

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

На правах рукописи

**Смирнова Полина Алексеевна**

Синтез и изучение биологической активности бромзамещённых фаскаплизинов природного происхождения, некоторых их изомеров и аналогов, а также 14-бромретикулатина

1.4.3. Органическая химия (химические науки)

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:  
канд. хим. наук, доцент Жидков Максим Евгеньевич

г. Владивосток – 2026

## Оглавление

ВВЕДЕНИЕ .....	4
1 Обзор литературы.....	10
1.1 Структурное разнообразие алкалоидов, содержащих пиридо[1,2- <i>a</i> :3,4- <i>b'</i> ]дииндольную систему, и родственных соединений .....	10
1.2 Методы синтеза фаскаплизина и родственных соединений.....	13
1.3 Биологическая активность фаскаплизина и родственных соединений.....	22
2 Обсуждение результатов .....	30
2.1 Синтез и изучение биологического действия 3-бром-, 10-бром-, 3,10-дибромфаскаплизина и 14-бромретикулатина.....	30
2.2 Модификация строения 3,10-дибромфаскаплизина.....	46
2.3 Механизмы биологического действия 3,10-дибромфаскаплизина.....	55
2.4 3,10-Дибромфаскаплизин в испытаниях <i>in vivo</i> .....	57
2.5 Получение модифицированных аналогов 3,10-дибромфаскаплизина.....	63
3 Экспериментальная часть.....	83
3.1 Материалы и методы.....	83
3.2 3-Бромфаскаплизин (4).....	83
3.3 14-Бромретикулатин (17) .....	85
3.4 10-Бромфаскаплизин (5).....	88
3.5 3,10-Дибромфаскаплизин (6).....	90
3.6 2,9-Дибромфаскаплизин (75).....	92
3.7 3,9-Дибромфаскаплизин (76).....	93
3.8 2,10-Дибромфаскаплизин (77).....	95
3.9 3,8-Дибромфаскаплизин (83).....	96
3.10 2,9,11-Трибромфаскаплизин (90) .....	100
3.11 2-Бром-9-хлорфаскаплизин (91).....	101
3.12 2-Бром-9,11-дихлорфаскаплизин (92).....	102
3.13 3-Бром-10- <i>трет</i> -бутилфаскаплизин (97).....	103

3.14 10-Бром-3- <i>трет</i> -бутилфаскаплизин (98).....	105
3.15 Исследование биологической активности полученных соединений.....	111
Выводы.....	115
Список публикаций.....	116
Список литературы.....	119
Приложение А.....	127

## ВВЕДЕНИЕ

### ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

#### Актуальность исследования

На сегодняшний день вторичные метаболиты из морских организмов рассматриваются в качестве перспективных соединений-лидеров для разработки новых лекарственных препаратов для лечения широкого спектра заболеваний, в том числе злокачественных новообразований. Одним из таких соединений является алкалоид фаскаплизин, впервые выделенный из губки *Fascaplysinopsis* sp. в 1988 году. Он хорошо изучен и обладает широким спектром биологической активности. Из всего набора его свойств ключевую роль играют способность индуцировать апоптоз широкого спектра опухолевых клеток в условиях *in vitro*, активация Р-гликопротеина, что способствует удалению избыточного  $\beta$ -амилоида из головного мозга при болезни Альцгеймера, избирательное ингибирование фермента циклинзависимой киназы 4, что приводит к прекращению пролиферации активно делящихся клеток, также он является селективным агонистом опиатных  $\mu$ -рецепторов, по действию схожим с эндорфинами. Эти факты демонстрируют высокий потенциал фаскаплизина для терапевтических исследований. Тщательное изучение фаскаплизина стало возможным благодаря его синтетической доступности. Однако, как показали испытания, сам фаскаплизин обладает высокой токсичностью, что ограничивает его применение в качестве лекарственного средства. Совместно с фаскаплизином было выделено несколько групп родственных ему соединений, которые, в отличие от родоначального алкалоида, практически не изучены. Это, в свою очередь, определяет актуальность исследований по их синтезу и испытаниям биологического действия.

#### Степень разработанности темы

Для алкалоида фаскаплизина разработано значительное количество различных методов синтеза. Подробно исследован спектр его биологического действия, а также хорошо изучены механизмы проявляемой им активности. Для других представителей группы фаскаплизиновых алкалоидов известно намного

меньше способов их синтеза, большинство из которых являются многостадийными или требуют наличия труднодоступных исходных реагентов. Биологическая активность родственных фаскаплизину соединений также относительно мало изучена. Среди них соединения подгруппы ретикулатина продемонстрировали лучшие показатели селективности цитотоксического действия по сравнению с фаскаплизином. Получена ограниченная серия синтетических замещенных фаскаплизинов, а также широкий спектр непланарных аналогов данного алкалоида, не содержащих лежащей в его основе гетероциклической системы 12*H*-пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндола. Среди них выявлены перспективные соединения, обладающие лучшими показателями биологической активности по сравнению с нативным алкалоидом, однако механизмы их действия также недостаточно изучены.

### **Цель и задачи работы**

Целью данного исследования является выявление перспективных соединений-лидеров среди замещенных фаскаплизинов природного происхождения и биосинтетически родственных соединений и получение их аналогов, обладающих улучшенными фармакологическими свойствами.

Для достижения поставленной цели предстояло решить следующие задачи:

1. Оптимизировать метод синтеза фаскаплизина из ацетофенона и триптамина для получения природных бромзамещенных фаскаплизинов.
2. Адаптировать метод синтеза ретикулатата из фаскаплизина для синтеза 14-бромретикулатата и разработать условия для его конверсии в 14-бромретикулатин.
3. Оценить биологическую активность полученных соединений в условиях *in vitro*.
4. Осуществить синтез серии изомеров и модифицированных аналогов выявленных соединений-лидеров и исследовать их биологическую активность *in vitro*.
5. Провести исследования биологической активности соединений, показавших наибольший потенциал, в условиях *in vivo*.

### **Научная новизна работы**

Простой и эффективный метод синтеза фаскаплизина был адаптирован для получения ранее труднодоступных природных бромзамещенных фаскаплизинов. Разработан метод конверсии фаскаплизина и 3-бромфаскаплизина в соединения подгруппы ретикулатина. Биологические испытания показали, что 14-бромретикулатин *in vitro* обладает селективной цитотоксичностью в отношении клеток меланомы человека. Получена серия структурных изомеров и модифицированных аналогов 3,10-дибромфаскаплизина. Для полученных соединений изучена цитотоксическая активность и селективность в отношении клеточных линий рака предстательной железы человека (PC-3, 22Rv1, DU145, LNCap), неопухолевой клеточной линии предстательной железы человека (PNT2), культуры клеток эмбриональной почки человека (HEK293) и клеток фибробластов человека (MRC-9). Изучена эффективность 3,10-дибромфаскаплизина в отношении модельной глиобластомы и карциномы Эрлиха *in vivo*. Также для полученной серии веществ было изучено антибактериальное действие *in vitro* в отношении грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus* spp. и *Mycobacterium smegmatis*), включая резистентные штаммы, а также грамотрицательных бактерий *E. coli*. Разработан подход к формированию скелета фаскаплизина через внедрение уходящей группы в *орто*-положение бензоильного фрагмента 1-бензоил- $\beta$ -карболинов при катализе солями двухвалентного палладия.

### **Практическая и теоретическая ценность работы**

Синтез представителей группы ретикулатина открыл возможность исследовать потенциал биологического действия данных соединений. Оптимизированная методика получения 3,10-дибромфаскаплизина, исходя из доступных соединений, обеспечила возможность углубленного изучения биологической активности данного алкалоида. Разработанный метод синтеза фаскаплизинов, основанный на внедрении уходящей группы в *орто*-положение бензоильного фрагмента 1-бензоил- $\beta$ -карболинов, открыл путь к получению и исследованию потенциала биологического действия ранее недоступных

производных фаскаплизина. Проведённые на животных моделях исследования показали, что 3,10-дибромфаскаплизин обладает высокой эффективностью в отношении некоторых трудно поддающихся терапии онкологических заболеваний. Показана перспективность применения 3,10-дибромфаскаплизина в комбинации с известными противоопухолевыми лекарственными препаратами *in vitro* для увеличения эффективности химиотерапии некоторых видов злокачественных новообразований. Получена зависимость цитотоксического действия синтезированных изомерных родственных соединений фаскаплизина от положения заместителей в базовой структуре. Также показано, что модифицированные аналоги фаскаплизина по циклам А и Е проявляют высокую антибактериальную активность в отношении грамположительных бактерий, включая антибиотикорезистентные штаммы.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Известный двухстадийный метод синтеза фаскаплизина из триптамина и *o*-бромацетофенона адаптирован для получения 3-бром-, 10-бром-, 3,10-дибром-, 3,9-дибром-, 2,9-дибром-, 3,8-дибром-, 2,10-дибром-, 2-бром-9-хлор-, 2,9,11-трибром-, 2-бром-9,11-дихлор- и 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизина.

2. Разработаны методы синтеза 14-бромретикулатата и 14-бромретикулатина. 14-Бромретикулатин оказывает селективное цитотоксическое действие в отношении культуры клеток меланомы человека SK-MEL-28.

3. Разработан катализируемый солями двухвалентного палладия метод конверсии 1-бензоил- $\beta$ -карболинов, не содержащих заместителя в положении 2' бензоильного фрагмента, в фаскаплизины.

4. 3,10-Дибромфаскаплизин *in vitro* проявляет сильное и селективное цитотоксическое действие в отношении культуры клеток глиомы крысы С6, а также (наряду с изомерами) эффективно подавляет жизнеспособность широкого ряда патогенных грамположительных бактерий, включая антибиотикорезистентные штаммы.

5. 3,10-Дибромфаскаплизин в условиях *in vivo* проявляет сильное противоопухолевое действие в отношении модели глиобластомы у крыс,

увеличивая среднюю продолжительность жизни экспериментальных животных на 61% относительно контроля.

6. Замена атома брома 3,10-дибромфаскаплизина в положении 3 на *трет-*бутильный фрагмент приводит к увеличению антибактериальной активности полученного аналога.

### **Методология и методы исследования**

В ходе реализации данного исследования был применен широкий набор методов органического синтеза. Различные хроматографические методы были использованы для анализа состава полученных смесей (высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) в сочетании с масс-спектрометрией), очистки и выделения индивидуальных соединений (препаративная тонкослойная хроматография (ПТСХ), препаративная хроматография среднего давления и препаративная ВЭЖХ). Для установления строения полученных соединений использовали различные методы масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР. Оценка цитотоксичности полученных соединений в отношении опухолевых клеток различного происхождения была проведена с помощью MTS- и MTT-тестов. Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) соединений в отношении патогенных бактерий проводили микрометодом серийных разведений в бульоне. Для определения противоопухолевой активности использовали экспериментальные модели асцитного и солидного варианта карциномы Эрлиха у мышей и глиобластомы у крыс.

### **Личный вклад автора**

Личный вклад автора заключается в выполнении описанных в данной работе экспериментов, если не указано иное, выделении и очистке соединений, а также в интерпретации полученных результатов. Кроме того, автор принимал непосредственное участие в подборе, анализе и обобщении материала, а также подготовке публикаций на его основе.

### **Апробация работы и публикации**

Материалы диссертации опубликованы в пяти статьях, входящих в базы данных Scopus и Web of Science, и были апробированы на Международных

симпозиумах «Химия и химическое образование» (Владивосток, 2017, 2021 и 2024), 5-ой Ежегодной студенческой научной конференции на английском языке (The 5th annual student scientific conference in English (Владивосток, 2018)), Региональной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых по естественным наукам (Владивосток, 2019), 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» (Волгоград, 2022), Саммите разработчиков лекарственных препаратов «СИРИУС.БИОТЕХ» (Сириус, 2024), а также на Всероссийской молодежной научной школе-конференции «Актуальные проблемы органической химии» (Шерегеш, 2026). По результатам работы получен патент РФ.

## 1 Обзор литературы

### 1.1 Структурное разнообразие алкалоидов, содержащих пиридо[1,2-*a*:3,4-*b'*]дииндольную систему, и родственных соединений

Важнейшим направлением исследований является поиск биологически активных соединений, которые могут быть использованы для борьбы с социально значимыми заболеваниями, такими как болезнь Альцгеймера и различные формы злокачественных опухолей. Для создания новых лекарственных препаратов в качестве основы широко используются соединения природного происхождения, которые обладают широким спектром физиологической активности. Наряду с соединениями, полученными из различных наземных природных источников, особый интерес вызывают соединения, выделенные из морских организмов. Алкалоиды представляют собой многочисленную группу соединений разнообразной структуры со значительной физиологической активностью и рассматриваются в качестве перспективных соединений-лидеров для разработки новых лекарственных препаратов. К таким соединениям относится группа фаскаплизиновых алкалоидов, которые были выделены из морских беспозвоночных.

Первым представителем данной группы является красный пигмент фаскаплизин (1), содержащий 12*H*-пиридо[1,2-*a*:3,4-*b'*]дииндольную систему (2) (рисунок 1), впервые выделенный в 1988 году из губки *Fascaplysinopsis* sp. [1].

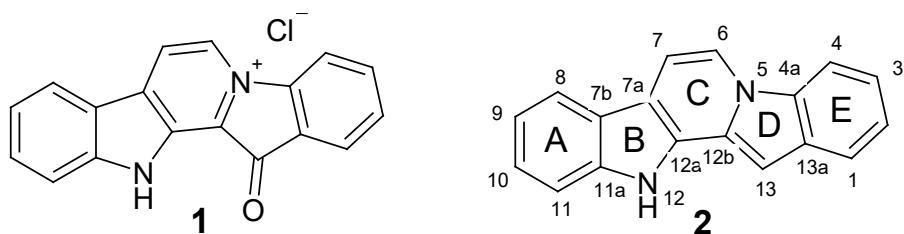


Рисунок 1 – Фаскаплизин (1) и 12*H*-пиридо[1,2-*a*:3,4-*b'*]дииндол (2)

Вместе с фаскаплизином из морских беспозвоночных были выделены и другие соединения подобной структуры. Для классификации фаскаплизиновых алкалоидов Сегравес и соавт. в своей работе [2] предложили распределить их в

зависимости от строения и входящих в структуру заместителей на три основных типа (рисунок 2).

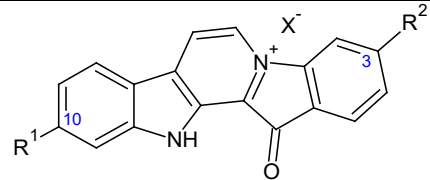
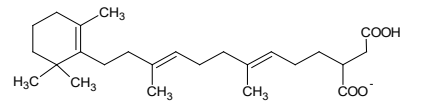
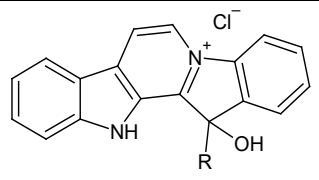
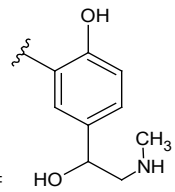
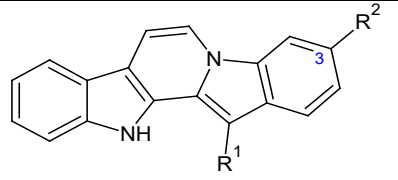
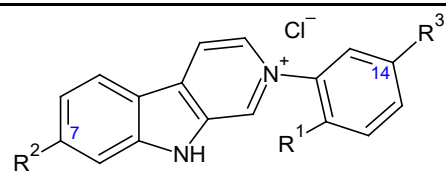
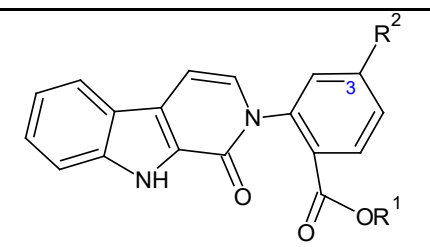
Тип 1		
Тип 1а	Тип 1б	Тип 1в
 <p>1: <math>R^1 = R^2 = H</math>, <math>X = Cl^-</math>  3: <math>R^1 = H</math>, <math>R^2 = H</math>,  <math>X^- =</math></p>  <p>4: <math>R^1 = H</math>, <math>R^2 = Br</math>, <math>X = Cl^-</math>  5: <math>R^1 = Br</math>, <math>R^2 = H</math>, <math>X = Cl^-</math>  6: <math>R^1 = R^2 = Br</math>, <math>X = Cl^-</math></p>	 <p>7: <math>R = CH_2C(O)CH_3</math>  8: <math>R = CH_2COOH</math></p>  <p>9: <math>R =</math></p>	 <p>10: <math>R^1 = C(O)C(O)OCH_3</math>,  <math>R^2 = H</math>  11: <math>R^1 = C(O)C(O)OCH_2CH_3</math>,  <math>R^2 = H</math>  12: <math>R^1 = C(O)C(O)OCH_3</math>,  <math>R^2 = Br</math>  13: <math>R^1 = C(O)C(O)OCH_2CH_3</math>,  <math>R^2 = Br</math>  14: <math>R^1 = C(O)H</math>, <math>R^2 = H</math>  15: <math>R^1 = C(O)H</math>, <math>R^2 = Br</math></p>
Тип 2		
	<p>16: <math>R^1 = C(O)OCH_3</math>, <math>R^2 = R^3 = H</math>  17: <math>R^1 = C(O)OCH_3</math>, <math>R^2 = H</math>, <math>R^3 = Br</math>,  18: <math>R^1 = C(O)OCH_3</math>, <math>R^2 = R^3 = Br</math>,  19: <math>R^1 = C(O)OH</math>, <math>R^2 = R^3 = H</math>  20: <math>R^1 = C(O)OH</math>, <math>R^2 = H</math>, <math>R^3 = Br</math>,  21: <math>R^1 = OH</math>, <math>R^2 = R^3 = H</math>  22: <math>R^1 = OH</math>, <math>R^2 = H</math>, <math>R^3 = Br</math></p>	
Тип 3		
	<p>23: <math>R^1 = CH_3</math>, <math>R^2 = H</math>  24: <math>R^1 = CH_3</math>, <math>R^2 = Br</math>  25: <math>R^1 = H</math>, <math>R^2 = Br</math></p>	

Рисунок 2 – Классификация фаскаплизиновых алкалоидов [2]

Тип **1** охватывает 14 алкалоидов, основой которых является система пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндола, и разделён на три подтипа в зависимости от природы заместителя. Фаскаплизин (**1**), фаскаплизин А (**3**)<sup>1</sup>, 3-бромфаскаплизин (**4**), 10-бромфаскаплизин (**5**) и 3,10-дибромфаскаплизин (**6**) формируют подтип **1a**. К подтипу **1b** относятся гомофаскаплизин А (**7**), гомофаскаплисат А (**8**) и тхорестандрамин (**9**). Подтип **1в** представлен шестью соединениями: гомофаскаплизинами В (**10**) и В-1 (**11**), 3-бромгомофаскаплизинами В (**12**) и В-1 (**13**), гомофаскаплизином С (**14**) и 3-бромгомофаскаплизином С (**15**). Типы **2** и **3** содержат алкалоиды с β-карболиновой структурой (раскрытый цикл D), которые отличаются между собой по степени окисленности цикла С. Ретикулатин (**16**), 14-бромретикулатин (**17**), 7,14-дибромретикулатин (**18**), ретикулатат (**19**), 14-бромретикулатат (**20**), ретикулатол (**21**) и 14-бромретикулатол (**22**) образуют тип **2**. Тип **3** представлен тремя соединениями: секофаскаплизином (**23**), 3-бромсекофаскаплизином А (**24**) и 3-бромсекофаскаплизином В (**25**).

В работе [2] авторы предположили, что фаскаплизиновые алкалоиды **1, 3-25** могут быть получены из бис-триптофана и его бромированных аналогов (рисунок 3). Эту гипотезу подтверждает открытие специфического гена, обеспечивающего биосинтез бис-триптофана [3, 4]. Как показано на рисунке 3, если одна из молекул триптофана бромирована, то это приводит к формированию соединений **4, 5, 12, 13, 15**, а раскрытие цикла D соединения **4** привело бы к образованию продуктов типа **2** и **3** (**17, 20, 22, 24, 25**). Если бромированы обе молекулы триптофана, то будет происходить образование соединений **6** и **18**.

---

<sup>1</sup> Отличается от **1** заменой хлорид-аниона на органический анион сложной структуры, который, по-видимому, в избытке присутствует в продуценте и координируется с рассматриваемым пентациклическим катионом при выделении

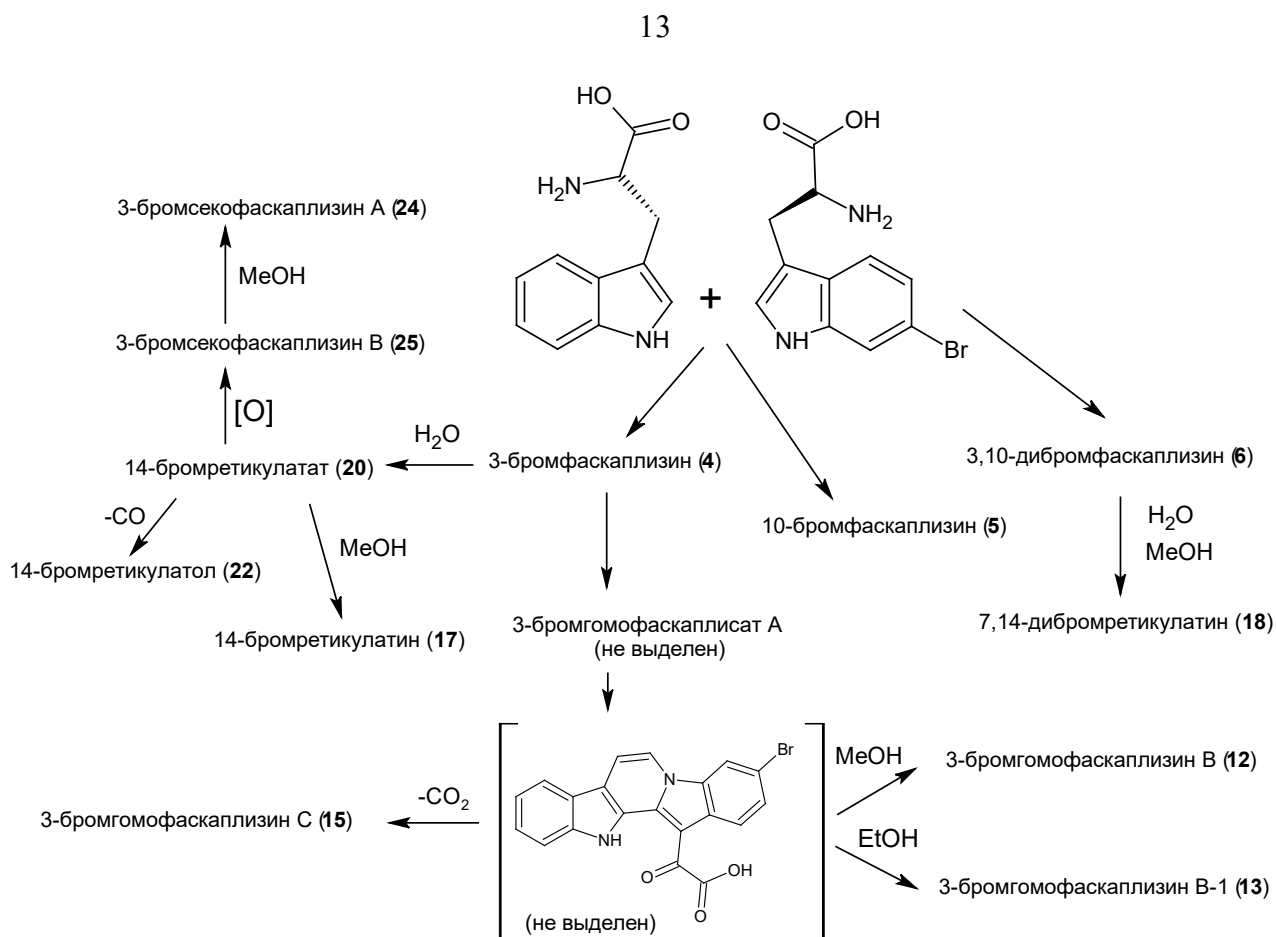
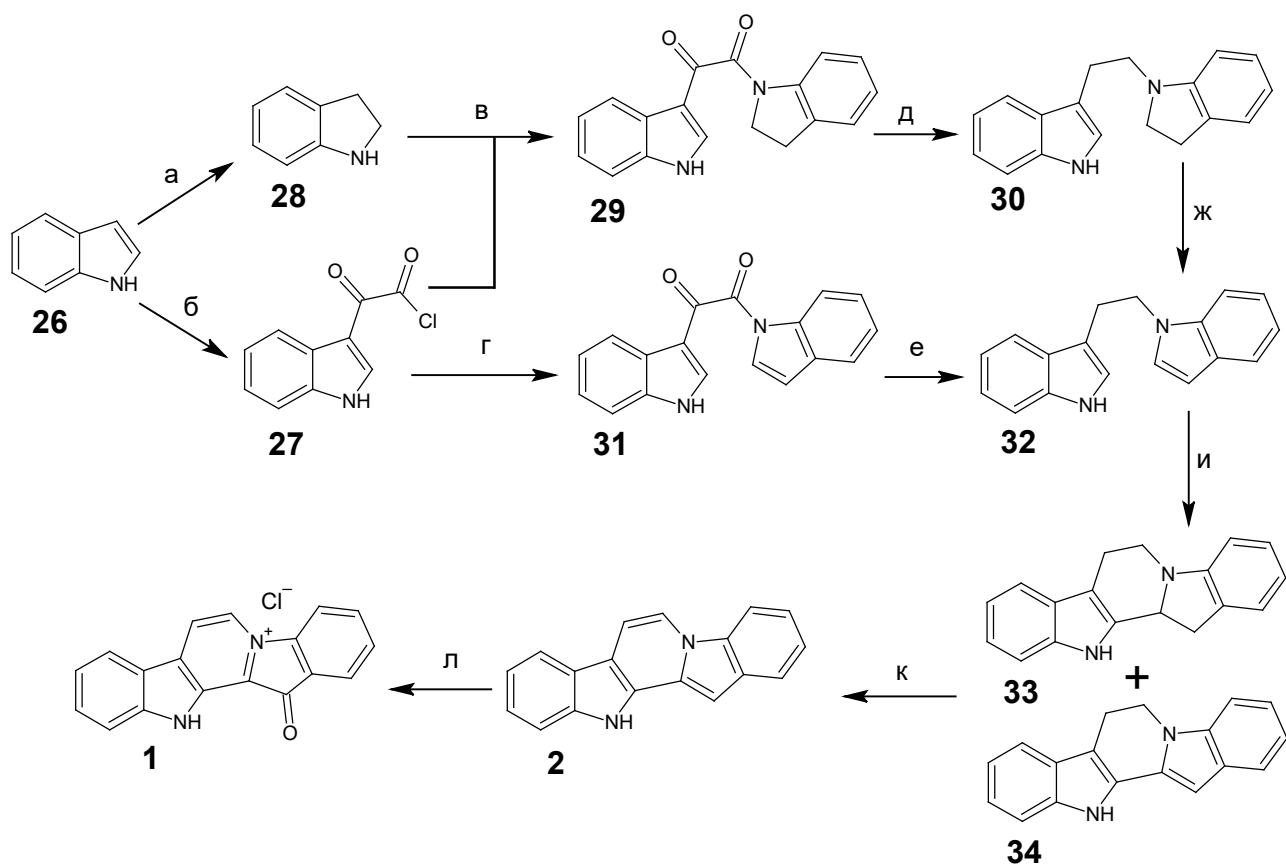


Рисунок 3 – Схема предполагаемого биосинтеза фаскаплизиновых алкалоидов [2]

Алкалоиды представленных типов были обнаружены в морских губках рода Thorectidae (*Fascaplysinopsis reticulata*, *Fascaplysinopsis* sp. и др.), которые обитают в бассейнах Индийского и Тихого океана, а также выделены из асцидий *Didemnum* sp. в разных областях Мирового океана [2].

## 1.2 Методы синтеза фаскаплизина и родственных соединений

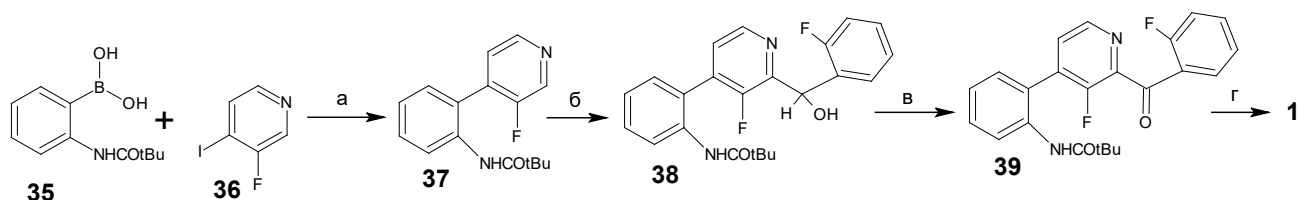
Для фаскаплизина известно более десяти методов синтеза. В 1992 году Gribble и Pelcman [5, 6] впервые осуществили полный синтез фаскаплизина (рисунок 4). Основой данного метода является катализируемая кислотой циклизация соединения **32** (получено двумя вариантами в три стадии из индола (**26**) через промежуточные соединения **27-31**) в смесь двух дииндолов **33** и **34**. При кипячении раствора (180-190 °С) смеси этих соединений с Pd/C в течение 6 часов был получен незамещённый пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндол (**2**). При действии на полупродукт **2** надуксусной кислотой в тетрагидрофуране с последующим взаимодействием с соляной кислотой в спирте был синтезирован фаскаплизин (**1**).



Реагенты и условия: (а).  $\text{NaBH}_3\text{CN}$ ,  $\text{AcOH}$ ,  $15\text{ }^\circ\text{C}$ , 94%; (б).  $(\text{COCl})_2$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $0\text{-}5\text{ }^\circ\text{C}$ , 92%; (в).  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , ТГФ, комн.т., 2 ч, 93%; (г). **26**,  $\text{NaNH}$ , ТГФ, ДМФА, комн.т., 90 мин, 86%; (д).  $\text{AlH}_3$ , ТГФ, комн.т., 75 мин, 97%; (е).  $\text{NaBH}_3\text{OCOCF}_3$ , ТГФ, т. кип., 20 ч, 60%; (ж).  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{CHCl}_3$ , т. кип., 4 ч, 99%; (и).  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ , комн.т., 30 мин; (к).  $\text{Pd/C}$ ,  $(\text{EtOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$ , т. кип., 6 ч, 93%; (л). 1)  $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$ ,  $\text{MeOH}$ ,  $\text{AcOH}$ ,  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , 45 мин; 2)  $\text{HCl}$  (конц.), 85%.

Рисунок 4 – Схема синтеза фаскапизина (**1**) по Gribble [5, 6]

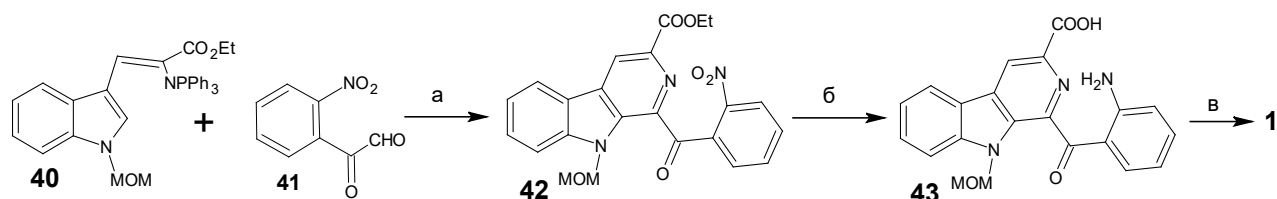
В 1993 году Росса и соавт. осуществили синтез фаскапизина из арилборной кислоты **35** и пиридина **36** под действием трифенилфосфинпалладиевого комплекса (рисунок 5) [7]. Полученный полупродукт **37** был введен в реакцию с бутиллитием и 2-фторбензальдегидом, в результате чего был синтезирован тризамещенный пиридин **38**. Действием оксида марганца (IV) авторы окислили гидроксильную группу до карбонильной и осуществили термическую циклизацию соединения **39**. Целевой продукт **1** получили с суммарным выходом 76%. Преимущество данного синтеза состоит в небольшом количестве стадий и высоких выходах, однако ограничение метода заключается в невозможности введения дополнительных функциональных групп в структуру из-за использования реакционноспособного бутиллития.



Реагенты и условия: (а).  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4/2\text{M K}_2\text{CO}_3$ , толуол, т. кип. (Ar), 48 ч, 98%; (б). 1)  $\text{BuLi}$ , ТГФ,  $-75^\circ\text{C}$ , 90 мин; 2) 2-F-PhCHO, 1 ч,  $-75^\circ\text{C}$ , 95%; (в).  $\text{MnO}_2$ , толуол, т. кип., 2 ч, 99%; (г). 1) пиридин,  $\text{HCl}$ ,  $170^\circ\text{C}$ , 10 мин; 2)  $\text{NH}_4\text{OH}$ , лед, 82%.

Рисунок 5 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) по Росса [7]

В 1994 году был предложен ещё один способ синтеза фаскаплизина (рисунок б) [8]. В качестве исходных реагентов авторы использовали иминофосфоран **40** и производное фенилглиоксаля **41**. В полупродукте **42** была восстановлена нитрогруппа, а сложноэфирная группа подверглась гидролизу. Под действием нитрита натрия и соляной кислоты соединение **43** было конвертировано в диазониевую соль, при последующем её нагревании в метаноле получили фаскаплизин с выходом 60% на последней стадии синтеза. В работе [8] использованы труднодоступные исходные реагенты, что делает данный метод малопригодным для получения значительных количеств фаскаплизина.

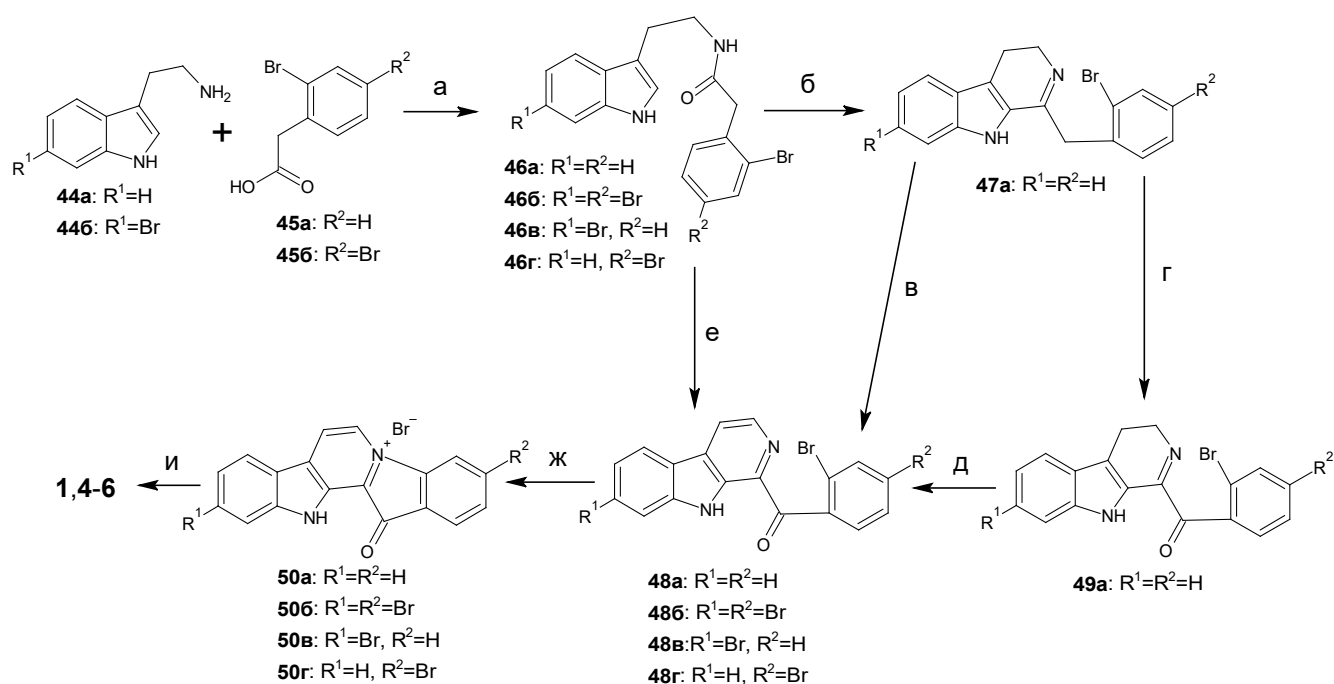


Реагенты и условия: (а). Толуол,  $160^\circ\text{C}$ , 60-65%; (б). 1)  $\text{LiOH}$ , ТГФ, комн.т. 2)  $\text{H}_2$ ,  $\text{PtO}_2$ ,  $\text{MeOH}$ , 80%; (в). 1)  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{H}^+$ ,  $0^\circ\text{C}$ , 45 мин; 2)  $\text{MeOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , т. кип., 1 ч, 60%.

Рисунок 6 – Схема синтеза фаскаплизина по Molina [8]

На рисунке 7 представлен метод синтеза фаскаплизина, в котором алкалоид был получен в пять стадий с общим выходом 44% [9]. На первой стадии из триптамина (**44a**) и *o*-бромфенилуксусной кислоты (**45a**) был получен амид **46a**. Обработкой полупродукта **46a** оксихлоридом фосфора (V) при кипячении в бензоле был синтезирован дигидро- $\beta$ -карболин **47a**. Его окисление оксидом марганца (IV) в хлороформе при комнатной температуре дало кетон **49a**. Если же эту реакцию проводили при температуре кипения, то в результате наблюдалось образование

$\alpha$ -ацилзамещенного- $\beta$ -карболина **48a**. Дальнейшее нагревание соединения **48a** привело к образованию четвертичной соли пиридоиндола **50a**, которую превращали в фаскаплизин (**1**) обработкой раствором HCl в метаноле. Все реагенты, используемые в этом синтезе, являются коммерчески доступными, что, несомненно, является преимуществом данного метода синтеза. В 2007 году на основе данного синтеза Жидковым с соавт. [10] были получены природные производные фаскаплизина - бромфаскаплизины **4-6**. В качестве исходного соединения был взят 6-бромтриптамин (**44b**). При этом авторам удалось совместить проведение стадий **б**, **в**, **г** и **д** в рамках одной экспериментальной процедуры (**е**) (рисунок 7).

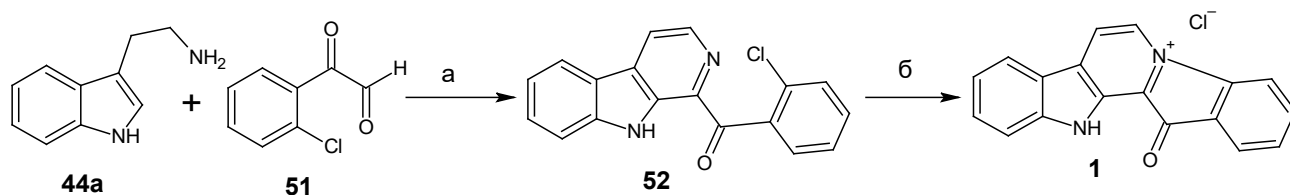


Реагенты и условия: (а). Тетралин, азеотропная перегонка, 40 мин, 83% для **46a**; дициклогексилкарбодиимид, MeCN, т. кип., 30 мин, 88-89% для **46б-г**; (б). POCl<sub>3</sub>, PhH (или MeCN), т. кип., 30-40 мин, 68%; (в). MnO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>, т. кип., 3 ч, 86%; (г). MnO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>, к. т., 3 ч, 94%; (д). MnO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>, т. кип., 3 ч, 91%; (е). 1) POCl<sub>3</sub>, MeCN, Ag, т. кип., 40 мин; 2) MnO<sub>2</sub>, PhH, т. кип., 3 ч, 57-60%; (ж). 220 °С, 20 мин, 90%; (и). HCl/MeOH, 100%.

Рисунок 7 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) по Радченко и бромфаскаплизинов **4-6** по Жидкову [9, 10]

S. V. Bharate и соавт. [11] осуществили в одну стадию синтез  $\beta$ -карболина **52** из триптамина (**44a**) и *o*-хлорфенилглиоксаля (**51**) при кипячении в присутствии

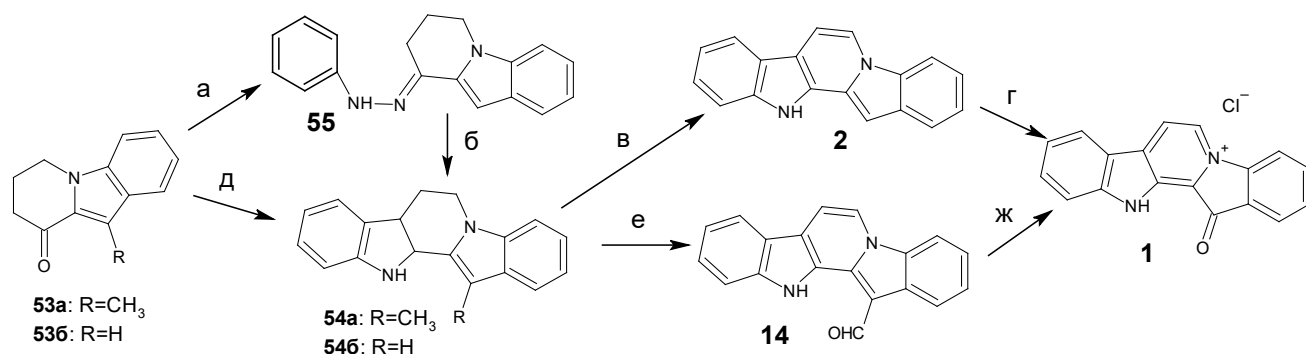
палладия через последовательное образование имина, дегидрирование и замыкание цикла. Затем по описанному выше методу [9] они провели замыкание цикла D в фаскаплизин (рисунок 8).



Реагенты и условия: (а). 10% Pd/C (20 мол%), AcOH, т. кип., 3 ч, 85%; (б). 220 °С, 20 мин, 80%.

Рисунок 8 – Схема синтеза фаскаплизина из триптамина по Bharate [11]

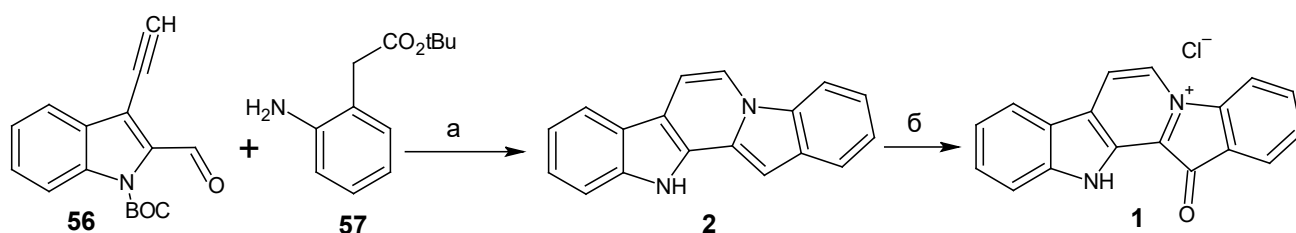
В 1997 году был предложен иной способ получения замещённых пиридоиндолов (рисунок 9) [12]. Основа синтеза – реакция Фишера между гидрохлоридом фенилгидразина и кетоном **53a** при кипячении в уксусной кислоте. Образующийся полупродукт **54a** вводили в реакцию с 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохиноном (DDQ). Данная реакция позволила конвертировать метильную группу в альдегидную группу с одновременным дегидрированием структуры, что позволило осуществить синтез гомофаскаплизина С (**14**). Впоследствии данный метод был расширен [13]: из кетона **53b** получали промежуточный фенилгидразон **55**, который далее конвертировали в полупродукт **54b**. Последний подвергали дегидрированию под действием палладия на углероде. Затем на соединение **2** действовали надуксусной кислотой в метаноле. Общий выход целевого соединения **1** составил 9.5%. Взаимодействие гомофаскаплизина С (**14**) с *m*-хлорнадбензойной кислотой завершилось образованием фаскаплизина. Таким образом, в рамках данной работы впервые было осуществлено превращение одного фаскаплизинового алкалоида в другой (рисунок 9).



Реагенты и условия: (а). Ph-NH-NH<sub>2</sub>·HCl, EtOH, комн.т., 2 ч, 78%; (б). TsOH, PhH, т. кип., 20 мин, 60%; (в). для **546**: Pd/C, (EtOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, т. кип., 6 ч, 75%; (г). CH<sub>3</sub>CO<sub>3</sub>H, MeOH, 0 °С, 45 мин, 85%; (д). Ph-NH-NH<sub>2</sub>·HCl, AcOH, т. кип., 4 ч, 91%; (е). для **54a**: DDQ, 1,4-диоксан, т. кип., 2 ч, 50%; (ж). *m*-CPBA, EtOAc, комн.т., 24 ч, 67%.

Рисунок 9 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) и гомофаскаплизина С (**14**) [12, 13]

Н. L. Waldmann и соавт. [14] в своей работе показали новый путь формирования структуры пиридо[1,2-*a*:3,4-*b'*]дииндола. Взаимодействие *N*-Восзащищенного 3-этинилиндол-2-карбальдегида (**56**) и анилина **57** в присутствии трифлата серебра под действием микроволнового излучения (МВ) приводило к образованию соединения **2**. Его обработка надуксусной кислотой в метаноле дала фаскаплизин с общим выходом 70%. Недостатком данного подхода является труднодоступность исходных соединений (рисунок 10).

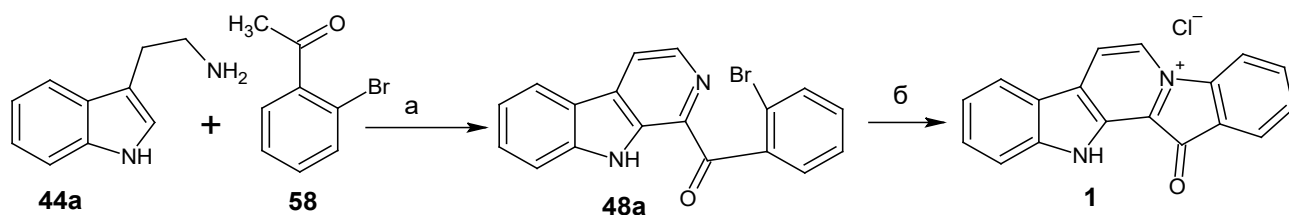


Реагенты и условия: (а). 1) AgOTf (2.5 мол%), 2,6-лутидин (10 мол%), МВ (150 Вт), EtOH, 150 °С, 45 мин.; 2) HCl, 61%; (б). 1) CH<sub>3</sub>CO<sub>3</sub>H, MeOH, AcOH, 0 °С, 45 мин., 2) HCl (конц.), 85%.

Рисунок 10 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) по Waldman [14]

Позднее Yan-Ping Zhu и соавт. [15] разработали общий метод синтеза серии производных β-карболина и изохинолина. Исходными реагентами в рамках данного метода являлись различные производные этиламина и ацетофенона, на которые действовали молекулярным йодом в присутствии пероксида водорода. В рамках этого метода фаскаплизин можно получить в два этапа (рисунок 11). Основа синтеза – мультикомпонентная реакция, позволяющая в рамках одной

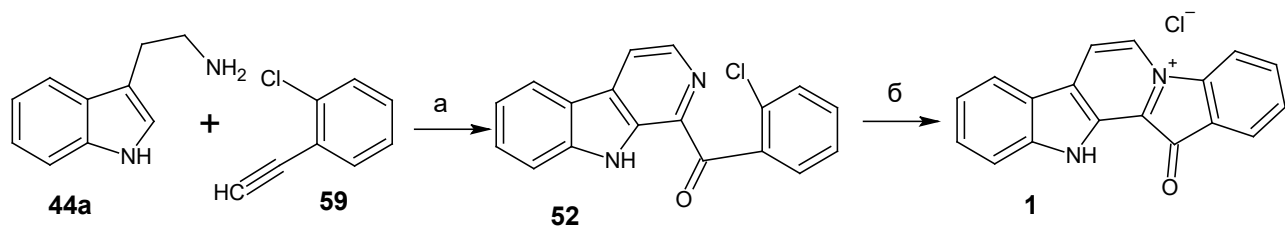
экспериментальной процедуры совместить последовательное проведение следующих стадий: окисление ацетофенона до фенилглиоксаля, реакцию образования промежуточного имина между ним и триптамином, циклизацию полученного имина в тетрагидро- $\beta$ -карболин и его последующее окисление в  $\beta$ -карболин **48a**, который далее кватернизируют по схеме Радченко и соавт. [9]. Фактически этот подход является комбинацией уже известных методов синтеза, но простота и технологичность делают его одним из лучших на сегодняшний день. Одновременно с Yan-Ping Zhu Battini и соавторы представили аналогичную схему синтеза фаскаплизина, но без использования пероксида водорода [16]. Суммарный выход целевого продукта при этом составил 86% (рисунок 11).



Реагенты и условия: (а).  $I_2$ ,  $H_2O_2$ , ДМСО, 110 °С, 5 ч, 96%; (б). 1) 220 °С, 20 мин; 2)  $HCl/MeOH$ , 90%.

Рисунок 11 – Схема синтеза соединения **1** из триптамина (**44a**) и *o*-бромацетофенона (**58**) по Yan-Ping Zhu [15]

В работе 2017 года [17] вышеприведённый метод был модернизирован: вместо замещенных ацетофенонов в реакцию с триптамином были введены терминальные алкины. В результате был осуществлён синтез широкого набора замещённых 1-бензоил- $\beta$ -карболинов с выходами 74–95%. Фаскаплизин был получен из алкина **59** с выходом 70% (рисунок 12).

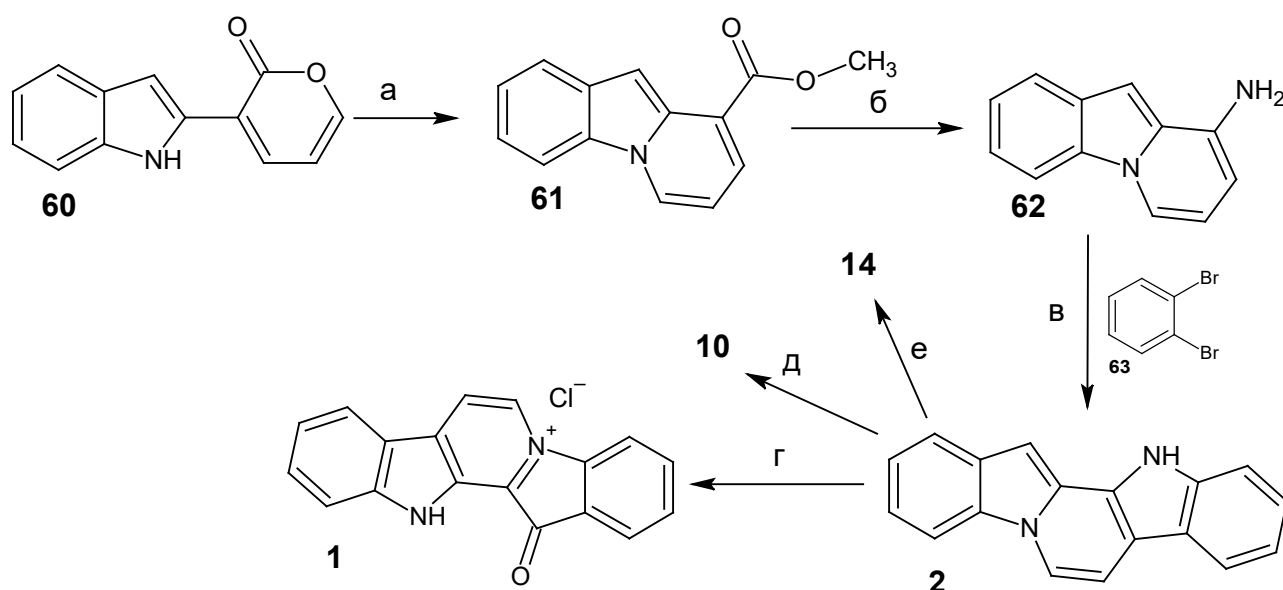


Реагенты и условия: (а).  $I_2$  (50 mol%), ДМСО, 100 °С, 4-5 ч, 83%; (б). 220 °С, 20 мин, 84%.

Рисунок 12 – Схема синтеза фаскаплизина из триптамина и терминального алкина

**59** [17]

В работе 2021 года [18] был предложен новый метод формирования целевой гетероциклической системы (рисунок 13). Пиридо[1,2-*a*]индол **61** получали из индолпирона **60** при действии метилата натрия в качестве нуклеофила. Полученный сложный эфир гидролизовали до карбоновой кислоты, которая далее подвергалась перегруппировке Курциуса под действием азида дифенилфосфония (DPPA) с образованием интермедиата **62**. Катализируемое палладием домино-сочетание аминирования/С-Н арилирования между амином **62** и 1,2-дибромбензолом (**63**) дало продукт **2**. Из соединения **2** независимо друг от друга в одну стадию можно получить как фаскаплизин (**1**), так и гомофаскаплизины В (**10**) и С (**14**) [6, 14].

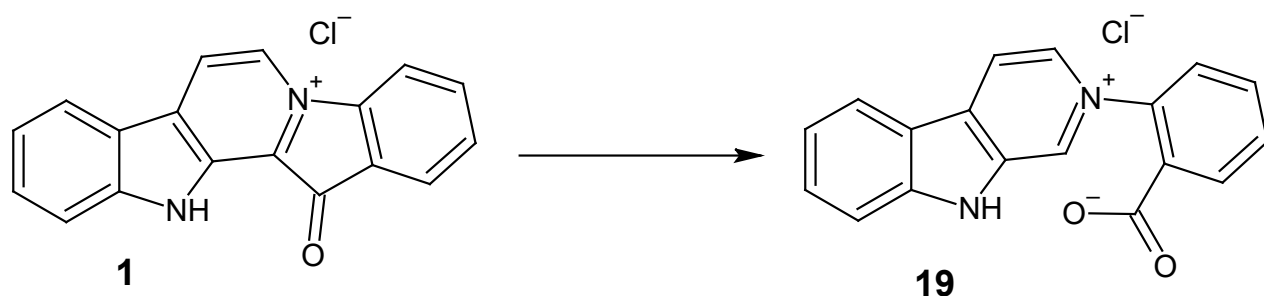


Реагенты и условия: (а). NaOMe, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (1:1), комн.т., 25 мин, 65%; (б). 1) KOH, 99%; 2) DPPA, H<sub>2</sub>O, 94%; (в). Pd(OAc)<sub>2</sub>, dppf, *t*-BuONa, толуол 100 °С, 24 ч, 55%; (г). 1) CH<sub>3</sub>CO<sub>3</sub>H, MeOH, AcOH, 0 °С, 45 мин; 2) HCl (конц), 85%; (д). 1) (COCl)<sub>2</sub>, ТГФ, 0 °С, 1 ч; 2) MeOH, комн.т., 3 ч, 99%; (е). POCl<sub>3</sub>, ДМФА, комн. т., 3 ч, 88%.

Рисунок 13 – Схема синтеза фаскаплизина и гомофаскаплизинов В и С по Palani [18]

Разнообразие химических свойств фаскаплизина в сочетании с его доступностью открывает широкие возможности для получения его производных и структурно родственных соединений. В работах [19, 20] по исследованию реакционной способности фаскаплизина Heinz Fretz и соавт. описывают первый синтез представителя подгруппы 2 фаскаплизиновых алкалоидов – ретикулатата

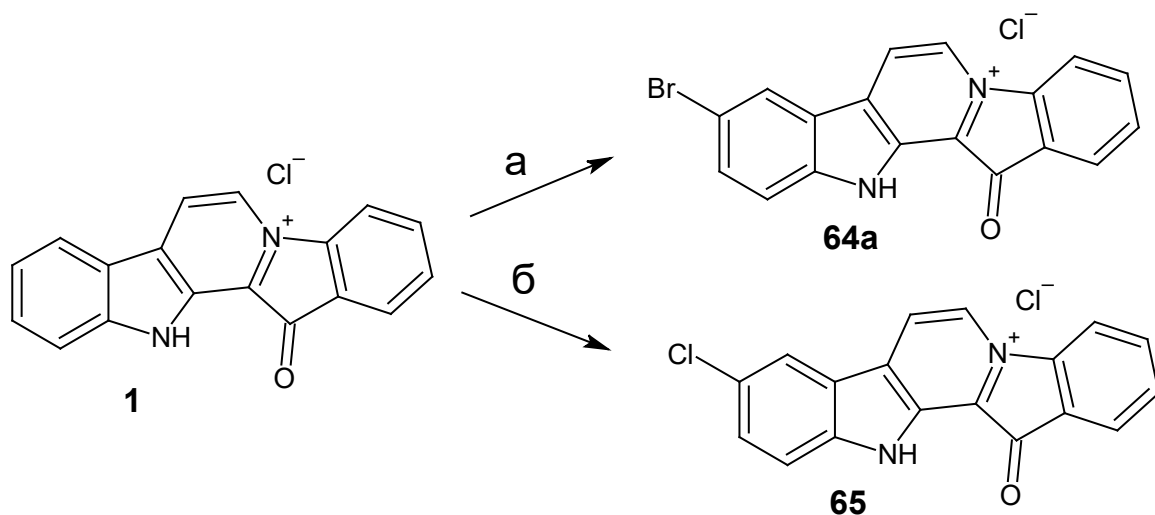
(19). Данная методика позволяет получить ретикулатат при раскрытии цикла D фаскаплизина под действием раствора щёлочи в диоксане или 30%-ного водного раствора аммиака при комнатной температуре в течение трёх часов (рисунок 14).



Реагенты и условия:  $\text{OH}^-$ , диоксан или 30%-ный раствор  $\text{NH}_3$ , комн.т., 3 ч, 54%.

Рисунок 14 – Схема синтеза ретикулатата по Heinz Fretz [19, 20]

Также авторами показано, что электрофильное замещение в фаскаплизине происходит преимущественно в положение 9. Бромирование фаскаплизина проводили с использованием  $\text{Br}_2$  или *N*-бромсукцинимида (NBS) в качестве бромлирующих агентов в уксусной кислоте при нагревании. Для завершения реакции и получения 9-бромфаскаплизина (**64a**) требуется два эквивалента NBS (рисунок 15, **a**). 9-Хлорфаскаплизин (**65**) получали действием на фаскаплизин *трет*-бутилгипохлорита в смеси уксусной кислоты и дихлорметана или действием  $\text{Cl}_2$  в уксусной кислоте при нагревании. Кроме того, соединение **65** было получено в мягких условиях под действием смеси 65%-ной азотной кислоты и уксусной кислоты или смеси  $\text{NO}_2^+/\text{BF}_4^-$  с уксусной кислотой при нагревании (рисунок 15, **б**). Авторы работы предположили, что хлорид-анион соединения **1** является источником хлора в этой реакции.



Реагенты и условия: (а). Br<sub>2</sub>, AcOH, 70 °С, 18 ч, 41% или NBS, AcOH, 65 °С, 18 ч, 65%; (б). Cl<sub>2</sub>, AcOH, 70 °С, 18 ч, 73%; *t*-BuOCl, AcOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 40 °С, 64 ч, 20%; 65% HNO<sub>3</sub> или NO<sub>2</sub><sup>+</sup>BF<sub>4</sub><sup>-</sup>, AcOH, 80 °С, 14 ч, 42%.

Рисунок 15 – Схема известных реакций ароматического электрофильного замещения в молекуле фаскаплизина [19]

### 1.3 Биологическая активность фаскаплизина и родственных соединений

Если говорить о биологической активности фаскаплизиновых алкалоидов, то необходимо отметить, что для большинства из них характерно наличие высокой цитотоксической активности в отношении различных линий опухолевых клеток [2, 21-30], но из-за недоступности большинства представителей этого семейства алкалоидов в необходимых для исследований количествах их биологические свойства до сих пор малоизучены. Сам фаскаплизин, являясь синтетически доступным соединением, изучен в достаточной степени. Для него был проведён комплекс всесторонних испытаний и показан широкий спектр биологической активности.

Так, фаскаплизин проявляет высокую цитотоксическую активность в отношении линий опухолевых клеток человека (H116 (толстая кишка), H125 (легкие) и др.) и мышей (L1210 (лимфоцитарный лейкоз), С38 (аденокарцинома толстой кишки) [1, 2, 28].

Попов и Стоник в своей работе [26] провели сравнительное изучение жизнеспособности опухолевых клеток, лимфоцитов и эритроцитов при действии различных концентраций фаскаплизина. Было показано, что исследуемое соединение в концентрациях до 50 мкг/мл не обладало цитотоксической активностью в отношении активно не делящихся клеток. Фаскаплизин в концентрациях 0.2-0.8 мкг/мл обладает сильным иммунодепрессивным действием, угнетая активацию мышиных спленоцитов. Также исследование противоопухолевой активности данного соединения проводили в отношении асцитного варианта карциномы Эрлиха в условиях *in vivo*. Испытания показали, что фаскаплизин проявляет незначительную противоопухолевую активность в отношении данной модели [26, 27].

Также активность фаскаплизина исследовали авторы работы [31]. Целью данного исследования было установить его антипролиферативную и цитотоксическую активность в отношении клеток глиомы C6 *in vitro*, изучить механизм противоопухолевого действия и провести сравнительный анализ эффективности по отношению к другим препаратам химиотерапии. Было установлено, что фаскаплизин при концентрации 0.5 мкМ обладает сильным цитотоксическим эффектом, который впоследствии приводит к гибели опухолевых клеток по механизму апоптоза по мере увеличения продолжительности воздействия соединения. Наблюдалось, что эффективность фаскаплизина значительно превосходит эффективность противоопухолевого химиотерапевтического лекарственного препарата темозоломида. Таким образом, важной особенностью фаскаплизина является его способность ингибировать рост и уничтожать мультипотентные опухолевые клетки.

В исследовании [32] была изучена антитромботическая активность фаскаплизина. Авторы работы исследовали влияние фаскаплизина на активацию, агрегацию тромбоцитов и образование тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов (PLA). Было показано, что концентрации фаскаплизина до 10 мкМ не оказывали токсического действия, тогда как более высокие концентрации 25 и 50 мкМ значительно снижали жизнеспособность тромбоцитов. Фаскаплизин в

концентрации 10 мкМ значительно снижал фосфорилирование ERK, что указывает на снижение активности фосфоинозитид-3-киназ (PI3K) в тромбоцитах. Также фаскаплизин заметно подавлял активацию гликопротеина IIb/IIIa и препятствовал склеиванию тромбоцитов, что предотвращает образование тромбов и увеличивает время кровотечения. Эти результаты демонстрируют перспективность фаскаплизина для создания на его основе препаратов, которые могут быть использованы для предотвращения образования в крови тромбов с целью снизить риск инфаркта миокарда или инсульта.

Авторы работы [33] сообщают, что анализ банка данных природных соединений на их способность к индукции Р-гликопротеина (P-gp) в клетках LS-180 аденокарциномы человека выявил семь перспективных соединений, одним из которых является фаскаплизин, продемонстрировавший при этом наилучшие результаты ( $EC_{50}$  25 нМ). Индукция P-gp является одной из недавно разработанных стратегий увеличения клиренса  $\beta$ -амилоида из мозга, пораженного болезнью Альцгеймера. Также было синтезировано 48 аналогов фаскаплизина (четыре серии):  $\beta$ -карболиновые аналоги, замещенные фаскаплизины по циклу E, аналоги с раскрытым циклом D с четвертичным атомом азота и без него. Полученные результаты скрининга P-gp выявили важные особенности взаимосвязи структура-активность. Показано, что при раскрытии цикла D фаскаплизина и сохранении атома азота C-цикла в четвертичной форме активность индукции P-gp сохранялась. Фаскаплизин наряду с его 4,5-дифторзамещенным аналогом обеспечивает увеличение экспрессии P-gp в 4-8 раз в клетках LS-180 при концентрации 1 мкМ. Однако при отсутствии четвертичного атома азота способность к индукции P-gp резко снижалась. Это указывает на то, что раскрытие цикла D допустимо при условии сохранения в структуре производного заряженного четвертичного атома азота. Также фаскаплизин продемонстрировал ингибирующее действие на ацетилхолинэстеразу (AChE) – фермент, ответственный за уменьшение нейрональной деятельности при болезни Альцгеймера. Таким образом, фаскаплизин и его аналоги показывают перспективную индукцию P-gp наряду с ингибированием AChE с хорошим терапевтическим индексом, что демонстрирует

перспективность данных соединений для разработки на их основе препаратов для лечения болезни Альцгеймера.

Кроме того, установлено, что фаскаплизин способен стимулировать эриптоз – запрограммированную гибель эритроцитов. Воздействие фаскаплизина на здоровые эритроциты приводит к сморщиванию клетки и переносу фосфолипидов из внутреннего слоя клеточной мембраны на поверхность клетки, что является отличительными чертами эриптоза. Эриптоз также сопровождался увеличением активности цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ). Фаскаплизин не только стимулирует проникновение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в клетку, но и, видимо, повышает чувствительность клетки к переносу фосфолипидов. Эффект фаскаплизина на сморщивание клетки предположительно обусловлен поступлением ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из внеклеточного пространства. Увеличение  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  приводит к активации чувствительных калиевых каналов, удалению ионов  $\text{K}^+$ , гиперполяризации клеточной мембраны, удалению ионов  $\text{Cl}^-$  и, таким образом, к потере клеткой  $\text{KCl}$  и воды. Последствия эриптоза включают быстрое выведение пораженных эритроцитов из циркулирующей крови. Стимуляция эриптоза может привести к анемии, как только уменьшение числа эритроцитов будет превосходить образование новых эритроцитов эритропоэзом [34].

Анальгетическая активность фаскаплизина была исследована в работе [35]. Морфин и его производные – опиоидные терапевтические средства, представляют собой эффективные анальгетики, но их полезные свойства нивелируются из-за формирования выраженной зависимости. В своей работе авторы провели скрининг 96 экстрактов, полученных из морских губок, для выявления новых агонистов опиатных рецепторов (ОР) с действием, отличным от действия морфина и более похожим на эффекты эндорфинов. В результате было выявлено два структурных класса алкалоидов, к которым относятся ааптамин и фаскаплизин. Показано, что фаскаплизин функционирует как «сбалансированный» агонист, способствующий активации сигнальных путей, в которых задействован как G-белок, так и  $\beta$ -аррестин, и вызывает эндоцитоз рецепторов в степени, сравнимой с воздействием DAMGO - известного опиоидного пептида с высокой специфичностью к  $\mu$ -ОР. Из

этого следует, что механизм действия фаскаплизина отличается от механизма действия традиционных опиоидных соединений. В совокупности эти результаты демонстрируют потенциал для создания на основе фаскаплизина новых анальгетических препаратов, которые не будут вызывать наркотической зависимости.

Bhushan и др. в своей работе [36] исследовали влияние фаскаплизина на сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR в клетках лейкемии человека HL-60. Исследование показало, что фаскаплизин значительно ингибирует рост клеток HL-60 со значениями IC<sub>50</sub> 1.3 мкМ, 1.0 мкМ, 0.7 мкМ и 0.5 мкМ в течение 6 ч, 12 ч, 24 ч и 48 ч соответственно. Фаскаплизин способен индуцировать апоптоз в клетках HL-60, что было подтверждено серией тестов. Исследуемое соединение также вызывает остановку клеточного цикла HL-60 в фазе суб-G1. Хорошо известно, что сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR играет важную роль в росте, выживании и метаболизме клеток. Было обнаружено, что фаскаплизин ингибирует путь PI3K/AKT/mTOR в клетках HL-60 и все основные белки этого пути, такие как p110 $\alpha$ , pAKT (S473), pAKT (T308), p-mTOR, pP70S6K, raptor и rictor даже в концентрациях 0.5 мкМ. На AKT и p70S6K он оказывал настолько сильное воздействие, что активность данных белков полностью подавлялась. Исследование показало, что фаскаплизин вызывает как аутофагию, так и апоптоз в клетках HL-60. Результаты данного исследования и открытие нового механизма действия фаскаплизина указывают на его потенциал в разработке новых противоопухолевых лекарственных препаратов.

Результаты недавних исследований [37] предоставили важную информацию о реакции эндотелиальных клеток сосудов (VEC) на фаскаплизин. Было показано, что фаскаплизин индуцирует аутофагию в VEC. Подавление аутофагии с использованием фармакологического ингибитора (3-метиладенина) или РНК-интерференцией необходимого гена аутофагии (ATG5) усиливает клеточную гибель и антиангиогенную активность фаскаплизина. Кроме того, фаскаплизин значительно увеличивает уровни белка p8 и активных форм кислорода (АФК) и снижает потенциал митохондриальной мембраны, но не влияет на путь mTOR в

VEC. Примечательно, что *N*-ацетилцистеин, поглощающий АФК, ингибирует аутофагию, вызванную фаскаплизином, и повышает уровень белка р8. Сниженный уровень р8 с использованием РНК-интерференции ингибирует аутофагию, но увеличивает уровень АФК в VEC. Из приведенного выше следует, что фаскаплизин активирует аутофагию как цитопротективный ответ через АФК и р8, по крайней мере, у данного типа клеток.

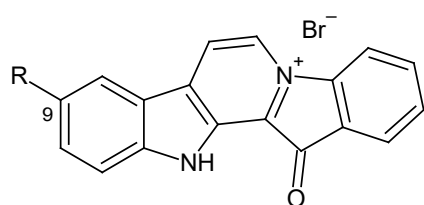
В литературе сообщалось о противомаларийном действии фаскаплизина [24, 30], о проявлении им противогельминтной [38] и противовирусной [39] активности, а также о его способности ингибировать тирозиновую киназу р56 [28]. Одно из важнейших свойств фаскаплизина – избирательное ингибирование циклинзависимой киназы 4 – универсального регулятора эукариотического клеточного цикла [40], в результате чего происходит прекращение пролиферации активно делящихся клеток [41]. Другим важнейшим свойством фаскаплизина является его способность интеркалировать в ДНК [42].

По сравнению с фаскаплизином биологическая активность его аналогов практически не исследована, но в нескольких работах сообщается, что некоторые фаскаплизиновые производные превосходят фаскаплизин по биологической активности. Так, в работе [2] была выполнена сравнительная оценка цитотоксической активности фаскаплизина (1), 3-бромфаскаплизина (4), 10-бромфаскаплизина (5), ретикулатина (16), 14-бромретикулатина (17), 7,14-дибромретикулатина (18), ретикулатата (19), 14-бромретикулатата (20), ретикулатола (21) и 14-бромретикулатола (22) в отношении большой серии линий опухолевых клеток мышей и человека. Лучшие показатели активности и селективности продемонстрировал 10-бромфаскаплизин (5). Его эффективность сопоставима с активностью фаскаплизина, но он проявил селективность в отношении солидных опухолей человека, которая отсутствует у соединения 1. Ретикулатин (16) проявил умеренную активность и сохранял селективность в отношении опухолевых клеток мышей. Единственным соединением, селективным как для мышинных, так и для человеческих опухолевых клеток, был ретикулатат (19). Ещё один эксперимент по изучению цитотоксической активности

фаскаплизина (**1**), фаскаплизина А (**3**) и 3-бромфаскаплизина (**4**) был проведен в отношении линий разных опухолевых клеток (меланома, толстая кишка, почки и др.). Соединение **4** показало в несколько раз большую активность по сравнению с фаскаплизином.

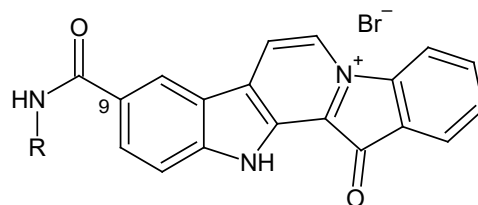
Авторы работы [28] показали, что ретикулатат (**19**) обладает высокой специфичностью в отношении клеточных линий рака толстого кишечника мышей (С38) и человека (H116). В работе [35] было показано, что 10-бромфаскаплизин представляет собой новый класс агонистов  $\mu$ -ОР с  $EC_{50} = 4.2$  мкМ.

Среди замещенных фаскаплизинов, полученных синтетически, ряд его модифицированных по положению 9 аналогов **64б**, **66** и **67а-д** проявляют высокую антимикробную/антибиопленочную активность *in vitro* и *in vivo* против метициллин-резистентного золотистого стафилококка (MRSA) [43, 44], который считается одним из самых опасных клинических патогенов (рисунок 16). Жидков и соавт. в своём исследовании [45] показали, что модифицированные аналоги фаскаплизина **68а-ж**, содержащие арильный заместитель в положении 9, также проявляют высокую антибактериальную активность *in vitro* в отношении грамположительных бактерий, включая антибиотикорезистентные штаммы (рисунок 16). В испытаниях противоопухолевой активности в отношении различных вариантов карциномы Эрлиха у мышей соединение **68а** показало значительную эффективность на начальных этапах лечения.

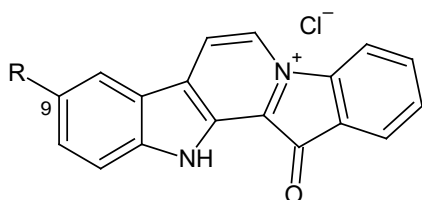
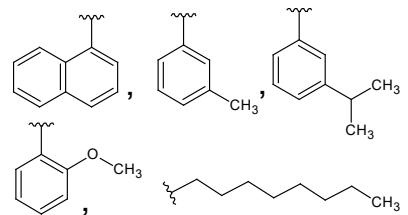


**646:** R = Br

**66:** R = CH<sub>3</sub>



**67a-д:** R =



**68a-ж:** R =

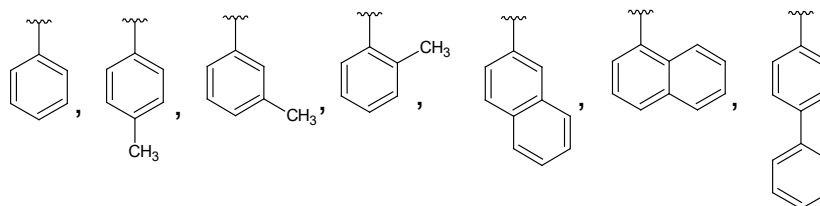


Рисунок 16 – Структура замещенных фаскаплизинов, обладающих антибактериальной активностью [43-45]

Позднее для серии 9-арилзамещенных аналогов фаскаплизина была выявлена высокая антибактериальная активность в отношении грамотрицательных патогенов [46]. Помимо этого, авторы работ [44, 46] показали, что антибактериальное действие замещённых по положению 9 соединений, как минимум, частично обусловлено ингибированием белка FtsZ – прокариотического гомолога эукариотического тубулина, из молекул которого в бактериальных клетках формируется кольцо в месте будущего деления (также называемое кольцом Z). Результаты данных исследований указывают на потенциал модифицированных фаскаплизинов для разработки новых антибактериальных лекарственных препаратов.

## 2 Обсуждение результатов

После изучения методов синтеза фаскаплизина и его аналогов, а также данных предварительных испытаний их биологической активности, приведённых в литературе, было принято решение сосредоточить внимание на природных бромированных аналогах фаскаплизина, обладающих более высокой активностью по сравнению с родоначальным алкалоидом, и соединениях подгруппы ретикулатина, для которых была показана селективность биологического действия. В качестве объектов для синтеза были выбраны 3-бром-, 10-бром-, 3,10-дибромфаскаплизин и 14-бромретикулатин. В рамках данной работы были осуществлены разработка методов синтеза выбранных аналогов, изучение их биологической активности и исследования по модификации структуры наиболее перспективных соединений.

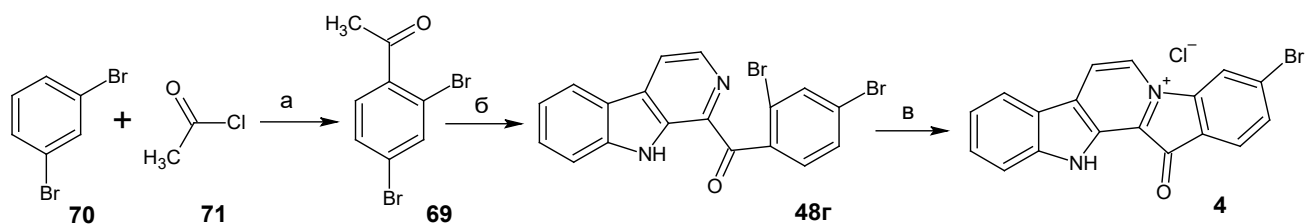
### 2.1 Синтез и изучение биологического действия 3-бром-, 10-бром-, 3,10-дибромфаскаплизина и 14-бромретикулатина

#### 2.1.1 Синтез 3-бромфаскаплизина (4)

Первым целевым соединением, к синтезу которого было решено приступить, стало монобромированное производное фаскаплизина по циклу E – 3-бромфаскаплизин (4) – цитотоксический алкалоид морских беспозвоночных, выделенный из асцидии *Didemnum* sp. Данное соединение обладает высокой цитотоксической активностью в отношении различных линий опухолевых клеток. Оно оказывает противоопухолевое действие в нетоксичных для нормальных клеток концентрациях и может найти применение в онкологии, а также в научных исследованиях в области клеточной и молекулярной биологии [47].

В отличие от фаскаплизина 3-бромфаскаплизин (4) более труднодоступен (см. рисунок 7), поэтому на начальном этапе исследований мы адаптировали эффективный метод синтеза фаскаплизина по Yan-Ping Zhu для синтеза 3-бромфаскаплизина, используя в качестве исходных соединений триптамин (44a) и 2,4-дибромацетофенон (69), полученный по известной методике [48] из *m*-дибромбензола (70) и ацетилхлорида (71) (рисунок 17). При этом используемый

в оригинальном методе в качестве растворителя сероуглерод заменили на 1,2-дихлорэтан.



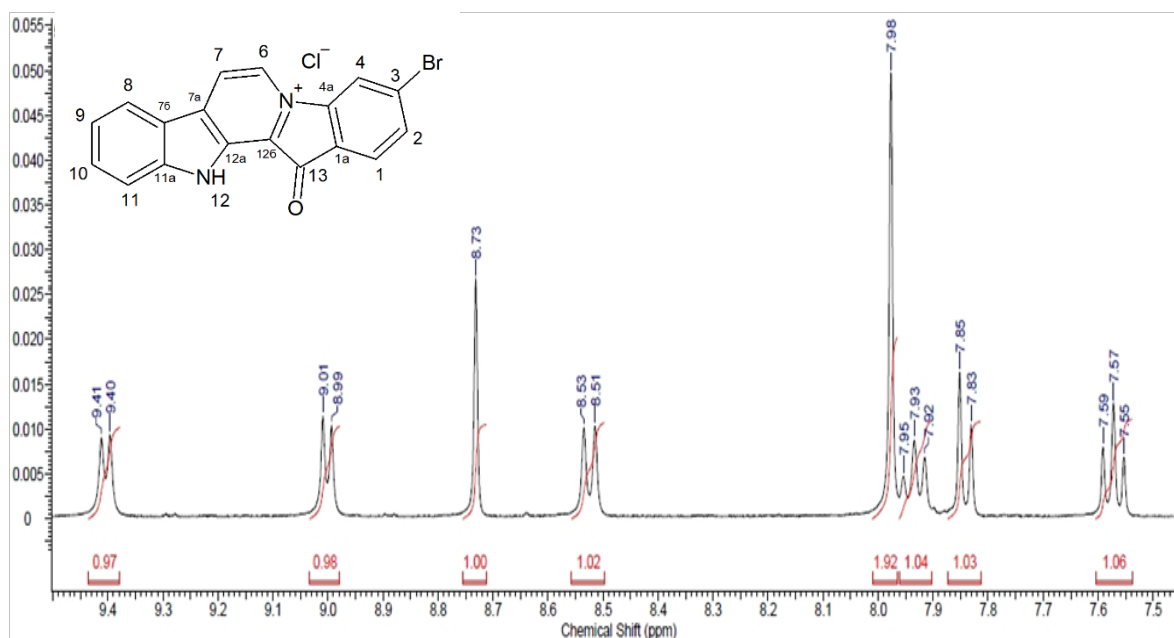
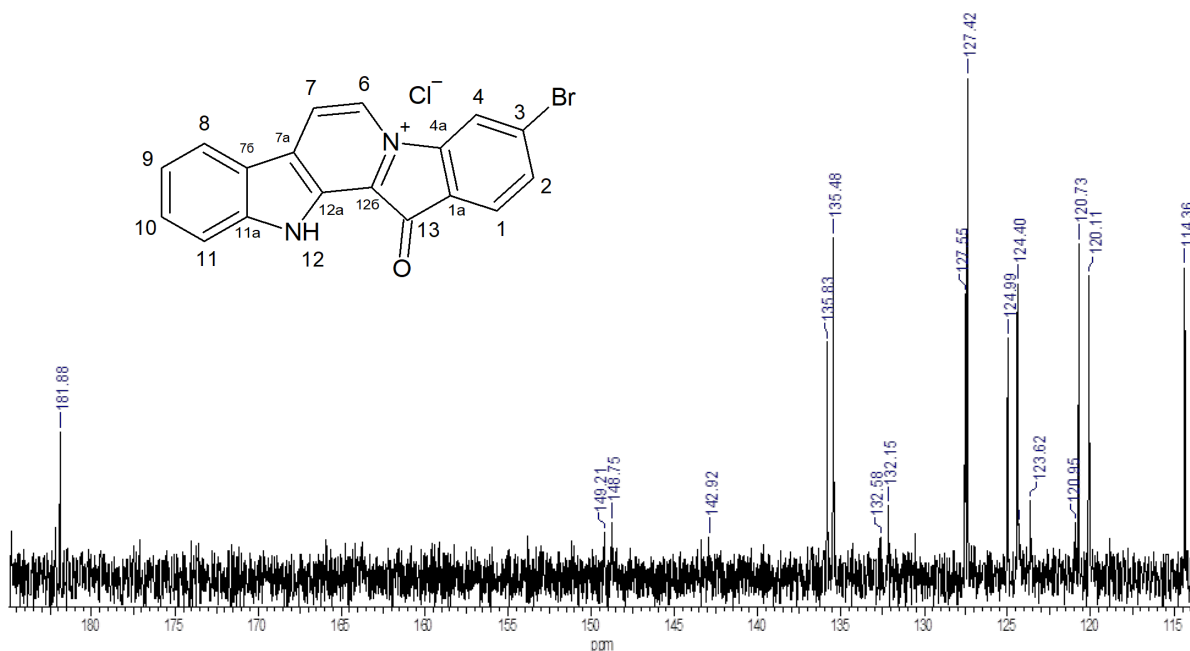
Реагенты и условия: (а).  $\text{AlCl}_3$ , 1,2-дихлорэтан, 50 °С, 5 ч, 72%; (б). Триптамин (**44а**),  $\text{I}_2$ , ТБГП, ДМСО, 110 °С, 5 ч, 35%; (в). 220 °С, 30 мин, 84%.

### Рисунок 17 – Схема синтеза 3-бромфаскаплизина (**4**)

Полученный 2,4-дихлормацетофенон (**69**) ввели в реакцию с триптамином (**44а**) в присутствии йода и *трет*-бутилгидропероксида (ТБГП) в ДМСО (рисунок 17). Структура полученного 1-(2',4'-дихлорбензоил)-β-карболина (**48г**) была подтверждена данными спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$  и ЯМР  $^{13}\text{C}$  [49].

Далее провели кватернизацию 1-(2',4'-дихлорбензоил)-β-карболина в 3-бромфаскаплизин (**4**) при температуре 220 °С (рисунок 17). На последней стадии синтеза выход продукта составил 84%. Структуру продукта **4** подтвердили данными спектроскопии ЯМР.

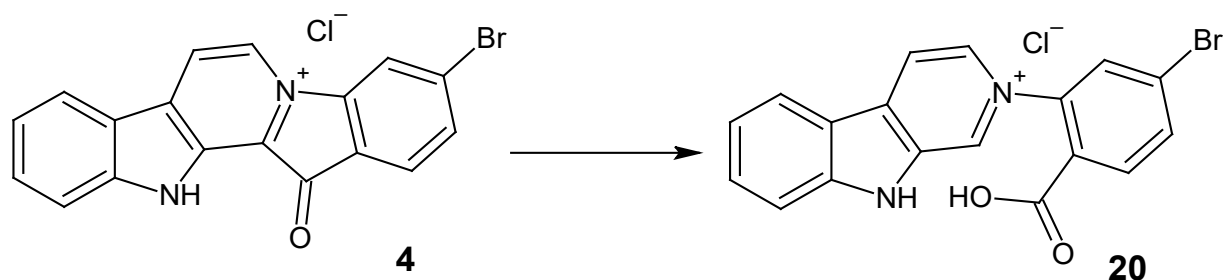
В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  3-бромфаскаплизина (**4**) общая интегральная интенсивность сигналов протонов соответствует девяти протонам (рисунок 18). В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  наблюдаются сигналы ядер восемнадцати атомов углерода. Сигнал при 181.9 м.д. принадлежит карбонильному атому углерода (рисунок 19). Строение полученного продукта было подтверждено путем сопоставления данных обсуждаемых спектров с известными данными спектров природного 3-бромфаскаплизина [2].

Рисунок 18 – Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  3-бромфаскаплизинаРисунок 19 – Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  3-бромфаскаплизина

### 2.1.2 Синтез 14-бромретикулатата (20) и 14-бромретикулатина (17)

Сеграверс и соавт. предположили [2], что 14-бромретикулатин (17) может быть получен в одну стадию действием метанола на 14-бромретикулатат (20). Применяв известный метод конверсии фаскаплизина в ретикулатат [20], из 3-бромфаскаплизина (4) под действием гидроксида калия был получен 14-

бромретикулатат (**20**) (рисунок 20). Соединение **20** было исследовано методом спектроскопии ЯМР.



Реагенты и условия: КОН, диоксан, т. кип., 1 ч, 82%.

Рисунок 20 – Схема синтеза 14-бромретикулатата (**20**)

В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  продукта **20** (рисунок 21) присутствуют сигналы восемнадцати атомов углерода, наблюдается сигнал при 152.1 м.д., принадлежащий карбоксильному атому углерода. В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  (рисунок 22) общая интегральная интенсивность сигналов протонов соответствует 10 протонам.

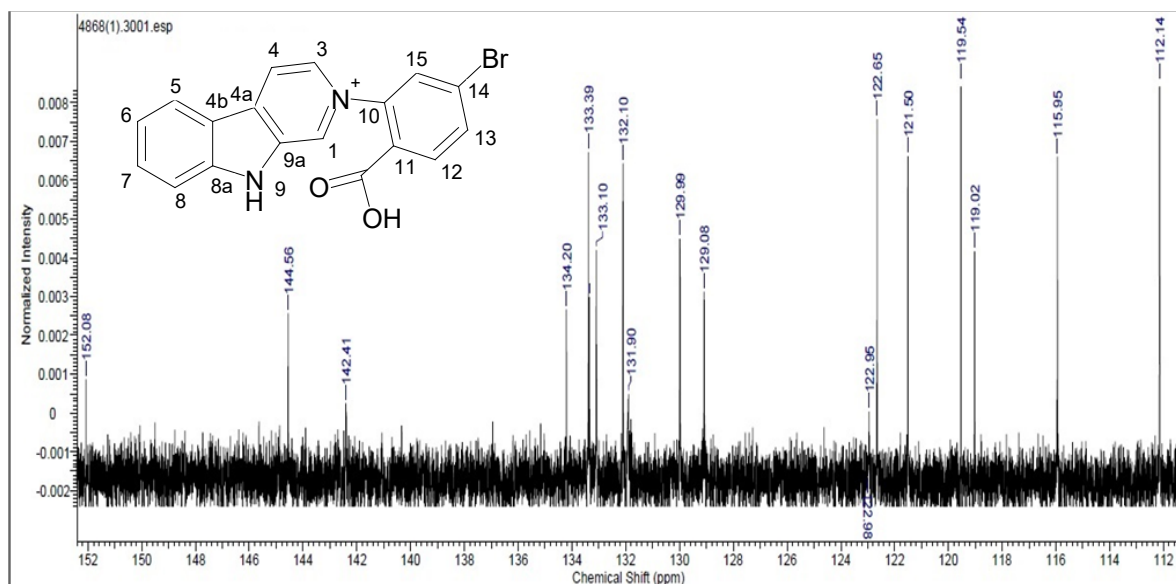


Рисунок 21 – Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  соединения **20**

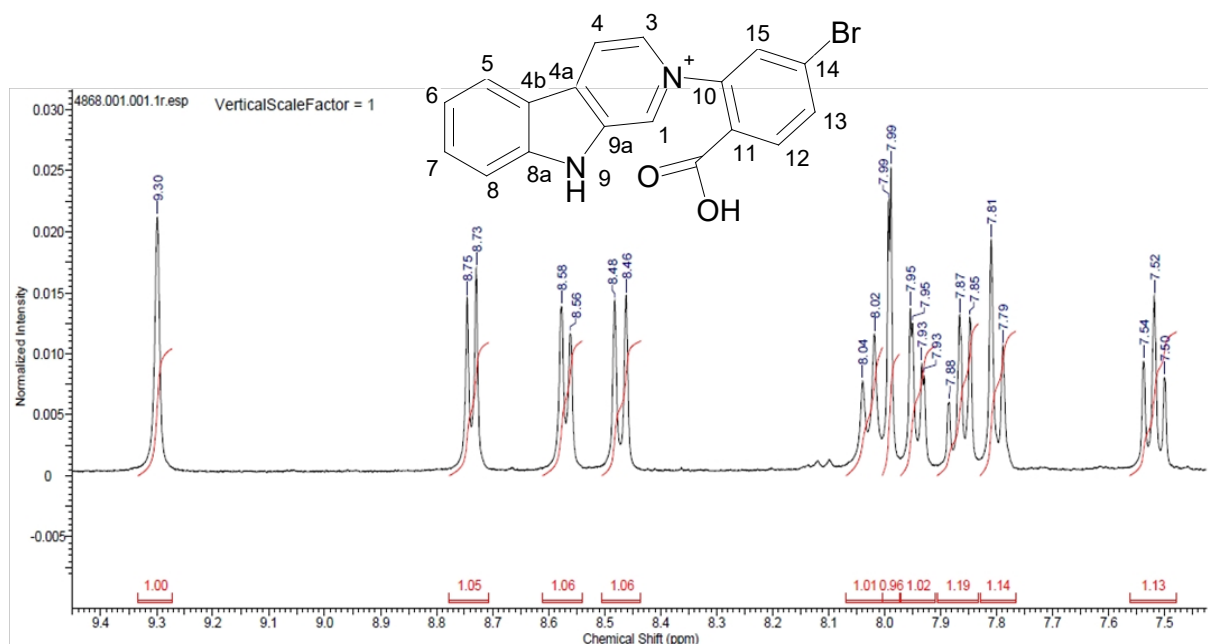
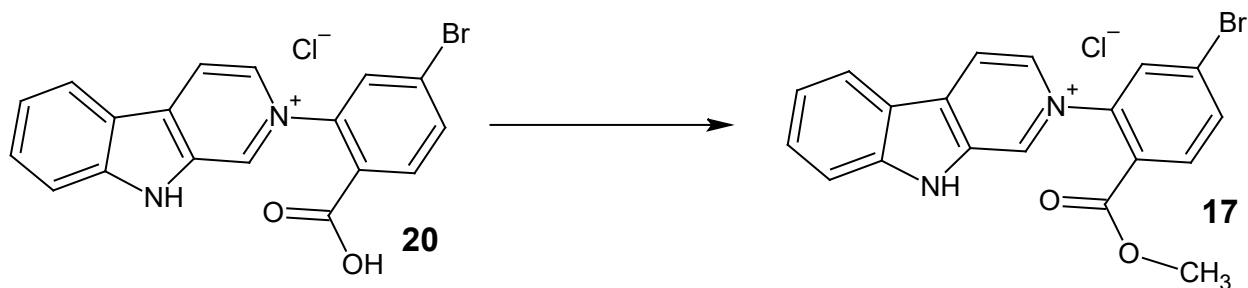


Рисунок 22 – Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  соединения **20**

Действием раствора диазометана [50] 14-бромретикулатат (**20**) был конвертирован в 14-бромретикулатин (**17**) (рисунок 23).



Реагенты и условия: диазометан, EtOH,  $-5\text{ }^\circ\text{C}$ , 30 мин, 20%.

Рисунок 23 – Схема синтеза 14-бромретикулатина (**17**)

По данным ТСХ в реакционной смеси присутствуют три соединения, одно из которых является доминирующим и не соответствует исходному. Методом ПТСХ из реакционной смеси были выделены три соединения, которые были исследованы методом масс-спектрометрии. Основному продукту соответствует масс-спектр (рисунок 24) с ожидаемым для соединения **17** кластером пиков молекулярного иона  $[\text{M}]^+$  с  $m/z$  381/383. Также наблюдается кластер пиков с  $m/z$  367/369, принадлежащий исходному соединению.

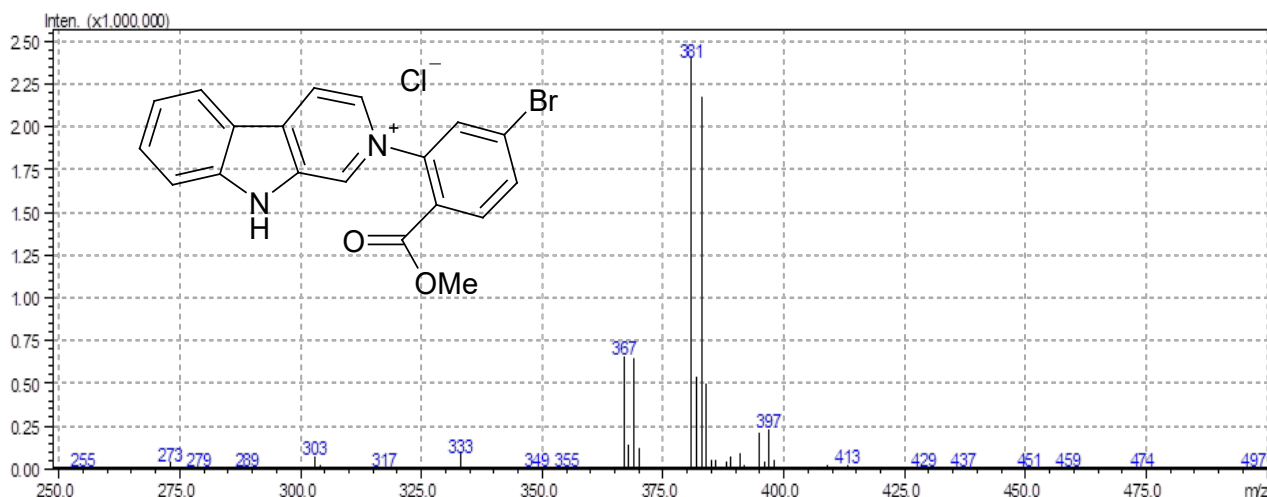
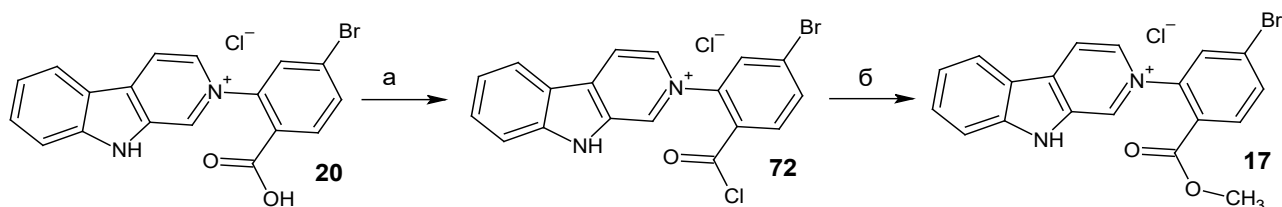


Рисунок 24 – Масс-спектр 14-бромретикулатина (17)

Структуру полученного продукта **17** подтвердили сравнением данных спектров ЯМР  $^1\text{H}$  и ЯМР  $^{13}\text{C}$  с аналогичными данными природного 14-бромретикулатина [28].

Описанное взаимодействие 14-бромретикулатата с диазометаном позволило получить 14-бромретикулатин с выходом всего 20%. Для достижения большего выхода целевого соединения осуществили подбор условий реакции (температурный режим, время проведения реакции, соотношение реагентов и порционное добавление диазометана). Реакция воспроизводится в исследованных условиях, но в результате неизменно образуется смесь целевого продукта с исходным соединением.

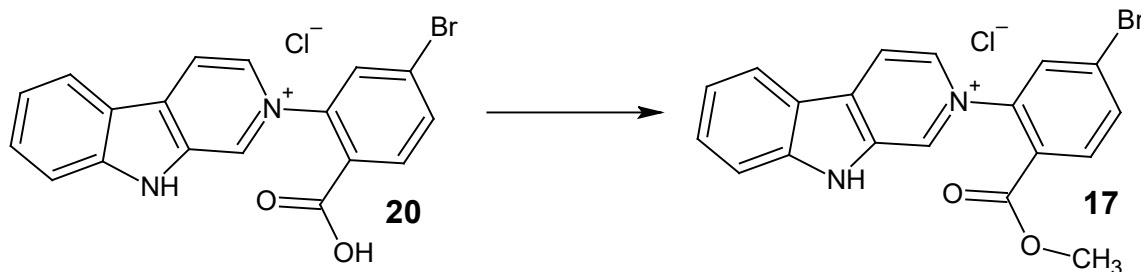
Столкнувшись с проблемой образования смеси соединений, был использован иной способ получения сложных эфиров, включающий образование промежуточного хлорангидрида. Провели взаимодействие 14-бромретикулатата с пентахлоридом фосфора при 80 °С. После удаления оставшихся жидких компонентов отгонкой полученный хлорангидрид **72** ввели в реакцию с метанолом (рисунок 25). В ходе её также образовалась смесь целевого продукта с исходным соединением.



Реагенты и условия: (а).  $\text{PCl}_5$ ,  $\text{POCl}_3$ , 80 °С, 1 ч; (б).  $\text{MeOH}$ , комн. т., 30 мин.

Рисунок 25 – Схема синтеза 14-бромтриптамина из 14-бромтриптамата действием пентахлорида фосфора

Тогда осуществили реакцию взаимодействия 14-бромтриптамата (20) с диметилсульфатом в ацетонитриле. Для перевода карбоксильной группы в карбоксилат-анион прибавили к смеси карбонат натрия (рисунок 26). Процесс контролировали методом ТСХ. Наблюдали появление целевого продукта и практически полное отсутствие исходного соединения. Выход соединения 17 составил 52%.



Реагенты и условия:  $(\text{MeO})_2\text{SO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{MeCN}$ , комн.т., 30 мин, 52%.

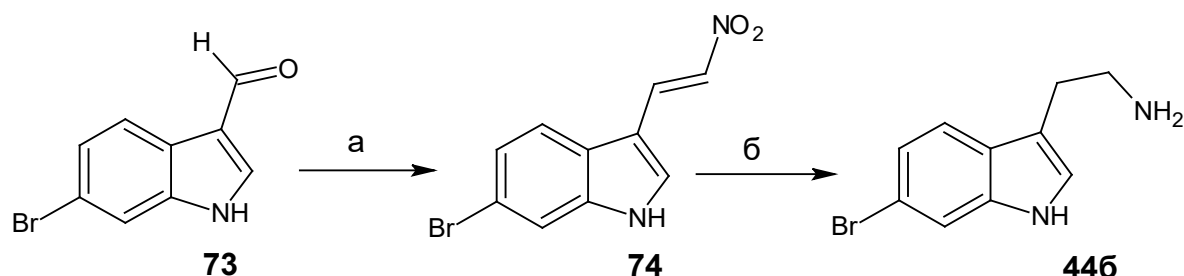
Рисунок 26 – Схема синтеза 14-бромтриптамина O-алкилированием 14-бромтриптамата диметилсульфатом

### 2.1.3 Синтез 10-бромфаскаплизина (5)

Следующим целевым соединением, к синтезу которого мы приступили, был 10-бромфаскаплизин (5). Ранее описанный синтез данного соединения по Радченко включает большое число стадий, в основном, из-за труднодоступности исходного 6-бромтриптамина и 2-бромфенилуксусной кислоты (45a) [9], что сводит на нет преимущества выбранного подхода. Применение упомянутого выше метода Yan-Ping Zhu (рисунок 11) позволяет упростить задачу, заменив кислоту 45a на *o*-бромацетофенон (58) (рисунок 28), но не снимает проблему получения 6-бромтриптамина, который, в отличие от триптамина, не является коммерчески

доступным соединением. С целью получения 6-бромтриптамина в препаративных количествах был использован коммерчески доступный 6-бром-3-формилиндол (**73**).

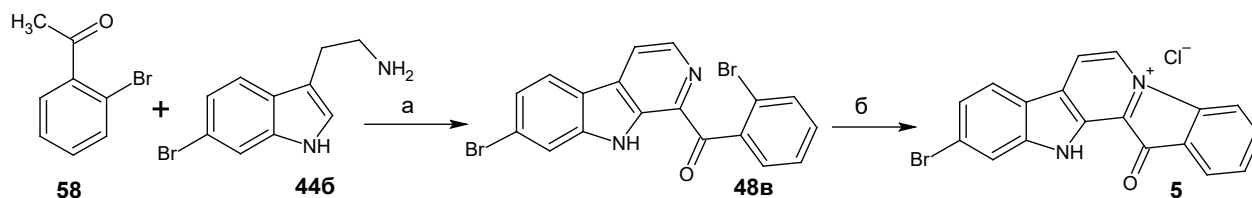
Взаимодействие соединения **73** с ацетатом аммония в нитрометане дало 6-бром-3-[(*E*)-2-нитровинил]-1H-индол (**74**) с выходом 98% (рисунок 27). Далее полупродукт **74** под действием комплекса боран-ТГФ был конвертирован в 6-бромтриптамин (**446**).



Реагенты и условия: (а).  $\text{CH}_3\text{NO}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ , т. кип., 1 ч, 98%; (б). 1)  $\text{BH}_3 \cdot \text{TГФ}$ , т. кип., 2 ч; 2)  $\text{HCl}$ , т. кип., 2 ч, 70%.

Рисунок 27 – Схема синтеза 6-бромтриптамина (**446**)

Реакция 6-бромтриптамина (**446**) с *o*-бромацетофеноном (**58**) дала 1-(2'-бромбензоил)-7-бром- $\beta$ -карболин (**48в**), который подвергли высокотемпературной циклизации до 10-бромфаскаплизина (**5**). Структуру целевого продукта подтвердили методом спектроскопии ЯМР.



Реагенты и условия: (а).  $\text{I}_2$ , ДМСО, 110 °С, 6 ч, 38%; (б). 1) 220 °С, 30 мин; 2)  $\text{HCl}/\text{MeOH}$ , 83%.

Рисунок 28 – Схема синтеза 10-бромфаскаплизина (**5**)

В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  соединения **5** общая интегральная интенсивность сигналов протонов соответствует девяти протонам (рисунок 29). Сравнение данных спектров ЯМР продукта **5** с данными, представленными в работе [2], подтверждает его структуру.

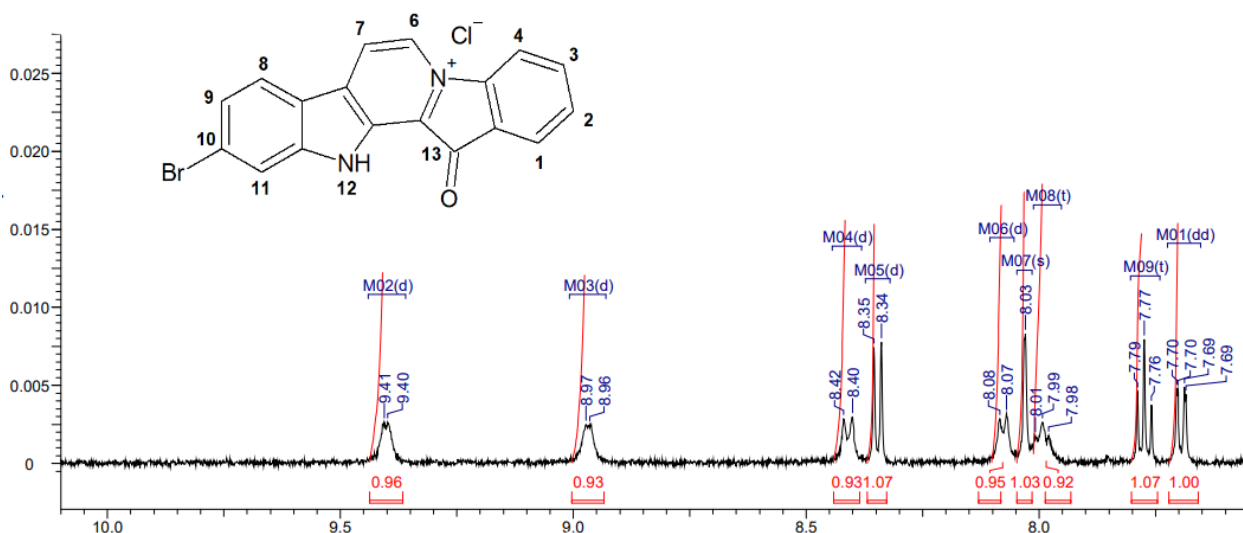
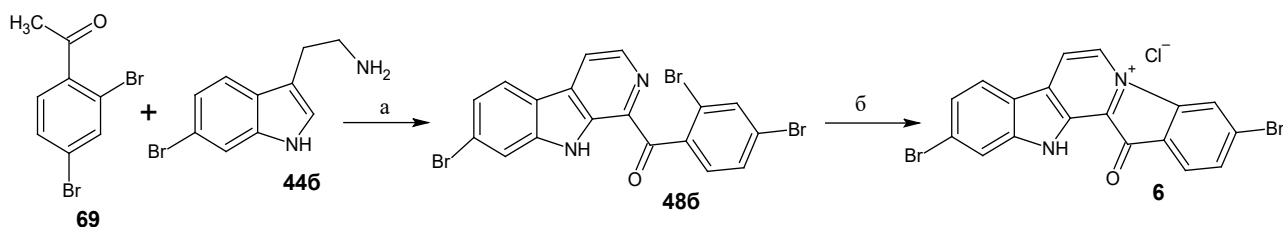


Рисунок 29 – Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  10-бромфаскаплизина

#### 2.1.4 Синтез 3,10-дибромфаскаплизина (6)

3,10-Дибромфаскаплизин (6) ранее был получен по методу Радченко (рисунок 7) в шесть стадий из 6-бромтриптамина (446) и труднодоступной 2,4-дибромфенилуксунной кислоты (456) [9]. Использованный выше метод синтеза фаскаплизинов из триптамина и ацетофенонов по Zhu (рисунок 11) также был адаптирован для синтеза 3,10-дибромфаскаплизина (рисунок 30). На первой стадии из 2,4-дибромацетофенона (69) и ранее синтезированного 6-бромтриптамина (446) получили 1-(2',4'-дибромбензоил)-7-бром- $\beta$ -карболин (486). Чистоту соединения 486 подтвердили спектрально (ЯМР  $^1\text{H}$  и ЯМР  $^{13}\text{C}$ ) [49].



Реагенты и условия: (а).  $\text{I}_2$ , ДМСО, 110 °С, 6 ч, 37%; (б). 1) 220 °С, 30 мин; 2)  $\text{HCl}/\text{MeOH}$ , 91%.

Рисунок 30 – Схема синтеза 3,10-дибромфаскаплизина (6)

Высокотемпературная циклизация полупродукта 486 дала 3,10-дибромфаскаплизин (6) с выходом 91%. Структура соединения 6 была подтверждена методами масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР.

На рисунке 31 приведен ESI(+)-масс-спектр соединения **6**, содержащий кластер пиков молекулярного иона  $[M]^+$  с  $m/z$  427/429/431, что характерно для соединений, содержащих два атома брома.

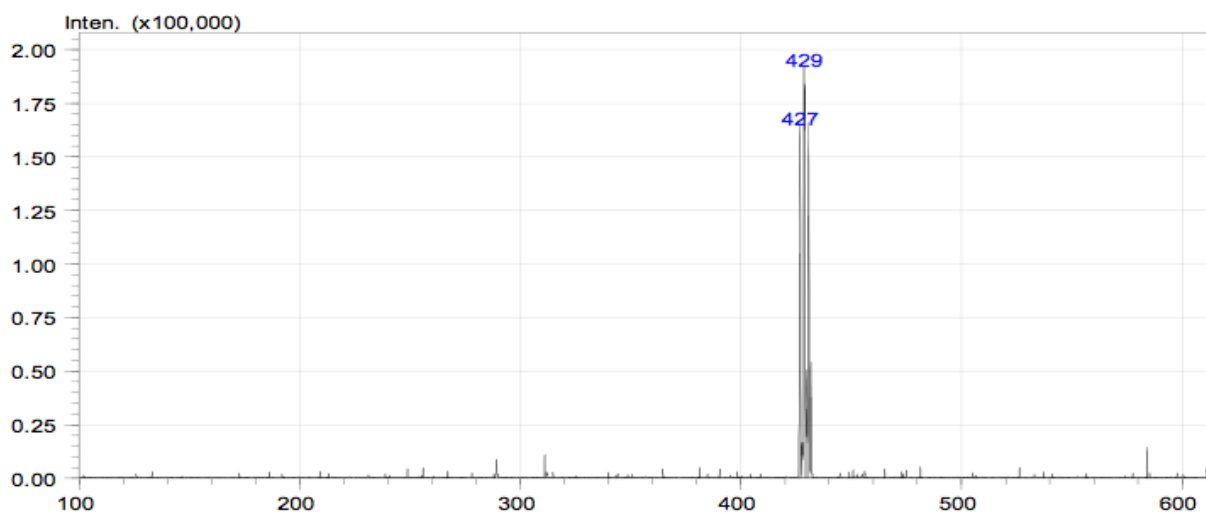


Рисунок 31 – Масс-спектр 3,10-дибромфаскаплизина (**6**)

В спектре ЯМР  $^1H$  (рисунок 32) общая интегральная интенсивность сигналов протонов соответствует восьми протонам.

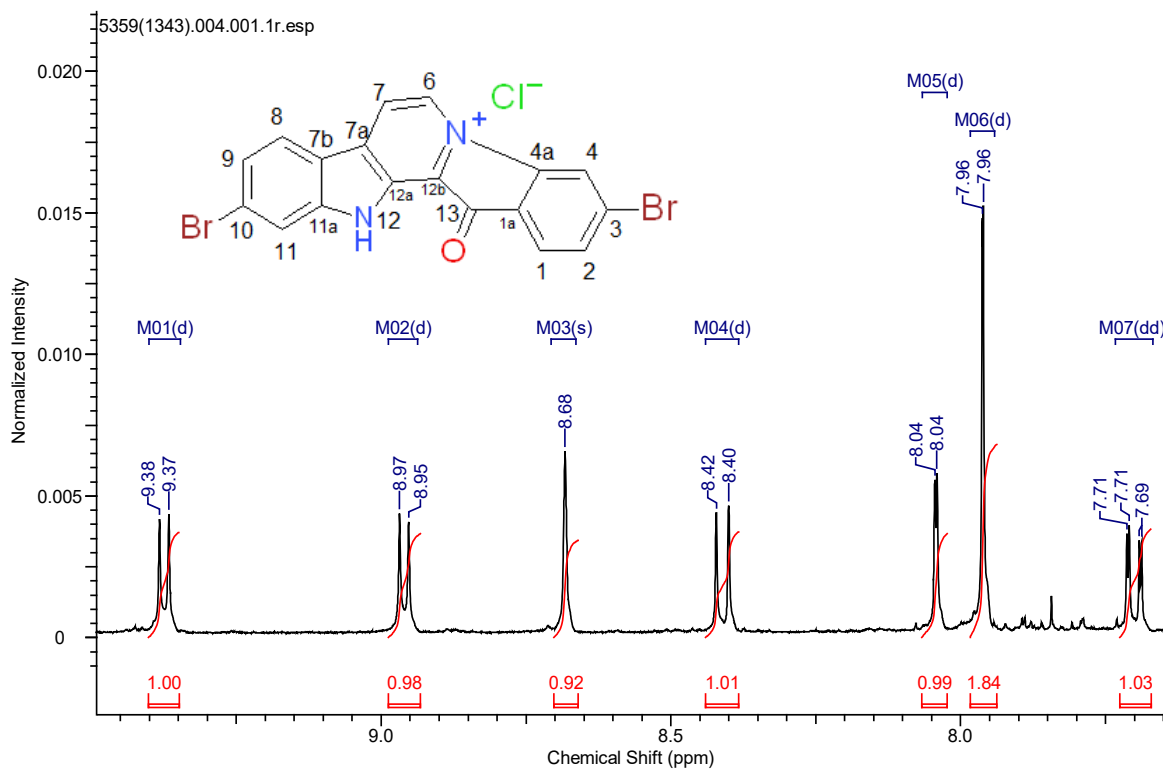


Рисунок 32 – Спектр ЯМР  $^1H$  3,10-дибромфаскаплизина (**6**)

В спектре ЯМР  $^{13}C$  наблюдаются сигналы восемнадцати атомов углерода. Сигнал при 180.2 м.д. принадлежит карбонильному атому углерода (рисунок 33).

Отнесение сигналов протонов и атомов углерода сделано на основе литературных данных, известных для соединения **6** [2].

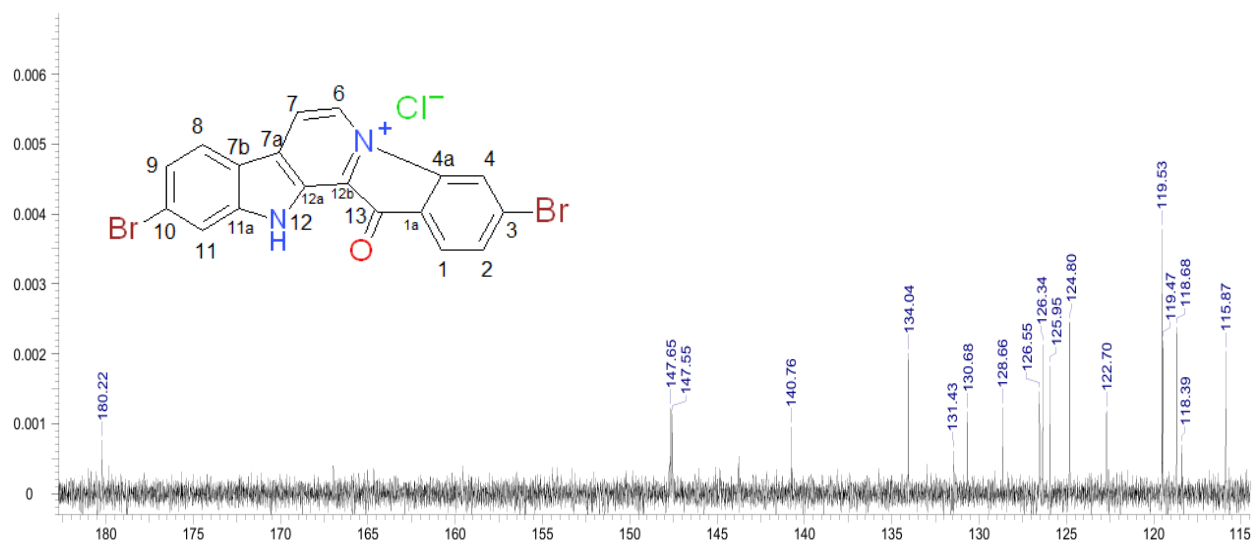


Рисунок 33 – Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  3,10-дибромфаскаплизина (**6**)

### 2.1.5 Изучение биологической активности полученных соединений *in vitro*

Для 3-бром- (**4**), 10-бром- (**5**), 3,10-дибромфаскаплизина (**6**), 14-бромретикулатата (**20**) и 14-бромретикулатина (**17**) была изучена биологическая активность<sup>2</sup>. В ходе предварительных экспериментов было определено цитотоксическое действие соединений **4**, **6**, **17** и **20** на клеточные линии колоректальной карциномы человека (HT-29), рака молочной железы человека (T-47D), меланомы (SK-MEL-28) и двух линий лекарственно-устойчивых клеток рака предстательной железы человека PC-3 и 22Rv1. Фаскаплизин (**1**) использовали в качестве стандарта. Результаты показали, что цитотоксическое действие исследованных соединений сильно различается в зависимости от типа используемых опухолевых клеток (таблица 1) [49].

<sup>2</sup> Исследования были выполнены сотрудником Лаборатории экспериментальной онкологии Университетского медицинского центра Гамбург-Эппендорф (Германия) Дышловым С.А. и сотрудником Лаборатории химии ферментов ТИБОУ ДВО РАН Маляренко О.С.

Таблица 1 – Сравнение цитотоксичности соединений **1**, **4**, **6**, **17** и **20** в отношении различных культур опухолевых клеток

Соединение	Концентрация полумаксимального ингибирования (IC <sub>50</sub> ), мкМ, в отношении опухолевых клеток						IC <sub>50</sub> (ViCell)/IC <sub>50</sub> (MTT) для 22Rv1
	HT-29 (MTS)	T-47D (MTS)	SK-MEL-28 (MTS)	PC-3 (MTT)	22Rv1 (MTT)	22Rv1 (ViCell)	
<b>1</b>	2.7±0.05	5.0±0.2	1.3±0.08	0.78±0.16	0.24±0.04	0.34±0.11	1.39
<b>4</b>	3.3±0.12	>5	1.9±0.04	10±1.75	0.42±0.29	0.24±0.14	0.58
<b>6</b>	>5	>5	>5	7.28±0.73	<b>0.69±0.05</b>	<b>5.14±1.16</b>	<b>7.45</b>
<b>17</b>	>5	>5	<b>1.2±0.1</b>	>50	35.72±10.1	Не определяли	Не определяли
<b>20</b>	>5	>5	>5	Не определяли	Не определяли	Не определяли	Не определяли

Для клеточной линии T-47D цитотоксичность соединений **4**, **6**, **17** и **20** не проявлялась в исследованных концентрациях до 5 мкМ. В отношении клеток меланомы SK-MEL-28 IC<sub>50</sub> 3-бромфаскаплизина (**4**), фаскаплизина (**1**) и 14-бромретикулатина (**17**) находились в диапазоне концентраций от 1.2 до 1.9 мкМ, при этом соединение **17** проявило цитотоксичность в отношении только данной культуры клеток. В отношении клеток колоректальной карциномы человека HT-29 показано, что соединение **4** обладает сравнимым с фаскаплизином значением IC<sub>50</sub>, остальные исследованные соединения в концентрациях до 5 мкМ не были цитотоксичны. В отношении опухолевых клеток PC-3 незамещенный фаскаплизин значительно превосходил цитотоксическую активность остальных исследованных соединений.

В случае культуры 22Rv1 значения IC<sub>50</sub> веществ были определены как с помощью МТТ-теста, так и с помощью теста исключения трипанового синего (ViCell-тест). Известно, что МТТ-тест оценивает метаболическую активность клеток, в то время как тест исключения трипанового синего показывает живые клетки с неповрежденными (неокрашенными) или поврежденными (окрашенными) мембранами. Примечательно, что значение IC<sub>50</sub> для 3,10-дибромфаскаплизина (**6**),

определенное с помощью анализа исключения трипанового синего, было примерно в восемь раз выше, чем величина  $IC_{50}$ , полученная с использованием теста МТТ. Для других соединений разница значений  $IC_{50}$  в этих двух сравнительных тестах была менее выраженной. Это указывает на то, что цитотоксичность 3,10-дибромфаскаплизина преимущественно обусловлена подавлением клеточного метаболизма, а не влиянием на целостность клеточной мембраны.

Цитотоксическую активность фаскаплизина (**1**), 3-бром- (**4**), 10-бром- (**5**), 3,10-дибромфаскаплизина (**6**) и 14-бромретикулатина (**17**) дополнительно исследовали на четырёх культурах опухолевых клеток простаты человека и трёх культурах неопухолевых клеток (таблица 2) с целью определения индекса селективности действия данных соединений [51]. Определение проводили по методикам, описанным в работе [52].

Таблица 2 – Цитотоксическая активность и селективность действия соединений **1**, **4**, **5**, **6** и **17** в отношении некоторых культур опухолевых клеток простаты человека и неопухолевых клеток

	Культура клеток	$IC_{50}$ (мкМ) соединений				
		<b>1</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>17</b>
<b>Опухолевые клетки</b>	<b>PC-3</b>	0.77±0.13	10.03±6.75	17.82±1.94	7.28±0.48	>50.00
	<b>22Rv1</b>	0.24±0.81	0.42±0.06	0.50±0.07	0.69±0.02	35.72
	<b>DU145</b>	0.80±0.05	1.51±0.13	1.27±0.21	1.51±0.06	>50.00
	<b>LNCaP</b>	0.41±0.02	1.25±0.38	0.46±0.09	0.59±0.09	>50.00
<b>Неопухолевые клетки</b>	<b>MRC-9</b>	0.89±0.05	2.30±0.87	20.27±5.4	>50.00	>50.00
	<b>PNT2</b>	0.46±0.08	0.73±0.06	0.30±0.09	3.49±1.01	>50.00
	<b>HEK293</b>	0.46±0.19	1.01±0.07	0.65±0.08	0.54±0.05	>50.00
<b>Индекс селективности</b>		1.03	0.29	1.06	<b>4.40</b>	1.06

Результаты испытаний показали, что соединения **4-6** в отношении культур опухолевых клеток проявляют меньшую активность по сравнению с фаскаплизином. Ретикулатин **17** показал существенно более низкую

цитотоксическую активность по сравнению с фаскаплизином и его бромированными производными. По результатам испытаний соединения **5** и **17**, так же, как и фаскаплизин, не обладают селективностью в отношении культур опухолевых клеток. 3-Бромфаскаплизин (**4**) оказался более токсичным в отношении неопухолевых клеток по сравнению с опухолевыми. Наилучшие результаты показал 3,10-дибромфаскаплизин (**6**). Его цитотоксическое действие в отношении культур опухолевых клеток, в среднем, в 4.4 раза превосходит аналогичные показатели для культур неопухолевых клеток.

Принимая во внимание известные из литературы данные о высокой активности фаскаплизина в отношении опухолевых глиальных клеток, далее автором была изучена цитотоксическая активность фаскаплизина (**1**) и 3,10-дибромфаскаплизина (**6**) в отношении культур клеток глиобластомы крыс (С6) и кардиомиоцитов крыс (Н9с2) в условиях *in vitro*. Показано, что для фаскаплизина величина  $IC_{50}$  в отношении культуры клеток С6 составила  $1.92 \pm 0.03$  мкМ, а для культуры клеток Н9с2 -  $1.18 \pm 0.02$  мкМ (рисунок 34, (а) и (б) соответственно), тогда как 3,10-дибромфаскаплизин продемонстрировал избирательную цитотоксичность в отношении глиобластомы С6 ( $IC_{50}$   $0.42 \pm 0.02$  мкМ). В отношении культуры неопухолевых клеток соединение **6** проявило низкую цитотоксическую активность: в диапазоне концентраций 1.25 – 10.0 мкМ подавлялась жизнеспособность только 30% клеток Н9с2. Эти результаты указывают на перспективность изучения 3,10-дибромфаскаплизина в качестве противоопухолевого средства для лечения глиобластомы.

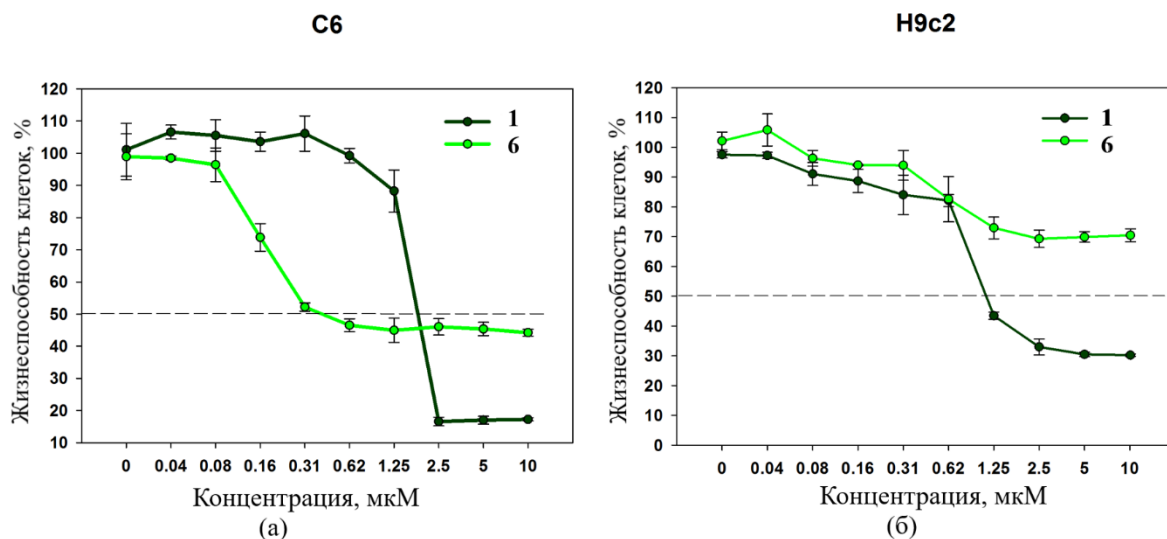


Рисунок 34 – Цитотоксическая активность фаскаплизина (1) и 3,10-дибромфаскаплизина (6) в отношении клеточной линии С6 (а) и Н9с2 (б)

Для фаскаплизина (1), 3-бром- (4), 10-бром- (5) и 3,10-дибромфаскаплизина (6) также была исследована антибактериальная активность в отношении 12-ти штаммов бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus* spp., *Mycobacterium smegmatis* и *Escherichia coli*), включая резистентные штаммы, устойчивые к метициллину и ванкомицину, с использованием метода микроразведения в бульоне<sup>3</sup>. Ванкомицин (Ван) и рифампицин (Риф) использовались в качестве положительных контролей для антибактериального скрининга [51]. Оказалось, что исследованные производные оказывают исключительно высокое антибактериальное действие в отношении большинства штаммов грамположительных бактерий. В отношении грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* полученные соединения оказались неэффективными. Данные, представленные в таблице 3, свидетельствуют, что введение одного атома брома в структуру фаскаплизина приводит к увеличению антибактериальной активности в отношении грамположительных бактерий, при этом наличие атома брома в положении 3 приводит к более сильному эффекту. 3-Бромфаскаплизин (4) проявляет повышенную активность против *E. faecalis*, но с резким снижением активности против *M. smegmatis* по сравнению с

<sup>3</sup> Испытания антибактериальной активности были проведены в Лаборатории химической трансформации антибиотиков Института новых антибиотиков имени Гаузе, г. Москва

фаскаплизином. Наличие второго атома брома в молекуле фаскаплизина не привело к дополнительному качественному росту антибактериальной активности 3,10-дибромфаскаплизина (**6**), однако в отношении ряда штаммов наблюдалось уменьшение МИК по сравнению с 3-бромфаскаплизином.

Таблица 3 – Антибактериальная активность соединений **1**, **4**, **5** и **6** в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий

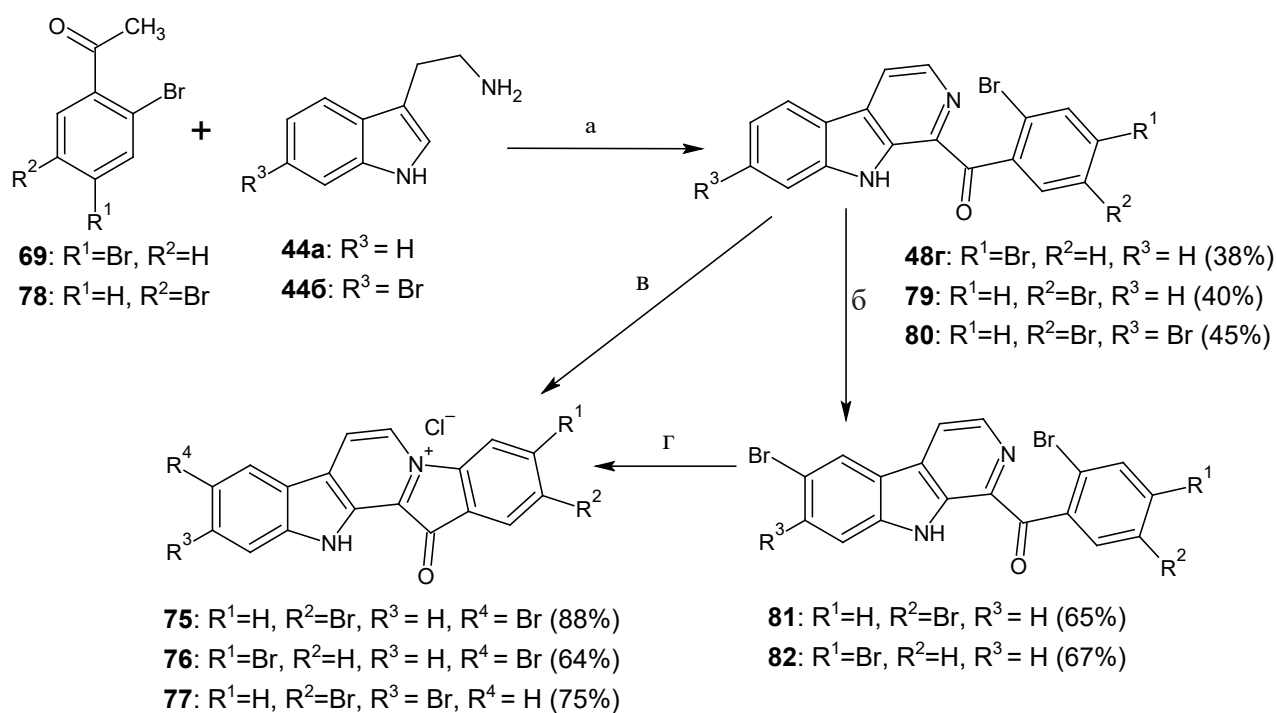
Соединение	МИК (мкг/мл) в отношении штаммов бактерий											
	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>B. cereus</i> ATCC 10702	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. faecium</i> 132	<i>E. faecium</i> 130 (VRE)	<i>E. faecalis</i> 583 (VRE)	<i>S. aureus</i> 88 (MRSA)	<i>S. aureus</i> PE3R (MRSA)	<i>S. epidermidis</i> 2001 MR	<i>S. aureus</i> 21555	<i>M. smegmatis</i> ATCC 607	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Ван	0.5	1.0	2.0	0.5	>32.0	32.0	0.5	1.0	1.0	2.0	-	-
Риф	0.018	0.25	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	8.0
<b>1</b>	1.0	0.125	8.0	1.0	1.0	≥8.0	1.0	0.5	0.0075	0.03	0.03	8.0
<b>4</b>	0.06	0.03	0.25	2.0	1.0	0.5	0.06	0.06	0.03	0.06	0.5	8.0
<b>5</b>	0.25	0.13	1.0	8.0	8.0	0.5	0.25	0.25	0.03	0.25	0.5	16.0
<b>6</b>	0.06	0.06	0.25	4.0	0.25	0.125	0.06	0.06	0.015	0.03	1.0	>8.0

Таким образом, по совокупным результатам предварительных исследований в условиях *in vitro* было выявлено, что 3,10-дибромфаскаплизин (**6**) обладает наибольшим потенциалом, что требует проведения углубленных исследований этого алкалоида.

В связи с вышеизложенным возникает вопрос, какие структурные особенности оказывают наибольшее влияние на уровень биологической активности 3,10-дибромфаскаплизина. Первым фактором, очевидно, является наличие в структуре двух атомов брома. Второй фактор может быть связан с положением заместителей в молекуле. Для проверки последнего предположения были синтезированы структурные изомеры данного соединения, содержащие атомы брома в положениях 2,9; 3,9; 2,10 и 3,8.

## 2.2 Модификация строения 3,10-дибромфаскаплизина

Синтез 2,9-дибромфаскаплизина (**75**), 3,9-дибромфаскаплизина (**76**) и 2,10-дибромфаскаплизина (**77**) осуществляли по ранее отработанному методу из соответствующих ацетофенонов **69** и **78** и незамещённого триптамина **44a** (6-бромтриптамина (**44б**) в случае 2,10-дибромфаскаплизина) (рисунок 35). Полученные 1-(2',5'-дибромбензоил)- $\beta$ -карболин (**79**) и 1-(2',4'-дибромбензоил)- $\beta$ -карболин (**48г**) ввели в реакцию с *N*-бромсукцинимидом (NBS) в уксусной кислоте [19].



Реагенты и условия: (а). I<sub>2</sub>, ДМСО, 110 °С, 6 ч; (б). NBS, CH<sub>3</sub>COOH, 90 °С, 1 ч (**48г** и **79**); (в). 220 °С, 40 мин (**80**); (г). 200 °С, 1 ч (**81**) и 2 ч (**82**).

Рисунок 35 – Схема синтеза 2,9-дибромфаскаплизина (**75**), 3,9-дибромфаскаплизина (**76**) и 2,10-дибромфаскаплизина (**77**)

Высокотемпературная циклизация 1-(2',5'-дибромбензоил)-7-бром- (**80**), 1-(2',5'-дибромбензоил)-6-бром- (**81**) и 1-(2',4'-дибромбензоил)-6-бром- $\beta$ -карболина (**82**) дала 2,10-дибром- (**77**), 2,9-дибром- (**75**) и 3,9-дибромфаскаплизин (**76**) соответственно (рисунок 35). Структуры соединений **75** и **76** были подтверждены с помощью данных спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C [53].

В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  (рисунок 36) соединения **77** общая интегральная интенсивность сигналов протонов соответствует восьми протонам. В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  наблюдаются сигналы восемнадцати атомов углерода. Сигнал при 180.6 м.д. принадлежит карбонильному атому углерода (рисунок 37).

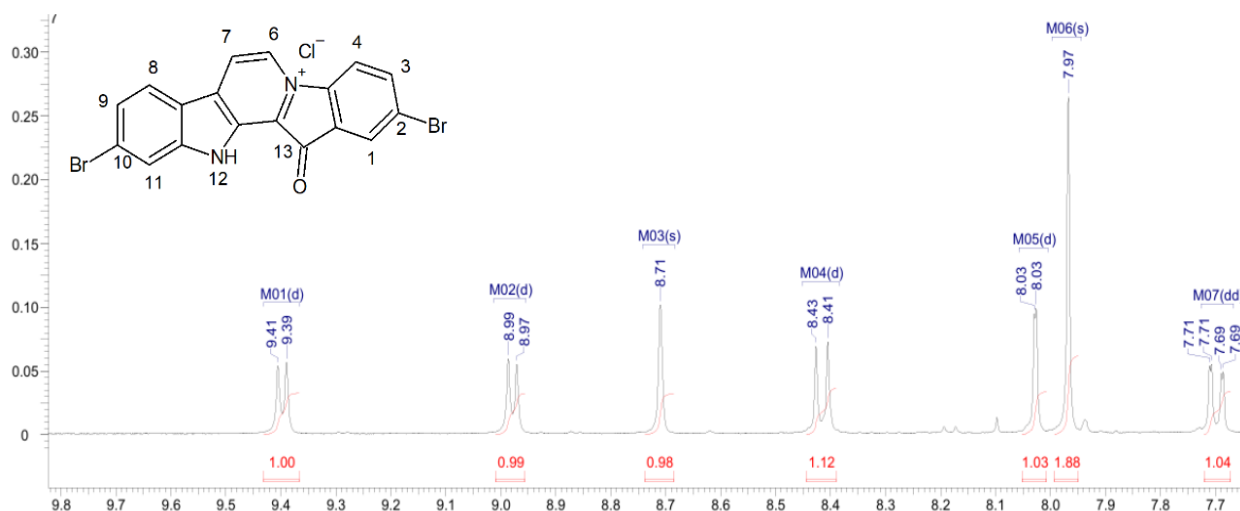


Рисунок 36 – Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  2,10–дибромфаскаплизина (**77**)

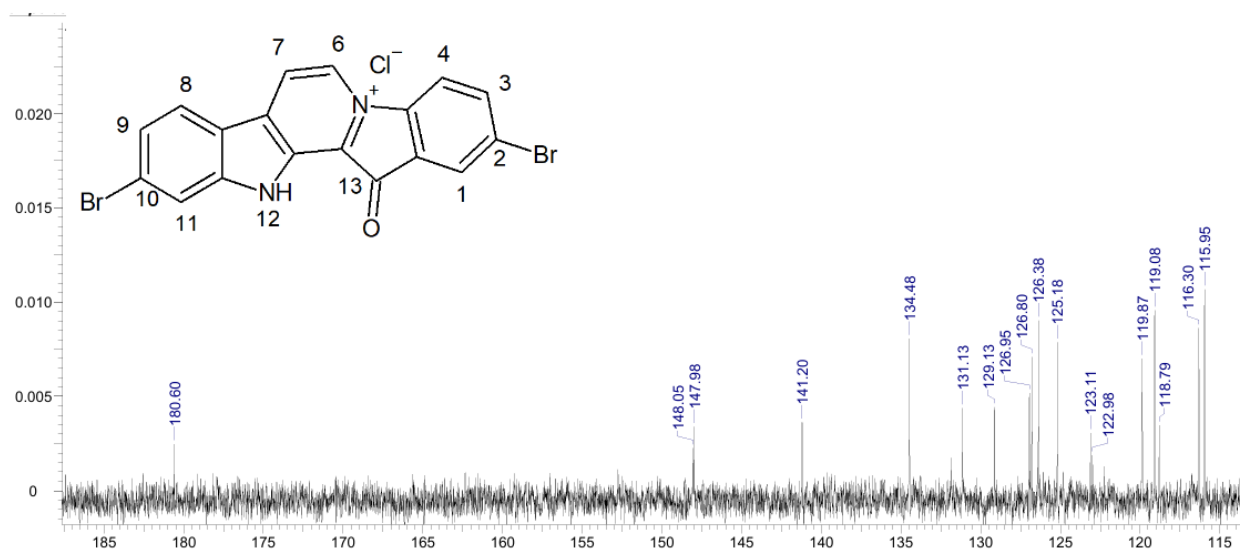
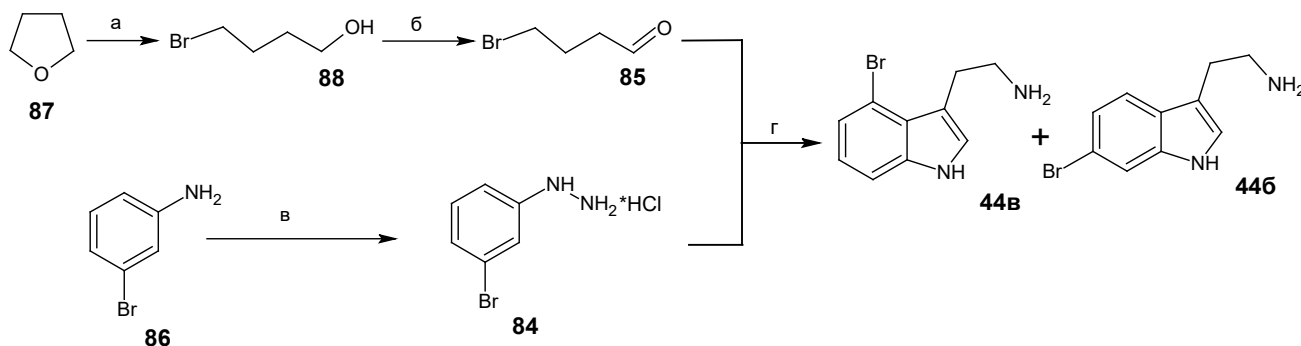


Рисунок 37 – Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  2,10–дибромфаскаплизина (**77**)

Для синтеза 3,8-дибромфаскаплизина (**83**) в качестве исходного соединения был необходим 4-бромтриптамин. Для выполнения поставленной задачи было решено провести синтез целевого соединения **44в**, используя циклизацию Фишера между фенилгидразином **84** и 4-бромбутаналем (**85**) (рисунок 38). Получение исходных соединений в необходимых количествах не представляет большой сложности и описано в литературе [54]. Очевидным недостатком предложенного

подхода является образование смеси двух изомерных триптаминов **44б** и **44в** при введении в реакцию Фишера *мета*-замещенного фенилгидразина. Вследствие этого предполагалось осуществить хроматографическое разделение смеси продуктов на следующей стадии после проведения мультикомпонентной конденсации смеси триптаминов с 2,4-дибромацетофеноном.

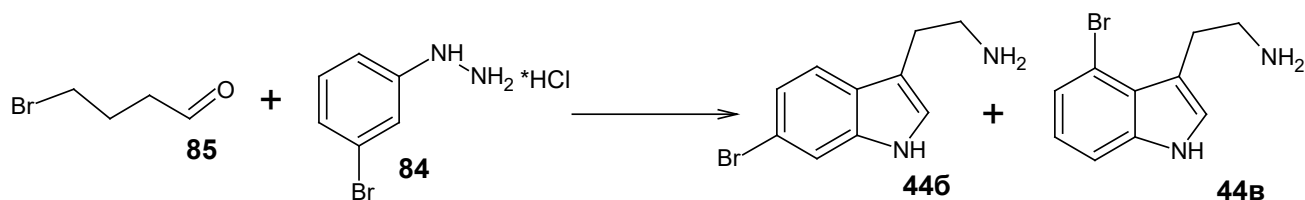


Реагенты и условия: (а). НВr, т. кип., 6.5 ч, 10%; (б). PCC, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, комн. т., 45 мин, 65%; (в). 1) NaNO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, 20%-HCl, 0 °C, 1 ч; 2) SnCl<sub>2</sub>, HCl (конц.), 0 °C, 2 ч, 34%; (г). EtOH, т. кип., 10 ч, 13%.

Рисунок 38 – Схема синтеза 6-бромтриптамина (**44б**) и 4-бромтриптамина (**44в**)

Конверсию *m*-броманилина (**86**) в гидрохлорид 3-бромфенилгидразина (**84**) осуществили действием нитрита натрия с последующим добавлением хлорида олова (II) [50]. Исходным субстратом в синтезе 4-бромбутанала (**85**) был тетрагидрофуран (**87**), который при кипячении с бромоводородной кислотой дал 4-бромбутанол (**88**). Реакция последнего с хлорхроматом пиридиния (PCC) дала желаемый продукт **85** с выходом 65% [55]. Синтез триптаминов по методу Грандберга был проведён на основе универсальной методики из работы [54] из 4-бромбутанала (**85**) и гидрохлорида 3-бромфенилгидразина. В результате образовалась смесь триптаминов **44б** и **44в** в соотношении 1/3 соответственно с выходом 13% (рисунок 38).

Была проведена оптимизация условий протекания реакции, результаты которой сведены в таблице 4. Установлено, что для ее полного протекания необходим четырёхкратный избыток альдегида и повышенная температура в условиях герметизированного сосуда. В результате выход триптаминов увеличился до 57% при эквимольном соотношении изомеров **44б** и **44в** (рисунок 39).



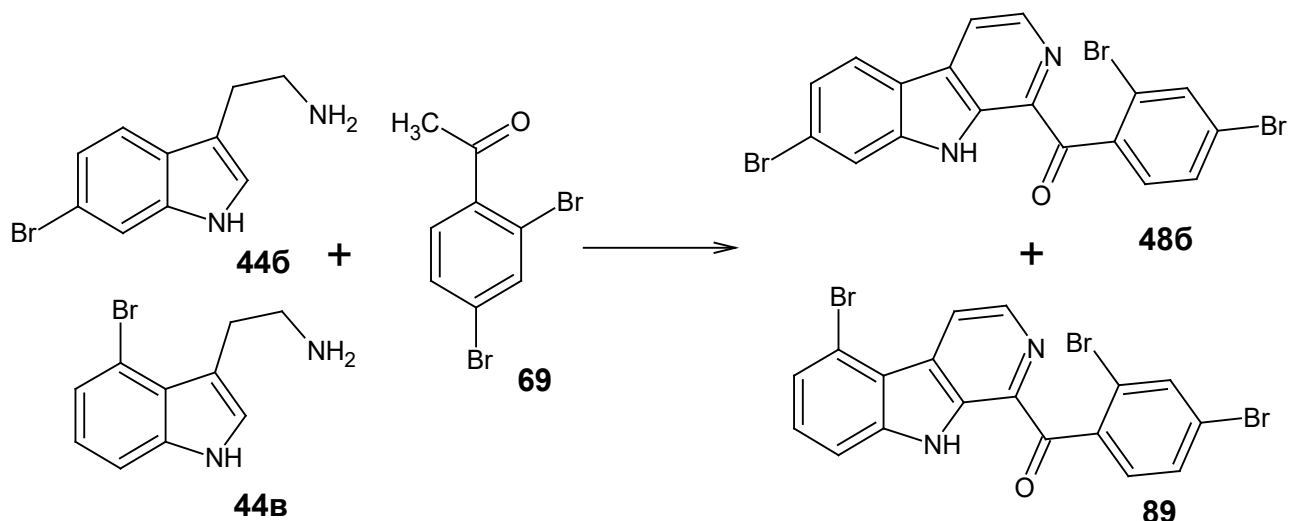
Реагенты и условия: EtOH, 150° C, 1 ч, 57%.

Рисунок 39 – Схема синтеза 6-бромтриптамина (**44b**) и 4-бромтриптамина (**44a**)

Таблица 4 – Подбор условий реакции для получения 4-бромтриптамина (**44a**)

№	Мольное соотношение реагентов		Растворитель		Температурный режим	Время реакции, ч	Состав реакционной смеси после реакции
	85	84	Этанол	Бутанол-1			
1	1	1	-	+	Кипячение	10	Реакция не идет
2	1	1	+	-	120° C	3	Преобладает исходный реагент
3	1	0.7	+	-	150° C	1	Присутствует исходный реагент. Выход триптаминов 48%
4	4	1	+	-	150° C	1	Выход триптаминов 57% ( <b>44b/44a</b> (1/1))

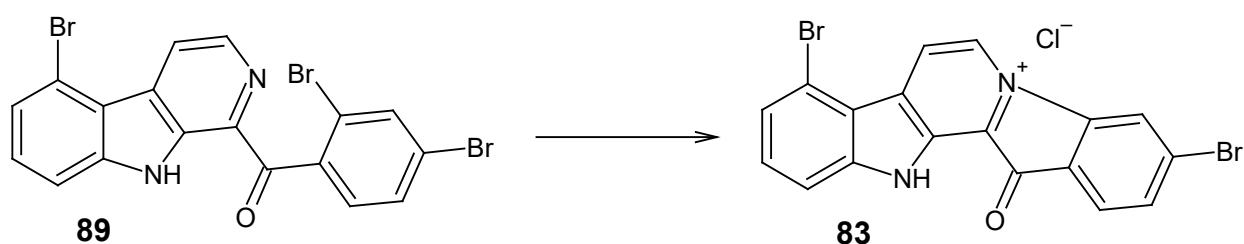
Очищенную смесь триптаминов без разделения ввели в мультикомпонентную реакцию с 2,4-дибромацетофеноном (**69**) в присутствии йода в ДМСО (рисунок 40).



Реагенты и условия:  $I_2$ , ДМСО,  $110\text{ }^\circ\text{C}$ , 6 ч, 20% (**486**) и 19% (**89**).

Рисунок 40 – Схема синтеза  $\beta$ -карболинов **486** и **89**

Методом колоночной хроматографии в системе бензол/гексан (1/1) выделили  $\beta$ -карболины **486** и **89**. Для продукта **89** были записаны спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и ЯМР  $^{13}\text{C}$  [53]. Кватернизация 1-(2',4'-дибромбензоил)-5-бром- $\beta$ -карболина (**89**) дала 3,8-дибромфаскаплизин (**83**) с выходом 93% (рисунок 41). Структура соединения **83** была подтверждена методами спектроскопии ЯМР.



Реагенты и условия: 1)  $220\text{ }^\circ\text{C}$ , 30 мин; 2)  $\text{HCl}/\text{MeOH}$ , 93%.

Рисунок 41 – Схема синтеза 3,8-дибромфаскаплизина

В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  3,8-дибромфаскаплизина общая интегральная интенсивность сигналов протонов соответствует восьми протонам (рисунок 42). Два дублета с интенсивностью 1H каждый при 9.44 м.д. и 9.36 м.д. соответствуют протонам в положении 6 и 7 соответственно. Точное отнесение остальных сигналов протонов в спектре соединения не может быть выполнено без привлечения методов двумерной спектроскопии.

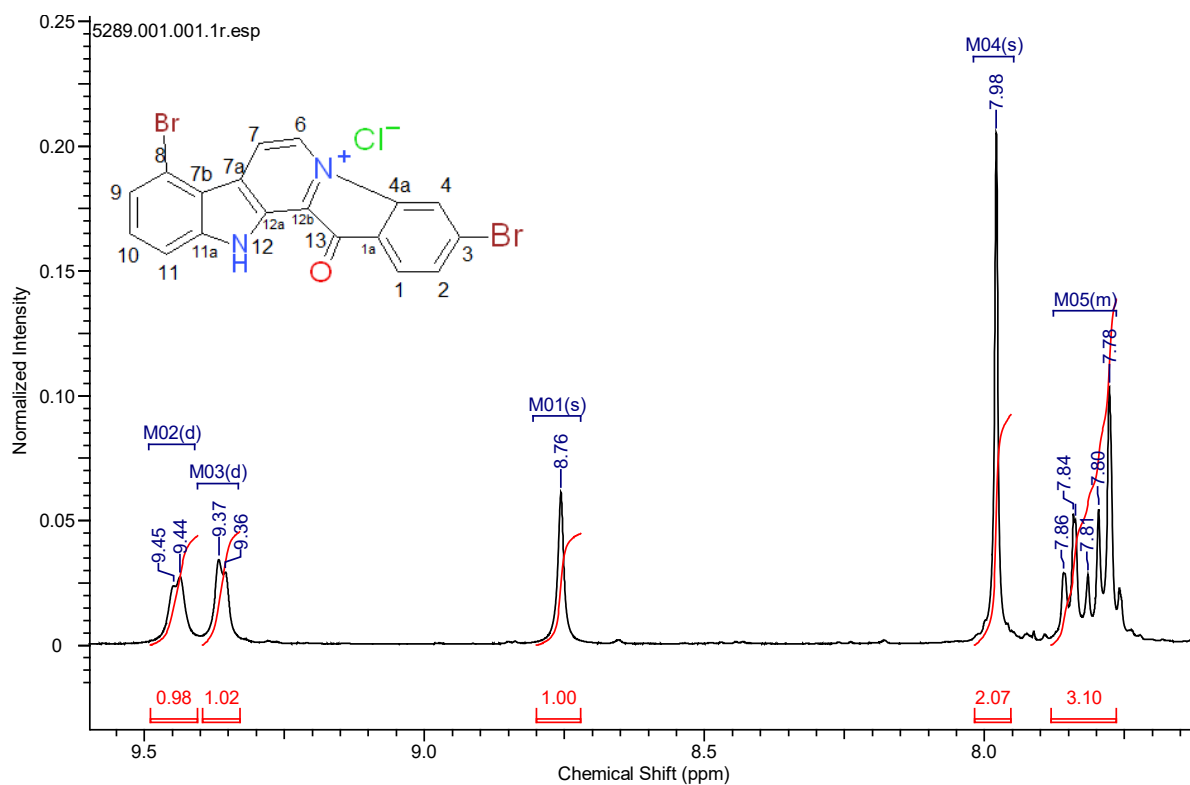


Рисунок 42 – Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  3,8-дибромфаскаплизина

В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  3,8-дибромфаскаплизина (рисунок 43) присутствуют сигналы восемнадцати атомов углерода, сигнал при 180.1 м.д. принадлежит углероду карбонильной группы.

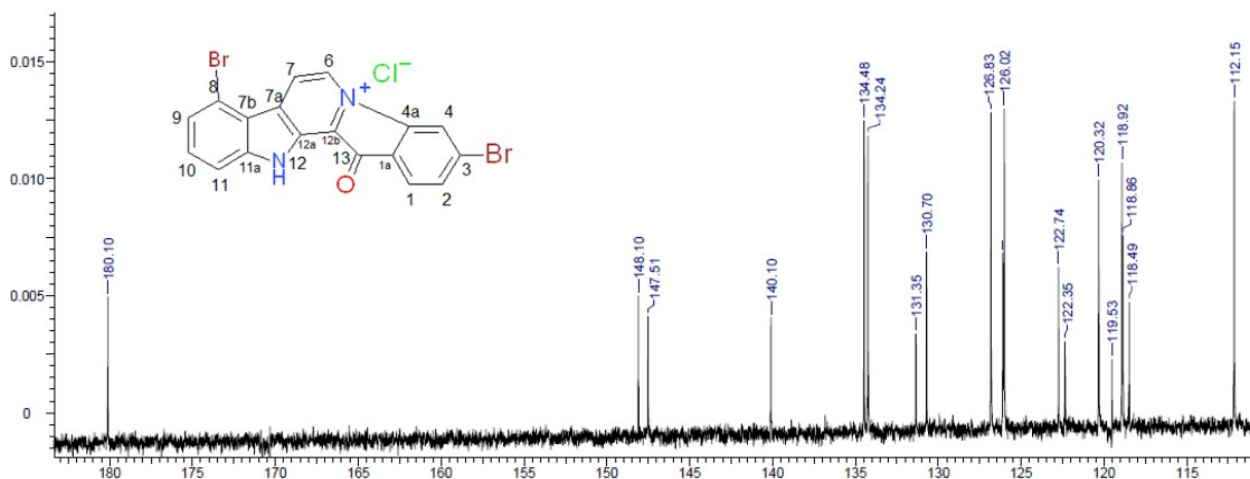
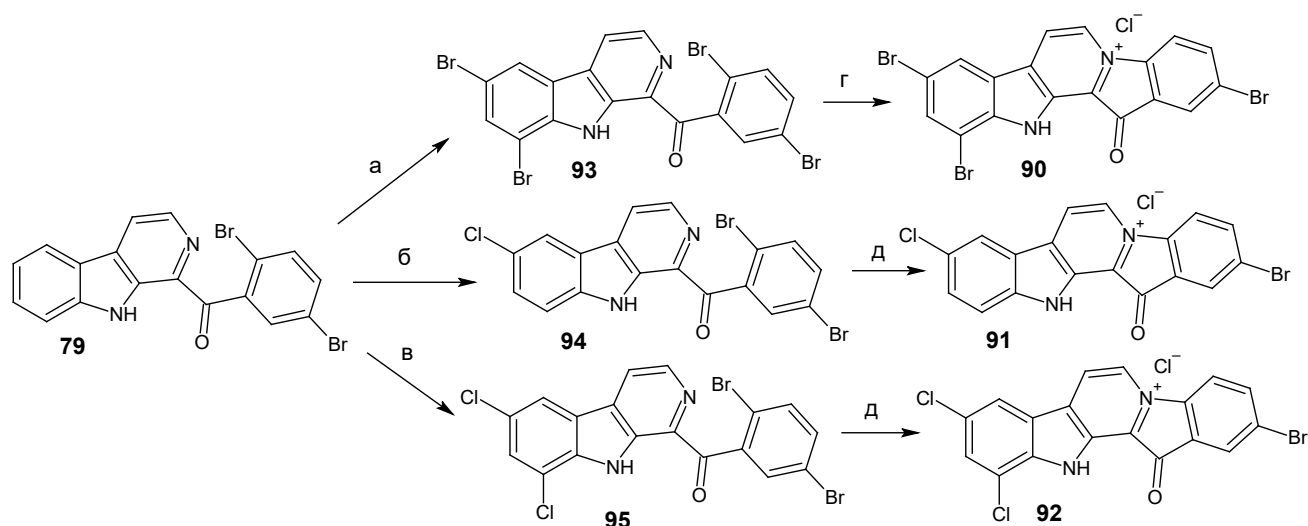


Рисунок 43 – Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  3,8-дибромфаскаплизина

Для изучения влияния на биологическую активность природы галогенового заместителя, а также введения в структуру дополнительного атома брома были синтезированы два типа соединений: два хлорсодержащих фаскаплизина и соединение с тремя атомами брома.

2,9,11-Трибромфаскаплизин (**90**) был получен из 1-(2',5'-дибромбензоил)- $\beta$ -карболина (**79**) действием избытка NBS в уксусной кислоте с последующей конверсией  $\beta$ -карболина **93** в целевой продукт нагреванием при 200 °С (рисунок 44). 2-Бром-9-хлор- (**91**) и 2-бром-9,11-дихлорфаскаплизин (**92**) были получены действием молекулярного хлора на раствор  $\beta$ -карболина **79** в ледяной уксусной кислоте с последующим хроматографическим разделением полученных  $\beta$ -карболинов **94** и **95** и их нагреванием при 200 °С (рисунок 44). Для полученных фаскаплизинов были записаны спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и ЯМР  $^{13}\text{C}$  [53].



Реагенты и условия: (а). NBS (изб.),  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 110°C, 2 ч, 51%; (б).  $\text{Cl}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , комн.т., 2 ч, 80%; (в).  $\text{Cl}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 60°C, 1 ч, 64%; (г). 1) 200°C, 2 ч; 2)  $\text{HCl}/\text{MeOH}$ , 64% (**90**); (д). 1) 200°C, 1 ч; 2)  $\text{HCl}/\text{MeOH}$ , 66% (**91**) и 47% (**92**).

Рисунок 44 – Схема синтеза 2,9,11-трибром- (**90**), 2-бром-9-хлор- (**91**) и 2-бром-9,11-дихлорфаскаплизина (**92**)

Для синтезированных 2,9-дибром- (**75**), 3,9-дибром- (**76**), 3,8-дибром- (**83**), 2,9,11-трибром- (**90**), 2-бром-9-хлор- (**91**) и 2-бром-9,11-дихлорфаскаплизина (**92**) было проведено сравнение их цитотоксической активности с активностью 3,10-дибромфаскаплизина (**6**) на культурах опухолевых (PC-3, 22Rv1, DU145, LNCap) и неопухолевых клеток (MRC-9, PNT2, HEK293) (таблица 5)<sup>4</sup>. Фаскаплизин (**1**) использовали в качестве контроля [53].

<sup>4</sup> Данные исследования были выполнены в Лаборатории экспериментальной онкологии Университетского медицинского центра Гамбург-Эппендорф (Германия) д.б.н. Дышловым С.А. и сотр.

Таблица 5 – Цитотоксическая активность и селективность действия соединений **1**, **6**, **75**, **76**, **83**, **90**, **91** и **92** в отношении серии опухолевых и неопухолевых клеток

Соединение	IC <sub>50</sub> , мкМ, в отношении опухолевых клеток				IC <sub>50</sub> , мкМ, в отношении неопухолевых клеток			Индекс селективности
	PC-3	22Rv1	DU145	LNCaP	MRC-9	PNT2	HEK293	
<b>1</b>	0.77±0.13	0.24±0.81	0.80±0.05	0.41±0.02	0.89±0.05	0.46±0.08	0.46±0.19	1.03
<b>6</b>	7.28±0.48	0.69±0.02	1.51±0.06	0.59±0.09	>50.00	3.49±1.01	0.54±0.05	4.40
<b>75</b>	1.83±0.1	0.49±0.04	0.91±0.12	1.13±0.80	4.96±0.39	0.61±0.1	0.25±0.03	1.85
<b>76</b>	2.95±0.23	2.24±0.81	0.62±0.09	2.6±0.37	12.6±6.94	0.64±0.05	0.28±0.02	1.85
<b>83</b>	1.39±0.7	0.21±0.07	0.33±0.03	0.36±0.09	2.07±0.47	0.37±0.02	0.58±0.1	1.83
<b>90</b>	5.94±0.86	3.98±0.3	13.2±4.44	7.63±0.74	30±5.80	4.38±0.67	2.25±0.99	2.59
<b>91</b>	13.24±2.87	2.89±0.89	2.08±0.58	2.7±0.17	36.3±9.51	3.33±0.81	0.75±0.07	1.72
<b>92</b>	5.29±0.13	4.15±0.34	6.91±0.65	6.51±2.32	>50.00	2.75±1.74	2.61±0.43	2.33

Результаты испытаний показали, что средняя цитотоксическая активность 3,8-дибромфаскаплизина (**83**) для опухолевых клеток соизмерима с цитотоксической активностью фаскаплизина (**1**) (0.62 и 0.56 мкмоль/л соответственно). Изомерные 2,9-дибромфаскаплизин (**75**) и 3,9-дибромфаскаплизин (**76**) проявили меньшую активность по сравнению с фаскаплизином. В результате было установлено, что фаскаплизин **75** не обладает ни более выраженной цитотоксичностью, ни значительной селективностью, а у фаскаплизина **76** цитотоксичность в отношении опухолевых клеток даже ниже цитотоксичности соединения **75**. Введение дополнительного атома брома в цикл А или замена атомов брома на атомы хлора не привели к увеличению цитотоксической активности в отношении опухолевых клеток предстательной железы. Таким образом, 3,8-дибромфаскаплизин (**83**) проявил наибольшую цитотоксическую активность в отношении опухолевых клеток среди

синтезированной подсерии производных фаскаплизина, однако эффективности и селективности данного соединения недостаточно для определения в качестве лидирующего. По итогам проведённых испытаний можно сделать вывод, что попытка увеличить цитотоксическую активность соединений путём изменения положения двух атомов брома, замены атома брома на атом хлора, а также введения дополнительного атома галогена в цикл А не принесла ожидаемого эффекта.

Для 2,9-дибром- (75), 3,9-дибром- (76), 2,10-дибром- (77), 3,8-дибром- (83), 2-бром-9-хлор- (91) и 2-бром-9,11-дихлорфаскаплизина (92) была изучена антибактериальная активность в сравнении с антибактериальной активностью 3,10-дибромфаскаплизина (6) в отношении 12-ти штаммов бактерий, на которых были исследованы ранее полученные замещенные фаскаплизины (таблица 6) [51].

Таблица 6 – Антибактериальная активность соединений 1, 6, 75, 76, 77, 83, 91 и 92

Соединение	МИК (мкг/мл) в отношении штаммов бактерий											
	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>B. cereus</i> ATCC 10702	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. faecium</i> 132	<i>E. faecium</i> 130 (VRE)	<i>E. faecalis</i> 583 (VRE)	<i>S. aureus</i> 88 (MRSA)	<i>S. aureus</i> PE3R (MRSA)	<i>S. epidermidis</i> 2001 MIR	<i>S. aureus</i> 21555	<i>M. smegmatis</i> ATCC 607	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Ван	0.5	1.0	2.0	0.5	>32.0	32.0	0.5	1.0	1.0	2.0	-	-
Риф	0.018	0.25	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	8.0
1	1.0	0.125	8.0	1.0	1.0	≥8.0	1.0	0.5	0.0075	0.03	0.03	8.0
6	0.06	0.06	0.25	4.0	0.25	0.125	0.06	0.06	0.015	0.03	1.0	>8.0
75	0.015	0.015	0.015	0.25	0.03	0.015	0.015	0.015	0.00375	0.015	0.25	4.0
76	0.03	0.015	0.015	0.25	0.03	0.015	0.015	0.015	0.0075	0.015	0.25	4.0
77	0.03	0.015	0.03	0.5	0.06	0.03	0.03	0.015	0.0075	0.015	0.5	>16.0
83	0.03	0.015	0.015	0.5	0.015	0.0075	0.015	0.0075	0.0075	0.00375	0.25	4.0
91	0.015	0.015	0.015	0.25	0.03	0.015	0.03	0.015	0.0018	0.015	0.25	>16.0
92	0.03	0.03	0.03	0.25	0.015	0.06	0.015	0.015	0.0075	0.015	0.5	>16.0

Из анализа полученных данных следует, что перемещение атома брома из положения 3 в положение 2 (соединение **77**) и/или из положения 10 в 8 или 9 (соединения **83**, **75** и **76**) приводит к повышению антибактериальной активности в 2-16 раз в зависимости от тестируемого штамма по сравнению с активностью 3,10-дибромфаскаплизина (**6**) и помогает обойти резистентность *E. faecium*. Замена атома брома на атом хлора в положении 9 (соединение **91**) привела к схожей с 2,9-дибромфаскаплизином (**75**) активности с небольшими различиями в отношении нескольких исследованных штаммов. Введение дополнительного атома хлора в положение 11 (соединение **92**) привело к снижению антибактериальной активности. В отношении грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* данные соединения также оказались неэффективными. Полученные производные имеют более низкую растворимость в воде по сравнению с фаскаплизином.

По совокупности полученных результатов 3,10-дибромфаскаплизин был отобран для углубленного изучения механизмов его биологического действия на базе специализированных лабораторий.

### **2.3 Механизмы биологического действия 3,10-дибромфаскаплизина**

На следующем этапе работы 3,10-дибромфаскаплизин был передан для исследования механизма его действия на клетки рака предстательной железы (РПЖ) [56]<sup>5</sup>. Результаты проведенных испытаний показали, что 3,10-дибромфаскаплизин индуцирует апоптоз в клетках различных линий рака предстательной железы человека, включая гормоно- и доцетаксел-резистентные линии, при низких микро- и наномолярных концентрациях. Перекрестной резистентности к доступным в настоящее время стандартным методам лечения не наблюдалось. Киномный анализ с последующими валидационными и функциональными экспериментами идентифицировал киназу JNK1/2, которая оказывает сильное влияние на рост опухоли, как одну из молекулярных мишеней 3,10-дибромфаскаплизина в клетках. Ингибирование киназ JNK1/2 и p38

---

<sup>5</sup> Данные исследования были выполнены в Лаборатории экспериментальной онкологии Университетского медицинского центра Гамбург-Эппендорф (Германия) д.б.н. Дышловым С.А. и сотр.

специфическими ингибиторами приводило к усилению цитотоксической активности соединения **6**, тогда как активная киназа ERK1/2 важна для цитотоксической активности алкалоида. 3,10-Дибромфаскаплизин оказывал синергетическое действие с олапарибом за счет индукции активных форм кислорода (АФК), а также с другими клинически одобренными препаратами платины и таксана. Кроме того, соединение **6** ингибировало AR-сигнализацию (сигнализация андрогенных рецепторов) и восстанавливало чувствительность AR-V7 (сплайс-вариант рецептора андрогенов) положительных клеток рака предстательной железы к энзалутамиду, предположительно за счёт ингибирования AR-V7.

В ходе исследования было изучено влияние 3,10-дибромфаскаплизина на клетки миелоидного лейкоза [57]<sup>6</sup>. Миелоидный лейкоз – это заболевание костного мозга, при котором наблюдается быстрое размножение измененных белых кровяных клеток. Показано, что 3,10-дибромфаскаплизин проявляет мощные цитотоксические свойства в отношении ряда клеточных линий миелоидного лейкоза посредством индукции апоптоза и одновременного ингибирования клеточного цикла в фазах S и G2/M. Также 3,10-дибромфаскаплизин активирует транскрипционный фактор E2F1 в клетках лейкоза и оказывает синергетическое действие с цитарабином, усиливая его цитотоксичность.

Таким образом, показано, что 3,10-дибромфаскаплизин является перспективным соединением, которое может быть использовано для лечения гормонально-резистентного рака предстательной железы и при комбинированной терапии для подавления роста лейкозных клеток.

По результатам проведенных исследований 3,10-дибромфаскаплизин был отобран для дальнейшего изучения его биологической активности в условиях *in vivo*. Для осуществления подобных испытаний предстояло наработать 3,10-дибромфаскаплизин в достаточном количестве.

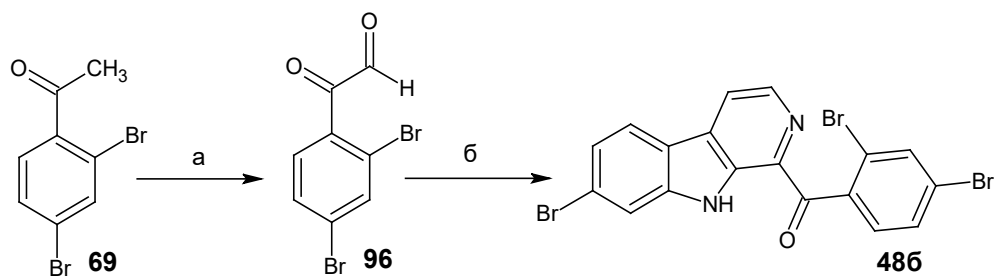
---

<sup>6</sup> Данные исследования были выполнены в Департаменте биологии опухолевых клеток Института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта П.С. Спириным и сотр.

## 2.4 3,10-Дибромфаскаплизин в испытаниях *in vivo*<sup>7</sup>

### 2.4.1 Отработка условий синтеза 3,10-дибромфаскаплизина

Для синтеза 3,10-дибромфаскаплизина (**6**) ранее был использован подход Zhu, при котором реакция 6-бромтриптамина (**446**) и 2,4-дибромацетофенона (**69**) (рисунок 30) давала  $\beta$ -карболин **486** с низким выходом. Чтобы понять, чем это обусловлено, были исследованы все стадии данной реакции по отдельности (рисунок 45).



Реагенты и условия: (а). I<sub>2</sub>, ДМСО, 110 °С, 1 ч; (б). 1) Триптамин **446**, комн.т.; 2) 110 °С, 4 ч, 62%.

Рисунок 45 – Оптимизированный синтез  $\beta$ -карболина **486**

Для начала ввели 2,4-дибромацетофенон (**69**) в реакцию с йодом в ДМСО и выдерживали смесь при 110 °С в течение часа. Процесс протекания реакции контролировали при помощи ТСХ. Наблюдали появление 2,4-дибромфенилглиоксаля (**96**) и полное отсутствие исходного соединения. Таким образом, можно констатировать, что на данном этапе синтеза проблем не возникает. Далее в полученную смесь добавляли 6-бромтриптамин (**446**) и раствор выдерживали при 110 °С в течение четырёх часов. Процесс контролировали при помощи ТСХ. Экспериментальным путем были определены требования, выполнение которых необходимо для успешного проведения следующего этапа:

1. В реакционной смеси необходимо присутствие йодоводорода, так как он переводит триптамин в соль, тем самым препятствуя его окислению. Для сохранения йодоводорода реакционный сосуд герметизировали.

2. Необходимо проводить постепенное прибавление триптамина к полученному глиоксалу в максимально мягких условиях, чтобы избежать

<sup>7</sup> Эксперименты с животными были проведены в виварии ТИБОХ ДВО РАН и одобрены местным этическим комитетом ТИБОХ ДВО РАН (протоколы № 02/21 от 26.05.2021 г и № 07/2021 от 08.11.2021).

окисления триптамина и потерю йодоводорода. Для этого триптамин прибавляли порционно в охлажденную до комнатной температуры смесь.

3. Добавление в реакционную смесь окислителя (*трет*-бутилгидропероксида) или проведение реакции в открытом сосуде (для доступа кислорода воздуха) заметно повышает выход соединения **486**.

После оптимизации условий проведения мультикомпонентной конденсации удалось увеличить выход 1-(2',4'-дибромбензоил)-7-бром- $\beta$ -карболина до 62%. Отработанные условия синтеза  $\beta$ -карболина **486** позволили получить 3,10-дибромфаскаплизин в количествах, необходимых для дальнейших исследований.

#### 2.4.2 Противоопухолевое действие 3,10-дибромфаскаплизина на модель глиобластомы у крыс

Поскольку в ходе изучения цитотоксической активности 3,10-дибромфаскаплизина в отношении различных культур опухолевых клеток в условиях *in vitro* он продемонстрировал высокую и избирательную цитотоксичность в отношении культуры опухолевых клеток крысиной глиобластомы С6 (рисунок 34), данная модель была выбрана для оценки его противоопухолевого действия в условиях *in vivo*.

Глиобластома – это опухоль, которая развивается из глиальных клеток нервной ткани головного мозга. Она чрезвычайно агрессивна, относится к четвертой степени злокачественности. Результатом агрессивного роста глиобластомы является необратимое разрушение головного мозга. Из-за способности к инвазии лечение глиомы остается неудовлетворительным. Всем больным выполняется операция, но основным методом лечения является облучение и химиотерапия. Продолжительность жизни больного коррелирует с дозой полученной радиации, достигающей 60-70 Гр, превышение этого предела ведёт к лучевому поражению мозга. Дальнейшая химиотерапия может продлить безрецидивный период. Больному проводится до шести курсов химиотерапии. Эффективность лечения при этом низкая, медиана выживаемости больных - 15 месяцев, пятилетняя выживаемость составляет 4.7%. Способность доставлять

химиотерапевтические препараты к месту локализации опухоли ограничена гематоэнцефалическим барьером (ГЭБ). Темозоломид (ТМЗ) является препаратом, который применяется для лечения злокачественной глиомы уже более десяти лет, однако его клиническое применение и эффективность сильно ограничены из-за трудности проникновения через ГЭБ, токсичности для нормальных тканей, коротким периодом полувыведения и формированием резистентности [58, 59].

Было сформировано четыре экспериментальных группы (таблица 7), одна из которых была введена для оценки токсичности 3,10-дибромфаскаплизина на здоровый организм (таблица 7, группа 4), а группу лечения темозоломидом использовали в качестве контроля лечения. Результат контролировали по средней продолжительности жизни (СПЖ) подопытных животных.

Таблица 7 – Оценка действия 3,10-дибромфаскаплизина на модель глиобластомы у крыс

	Группа	Кол-во подопытных животных	Соединение	Доза, мг/кг	Метод ввода	СПЖ, день
Группы с опухолью	1	13	Соединение 6	7.6	Внутрибрюшинно (в/б)	43.3±7.4***
	2	13	ТМЗ	40	Перорально	43.6±6.2***
	3	12	Без лечения	-	-	26.9±6.9***
Группа без опухоли	4	6	Соединение 6	7.6	В/б	70.0

*Примечание:* Достоверные отличия показаны относительно группы 1 при \*\*\*  $p \leq 0.001$  по однофакторному дисперсионному анализу (ANOVA) с поправкой Тьюки.

По результатам эксперимента выяснили, что СПЖ группы крыс с опухолью, которых лечили 3,10-дибромфаскаплизином, сопоставима с СПЖ для группы темозоломида (группы 1 и 2). Также показано, что данное соединение в исследуемых дозах является нетоксичным для организма, так как летальных исходов в контрольной группе без опухоли не наблюдалось, все подопытные были выведены из эксперимента через 70 дней двукратной дозой наркоза (группа 4). На 25-й день после имплантации опухоли часть подопытных животных была отобрана и выведена из эксперимента для гистологической и иммуногистохимической

оценки (рисунок 46)<sup>8</sup>. Как видно из приведённых фотографий, опухоль подопытным животным была успешно привита, а опухоль у группы с лечением значительно уменьшилась. Таким образом, 3,10-дибромфаскаплизин является многообещающим соединением в дальнейших исследованиях по лечению глиобластомы.

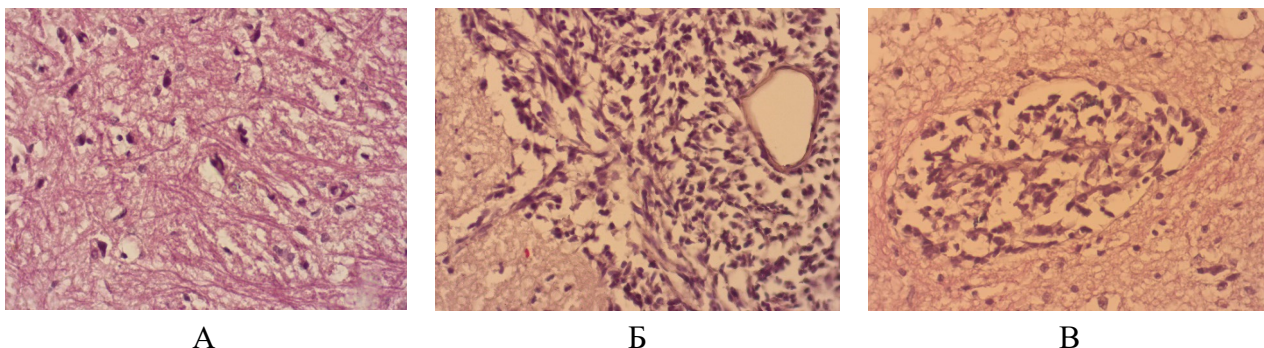


Рисунок 46 – Результаты гистологической оценки; (А) гистологический срез мозга подопытного животного без опухоли, (Б) гистологический срез мозга с глиобластомой без лечения и (В) гистологический срез мозга с глиобластомой при лечении 3,10-дибромфаскаплизином

Одновременно с этим был выявлен главный недостаток 3,10-дибромфаскаплизина, который связан с его недостаточной растворимостью в воде и физиологическом растворе, что ограничивает возможности его применения в испытаниях *in vivo*. При внутрибрюшинном введении был использован 25%-ный водный этанол.

Для преодоления вышеназванного ограничения было решено изучить влияние 3,10-дибромфаскаплизина при пероральном введении. Но прежде, чем проводить эксперимент по изучению противоопухолевого действия 3,10-дибромфаскаплизина на глиобластоме у крыс в условиях перорального введения, что требует очень большого количества исследуемого соединения, был проведен модельный эксперимент по терапии асцитного варианта карциномы Эрлиха у более мелких подопытных животных – мышей.

В ходе эксперимента по изучению противоопухолевого действия 3,10-дибромфаскаплизина в условиях перорального введения было сформировано семь

<sup>8</sup> Выполнены в лаборатории фармакологии Школы биомедицины ФГАОУ ВО ДВФУ

экспериментальных групп. Одна из групп была контрольная без лечения, группа для оценки воздействия на организм 20%-ного водного этанола, три группы подопытных, которых лечили разными дозами 3,10-дибромфаскаплизина (45.6, 22.8, 11.4 мг/кг перорально), группа лечения доксорубицином (ДР), химиотерапевтическим средством для лечения солидных опухолей (0.25 мг/кг, внутривенно) и группа для оценки совместного влияния соединения **6** (11.4 мг/кг перорально) и доксорубицина. Лечение начинали через 24 ч после перевивки опухоли, соединения вводили ежедневно в течение пяти дней, после чего на протяжении 36 дней вели учет параметров выживаемости. Критерием оценки противоопухолевой активности служило увеличение продолжительности жизни подопытных животных.

На графике (рисунок 47) приведён процент выживаемости подопытных животных во всех исследованных группах. Установлено, что 3,10-дибромфаскаплизин не оказывает значимого противоопухолевого действия при пероральном введении на модель асцитного варианта карциномы Эрлиха. В группе совместного лечения соединением **6** и доксорубицином не наблюдается усиления воздействия препаратов.

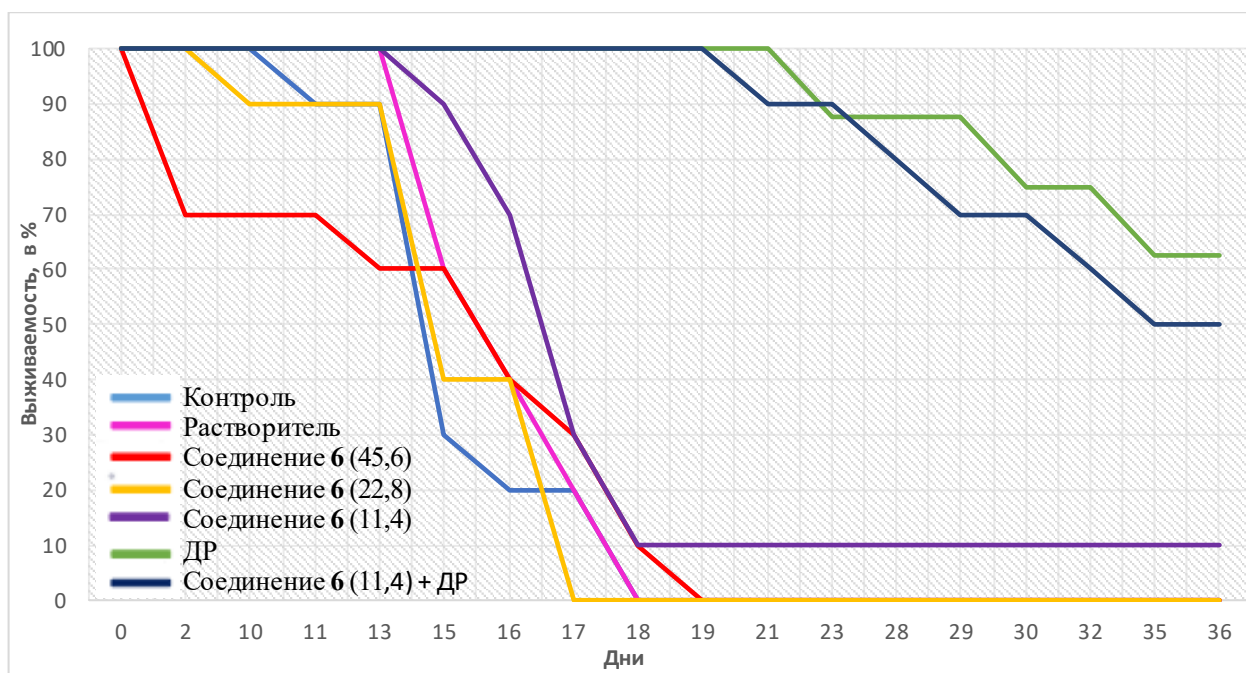


Рисунок 47 – Выживаемость животных при пероральном введении различных доз соединения **6** на модели асцитной карциномы Эрлиха

Для подтверждения, что низкая эффективность 3,10-дибромфаскаплизина в описанном выше эксперименте обусловлена его низкой биодоступностью при пероральном введении, была оценена эффективность соединения **6** в отношении данной модели в условиях внутрибрюшинного введения. Соединение **6** вводили в объеме 0.5 мл в виде 20%-ного водно-этанольного раствора. В качестве положительного контроля использовали доксорубицин (ДР). Суточные дозы исследуемых веществ составляли 0.25 мг/кг для ДР и 7.56 мг/кг для соединения **6** [51]. Полученные результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Противоопухолевая эффективность 3,10-дибромфаскаплизина (**6**) на экспериментальной модели асцитного варианта карциномы Эрлиха в условиях внутрибрюшинного введения

Группа	Доза, мг/кг	Среднее время выживания, день	Увеличение продолжительности жизни, %	Выживаемость, %
Контроль	-	16.1 ± 5.0	-	0
Соединение <b>6</b>	7.56	49.3 ± 14.63 *	206	40
ДР	0.25	62.0 ± 0.0 **	284.8	60

*Примечание:* Результаты представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего, n = 10 для каждой группы. Значимость различий оценивалась с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим применением критерия Тьюки по сравнению с группой, получавшей физиологический раствор. Значимые различия представлены как: \* p < 0.05 и \*\* p < 0.01.

Результаты данного исследования выявили умеренную противоопухолевую активность соединения **6** в исследованной дозе. Выживаемость в данной группе составила 40%, а продолжительность жизни увеличилась на 206%. Противоопухолевый эффект препарата сравнения (ДР) в дозе 0.25 мг/кг был более выражен, что привело к 60%-ной выживаемости и увеличению продолжительности жизни на 284.8%. Тем не менее, полученные данные значительно превосходят показатели противоопухолевой активности в отношении данной модели в условиях

перорального введения, что позволяет сделать однозначный вывод о неприменимости данного способа введения для 3,10-дибромфаскаплизина.

## 2.5 Получение модифицированных аналогов 3,10-дибромфаскаплизина

Другим способом преодоления недостаточной растворимости исследуемого лидирующего соединения было получение его более растворимых аналогов. Принимая во внимание, что причиной неудовлетворительной растворимости соединения **6**, по всей видимости, является образование межмолекулярных  $\pi$ -стекинговых комплексов, их формированию должно препятствовать введение в базовую молекулу объемного заместителя. Это, наряду с увеличением растворимости, должно снизить возможности модифицированных аналогов для интеркаляции в ДНК, которая, как считается, во многом определяет наличие неселективной цитотоксичности у фаскаплизина. Исходя из этих соображений, атомы брома 3,10-дибромфаскаплизина предполагалось поочередно заменить на непланарный *трет*-бутильный заместитель, получив два модифицированных аналога: 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизин (**97**) и 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизин (**98**) (рисунок 48).

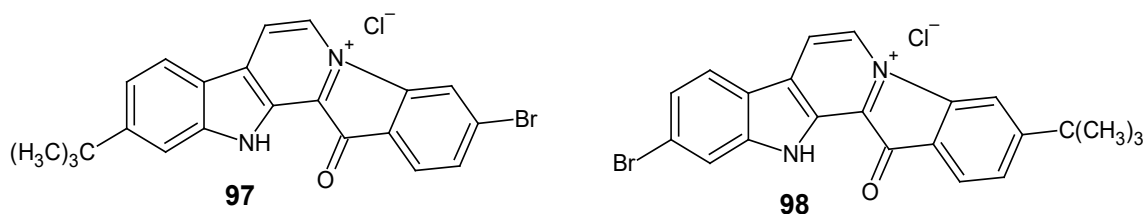
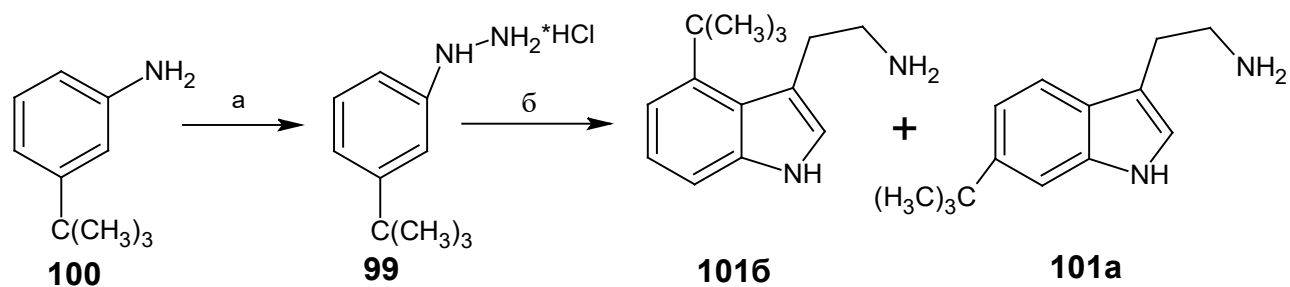


Рисунок 48 – Структура 3-бром-10-*трет*-бутил- (**97**) и 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина (**98**)

### 2.5.1 Синтез и изучение свойств 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизина (**97**)

Первой стадией в синтезе 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизина было получение гидрохлорида 3-*трет*-бутилгидразина (**99**) из коммерчески доступного 3-*трет*-бутиланилина (**100**) по известной методике [50] действием нитрита натрия при охлаждении с последующим добавлением хлорида олова (II). Далее проводили синтез триптамина **101a** и **101b** по Грандбергу путем взаимодействия 4-

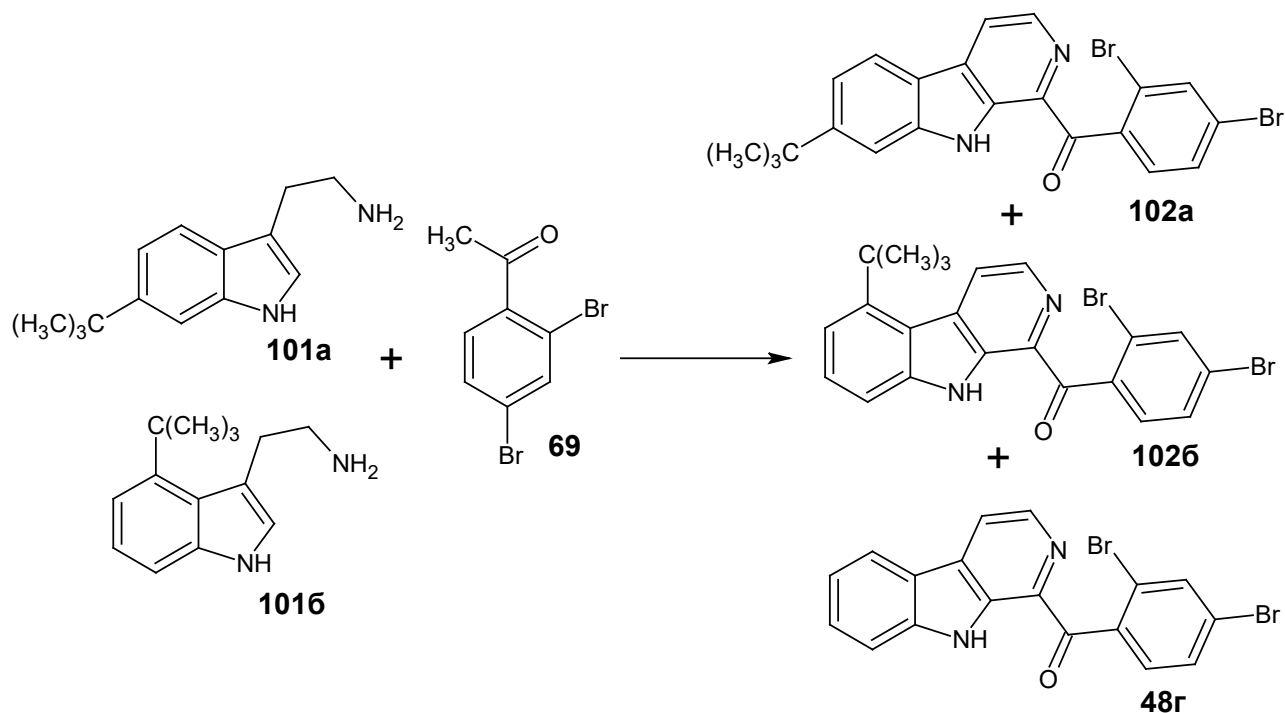
бромбутаналю (**85**) с гидразином **99** (рисунок 49) по отработанной нами ранее методике синтеза 4-бромтриптамина (таблица 4).



Реагенты и условия: (а). 1)  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 20%-ная  $\text{HCl}$ ,  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , 1 ч; 2)  $\text{SnCl}_2$ ,  $\text{HCl}$  (конц.),  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , 2 ч, 55%; (б). 4-бромбутаналь (**85**),  $\text{EtOH}$ ,  $150\text{ }^\circ\text{C}$ , 1 ч, 43%.

Рисунок 49 – Схема синтеза 6-*трет*-бутилтриптамина (**101a**) и 4-*трет*-бутилтриптамина (**1016**)

Очищенную смесь триптаминов без разделения вводили в мультикомпонентную реакцию с 2,4-дибромацетофеноном (**69**) в присутствии йода в ДМСО (рисунок 50). По данным ТСХ в смеси присутствует три продукта. Индивидуальные соединения были выделены при помощи препаративной ВЭЖХ.



Реагенты и условия:  $\text{I}_2$ , ДМСО,  $110\text{ }^\circ\text{C}$ , 5 ч, 20% (**102a**), 6% (**1026**) и 15% (**48г**).

Рисунок 50 – Схема взаимодействия 6-*трет*-бутил- и 4-*трет*-бутилтриптамина с 2,4-дибромацетофеноном

По данным масс-спектрометрии смесь содержит целевой 1-(2',4'-дибромбензоил)-7-*трет*-бутил-β-карболин (**102a**), его изомер **102b** и 1-(2',4'-дибромбензоил)-β-карболин (**48г**), в котором отсутствует *трет*-бутильный фрагмент (рисунок 51).

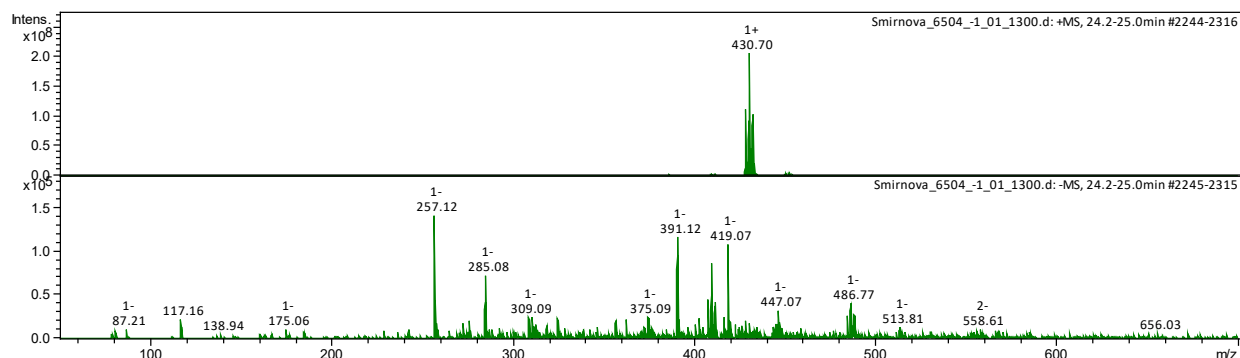


Рисунок 51 – ESI(±) - масс-спектр 1-(2',4'-дибромбензоил)-β-карболина (**48г**)

По-видимому, незамещенный триптамин (**44a**) образуется при отрыве *трет*-бутильной группы на этапе синтеза триптамина **101b**, так как соотношение целевого β-карболина **102a** и суммарного количества двух других продуктов составляет один к одному. На рисунке 52 приведён предполагаемый механизм отщепления *трет*-бутильной группы. На стадии синтеза триптаминов по Грандбергу атака по *орто*-положению относительно *трет*-бутильного фрагмента затруднена в силу стерических препятствий. Преодоление данного затруднения может быть достигнуто путем электрофильной атаки протона по бензольному циклу в условиях кислотного катализа и последующего отщепления устойчивого *трет*-бутильного катиона, что соответствует хорошо известному механизму электрофильного *инсо*-замещения. Далее реализуется механизм, включающий [3,3]-сигматропную перегруппировку.

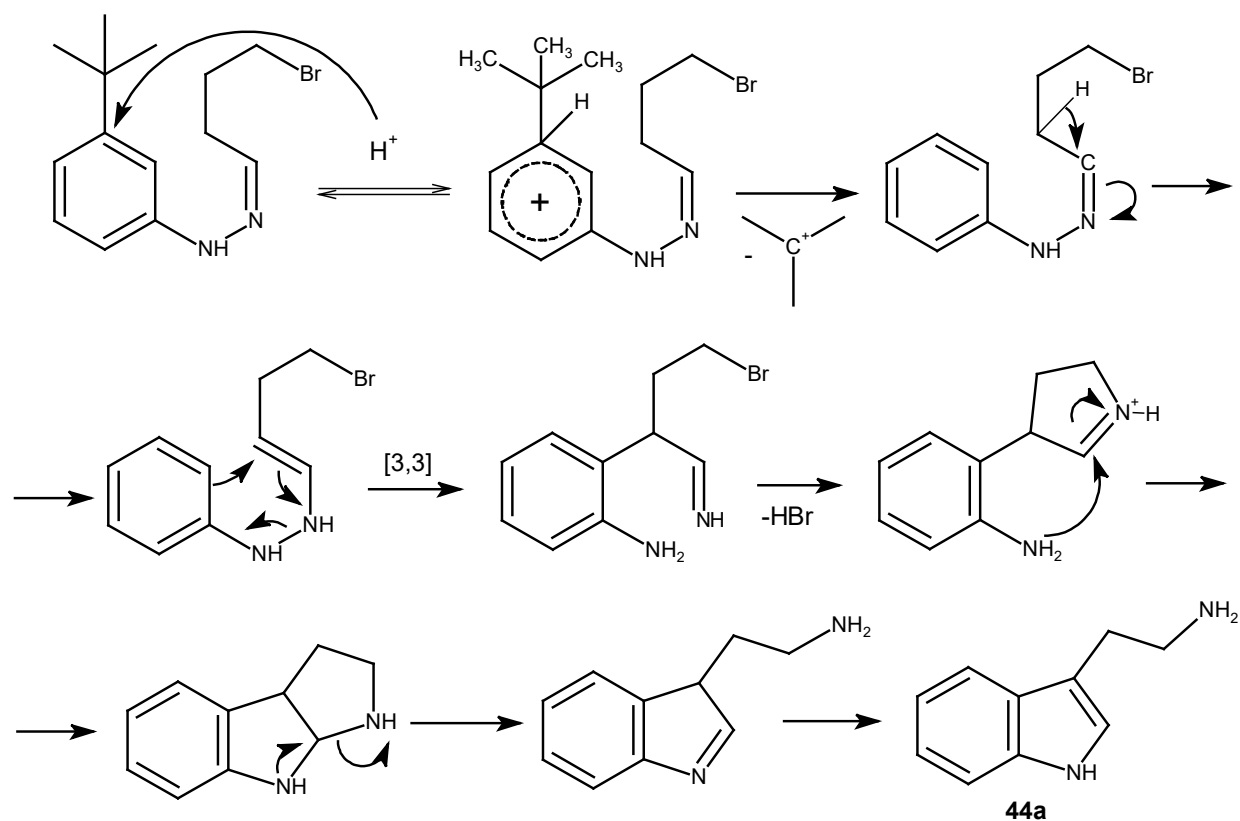


Рисунок 52 – Предполагаемый механизм отщепления *tert*-бутильного радикала на стадии образования триптамина **1016**

При масштабировании реакции на стадии синтеза триптамина и дальнейшем получении  $\beta$ -карболинов в продуктах по данным ТСХ изомер **1026** отсутствовал. Полученная смесь содержала только целевой  $\beta$ -карболин **102a** и незамещенный  $\beta$ -карболин **48г**.

В спектре ЯМР  $^1H$  соединения **102a** (рисунок 53) общая интегральная интенсивность сигналов протонов соответствует 18-ти протонам. Синглет при 10.34 м.д. соответствует сигналу протона NH-группы. Синглет интенсивностью 9H при 1.46 м.д. соответствует сигналу протонов *tert*-бутильного фрагмента. В области резонанса ароматических протонов наблюдается характерная спиновая система 1,2,4-тризамещенного бензола.

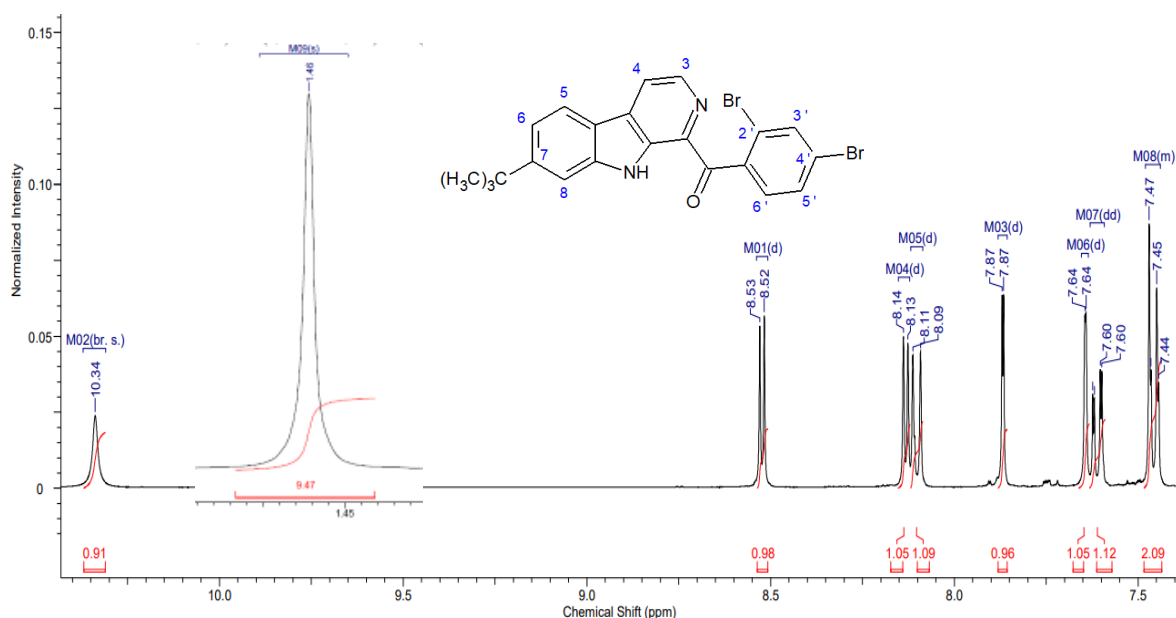
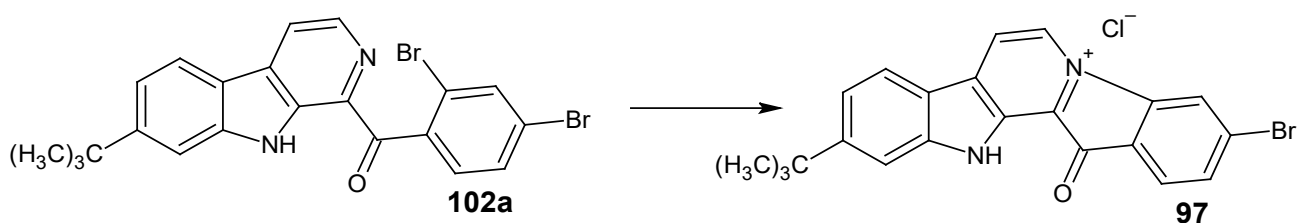


Рисунок 53 – Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  1-(2,4-дибромбензоил)-7-*трет*-бутил- $\beta$ -карболина

На последнем этапе проводили кватернизацию соединения **102a** в 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизин (**97**) при 220 °С (рисунок 54). Выход продукта **97** на этой стадии составил 70%.



Реагенты и условия: 1) 220 °С, 30 мин; 2)  $\text{HCl}/\text{MeOH}$ , 70%.

Рисунок 54 – Схема синтеза 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизина (**97**)

В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  соединения **97** (рисунок 55) общая интегральная интенсивность сигналов протонов соответствует 17-ти протонам. Синглет интенсивностью 9H при 1.48 м.д. соответствует протонам *трет*-бутильного фрагмента. В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  соединения **97** (рисунок 56) присутствует двадцать сигналов атомов углерода. Характеристичный сигнал при 180.9 м.д. принадлежит углероду карбонильной группы фаскаплизиновой системы, сигнал при 35.7 м.д. соответствует сигналу четвертичного атома углерода *трет*-бутильной группы, а сигнал при 30.1 м.д. соответствует вырожденным сигналам атомов углерода  $\text{Me}$ -

групп *трет*-бутильного радикала. Таким образом, данные спектров ЯМР соответствуют заявленной структуре.

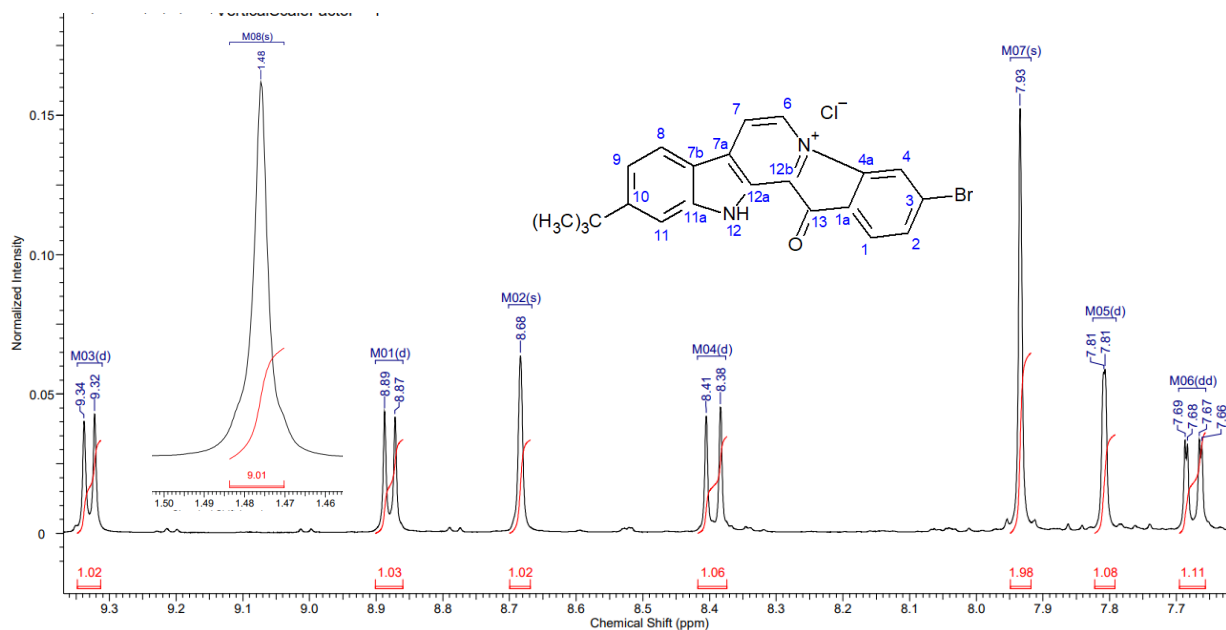


Рисунок 55 – Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизина (**97**)

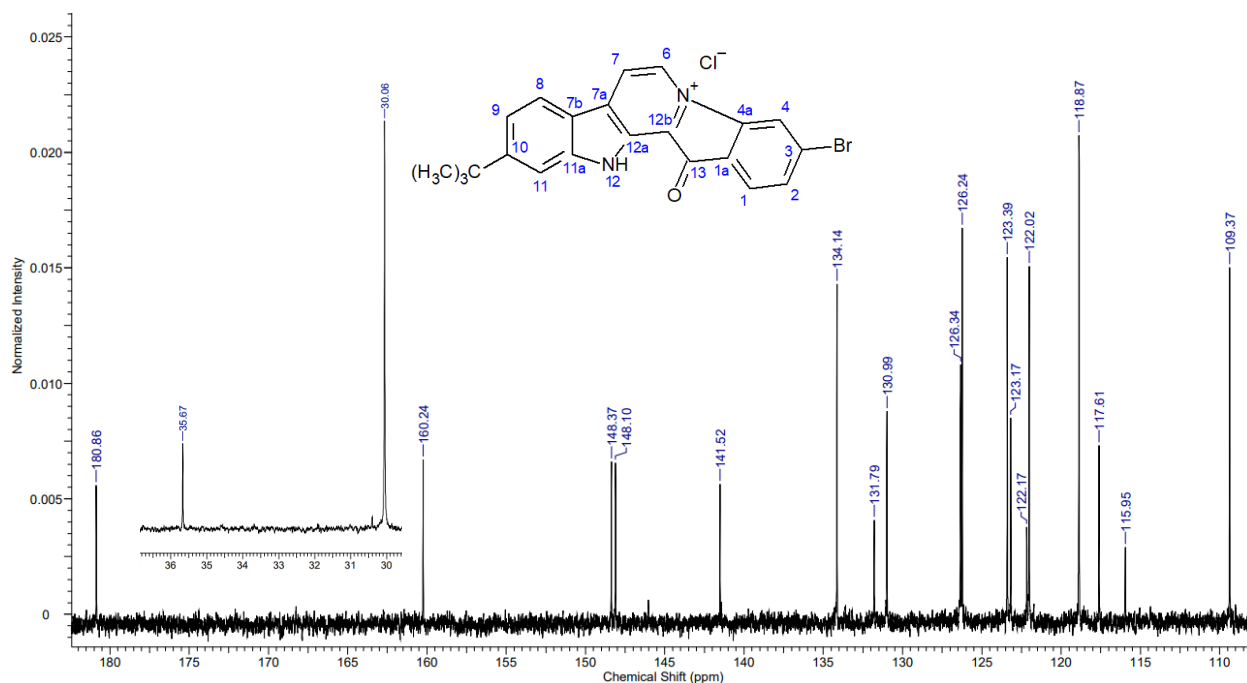


Рисунок 56 – Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизина (**97**)

Для оценки противоопухолевого действия 3,10-дибромфаскаплизина и его водорастворимого аналога **97** в отношении солидного варианта карциномы Эрлиха было сформировано четыре экспериментальных группы: контрольная группа (подопытные животные с опухолью без лечения), группа лечения стандартным препаратом доксорубицином и группы лечения производными фаскаплизина (**6** и

**97**) (таблица 9)<sup>9</sup>. Для введения бромированного производного **6** использовали 20%-ный раствор этанола, а его *трет*-бутильный аналог **97** вводили в виде водного раствора. Противоопухолевый эффект на солидной модели опухоли оценивали по влиянию исследуемых соединений на динамику роста опухоли (размер, вес и интенсивность роста прикрепленной опухоли) и рассчитывали торможения её роста в опытных группах (ТРО, %) по сравнению с контролем. На 20-тые сутки роста опухоли животных выводили из эксперимента и извлекали опухолевую ткань для оценки её веса. Для оценки эффективности противоопухолевой терапии исследуемых препаратов рассчитывали индекс прироста опухоли (ИПО в %), отражающий динамику опухолевого роста, и торможение роста опухоли (ТРО в %) в каждой группе животных с опухолью [51].

Таблица 9 – Противоопухолевая активность соединения **6** и 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизина (**97**) на модели солидного варианта карциномы Эрлиха

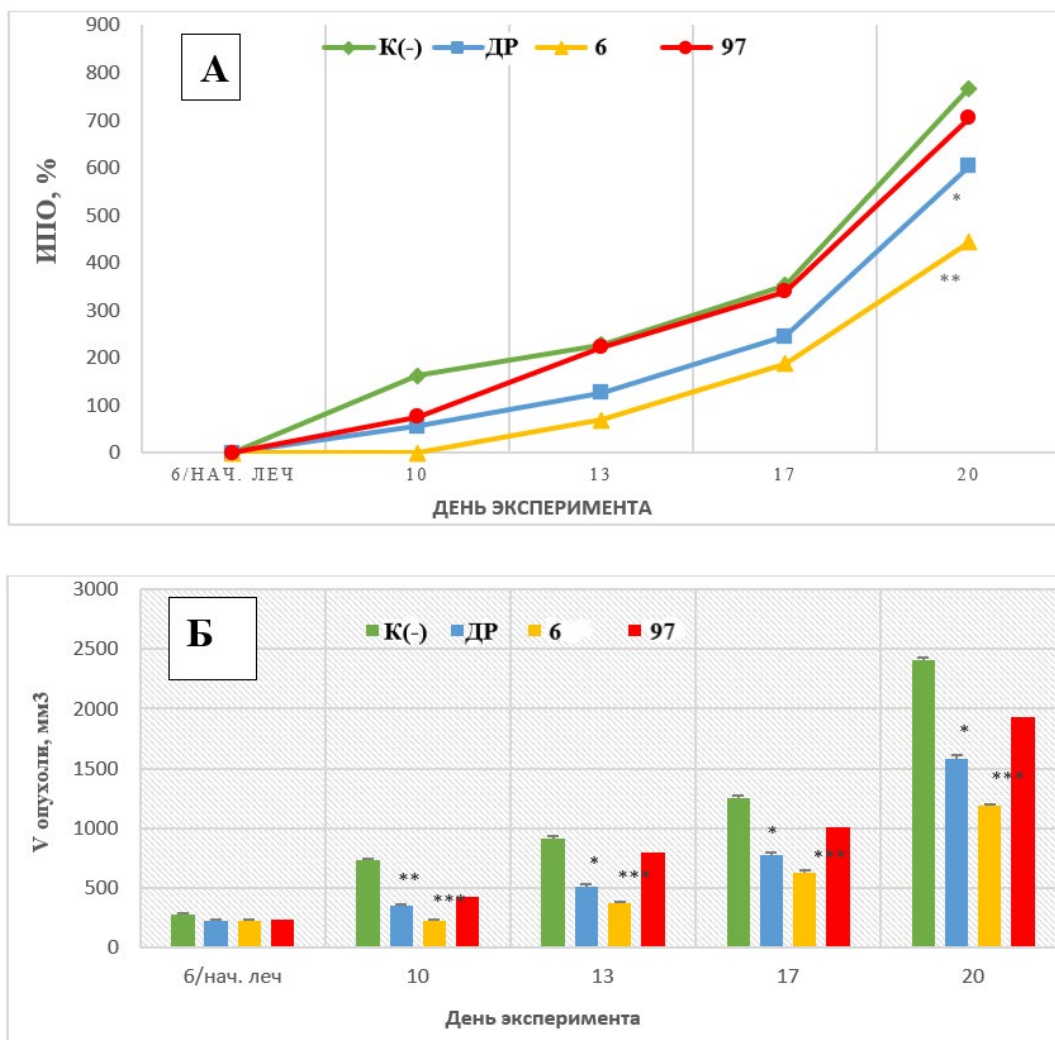
Группа	Доза, мг/кг	Путь введения	Вес опухоли, г	ТРО, %
К(-)	Без лечения	-	2.54 ± 0.709	-
ДР	0.25	в/б	1.76 ± 0.936*	30.84 ± 0.936*
Соединение <b>6</b>	7.56	в/б	1.29 ± 0.629***	49.17 ± 0.629***
Соединение <b>97</b>	7.2	в/б	2.02 ± 0.328	20.58 ± 0.328

*Примечание:* ТРО – торможение роста опухоли у животных разных экспериментальных групп. К(-) – отрицательный контроль, в/б – внутрибрюшинное введение. Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (n = 10). Значимость различий оценивалась с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим применением критерия Тьюки по сравнению с группой, получавшей физиологический раствор. Значимость различий обозначена следующим образом: \* p < 0.05, \*\* p < 0.01 и \*\*\* p < 0.001.

В результате эксперимента было определено, что наибольшую противоопухолевую активность проявил 3,10-дибромфаскаплизин, который эффективнее доксорубицина ингибировал опухолевый рост. В последний день лечения (10-тый день эксперимента) в группе соединения **6** была значительно снижена скорость опухолевого роста, а объём опухоли был в 3 раза меньше, чем в

<sup>9</sup> Исследования были выполнены в виварии ТИБОХ ДВО РАН. Эксперименты одобрены Этическим комитетом в области исследований на животных ТИБОХ ДВО РАН (№ протокола: 07/21, дата согласования: 08.11.2021 г).

группе контроля К(-) (рисунок 57). Ингибирующее действие 3,10-дибромфаскаплизина на опухолевый рост отмечалось на протяжении всего периода наблюдения и сохранялось до его окончания. На 20-тый день эксперимента в группе соединения **6** было зафиксировано уменьшение объёма и массы опухоли в 2 раза относительно группы К(-), а торможение роста опухоли составляло 49.17% (таблица 9). В то же время в группе, прошедшей курс лечения доксорубицином, объём и скорость роста опухоли были снижены приблизительно в 2 раза в последний день лечения, а к концу эксперимента в 1.5 раза относительно группы К(-). При этом торможение роста опухоли в группе ДР составляло лишь 30%. Что касается 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизина, то в данной группе животных только после окончания курса лечения было зафиксировано снижение объёма опухоли приблизительно в 1.5 раза относительно группы К(-). В период наблюдения и в день окончания эксперимента достоверных отличий в скорости роста опухоли между группами соединения **97** и К(-) зафиксировано не было (рисунок 57).



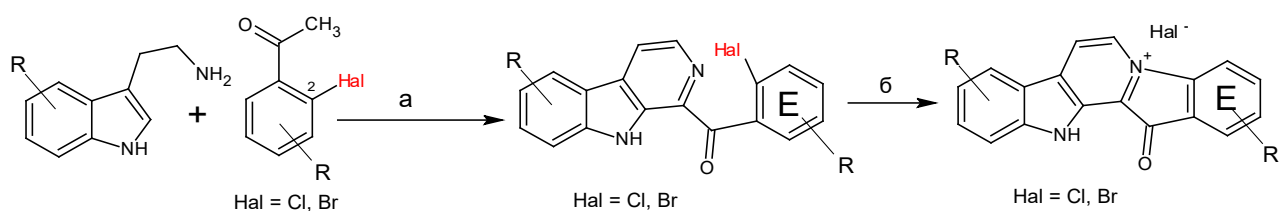
*Примечание:* Результаты представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $n = 10$ ). Значимость различий оценивалась с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим применением критерия Тьюки по сравнению с группой, получавшей физиологический раствор. Значимость различий обозначена следующим образом: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  и \*\*\*  $p < 0.001$ .

Рисунок 57 – Динамика опухолевого роста; (А) ИПО – индекс прироста опухоли и (Б) изменение объёма опухоли

### 2.5.2 Синтез и изучение свойств 10-бром-3-трет-бутилфаскаплизина (98)

На следующем этапе работы предстояло синтезировать второй целевой аналог 3,10-дибромфаскаплизина с *трет*-бутильным фрагментом в положении 3 и изучить его биологическую активность. В данном случае вновь возможно применение базового двустадийного метода синтеза производных фаскаплизина по Zhu из ацетофенонов и триптаминов, поскольку получение необходимого для этого

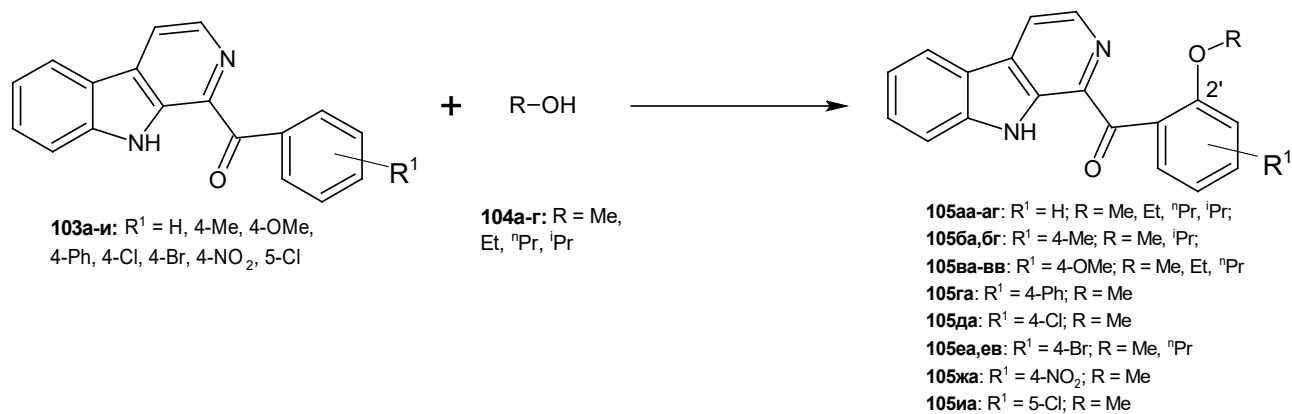
2-бром-4-*трет*-бутилацетофенона описано в литературе [60]. Однако необходимость наличия атома галогена во втором положении ацетофенонов в целом ограничивает имеющиеся возможности для формирования расширенной серии замещенных фаскаплизинов (рисунок 58). Исходя из объективной потребности получения и изучения подобных соединений, было принято решение сосредоточить усилия на разработке альтернативного варианта высокотемпературной циклизации *орто*-галогензамещенных 1-бензоил- $\beta$ -карболинов по Радченко как основного способа формирования целевой системы фаскаплизина, тем более что в литературе были найдены предпосылки для его реализации.



Реагенты и условия: (а). I<sub>2</sub>, ДМСО, 110 °С, 5 ч; (б). 200-250 °С.

Рисунок 58 – Общая схема синтеза модифицированных аналогов фаскаплизина с заместителями в циклах А и Е

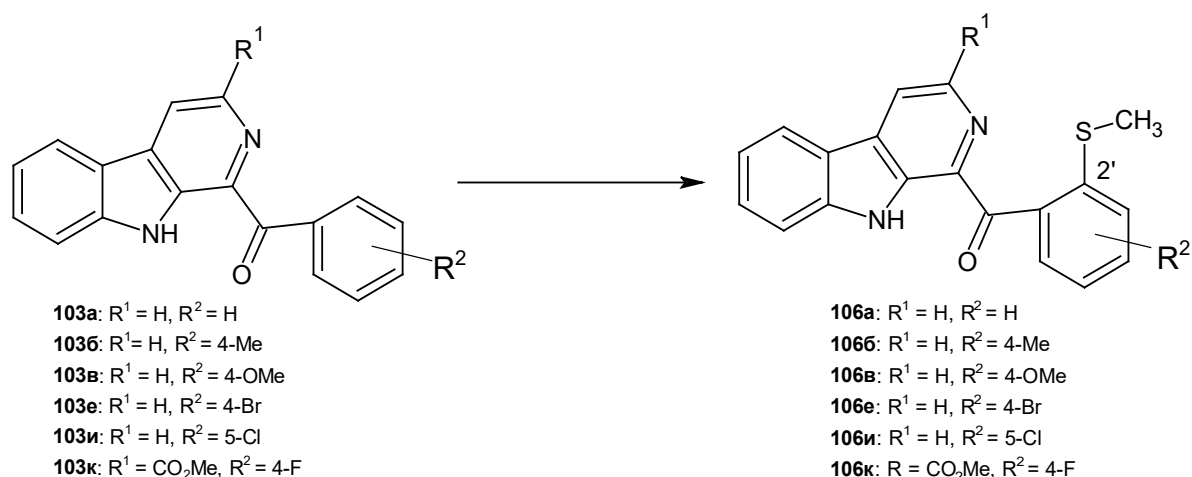
Так, Kolle и Vatra [61] продемонстрировали катализируемые палладием реакции региоселективного алкоксилирования по второму положению бензоильного фрагмента 1-бензоил- $\beta$ -карболинов. Реакции проводили под действием ацетата палладия (II) при нагревании в метаноле, этаноле, пропаноле-1 или пропаноле-2 в присутствии различных окислителей (рисунок 59).



Реагенты и условия: Pd(OAc)<sub>2</sub>, окислитель, 80 °С, 24 ч.

Рисунок 59 – Схема региоселективного алкоксилирования β-карболинов по Kolle и Vatra [61]

Авторы статьи [17] осуществили палладий-катализируемое β-карболин-направленное окислительное тиометилирование также в положение 2' (рисунок 60). Реакцию проводили при нагревании в ДМСО в течение 30 часов. В качестве катализатора также был использован ацетат палладия (II). При этом в качестве окислителя, превращающего метантиол, образующийся при разложении ДМСО, в диметилдисульфид был использован ацетат меди (II). Последний обеспечивал непосредственное тиоалкилирование при содействии промежуточного Pd-содержащего комплекса.



Реагенты и условия: Pd(OAc)<sub>2</sub>, Cu(OAc)<sub>2</sub>, ДМСО, 120 °С, 30 ч.

Рисунок 60 – Схема β-карболин-направленного тиометилирования в окислительных условиях [17]

Предполагаемый авторами механизм данной реакции при действии палладия (II) приведён на рисунке 61. В вышеприведённых примерах фактически имеет место вариация широко известной методологии Pd-катализируемого кросс-сочетания. При этом предварительное хелатирование катиона палладия с атомом азота пиридинового фрагмента обеспечивает селективное введение заместителя в *орто*-положение бензоильного фрагмента. Далее реализуются три классических этапа каталитического цикла: «окислительное внедрение» атома палладия, «переметаллирование» на нуклеофильный фрагмент и далее «восстановительное элиминирование», которое сопровождается формированием целевого продукта и элиминированием Pd<sup>0</sup>. При этом в качестве источников нуклеофильного фрагмента выступают растворители или продукты их деструкции.

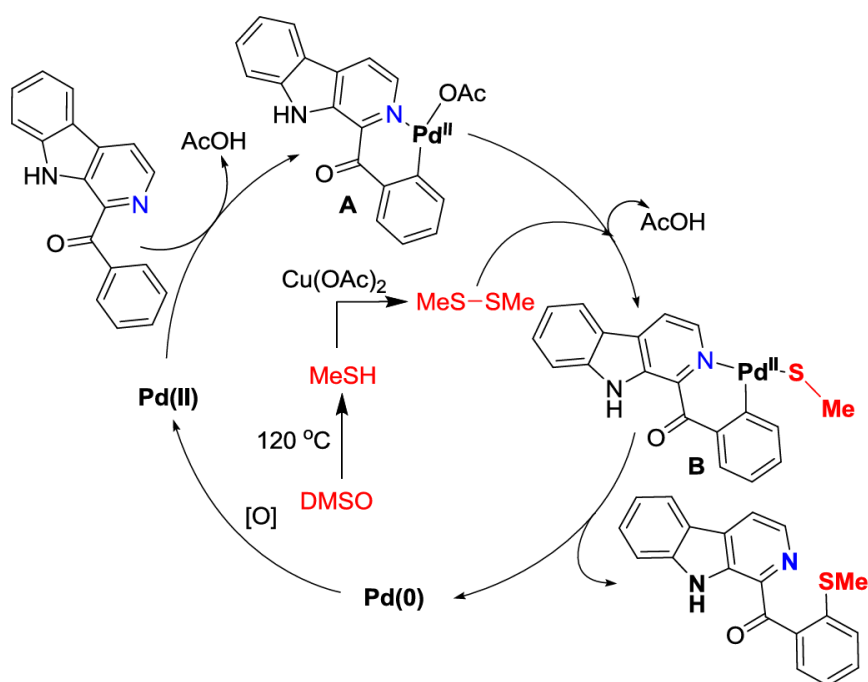
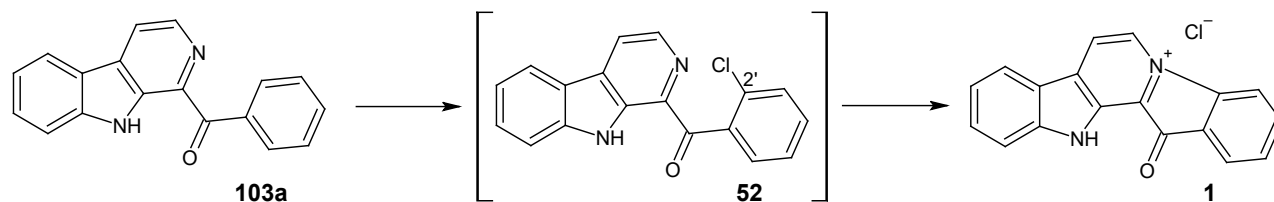


Рисунок 61 – Схема предполагаемого механизма окислительного тиометилирования

Для реализации целевого внедрения уходящей группы в *орто*-положение бензоильного фрагмента 1-бензоил-β-карболинов на начальных этапах исследования предполагалось использовать нитробензол в качестве ненуклеофильного растворителя и одновременно окислителя и хлорида палладия (II) в качестве катализатора, при этом ожидалось получить 1-бензоил-β-карболин с

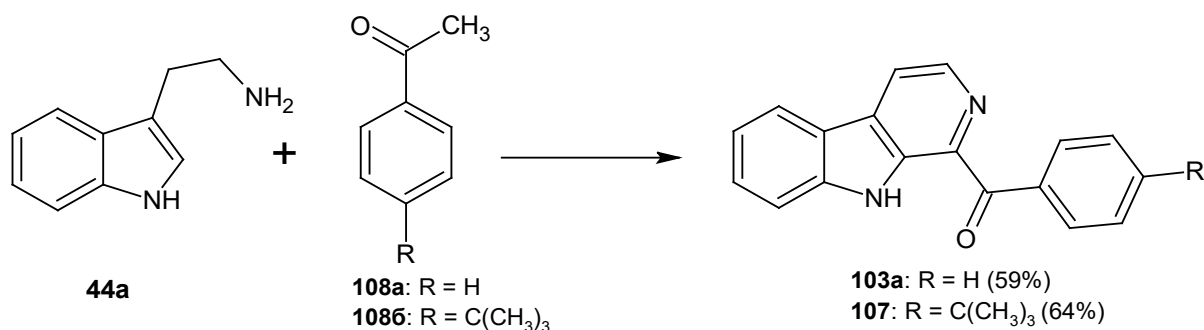
атомом хлора в положении 2' (**52**), который затем при нагревании выше 200 °С будет подвергаться циклизации до фаскаплизина (рисунок 62).



Реагенты и условия:  $\text{PdCl}_2$ ,  $\text{PhNO}_2$ , 220 °С.

Рисунок 62 – Общая схема палладий-катализируемого синтеза фаскаплизина

Для отработки условий реакций использовались незамещённый  $\beta$ -карболин **103a** и ближайший аналог целевого соединения 1-(4'-*трет*-бутилбензоил)- $\beta$ -карболин (**107**). Соединения **103a** и **107** получили из незамещённого триптамина и ацетофенонов **108a** и **108б** соответственно в присутствии йода в ДМСО (рисунок 63). Строение продуктов было доказано методом ВЭЖХ-МС.

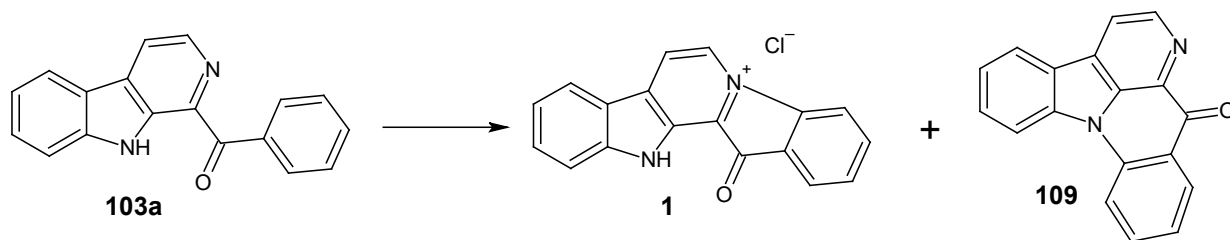


Реагенты и условия:  $\text{I}_2$ , ДМСО, 110 °С, 5 ч.

Рисунок 63 – Схема синтеза  $\beta$ -карболина **103a** и 1-(4'-*трет*-бутилбензоил)- $\beta$ -карболина (**107**)

Полученный 1-бензоил- $\beta$ -карболин (**103a**) ввели в реакцию с хлоридом палладия (II) (10%) в нитробензоле. Полученную смесь выдерживали при 180 °С и при 220 °С. Отбирали пробы через 1, 2 и 3 часа. По данным ТСХ в смеси, выдерживаемой при 220 °С, наблюдалось наличие целевого фаскаплизина **1**, исходного  $\beta$ -карболина **103a** и, предположительно, продукта альтернативной циклизации **109** (рисунок 64). При этом по данным ВЭЖХ-МС относительное содержание фаскаплизина с увеличением времени проведения реакции от 1-го до 3-х часов непрерывно увеличивалось. В пробе реакционной смеси, полученной при

180 °С, отсутствовали как целевой фаскаплизин, так и продукт альтернативной циклизации.



Реагенты и условия: PdCl<sub>2</sub>, PhNO<sub>2</sub>, 220 °С, 3 ч.

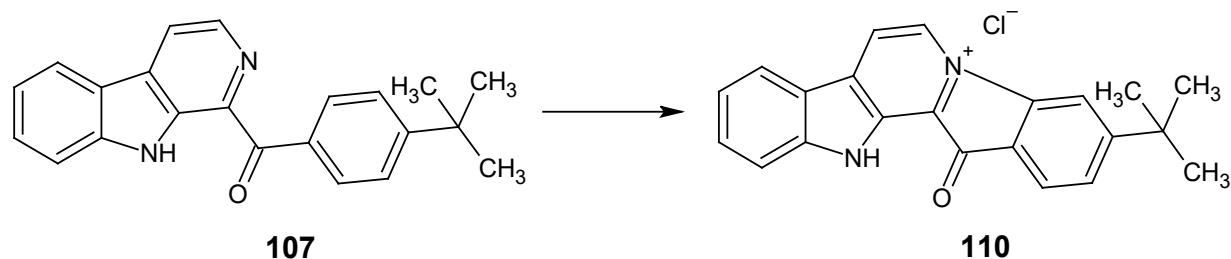
Рисунок 64 – Схема синтеза фаскаплизина при катализе хлоридом палладия (II)

Оптимизация условий синтеза включала варьирование температурного режима, времени протекания реакции, количества катализатора, объёма растворителя и использование дополнительных реагентов. Итоги экспериментов сведены в таблице в Приложении А. Анализ смесей проводили методом ВЭЖХ-МС и по данным хроматограмм оценивали содержание компонентов. Наилучшие результаты были получены при взаимодействии β-карболина **103a** с хлоридом палладия (II) и хлоридом меди (II) в качестве окислителя в 0.5 мл нитробензола при 220 °С в течение трёх часов с последующим кипячением смеси в этаноле, содержащем концентрированную соляную кислоту, для разложения образовавшихся комплексов (модификация 19).

Анализ смеси, наработанной препаративно по модификации 19, методом ВЭЖХ-МС выявил наряду с целевым фаскаплизином наличие исходного β-карболина, монохлорированного β-карболина и хлорфаскаплизина, а также небольшого количества дихлорфаскаплизина, ди- и трихлорированных β-карболинов.

Далее в подобранных на предыдущем этапе условиях реакции был использован 1-(4'-*tert*-бутилбензоил)-β-карболин (**107**) (рисунок 65). Реакционная смесь была проанализирована методом ТСХ и ВЭЖХ-МС. По полученным данным в смеси присутствует большая часть целевого 3-*tert*-бутилфаскаплизина (**110**), примесь хлорированного 3-*tert*-бутилфаскаплизина, а также исходный β-карболин и хлорированные β-карболины. Индивидуальные

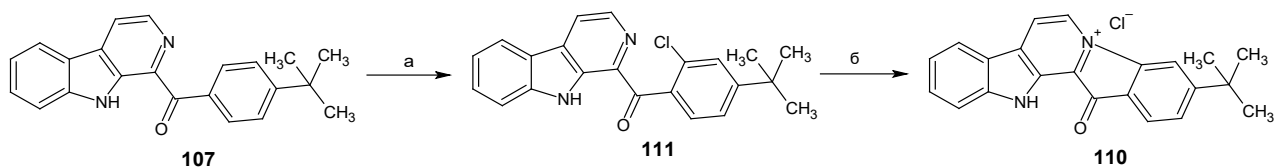
соединения выделяли методом препаративной ВЭЖХ. Для разделения полученной смеси соединений были использованы разные составы элюентов (метанол/вода (70/30, 60/40), ацетонитрил/вода (70/30), градиент от 100% воды до 100% метанола). При этом в исследованных условиях удалось добиться лишь частичного разделения смеси фаскаплизинов.



Реагенты и условия: PdCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, PhNO<sub>2</sub>, 220 °С, 3 ч.

Рисунок 65 – Схема синтеза 3-*tert*-бутилфаскаплизина (**110**)

В связи с трудоемкостью разделения смеси фаскаплизинов было решено за счёт снижения температуры реакции остановить её протекание на этапе получения хлорированного β-карболина **111**, а далее после хроматографической очистки осуществить его циклизацию в целевой 3-*tert*-бутилфаскаплизин **110** (рисунок 66). Для этого смесь 1-(4'-*tert*-бутилбензоил)-β-карболина **107** с хлоридом палладия (II) и хлоридом меди (II) нагревали в нитробензоле в течение 48 часов при 120 °С. После отгонки нитробензола в вакууме смесь разделяли методом препаративной ВЭЖХ на прямой фазе в системе гексан/этилацетат (95/5). Выход соединения **111** составил 86%.



Реагенты и условия: (а). PdCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, PhNO<sub>2</sub>, 120 °С, 48 ч, 86%; (б). 220 °С, 40 мин, 66%.

Рисунок 66 – Схема синтеза 3-*tert*-бутилфаскаплизина через 1-(4'-*tert*-бутил-2'-хлорбензоил)-β-карболин

Далее проводили высокотемпературную циклизацию 1-(4'-*tert*-бутил-2'-хлорбензоил)- $\beta$ -карболина в 3-*tert*-бутилфаскаплизин (рисунок 65). Выход целевого продукта **110** на этой стадии составил 66%. Суммарный выход соединения **110** составил 57%. Структура полученного соединения была установлена спектроскопией ЯМР. В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  (рисунок 67) соединения **110** общая интегральная интенсивность сигналов протонов соответствует 18 протонам. Синглет интенсивностью 9H при 1.51 м.д. соответствует протонам *tert*-бутильного фрагмента.

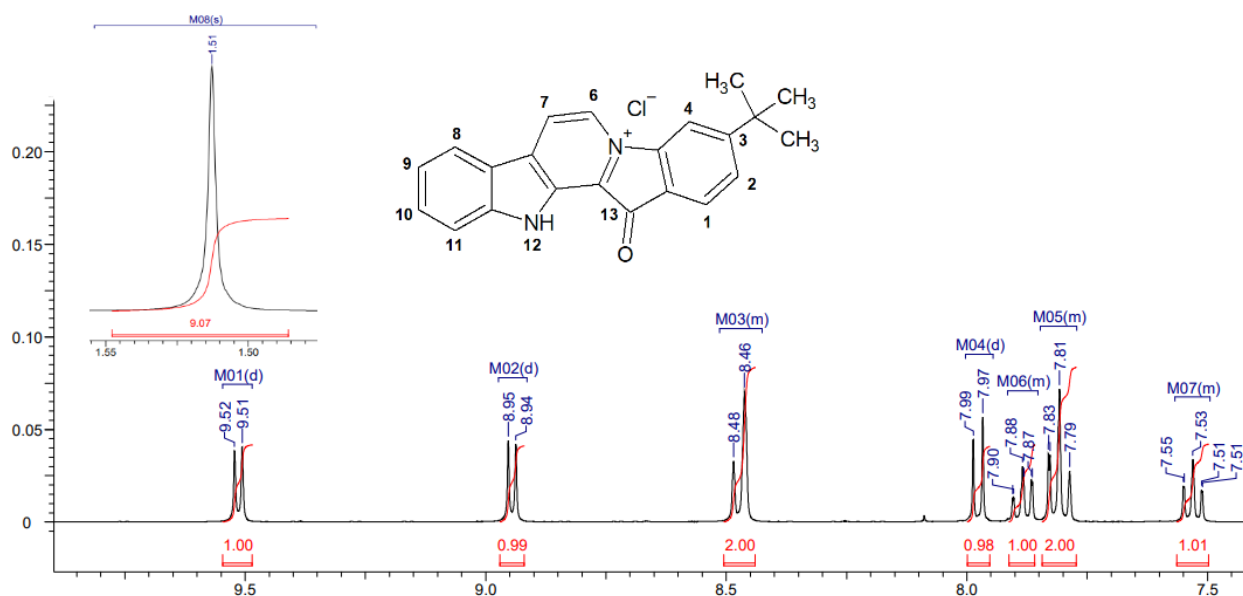
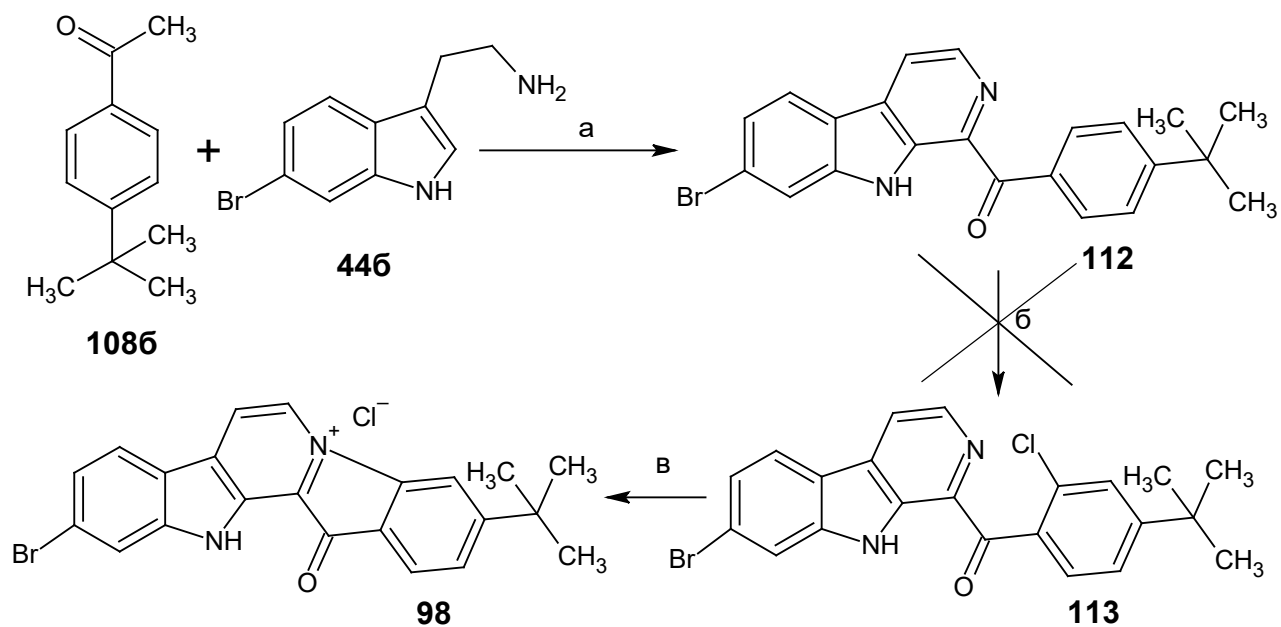


Рисунок 67 – Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  3-*tert*-бутилфаскаплизина

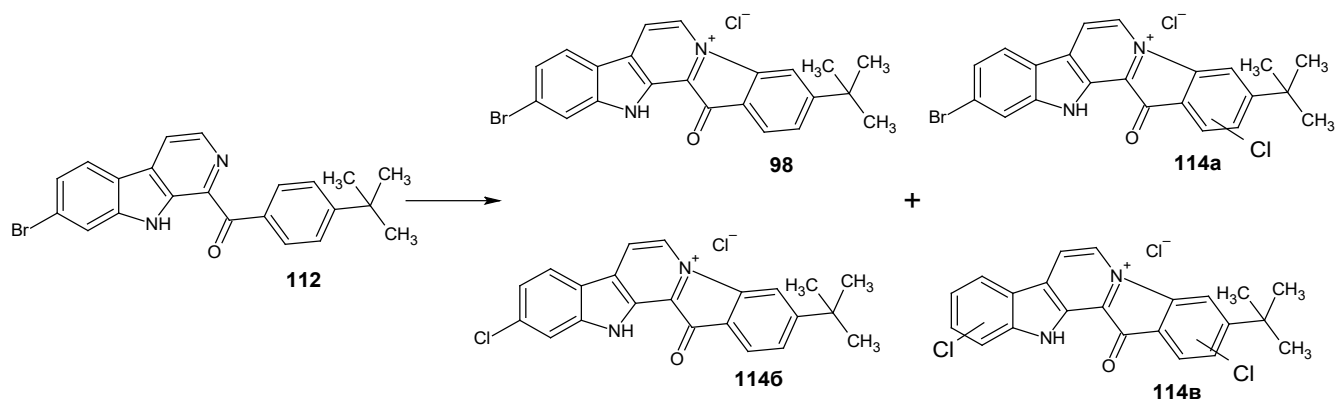
После синтеза 3-*tert*-бутилфаскаплизина перешли к синтезу целевого 10-бром-3-*tert*-бутилфаскаплизина (**98**) через соответствующий  $\beta$ -карболин **113** (рисунок 68). Исходный  $\beta$ -карболин **112** был получен по методу Zhu путем проведения мультикомпонентной реакции между 6-бромтриптамином (**446**) и 4-*tert*-бутилацетофеноном (**1086**). По данным ВЭЖХ-МС анализа смеси, полученной после попытки конверсии субстрата **112** в хлорсодержащий  $\beta$ -карболин **113** при 120 °С, основным компонентом остался исходный  $\beta$ -карболин **112**, при этом целевой 1-(4'-*tert*-бутил-2'-хлорбензоил)-7-бром- $\beta$ -карболин (**113**) присутствовал лишь в незначительных количествах.



Реагенты и условия: (а). I<sub>2</sub>, ДМСО, 110 °С, 5 ч, 61%; (б). PdCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, PhNO<sub>2</sub>, 120 °С, 48 ч; (в). 200 - 220 °С.

Рисунок 68 – Предполагаемая схема синтеза 10-бром-3-*tert*-бутилфаскаплизина (98)

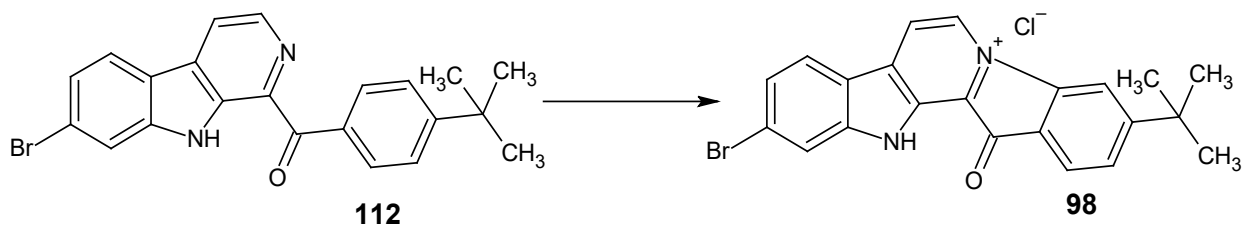
Проведение синтеза при 220 °С, как описано в стадии (б) схемы синтеза соединения 110 (рисунок 66), также не увенчалось успехом (рисунок 69). Основной процесс образования соединения 98 осложнялся побочной реакцией замещения атома брома соединения 98 на атом хлора. По данным ВЭЖХ-МС смесь содержит целевой фаскаплизин 98, его производное с дополнительным атомом хлора 114а и два фаскаплизина, которые не содержат в своей структуре атом брома, но имеют один (114б) или два (114в) атома хлора (рисунок 69).



Реагенты и условия:  $\text{PdCl}_2$ ,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{PhNO}_2$ ,  $220^\circ\text{C}$ , 3 ч.

Рисунок 69 – Схема синтеза 10-бром-3-*tert*-бутилфаскаплизина при действии хлорида меди (II) и хлорида палладия (II) при  $220^\circ\text{C}$

Для того чтобы решить проблему замещения атома брома на хлор, вместо хлорида меди (II) был использован бромид меди (II), полученный по методике из [62], а вместо хлорида палладия (II) - его трифторацетат в соответствии со схемой, приведенной на рисунке 70.



Реагенты и условия:  $\text{Pd}(\text{CF}_3\text{COO})_2$ ,  $\text{CuBr}_2$ ,  $\text{PhNO}_2$ ,  $220^\circ\text{C}$ , 3 ч, 41%.

Рисунок 70 – Схема синтеза 10-бром-3-*tert*-бутилфаскаплизина при действии бромида меди (II) и трифторацетата палладия (II)

По данным ВЭЖХ-МС смесь содержала в основном целевой фаскаплизин **98** и небольшое количество 10-бром-3-*tert*-бутилфаскаплизина с дополнительным атомом брома, а также различные  $\beta$ -карболины. Выделение индивидуальных соединений проводили методом препаративной ВЭЖХ в системе метанол/вода (70/30). Выход целевого соединения **98** составил 41%.

Структура соединения **98** была исследована методами спектроскопии ЯМР. В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  (рисунок 71) общая интегральная интенсивность сигналов протонов соответствует 17-ти протонам. Синглет интенсивностью 9H при 1.44 м.д.

соответствует протонам *трет*-бутильного фрагмента. В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  соединения **98** (рисунок 72) присутствуют двадцать сигналов атомов углерода. Характеристичный сигнал при 182.9 м.д. принадлежит атому углерода карбонильной группы фаскаплизиновой системы, сигнал при 37.7 м.д. соответствует сигналу четвертичного атома углерода *трет*-бутильной группы, а сигнал при 31.6 м.д. соответствует вырожденным сигналам атомов углерода Мe-групп *трет*-бутильного радикала. Таким образом, данные спектров ЯМР соответствуют заявленной структуре.

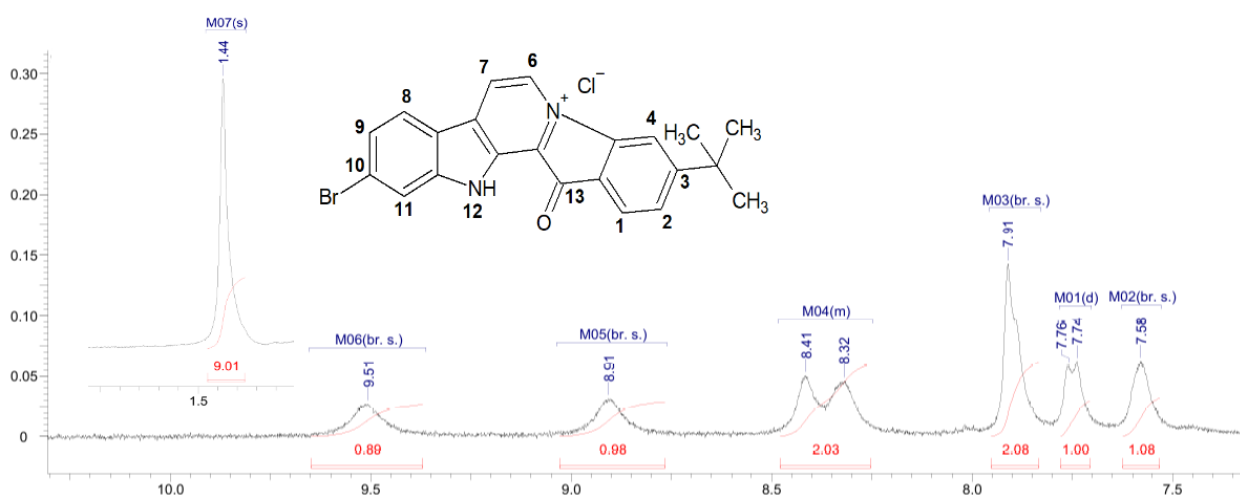


Рисунок 71 – Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина

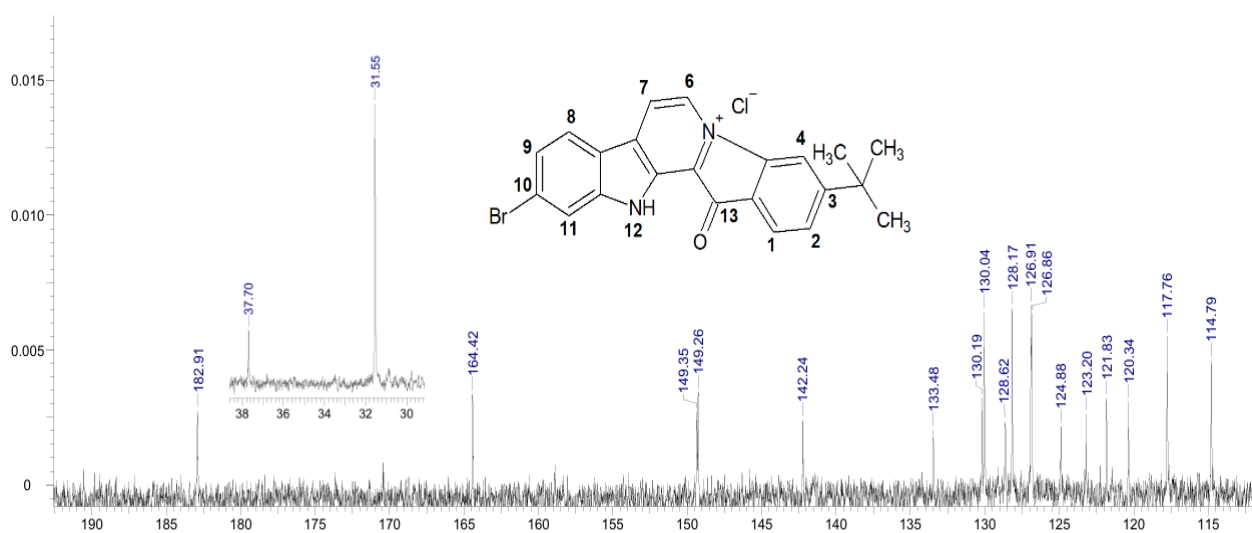


Рисунок 72 – Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина

Для синтезированных 3-*трет*-бутилфаскаплизина (**110**) и 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина (**98**) были проведены сравнительные испытания их антибактериальной активности в отношении ограниченной серии ранее исследованных штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий (таблица 10).

Таблица 10 – Антибактериальная активность фаскаплизина (**1**), 3,10-дибромфаскаплизина (**6**), 3-*трет*-бутилфаскаплизина (**110**) и 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина (**98**)

Соединение	МИК (мкг/мл) в отношении штаммов бактерий			
	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. aureus</i> PE3R (MRSA)	<i>E. coli</i> ATCC 25922
<b>Ван</b>	0.5	2.0	1.0	-
<b>Риф</b>	0.018	-	-	8.0
<b>1</b>	1.0	8.0	0.5	8.0
<b>6</b>	0.06	0.25	0.06	>8.0
<b>98</b>	0.015	0.015	0.06	>8.0
<b>110</b>	0.03	4.0	0.03	>16.0

Из данных таблицы 10 следует, что фаскаплизин (**1**) значительно уступает по своему антибактериальному действию соединениям **6**, **98** и **110**. Соединение **98** в два раза активнее соединения **110** и в четыре раза активнее соединения **6** в отношении *S. aureus* ATCC 29213 и значительно превосходит по своей активности соединения **6** и **110** в отношении *E. faecalis*: почти в 17 раз соединение **6** и почти в 267 раз соединение **110**. В то же время соединение **98** в два раза уступает по своей активности соединению **110** в отношении *S. aureus* PE3R (MRSA).

### 3 Экспериментальная часть

#### 3.1 Материалы и методы

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  получены на спектрометре Bruker Avance 400 (400 МГц для ядер  $^1\text{H}$  и 100 МГц для ядер  $^{13}\text{C}$ ) в ДМСО- $d_6$ ,  $\text{CHCl}_3$ - $d$  и  $\text{MeOH}$ - $d_4$  при 30 °С, внутренний стандарт – ТМС. Химические сдвиги приведены в м.д. в  $\delta$ -шкале относительно ТМС. Масс-спектры высокого разрешения (далее HRMS-ESI) получены с помощью времяпролетного масс-спектрометра Agilent 6210 (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 PSI). ГЖХ/МС анализ проводили на газовом хроматографе Agilent GC 6890 Plus с масс-селективным детектором 5973N при ионизации электронным ударом (EI, 70 эВ) на кварцевой капиллярной колонке HP-5MS (длина 30 м, внутренний диаметр 0.25 мм, толщина пленки неподвижной фазы 0.25 мкм), газ-носитель – гелий. Степень протекания реакции контролировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ, Sorbfil, 8-12 мкм, пластинки 1.5 x 5.0 см). Для препаративного выделения веществ использовали метод препаративной тонкослойной хроматографии (пластинки 20 x 20 см) с незакрепленным слоем  $\text{SiO}_2$  (15-40 мкм), препаративную жидкостную хроматографию среднего давления (флэш-хроматограф SepaBean<sup>TM</sup> 2, картриджи на 4 и 12 г  $\text{SiO}_2$ , фракция 40–60 мкм) или препаративную ВЭЖХ систему Shimadzu, включающую контроллер CBM-20A, насос LC-20AP, УФ-детектор SPD-20A и обращенно-фазную колонку Supelco C18 (5 мкм, 20 x 250 мм). Использовались системы растворителей: бензол, толуол,  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{EtOAc}/\text{Hex}$ ,  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ .

#### 3.2 3-Бромфаскаплизин (4)

##### *Синтез 2,4-дибромацетофенона (69)*

Смесь безводного хлорида алюминия (3.69 г, 27.6 ммоль), *m*-дибромбензола (5.35 г, 23 ммоль), 1.7 мл ацетилхлорида и 9.2 мл 1,2-дихлорэтана нагревали при 50 °С при перемешивании в течение 5 часов в плоскодонной колбе, снабжённой

обратным холодильником с хлоркальциевой трубкой. В тёмно-зелёную смесь после охлаждения добавили гидроксид калия до прекращения образования белого аморфного осадка. Осадок отделили от маточного раствора на фильтре Шотта. Раствор экстрагировали  $\text{CHCl}_3$  (3 × 25 мл). Экстракт высушили над  $\text{CaCl}_2$ , профильтровали и упарили при пониженном давлении. Выход продукта **69** составил 72%.

Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ),  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 276/278/280 (12/24/12) [ $\text{M}^+$ ]; 263 (100); 235 (24); 154 (8); 75 (31).

#### *Синтез 1-(2',4'-дибромбензоил)- $\beta$ -карболина (48г)*

Смесь 2,4-дибромацетофенона (280 мг, 1.0 ммоль), йода (203 мг, 0.8 ммоль) и 2 мл ДМСО перемешивали в течение 15 минут при комнатной температуре в плоскодонной колбе. Затем порциями добавили триптамин (160 мг, 1.0 ммоль) и далее 70 %-ый *трет*-бутилгидропероксид (193 мг, 1.3 ммоль). Полученный раствор нагревали при 110 °С в течение 5 часов при перемешивании. После охлаждения смесь разбавили 25 мл воды, добавили кристаллический тиосульфат натрия при перемешивании. Смесь экстрагировали  $\text{EtOAc}$  (3 × 20 мл), экстракт высушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , профильтровали и упарили при пониженном давлении. Целевой продукт выделен при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления на колонке с  $\text{SiO}_2$ , элюент – бензол. Выход продукта **48г** составил 35%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 12.23 (уш.с, 1H), 8.48 (д,  $J = 4.9$ , 1H), 8.44 (д,  $J = 4.9$ , 1H), 8.34 (д,  $J = 7.9$ , 1H), 8.02 (д,  $J = 1.9$ , 1H), 7.85 (д,  $J = 8.0$ , 1H), 7.76 (дд,  $J = 8.3$ , 1.9, 1H), 7.64 (ддд,  $J = 7.2$ , 7.2, 1.0, 1H), 7.57 (д,  $J = 8.3$ , 1H), 7.35 (ддд,  $J = 7.2$ , 7.2, 1.0, 1H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ : 195.9, 142.0, 140.5, 137.9, 135.3, 134.8, 134.3, 131.4, 131.0, 130.3, 129.2, 128.3, 123.2, 121.9, 120.5, 120.0, 119.8, 113.1. HRMS (ESI $^+$ ):  $m/z$  расчетное для  $\text{C}_{18}\text{H}_{11}^{79}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$  428.9235, найденное 428.9239.

#### *Синтез 3-бромфаскаплизина (4)*

1-(2',4'-Дибромбензоил)- $\beta$ -карболин (70 мг, 0.16 ммоль) нагревали при 220 °С в течение 30 минут в закрытой круглодонной колбе. Протекание реакции

контролировали с помощью ТСХ в системе EtOAc/Hex (1/2), затем в этаноле. После охлаждения осадок промыли горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Объединённые водные фазы упарили при пониженном давлении. Выход продукта **4** составил 84%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (MeOH- $d_4$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 9.41 (д,  $J = 6.2$ , 1H), 9.00 (д,  $J = 6.2$ , 1H), 8.73 (с, 1H), 8.52 (д,  $J = 8.1$ , 1H), 7.98 (с, 2H), 7.93 (т,  $J = 7.6$ , 1H), 7.84 (д,  $J = 8.1$ , 1H), 7.57 (т,  $J = 7.6$ , 1H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (MeOH- $d_4$ ),  $\delta$ : 182.0, 149.2, 148.8, 143.0, 135.8, 135.5, 132.6, 132.2, 127.6, 127.4, 125.0, 124.4, 124.3, 123.6, 121.0, 120.7, 120.1, 114.4. HRMS (ESI $^+$ ):  $m/z$  расчетное для  $\text{C}_{18}\text{H}_{10}^{79}\text{BrN}_2\text{O M}^+$  348.9974, найденное 348.9980.

### 3.3 14-Бромретикулатин (17)

#### *Синтез 14-бромретикулатата (20)*

Смесь 3-бромфаскаплизина (10 мг, 0.023·ммоль), 3 мл ТГФ и раствора гидроксида калия (34 мг, 0.61·ммоль) в 640 мкл воды перемешивали в вials при комнатной температуре в течение трёх часов. Раствор нейтрализовали концентрированной соляной кислотой и упарили при пониженном давлении. Протекание реакции контролировали методом ТСХ в системе  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$  (2/1). По данным ТСХ исходный 3-бромфаскаплизин отсутствует, смесь содержит два люминесцирующих продукта.

#### Модификация 1

Смесь 3-бромфаскаплизина (52 мг, 0.12 ммоль), 3 мл этанола и раствор гидроксида калия (190 мг, 3.4·ммоль) в 1 мл воды кипятили в течение часа в круглодонной колбе с обратным холодильником. Протекание реакции контролировали методом ТСХ в системе  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$  (2/1). Выделение индивидуальных соединений проводили методом колоночной хроматографии в системе  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$  (2/1). Выход продукта **20** составил 82%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (MeOH- $d_4$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 9.30 (с, 1H), 8.74 (д,  $J = 6.3$ , 1H), 8.57 (д,  $J = 6.5$ , 1H), 8.47 (д,  $J = 8.1$ , 1H), 8.03 (д,  $J = 8.4$ , 1H), 7.99 (д,  $J = 1.7$ , 1H), 7.94 (дд,  $J = 8.4$ , 1.5 1H), 7.85-7.88 (м, 1H), 7.79-7.81 (м, 1H), 7.52 (т,  $J = 7.4$ , 1H). Спектр

ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{MeOH-}d_4$ ),  $\delta$ : 152.1, 144.6, 142.4, 134.2, 133.4, 133.4, 133.1, 132.1, 131.9, 130.0, 129.1, 123.0, 122.7, 121.5, 119.5, 119.0, 116.0, 112.1. HRMS ( $\text{ESI}^+$ ):  $m/z$  расчетное для  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}^{79}\text{BrN}_2\text{O}_2 \text{M}^+$  367.0079, найденное 367.0084.

*Синтез 14-бромретикулатина (17) алкилированием 14-бромретикулатата диазометаном*

К смеси  $\text{KOH}$  (0.45 г, 0.008 моль), 1 мл воды и 2 мл серного эфира, охлаждённой до  $-5\text{ }^\circ\text{C}$ , при перемешивании порциями добавили  $N$ -нитрозо- $N$ -метилмочевину (0.20 г, 0.0019 моль), полученную по известной методике [50]. Затем полученный раствор лимонного цвета перемешивали в течение 10 минут при охлаждении. Эфирный раствор диазометана отделяли и далее использовали для проведения алкилирования.

К смеси 14-бромретикулатата (30 мг, 0.074·ммоль) и 1 мл этанола добавили свежеприготовленный раствор диазометана в серном эфире (2 мл). Протекание реакции контролировали методом ТСХ в системе  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$  (2/1). Наблюдали исчезновение исходного соединения и образование трёх продуктов. Индивидуальные соединения выделяли методом ПТСХ в системе  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$  (2/1). При этом часть целевого продукта гидролизует в исходный 14-бромретикулатат. Масса исходного соединения составила 6 мг, примесных соединений – 7 мг. Выход 14-бромретикулатина (17) составил 20%.

#### Модификация 1

По описанной выше методике был проведён повторный опыт. К смеси 14-бромретикулатата (1 мг, 0.0025·ммоль) и 0.5 мл этанола добавляли раствор диазометана несколькими порциями по 0.5 мл. После каждого добавления полученную смесь перемешивали в течение 30 минут и анализировали степень протекания реакции методом ТСХ. По результатам ТСХ наблюдали увеличение количества 14-бромретикулатина после прибавления каждой последующей порции диазометана, однако добиться полного протекания реакции не удалось.

*Синтез хлорангидрида 72 взаимодействием 14-бромретикулатата с пентахлоридом фосфора*

Смесь 14-бромретикулатата (5 мг, 0.0124·ммоль) и пентахлорида фосфора (10 мг, 0.048·ммоль) нагревали в круглодонной колбе при 60 °С в течение 15 минут. К реакционной смеси добавили 1 мл метанола и кипятили с обратным холодильником в течение 10 минут. Процесс контролировали методом ТСХ в системе  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$  (2/1). Реакционная смесь в основном содержит исходное соединение, целевой 14-бромретикулатин содержится в минорном количестве.

Модификация 1

По описанной выше методике был проведён повторный опыт, в котором использовали 14-бромретикулатат, предварительно выдержанный в сушильном шкафу при 100 °С. К смеси 14-бромретикулатата и пентахлорида фосфора добавили 0.1 мл трихлороксида фосфора(V). Далее смесь нагревали при 120 °С, контролируя степень протекания реакции методом ТСХ. Через 30 минут после начала реакции наблюдается отсутствие исходного соединения. К реакционной смеси добавили метанол и упарили при пониженном давлении. Тёмно-коричневое масло растворили в воде и экстрагировали  $\text{EtOAc}$  (3 × 10 мл). Органические экстракты объединили и упарили при пониженном давлении. По данным ТСХ выделенная смесь наряду с целевым продуктом содержит исходное соединение.

Модификация 2

По описанной выше методике был проведён ещё один опыт, в котором смесь 14-бромретикулатата, пентахлорида фосфора и 0.1 мл трихлороксида фосфора (V) нагревали при 80 °С в течение 1 часа. По данным ТСХ отмечали исчезновение исходного соединения и образование хлорангидрида 72. Трихлороксид фосфора (V) удалили при пониженном давлении. После добавления метанола смесь оставили на 30 минут. По данным ТСХ наблюдали исчезновение хлорангидрида и образование целевого продукта. К смеси добавили  $\text{NaHCO}_3$  до прекращения выделения газа. Осадок отфильтровали на фильтре Шотта и промыли  $\text{EtOAc}$ . Органический раствор упарили при пониженном давлении. По данным ТСХ смесь содержит целевой 14-бромретикулатин и исходное соединение.

### *Взаимодействие 14-бромретикулатата с диметилсульфатом*

К смеси 14-бромретикулатата (32 мг, 0.079·ммоль), карбонат натрия (60 мг, 0.57·ммоль) и 1 мл ацетонитрила добавили диметилсульфат (28 мг, 0.22·ммоль) и перемешивали смесь в течение 30 минут при комнатной температуре. Процесс протекания реакции контролировали методом ТСХ в системе  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$  (2/1). По завершении реакции реакцию смесь профильтровали, промыли ацетонитрилом и объединённый раствор упарили при пониженном давлении. Целевой 14-бромретикулатин был очищен извлечением примесей серным эфиром. Выход продукта **17** составил 52%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{MeOH-}d_4$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 9.40 (с, 1H), 8.76 (д,  $J = 6.4$ , 1H), 8.60 (д,  $J = 6.4$ , 1H), 8.48 (д,  $J = 8.1$ , 1H), 8.20 (д,  $J = 8.5$ , 1H), 8.12 (д,  $J = 1.9$ , 1H), 8.05 (дд,  $J = 8.5$ , 1.8, 1H), 7.79–7.87 (м, 2H), 7.50 (ддд,  $J = 7.5$ , 7.5, 0.9, 1H), 3.64 (с, 3H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{MeOH-}d_4$ ),  $\delta$ : 162.8, 144.8, 143.2, 134.2, 134.2, 133.7, 133.1, 132.8, 132.4, 130.8, 130.0, 127.1, 124.5, 122.8, 121.7, 119.0, 116.1, 112.3, 51.5. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}^{79}\text{BrN}_2\text{O}_2 \text{M}^+$  381.0235, найденное 381.0242.

### **3.4 10-Бромфаскаплизин (5)**

#### *Синтез 6-бром-3-[(E)-2-нитровинил]-1H-индола (74)*

Смесь 6-бром-3-формилиндола (500 мг, 2.1 ммоль с перерасчётом на содержание исходного соединения), ацетата аммония (162 мг, 2.1 ммоль) и 4 мл нитрометана кипятили в течение часа в круглодонной колбе с обратным холодильником. После охлаждения к смеси добавили 2 мл ацетона и вылили в стакан с 50 мл воды. Выпавший жёлтый осадок отфильтровали и промыли водой. Выход продукта **74** составил 98%.

#### *Синтез 6-бромтриптамина (44б) из 6-бром-3-[(E)-2-нитровинил]-1H-индола (74)*

Смесь измельчённого боргидрида натрия (304 мг, 8 ммоль) и 20 мл сухого ТГФ охладили до 0 °С при перемешивании. Затем порционно добавили эфират трифторида бора (1.25 мл, 8.8 ммоль) и перемешивали смесь в течение 15 минут при комнатной температуре. К смеси добавили раствор 6-бром-3-[(E)-2-

нитровинил]-1Н-индола (400 мг, 1.5 ммоль) в 4 мл ТГФ и кипятили с обратным холодильником, снабжённым хлоркальциевой трубкой, в течение двух часов. После охлаждения смесь вылили в раствор, содержащий 10 мл концентрированной HCl и 100 мл воды, и кипятили в течение двух часов. Далее из полученного раствора экстрагировали нежелательные примеси серным эфиром (3 × 25 мл). Водный слой подщелачивали до pH = 10-11 добавлением KOH и экстрагировали CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 25 мл). Объединённые экстракты высушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, профильтровали и упарили. Процесс выделения контролировали методом ТСХ в системе CHCl<sub>3</sub>/EtOH (1/1). Выход соединения **44б** составил 70%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-d), δ, J (Гц): 8.28 (с, 1H), 7.52 (д, J = 1,7, 1H), 7.47 (д, J = 8.4, 1H), 7.22 (дд, J = 8.5, 1.7, 1H), 7.02 (д, J = 2,6, 1H), 3.02 (т, J = 6.6, 2H), 2.89 (т, J = 6.6, 2H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CHCl<sub>3</sub>-d), δ: 136.8, 126.0, 122.2, 122.2, 119.8, 115.2, 113.7, 41.8, 28.9. Масс-спектр (ESI<sup>+</sup>), m/z 239/241 [M+H]<sup>+</sup>.

*Синтез 1-(2'-бромбензоил)-7-бром-β-карболина (48в)*

Смесь 2-бромацетофенона (200 мг, 1 ммоль), йода (203 мг, 0.8 ммоль) и 2 мл ДМСО нагревали при 110 °С в течение часа в плоскодонной колбе. Затем добавили раствор 6-бромтриптамина (239 мг, 1 ммоль) в 3 мл ДМСО и полученную смесь нагревали при 110 °С в течение 5 часов. После охлаждения смесь вылили в раствор Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Выпавший коричневый осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем этилацетатом. Водную фракцию проэкстрагировали EtOAc (3 × 25 мл), экстракты объединили и упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления, элюент – бензол. Выход продукта **48в** составил 38%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-d), δ, J (Гц): 10.47 (уш. с, 1H), 8.56 (д, J = 5.0, 1H), 8.12 (д, J = 5.0, 1H), 8.02 (д, J = 8.5, 1H), 7.76 (д, J = 1.4, 1H), 7.68 (дд, J = 7.7, J = 1.0, 1H), 7.56 (дд, J = 7.7, J = 1.9, 1H), 7.35-7.49 (м, 3H). Масс-спектр (ESI<sup>+</sup>), m/z 430/432/434 [M+H]<sup>+</sup>.

### *Синтез 10-бромфаскаплизина (5)*

1-(2'-Бромбензоил)-7-бром- $\beta$ -карболин (50 мг, 0,12 ммоль) нагревали при 220 °С в течение 30 минут в круглодонной колбе. После охлаждения осадок промыли горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Объединённые водные фазы упарили при пониженном давлении. Продукт анализировали методом ТСХ в этаноле. Выход 10-бромфаскаплизина (**5**) составил 83%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (MeOH- $d_4$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 9.40 (д,  $J = 3.9$ , 1 H), 8.97 (д,  $J = 4.4$ , 1 H), 8.41 (д,  $J = 9.3$ , 1 H), 8.35 (д,  $J = 8.3$ , 1 H), 8.08 (д,  $J = 6.9$ , 1 H), 8.03 (с, 1 H), 7.99 (т,  $J = 7.1$ , 1 H), 7.77 (т,  $J = 7.3$ , 1 H), 7.70 (дд,  $J = 8.6$ , 1.2, 1 H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (MeOH- $d_4$ ),  $\delta$ : 181.7, 147.9, 147.3, 140.8, 136.9, 132.0, 131.4, 128.9, 126.7, 126.6, 125.5, 125.1, 122.8, 120.0, 116.3, 115.1. Масс-спектр (ESI $^+$ ),  $m/z$  348/350, [M] $^+$ .

### **3.5 3,10-Дибромфаскаплизин (6)**

#### *Синтез 1-(2',4'-дибромбензоил)-7-бром- $\beta$ -карболина (486)*

Смесь 2,4-дибромацетофенона (278 мг, 1 ммоль), йода (206 мг, 0.8 ммоль) и 2 мл ДМСО нагревали при 110 °С в течение часа. Добавили раствор 6-бромтриптамина (239 мг, 1 ммоль) в 3 мл ДМСО и полученную смесь нагревали при 110 °С в течение 5 часов. После охлаждения смесь вылили в раствор Na $_2$ S $_2$ O $_3$ . Выпавший коричневый осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем этилацетатом. Водную фракцию экстрагировали EtOAc (3  $\times$  25 мл), объединили экстракт с органической фракцией и упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления, элюент – бензол. Выход продукта **486** составил 37%.

*Синтез 1-(2',4'-дибромбензоил)-7-бром- $\beta$ -карболина (486) из 2,4-дибромацетофенона и 6-бромтриптамина после оптимизации*

Смесь 2,4-дибромацетофенона (58 мг, 0.21 ммоль), йода (43 мг, 0.17 ммоль), перекристаллизованного из CCl $_4$ , и 1 мл ДМСО (предварительно перегнан в вакууме с гидридом кальция при 90 °С) нагревали при 110 °С в течение часа в

шлифованной пробирке с септой при перемешивании. После охлаждения до комнатной температуры к реакционной смеси порционно при перемешивании добавили сухой 6-бромтриптамин (50 мг, 0.21 ммоль). Далее пробирку снабдили обратным холодильником и нагревали полученную смесь при 110 °С в течение четырёх часов. После охлаждения реакционную смесь вылили в раствор Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Выделившийся осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем этилацетатом. Объединённые органические фазы упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления, элюент – бензол. В результате выход целевого (1-(2',4'-дибромбензоил)-7-бром-β-карболина **48б** составил 62%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ, J (Гц): 10.45 (уш.с, 1H), 8.57 (д, J = 4.9, 1H), 8.15 (д, J = 4.9, 1H), 8.05 (д, J = 8.3, 1H), 7.88 (д, J = 1.7, 1H), 7.79 (д, J = 1.1, 1H), 7.62 (дд, J = 8.3, 1.7, 1H), 7.50 (дд, J = 8.3, 1.5, 1H), 7.46 (д, J = 8.2, 1H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ: 196.7, 141.4, 138.9, 138.4, 136.5, 135.2, 134.7, 130.9, 130.6, 129.8, 124.4, 124.2, 122.9, 122.6, 120.5, 119.2, 118.9, 114.8. HRMS (ESI<sup>+</sup>): *m/z* расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>10</sub><sup>79</sup>Br<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 506.8340, найденное 506.8345.

### *Синтез 3,10-дибромфаскаплизина (6)*

1-(2',4'-Дибромбензоил)-7-бром-β-карболин (61 мг, 0.12 ммоль) нагревали при 220 °С в течение 30 минут в круглодонной колбе. После охлаждения осадок промыли горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Объединённые водные фазы упарили при пониженном давлении. Продукт анализировали методом ТСХ в этаноле. Выход 3,10-дибромфаскаплизина **6** составил 91%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (MeOH-*d*<sub>4</sub>), δ, J (Гц): 9.38 (д, J = 6.4, 1H), 8.97 (д, J = 6.4, 1H), 8.69 (с, 1H), 8.41 (д, J = 8.8, 1H), 8.05 (д, J = 1.4, 1H), 7.97 (д, J = 0.8, 2H), 7.71 (дд, J = 1.7, 8.6, 1H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (MeOH-*d*<sub>4</sub>), δ: 180.2, 147.7, 147.6, 140.8, 134.0, 131.4, 130.7, 128.7, 126.6, 126.4, 126.0, 124.8, 122.7, 119.5, 119.5, 118.7, 118.4, 115.9. HRMS (ESI<sup>+</sup>): *m/z* расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>9</sub><sup>79</sup>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O [M]<sup>+</sup> 426.9079, найденное 426.9085.

### 3.6 2,9-Дибромфаскаплизин (75)

#### *Синтез 1-(2',5'-дибромбензоил)-β-карболина (79)*

Смесь 2,5-дибромацетофенона (500 мг, 1.9 ммоль), йода (347 мг, 1.4 ммоль) и 3 мл ДМСО нагревали при перемешивании при 110 °С в течение часа. Затем добавили раствор триптамина (304 мг, 1.9 ммоль) в 2 мл ДМСО и полученную смесь нагревали при 110 °С в течение 5 часов. После охлаждения смесь вылили в раствор Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Выпавший коричневый осадок отделили на фильтре Шотта и промыли водой. Фильтрат проэкстрагировали EtOAc (3 × 25 мл), и объединенную органическую фазу упарили при пониженном давлении. Индивидуальные соединения разделили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления, элюент - бензол. Выход продукта **79** составил 40%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ, J (Гц): 10.52 (уш.с, 1H), 8.61 (д, J = 4.9, 1H), 8.35 (д, J = 1.9, 1H), 8.16 (д, J = 5.0, 1H), 7.76 (дд, J = 8.7, 1.9, 1H), 7.73 (дд, J = 8.1, 1.1, 1H), 7.59 (дд, J = 7.4, 1.7, 1H), 7.56 (д, J = 8.6, 1H), 7.51 (ддд, J = 7.5, 1.1, 1H), 7.43 (ддд, J = 7.7, 1.8, 1H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ: 198.4, 140.3, 140.0, 139.4, 137.2, 135.8, 133.4, 132.5, 131.6, 131.0, 130.1, 127.1, 124.9, 122.7, 120.3, 119.5, 114.0, 113.8. HRMS (ESI<sup>+</sup>): *m/z* расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>11</sub><sup>79</sup>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 428.9235, найденное 428.9241.

#### *Синтез 1-(2',5'-дибромбензоил)-6-бром-β-карболина (81)*

Смесь 1-(2',5'-дибромбензоил)-β-карболина (100 мг, 0.23 ммоль), NBS (83 мг, 0.46 ммоль) и 5 мл ледяной уксусной кислоты выдерживали при 90 °С в течение часа при перемешивании. Ход реакции контролировали методом ТСХ в толуоле. Смесь вылили в стакан с 50 мл насыщенного водного раствора карбоната натрия для нейтрализации уксусной кислоты, после чего экстрагировали EtOAc (2×25 мл). Объединённые экстракты высушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, профильтровали и упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления, элюент - бензол. Выход продукта **81** составил 65%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CHCl}_3-d$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 10.42 (уш.с, 1H), 8.57 (д,  $J=5.0$ , 1H), 8.31 (д,  $J=1.7$ , 1H), 8.13 (д,  $J=5.0$ , 1H), 7.87 (д,  $J=1.8$ , 1H), 7.74 (дд,  $J=8.2$ , 1.8, 1H), 7.61 (дд,  $J=8.1$ , 1.8, 1H), 7.53 (д,  $J=8.6$ , 1H), 7.45 (д,  $J=8.2$ , 1H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CHCl}_3-d$ ),  $\delta$ : 197.1, 166.8, 139.7, 139.1, 138.8, 135.7, 135.2, 132.4, 131.0, 130.8, 130.2, 124.9, 124.7, 122.4, 121.0, 119.5, 113.9, 113.6. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для  $\text{C}_{18}\text{H}_{10}^{79}\text{Br}_3\text{N}_2\text{O}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  506.8340, найденное 506.8346.

### *Синтез 2,9-дибромфаскаплизина (75)*

1-(2',5'-Дибромбензоил)-6-бром- $\beta$ -карболин (50 мг, 0.098 ммоль) нагревали при 200 °С в течение одного часа в круглодонной колбе. После охлаждения осадок промыли горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Объединённые водные фазы упарили при пониженном давлении и получили порошок морковно-красного цвета. Выход 2,9-дибромфаскаплизина (75) составил 88%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (MeOH- $d_4$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 9.39 (уш.с, 1H), 8.96 (уш.с, 1H), 8.70 (уш.с, 1H), 8.40 (д,  $J=8.0$ , 1H), 8.00 (с, 1H), 7.90–7.94 (м, 2H), 7.67 (д,  $J=7.6$ , 1H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (MeOH- $d_4$ ),  $\delta$ : 180.6, 148.1, 148.0, 141.2, 134.5, 131.9, 131.1, 129.1, 127.1, 126.8, 126.4, 125.3, 123.1, 120.0, 119.2, 118.8, 116.3, 116.0. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для  $\text{C}_{18}\text{H}_9^{79}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}$   $[\text{M}]^+$  426.9079, найденное 426.9088.

### **3.7 3,9-Дибромфаскаплизин (76)**

#### *Синтез 1-(2',4'-дибромбензоил)- $\beta$ -карболина (48г)*

Смесь 2,4-дибромацетофенона (500 мг, 1.9 ммоль), йода (347 мг, 1.4 ммоль) и 3 мл ДМСО нагревали при перемешивании при 110 °С в течение часа. Добавили раствор триптамина (304 мг, 1.9 ммоль) в 2 мл ДМСО и полученную смесь нагревали при 110 °С в течение 5 часов. После охлаждения смесь вылили в раствор  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Выпавший коричневый осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем этилацетатом. Водную фракцию экстрагировали EtOAc (3 × 25 мл). Объединённые органические фазы упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной

хроматографии среднего давления, элюент – бензол. Выход продукта **48г** составил 38%.

*Синтез 1-(2',4'-дибромбензоил)-6-бром-β-карболина (82)*

Смесь 1-(2',4'-дибромбензоил)-β-карболина (50 мг, 0.115 ммоль), NBS (42 мг, 0.23 ммоль) и 3 мл ледяной уксусной кислоты нагревали при 90 °С в течение часа при перемешивании. Ход реакции контролировали методом ТСХ в толуоле. Смесь вылили в стакан с 50 мл насыщенного водного раствора карбоната натрия для нейтрализации уксусной кислоты, после чего экстрагировали EtOAc (2×25 мл). Объединённые органические экстракты высушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, профильтровали и упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления, элюент - бензол. Выход продукта **82** составил 67%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ, J (Гц): 10.42 (уш.с, 1H), 8.57 (д, J = 4.9, 1H), 8.31 (с, 1H), 8.13 (д, J = 5.0, 1H), 7.87 (с, 1H), 7.73 (д, J = 8.7, 1H), 7.61 (д, J = 8.1, 1H), 7.52 (д, J = 8.7, 1H), 7.44 (д, J = 8.2, 1H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ: 197.1, 139.7, 139.2, 138.8, 137.0, 135.7, 135.2, 132.4, 131.1, 130.8, 130.2, 124.9, 124.8, 122.5, 121.0, 119.5, 113.9, 113.6. HRMS (ESI<sup>+</sup>): *m/z* расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>10</sub><sup>79</sup>Br<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 506.8340, найденное 506.8351.

*Синтез 3,9-дибромфаскаплизина (76)*

1-(2',4'-Дибромбензоил)-6-бром-β-карболин (50 мг, 0.098 ммоль) нагревали при 200 °С в течение двух часов в круглодонной колбе. После охлаждения осадок промывали горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Объединённые водные фазы упарили при пониженном давлении и получили порошок морковно-красного цвета. Выход 3,9-дибромфаскаплизина (**76**) составил 64%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (DMCO-*d*<sub>6</sub>), δ, J (Гц): 13.73 (уш.с, 1H), 9.69 (с, 1H), 9.19 (с, 1H), 8.91 (с, 1H), 8.85 (с, 1H), 7.95 (м, 3H), 7.74 (д, J = 7.6, 1H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (DMCO-*d*<sub>6</sub>), δ: 181.6, 148.3, 146.2, 140.0, 139.8, 137.1, 134.8, 131.5, 131.3, 130.9,

127.7, 127.3, 124.2, 123.7, 121.5, 120.0, 116.3, 115.5. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>9</sub><sup>79</sup>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O [M]<sup>+</sup> 426.9079, найденное 426.9085.

### 3.8 2,10-Дибромфаскаплизин (77)

#### *Синтез 1-(2',5'-дибромбензоил)-7-бром-β-карболина (80)*

Смесь 2,5-дибромацетофенона (214 мг, 0.77 ммоль), йода (156 мг, 0.61 ммоль) и 4 мл ДМСО нагревали при 110 °С в течение часа при перемешивании. Затем добавили раствор 6-бромтриптамина (183 мг, 0.77 ммоль) в 1 мл ДМСО и полученную смесь нагревали при 110 °С в течение 5 часов. После охлаждения смесь вылили в раствор Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Выпавший коричневый осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем этилацетатом. Водную фракцию проэкстрагировали EtOAc (3 × 25 мл) и объединённые органические фазы упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления, элюент - бензол. Выход продукта **80** составил 45%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ, *J* (Гц): 10.45 (уш.с, 1H), 8.57 (д, *J* = 5.0, 1H), 8.16 (д, *J* = 4.9, 1H), 8.05 (д, *J* = 8.4, 1H), 7.88 (д, *J* = 1.9, 1H), 7.79 (д, *J* = 1.5, 1H), 7.62 (дд, *J* = 8.2, 1.8, 1H), 7.50 (дд, *J* = 8.4, 1.7, 1H), 7.46 (д, *J* = 8.2, 1H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ: 197.2, 141.9, 139.3, 138.8, 136.9, 135.7, 135.2, 131.3, 131.0, 130.2, 124.9, 124.6, 123.3, 123.0, 120.9, 119.6, 119.3, 115.2. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>10</sub><sup>79</sup>Br<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 506.8340, найденное 506.8343.

#### *Синтез 2,10-дибромфаскаплизина (77)*

1-(2',5'-Дибромбензоил)-7-бром-β-карболин (50 мг, 0.098 ммоль) нагревали при 200 °С в течение 10 минут в круглодонной колбе, а затем при 220 °С в течение 30 минут. После охлаждения осадок промыли горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Объединённые водные фазы упарили при пониженном давлении и получили порошок морковно-красного цвета. Выход 2,10-дибромфаскаплизина (**77**) составил 75%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{MeOH-}d_4$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 9.40 (д,  $J=6.2$ , 1 H), 8.98 (д,  $J=6.2$ , 1 H), 8.71 (с, 1H), 8.42 (д,  $J=8.5$ , 1 H), 8.03 (д,  $J=1.3$ , 1 H), 7.97 (с, 2H), 7.70 (дд,  $J=8.5$ , 1.3, 1 H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{MeOH-}d_4$ ),  $\delta$ : 180.6, 148.1, 148.0, 141.2, 134.5, 131.1, 129.1, 127.0, 126.8, 126.4, 125.2, 123.1, 123.0, 119.9, 119.1, 118.8, 116.3, 116.0. HRMS (ESI $^+$ ):  $m/z$  расчетное для  $\text{C}_{18}\text{H}_9^{79}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}$   $[\text{M}]^+$  426.9079, найденное 426.9087.

### 3.9 3,8-Дибромфаскаплизин (83)

#### *Синтез гидрохлорида 3-бромфенилгидразина (84)*

К смеси *m*-броманилина (8.00 г, 0.047 моль) и 25 мл 20%-ной HCl добавили по каплям раствор нитрита натрия (3.35 г, 0.049 моль) в 10 мл воды при 0 °С. Смесь перемешивали при 0 °С в течение часа, после чего к реакционной смеси порционно добавили раствор хлорида олова (II) (17.70 г, 0.093 моль) в 15 мл концентрированной HCl и перемешивали при 0 °С в течение двух часов. Ход реакции контролировали методом ТСХ в системе  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$  (1/1). Смесь представляла собой кремово-серую взвесь, которую отделили на фильтре Шотта, промыли соляной кислотой и осадок высушили в вакуумном шкафу. Для удаления примесей сухой остаток растирали с этилацетатом. Выход продукта **84** составил 34%.

#### *Синтез 4-бромбутаноля (85)*

К кипящему тетрагидрофурану (162 мл, 2.0 моль) добавляли по каплям при перемешивании концентрированную бромоводородную кислоту (46.90 г, 0.579 моль) в течение четырех часов, после чего реакционную смесь кипятили еще полтора часа при перемешивании. После охлаждения смесь нейтрализовали  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , добавили 70 мл воды и экстрагировали EtOAc ( $3 \times 20$  мл). Объединённую органическую фазу высушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , профильтровали и упарили при пониженном давлении. Остаток был перегнан в вакууме (6 мбар). Первая фракция отгонялась при 73 -75 °С – жидкость желтого цвета, вторая фракция – при 85-86 °С – прозрачная жидкость (целевой продукт). По результатам ГЖХ содержание спирта в смеси 70%. Масса 4-бромбутанола 9.14 г.

К суспензии хлорхромата пиридиния (6.60 г, 0.031 моль) в 25 мл дихлорметана добавляли медленно по каплям при перемешивании и охлаждении перегнанный 4-бромбутанол-1 (6.60 г, 0.031 моль, в пересчете на содержание в смеси). Полученную чёрную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 45 минут, разбавили 20 мл серного эфира, отделили органический слой, а твёрдый остаток промыли серным эфиром (3 × 10 мл). Объединённую органическую фазу очищали от непрореагировавшего окислителя на короткой колонке с силикагелем. Фильтрат упарили при пониженном давлении и получили жёлтое масло. Выход продукта **85** составил 65%.

#### *Синтез 6-бромтриптамина (44б) и 4-бромтриптамина (44в)*

Смесь раствора 4-бромбутанала (0.75 г, 0.005 моль) в 5 мл этанола и раствора гидрохлорида 3-бромфенилгидразина (1.09 г, 0.005 моль) в 4 мл этанола и 1 мл воды кипятили в течение 10 часов с обратным холодильником, после чего раствор тёмно-коричневого цвета вылили в воду и подкислили соляной кислотой для образования соли. Полученный раствор экстрагировали EtOAc (3 × 25 мл) для извлечения примесей. Раствором гидроксида калия подщелачивали водный раствор до pH 11 и экстрагировали CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 25 мл). Объединённую органическую фазу упарили. Смесь очищали методом колоночной хроматографии. Сначала в качестве элюента использовали этилацетат для удаления примесных соединений, а затем – смесь этанола с раствором аммиака. Процесс контролировали методом ТСХ в системе CHCl<sub>3</sub>/EtOH (1/1). Выход смеси триптаминов (**44б** и **44в**) составил 13%.

#### Модификация 1

В соответствии с вышеизложенной методикой был проведён повторный эксперимент, в котором для повышения температуры реакции этанол был заменён на бутанол-1. Обнаружено, что в этих условиях гидрохлорид 3-бромфенилгидразина не растворяется и реакция не протекает.

#### Модификация 2

Смесь сухого гидрохлорида 3-бромфенилгидразина (100 мг, 0.5 ммоль), 4-бромбутанала (76 мг, 0.5 ммоль), 2 мл этанола и 1 мл воды выдерживали при 120 °С в течение трёх часов в герметизированном сосуде, выдерживающем избыточное давление. По результатам ТСХ в смеси содержится небольшое количество продуктов, большое количество гидразина и много примесей. На основании этого был сделан вывод, что при соотношении реагентов 1:1 не хватает альдегида для полного протекания реакции.

#### Модификация 3

При нагревании был получен раствор гидрохлорида 3-бромфенилгидразина (504 мг, 2.3 ммоль) в 3 мл этанола и 1 мл воды. К получившемуся раствору добавили 4-бромбутаналь (500 мг, 3.3 ммоль). Реакционную смесь выдерживали при 150 °С в течение одного часа в герметизированном сосуде, выдерживающем избыточное давление. По данным ТСХ в смеси присутствует небольшое количество гидразина. Выход смеси триптаминов после выделения составил 48%.

#### Модификация 4

В условиях модификации 3 был проведён эксперимент с использованием четырехкратного избытка 4-бромбутанала. По данным ТСХ смесь не содержит исходного гидразина. Выход смеси триптаминов составил 57%.

*Синтез 1-(2',4'-дибромбензоил)-7-бром-β-карболина (48б) и 1-(2',4'-дибромбензоил)-5-бром-β-карболина (89)*

Смесь 2,4-дибромацетофенона (296 мг, 1.1 ммоль), йода (206 мг, 0.8 ммоль) и 2 мл ДМСО перемешивали при 110 °С в течение часа, после чего добавили раствор смеси триптаминов **44б** и **44в** (239 мг, 1.0 ммоль) в 3 мл ДМСО и нагревали при 110 °С в течение 5 часов. После охлаждения смесь вылили в раствор Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Выпавший коричневый осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем этилацетатом до бесцветных промывных вод. Водную фракцию экстрагировали EtOAc (3 × 25 мл). Объединённые органические фазы упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления в системе

хлороформ/петролейный эфир (1/5). Выделили три желтых фракции: верхняя фракция – 82 мг, средняя фракция – 54 мг и нижняя – 37 мг. По результатам спектроскопии ЯМР целевой 1-(2',4'-дибромбензоил)-5-бром-β-карболин (**89**) содержится в нижней фракции, в верхней фракции – его изомер (1-(2',4'-дибромбензоил)-7-бром-β-карболин (**486**)), средняя фракция содержит смесь данных продуктов.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  соединения **89** ( $\text{CHCl}_3-d$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 10.55 (уш.с, 1H), 8.81 (д,  $J = 5.1$ , 1H), 8.62 (д,  $J = 5.1$ , 1H), 7.88 (д,  $J = 1.8$ , 1H), 7.63 (дд,  $J = 3.2$ , 1.4, 1H), 7.61 (дд,  $J = 2.9$ , 1.4, 1H), 7.54 - 7.58 (м, 1H), 7.51 (д,  $J = 7.8$ , 1H), 7.46 (д,  $J = 8.2$ , 1H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  соединения **89** ( $\text{CHCl}_3-d$ ),  $\delta$ : 197.5, 142.4, 142.4, 139.4, 139.1, 137.0, 135.9, 135.1, 131.6, 131.3, 130.4, 130.2, 125.4, 125.1, 121.5, 121.2, 118.5, 111.3. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для  $\text{C}_{18}\text{H}_{10}^{79}\text{Br}_3\text{N}_2\text{O}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  506.8340, найденное 506.8347.

#### Модификация 1

В соответствии с описанной выше методикой эта реакция была проведена повторно, но выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления в системе гексан/бензол (1/1). Выделено 98 мг целевого продукта, 100 мг изомера и 4 мг смеси. Выход β-карболинов **89** и **486** составил 19 и 20% соответственно.

#### Синтез 3,8-дибромфаскаплизина (**83**)

1-(2',4'-Дибромбензоил)-5-бром-β-карболин (61 мг, 0.00012 ммоль) нагревали в круглодонной колбе при 220 °С в течение 30 минут. После охлаждения осадок промыли горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Упаривание объединённой водной фазы при пониженном давлении дало порошок морковно-красного цвета. Выход 3,8-дибромфаскаплизина (**83**) 93%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{MeOH}-d_4$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 9.44 (д,  $J=4.7$ , 1H), 9.36 (д,  $J=4.5$ , 1H), 8.76 (с, 1H), 7.98 (с, 2H), 7.76 - 7.88 (м, 3H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{MeOH}-d_4$ ),  $\delta$ : 180.1, 148.1, 147.5, 140.1, 134.5, 134.2, 131.4, 130.7, 126.8, 126.0, 122.7, 122.4, 120.3, 119.5,

118.9, 118.9, 118.5, 112.2. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>9</sub><sup>79</sup>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O [M]<sup>+</sup> 426.9079, найденное 426.9083.

### 3.10 2,9,11-Трибромфаскаплизин (90)

#### *Синтез 1-(2',5'-дибромбензоил)-6,8-дибром-β-карболина (93)*

Смесь 1-(2',5'-дибромбензоил)-β-карболина (100 мг, 0.23 ммоль), NBS (166 мг, 0.92 ммоль) и 5 мл ледяной уксусной кислоты перемешивали при 110 °С в течение двух часов. Ход реакции контролировали методом ТСХ в толуоле. Далее реакционную смесь вылили в стакан с 50 мл насыщенного водного раствора карбоната натрия, после чего экстрагировали EtOAc (2×25 мл). Объединённые органические экстракты высушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, профильтровали и упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления, элюент – бензол. Выход продукта **93** составил 51%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ, *J* (Гц): 10.43 (уш.с, 1H), 8.64 (д, *J* = 5.0, 1H), 8.29 (д, *J* = 1.2, 1H), 8.16 (д, *J* = 5.0, 1H), 7.96 (д, *J* = 1.7, 1H), 7.92 (д, *J* = 1.9, 1H), 7.65 (дд, *J* = 8.2, 1.8, 1H), 7.47 (д, *J* = 8.2, 1H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ: 196.8, 139.7, 138.8, 138.5, 136.4, 135.8, 135.7, 134.0, 131.1, 131.1, 130.2, 125.0, 123.8, 123.1, 121.0, 119.9, 113.8, 106.1. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>9</sub><sup>79</sup>Br<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 585.7523, найденное 585.7541.

#### *Синтез 2,9,11-трибромфаскаплизина (90)*

1-(2',5'-Дибромбензоил)-6,8-дибром-β-карболин (50 мг, 0.085 ммоль) нагревали в круглодонной колбе при 200 °С в течение двух часов. После охлаждения осадок промыли горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Упаривание объединённой водной фазы при пониженном давлении дало порошок красного цвета. Выход 2,9,11-трибромфаскаплизина (**90**) составил 64%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (MeOH-*d*<sub>4</sub>), δ, *J* (Гц): 9.50 (уш.с, 1H), 9.05 (уш.с, 1H), 8.77 (с, 1H), 8.74 (с, 1H), 8.26 (с, 1H), 7.98 (с, 2H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (MeOH-*d*<sub>4</sub>), δ: 180.3,

148.1, 139.2, 135.0, 132.3, 131.5, 129.9, 128.0, 127.4, 126.8, 126.0, 125.0, 123.2, 123.0, 121.6, 119.6, 116.2, 116.0. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>8</sub><sup>79</sup>Br<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O [M]<sup>+</sup> 504.8181, найденное 504.8209.

### 3.11 2-Бром-9-хлорфаскаплизин (91)

#### *Синтез 1-(2',5'-дибромбензоил)-6-хлор-β-карболина (94)*

Через смесь 1-(2',5'-дибромбензоил)-β-карболина (100 мг, 0.23 ммоль) и 4 мл ледяной уксусной кислоты пропускали хлор до насыщения и перемешивали при комнатной температуре в течение двух часов. Ход реакции контролировали методом ТСХ в толуоле. Далее реакционную смесь вылили в стакан с 50 мл насыщенного водного раствора карбоната, после чего экстрагировали EtOAc (2×25 мл). Объединённые органические экстракты высушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, профильтровали и упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили методом ПТСХ с использованием бензола в качестве элюента. Выход продукта **94** составил 80%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-*d*),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 10.42 (уш.с, 1H), 8.56 (д,  $J$  = 5.0, 1H), 8.16 (д,  $J$  = 1.7, 1H), 8.14 (д,  $J$  = 4.9, 1H), 7.87 (д,  $J$  = 1.8, 1H), 7.56–7.62 (м, 3H), 7.45 (д,  $J$  = 8.2, 1H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CHCl<sub>3</sub>-*d*),  $\delta$ : 197.1, 139.4, 139.1, 138.8, 137.2, 135.7, 135.2, 131.0, 130.9, 130.2, 129.8, 126.7, 124.8, 121.9, 121.7, 121.0, 119.5, 113.2. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>10</sub><sup>79</sup>Br<sub>2</sub><sup>35</sup>ClN<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 462.8848, найденное 462.8876.

#### *Синтез 2-бром-9-хлорфаскаплизина (91)*

1-(2',5'-Дибромбензоил)-6-хлор-β-карболин (50 мг, 0.11 ммоль) нагревали при 200 °C в течение часа в круглодонной колбе. После охлаждения осадок промыли горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Объединённые водные фазы упарили при пониженном давлении и получили порошок красного цвета. Выход продукта **91** составил 66%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (MeOH-*d*<sub>4</sub>),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 9.38 (д,  $J$  = 6.0, 1H), 8.98 (д,  $J$  = 6.0, 1H), 8.70 (с, 1H), 8.55 (д,  $J$  = 1.5, 1H), 7.94 (м, 2H), 7.87 (дд,  $J$  = 8.9, 1.5, 1H), 7.79 (д,  $J$  = 8.9, 1H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (MeOH-*d*<sub>4</sub>),  $\delta$ : 180.8, 148.3, 146.1, 140.8, 134.8, 132.7, 131.3,

131.1, 129.0, 126.8, 126.6, 123.5, 123.3, 121.1, 120.7, 119.4, 116.2, 114.9. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>9</sub><sup>79</sup>Br<sup>35</sup>ClN<sub>2</sub>O [M]<sup>+</sup> 382.9581, найденное 382.9608.

### 3.12 2-Бром-9,11-дихлорфаскаплизин (92)

#### *Синтез 1-(2',5'-дибромбензоил)-6,8-дихлор-β-карболина (95)*

Через смесь 1-(2',5'-дибромбензоил)-β-карболина (100 мг, 0.23 ммоль) и 4 мл ледяной уксусной кислоты пропускали хлор до насыщения и перемешивали при 60 °С в течение часа. Степень протекания реакции контролировали методом ТСХ в толуоле. Далее реакционную смесь вылили в стакан с 50 мл насыщенного водного раствора карбоната натрия, после чего экстрагировали EtOAc (2×25 мл). Объединённые органические экстракты высушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, профильтровали и упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили методом ПТСХ с использованием бензола в качестве элюента. Выход продукта **95** составил 64%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ, J (Гц): 10.47 (уш.с, 1H), 8.64 (д, J = 5.0, 1H), 8.17 (дд, J = 5.0, 1.0, 1H), 8.10 (д, J = 1.8, 1H), 7.92 (д, J = 1.8, 1H), 7.69 (д, J = 1.8, 1H), 7.66 (дд, J = 8.2, 1.8, 1H), 7.48 (д, J = 8.2, 1H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ: 196.8, 139.6, 138.5, 137.0, 136.6, 135.8, 135.7, 131.1, 130.2, 128.8, 126.8, 125.0, 122.8, 121.0, 120.2, 119.8, 118.2, 115.9. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>9</sub><sup>79</sup>Br<sub>2</sub><sup>35</sup>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 496.8458, найденное 496.8490.

#### *Синтез 2-бром-9,11-дихлорфаскаплизина (92)*

1-(2',5'-Дибромбензоил)-6,8-дихлор-β-карболин (50 мг, 0.1 ммоль) нагревали при 200 °С в течение часа в круглодонной колбе. После охлаждения осадок промыли горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Объединённые водные фазы упарили при пониженном давлении и получили порошок оранжево-красного цвета. Выход продукта **92** составил 47%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (MeOH-*d*<sub>4</sub>), δ, J (Гц): 9.46 (д, J = 6.2, 1H), 9.05 (д, J = 6.1, 1H), 8.71 (с, 1H), 8.55 (д, J = 1.7, 1H), 7.99 (д, J = 1.7, 1H), 7.95 (с, 2H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (MeOH-*d*<sub>4</sub>), δ: 179.7, 147.6, 142.7, 140.7, 134.5, 133.1, 132.0, 131.0, 128.5, 127.3, 126.2,

122.7, 122.1, 121.8, 121.4, 121.0, 119.0, 115.7. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>8</sub><sup>79</sup>Br<sup>35</sup>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O [M]<sup>+</sup> 416.9192, найденное 416.9221.

### 3.13 3-Бром-10-*трет*-бутилфаскаплизин (97)

#### *Синтез гидрохлорида 3-трет-бутилфенилгидразина (99)*

Смесь 3-*трет*-бутиланилина (100 мг, 0.67 ммоль), 0.54 мл уксусной кислоты и 1.6 мл концентрированной HCl охладили до -15 °С. К полученной суспензии порционно добавляли охлажденный раствор нитрита натрия (47 мг, 0.67 ммоль) в 0.26 мл воды при перемешивании, контролируя температуру реакции. Затем к смеси порционно добавляли охлажденную суспензию кристаллогидрата хлорида олова (459 мг, 2.01 моль) в 0.33 мл концентрированной соляной кислоты. Полученную смесь перемешивали при -15 °С в течение 30 минут, после чего осадок отделили на фильтре Шотта и промыли горячей концентрированной соляной кислотой для удаления солей олова. Выход гидрохлорида 3-*трет*-бутилфенилгидразина (99) составил 55%.

#### *Синтез 6-трет-бутилтриптамина (101a)*

К смеси гидрохлорида 3-*трет*-бутилфенилгидразина (100 мг, 0.5 ммоль), 1 мл этанола и 0.5 мл воды добавили 4-х кратный избыток 4-бромбутаналя (300 мг, 2 ммоль). Реакционную смесь выдерживали при 150 °С в течение часа при перемешивании в герметизированном сосуде, выдерживающем избыточное давление. Раствор тёмно-коричневого цвета вылили в воду и подкислили соляной кислотой. Водную фазу проэкстрагировали EtOAc (3 × 25 мл) для извлечения примесей и подщелочили раствором гидроксида калия до pH 11, после чего проэкстрагировали CHCl<sub>3</sub> (3 × 25 мл). Объединённые органические экстракты упарили при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии. Сначала в качестве элюента использовали этилацетат для удаления примесных соединений, а затем – смесь этанола с раствором аммиака. Процесс контролировали методом ТСХ в системе CHCl<sub>3</sub>/EtOH (1/1). Выход смеси триптаминов 101a и 101b составил 43%.

*Синтез 1-(2',4'-дибромбензоил)-7-трет-бутил-β-карболина (102a)*

Смесь 2,4-дибромацетофенона (31 мг, 0.11 ммоль), йода (23 мг, 0.09 ммоль), перекристаллизованного из  $\text{CCl}_4$ , и 0.5 мл ДМСО, предварительно перегнанного в вакууме над гидридом кальция при 90 °С, нагревали при 110 °С в течение часа в шлифованной пробирке с септой при перемешивании. После охлаждения до комнатной температуры к реакционной смеси порционно при перемешивании добавили сухую смесь триптаминов (23 мг, 0.21 ммоль). Далее пробирку снабдили обратным холодильником и нагревали полученную смесь при 110 °С в течение четырёх часов. После охлаждения реакционную смесь вылили в раствор  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Выделившийся осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем этилацетатом. Объединённый органический фильтрат упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной ВЭЖХ в системе ацетонитрил/вода (70/30) ( $\text{HCOOH}$ ,  $\text{pH} = 3$ ). Выход целевого 1-(2',4'-дибромбензоил)-7-трет-бутил-β-карболина (**102a**) составил 20%, его изомера 1-(2',4'-дибромбензоил)-5-трет-бутил-β-карболина – 6%, также был выделен 1-(2',4'-дибромбензоил)-β-карболин с выходом 15%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  1-(2',4'-дибромбензоил)-7-трет-бутил-β-карболина (**102a**) ( $\text{CHCl}_3-d$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 10.34 (уш.с, 1H), 8.52 (д,  $J=4.9$ , 1H), 8.13 (д,  $J=4.9$ , 1H), 8.10 (д,  $J=8.3$ , 1H), 7.87 (д,  $J=1.8$ , 1H), 7.64 (д,  $J=1.2$ , 1H), 7.61 (дд,  $J=8.1$ , 1.8, 1H), 7.44 - 7.48 (м, 2H), 1.46 (с, 9H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CHCl}_3-d$ ),  $\delta$ : 197.2, 153.9, 141.6, 139.2, 138.8, 137.2, 135.6, 134.6, 131.9, 131.0, 130.1, 128.3, 124.6, 121.4, 120.9, 119.4, 119.1, 118.2, 108.5, 35.5, 31.6. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для  $\text{C}_{22}\text{H}_{19}^{79}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  484.9863, найденное 484.9865.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  1-(2',4'-дибромбензоил)-5-трет-бутил-β-карболина (**102b**) ( $\text{CHCl}_3-d$ ),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 10.75 (уш.с, 1H), 8.58 (д,  $J=5.3$ , 1H), 8.46 (д,  $J=5.3$ , 1H), 7.88 (д,  $J=1.8$ , 1H), 7.53 - 7.64 (м, 4H), 7.44 (д,  $J=8.2$ , 1H), 7.36 - 7.40 (м, 1H), 1.70 (с, 9H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CHCl}_3-d$ ),  $\delta$ : 197.5, 166.7, 148.5, 142.6, 139.3, 138.3, 135.6, 131.0, 130.9, 130.1, 129.5, 124.9, 124.6, 120.9, 118.3, 117.9, 116.0, 110.6, 35.6, 29.8. Масс-спектр (ESI<sup>+</sup>),  $m/z$  485/487/489  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### Синтез 3-бром-10-трет-бутилфаскаплизина (97)

1-(2',4'-Дибромбензоил)-7-трет-бутил-β-карболин (20 мг, 0.041 ммоль) нагревали в круглодонной колбе при 220 °С в течение 30 минут. После охлаждения осадок промыли горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Объединённые водные фракции упарили при пониженном давлении досуха и получили порошок красного цвета. Выход продукта **97** составил 70%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (MeOH-*d*<sub>4</sub>), δ, J (Гц): 9.33 (д, J = 6.3, 1H), 8.88 (д, J = 6.2, 1H), 8.68 (с, 1H), 8.39 (д, J = 8.6, 1H), 7.93 (с, 2H), 7.81 (д, J = 0.8, 1H), 7.67 (дд, J = 1.5, 8.6, 1H), 1.48 (с, 9H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (MeOH-*d*<sub>4</sub>), δ: 180.9, 160.2, 148.4, 148.1, 141.5, 134.1, 131.8, 131.0, 126.4, 126.2, 123.4, 123.2, 122.2, 122.0, 118.9, 117.6, 116.0, 109.4, 35.7, 30.1. HRMS (ESI<sup>+</sup>): *m/z* расчетное для C<sub>22</sub>H<sub>18</sub><sup>79</sup>BrN<sub>2</sub>O [M]<sup>+</sup> 405.0601, найденное 405.0603.

### 3.14 10-Бром-3-трет-бутилфаскаплизин (98)

#### Синтез 1-бензоил-β-карболина (103a)

Смесь ацетофенона (1.89 г, 0.016 моль), йода (3.17 г, 0.012 моль) и 80 мл ДМСО нагревали при 110 °С в течение часа в шлифованной пробирке с септой при перемешивании. После охлаждения до комнатной температуры к реакционной смеси порционно добавили сухой триптамин (2.52 г, 0.16 моль). Далее пробирку снабдили обратным холодильником и нагревали полученную смесь при 110 °С в течение четырёх часов. После охлаждения реакционную смесь вылили в раствор Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Выделившийся осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем – этилацетатом. Объединённый органический фильтрат упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления, элюент – толуол. Выход продукта **103a** составил 59%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ, J (Гц): 10.48 (уш.с, 1H), 8.63 (д, J = 5.0, 1H), 8.30 - 8.37 (м, 2H), 8.16 - 8.23 (м, 2H), 7.53 - 7.65 (м, 5H), 7.37 (ддд, J = 8.0, 4.8, 3.4, 1H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ: 195.6, 141.0, 138.1, 137.5, 137.3, 136.3, 132.4, 131.7,

131.2, 129.3, 128.0, 121.8, 120.8, 120.8, 118.5, 112.0. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 273.1027, найденное 273.1029.

*Синтез 1-(4'-трет-бутилбензоил)-β-карболина (107)*

Смесь 4-трет-бутилацетофенона (300 мг, 1.7 ммоль), йода (335 мг, 1.3 ммоль) и 5 мл ДМСО нагревали при 110 °С в течение часа в шлифованной пробирке с септой при перемешивании. После охлаждения до комнатной температуры к реакционной смеси порционно добавили сухой триптамин (273 мг, 1.7 ммоль). Далее пробирку снабдили обратным холодильником и нагревали полученную смесь при 110 °С в течение четырёх часов. После охлаждения реакционную смесь вылили в раствор Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Выделившийся осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем – этилацетатом. Объединённый органический фильтрат упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления, элюент – толуол. Выход продукта **107** составил 64%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ, J (Гц): 10.47 (с, 1H), 8.62 (д, J = 5.0, 1H), 8.29 (дд, J = 8.3, 1.8, 2H), 8.23 – 8.13 (м, 2H), 7.64 – 7.55 (м, 4H), 7.35 (ддд, J = 8.0, 5.4, 2.7, 1H), 1.39 (с, 9H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ: 195.2, 156.0, 141.0, 138.0, 137.3, 136.5, 134.8, 131.6, 131.2, 129.2, 125.1, 121.8, 120.9, 120.7, 118.4, 112.0, 35.1, 31.1. HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  расчетное для C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 329.1653, найденное 329.1651.

*Синтез фаскаплизина (I) из 1-бензоил-β-карболина при действии хлорида палладия (II)*

Смеси 1-бензоил-β-карболина (20 мг, 0.07 ммоль), хлорида палладия (II) (10%, 1.2 мг, 0.007 ммоль) и 0.5 мл нитробензола нагревали в двух виалах при 180 °С и 220 °С в течение трёх часов. Отбор проб проводили через 1, 2 и 3 часа после начала реакции. По данным ТСХ и ВЭЖХ-МС в пробе, выдерживаемой при 180 °С, целевой фаскаплизин отсутствует. В пробе, выдерживаемой при 220 °С, содержится целевой фаскаплизин, небольшое количество исходного β-карболина и побочных продуктов. По данным ВЭЖХ-МС относительное содержание целевого

фаскаплизина с увеличением времени реакции от часа до трёх часов непрерывно увеличивалось.

*Методика синтеза фаскаплизина (1) из 1-бензоил-β-карболина при действии хлорида палладия (II) после оптимизации (модификация 19)*

Смесь 1-бензоил-β-карболина (20 мг, 0.07 ммоль), хлорида палладия (II) (10%, 1.2 мг, 0.007 ммоль), двуводного хлорида меди (II) (12 мг, 0.07 ммоль) и 0.5 мл нитробензола нагревали при 220 °С в течение трёх часов. После охлаждения до комнатной температуры смесь разбавили водным этанолом с добавлением концентрированной соляной кислоты, кипятили получившийся раствор в течение 5 минут, а затем упарили при пониженном давлении. По данным ВЭЖХ-МС смесь содержит целевой фаскаплизин (1), хлорфаскаплизин, продукт альтернативной циклизации **109** и исходный β-карболин **103а**.

*Синтез 3-трет-бутилфаскаплизина (110) из 1-(4'-трет-бутилбензоил)-β-карболина (107) при 220 °С*

Смесь 1-(4'-трет-бутилбензоил)-β-карболина (20 мг, 0.06 ммоль), хлорида палладия (II) (10%, 1.1 мг, 0.006 ммоль) и двуводного хлорида меди (II) (10 мг, 0.06 ммоль) в 0.5 мл нитробензола нагревали при 220 °С в течение трёх часов. После охлаждения смесь разбавили водным этанолом с добавлением соляной кислоты, кипятили получившийся раствор в течение 5 минут, а затем упарили при пониженном давлении. По данным ТСХ и ВЭЖХ-МС смесь содержит целевой 3-трет-бутилфаскаплизин (**110**), 3-трет-бутилхлорфаскаплизин, а также исходный β-карболин **107** и хлорированные β-карболины. Выделение индивидуальных соединений проводили методом ВЭЖХ, используя градиентный метод и систему метанол/вода с 0.1% трифторуксусной кислоты. При этом добиться разделения смеси 3-трет-бутилфаскаплизина и его хлорированного аналога не удалось.

Синтез 1-(4'-*трет*-бутил-2'-хлорбензоил)- $\beta$ -карболина (**111**) из 1-(4'-*трет*-бутилбензоил)- $\beta$ -карболина (**107**) при 120 °С

Смесь 1-(4'-*трет*-бутилбензоил)- $\beta$ -карболина (20 мг, 0.06 ммоль), хлорида палладия (II) (10%, 1.1 мг, 0.006 ммоль), двухводного хлорида меди (II) (10 мг, 0.06 ммоль) и 0.5 мл нитробензола нагревали при 120 °С в течение 48 часов. После охлаждения смесь была разбавлена трифторуксусной кислотой и выдерживалась при перемешивании при комнатной температуре в течение 12 часов. Полученный тёмно-красный раствор порционно выливали в насыщенный водный раствор  $\text{NaHCO}_3$  и экстрагировали  $\text{EtOAc}$  (3  $\times$  25 мл). Объединённые органические фазы упарили при пониженном давлении. Смесь разделяли методом препаративной ВЭЖХ на прямой фазе в системе гексан/этилацетат (95/5). Выход соединения **111** составил 86%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  1-(4'-*трет*-бутил-2'-хлорбензоил)- $\beta$ -карболина (**111**) ( $\text{CHCl}_3$ -*d*),  $\delta$ ,  $J$  (Гц): 10.47 (уш.с, 1H), 8.59 (д,  $J = 5.0$ , 1H), 8.13 - 8.23 (м, 2H), 7.56 - 7.66 (м, 3H), 7.52 (д,  $J = 1.5$ , 1H), 7.44 (дд,  $J = 8.0, 1.6$ , 1H), 7.34 - 7.41 (м, 1H), 1.38 (с, 9H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CHCl}_3$ -*d*),  $\delta$ : 197.4, 155.1, 141.2, 138.7, 136.9, 135.7, 135.1, 131.8, 131.8, 130.2, 129.4, 127.5, 123.5, 121.9, 120.9, 120.7, 119.0, 112.1, 35.1, 31.1. HRMS (ESI $^+$ ):  $m/z$  расчетное для  $\text{C}_{22}\text{H}_{20}^{35}\text{ClN}_2\text{O}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  363.1263, найденное 363.1265.

#### Модификация 1

В соответствии с модификацией 1, провели реакцию повторно, заменив нитробензол на диглим. По завершении реакции смесь разбавили водой. Выделившийся осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем - этилацетатом. Объединённый органический фильтрат упарили при пониженном давлении. По данным ТСХ и ВЭЖХ-МС смесь содержит небольшую часть исходного  $\beta$ -карболина, целевой 1-(4'-*трет*-бутил-2'-хлорбензоил)- $\beta$ -карболин (**111**) и 1-(4'-*трет*-бутил-2'-хлорбензоил)- $\beta$ -карболин с ещё одним атомом хлора.

*Синтез 3-трет-бутилфаскаплизина (110)*

1-(4'-трет-Бутил-2'-хлорбензоил)-β-карболин (50 мг, 0.11 ммоль) нагревали при 220 °С в течение 40 минут в круглодонной колбе. После охлаждения осадок промыли горячей водой с добавлением концентрированной HCl до бесцветных промывных вод. Объединённые водные фазы упарили при пониженном давлении и получили порошок красного цвета. Выход 3-трет-бутилфаскаплизина (**110**) составил 66%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (MeOH-*d*<sub>4</sub>), δ, J(Гц): 9.51 (д, J = 6.3, 1H), 8.95 (д, J = 6.2, 1H), 8.43 - 8.51 (м, 2H), 7.98 (д, J = 7.9, 1H), 7.85 - 7.92 (м, 1H), 7.77 - 7.85 (м, 2H), 7.50 - 7.57 (м, 1H), 1.51 (с, 9H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (MeOH-*d*<sub>4</sub>), δ: 183.1, 164.3, 149.4, 149.0, 142.9, 135.9, 133.2, 129.9, 127.7, 126.8, 125.3, 124.7, 123.3, 121.4, 121.1, 117.6, 114.7, 114.2, 37.7, 31.4. HRMS (ESI<sup>+</sup>): *m/z* расчетное для C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O [M]<sup>+</sup> 327.1496, найденное 327.1492.

*Синтез 1-(4'-трет-бутилбензоил)-7-бром-β-карболина (112)*

Смесь 4-трет-бутилацетофенона (103 мг, 0.63 ммоль), йода (122 мг, 0.48 ммоль) и 2 мл ДМСО нагревали при 110 °С в течение часа в шлифованной пробирке с септой при перемешивании. После охлаждения до комнатной температуры к реакционной смеси порционно добавили раствор 6-бромтриптамина (150 мг, 0.63 ммоль) в 1 мл ДМСО. Далее пробирку снабдили обратным холодильником и нагревали полученную смесь при 110 °С в течение четырёх часов. После охлаждения реакционную смесь вылили в раствор Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Выделившийся осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем – этилацетатом. Объединённый органический фильтрат упарили при пониженном давлении. Выделение индивидуальных соединений проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления, элюент - толуол. Выход продукта **112** составил 61%.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ, J(Гц): 10.49 (уш.с, 1H), 8.64 (д, J = 4.9, 1H), 8.29 (д, J = 8.4, 2H), 8.14 (д, J = 4.9, 1H), 8.04 (д, J = 8.4, 1H), 7.77 (д, J = 1.1, 1H), 7.58 (д, J = 8.3, 2H), 7.46 (дд, J = 8.3, J = 1.2, 1H), 1.39 (с, 9H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CHCl<sub>3</sub>-*d*), δ:

195.0, 156.2, 143.8, 141.7, 138.5, 137.3, 136.9, 134.6, 131.2, 131.0, 125.3, 125.2, 124.2, 123.0, 122.9, 119.8, 118.3, 115.1, 35.1, 31.1. HRMS (ESI<sup>+</sup>): *m/z* расчетное для C<sub>22</sub>H<sub>20</sub><sup>79</sup>BrN<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 407.0758, найденное 407.0755.

*Синтез 1-(4'-трет-бутил-2'-хлорбензоил)-7-бром-β-карболина (113) при 120 °С*

Смесь 1-(4'-трет-бутилбензоил)-7-бром-β-карболина (20 мг, 0.05 ммоль), хлорида палладия (II) (10%, 0.9 мг, 0.005 ммоль), двухводного хлорида меди (II) (8.5 мг, 0.05 ммоль) и 0.5 мл нитробензола нагревали при 120 °С в течение 48 часов. После охлаждения смесь была разбавлена трифторуксусной кислотой и выдерживалась при перемешивании при комнатной температуре в течение 12 часов. Полученный тёмно-красный раствор порционно выливали в насыщенный водный раствор NaHCO<sub>3</sub>, экстрагировали EtOAc (3 × 25 мл), экстракт высушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и профильтровали. Раствор упарили при пониженном давлении. По данным ВЭЖХ-МС смесь содержит в основном исходный β-карболин, целевой 1-(4'-трет-бутил-2'-хлорбензоил)-7-бром-β-карболин присутствует в незначительном количестве.

#### Модификация 1

В соответствии с вышеприведённой методикой провели реакцию, заменив нитробензол на диглим. По завершении реакции смесь разбавили водой. Выделившийся осадок отделили на фильтре Шотта, промыли водой, а затем - этилацетатом. Объединённый органический фильтрат упарили при пониженном давлении. По данным ТСХ и ВЭЖХ-МС смесь содержит в основном исходный β-карболин, целевой 1-(4'-трет-бутил-2'-хлорбензоил)-7-бром-β-карболин присутствует в незначительном количестве.

*Синтез 10-бром-3-трет-бутилфаскаплизина (98) из 1-(4'-трет-бутилбензоил)-7-бром-β-карболина при 220 °С*

Смесь 1-(4'-трет-бутилбензоил)-7-бром-β-карболина (20 мг, 0.05 ммоль), хлорида палладия (II) (10%, 0.9 мг, 0.005 ммоль), двухводного хлорида меди (II) (8.5 мг, 0.05 ммоль) и 0.5 мл нитробензола нагревали при 220 °С в течение трёх часов.

После охлаждения смесь разбавили водным этанолом с добавлением концентрированной соляной кислоты, кипятили получившийся раствор в течение 5 минут, а затем упарили при пониженном давлении. По данным ТСХ и ВЭЖХ-МС смесь содержит целевой 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизин (**98**), 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизин с дополнительным атомом хлора и два фаскаплизина без брома, которые содержат в своей структуре один и два атома хлора.

#### Модификация 1

Смесь 1-(4'-*трет*-бутилбензоил)-7-бром- $\beta$ -карболина (20 мг, 0.05 ммоль), трифторацетата палладия (II) (10%, 1.6 мг, 0.005 ммоль), бромида меди (II) (11 мг, 0.05 ммоль) и 0.5 мл нитробензола нагревали при 220 °С в течение трёх часов. После охлаждения смесь разбавили водным этанолом с добавлением концентрированной соляной кислоты, кипятили получившийся раствор в течение 5 минут, а затем упарили при пониженном давлении. По данным ВЭЖХ-МС смесь содержит в основном целевой 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизин (**98**), небольшое количество 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина с дополнительным атомом брома и различные  $\beta$ -карболины. Выделение индивидуальных соединений проводили методом препаративной ВЭЖХ в системе метанол/вода (70/30). Выход 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина (**98**) составил 41%.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (MeOH- $d_4$ ),  $\delta$ , J (Гц): 9.51 (уш.с, 1H), 8.91 (уш.с, 1H), 8.25 - 8.48 (м, 2H), 7.91 (уш.с, 2H), 7.75 (д, J = 6.1, 1H), 7.58 (уш.с, 1H), 1.44 (с, 9H). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (MeOH- $d_4$ ),  $\delta$ : 182.9, 164.4, 149.4, 149.3, 142.2, 133.5, 130.2, 130.0, 128.6, 128.2, 126.9, 126.9, 124.9, 123.2, 121.8, 120.3, 117.8, 114.8, 37.7, 31.6. HRMS (ESI $^+$ ):  $m/z$  расчетное для  $\text{C}_{22}\text{H}_{18}^{79}\text{BrN}_2\text{O}$  [M] $^+$  405.0601, найденное 405.0598.

### 3.15 Исследование биологической активности полученных соединений

#### *Оценка воздействия на экспериментальную модель глиобластомы у крыс*

Было проведено моделирование глиобластомы у крыс (половозрелые крысы породы Вистар массой 170 – 200 г), и сформированы следующие экспериментальные группы:

1. Группа крыс, получающих исследуемое соединение (3,10-дибромфаскаплизин). Начиная с 10-го дня после операции имплантации опухоли, 25%-ный спиртовой раствор вещества вводился внутривентриально по схеме: 3 дня вводили, затем 3 дня перерыв, затем вводили еще 4 дня. Доза исследуемого вещества составляла 7.6 мг на кг веса животного (13 крыс).

2. Группа крыс, получающих препарат темозоломид (Sigma-Aldrich), используемый в химиотерапии глиобластомы. Препарат давался перорально в дозе 50 мг на кг веса животного в течение 5 дней (13 крыс).

3. Группа с опухолью без лечения (12 крыс).

4. Группа без опухоли для оценки воздействия исследуемых соединений на здоровый организм животного. Исследуемое соединение вводилось по той же схеме, что и в первой группе (6 крыс).

Моделирование глиобластомы *in vivo* выполнено с помощью внутримозговой стереотаксической имплантации 300 000 клеток линии крысиной глиомы С6 (ATCC® CCL-107™). Для проведения операции животным внутримышечно введен 2-х компонентный наркоз Золетил + Рометар в соотношении 1:4.

В группе 1-3: шесть животных были выведены на 25-й день после операции для проведения гистологического исследования морфологических особенностей опухоли (гемотоксилин-эозин) и иммуногистохимической оценки уровня пролиферации опухолевой ткани (окраска антителами к маркеру PCNA). Животные наркотизировались внутримышечным введением двухкомпонентного наркоза Золетил + Рометар в соотношении 1:4, производилось вскрытие, перфузия сосудов физиологическим раствором, затем 4%-ным раствором параформальдегида (ПФА). Далее извлекался мозг для дальнейшей гистологической и иммуногистохимической оценки материала. По 7 крыс из каждой группы использовались для оценки средней продолжительности жизни. После завершения испытаний животные выведены из эксперимента с помощью летальной дозы двухкомпонентного наркоза.

### *Клеточные линии и условия культивирования*

Клеточная линия глиомы С6 крысы была получена из ATCC (CCL-107, Манассас, Вирджиния, США). Клетки кардиомиоцитов крысы H9c2 были предоставлены доктором Гунхильд фон Амсберг из Центра лечения рака предстательной железы Martini-Klinik, Университетский медицинский центр Гамбург-Эппендорф (Германия).

Клетки С6 культивировали в среде Ham's F-12K (Dia-M, Москва, Россия), содержащей 2.5% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS), 12.5% лошадиной сыворотки (Biolog, Санкт-Петербург, Россия) и 1% пенициллина/стрептомицина (Biolog, Санкт-Петербург, Россия), клетки H9c2 культивировали в DMEM ("Биолот", Санкт-Петербург, Россия), содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки ("Биолот", Санкт-Петербург, Россия) и 1% пенициллина/стрептомицина (Biolog, Санкт-Петербург, Россия). Все клеточные линии культивировали при температуре 37°C во влажной атмосфере с 5%-ным содержанием CO<sub>2</sub>.

### *Анализ МТТ*

Жизнеспособность клеток оценивали с использованием анализа МТТ. Все вещества были протестированы в концентрациях от 0.02 мкМ до 10 мкМ. Клеточную суспензию (180 мкл) и растворы (20 мкл) тестируемых веществ в различных концентрациях вводили в лунки 96-луночных планшетов (С6 –  $7 \times 10^3$  клеток/лунка и H9c2 –  $3 \times 10^3$  клеток/лунка) и инкубировали при 37 °С в течение 24-х часов в атмосфере 5%-ного CO<sub>2</sub>. После инкубации среду с фаскаплизином и 3,10-дибромфаскаплизином заменяли на 100 мкл свежей среды. Затем в каждую лунку добавляли по 10 мкл раствора МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромида) (Sigma-Aldrich, St. Луис, Миссури, США) (5 мг/мл), после чего инкубировали в течение 4-х часов. Далее в каждую лунку добавляли по 100 мкл раствора SDS-HCl (1 г SDS/10 мл *de*-H<sub>2</sub>O/17 мкл 6 N HCl) и инкубировали в течение 18-ти часов. Поглощение преобразованного красителя формазана определяли с помощью микропланшетного фотометра Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) при длине волны 570 нм. Цитотоксическую

активность тестируемых соединений рассчитывали как концентрацию, которая вызывала ингибирование метаболической активности клеток на 50% (IC<sub>50</sub>). Эксперименты проводились в трех повторениях;  $p < 0.05$ . Все соединения растворяли в ДМСО таким образом, чтобы конечная концентрация ДМСО в культуре клеток составляла не более 1%. В качестве контроля использовали ДМСО. Предварительно было оценено влияние 1%-ного раствора ДМСО на клетки и обнаружено, что 1%-ный раствор ДМСО не оказывает существенного влияния на функцию клеток.

## Выводы

1. Известный двухстадийный метод синтеза фаскаплизина из триптамина и *o*-бромацетофенона адаптирован для получения 3-бром-, 10-бром-, 3,10-дибром-, 3,9-дибром-, 2,9-дибром-, 3,8-дибром-, 2,10-дибром-, 2-бром-9-хлор-, 2,9,11-трибром-, 2-бром-9,11-дихлор- и 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизина.

2. Разработаны методы синтеза 14-бромретикулатата и 14-бромретикулатина. Сравнительные испытания выявили селективное цитотоксическое действие 14-бромретикулатина в отношении культуры клеток меланомы человека SK-MEL-28.

3. Разработан катализируемый солями двухвалентного палладия метод конверсии 1-бензоил- $\beta$ -карболинов, не содержащих заместителя в положении 2' бензоильного фрагмента, в фаскаплизины.

4. Показано, что 3,10-дибромфаскаплизин *in vitro* проявляет сильное и селективное цитотоксическое действие в отношении культуры клеток глиомы крысы С6, а также (наряду с изомерами) эффективно подавляет жизнеспособность широкого ряда патогенных грамположительных бактерий, включая антибиотикорезистентные штаммы.

5. Показано, что 3,10-дибромфаскаплизин в условиях *in vivo* увеличивает среднюю продолжительность жизни экспериментальных животных на 61% по сравнению с контролем на модели глиобластомы у крыс.

6. Установлено, что замена атома брома в положении 3 3,10-дибромфаскаплизина на *трет*-бутильную группу приводит к увеличению антибактериальной активности полученного аналога.

## Список публикаций

**Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:**

*Статьи в рецензируемых журналах, индексируемые в базах WoS и/или Scopus:*

1. M. E. Zhidkov, P. A. Smirnova, O. A. Tryapkin, A. V. Kantemirov, Y. 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. - Vol. 17. - Iss. 9. - Art. 496. <https://doi.org/10.3390/md17090496>.

2. 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. - Vol. 18. - Iss. 12. - Art. 609. <https://doi.org/10.3390/md18120609>.

3. P. Spirin, E. Shyrokova, T. Lebedev, E. Vagapova, P. Smirnova, A. Kantemirov, S. Dyshlovoy, G. von Amsberg, M. Zhidkov, V. Prassolov. Cytotoxic marine alkaloid 3,10-dibromofascaplysin induces apoptosis and synergizes with cytarabine resulting in leukemia cell death // *Mar. Drugs*. - 2021. - Vol. 19. - Iss. 9. - Art. 489. <https://doi.org/10.3390/md19090489>.

4. 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. Rohlring, 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. - Vol. 20. - Iss. 3. - Art. 185. <https://doi.org/10.3390/md20030185>.

5. 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. - Vol. 23. - Iss. 2. - Art. 68. <https://doi.org/10.3390/md23020068>.

*Патенты:*

6. Пат. 2858441, Российская Федерация, МПК C07D 471/14, C07D 487/14, A61K 31/407, A61P 31/04. Применение 2,9-дибромофаскаплизина в качестве антибактериального средства / Жидков М. Е., Смирнова П. А.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Дальневосточный федеральный университет" (ДВФУ) - № 2025118654; заявл. 07.07.2025; опубл. 17.03.2026. Бюл. №8. – 9 с.

*Публикации в сборниках и материалах конференций:*

7. П. А. Смирнова, М. Е. Жидков. Исследования в области синтеза алкалоида 14-бромретикулатина и родственных соединений // В сборнике: Химия и химическое образование. 7-й Международный симпозиум. Сборник материалов. ФГАОУ ВО ДВФУ. 2017. С. 38-39.

8. P. A. Smirnova, M. E. Zhidkov, V. B. Kolycheva. A new method for the synthesis of alkaloid 3,10-dibromofascaplysin // The 5th annual student scientific conference in English. Scientific electronic publication. FEFU. 2018. P. 58-60.

9. П. А. Смирнова, М. Е. Жидков, С. А. Дышловой. Синтез и изучение биологической активности алкалоидов, родственных фаскаплизину // В сборнике: Материалы региональной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых по естественным наукам. Электронный ресурс. ФГАОУ ВО «ДВФУ». 2019. С. 513-514.

10. П. А. Смирнова, П. В. Спирин, Е. Ю. Широкова, М. Е. Жидков. Изучение цитотоксической активности алкалоида 3,10-дибромфаскаплизина в отношении опухолевых клеток головного мозга // В сборнике: Химия и химическое образование. VIII Международный симпозиум. Сборник материалов. ФГАОУ ВО ДВФУ. 2021. С. 49-51.

11. П. А. Смирнова, С. А. Стадник, С. А. Дышловой, М. Е. Жидков. Сравнительная оценка цитотоксической активности и селективности серии галогенпроизводных алкалоида фаскаплизина // В сборнике: MedChem-Russia

2021. Материалы 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием. Волгоград. 2021. С. 310.

12. П. А. Смирнова, А. М. Попов, О. Н. Стышова, М. Е. Жидков. Синтез и изучение противоопухолевой активности 3,10-дибромфаскаплизина в отношении асцитного варианта карциномы Эрлиха *in vivo* // В сборнике: Химия и химическое образование. IX Международный симпозиум. Сборник материалов. ФГАОУ ВО ДВФУ. 2024. С. 118-119.

13. П. А. Смирнова, М. Е. Жидков, И. А. Выговская. Исследование противоопухолевой активности 3,10-дибромфаскаплизина в отношении модели глиобластомы у крыс // В сборнике: Всероссийская молодежная научная школа-конференция «Актуальные проблемы органической химии». Сборник тезисов. Шерегеш. 2026. С. 79.

**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. Sánchez, I. A. Butovich, A. F. Braña, J. Rohr, C. Méndez, J. A. Salas. The biosynthetic gene cluster for the antitumor rebeccamycin: characterization and generation of indolocarbazole derivatives // *Chemistry & Biology.*-2002.- V. 9.- No. 4.- P. 519–531.
4. H. Onaka, S. Taniguchi, Y. Igarashi, T. Furumai. Characterization of the biosynthetic gene cluster of rebeccamycin from *Lechevalieria aerocolonigenes* ATCC 39243 // *Biosci. Biotechnol. and Biochem.*- 2003.- V. 67.- No. 1.- P. 127–138.
5. B. Pelcman, G. W. Gribble. Total synthesis of the marine sponge pigment fascaplysin // *Tetrahedron Lett.*- 1990.- V. 31.- No. 17.- P. 2381–2384.
6. 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.
7. P. Rocca, F. Marsais, A. Godard, G. Quéguiner. A short synthesis of the antimicrobial marine sponge pigment fascaplysin // *Tetrahedron Lett.*- 1993.- V. 34.- No. 49.- P. 7917–7918.
8. P. Molina, P. M. Fresneda, S. García-Zafra, P. Almendros. Iminophosphorane-mediated syntheses of the fascaplysin alkaloid of marine origin and nitramarine // *Tetrahedron Lett.*- 1994.- V. 35.- No. 47.- P. 8851–8854.
9. 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.

10. 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.
11. S. B. Bharate, S. Manda, P. Joshi, B. Singh, R.A. Vishwakarma. Total synthesis and anti-cholinesterase activity of marine-derived bis-indole alkaloid fascaplysin // *Med. Chem. Commun.*- 2012.- V. 3.- No. 9.- P. 1098-1103.
12. S. V. Dubovitskii. Method for synthesis of 12H-pyrido[1,2-a:3,4-b']diindoles. Total synthesis of homofascaplysin C // *Tetrahedron Lett.*- 1996.- V. 37.- No. 29.- P. 5207–5208.
13. 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.
14. 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.
15. Y.-P. Zhu, M.-C. Liu, Q. Cai, F.-C. Jia, A.-X. Wu. A cascade coupling strategy for one-pot total synthesis of  $\beta$ -carboline and isoquinoline-containing natural products and derivatives // *Chem. Eur. J.*- 2013.- V. 19.- No. 31.- P. 10132–10137.
16. 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  $\beta$ -carboline based marine natural products // *RSC Adv.*- 2014.- V. 4.- No. 50.- P. 26258- 26263.
17. 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-aroyle- $\beta$ -carbolines and fused-nitrogen heterocycles // *Tetrahedron.*- 2017.- V. 73.- No. 17.- P. 2455–2467.

18. V. Palani, M. A. Perea, K. E. Gardner, R. Sarpong. A pyrone remodeling strategy to access diverse heterocycles: application to the synthesis of fascaplysin natural products // *Chem. Sci.*- 2021.- V. 12.- No. 4.- P. 1528–1534.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. C. Jiménez, E. Quiñoá, P. Crews. Novel marine sponge alkaloids. 3.  $\beta$ -Carbolinium salts from *Fascaplysinopsis reticulata* // *Tetrahedron Lett.*- 1991.- V. 32.- No. 16.- P. 1843–1846.
23. 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.
24. G. Kirsch, G.M. König, 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.
25. 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.
26. 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.
27. А. М. Попов, Т. Н. Макарьева, С. А. Федорев, В. А. Стоник. Противоопухолевая и цитостатическая активности низкомолекулярных

метаболитов из морских тропических губок // Химиотерапия опухолей в СССР.- 1991.- Т. 56.- С. 61-66.

28. N. L. Segraves, S. Lopez, T. A. Johnson, S. A. Said, X. Fu, F. J. Schmitz, H. Pietraszkiewicz, F.A. Valeriote, P. Crews. Structures and cytotoxicities of faspaplysin and related alkaloids from two marine phyla—*Faspaplysinopsis* sponges and *Didemnum tunicates* // *Tetrahedron Lett.*- 2003.- V. 44.- No. 17.- P. 3471–3475.

29. T. A. Foderaro, L. R. Barrows, P. Lassota, C. M. Ireland. Bengacarboline, a new  $\beta$ -carboline from a marine ascidian *Didemnum* sp. // *J. Org. Chem.*- 1997.- V. 62.- No. 17.- P. 6064–6065.

30. Z. Lu, Y. Ding, X.-C. Li, D. R. Djigbenou, B. T. Grimberg, D. Ferreira, C. M. Ireland, R. M. Van Wagoner. 3-Bromohomofaspaplysin A, a faspaplysin analogue from a Fijian *Didemnum* sp. ascidian // *Bioorg. Med. Chem.*- 2011.- V. 19.- No. 22.- P. 6604–6607.

31. I. Bryukhovetskiy, I. Lyakhova, P. Mischenko, E. Milkina, S. Zaitsev, Y. Khotimchenko, A. Bryukhovetskiy, A. Polevshchikov, I. Kudryavtsev, M. Khotimchenko, M. Zhidkov. Alkaloids of faspaplysin are effective conventional chemotherapeutic drugs, inhibiting the proliferation of C6 glioma cells and causing their death *in vitro* // *Oncology Lett.*- 2017.- V. 13.- No. 2.- P. 738–746.

32. E. Ampofo, T. Später, I. Müller, H. Eichler, M. Menger, M. Laschke. The marine-derived kinase inhibitor faspaplysin exerts anti-thrombotic activity // *Mar. Drugs.*- 2015.- V. 13.- No. 11.- P. 6774–6791.

33. 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.

34. M. Mischitelli, M. Jemaà, M. Almasry, C. Faggio, F. Lang. Triggering of suicidal erythrocyte death by faspaplysin // *Cell Physiol. Biochem.*- 2016.- V. 39.- No. 4.- P. 1638–1647.

35. T. A. Johnson, L. Milan-Lobo, T. Che, M. Ferwerda, E. Lambu, N. L. McIntosh, F. Li, L. He, N. Lorig-Roach, P. Crews, J. L. Whistler. 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.
36. S. Kumar, S. K. Guru, A.S. Pathania, S. Manda, A. Kumar, S. B. Bharate, R. A. Vishwakarma, F. Malik, S. 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.
37. N. Meng, X. Mu, X. Lv, L. Wang, N. Li, Y. Gong. Autophagy represses fascaplysin-induced apoptosis and angiogenesis inhibition via ROS and p8 in vascular endothelia cells // *Biomedicine & Pharmacotherapy.*- 2019.- V. 114.- Art. 108866.
38. M-Q. Klinkert, V. Heussler. The use of anticancer drugs in antiparasitic chemotherapy // *MRMC.*- 2006.- V. 6.- No. 2.- P. 131–143.
39. 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.
40. C. B. Baltus, R. Jorda, C. Marot, K. Berka, V. Bazgier, V. Kryštof, G. Prié, M-C. Viaud-Massuard. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling of a novel series of 7-azaindole based tri-heterocyclic compounds as potent CDK2/Cyclin E inhibitors // *Eur. J. Med. Chem.*- 2016.- V. 108.- P. 701–719.
41. R. Soni, L. Muller, P. Furet, J. Schoepfer, C. Stephan, S. Zumstein-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.
42. 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.
43. 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 MRSA *in vitro* and *in vivo* // Eur. J. Med. Chem.- 2022.- V. 230.- Art. 114099.

44. 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 fascaplysin derivatives as inhibitors of FtsZ with potent antibacterial activity and mechanistic study // Eur. J. Med. Chem.- 2023.- V. 254.- Art. 115348.

45. 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.- Art. 53.

46. 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.- Art. 116347.

47. Н. И. Стадниченко. Интеллектуальная собственность ТИБОХ ДВО РАН // Исследования природных соединений в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова. Владивосток: Дальнаука -2013. - С. 175-183.

48. D. W. Mathieson, G. Newbery. Contributions to the chemistry of synthetic antimalarials. Part VIII. Aromatic carbinolamines // J. Chem. Soc.- 1949.- P. 1133-1137.

49. 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.

50. Х. Беккер, Р. Беккерт, В. Бергер, К. Гевальд, Ф. Генц, Р. Глух, Г. Домшке, Э. Затер, Р. Майер, П. Мец, К. Мюллер, Д. Пафель, Э. Фангхэнель, Ю. Фауст, М. Фишер, В. Хабишер, К. Шветлик, Г. Шмидт, К.

Шольберг, Г. Цеппенфельд. Органикум. В 2-х т. // Пер. с нем. – М.: Мир. - 1992. – Т. 2. - С. 474.

51. 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.- No. 2.- Art. 68.

52. S. A. Dyshlovoy, R. Madanchi, J. Hauschild, K. Otte, W.H. Alsdorf, U. Schumacher, V. I. Kalinin, A. S. Silchenko, S. A. Avilov, F. Honecker, V. A. Stonik, C. Bokemeyer, G. Von Amsberg. The marine triterpene glycoside frondoside A induces p53-independent apoptosis and inhibits autophagy in urothelial carcinoma cells // *BMC Cancer*.- 2017.- V. 17.- No. 1.- Art. 93.

53. 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.- Art. 185.

54. Г. И. Жунгиету, В. А. Будылин, А. Н. Кост. Препаративная химия индола // Академия наук Молдавской ССР. - Изд-во «Штиинца». - 1975. - С. 265.

55. B. Yang, Z. Lu. Visible-light-promoted oxidative [4 + 2] cycloadditions of aryl silyl enol ethers // *J. Org. Chem.*- 2016.- V. 81.- No. 16.- P. 7288–7300.

56. 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.- No. 12.- Art. 609.

57. P. Spirin, E. Shyrokova, T. Lebedev, E. Vagapova, P. Smirnova, A. Kantemirov, S. Dyshlovoy, G. von Amsberg, M. Zhidkov, V. Prassolov. Cytotoxic marine alkaloid 3,10-dibromofascaplysin induces apoptosis and synergizes with cytarabine resulting in leukemia cell death // *Mar. Drugs*.- 2021.- V. 19.- No. 9.- Art. 489.

58. N. Singh, A. Miner, L. Hennis, S. Mittal. Mechanisms of temozolomide resistance in glioblastoma - a comprehensive review // CDR.-2021. - V. 4.- No. 1.- P. 17-43.
59. M. Teraiya, H. Perreault, V. C. Chen. An overview of glioblastoma multiforme and temozolomide resistance: can LC-MS-based proteomics reveal the fundamental mechanism of temozolomide resistance? // Front. Oncol.- 2023.- V. 13.- Art. 1166207.
60. S. Mörsel, R. Kellner, A. Hirsch. Thioether-substituted hexa-*peri*-hexabenzocoronenes // Eur. J. Org. Chem.- 2023.- V. 26.- No. 20.- Art. e202300299.
61. S. Kolle, S. Batra. Pd(OAc)<sub>2</sub>-catalysed regioselective alkoxylation of aryl ( $\beta$ -carbolin-1-yl)methanones via  $\beta$ -carboline directed ortho-C(sp<sup>2</sup>)-H activation of an aryl ring // Org. Biomol. Chem.- 2015.- V. 13.- No. 41.- P. 10376–10385.
62. Ю. В. Карякин, И. И. Ангелов. Чистые химические вещества // Изд. 4-е, доп. и пер. - М.: Химия. - 1974. - С. 408.

### Приложение А

Таблица - Подбор условий протекания реакции между 1-бензоил-β-карболином и хлоридом палладия (II) в нитробензоле

№	Катализатор	Дополнительный реагент	Время реакции, ч	Температура, °С.	Нитробензол, мл	Результат
1	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	-	5	220	0.5	Исходный β-карболин <b>103a</b> , небольшое количество целевого фаскаплизина ( <b>1</b> ) и большая часть продукта альтернативной циклизации <b>109</b> .
2	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 33%	-	5	220	0.5	Исходный β-карболин <b>103a</b> , небольшое количество целевого фаскаплизина ( <b>1</b> ) и большая часть продукта альтернативной циклизации <b>109</b> .
3	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	-	3	220	1.5	Нет фаскаплизина и продукта альтернативной циклизации
4	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Cu•2H <sub>2</sub> O, (1:1)	3	220	0.5	Исходный β-карболин <b>103a</b> , основной продукт – продукт альтернативной циклизации <b>109</b> .
5	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	-	2	220	1.5	Нет фаскаплизина и продукта альтернативной циклизации
6	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Cu•2H <sub>2</sub> O, (1:1)	2	220	0.5	Исходный β-карболин <b>103a</b> , основной продукт – продукт альтернативной циклизации <b>109</b> .
7	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	Охлаждали пробу	3	220	0.5	Фаскаплизин ( <b>1</b> ) и продукт альтернативной циклизации <b>109</b> .
8	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	-	3	220	0.5	Фаскаплизин ( <b>1</b> ) и продукт альтернативной циклизации <b>109</b> .
9	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	Охлаждали пробу в течение 5 мин каждые 15 мин. После 4-х таких манипуля-	1.5	220	0.5	В пробах остывшей смеси не наблюдается присутствия альтернативного продукта и фаскаплизина. В пробе после нагревания в течение 30 мин присутствует продукт

		ций нагревали пробу в течение 30 мин				альтернативной циклизации <b>109</b> и фаскаплизин ( <b>1</b> ).
10	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	-	4	200	0.2	Через 1 и 2 ч не наблюдается присутствия целевого фаскаплизина и продукта альтернативной циклизации. Через 3 и 4 ч присутствует продукт альтернативной циклизации <b>109</b> и фаскаплизин ( <b>1</b> ).
11	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	Открытый реакцион- ный сосуд	6.5	200	0.5	Исходный β-карболин <b>103a</b> . Появление фаскаплизина ( <b>1</b> ) через 3 ч. После 5,5 ч появляется альтернативный продукт <b>109</b> .
12	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	<i>n</i> -ТСК (в 6 раз меньше 1-бензоил-β- карболина)	6.5	200	0.5	Исходный β-карболин <b>103a</b> . Появление фаскаплизина ( <b>1</b> ) через 3 ч. После 5,5 ч появляется альтернативный продукт <b>109</b> .
13	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	<i>n</i> -ТСК (в 1,5 раза больше 1-бензоил-β- карболина)	3	220	0.5	Фаскаплизин ( <b>1</b> ), исходный β-карболин <b>103a</b> и продукт альтернативной циклизации <b>109</b> .
14	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	-	3	220	0.5	Отбор проб проводили через 1, 2 и 3 ч после начала реакции. Большая часть – фаскаплизин ( <b>1</b> ) и исходный β-карболин <b>103a</b> , небольшое количество альтернативного продукта <b>109</b> .
15	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	-	3	220	0.5	Фаскаплизин ( <b>1</b> ) и небольшое количество альтернативного продукта <b>109</b> . Основной продукт – исходный β-карболин <b>103a</b> .
16	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	Без перемешива ния	3	220	0.5	Фаскаплизин ( <b>1</b> ) и небольшое количество альтернативного продукта <b>109</b> . Основной продукт – исходный β-карболин <b>103a</b> .
17	PdCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O, 10%	Виала на 3 мл, открытый реакцион- ный сосуд	3	220	0.5	Фаскаплизин ( <b>1</b> ) и небольшое количество альтернативного продукта <b>109</b> . Основной продукт – исходный β-карболин <b>103a</b> .

18	$\text{PdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 10%	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1:1)	3	220	0.5	Фаскаплизин ( <b>1</b> ), хлорфаскаплизин, альтернативный продукт <b>109</b> и исходный $\beta$ -карболин <b>103a</b> (выделение: смесь разбавляли гексаном и фильтровали, осадок смывали метанолом).
19	$\text{PdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 10%	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1:1)	3	220	0.5	Фаскаплизин ( <b>1</b> ), хлорфаскаплизин, альтернативный продукт <b>109</b> и исходный $\beta$ -карболин <b>103a</b> (выделение: кипячение в смеси воды/этанола с соляной кислотой).
20	$\text{PdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 10%	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1:1)	48	120	0.5	Через 24 ч ещё присутствует исходный $\beta$ -карболин, появляется хлорированный карболин и примесь фаскаплизина. Через 48 ч наблюдается присутствие преимущественно только хлорированного карболина. Небольшое количество фаскаплизина ( <b>1</b> ) и исходного $\beta$ -карболина <b>103a</b> .
21	$\text{PdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 10%	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1:1)	4	220	0.5	Фаскаплизин ( <b>1</b> ), хлорфаскаплизин и исходный $\beta$ -карболин <b>103a</b> .