонную колбу на 10 мл поместили 128 мг (0,0008 моль) триптамина, растворенного в 5 мл ДМСО, добавили молекулярный йод (648 мг, 0,0026 моль) и 2-бромацетофенон (159 мг, 0,0008 моль). Поместили колбу в микроволновую печь при 50 Вт, для отвода тепла использовали обратный холодильник, температуру измеряли с помощью термопары. Время проведения реакции 4 часа. Контроль вели с помощью ТСХ: реакция проходит практически полностью за 1 час, а через 4 часа реакционная смесь разлагается.

Модификация 1

В автоклаве смешали соотношение реагентов аналогично исходной методике, закрыли септой, поместили в микроволновую печь при 30 Вт. Через 1 час проверили ход реакции с помощью ТСХ: реакция не идет. Возобновили нагрев реакционной смеси на 2 часа в таких же условиях. Контроль ТСХ: через три часа реакция не идет.

Модификация 2

В круглодонной колбе смешали аналогичное исходной методике соотношение компонентов. Мощность микроволнового излучения – 30 Вт. По данным ТСХ наблюдаем, что реакция не доходит до конца, т.е. не хватает мощности.

Модификация 3

Аналогично исходной методике смешали все реагенты (количества уменьшены в два раза) в круглодонной колбе и поместили в микроволновую печь на 3 часа при 40 Вт. По данным ТСХ наблюдаем, что реакции не протекает.

Модификация 4

Предварительно перевели 0,0008 моль триптамина в гидрохлорид (растворили в спирте и добавили конц. HCl, затем смесь упарили на роторе, высушили в эксикаторе, образовалась тягучая зеленая масса). К полученной соли добавили 159 мг (0,0008 моль) 2-бромацетофенона, 648 мг (0,0026 моль) I₂, разбавили 5 мл ДМСО и поместили в микроволновку на 1 час с мощностью излучения 50 Вт. Контроль реакции методом ТСХ: триптамин отсутствует в реакционной смеси, а целевой продукт реакции присутствует наравне с 1-(2'-бромбензоил)-β-карболином.

Модификация 5

Предварительно перевели 0,0008 моль триптамина в сульфат взаимодействием с серной кислотой. Полученную соль поместили в микроволновую печь и облучали при 40 Вт в течение 3 ч. Контроль реакции осуществлялся методом ТСХ: после 1 часа наблюдаем два продукта, на 2-ом часу идет образование преимущественно целевого соединения, через 3 часа – реакционная смесь полностью сгорает.

3.9 Реакция йодирования 1-(2'-бромбензоил)-β-карболина

В пришлифованную пробирку на 5 мл поместили 15 мг (0,04 ммоль) 1-2'-бромбензоил-β-карболина, добавили 50 мг (0,5 ммоль) *n*-толуолсульфокислоты и 1 мл диметилсульфоксида. К полученному раствору добавили молекулярный йод (100 мг), после чего нагревали на масляной бане с обратным холодильником при температуре 110 °С в течение 1 часа. Охлажденный раствор разбавили 50 мл воды и экстрагировали этилацетатом 3 раза. Экстракт промыли 10%-ым раствором тиосульфата натрия, высушили безводным Na₂SO₄ и упарили под уменьшенным давлением. Остатки воды отделяли азеотропной перегонкой с хлороформом. Остаток хроматографировали через короткую колонку с силикагелем бензолом или толуолом до отсутствия β-карболинов. Элюат упаривали при пониженном

давлении. Остаток хроматографировали методом ПТСХ дважды в бензоле. Выход целевого продукта составил 70%.

3.10 Циклизация полученного продукта в замещенный фаскаплизин

Перенесли 12 мг (0,025 ммоль) 1-(2'-бромбензоил)-6-йод- β -карболина в круглодонную колбу, добавили немного EtOAc и нагрели на спиртовке до растворения кристаллов. Затем упарили на роторном испарителе, чтобы кристаллы равномерно распределились по дну колбы, и поставили в эксикатор на 30 мин. Нагрели металлическую баню до температуры 200 °С. Опустили колбу с веществом в тигель с расплавом и оставили на 40 мин. После извлекли колбу, охладили, остаток экстрагировали горячей водой до прекращения окрашивания в красный цвет. Водный экстракт упарили на роторном испарителе: температура бани 85°C, вакуум 0,09 мБар. Затем перенесли вещество с помощью спирта в колбу на 10 мл, упарили при пониженном давлении и высушили в вакуум-эксикаторе. Выход целевого продукта составил 7 мг (58%).

Спектр ЯМР ^1H (MeOH – d_4): δ 9.36 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.32 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.96 (dd, $J = 7.0, 6.2$ Hz, 1H), 7.74 (dd, $J = 7.0, 6.2$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H).

Спектр ^{13}C (100 MHz, MeOH- d_4): δ 181.7, 147.3, 146.4, 142.4, 139.9, 136.9, 132.7, 131.5, 131.4, 126.5, 125.5, 124.1, 122.0, 120.5, 118.0, 115.2, 115.0.

3.11 Йодирование фаскаплизина под действием микроволнового излучения

В круглодонную колбу на 5 мл поместили 10 мг (0,04 ммоль) фаскаплизина, растворили в 1 мл ДМСО и добавили молекулярный йод на кончике шпателя. Поместили колбу в микроволновую печь на 18 минут при мощности облучения 50 Вт. По данным ТСХ наравне с исходным образуется продукт йодирования.

Модификация 1

Провели опыт по описанной выше методике. Время проведения: 15мин+5мин+5мин+3мин (останавливали для отбора проб). На 28 минуте резко увеличилась температура, образовалась темно-коричневая вязкая жидкость. Контроль ТСХ: через 15 минут отмечено образование целевого продукта. При дальнейшем нагревании происходит увеличение содержания целевого соединения, но исходное не пропадает, через 28 минут реакционная смесь разлагается.

Модификация 2

Провели опыт по описанной выше методике, время реакции 30 минут и количество растворителя увеличено в 2 раза (2,1 мл). Контроль ТСХ: реакция не идет.

Модификация 3

Использовали автоклав, не изменяя загрузку. Через 3 минуты произошло резкое увеличение давления и выключение прибора. Понизили мощность излучения до 30 Вт и поставили реакцию на 30 минут, постепенно увеличивая мощность до 45 Вт. Контроль ТСХ: наблюдаем образование исходного соединения и целевого продукта в минорном количестве.

Модификация 4

Воспроизвели исходную методику в течение 30 минут при 45 Вт. Протекание реакции контролировали с помощью ТСХ: в реакционной смеси наряду с фаскаплизином образуется его йодпроизводное **92**.

Модификация 5

Воспроизвели исходную методику при 45 Вт. Время реакции составило 23 минуты. Контроль ТСХ: наряду с исходным соединением в реакционной смеси присутствует незначительное количество целевого продукта.

Модификация 6

В колбу на 3 мл поместили 3 мг (0,01 ммоль) фаскапизина, I₂, растворили в 1 мл ДМСО и бросили кипелку. Поместили колбочку в микроволновую печь на 42 минуты при 45 Вт. ТСХ: наряду с исходным соединением, образуется его йодпроизводное, но содержание его незначительно.

Модификация 7

Провели опыт по описанной выше методике, заменили ротор на кипелку, увеличили мощность до 50 Вт и уменьшили время реакции до 30 минут. Взяли пробу ТСХ: образуется целевой продукт, но фаскаплизин остается в большем количестве, поставили реакционную смесь на 30 минут при той же мощности. Контроль ТСХ: фаскаплизин и целевой продукт присутствуют в следовых количествах.

3.12 Йодирование фаскаплизина при кипячении в ДМСО

В клуглодонную колбу поместили 3 мг (0,011 ммоль) фаскаплизина, молекулярный йод, 1 мл ДМСО, нагрев вели на глицериновой бане с обратным холодильником. Продолжительность реакции 4 часа 40 минут. Контроль ТСХ: наряду с целевым продуктом присутствует исходник и с увеличением времени его концентрация не уменьшается.

Модификация 1

В клуглодонную колбу на 3 мл поместили 2 мг (0,007 ммоль) фаскаплизина, молекулярного йода, 0,5 мл ДМСО, нагревали на глицериновой бане с обратным холодильником в течение 3-х часов. Затем убрали глицериновую баню и кипятили на плитке около 1 часа. Контроль с помощью ТСХ: наряду с фаскаплизином в реакционной смеси наблюдаем целевой продукт. При увеличении времени реакции сложно сказать об увеличении концентрации целевого, но при этом смесь не разлагалась.

Модификация 2

Провели опыт по методике, описанной в первом опыте, изменив количество исходного соединения (0,007 ммоль). Время реакции 2 часа. ТСХ: после первых 30 минут видим наличие йодпроизводного вместе с исходным соединением, но в меньшем количестве. Через час идет накопление целевого продукта, а через 2 часа исходное соединение и йодпроизводное разлагаются.

3.13 Реакция Сузуки между 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболином и фенилборной кислотой

В пришлифованную пробирку на 5 мл поместили 15 мг (0,032 ммоль) 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина, добавили 2 мг (0,016 ммоль) фенилборной кислоты, тетраakis(трифенилфосфин)палладий (на кончике шпателя), 300 мкл толуола и 120 мкл 2М раствора Na₂CO₃. Реакционную смесь продули аргоном и кипятили с обратным холодильником при 110 °С в течение 7 часов. Охлажденный раствор разбавили 50 мл воды и экстрагировали этилацетатом 3 раза. Экстракт упарили под уменьшенным давлением. Остатки воды отделяли азеотропной перегонкой с хлороформом. Остаток хроматографировали методом ПТСХ в системе бензол. Выход целевого продукта составил 85%.

Модификация 1

Уменьшили количество 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина (5 мг, 0,011 ммоль) и температуру нагревания до 90 °С. Получили аналогичные результаты.

Опыт 3.

В пришлифованную пробирку на 5 мл поместили 5 мг (0,01 ммоль) 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина, добавили тетраakis(трифенилфосфин)-палладий (на кончике шпателя), 300 мкл раствора 4 мг фенилборной кислоты в 1 мл диоксана, 50 мкл воды и 2 мг Na₃PO₄. Реакционную смесь продули аргоном и кипятили с обратным холодильником при 100 °С в течение 1 часа. По данным ТСХ реакция не протекает.

Соединение **93**:

ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3344, 3049, 1655, 1593, 1479, 1464.

Масс-спектр $(\text{M}+\text{H})^+$, m/z : расч. 429,0426, найд. 429,0443.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): 10.48 (уш. с., 1 H), 8.60 (д., 1 H), 8.40 (с., 1 H), 8.23 (д., 1 H), 7.92 (дд., 1 H), 7.73 (дд., 1 H), 7.60 (дд., 1 H), 7.52 - 7.56 (м., 1 H), 7.48 - 7.51 (м., 1 H), 7.37 - 7.46 (м., 1 H).

Спектр ЯМР- ^{13}C (CDCl_3): 199.8, 142.8, 142.1, 141.9, 140.5, 138.9, 136.9, 136.3, 134.7, 133.5, 132.9, 131.4, 131.1, 130.7, 130.5, 128.9, 128.6, 128.5.

Соединение **94**:

Масс-спектр $(\text{M}+\text{H})^+$, m/z : расч. 425,1654, найд. 425,1668.

3.14 Получение 9-фенилфаскаплизина

1-(2'-бромбензоил)-6-фенил- β -карболин (0,08 ммоль, 0,036 мг) был нагрет в закрытом виале при 220°C в течение 40 минут. После охлаждения смесь была промыта этилацетатом (3 x 3 мл) и водой (3 x 10 мл). Водные слои были объединены и подкислены соляной кислотой. После чего упарены при пониженном давлении. Полученный продукт представляет собой красный порошок (0,027 мг, 77%)

Спектр ЯМР ^1H ($\text{MeOH} - d_4$): δ 9,33 (с, 1H), 8,97 (с, 1H), 8,59 (с, 1H), 7,68- 7,77 (м, 4H), 7,62 (дд, $J_1 = J_2 = 7,7$ Гц, 1H), 7,49-7,64 (м, 2H), 6,49 (д, $J = 8,4$ Гц, 1H);

Спектр ^{13}C (100 MHz, $\text{MeOH}-d_4$): δ 181.6, 147.2, 146.6, 141.4, 139.3, 136.9, 136.5, 133.6, 131.3, 128.7, 126.5, 124.0, 121.3, 120.3, 118.0, 115.1, 113.5.

3.15 Взаимодействие 1-(2'-хлорбензоил)-6-йод- β -карболина

В виале на 1 мл с притертой крышкой смешивали исходный 1-(2'-хлорбензоил)-6-йод- β -карболин (23.5 мг, 0,055ммоль), соответствующую арилборную кислоту (0,08ммоль), K_2CO_3 (11 мг, 0,08 ммоль), тетракистрифенилфосфинпалладий (0,8 мг, $0,69 \cdot 10^{-3}$ ммоль), добавили H_2O (150мкл) и толуол (300мкл), затем продули аргоном и полученную смесь

перемешивали при 75 °С в течение 7 часов. По данной методике были успешно получены следующие продукты кросс-сочетания:

соединение (**113a**):

Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z: 433 (M⁺).

соединение (**113b**):

Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z: 433 (M⁺).

соединение (**113c**):

Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z: 458 (M⁺).

соединение (**113d**):

Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z: 428 (M⁺).

Выводы

1. Показано, что при нагревании фаскаплизина с диметиловым и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты при 200 °С образуются, соответственно, гомофаскаплизины В и В-1.

2. В аналогичных условиях из 3-бромфаскаплизина были впервые получены алкалоиды 3-бромгомофаскаплизины В и В-1 исходя из 3-бромфаскаплизина. Применение данной реакции к 6-метилфаскаплизину, 6-фенилфаскаплизину, 2-бромфаскаплизину, 9-бромфаскаплизину, 9-йодфаскаплизину не происходит образование соответствующих производных гомофаскаплизина В.

3. Показана возможность одностадийной конверсии гомофаскаплизина В в гомофаскаплизин С. Цитотоксическое действие гомофаскаплизина С в отношении опухолевых клеток рака простаты человека как минимум в шесть раз превосходит аналогичный показатель для неопухолевых клеток.

4. Прямое йодирование фаскаплизина в положение 9 малоэффективно. Путем йодирования 1-(2'-хлорбензоил)- β -карболина, введения полупродукта в реакцию Сузуки и дальнейшей кватернизации было получено производное фаскаплизина, содержащее фенильный заместитель в положении 9. Показана возможность применения данной схемы для введения других арильных заместителей.

5. Для полученного производного показана высокая цитотоксическая активность в условиях *in vitro* в отношении болезнетворных бактерий, в том числе резистентных. В условиях *in vivo* для него выявлена способность в дозе 5 мг/кг тормозить рост опухоли на солидной модели аденокарциномы Эрлиха на 30,9% по сравнению с контролем. Значение параметра ЛД₅₀ для данного соединения составило 25 мг/кг, что позволило его отнести умеренно токсичным веществам.

Список публикаций

Статьи:

1. One-step transformation of the marine alkaloid fascaplysin into homofascaplysin B and B-1. The first syntheses of 3-bromohomofascaplysin B and 3-bromohomofascaplysin B-1 / Zhidkov M.E., Sidorova M.A., Lyakhova I.A.// Tetrahedron Lett.-2018.-59.- p. 1417-1420, <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2018.02.070>.
2. Study of structure-activity relationships of the marine alkaloid fascaplysin and its derivatives as potent anticancer agents / Zhidkov, M.E.; Kaune, M.; Kantemirov, A.V.; Smirnova, P.A.; Spirin, P.V.; Sidorova, M.A.; Stadnik, S.A.; Shyrokova, E.Y.; Kaluzhny, D.N.; Tryapkin, O.A.; et al.// Mar. Drugs.- 2022. 20(3), 185, <https://doi.org/10.3390/md20030185>
3. Comparative Evaluation of the Antibacterial and Antitumor Activities of 9-Phenylfascaplysin and Its Analogs / M. E. Zhidkov, M. A. Sidorova, P. A. Smirnova, O. A. Tryapkin, A. V. Kachanov, A. V. Kantemirov, L. G. Dezhenkova, N. E. Grammatikova, E. B. Isakova, A. E. Shchekotikhin, M. A. Pak, O. N. Styshova, A. A. Klimovich, A. M. Popov // Mar. Drugs.- 2024.- 22.- 53, <https://doi.org/10.3390/md22020053>

Тезисы докладов

1. Изучение реакции прямого йодирования в ароматическую систему для получения йодзамещенного производного алкалоида фаскаплизина / Сидорова М.А./ В сборнике: Материалы Региональной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных по естественным наукам. Министерство образования и науки Российской Федерации; Дальневосточный федеральный университет, Школа естественных наук. 2016. С. 477-479.
2. Изучение влияния восстановителей на протекание реакции восстановительного ацилирования фаскаплизина / Сидорова М.А.,

- Кантемиров А. В., Каминский В. А., Жидков М.Е./ В сборнике: Актуальные вопросы развития образования и науки в АТР. Международная научная конференция : сборник материалов. Электронный ресурс. 2018. С. 41-42.
3. Изучение токсического действия 9- фенилфаскаплизина / Сидорова М.А., Жидков М.Е., Попов А.М., Стышова О.Н., Климович А.Н./ В сборнике: Химия и химическое образование. Сборник материалов. ФГАОУ ВО ДВФУ. 2021. С. 44-45.
4. Изучение влияния природы заместителя на активность и селективность некоторых производных алкалоида фаскаплизин/ М.А. Сидорова, С.А. Дышловой, М.Е. Жидков/ В сборнике: MedChem-Russia 2021. Материалы конференции: 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием. Волгоград, 2021. С. 309.

Список литературы

- 1) Roll, D. M. Fascaplysin, an Unusual Antimicrobial Pigment from the Marine Sponge *Fascaplysinopsis* sp. /D. M. Roll, C. M. Ireland // J. Org. Chem.- 1988.-№ 8.- P. 3276-3278.
- 2) Comparison of Fascaplysin and Related Alkaloids: A Study of Structures, Cytotoxicities, and Sources / N. L. Segraves, S. J. Robinson, D. Garcia, S. A. Said, X. Fu, F. J. Schmitz, H. Pietraszkiewicz, F. A. Valeriote, P. Crews // J. Nat. Prod.- 2004.- № 67.- P. 783-792.
- 3) The Biosynthetic Gene Cluster for the Antitumor Rebeccamycin: Characterization and Generation of Indolocarbazole Derivatives / C. Sanchez, I. A. Butovich, A. F. Brana, J. Rohr, C. Mendez, J. A. Salas // Chem. Biol.- 2002.-№ 9.- P. 519-531.
- 4) Characterization of the Biosynthetic Gene Cluster of Rebeccamycin from *Lechevalieria aerocolonigenes* ATCC 39243 / H. Onaka, S. Taniguchi, Y. Igarashi, T. Furumai // Biosci. Biotechnol. Biochem.- 2003.- № 67.- P. 127-138.
- 5) Novel Sponge-Derived Amino Acids. 12. Tryptophan-Derived Pigments and Accompanying Sesterterpenes from *Fascaplysinopsis reticulata* / C. Jimenez, E. Quinoa, M. Adamczeski, L. M. Hunter, P. Crews // J. Org. Chem.- 1991.- № 56.- P. 3403-3410.
- 6) Jimenez, C. Novel marine sponge alkaloids 3. β -Carbolinium salts from *Fascaplysinopsis reticulata* / C. Jimenez, E. Quinoa, P. Crews // Tetrahedron Lett.- 1991.- № 32.- P. 1843-1846.
- 7) Structures and cytotoxicities of fascaplysin and related alkaloids from two marine phyla—*Fascaplysinopsis* sponges and *Didemnum tunicates* / N. L. Segraves, S. Lopez, T. A. Johnson, S. A. Said, X. Fu, F. J. Schmitz, H.

- Pietraszkiewicz, F. A. Valeriotec, P. Crews // *Tetrahedron Letters*.- 2003.- № 44.- P. 3471-3475.
- 8) Schmidt, E. W. Palauolol, a New Anti-inflammatory Sesterterpene from the Sponge *Fascaplysinopsis* sp. from Palau / E. W. Schmidt, D. J. Faulkner // *Tetrahedron Lett.*- 1996.-№ 37.- P. 3951-3954.
- 9) A New Bioactive Sesterterpene and Antiplasmodial Alkaloids from the Marine Sponge *Hyrtios* cf. *erecta* / G. Kirsch, G. M. König, A. D. Wright, R. Kaminsky // *J. Nat. Prod.*- 2000.- № 63.- P. 825-829.
- 10) Cytotoxic alkaloids from the marine sponge *Thorectandra* sp. / R. D. Charan, T. C. McKee, K. R. Gustafson, L. K. Pannell, M. R. Boyd // *Tetrahedron Lett.*- 2002, № 43.- P. 5201-5204.
- 11) Попов, А. М. Физиологическая активность фаскаплизина – необычного пигмента из морских тропических губок / А. М. Попов, В. А. Стоник // *Антибиотики и химиотерапия*.- 1991.-Т. 36, № 1.- С. 96-98.
- 12) Противоопухолевая и цитостатическая активности низкомолекулярных метаболитов из морских тропических губок / А. М. Попов, Т. Н. Макарьева, С. А. Федореев, В. А. Стоник // *Химиотерапия Опухолей в СССР*.- 1991.- Т. 56.- С. 61-66.
- 13) Bengacarboline, a new β -carboline from a marine ascidian *Didemnum* sp. / T. A. Foderaro, L. R. Barrows, P. Lassota, C. M. Ireland // *J. Org. Chem.*- 1997.- № 62.- P. 6064-6065.
- 14) Total synthesis and anti-cholinesterase activity of marine-derived bisindole alkaloid fascaplysin / S. B. Bharate, S. Manda, P. Joshi, B. Singh, R. A. Vishwakarma // *Med.Chem.Comm.*- 2012.- 3.- p.1098-1103.
- 15) Identification of the First Marine-Derived Opioid Receptor “Balanced” Agonist with a Signaling Profile That Resembles the Endorphins / T. A.

- Johnson, L. Milan-Lobo, T. Che, M. Ferwerda, E. Lambu, N. L. McIntosh, F. Li, L. He, N. Lorig-Roach, P. Crews, J. L. Whistler // ACS Chemical Neuroscience. – 2016.- V. 8, № 3.- P. 473-485.
- 16) Tziveleka, L. A. Natural Products with Anti-HIV Activity from Marine Organisms / L. A. Tziveleka, C. Vagias, V. Roussis // Current Topics in Medicinal Chemistry.- 2003.- V. 3, № 13.- P. 1512-1535.
- 17) Klinkert, M. Q. The Use of Anticancer Drugs in Antiparasitic Chemotherapy / M. Q. Klinkert, V. Heussler // Mini Reviews in Medicinal Chemistry.- 2006.- V. 6, № 2.- P. 131-143.
- 18) Discovery of a marine-derived bis-indole alkaloid fascaplysin, as a new class of potent P-glycoprotein inducer and establishment of its structure-activity relationship / S. Manda, S. Sharma , A. Wani, P. Joshi, V. Kumar, S. K. Guru, S. S. Bharate , S. Bhushan, R. A. Vishwakarma, A. Kumar, S. B. Bharate// European Journal of Medicinal Chemistry.- 2016.-№107.- P. 1-11.
- 19) A marine sponge alkaloid derivative 4-chloro fascaplysin inhibits tumor growth and VEGF mediated angiogenesis by disrupting PI3K/Akt/mTOR signaling cascade / S. Sharma, S. G. Kumar, S. Manda, A. Kumar, M. J. Mintoo, V. D. Prasad, P. R. Sharma, D. M. Mondhe, S. B. Bharate, S. Bhushan // Chemico-biological interactions.- 2017.- V. 275.- P. 47-60.
- 20) Fascaplysin inhibit ovarian cancer cell proliferation and metastasis through inhibiting CDK4 / S. Chen, X. Guan, L. Wang, B. Li, X. Sang, Y. Liu, Y. Zhao// Gene.- 2017. V. 635.- P. 3-8.
- 21) Fascaplysin induces caspase mediated crosstalk between apoptosis and autophagy through the inhibition of PI3K/AKT/mTOR signaling cascade in human leukemia HL-60 cells / S. Kumar, S. Kumar Guru, A. S. Pathania, S. Manda, A. Kumar, S. B. Bharate, R. A. Vishwakarma, F. Malik, S. Bhushan // J. Cell Bio-chem.- 2015.- 116 (6).- p. 985-997.

- 22) Фаскаплизин – перспективное вещество для создания новых способов лечения глиальных опухолей головного мозга / И. С. Брюховецкий, М. Е. Жидков, И. В. Кудрявцев, А. В. Полевщиков, П. В. Мищенко, Е. В. Милькина, А. С. Брюховецкий, С. В. Зайцев, И. А. Ляхова, В. В. Вихарева, Ю. С. Хотимченко // Гены @ Клетки.- 2016.-N 4.-С.57-69.
- 23) Противоопухолевое действие производных фаскаплизина на модели глиобластомы *in vitro* / И. А. Ляхова, А. С. Брюховецкий, И. В. Кудрявцев, Ю. С. Хотимченко, М. Е. Жидков, А. В. Кантемиров // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2017.- Т. 164, № 11.- С. 622-629.
- 24) Hormann, A. DNA Binding Properties of the Marine Sponge Pigment Fascaplysin / A. Hormann, B. Chaudhuri, H. Fretz // Bioorganic & Medicinal Chemistry.- 2001.- № 9.- P. 917-921.
- 25) Inhibition of Cyclin-Dependent Kinase 4 (Cdk4) by Fascaplysin, a Marine Natural Product / R. Soni, L. Muller, P. Furet, J. Schoepfer, C. Stephan, S. Zunstein-Mecker, H. Fretz, B. Chaudhuri // Biochem. Biophys. Res. Commun.- 2000.- № 275.- P. 877-884.
- 26) In Molecular Cell Biology / B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter - New York : Garland, 2002.- 536 p.
- 27) Triggering of Suicidal Erythrocyte Death by Fascaplysin / M. Mischitellia, M. Jemaàa, M. Almasrya, C. Faggiob, F. Langa// Cell Physiol Biochem.- 2016.- V. 39.- P. 1638-1647.
- 28) Fascaplysin exert anti-tumor effects through apoptotic and anti-angiogenesis pathways in sarcoma mice model / X. Yan, H. Chen, X. Lu, F. Wang, W. Xu, H. Jin, P. Zhu // Eur J Pharm Sci.- 2011.- V. 43.- P. 251-259.

- 29) Lin, J. Fascaplysin, a selective CDK 4 inhibitor, exhibit antiangiogenic activity *in vitro* and *in vivo* / J. Lin, X-J. Yan, H-M. Chen // Cancer Chemother. Pharma-col.- 2007.- V. 59.- P. 439–445.
- 30) Fascaplysin exerts anti-cancer effects through the downregulation of survivin and HIF-1 α and inhibition of VEGFR2 and TRKA / T. Oh, Y. Lee, T. Nam, Y. Ko, S. Mah, J. Kim, Y. Kim, R. H. Reddy, Y. J. Kim, S. Hong, J. Lim // Int. J. Mol. Sci.- 2017.- V. 18, № 10.- P. 1-15.
- 31) Hanahan, D. The Hallmarks of Cancer / D. Hanahan, R. A. Weinberg // Cell.- 2000.- V. 100.- P. 57–70.
- 32) Folkman, J. Angiogenesis / J. Folkman // Annu. Rev. Med.- 2006.- V. 57.- P. 1–18.
- 33) Fascaplysin Sensitizes Anti-Cancer Effects of Drugs Targeting AKT and AMPK / T. Oh, J. H. Lee, S. Kim, T. Nam, Y. Kim, B. M. Kim, W. J. Yim, J. Lim. // Molecules.- 2017.- V. 23, № 1.- P. 42.
- 34) Opioid pharmacology / A. M. Trescot, S. Datta, M. Lee, H. Hansen // Pain Physician.- 2008.- V. 11.- P. 133-153.
- 35) Designing safer analgesics via μ -opioid receptor pathways / H. C. S. Chan, D. McCarthy, J. Li, K. Palczewski, S. Yuan // Trends Pharmacol Sci.- 2017.- V. 38.- P. 1016-1037.
- 36) Chemistry and biology of fascaplysin, a potent marine-derived CDK 4 inhibitor / S. B. Bharate, S. Manda, N. Mupparapu, N. Battini, R. A. Vishwakarma // Mini Rev Med Chem.- 2012.- V. 12 (7).- P. 650-664
- 37) The design and synthesis of novel 3-[2-indol-1-yl-ethyl]-1H-indole derivatives as selective inhibitors of CDK4 / C. Aubry, A. Patel, S. Mahale, B. Chaudhuri, J-D. Mare'chal, M. J. Sutcliffec, P. R. Jenkins // Tetrahedron Lett.- 2005.- № 46.- P. 1423-1425.

- 38) Fascaplysin-inspired diindolyls as selective inhibitors of CDK4-cyclin D1/ C. Aubry, A.J. Wilson, D. Emmerson, E. Murphy, Y.Y. Chan, M.P. Dickens, M.D. García, P.R. Jenkins, S. Mahale, B. Chaudhuri // *Bioorg. Med. Chem.* - 2009.- 17.- P. 6073–6084.
- 39) New fascaplysin-based CDK4-specific inhibitors: design, synthesis and biological activity / C. Aubry, P. R. Jenkins, S. Mahale, B. Chaudhuri, J.-D. Maréchal // *Chem. Commun.*- 2004.- P. 1696-1697.
- 40) Design, synthesis and biological evaluation of new tryptamine and tetrahydro- β -carboline-based selective inhibitors of CDK4 / P.R. Jenkins, J. Wilson, D. Emmerson, M.D.Garcia, M.R. Smith, S.J. Gray, R.G. Britton, S. Mahale, B. Chaudhuri // *Bioorg. Med. Chem.* -2008.- 16- P. 7728–7739.
- 41) Biphenyl-4-carboxylic acid [2-(1H-indol-3-yl)-ethyl]-methanamide (CA224), a nonplanar analogue of fascaplysin, inhibits Cdk4 and tubulin polymerization: evaluation of in vitro and in vivo anticancer activity / S. Mahale, SB. Bharate, S. Manda, P. Joshi, SS. Bharate, PR. Jenkins, RA. Vishwakarma, B. Chaudhuri // *J. Med Chem.*- 2014.- 57(22).- p. 9658-9672.
- 42) Design, synthesis and biological activity of new CDK4-specific inhibitors, based on fascaplysin / C. Aubry, A. J. Wilson, P. R. Jenkins, S. Mahale, B. Chaudhuri, J-D. Mare'chal, M. J. Sutcliffe // *Org. Biomol. Chem.*- 2006.- № 4.- P. 787-801.
- 43) Inhibition of cancer cell growth by cyclin dependent kinase 4 inhibitors synthesized based on the structure of fascaplysin / S. Mahale, C. Aubry, P. R. Jenkins, J-D. Mare'chal, M. J. Sutcliffe, B. Chaudhuri // *Bioorganic Chemistry.*- 2006.- № 34.- P. 287-297.
- 44) Antitumour potential of BPT: a dual inhibitor of cdk4 and tubulin polymerization / S. Mahale, SB. Bharate, S. Manda, P. Joshi, PR. Jenkins, RA. Vishwakarma, B. Chaudhuri // *Cell Death Dis.*- 2015.-6.- p. 1743.

- 45) Investigations on the reactivity of fascaplysin. Part I. Aromatic electrophilic substitutions occur at position 9 / H. Fretz, K. Ucci-Stoll, P. Hug, J. Schoepfer, M. Lang // *Helv. Chim. Acta.*- 2000.- V. 83.- P. 3064-3068.
- 46) Investigations on the reactivity of fascaplysin. Part II. General stability considerations and products formed with nucleophiles / H. Fretz, K. Ucci-Stoll, P. Hug, J. Schoepfer, M. Lang // *Helv. Chim. Acta.*- 2001.- V. 84.- P. 867-873.
- 47) Gribble, G.W. Total synthesis of the marine sponge pigment fascaplysin / G.W. Gribble, B. Pelcman // *Tetrahedron Lett.* - 1990. - V. 31. - P. 2381-2384.
- 48) Gribble, G.W. Total syntheses of the marine sponge pigments fascaplysin and homofascaplysin B and C /G. W. Gribble, B. Pelcman // *J. Org. Chem.*- 1992.- V. 57.- P. 3636-3642.
- 49) Synthesis of homofascaplysin B, C and analogues by the photocyclization of 3-acyl-2-chloro-1-[2-(indol-3-yl)ethyl]indoles / Y. Dai, W. Zhang, K. Wang, W. Wang, W. Zhang // *Tetrahedron.*- 2013.- V. 69.- P. 1912-1918.
- 50) Dubovitskii, S. V. Method for synthesis of 12*H*-pyrido[1,2-*a*:3,4-*b'*]diindoles. Total synthesis of homofascaplysin C / S. V. Dubovitskii // *Tetrahedron Lett.*- 1997.-V. 37.- P. 5207-5208.
- 51) A new method for the synthesis of the marine alkaloid fascaplysin. / M.E. Zhidkov, O.V. Baranova, N.S. Kravchenko, S.V. Dubovitskii // *Tetrahedron Lett.* - 2010. - V. 51. P. 6498–6499.
- 52) Silver catalyzed cascade synthesis of alkaloid ring systems: concise total synthesis of fascaplysin, homofascaplysin C and analogues. / H. Waldmann, L. Eberhardt, K. Wittstein, K. Kumar // *Chem. Commun.* - 2010. - № 46. – p. 4622–4624.

- 53) Carter, D. S. Synthesis of homofascaplysin c and indolo[2,3-a]carbazole from ditryptophans / D. S. Carter, D. L. Van Vranken // J. Org. Chem. – 1999.-V. 64. – P. 8537-8545.
- 54) A biomimetic synthesis of homofascaplysin C from ditryptophans / M. Xu, R. An, T. Huang, X. Hao, Sh. Liu // Tetrahedron Lett.- 2016.- V. 57 № 11.- P. 1247-1249.
- 55) A Short Synthesis of the Antimicrobial Marine Sponge Pigment Fascaplysin / P. Rocca, F. Marsais, A. Godart, G. Queguiner // Tetrahedron Lett.- 1993.- V. 34, № 49.- P. 7917-7918.
- 56) Zhidkov, M. E. A new method for the synthesis of the marine alkaloid fascaplysin based on the microwave-assisted Minisci reaction / M. E. Zhidkov, V. A. Kaminskii // Tetrahedron Lett. –2013. – № 54. –P. 3530–3532.
- 57) Iminophosphorane - Mediated Syntheses of the Fascaplysin Alkaloid of Marine Origin and Nitramarine / P. Molina, P.M. Fresneda, S. Garciazafra, P. Almendros // Tetrahedron Lett.- 1994.- V. 35, № 47.- P. 8851-8854.
- 58) Radchenko, O. S. A Simple and Practical Approach to the Synthesis of the Marine Sponge Pigment Fascaplysin and Related Compounds / O. S. Radchenko, V. L. Novikov, G. B. Elyakov // Tetrahedron Lett.- 1997.-V. 38, № 30.- P. 5339-5342.
- 59) Regioselective photo-oxidation of 1-benzyl-4,9-dihydro-3H- β -carbolines / M. D. Garcia, A. J. Wilson, D. P. G. Emmerson, P. R. Jenkins // Chem. Commun.- 2006.- V. 24.- P. 2586-2588
- 60) The first syntheses of 3-bromofascaplysin, 10-bromofascaplysin and 3,10-dibromofascaplysin – marine alkaloids from *Fascaplysinopsis reticulata* and *Didemnum* sp. by application of a simple and effective approach to the pyrido[1,2-*a*:3,4-*b'*]diindole system / M. E. Zhidkov, O. V. Baranova, N. N.

Balaneva, S. N. Fedorov, O. S. Radchenko, S. V. Dubovitskii // *Tetrahedron Lett.* –2007. – № 48. –P. 7998–8000.

- 61) A Cascade Coupling Strategy for One-Pot Total Synthesis of β -Carboline and Isoquinoline-Containing Natural Products and Derivatives /Yan-Ping Zhu, Mei-Cai Liu, QunCai, Feng-Cheng Jia, An-Xin Wu // *Chem. Eur. J.* – 2013.- 19.- p. 10132 – 10137.
- 62) Unexplored reactivity of 2-oxoaldehydes towards Pictet–Spengler conditions: concise approach to b-carboline based marine natural products / N. Battini, A. K. Padala, N. Mupparapu, R. A. Vishwakarma, Q. N. Ahmed // *RSC Adv.* – 2014.- V. 4.- P. 26258–26263.
- 63) Iodine-mediated oxidative Pictet-Spengler reaction using terminal alkyne as the 2-oxoaldehyde surrogate for the synthesis of 1-aroyle- β -carbolines and fused-nitrogen heterocycles/ Shashikant U. Dighe, Surya K. Samanta, Shivalinga Kolle, Sanjay Batra // *Tetrahedron* - 2017. – V. 73.- pp. 2455-2467.
- 64) Posner, T. Beitrage zur Kenntnis der Indigo-Gruppe, II.): Uber einen neuen, aus Indigo und Malonester entstehenden Kufenfarbstoff / T. Posner, G. Pyl // *Ber.*- 1923.- 1.- S. 31-44.
- 65) Posner, T. Beitrage zur Kenntnis der Indigo-gruppe, IV.: Uber einen neuen aus Indigo und Phenyllessigester entstehenden Kufenfarbatoff / T. Posner, W. Kemper // *Ber.*- 1924.-57.- S. 1311-1315.
- 66) Syntheses of the marine alkaloids 6-oxofascaplysin, fascaplysin and their derivatives / M. E. Zhidkov, A. V. Kantemirov, A. V. Koisevnikov, A. N. Andin, A. S. Kuzmich // *Tetrahedron Letters* – 2018.- V. 59.- P. 708–711.
- 67) Isolation, structure determination and cytotoxicity studies of tryptophan alkaloids from an Australian marine sponge *Hyrtilos* sp. / S. Khokhar, Y. Feng, M. R. Campitelli, M. G. Ekins, J. N. A. Hooper, K. D. Beattie, M. C.

Sadowski, C. C. Nelson, R. A. Davis // Bioorg Med Chem Lett.- 2014.- V. 24.- P. 3329–3332.

- 68) Ляхова, И. А. Исследование в области синтеза 9-бензоилфаскаплизина : выпускная квалификационная работа / И. А. Ляхова.- Владивосток, 2011.- 74 с.
- 69) Бердоносков, С. С. Микроволновая химия / С. С. Бердоносков // Сорровский образовательный журнал. - 2001.- Т. 7, № 1.- С. 32-38.
- 70) Горобец, Н. Применение микроволнового излучения в органическом синтезе [Электронный ресурс] : Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина Режим доступа: <http://www.chemistry.org.ua/librr/lib002.pdf> , свободный.
- 71) Смирнова, П. А. Исследования в области синтеза алкалоида 14-бромретикулатин и родственных соединений : выпускная квалификационная работа / Смирнова П. А.- Владивосток, 2017.- 68 с.
- 72) C. S. Franklin, A. C. White, Novel preparation of α -substituted tryptamines from isatins, J. Chem. Soc. (1963) 1335-1337.
- 73) Fascaplysin derivatives binding to DNA via unique cationic five-ring coplanar backbone showed potent antimicrobial/antibiofilm activity against MSRA *in vitro* and *in vivo*/ X.Wang, H. Qiu, Na Yang, H. Xie, W. Liang, J. Lin, H. Zhu, Y. Zhou, N. Wang, X. Tan, J. Zhou, W. Cui, Da Teng, J. Wang, H. Liang // Eur. J. Med Chem.- 2022.- V. 230.- 114094.
- 74) Naykode, M. S. A One-Pot Direct Iodination of the Fischer–Borsche Ring Using Molecular Iodine and Its Utility in the Synthesis of 6-Oxygenated Carbazole Alkaloids / M. S. Naykode, V. T. Humne, P. D. Lokhande // J. Org. Chem. -2015. -Vol. 80. -P. 2392-2396
- 75) Bogdal, D. Halogenation of carbazole and other aromatic compounds with hydrohalic acids and hydrogen peroxide under microwave irradiation / D.

- Bogdal, M. Lukasiewicz, J. Pielichowski // *Green Chem.* -2004. -Vol. 6. -P. 110 – 113.
- 76) Luliński, P. A Novel Aromatic Iodination Method, with Sodium Periodate Used as the Only Iodinating Reagent / P. Luliński, M. Sosnowski, L. Skulski // *Molecules.* -2005. -Vol. 10. -P. 516–520.
- 77) Pourali A. R. Direct Iodination of Aromatic Compounds with Polyvinylpyrrolidone Supported Hydrogen Peroxide (PVP-H₂O₂) and Potassium Iodide or Molecular Iodine / A. R. Pourali, M. Ghanei // *Chinese Journal of Chemistry.* -2006. –Vol. 24. -1077—1079.
- 78) Solvent-Free Iodination of Arenes using Iodine–Silver Nitrate Combination / M. S. Yusubov, E. N. Tveryakova, E. A. Krasnokutskaya, I. A. Perederyna, V. V. Zhdankin // *Synthetic Communicationsw.* -2007. -Vol. 37. -P. 1259–1265.
- 79) Ribeiro R. da S. Triiodoisocyanuric Acid: a New and Convenient Reagent for Regioselective Iodination of Activated Arenes / R. da S. Ribeiro, P. M. Esteves, M. C. S. de Mattos // *J. Braz. Chem. Soc.* -2008. -Vol. 19. -No. 7. -P. 1239-1243.
- 80) Reddy K. S. K. Iodination of Aromatic Compounds Using Potassium Iodide and Hydrogen Peroxide / K. S. K. Reddy, N. Narender, C. N. Rohitha, S. J. Kulkarni // *Synthetic Communications.* -2008. -Vol. 38. -P. 3894–3902.
- 81) Пат. US 2014/008640 A. Asymmetric monoanthracene derivative, material for organic electroluminescent device and organic electroluminescent device utilizing the same / Kubota et al.; заявитель и патентообладатель Токуо. Idemitsu Kosan, CO. – № 14/021,729; заявл. 09.09.2013 ; опубл. 09.01.2014.
- 82) Пат. US 2006/0276329 A1. Asymmetric synthesis catalyst based on chiral brsnted acid and metod of asymmetric synthesis with the catalyst / Takahiko; заявитель и патентообладатель Токуо. – № 10/554,369 ; заявл 20.04.2004 ; опубл.07.12.2006.
- 83) Жунгнету, Г. И. Препаративная химия индола / Г. И. Жунгнету, В. А. Будылин, А. Н. Кост // Академия наук Молдавской ССР. – 1975. – с. 245.

84) Palladium Supported on Silk Fibroin for Suzuki–Miyaura Cross-Coupling Reactions / G. Rizzo, G. Albano, M. Lo Presti, A. Milella, F. G. Omenetto, G.M. Farinola //

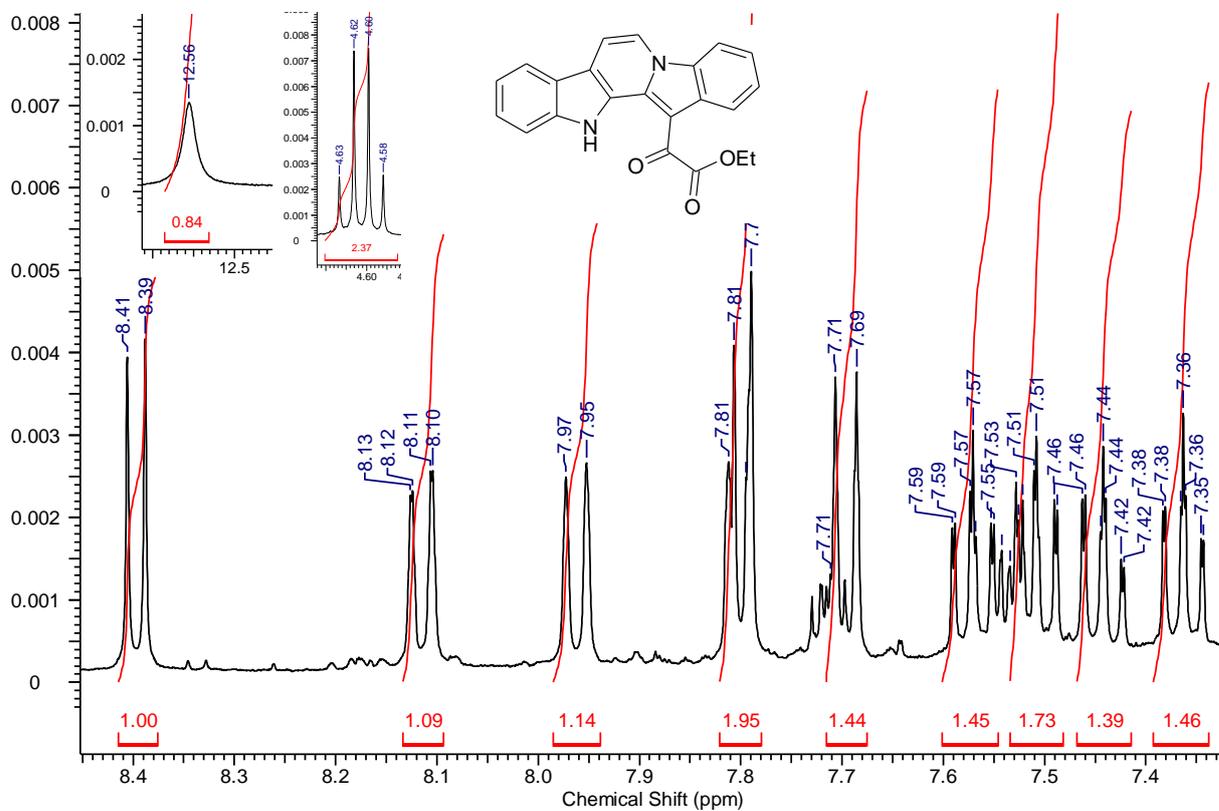
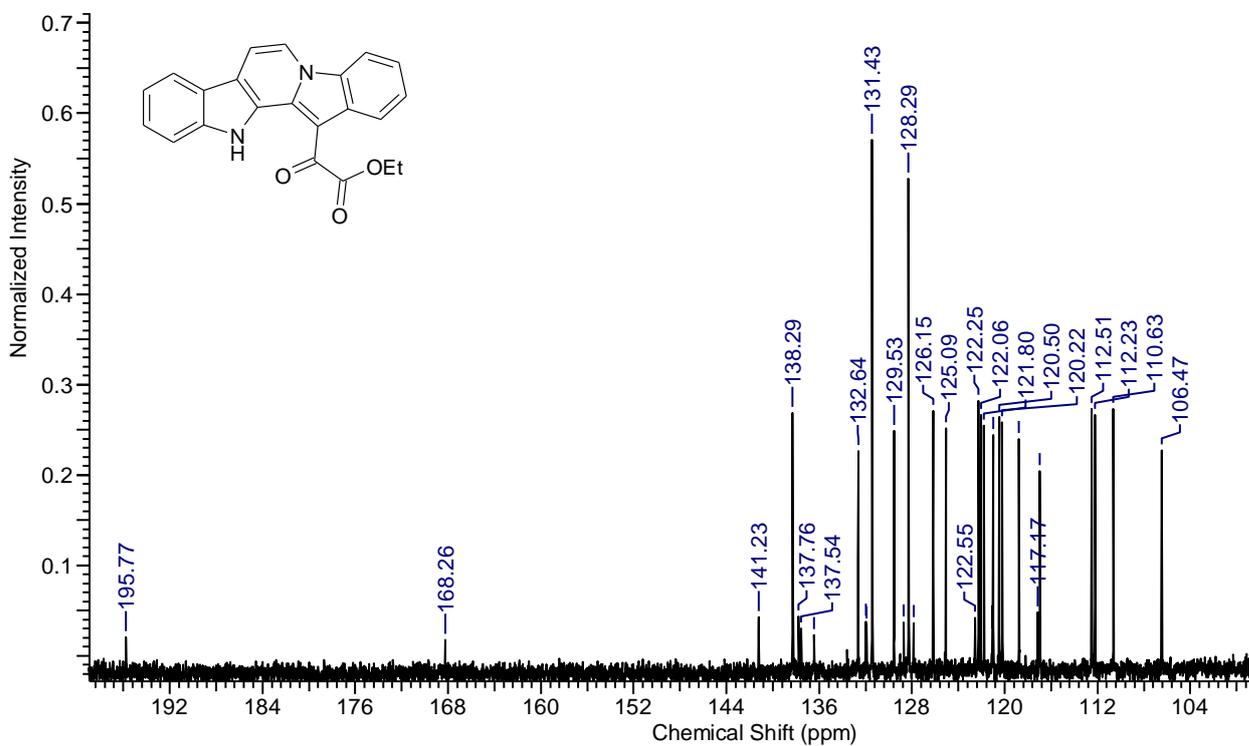
Приложение А

Цитотоксическая активность соединений **1**, **3** и **4** в условиях *in vitro* (IC₅₀, μМ)

Опухоль	Культура	1	4	3
Лёгкое	HOP-62	4.7	нет активности	5.1
	NCI-H23	4.5	0.89	5.1
	NCI-H322M	5.0	0.65	4.3
	NCI-H522	4.5	0.68	6.3
Толстый кишечник	COLO-205	1.2	нет активности	0.83
	HCC-2998	1.7	0.91	3.8
	HCT-116	0.60	0.76	1.6
Нервная система	SF-295	3.9	0.59	5.2
	SNB-19	6.1	0.66	5.4
	U251	3.6	нет активности	4.1
Меланома	MALME-3M	0.36	0.49	0.54
Меланома	M14	0.92	0.59	4.2
	SK-MEL-5	2.0	нет активности	0.53
	UACC-62	4.9	0.63	3.2
Яичник	IGROV1	4.5	0.74	1.7
	OVCAR-3	1.5	4.4	3.1
	OVCAR-4	5.3	0.59	4.5
	OVCAR-8	нет активности	0.60	5.3
Почка	RXF-393	3.5	3.1	3.5
	CAKI-1	6.1	1.6	7.3
	SN12C	4.2	2.9	3.2
	UO-31	нет активности	0.53	5.6
Молочная железа	HS 578T	нет активности	0.59	нет активности
	BT-549	нет активности	0.59	5.1

Приложение Б

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C соединения 11



Приложение В

Сравнение спектров ЯМР ^1H и ^{13}C природного и синтетического гомофаскаплизина В

Положение	ЯМР ^1H		ЯМР ^{13}C	
	Природный	Синтетический	Природный	Синтетический
1a			129.3	129.3
1	8.11, d, J=8.1	8.12, dd, 1H, $J_1=8.0$, $J_2=0.8$	122.9	123.1
2	7.36, t, J=7.4	7.37, t, 1H, J=8.7	119.6	119.7
3	7.57, t, J=7.6	7.58, t, 1H J=7.3	117.0	117.1
4	7.70, d, J=7.6	7.71, d, 1H, J=7.3	111.2	111.3
4a			134.8	134.8
6	8.39, d, J=6.9	8.41, d, 1H, J=7.1	127.5	127.6
7	7.79, d, J=7.2	7.81, d, 1H, J=6.9	109.0	109.1
7a			127.1	127.2
7b			121.8	121.9
8	7.95, d, J=8.1	7.97, d, 1H, J=8.2	120.7	120.9
9	7.44, dd, J=7.5, 1.2	7.45, t, 1H, J=7.4	120.4	120.7
10	7.51 t, J=7.2	7.52, t, 1H, J=7.0	126.2	126.3
11	7.75, d, J=8.1	7.76, d, 1H, J=7.9	112.7	112.8
11a			138.3	138.5
12	12.51, bs	12.54, bs		
12a			133.2	133.4
126			101.8	101.9
13			120.3	120.6
CO			177.9	177.9
COO			167.5	167.8
OMe	4.12	4.13, 3H, s	52.9	53.0

Приложение Г

Сравнение спектров ЯМР ^1H и ^{13}C природного гомофаскаплизина В и синтетического гомофаскаплизина В-1

Положение	ЯМР ^1H		ЯМР ^{13}C	
	Природный	Синтетический	Природный	Синтетический
1a			129.3	129.5
1	8.11, d, J=8.1	8.11, dd, J=8.0; 0.9	122.9	122.3
2	7.36, t, J=7.4	7.36, ddd, J= 8.0, 7.1, 0.9	119.6	118.8
3	7.57, t, J=7.6	7.57, ddd, J= 8.2, 7.1, 1.2	117.0	117.0
4	7.70, d, J=7.6	7.70, d, J=8.4	111.2	112.2
4a			134.8	132.6
6	8.39, d, J=6.9	8.40, d, J=7.1	127.5	128.3
7	7.79, d, J=7.2	7.80, d, J=6.7	109.0	110.6
7a			127.1	125.1
7b			121.8	121.8
8	7.95, d, J=8.1	7.96, d, J=8.1	120.7	121.0
9	7.44, dd, J=7.5, 1.2	7.45, t	120.4	120.5
10	7.51 t, J=7.2	7.51, t	126.2	126.2
11	7.75, d, J=8.1	7.75, d, J=8.0	112.7	112.5
11a			138.3	138.3
12	12.51, bs	12.55		
12a			133.2	131.4
12б			101.8	106.5
13			120.3	120.2
CO			177.9	195.8
COO			167.5	168.3
OEt	4.12	4.61, 2H, q	52.9	51.6
		0.87, 3H, t		29.7