

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)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

г. Владивосток – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Дальневосточный федеральный университет»

Научный руководитель: **Жидков Максим Евгеньевич**
канд. хим. наук, ведущий научный сотрудник
Молодежной лаборатории оптимизации
биологически активных веществ природного
происхождения Департамента химии и материалов
Института наукоёмких технологий и передовых
материалов Дальневосточного федерального
университета, г. Владивосток

Официальные оппоненты: **Газизов Альмир Сабирович**
д-р. хим. наук, ведущий научный сотрудник
Лаборатории элементоорганического синтеза им. А.
Н. Пудовика Института органической и физической
химии им. А. Е. Арбузова РАН, г. Казань

Сабуцкий Юрий Евгеньевич
канд. хим. наук, старший научный сотрудник
Лаборатории органического синтеза природных
соединений Тихоокеанского института
биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН,
г. Владивосток

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Уфимский университет науки и технологий», г. Уфа

Защита диссертации состоится «29» сентября 2026 года в 10 ч. 00 мин. на заседании
Диссертационного совета 24.1.213.01 при Тихоокеанском институте биоорганической химии
им. Г. Б. Елякова ДВО РАН по адресу: 690022, г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку,
159, ТИБОХ ДВО РАН. Факс: (423) 231-40-50, e-mail: dissovet@piboc.dvo.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Тихоокеанского института
биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН (г. Владивосток, проспект 100 лет
Владивостоку, 159, ТИБОХ ДВО РАН, www.piboc.dvo.ru).

Автореферат разослан « » _____ 2026 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
канд. биол. наук



Чингизова Е. А.

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 β -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 μ -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 12H-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- β -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- β -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 *о*-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- β -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 МТТ-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.

Степень достоверности и апробация работы. 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.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, посвященного методам синтеза и биологической активности фаскаплизина и родственных соединений, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы, включающего 62 цитируемые работы, и приложения. Работа изложена на 129 страницах, содержит 10 таблиц, 72 рисунка и одно приложение.

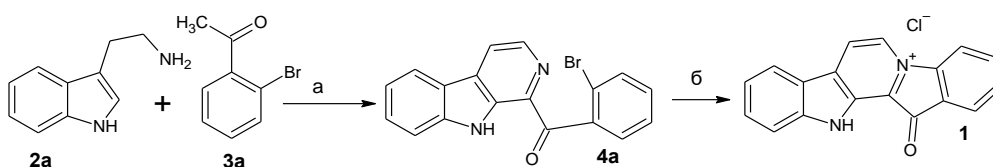
Благодарности. Автор выражает глубокую признательность и благодарность своему научному руководителю, к.х.н. Жидкову М. Е. за руководство и неоценимую помощь на всех этапах выполнения работы и коллегам: м.н.с. Тряпкину О. А., к.х.н. Кантемирову А. В., м.н.с. Рамм Н. А., вед. инж. Харченко Л. Н., лаб.-исслед. Мищихиной Е. С., лаб.-исслед. Приходько И. А. Автор благодарит сотрудников Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков имени Г. Ф. Гаузе: д.х.н. Щекотихина А. Е., к.б.н. Грамматикову Н. А. и н.с. Исакову Е. Б., сотрудников Тихоокеанского института биоорганической химии имени Г. Б. Елякова: д.б.н. Попова А. М., к.б.н. Стышову О. Н., к.б.н. Климович А. А., к.х.н. Маляренко О. С., к.б.н. Чингизову Е. А., д.х.н. Новикова В. Л. и д.х.н. Ануфриева В. Ф., д.б.н. Спирина П. В. и сотрудников Департамента биологии опухолевых клеток Института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта, д.б.н. Дышлового С. А. и сотрудников Лаборатории экспериментальной онкологии Университетского медицинского центра Гамбург-Эппендорф (Германия). Отдельную признательность автор выражает родным и близким за поддержку и помощь на всем пути обучения и подготовки к защите: Захаренко В. М., Смирновой О. В., Смирнову А. В. и Сидоровой М. А.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

После изучения приведённых в литературе данных о биологической активности фаскаплизинов и родственных им природных соединений было принято решение сосредоточить внимание на природных бромзамещённых фаскаплизинах, 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 их синтеза, изучение биологической активности и исследования по модификации структуры наиболее перспективных соединений.

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

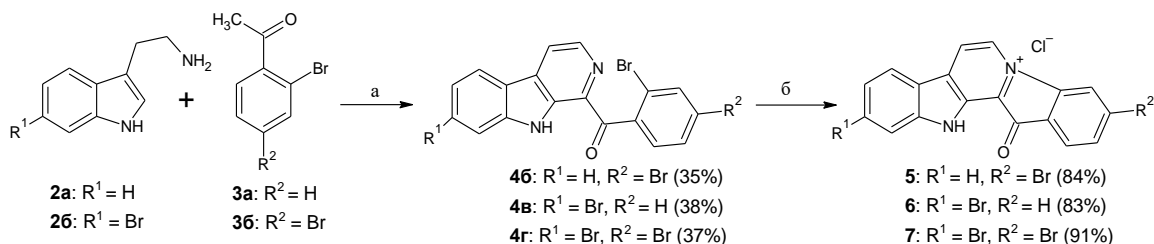
Основным подходом для получения выбранных соединений является адаптация метода синтеза фаскаплизина (**1**) по Yan-Ping Zhu из триптамина (**2a**) и *o*-бромацетофенона (**3a**) через промежуточный β -карболин **4a** (рисунок 1).



Реагенты и условия: (а). I₂, H₂O₂, ДМСО, 110 °С, 5 ч, 96%; (б). 1) 220 °С, 20 мин; 2) НСl/МеОН, 90%.

Рисунок 1 – Схема синтеза фаскаплизина (1) из триптамина (2а) и *o*-бромацетофенона (3а)

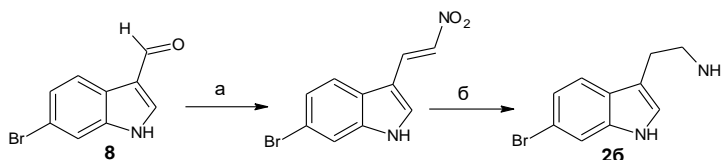
3-Бромфаскаплизин (5), 10-бромфаскаплизин (6) и 3,10-дибромфаскаплизин (7) были получены взаимодействием триптамина (2а) и 26 и ацетофенонов (3а и 3б) с последующей высокотемпературной циклизацией промежуточных β-карболинов (4б, 4в и 4г) (рисунок 2).



Реагенты и условия: (а). I₂, *трет*-бутилгидропероксид (для 4б), ДМСО, 110 °С, 5-6 ч; (б). 1) 220 °С, 30 мин; 2) НСl/МеОН.

Рисунок 2 – Схема синтеза 3-бром- (5), 10-бром- (6) и 3,10-дибромфаскаплизина (7)

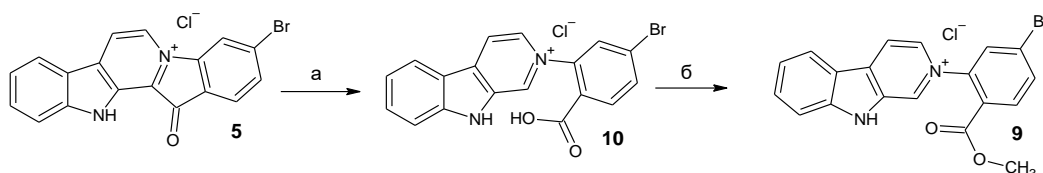
Исходный 6-бромтриптамин (2б) был получен из коммерчески доступного 6-бром-3-формилиндола (8) (рисунок 3).



Реагенты и условия: (а). CH₃NO₂, CH₃COONH₄, т. кип., 1 ч, 98%; (б). 1) ВН₃·ТГФ, т. кип., 2 ч; 2) НСl, т. кип., 2 ч, 70%.

Рисунок 3 – Схема синтеза 6-бромтриптамина (2б)

14-Бромретикулатин (9) был получен конверсией 3-бромфаскаплизина (5) в 14-бромретикулатат (10) под действием гидроксида калия и последующим взаимодействием продукта 10 с диметилсульфатом (рисунок 4).



Реагенты и условия: (а). КОН, диоксан, т. кип., 1 ч, 82%; (б). (МеО)₂SO₂, Na₂CO₃, МеСН, комн.т., 30 мин, 52%

Рисунок 4 – Схема синтеза 14-бромретикулатата (10) и 14-бромретикулатина (9)

Для 3-бром- (5), 3,10-дибромфаскаплизина (7), 14-бромретикулатина (9) и 14-бромретикулатата (10) было изучено цитотоксическое действие на опухолевые клеточные линии (HT-29, T-47D, SK-MEL-28, PC-3 и 22Rv1)¹. Фаскаплизин (1) использовали в качестве стандарта (таблица 1).

Таблица 1 – Сравнение цитотоксичности соединений 1, 5, 7, 9 и 10 в отношении различных культур опухолевых клеток

Соединение	Концентрация полумаксимального ингибирования (IC ₅₀), мкМ, в отношении опухолевых клеток						IC ₅₀ (ViCell)/IC ₅₀ (MTT) для 22Rv1
	HT-29 (MTS)	T-47D (MTS)	SK-MEL-28 (MTS)	PC-3 (MTT)	22Rv1 (MTT)	22Rv1 (ViCell)	
1	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
5	3.3±0.12	>5	1.9±0.04	10±1.75	0.42±0.29	0.24±0.14	0.58
7	>5	>5	>5	7.28±0.73	0.69±0.05	5.14±1.16	7.45
9	>5	>5	1.2±0.1	>50	35.72±10.1	Не определяли	Не определяли
10	>5	>5	>5	Не определяли	Не определяли	Не определяли	Не определяли

Для клеточной линии T-47D цитотоксичность соединений 5, 7, 9 и 10 не проявлялась в исследованных концентрациях до 5 мкМ. В отношении клеток меланомы SK-MEL-28 IC₅₀ 3-бромфаскаплизина (5), фаскаплизина (1) и 14-бромретикулатина (9) находились в диапазоне концентраций от 1.2 до 1.9 мкМ, при этом соединение 9 проявило цитотоксичность в отношении только данной культуры клеток. В отношении клеток колоректальной карциномы человека HT-29 показано, что соединение 5 обладает сравнимым с фаскаплизином значением IC₅₀, 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 IC₅₀ 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 IC₅₀ для 3,10-дибромфаскаплизина (7), определенное с помощью анализа исключения трипанового синего, было примерно в восемь раз выше, чем величина IC₅₀, полученная с использованием теста МТТ. Для других соединений разница значений IC₅₀ в этих двух сравнительных тестах была менее выраженной.

¹ Исследования на культурах опухолевых клеток человека, приведенные здесь и далее, были выполнены сотрудником Лаборатории экспериментальной онкологии Университетского медицинского центра Гамбург-Эппендорф (Германия) Дышловым С. А. (МТТ-тест) и сотрудником Лаборатории химии ферментов ТИБОУ ДВО РАН Маляренко О. С. (МТS-тест).

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- (5), 10-бром- (6), 3,10-дибромфаскаплизина (7) и 14-бромретикулатина (9) дополнительно исследовали на культурах опухолевых клеток простаты человека и неопухолевых клеток (таблица 2) с целью определения индекса селективности действия данных соединений.

Таблица 2 – Цитотоксическая активность и селективность действия соединений 1, 5, 6, 7 и 9 в отношении некоторых культур опухолевых клеток простаты человека и неопухолевых клеток

	Культура	IC ₅₀ (мкМ) соединений				
		1	5	6	7	9
Опухолевые клетки	PC-3	0.77±0.13	10.03±6.75	17.82±1.94	7.28±0.48	>50.00
	22Rv1	0.24±0.81	0.42±0.06	0.50±0.07	0.69±0.02	35.72
	DU145	0.80±0.05	1.51±0.13	1.27±0.21	1.51±0.06	>50.00
	LNCaP	0.41±0.02	1.25±0.38	0.46±0.09	0.59±0.09	>50.00
Неопухолевые клетки	MRC-9	0.89±0.05	2.30±0.87	20.27±5.4	>50.00	>50.00
	PNT2	0.46±0.08	0.73±0.06	0.30±0.09	3.49±1.01	>50.00
	HEK293	0.46±0.19	1.01±0.07	0.65±0.08	0.54±0.05	>50.00
Индекс селективности		1.03	0.29	1.06	4.40	1.06

Результаты испытаний показали, что соединения 5-7 в отношении культур опухолевых клеток проявляют меньшую активность по сравнению с фаскаплизином. Ретикулатин 9 показал существенно более низкую цитотоксическую активность по сравнению с фаскаплизином и его бромированными аналогами. По результатам испытаний соединения 6 и 9, так же, как и фаскаплизин, не обладают селективностью в отношении культур опухолевых и неопухолевых клеток. 3-Бромфаскаплизин (5) оказался более токсичным в отношении неопухолевых клеток, чем фаскаплизин. Наилучшие результаты показал 3,10-дибромфаскаплизин (7). Его цитотоксическое действие в отношении культур опухолевых клеток в среднем в 4.4 раза превосходит аналогичные показатели для культур неопухолевых клеток.

Для соединений 1, 5, 6 и 7 была исследована антибактериальная активность в отношении 12-ти штаммов бактерий, включая резистентные штаммы, устойчивые к метициллину и ванкомицину². Ванкомицин (Ван) и рифампицин (Риф) использовались в качестве положительных контролей для антибактериального скрининга. Исследованные производные оказывают высокое антибактериальное действие в отношении большинства штаммов грамположительных бактерий. В отношении грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* соединения оказались неэффективными.

² Испытания антибактериальной активности, представленные здесь и далее, были проведены в Лаборатории химической трансформации антибиотиков Института новых антибиотиков имени Гаузе, г. Москва

Таблица 3 – Антибактериальная активность соединений **1**, **5**, **6** и **7** в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий

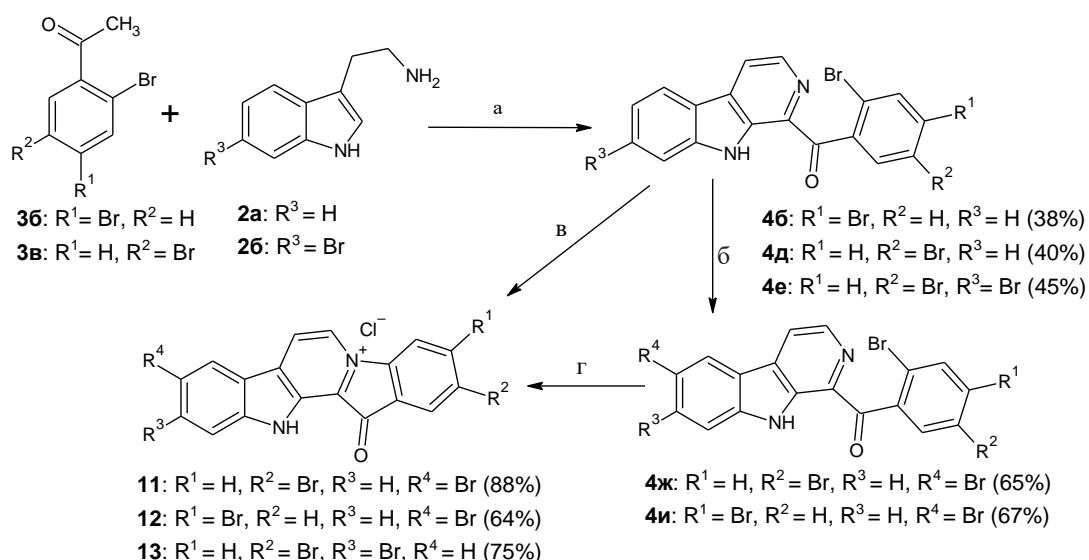
Соединение	МИК (мкг/мл) в отношении штаммов бактерий											
	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>B. cereus</i> ATCC 10702	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. faecium</i> 132	<i>E. faecium</i> 130 (VRE)	<i>E. faecalis</i> 583 (VRE)	<i>S. aureus</i> 88 (MRSA)	<i>S. aureus</i> PE3R (MRSA)	<i>S. epidermidis</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
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
5	0.06	0.03	0.25	2.0	1.0	0.5	0.06	0.06	0.03	0.06	0.5	8.0
6	0.25	0.13	1.0	8.0	8.0	0.5	0.25	0.25	0.03	0.25	0.5	16.0
7	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 (**7**) 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 Модификация строения 3,10-дибромфаскаплизина

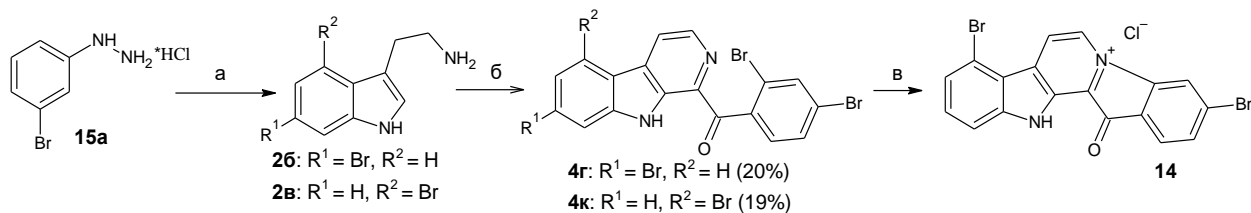
Синтез 2,9-дибром- (**11**), 3,9-дибром- (**12**) и 2,10-дибромфаскаплизина (**13**) осуществляли по ранее отработанному методу из соответствующих ацетофенонов **3б** и **3в** и триптаминов **2а** и **2б**. Полученные β-карболины **4б** и **4д** ввели в реакцию с *N*-бромсукцинимидом (NBS) в уксусной кислоте. Высокотемпературная циклизация 1-(2',5'-дибромбензоил)-7-бром- (**4е**), 1-(2',5'-дибромбензоил)-6-бром- (**4ж**) и 1-(2',4'-дибромбензоил)-6-бром-β-карболина (**4и**) дала 2,10-дибром- (**13**), 2,9-дибром- (**11**) и 3,9-дибромфаскаплизин (**12**) соответственно (рисунок 5).



Реагенты и условия: (а). I_2 , ДМСО, 110 °С, 6 ч; (б). NBS, CH_3COOH , 90 °С, 1 ч (**4б** и **4д**); (в). 220 °С, 40 мин (**4е**); (г). 200 °С, 1 ч (**4ж**) и 2 ч (**4и**).

Рисунок 5 – Схема синтеза 2,9- (**11**), 3,9- (**12**) и 2,10-дибромфаскаплизина (**13**)

В синтезе 3,8-дибромфаскаплизина (**14**) в качестве исходного соединения используется 4-бромтриптамин (**2в**). Целевое соединение **2в** было получено циклизацией Фишера между фенилгидразином **15а** и 4-бромбутаналем (рисунок 6). При этом образовалась смесь изомерных триптаминов **2б** и **2в**, выход которых после оптимизации условий протекания реакции был увеличен с 13 до 57%. Полученную смесь триптаминов далее ввели в реакцию с 2,4-дибромацетофеноном. После хроматографического разделения смеси β -карболинов **4г** и **4к** осуществили высокотемпературную циклизацию соединения **4к** в 3,8-дибромфаскаплизин (**14**).

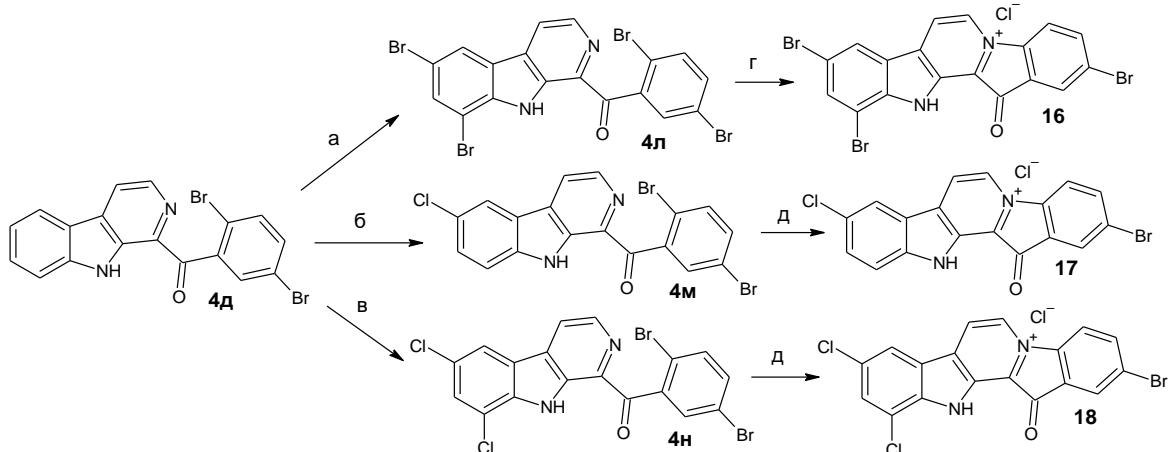


Реагенты и условия: (а). 4-бромбутаналь, EtOH, 150 °С (герметизированный сосуд), 1 ч, 57%; (б). 2,4-дибромацетофенон (**36**), I_2 , ДМСО, 110 °С, 6 ч; (в). 1) 220 °С, 30 мин; 2) HCl/MeOH , 93%.

Рисунок 6 – Схема синтеза 3,8-дибромфаскаплизина (**14**)

Для изучения влияния на биологическую активность природы галогенового заместителя, а также введения в структуру дополнительного атома брома были синтезированы 2,9,11-трибром- (**16**), 2-бром-9-хлор- (**17**) и 2-бром-9,11-дихлорфаскаплизин (**18**). Трибромфаскаплизин (**16**) был получен из β -карболина **4д** действием избытка NBS в уксусной кислоте с последующей конверсией β -карболина **4л** в целевой продукт нагреванием при 200 °С (рисунок 7). Хлорзамещенные фаскаплизины **17** и **18** были получены действием молекулярного хлора на раствор β -карболина **4д** в ледяной уксусной кислоте с последующим

хроматографическим разделением полученных β -карболинов **4м** и **4н** и их нагреванием при 200 °С (рисунок 7).



Реагенты и условия: (а). NBS (изб.), CH_3COOH , 110°C, 2 ч, 51%; (б). Cl_2 , CH_3COOH , комн.т., 2 ч, 80%; (в). Cl_2 , CH_3COOH , 60°C, 1 ч, 64%; (г). 1) 200°C, 2 ч; 2) HCl/MeOH , 64% (**90**); (д). 1) 200°C, 1 ч; 2) HCl/MeOH , 66% (**17**), 47% (**18**).

Рисунок 7 – Схема синтеза 2,9,11-трибром- (**16**), 2-бром-9-хлор- (**17**) и 2-бром-9,11-дихлорфаскаплизина (**18**)

Для 2,9-дибром- (**11**), 3,9-дибром- (**12**), 3,8-дибром- (**14**), 2,9,11-трибром- (**16**), 2-бром-9-хлор- (**17**) и 2-бром-9,11-дихлорфаскаплизина (**18**) было проведено сравнение их цитотоксической активности с активностью 3,10-дибромфаскаплизина (**7**) на культурах опухолевых и неопухолевых клеток (таблица 5).

Таблица 5 – Цитотоксическая активность и селективность действия соединений **1**, **7**, **11**, **12**, **14**, **16**, **17** и **18** в отношении серии опухолевых и неопухолевых клеток

Соединение	IC ₅₀ , мкМ, в отношении опухолевых клеток				IC ₅₀ , мкМ, в отношении неопухолевых клеток			Индекс селективности
	PC-3	22Rv1	DU145	LNCaP	MRC-9	PNT2	HEK293	
1	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
7	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
11	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
12	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
14	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
16	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
17	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
18	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 (**14**) для опухолевых клеток соизмерима с цитотоксической активностью фаскаплизина (**1**), но индекс селективности при этом составил всего 1.85. Изомерные 2,9-дибром- (**11**) и 3,9-дибромфаскаплизин (**12**) проявили меньшую активность по сравнению с фаскаплизином. Введение дополнительного атома брома в цикл А (**16**) или замена атомов

брома на атомы хлора (**17**, **18**) не привели к увеличению цитотоксической активности или селективности в отношении опухолевых клеток предстательной железы. По итогам проведённых испытаний можно сделать вывод, что изменение положения двух атомов брома, замена атома брома в положении 9 на атом хлора, а также введение в структуру дополнительного атома галогена не привели к увеличению цитотоксической активности и селективности полученных аналогов в отношении опухолевых клеток в условиях *in vitro*.

Для соединений **11**, **12**, **13**, **14**, **17** и **18** была изучена антибактериальная активность в сравнении с антибактериальной активностью 3,10-дибромфаскаплизина (**7**) в отношении 12-ти штаммов бактерий, на которых ранее были исследованы другие полученные производные (таблица 6).

Таблица 6 – Антибактериальная активность соединений **1**, **7**, **11**, **12**, **13**, **14**, **17** и **18**

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
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
7	0.06	0.06	0.25	4.0	0.25	0.125	0.06	0.06	0.015	0.03	1.0	>8.0
11	0.015	0.015	0.015	0.25	0.03	0.015	0.015	0.015	0.00375	0.015	0.25	4.0
12	0.03	0.015	0.015	0.25	0.03	0.015	0.015	0.015	0.0075	0.015	0.25	4.0
13	0.03	0.015	0.03	0.5	0.06	0.03	0.03	0.015	0.0075	0.015	0.5	>16.0
14	0.03	0.015	0.015	0.5	0.015	0.0075	0.015	0.0075	0.0075	0.00375	0.25	4.0
17	0.015	0.015	0.015	0.25	0.03	0.015	0.03	0.015	0.0018	0.015	0.25	>16.0
18	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 **13**) и/или из положения 10 в положения 8 или 9 (соединения **14**, **11** и **12**) приводит к повышению антибактериальной активности в 2-16 раз в зависимости от тестируемого штамма по сравнению с активностью 3,10-дибромфаскаплизина (**7**) и помогает обойти резистентность *E. faecium*. Замена атома брома на атом хлора в положении 9 (соединение **17**) привела к схожей с 2,9-дибромфаскаплизином (**11**) активности с небольшими различиями в отношении нескольких исследованных штаммов. Введение дополнительного атома хлора в положение 11 (соединение **18**) привело к снижению антибактериальной активности. В отношении грамотрицательной бактерии *Escherichia coli* данные соединения

также оказались неэффективными. При этом 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.

3,10-Дибромфаскаплизин был передан для исследования механизма его действия на клетки рака предстательной железы (РПЖ). 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 киназы JNK1/2 и p38 специфическими ингибиторами приводило к усилению цитотоксической активности соединения **7**, 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.

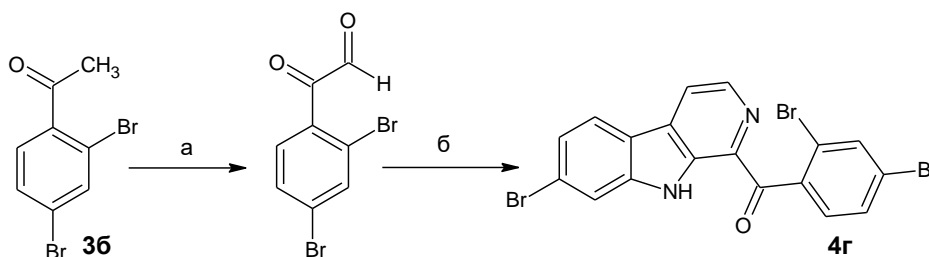
В ходе исследования было также изучено влияние 3,10-дибромфаскаплизина на клетки миелоидного лейкоза. Показано, что 3,10-дибромфаскаплизин проявляет мощные цитотоксические свойства в отношении ряда клеточных линий миелоидного лейкоза посредством индукции апоптоза и одновременного ингибирования клеточного 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.

3 3,10-Дибромфаскаплизин в испытаниях *in vivo*³

3.1 Оработка условий синтеза 3,10-дибромфаскаплизина

Для синтеза 3,10-дибромфаскаплизина (7) ранее был использован подход Zhu, при котором реакция 6-бромтриптамина (26) и 2,4-дибромацетофенона (36) (рисунок 2) давала β-карболин 4г с низким выходом, что затрудняет наработку необходимых для испытаний биологической активности количеств соединения 7. Чтобы понять, чем это обусловлено, были исследованы все стадии данной реакции по отдельности (рисунок 8).



Реагенты и условия: (а). I₂, ДМСО, 110 °С, 1 ч; (б). 1) 6-бромтриптамин (26), комн.т.; 2) 110 °С, 4 ч, 62%.

Рисунок 8 – Синтез 1-(2',4'-дибромбензоил)-7-бром-β-карболина (4г)

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 с помощью септы.

2. Реакцию необходимо проводить в два этапа, включающих окисление ацетофенона 36 в промежуточный фенилглиоксаль и далее проводить постепенное прибавление триптамина в максимально мягких условиях, чтобы избежать 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 4г.

После оптимизации условий проведения мультикомпонентной конденсации выход 1-(2',4'-дибромбензоил)-7-бром-β-карболина был увеличен до 62%. Отработанные условия синтеза β-карболина 4г позволили получить 3,10-дибромфаскаплизин в количествах, необходимых для дальнейших исследований.

³ Эксперименты с животными были одобрены местным этическим комитетом ТИБОХ ДВО РАН № 02/21 от 26 мая 2021 г. и № 07/2021 от 8 ноября 2021 г.

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

Опираясь на литературные данные, на следующем этапе исследований была изучена сравнительная цитотоксическая активность фаскаплизина (1) и 3,10-дибромфаскаплизина (7) 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 ± 0.03 мкМ, а для культуры клеток Н9с2 - 1.18 ± 0.02 мкМ (рисунок 9, (а) и (б) соответственно), тогда как 3,10-дибромфаскаплизин продемонстрировал избирательную цитотоксичность в отношении культуры С6 (IC_{50} 0.42 ± 0.02 мкМ). В отношении культуры неопухолевых клеток соединение 7 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.

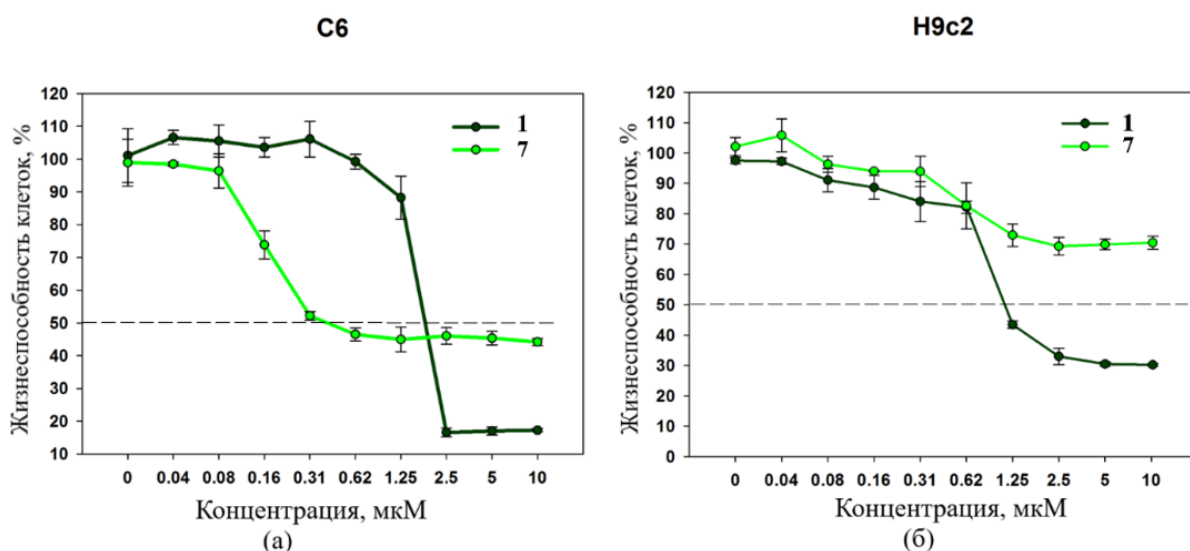


Рисунок 9 – Цитотоксическая активность фаскаплизина (1) и 3,10-дибромфаскаплизина (7) в отношении клеточной линии С6 (а) и Н9с2 (б)

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 9), данная модель была выбрана для оценки его противоопухолевого действия в условиях *in vivo* в сравнении с темозоломидом (ТМЗ). Результат контролировали по средней продолжительности жизни (СПЖ) подопытных (таблица 7).

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

	Группа	Соединение	Доза, мг/кг	Метод ввода	СПЖ, день
Группы с опухолью	1	7	7.6	В/б (25%-ный водный этанол)	43.3±7.4***
	2	ТМЗ	40	Перорально	43.6±6.2***
	3	Без лечения	-	-	26.9±6.9***
Группа без опухоли	4	7	7.6	В/б (25%-ный водный этанол)	70.0

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

Показано, что действие 3,10-дибромфаскаплизина сопоставимо с действием темозоломида (группы 1 и 2). Соединение 7 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).

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*.

С целью определения возможности использования перорального способа введения 3,10-дибромфаскаплизина было проведено сравнительное изучение его противоопухолевого действия в условиях внутрибрюшинного и перорального введения на модели асцитного варианта карциномы Эрлиха у мышей⁴. По результатам экспериментов установлено, что 3,10-дибромфаскаплизин оказывает умеренную противоопухолевую активность в условиях внутрибрюшинного введения. Выживаемость в группе составила 40%, а продолжительность жизни увеличилась на 206% по сравнению с контролем. При этом в условиях перорального введения 3,10-дибромфаскаплизин не оказывал значимого противоопухолевого действия. Полученные данные позволяют сделать однозначный вывод о неприменимости перорального способа введения для 3,10-дибромфаскаплизина.

4 Получение модифицированных аналогов 3,10-дибромфаскаплизина

Другим способом преодоления недостаточной растворимости исследуемого лидирующего соединения было получение его более водорастворимых аналогов.

Принимая во внимание, что причиной неудовлетворительной растворимости соединения 7, по всей видимости, является образование межмолекулярных π -стекинг-комплексов, их формированию должно препятствовать введение в базовую молекулу

⁴ Исследования противоопухолевого действия на модели карциномы Эрлиха, приведенные здесь и далее, были выполнены в виварии ТИБОХ ДВО РАН.

объемного заместителя. 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 (**19**) и 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизин (**20**) (рисунок 10).

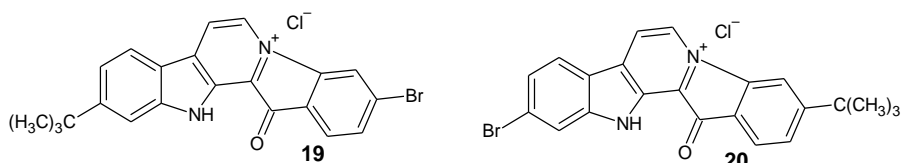
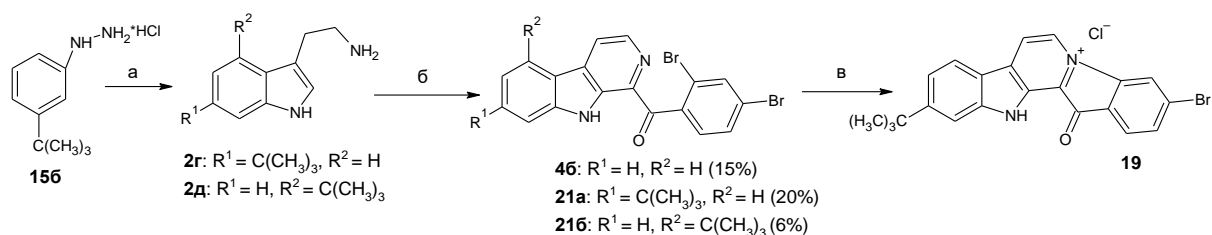


Рисунок 10 – Структура 3-бром-10-*трет*-бутил- (**19**) и 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина (**20**)

4.1 Синтез и изучение свойств 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизина

Циклизация Фишера между фенилгидразином **156** и 4-бромбутаналем по отработанной ранее методике для синтеза 4-бромтриптамина (рисунок 6) дала смесь триптамина **2г** и **2д**, которые вводили в мультикомпонентную реакцию по Zhu с 2,4-дибромацетофеноном (**36**) (рисунок 11). По данным масс-спектрометрии смесь содержала три β -карболина: **21а**, **21б** и β -карболин **46**, в котором отсутствует *трет*-бутильный фрагмент.



Реагенты и условия: (а). 4-бромбутаналь, EtOH, 150 °С (герметизированный сосуд), 1 ч, 43%; (б). **36**, I₂, ДМСО, 110 °С, 5 ч; (в). 1) 220 °С, 30 мин; 2) HCl/MeOH, 70% (для **21а**).

Рисунок 11 – Схема синтеза 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизина (**19**)

По-видимому, незамещенный триптамин (**2а**) образуется при отрыве *трет*-бутильной группы на этапе синтеза триптамина **2д**, так как соотношение целевого β -карболина **21а** и суммарного количества двух других продуктов составляет один к одному. На рисунке 12 приведён предполагаемый механизм отщепления *трет*-бутильной группы. По-видимому, на стадии синтеза триптамина 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.

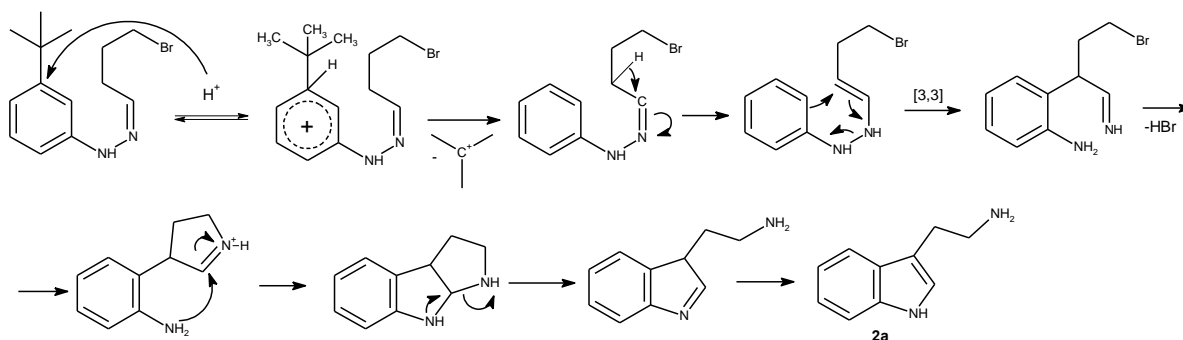


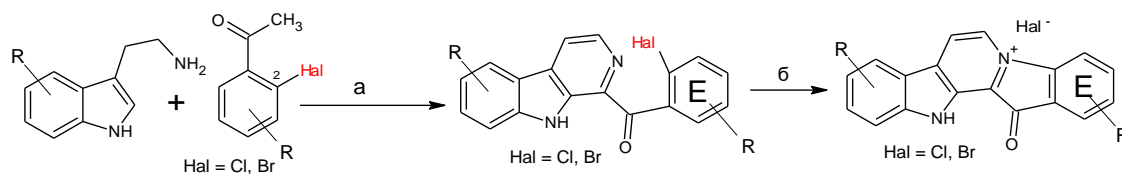
Рисунок 12 – Предполагаемый механизм отщепления *трет*-бутильного радикала на стадии образования триптамина (**2a**)

Индивидуальные соединения были выделены при помощи препаративной ВЭЖХ. Высокотемпературная циклизация соединения **21a** дала 3-бром-10-*трет*-бутилфаскаплизин (**19**) с выходом 70% (рисунок 11).

Противоопухолевый эффект 3,10-дибромфаскаплизина (**7**) и его аналога **19** оценивали в отношении солидного варианта карциномы Эрлиха по сравнению с группой контроля и группой лечения доксорубицином. В результате эксперимента было определено, что наибольшую противоопухолевую активность проявил 3,10-дибромфаскаплизин, который эффективнее доксорубицина ингибировал опухолевый рост. Ингибирующее действие 3,10-дибромфаскаплизина на опухолевый рост отмечалось на протяжении всего периода наблюдения и сохранялось до его окончания. В последний день эксперимента торможение роста опухоли в группе лечения соединением **7** составило 49%. При этом торможение роста опухоли в группе доксорубицина составило лишь 31%. Торможение роста опухоли в группе соединения **19** составило только 21%.

4.2 Синтез и изучение свойств 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина

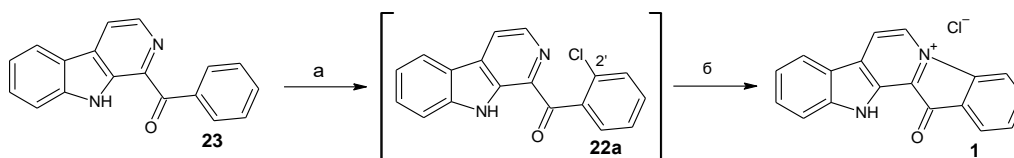
Применением базового двустадийного метода синтеза производных фаскаплизина по Zhu из ацетофенонов и триптамина можно получить второй аналог 3,10-дибромфаскаплизина с *трет*-бутильным фрагментом в положении 3 – 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизин (**20**). Однако необходимость наличия атома галогена во втором положении ацетофенонов в целом ограничивает имеющиеся возможности для формирования расширенной серии замещенных по циклу E фаскаплизинов (рисунок 13). Исходя из объективной потребности получения и изучения подобных соединений, было принято решение сосредоточить усилия на разработке альтернативного варианта высокотемпературной циклизации *орто*-галогензамещенных 1-бензоил- β -карболинов по Радченко как основного способа формирования целевой системы фаскаплизина.



Реагенты и условия: (а). I₂, ДМСО, 110 °С, 5 ч; (б). 200-250 °С.

Рисунок 13 – Схема синтеза модифицированных аналогов фаскаплизина с заместителями в цикле E

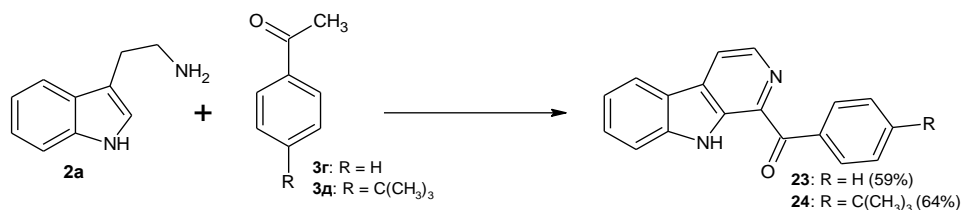
Опираясь на аналогии из литературы, для реализации целевого внедрения уходящей группы в *орто*-положение бензоильного фрагмента 1-бензоил-β-карболинов на начальных этапах исследования предполагалось использовать нитробензол в качестве ненуклеофильного растворителя и одновременно окислителя и хлорида палладия (II) в качестве катализатора, при этом ожидалось внедрение атома хлора в положение 2' бензоильного фрагмента (на рисунке 14 приведено на примере соединения **22a** при использовании в качестве исходного 1-бензоил-β-карболина (**23**)). Затем полученный полупродукт при нагревании выше 200 °С должен подвергаться циклизации до соответствующего фаскаплизина.



Реагенты и условия: (а). PdCl₂, PhNO₂, 220 °С; (б). 220 °С.

Рисунок 14 – Общая схема палладий-катализируемого синтеза фаскаплизина

Для отработки условий реакций использовались β-карболины **23** и **24**, которые получали из триптамина (**2a**) и ацетофенонов **3г** и **3д** (рисунок 15).

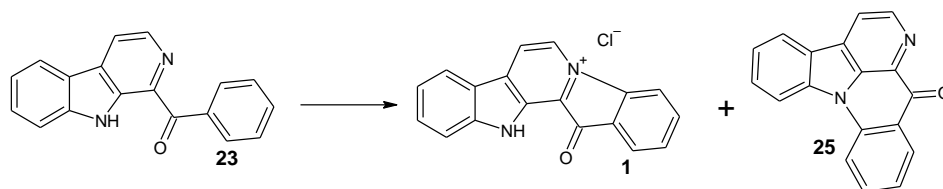


Реагенты и условия: I₂, ДМСО, 110 °С, 5 ч.

Рисунок 15 – Схема синтеза β-карболина **23** и 1-(4'-*трет*-бутилбензоил)-β-карболина (**24**)

Полученный 1-бензоил-β-карболин (**23**) вводили 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 β-карболина и, предположительно, продукта альтернативной циклизации **25** (рисунок 16). В пробе реакционной смеси, полученной при 180 °С, отсутствовали как целевой фаскаплизин, так и продукт альтернативной циклизации. Оптимизация условий синтеза включала варьирование температурного режима, времени

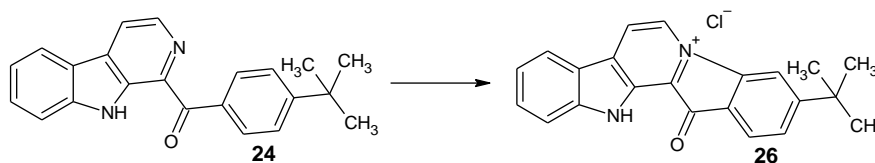
протекания реакции, количества катализатора, объёма растворителя и использование дополнительных реагентов. Наилучшие результаты были получены при взаимодействии β -карболина **23** с хлоридом палладия (II) и хлоридом меди (II) в качестве окислителя в 0.5 мл нитробензола при 220 °С в течение трёх часов с последующим кипячением смеси в этаноле, содержащем концентрированную соляную кислоту.



Реагенты и условия: PdCl₂, PhNO₂, 220 °С, 3 ч.

Рисунок 16 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) при катализе хлоридом палладия (II)

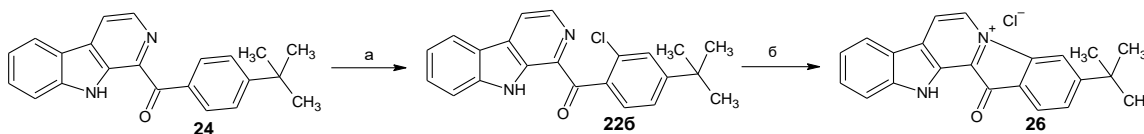
Далее в подобранных на предыдущем этапе условиях реакции был использован 1-(4'-*трет*-бутилбензоил)- β -карболин (**24**) (рисунок 17). По данным ВЭЖХ-МС в смеси присутствует большая часть целевого 3-*трет*-бутилфаскаплизина (**26**), примесь хлорированного 3-*трет*-бутилфаскаплизина, а также различные β -карболины. Индивидуальные соединения выделяли методом препаративной ВЭЖХ. При этом удалось добиться лишь частичного разделения смеси фаскаплизинов.



Реагенты и условия: PdCl₂, CuCl₂·2H₂O, PhNO₂, 220 °С, 3 ч.

Рисунок 17 – Схема синтеза 3-*трет*-бутилфаскаплизина (**26**)

В связи с трудоёмкостью разделения смеси фаскаплизинов за счет снижения температуры реакции был осуществлён синтез β -карболина **22б**, который после хроматографической очистки подвергли высокотемпературной циклизации в 3-*трет*-бутилфаскаплизин **26** (рисунок 18).

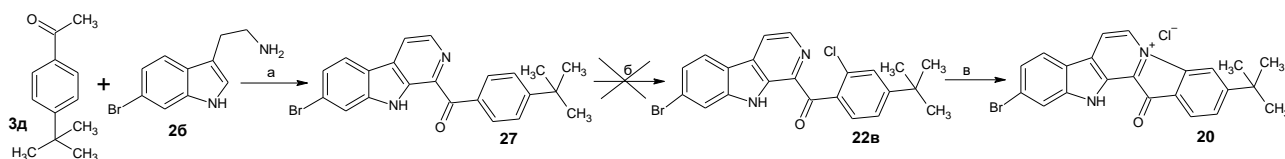


Реагенты и условия: (а). PdCl₂, CuCl₂·2H₂O, PhNO₂, 120 °С, 48 ч, 86%; (б). 220 °С, 40 мин, 66%.

Рисунок 18 – Схема синтеза 3-*трет*-бутилфаскаплизина (**26**) через 1-(4'-*трет*-бутил-2'-хлорбензоил)- β -карболин (**22б**)

После синтеза 3-*трет*-бутилфаскаплизина перешли к синтезу целевого 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина (**20**) через соответствующий β -карболин **22в** (рисунок 19). Исходный β -карболин **27** был получен по методу Zhu взаимодействием 6-бромтриптамина (**26**)

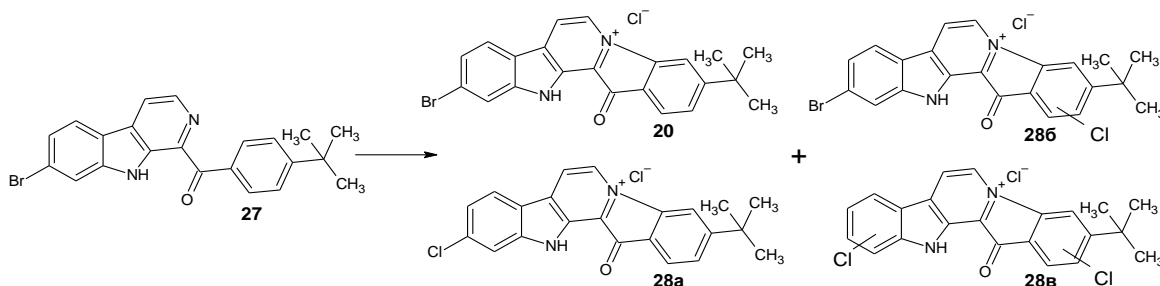
и 4-*трет*-бутилацетофенона (**3д**). По данным ВЭЖХ-МС анализа смеси, полученной после попытки конверсии субстрата **27** в хлорсодержащий β -карболин **22в** при 120 °С, основным компонентом остался исходный β -карболин **27**, при этом целевой 1-(4'-*трет*-бутил-2'-хлорбензоил)-7-бром- β -карболин (**22в**) присутствовал лишь в незначительных количествах.



Реагенты и условия: (а). I₂, ДМСО, 110 °С, 5 ч, 61%; (б). PdCl₂, CuCl₂·2H₂O, PhNO₂, 120 °С, 48 ч; (в). 200 - 220 °С.

Рисунок 19 – Предполагаемая схема синтеза 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина (**20**)

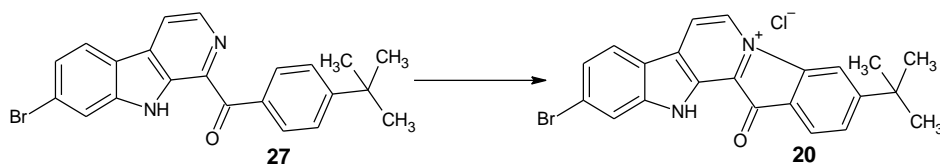
Проведение синтеза не при 120 °С, а при 220 °С, как описано в стадии (б) схемы синтеза соединения **26** (рисунок 17), также не увенчалось успехом. Основной процесс образования соединения **20** осложнялся побочной реакцией замещения атома брома в соединении **20** на атом хлора (**28а**), а также образованием фаскаплизинов **28б** и **28в** (рисунок 20).



Реагенты и условия: PdCl₂, CuCl₂·2H₂O, PhNO₂, 220 °С, 3 ч.

Рисунок 20 – Схема синтеза 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина при действии хлорида меди (II) и хлорида палладия (II) при 220 °С

Для решения проблемы замещения атома брома на хлор были использованы бромид меди (II) и трифторацетат палладия (II). Выход целевого соединения **20** при этом после хроматографического разделения полученной смеси составил 41% (рисунок 21).



Реагенты и условия: Pd(CF₃COO)₂, CuBr₂, PhNO₂, 220 °С, 3 ч, 41%.

Рисунок 21 – Схема синтеза 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина при действии бромида меди (II) и трифторацетата палладия (II) при 220 °С

Для 3-*трет*-бутил- (**26**) и 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина (**20**) были проведены испытания их антибактериальной активности в сравнении с соединениями **1** и **7** в отношении ограниченной серии ранее исследованных штаммов бактерий (таблица 8).

Таблица 8 – Антибактериальная активность фаскаплизина (1), 3,10-дибром- (7), 3-*трет*-бутил- (26) и 10-бром-3-*трет*-бутилфаскаплизина (20)

Соединение	МИК, мкг/мл			
	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. aureus</i> PE3R (MRSA)	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Ван	0.5	2.0	1.0	-
Риф	0.018	-	-	8.0
1	1.0	8.0	0.5	8.0
7	0.06	0.25	0.06	>8.0
20	0.015	0.015	0.06	>8.0
26	0.03	4.0	0.03	>16.0

Из данных таблицы 8 следует, что фаскаплизин (1) значительно уступает по своему антибактериальному действию соединениям 7, 20 и 26. Антибактериальная активность последних схожа между собой в отношении *S. aureus* ATCC 29213 и *S. aureus* PE3R (MRSA). В то же время, соединение 20 значительно превосходит по своей активности соединения 7 и 26 в отношении *E. faecalis*: почти в 17 раз соединение 7 и почти в 267 раз соединение 26.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований можно сделать следующие основные выводы:

1. Известный двухстадийный метод синтеза фаскаплизина из триптамина и *о*-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- β -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.

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. 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. - 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-дибромфаскаплизина 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. Спиринов, 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.