

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

На правах рукописи

Сидорова Мария Александровна

Использование химических превращений алкалоида фаскаплизина 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 – 2025

Оглавление

Введение	4
1 Обзор литературы.....	10
1.1 Пиридо[1,2- <i>a</i> :3,4- <i>b'</i>]дииндольные алкалоиды и родственные соединения: структурное разнообразие и область распространения.....	10
1.2 Биологическая активность фаскаплизина	13
1.3 Методы синтеза фаскаплизина и родственных соединений	19
1.4 Химические свойства фаскаплизина	33
1.5 Многообразие и биологическая активность производных фаскаплизиновых алкалоидов.....	36
2 Обсуждение результатов	42
2.1 Взаимодействие фаскаплизина и его производных с эфирами щавелевой кислоты ..	42
2.1.1 Оптимизация условий проведения реакции фаскаплизина с диметилowym и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты.....	46
2.1.2 Синтез 3-бромгомофаскаплизинов В и В-1	54
2.1.3 Синтез гомофаскаплизина С	59
2.1.4 Исследования в области синтеза серии производных гомофаскаплизина В.....	60
2.2 Получение и изучение биологической активности некоторых производных фаскаплизина по положению 9	72
2.2.1 Прямое йодирования фаскаплизина (1) в различных условиях.....	72
2.2.2 Получение 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина и его кватернизация в производное 103	75
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 β-карболина 111 в 9-фенилфаскаплизин.....	84
2.2.5 Сравнительное изучение биологической активности фаскаплизина и его производных в условиях <i>in vitro</i>	87
2.2.6 Получение и изучение противомикробной активности некоторых изомеров и аналогов 9-фенилфаскаплизина	90
2.2.7 Исследование острой и подострой токсичности 9-фенилфаскаплизина (113) на мышях по методу Кербера.....	94

2.2.8 Исследование противоопухолевой активности 9-фенилфаскаплизина <i>in vivo</i>	96
2.2.9 Исследование противомикробной активности 9-фенилфаскаплизина <i>in vivo</i>	98
3 Экспериментальная часть	101
3.1 Материалы и методы	101
3.2 Взаимодействие фаскаплизина (1) с диметилноксалатом и диэтилоксалатом	102
3.3 Оптимизация условий исследуемой реакции	103
3.4 Взаимодействие 3-бромфаскаплизина с диметилноксалатом и диэтилоксалатом	107
3.5 Получение гомофаскаплизина С	109
3.6 Йодирование фаскаплизина под действием микроволнового излучения	109
3.7 Йодирование фаскаплизина при кипячении в растворе в ДМСО	110
3.8 Получение 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина	111
3.9 Взаимодействие триптамина с 2-бромацетофеноном в ДМСО при нагревании	112
3.10 Взаимодействие триптамина с 2-бромацетофеноном в ДМСО под действием микроволнового излучения	113
3.11 Реакция йодирования 1-(2'-бромбензоил)-β-карболина	114
3.12 Циклизация соединения 110 в производное фаскаплизина 103	115
3.13 Реакция Сузуки между 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболином и фенилборной кислотой	115
3.14 Получение 9-фенилфаскаплизина (113) из соединения 111	116
3.15 Получение 6-йод-1-(2'-хлорбензоил)-β-карболина (114)	117
3.16 Получение смеси триптаминов 116a и 116b	117
3.17 Получение 1-бензоил-β-карболинов 118a и 118b	118
3.18 Получение арилзамещенных 1-бензоил-β-карболинов	119
Выводы	123
Список литературы	126
Приложение А	139
Приложение Б	140
Приложение В	141
Приложение Г	142

Введение

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

На сегодняшний день злокачественные новообразования являются одной из основных причин смертности в России и в мире. Наряду с ними все большую озабоченность вызывают инфекционные заболевания, ассоциированные с болезнетворными бактериями, устойчивыми к современным антибиотикам. Основные трудности при использовании препаратов для лечения данных патологий заключаются в том, что наряду с лечебным эффектом наблюдаются такие побочные проявления, как интоксикация организма, аллергические реакции и возникновение резистентности ввиду высокой адаптационной способности микроорганизмов и опухолей. Поэтому поиск новых соединений, обладающих противобактериальной и противоопухолевой активностью, является важной задачей.

В последнее время природные соединения, выделенные из организмов, обитающих в Мировом океане, 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 структуры которых лежит пентациклическая система пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндола. Наиболее изученным представителем этой серии природных соединений является красный пигмент фаскаплизин, впервые выделенный из губки *Fascaplysinopsis* sp. в 1988 году. Это соединение проявляет широкий спектр биологической активности, что определяет огромный потенциал фаскаплизина и родственных соединений в качестве перспективных объектов для исследований.

При этом, как показали испытания, сам фаскаплизин обладает достаточно высокой токсичностью, что ограничивает его применение в качестве лекарственного средства. В тоже время другие представители алкалоидов, родственных фаскаплизину, ввиду их меньшей доступности до сих пор остаются практически неизученными. Таким образом, актуальность разработки путей синтеза и изучения биологического действия как производных фаскаплизина, обладающих сходной или большей активностью, но меньшей токсичностью, так и других представителей группы фаскаплизиновых алкалоидов не вызывает сомнений.

Степень разработанности темы

Красный пигмент морских губок и асцидий фаскаплизин известен уже более 35 лет. В литературе описано большое количество различных способов его синтеза. Это позволило широко изучить биологическую активность данного алкалоида, включая механизмы действия. Достаточно высокая токсичность фаскаплизина ограничивает сферу применения этого соединения, что определяет потребность создания на его основе веществ, обладающих лучшими терапевтическими индексами. Что касается производных фаскаплизина, то некоторые из них не только не уступают в биологическом действии, но и превосходят родоначальный алкалоид. В случае родственных соединений, таких как гомофаскаплизины В и С, в литературе представлено лишь несколько синтезов, включающих 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 получение перспективных биологически активных производных алкалоида морского происхождения фаскаплизина и родственных ему соединений.

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 в рамках разработанного метода производных алкалоидов гомофаскаплизина В и гомофаскаплизина С, содержащих различные заместители в базовой структуре.
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 активность полученных производных фаскаплизиновых алкалоидов в условиях *in vitro*.
5. Провести испытания целевой активности наиболее перспективных соединений в условиях *in vivo* и определить их токсикологические параметры.

Научная новизна

Изучена реакция восстановительного ацилирования, позволившая разработать эффективные методы получения двух классов природных соединений: 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

Диссертационная работа изложена на 142 страницах, состоит из Введения, Обзора литературы, Обсуждения результатов, Экспериментальной

части, Выводов, Списка литературы и Приложений. Текст содержит 82 рисунка, 11 таблиц и 95 литературных источников.

Практическая и теоретическая ценность работы

Простые подходы к синтезу двух групп фаскаплизиновых алкалоидов, разработанные исходя из алкалоида фаскаплизина, обеспечили возможность проведения испытаний их биологического действия, а также установления зависимости между их строением и биоактивностью. Кроме того, в ходе работы была выявлена высокая активность 12,13-дигидро-9-фенил-13-оксопиродо[1,2-*a*:3,4-*b*']диндол-5-иум хлорида в отношении резистентных болезнетворных бактерий, что открывает перспективу создания на его основе новых антибактериальных лекарственных препаратов и в полной мере соответствует Направлению 3 Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации (Указ Президента Российской Федерации от 28.02.2024 № 145).

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. Для установления строения синтезированных веществ использовали методы 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 путем их взаимодействия с диметиловым и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты при 200 °С.

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

3. Цитотоксическое действие гомофаскаплизина С в отношении культур опухолевых клеток простаты человека DU145 и LNCaP многократно превосходит аналогичный показатель для культур неопухолевых клеток PNT2 и HEK-293.

4. Разработана последовательность реакций, включающая йодирование 1-(2'-хлорбензоил)- β -карболина, кросс-сочетание с арилборными кислотами и последующую кватернизацию, позволяющая внедрение арильного заместителя в положение 9 фаскаплизина.

5. Введение фенильного заместителя в положение 9 фаскаплизина приводит к многократному росту его противомикробной активности *in vitro* в отношении широкого ряда грамположительных бактерий, в том числе антибиотикорезистентных. На модели острого сепсиса *in vivo* фаскаплизин и данное производное проявили сопоставимую активность.

6. 9-Фенилзамещенное производное фаскаплизина в дозе 5 мг/кг тормозит рост солидной аденокарциномы Эрлиха *in vivo* на 31% по сравнению с контролем. Значение ЛД₅₀ данного соединения составило 25 мг/кг, что позволяет отнести его к умеренно токсичным веществам.

Личный вклад автора

Цели и задачи работы были определены совместно с научным руководителем. Автор принимал активное участие в подборе литературного материала и проведении экспериментальной работы, включая выделение и очистку продуктов реакции, а также интерпретации 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-в']дииндолные 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. Среди них важное место занимают алкалоиды, поскольку под данным понятием объединено огромное количество соединений самого разнообразного строения, проявляющих значительную физиологическую активность. В частности, пристальное внимание уделяется изучению одной из групп природных соединений из морских беспозвоночных, называемых фаскаплизиновыми алкалоидами.

На сегодняшний день данная группа объединяет 27 представителей. Среди организмов, продуцирующих рассматриваемые соединения, чаще всего встречаются морские губки рода Thorectidae, обитающие в бассейнах Тихого и Индийского океанов: *Fascaplysinopsis reticulata*, собранные на побережье Фиджи и Индонезии [1, 2, 3, 4, 5], *Fascaplysinopsis* sp. - Фиджи и Палау [1, 6], *Hyrtilos* cf. *erecta* - Фиджи [7, 8], *Thorectandra* sp. - Палау [9] и *Smenospongia* sp. - островов Кука [10, 11]. Фаскаплизины были также выделены из асцидий *Didemnum* sp., встречающиеся в разных областях Мирового океана, включая Фиджи, Соломоновы острова, острова Микронезии и Полинезии [2, 5, 12, 13]. Название группы закрепилось по названию ее первого представителя, красного пигмента фаскаплизина (**1**), впервые выделенного в 1988 году из губки *Fascaplysinopsis* sp. [1] и позднее неоднократно обнаруженного в других беспозвоночных наряду с ранее неизвестными соединениями, близкими ему по строению. В основе строения данного алкалоида лежит пентациклическая система пиридо[1,2-а:3,4-в']дииндола (**2**) (рисунок 1).

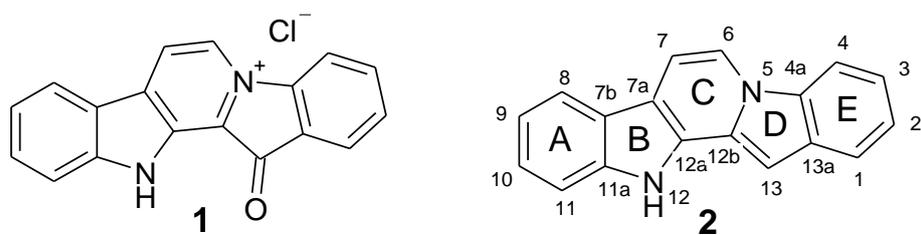


Рисунок 1 – Фаскаплизин (1) и пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндол (2)

На рисунке 2 представлено структурное разнообразие рассматриваемой группы природных соединений, классификация которых по трем структурным типам была предложена авторами работы [2].

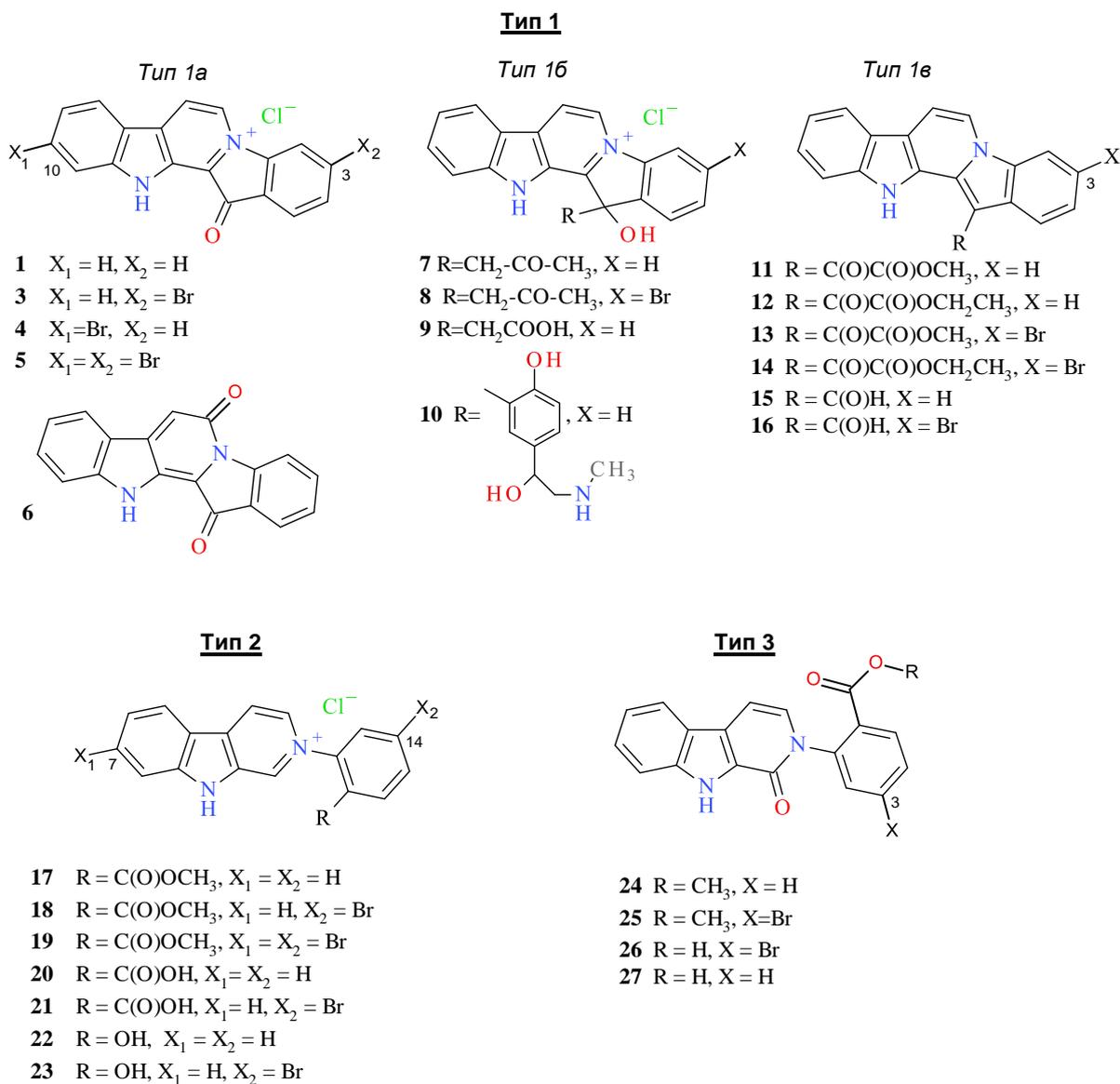


Рисунок 2 – Классификация фаскаплизиновых алкалоидов по [2]

Первый тип объединяет 16 представителей, в основе которых лежит система пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]индола. Первый подтип помимо фаскаплизина включает его природные бромопроизводные: 3-бромфаскаплизин (3), 10-бромфаскаплизин (4) и 3,10-дибромфаскаплизин (5), а также 6-оксофаскаплизин (6). Подгруппа гомофаскаплизинов включает продукты формального присоединения фрагментов к карбонильной группе в положении 13 фаскаплизинов и объединяет гомофаскаплизин А (7), 3-бромгомофаскаплизин А (8), гомофаскаплисат А (9) и тхорестандрамин (10). Третью подгруппу данного типа составляют гомофаскаплизины В и С. Их можно рассматривать как продукты-предшественники биосинтеза фаскаплизина, образующиеся в результате циклизации 2,2'-бистриптофана и последующего окисления второй свободной аминогруппы. Подгруппа представлена гомофаскаплизином В (11), гомофаскаплизином В-1 (12), 3-бромгомофаскаплизином В (13), 3-бромгомофаскаплизином В-1 (14), гомофаскаплизином С (15) и 3-бромгомофаскаплизином С (16).

В основе двух других структурных типов лежат производные гетероциклической системы 9*H*-пиридо[3,4-*b*]индола (β -карболина), арилированной по пиридиновому атому азота, являющиеся, по-видимому, продуктами деструкции исходных фаскаплизинов в организме продуцентов, о чем будет указано далее в разделе, связанном с химическими трансформациями фаскаплизина. Второй тип объединяет семь алкалоидов: ретикулатин (17), 14-бромретикулатин (18), 7,14-дибромретикулатин (19), ретикулатат (20), 14-бромретикулатат (21), ретикулатол (22) и 14-бромретикулатол (23). Представители типа 3 (секофаскаплизин (24), 3-бромсекофаскаплизин А (25), 3-бромсекофаскаплизин В (26) и секофаскаплизиновая кислота (27)) вероятнее всего образуются в результате окисления ретикулатинов по положению 2 пиридиновой системы.

1.2 Биологическая активность фаскаплизина

Говоря о физиологической активности данной группы природных соединений 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 синтетически доступному фаскаплизину. Уже в первой статье, посвященной его выделению, было отмечено наличие у данного соединения широкого спектра биологического действия, который впоследствии был дополнен и на сегодняшний день включает антибактериальную [1], противогрибковую [1], противовирусную [14], противомаларийную [13], противогельминтную [15] и антипролиферативную активность по отношению к широкому спектру линий опухолевых клеток [2].

При этом существует два хорошо изученных «классических» механизма, которые обуславливают цитотоксическое действие фаскаплизина. В работе [16] проведено исследование взаимодействия фаскаплизина с двухцепочечной ДНК тимуса теленка. Полученные данные наилучшим образом описываются двухсайтовой моделью связывания с константами $K_1 = 2.5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ и $K_2 = 7.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. В результате проведенных исследований было показано, что фаскаплизин 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 [17]. Циклинзависимые киназы (CDK, ЦЗК) [18] являются важнейшими регуляторами клеточного цикла (рисунок 3, а). В частности, фермент CDK-4 обеспечивает прохождение между фазами G_0 и G_1 . Для реализации этого перехода (рисунок 3, б) необходимо наличие особых факторов транскрипции

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

из группы E2F. Их функционированию препятствует белок-репрессор ретинобластомы (Rb), связывая данные факторы в устойчивые комплексы. 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 запуску процесса диссоциации комплекса и высвобождения факторов транскрипции, необходимых для перехода к следующей стадии клеточного цикла.

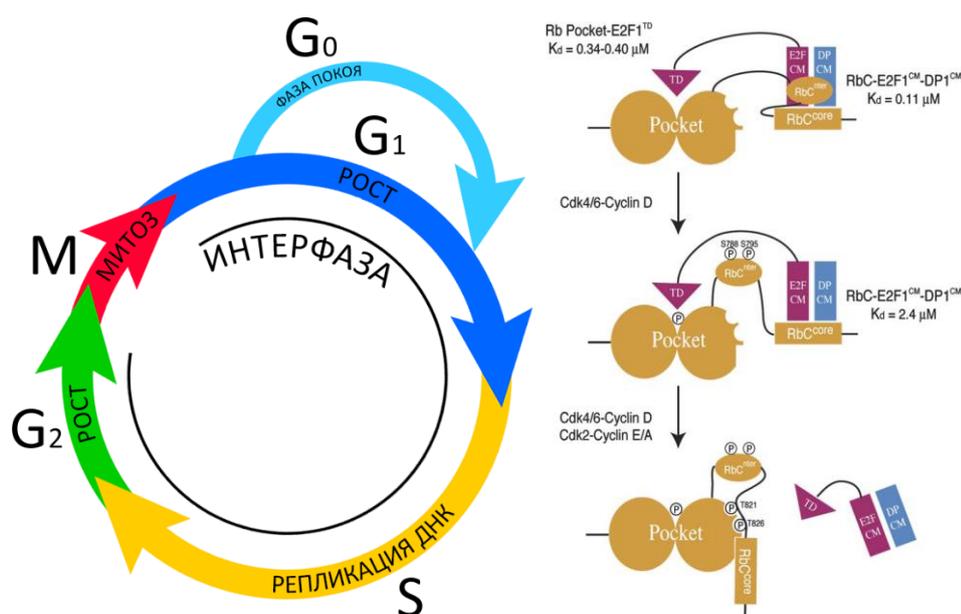


Рисунок 3 – а) Общая схема клеточного цикла, б) механизм действия CDK-4

В клетках организма человека функционирует система регуляции активности CDK-4 как активаторами (циклин D), так и ингибиторами (p16) данного фермента. Для большинства видов опухолевых клеток характерно нарушение работы этого механизма, что обеспечивает их бесконтрольную пролиферацию. В настоящее время на основе селективных ингибиторов CDK-4 разработан ряд лекарственных препаратов для лечения некоторых видов злокачественных новообразований [19]. Однако практическое применение фаскаплизина как селективного ингибитора CDK-4 сильно ограничено его общетоксическим действием, которое длительное время ассоциировалось с наличием у него интеркаляционных свойств вследствие планарного строения. Это, в свою очередь, стимулировало исследования в

области создания селективных ингибиторов циклинзависимой киназы 4 на основе непланарных аналогов данного алкалоида. Результаты проведенных работ приведены в работах [20-27]. Если резюмировать их вкратце, то полученные соединения обладают заведомо меньшей токсичностью, но при этом демонстрируют гораздо меньшую биологическую активность по сравнению с родоначальным алкалоидом.

Тем не менее, названные механизмы не позволяют объяснить весь спектр противоопухолевого действия фаскаплизина. Кроме названных выше свойств данный алкалоид способен при низких концентрациях индуцировать апоптоз² опухолевых клеток за счет активации не «ядерного», а митохондриального [28, 29] и также рецепторного [30] путей. Подтверждением этому является способность фаскаплизина генерировать активные формы кислорода (АФК), выявленная на примере линии мелкоклеточного рака легких SCLC NCI-H417. При этом добавление в среду антиоксиданта *N*-ацетил-*L*-цистеина для инактивации АФК приводило к двукратному уменьшению его цитотоксичности [31]. Помимо этого, фаскаплизин вызывает потерю трансмембранного потенциала в клетках HL-60 [32]. Одновременно была выявлена способность данного алкалоида подавлять сигнальный каскад PI3K/AKT/mTOR. В ответ на негативное воздействие фаскаплизина развивалась аутофагия³. В ходе изучения механизма ее возникновения в клетках убиляклярной вены человека HUVES было показано, что индукция аутофагии реализуется посредством увеличения продукции ключевого регулятора аутофагии p8 [33].

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

³Аутофагия (от др.-греч. αὐτός – сам и φαγεῖν – «есть») — это процесс, при котором внутренние компоненты клетки доставляются внутрь её лизосом (у млекопитающих) или вакуолей (клетки дрожжей) и подвергаются в них деградации.

Данные факты указывают на то, что фаскаплизин индуцирует в опухолевых клетках метаболический стресс, который сопровождается снижением митохондриального мембранного потенциала и внутриклеточного уровня АТФ. В ответ на это развивается аутофагия как защитная реакция от развития апоптоза. Активация данного процесса должна включать фосфорилирование АМФ-активируемой протеинкиназы (АМРК), которая играет в клетках роль основного датчика дефицита питания. В работе [34] было показано, что фаскаплизин действительно вызывает фосфорилирование АМРК, а также подавление экспрессии генов, связанных с метаболизмом фолатов и пуринов. Выявленные эффекты были использованы авторами данной работы для увеличения эффективности трех препаратов (LY294002, селективного ингибитора АМРК соединения С и метотрексата), показав потенциал фаскаплизина для комбинированной терапии резистентных форм рака.

Кроме того, при подавлении роста модельной опухоли в условиях *in vivo* немалое значение приобретает способность фаскаплизина подавлять ангиогенез⁴ за счет нарушения процессов агрегации клеток [35], в частности, путем подавления экспрессии и секреции т. н. васкулярного эндотелиального фактора роста (VEFG) [36]. Ангиогенез является одним из распространенных проявлений всех видов рака, это основное событие в развитии опухолевого роста и злокачественности [37, 38]. Переход от неактивной стадии рака в основном зависит от патологической формы ангиогенеза, который обеспечивает для опухоли поступление кислорода и питательных веществ.

Выше было отмечено, что фаскаплизин подавляет важнейший сигнальный путь PI3K/АКТ/mTOR. Следствием этого является блокада сигнального каскада mTOR – R-4EBP1 – p70S6K1, что, в свою очередь, приводит к подавлению САР-зависимой транскрипции и, как следствие, блокаде синтеза основных факторов выживания и роста, включая

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

специфический антиапоптотический фактор опухолей сурвивин, индуцируемый гипоксией фактор 1-альфа HIF- α , регулятор транскрипции с-мус и регулятор клеточного цикла циклина D1, а также VEGF. Блокаду данного каскада могут вызывать как внутренние факторы, в частности, отмеченный выше метаболический стресс, так и внешние. Проведенное исследование связывания широкого спектра киназ радиометрическим методом выявило ингибирование фаскаплизином рецепторов фактора роста эндотелия сосудов 3 и 2 (VEGFR3, VEGFR2) и тропомиозинсвязанной киназы A (TRKA) с IC₅₀ 2–3 мкМ. Известно, что блокады VEGFR3 достаточно для подавления фосфорилирования 4EBP1, что проясняет данное направление действия фаскаплизина [39].

Таким образом, на сегодняшний день можно утверждать, что высокая цитотоксическая активность фаскаплизина обусловлена широким набором механизмов воздействия на ключевые процессы в клетках, обобщенном на рисунке 4. Он включает в себя: 1) способность останавливать клеточный цикл за счет селективного ингибирования циклинзависимой киназы 4; 2) интеркаляцию в ДНК; 3) индукцию сильного метаболического стресса; 4) ингибирование рецепторов экзогенных факторов роста. Данное воздействие интегрируется клеткой через основные сенсорные системы и индуцирует меры противодействия, включающие запуск аутофагии, активацию систем репарации, остановку активной трансляции широкого спектра белков, ответственных за рост и пролиферацию, а также инициирует, в итоге, ее запрограммированную гибель по типу апоптоза.

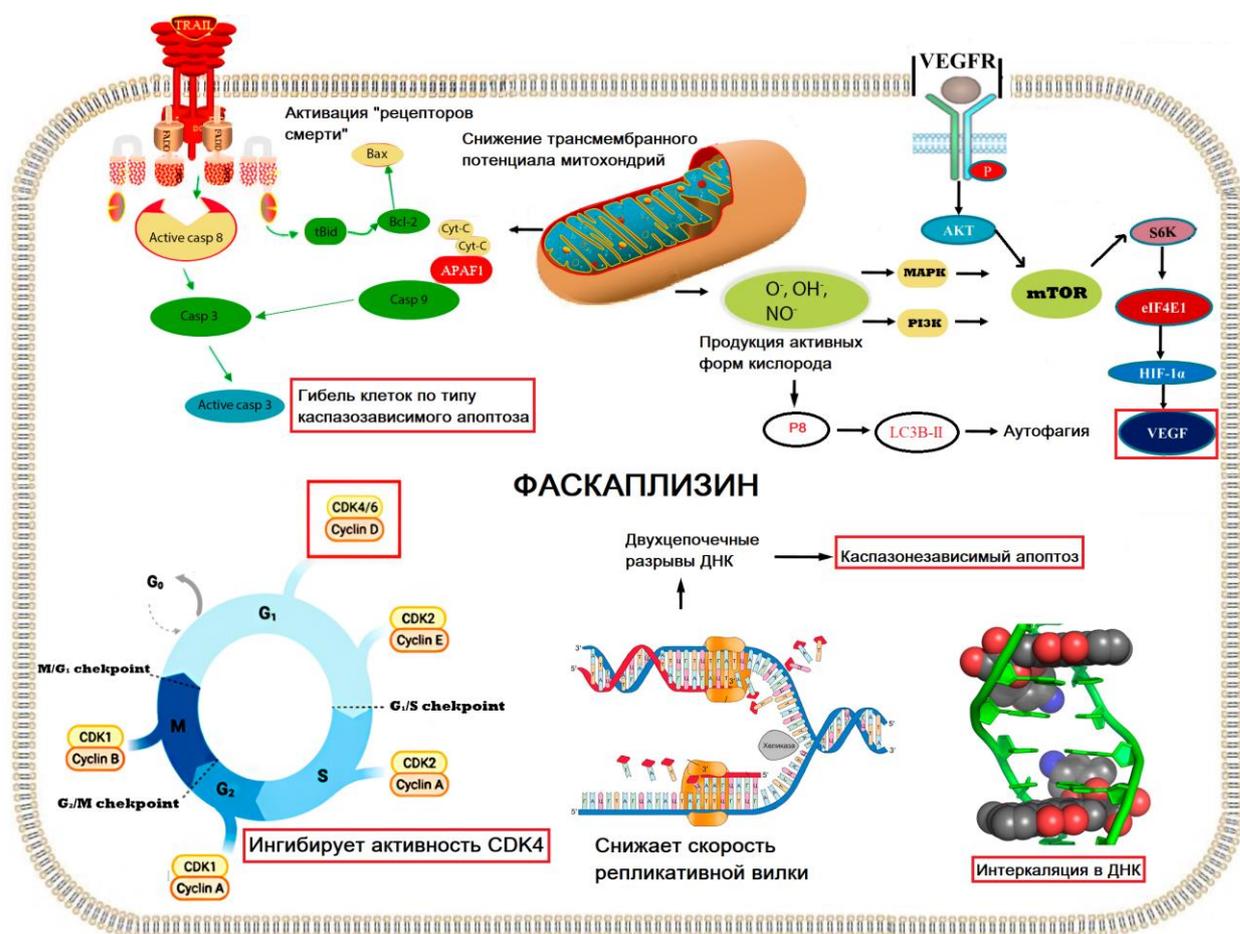


Рисунок 4 – Основные механизмы цитотоксического действия фаскаплизина

Помимо механизмов, обуславливающих цитотоксическое действие фаскаплизина, известен ряд других биологических эффектов, вызываемых данным алкалоидом. В частности, для фаскаплизина была показана способность неконкурентно ингибировать фермент ацетилхолинэстеразу (при этом сродство к данному ферменту в 60 раз превосходит аналогичный показатель в отношении бутирилхолинэстеразы) [40], а также активировать Р-гликопротеин, что в дальнейшем вылилось в отдельное направление исследований ряда его производных [41]. Несколько особняком от основного вектора исследования механизмов биологического действия фаскаплизина стоит способность данного алкалоида и его природного производного 10-бромфаскаплизина модулировать μ -опиатные рецепторы с EC_{50} 6.3 и 4.2 мкМ, соответственно, по типу сбалансированного агониста, что роднит их с естественными агонистами – эндорфинами [42].

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 в ЦНС (например, система поощрения), является возникновение серьезных побочных эффектов, ограничивающих применение опиоидных анальгетиков: зависимость, абстиненция, толерантность, угнетение дыхания и ряд других [43].

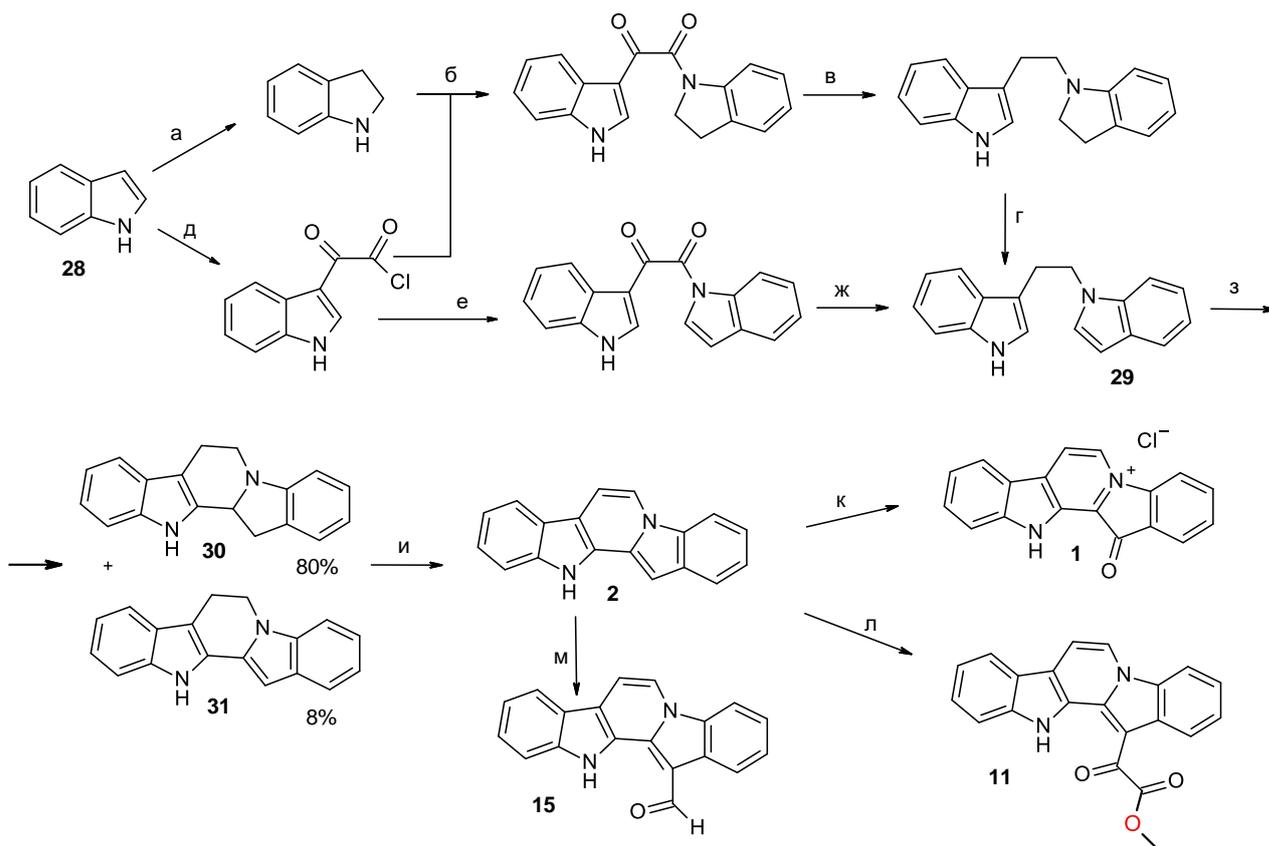
Одной из успешных стратегий создания анальгетиков с меньшим числом побочных эффектов является разработка «сбалансированных» агонистов MOR, при активации которыми реализуются оба сигнальных пути, связанных с данными рецепторами (с G-белком и с β -аррестином) [44]. Именно такой механизм активации имеет место в случае эндогенных лигандов, эндорфинов, в то время как морфин влияет только на G-белок без участия β -аррестина. Полученные результаты свидетельствуют о том, что фаскаплизин (**1**) является перспективным соединением для разработки анальгетиков, не вызывающих зависимости и толерантности.

1.3 Методы синтеза фаскаплизина и родственных соединений

Наличие необычной структуры и высокой биологической активности стимулировало развитие исследований в области разработки методов синтеза фаскаплизина, его производных и родственных природных соединений.

Впервые синтезы фаскаплизина (**1**), гомофаскаплизина В (**11**) и гомофаскаплизина С (**15**) были осуществлены Gribble и Pelcman в 1992 году в

рамках единой синтетической схемы [45, 46] (рисунок 5). При этом ими было проработано два варианта синтеза из индола (**28**) ключевого интермедиата **29**. На следующей стадии соединение **29** подвергали кислотно катализируемой циклизации, которая приводила к получению смеси тетрагидропиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндолов **30** и **31**. Полученную смесь далее дегидрировали над Pd/C в незамещенный пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндол (**2**) с ВЫСОКИМ ВЫХОДОМ.



Реагенты и условия: (а). NaBH₃CN, AcOH, 15 °С, 94%; (б). K₂CO₃, ТГФ, rt, 2 ч, 93%; (в). AlH₃, ТГФ, rt, 75 мин, 97%; (г). MnO₂, CHCl₃, нагрев, 4 ч, 99%; (д). (COCl)₂, Et₂O, 5 °С, 92%; (е). **28**, NaN, ТГФ, ДМФА, rt, 90 мин, 86%; (ж). NaBH₃OCOCF₃, ТГФ, нагрев, 20 ч, 60%; (з). TFA, rt, 30 мин, 80%; (и). Pd/C, (EtOCH₂CH₂)₂O, нагрев, 6 ч, 93%; (к). CH₃CO₃H, ТГФ, 0 °С, HCl, EtOH, 85%; (л). (COCl)₂, MeOH, 99%; (м). POCl₃, ДМФА, 88%.

Рисунок 5 – Схема первого синтеза фаскаплизина (**1**) и гомофаскаплизинов В (**11**) и С (**15**)

Полученный полупродукт **2** в дальнейшем был превращен в одну стадию в целевые продукты действием соответственно надуксусной кислотой (для синтеза фаскаплизина), хлористым оксалилом с последующей обработкой промежуточного хлорангирида метиловым спиртом (для

получения гомофаскаплизина В) и смесью диметилформаида с POCl_3 (формилирование по Вильсмейеру) для получения гомофаскаплизина С.

В работе [47] данная стратегия была модифицирована (рисунок 6). На первой стадии была проведена конденсация 3-ацил-2-хлориндолов **32а-е** с производными 3-(2'-бромэтил)индола **33а-в** с образованием соединений **34а-и** – аналогов полупродукта **29**. Для замыкания центрального цикла пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндольной системы вместо кислотно катализируемой циклизации была использована фотохимическая циклизация полученных аддуктов. При этом при проведении данной реакции в присутствии ацетата меди (II) имело место образование целевых производных. При ее отсутствии требовалось отдельно провести дополнительное дегидрирование продуктов циклизации **35а-и**, что было достигнуто действием DDQ при комнатной температуре. В результате авторам удалось существенно сократить число стадий синтеза и получить ряд производных гомофаскаплизинов В (**11**, **12а-б**), С (**15а-в**) и их аналог **36**.

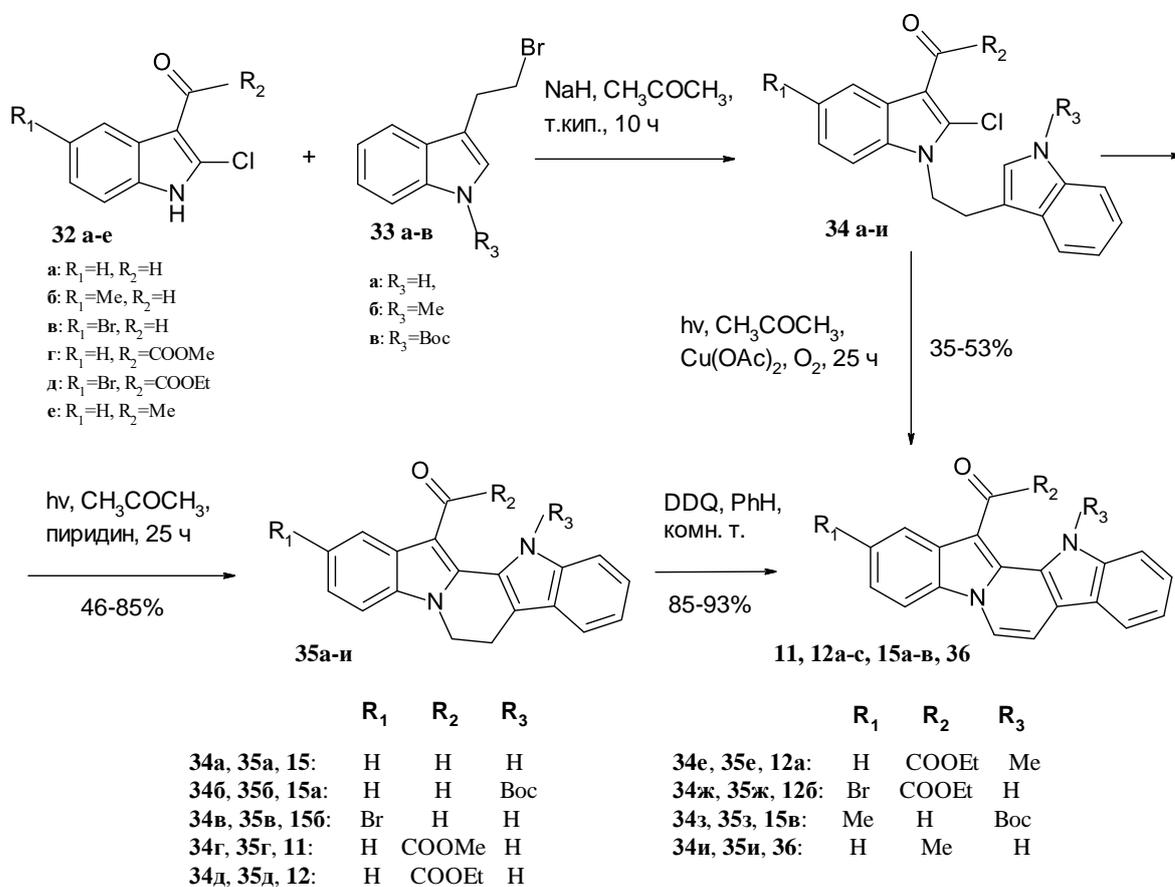
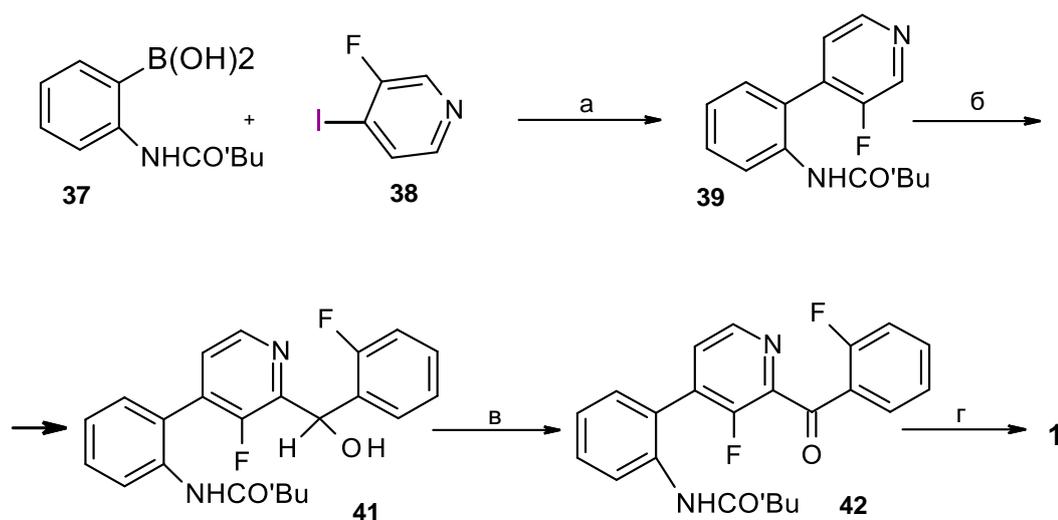


Рисунок 6 – Получение серии производных гомофаскаплизинов В и С

Следующий метод синтеза фаскаплизина был предложен Росса и соавт. [48] (рисунок 7). На первой стадии была проведена реакция Сузуки между производным фенилборной кислоты **37** и 4-иод-3-фторпиридином (**38**) в присутствии тетраakis(трифенилфосфин)палладия. Далее продукт кросс-сочетания **39** подвергли селективному депротонированию под действием бутиллития, полученный анион ввели в реакцию с *o*-фторбензальдегидом (**40**). После окисления гидроксильной группы спирта **41** до карбонильной группы под действием диоксида марганца (IV) был получен полупродукт **42**. На завершающей стадии соединение **42** выдерживали при 170 °С в присутствии гидрохлорида пиридиния, что сопровождалось двойной циклизацией по механизму нуклеофильного ароматического замещения атомов фтора и привело к получению фаскаплизина (**1**) с суммарным выходом 76%.



Реагенты и условия: (а). Pd(PPh₃)₄/ 2М К₂СО₃, толуол, т. кип., 48 ч, 98%; (б). BuLi, ТГФ, -75 °С, 1 ч, **40**, 1 ч, -75 °С, 95%; (в). MnO₂, толуол, т. кип., 2 ч, 99%; (г). пиридин х НСl, 170 °С, 10 мин, затем NH₄ОН, лед.

Рисунок 7 – Синтез фаскаплизина (**1**) по Росса и соавт. [48]

Прообразом наиболее эффективной стратегии синтеза фаскаплизина исходя из 1-бензоил-β-карболинов послужила работа Molina и соавт. [49] (рисунок 8). В рамках разработанного ими метода защищенный по атому азота 3-формилиндол вводили в реакцию с этилазидацетатом и трифенилфосфином. Полученный продукт конденсации **43** нагревали с

фенилглиоксальем **44**, что приводило к получению производного β -карболина **45**. В ходе последующей трансформации сложноэфирная группа в продукте конденсации **45** была гидролизована, а нитрогруппа восстановлена до аминогруппы. Далее действием на образовавшееся соединение **46** азотистой кислоты была получена соответствующая диазониевая соль, нагревание которой в метаноле привело к образованию фаскаплизина.

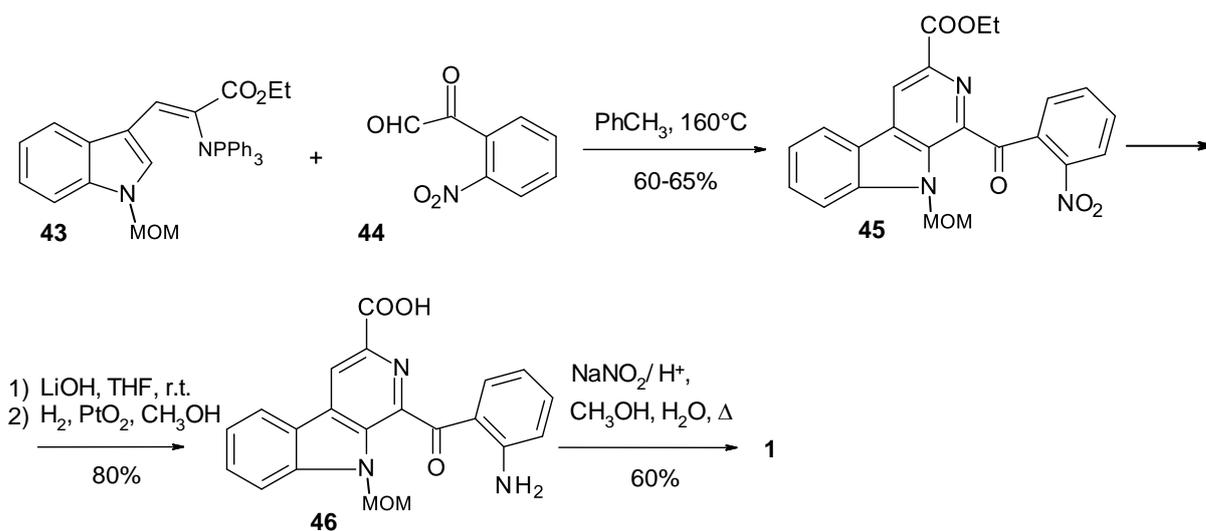
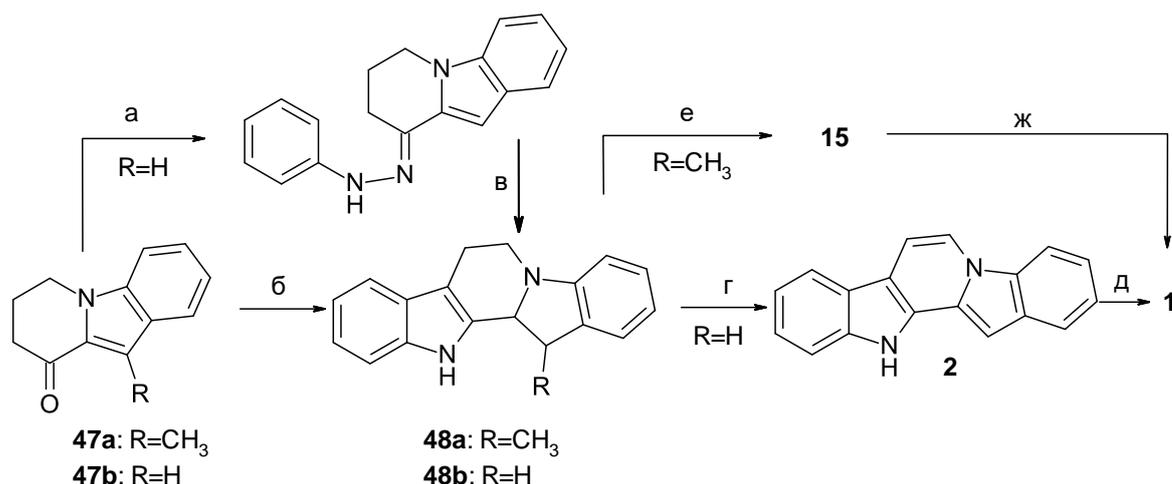


Рисунок 8 – Схема синтеза фаскаплизина по Molina и соавт. [49]

В 1997 году Дубовицкий С. В. предложил принципиально иной подход к получению замещенных пиридоиндолов и осуществил в рамках него синтез гомофаскаплизина С (**15**) 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 9). При кипячении раствора промежуточного продукта **48a** в диоксане с 2,3-дихлор-5,6-дициано-*n*-бензохиноном (DDQ) происходило одновременное дегидрирование и окисление метильной группы до формильной, что приводило к получению гомофаскаплизина С (**15**).



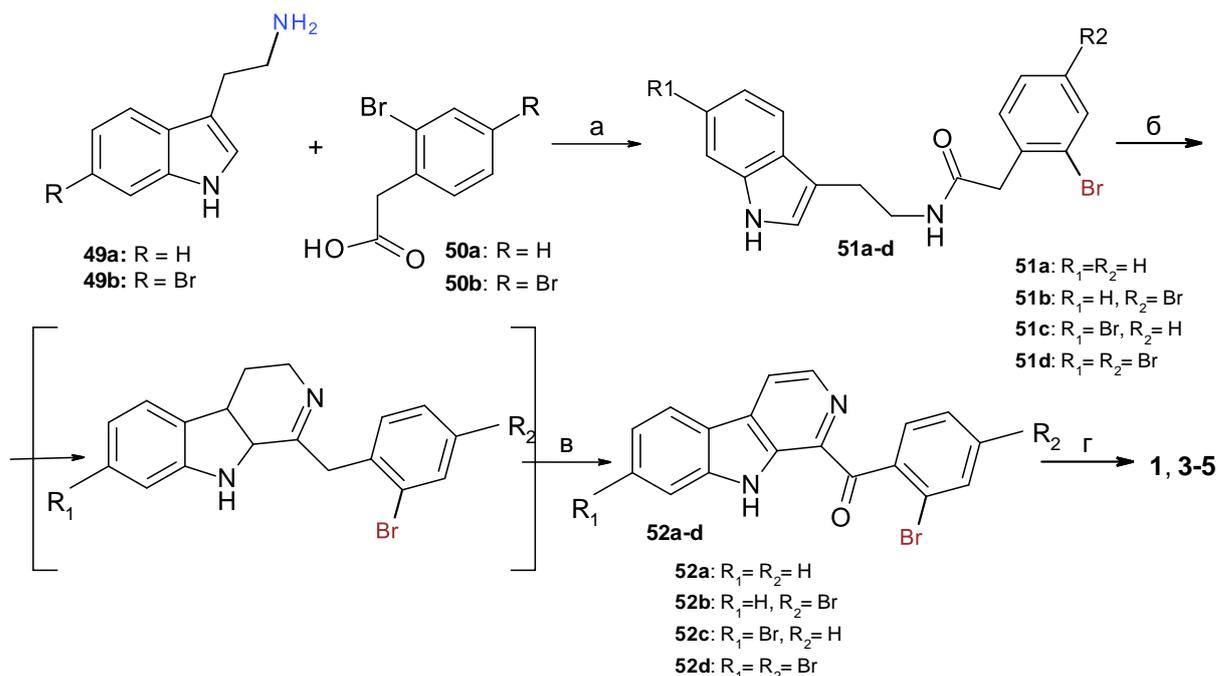
Реагенты и условия: (а). Ph-NHNH₂, HCl, EtOH, 2 ч, 78%; (б). Ph-NH-NH₂, HCl, AcOH, нагрев, 4 ч, 91%; (в). TsOH, PhH, нагрев, 20 мин, 60%; (г). Pd/C, (EtOCH₂CH₂)₂O, нагрев, 6 ч, 75%; (д) CH₃CO₃H, MeOH, 0 °С, 45 мин, 85%; (е). DDQ, 1,4-диоксан, нагрев, 2 ч, 50%; (ж). *m*-CPBA, EtOAc, 24 ч, 67%.

Рисунок 9 – Схема синтеза фаскаплизина (1) и гомофаскаплизина С (15) из индолокетонов 47

Позднее данный метод был адаптирован для получения фаскаплизина двумя путями [51] (рисунок 9). В рамках первого из них из индолокетона 47b был получен интермедиат 48b, не содержащий метильную группу, который далее был дегидрирован над Pd/C, что позволило получить непосредственный предшественник фаскаплизина 2. Параллельно с этим фаскаплизин (1) был получен введением гомофаскаплизина С (15) в реакцию Байера-Виллигера с 3-хлорпербензойной кислотой (*m*-CPBA), что показало возможность конверсии гомофаскаплизинов в фаскаплизины. По-видимому, в организмах-продуцентах биосинтез фаскаплизина происходит схожим образом.

В том же году Радченко и соавт. был предложен метод синтеза фаскаплизина, развивающий стратегию его получения исходя из 1-бензоил-β-карболинов, предложенную Molina [52]. В данном случае для получения необходимого промежуточного β-карболина использовалась классическая циклизация Бишлера-Напиральского (рисунок 10). На начальной стадии было проведено ацилирование триптамина 49a *o*-бромфенилуксусной кислотой (50a) путем нагревания реактантов в высококипящем растворителе с

последующей азеотропной отгонкой. Далее на образовавшийся в результате реакции амид **51a** действовали POCl_3 . Полученный таким образом дигидро- β -карболин был дегидрирован действием активированного MnO_2 . После выдерживания образовавшегося 1-бензоил- β -карболина **52a** при $220\text{ }^\circ\text{C}$ в течение получаса и последующей замены противоиона был получен продукт циклизации, тождественный целевому фаскаплизину. Суммарный выход соединения **1** на четыре стадии составил 44 %.



Реагенты и условия: (а). тетралин, азеотропная перегонка, 40 мин, 83% для **51a**; DCC, CH_3CN , т. кип., 30 мин, 88–89% для **51b-d**; (б). POCl_3 , PhH (или CH_3CN), т. кип., 30 мин, 68%; (в). MnO_2 , CHCl_3 , т. кип., 3 ч, 86%; (г). $220\text{ }^\circ\text{C}$, 20 мин, затем HCl/MeOH , 90%.

Рисунок 10 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) по Радченко и соавт. [52] и бромфаскаплизинов **3-5** по Жидкову и соавт. [53]

Позднее в работе 2007 года отдельные стадии данного метода также были модифицированы, а границы его применения расширены получением синтетических аналогов природных бромпроизводных фаскаплизина – алкалоидов 3-бромфаскаплизина (**3**), 10-бромфаскаплизина (**4**) и 3,10-дибромфаскаплизина (**5**), используя в качестве исходного соединения 6-бромотриптамин (**49b**) [53].

В 1999 году Carter и Van Vranken задались целью подтвердить предположение, что 2,2'-бис-триптофаны являются непосредственными

предшественниками в ходе биосинтеза ряда известных природных соединений, при этом в зависимости от региоселективности циклизации образуются производные либо пиридо[1,2-*a*: 3,4-*b*]дииндола, либо индоло[2,3-*a*]карбазола [54]. Для проверки данной гипотезы было выбрано соединение **53**, полученное окислительной димеризацией метилового эфира *N*-ацетилтриптофана с последующим гидразинолизом одной из сложноэфирных групп, конверсией полученного гидразида в азид действием нитрита натрия и проведением на завершающей стадии перегруппировки Курциуса в присутствии *n*-бутиламина. Эксперимент подтвердил, что регионаправленность циклизации соединения **53** зависит от природы используемой кислоты (рисунок 11).

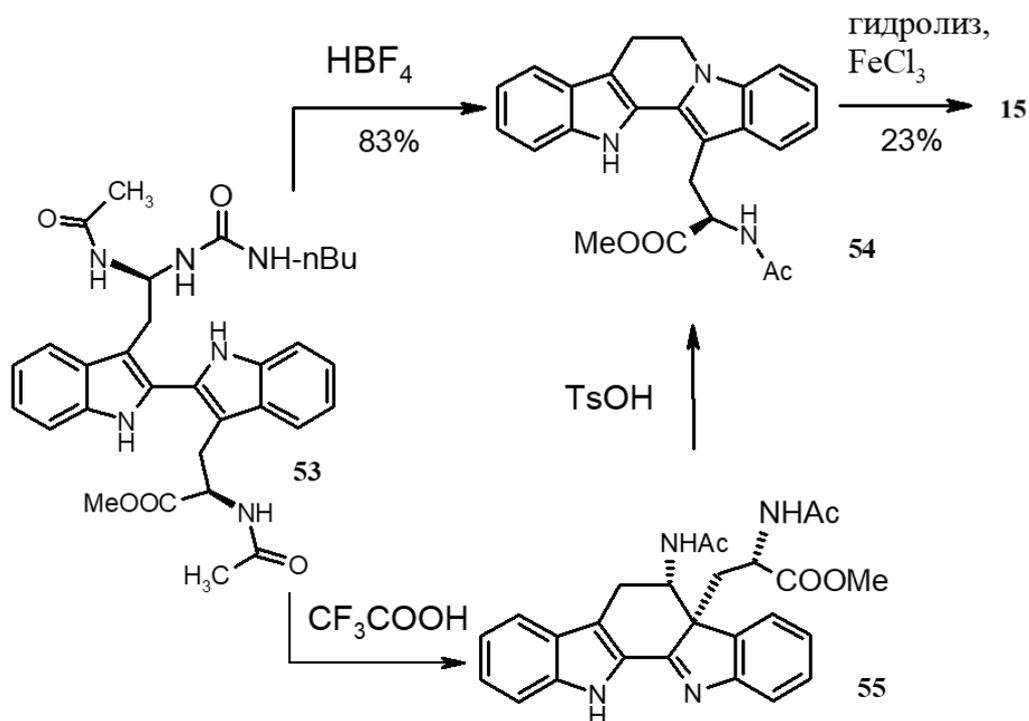
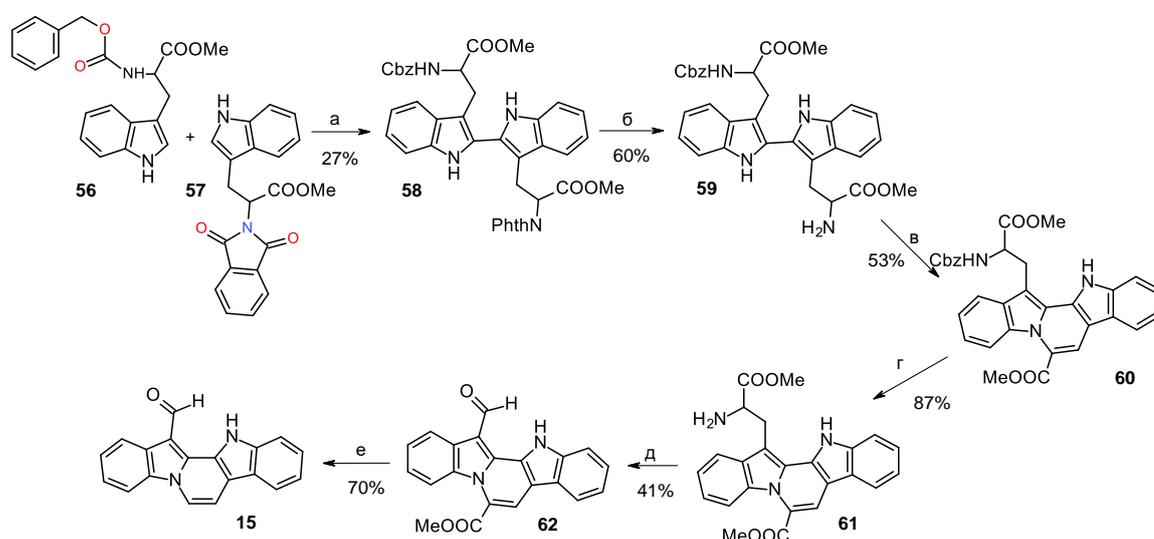


Рисунок 11 – Зависимость направления циклизации соединения **53** от условий реакции

Так, при действии HBF₄ был получен пиридодииндол **54**, который после гидролиза и окисления хлоридом железа (III) был превращен в гомофаскаплизин С (**15**). При проведении реакции в трифторуксусной кислоте основным продуктом было соединение **55**, которое в присутствии TsOH превращалось в соединение **54**.

Представленные результаты послужили основой для работы Mei Xu и соавт. [55]. На первой стадии ими была проведена реакция гетеродимеризации между защищенными по аминогруппе метиловыми эфирами триптофана **56** и **57**, которые под действием трифторуксусной кислоты с последующим окислением давали целевой дитриптофан **58** с выходом 27 % (рисунок 12). Селективное снятие защитной группы с одной из аминогрупп в полупродукте **58** обеспечило получение амина **59**, который далее подвергали окислению в кетоэфир с последующей внутримолекулярной циклизацией при нагревании в диоксане в присутствии трифторуксусной кислоты. В результате с выходом 53% был получен сложный эфир **60**. Далее провели удаление Cbz-защиты для получения амина **61**, который впоследствии ввели в реакцию гидролиза и окислительного декарбоксилирования, при этом в качестве окислителя использовали сульфат меди (II). На заключительной стадии субстрат **62** гидролизовали и декарбоксилировали при 200 °С, что привело к целевому продукту **15**.

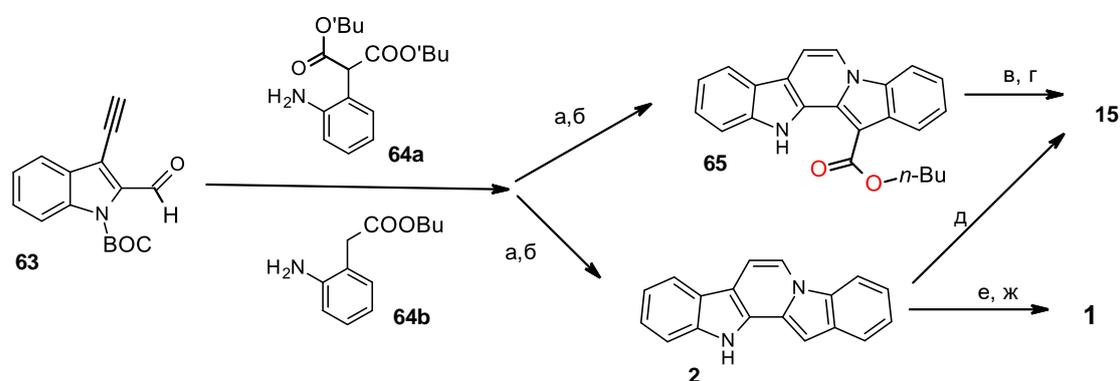


Реагенты и условия: (а) (i) TFA, rt; (ii) DDQ, 1,4-диоксан, 0 °С to rt. (б) 80% гидразингидрат, DCM/MeOH, rt. (в) (i) ZnSO₄, CHOCOONa·H₂O, MeCN/ацетатный буфер, rt. (ii) TFA, 1, 4-диоксан, 100 °С. (г) BF₃·Et₂O, EtSH, rt. (д) CuSO₄, CHOCOONa·H₂O, MeCN/ ацетатный буфер, O₂, rt. (е) (i) NaOH, MeOH/H₂O/DMSO, 40 °С. (ii) 200 °С.

Рисунок 12 – Схема биомиметического синтеза гомофаскаплизина С (**15**)

Следующий подход к формированию системы пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндола был реализован только спустя десять лет [56]. В рамках данного метода исходным соединением являлся защищенный по

NH-группе 3-этилиндола-2-карбальдегид (**63**), который подвергали микроволновому облучению в смеси с замещенным анилином **64a** в присутствии трифлата серебра, что позволило сразу получить пентациклический продукт **65** (рисунок 13). Восстановление сложноэфирной группы в данном соединении до альдегидной привело к синтезу гомофаскаплизина С (**15**). При использовании на первой стадии анилина **64b** образовался незамещенный пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндол (**2**), из которого, как отмечалось выше (рисунок 5), в одну стадию можно перейти к гомофаскаплизину В (**11**), гомофаскаплизину С (**15**) и фаскаплизину (**1**).



Реагенты и условия: (а). AgOTf, 2,6-лутидин, MW (150 Вт), EtOH, 150 °С, 45 мин; (б). HCl, 24 ч; (в) пиперидин, *n*-BuLi, DIBAL, ТГФ, 0 °С; (г). 1N HCl, 53%; (д). POCl₃, ДМФА, 85%; (е). CH₃CO₃H, MeOH, AcOH, 0 °С; (ж). конц. HCl, 85%.

Рисунок 13 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) и гомофаскаплизина С (**15**)

Waldman и соавт. [56]

S. V. Bharate и соавт. в 2012 году [40] реализовали следующий этап эволюции подхода Molina, когда необходимый 1-бензоил-β-карболин был получен *in one pot* взаимодействием триптамина с *o*-хлорфенилглиоксалем (**66**) в присутствии Pd/C (рисунок 14). Механизм превращения включает образование из исходных соединений сначала соответствующего имина, который в условиях кислотного катализа циклизуется по Пикте-Шпенглеру в дигидро-β-карболин и последовательно дегидрируется в β-карболин **67**. На второй стадии проводится кватернизация полупродукта **67** по методу, описанному в работе Радченко и соавт.

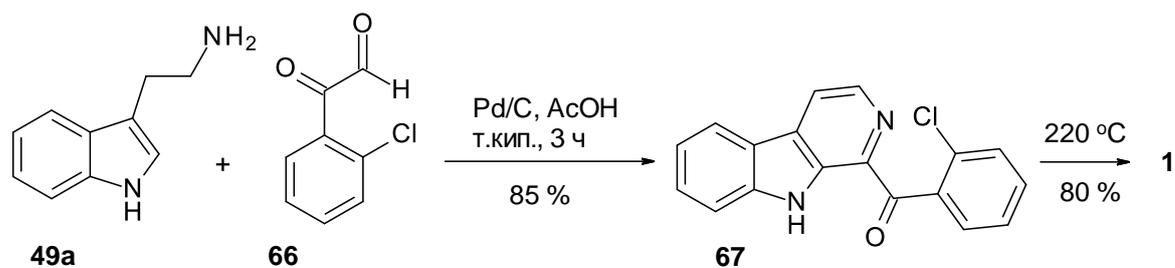
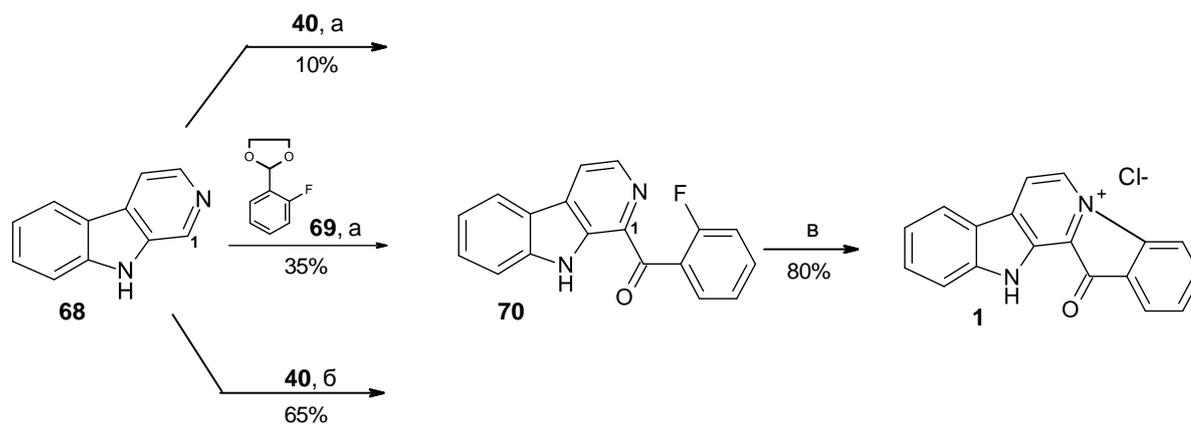


Рисунок 14 – Получение фаскаплизина из триптамина по Bharate и соавт. [40]

В 2013 году был предложен альтернативный вариант получения замещенных 1-бензоил- β -карболинов путем ацилирования незамещенного β -карболина (**68**) по положению 1 с использованием реакции Минисци, что позволяет вводить различные функциональные группы в цикл Е фаскаплизина [57]. Для генерации нуклеофильных радикалов применяли смесь 2-фторбензальдегида или ацеталя **69** и *tert*-бутилгидропероксида в присутствии солей железа (II), однако это привело к неудовлетворительному выходу. Использование микроволнового излучения для инициации радикального распада позволило получить полупродукт **70** с препаративным выходом 65 % (рисунок 15). На завершающей стадии синтеза проводили циклизацию β -карболина **70** при нагревании до 220 °C в присутствии каталитических количеств гидрохлорида пиридиния по аналогии с работой [49], что позволило получить фаскаплизин (**1**) с выходом 80%.



Реагенты и условия: (а) 70% *t*-BuOOH, FeSO₄ × 7H₂O, CF₃COOH, CH₃COOH, H₂O, 4 °C, 30 мин, дважды; (б) 70% *t*-BuOOH, MW, 10 Вт, CF₃COOH, 40 мин, несколько раз; (в) пиридин × HCl, 200-220 °C, 40 мин.

Рисунок 15 – Схема синтеза фаскаплизина из β -карболина

Следующим этапом развития подхода к синтезу фаскаплизина исходя из 1-бензоил- β -карболинов можно считать работу Zhu и соавт. [58]. По сути,

они дополнили метод Bharate и соавт., разработав методологию получения 1-бензоил-β-карболинов in one pot путем нагревания смеси триптамина (**49a**), *o*-бромацетофенона (**71**) и молекулярного йода в растворе ДМСО (рисунок 16). При этом реализуется каскад превращений, включающий последовательное иодирование ацетофенона **71**, окисление полученного продукта по Корнблему в присутствии ДМСО до промежуточного фенилглиоксаля и его конденсацию по Пикте-Шпенглеру с триптамином с последующим окислением промежуточного дигидро-β-карболина до 1-бензоил-β-карболина **52a**. Благодаря относительной доступности замещенных ацетофенонов и триптамина данный способ в дальнейшем лег в основу получения большинства известных на сегодняшний день производных фаскаплизина.

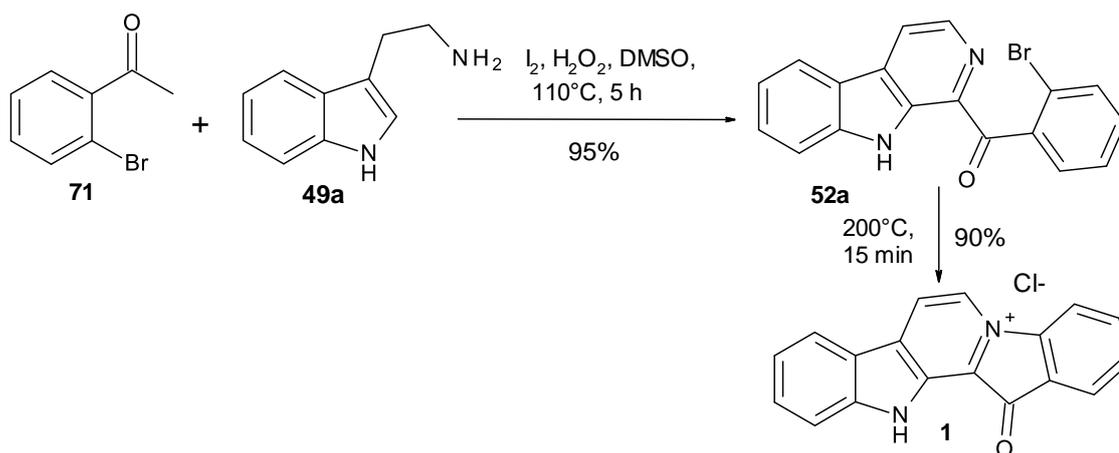
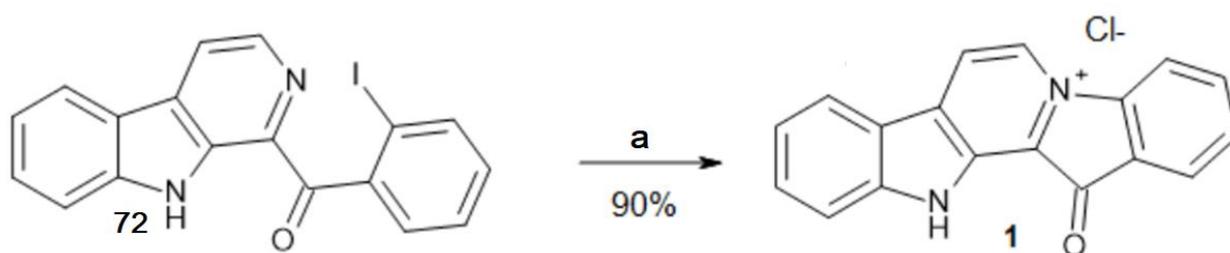


Рисунок 16 – Получение фаскаплизина (**1**) из триптамина (**49a**) и *o*-бромацетофенона (**71**)

В 2014 году другой группой ученых [59] был представлен доработанный вариант представленного выше метода. В данном случае ключевую стадию проводили без участия *трет*-бутилгидропероксида, при этом выход целевого соединения оставался таким же высоким. В дальнейшем вместо галогензамещенных ацетофенонов в реакцию с триптамином были введены соответствующие фенилалкины, что позволило получить широкий набор замещенных 1-бензоил-β-карболинов с выходами 74–95% [60].

Единственным недостатком разработанного метода является необходимость проведения заключительной стадии кватернизации при высокой температуре. Это существенно сужает круг вводимых субстратов, ограничивая его применением только термостабильных соединений. Для решения этой проблемы авторы работы [61] разработали низкотемпературный вариант ее проведения под действием УФ-облучения (рисунок 17). В данном случае ключевым условием реализации данного превращения является наличие в *орто*-положении бензоильного заместителя 1-бензоил- β -карболина **72** атома йода. Также выяснилось, что по мере накопления продукта скорость реакции быстро падает, поэтому оказалось целесообразным ее проведение в течение короткого временного промежутка, после чего фаскаплизин выделялся из реакционной смеси, а непрореагировавший субстрат **72** вновь подвергался УФ-облучению. В результате последовательного повторения данной схемы удалось довести выход целевого продукта до 90%, а также получить два термолабильных производных фаскаплизина, синтез которых в условиях высокотемпературной кватернизации оказалось невозможным.



Условия и реагенты: УФ-облучение, ацетонитрил, -5 °С, 3 x 1.5 ч

Рисунок 17 – Кватернизация 1-бензоил- β -карболина **72** в фаскаплизин под действием УФ-облучения из работы [61]

Изучая структуру фаскаплизина, можно сделать вывод, что в качестве фрагмента в ней содержится скелет известного красителя индиго (**73**), что создает предпосылки для разработки на его основе метода синтеза фаскаплизина и родственных соединений. Ещё в 20-е годы прошлого века Posner [62, 63] изучал взаимодействие индиго с этиловыми эфирами

малоновой и фенилуксусной кислот (рисунок 18) с целью доказать, что соединению **73** соответствует структура *транс*-изомера. Полученные им продукты конденсации **74** и **75** исторически являются первыми известными производными пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндола **2**.

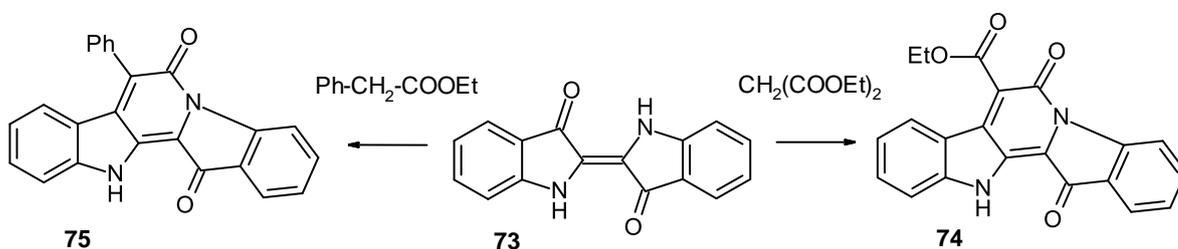
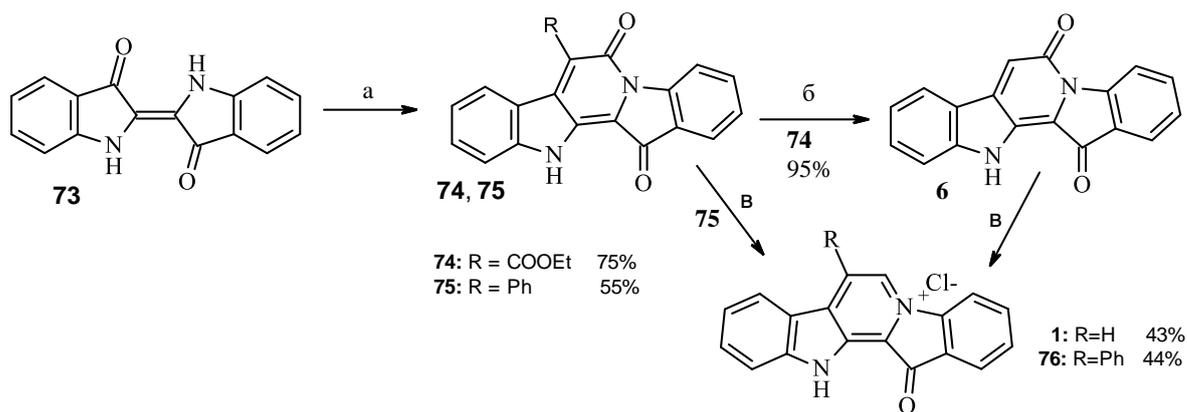


Рисунок 18 – Первый синтез производных пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндола

В 2018 году вышла статья [64], авторы которой на первом этапе осуществили конденсацию индиго с серией метиленактивных соединений (рисунок 19). На втором этапе для соединения **74** были проведены гидролиз и декарбоксилирование, что привело к получению алкалоида 6-оксофаскаплизина (**6**), который ранее был выделен из губки *Hyrtios* sp. [8]. Далее с целью восстановления амидной группы в положении 6 на полученный 6-оксофаскаплизин подействовали комплексом боран-тетрагидрофуран. После гидролиза и окисления кислородом воздуха промежуточного продукта был получен фаскаплизин (**1**).



Реагенты и условия: (а) R-CH₂-COOEt (8 экв.), NaNH (4 экв.), ДМФА, Δ, 0.5 ч; (б) 40% HBr (избыток), т. кип., 2 ч; (в) BH₃ × ТГФ (24 экв.), ТГФ, Ar, Δ, 2 ч, затем H₂O/H⁺, воздух, Δ, 2 ч.

Рисунок 19 – Схема синтеза 6-оксофаскаплизина (**6**), фаскаплизина (**1**) и его производного **76** исходя из индиго (**73**)

Аналогичным образом было проведено восстановление соединения **75**, что позволило получить производное фаскаплизина, содержащее фенильный заместитель в положении 7 (**76**).

1.4 Химические свойства фаскаплизина

Доступность синтетического фаскаплизина обеспечила возможность проведения комплексного изучения химических свойств данного алкалоида, результаты которого были представлены в работах [65, 66]. В частности, оказалось, что при действии оснований (триэтиламин, *N,N*-диизопропилэтиламин и 1,8-дiazобикарбодиазепин-7 (DBU)) фаскаплизин проявляет свойства кислоты, при этом после отрыва протона от индольной NH-группы происходит потеря положительного заряда, что приводит к значительной перестройке сопряженной электронной системы молекулы и образованию депротонированной формы фаскаплизина **1'** изумрудно-зеленого цвета (рисунок 20).

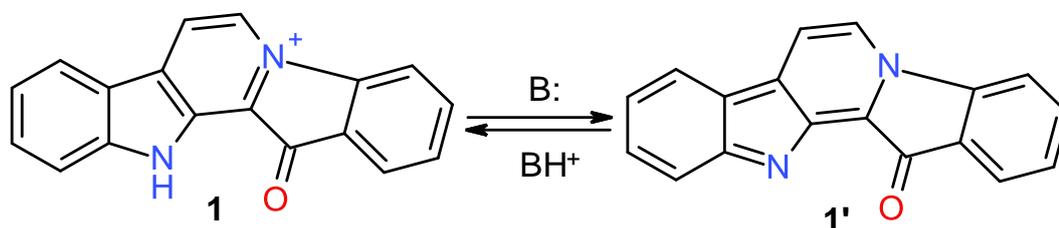


Рисунок 20 – Равновесие между фаскаплизином (**1**) и его депротонированной формой **1'**

Не менее интересными оказались результаты изучения взаимодействия фаскаплизина с различными нуклеофилами, которые сильно зависят от природы использованного реагента. Фаскаплизин не реагирует со слабыми нуклеофилами, в частности, он не вступает в реакцию Виттига. Взаимодействие фаскаплизина с метилмагнийбромидом и *n*-бутиллитием протекает ожидаемо по карбонильной группе с образованием третичных спиртов **77** и **78** – аналогов гомофаскаплизинов А. При взаимодействии фаскаплизина с солянокислым гидроксиламинем первоначально образуется оксим депротонированной формы фаскаплизина **79**, который находится в

таутомерном равновесии с изомерным ему нитрозопроизводным **80**. При добавлении к этой смеси соляной кислоты образуется оксим **81** (рисунок 21).

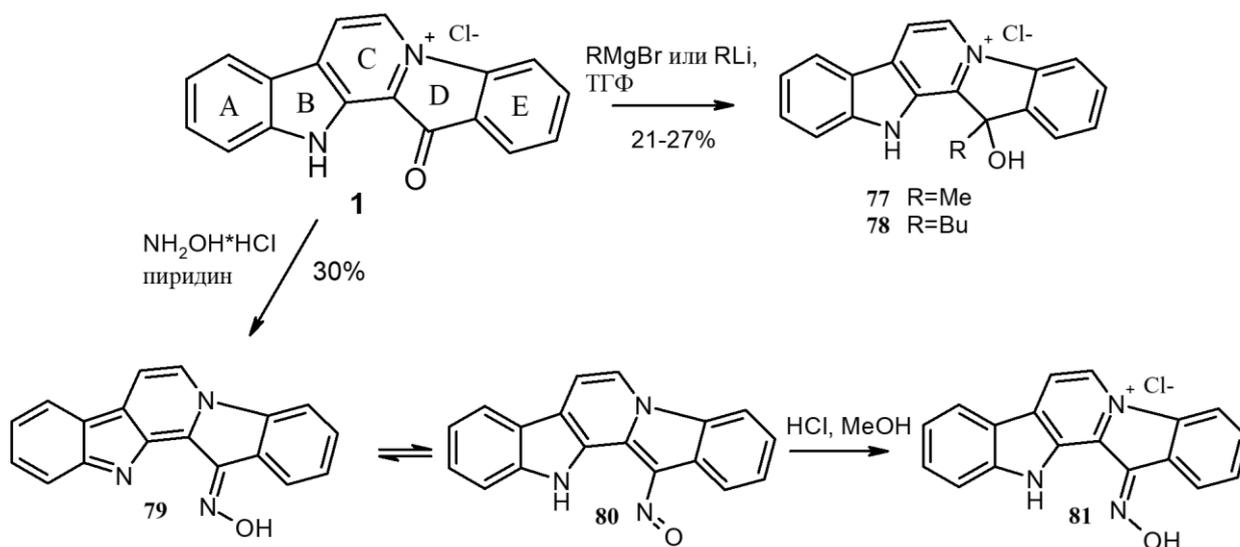


Рисунок 21 – Схема взаимодействия фаскаплизина с металлоорганическими соединениями и NH_2OH

По-настоящему неожиданными оказались результаты взаимодействия фаскаплизина с *O*-нуклеофилами. Так, при добавлении к фаскаплизину раствора NaOH в метаноле или 30% водного раствора NH_3 реализуется атака по карбонильной группе по механизму с участием тетраэдрического интермедиата. Для его стабилизации в качестве уходящей группы выступает β -карболиновый фрагмент, что приводит к раскрытию цикла **D** фаскаплизина и образованию синтетического аналога ретикулатата (**20**). Ожидалось, что действие метилата натрия приведет к алкалоиду ретикулатину (**17**), но вместо этого была получена смесь диастереоизомерных продуктов присоединения метанола к центральному пиридиновому циклу **82a** и **82b** (рисунок 22).

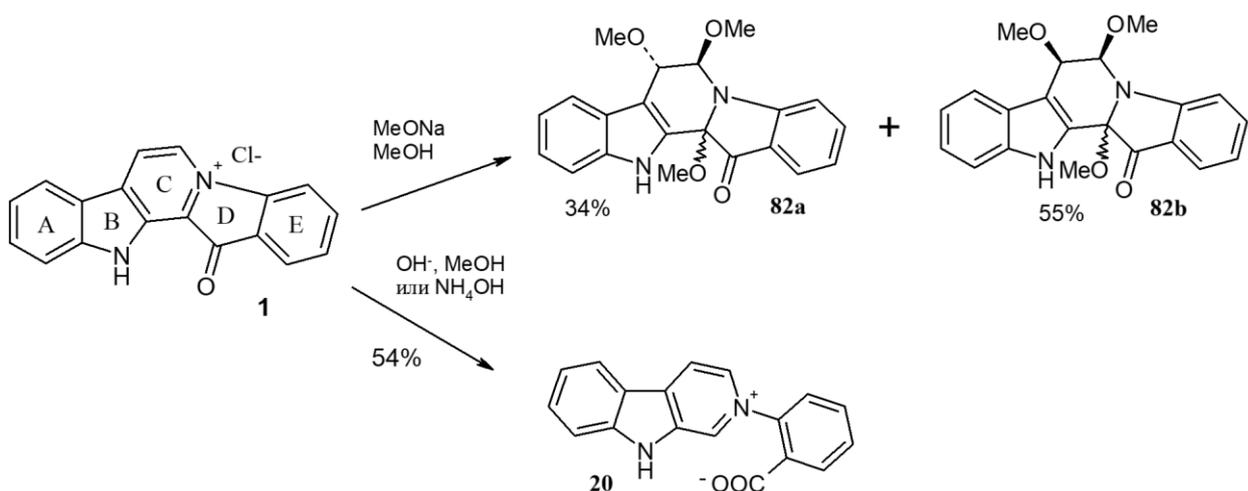


Рисунок 22 – Взаимодействие фаскаплизина с *O*-нуклеофилами

Из классических реакций электрофильного ароматического замещения для фаскаплизина не удастся провести нитрование, алкилирование и ацилирование. Реализуются хлорирование действием раствора хлора в уксусной кислоте при нагревании в течение 18 ч (продукт **83**), бромирование под действием NBS в похожих условиях (продукт **84**) и сульфирование концентрированной серной кислотой (продукт **85**). Во всех случаях замещение происходит по положению 9, что можно объяснить электронодонорным влиянием индольной NH-группы (рисунок 23).

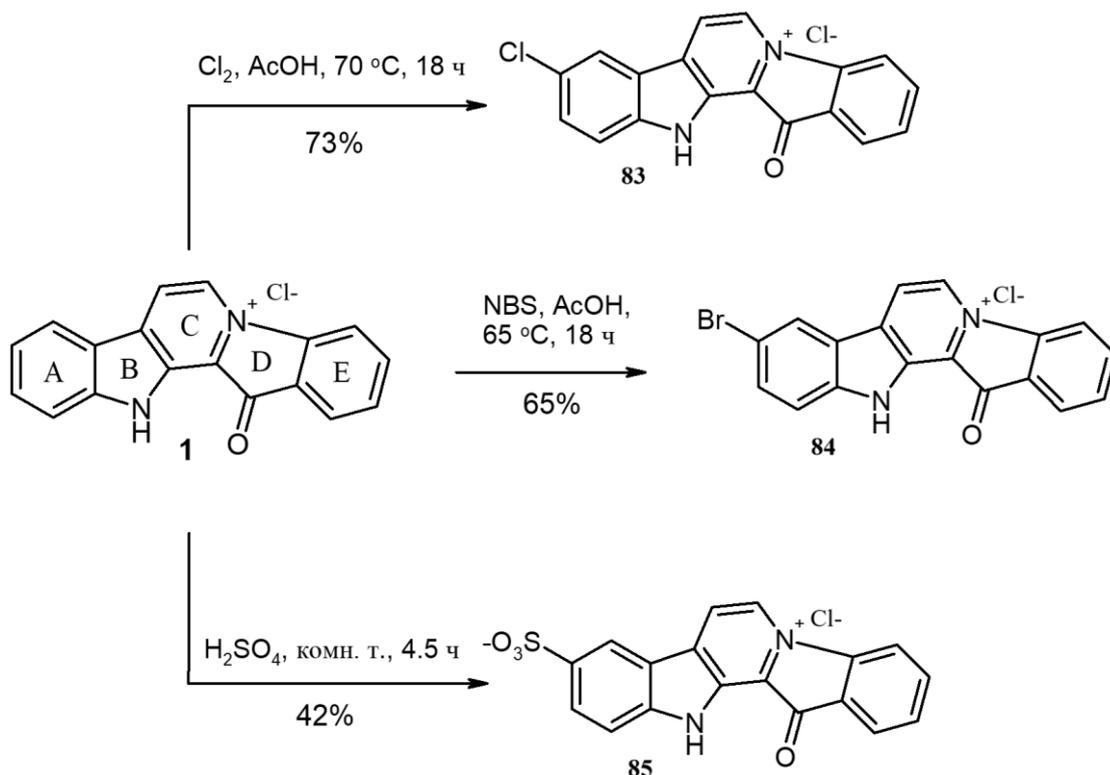


Рисунок 23 – Взаимодействие фаскаплизина с электрофильными реагентами

1.5 Многообразие и биологическая активность производных фаскаплизиновых алкалоидов

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 превосходят родоначальный фаскаплизин. В частности, было проведено сравнительное изучение цитотоксического действия фаскаплизина (**1**), фаскаплизина А (другой противоион) и 3-бромфаскаплизина (**3**) на широкий спектр линий опухолевых клеток [2]. По его результатам, представленным в таблице в приложении А, для соединения **3** показана в несколько раз большая активность по сравнению с фаскаплизином. Тогда же была продемонстрирована избирательная токсичность 10-бромфаскаплизина (**4**) против человеческих опухолевых клеток рака молочной железы H125 [2]. В другом эксперименте этой же работы была изучена цитотоксическая активность 10-ти фаскаплизиновых алкалоидов, включая фаскаплизин (**1**), 3-бромфаскаплизин (**3**), 10-бромфаскаплизин (**4**), ретикулатин (**17**), 14-бромретикулатин (**18**), 7,14-дибромретикулатин (**19**), ретикулат (**20**), 14-бромретикулат (**21**), ретикулатол (**22**) и 14-бромретикулатол (**23**) в отношении нескольких линий опухолевых клеток мышей и человека [2]. Среди них лучшие показатели активности и селективности вновь продемонстрировал 10-бромфаскаплизин.

Позднее полученные синтетически 3-бромофаскаплизин и 10-бромофаскаплизин также продемонстрировали антипролиферативную активность в субмикромольных концентрациях [67]. Этот эффект был опосредован через индукцию апоптоза, зависящего от каспаз-8, -9- и -3. В работе [68] была изучена цитотоксическая активность данных соединений, а также 7-фенилфаскаплизина (**76**), 3-хлорфаскаплизина (**86a**, рисунок 24) на линии клеток глиомы крыс С6 *in vitro*. В результате было показано, что цитотоксическая эффективность всех протестированных соединений

превосходит эффективность незамещенного фаскаплизина, а наилучший результат продемонстрировали 7-фенилфаскаплизин и 3-бромфаскаплизин.

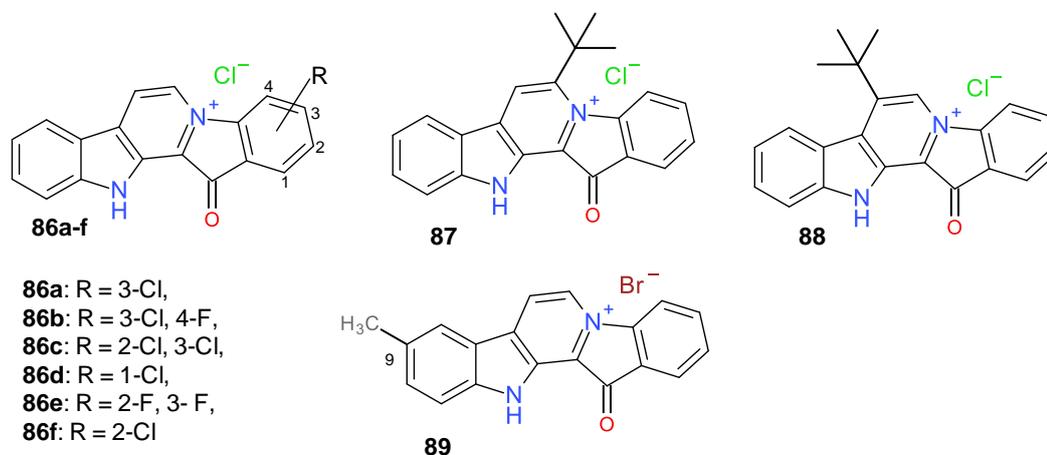


Рисунок 24 – Серия синтетических производных фаскаплизина

В работе [69] показано, что среди серии галогензамещенных производных фаскаплизина по циклу E 3-хлорфаскаплизин (**86a**) 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* соединение **86a** тормозит рост сосудов, обусловленный фактором VEGF, образование кровеносных сосудов и рост модельной опухоли у мышей. При всем спектре проявляемых возможностей профиль безопасности полученного производного является допустимым (IC_{50} для нормальных клеток в пять раз больше по сравнению с опухолевыми, также отсутствует явная токсичность для животных в терапевтических дозах).

Позднее 14-бромретикулатин (**18**) также был получен синтетически путем метилирования промежуточного продукта щелочной деструкции 3-бромфаскаплизина. Исследование его цитотоксических и противомикробных свойств в условиях *in vitro* выявило наличие у данного соединения умеренной селективности действия в отношении опухолевых клеток меланомы SK-MEL-28 и грамотрицательных бактерий *Pseudomonas*

aeruginosa [70]. В той же работе на основе метода Zhu и соавт. был предложен простой способ синтеза 3,10-дибромфаскаплизина (**5**) и показано, что данное соединение способно подавлять метаболизм клеток в нецитотоксических концентрациях.

Дальнейшие исследования, направленные на определение механизма его антипролиферативного действия в клетках миелоидного лейкоза, показали, что соединение **5** активирует фактор транскрипции E2F1 и снижает экспрессию нескольких генов, ответственных за выживание раковых клеток [71]. Кроме того, в клетках рака предстательной железы человека JNK1/2 был идентифицирован как одна из основных молекулярных мишеней **5**. Кроме того, было показано, что 3,10-дибромфаскаплизин действует синергетически с ингибитором PARP олапарибом, предположительно из-за индукции продукции АФК и последующего окислительного повреждения ДНК, опосредованного препаратом [72]. Более того, соединение **5** усиливало эффективность хорошо зарекомендовавших себя противораковых препаратов, таких как цитарабин, цисплатин и карбоплатин, а также доцетаксел и кабазитаксел.

Впоследствии была проведена сравнительная оценка антимикробной активности синтетических аналогов морских алкалоидов 3-бромфаскаплизина (**3**), 10-бромфаскаплизина (**4**) и 3,10-дибромфаскаплизина (**5**), а также некоторых их изомеров и аналогов в отношении панели грамположительных бактерий *in vitro*. В результате было показано значительное увеличение антимикробной активности при введении заместителя в положение 3. Введение двух атомов брома в положения 2 и 9 усиливает антимикробные свойства в 4–16 раз в зависимости от тестируемого штамма. Оценка антимикробного потенциала *in vivo* показала, что фаскаплизин и 3,10-дибромфаскаплизин имели сопоставимую эффективность на модели стафилококкового сепсиса у мышей. Кроме того, 3,10-дибромфаскаплизин продемонстрировал сильный противоопухолевый эффект *in vivo* на карциному Эрлиха, инокулированную подкожно, при этом

даже через 20 дней после лечения размер опухоли у экспериментальных животных был на 49.2% ниже по сравнению с контролем [73].

С целью определения вклада интеркаляции в совокупном спектре механизмов действия фаскаплизина недавно был осуществлен синтез двух аналогов данного алкалоида, содержащих объемные *трет*-бутильные фрагменты в положении 6 и 7 (**87** и **88**, рисунок 24) и обладающих сниженной интеркаляционной способностью. Вопреки ожиданиям, оказалось, что данные производные проявляют сильное цитотоксическое действие по отношению к лекарственно-устойчивым клеткам рака простаты человека, хотя и не демонстрируют улучшенной селективности по отношению к раковым клеткам по сравнению с фаскаплизином. Последующие эксперименты выявили значительное замедление скорости репликативной вилки во всех исследованных клеточных линиях при воздействии данных производных. Эти данные свидетельствуют о том, что соединения **87** и **88** проявляют свою противоопухолевую активность, препятствуя динамике репликации, вызывая репликационный стресс, который преобразуется в токсичные двухцепочечные разрывы ДНК, что приводит к гибели клеток по механизму каспазозависимого апоптоза [74]. Скорее всего данный процесс в той или иной степени характерен и для незамещенного фаскаплизина, дополняя пул описанных выше механизмов его действия (рисунок 4).

Тем не менее, на сегодняшний день наиболее перспективные результаты биологической активности показали производные фаскаплизина, содержащие заместитель в положении 9. Среди синтезированной серии производных 9-метилфаскаплизин (**89**) (рисунок 24), а также незамещенный фаскаплизин обладают способностью ингибировать ацетилхолинэстеразу и образование фибрилл β -амилоида. Соединение **89** в наномолярных концентрациях защищает нервные клетки *in vitro* от токсического действия олигомеров β -амилоида и окислительного стресса, вызванного H_2O_2 . При введении фаскаплизина и 9-метилфаскаплизина в гиппокамп данные

соединения ингибируют холинэргическую дисфункцию, вызванную скополамином, а также способны предотвратить когнитивные повреждения, индуцированные олигомерами β -амилоида *in vivo* [75, 76].

Позднее этой же научной группой было выявлено, что соединения **84** и **90** проявляют высокую антимикробную активность против метициллин-резистентного золотистого стафилококка (MRSA) ATCC43300, в 10 раз превосходящую активность препарата сравнения ванкомицина (рисунок 25).

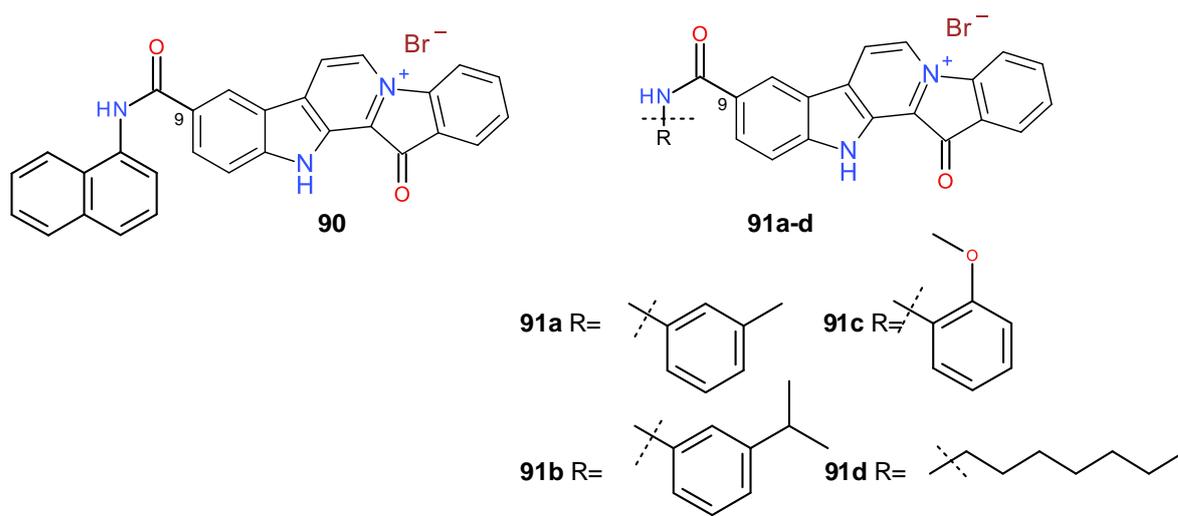


Рисунок 25 – Производные фаскаплизина с антибактериальной активностью в отношении грамположительных бактерий

При этом после инкубации бактериальных клеток с соединением **90** в концентрации 4 МИК в течение 2 ч в бактериальной клеточной стенке и мембране визуально наблюдались значительные разрывы и фрагменты клеточной стенки. Исследование проникновения иодида пропидия (PI) через клеточные мембраны клеток, подвергшихся воздействию исследуемых производных, показало резкое увеличение флуоресценции бактерий, что указывает на повреждение бактериальной клеточной стенки и мембраны. Помимо этого, выявленные производные обладают многообещающими антибиопленочными свойствами. Так, после обработки в течение 24 ч производным фаскаплизина **90** при концентрации 1.56 мкг/мл ингибирование формирования биопленки MRSA ATCC43300 достигло 78.9%. Одновременно с этим данное соединение проявляет низкую гемолитическую активность и

цитотоксичность по отношению к клеткам млекопитающих *in vitro*, а на модели перитонита у мышей *in vivo* соединение **90** и его аналоги при дозе 10 мг/кг обеспечили 20% выживаемость в течение семи дней эксперимента [77].

Последующая оптимизация была сосредоточена на модификации остатка амина в соединении **90**. В результате был синтезирован ряд улучшенных производных **91a-d** (рисунок 25). Эти соединения также проявили высокую антибактериальную активность против грамположительных бактерий и устойчивость к индукции бактериальной резистентности. Более того, соединение **91a** способствовало полимеризации белка FtsZ при концентрации 4 мкг/мл и снижало активность ГТФазы FtsZ (для соединения **91c** наблюдалось 40%-ное снижение при концентрации 0.32 мкг/мл), что, как минимум, частично объясняет механизм проявляемой ими антибактериальной активности [78]. FtsZ – это прокариотический гомолог эукариотического белка тубулина, который формирует кольцо в месте будущего деления бактериальной клетки и в настоящее время рассматривается как перспективная мишень для создания новых антибиотиков для борьбы со штаммами бактерий, устойчивыми к современным противобактериальным препаратам [79].

2 Обсуждение результатов

2.1 Взаимодействие фаскаплизина и его производных с эфирами щавелевой кислоты

Принимая во внимание актуальность расширения серии доступных производных фаскаплизина по положению 9, в ходе предварительных исследований была изучена реакция электрофильного бензоилирования фаскаплизина бензоилхлоридом в присутствии хлорида алюминия, что, впрочем, не позволило получить новые соединения [80]. В то же время кипячение смеси фаскаплизина с бензоилхлоридом без катализаторов привело к образованию нового продукта. На основании анализа спектральных данных полученному соединению была присвоена структура **92** (рисунок 26). Выход соединения **92** в реакции составил 45 %.

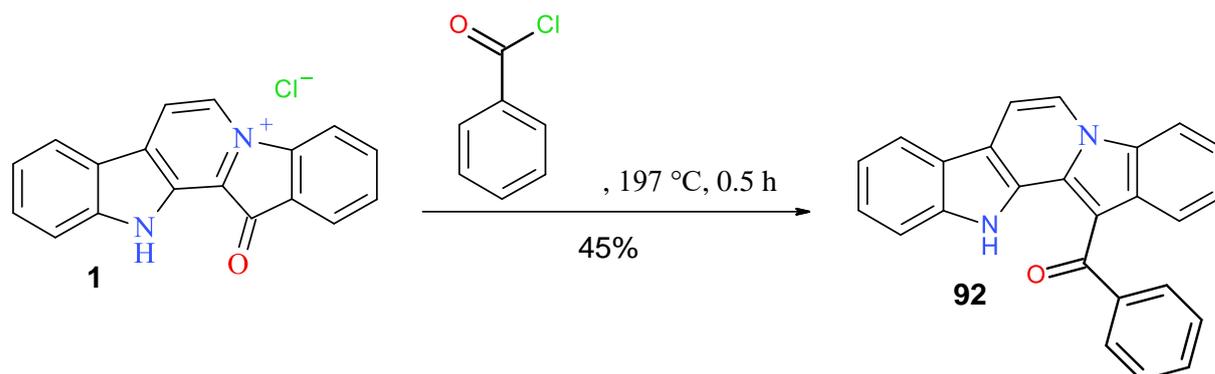
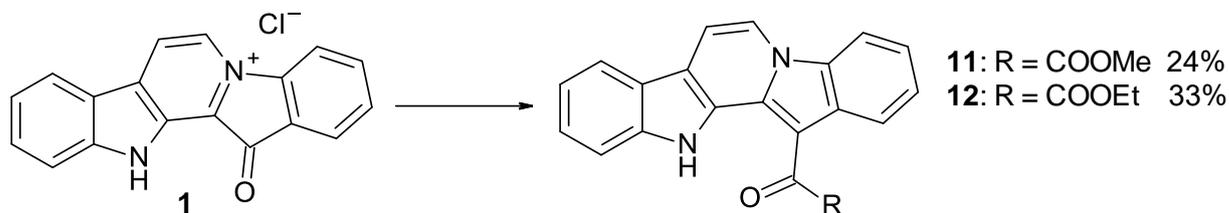


Рисунок 26 – Схема синтеза соединения **92**

Структурное сходство соединения **92** с гомофаскаплизинами В (**11**) и В-1 (**12**) послужило стимулом для изучения в данных условиях взаимодействия фаскаплизина с диметилowym и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты. Для начала необходимо было получить достаточно большое количество исходного фаскаплизина, что было сделано по методу [58] с небольшими изменениями и дополнениями (рисунок 16).

На первом этапе исследуемую реакцию проводили в избытке соответствующих эфиров без растворителя при кипячении. При этом ожидаемый продукт был получен при использовании диэтилового эфира

щавелевой кислоты. В случае диметилкоксалата, имеющего меньшую температуру кипения, целевое соединение не образовывалось. Попытка проведения реакции в реакционном сосуде для микроволнового реактора под избыточным давлением в избытке соответствующих эфиров при температуре 200 °С привела к образованию гомофаскаплизинов В и В-1 (рисунок 27).



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

Рисунок 27 – Схема синтеза гомофаскаплизинов В (**11**) и В-1 (**12**)

Для гомофаскаплизина В время протекания реакции составило 1 ч, а для гомофаскаплизина В-1 – 1.5 ч. Контроль хода реакции осуществляли при помощи ТСХ. Также было обнаружено, 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 методом спектроскопии ЯМР ¹H и ¹³C. Далее в качестве примера будут рассмотрены соответствующие спектры гомофаскаплизина В. Спектральные характеристики его гомолога представлены в Приложении Б. В спектре ЯМР ¹³C полученного продукта присутствуют сигналы 21-ного атома углерода (рисунок 28). 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. Их отнесение возможно осуществить лишь при использовании методов двумерной спектроскопии ЯМР.

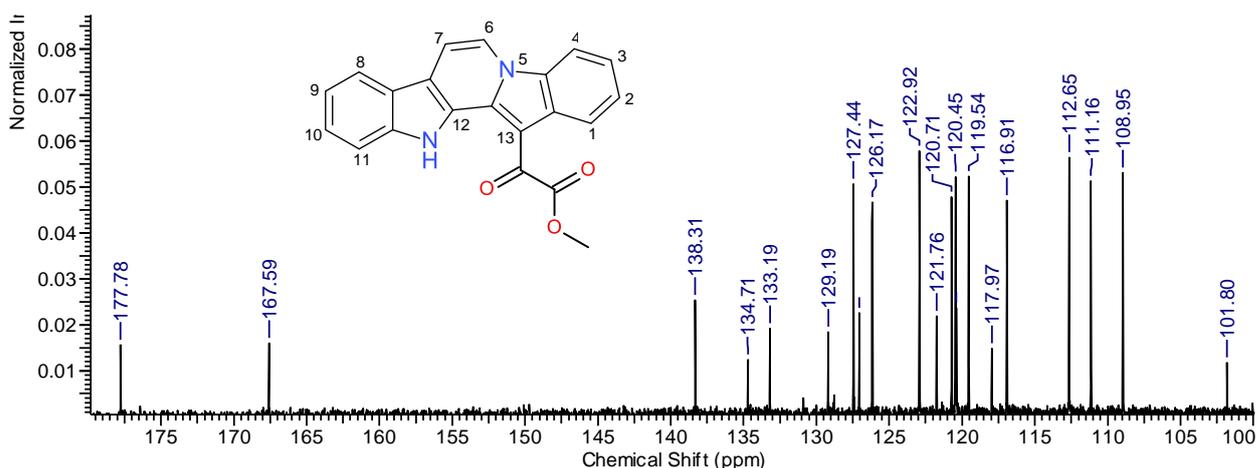


Рисунок 28 – Спектр ЯМР ^{13}C соединения **11**

В спектре ЯМР ^1H соединения **11** (рисунок 29) общая интегральная интенсивность сигналов соответствует 14-ти протонам.

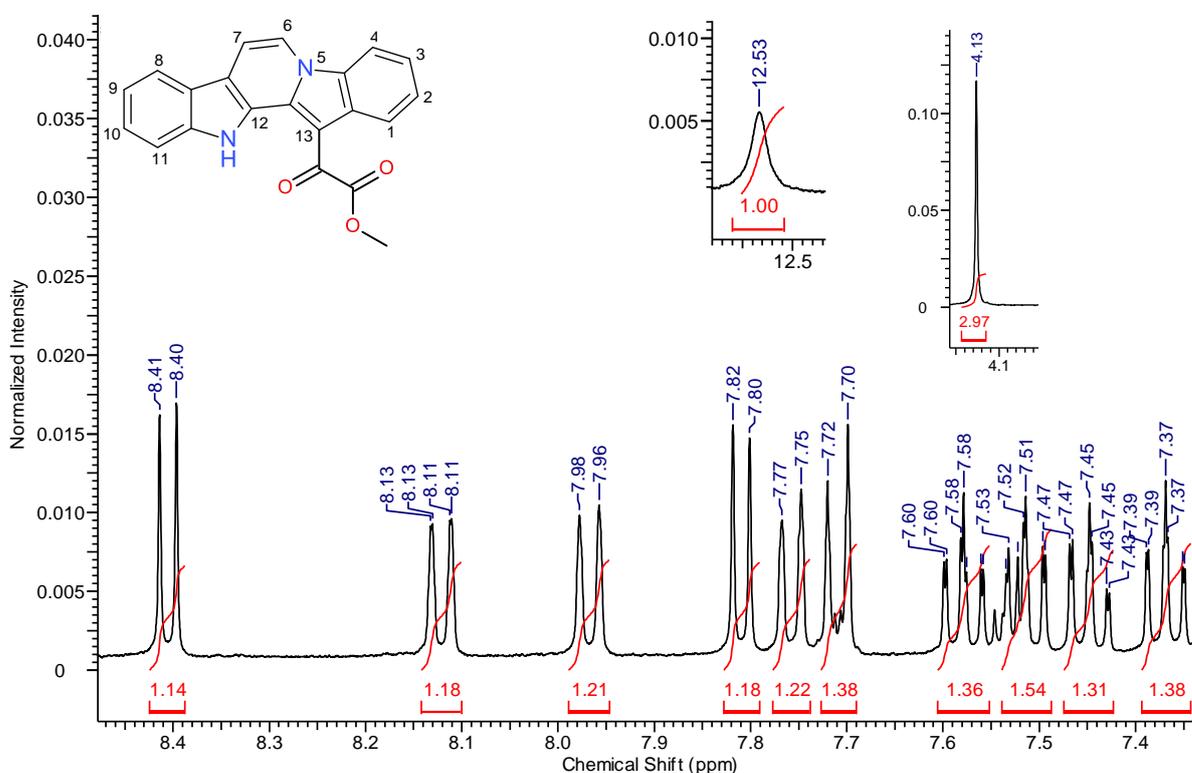


Рисунок 29 – Спектр ЯМР ^1H соединения **11**

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 1Н каждый при 8.41 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.

Подтверждение структуры полученного продукта было осуществлено путем сопоставления данных его спектров ЯМР ^1H и ^{13}C с известными из литературы аналогичными данными природного гомофаскаплизина В (**11**), полученными в одном и том же растворителе (Приложение В). Для соединения **12** приведенные в литературе спектральные характеристики получены в недоступном нам CD_2Cl_2 (Приложение Г), поэтому ввиду сходства структур рассматриваемых соединений сравнение полученных для него данных также целесообразно с данными спектра природного гомофаскаплизина В (**11**). Из сопоставления данных таблиц Приложений В и Г следует, что известные спектральные характеристики гомофаскаплизинов В (**11**) и В-1 (**12**) хорошо согласуются с аналогичными данными полученных продуктов, свидетельствуя о тождественности обсуждаемых соединений и продуктов природного происхождения.

Основываясь на полученных результатах, можно описать предполагаемый механизм новой, нехарактерной для фаскаплизина реакции восстановительного ацилирования (рисунок 30). Отдельные стадии реакции, по-видимому, включают последовательное восстановление двух структурных фрагментов в соединении **1**: пиридиниевого катиона (интермедиат **93**) и кетогруппы (интермедиат **94**) с последующей дегидратацией и образованием в качестве промежуточного продукта незамещенной 12*H*-пиридо[1,2-*a*:3,4-*b'*]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.

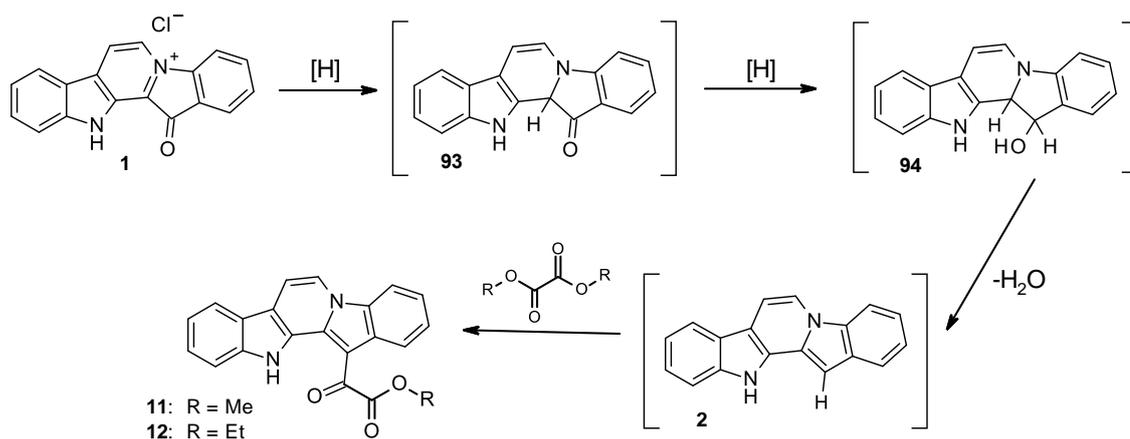


Рисунок 30 – Предполагаемый механизм реакции восстановительного ацилирования фаскаплизина

Относительно низкие выходы гомофаскаплизинов **11** и **12** в данной реакции явились основанием для продолжения исследований по оптимизации условий ее проведения.

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

Для решения данной задачи были использованы два подхода: применение микроволнового излучения для активации реакции и ее проведение в присутствии восстанавливающих агентов. В настоящее время в органическом синтезе для увеличения выхода целевых соединений часто используют микроволновое излучение (MW). Использование MW-излучения в органическом синтезе позволяет ускорить осуществление многих органических реакций, повысить выход целевого продукта. Применение второго подхода вытекает из представленного на рисунке 30 предполагаемого механизма. Поскольку данная реакция ацилирования является восстановительной, представлялось целесообразным изучить, как повлияет введение в реакционную смесь доступных восстановителей на выход целевых продуктов.

2.1.1.1 Взаимодействие фаскаплизина с диметиловым и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты под действием микроволнового излучения

Микроволновая химия возникла на стыке физики и химии. Она включает химические превращения, 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 положение таких частиц упорядочивается, и если поле осциллирует с высокой частотой, то их ориентация изменяется с каждой осцилляцией. Таким образом, переориентации частиц в фазе, активируемой переменным электрическим полем, вызывают интенсивное внутреннее нагревание [81].

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 картина 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 и обуславливают нагревание. Таким образом, микроволновое нагревание, в отличие от традиционного, является как бы «нагреванием изнутри». Другим свойством микроволновой активации является то, что оно не затрагивает неполярные молекулы и такие не содержащие воду материалы как кварц, керамика и стекло. Тефлон, полиэтилен, алканы и др. также остаются невосприимчивыми при облучении. Это позволяет использовать их в качестве материалов для посуды при

проведении химических реакций, а также в качестве специфической реакционной среды (неполярные растворители), в которой микроволновому нагреванию подвержены только полярные молекулы реагирующих соединений, но не растворителя. MW-излучение применяют в органическом синтезе при проведении реакций в условиях нормального давления, но чаще при повышенном давлении для получения недостижимых в обычных условиях температур [82].

Первый эксперимент в отношении исследуемой реакции был проведен в специальном реакционном сосуде для микроволнового реактора, выдерживающем избыточное давление, в избытке диметилноксала при низкой мощности облучения (30 Вт) в течение 5 мин. Показано, что в данных условиях реакция не происходит. После увеличения мощности до 100 Вт температура смеси достигла 50 °С, по данным ТСХ наблюдали образование целевого продукта с небольшой примесью. Суммарное время проведения реакции составило 30 мин, при этом отбор проб для контроля хода реакции осуществлялся через каждые 5 мин. Затем эту же смесь облучали еще в течение 30 мин. По данным ТСХ увеличение содержания целевого продукта не происходит.

Следующий эксперимент был проведен при температуре 65 °С (мощность излучения 150 Вт) при том же мольном соотношении реагентов в течение 30 мин. По данным ТСХ наряду с основным продуктом реакции наблюдается образование значительного количества ранее неизвестного побочного продукта. При этом соотношение целевого **11** и побочного продуктов после увеличения времени реакции не изменяется. Опыт был повторен при увеличенной загрузке исходных реагентов. После разделения смеси продуктов методом препаративной тонкослойной хроматографии (ПТСХ) на закрепленном слое SiO₂ были получены целевой гомофаскаплизин В (14 %) и неизвестный продукт оранжевого цвета. После

анализа данных спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C и хромато-масс-спектрометрии полученному продукту была приписана структура **95** (рисунок 31).

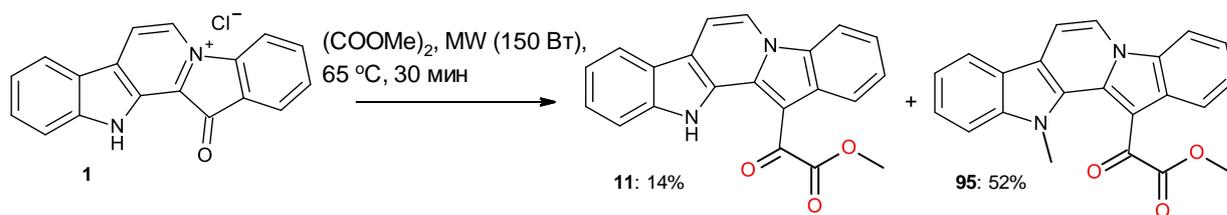


Рисунок 31 – Схема взаимодействия фаскаплизина с диметилксалатом при MW облучении

В ESI(+)-масс-спектре соединения **95** (рисунок 32) присутствует пик катионированной молекулы $[\text{M}+\text{H}]^+$ с m/z 357. Наблюдаемое значение m/z свидетельствует о внедрении в структуру гомафаскаплизина В метильного фрагмента.

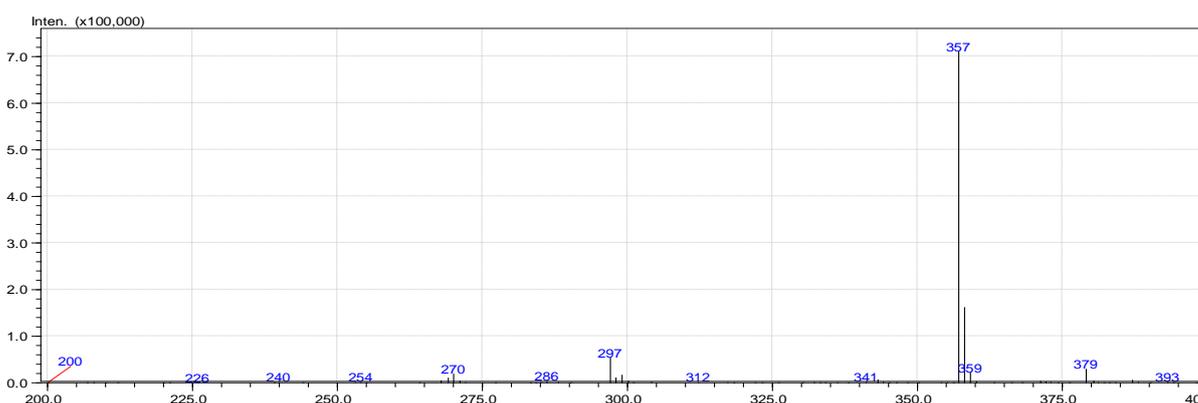


Рисунок 32 – ESI(+)-Масс-спектр соединения **95**

Сопоставление данных спектров соединения **95** с данными спектров гомафаскаплизина В (**11**) позволяет выявить следующие отличия. В спектре ЯМР ^{13}C **95** (рисунок 33) присутствуют сигналы 22-х атомов углерода, дополнительный сигнал атома углерода наблюдается в сильном поле при 35.4 м.д. Помимо этого, в спектре присутствуют сигналы атомов углерода карбонильной (178.1 м.д.) и сложноэфирной (166.5 м.д.) групп, а также метильного заместителя в сложноэфирной группе при 53.0 м.д. Остальные сигналы наблюдаются в области резонанса ароматических атомов углерода и точное их отнесение провести трудно.

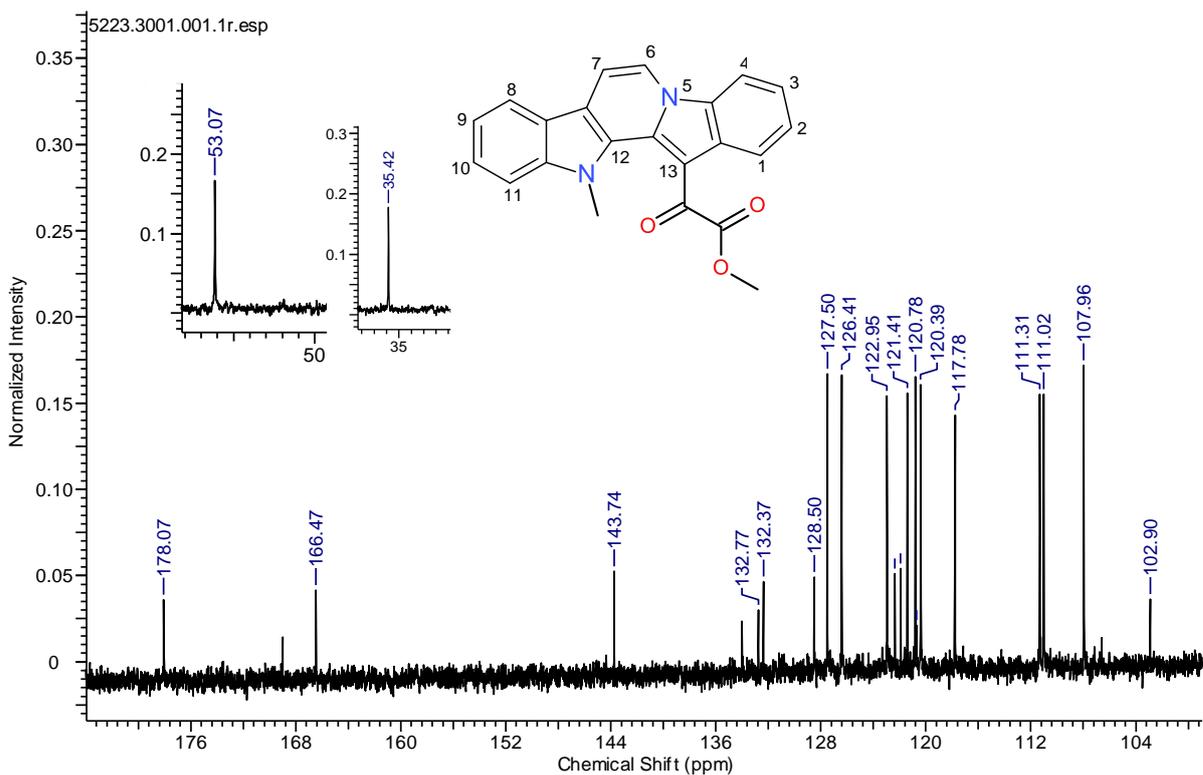


Рисунок 33 – Спектр ЯМР ^{13}C соединения **95**

В спектре ЯМР ^1H соединения **95** (рисунок 34) общая интегральная интенсивность сигналов соответствует 16-ти протонам. Уширенный синглет, соответствующий сигналу протона NH-группы, в слабом поле отсутствует. В сильном поле наблюдается присутствие синглетных сигналов двух метильных групп при 4.00 и 3.97 м.д. Дублет при 7.68 м.д. принадлежит протону Н-7, а дублет при 8.38 м.д. – протону Н-6, сдвиг сигнала которого в слабое поле обусловлен влиянием соседнего атома азота. Отнесение сигналов остальных 8-ми ароматических протонов невозможно без использования методов двумерной спектроскопии ЯМР.

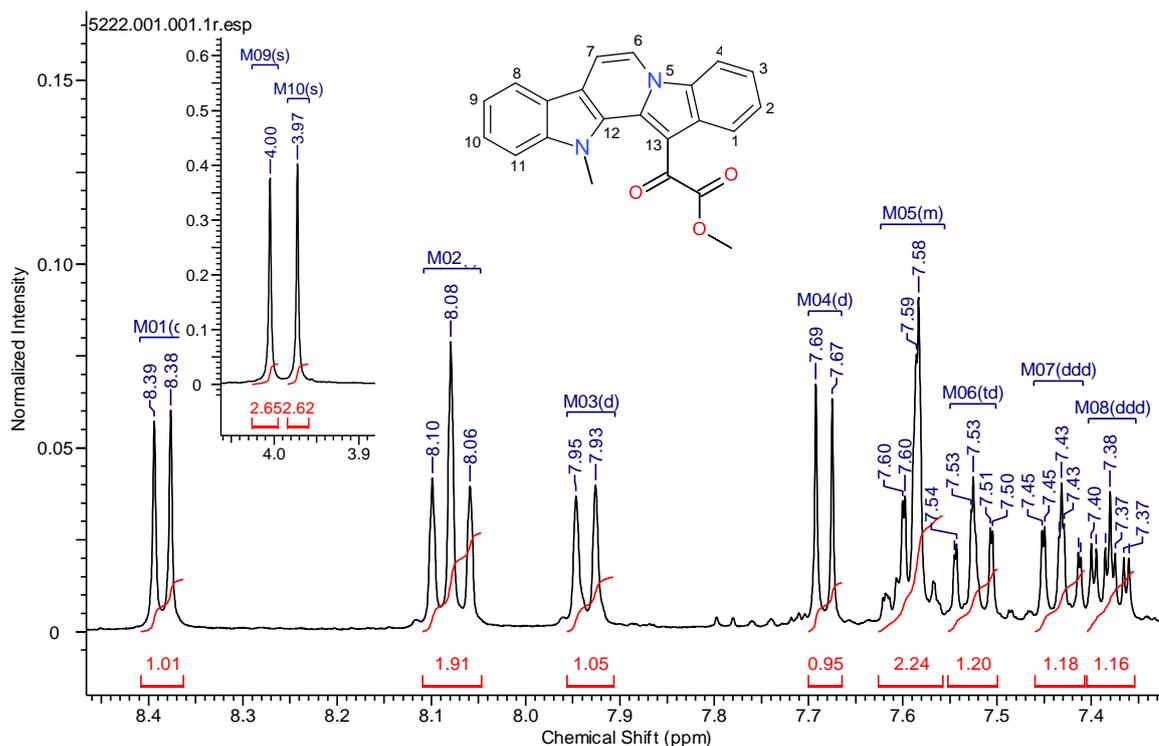


Рисунок 34 –Спектр ЯМР ^1H соединения **95**

Таким образом, отсутствие сигнала протона NH-группы в спектре ЯМР ^1H , а также данные спектра ЯМР ^{13}C указывают на то, что в использованных условиях наряду с основной реакцией протекает процесс метилирования по атому азота, а полученному продукту соответствует структура метил-2-оксо-2-(12-метил-12H-пиридо[1,2-a:3,4-b']дииндол-13-ил)ацетата. Выход соединения **95** составил 52 %.

Примечательно, что в случае замены диметилксалата на избыток диэтилового эфира щавелевой кислоты при облучении в описанных выше условиях реакция не происходит. Возможно, это связано с меньшей реакционной способностью диэтилового эфира в использованных условиях по сравнению с диметилловым эфиром щавелевой кислоты.

2.1.1.2 Изучение влияния восстановителей на реакцию восстановительного ацилирования фаскаплизина

Практически все использованные восстановители представляли собой либо соли, либо металлы, которые обладают исключительно высокой восприимчивостью к микроволновому излучению, поэтому рационально

было проводить реакции при нагревании. Взаимодействия проводили в присутствии диметилового эфира щавелевой кислоты и 10-кратного избытка восстановителя в реакционном сосуде от микроволнового реактора при 200 °С в течение 0.5 ч. Условия и результаты экспериментов сведены в таблице 1. Среди изученного набора восстановителей только гидрохинон (далее ГХ) имеет неионную структуру, что позволило провести реакцию с ним под действием микроволнового излучения.

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

№	Восстановители	Условия	Результат
1	NaBH ₄	Герметизированный сосуд, 200 °С, 30 мин	Реакция не идет
2	Na ₂ S ₂ O ₃		Образуется смесь гомофаскаплизина В (11) (30 %) и соединения 96 (22 %)
3	Na ₂ SO ₃		Образуется смесь продуктов в следовых количествах
4	FeSO ₄ x 7H ₂ O		Реакция не идет
5	KI		Образуется новый продукт, не выделен
6	LiAlH ₄		Образуется смесь продуктов в следовых количествах
7	H ₂ , Pd/C		Реакция не идет
8	N ₂ H ₄ , NiRe		Образуется смесь продуктов в следовых количествах
9	Гидрохинон	MW, 100 Вт, 50°С, 30 мин	Образуется гомофаскаплизин В (11), 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 были получены два продукта: гомофаскаплизин В (**11**) с выходом 30 % и ранее неизвестное соединение, которому после изучения спектров ЯМР ¹H и ¹³C была приписана структура **96** (рисунок 35).

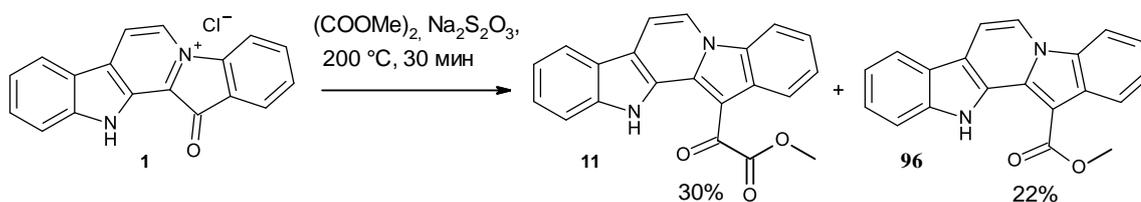


Рисунок 35 – Взаимодействие фаскаплизина (**1**) с диметилноксалатом в присутствии тиосульфата натрия

Соотнесение спектров соединения **96** со спектрами гомофаскаплизина В (**11**) позволяет выявить следующие отличия в его структуре. В спектре ЯМР ^1H соединения **96** (рисунок 36) общая интегральная интенсивность сигналов соответствует 14 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. Дублет при 7.63 м.д. можно отнести к сигналу протона Н-7, а дублет при 8.28 м.д. – к сигналу протона Н-6. Точное отнесение сигналов остальных протонов сделать трудно без использования методов двумерной спектроскопии ЯМР.

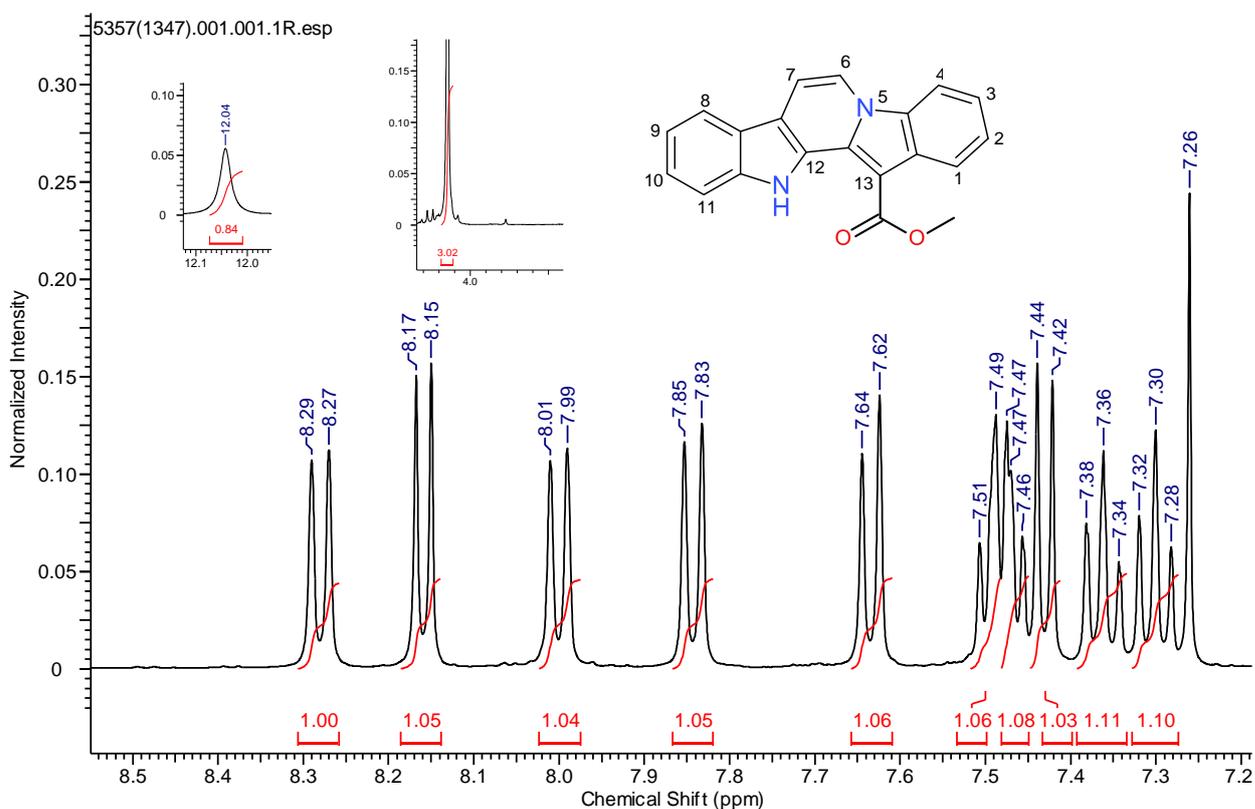


Рисунок 36 – Спектр ЯМР ^1H соединения **96**

В спектре ЯМР ^{13}C продукта **96** (рисунок 37) присутствуют сигналы 20-ти атомов углерода. В нем отсутствует сигнал атома углерода кетонной группы. При этом сигналы атомов углерода сложноэфирной группы (167.9 м.д.) и метильного заместителя (51.3 м.д.) сохранились. Остальные сигналы атомов углерода наблюдаются в области резонанса ароматических атомов

углерода и точное их отнесение без применения специальных методов провести нельзя.

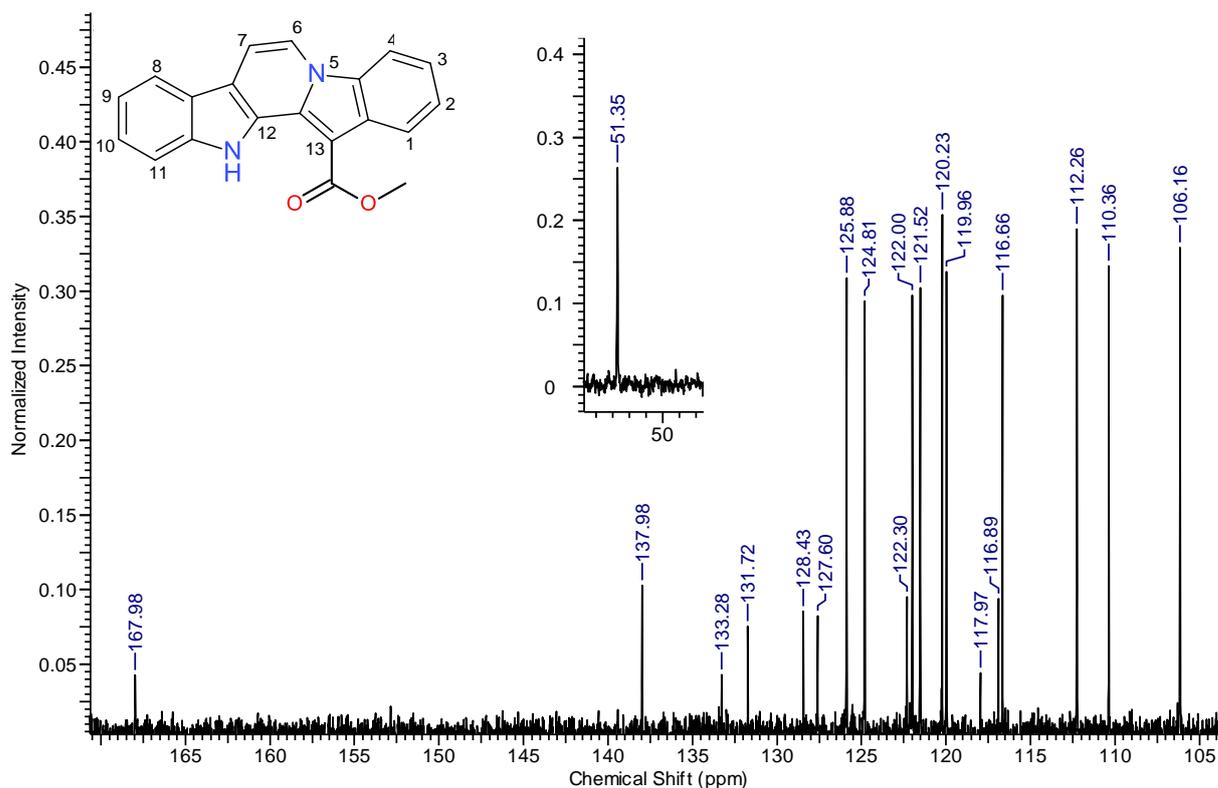


Рисунок 37 – Спектр ЯМР ^{13}C соединения **96**

Таким образом, основываясь, с одной стороны, на сходстве данных спектров соединения **96** с аналогичными данными спектров гомофаскаплизина В, а, с другой, на отсутствии в спектре ЯМР ^{13}C характеристичного 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. Синтез 3-бромгомофаскаплизинов В и В-1

На следующем этапе исследования с целью расширения границ применения разработанного метода была предпринята попытка осуществить в найденных условиях из 3-бромфаскаплизина (**3**) и соответствующих эфиров

щавелевой кислоты первые синтезы алкалоидов 3-бромгомофаскаплизинов В (13) и В-1 (14) - природных производных гомофаскаплизинов В и В-1.

Для ее реализации необходимо получить 3-бромфаскаплизин, используемый в качестве исходного соединения. Данное соединение было наработано из триптамина (49a) и 2,4-дибромацетофенона (97) через промежуточный β -карболин 98 по методу, который ранее использовался в синтезе незамещенного фаскаплизина [58] (рисунок 38).

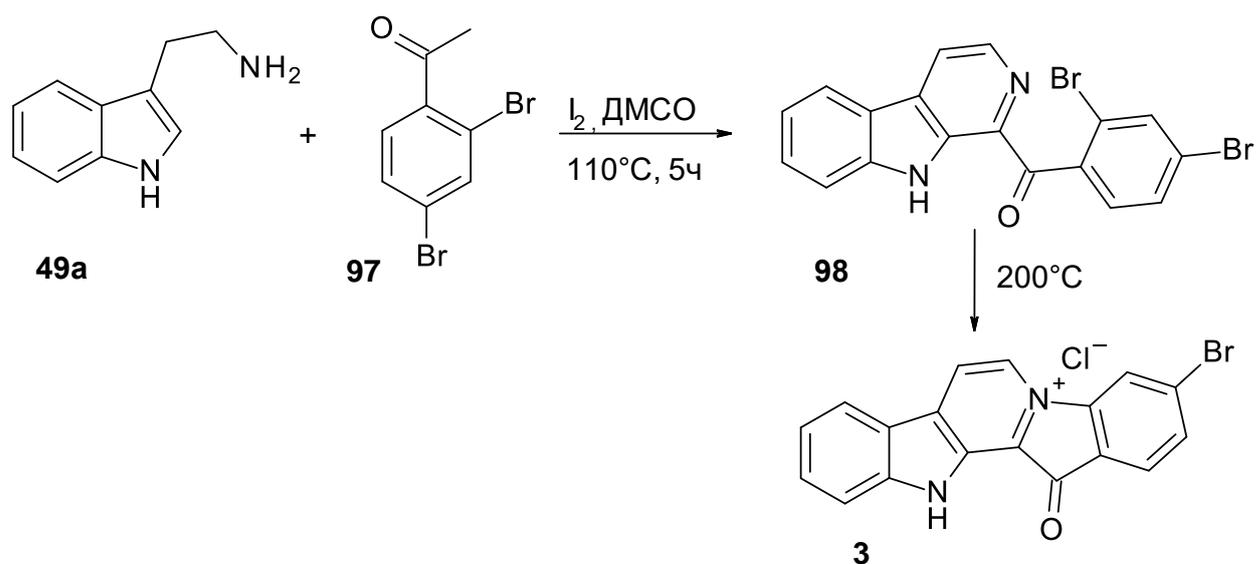


Рисунок 38 – Схема синтеза 3-бромфаскаплизина (3) из триптамина (49a) и 2,4-дибромацетофенона (97)

Для получения 3-бромгомофаскаплизинов В (13) и В-1 (14) из 3-бромфаскаплизина (3) были использованы условия, отработанные ранее для синтеза гомофаскаплизинов В и В-1. Реакцию проводили в избытке соответствующих эфиров в присутствии гидрохинона в герметизированном закрытом реакционном сосуде при температуре 200 °С в течение 30 мин (рисунок 39). При этом в обоих случаях наблюдалось образование новых продуктов, которые были выделены методом ПТСХ на закрепленном слое SiO₂. Однако в силу неустойчивости строение полученных соединений установить не удалось.

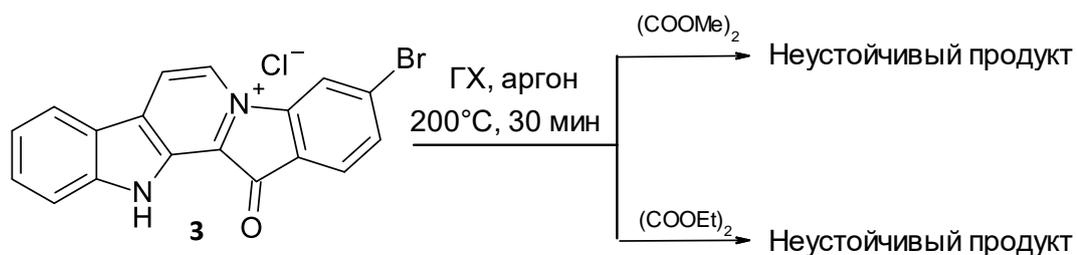


Рисунок 39 – Схема взаимодействия 3-бромфаскаплизина (**3**) с диметил- и диэтилоксалатами в присутствии гидрохинона

Поскольку с использованием ГХ целевые продукты не образуются, дальнейшие исследования проводили без участия восстановителя. Было обнаружено, что реакция 3-бромфаскаплизина (**3**) с избытком диметилоксалата под действием микроволнового излучения даже при низкой температуре приводит к образованию смеси ожидаемого продукта **13** и гомофаскаплизина В (**11**) в соизмеримых количествах (рисунок 40). Можно предположить, что в данных условиях процесс восстановительного ацилирования сопровождается дегалогенированием пиридодиндольной структуры.

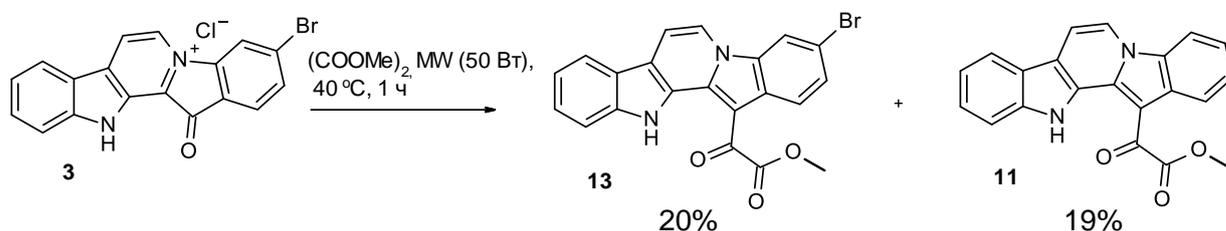


Рисунок 40 – Схема взаимодействия 3-бромфаскаплизина с диметилоксалатом

При проведении реакции с диэтилоксалатом в аналогичных условиях соединение **14** образуется лишь в следовых количествах. Исходя из этого, реакции проводили при нагревании до 200 °С в избытке соответствующего сложного эфира в инертной атмосфере в течение 2 ч (рисунок 41). В результате были получены продукты **13** и **14** с выходами 24 и 23 % соответственно. Строение полученных соединений было доказано на основании анализа данных масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР.

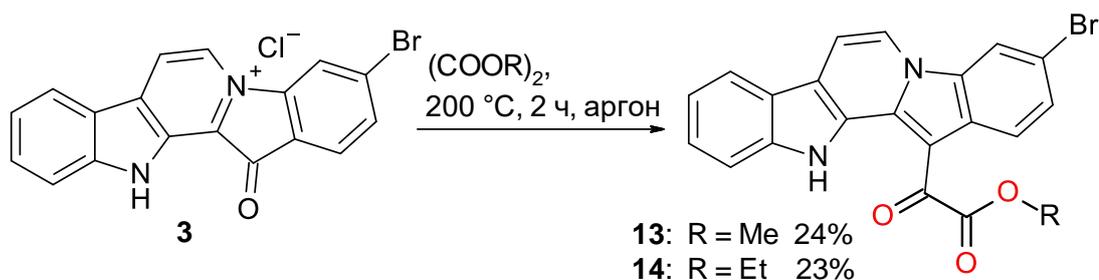


Рисунок 41 – Схема взаимодействия 3-бромфаскаплизина (**3**) с диметилowym и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты

В масс-спектре реакционной смеси (прямой ввод), полученной после реакции 3-бромфаскаплизина (**3**) с диметил-оксалатом, присутствует ожидаемый дублетный сигнал молекулярного иона $[M]^+$ с m/z 421/423, обусловленный наличием в структуре двух изотопов атома брома. В спектрах ЯМР 1H полученных продуктов присутствуют характерные сигналы основных структурных фрагментов целевых соединений. В качестве примера на рисунке 42 приведен спектр ЯМР 1H 3-бромгомофаскаплизина В-1 (**14**).

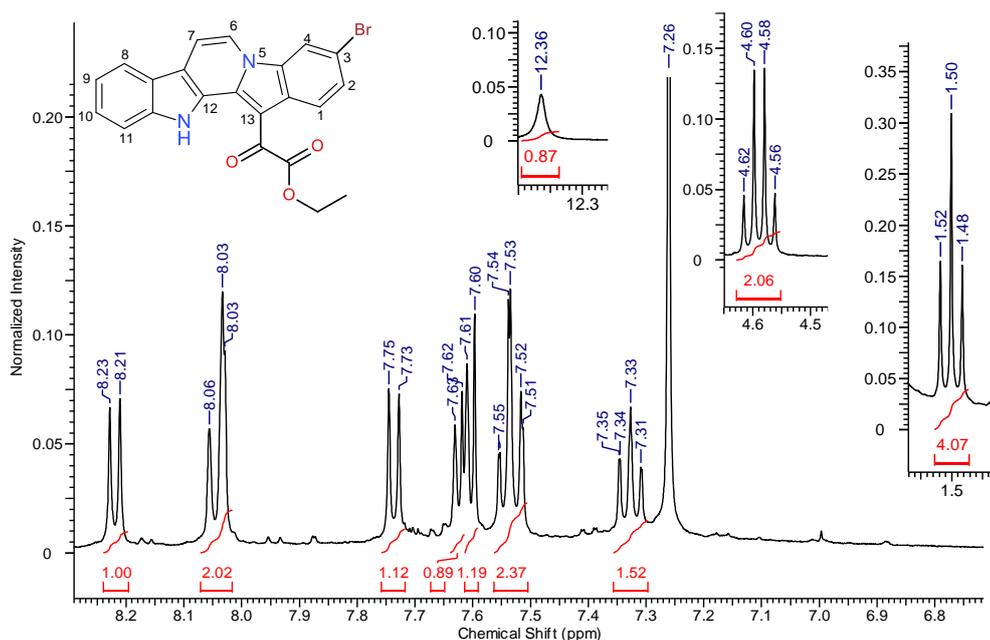


Рисунок 42 – Спектр ЯМР 1H соединения **14**

В данном 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

атомов, точное отнесение которых затруднено, в том числе из-за их частичного перекрытия.

В спектре ЯМР ^{13}C соединения **14** присутствуют сигналы 22-х атомов углерода (рисунок 43). Среди них можно выделить сигналы СО группы при 178.1 м.д., сложноэфирной группы при 168.8 м.д., этильного фрагмента при 62.3 и 29.7 м.д.

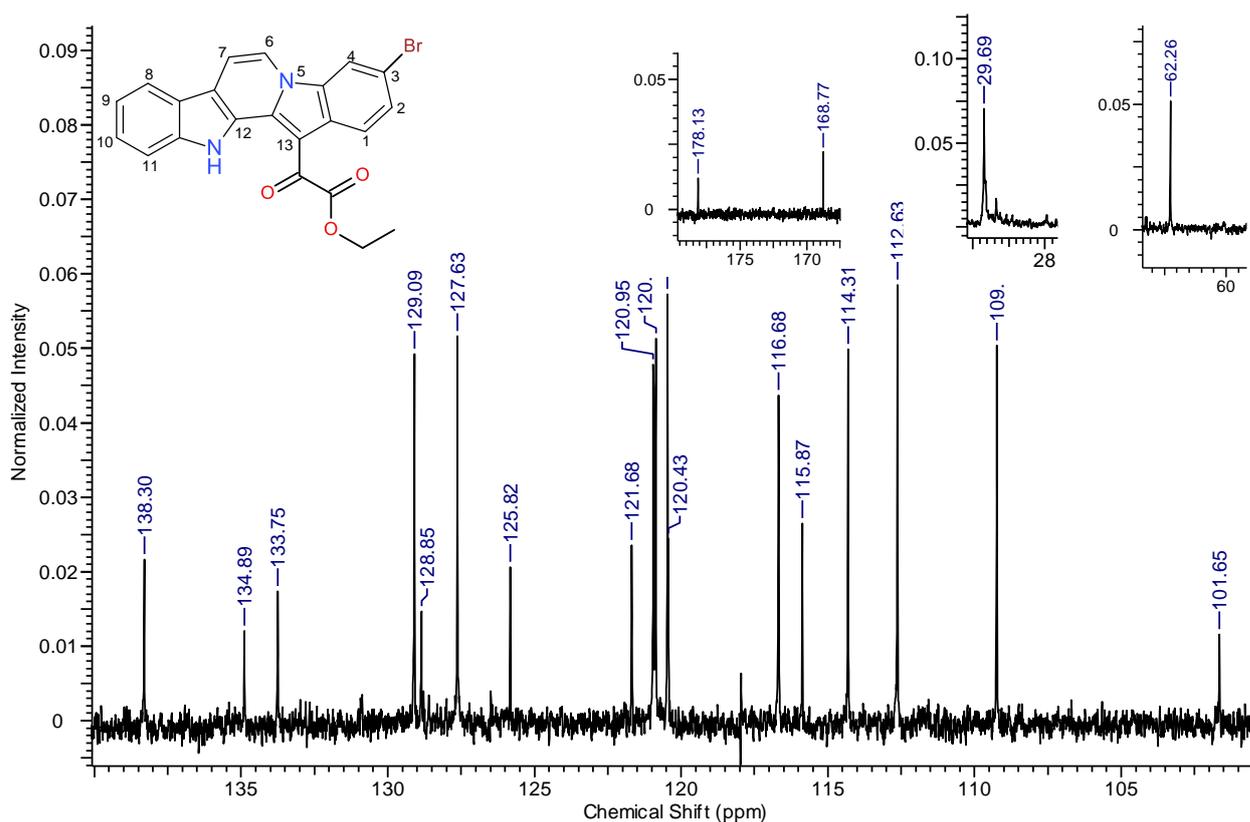


Рисунок 43 – Спектр ЯМР ^{13}C соединения **14**

После наработки необходимых количеств гомофаскаплизин В (**11**), гомофаскаплизин В-1 (**12**), 3-бромгомофаскаплизин В (**13**) и 3-бромгомофаскаплизин В-1 (**14**) были переданы для проведения биологических испытаний в Лабораторию молекулярной и клеточной нейробиологии Школы биомедицины ДВФУ. Результаты предварительных испытаний *in vitro* методом проточной цитометрии показали, что гомофаскаплизин В и 3-бромгомофаскаплизин В-1 индуцируют гибель опухолевых клеток глиомы С6. Через 48 ч наблюдения доля живых клеток в среде, содержащей соединения **11** и **14**, составляла 84.0 и 84.5% (1.0 мкМ),

68.2 и 69.3% (1.5 мкМ) соответственно. Результаты действия фаскаплизина в аналогичных условиях составили 77.7 (1.0 мкМ) и 67.4% (1.5 мкМ).

2.1.3 Синтез гомофаскаплизина С

Реакция восстановительного ацилирования фаскаплизина в присутствии эфиров щавелевой кислоты обеспечивает доступность гомофаскаплизина В. Это позволило получить алкалоид гомофаскаплизин С (**15**) гидролизом с последующим декарбоксилированием сложноэфирной группы гомофаскаплизина В (**11**) действием щелочи при комнатной температуре в течение двух суток (рисунок 44). Выход целевого соединения **15** составил 50%. Для подтверждения структуры его спектральные характеристики сравнили с известными из литературы спектральными данными гомофаскаплизина С [3].

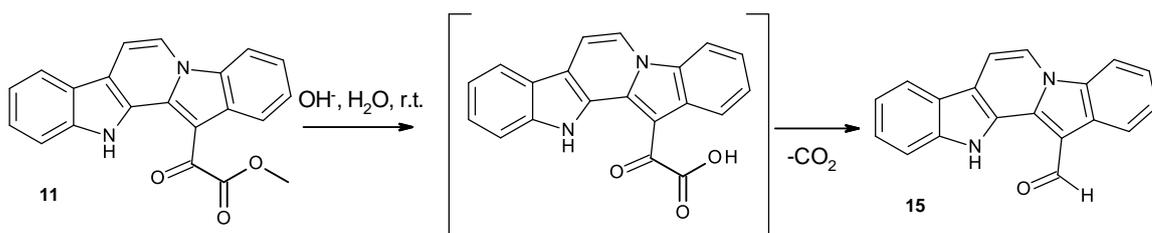


Рисунок 44 – Схема синтеза гомофаскаплизина С (**15**)

Предварительные испытания полученного гомофаскаплизина С в отношении некоторых линий опухолевых клеток рака простаты человека, а также неопухолевых клеток *in vitro* 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 простаты человека		IC ₅₀ , μМ	
опухолевая	неопухолевая	фаскаплизин	гомофаскаплизин С
линия DU145		0.7984	6.38
линия LNCaP		0.4088	10.60

	линия PNT2	0.4566	>50
	линия НЕК293	0.4576	>50

2.1.4 Исследования в области синтеза производных гомофаскаплизина В

Представленные выше результаты испытаний цитотоксической активности в условиях *in vitro* показали перспективность дальнейшего изучения производных данной группы алкалоидов. Поэтому была поставлена задача получения серии производных гомофаскаплизинов В и С исходя из соответствующим образом замещенных фаскаплизинов. С этой целью была синтезирована серия ранее известных 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 (99) и 6-фенилфаскаплизина (100)

6-Метилфаскаплизин (99) и 6-фенилфаскаплизин (100) получили по методу [58] с использованием α -метилтриптамина (101a) и α -фенилтриптамина (101b) через промежуточные β -карболины 102a-b (рисунок 45). Синтезы исходных соединений исходя из изатина описаны в литературе [83]. Полученные продукты были выделены и их строение подтверждено с помощью спектроскопии ЯМР.

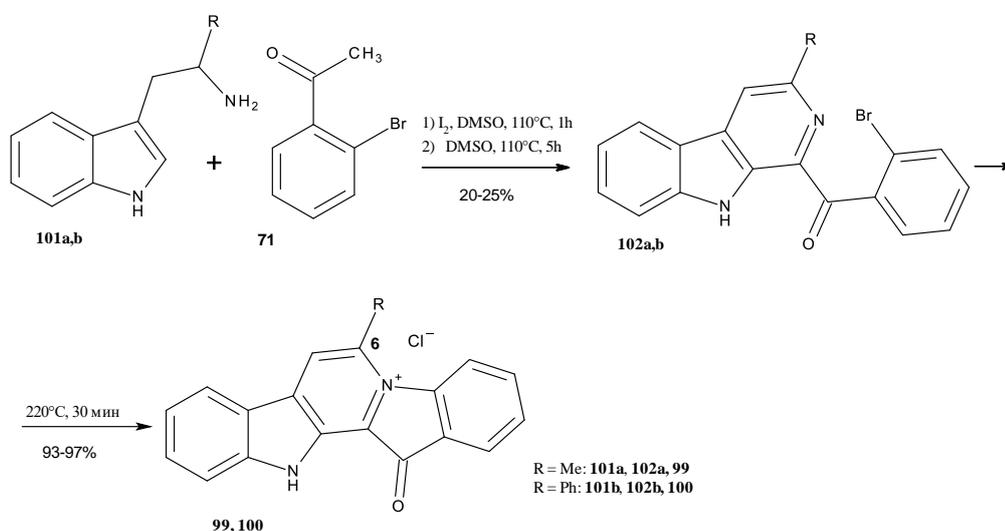


Рисунок 45 – Схема синтеза 6-метил- и 6-фенилфаскаплизинов (99-100)

В спектре ЯМР ^1H соединения **99** в CD_3OD общая интегральная интенсивность сигналов соответствует 12-ти протонам (рисунок 46). Сигналы протонов интенсивностью 8H в области 7.43–8.36 м.д. соответствуют сигналам ароматических протонов двух 1,2-дизамещенных фенильных фрагментов. Синглет с интенсивностью 1H при 8.76 м.д. соответствует протону в положении 7. Вследствие дейтерообмена сигнал протона NH-группы отсутствует. Синглет интенсивностью 3H при 3.40 м.д. соответствует протонам метильного заместителя в положении 6.

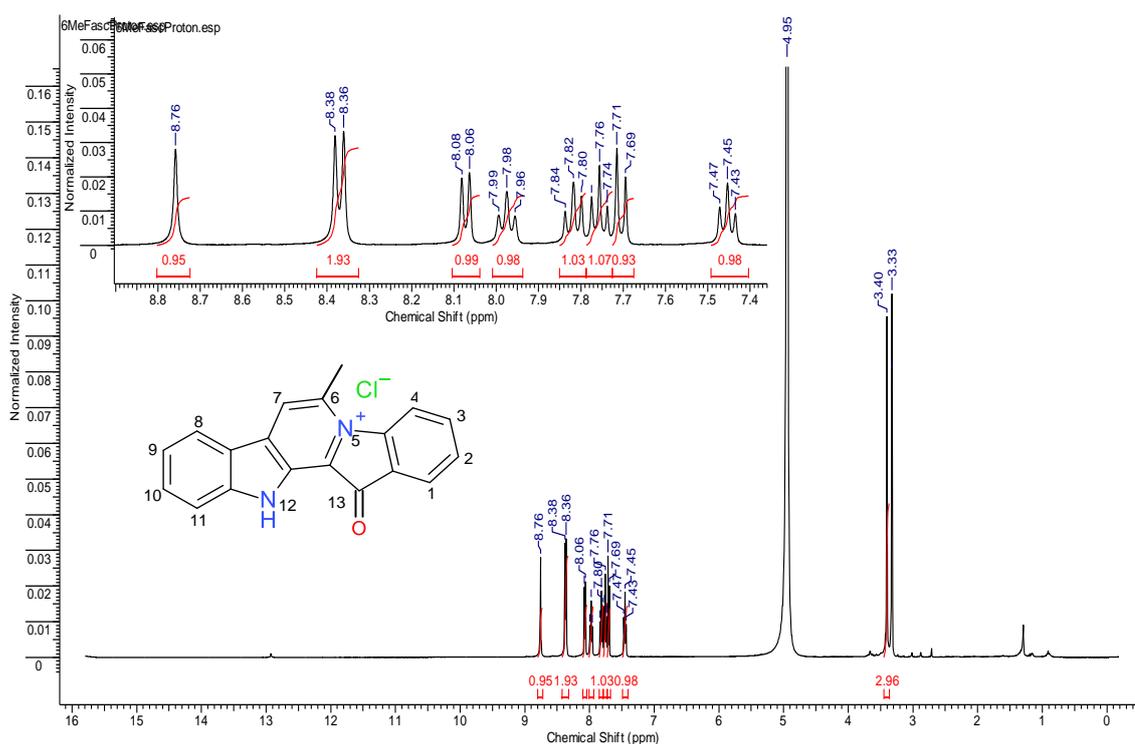


Рисунок 46 – Спектр ЯМР ^1H 6-метилфаскаплизина (**99**)

В спектре ЯМР ^{13}C соединения **99** общее количество сигналов соответствует 19-ти атомам углерода (рисунок 47). Сигнал при 183.8 м.д. принадлежит атому углерода карбонильной группы. Сигнал при 23.4 м.д. соответствует атому углерода метильного заместителя. Остальные сигналы принадлежат сигналам атомов углерода из ароматических циклов молекулы.

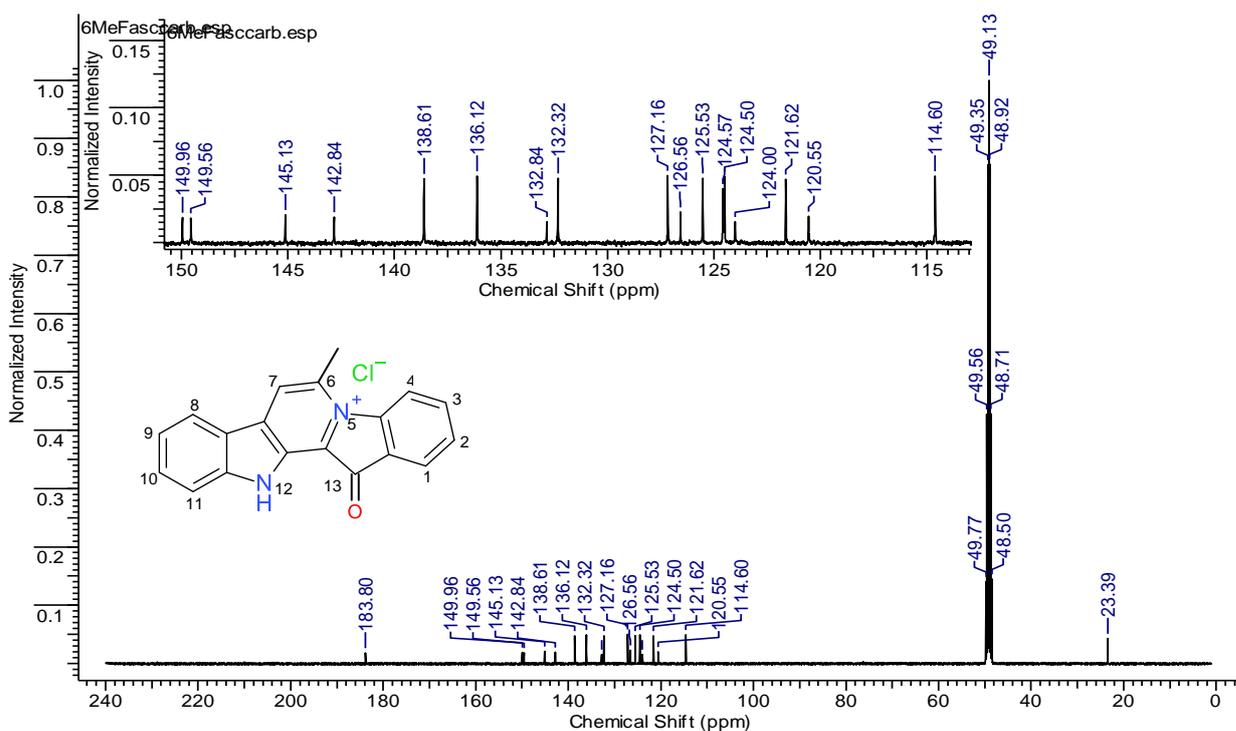


Рисунок 47 – Спектр ЯМР ^{13}C 6-метилфаскаплизина (**99**)

В спектре ЯМР ^1H соединения **100** (CD_3OD) сигналы протонов общей интенсивностью 14H в области 6.48 – 8.47 м.д. соответствуют сигналам ароматических протонов двух 1,2-дизамещенных фенильных фрагментов и фенильного заместителя в положении 6. Синглет с интенсивностью 1H при 8.86 м.д. соответствует протону в седьмом положении (рисунок 48). Вследствие дейтерообмена сигнал протона NH-группы отсутствует.

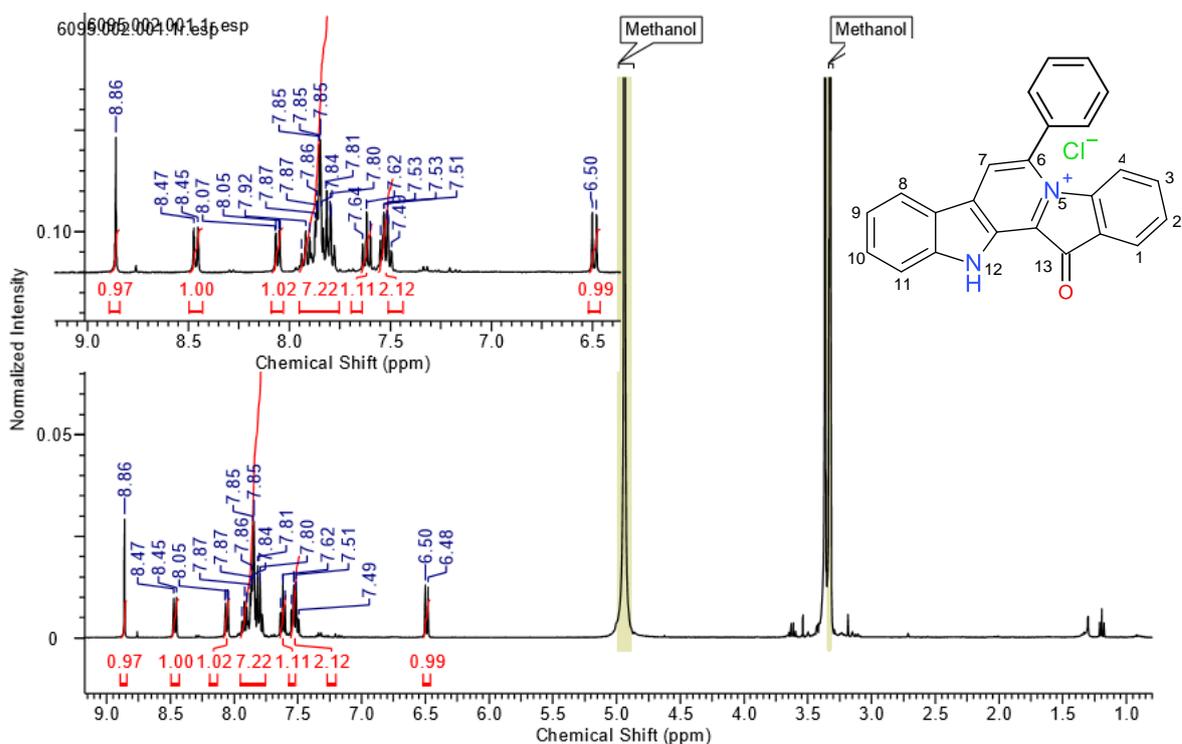


Рисунок 48 – Спектр ЯМР ^1H 6-фенилфаскаплизина (**100**)

В спектре ЯМР ^{13}C соединения **100** общее количество сигналов соответствует 24 атомам углерода (рисунок 49).

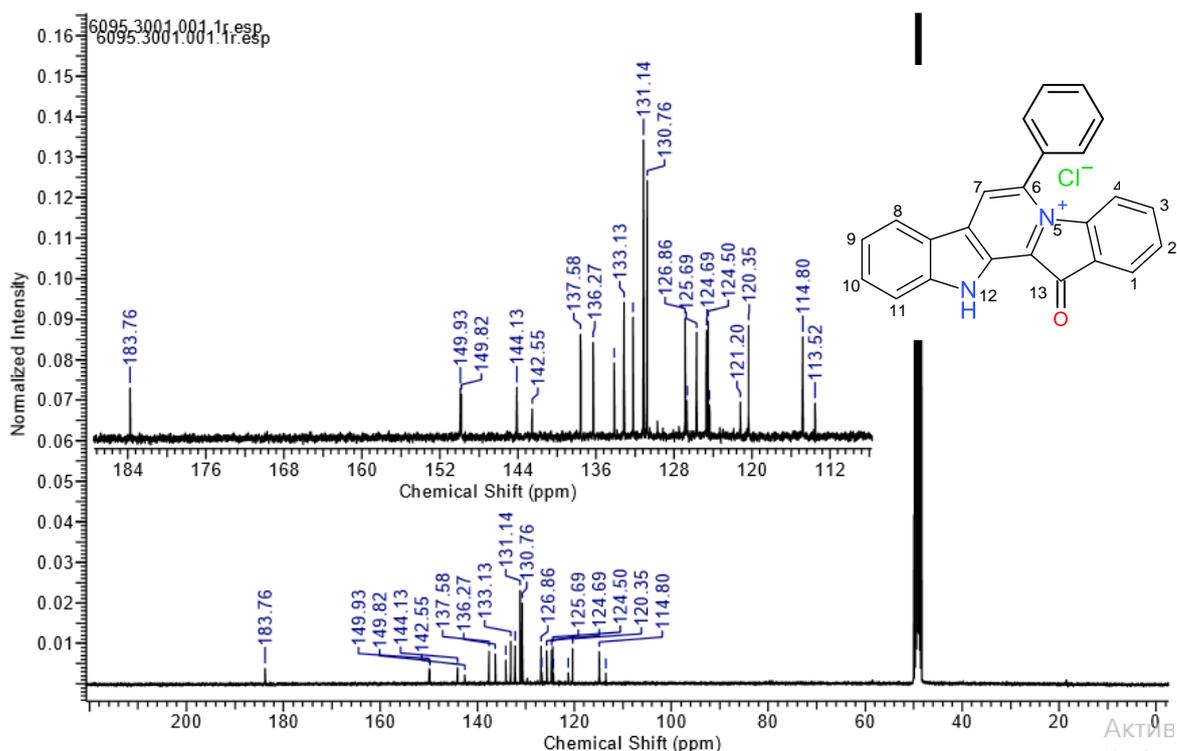


Рисунок 49 – Спектр ЯМР ^{13}C 6-фенилфаскаплизина (**100**)

Сигнал при 183.8 м.д. принадлежит атому углерода карбонильной группы. Характеристические сигналы с удвоенной интенсивностью при 131.1

и 130.8 м.д. соответствуют сигналам двух эквивалентных атомов углерода в *орто*- и двух эквивалентных атомов углерода в *мета*-положениях фенильного заместителя. Остальные сигналы принадлежат сигналам оставшихся атомов углерода пиридоиндольной системы и фенильного заместителя.

2.1.4.2 Синтез 9-бромфаскаплизина (**84**) и 9-йодфаскаплизина (**103**)

Производные фаскаплизина **84** (см. рисунок 23) и **103** были получены прямым бромированием и йодированием 1-(2'-бромбензоил)- β -карболина (**52a**) (последнее превращение подробно описано в следующем разделе) с последующей конверсией промежуточных продуктов **104** и **105** в целевые производные фаскаплизина с выходами 58-85% (рисунок 50). Полученные соединения были выделены в индивидуальном виде и их структуры были подтверждены с помощью спектроскопии ЯМР.

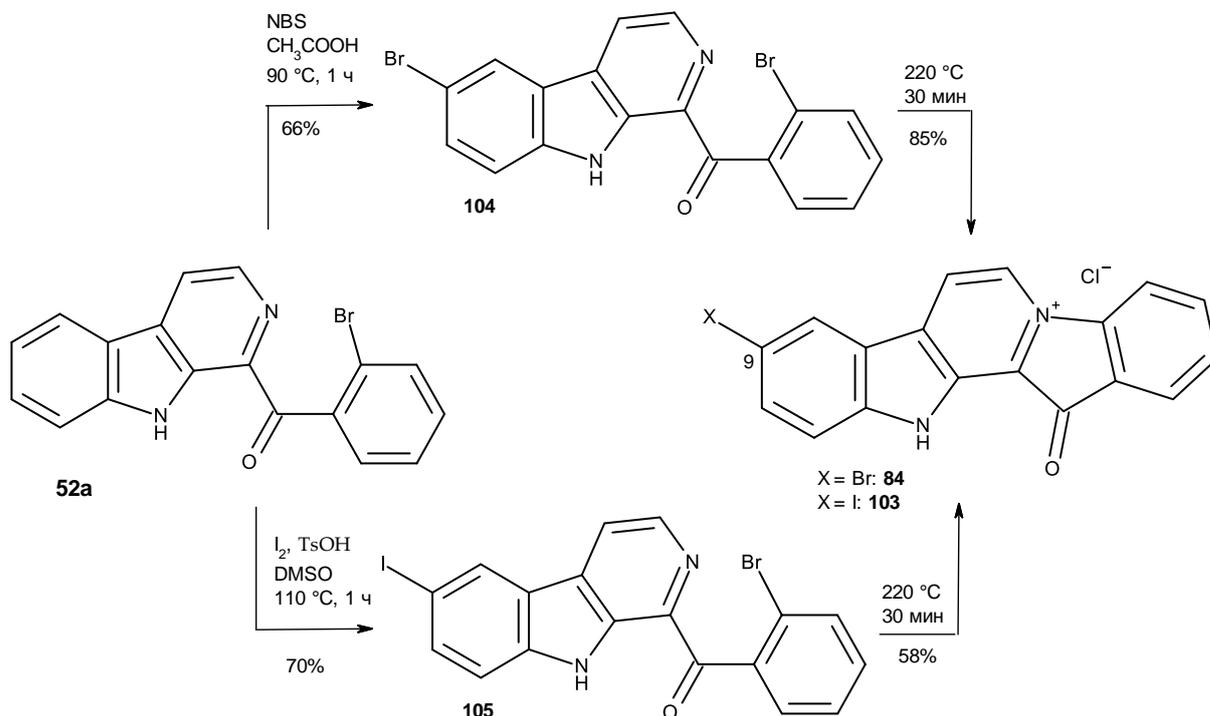


Рисунок 50 –Схема синтеза 9-бромфаскаплизина и 9-йодфаскаплизина

В спектре ЯМР ¹H продукта **84** (рисунок 51) общая интегральная интенсивность сигналов соответствует 9 протонам. Два дублета при 9.40 и 8.98 м.д. относятся к сигналам протонов Н-6 и Н-7, дублеты при 8.72, 8.34 и

8.06 м.д. к сигналам протонов Н-8, Н-4 и Н-3. Отнесение остальных сигналов без привлечения методов двумерной спектроскопии ЯМР затруднительно.

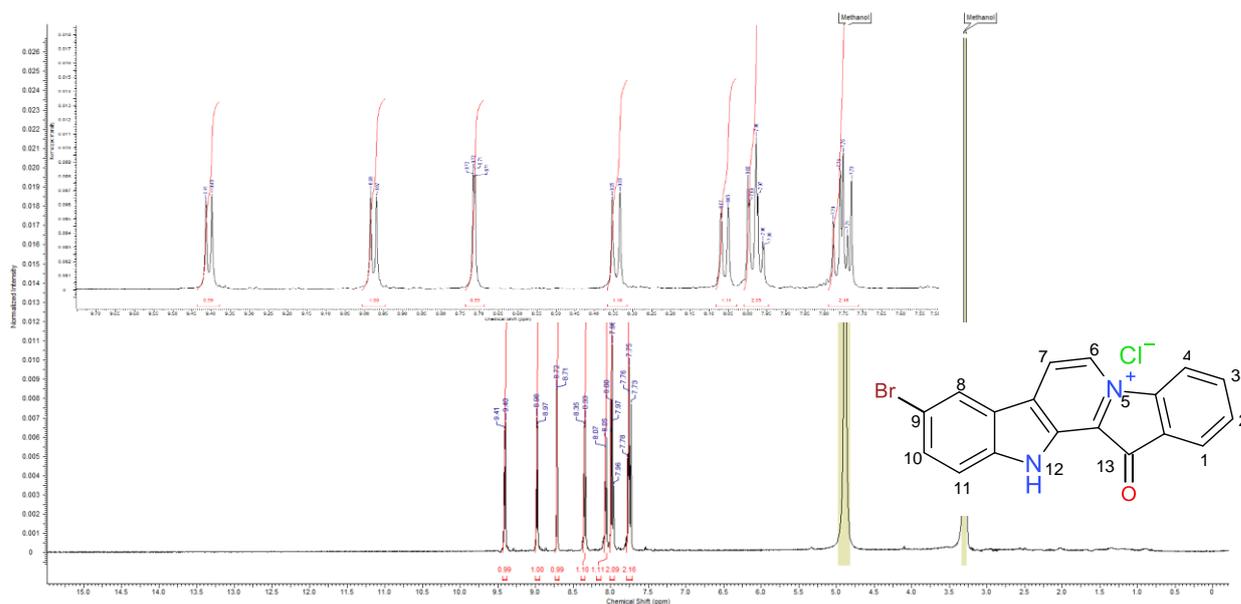


Рисунок 51 – Спектр ЯМР ^1H 9-бромфаскаплизина (**84**)

В спектре ЯМР ^{13}C продукта **84** (рисунок 52) присутствуют 18 сигналов атомов углерода: 17 сигналов ароматических атомов углерода располагаются в области 116-149 м.д., сигнал при 183.2 м.д. соответствует сигналу карбонильного атома углерода.

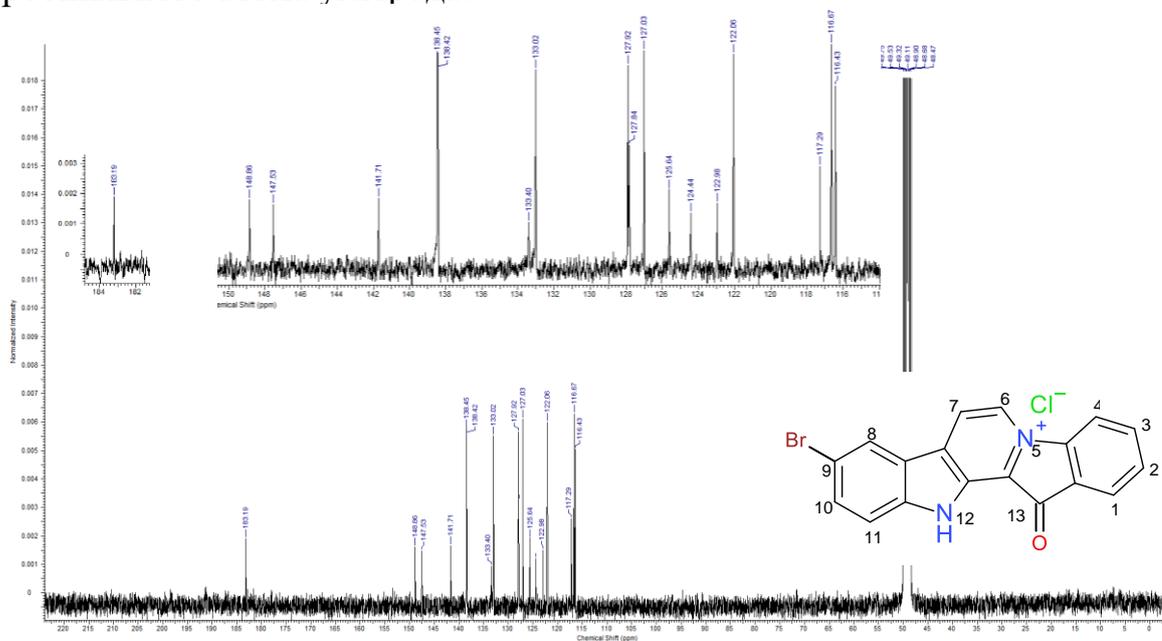


Рисунок 52 – Спектр ЯМР ^{13}C 9-бромфаскаплизина (**84**)

В спектре ЯМР ^{13}C продукта **103** (рисунок 53) присутствует 18 сигналов атомов углерода: 16 сигналов ароматических атомов углерода наблюдаются в области 115-147 м.д., сигнал при 181.9 м.д. соответствует сигналу карбонильного атома углерода, сигнал при 85.5 м.д. – сигналу атома углерода в положении 9 с йодом в качестве заместителя, сдвигающим этот сигнал в область более сильного поля.

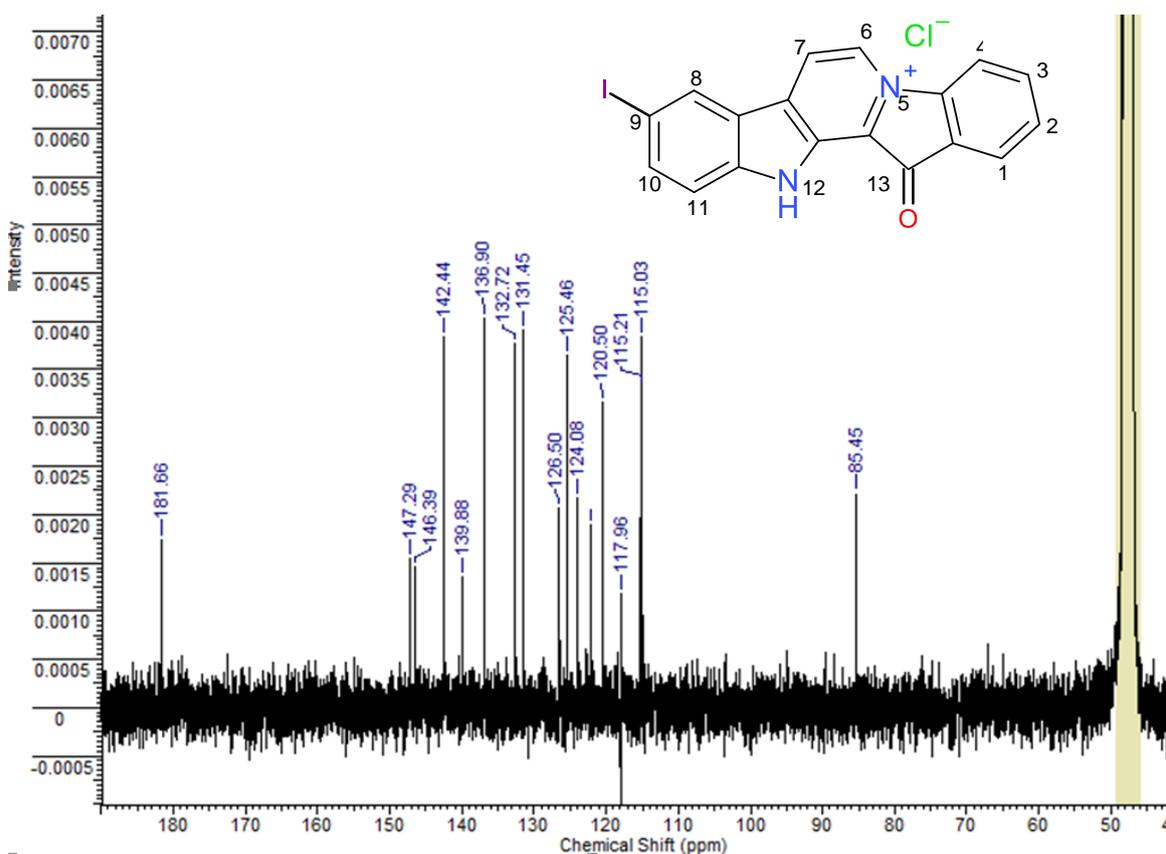


Рисунок 53– Спектр ЯМР ^{13}C 9-йодфаскаплизина (**103**)

В спектре ЯМР ^1H продукта **103** (CD_3OD , рисунок 54) общая интегральная интенсивность сигналов соответствует 9-ти протонам. Два сигнала с интенсивностью по 1Н при 9.40 и 8.96 м.д. соответствуют сигналам протонов Н-6 и Н-7 (сигнал атома Н-6 ожидаемо сдвинут в более слабое поле). Сигнал с интенсивностью 1Н при 8.89 м.д. соответствует протону Н-8. Два сигнала с интегральной интенсивностью 1Н каждый при 8.05 и 8.34 м.д. соответствуют сигналам протонов Н-1 и Н-4. Два дублета с суммарной интегральной интенсивностью 2Н при 8.13 и 7.61 м.д. соответствуют сигналам протонов Н-10 и Н-11. Два триплета интенсивностью 1Н каждый при 7.97 и 7.75 м.д. отвечают, соответственно, сигналам протонов Н-3 и Н-2.

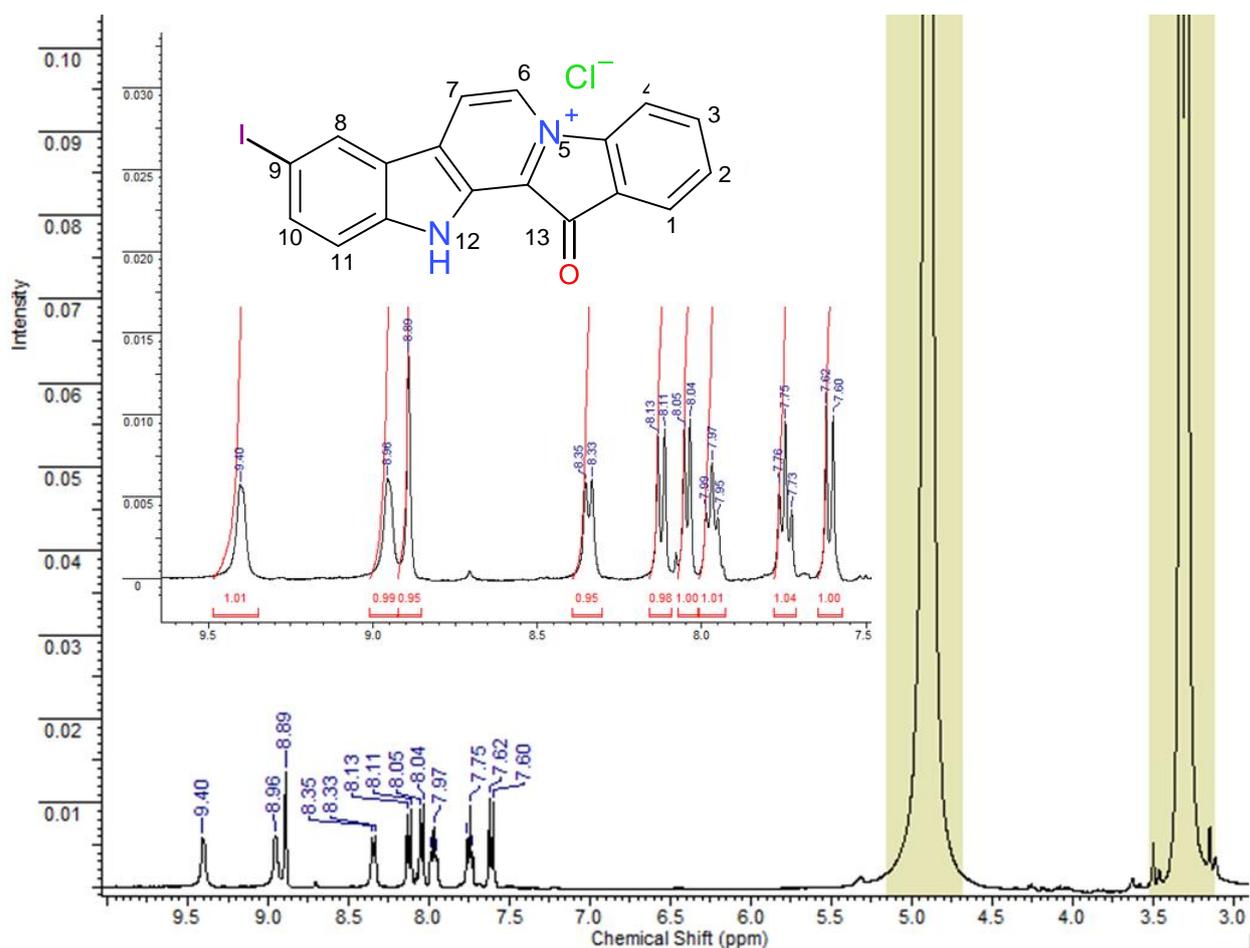


Рисунок 54 – Спектр ЯМР ¹H 9-йодфаскаплизина (**103**)

Для отнесения сигналов протонов в спектре ЯМР ¹H продукта **103** использовали сравнение значений химических сдвигов (ХС) сигналов его протонов с ХС сигналов протонов в спектре фаскаплизина, выделенного из природного продуцента [7] (таблица 3).

Таблица 3 – Данные спектров ЯМР ¹H (δ , м.д., MeOH-*d*₄) фаскаплизина (**1**) и 9-йодфаскаплизина (**103**)

Номер атома С	фаскаплизина	9-йодфаскаплизина
1	8.11	8.05
2	7.80	7.75
3	8.03	7.97
4	8.37	8.34
4a		
5(N)		
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 (N)		
12a		
12b		
13		
13a		

2.1.4.3 Синтез 2-бромфаскаплизина (**106**)

2-Бромфаскаплизин (**106**) был получен по методу, предложенному Zhu и соавт. [58], из 2,5-дибромацетофенона (**107**) и незамещенного триптамина с последующей высокотемпературной кватернизацией β -карболина **108** по Радченко и соавт. (рисунок 55).

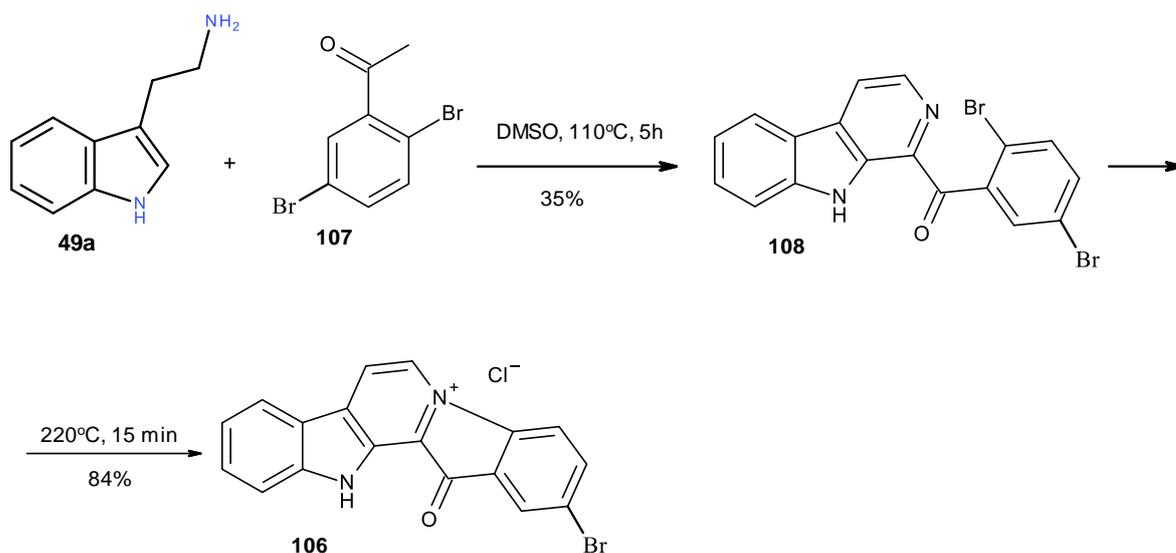


Рисунок 55 – Схема синтеза 2-бромфаскаплизина (**106**)

В спектре ЯМР ^{13}C продукта **106** (рисунок 56) присутствует 18 сигналов атомов углерода: 17 сигналов ароматических атомов углерода наблюдаются в области 115-149 м.д., сигнал при 182.1 м.д. соответствует сигналу карбонильного атома углерода.

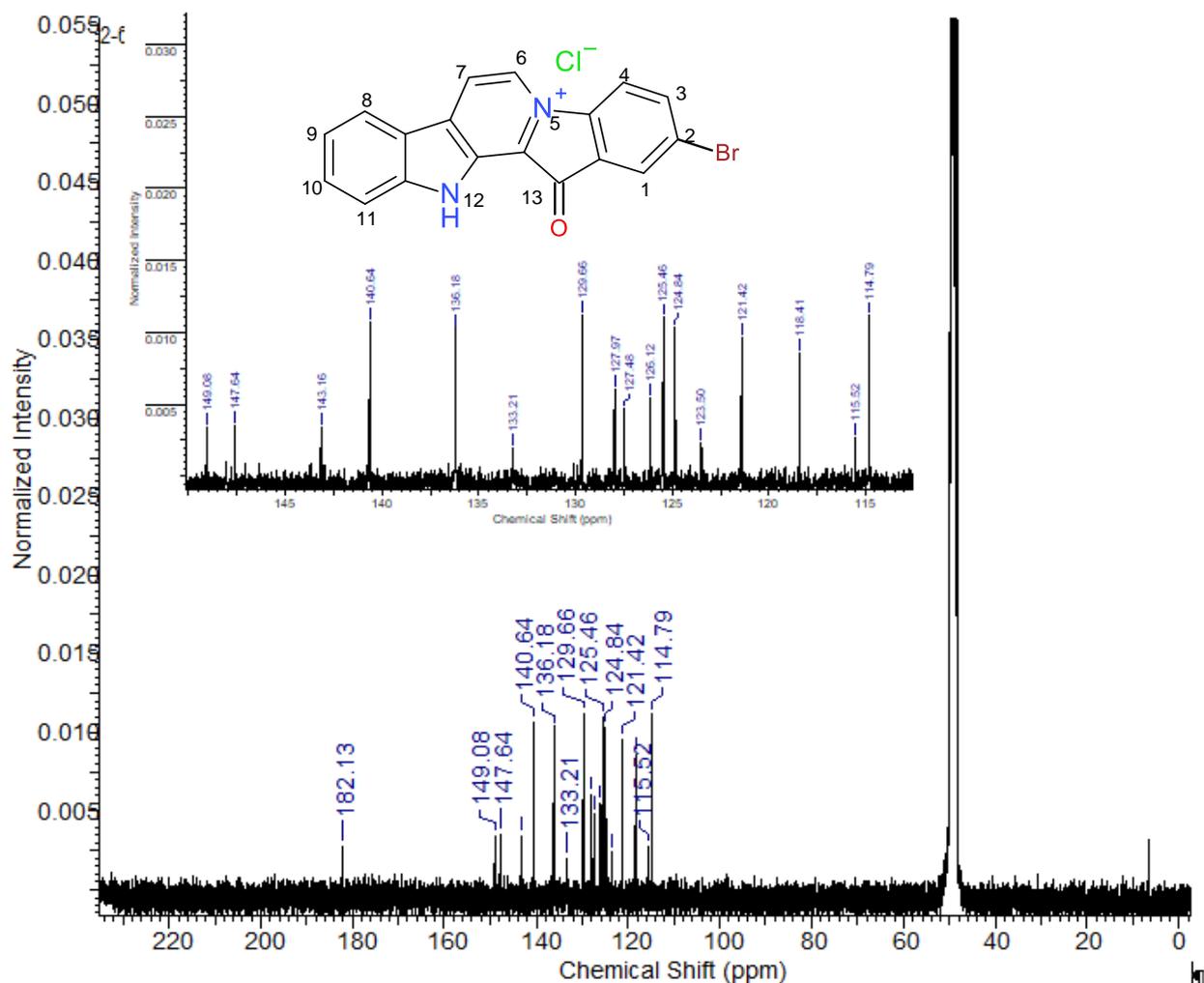


Рисунок 56 – Спектр ЯМР ^{13}C 2-бромфаскапизина (**106**)

В спектре ЯМР ^1H продукта **106** (рисунок 57) общая интегральная интенсивность сигналов соответствует 9 протонам. Два дублета при 9.38 и 8.97 м.д. относятся к сигналам протонов Н-6 и Н-7. Два дублета при 8.48 и 8.29 м.д. относятся к сигналам протонов Н-8 и Н-4. Сигналы при 8.19, 8.13, 7.88, 7.79 и 7.53 м.д. относятся к сигналам протонов Н-1, Н-3, Н-10, Н-11 и Н-9.

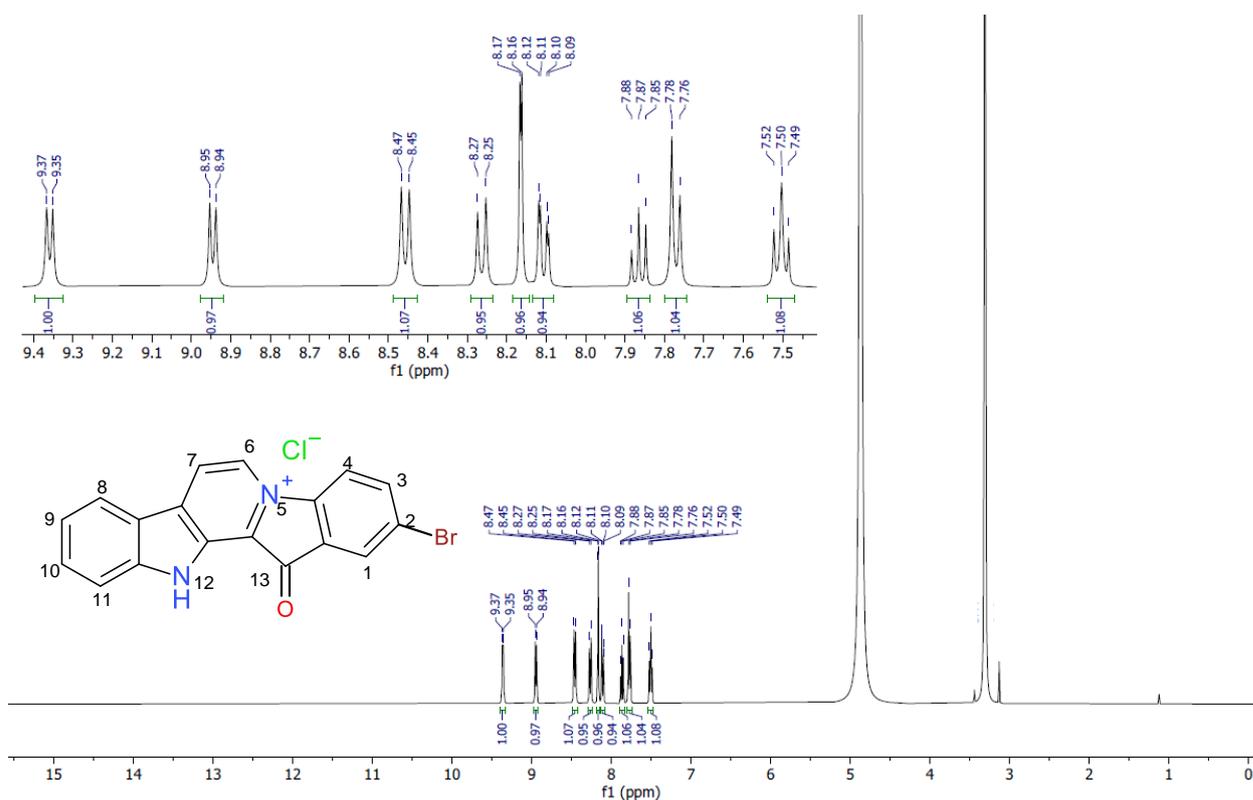


Рисунок 57 – Спектр ЯМР ^1H 2-бромфаскаплизина (**106**)

Отнесение сигналов протонов в спектре продукта **106** осуществляли сравнением значений ХС сигналов его протонов с аналогичными сигналами для фаскаплизина [7] (таблица 4).

Таблица 4 - Данные спектров ЯМР ^1H (δ , м.д., $\text{MeOH-}d_4$) фаскаплизина и 2-бромфаскаплизина (**106**)

Номер атома С	фаскаплизина	2-бромфаскаплизина
1	8.11	8.19
2	7.80	-
3	8.03	8.13
4	8.37	8.29
4a		
5(N)		
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 (N)		
12a		
12b		
13		
13a		

2.1.4.4 Синтез производных гомофаскаплизина В

Синтезированные производные фаскаплизина **84, 99, 100, 103** и **106** были введены в реакцию восстановительного ацилирования, в результате чего было обнаружено, что в использованных условиях целевые производные гомофаскаплизинов В и В-1 не образуются.

2.2 Получение и изучение биологической активности некоторых производных фаскаплизина по положению 9

2.2.1 Прямое йодирование фаскаплизина (1) в различных условиях

Поскольку в настоящее время наиболее перспективными для практического применения считаются производные фаскаплизина по положению 9, представляло интерес изучить возможность прямого йодирования фаскаплизина по этому положению. Введение йода по С-9 открывает широкие возможности для проведения разнообразных реакций кросс-сочетания, катализируемых нуль-валентным палладием с перспективой получения новых биологически активных арилпроизводных фаскаплизина. Важно отметить, что прямое йодирование в бензольное ядро обычно провести не удастся. Чаще для этих целей используют обходной путь, основанный на разложении солей фенилдиазония. Вместе с тем, в литературе описаны примеры подобных превращений. Так, в работе М. S. Naykode и соавт. [84] описана реакция тетрагидрокарбазола (**109**) с молекулярным йодом в ДМСО при температуре 110 °С (рисунок 58).

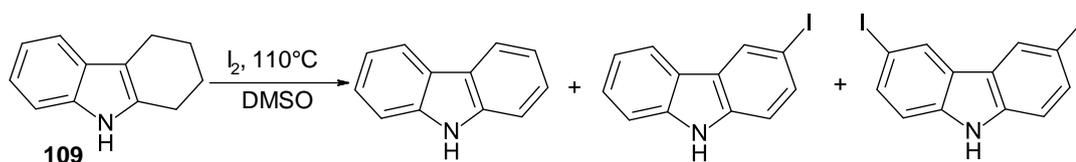


Рисунок 58 – Реакция ароматизации и йодирования гидрокарбазола **109**

В 2004 году D. Bogdal, M. Lukasiewicz и J. Pielichowski применили микроволновое излучение в реакции йодирования ароматических соединений в присутствии системы кислота – пероксид водорода [85]. Позднее польские ученые предложили простой, эффективный и экологически безопасный метод йодирования в бензольное кольцо, в котором в качестве реагента использовалась смесь NaIO₄ и H₂SO₄, реакцию проводили при температуре 60-70 °С в течение 2 ч [86]. Pourali A. R. и Ghanei M. использовали для прямого йодирования ароматических соединений поливинилпирролидон в

смеси с пероксидом водорода и молекулярным йодом в присутствии $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ в качестве катализатора [87]. Простой метод йодирования с хорошим выходом (80-90%), где ключевыми реагентами являлись I_2 и AgNO_3 , был предложен в работе [88]. Еще один интересный метод йодирования представили R. S. Ribeiro и соавт. [89]. Он заключается во взаимодействии аренов с трийодизоциануровой кислотой (ТІСА) в ацетонитриле при комнатной температуре. В результате с достаточно высокими выходами образовывались монозамещенные йодарены, которым не требовалась дальнейшая очистка. Механизм подобных превращений можно проиллюстрировать на примере работы К. S. К. Reddy и соавт. [90] (рисунок 59). В этом региоселективном и экологически чистом методе йодирования используется KI и H_2O_2 в качестве окислителя.

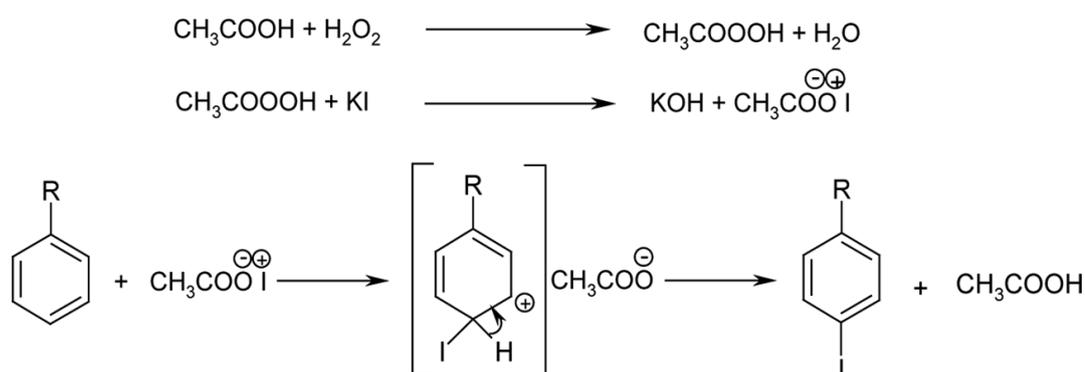


Рисунок 59 – Механизм прямого ароматического йодирования по методу [90]

В рамках данного исследования реакция прямого йодирования фаскаплизина была изучена при нагревании, а также под действием микроволнового излучения в растворе в ДМСО (рисунок 60). Поскольку строение фаскаплизина предполагает его высокую восприимчивость к микроволновому излучению, при проведении реакции использовали низкую мощность (50 Вт). Реакцию йодирования проводили в герметизируемом сосуде для MW реактора. В результате было показано, что реакция не происходит вплоть до температуры реакционной смеси 85-90 °С, а при ее достижении наблюдается резкий рост давления в реакционном сосуде и

последующее аварийное отключение прибора. Примечательно, что после снижения давления, охлаждения реакционной смеси и попытке ее повторного облучения отмеченный скачок давления наблюдается незамедлительно, что можно связать с образованием в данных условиях промежуточных продуктов, обладающих исключительно высокой чувствительностью к воздействию микроволнового излучения. Анализ состава образующихся при этом смесей выявил наличие в основном исходного фаскаплизина и лишь незначительные количества целевого продукта **103**, что заставило нас отказаться от дальнейших попыток проведения исследуемой реакции в режиме герметизированного сосуда.

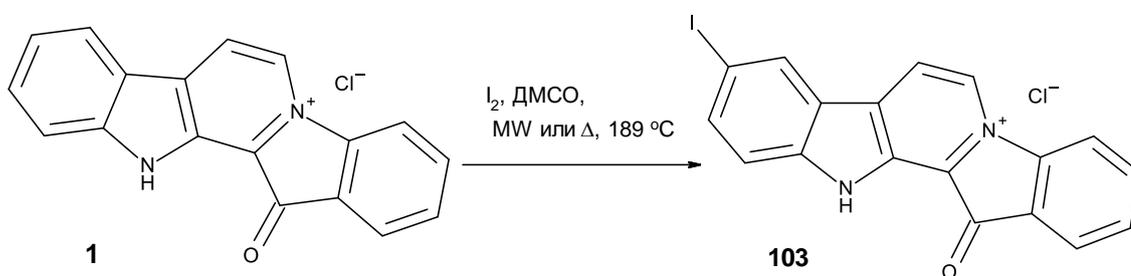


Рисунок 60 – Прямое йодирование фаскаплизина (**1**)

При проведении реакции в режиме открытого сосуда в колбе с обратным холодильником при мощности излучения 45-50 Вт наблюдается равномерное кипение реакционной смеси и также образуется смесь соединений **1** и **103**, но уже в примерно равном соотношении. Попытки варьирования температурного режима, продолжительности облучения и соотношения реактантов, к сожалению, не позволили довести реакцию до конца.

Аналогично был изучен процесс йодирования при нагревании фаскаплизина в растворе в ДМСО (таблица 5). При этом образование целевого продукта наблюдается только при кипячении смеси, но реакция при этом все равно не доходит до конца. При увеличении времени ее проведения содержание продукта постепенно увеличивается, но одновременно с этим реакционная смесь частично осмоляется. Поскольку целевое соединение в

изученных условиях присутствует в смеси с исходным соединением, разделение которой требует применения препаративной ВЭЖХ, было принято решение получить 9-йодфаскаплизин (**103**), инвертировав стадии синтеза, а именно, сначала осуществить введение атома йода в положение 6 1-(2'-бромбензоил)- β -карболина, а затем провести термическую кватернизацию полученного продукта в пиридодиндольную систему.

Таблица 5 – Йодирование фаскаплизина (**1**) в ДМСО при нагревании

№ опыта	Температурный режим, °С	Время реакции, ч	Соотношение реагентов			Результат реакции
			Фаскаплизин, экв	I ₂ , экв.	ДМСО, мл	
1	189	2	1	28	1.0	Через 30 мин: смесь 1 и 103 Через 1 ч: накопление целевого продукта 103 Через 2 ч: происходит разложение 1 и 103
2	189	4	1	28	0.5	Смесь: 1 и 103
3	189	4.4	1	18.8	1.0	Смесь: 1 и 103 , с увеличением времени 1 не уменьшается, осмоление

2.2.2 Получение 1-(2'-бромбензоил)-6-йод- β -карболина и его кватернизация в производное **103**

На первом этапе был получен 1-(2'-бромбензоил)- β -карболин (**52a**) по известной методике [58], затем данное соединение было введено в реакцию йодирования в виде соли с *n*-толуолсульфоновой кислотой в условиях, ранее использованных для йодирования фаскаплизина. Реакция протекала в течение 1 ч с образованием целевого продукта **110** с выходом 70 % (рисунок 61).

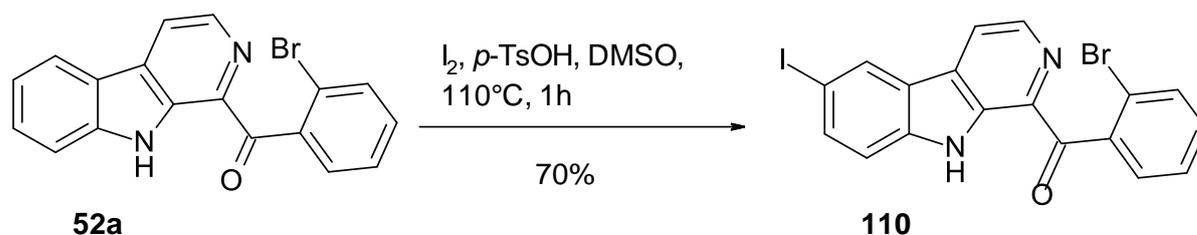


Рисунок 61 – Схема взаимодействия 1-(2'-бромбензоил)-β-карболина (**52a**) с молекулярным йодом в ДМСО при 110 °С

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 SiO₂. Были собраны три окрашенные зоны, нижняя из которых содержала чистый продукт **110**. В результате было выделено индивидуальное соединение, которое использовали для установления структуры методами ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР ¹H и ¹³C.

В масс-спектре высокого разрешения полученного продукта (рисунок 62) присутствует дублетный пик протонированной молекулы [M+H]⁺, обусловленный наличием двух изотопов брома. Наблюдаемое значение m/z соответствует наличию в структуре ожидаемого продукта **110** атома йода ([M+H]⁺_{расч.} m/z 476.9099, [M+H]⁺_{найд.} m/z 476.9123).

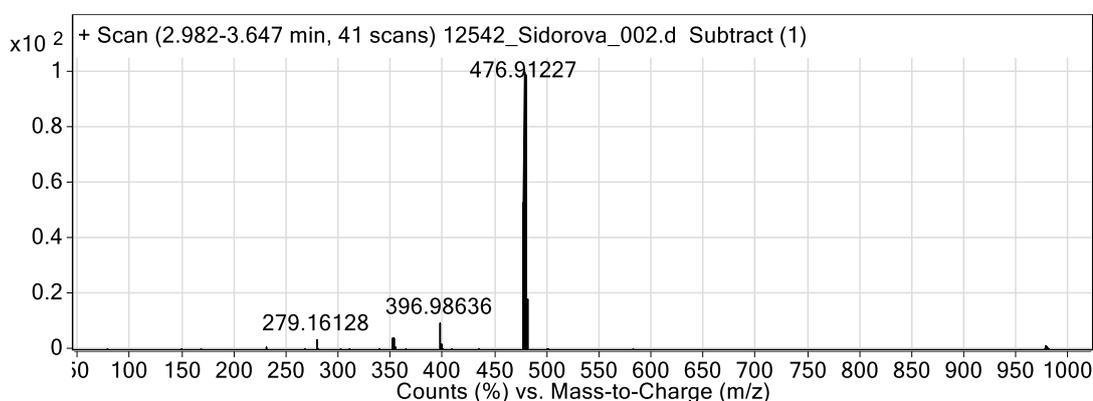


Рисунок 62 – ESI(+)-Масс-спектр высокого разрешения соединения **110**

В ИК-спектре полученного соединения (рисунок 63) наблюдаются характеристические полосы валентных колебаний NH-группы (3412 см⁻¹),

ароматических СН-связей (3055 см^{-1}), карбонильной группы (1650 см^{-1}) и ароматических С=C связей ($1621, 1589$ и 1470 см^{-1}). Валентные колебания связей С-галоген (591 и 532 см^{-1}) проявляются в области «отпечатков пальцев».

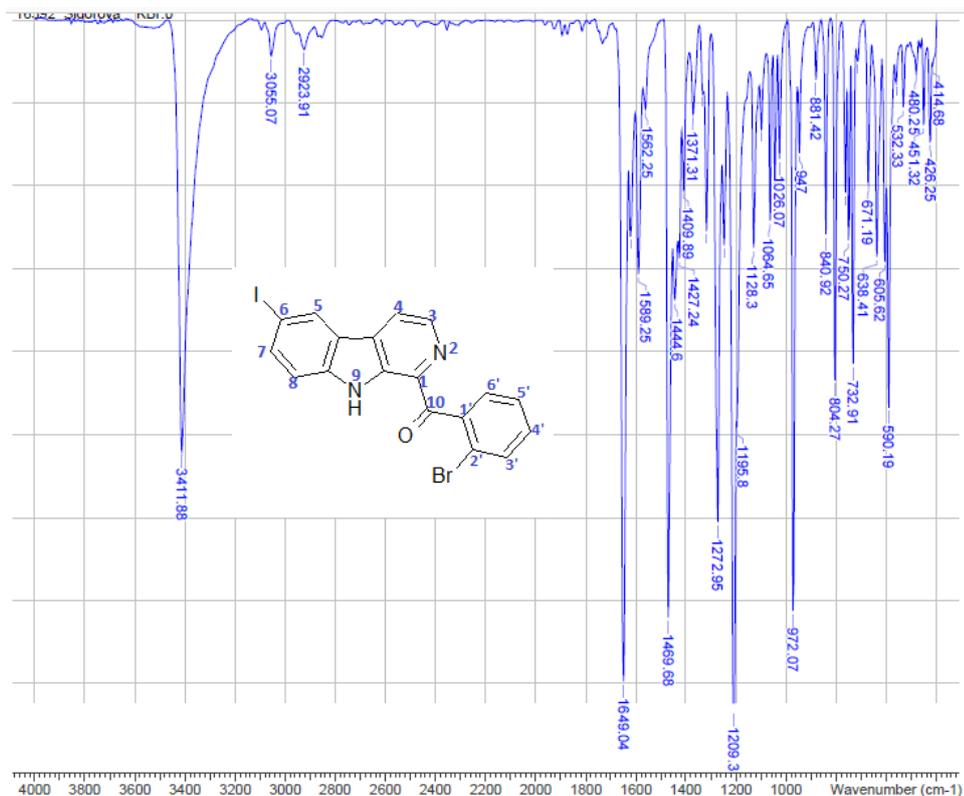


Рисунок 63 – ИК-спектр соединения **110**

В спектре ЯМР ^{13}C (рисунок 64) соединения **110** присутствуют сигналы 18-ти атомов углерода, отнесение которых возможно только для сигнала атома углерода карбонильной группы (197.8 м.д.). Остальные сигналы наблюдаются в области резонанса ароматических атомов углерода.

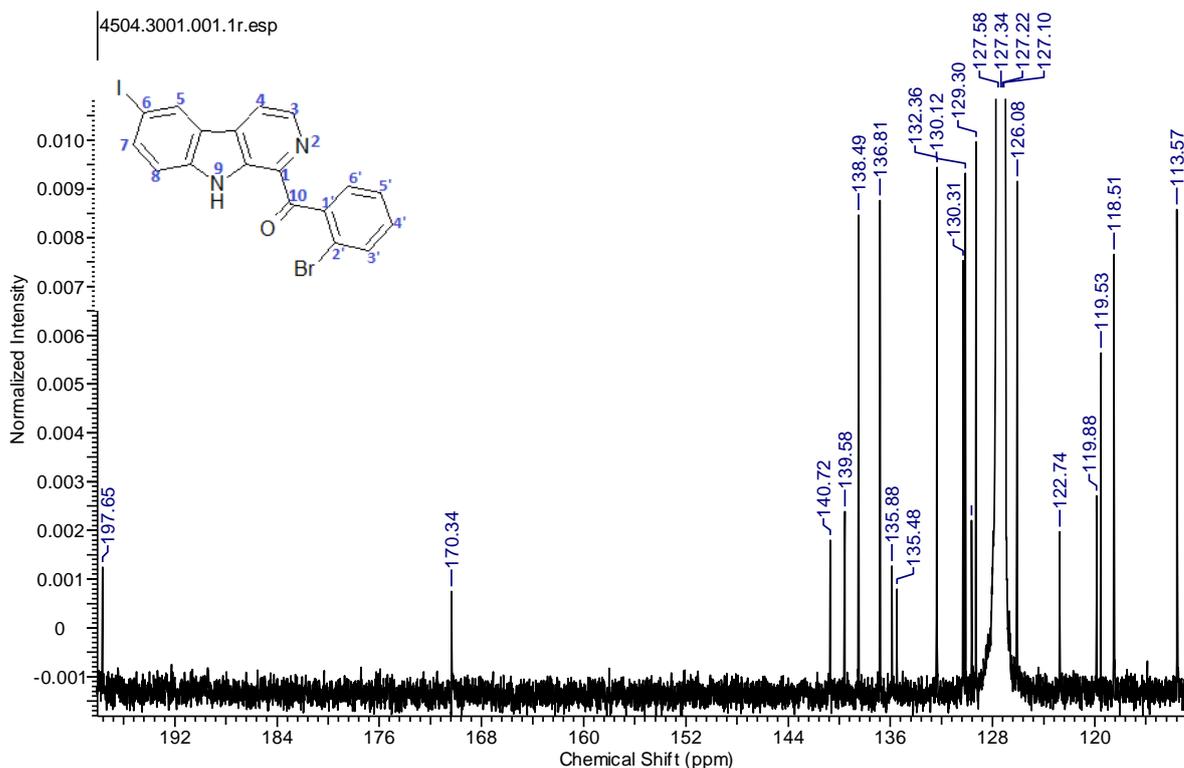


Рисунок 64 – Спектр ЯМР ^{13}C соединения **110**

В спектре ЯМР ^1H соединения **110** (рисунок 65) общая интегральная интенсивность сигналов соответствует 10 протонам. Уширенный синглет при 9.98 м.д. соответствует сигналу протона NH-группы. Два дублета с интенсивностью по 1H при 8.28 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 дублет с малой константой J с интегральной интенсивностью 1H при 8.12 м.д., что соответствует сигналу протона Н-5. Два сигнала с интенсивностью по 1H при 7.51 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 и 7.37 м.д., а также два сигнала (тд) при 6.76 и 6.96 м.д. с общей интенсивностью 4H соответствуют, вероятно, сигналам протонов бензоильного заместителя (Н-6' и Н-3', Н-4' и Н-5' соответственно), точное отнесение которых не может быть выполнено без привлечения методов двумерной спектроскопии ЯМР.

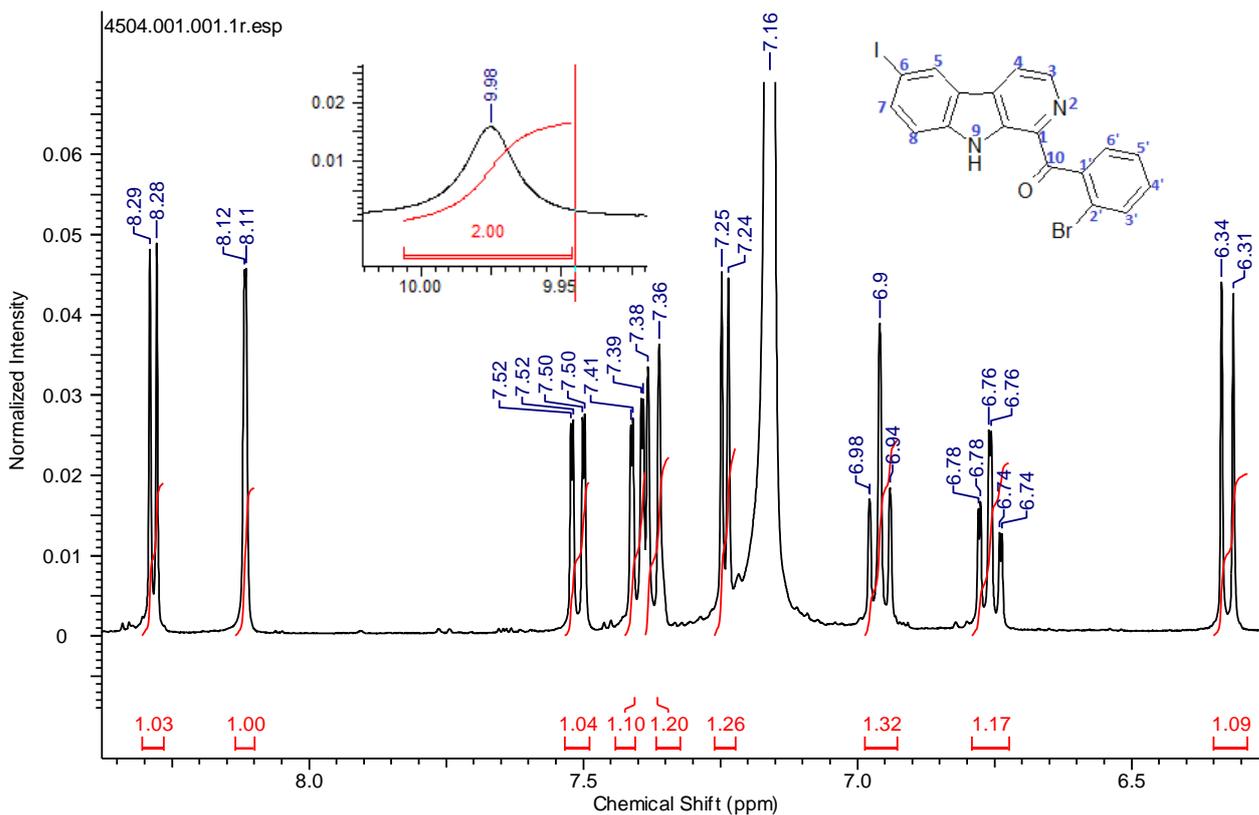


Рисунок 65 – Спектр ЯМР ^1H соединения **110**

Наличие в спектре полученного продукта **110** спиновой системы типа АВХ с большой долей вероятности свидетельствует о внедрении атома йода в положение 6 β -карболина **52a**. Таким образом, на основании спектральных данных можно утверждать, что полученному продукту соответствует структура 1-(2'-бромбензоил)-6-йод- β -карболина.

Далее полученный β -карболин **110** был подвергнут высокотемпературной кватернизации в целевой 9-йодфаскаплизин в обычно применяемых для этого условиях. Выход целевого соединения составил 58% (рисунок 66).

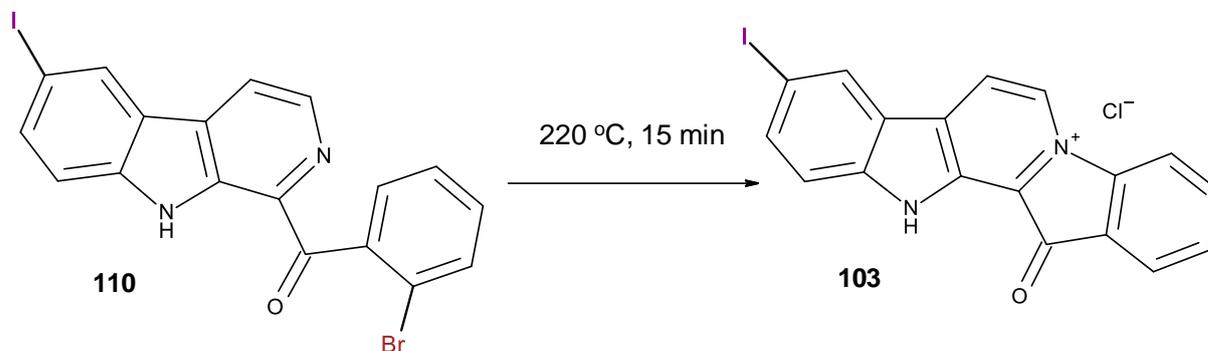


Рисунок 66 – Схема синтеза 9-йодфаскаплизина из β -карболина **110**

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

Одной из важных задач органической химии является разработка высокоселективных реакций, в которых происходит образование С-С связи между sp^2 -гибридизованными атомами углерода. К такого рода реакциям относится кросс-сочетание по Сузуки, включающее взаимодействие арил- и винилборных кислот с арил- или винилгалогенидами, катализируемое комплексами Pd (0). Наличие атома йода в положении 6 соединения **110** теоретически позволяет провести данную реакцию и получить промежуточный 1-(2'-бромбензоил)-6-фенил-β-карболин (**111**), который при дальнейшей циклизации может привести к образованию ранее неизвестного производного фаскаплизина, содержащего фенильный заместитель в положении 9. В случае успеха соединение **110** 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 множества известных в литературе методов проведения данной реакции были выбраны два примера селективного замещения атома йода на фенильный фрагмент в субстратах, содержащих одновременно атом брома, который, как известно, также активно вступает в данную реакцию замещения. При воспроизведении методики работы [91] (рисунок 67) в качестве растворителя использовали толуол, а нагревание реакционной смеси вели при 110 °С в течение 7 ч.

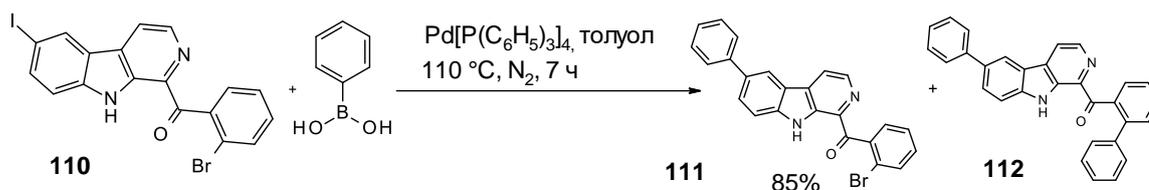


Рисунок 67 – Схема реакции Сузуки соединения **110** с фенилборной кислотой

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 работы [92], в которой реакция проходит за 1 ч, но в качестве растворителя используется 1,4-диоксан, показало, что применительно к субстрату **110** в этих условиях продукты замещения не образуются.

Полученные продукты **111** и **112** были выделены с помощью ПТСХ на незакрепленном слое SiO₂. Были собраны три зоны: верхняя содержала исходное соединение **110**, средняя – предположительно продукт монозамещения **111**, нижняя часть - продукт дизамещения **112**. Выход соединения **111** составил 85%. Для установления структуры соединений **111** и **112** использовали методы ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР ¹H и ¹³C.

В ИК-спектре соединения **111** (рисунок 68) имеются характеристичные полосы валентных колебаний NH-группы (3344 см⁻¹), ароматических СН-связей (3049 см⁻¹), карбонильной группы (1655 см⁻¹) и ароматических С=C связей (1593, 1479 и 1464 см⁻¹).

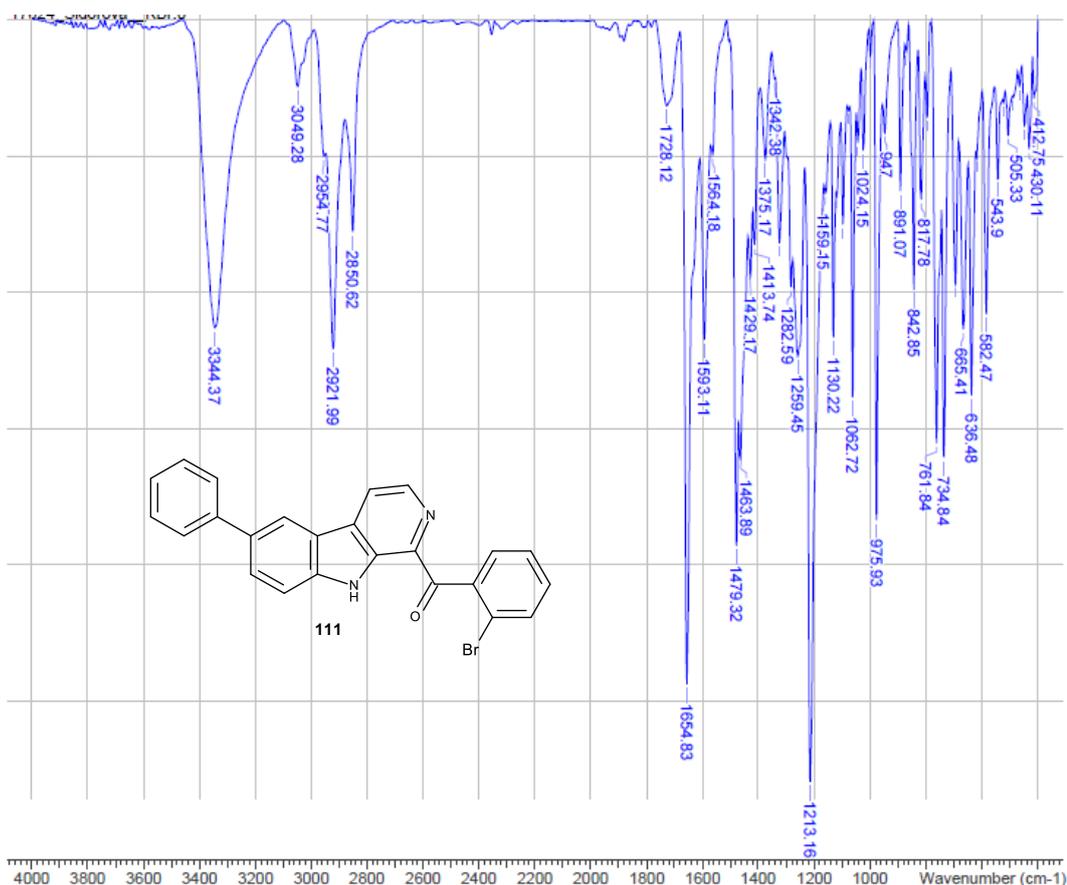


Рисунок 68 – ИК-спектр соединения **111**

В масс-спектре высокого разрешения полученного продукта (рисунок 69) присутствует дублетный пик иона протонированной молекулы $[M+H]^+$, обусловленный наличием двух изотопов брома. Наблюдаемое значение m/z соответствует внедрению в структуру целевого продукта **111** фенильного фрагмента ($[M+H]^+$ расч. m/z 429.0441, $[M+H]^+$ найд. m/z 429.0443).

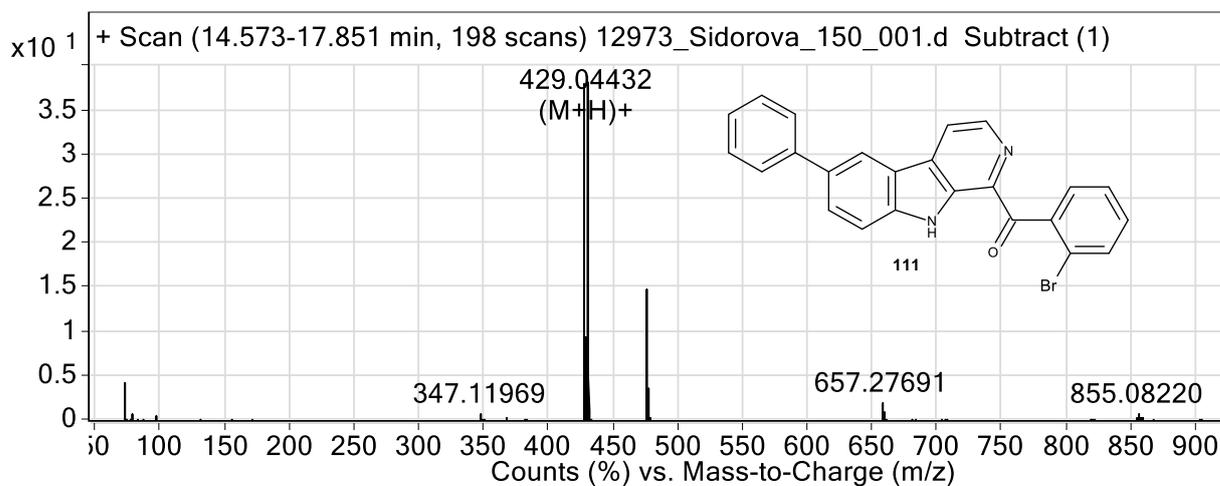


Рисунок 69 – ESI(+)-Масс-спектр высокого разрешения соединения **111**

В спектре ЯМР ^{13}C соединения **111** (рисунок 70) присутствуют сигналы 24-х атомов углерода, из которых отнесение возможно только для сигнала атома углерода карбонильной группы (199.8 м.д.).

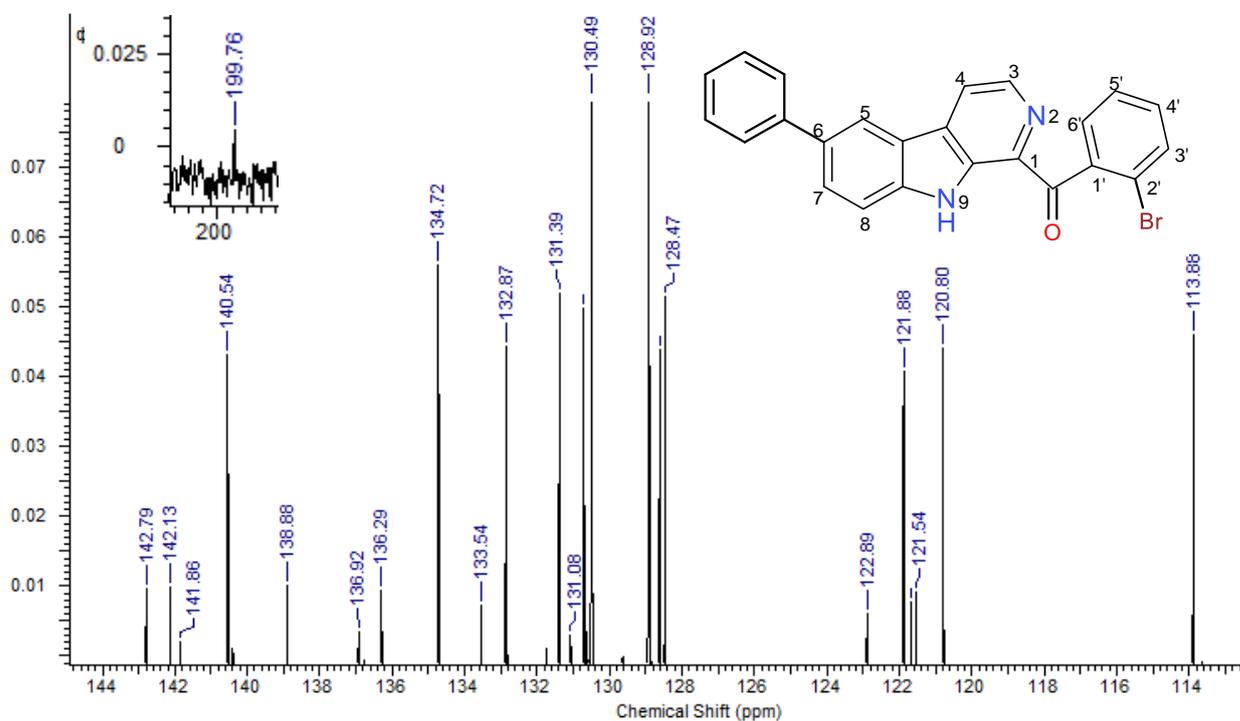


Рисунок 70 – Спектр ЯМР ^{13}C соединения **111**

В спектре ЯМР ^1H полученного продукта **111** (рисунок 71) общая интегральная интенсивность сигналов соответствует 15-ти протонам. Уширенный синглет при 10.48 м.д. соответствует сигналу протона NH-группы. Два дублета с интенсивностью по 1H при 8.60 и 8.23 м.д. соответствуют сигналам протонов H-3 и H-4 (сигнал H-3 сдвинут в более слабое поле из-за влияния электроноакцепторного атома азота). В данном спектре также присутствует синглет с интегральной интенсивностью 1H при 8.40 м.д., что соответствует сигналу протона H-5. Два сигнала с интенсивностью по 1H при 7.60 и 7.92 м.д. соответствуют сигналам протонов H-7 и H-8 и формируют с сигналом протона H-5 единую спиновую систему АВХ-типа. Химические сдвиги (ХС) сигналов оставшихся протонов не могут быть отнесены из-за взаимного наложения обсуждаемых сигналов.

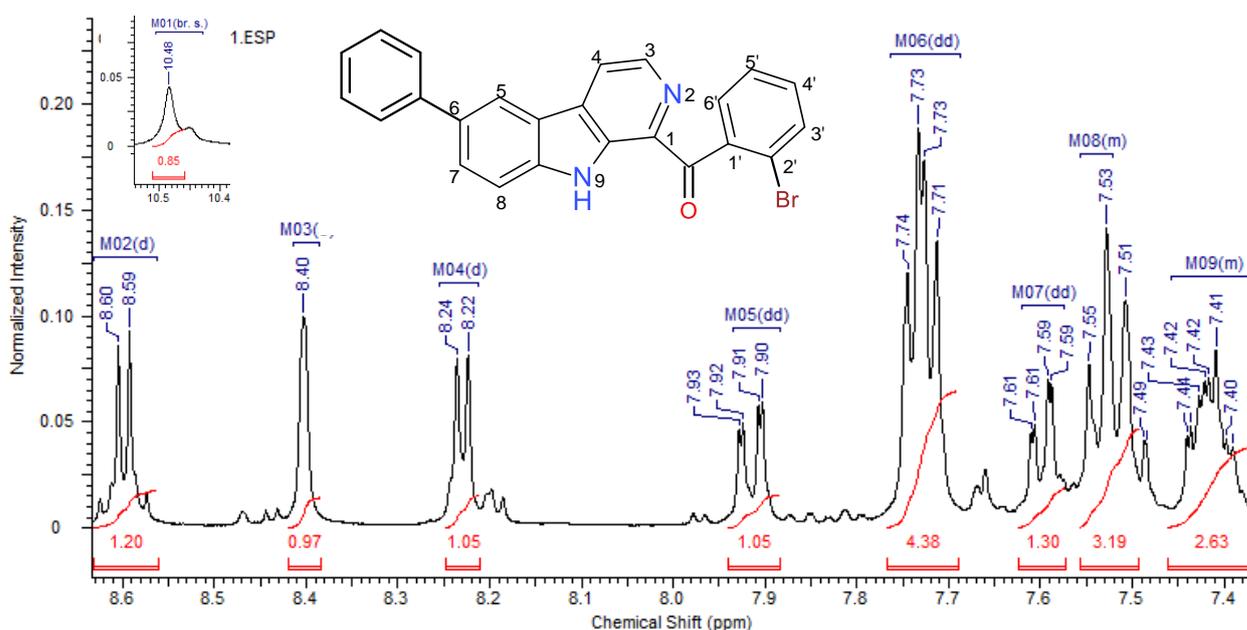


Рисунок 71 – Спектр ЯМР ^1H соединения **111**

Для второго выделенного продукта был зарегистрирован только масс-спектр, представленный на рисунке 72. Масс-спектр высокого разрешения соответствует ожидаемому для протонированной молекулы **112** (значение m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ для $\text{C}_{30}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$: рассчитано – 425.1654, найдено – 425.1668).

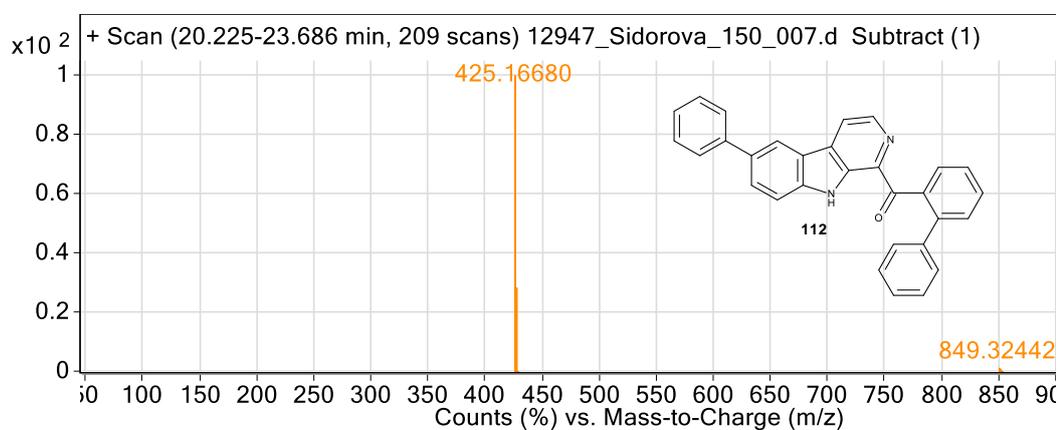


Рисунок 72 – ESI(+)-Масс-спектр высокого разрешения соединения **112**

2.2.4 Конверсия β -карболина **111** в 9-фенилфаскаплизин

Полученный 1-(2'-бромбензоил)-6-фенил- β -карболин (**111**) конвертировали по методике работы [52] в 9-фенилфаскаплизин (**113**) с выходом 77% (рисунок 73).

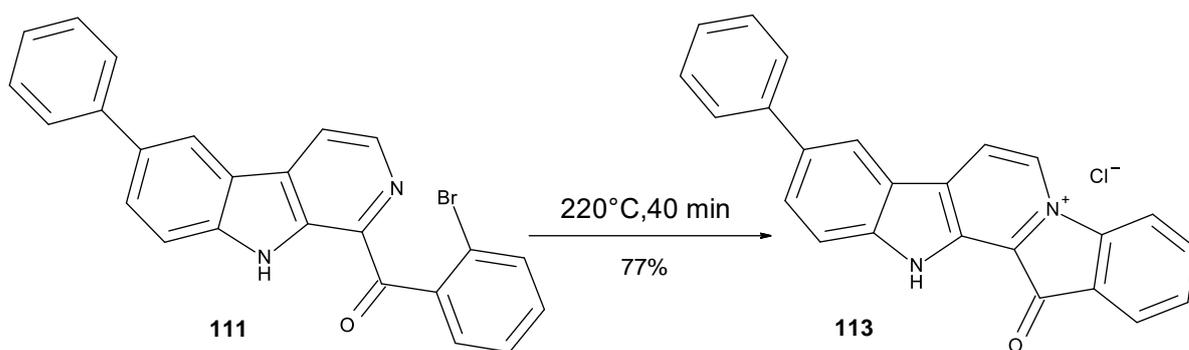


Рисунок 73 – Кватернизация соединения **111** в целевой продукт **113**

В спектре ЯМР ^1H полученного продукта **113** (рисунок 74) общая интегральная интенсивность сигналов соответствует 14-ти протонам. Сигналы при 9.33 и 8.97 м.д. относятся к сигналам протонов Н-6 и Н-7. Сигналы при 8.59, 8.28 и 8.05 м.д. соответствуют сигналам протонов Н-8, Н-4 и Н-1. Отнесение остальных сигналов без привлечения методов двумерной спектроскопии ЯМР затруднительно.

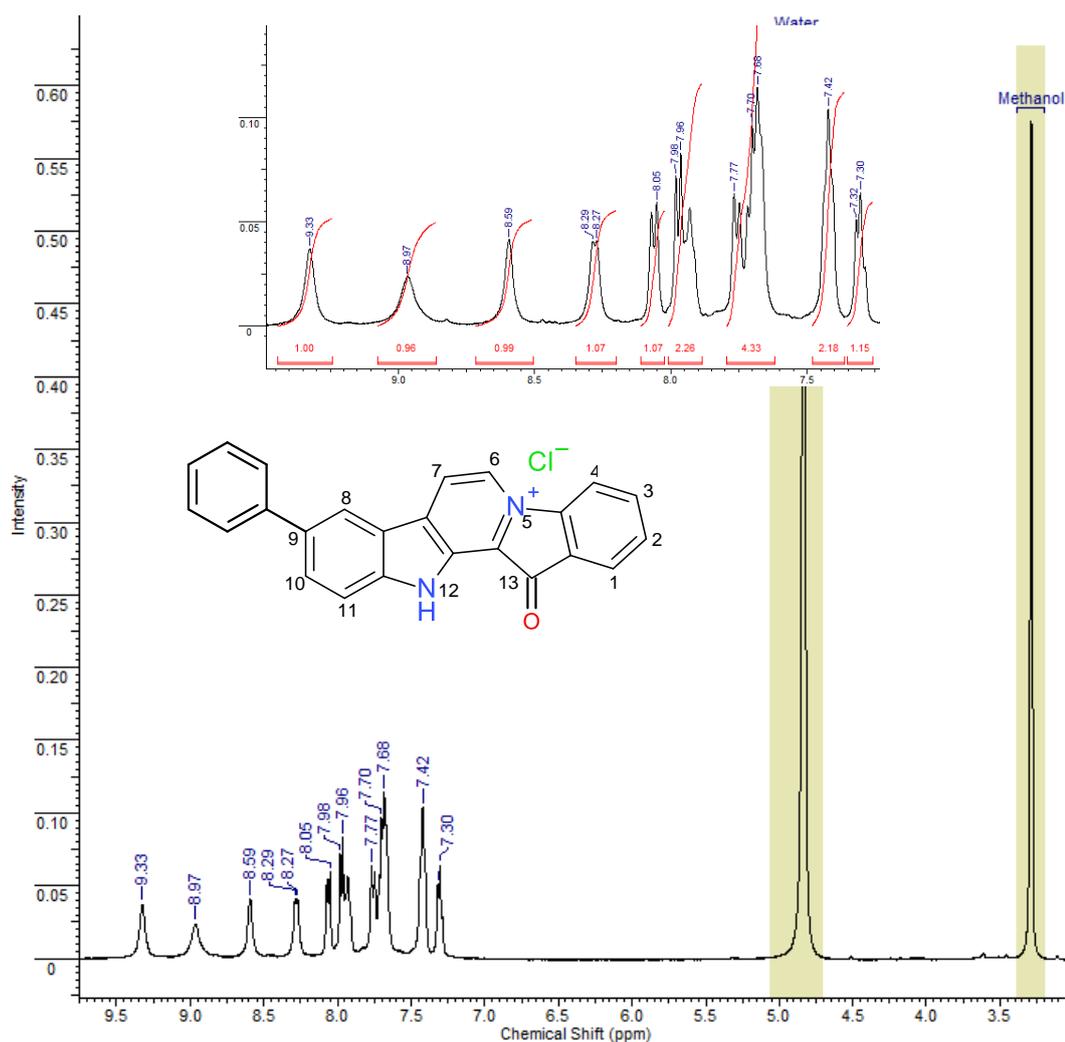


Рисунок 74 – Спектр ЯМР ^1H соединения **113**

В спектре ЯМР ^{13}C продукта (рисунок 75) присутствуют 24 сигнала атомов углерода: 23 сигнала ароматических атомов углерода и сигнал при 181.6 м.д., соответствующий сигналу карбонильного атома углерода.

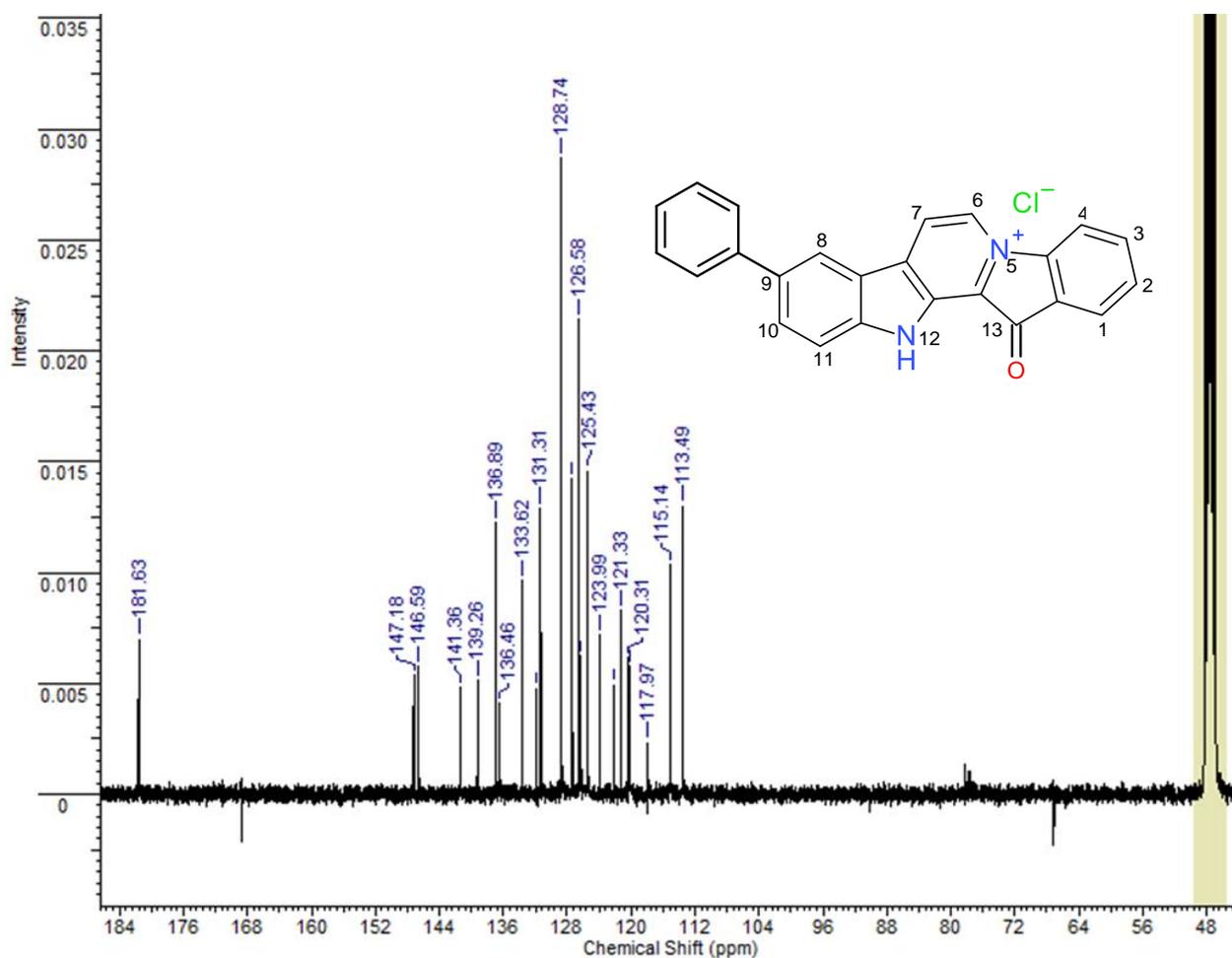


Рисунок 75 – Спектр ЯМР ^{13}C соединения **113**

Поскольку в рамках отработанной схемы синтеза 9-фенилфаскаплизина на стадии проведения реакции кросс-сочетания образуется смесь продуктов, что снижает выход соединения **111** для дальнейшей конверсии в соответствующий фаскаплизин, а также осложняет его выделение, было принято решение заменить атом брома в бензоильном фрагменте предшествующего β -карболина на атом хлора, поскольку последний не вступает в реакцию Сузуки. Замена в схеме синтеза соединения **52a** на его аналог **67** позволила исключить на ключевой стадии кросс-сочетания образование побочного продукта дизамещения и сделать ее более селективной (рисунок 76). В то же время на финальной стадии

высокотемпературной циклизации в рамках стандартно применяемых условий имело место частичное разложение промежуточного β -карболина **114**, снижая выход целевого продукта до 20-30%. Отработка последней стадии синтеза потребовала значительных усилий, но в итоге выход продукта **113** удалось довести до 54% за счет использования силикагеля в качестве носителя при проведении кватернизации.

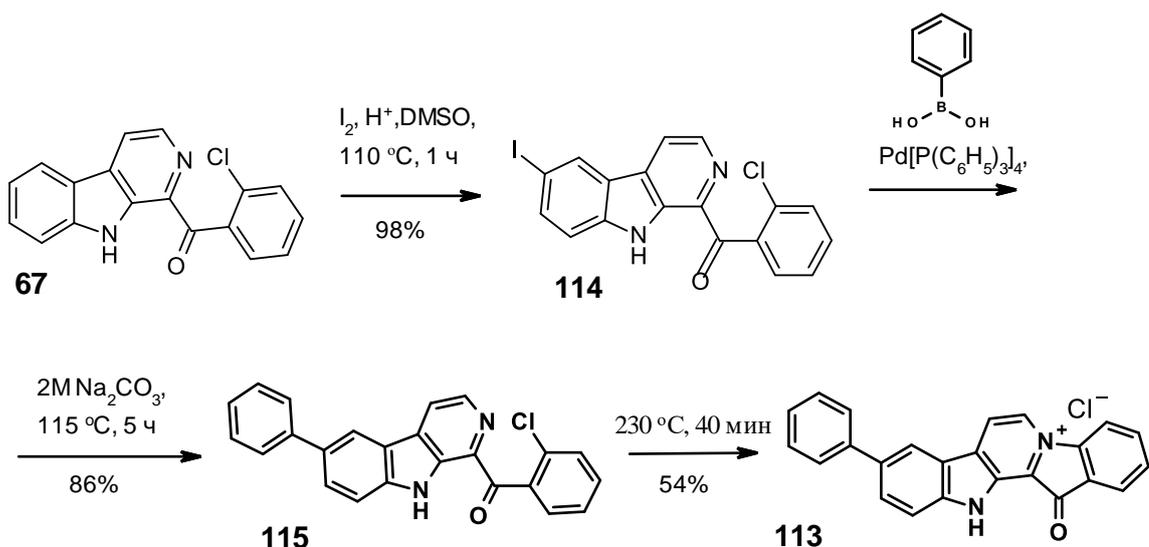


Рисунок 76 – Улучшенная схема синтеза 9-фенилфаскаплизина (**113**)

2.2.5 Сравнительное изучение биологической активности фаскаплизина и его производных в условиях *in vitro*

Для незамещенного фаскаплизина и его производных **84**, **103** и **113** были изучены цитотоксическая активность и селективность действия на культурах ряда опухолевых клеток простаты человека и неопухолевых клеток *in vitro*. Выявлено, что 9-йодфаскаплизин (**103**) по сравнению с фаскаплизином (**1**) демонстрирует более высокие, а 9-фенилфаскаплизин (**113**) менее высокие показатели цитотоксической активности. При этом 9-бромфаскаплизин (**84**) проявляет несколько лучшие показатели селективности действия по сравнению с фаскаплизином (таблица 6).

Таблица 6 – Изучение цитотоксической активности и селективности действия фаскаплизина и его производных *in vitro*

Культура	Линия	IC ₅₀ , мкмоль/л			
		1	84	103	113
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

Параллельно была изучена противомикробная активность фаскаплизина (**1**) и его производных **103** и **113** на широкой панели патогенных бактерий в условиях *in vitro*.⁵ Грамположительные бактерии были представлены четырьмя штаммами *Staphylococcus aureus* (включая два штамма, устойчивых к метициллину — MRSA), *Bacillus cereus*, штаммом *Staphylococcus epidermidis*, четырьмя штаммами *Enterococcus* spp. (включая два штамма, устойчивых к ванкомицину — VRE) и *Mycobacterium smegmatis*. Грамотрицательные бактерии были представлены *Escherichia coli*. В качестве положительного контроля для антибактериального скрининга использовались ванкомицин и рифампицин. Результаты исследования приведены в таблице 7.

⁵ Испытания противомикробной активности были проведены в Лаборатории химической трансформации антибиотиков Института новых антибиотиков имени Гаузе, г. Москва

Таблица 7 – Противомикробная активность фаскаплизина и его производных **103** и **113** *in vitro*

Тест-микроорганизмы	Минимальная ингибирующая концентрация (МИК ₅₀) мкг/мл				
	1	103	113	Рифампицин	Ванкомицин
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	1.0	0.125	0.03	0.018	0.5
<i>B.cereus</i> ATCC 10702	0.125	0.06	0.03	0.25	1.0
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	8.0	0.25	0.25	-	2.0
<i>E. faecium</i> 132	1.0	4.0	4.0	-	0.5
<i>E. faecium</i> 130	1.0	4.0	2.0	-	>32
<i>E. faecalis</i> 583 (VanR)	>8.0	0.5	0.25	-	32.0
MRSA 88 (MRSA)	1.0	0.06	0.015	-	0.5
MRSA PE3R	0.5	0.125	0.03	-	1.0
<i>S. epidermidis</i> 2001 MR	0.0075	0.00375	0.00375	-	1.0
<i>S. aureus</i> 21555	0.03	0.0075	0.03	-	2.0
<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC ATCC 607	0.03	0.25	0.25	0.03	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	8.0	>8.0	8.0	8.0	-

Данные таблицы 7 свидетельствуют, что незамещенный фаскаплизин обладает высокой антимикробной активностью против большинства изученных грамположительных бактерий в диапазоне МИК от 0.0075 мкг/мл против *S. epidermidis* до 1 мкг/мл против *E. faecium*. Однако оба штамма *E. faecalis* и грамотрицательные *E. coli* не были восприимчивы к соединению **1** (МИК \geq 8 мкг/мл). Введение в положение 9 фаскаплизина фенильного фрагмента привело к радикальному изменению эффективности и характера противобактериальной активности базовой молекулы. Повышение активности 9-фенилфаскаплизина по сравнению с фаскаплизином в отношении большинства штаммов, восприимчивых к соединению **1**, составило от двух до 66 раз. Помимо этого, была выявлена высокая активность **113** в отношении *E. faecalis*, устойчивых к незамещенному

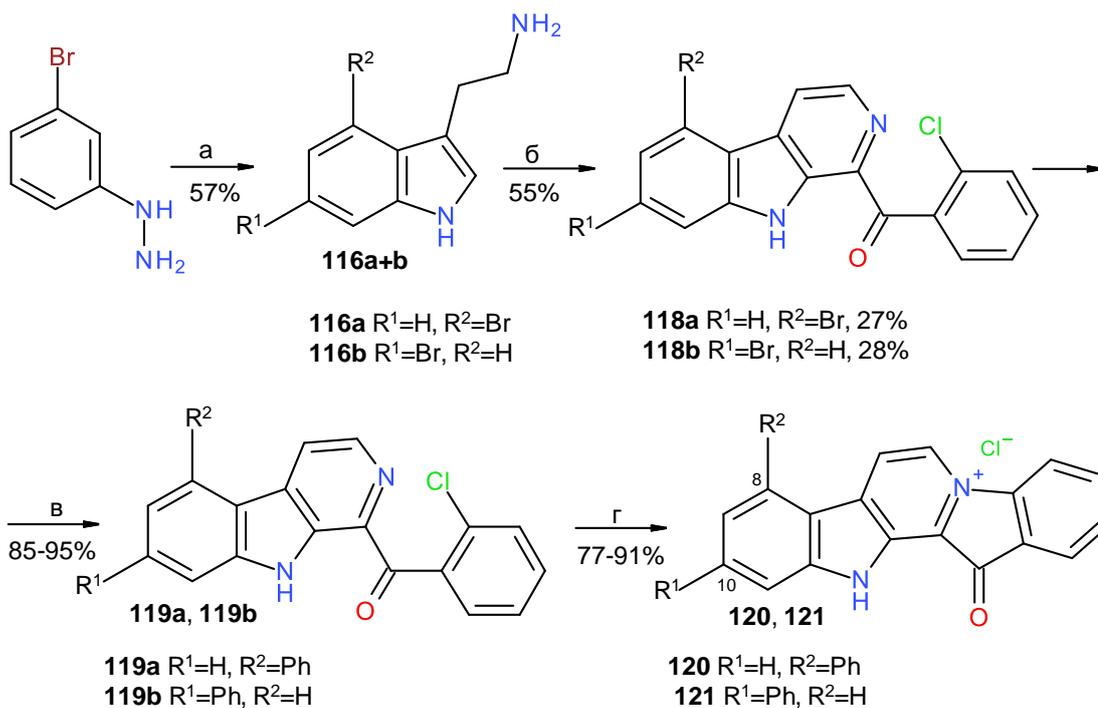
алкалоиду. В то же время некоторое снижение активности соединения **113** наблюдалось в отношении *E. faecium* и *M. smegmatis*. Никаких изменений в антимикробной активности по сравнению с фаскаплизином не наблюдалось для грамотрицательных бактерий *E. coli*.

2.2.6 Получение и изучение противомикробной активности некоторых изомеров и аналогов 9-фенилфаскаплизина

Для того чтобы оценить целесообразность введения заместителей в другие положения в цикле А фаскаплизина, были синтезированы изомеры 9-фенилфаскаплизина по соседним положениям 8 и 10. Помимо этого, серия целевых соединений была расширена получением дополнительных производных по С-9, содержащих фрагменты 1-нафтил-, 2-нафтил- и *n*-фенил-фенил, для последующего изучения зависимости между их строением и проявляемыми противомикробными свойствами.

2.2.6.1 Получение изомеров 9-фенилфаскаплизина: 8-фенилфаскаплизина и 10-фенилфаскаплизина

Для получения изомеров 9-фенилфаскаплизина по положениям 8 и 10 на первом этапе по методу Гранберга была получена смесь бромтриптаминов **116a** и **116b** путем взаимодействия *m*-бромфенилгидразина с 4-бромбутаналем [93]. Смесь **116a** и **116b** далее была введена в реакцию каскадной циклизации с молекулярным йодом и коммерчески доступным 2-хлорацетофеноном (**117**). Продукты данной реакции **118a** и **118b** были разделены методом ВЭЖХ и затем введены в реакцию кросс-сочетания с фенилборной кислотой с последующей высокотемпературной кватернизацией промежуточных β -карболинов **119a** и **119b** в целевые производные фаскаплизина **120** и **121** (рисунок 77).



Условия и реагенты: (а) 4-бромбутаналь, EtOH, H₂O, 150 °С, 1 ч; (б) **117** (1 экв.), I₂ (0.8 экв.), ДМСО, 110 °С, 1 ч, триптамины **116** (1.0 экв.), ДМСО, 110 °С, 4 ч; (в) PhV(OH)₂ (1.2 экв.), толуол, 2М водн. Na₂CO₃, Pd[PPh₃]₄ (0.025 экв.), N₂, 90 °С, 7 ч; (г) SiO₂, 220 °С, 40 мин, HCl (водн).

Рисунок 77 – Схема синтеза фенилфаскаплизинов **120** и **121**

Спектры ЯМР ¹³C полученных соединений приведены на рисунках 78 (для 10-фенилфаскаплизина (**121**)) и 79 (для 8-фенилфаскаплизина (**120**)). В спектре ЯМР ¹³C **121** присутствуют сигналы 24-х атомов углерода: 23 сигнала ароматических углеродов располагаются в области 110-149 м.д., ещё один сигнал при 181.8 м.д. соответствует карбонильному атому углерода.

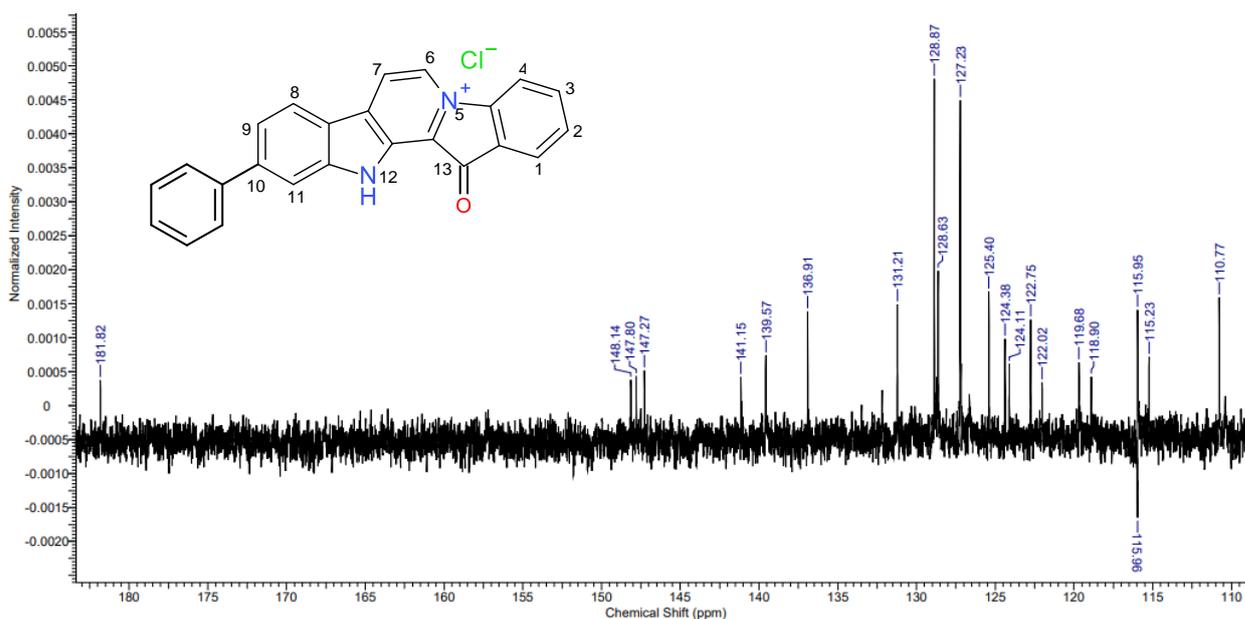


Рисунок 78– Спектр ЯМР ¹³C 10-фенилфаскаплизина (**121**)

В спектре ЯМР ^{13}C **120** также присутствует 24 сигнала атомов углерода: 23 сигнала ароматических углеродов располагаются в области 112-147 м.д., сигнал при 181.8 м.д. соответствует сигналу карбонильного атома углерода.

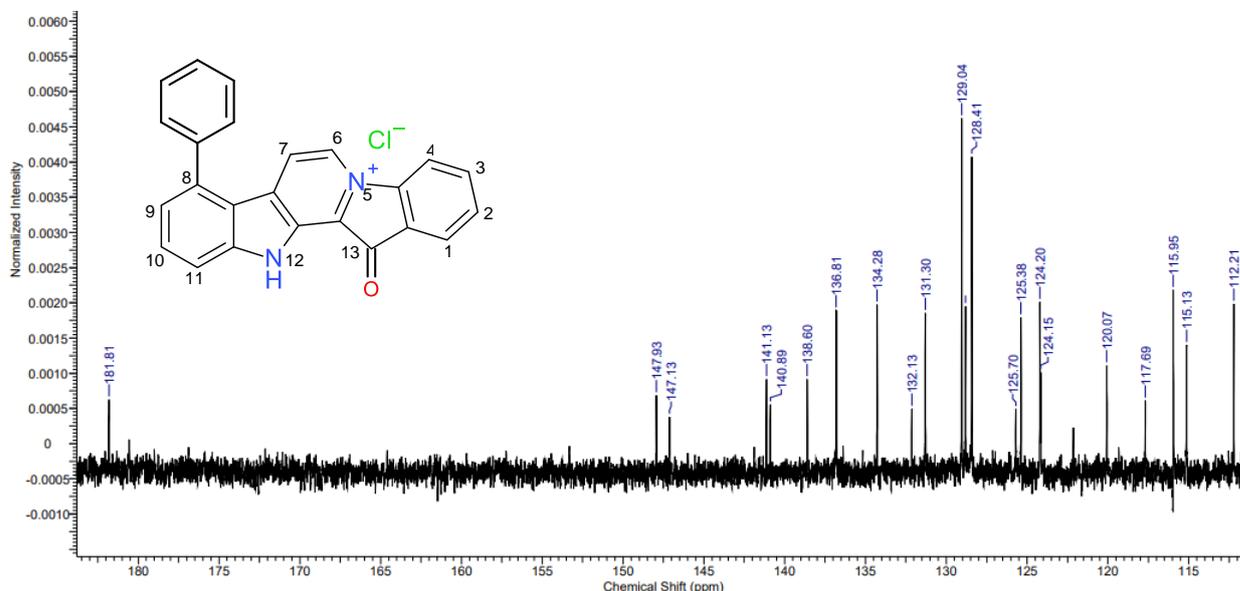
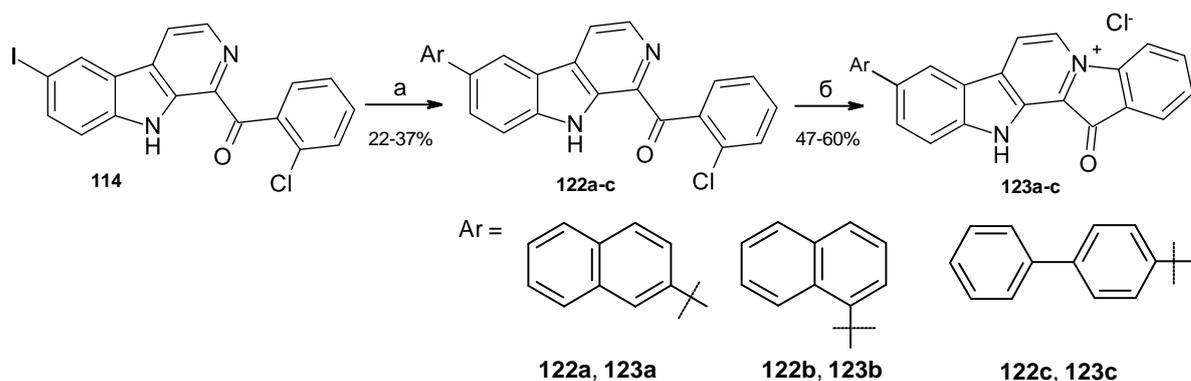


Рисунок 79– Спектр ЯМР ^{13}C 8-фенилфаскаплизина (**120**)

2.2.6.2 Получение расширенной серии 9-арилзамещенных производных фаскаплизина

Также для расширения серии 9-арилпроизводных фаскаплизина была проведена реакция кросс-сочетания 6-иод-1-(2-хлорбензоил)- β -карболина с тремя арилборными кислотами в толуоле при 75 °С в течение 7 ч по оптимизированной методике из работы G. Rizzo и соавт. [94] (рисунок 80). Промежуточные β -карболины **122a-c** были выделены и далее конвертированы в целевые производные фаскаплизина **123a-c** по методике, ранее использованной для синтеза 9-фенилфаскаплизина. Для установления структуры полученных соединений использовали методы масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР ^1H и ^{13}C . Соответствующие данные приведены в Экспериментальной части.



Условия и реагенты: (а) Ar-В(ОН)₂, Pd(PPh₃)₄, Ph-CH₃, 90 °С, 7 ч; (б) SiO₂, 230 °С, 40 мин

Рисунок 80 – Схема синтеза производных фаскаплизина по положению 9

2.2.6.3 Изучение противомикробной активности изомеров 9-фенилфаскаплизина и его аналогов в условиях *in vitro*

В ходе дальнейших исследований для соединений **120**, **121**, **123a-c** была проведена сравнительная оценка противомикробной активности с 9-фенилфаскаплизином в отношении ранее представленной серии микроорганизмов в условиях *in vitro*. Результаты испытаний представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Сравнение противомикробной активности производных фаскаплизина **113**, **120**, **121**, **123a-c** *in vitro*

Тест-микроорганизмы	Минимальная ингибирующая концентрация (МИК ₅₀) мкг/мл					
	113	121	120	123a	123b	123c
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0.03	0.125	0.125	0.06	0.06	0.25
<i>B.cereus</i> ATCC 10702	0.03	0.125	2.0	0.5	0.25	1.0
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0.25	0.25	16.0	0.5	0.125	0.25
<i>E. faecium</i> 132	4.0	8.0	8.0	16.0	0.5	0.25
<i>E. faecium</i> 130	2.0	16.0	8.0	8.0	0.5	0.25
<i>E. faecalis</i> 583 (VanR)	0.25	0.13	16.0	1.0	0.25	0.25
MRSA 88 (MRSA)	0.015	0.125	0.5	0.125	0.06	0.5
MRSA PE3R	0.03	0.06	0.5	0.06	0.06	0.25

<i>S. epidermidis</i> 2001 MR	0.00375	0.03	0.0075	0.015	0.015	0.03
<i>S. aureus</i> 21555	0.03	0.03	0.25	0.06	0.06	0.06
<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC ATCC 607	0.25	1.0	2.0	8.0	0.5	16.0
<i>E. coli</i> ATCC 25922	8.0	>16.0	>16.0	>16.0	8.0	>16.0

Как следует из данных, приведенных в таблице 8, среди полученных соединений 9-фенилфаскаплизин проявил наилучшие показатели противомикробной активности, что определило выбор данного соединения для проведения дальнейших исследований в условиях *in vivo*. Для этого целевой 9-фенилфаскаплизин (**113**) был наработан в необходимых количествах и дополнительно очищен методом препаративной ВЭЖХ, что позволило обеспечить испытание его противомикробной и противоопухолевой активности в условиях *in vivo*, а также провести ряд токсикологических исследований.

2.2.7 Исследование острой и подострой токсичности 9-фенилфаскаплизина (113) на мышах по методу Кербера⁶

Было проведено исследование острой и подострой токсичности 9-фенилфаскаплизина (**113**) на белых аутбредных мышах-самках линии ICR (CD-1), используя метод Кербера. Изучаемый препарат вводили в дозах от 10 до 40 мг/кг внутрибрюшинно однократно в объеме 0.2 мл. Также в объеме 0.2 мл вводили внутрибрюшинно водный 20%-ный раствор этанола (контроль растворителя). Летальность оценивали при наблюдении за животными в течение 14 суток и выражали в процентах (%) по отношению к общему числу животных в группе. Результаты исследований представлены в таблице 9.

⁶ Данные испытания были проведены в виварии ТИБОХ ДВО РАН

Таблица 9 – Определение токсичности 9-фенилфаскаплизина (**113**)

Показатели	№ 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 (мг/кг), n – количество животных в каждой группе</i>					

Рассчитанные значения ЛД₁₀ и ЛД₅₀ для 9-фенилфаскаплизина (**113**) составили 12 мг/кг и 25 мг/кг (доверительные интервалы 21.5–28.0 мг/кг) соответственно. Как было показано ранее, ЛД₅₀ незамещенного фаскаплизина при внутривенном введении мышам составляет 38 мг/кг [35]. Полученные данные позволяют отнести соединение **113** к умеренно токсичным (таблица 10).

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

Класс	Степень токсичности	Способ введения
		Внутрибрюшинно, ЛД ₅₀ , мг/кг
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*⁷

Далее на основании полученных данных на моделях асцитной и солидной форм мышинной карциномы Эрлиха была проведена оценка противоопухолевой активности 9-фенилфаскаплизина в сравнении с незамещенным фаскаплизином *in vivo*. Испытуемые вещества вводили животным внутрибрюшинно в объеме 0.5 мл ежедневно пять раз, начиная со следующего дня после инокуляции опухоли, соединение **113** вводили в 20%-ном водном растворе этанола. Доксорубицин (ДР) использовался в качестве положительного контроля, а также совместно с соединением **113** для комбинированного лечения. Для оценки противоопухолевой активности суточную дозу исследуемых веществ использовали следующим образом: монотерапия доксорубицином — 0.25 мг/кг (референтный препарат — положительный контроль); монотерапия соединением **113** в трех дозах — 5.0 мг/кг, 2.5 мг/кг и 1.25 мг/кг; комбинированное лечение **113** с доксорубицином — 1.25 мг/кг и 0.25 мг/кг соответственно. Результаты приведены в таблице 11.

Таблица 11 - Противоопухолевая активность **113**, ДР и их комбинации в отношении асцитного варианта аденокарциномы Эрлиха

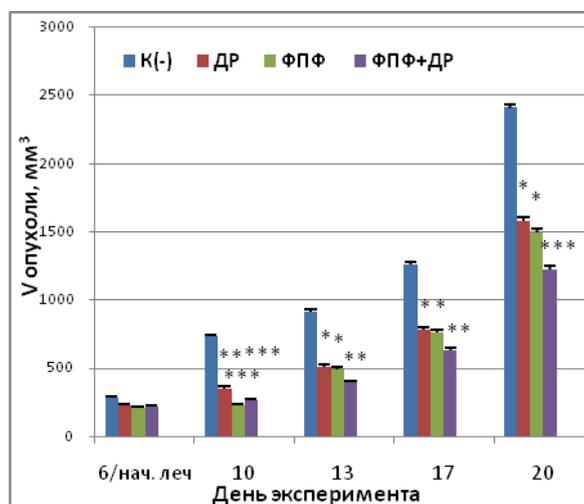
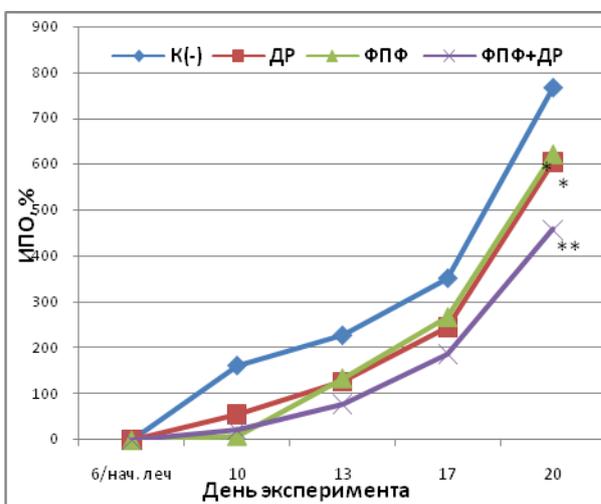
Группа животных	СПЖ, дни	Увеличение СПЖ от контроля (ILS), %	Выживаемость, %
Контроль (-)	16.1 ± 5.0	-	0
113 (1.25 мг/кг)	24.9 ± 19.6	54.6	20
113 (2.5 мг/кг)	31.9 ± 20.8	98.0	30
113 (5.0 мг/кг)	58.4 ± 1.1 *	262.5	80
ДР (0.25 мг/кг)	62.0 ± 0.0 **	284.8	100
113 + ДР (1.25 + 0.25 мг/кг)	54.0 ± 10.7 *	235.2	50

Результаты представлены как среднее значение ± SEM, n = 10 для каждой группы. Значимость различий оценивалась с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим тестом Тьюки по сравнению с группой с физиологическим раствором. Значимые различия представлены как * p < 0.05 и ** p < 0.01

⁷ Данные испытания были проведены в виварии ТИБОХ ДВО РАН

Результаты данного исследования выявили высокую противоопухолевую активность соединения **113** в дозе 5 мг/кг. Выживаемость в группе на 62-й день после инокуляции опухоли (время окончания эксперимента) составила 80%, а увеличение продолжительности жизни (УПЖ) — 262.5%. Данный противоопухолевый эффект был близок к препарату сравнения ДР в дозе 0.25 мг/кг, что привело к 100% выживаемости и увеличению продолжительности жизни на 284.8%. Противоопухолевый эффект **113** имеет положительную зависимость от дозы. Так, при дозе 2.5 мг/кг 9-фенилфаскаплизина выживаемость в группе составила 30 %, а УПЖ 98 %. В дозе 1.25 мг/кг **113** не оказал существенного влияния на увеличение продолжительности жизни или выживаемости животных. Совместное воздействие 9-фенилфаскаплизина в дозе 1.25 мг/кг с доксорубицином в дозе 0.25 мг/кг не оказывало синергического эффекта. По данным литературы, незамещенный фаскаплизин в дозах от 5 мг/кг до 20 мг/кг применительно к данной экспериментальной модели достоверно не увеличивал продолжительность жизни экспериментальных животных [10].

Соединение **113** в ходе лечения значительно ингибировало скорость роста аденокарциномы Эрлиха, инокулированной подкожно. Так, в группе лечения объем опухоли на последний день лечения был в три раза меньше, чем в контрольной (-) группе, а значение ИПО составило всего 9% (рисунок 81).



АБ

ИПО – индекс прироста опухоли (А) и изменение объёма опухоли (Б). К(-) – контрольная группа животных (нелеченые), ДР – группа животных, леченных доксорубицином в дозе 0.25 мг/кг, ФПФ – синтетическое фенильное производное алкалоида фаскаплизина в дозе 5 мг/кг, ФПФ+ДР – синтетическое фенильное производное алкалоида фаскаплизина 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)

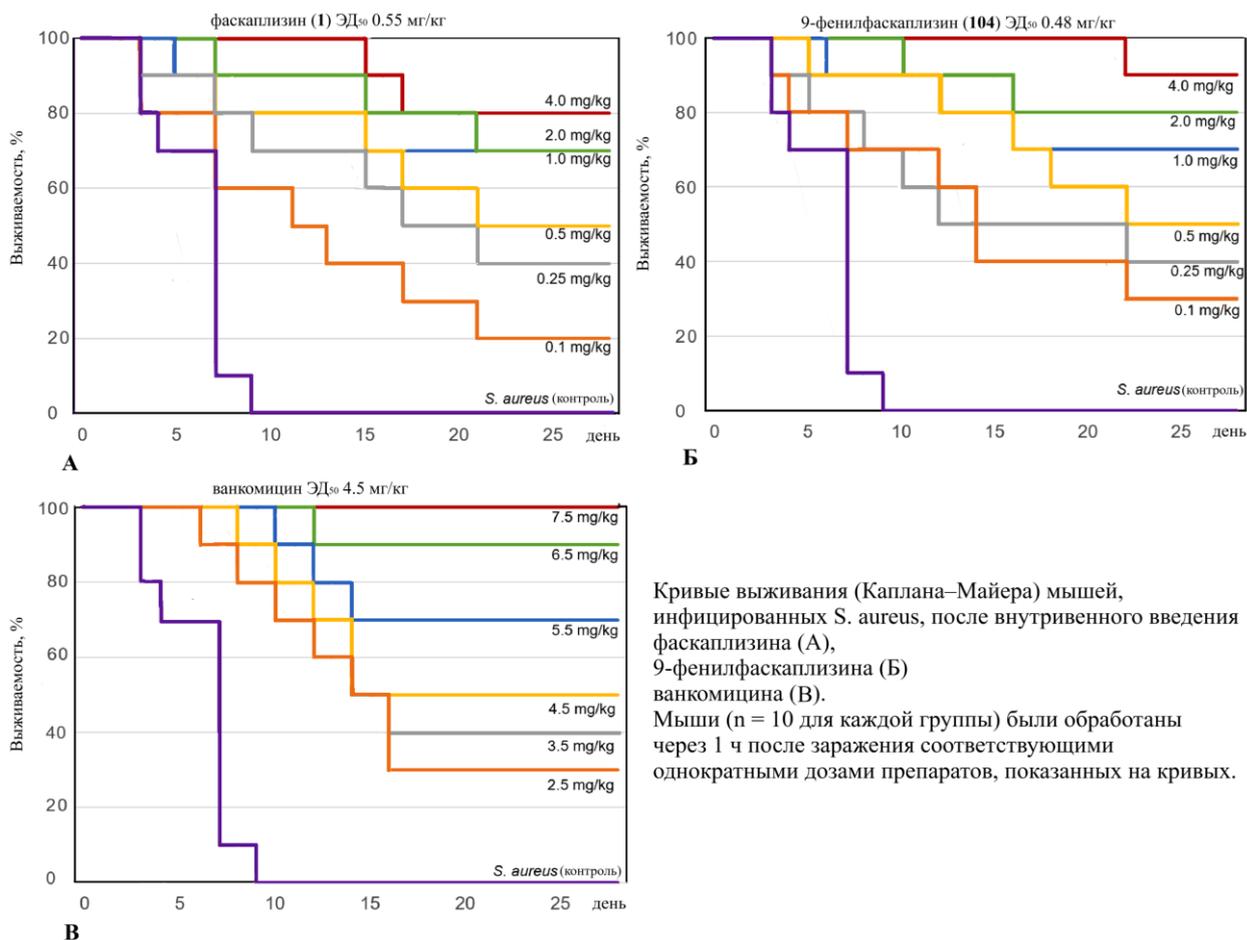
Рисунок 81 – Динамика роста солидной опухоли Эрлиха

Однако после окончания курса лечения в этой группе наблюдалось выраженное усиление роста опухоли. Начиная с 13-го дня эксперимента соединение **113** оказывало противоопухолевый эффект, сопоставимый с доксорубицином: способствовало снижению скорости роста и массы опухоли примерно в 1.5 раза и тормозило рост опухоли на 30%.

2.2.9 Исследование противомикробной активности 9-фенилфаскаплизина in vivo

На завершающем этапе была проведена оценка антибактериальной эффективности 9-фенилфаскаплизина в сравнении с незамещенным фаскаплизином и антибиотиком ванкомицином с использованием модели мышинного стафилококкового сепсиса при однократном внутривенном введении. Результаты исследования представлены на рисунке 82. Соединение **113** было менее водорастворимым, чем фаскаплизин (**1**), что затрудняло его тестирование *in vivo*. Однако добавление 10–20% этанола или ПЭГ600 в качестве солюбилизирующих агентов значительно улучшило растворимость исследуемого соединения в воде. В данном эксперименте гибель животных в группах лечения отмечалась до 22-го дня (рисунок 82А,В), тогда как наблюдение за животными проводилось в течение 28 дней, после чего все мыши были подвергнуты эвтаназии.⁸

⁸ Испытания были проведены в виварии Института новых антибиотиков имени Гаузе, г. Москва



Кривые выживания (Каплана–Майера) мышей, инфицированных *S. aureus*, после внутривенного введения фаскаплизина (А), 9-фенилфаскаплизина (Б) ванкомицина (В). Мыши (n = 10 для каждой группы) были обработаны через 1 ч после заражения соответствующими однократными дозами препаратов, показанных на кривых.

Рисунок 82 – Противомикробная активность 9-фенилфаскаплизина, фаскаплизина и ванкомицина на модели стафилококкового сепсиса

Результаты данного исследования показали, что выживаемость мышей, инфицированных *S. aureus*, увеличивалась после однократного внутривенного введения 9-фенилфаскаплизина, фаскаплизина и ванкомицина дозозависимым образом. На основании данных о выживаемости животных были рассчитаны значения эффективной дозы (ЭД₅₀) тестируемых препаратов. Значение ЭД₅₀ 9-фенилфаскаплизина было почти в девять раз ниже, чем у ванкомицина. В то же время значение ЭД₅₀ для соединения **113** оказалось неожиданно близким к аналогичному показателю соединения **1**, что контрастирует с результатами, полученными для *S. aureus in vitro*, где производное **113** было примерно на два порядка активнее незамещенного фаскаплизина. В обоих случаях 100%-ной выживаемости подопытных животных не было достигнуто. Как и в случае противоопухолевой активности, полученные результаты можно приписать двум вероятным

факторам. Во-первых, более высокая липофильность 9-фенилфаскаплизина ($\text{LogP} = 2.0$)⁹ по сравнению с фаскаплизином ($\text{LogP} = 0.28$) может способствовать его связыванию с альбуминами или приводить к более выраженному распределению в липофильных органах и тканях испытуемых животных. Во-вторых, данное соединение может подвергаться более быстрому метаболизму, что приводит к снижению концентрации активного соединения в кровотоке и, как следствие, к снижению терапевтического эффекта.

Вслед за нашими исследованиями вышла работа китайских авторов, которые изучили для соединения **113** и серии его аналогов противомикробную активность *in vitro* и механизм оказываемого действия [95]. В результате была подтверждена их мощная бактерицидная активность против панели грамположительных (МИК 0.024–6.25 мкг/мл) и грамотрицательных (МИК 1.56–12.5 мкг/мл) бактерий посредством двойного механизма: нарушения целостности бактериальной клеточной мембраны и воздействия на белок FtsZ, вызывая полимеризацию его мономеров и связывание полимеров, что приводило к нарушению деления клеток.

⁹ Приведенные данные были рассчитаны с помощью программного обеспечения ClogP v.2.2 на www.molinspiration.com.

3 Экспериментальная часть

3.1 Материалы и методы

ИК-спектры записаны на ИК-Фурье-спектрометре Perkin-Elmer Spectrum BX-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 и в 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. Масс-спектры высокого разрешения (далее HRMS-ESI) получены с помощью времяпролетного масс-спектрометра Agilent 6210 при следующих настройках: режим ионизации положительных ионов; капиллярное напряжение – 3500 В; напряжение экранирующей платформы – 500 В; температура десольватации 300 °С; расход газа десольватации – 600 л·ч $^{-1}$; давление в распылителе – 20 пси. Реакции под действием микроволнового облучения проводили в микроволновой печи SEM Discover в специальных реакционных сосудах объемом 10 мл для работы при повышенном давлении, снабженных септой, в режиме фиксированной мощности. Степень протекания реакции контролировали методом ТСХ (сорбфил, 5-17 мкм, пластинки 1.5 x 5.0 см) в дихлорметане, бензоле или в системе этилацетат:гексан (1:2, 1:5). Для препаративного выделения веществ использовали метод препаративной тонкослойной хроматографии (пластинки 20 × 20 см) с незакрепленным слоем SiO_2 (15-40 мкм) в указанных выше системах растворителей или препаративную ВЭЖХ.

В ходе данной работы по известным методикам были получены следующие соединения: фаскаплизин (**1**), 6-метилфаскаплизин (**99**), 6-фенилфаскаплизин (**100**), 9-бромфаскаплизин (**84**), 2-бромфаскаплизин (**106**), смесь триптаминов **116a** и **116b**, 1-(2'-бромбензоил)- β -карболин (**52a**), 1-(2'-хлорбензоил)- β -карболин (**67**).

3.2 Взаимодействие фаскаплизина (I) с диметилксалатом и диэтилксалатом

3.2.1 При кипячении с обратным холодильником

Смесь фаскаплизина (10 мг, 0.028 ммоль) и диэтилового эфира щавелевой кислоты (0.5 мл, 3.68 ммоль) кипятили в круглодонной колбе с обратным холодильником в течение 1 ч. После охлаждения избыток эфира удалили на вакуумном насосе. Остаток растворили в 1 мл этилового спирта, нанесли на пластинку для ПТСХ и хроматографировали в системе этилацетат : гексан, 1:2. Выход гомофаскаплизина В 1 (**12**) – 2 мг (20 %). В аналогичных условиях для диметилового эфира щавелевой кислоты ожидаемый продукт не образуется.

3.2.2 При нагревании при повышенном давлении

Опыт 1

Смесь фаскаплизина (11 мг, 0.03 ммоль) и диметилового эфира щавелевой кислоты (500 мг, 4.24 ммоль) поместили в реакторный сосуд для микроволнового реактора, зафиксировали в аттенюаторе и герметизировали. Основание сосуда выдерживали в металлической бане с температурой 200 °С в течение 30 мин, при этом давление в сосуде достигало 15 бар. После охлаждения реакционного сосуда избыток эфира удалили на вакуумном насосе. Остаток растворили в 1 мл этилового спирта, нанесли на пластинку для ПТСХ и хроматографировали в системе этилацетат:гексан 1:2. Были собраны две зоны. Выход продукта с $R_f = 0.35$ из нижней зоны составил 1 мг, а из верхней с $R_f = 0.55$ – 2 мг гомофаскаплизина В (**11**) (24%).

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): δ 12.54 (уш. с, 1H), 8.41 (д, $J=7.1$, 1H), 8.12 (дд, $J_1=8.0$, $J_2=0.8$, 1H), 7.97 (д, $J=8.2$, 1H), 7.81 (д, $J=6.9$, 1H), 7.76 (д, $J=7.9$, 1H), 7.71 (д, $J=7.3$, 1H), 7.58 (т, $J=7.3$, 1H), 7.52 (т, $J=7.0$, 1H), 7.45 (т, $J=7.4$, 1H), 7.37 (т, $J=8.7$, 1H), 4.13 (с, 3H).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3): δ 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

Смесь фаскаплизина (8 мг, 0.023 ммоль) и диэтилового эфира щавелевой кислоты (0.5 мл, 3.68 ммоль) нагревали в соответствии с методикой, указанной в опыте 1. По данным ТСХ наблюдали образование двух продуктов: целевого продукта желтого цвета и следовых количеств побочного продукта розового цвета. Выход гомофаскаплизина **В 1** (**12**) составил 2 мг (33%).

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): δ 12.55 (уш. с, 1H), 8.40 (д, $J=7.1$, 1H), 8.11 (дд, $J=8.0$, $J=0.9$, 1H), 7.96 (д, $J=8.1$, 1H), 7.80 (д, $J=6.7$, 1H), 7.70 (д, $J=8.4$, 1H), 7.57 (ддд, $J=8.2$, 7.1, 1.2, 1H), 7.51 (т, 1H), 7.45 (т, 1H), 7.36 (ддд, $J=8.0$, 7.1, 0.9, 1H), 4.61 (к, 2H), 0.87 (т, 3H).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3): δ 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 действием микроволнового излучения

Опыт 1

Смесь фаскаплизина (4 мг, 0.011 ммоль) и диметилксалата (500 мг, 4.24 ммоль) поместили в герметизируемый сосуд для MW реактора, закрыли септой и облучали в микроволновом реакторе при температуре 50 °C (100 Вт) в течение 30 мин. По данным ТСХ образуется целевое соединение **11** наряду с побочными продуктами. В реакционной смеси остается также исходный фаскаплизин.

Опыт 2

Смесь фаскаплизина (22 мг, 0.06 ммоль) и диметилноксалата (500 мг, 4.24 ммоль) облучали в герметизированном сосуде при температуре 65 °С (150 Вт) в атмосфере аргона в течение 30 мин. По данным ТСХ образуется целевое соединение **11** наряду с побочным продуктом. После охлаждения реакционного сосуда избыток эфира удалили на вакуумном насосе. Остаток растворили в 1 мл этилового спирта, нанесли на пластинку для ПТСХ и хроматографировали в системе этилацетат : гексан 1:2. Были собраны две зоны. Верхняя зона с $R_f = 0.48$ содержала 3 мг (14%) соединения **11**, а нижняя с $R_f = 0.26$ – 11 мг (52%) метил-2-оксо-2-(12-метил-12*H*-пиридо[1,2-*a*:3,4-*b'*]дииндол-13-ил)ацетата (**95**).

Спектр ЯМР ^1H соединения **95** (CDCl_3): δ 8.39 (д, $J=7.0$, 1H), 8.08 (т, $J=7.9$, 2H), 7.94 (д, $J=8.3$, 1H), 7.68 (д, $J=6.9$, 1H), 7.58 - 7.60 (м, 2H), 7.53 (тд, $J=7.6$, 1H), 7.43 (ддд, $J=8.2$, 1H), 7.35 - 7.40 (м, 1H), 4.00 (с, 3H), 3.97 (с, 3H).

Спектр ЯМР ^{13}C соединения **95** (CDCl_3): δ 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

Ту же реакцию провели с диэтилоксалатом в соответствии с методикой, 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

Смесь фаскаплизина (5 мг, 0.014 ммоль), диметилноксалата (500 мг, 4.24 ммоль) и 10-кратного избытка (0.14 ммоль) NaBH_4 поместили в реакционный сосуд для MW реактора, продули аргоном и герметизировали, после чего нагревали на металлической бане (200 °С) в течение 30 мин. По данным ТСХ реакция не идет.

Опыт 2

Смесь фаскаплизина (5 мг, 0.014 ммоль), диметилноксалата (500 мг, 4.24 ммоль) и 10-кратного избытка (0.14 ммоль) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ поместили в реакционный сосуд для MW реактора, продули аргоном и герметизировали, после чего нагревали на металлической бане (200 °C) в течение 30 мин. По данным ТСХ образуется смесь продуктов, при этом целевое соединение преобладает. Увеличили загрузку исходных реагентов в 10 раз и повторили реакцию. Выход гомофаскаплизина **В** (**11**) составил 14 мг (30%), а метил-12*H*-пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндол-13-карбоксилата (**96**) – 10 мг (22%).

Спектр ЯМР ^1H соединения **96** (CDCl_3): δ 12.04 (уш. с, 1H, NH), 8.28 (д, $J=8.1$, 1H), 8.16 (д, $J=7.1$, 1H), 8.00 (д, $J=8.0$, 1H), 7.84 (д, $J=8.2$, 1H), 7.63 (д, $J=8.2$, 1H) 7.48 - 7.52 (м, 1H), 7.45 - 7.48 (м, 1H), 7.43 (д, $J=7.1$, 1H), 7.33 - 7.39 (м, 1H), 7.30 (т, $J=7.5$, 1H), 4.07 (с, 3H).

Спектр ЯМР ^{13}C соединения **96** (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

Смесь фаскаплизина (5 мг, 0.014 ммоль), диметилноксалата (500 мг, 4.24 ммоль) и 10-кратного избытка (0.14 ммоль) Na_2SO_3 поместили в реакционный сосуд для MW реактора, продули аргоном и герметизировали, после чего нагревали на металлической бане (200 °C) в течение 30 мин. По данным ТСХ образуется смесь продуктов в следовых количествах.

Опыт 4

Смесь фаскаплизина (5 мг, 0.014 ммоль), диметилноксалата (500 мг, 4.24 ммоль) и 10-кратного избытка (0.14 ммоль) $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ поместили в реакционный сосуд для MW реактора, продули аргоном и герметизировали, после чего нагревали на металлической бане (200 °C) в течение 30 мин. По данным ТСХ реакция не идет.

Опыт 5

Смесь фаскаплизина (5 мг, 0.014 ммоль), диметилноксалата (500 мг, 4.24 ммоль) и 10-кратного избытка (0.14 ммоль) KI поместили в реакционный сосуд для MW реактора, продули аргоном и герметизировали, после чего нагревали на металлической бане (200 °C) в течение 30 мин. По данным ТСХ новых продуктов не образуется.

Опыт 6

Смесь фаскаплизина (5 мг, 0.014 ммоль), диметилноксалата (500 мг, 4.24 ммоль) и 10-кратного избытка (0.14 ммоль) LiAlH₄ поместили в реакционный сосуд для MW реактора, продули аргоном и герметизировали, после чего нагревали на металлической бане (200°C) в течение 30 мин. По данным ТСХ образуется смесь продуктов в следовых количествах.

Опыт 7

Смесь фаскаплизина (5 мг, 0.014 ммоль), диметилноксалата (500 мг, 4.24 ммоль) и 10% Pd/C (на кончике шпателя) поместили в реакционный сосуд для MW реактора, заполнили молекулярным водородом и герметизировали, после чего нагревали на металлической бане (200 °C) в течение 30 мин. По данным ТСХ реакция не идет.

Опыт 8

Смесь фаскаплизина (5 мг, 0.014 ммоль), диметилноксалата (500 мг, 4.24 ммоль) и 10-кратного избытка (0.14 ммоль) N₂H₄ поместили в реакционный сосуд для MW реактора, добавили на кончике шпателя NiRe, продули аргоном и герметизировали, после чего нагревали на металлической бане (200 °C) в течение 30 мин. По данным ТСХ образуется смесь продуктов в следовых количествах.

Опыт 9

Смесь фаскаплизина (5 мг, 0.014 ммоль), диметилноксалата (500 мг, 4.24 ммоль) и 10-кратного избытка (0.14 ммоль) гидрохинона поместили в реакционный сосуд для MW реактора, продули аргоном и герметизировали,

после чего реакцию проводили в микроволновом реакторе при температуре 50 °С (100 Вт) в течение 30 мин. По данным ТСХ образуется смесь продуктов, при этом целевое соединение преобладает. Увеличили загрузку исходных реагентов в 10 раз и повторили реакцию. Выход гомофаскаплизина В (**11**) составил 26 мг (52%).

3.4 Взаимодействие 3-бромфаскаплизина с диметилксалатом и диэтилксалатом

3.4.1 В присутствии гидрохинона (ГХ)

Опыт 1

Смесь 12 мг (0.028 ммоль) 3-бромфаскаплизина, 500 мг (4.24 ммоль) диметилксалата и 10-кратного избытка (0.28 ммоль) ГХ поместили в реакционный сосуд для MW реактора, продули аргоном и герметизировали, после чего нагревали на металлической бане при 200 °С в течение 30 мин. По результатам ТСХ происходит образование нового продукта.

Опыт 2

Реакцию 3-бромфаскаплизина с диэтиловым эфиром щавелевой кислоты проводили в аналогичных условиях. Контроль методом ТСХ показал образование нового продукта.

Оба продукта были выделены методом ПТСХ на закрепленном слое SiO₂ в чистом CH₂Cl₂, но их структуру не удалось установить в силу неустойчивости полученных соединений.

3.4.2 Под действием микроволнового излучения

Опыт 1

Смесь 26 мг (0.06 ммоль) 3-бромфаскаплизина и 500 мг (4.24 ммоль) диметилксалата поместили в реакционный сосуд для MW реактора, продули аргоном и герметизировали, после чего нагревали под действием микроволнового излучения (50 Вт) при температуре 40 °С в течение 1 ч.

Контроль хода реакции осуществляли при помощи ТСХ. Обнаружено, что наряду с ожидаемым продуктом в смеси присутствует гомофаскаплизин В (**11**). Выделение продуктов **11** и **13** осуществляли методом ПТСХ на незакрепленном слое SiO₂ в системе этилацетат:гексан 1:5. Выход 3-бромгомофаскаплизина В (**13**) составил 5 мг (20%), а гомофаскаплизина В (**11**) – 4 мг (19%).

Спектр ЯМР ¹H соединения **13** (CDCl₃): δ 12.37 (уш. с, 1H, NH), 8.25 (д, J= 7.1, 1H), 8.06-8.08 (м, 2H), 7.76 (д, J = 6.9, 1H), 7.66 (д, J = 8.3, 1H), 7.52-7.60 (м, 3H), 7.34 (т, J = 8.3, 1H), 4.11 (с, 3H).

Спектр ЯМР ¹³C соединения **13** (CDCl₃): 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 3-бромфаскаплизина с диэтиловым эфиром щавелевой кислоты проводили в аналогичных условиях. Контроль методом ТСХ показал образование целевого соединения **13** в следовых количествах.

3.4.3 При нагревании при повышенном давлении

Опыт 1

Смесь 22 мг (0.05 ммоль) 3-бромфаскаплизина (**3**) и 500 мг (3.68 ммоль) диэтилоксалата поместили в реакционный сосуд для MW реактора, продули аргоном и герметизировали, после чего нагревали при 200 °С в течение 2 ч. Контроль реакции осуществляли методом ТСХ. Обнаружено, что образуется смесь веществ, в которой преобладает целевое соединение. Продукт был выделен методом ПТСХ на незакрепленном слое SiO₂ в системе этилацетат:гексан 1:5. Выход 3-бромгомофаскаплизина В-1 (**14**) составил 5 мг (23%).

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): δ 12.36 (уш. с, 1H, NH), 8.22 (д, $J = 7.0$, 1H), 8.03-8.06 (м, 2H), 7.74 (д, $J = 6.9$, 1H), 7.60-7.63 (м, 2H), 7.51-7.56 (м, 2H), 7.33 (т, $J = 7.9$, 1H), 4.59 (к, $J = 7.1$, 2H), 1.50 (т, $J = 7.2$, 3H).

Спектр ЯМР ^{13}C (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 3-бромфаскаплизина (**3**) с диметилноксалатом проводили в аналогичных условиях. Выход 3-бромгомофаскаплизина В (**13**) составил 5 мг (24%).

3.5 Получение гомофаскаплизина С

Смесь 7 мг (0.02 ммоль) гомофаскаплизина В (**11**), 2 мл тетрагидрофурана и воды (1:1 по объему) и 5 мг NaOH перемешивали в течение двух суток при комнатной температуре, затем разбавили 2 мл воды и продукт извлекли методом экстракции этилацетатом (3 x 2 мл). Объединенные экстракты высушили над Na_2SO_4 и растворитель удалили. Выход целевого гомофаскаплизина С (**15**) составил 3 мг (50%).

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): δ 12.20 (с, 1H, NH), 10.23 (с, 1H, CHO), 8.26 (д, $J = 7.4$, 1H), 8.11 (д, $J = 8.2$, 1H), 8.04 (д, $J = 8.2$, 1H), 7.91 (д, $J = 9.0$, 1H), 7.70 (д, $J = 8.1$, 1H), 7.63 (д, $J = 7.8$, 1H), 7.53 (т, $J = 7.8$, 1H), 7.52 (т, $J = 7.8$, 1H), 7.41 (т, $J = 8.2$, 1H), 7.33 (т, $J = 8.1$, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3): δ 181.0, 138.1, 132.5, 132.2, 132.1, 129.5, 126.9, 125.6, 122.7, 122.2, 120.6, 120.3, 118.6, 117.7, 116.7, 112.7, 111.2, 108.0, 105.5.

3.6 Йодирование фаскаплизина под действием микроволнового излучения

Вариант 1

В реактор для MW реактора поместили 10 мг (0.04 ммоль) фаскаплизина и 2 мл ДМСО. К раствору добавили молекулярный йод на кончике шпателя. Сосуд герметизировали и облучали смесь при мощности 50

Вт в течение 30 минут, контролируя степень протекания реакции методом ТСХ. До достижения температуры реакционной смеси 85-90 °С образование новых продуктов не наблюдалось. При достижении данной температуры происходил быстрый рост давления в реакционном сосуде и его аварийное отключение. ТСХ-контроль выявил в полученной смеси незначительное количество соединения **103**. Попытки продолжить облучение реакционной смеси после сброса избыточного давления и охлаждения немедленно приводили к резкому росту давления и к остановке прибора.

Вариант 2

В круглодонную колбу на 5 мл поместили 10 мг (0.04 ммоль) фаскаплизина и 2 мл ДМСО. К раствору добавили молекулярный йод на кончике шпателя. Колбу снабдили обратным холодильником, после чего облучали смесь при мощности 45-50 Вт (190 °С) в течение 30 минут, при этом смесь равномерно кипела. По данным ТСХ-контроля, полученная в результате реакционная смесь содержала исходный фаскаплизин и целевой продукт **103** в примерно равных соотношениях.

Вариант 3

Опыт был проведен по описанной в варианте 2 методике при сниженной мощности облучения (30 Вт), время реакции увеличили до 1.5 ч. По данным ТСХ реакция не идет.

3.7 Йодирование фаскаплизина при кипячении в растворе в ДМСО

Смесь фаскаплизина (3 мг, 0.011 ммоль), молекулярного йода (3 мг, 0.012 ммоль) и 1 мл ДМСО поместили в круглодонную колбу, снабжённую обратным холодильником, и нагревали на глицериновой бане при температуре 180 °С в течение 280 мин. По данным ТСХ наблюдается образование йодпроизводного фаскаплизина, но концентрация фаскаплизина в смеси остается значительной. Повышение температуры бани до кипения

реакционной смеси по мере увеличения времени проведения реакции приводит к постепенному распаду продукта **103** и фаскаплизина.

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

Вариант 1

Смесь 2-бромацетофенона (159 мг, 0.80 ммоль), *трет*-бутилгидропероксида (123 мг, 0.96 ммоль), триптамина (128 мг, 0.81 ммоль), I₂ (162 мг, 0.64 ммоль) и 3 мл ДМСО нагревали при 110 °С при перемешивании на магнитной мешалке в течение 5 ч. Охлажденный раствор разбавили 50 мл воды и экстрагировали этилацетатом (3 x 15 мл). Экстракт промыли 10%-ным раствором Na₂S₂O₃, высушили над безводным Na₂SO₄ и растворитель удалили под уменьшенным давлением. Остатки воды удалили азеотропной перегонкой с хлороформом. Остаток хроматографировали на короткой колонке с SiO₂, элюируя бензолом до отсутствия в элюате β-карболинов. Элюат упарили при пониженном давлении. Остаток хроматографировали методом ПТСХ в этилацетат:гексан (1:2). Выход целевого продукта **110** составил 20 мг (5%).

Вариант 2

Опыт провели по описанной выше методике, заменив *трет*-бутилгидропероксид на избыток I₂ (328 мг, 1.29 ммоль). По данным ТСХ наблюдалось образование неизвестного вещества, близкого по свойствам к 1-(2'-бромбензоил)-β-карболину.

Вариант 3

Опыт провели по описанной выше методике, заменив *трет*-бутилгидропероксид на избыток I₂ (328 мг, 1.29 ммоль) и увеличив время реакции до 24 ч. По данным ТСХ наблюдалось образование целевого соединения **110** с незначительной примесью неизвестного продукта.

Вариант 4

Опыт провели по описанной выше методике, заменив плоскодонную колбу на герметизированный реакционный сосуд для MW реактора и

применив еще больший избыток I₂ (648 мг, 2.55 ммоль). Реакцию проводили в течение 24 ч. В результате реакционная смесь осмолилась.

Вариант 5

Опыт провели по описанной выше методике в колбе с обратным холодильником с таким же избытком I₂ (648 мг, 2.55 ммоль). Реакцию проводили в течение 24 ч. Выход соединения **110** не превысил 5%.

Вариант 6

Опыт провели по описанной выше методике с избытком I₂ (648 мг, 2.55 ммоль) и увеличенным количеством ДМСО (5 мл). Смесь нагревали на масляной бане при 150 °С в течение 20 ч. Выход соединения **110** составил 37 мг (10%).

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

Спектр ЯМР ¹H (бензол-*d*₆): δ 8.28 (д, *J*=4.9, 1H), 8.12 (д, *J*=1.1, 1H), 7.51 (дд, *J*=8.5, 1.6, 1H), 7.40 (дд, *J*=7.6, 1.6, 1H), 7.37 (д, *J*=8.2, 1H) 7.24 (д, *J*=4.9, 1H), 6.92 - 6.99 (м, 1H), 6.76 (тд, *J*=7.8, 1.5, 1H), 6.33 (д, *J*=8.5, 1H).

Спектр ЯМР ¹³C (бензол-*d*₆): δ 197.7, 170.3, 140.7, 139.6, 138.5, 136.8, 135.8, 135.5, 132.4, 130.3, 130.1, 129.3, 126.1, 122.7, 119.9, 119.5, 118.5, 113.6.

Масс-спектр (HRMS-ESI, *m/z*): рассчитано для C₁₈H₁₀⁷⁹BrIN₂O [M+H]⁺ 476.9099, найдено 476.9123.

3.9 Взаимодействие триптамина с 2-бромацетофеноном в ДМСО при нагревании

Опыт 1

Смесь 2-бромацетофенона (159 мг, 0.80 ммоль), триптамина (128 мг, 0.81 ммоль), молекулярного йода (162 мг, 0.64 ммоль), пероксида водорода (215 мг, 1.2 ммоль) и 3 мл ДМСО нагревали на глицериновой бане при 110 °С в течение 1.5 ч. По данным ТСХ видно, что реакция не происходит. В реакционную смесь добавили *трет*-бутилгидропероксид (123 мг, 0.96 ммоль) и нагревание продолжили в течение 3 ч. По данным ТСХ

наблюдалось появление продукта реакции. Через 5 ч дополнительного кипячения содержание целевого продукта **52a** в смеси не изменилось.

Опыт 2

Смесь 2-бромацетофенона (159 мг, 0.80 ммоль), триптамина (128 мг, 0.81 ммоль), молекулярного йода (162 мг, 0.64 ммоль), *трет*-бутилгидропероксида (154 мг, 1.20 ммоль) и 3 мл ДМСО нагревали на глицириновой бане при 110 °С в течение 5 ч. По данным ТСХ в реакционной смеси присутствует 1-(2'-бромбензоил)-β-карболин (**79**) с побочными продуктами. В реакционную смесь добавили *трет*-бутилгидропероксид (154 мг, 1.20 ммоль) и выдерживали на глицириновой бане при 110 °С в течение еще 5 ч. По данным ТСХ реакционная смесь содержит 1-(2'-бромбензоил)-β-карболин (**52a**) и незначительное количество продукта **110**.

В реакционную колбу добавили избыток молекулярного йода (162 мг, 0.64 ммоль) и нагревали на металлической бане при 150 °С в течение 5 ч. По данным ТСХ существенных изменений в реакционной смеси не происходит.

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

Вариант 1

Смесь 2-бромацетофенона (159 мг, 0.80 ммоль), триптамина (128 мг, 0.81 ммоль), молекулярного йода (648 мг, 2.55 ммоль) и 5 мл ДМСО поместили в круглодонную колбу объемом 10 мл, снабженную обратным холодильником, и нагревали её в микроволновом реакторе при 50 Вт (190 °С) в режиме открытого сосуда. Контроль за ходом реакции вели методом ТСХ. Через 1 ч в смеси отсутствовали исходные соединения. Увеличение времени реакции до 4 ч приводит к разложению реакционной смеси. Попытки проведения этой реакции при мощности микроволнового излучения 30 Вт и 40 Вт не привели к желаемому результату.

Вариант 2

Смесь 2-бромацетофенона (159 мг, 0.80 ммоль), гидрохлорида триптамина (164 мг, 0.83 ммоль), молекулярного йода (648 мг, 2.55 ммоль) и 5 мл ДМСО поместили в круглодонную колбу и кипятили её под действием микроволного излучения (50 Вт). ТСХ анализ показал, что через 1 ч в реакционной смеси присутствует соединение **110** вместе с 1-(2'-бромбензоил)- β -карболином в соотношении 1:1.

Вариант 3

В этом варианте использовали ту же смесь реактантов, что и в варианте 2, за исключением того, что вместо гидрохлорида триптамина использовали сульфат триптамина (226 мг, 0.80 ммоль). Реакционную смесь нагревали в микроволновой печи при меньшей мощности облучения (40 Вт), контролируя ход реакции методом ТСХ. Через 1 ч наблюдалось образование двух продуктов, через 2 ч в реакционной смеси доминировал продукт **110**, а через 3 ч реакционная смесь разлагалась.

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

Смесь 1-(2'-бромбензоил)- β -карболина (**52a**, 15 мг, 0.04 ммоль), молекулярного йода (100 мг, 0.39 ммоль), *n*-толуолсульфокислоты (50 мг, 0.29 ммоль) и 1 мл ДМСО поместили в пробирку, снабжённую обратным холодильником, и нагревали на масляной бане при 110 °С в течение 1 ч. Охлажденный раствор разбавили 50 мл воды и экстрагировали этилацетатом (3 x 10 мл). Объединенные экстракты промыли 10%-ным раствором тиосульфата натрия, высушили над безводным Na₂SO₄ и упарили под уменьшенным давлением. Остатки воды отделяли азеотропной перегонкой с хлороформом. Остаток хроматографировали на короткой колонке с SiO₂, элюируя продукт бензолом до отсутствия в элюате β -карболинов. Элюат упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали дважды методом ПТСХ в бензоле. Выход соединения **110** составил 14 мг (70%). Спектральные данные приведены в разделе 3.8 (вариант б).

3.12 Циклизация соединения 110 в производное фаскаплизина 103

Смесь 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина (12 мг, 0.025 ммоль) и 1.5 мл EtOAc, помещенную в круглодонную колбу, нагрели над спиртовкой до полного растворения кристаллов и раствор упарили на ротационном испарителе так, чтобы кристаллы равномерно распределились по дну колбы. Содержимое колбы высушили в вакуум-эксикаторе в течение 1 ч, после чего колбу выдержали в течение 40 мин в металлической бане при 200 °С. Содержимое колбы охладили и продукт реакции извлекли порциями горячей воды (5 x 7 мл) до прекращения окрашивания в красный цвет. Водный экстракт упарили на ротационном испарителе досуха при температуре бани 85 °С (5 мбар). Выход целевого продукта **103** составил 7 мг (58%).

Спектр ЯМР ¹H (MeOH-*d*₄): δ 9.36 (с, 1H), 8.93 (с, 1H), 8.87 (с, 1H), 8.32 (д, *J* = 7.5, 1H), 8.12 (д, *J* = 8.5, 1H), 8.03 (д, *J* = 7.2, 1H), 7.96 (дд, *J* = 7.0, 6.2, 1H), 7.74 (дд, *J* = 7.0, 6.2, 1H), 7.61 (д, *J* = 8.6, 1H).

Спектр ЯМР ¹³C (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.

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

Вариант 1

Смесь 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина (15 мг, 0.03 ммоль), фенилборной кислоты (2 мг, 0.016 ммоль), 300 мкл толуола, 120 мкл 2M водного раствора Na₂CO₃ и тетракис(трифенилфосфин)палладия (на кончике шпателя) поместили в пробирку на 5 мл, снабжённую обратным холодильником, продули аргоном и нагревали при 110 °С в течение 7 ч. Охлажденный раствор разбавили 50 мл воды и экстрагировали этилацетатом (3 x 10 мл). Экстракт упарили под уменьшенным давлением. Остатки воды отделяли азеотропной перегонкой с хлороформом. Остаток очищали методом ПТСХ в бензоле. Выход целевого продукта **111** составил 7.5 мг (85%), побочного продукта **112** – 1.3 мг (10%). При уменьшении количества 1-(2'-

бромбензоил)-6-йод-β-карболина (5 мг, 0.01 ммоль) и понижении температуры бани до 90 °С результат реакции был аналогичным.

1-(2'-Бромбензоил)-6-фенил-β-карболин (**111**): ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3344, 3049, 1655, 1593, 1479, 1464. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): δ 10.48 (уш. с, 1 H), 8.60 (д, 1H), 8.40 (с, 1H), 8.23 (д, 1H), 7.92 (дд, 1H), 7.73 (дд, 1 H), 7.60 (дд, 1 H), 7.52 - 7.56 (м, 1 H), 7.48 - 7.51 (м, 1H), 7.37 - 7.46 (м, 1H). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3): δ 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. HRMS-ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z : рассчитано для $\text{C}_{24}\text{H}_{16}^{81}\text{BrN}_2\text{O}^+$ 429.0441, найдено 429.0443.

1-(2'-Фенилбензоил)-6-фенил-β-карболин (**112**): HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ для $\text{C}_{30}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$: рассчитано – 425.1654, найдено – 425.1668.

Вариант 2

Смесь 1-(2'-бромбензоил)-6-йод-β-карболина (5 мг, 0.01 ммоль), 300 мкл раствора 4 мг фенилборной кислоты в 1 мл диоксана, тетраakis(трифенилфосфин)палладия (на кончике шпателя), ортофосфата натрия (2 мг, 0.012 ммоль) и 50 мкл воды поместили в пробирку на 5 мл, снабжённую обратным холодильником, продули аргоном и нагревали при 110 °С в течение 1 ч. По данным ТСХ реакция не протекает.

3.14 Получение 9-фенилфаскаплизина (113) из соединения 111

1-(2'-Бромбензоил)-6-фенил-β-карболин (36 мг, 0.085 ммоль) нагревали в закрытой виае при 220 °С в течение 40 мин. После охлаждения продукт был промыт этилацетатом (3 x 3 мл) и водой (3 x 10 мл). Водные экстракты были объединены, подкислены соляной кислотой и упарены при пониженном давлении. Получено 27 мг (77%) 9-фенилфаскаплизина в виде красного порошка.

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, $J_1 = J_2 = 7.7$, 1H), 7.49-7.64 (м, 2H), 6.49 (д, $J = 8.4$, 1H).

Спектр ^{13}C (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.

HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}^+$ 347.1179, найдено 347.1175.

3.15 Получение 6-йод-1-(2'-хлорбензоил)- β -карболина (114)

В плоскодонную колбу на 50 мл поместили 0.300 г (0.977 ммоль) 1-(2'-хлорбензоил)- β -карболина (**52a**), 2.680 г (10.552 ммоль) молекулярного йода, добавили 1.180 г (6.860 ммоль) *n*-толуолсульфокислоты и 15 мл диметилсульфоксида. Полученный раствор нагревали на масляной бане с обратным холодильником при температуре 150 °C в течение 1 часа. Охлажденный раствор разбавили 50 мл воды и экстрагировали хлороформом. Экстракт промыли 10%-ным раствором тиосульфата натрия, высушили над безводным Na_2SO_4 и упарили под уменьшенным давлением. Остаток очистили методом декантации серным эфиром. Выход целевого продукта **114** в виде желтого порошка составил 98%.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): δ 10.45 (уш. с, 1H), 8.58 (д, $J = 4.9$, 1H), 8.51 (с, 1H), 8.11 (д, $J = 4.9$, 1H), 7.89 (дд, $J = 8.6, 1.6$, 1H), 7.59 (дд, $J = 7.4, 1.5$, 1H), 7.39–7.54 (м, 4H).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3): δ 197.5, 140.0, 139.2, 138.0, 137.7, 136.5, 135.8, 131.8, 131.3, 130.8, 130.4, 130.1, 129.9, 126.4, 123.2, 119.2, 116.0, 114.0.

HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{18}\text{H}_{11}^{35}\text{ClIN}_2\text{O}^+$ 432.9599, найдено 432.9608.

3.16 Получение смеси триптаминов 116a и 116b

Смесь 4-бромбутаналь (1.33 г, 8.8 ммоль), гидрохлорида 3-бромфенилгидразина (0.50 г, 2.2 ммоль), EtOH (3 мл) и H_2O (1 мл) поместили в герметизированный сосуд на 10 мл и нагревали при 150 °C в течение 1 ч. После охлаждения смесь вылили в H_2O (100 мл) и экстрагировали EtOAc (3 \times 50 мл). Затем водный раствор обработали NaOH

до pH 12 и экстрагировали CH_2Cl_2 (3×50 мл). Объединенный органический слой промыли насыщенным раствором NaCl (2×100 мл), высушили над Na_2SO_4 и упарили. После колоночной флэш-хроматографии (EtOAc , затем EtOH/NH_3) соединения **116a** и **116b** были выделены в виде смеси в соотношении 1:1 (коричневое масло, 300 мг, 57%).

3.17 Получение 1-бензоил- β -карболинов **118a** и **118b**

2-Хлорацетофенон (71 мг, 0.458 ммоль) и молекулярный йод (92 мг, 0.366 ммоль) добавили к 2 мл ДМСО и полученный раствор нагревали при 90 °С в течение 1 ч. После этого к раствору добавили смесь соединений **116a** и **116b** (0.458 ммоль) в 1 мл ДМСО. Полученный раствор перемешивали при той же температуре в течение 3–4 ч до завершения реакции (контролируемой с помощью ТСХ). Затем реакционную смесь охладили до комнатной температуры, добавили H_2O (50 мл) и экстрагировали EtOAc (3×25 мл). Экстракт промыли 10%-ным $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, высушили над Na_2SO_4 , профильтровали и упарили при пониженном давлении. Целевые продукты выделили с помощью препаративной колоночной хроматографии, используя бензол или смесь бензол/гексан в качестве элюента.

5-Бром-1-(2'-хлорбензоил)- β -карболин (**118a**): желтый порошок, 27%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): δ 10.60 (уш. с, 1H), 8.79 (д, $J = 5.0$, 1H), 8.63 (д, $J = 5.0$, 1H), 7.62 (д, $J = 0.6$, 1H), 7.59–7.61 (м, 1H), 7.41–7.57 (м, 5H). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3): δ 197.6, 142.1, 139.1, 138.1, 136.7, 135.5, 131.8, 131.3, 131.3, 130.0, 129.9, 129.9, 126.3, 125.0, 121.0, 120.1, 118.2, 111.0. HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{18}\text{H}_{11}^{79}\text{Br}^{35}\text{ClN}_2\text{O}^+$ 384.9738, найдено 384.9745.

7-Бromo-1-(2'-хлорбензоил)- β -карболин (**118b**): желтый порошок, 28%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): δ 10.44 (уш. с, 1H), 8.58 (д, $J = 4.9$, 1H), 8.14 (д, $J = 4.9$, 1H), 8.05 (д, $J = 8.3$, 1H), 7.81 (д, $J = 1.4$, 1H), 7.60 (дд, $J = 7.4$, 1.6, 1H), 7.39–7.56 (м, 4H). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3): δ 197.5, 141.8, 139.3, 138.1, 136.8, 135.8, 131.8, 131.3, 131.2, 130.1, 129.9, 126.3, 124.5, 123.2, 123.0, 119.7, 119.0,

115.2. HRMS-ESI, m/z : $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{18}H_{11}^{79}Br^{35}ClN_2O^+$ 384.9738, найдено 384.9743.

3.18 Получение арилзамещенных 1-бензоил- β -карболинов

1-(2'-Хлоробензоил)- β -карболин **114**, **118a** или **118b** (0.055 ммоль), соответствующую арилборную кислоту (0.08 ммоль), карбонат калия (8.5 мг, 0.08 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладий (0) (0.9 mg, 1.4×10^{-3} mmol), 300 мкл толуола и 150 мкл воды поместили в вialу на 1 мл с завинчивающейся крышкой и тефлоновой прокладкой и перемешивали в атмосфере аргона при 90 °C в течение 7 ч. Охлажденный раствор разбавили 50 мл воды и экстрагировали этилацетатом (3 x 10 мл). Экстракт упарили при пониженном давлении. Остаток очищали методом препаративной колоночной хроматографии, используя в качестве элюента бензол, толуол или их смесь с гексаном.

Соединение **115**: желтое твердое вещество, 86%. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$): δ 10.47 (уш. с, 1H), 8.58 (д, $J = 5.0$, 1H), 8.38 (с, 1H), 8.21 (д, $J = 5.0$, 1H), 7.89 (дд, $J = 8.5$, 1.6, 1H), 7.67–7.75 (м, 3H) 7.62 (дд, $J = 7.3$, 1.8, 1H), 7.36–7.55 (м, 6H). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$): δ 197.6, 141.2, 140.5, 138.9, 138.3, 135.6, 134.7, 137.2, 131.9, 131.8, 131.2, 130.0, 129.9, 129.1, 128.9, 127.3, 127.0, 126.3, 121.3, 120.3, 119.2, 112.3. HRMS-ESI, m/z : $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{24}H_{16}^{35}ClN_2O^+$ 383.0946, найдено 383.0940.

Соединение **119a**: желтое твердое вещество, 85%. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$): δ 10.61 (уш. с, 1H), 8.33 (д, $J = 5.0$, 1H), 7.39–7.72 (м, 13H), 7.26 (д, $J = 1.3$, 1H). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$): δ 197.7, 141.5, 140.1, 139.3, 138.7, 138.4, 137.1, 135.3, 131.8, 131.4, 131.2, 130.0, 129.8, 129.2, 128.9, 128.7, 128.1, 126.3, 122.4, 120.8, 118.5, 110.9. HRMS-ESI, m/z : $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{24}H_{16}^{35}ClN_2O^+$ 383.0946, найдено 383.0944.

Соединение **119b**: желтое твердое вещество, 95%. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$): δ 10.51 (уш. с, 1H), 8.58 (д, $J = 4.9$, 1H), 8.24 (д, $J = 8.1$, 1H), 8.18 (д, J

= 4.9, 1H), 7.82 (д, $J = 0.6$, 1H), 7.71–7.77 (м, 2H), 7.60–7.65 (м, 2H), 7.40–7.57 (м, 6H). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3): δ 197.6, 143.0, 141.8, 141.1, 139.0, 138.3, 137.3, 135.4, 131.8, 131.6, 131.2, 130.0, 129.9, 129.0, 127.8, 127.6, 126.3, 122.2, 120.8, 119.8, 119.1, 110.4. HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{24}\text{H}_{16}^{35}\text{ClN}_2\text{O}^+$ 383.0946, найдено 383.0948.

Соединение **122a**: желтое твердое вещество, 28%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): δ 10.49 (уш. с, 1H), 8.59 (д, $J = 4.8$, 1H), 8.50 (с, 1H), 8.24 (д, $J = 4.8$, 1H), 8.15 (с, 1H), 8.03–7.86 (м, 5H), 7.73 (д, $J = 8.4$, 1H), 7.62 (д, $J = 6.7$, 1H), 7.56–7.42 (м, 5H). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3): δ 197.6, 140.6, 139.0, 138.5, 138.3, 137.2, 135.7, 134.6, 133.8, 132.4, 132.0, 131.8, 131.3, 130.1, 129.9, 129.4, 128.6, 128.1, 127.7, 126.4, 126.4, 125.9, 125.8, 121.4, 120.6, 119.3, 112.4. HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{28}\text{H}_{18}^{35}\text{ClN}_2\text{O}^+$ 433.1102, найдено 433.1109.

Соединение **122b**: желтое твердое вещество, 37%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): δ 10.53 (уш. с, 1H), 8.58 (д, $J = 4.9$, 1H), 8.30 (с, 1H), 8.16 (д, $J = 4.9$, 1H), 7.89–7.98 (м, 3H), 7.77–7.81 (м, 1H), 7.72–7.76 (м, 1H), 7.64 (дд, $J = 7.3$, 1.7, 1H), 7.59 (т, $J = 7.5$, 1H), 7.50–7.56 (м, 3H), 7.43–7.49 (м, 3H). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3): δ 197.6, 140.5, 140.0, 139.0, 138.3, 137.2, 135.7, 133.9, 133.8, 132.0, 131.9, 131.8, 131.2, 130.1, 129.9, 128.4, 127.7, 127.4, 126.4, 126.2, 126.0, 125.8, 125.4, 123.2, 120.9, 119.2, 111.8. HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{28}\text{H}_{18}^{35}\text{ClN}_2\text{O}^+$ 433.1102, найдено 433.1100.

Соединение **122c**: желтое твердое вещество, 22%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): δ 10.47 (уш. с, 1H), 8.59 (д, $J = 5.0$, 1H), 8.43 (с, 1H), 8.22 (д, $J = 5.0$, 1H), 7.94 (дд, $J = 8.5$, 1.7, 1H), 7.80 (м, 2H), 7.75 (с, 1H), 7.73 (д, $J = 2.7$, 1H), 7.70 (м, 1H), 7.68 (с, 1H), 7.62 (дд, $J = 7.4$, 1.7 Гц, 1H), 7.53–7.37 (м, 7H). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3): δ 197.6, 140.7, 140.6, 140.1, 139.9, 139.0, 138.3, 137.2, 135.7, 134.2, 132.0, 131.9, 131.3, 130.1, 139.9, 129.5, 129.0, 128.9, 127.7, 127.4, 127.1, 126.4, 121.4, 120.2, 119.2, 115.6, 112.4. HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{30}\text{H}_{20}^{35}\text{ClN}_2\text{O}^+$ 459.1259, найдено 459.1265.

3.19 Получение арилзамещенных фаскаплизинов 113, 120, 121 и 123a–c

Соответствующий β -карболин (0.3 ммоль) растворили в CHCl_3 (5 мл) и добавили SiO_2 (100–200 мкМ, 1.0 г), после чего растворитель упарили при пониженном давлении. Остаток выдержали при температуре 220–230 °С в среде аргона в течение 40 мин, после чего охладили до комнатной температуры и перенесли на фильтр Шотта. Силикагель сначала промыли CHCl_3 для удаления непрореагировавшего исходного соединения, затем промыли EtOH , содержащим HCl . Этанольный экстракт упарили при пониженном давлении, после чего целевой продукт очищали либо с помощью препаративной колоночной хроматографии с использованием смеси $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ 3:1 в качестве элюента, либо с помощью препаративной ВЭЖХ с использованием 70%-ного MeOH в качестве элюента.

Соединение **113**: красное твердое вещество, 54%. Спектральные характеристики представлены в 3.14.

Соединение **120**: красное твердое вещество, 77%. Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD): δ 9.10 (уш. с, 1H), 8.25 (д, $J = 6.5$, 1H), 8.03 (д, $J = 7.1$, 1H), 7.88–7.99 (м, 3H), 7.81 (д, $J = 8.3$, 1H), 7.72 (т, $J = 7.3$, 1H), 7.64 (уш. с, 5H), 7.39 (д, $J = 7.1$, 1H). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CD_3OD): δ 181.8, 147.9, 147.1, 141.1, 140.9, 138.6, 136.8, 134.3, 132.1, 131.3, 129.0, 128.8, 128.4, 125.7, 125.4, 124.2, 124.2, 120.1, 117.7, 116.0, 115.1, 112.2. HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}^+$ 347.1179, найдено 347.1173.

Соединение **121**: красное твердое вещество, 91%. Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD): δ 9.37 (уш. с, 1H), 8.92 (уш. с, 1H), 8.52 (д, $J = 7.4$, 1H), 8.33 (д, $J = 7.7$, 1H), 8.03 (д, $J = 7.2$, 1H), 7.92–8.01 (м, 2H), 7.80 (д, $J = 7.4$, 3H), 7.73 (т, $J = 7.2$, 1H), 7.53 (т, $J = 7.3$, 2H), 7.41–7.48 (м, 1H). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CD_3OD): δ 181.8, 148.1, 147.8, 147.3, 141.2, 139.6, 136.9, 131.2, 128.9, 128.6, 127.2, 125.4, 124.4, 124.1, 122.8, 122.0, 119.7, 118.9, 116.0, 116.0, 115.2, 110.7. HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}^+$ 347.1179, найдено 347.1177.

Соединение **123a**: коричневое твердое вещество, 60%. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6): δ 13.58 (уш. с, 1H), 9.70 (с, 1H), 9.23 (с, 1H), 9.05 (с, 1H), 8.49 (д, $J = 4.0$, 1H), 8.35–8.32 (м, 2H), 8.05–7.94 (м, 6H), 7.89 (д, $J = 7.2$, 1H), 7.72 (уш. с, 1H), 7.54 (т, $J = 7.3$, 2H). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, (ДМСО- d_6): δ 182.2, 166.3, 147.0, 146.3, 140.6, 137.1, 136.5, 134.8, 133.4, 133.2, 132.2, 131.4, 128.7, 128.1, 127.5, 126.9, 126.6, 126.3, 125.6, 125.3, 125.0, 124.0, 122.9, 122.3, 120.6, 120.2, 115.7, 115.5, 114.2. HRMS-ESI, m/z: $[\text{M}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{28}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}^+$ 397.1335, найдено 397.1330.

Соединение **123b**: красное твердое вещество, 54%. Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD): δ 9.32 (уш. с, 1H), 8.99 (уш. с, 1H), 8.59 (уш. с, 1H), 8.33 (уш. с, 1H), 8.07 (т, $J = 3.5$, 2H), 7.95–8.02 (м, 2H), 7.87–7.93 (м, 3H), 7.76 (т, $J = 6.7$, 2H), 7.39–7.61 (м, 4H). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CD_3OD): δ 181.8, 166.7, 147.3, 146.7, 141.4, 138.7, 136.9, 136.7, 136.2, 133.9, 131.5, 131.3, 129.1, 128.1, 127.9, 127.2, 126.5, 126.1, 125.7, 125.4, 125.1, 124.9, 124.6, 124.2, 120.1, 120.1, 115.1, 113.0. HRMS-ESI, m/z: $[\text{M}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{28}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}^+$ 397.1335, найдено 397.1339.

Соединение **123c**: коричневое твердое вещество, 47%. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6): δ 13.59 (уш. с, 1H), 9.70 (с, 1H), 9.23 (с, 1H), 8.99 (с, 1H), 8.50 (с, 1H), 8.28 (д, $J = 6.8$, 1H), 8.07–8.02 (м, 2H), 7.91–7.84 (м, 5H), 7.76–7.75 (м, 3H), 7.50 (уш. с, 2H), 7.40 (т, $J = 4.9$, 1H). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, ДМСО- d_6): δ 182.2, 166.3, 147.0, 146.3, 140.5, 139.3, 139.2, 138.1, 137.0, 134.5, 133.1, 131.4, 129.0, 127.6, 127.2, 126.9, 126.5, 125.6, 124.0, 123.0, 121.9, 120.6, 120.1, 115.6, 115.5, 114.1. HRMS-ESI, m/z: $[\text{M}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{30}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}^+$ 423.1492, найдено 423.1490.

Выводы

1. Взаимодействие алкалоида фаскаплизина с диметиловым и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты при 200 °С приводит к образованию алкалоидов гомофаскаплизинов В и В-1.

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

3. Показана возможность одностадийной конверсии гомофаскаплизина В в алкалоид гомофаскаплизин С, цитотоксическое действие которого в отношении культур опухолевых клеток простаты человека DU145 и LNCaP многократно превосходит аналогичный показатель для культур неопухолевых клеток PNT2 и HEK-293.

4. Разработана схема синтеза 9-арилзамещенных производных фаскаплизина, включающая йодирование 1-(2'-хлорбензоил)- β -карболина в положение 6, введение полученного продукта в реакцию Сузуки с арилборными кислотами и последующую кватернизацию арилированных полупродуктов.

5. Введение в положение 9 фаскаплизина фенильного фрагмента приводит к получению соединения с исключительно высокой противомикробной активностью *in vitro* в отношении грамположительных бактерий, в том числе резистентных к клинически применяемым антибиотикам, однако *in vivo* его активность сопоставима с активностью родоначального алкалоида.

6. На модели солидной аденокарциномы Эрлиха *in vivo* показано, что 9-фенилфаскаплизин в дозе 5.0 мг/кг тормозит рост опухоли на 31% по сравнению с контролем. Значение ЛД₅₀ для данного соединения составило 25 мг/кг, что позволяет отнести его к умеренно токсичным веществам.

Список публикаций

Статьи:

1. M. E. Zhidkov, M. A. Sidorova, I. A. Lyakhova. 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 // *Tetrahedron Lett.*-2018.- V. 59.- No.14.- P. 1417-1420.
doi.org/10.1016/j.tetlet.2018.02.070.
2. M. E. Zhidkov, M. Kaune, A. V. Kantemirov, P. A. Smirnova, P. V. Spirin, M. A. Sidorova, S. A. Stadnik, E. Y. Shyrokova, D. N. Kaluzhny, O. A. Tryapkin, T. Busenbender, J. Hauschild, T. Rohlfing, V. S. Prassolov, C. Bokemeyer, M. Graefen, G. von Amsberg, S. A. Dyshlovoy. Study of structure-activity relationships of the marine alkaloid fascaplysin and its derivatives as potent anticancer agents // *Mar. Drugs.*-2022.-V.20.-No.3.-P.185.
doi.org/10.3390/md20030185.
3. 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. Comparative evaluation of the antibacterial and antitumor activities of 9-phenylfascaplysin and its analogs // *Mar. Drugs.*-2024.-V.22.-No.2.- P. 53.
doi.org/10.3390/md22020053.

Тезисы докладов

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

Список литературы

- 1) D. M. Roll, C. M. Ireland, H. S. M. Lu, J. Clardy. Fascaplysin, an unusual antimicrobial pigment from the marine sponge *Fascaplysinopsis* sp. // J. Org. Chem.- 1988.- V. 53.- No. 14.- P. 3276-3278.
- 2) N. L. Segraves, S. J. Robinson, D. Garcia, S. A. Said, X. Fu, F. J. Schmitz, H. Pietraszkiewicz, F. A. Valeriote, P. Crews. Comparison of fascaplysin and related alkaloids: a study of structures, cytotoxicities, and sources // J. Nat. Prod.- 2004.- V. 67.- No. 5.- P. 783-792.
- 3) C. Jimenez, E. Quinoa, M. Adamczeski, L. M. Hunter, P. Crews. Novel sponge-derived amino acids. 12. Tryptophan-derived pigments and accompanying sesterterpenes from *Fascaplysinopsis reticulata* // J. Org. Chem.- 1991.- V. 56.- No. 10.- P. 3403-3410.
- 4) C. Jimenez, E. Quinoa, P. Crews. Novel marine sponge alkaloids 3. β -Carbolinium salts from *Fascaplysinopsis reticulata* // Tetrahedron Lett.- 1991.- V. 32.- No. 16.- P. 1843-1846.
- 5) N. L. Segraves, S. Lopez, T. A. Johnson, S. A. Said, X. Fu, F. J. Schmitz, H. Pietraszkiewicz, F. A. Valeriotec, P. Crews. Structures and cytotoxicities of fascaplysin and related alkaloids from two marine phyla—*Fascaplysinopsis* sponges and *Didemnum tunicates* // Tetrahedron Lett.- 2003.- V. 44.- No. 17.- P. 3471-3475.
- 6) E. W. Schmidt, D. J. Faulkner. Palauolol, a new anti-inflammatory sesterterpene from the sponge *Fascaplysinopsis* sp. from Palau // Tetrahedron Lett.- 1996.- V. 37.- No. 23.- P. 3951-3954.
- 7) G. Kirsch, G. M. Konig, A. D. Wright, R. Kaminsky. A new bioactive sesterterpene and antiplasmodial alkaloids from the marine sponge *Hyrtios* cf. *erecta* // J. Nat. Prod.- 2000.- V. 63.- No. 6.- P. 825-829.

- 8) 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. Isolation, structure determination and cytotoxicity studies of tryptophan alkaloids from an Australian marine sponge *Hyrtios* sp. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*- 2014.- V.24.- P. 3329–3332.
- 9) R. D. Charan, T. C. McKee, M. R. Boyd. Cytotoxic alkaloids from the marine sponge *Thorectandra* sp. // *Nat. Prod. Res.*- 2004.- V. 18.- No. 3.- P. 225-229.
- 10) А. М. Попов, В. А. Стоник. Физиологическая активность фаскаплизина – необычного пигмента из морских тропических губок // *Антибиотики и химиотерапия.*- 1991.- Т. 36.- № 1.- С. 96-98.
- 11) А. М. Попов, Т. Н. Макарьева, С. А. Федореев, В. А. Стоник. Противоопухолевая и цитостатическая активности низкомолекулярных метаболитов из морских тропических губок // *Химиотерапия опухолей в СССР.*- 1991.- Т. 56.- С. 61-66.
- 12) T. A. Foderaro, L. R. Barrows, P. Lassota, C. M. Ireland. Bengacarboline, a new β -carboline from a marine ascidian *Didemnum* sp. // *J. Org. Chem.*- 1997.- V. 62.- No. 17.- P. 6064-6065.
- 13) Z. Lu, Y. Ding, X.-C. Li, D. R. Djigbenou, B. T. Grimberg, D. Ferreira, C.M. Ireland, R. M. Van Wagoner. 3-Bromohomofascaplysin A, a fascaplysin analogue from a Fijian *Didemnum* sp. ascidian // *Bioorg. Med. Chem.*-2011.- V.19.- P. 6604–6607.
- 14) L. A. Tziveleka, C. Vagias, V. Roussis. Natural products with anti-HIV activity from marine organisms // *Curr. Top. Med. Chem.*- 2003.- V. 3.- No. 13.- P. 1512-1535.
- 15) M. Q. Klinkert, V. Heussler. The use of anticancer drugs in antiparasitic chemotherapy // *Mini Rev. Med. Chem.*- 2006.- V. 6.- No. 2.- P. 131-143.
- 16) A. Hormann, B. Chaudhuri, H. Fretz. DNA binding properties of the marine sponge pigment fascaplysin // *Bioorg. Med. Chem.*- 2001.- V. 9.- No. 4.- P. 917-921.

- 17) R. Soni, L. Muller, P. Furet, J. Schoepfer, C. Stephan, S. Zunstein-Mecker, H. Fretz, B. Chaudhuri. Inhibition of cyclin-dependent kinase 4 (Cdk4) by fascaplysin, a marine natural product // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*- 2000.- V. 275.- No. 3.- P. 877-884.
- 18) B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter. *Molecular biology of the cell* // New York: Garland Science.- 2002.- 536 p.
- 19) P. Łukasik, I. Baranowska-Bosiacka, K. Kulczycka, I. Gutowska. Inhibitors of cyclin-dependent kinases: types and their mechanism of action // *Int.J.Mol. Sci.*-2021.-V.22.- No.6.-P.2806.
- 20) C. Aubry, A. Patel, S. Mahale, B. Chaudhuri, J-D. Mare'chal, M. J. Sutcliffe, P. R. Jenkins. The design and synthesis of novel 3-[2-(indol-1-yl)-ethyl]-1*H*-indole derivatives as selective inhibitors of CDK4 // *Tetrahedron Lett.*- 2005.- V. 46.- No. 9.- P. 1423-1425.
- 21) 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. Fascaplysin-inspired diindolyls as selective inhibitors of CDK4/cyclin D1 // *Bioorg. Med. Chem.*- 2009.- V. 17.- No. 16.- P. 6073–6084.
- 22) C. Aubry, P. R. Jenkins, S. Mahale, B. Chaudhuri, J.-D. Maréchal. New fascaplysin-based CDK4-specific inhibitors: design, synthesis and biological activity // *Chem. Commun.*- 2004.- No. 15.- P. 1696-1697.
- 23) P. R. Jenkins, J. Wilson, D. Emmerson, M. D. Garcia, M. R. Smith, S. J. Gray, R. G. Britton, S. Mahale, B. Chaudhuri. Design, synthesis and biological evaluation of new tryptamine and tetrahydro- β -carboline-based selective inhibitors of CDK4 // *Bioorg. Med. Chem.*- 2008.- V. 16.- No. 16.- P. 7728–7739.
- 24) S. Mahale, S. B. Bharate, S. Manda, P. Joshi, S. S. Bharate, P. R. Jenkins, R. A. Vishwakarma, B. Chaudhuri. Biphenyl-4-carboxylic acid [2-(1*H*-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 // *J. Med. Chem.*- 2014.- V. 57.- No. 22.- P. 9658-9672.

- 25) C. Aubry, A. J. Wilson, P. R. Jenkins, S. Mahale, B. Chaudhuri, J-D. Marechal, M. J. Sutcliffe. Design, synthesis and biological activity of new CDK4-specific inhibitors, based on fascaplysin // *Org. Biomol. Chem.*- 2006.- No. 6.- P. 787-801.
- 26) S. Mahale, C. Aubry, P. R. Jenkins, J-D. Marechal, M. J. Sutcliffe, B. Chaudhuri. Inhibition of cancer cell growth by cyclin dependent kinase 4 inhibitors synthesized based on the structure of fascaplysin // *Bioorg. Chem.*- 2006.- V. 34.- No. 5.- P. 287-297.
- 27) S. Mahale, S. B. Bharate, S. Manda, P. Joshi, P. R. Jenkins, R. A. Vishwakarma, B. Chaudhuri. Antitumour potential of BPT: a dual inhibitor of cdk4 and tubulin polymerization // *Cell Death Dis.*- 2015.- V. 6.- No. 5.- P. 1743-1756.
- 28) X.L. Lu, Y.L. Zheng, H.M. Chen, X.J. Yan, F. Wang, W.F. Xu. Antiproliferation of human cervical cancer HeLa cell line by fascaplysin through apoptosis induction // *Yao Xue Xue Bao.*- 2009.-V.44.- No.9.- P.980-986.
- 29) Y.L. Zheng, X.L. Lu, J. Lin, H.M. Chen, X.J. Yan, F. Wang, W.F. Xu. Direct effects of fascaplysin on human umbilical vein endothelial cells attributing the anti-angiogenesis activity // *Biomedicine & Pharmacotherapy.*- 2010.-V.64.- P. 527-533.
- 30) F. Wang, H. Chen, X. Yan, Y. Zheng. Fascaplysin sensitizes cells to TRAIL-induced apoptosis through upregulating DR5 expression // *Chin.J.Oceanol.Limnol.*-2013.-V.31.- No.3.- P.560-569.
- 31) G. Hamilton. Cytotoxic effects of fascaplysin against small cell lung cancer cell lines // *Mar. Drugs.*-2014.-V.12.- P. 1377-1389.
- 32) S. Kumar, S.K. Guru, A.S. Pathania, S. Manda, A. Kumar, S.B. Bharate, R.A. Vishwakarma, F. Malik, Sh. Bhushan. Fascaplysin induces caspase mediated crosstalk between apoptosis and autophagy through the inhibition of PI3K/AKT/mTOR signaling cascade in human leukemia HL-60 cells // *J.Cell Biochem.*-2015.-V.116.- No.6.- P. 985-997.

- 33) N. Meng, X. Mu, X. Lv, L. Wang, N. Li, Y. Gong. Autophagy represses faspaplysin-induced apoptosis and angiogenesis inhibition via ROS and p8 in vascular endothelia cells // *Biomed. Pharmacother.*- 2019.- V.114.- P. 108866.
- 34) T. Oh, J. H. Lee, S. Kim, T. Nam, Y. Kim, B. M. Kim, W. J. Yim, J. Lim. Faspaplysin sensitizes anti-cancer effects of drugs targeting AKT and AMPK // *Molecules.*- 2018.- V. 23.- No. 1.- P. 42.
- 35) X. Yan, H. Chen, X. Lu, F. Wang, W. Xu, H. Jin, P. Zhu. Faspaplysin exerts anti-tumor effects through apoptotic and anti-angiogenesis pathways in sarcoma mice model // *Eur. J. Pharm. Sci.*- 2011.- V. 43.- No. 4.- P. 251-259.
- 36) J. Lin, X-J. Yan, H-M. Chen. Faspaplysin, a selective CDK 4 inhibitor, exhibits antiangiogenic activity *in vitro* and *in vivo* // *Cancer Chemother. Pharmacol.*- 2007.- V. 59.- No. 4.- P. 439–445.
- 37) D. Hanahan, R. A. Weinberg. The hallmarks of cancer // *Cell*- 2000.- V. 100.- P. 57–70.
- 38) J. Folkman. Angiogenesis // *Annu. Rev. Med.*- 2006.- V. 57.- P. 1–18.
- 39) T. Oh, Y. Lee, T. Nam, Y. Ko, S. Mah, J. Kim, Y. Kim, R. H. Reddy, Y. J. Kim, S. Hong, J. Lim. Faspaplysin exerts anti-cancer effects through the downregulation of survivin and HIF-1 α and inhibition of VEGFR2 and TRKA // *Int. J. Mol. Sci.*- 2017.- V. 18.- No. 10.- P. 2074-2089.
- 40) S. B. Bharate, S. Manda, P. Joshi, B. Singh, R. A. Vishwakarma. Total synthesis and anti-cholinesterase activity of marine-derived bisindole alkaloid faspaplysin // *Med. Chem. Commun.*- 2012.- No. 9.- P.1098-1103.
- 41) 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. Discovery of a marine-derived bis-indole alkaloid faspaplysin, as a new class of potent P-glycoprotein inducer and establishment of its structure-activity relationship // *Eur. J. Med. Chem.*- 2016.- V. 107.- P. 1-11.

- 42) T. A. Johnson, L. Milan-Lobo, T. Che, M. Ferwerda, E. Lambo, N. L. McIntosh, F. Li, L. He, N. Lorig-Roach, P. Crews, J. L. Whistler. Identification of the first marine-derived opioid receptor “balanced” agonist with a signaling profile that resembles the endorphins // *ACS Chem. Neurosci.*- 2017.- V. 8.- No. 3.- P. 473-485.
- 43) A. M. Trescot, S. Datta, M. Lee, H. Hansen. Opioid pharmacology // *Pain Physician.*- 2008.- V. 11.- P. 133-153.
- 44) H. C. S. Chan, D. McCarthy, J. Li, K. Palczewski, S. Yuan. Designing safer analgesics via μ -opioid receptor pathways // *Trends Pharmacol. Sci.*- 2017.- V. 38.- P. 1016-1037.
- 45) G. W. Gribble, B. Pelcman. Total synthesis of the marine sponge pigment fascaplysin // *Tetrahedron Lett.* - 1990.- V. 31.- No. 17.- P. 2381-2384.
- 46) G. W. Gribble, B. Pelcman. Total syntheses of the marine sponge pigments fascaplysin and homofascaplysin B and C // *J. Org. Chem.*- 1992.- V. 57.- No. 13.- P. 3636-3642.
- 47) Y. Dai, W. Zhang, K. Wang, W. Wang, W. Zhang. Synthesis of homofascaplysin B, C and analogues by the photocyclization of 3-acyl-2-chloro-1-[2-(indol-3-yl)ethyl]indoles // *Tetrahedron.*- 2013.- V. 69.- No. 7.- P. 1912-1918.
- 48) P. Rocca, F. Marsais, A. Godart, G. Queguiner. A short synthesis of the antimicrobial marine sponge pigment fascaplysin // *Tetrahedron Lett.*- 1993.- V. 34.- No. 49.- P. 7917-7918.
- 49) P. Molina, P. M. Fresneda, S. Garciazafra, P. Almendros. Iminophosphorane-mediated syntheses of the fascaplysin alkaloid of marine origin and nitramarine // *Tetrahedron Lett.*- 1994.- V. 35.- No. 47.- P. 8851-8854.

- 50) S. V. Dubovitskii. Method for synthesis of 12*H*-pyrido[1,2-*a*:3,4-*b*]diindoles. Total synthesis of homofascaplysin C // *Tetrahedron Lett.*- 1997.-V. 37.- P. 5207-5208.
- 51) M. E. Zhidkov, O. V. Baranova, N. S. Kravchenko, S. V. Dubovitskii. A new method for the synthesis of the marine alkaloid fascaplysin // *Tetrahedron Lett.* - 2010.- V. 51.- No. 50.- P. 6498–6499.
- 52) O. S. Radchenko, V. L. Novikov, G. B. Elyakov. A simple and practical approach to the synthesis of the marine sponge pigment fascaplysin and related compounds // *Tetrahedron Lett.*- 1997.- V. 38.- No. 30.- P. 5339-5342.
- 53) M. E. Zhidkov, O. V. Baranova, N. N. Balaneva, S. N. Fedorov, O. S. Radchenko, S. V. Dubovitskii. 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 // *Tetrahedron Lett.*- 2007.- V. 48.- No. 45.- P. 7998-8000.
- 54) D. S. Carter, D. L. Van Vranken. Synthesis of homofascaplysin C and indolo[2,3-*a*]carbazole from ditryptophans // *J. Org. Chem.* – 1999.-V. 64.- P. 8537-8545.
- 55) X. Mei, A. Ru, H. Tao, H. Xiao-jiang, L. Sheng. A biomimetic synthesis of homofascaplysin C from ditryptophans // *Tetrahedron Lett.*- 2016.- V. 57.- No.11.- P. 1247-1249.
- 56) H. Waldmann, L. Eberhardt, K. Wittstein, K. Kumar. Silver catalyzed cascade synthesis of alkaloid ring systems: concise total synthesis of fascaplysin, homofascaplysin C and analogues // *Chem. Commun.*- 2010.- V. 46.- No. 25.- P. 4622–4624.
- 57) M. E. Zhidkov, V. A. Kaminskii. A new method for the synthesis of the marine alkaloid fascaplysin based on the microwave-assisted Minisci reaction // *Tetrahedron Lett.*- 2013.- V. 54.- No. 27.- P. 3530–3532.

- 58) Y. P. Zhu, M. C. Liu, Q. Cai, F. C. Jia, A. X. Wu. A cascade coupling strategy for one-pot total synthesis of β -carboline and isoquinoline-containing natural products and derivatives // *Chem. Eur. J.*- 2013.- V. 19.- No. 31.- P. 10132-10137.
- 59) N. Battini, A. K. Padala, N. Mupparapu, R. A. Vishwakarma, Q. N. Ahmed. Unexplored reactivity of 2-oxoaldehydes towards Pictet–Spengler conditions: concise approach to β -carboline based marine natural products // *RSC Adv.* – 2014.- V. 4.- P. 26258-26263.
- 60) S. U. Dighe, S. K. Samanta, S. Kolle, S. Batra. Iodine-mediated oxidative Pictet-Spengler reaction using terminal alkyne as the 2-oxoaldehyde surrogate for the synthesis of 1-aryl- β -carbolines and fused-nitrogen heterocycles // *Tetrahedron.*- 2017. – V. 73.- P. 2455-2467.
- 61) O. A. Tryapkin, A. V. Kantemirov, S. A. Dyshlovoy, V. S. Prassolov, P. V. Spirin, G. von Amsberg, M. A. Sidorova, M. E. Zhidkov. A new mild method for synthesis of marine alkaloid fascaplysin and its therapeutically promising derivatives // *Mar. Drugs.*- 2023.-V.21.- P. 424.
- 62) T. Posner, G. Pyl. Beitrage zur kenntnis der indigo-gruppe, II.: Uber einen neuen, aus indigo und malonester entstehenden kupenfarbstoff // *Ber.*- 1923.- Bd. 56.- S. 31-44.
- 63) T. Posner, W. Kemper. Beitrage zur kenntnis der indigo-gruppe, IV.: Uber einen neuen aus indigo und phenylessigester entstehenden kupenfarbatoff // *Ber.*- 1924.- Bd. 57.- S. 1311-1315.
- 64) M. E. Zhidkov, A. V. Kantemirov, A. V. Koisevnikov, A. N. Andin, A. S. Kuzmich. Syntheses of the marine alkaloids 6-oxofascaplysin, fascaplysin and their derivatives // *Tetrahedron Lett.*- 2018.- V. 59.- P. 708-711.
- 65) H. Fretz, K. Ucci-Stoll, P. Hug, J. Schoepfer, M. Lang. Investigations on the reactivity of fascaplysin. Part I. Aromatic electrophilic substitutions

- occur at position 9 // *Helv. Chim. Acta.*- 2000.- V. 83.- No. 11.- P. 3064-3068.
- 66) H. Fretz, K. Ucci-Stoll, P. Hug, J. Schoepfer, M. Lang. Investigations on the reactivity of fascaplysin. Part II. General stability considerations and products formed with nucleophiles // *Helv. Chim. Acta.*- 2001.- V. 84.- No. 4.- P. 867-873.
- 67) A.S. Kuzmich, S.N. Fedorov, V.V. Shastina, L.K. Shubina, O.S. Radchenko, N.N. Balaneva, M.E. Zhidkov, J.-I. Park, J.Y. Kwak, V.A. Stonik. The anticancer activity of 3- and 10-bromofascaplysin is mediated by caspase-8, -9, -3-dependent apoptosis // *Bioorg. Med. Chem.*- 2010.- V.18.- P. 3834–3840.
- 68) I. A. Lyakhova, I. S. Bryukhovetsky, I. V. Kudryavtsev, Yu. S. Khotimchenko, M. E. Zhidkov, A. V. Kantemirov. Antitumor activity of fascaplysin derivatives on glioblastoma model *in vitro* // *Bull.Exp.Biol.Med.*-2018.-V.164.- No.5.- P.666-672.
- 69) S. Sharma, S. G. Kumar, S. Manda, A. Kumar, M. J. Minto, V. D. Prasad, P. R. Sharma, D. M. Mondhe, S. B. Bharate, S. Bhushan. A marine sponge alkaloid derivative 4-chlorofascaplysin inhibits tumor growth and VEGF mediated angiogenesis by disrupting PI3K/Akt/mTOR signaling cascade // *Chemico-Biol. Interact.*- 2017.- V. 275.- P. 47-60.
- 70) M. E. Zhidkov, P. A. Smirnova, O. A. Tryapkin, A. V. Kantemirov, Yu. V. Khudyakova, O. S. Malyarenko, S. P. Ermakova, V. P. Grigorchuk, M. Kaune, G. von Amsberg, S. A. Dyshlovoy. Total syntheses and preliminary biological evaluation of brominated fascaplysin and reticulatine alkaloids and their analogues // *Mar.Drugs.*- 2019.- V.17.- No. 9.-P. 496.
- 71) P. V. Spirin, E. Shyroкова, T. Lebedev, E. Vagapova, P. Smirnova, A. Kantemirov, S.A. Dyshlovoy, G. von Amsberg, M. E. Zhidkov, V.S. Prassolov. Cytotoxic marine alkaloid 3,10-dibromofascaplysin induces

- apoptosis and synergizes with cytarabine resulting in leukemia cell death // Mar. Drugs.- 2021.- V.19.-P. 489.
- 72) S.A. Dyshlovoy, M. Kaune, J. Hauschild, M. Kriegs, K. Hoffer, T. Busenbender, P.A. Smirnova, M.E. Zhidkov, E.V. Poverennaya, S.J. Oh-Hohenhorst, P. V. Spirin, V. S. Prassolov, D. Tilki, C. Bokemeyer, M. Graefen, G. von Amsberg. Efficacy and mechanism of action of marine alkaloid 3,10-dibromofascaplysin in drug-resistant prostate cancer cells // Mar. Drugs.- 2020.- V.18.-P. 609.
- 73) M. E. Zhidkov, P. A. Smirnova, N. E. Grammatikova, E. B. Isakova, A. E. Shchekotikhin, O. N. Styshova, A. A. Klimovich, A. M. Popov. Comparative evaluation of the antibacterial and antitumor activities of marine alkaloid 3,10-dibromofascaplysin // Mar.Drugs.- 2025.- V.23.- P. 68.
- 74) S.A. Dyshlovoy, W.Y. Mansour, N.A. Ramm, J. Hauschild, M.E. Zhidkov, M. Kriegs, A. Zielinski, K. Hoffer, T. Busenbender, K.A. Glumakova, P.V. Spirin, V.S. Prassolov, D. Tilki, M. Graefen, C. Bokemeyer, G. von Amsberg. Synthesis and new DNA targeting activity of 6- and 7-*tert*-butylfascaplysin // Sci Rep.- 2024.-V.14.- No.1.-P. 11788.
- 75) H. Pan, B. Qiu, K. Zhang, P. Zhang, W. Liang, M. Yang, C. Mou, M. Lin, M. He, X. Xiao, D. Zhang, H. Wang, F. Liu, Y. Li, H. Jin, X. Yan, H. Liang, W. Cui. Fascaplysin derivatives are potent multitarget agents against Alzheimer's disease: *in vitro* and *in vivo* evidence // ACS Chem. Neurosci.- 2019.-V.10.-P. 4741–4756.
- 76) Q. Sun, F. Liu, J. Sang, M. Lin, Lin, J. Ma, X. Xiao, S. Yan, C.B. Naman, N. Wang, S. He, X. Yan, W. Cui, H. Liang. 9-Methylfascaplysin is a more potent A β aggregation inhibitor than the marine-derived alkaloid, fascaplysin, and produces nanomolar neuroprotective effects in SH-SY5Y cells // Mar. Drugs.-2019.-V.17.-P. 121.
- 77) X. Wang, H. Qiu, N. Yang, H. Xie, W. Liang, J. Lin, H. Zhu, Y. Zhou, N. Wang, X. Tan, J. Zhou, W. Cui, D. Teng, J. Wang, H. Liang. Fascaplysin derivatives binding to DNA via unique cationic five-ring

- coplanar backbone showed potent antimicrobial/antibiofilm activity against MSRA *in vitro* and *in vivo* // Eur. J. Med. Chem.- 2022.- V. 230.- P. 114094.
- 78) H. Qiu, X. Zhao, Y. Jiang, W. Liang, W. Wang, X. Jiang, M. Jiang, X. Wang, W. Cui, Y. Li, K. Tang, T. Zhang, L. Zhao, H. Liang. Design and synthesis of faspaplysin derivatives as inhibitors of FtsZ with potent antibacterial activity and mechanistic study // Eur J Med Chem.-2023.- V.254.-P. 115348.
- 79) R.L. Lock, E.J. Harry. Cell-division inhibitors: New insights for future antibiotics // Nat. Rev. Drug Discov.- 2008.- V.7.- P. 324–338.
- 80) И. А. Ляхова. Исследование в области синтеза 9-бензоилфаскаплизина: выпускная квалификационная работа : защищена 15.06.2011 / И. А. Ляхова. –Владивосток, 2011. - 74 с.
- 81) Н. Горобец. 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.
- 82) С.С. Бердоносков. Микроволновая химия//Соросовский образовательный журнал.- 2001.- Т. 7.- № 1.- С. 32-38.
- 83) C. S. Franklin, A. C. White. A novel preparation of α -substituted tryptamines from isatins // J. Chem. Soc.- 1963.- V. 196.- No. 2.- P. 1335-1337.
- 84) M. S. Naykode, V. T. Humne, P. D. Lokhande. A one-pot direct iodination of the Fischer–Borsche ring using molecular iodine and its utility in the synthesis of 6-oxygenated carbazole alkaloids // J. Org. Chem.- 2015.- V. 80.- P. 2392-2396.
- 85) D. Bogdal, M. Lukasiewicz, J. Pielichowski. Halogenation of carbazole and other aromatic compounds with hydrohalic acids and hydrogen peroxide under microwave irradiation // Green Chem.- 2004.- V. 6.- P. 110-113.

- 86) P. Luliński, M. Sosnowski, L. Skulski. A novel aromatic iodination method, with sodium periodate used as the only iodinating reagent // *Molecules*. -2005.- V. 10.- P. 516–520.
- 87) A. R. Pourali, M. Ghanei. Direct iodination of aromatic compounds with polyvinylpyrrolidone supported hydrogen peroxide (PVP-H₂O₂) and potassium iodide or molecular iodine // *Chin. J. Chem.*- 2006.- V. 24.- P. 1077—1079.
- 88) M. S. Yusubov, E. N. Tveryakova, E. A. Krasnokutskaya, I. A. Perederyna, V. V. Zhdankin. Solvent-free iodination of arenes using iodine–silver nitrate combination // *Synth. Commun.*- 2007.- V. 37.- P. 1259–1265.
- 89) R. S. Ribeiro, P. M. Esteves, M. C. S. Mattos. Triiodoisocyanuric acid: a new and convenient reagent for regioselective iodination of activated arenes // *J. Braz. Chem. Soc.*- 2008.- V. 19.- No. 7.- P. 1239-1243.
- 90) K. S. K. Reddy, N. Narender, C. N. Rohitha, S. J. Kulkarni. Iodination of aromatic compounds using potassium iodide and hydrogen peroxide // *Synth. Commun.*- 2008.- V. 38.- P. 3894–3902.
- 91) Пат. US 2014/008640 A1. Asymmetric monoanthracene derivative, material for organic electroluminescent device and organic electroluminescent device utilizing the same / Kubota M.; заявитель и патентообладатель Токуо. Idemitsu Kosan, CO. – № 14/021,729; заявл. 09.09.2013 ; опубл. 09.01.2014.
- 92) Пат. US 2006/0276329 A1. Asymmetric synthesis catalyst based on chiral Brensted acid and method of asymmetric synthesis with the catalyst / Takahiko; заявитель и патентообладатель Токуо. Idemitsu Kosan, CO. – № 10/554,369 ; заявл 20.04.2004 ; опубл.07.12.2006.
- 93) Г. И. Жунгиету, В. А. Будылин, А. Н. Кост. Препаративная химия индола // Академия наук Молдавской ССР. – 1975.- 245 с.
- 94) G. Rizzo, G. Albano, M. L. Presti, A. Milella, F. G. Omenetto, G.M. Farinola. Palladium supported on silk fibroin for Suzuki–Miyaura cross-

coupling reactions // Eur. J. Org. Chem.- 2020.- V. 2020.- No.45.- P. 6941-7100.

- 95) X. Zhao, X. Cao, H. Qiu, W. Liang, Y. Jiang, Q. Wang, W. Wang, C. Li, Y. Li, B. Han, K. Tang, L. Zhao, X. Zhang, X. Wang, H. Liang. Rational molecular design converting fascaplysin derivatives to potent broad-spectrum inhibitors against bacterial pathogens via targeting FtsZ // Eur.J.Med.Chem.- 2024.-V.270.-P. 116347.

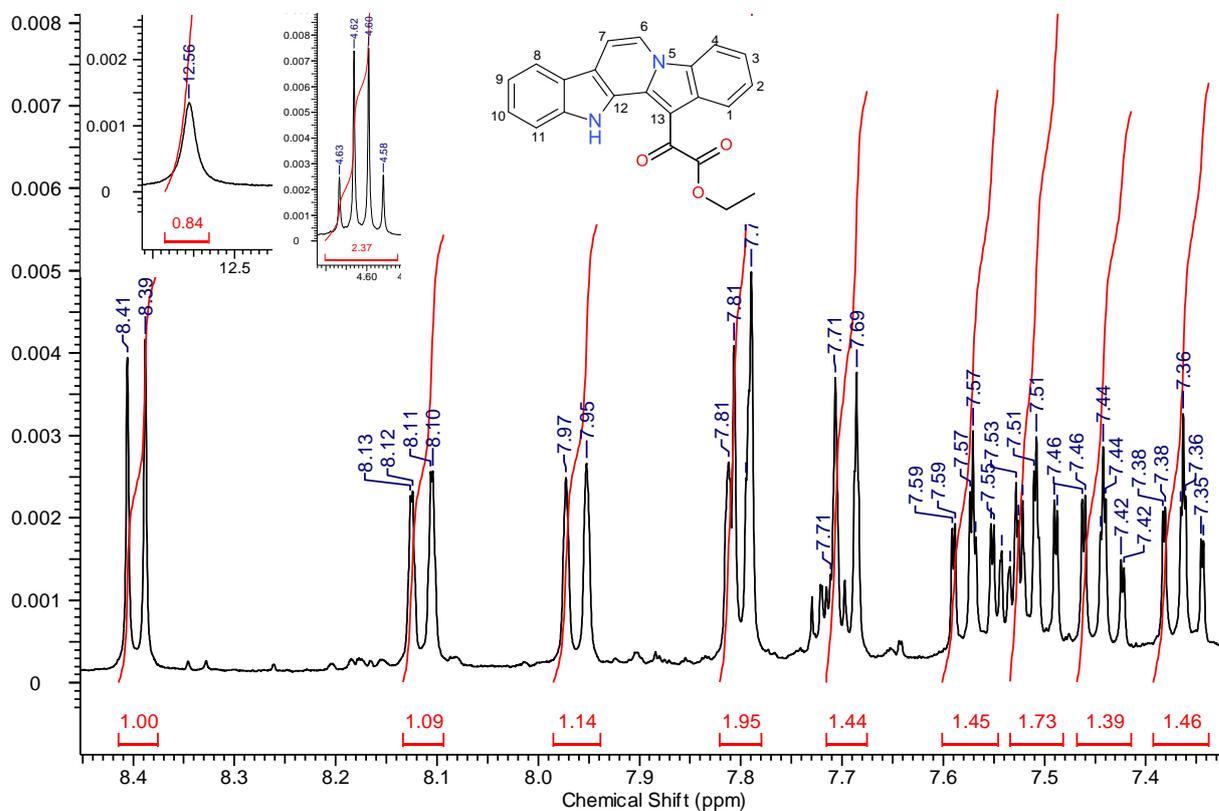
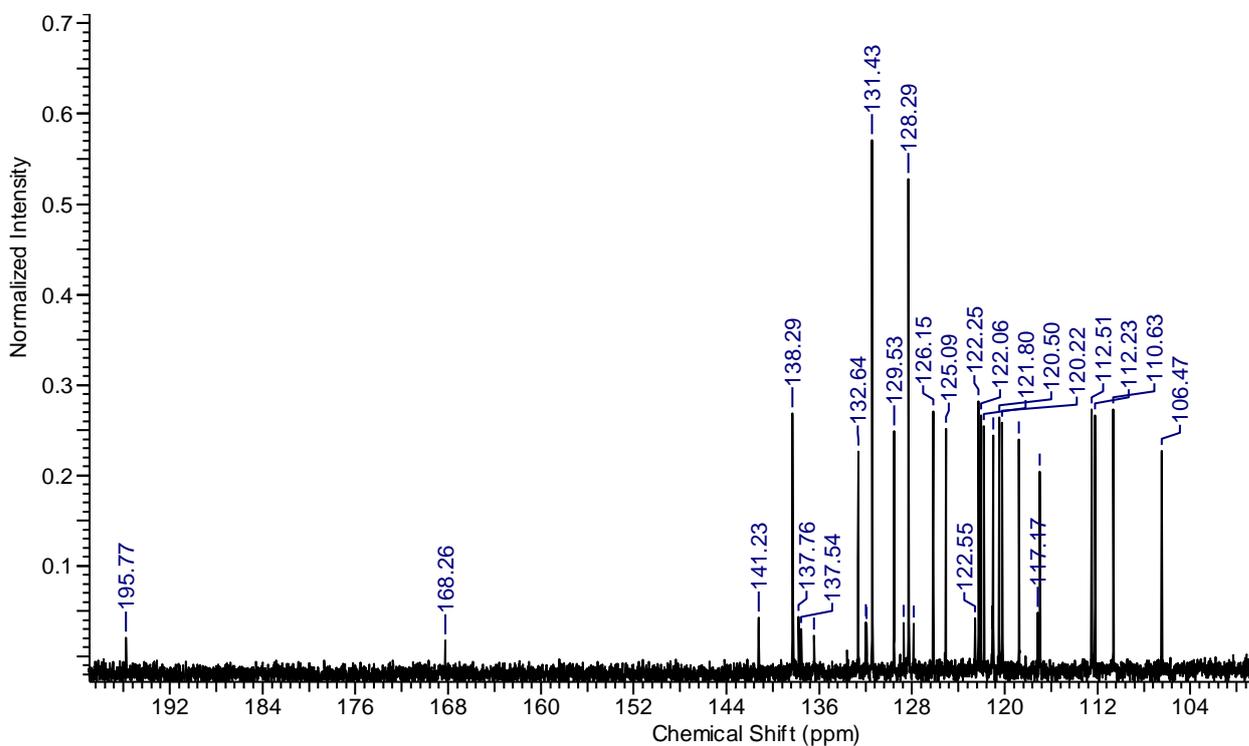
Приложение А

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

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

Приложение Б

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



Приложение В

Сравнение данных спектров ЯМР ^1H и ^{13}C природного и синтетического гомофаскаплизина В в CDCl_3

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

Приложение Г

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

Положение	ЯМР ^1H		ЯМР ^{13}C	
	Природный (CD ₂ Cl ₂)	Синтетический (CDCl ₃)	Природный	Синтетический (CDCl ₃)
1	8.15, д, J=7.8	8.11, дд, J=8.0; 0.9		122.3
2	7.37, т, J=7.8	7.36, ддд, J= 8.0, 7.1, 0.9		118.8
3	7.57, т, J=7.8	7.57, ддд, J= 8.2, 7.1, 1.2		117.0
4	7.75, д, J=7.8	7.70, д, J=8.4		112.2
4a				132.6
6	8.45, д, J=6.8	8.40, д, J=7.1		128.3
7	7.84, д, J=6.8	7.80, д, J=6.7		110.6
7a				125.1
7b				121.8
8	8.02, д, J=7.8	7.96, д, J=8.1		121.0
9	7.46, д, J=7.8	7.45, д		120.5
10	7.52 т, J=7.8	7.51, т		126.2
11	7.74, д, J=7.8	7.75, д, J=8.0		112.5
11a				138.3
12	12.5, уш. с	12.55, уш. с		
12a				131.4
12b				106.5
13				120.2
13a				129.5
CO				195.8
COO				168.3
OCH ₂ -	4.56, к, J=6.8	4.61, к, J=7.2		51.6
-CH ₃	1.46, т, J=6.8	1.50, т, J=7.2		29.7