

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

На правах рукописи

Кантемиров Алексей Владимирович

Разработка методов синтеза и изучение зависимости «структура-
активность» производных алкалоида фаскаплизина по центральному циклу

1.4.3 – Органическая химия (химические науки)

Диссертация на соискание ученой
степени кандидата химических наук

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

г. Владивосток – 2022

Оглавление

Введение.....	5
1 Обзор литературы	10
1.1 Пиридо[1,2-а:3,4-в']дииндольные алкалоиды и родственные соединения: структурное разнообразие и область распространения.....	10
1.2 Биологическая активность фаскаплизиновых алкалоидов, механизмы их действия и перспективы практического применения	14
1.3 Синтетические непланарные аналоги фаскаплизина	22
1.4 Химические свойства фаскаплизина.....	25
1.5 Методы синтеза фаскаплизина	29
1.6 Способы синтеза пириодииндольной системы.....	40
2 Обсуждение результатов	45
2.1 Подход к синтезу фаскаплизинов с использованием замещенных индолов в качестве исходных соединений.....	45
2.1.1 Взаимодействие этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (115) и 3-ацетоксииндола (116).....	45
2.1.2 Взаимодействие этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (115) и индола (55)	48
2.1.3 Взаимодействие 3-индолилацетона (130) и индола (55).....	51
2.2 Использование индиго (99) в качестве исходного соединения.....	53
2.2.1 Взаимодействия индиго (99) с ацетофеноном (134)	53
2.2.2 Изучение механизма взаимодействия индиго (99) с фенилуксусным эфиром (100)	58
2.2.3 Синтез незамещенного фаскаплизина (1)	61
2.2.4 Попытка синтеза 3,10-дибромфаскаплизина (6).....	69
2.2.5 Синтез 7-фенилфаскаплизина (143).....	70
2.2.6 Синтез 7-этилфаскаплизина (144).....	72

2.2.7 Синтез 7-метилфаскаплизина (147)	74
2.2.8 Попытка синтеза 7-трет-бутилфаскаплизина (150).....	75
2.3 Получение производных фаскаплизина по положению 6	79
2.3.1 Синтез 6-метилфаскаплизина (153)	79
2.3.2 Синтез 6-фенилфаскаплизина (158).....	81
2.3.3 Синтез 6-трет-бутилфаскаплизина (161).....	81
2.3.4 Синтез 7-трет-бутилфаскаплизина (169).....	83
2.4 Биологическая активность полученных соединений	84
3 Экспериментальная часть.....	90
3.1 Этил-2,3'-бис-индол-3-илацетат (124).....	90
3.2 Этил-2',3'-дигидро-2,2'бис-индол-3-илацетат (126).....	91
3.3 7,13-Дигидро-6-оксо-12Н-пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндол (128).....	92
3.4 7-Гидро-6-оксо-12Н-пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндола (129)	92
3.5 Взаимодействие 3-индолилацетона (130) и индола (55).....	92
3.6 2-(2-Оксо-2-фенилэтилиден)-1,2-дигидро-3Н-индол-3-он (136, 137)	93
3.7 7-Этил-6Н-пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндол-6,13(12Н)-дион (146).....	93
3.8 7-Метил-6Н-пиридо[1,2-а:3,4-б']дииндол-6,13(12Н)-дион (149)	94
3.9 6-Оксофаскаплизин (140)	95
3.10 Фаскаплизин (1).....	95
<i>Использование в качестве восстановителя LiAlH₄</i>	95
<i>Использование в качестве восстановителя VH₃ в ТГФ</i>	96
3.11 7-Фенилфаскаплизин (143)	97
3.12 7-Этилфаскаплизин (144)	98
3.13 7-Метилфаскаплизин (147)	99
3.14 1-(2'-Бромбензоил)-3-метил-β-карболин (157).....	100
3.15 6-Метилфаскаплизин (153)	100
3.16 1-(2'-Бромбензоил)-3-фенил-β-карболин (160).....	101
3.17 6-Фенилфаскаплизин (158)	102
3.18 3-(3,3-Диметил-2-оксобутил)-3-гидроксииндолин-2-он (162)	102

3.19 3-(3,3-Диметил-2-оксобутен-4-ил)-индолин-2-он (163).....	103
3.20 3-(3,3-Диметил-2-оксобутил)-индолин-2-он (164)	104
3.21 3-(2-(Гидроксиамино)-3,3-диметилбутил)индолин-2-он (165)	104
3.22 1-(2'-Йодбензоил)-3-трет-бутил-β-карболин (168).....	105
3.23 6-трет-Бутилфаскаплизин.....	106
3.24 1-(2'-Бромбензоил)-4-трет-бутил-β-карболин (174).....	107
3.25 7-трет-Бутилфаскаплизин (169).....	107
3.26 1-(2',4'-Дибромбензоил)-β-карболин (176a)	108
3.27 2-Бромфаскаплизин (177a)	109
3.28 1-(2'-Бромбензоил)-6-бром-β-карболин (176b).....	109
3.29 9-Бромфаскаплизин (177b).....	110
3.30 Исследование биологической активности полученных соединений ..	111
Выводы	114
Список публикаций.....	115
Список литературы	116

Введение

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

На сегодняшний день одну из лидирующих позиций в качестве причины смерти в развитых странах занимают онкологические заболевания, что свидетельствует о недостаточной эффективности существующих способов их лечения и определяет потребность в разработке новых химиотерапевтических препаратов.

Одним из возможных направлений решения данной проблемы является выделение, целенаправленный синтез и модификация природных соединений, в частности, алкалоидов, получаемых из морских беспозвоночных. Одним из них является красный пигмент фаскаплизин (**1**, Рис. 1), выделенный из губки *Fascaplysinopsis* sp. в 1988 году. Данный алкалоид проявляет широкий спектр биологической активности. На данный момент лучше всего изучена его цитотоксическая активность и выявлено несколько механизмов его действия, включающих ингибирование циклинзависимой киназы 4, приводящее к подавлению митоза активно делящихся клеток, интеркаляцию в ДНК, активацию апоптоза, в том числе по митохондриальному пути, и индукцию аутофагии, а также способность подавлять ангиогенез.

С другой стороны, неотъемлемой частью терапии онкологических больных является применение сильнодействующих анальгетиков. В настоящее время наиболее эффективными средствами для анальгезии остаются опиаты и их аналоги, механизм действия которых отличен от механизма действия естественных агонистов эндорфиновых рецепторов. Опиоидные препараты обладают не только высокой эффективностью, но и широким спектром побочных эффектов, среди которых наиболее опасным является развитие наркотической зависимости. Таким образом, создание анальгетических препаратов, действие которых подобно эндорфинам, является не менее важной задачей современной медицинской химии. Последние исследования показали, что фаскаплизин явля-

ется агонистом μ -опиоидных рецепторов с сигнальным профилем, напоминающим профиль эндорфинов, что определяет перспективу изучения анальгезирующих свойств данного соединения.

Несмотря на это, фаскаплизин достаточно токсичен, поэтому его использование в качестве лекарственного препарата не представляется возможным. Поэтому получение производных фаскаплизина, обладающих улучшенными фармакологическими характеристиками, является актуальной задачей исследований.

Степень разработанности темы

На данный момент существует достаточно большое количество различных способов синтеза фаскаплизина и родственных соединений, содержащих в своей основе скелет пиридо[1,2-*a*; 3,4-*b*]дииндола.

Доступность фаскаплизина позволила в достаточной степени изучить его биологическую активность, в том числе механизмы биологического действия. О свойствах производных фаскаплизина известно существенно меньше, тем не менее, среди них найдены вещества, обладающие улучшенными характеристиками по сравнению с родоначальным алкалоидом. Разработанные на текущий момент синтетические методы обеспечивают получение производных фаскаплизина, содержащих ограниченный набор заместителей только в боковых циклах базовой структуры, но не позволяют осуществлять их внедрение в центральный цикл молекулы (далее обозначаемый как цикл С). Разработка таких методов является предметом настоящего исследования.

Цель и задачи работы

Целью данной работы является разработка способов получения синтетических производных морского алкалоида фаскаплизина, содержащих заместители в центральном цикле, и определение перспективы их использования в качестве лидирующих соединений для создания новых противоопухолевых лекарственных препаратов. Для достижения поставленной цели предстояло решить следующие задачи:

1. Изучить возможность получения фаскаплизина и его производных по центральному циклу путем внутримолекулярной конденсации несимметричных 2,2'-бис-индолов, полученных кросс-сочетанием соответствующих замещенных индолов.
2. Исследовать возможность получения широкого набора производных гетероциклической системы 12*H*-пиридо[1,2-*a*; 3,4-*b*]дииндола путем конденсации индиго с метиленактивными соединениями, разработать условия конверсии полученных 12*H*-пиридо[1,2-*a*; 3,4-*b*]дииндолов в производные фаскаплизина, замещенные по положению 7.
3. Адаптировать известный способ синтеза фаскаплизина из триптамина и *o*-бромацетофенона для получения серии производных фаскаплизина, содержащих заместители в положениях 6 и 7, исходя из замещенных триптаминов.
4. Изучить биологическую активность полученных соединений в отношении серии культур различных по степени злокачественности опухолевых клеток и неопухолевых клеток в условиях *in vitro*.

Научная новизна работы

На основе легкодоступных исходных соединений разработан новый метод получения алкалоида фаскаплизина и осуществлен синтез некоторых его ранее неизвестных производных, содержащих заместители в центральном цикле базовой структуры. Определена цитотоксичность полученных соединений в отношении культур клеток рака простаты PC-3, 22Rv1, DU145, LNCaP, VCaP, а также линий неопухолевых клеток MRC-9, PNT2, RWPE-1, HEK293. В рамках данного исследования впервые стало возможным получение и изучение цитотоксической активности производного фаскаплизина, содержащего объемный непланарный заместитель. Осуществлен первый синтез и подтверждена структура 6-оксофаскаплизина – недавно выделенного представителя группы фаскаплизиновых алкалоидов.

Практическая и теоретическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в получении данных о зависимости структура-активность для производных фаскаплизина по центральному циклу. Практическая значимость определяется получением целевых соединений в минимальное количество синтетических стадий из доступных реагентов (индиго и изатин). Кроме того, показано, что производные фаскаплизина по центральному циклу проявляют значительную цитотоксичность в отношении культур опухолевых клеток, обладающих резистентностью к современным противоопухолевым препаратам.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработан новый двухстадийный метод синтеза фаскаплизина и его производных по положению 7 исходя из индиго и сложных эфиров, обладающих высокой метиленовой активностью.
2. Осуществлен первый синтез алкалоида 6-оксофаскаплизина и подтверждена его структура.
3. Известный метод синтеза фаскаплизина из триптамина и *o*-бромацетофенона адаптирован для получения его производных по центральному циклу с использованием изатина в качестве исходного соединения.
4. Производные фаскаплизина, содержащие заместители в центральном цикле базовой структуры, обладают сходной цитотоксичностью в отношении широкого набора линий опухолевых клеток простаты человека, в том числе резистентных к химиотерапевтическим средствам. Производные нативного алкалоида, содержащие заместитель в положении 7, в целом обладают большей цитотоксичностью по сравнению с изомерными производными по положению 6.
5. Показано, что введение *tert*-бутильного заместителя в центральный цикл не приводит к увеличению селективности действия полученных производных фаскаплизина. При этом опровергнуто существующее представление

об определяющей роли интеркаляции в механизме цитотоксического действия фаскаплизина.

Методология и методы исследования

В рамках проведенных исследований был использован широкий набор методов, включая последние методологические разработки в области целенаправленного органического синтеза, современные методы анализа состава смесей соединений и выделения из них индивидуальных компонентов (газовая хроматография и высокоэффективная жидкостная хроматография, препаративная жидкостная хроматография среднего давления), методы установления строения полученных соединений (ИК и ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия). Оценка цитотоксичности была проведена с помощью МТТ-теста.

Апробация работы и публикации

По материалам диссертации опубликованы четыре статьи в отечественных и зарубежных журналах. Работа была апробирована на: Научно-практических конференциях студентов, аспирантов и молодых учёных по естественным наукам (Владивосток, 2015, 2019), Markovnikov Congress on Organic Chemistry (Казань, 2019), XVII Всероссийской школе-конференции по актуальным проблемам химии и биологии (Владивосток, 2020), Школе по медицинской химии для молодых ученых (Новосибирск, 2021), VIII Международном симпозиуме «Химия и химическое образование» (Владивосток, 2021).

1 Обзор литературы

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

Процесс разработки лекарственного препарата занимает длительный период времени, который, обычно, начинается с выявления у химического соединения специфической биологической активности. Одним из направлений такого поиска является изучение веществ, выделенных из разнообразных организмов. В связи с этим большой интерес представляют алкалоиды, которые отличаются огромным разнообразием структур и проявляют значительную физиологическую активность. Группа природных соединений из морских губок и оболочников, называемая фаскаплизинами, выделяется среди прочих уникальной структурой и наличием широкого спектра биологической активности.

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

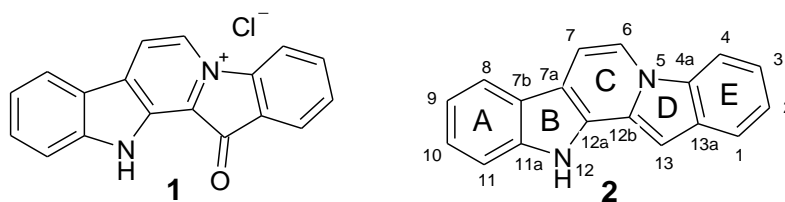
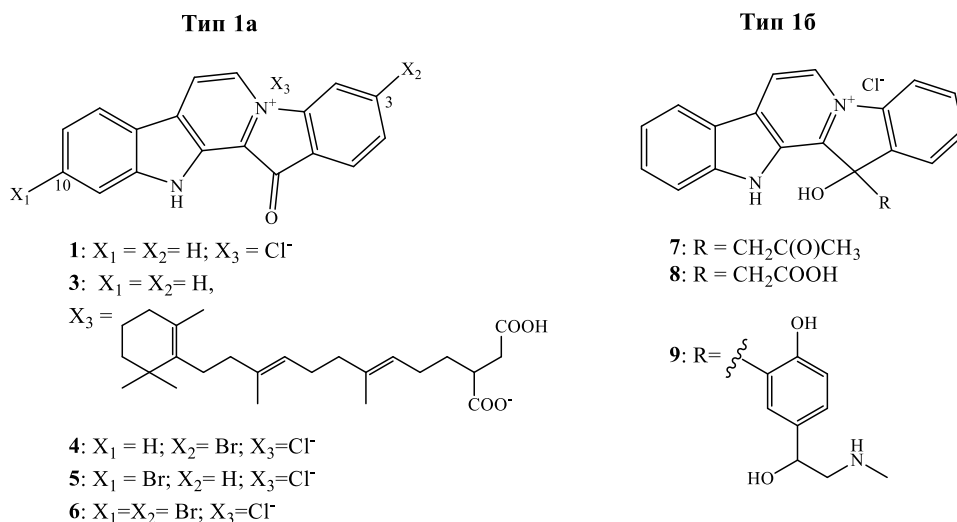


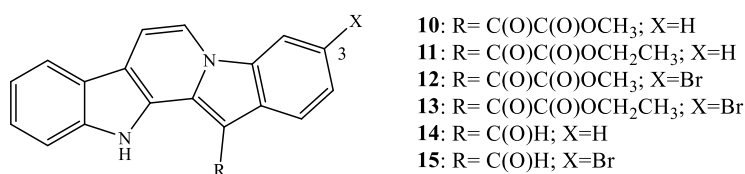
Рисунок 1 – Фаскаплизин (**1**) и пиридо[1,2-а:3,4-в']дииндол (**2**)

Сегравесом и соавт. [2] был предложен подход для систематизации этой группы алкалоидов, который охватывает всех ее разнообразных представителей (Рис. 2). В рамках данного подхода они выделяют три основных типа структур.

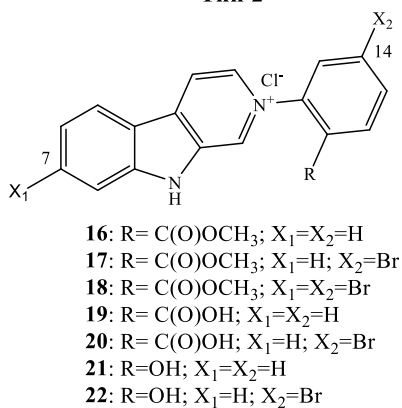
Тип 1



Тип 1в



Тип 2



Тип 3

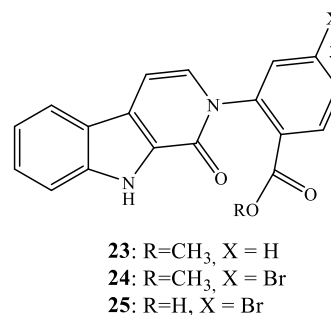


Рисунок 2 – Классификация фаскаплизиновых алкалоидов

Тип 1 объединяет соединения, в основе которых лежит система пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндола. Он включает в себя 14 представителей и, исходя из характера заместителей, разделён на три подтипа. Помимо фаскаплизина к подтипу 1а относятся фаскаплизин А (3), 3-бромфаскаплизин (4), 10-бромфаскаплизин (5) и 3,10-дибромфаскаплизин (6). Гомофаскаплизин А (7), гомофаскаплизин А (8) и тхорестандрамин (9) составляют подтип 1б. Подтип 1в

представлен гомофаскаплизином В (10), гомофаскаплизином В-1 (11), 3-бромгомофаскаплизином В (12), 3-бромгомофаскаплизином В-1 (13), гомофаскаплизином С (14) и 3-бромгомофаскаплизином С (15).

В основе двух типов алкалоидов, родственных фаскаплизинам и выделяемых совместно с ними, лежит гетероциклическая система β -карболина, арилированная по пиридиновому атому азота, при этом они отличаются между собой по степени окисления пиридинового цикла. Тип 2 объединяет семь алкалоидов: ретикулатин (16), 14-бромретикулатин (17), 7,14-дибромретикулатин (18), ретикулатат (19), 14-бромретикулатат (20), ретикулатол (21) и 14-бромретикулатол (22), тогда как тип 3 представлен всего тремя соединениями: секофаскаплизином (23), 3-бромсекофаскаплизином А (24) и 3-бромсекофаскаплизином В (25).

Приведенная классификация основана на предположение авторов работы [2] о едином пути биосинтеза соединений 1, 3-25 исходя из бис-триптофана и соответствующих бромзамещенных производных (Рис. 3). Эту гипотезу подтверждает открытие специфического гена, обеспечивающего биосинтез бис-триптофана [3, 4].

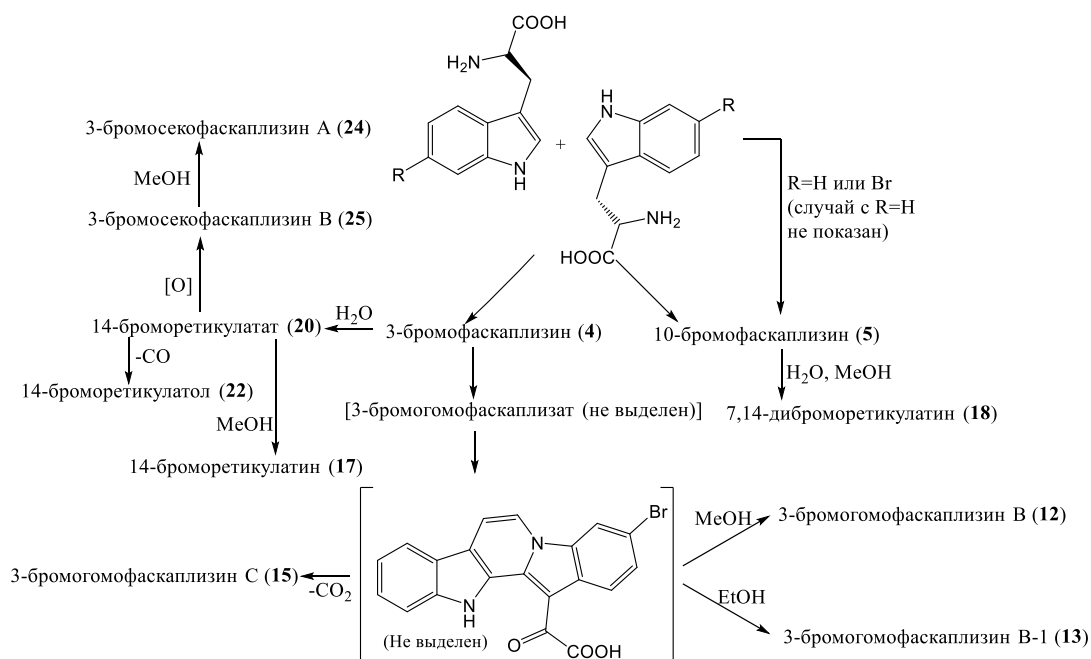


Рисунок 3 – Предполагаемая схема биосинтеза фаскаплизиновых алкалоидов

Среди организмов-продуцентов данной группы алкалоидов самыми распространёнными являются разнообразные губки. Среди прочих можно назвать представителей рода Thorectidae, обитающих в бассейнах Тихого и Индийского океанов: *Fascaplysinopsis reticulata*, собранные у побережья Фиджи и Индонезии, *Fascaplysinopsis* sp. около Фиджи и Палау, *Hyrtilos* cf. *erecta* около Фиджи и *Thorectandra* sp. около Палау. Соединения, относящиеся к типу **1a** были также выделены из асцидий *Didemnum* sp., встречающихся в разных областях Мирового океана, включая Фиджи, Соломоновы острова, острова Микронезии и Полинезии. В таблице 1 представлены сводные данные об организмах-продуцентах фаскаплизиновых алкалоидов.

Таблица 1 - Продуценты фаскаплизиновых алкалоидов

№ коллекции	Таксономическое название продуцента	Место сбора	Обнаруженные алкалоиды	Ссылки
	<i>Fascaplysinopsis</i> sp.	Фиджи	1	1
87057	<i>F. reticulata</i>	Фиджи	1, 7, 10, 23, 14	5
88106	<i>F. reticulata</i>	Фиджи	1, 10, 23, 14	5
89051	<i>F. reticulata</i>	Фиджи	1, 10, 16, 23, 14	5, 6
	<i>Fascaplysinopsis</i> sp.	Палау	1	7
	<i>Hyrtilos</i> cf. <i>erecta</i>	Фиджи	1, 7	8
OCDN5079	<i>Thorectandra</i> sp.	Палау	1, 9	9
	<i>Smenospongia</i> sp.	Острова Кука	1	10, 11
89128	<i>F. reticulata</i>	Фиджи	1, 16, 19	12
95604	<i>F. reticulata</i>	Индонезия	4, 17, 20	12
	<i>Didemnum</i> sp.	Фиджи	1	13
115T93	<i>Didemnum</i> sp.	Микронезия	1, 4	12
10IN95	<i>Didemnum</i> sp.	Индонезия	1, 4	12
12 коллекций	<i>F. reticulata</i>	Бассейны Тихого и Индийского океанов	1, 4-7, 14, 16-22, 24, 25	2
2 коллекции	<i>Didemnum</i> sp.		1, 4, 7, 11-14	

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

Биологические свойства большинства представителей данной группы алкалоидов остаются на сегодняшний день недостаточно изученными, но практически все они обладают высокой цитотоксичностью в отношении разных линий опухолевых клеток [2-14]. В то же время биологическая активность фаскаплизина (**1**), получаемого синтетически, была исследована наиболее широко. Уже в первой статье, посвящённой выделению данного алкалоида, наряду с цитотоксическим действием на опухолевые клетки, приводятся сведения об его антимикробном действии в малых концентрациях на многие болезнетворные бактерии, включая *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* и *Saccharomyces cerevisiae* [1]. Также в литературе сообщалось о противогрибковом [1] и противомаларийном [15] действии фаскаплизина, противовирусной (против HIV-1-RT) [14] и противогельминтной [16] активности.

При этом в течение многих лет считалось, что одним из основных механизмов действия фаскаплизина на опухолевые клетки является ингибирование циклинзависимой киназы-4 (Cdk4) за счет связывания с ее сайтом АТФ, что приводит к остановке клеточного цикла на фазе G1 и предотвращает фосфорилирование белка ретинобластомы (pRb) на участках связывания, специфичных для Cdk4 [17]. Циклинзависимые киназы в целом (Cdk) [18] являются важнейшими регуляторами клеточного цикла. В частности, фермент Cdk4 обеспечивает прохождение между фазами G₀ и G₁. Для реализации этого перехода необходимо наличие особых факторов транскрипции, относимых к группе E2F. Их функционированию, в свою очередь, препятствует связывание с белком-репрессором ретинобластомы (pRb). Циклинзависимая киназа 4 в комплексе с циклином D₁ селективно фосфорилирует два аминокислотных остатка (Ser 780 и Ser 795) на С-конце данного белка, что приводит к его дезактивации и обеспечивает высвобождение факторов, необходимых для перехода на следующую стадию клеточного цикла. В клетках организма человека предусмотрена

система регуляции активности Cdk4 естественными ингибиторами этого фермента, такими как p16. Для большинства типов опухолевых клеток характерно нарушение работы этого механизма, что обеспечивает их бесконтрольное деление. Следовательно, использование низкомолекулярных ингибиторов Cdk4 должно останавливать прогрессирующее развитие опухоли.

Для фаскаплизина характерна высокая цитотоксическая активность, продемонстрированная на разных линиях опухолевых клеток мышей и человека. В частности, для лейкозных клеток L-1210 IC_{50} составляет 0,2 мкг/мл [1]. Позднее сотрудниками Тихоокеанского института биоорганической химии при проведении тестов на различных в функциональном отношении клеточных системах в условиях *in vitro* было показано, что соединение **1** "... не обладает цитотоксической активностью в отношении «покоящихся», т. е. активно не делящихся клеток" [10]. Одновременно ими установлена его незначительная противоопухолевая активность в отношении клеток асцитного варианта карциномы Эрлиха в условиях *in vivo* [10, 11]. Также было изучено действие фаскаплизина на линии клеток рака яичников A2780 и OVCAR3 и показано комплексное воздействие фаскаплизина на опухоль, включающее в себя как остановку деления и миграции клеток, так и их апоптоз [19].

В ДВФУ была исследована эффективность фаскаплизина по отношению к линии клеток злокачественной глиальной опухоли головного мозга С6, а также проведен сравнительный анализ эффективности фаскаплизина по отношению к другим химиотерапевтическим препаратам. Было установлено, что фаскаплизин обладает выраженным цитостатическим эффектом в отношении клеток глиомы С6, вызывая апоптоз с увеличением времени воздействия. Антипролиферативный эффект фаскаплизина значительно превосходил показатели препарата сравнения темозоломида. Важным открытием оказалась способность фаскаплизина ингибировать рост и уничтожать плохо дифференцированные мультипотентные опухолевые клетки [20, 21].

Фаскаплизин проявил выраженную противоопухолевую активность по отношению к немелкоклеточному (IC_{50} 1.15 мкМ), мелкоклеточному (IC_{50} 0.89 мкМ) раку легких, а также в отношении формируемых им клеточных агрегатов (IC_{50} 0.57 мкМ), которые крайне устойчивы к терапевтическому воздействию [22].

Наличие у фаскаплизина столь широкого спектра биологической активности стимулировало дальнейшее изучение молекулярных механизмов, лежащих в её основе. На сегодняшний день помимо описанного выше ингибирования Cdk4 для фаскаплизина достоверно установлено еще несколько направлений действия. В работе [23] была изучена ассоциация фаскаплизина с двухцепочечной ДНК из тимуса телёнка. В результате проведённых исследований было показано, что соединение **1** является мощным интеркалятором ДНК. Кроме того, фаскаплизин способен в низких концентрациях индуцировать апоптоз опухолевых клеток посредством активации как митохондриального, так и рецепторного путей. В работе [24] на примере линии лейкозных клеток HL-60 впервые было показано, что наряду с активацией апоптоза, фаскаплизин индуцирует в обработанных им клетках аутофагию за счет повышения экспрессии соответствующих медиаторов, в первую очередь продукта гена ATG 7. На примере васкулярных клеток эндотелия было показано, что вызванная апоптозом аутофагия является цитозащитным ответом на увеличение уровня активных форм кислорода и белка p8, что сопровождается уменьшением митохондриального мембранного потенциала в клетках [25]. Достаточно важна для терапии рака способность фаскаплизина подавлять ангиогенез за счет нарушения процессов агрегации клеток [26], в частности, путем подавления экспрессии и секреции так называемого васкулярного эндотелиального фактора роста (VEFG) [27]. Также данный механизм был продемонстрирован в работах [28, 29].

Оценивая потенциал фаскаплизина для терапевтического применения при лечении онкологических заболеваний, некоторые виды активности данного алкалоида необходимо рассматривать в качестве возможных побочных эффектов.

В частности, фаскаплизин способен вызывать проявления эриптоза эритроцитов, выражающиеся в усадке клеток и скремблировании клеточной мембраны, что частично связано с поступлением внеклеточного Ca^{2+} , окислительным стрессом и продукцией керамида. В то же время в исследованном диапазоне концентраций фаскаплизина вплоть до 5 мкМ (что превышает средние показатели IC_{50} в отношении различных линий опухолевых клеток) разрушения эритроцитов не наблюдалось [30]. В работе [31] было сообщено об антитромботических свойствах фаскаплизина. В отличие от других антитромбоцитарных средств, таких как эгиптин, дипеталодипин и триплатин, фаскаплизин дополнительно влиял на первичный гемостаз на модели кровотечения из хвостовой вены у крыс. При этом была показана существенно более низкая антитромботическая эффективность в экспериментах *in vivo* по сравнению с гепарином.

Несмотря на то, что основной интерес фаскаплизин и подобные ему алкалоиды представляют в связи с возможностью их использования в онкологии, несколько последних исследований были направлены на изучение совершенно иной активности, нежели противоопухолевая.

Одна из таких активностей была открыта группой американских исследователей [32]. Оказалось, фаскаплизин проявляет свойства агониста опиоидных рецепторов (далее $\mu\text{-OR}$). Поскольку он структурно отличается от основных классов опиоидов, было предположено, что фаскаплизин может взаимодействовать с $\mu\text{-OR}$ иначе, чем другие их известные агонисты. В действительности данный алкалоид оказался селективным агонистом $\mu\text{-OR}$, по своему действию напоминающим естественный агонист эндорфин. Таким образом, для фаскаплизина и его производных открываются широкие возможности для исследования проявляемой ими анальгетической активности.

В последнее время рассматриваются возможности разработки препаратов для борьбы с болезнью Альцгеймера (далее AD) на основе фаскаплизина или его производных. β -Амилоидный белок ($\text{A}\beta$) считается одной из важнейших терапевтических мишеней для лечения болезни Альцгеймера, поскольку он мо-

жет образовывать олигомеры и фибриллы, вызывая нейротоксические эффекты. Следовательно, ингибиторы агрегации А β могут проявлять эффективность в лечении данного заболевания. Было обнаружено, что фаскаплизин ингибирует образование фибрилл А β *in vitro*. Интересно, что полученный синтетически 9-метилфаскаплизин (**26**)¹ более активно предотвращает образование А β -фибрил, чем незамещенный фаскаплизин [33]. В работе [34] оценивали активность ингибирования холинэстеразы, нейрональные защитные эффекты и токсичность некоторых производных фаскаплизина. Оказалось, что фаскаплизин и его производное **26** способны уменьшать когнитивную дисфункцию, индуцированную олигомерами А β или скополамином без влияния на двигательные функции у мышей. Было показано, что данные соединения могут предотвращать холинергические дисфункции, уменьшать экспрессию провоспалительных цитокинов и ингибировать А β -индуцированное гиперфосфорилирование Тау-белка *in vivo*. Что наиболее важно, фармакодинамические исследования показали, что соединение **26** может проникать через гематоэнцефалический барьер и удерживаться в центральной нервной системе. В другом исследовании сообщали, что фаскаплизин показал лучший результат в сравнении с со своими галогенированными производными и аналогами на основе β -карболина, вызывая индукцию Р-гликопротеина (Р-gp) со значением EC₅₀ 25 нМ, что приводило к уменьшению содержания β -амилоида (индукция Р-gp является одной из современных стратегий направленного выведения из мозга β -амилоида) [35].

Как уже отмечалось выше, о биологической активности других представителей группы фаскаплизиновых алкалоидов известно значительно меньше. Тем не менее, среди них есть соединения, которые по проявляемой биологической активности не только не уступают фаскаплизину, но и превосходят его по ряду свойств. В частности, Национальным институтом рака (NCI) в США было

¹ Здесь и далее по тексту работы любые синтетические производные нативного алкалоида называются фаскаплизинами с указанием названия и места локализации введенного заместителя

проведено сравнительное изучение цитотоксического действия фаскаплизина (**1**), фаскаплизина А (**3**) и 3-бромфаскаплизина (**4**) на семь различных линий опухолевых клеток [2]. По его результатам, представленным в таблице 2, для соединения **4** показана в несколько раз большая активность по сравнению с фаскаплизином. Там же была продемонстрирована избирательная токсичность 10-бромфаскаплизина (**5**) в отношении опухолевых клеток человека линии H125 (рак молочной железы) [2]. В другом эксперименте была изучена цитотоксическая активность в отношении нескольких линий опухолевых клеток мышей и человека для 10 фаскаплизиновых алкалоидов, включая фаскаплизин (**1**), 3-бромфаскаплизин (**4**), 10-бромфаскаплизин (**5**), ретикулатин (**16**), 14-бромретикулатин (**17**), 7,14-дибромретикулатин (**18**), ретикулат (**19**), 14-бромретикулат (**20**), ретикулатол (**21**) и 14-бромретикулатол (**22**) [2]. При этом лучшие показатели активности и селективности вновь продемонстрировал 10-бромфаскаплизин.

Таблица 2 - Цитотоксическая активность соединений **1**, **3** и **4** в условиях *in vitro* (IC₅₀, мкМ)

Опухоль	Культура	1	4	3
Лёгкое	HOP-62	4.70	нет активности	5.10
	NCI-H23	4.50	0.89	5.10
	NCI-H322M	5.00	0.65	4.30
	NCI-H522	4.50	0.68	6.30
Толстый кишечник	COLO-205	1.20	нет активности	0.83
	HCC-2998	1.70	0.91	3.80
	HCT-116	0.60	0.76	1.60
Нервная система	SF-295	3.90	0.59	5.20
	SNB-19	6.10	0.66	5.40
	U251	3.60	нет активности	4.10
Меланома	MALME-3M	0.36	0.49	0.54
	M14	0.92	0.59	4.20
	SK-MEL-5	2.00	нет активности	0.53
	UACC-62	4.90	0.63	3.20

Продолжение Таблицы 2

Яичник	IGROV1	4.50	0.74	1.70
	OVCAR-3	1.50	4.40	3.10
	OVCAR-4	5.30	0.59	4.50
	OVCAR-8	нет активности	0.60	5.30
Почка	RXF-393	3.50	3.10	3.50
	CAKI-1	6.10	1.60	7.30
	SN12C	4.20	2.90	3.20
	UO-31	нет активности	0.53	5.60
Предста- тельная железа	PC-3	0.77	нет активности	10.03
	22Rv1	0.24	нет активности	0.42
	DU145	0.80	нет активности	1.51
	LNCaP	0.41	нет активности	1.25
	VCaP	0.58	нет активности	7.65
Молочная железа	HS 578T	нет активности	0.59	нет активности
	BT-549	нет активности	0.59	5.10

В работе [36] была изучена противоопухолевая и противомикробная активность фаскаплизина и других фаскаплизиновых алкалоидов, в том числе 14-бромретикулатина и 14-бромретикулатата. Проведенные испытания показали, что 14-бромретикулатин обладает селективной антибиотической (против *Pseudomonas aeruginosa*) активностью и проявляет цитотоксичность по отношению к клеткам меланомы, рака толстой кишки и простаты человека. 3,10-Дибромфаскаплизин в первую очередь воздействовал на метаболическую активность клеток рака простаты без нарушения целостности клеточной мембраны и продемонстрировал более широкое терапевтическое окно по сравнению с фаскаплизином и другими изученными представителями фаскаплизиновых алкалоидов.

Данная работа получила продолжение, в котором был подробно изучен механизм действия 3,10-дибромфаскаплизина на клетки рака простаты, обладающие различными уровнями лекарственной устойчивости. Цитотоксическая активность данного соединения наблюдалась в отношении всех исследованных

клеточных линий. Киномный анализ с последующим функциональным исследованием выявил, что c-Jun терминальные киназы (JNK1/2) являются одной из молекулярных мишеней 3,10-дибромфаскаплизина в клетках 22Rv1 на начальных этапах воздействия. Основой же механизм действия 3,10-дибромфаскаплизина связан с образованием активных форм кислорода, что в конечном итоге приводит к разрушению ДНК опухолевых клеток. Кроме того, для данного соединения было показано синергетическое усиление действия от совместного применения с препаратами олапариб, цисплатина и карбоплатина, а также производными таксана доцетакселом и кабазитакселом [37].

Следующее исследование в данной серии работ было проведено на клетках миелоидного лейкоза. Было изучено воздействие нескольких бромированных производных фаскаплизина в сравнении с селективным ингибитором циклинзависимой киназы палбоциклибом. По его результатам было показано, что действие 3,10-дибромфаскаплизина на клеточный цикл отличается от действия палбоциклиба: соединение **6** в первую очередь индуцировало апоптоз лейкозных клеток и снижало экспрессию генов, ответственных за выживание раковых клеток. Одновременно было обнаружено, что 3,10-дибромфаскаплизин активирует фактор транскрипции E2F и увеличивает цитотоксический эффект цитарабина в различных клеточных линиях миелоидного лейкоза [38].

Для некоторых синтетических производных фаскаплизина была изучена биологическая активность *in vitro* на клетках глиомы С6. Цитотоксическая эффективность всех протестированных соединений была выше, чем у незамещенного фаскаплизина. Было показано, что апоптоз являлся основным механизмом гибели клеток глиомы и производные фаскаплизина модифицировали все фазы жизненного цикла опухолевых клеток [39].

В работе [40] было сообщено о молекулярном механизме действия хлорсодержащего аналога 3-бромфаскаплизина на клетки рака молочной железы HUVES и MDAMB-231. Он ингибировал VEGF-опосредованное прорастание

микрососудов и образование кровеносных сосудов и подавлял рост солидной опухоли у мышей C57/BL6J. Помимо этого данное соединение значительно ингибировало выживание клеток через путь PI3K/ Akt/mTOR с сопутствующим влиянием на ключевые факторы проангиогенеза, такие как HIF-1 α , eNOS и MMP-2/9. Цитотоксичность данного соединения была минимизирована путем совместного применения с ингибиторами VEGF и Akt сунитинибом и перифозином. Кроме того, было показано, что исследованный аналог вызывает апоптоз по митохондриальному пути. Полученный для него профиль безопасности был удовлетворительным, поскольку значение IC₅₀ для неопухолевых клеток было больше в пять раз по сравнению с аналогичным показателем для опухолевых клеток. При лечении данным препаратом мышей с экспериментальными опухолями при терапевтических дозах явные токсические эффекты не наблюдались.

Приведенные результаты наглядно демонстрируют, что модификация структуры фаскаплизина может привести к значительному улучшению фармакологических характеристик у полученных соединений, а также к различным изменениям в механизмах их действия на опухоль. Кроме того, было показано, что синтетические производные фаскаплизина способны воздействовать на терапевтические мишени, не характерные для нативного алкалоида, что открывает большие возможности их применения не только при получении лекарственных препаратов для борьбы с онкологическими заболеваниями, но и с неврологическими расстройствами или в качестве анальгетиков. Таким образом, разработка методов получения производных фаскаплизина, содержащих, в частности, заместители в центральном цикле исходного соединения, является перспективной темой для исследований в области целенаправленного органического синтеза.

1.3 Синтетические непланарные аналоги фаскаплизина

Основным недостатком фаскаплизина с точки зрения терапевтического использования является его высокая токсичность, предположительно обуслов-

ленная способностью интеркалировать в ДНК вследствие его планарной структуры. Это, в свою очередь, стимулировало проведение исследований в области получения селективных ингибиторов CDK-4 на основе непланарных аналогов фаскаплизина [41]. В настоящее время большинство синтетических аналогов данного алкалоида являются производными триптамина и β -карболина.

В университете Лейчестера была синтезирована серия аналогов фаскаплизина для выявления нетоксичных и высокоселективных ингибиторов CDK-4. Был получен ряд 1,3-бисиндолов на основе соединений **27** и **28** (Рис. 4). Наилучшие показатели противоопухолевой активности показало соединение **28** [42, 43]. Серия 1,3-бис-индолов с различными заместителями в обоих ароматических циклах была получена по методу Gribble с соавт. Эта группа ученых также получила 1,1-бис-индольные аналоги фаскаплизина, представленные соединениями **29** и **30** [43]. Результатом их дальнейших исследований стало открытие индолов **31** и **32** [44, 45]. Среди них соединение **31**, названное SA224, проявило наибольшую активность и было всестороннее изучено в работе [46]. Было показано, что данное соединение эффективно и селективно ингибирует комплекс Cdk-4 с циклином D1 *in vitro* и останавливает развитие опухолевых клеток на фазе G0/G1 клеточного цикла. Помимо этого оно блокирует переход между фазами G2/M, что было объяснено его способностью вызывать полимеризацию тубулина. Анализ выявил у обработанных данным препаратом клеток увеличение экспрессии белков p53, p21 и p27 и одновременное подавление синтеза циклина B1 и Cdk1. По данным предварительных биоспытаний на животных данное соединение обладает широким терапевтическим окном и перспективно для проведения клинических испытаний.

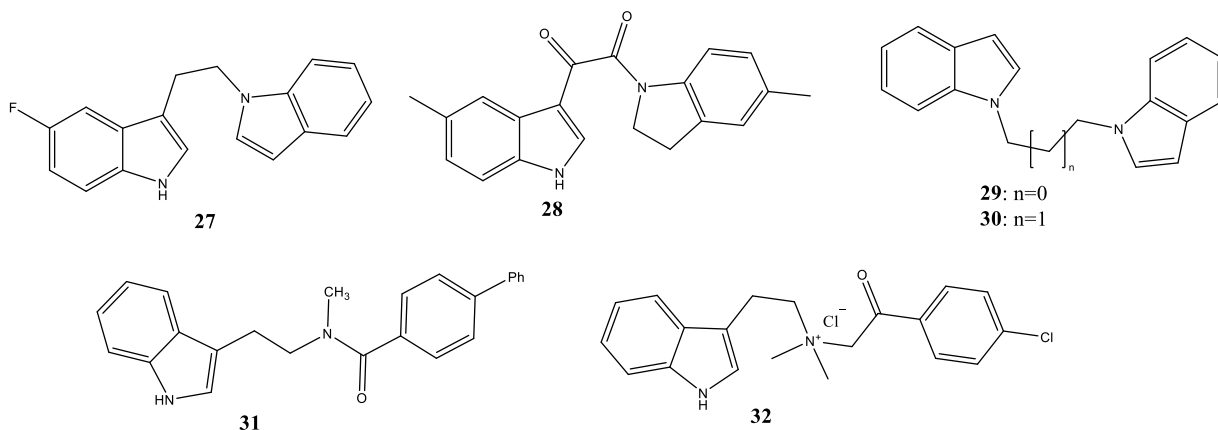


Рисунок 4 – Бис-индольные аналоги фаскаплизина **27-32**

В литературе также описан синтез *N*-замещенных β -карболинов **33-43** (Рис. 5). β -Карболин CA199 (**33**) продемонстрировал удивительную селективность в отношении CDK-4 (IC_{50} 24 μ M) по сравнению с CDK-2 (IC_{50} 766 μ M) [47, 48]. Это соединение ингибирует рост различных линий раковых клеток в диапазоне концентраций 10-40 мкМ на стадии G0-G1 клеточного цикла. Дифенильные аналоги **36, 38-40** также обладают высокой активностью и селективностью. Соединение **40** оказалось наиболее активным со значением IC_{50} 9 μ M в отношении CDK-4, что в 82 раза превышает его активность в отношении CDK-2. В работе [49] было показано, что *N*-(бифенил-2)-триптолин (ВРТ, **36a**) является наиболее перспективным соединением из представленной серии веществ и по своим свойствам близок к соединению **31**.

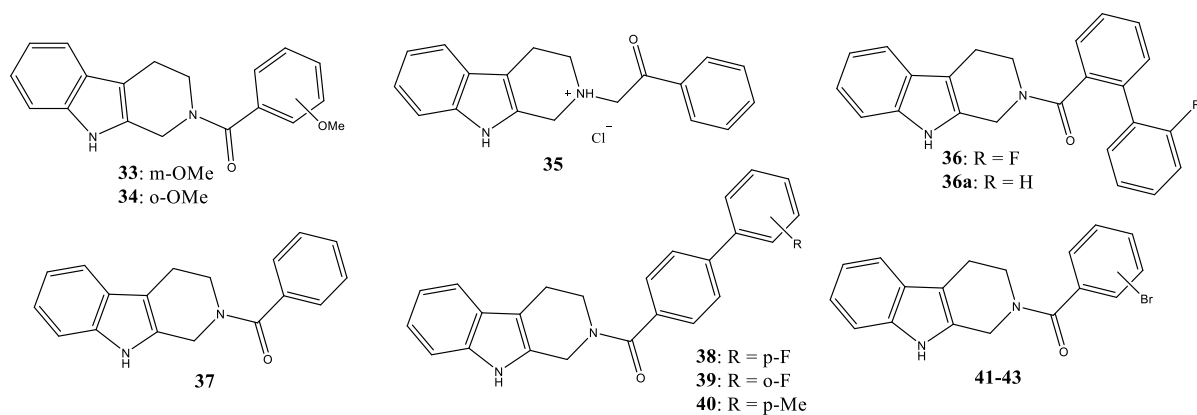


Рисунок 5 – β -Карболиновые аналоги фаскаплизина **33-43**

Несмотря на то, что синтетические непланарные аналоги фаскаплизина, обладающие заведомо меньшей токсичностью, показали свою перспективность для терапевтического применения, они все же демонстрируют гораздо меньшую биологическую активность по сравнению с фаскаплизином. Поэтому большее значение имеет получение производных фаскаплизина, сохраняющих исходный пиридоиндольный скелет. Помимо разработки принципиально новых подходов к синтезу молекулы фаскаплизина этого можно добиться еще двумя путями: применить фаскаплизин в качестве исходного соединения для целенаправленного изменения его структуры либо адаптировать существующие методы получения незамещенного фаскаплизина для использования в них разнообразных исходных соединений. С целью оценки перспективности данных подходов далее будут рассмотрены химические свойства, а также существующие методы получения фаскаплизина.

1.4 Химические свойства фаскаплизина

Химические свойства фаскаплизина являлись предметом отдельного изучения, результаты которого были опубликованы в работах [50, 51]. В рамках данного исследования были проведены реакции с широким набором оснований, нуклеофильных и электрофильных реагентов.

Так, при действии на соединение **1** оснований, включая триэтиламин, *N,N*-диизопропилэтиламин и 1,8-дiazобикарбо[5.4.0]ундецен-7 (DBU), происходит отщепление протона от индольной NH-группы с образованием его устойчивой депротонированной формы **1'** (Рис. 6).

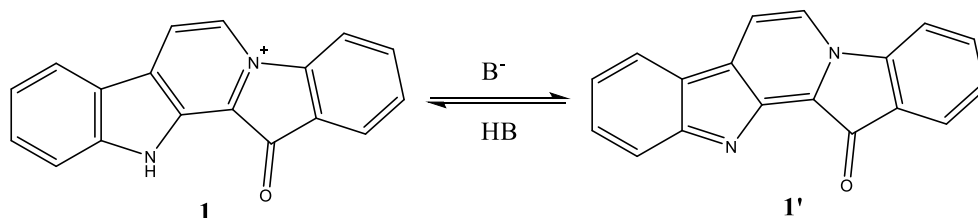


Рисунок 6 – Равновесие между фаскаплизином и его депротонированной формой **1'**

Ожидалось, что в присутствии гидроксида натрия в метаноле фаскаплизин должен таким же образом переходить в депротонированную форму **1'**. Однако в действительности наблюдалось раскрытие цикла D с образованием кислоты **44** (Рис. 7). Поскольку её метиловый эфир является ранее описанным алкалоидом ретикулатином (**16**), см. рис. 2, данное превращение фактически открывает путь синтеза алкалоидов данного типа и создает предпосылки для их получения и всестороннего изучения. Основываясь на полученных данных, было предположено, что при взаимодействии с метилатом натрия будет иметь место нуклеофильная атака в положение 13 фаскаплизина с последующим раскрытием цикла D и образованием ретикулатина. В действительности данная реакция привела к получению смеси соединений **45** и **46** - диастереоизомерных продуктов присоединения метилового спирта к пиридиновому циклу с сохранением пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндольной гетероциклической системы.

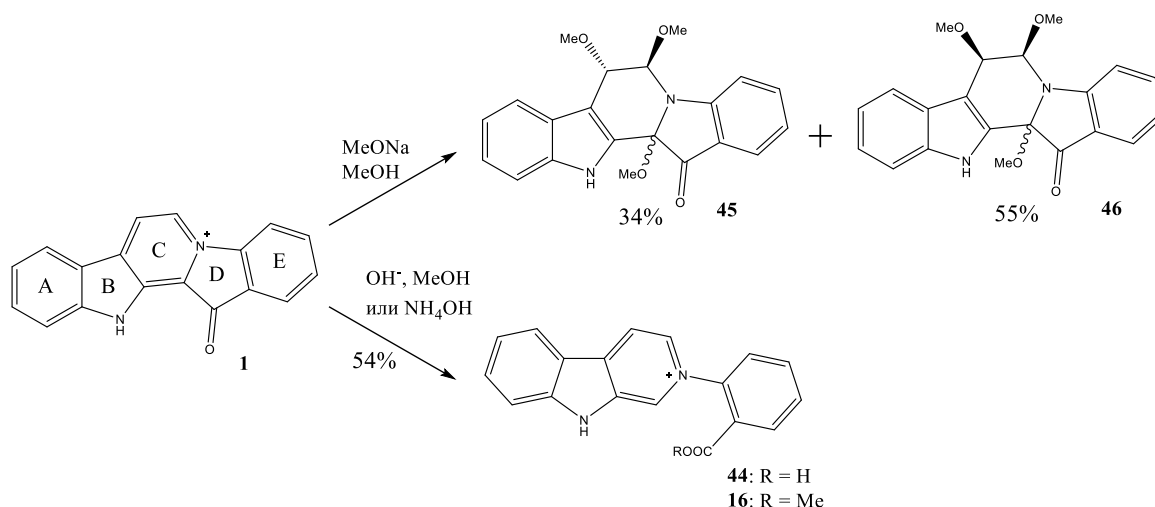


Рисунок 7 – Взаимодействие фаскаплизина с O-нуклеофилами

Реакции фаскаплизина с металлоорганическими реагентами протекают селективно по карбонильной группе с образованием третичных спиртов **47** и **48** (Рис. 8), что, в свою очередь, открывает перспективы для получения алкалоидов типа **16** и их аналогов непосредственно из фаскаплизина. При взаимодействии фаскаплизина с солянокислым гидроксиламином первоначально образуется оксим депротонированной формы фаскаплизина **49**, который находится в таутомерном равновесии с изомерным ему нитрозопроизводным **50**. При добавлении

к этой смеси соляной кислоты образуется оксим **51**, для которого подобная изомеризация невозможна. С более слабыми нуклеофилами фаскаплизин не реагирует, в частности, он не вступает в реакции Виттига и Теббе.

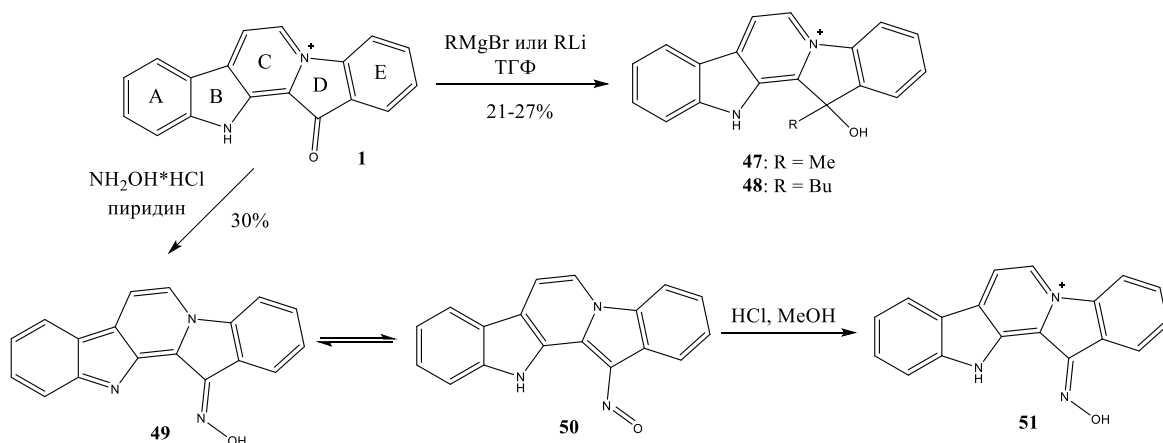


Рисунок 8 — Взаимодействие фаскаплизина с металлоорганическими соединениями и NH_2OH

Вторая часть данного исследования посвящена реакциям электрофильного замещения, которые, как предполагалось, могут быть использованы для внедрения заместителей в фаскаплизин по положениям 9 или 11 цикла А (Рис. 9а). Положительно заряженный пиридиновый атом азота в положении 5 центрального цикла, а также карбонильная группа дезактивируют большую часть молекулы фаскаплизина в отношении атаки электрофильных частиц. При этом наибольшая электронная плотность сосредоточена в цикле А за счет донорного влияния аминогруппы индольного фрагмента. Если представить фаскаплизин **1** в виде резонансных структур **1А** и **1Б** (Рис. 9а), то можно предположить, что ароматическое электрофильное замещение будет проходить по положениям 9 или 11. Квантово-химические вычисления *ab initio* подтвердили высказанные предположения.

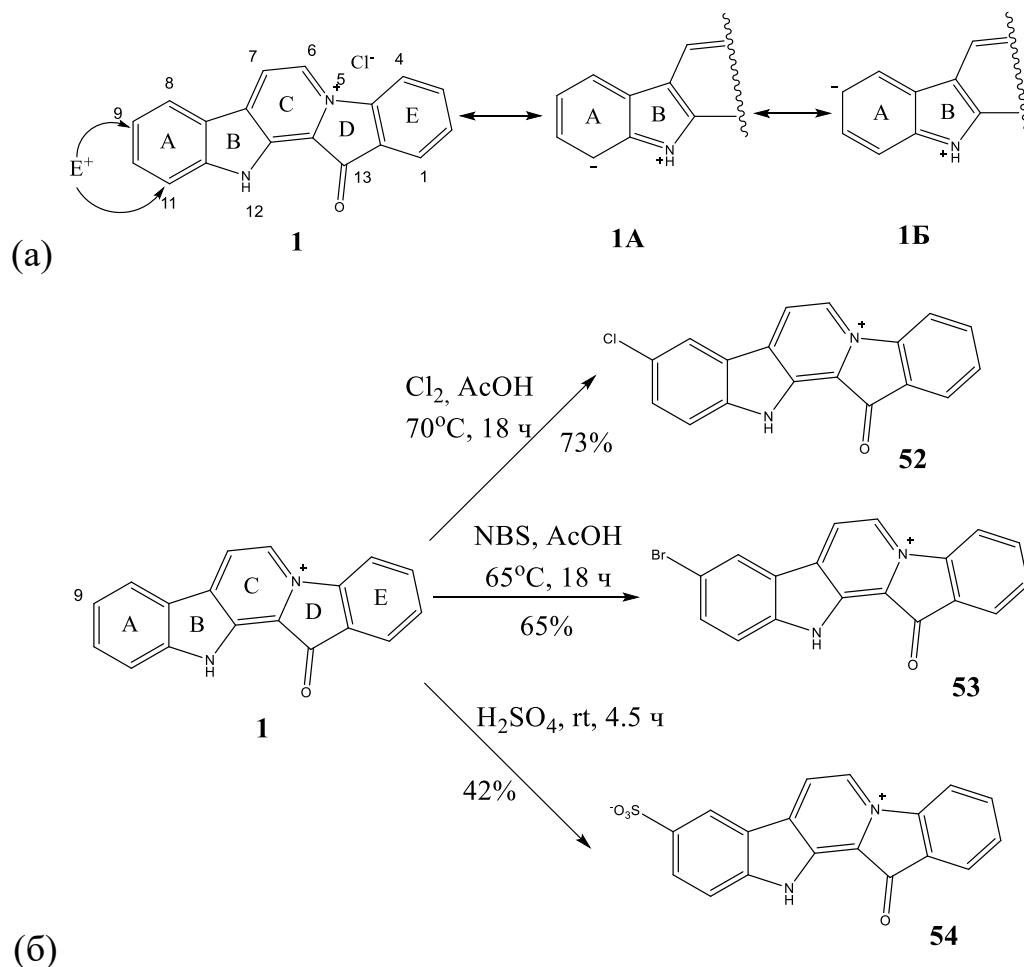


Рисунок 9 – (а) Предполагаемая схема взаимодействия фаскаплизина с электрофильными реагентами
(б) Реакции фаскаплизина с электрофильными реагентами

Галогенирование фаскаплизина было проведено под действием различных реагентов с препаративными выходами. Его хлорирование приводит к получению продукта **52**, а бромирование – соединения **53**. Сульфирование под действием концентрированной серной кислоты дает продукт **54** лишь с умеренным выходом 65%. Во всех случаях замещение происходит в положение 9 нативного алкалоида (Рис. 9б). Попытки нитрования фаскаплизина 65%-ной азотной кислотой или 65%-ной азотной кислотой в концентрированной серной кислоте приводили в разрушению исходного соединения без образования нитропроизводных. Единственным продуктом, который был получен в мягких усло-

виях под действием смеси 65%-ной HNO_3/AcOH или $\text{NO}_2^+/\text{BF}_4^-/\text{AcOH}$, был упомянутый выше 9-хлорфаскаплизин (**52**). Авторами было высказано предположение, что источником хлора в данном случае является хлорид-анион (Рис. 9б). Различные варианты проведения алкилирования или ацилирования по Фриделю-Крафтсу не привели к образованию продуктов замещения.

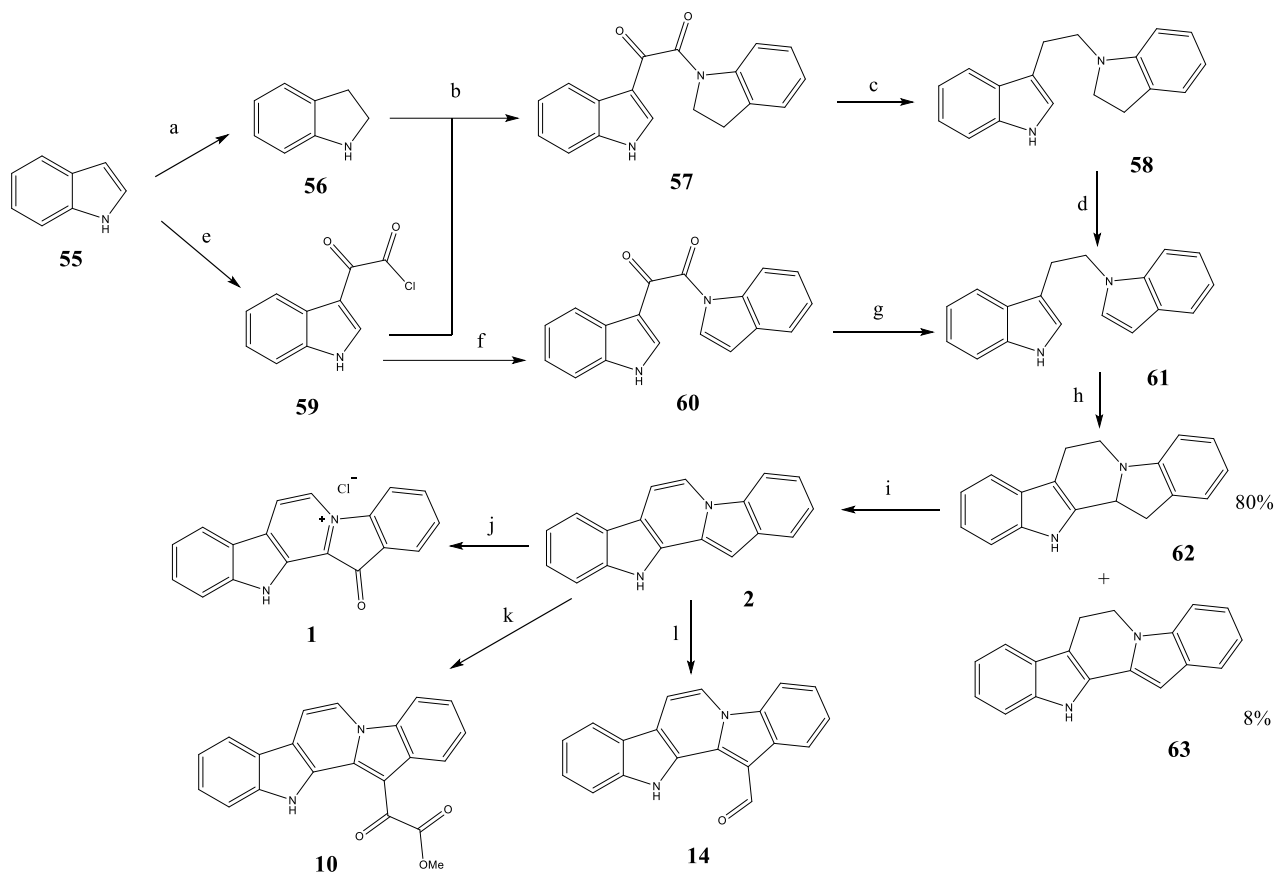
Таким образом, использование реакций ароматического электрофильного замещения для внедрения функциональных групп в центральный цикл фаскаплизина, составляющее цель данного исследования, не представляется возможным. По-видимому, для ее достижения требуется модифицировать известные или разработать принципиально новые методы синтеза молекулы фаскаплизина.

1.5 Методы синтеза фаскаплизина

Фаскаплизин и некоторые его природные производные были синтезированы несколькими способами, которых на данный момент известно более десяти.

Первый полный синтез фаскаплизина был осуществлен Gribble и Pelcman в 1992 году (Рис. 10) [52, 53]. В рамках данного подхода двумя способами исходя из индола (**55**) в три стадии через промежуточные соединения **56-60** был сформирован дииндол **61**. Ключевой стадией формирования пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндольной структуры в рамках этого подхода являлась циклизация двух индольных фрагментов в соединении **61**, которая привела к образованию двух тетрагидропиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндолов **62** и **63**. Последующая термическая обработка раствора этих соединений в высококипящем растворителе с Pd/C позволила получить незамещённый пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндол (**2**) с высоким выходом (Рис. 10). Данный полупродукт в дальнейшем был использован в качестве предшественника для синтеза как фаскаплизина под действием надуксусной кислоты, так и гомофаскаплизинов В (**10**) и С (**14**) с использованием хлористого оксалила с последующей обработкой полученного хлорангидри-

да метиловым спиртом, а также действием на соединение **2** смесью диметилформамида с POCl_3 в классических условиях реакции Вильсмейера.



Реагенты и условия: (a). NaBH_3CN , HOAc , 15°C , 94%; (b). K_2CO_3 , THF, rt, 2 ч, 93%; (c). AlH_3 , THF, rt, 1.25 ч, 97%; (d). MnO_2 , CHCl_3 , Δ , 4 ч, 99%; (e). COCl_2 , Et_2O , 5°C , 92%; (f). Индол, NaN , THF, DMF, rt, 1.5 ч, 86%; (g). $\text{NaBH}_3\text{OCOCF}_3$, THF, Δ , 20 ч, 60%; (h). TFA, rt, 0.5 ч, 80%; (i). Pd/C, $(\text{EtOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$, Δ , 6 ч, 93%; (j). $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$, THF, 0°C , HCl, EtOH, 85%; (k). $(\text{COCl})_2$, MeOH, 99%; (l). POCl_3 , DMF, 88%.

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

Ключевой полупродукт **61** был получен в четыре стадии исходя из индола (**55**) с суммарным выходом 82 %. Позднее, в работе 2013 года данная стратегия была использована для получения ряда аналогов гомофаскаплизинов В (**11**) и С (**14**) [54] (Рис. 11). Ключевой стадией синтеза являлась фотохимическая циклизация аддуктов **65a-i**, полученных конденсацией 3-ацил-2-хлориндолов **63a-f** с производными 3-(2-бромэтил)индола **64a-c**. В дальнейшем при увеличении времени проведения реакции происходило дегидрирование полупродуктов

66a-i с образованием продуктов **10**, **14** и **67a-g**, однако лучшие результаты были получены при проведении завершающей стадии под действием DDQ при комнатной температуре. Использование данных методов для получения производных фаскаплизина по центральному циклу не представляется возможным в связи со сложностью модификации структуры боковой цепи индолов, на основе которых происходит формирование пиридинового цикла алкалоида.

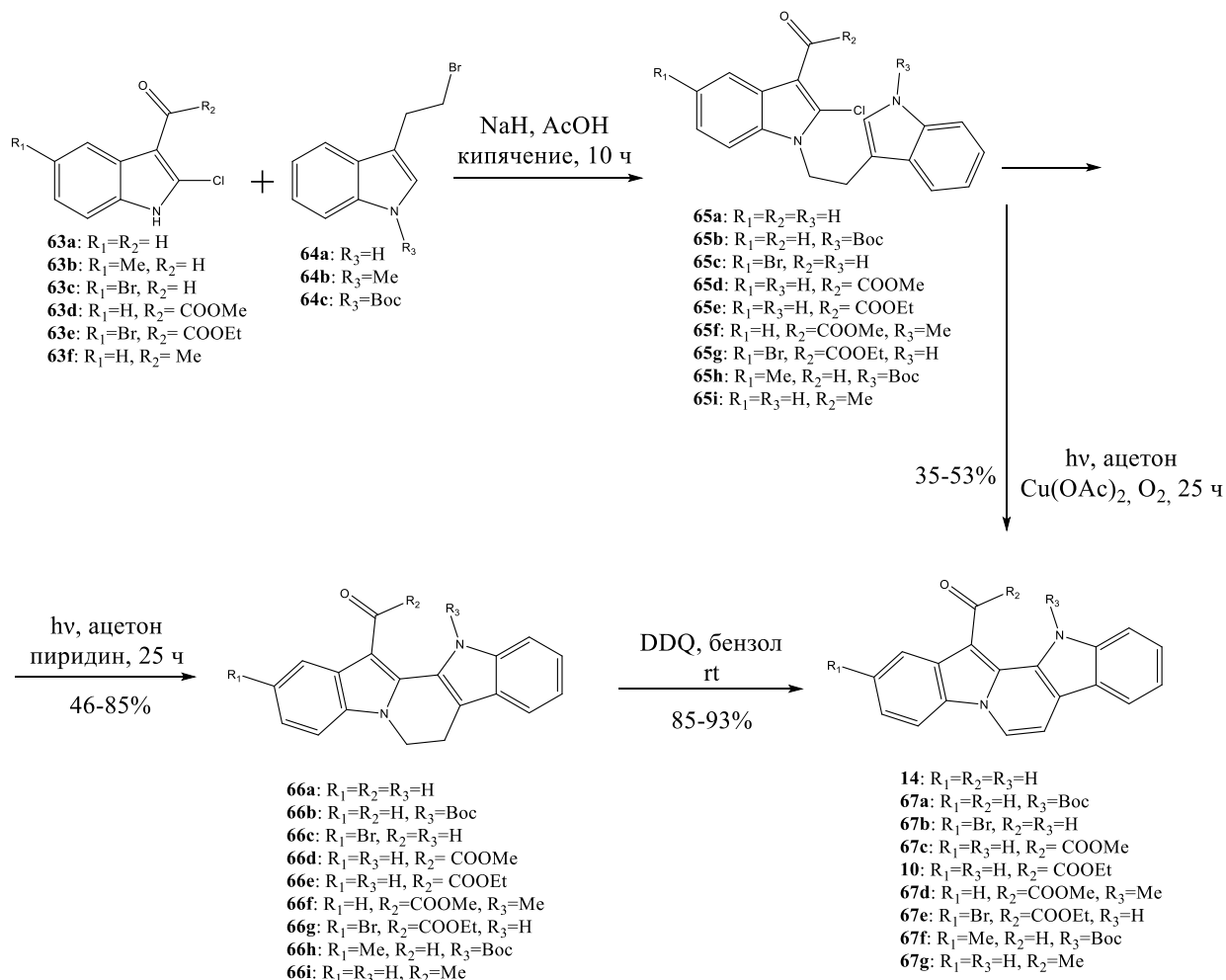
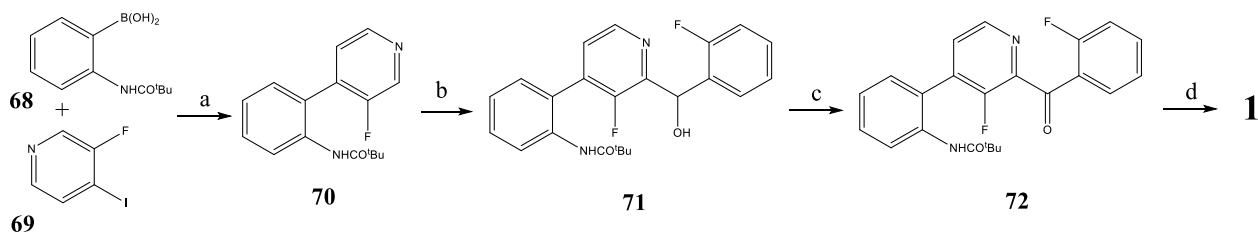


Рисунок 11 – Получение серии аналогов алкалоидов **10** и **14**

Росса с соавт. предложили другой способ синтеза фаскаплизина (Рис. 12) [55]. Катализируемое трифенилфосфинпалладиевым комплексом кросс-сочетание арилборной кислоты **68** и пиридина **69** привело к получению продукта **70**. Далее, региоселективное металлирование этого соединения бутиллитием и последующая реакция полученного литиевого производного с 2-фторбензальдегидом позволили синтезировать трёхзамещённый пиридин **71**.

Наконец, после окисления гидроксильной группы данного соединения до карбонильной группы под действием диоксида марганца (IV) и последующей двойной циклизации нагреванием полученного продукта **72** при 170 °С в присутствии гидрохлорида пиридиния образовался фаскаплизин с суммарным выходом 70%. Несмотря на малое число стадий, высокие выходы на отдельных этапах, а также, в целом, привлекательную стратегию формирования скелета фаскаплизина из трех структурных блоков, использование данного метода ограничивают недоступность широкого набора производных *o*-аминофенилборных кислот, сложность получения тризамещенных пиридинов, позволивших бы внедрить заместители в центральный цикл фаскаплизина, а также применение на второй стадии высокоактивного бутиллития, что дополнительно ограничивает возможность введения многих функциональных групп в структуру фаскаплизина.

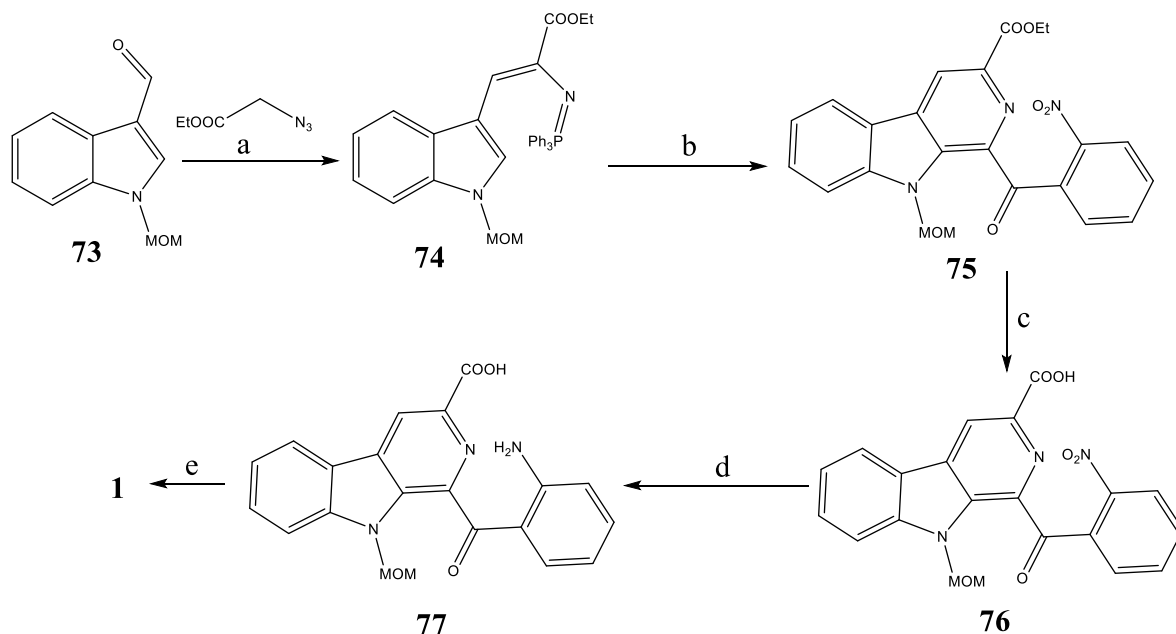


Реагенты и условия: (a). Pd(PPh₃)₄/ 2M K₂CO₃, толуол, reflux, 48 ч, 98%; (b). BuLi, ТГФ, 2-F-PhCHO, 1 ч, -75 °С, 95%; (c). MnO₂, толуол, reflux, 2 ч, 99%; (d). Пиридин, HCl, 170°С, 10 мин, NH₄OH, лед, 76%.

Рисунок 12 – Синтез фаскаплизина (**1**) по Росса с соавт.

В 1994 году Molina с соавт. реализовали новый метод синтеза фаскаплизина исходя из соединения **74** (получен путем конденсации защищенного по азоту 3-формилиндола (**73**) с этиловым эфиром иминофосфоранилуксусной кислоты) и *o*-нитрофенилглиоксаля (Рис. 13) [56]. В ходе последующей трансформации сложноэфирная группа в продукте **75** была гидролизована, а нитрогруппа восстановлена до аминогруппы. Далее действием на образовавшееся соединение **77** азотистой кислоты была получена соответствующая diazonиевая соль, нагревание которой в метаноле привело к образованию фаскаплизина. Данная схема не позволяет получить производные фаскаплизина по нужным

положениям, поскольку она включает непосредственное формирование центрального цикла из предшественников и для введения заместителя требуется принципиальное изменение структуры реагентов на ключевой стадии.

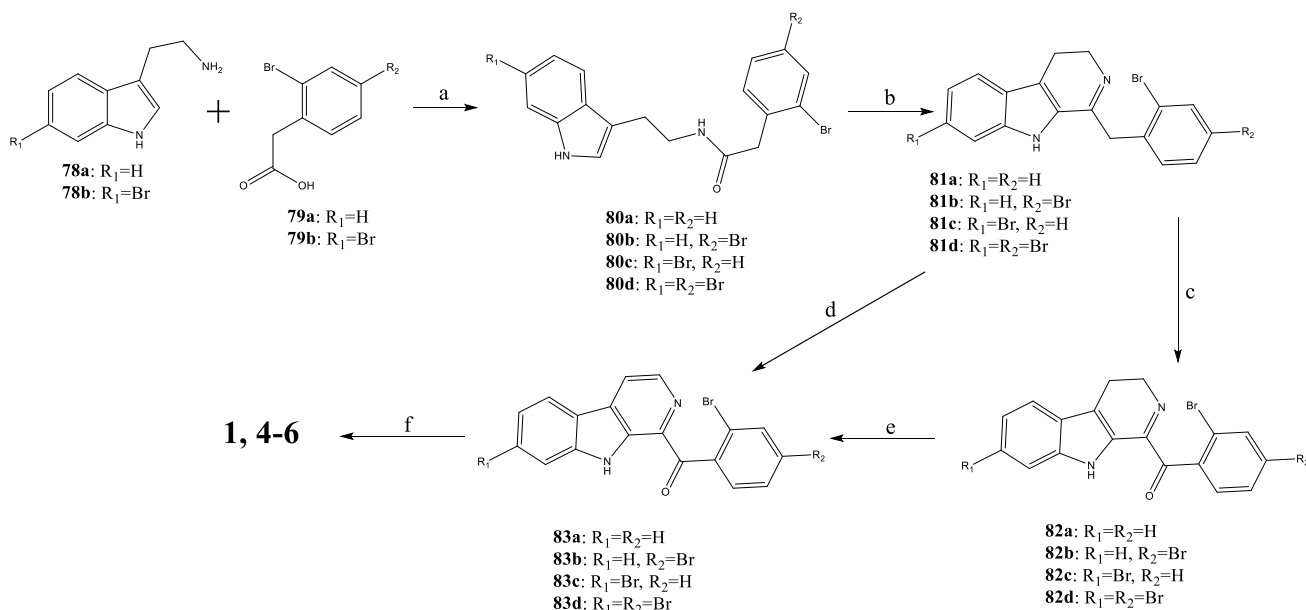


Реагенты и условия: (a). PPh_3 ; (b). $\text{C}_6\text{H}_4(\text{o-NO}_2)\text{COCHO}$, толуол, 160°C , 60-65%; (c). LiOH , $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, rt , количественный выход; (d). H_2 , PtO_2 , MeOH , 80%; (e). NaNO_2 , $\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$, HCl , 0°C 45 мин \rightarrow reflux 60 мин, 60%.

Рисунок 13 – Схема синтеза фаскаплизина по Molina с соавт.

Следующий метод синтеза фаскаплизина был предложен в 1997 году О. С. Радченко с соавт. [57]. В рамках данного метода (Рис. 14) на первом этапе было проведено ацилирование триптамина (**78a**) *o*-бромфенилуксусной кислотой (**79a**), что привело к получению амида **80a**, содержащего все 18 атомов углерода, необходимых для формирования структуры фаскаплизина. Последующие стадии синтеза направлены на трансформацию полученной «заготовки» в алкалоид **1**: циклизация Бишлера-Напиральского обеспечила получение дигидро- β -карболина **81a**, далее окисленного оксидом марганца (IV) до α -ацил- β -карболина **83a**. Позднее авторами работы [58] аналогичным образом была получена серия замещенных 1-бензоил- β -карболинов, при этом в качестве окислителя ими был использован молекулярный кислород под действием ультрафиолетового излучения. Последующая высокотемпературная кватернизация со-

единения **83a** приводила к замыканию цикла D фаскаплизина. Суммарный выход соединения **1** составил при этом 44%. Данная стратегия построения системы фаскаплизина оказалась весьма удачной и была использована в дальнейшем для разработки улучшенных вариантов его синтеза, а также для получения некоторых производных фаскаплизина. В частности, в 2007 г. Жидков с соавт. [59] синтезировали бромфаскаплизины **4-6**, применив данный синтетический путь и использовав 6-бромтриптамин (**78b**) как исходное соединение (Рис. 14). На основании этого можно предположить, что использование триптамина, замещенного по α или β -положениям боковой цепи, может привести к формированию фаскаплизинового скелета, содержащего функциональные группы в центральном цикле. Однако, последующие стадии, предполагающие окисление промежуточных продуктов, значительно ограничивают разнообразие вводимых радикалов.



Реагенты и условия: (a). Тетралин, азеотропная перегонка, 40 мин, 83% для **80a**; DCC, CH_3CN , reflux, 0.5 ч, 88-89% для **80b-80c**; (b). $POCl_3$, PhH (или CH_3CN), reflux, 0.5 ч, 68%; (c). MnO_2 , $CHCl_3$, 3 ч, 94%; (d). MnO_2 , $CHCl_3$, reflux 15 мин, rt 3 ч, 86%; (e). MnO_2 , $CHCl_3$ (или PhH), reflux, 3 ч, 91%; (f). 220 °C, 20 мин, $HCl/MeOH$, 90%.

Рисунок 14 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) по Радченко с соавт. и бромфаскаплизинов **4-6** по Жидкову с соавт.

S. V. Bharate с соавт. в 2012 году [60] реализовали на основе подхода Радченко двухстадийный способ синтеза фаскаплизина путем кипячения смеси

триптамина (**78a**) с *o*-хлорфенилглиоксалем (**84**) в присутствии палладия на углеороде (Рис. 15). В данном случае реализуется стратегия «one pot»: сначала из исходных соединений происходит образование соответствующего имида, последний в условиях кислотного катализа циклизуется по Пикте-Шпенглеру в дигидро- β -карболин, который затем дегидрируется в β -карболин **85**. На второй стадии проводится кватернизация полупродукта **85** аналогично описанной в статье [56].

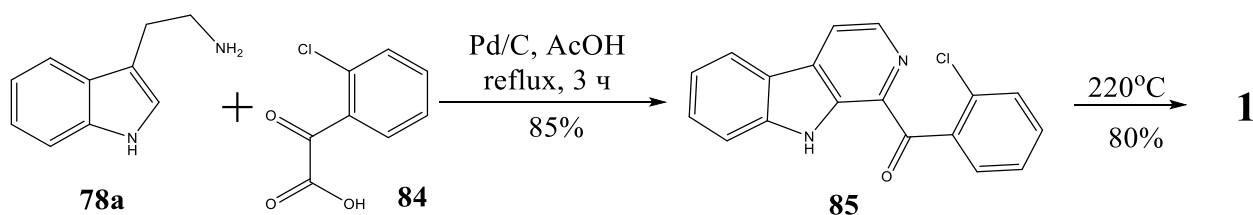


Рисунок 15 – Получение фаскаплизина (**1**) из триптамина (**78a**) по Bharate с соавт.

Апофеозом развития рассматриваемой стратегии можно считать работу китайских авторов [61], которые разработали общий метод синтеза широкого набора замещенных изохинолинов и β -карболинов путем нагревания в растворе ДМСО соответствующих аминов, ацетофенонов и молекулярного йода в присутствии пероксида водорода в качестве окислителя, что привело к разработке нового двухстадийного метода синтеза фаскаплизина исходя из триптамина (**78a**) и *o*-бромацетофенона (**86**), представленного на Рисунке 16.

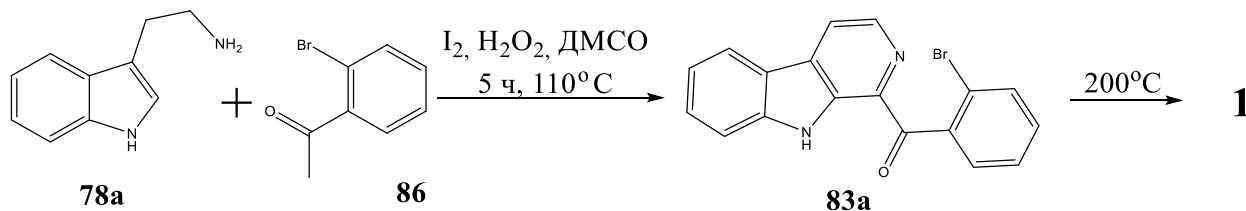
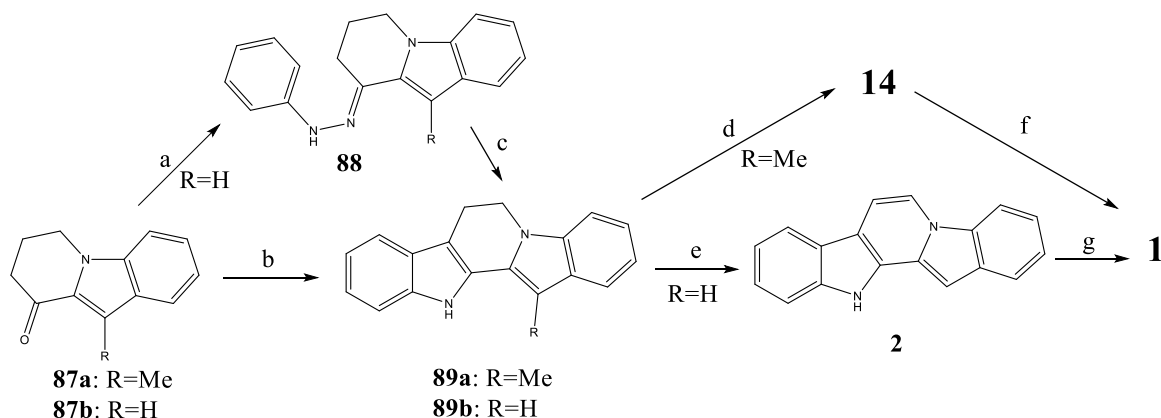


Рисунок 16 – Получение фаскаплизина (**1**) из триптамина (**78a**) и *o*-бромацетофенона (**86**)

Данная методика выглядит наиболее привлекательной для получения производных фаскаплизина по центральному циклу поскольку позволяет реали-

зывать целую последовательность стадий превращения триптамина в замещенный β -карболин в рамках одной экспериментальной процедуры.

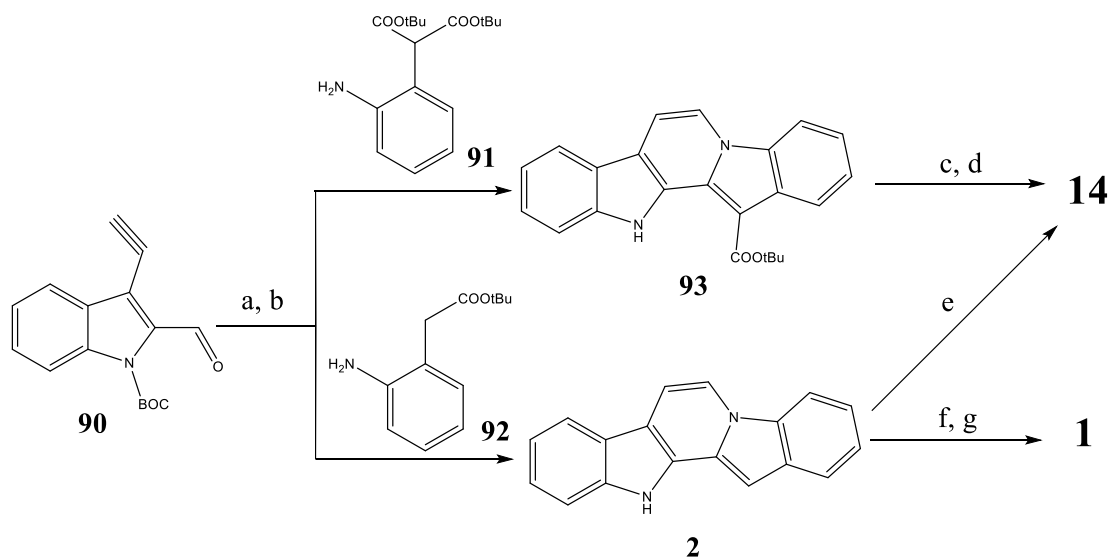
Одновременно с Радченко в 1997 году Дубовицкий С. В. предложил принципиально иной подход к получению замещенных пиридоиндолов и осуществил в рамках него синтез гомофаскаплизина С (**14**) исходя из 3-метилендола [62]. В данном случае скелет базовой системы был сформирован в результате реакции Фишера между индолокетоном **87a** и солянокислым фенилгидразином в кипящей уксусной кислоте (Рис. 17). При кипячении промежуточного продукта **89a** в диоксане с 2,3-дихлор-5,6-дициано-*n*-бензохиноном (DDQ) происходило одновременное дегидрирование и окисление метильной группы до формильной, что приводило к получению целевого продукта **14**. Жидков с соавт. [63] сообщили о новом способе синтеза фаскаплизина, который является дальнейшим развитием данного метода. Интермедиат **89b** был получен из индолокетона **87b** и дегидратирован над катализатором Pd/C. Обработка соединения **14** 3-хлорпербензойной кислотой или действие на соединение **2** надуксусной кислотой привели к образованию фаскаплизина, что явилось первым примером конверсии одного представителя серии фаскаплизиновых алкалоидов в другой. Возможность применения данного метода к цели этой работы маловероятна по двум причинам: многостадийное получение исходного индолокетона и, как следствие, сложность его модификации, а также достаточно жесткие условия дальнейших превращений.



Реагенты и условия: (a). Ph-NHNH₂, HCl, EtOH, 2 ч, 78%; (b). Ph-NH-NH₂, HCl, AcOH, Δ, 4 ч, 91%; (c). TsOH, PhH, Δ, 20 мин, 60%; (d). DDQ, 1,4-диоксан, Δ, 2 ч, 50%; (e). Pd/C, (EtOCH₂CH₂)₂, Δ, 6 ч, 75%; (f). m-CPBA, EtOAc, 24 ч, 67%; (g). CH₃CO₃H, MeOH, 0 °C, 45 мин, 85%

Рисунок 17 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) и гомофаскаплизина С (**14**) из индолокетонов **87**

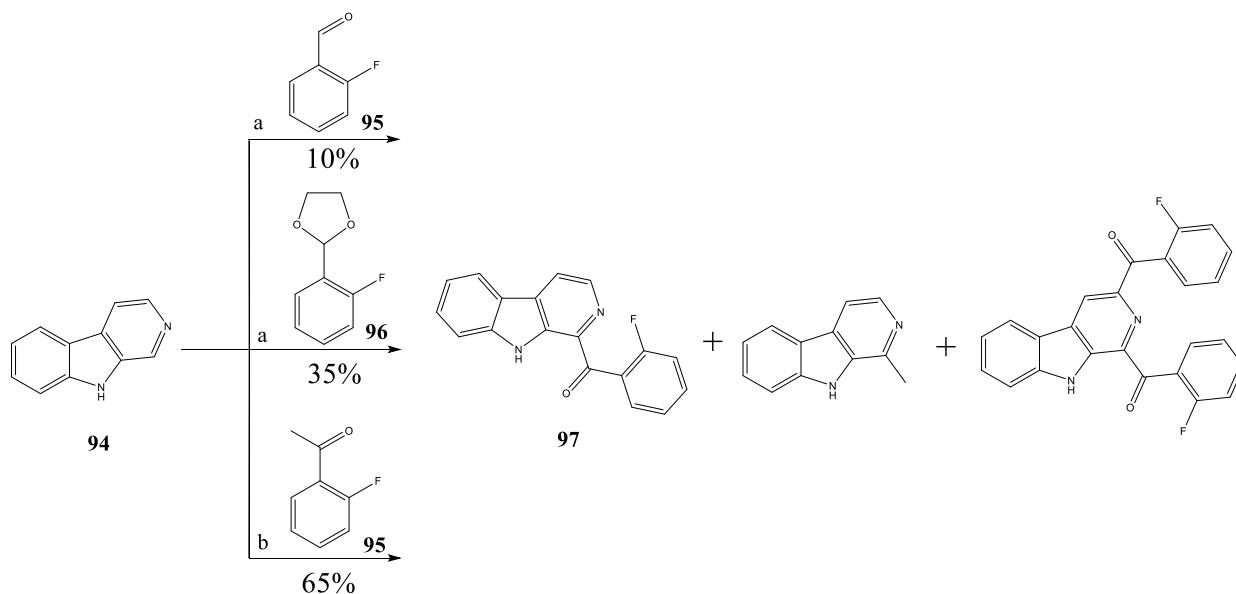
В работе 2010 года был реализован еще один подход к формированию системы пиридо[1,2-*a*: 3,4-*b*]дииндола (Рис. 18) [64]. В рамках данного метода исходным соединением являлся защищенный по NH-группе 3-этилилиндол-2-карбальдегид (**90**), который подвергали микроволновому облучению в смеси с анилином **91** в присутствии трифлата серебра, что позволило сразу получить пентациклический продукт **93**. Восстановление сложноэфирной группы в данном соединении до альдегидной под действием генерированного *in situ* диизобутилпиперидиногидроалюмината лития привело к синтезу гомофаскаплизина С (**14**). При использовании на первой стадии анилина **92** образовался незамещенный пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндол (**2**), из которого, как отмечалось выше (Рис. 10), в одну стадию можно перейти к гомофаскаплизину С или фаскаплизину. Данная синтетическая схема не представляет интереса в рамках данной работы, что связано с ключевой ролью ацетиленового фрагмента соединения **90** в формировании пиридоиндольного скелета.



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

Рисунок 18 – Схема синтеза фаскаплизина (1) и гомофаскаплизина С (14) по Waldman с соавт.

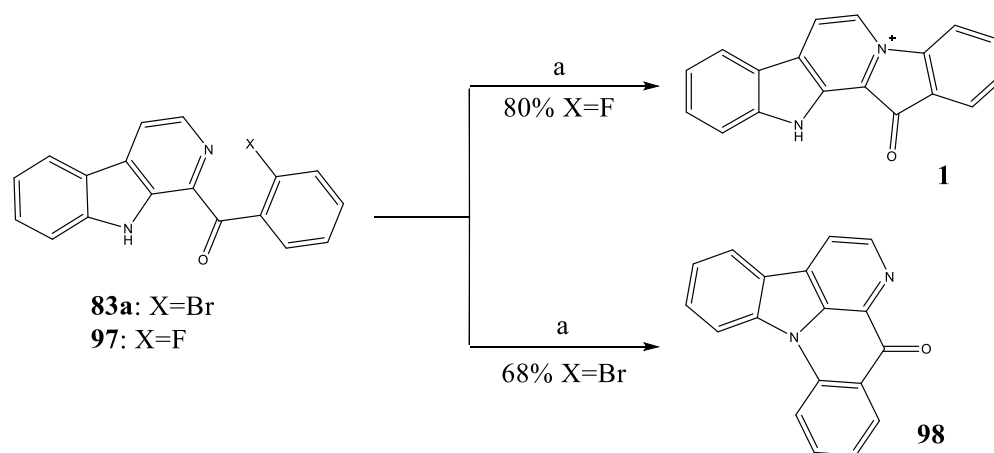
В публикации Жидкова и Каминского 2013 года описан двухстадийный синтез фаскаплизина исходя из незамещенного β-карболина **94** путем его ацилирования по положению 1 с использованием реакции Минисци [65]. Для генерации нуклеофильных частиц использовали как альдегид **95**, так и глиоксаль **96** под действием *трет*-бутилгидропероксида в присутствии солей железа (II), но это не привело к удовлетворительному выходу целевого продукта. Использование микроволнового излучения для инициации радикального распада позволило получить продукт **97** со значительно более высоким выходом (Рис. 19).



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

Рисунок 19 – Схема синтеза 1-(2-фторбензоил)-β-карболина (**97**) под действием микроволнового излучения

На завершающей стадии синтеза предстояло провести циклизацию β-карболина **97**. При простом нагревании данного соединения до 220°C происходило осмоление реакционной смеси, при этом целевой фаскаплизин не образовывался. Введение в смесь каталитических количеств гидрохлорида пиридиния по аналогии со статьей [55] позволило получить фаскаплизин с выходом 80% (Рис. 20).



Реагенты и условия: (a) Py·HCl, 200-220 °C, 40 мин; (b) DBU, DMF, reflux, 3 ч.

Рисунок 20 – Циклизация соединений **83a** и **97** в различных условиях

В присутствии сильного основания происходила депротонизация индольного атома азота, что позволило осуществить циклизацию соединения **97** по альтернативному направлению с образованием производного неизученной гетероциклической системы **98**. Этот метод нецелесообразно использовать в рамках данной работы при использовании замещенных β -карболинов в качестве исходных соединений, однако синтез таких β -карболинов, в свою очередь, предполагает получение замещенных триптаминов, которые целесообразнее использовать в рамках ранее описанного мультикомпонентного синтеза, разработанного китайскими авторами (см. стр. 36 [61]).

Исходя из анализа приведенных методов синтеза фаскаплизина и родственных ему соединений, можно сделать вывод о том, что наиболее подходящим для цели данной работы является двухстадийный метод Zhu с соавт. [61], предполагающий использование триптамина в качестве исходного соединения. Исходя из этого, в случае использования соответствующих замещенных триптаминов в рамках данного подхода можно ожидать получения серии производных фаскаплизина по центральному циклу.

1.6 Способы синтеза пиридоиндольной системы

В заключительной части обзора целесообразно рассмотреть описанные в литературе способы формирования системы пиридо[1,2-*a*: 3,4-*b*]дииндола, которые потенциально могут быть использованы для синтеза производных фаскаплизина, содержащих заместители в центральном цикле базовой молекулы.

В этой связи особым потенциалом обладает структура известного красителя индиго (**99**), так как представляет составную часть молекулы фаскаплизина, охватывающую ее бисиндольный фрагмент. Исходя из этого, достраивание лишь одного дополнительного цикла к данному соединению приведет к образованию промежуточных продуктов, содержащих пентациклическую систему, необходимую для последующей конверсии в производные фаскаплизина. Это, в свою очередь, открывает наиболее короткий из возможных путей синтеза производных соединения **1** с заместителями, расположенными в положениях 6 и 7,

из этого легкодоступного и дешевого красителя. После анализа литературы была найдена методика, позволяющая в одну стадию провести циклизацию индиго [66, 67]. В качестве реагентов авторы использовали метиленактивные соединения, а именно диэтиловый эфир малоновой кислоты (**101**) и этиловый эфир фенилуксусной кислоты (**100**). Реакция проводилась в довольно жестких условиях: кипячение в нитробензоле в присутствии гидроксида натрия в течение шести часов с получением соединений **102** и **103** (Рис. 21). Значительно позже методика получения этих соединений была улучшена на кафедре органической химии ИХПЭ ДВГУ (Рис. 21) [68] и представляла собой кипячение раствора реагентов в ДМФА в течение 30 минут. В качестве основания был использован гидрид натрия.

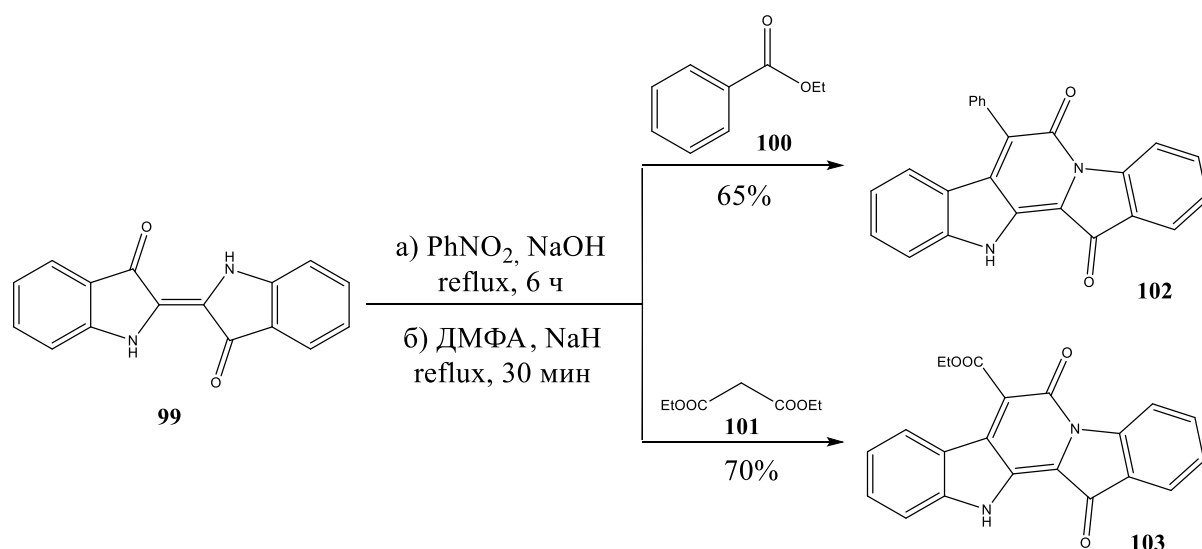
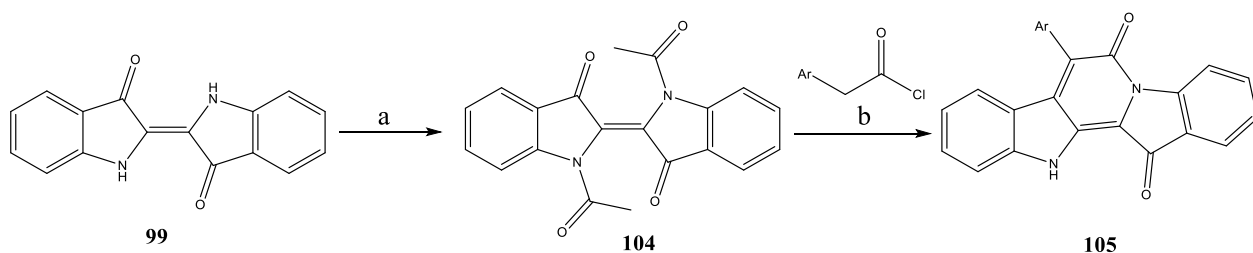


Рисунок 21 – Схема синтеза замещенных по положению 7 1,6-диоксо-1,2H-пиридо[1,2-а; 3,4-б']дииндолов (**102**, **103**): а) по Познеру [66, 67]; б) согласно методике [68]

В этой связи также стоит отметить работу 2016 года Kolaczowski с соавт. [69]. Целью авторов было получение фотополимеров на основе индиго. На одном из этапов были получены вещества, подобные соединениям **102** и **103** (Рис. 22). Существенным отличием данной работы является использование *N*-ацилированного индиго в качестве исходного соединения. Данное вещество обладает повышенной растворимостью в органических растворителях по сравне-

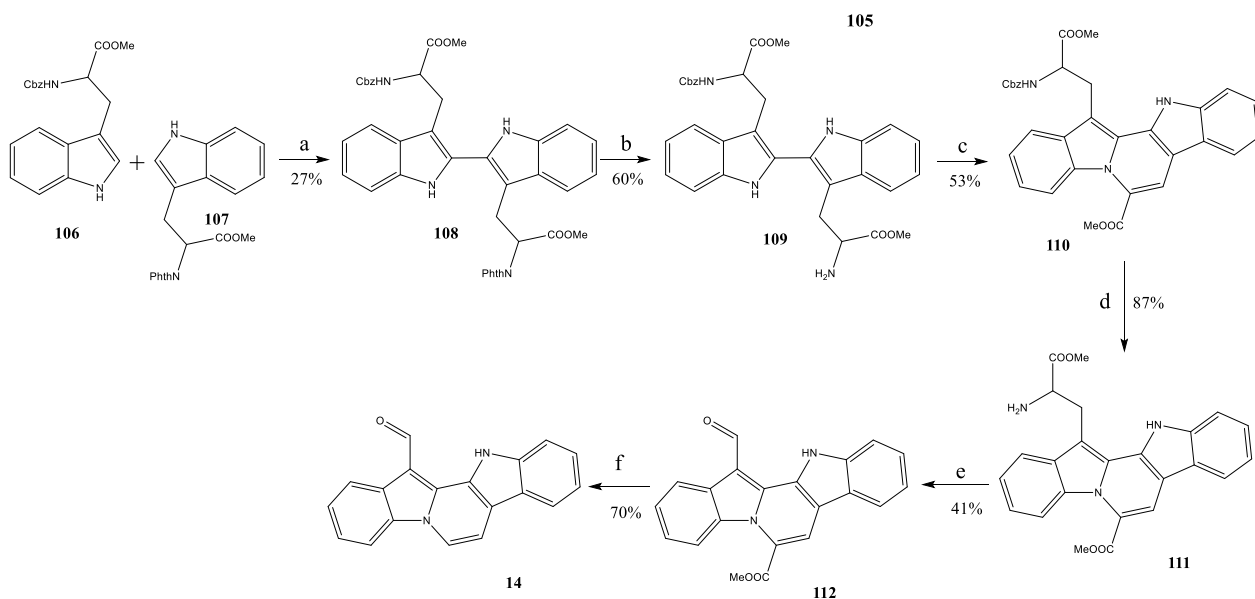
нию с индиго. Полученное производное индиго вводилось в реакцию с несколькими хлорангидридами производных фенилуксусной кислоты с формированием замещенных пиридодиндолов. Ограничением данного метода является возможность использования только хлорангидридов, обладающих высокой СН-кислотностью.



Реагенты и условия: а) Ac_2O , AcOH , 140°C , 12 ч, б) диоксан, 115°C , 12 ч

Рисунок 22 – Формирование целевой пиридодиндольной системы (105) с использованием *N, N*-диацилированного индиго (104)

Исходя из существующих представлений о биосинтезе фаскаплизиновых алкалоидов (см. стр. 13, Рис. 3), сочетание по второму положению двух молекул 3-замещенных индолов с последующим формированием центрального цикла путем внутримолекулярной циклизации на боковую цепь одного из заместителей является начальным этапом получения целевой пентациклической системы пиридо[1,2-*a*; 3,4-*b*]дииндола с последующей структурной модификацией. Принимая во внимание доступность широкого набора замещенных по положению 3 алкилиндолов, представляется целесообразным изучить данное синтетическое направление как перспективный путь получения целевых производных фаскаплизина. В литературе имеются сведения об успешном применении данного подхода к синтезу алкалоида гомофаскаплизина С (14) исходя из продукта димеризации производного триптофана 106 [70] (Рис. 23).



Реагенты и условия: а) 1) ТГФ, rt; 2) 2,3-Дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинон (DDQ), 1,4-диоксан, 0°C→rt; б) 80% гидразин гидрат, CH₂Cl₂/MeOH, rt. в) 1) ZnSO₄, CHOCOONa·H₂O, MeCN/ацетатный буфер, rt, 2) ТГФ, 1,4-диоксан, 100°C; д) BF₃·Et₂O, EtSH, rt; е) CuSO₄, CHOCOONa·H₂O, MeCN/ацетатный буфер, O₂, rt; ф) 1) NaOH, MeOH/H₂O/DMCO, 40°C, 2) 200°C

Рисунок 23 – Биомиметический синтез гомофаскаплизина С (**14**) [70]

Помимо этого, описана реакция димеризации производных индолил-3-уксусной кислоты, таких как соединение **113**, под действием трифторуксусной кислоты и дальнейшая внутримолекулярная циклизация полученного 2,2'-бисиндола **114** до пиридодиндола **115** (Рис. 24) [71]. Последнее соединение потенциально может быть использовано для получения замещенных по положению 6 фаскаплизинов.

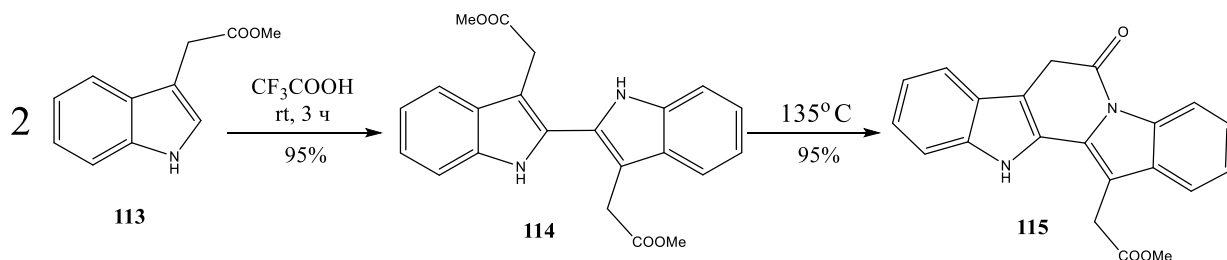


Рисунок 24 – Синтез пиридодиндольной системы (**115**) по Bergman с соавт. [71]

Таким образом, можно констатировать, что для получения производных фаскаплизина по центральному циклу можно использовать различные стратегии, три из которых были достаточно подробно изучены в рамках данного ис-

следования: синтез пиридоиндольного скелета фаскаплизина на основе бисиндолов, полученных кросс-сочетанием соответствующих замещенных индолов; конденсация индиго с метиленактивными соединениями и последующая конверсия полученных соединений в производные фаскаплизина; адаптация метода Zhu для соответствующим образом замещенных триптаминов.

2 Обсуждение результатов

2.1 *Подход к синтезу фаскаплизинов с использованием замещенных индолов в качестве исходных соединений*

Как уже было отмечено ранее, существует метод синтеза пиридодиндольных систем путем внутримолекулярной циклизации симметричного 2,2'-бис-индола, полученного димеризацией триптофана. Применительно к данной работе необходимо использование двух различных производных индола из-за несимметричной структуры фаскаплизина, что на этапе кросс-сочетания может привести к образованию смеси целевых соединений и продуктов гомодимеризации исходных индолов. Следовательно, перед нами стояла задача изучения возможности получения несимметричного бис-индола с приемлемым выходом. Было предположено, что один из компонентов должен содержать хорошую уходящую группу в качестве заместителя для последующей ароматизации продукта кросс-сочетания, а второй – оксоэтильный фрагмент в качестве заместителя в третьем положении для последующей конденсации и формирования целевой гетероциклической системы. Несмотря на это, на начальном этапе в качестве второго компонента было решено использовать легкодоступный этиловый эфир индолил-3-уксусной кислоты (**115**) как модель для отработки на его основе схемы получения целевых соединений. В качестве отправной точки на начальном этапе исследований были взяты методики авторов работы [71].

2.1.1 *Взаимодействие этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (115) и 3-ацетоксииндола (116)*

В качестве соединения, содержащего хорошую уходящую группу, был выбран 3-ацетоксииндол (**116**). Предполагалось, что взаимодействие соединений **115** и **116** будет протекать по механизму, представленному на Рис. 25.

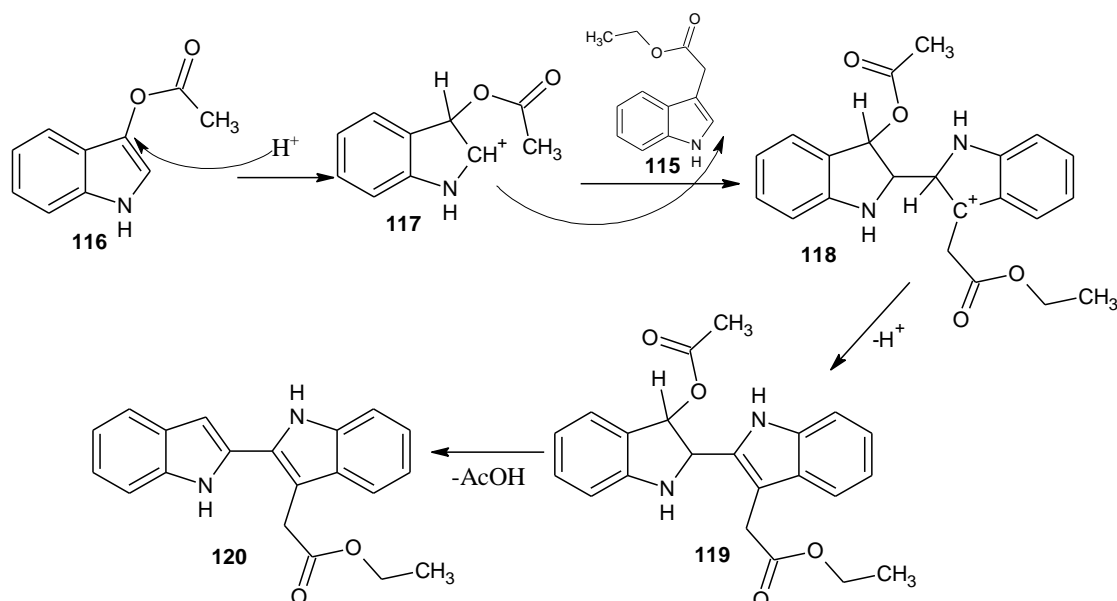


Рисунок 25 – Ожидаемый механизм взаимодействия этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (115) и 3-ацетоксииндола (116)

На основании данных ЯМР ¹H-спектра (Рис. 26) полученного продукта было сделано предположение, что в результате реакции был получен не 2,2'-, а 2,3'-бис-индол (соединение 124), что подтверждается сигналом протона при C2 (Рис. 26) в области 6.75 м.д (д, J = 1.5).

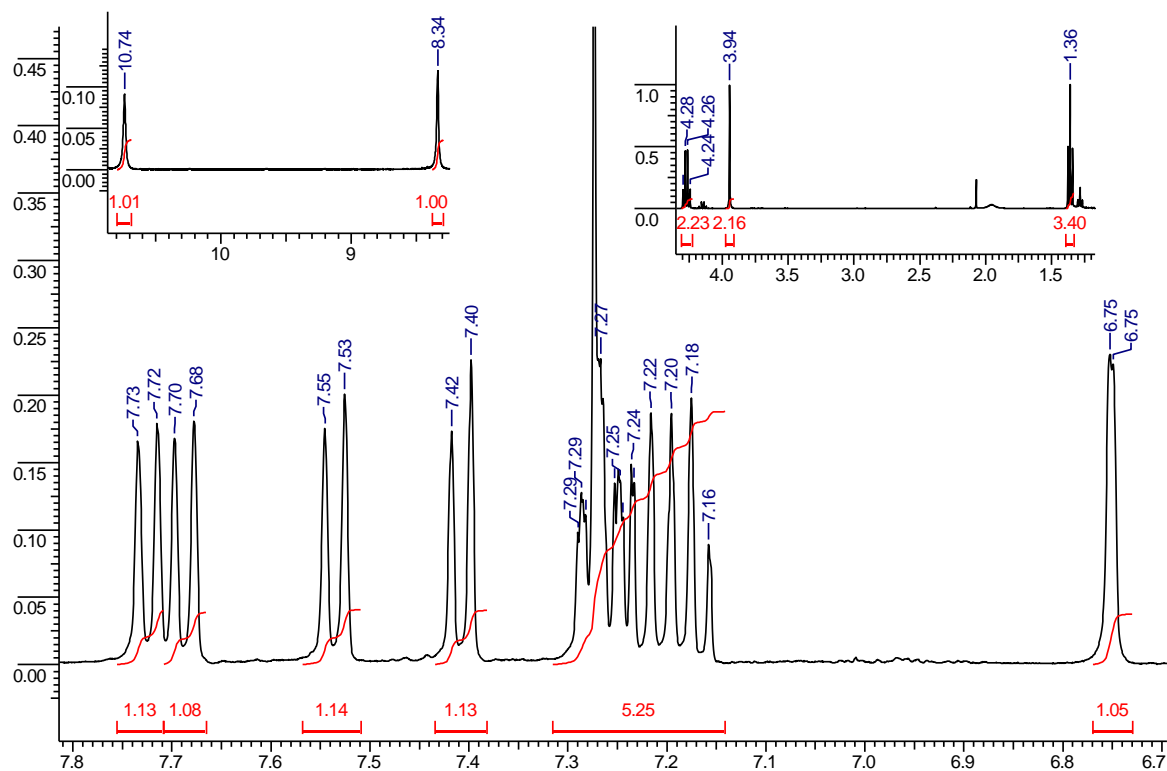


Рисунок 26 – ЯМР ¹H-спектр соединения 120

Был предложен механизм образования 2,3'-бис-индола **124** (Рис. 27). По-видимому, такой характер процесса объясняется тем, что катион **121** стабильнее катиона **117**. Катион **117** стабилизируется неподеленной электронной парой азота, в то время как **121** - неподеленной электронной парой кислорода, а также сопряжением с ароматическим ядром. Из чего был сделан вывод: для смещения реакции в направлении образования 2,2'-бис-индолов необходимо использовать производное индола с заместителем, обладающим меньшим стабилизирующим эффектом на катионы типа **121**, образующийся при протонировании по второму положению.

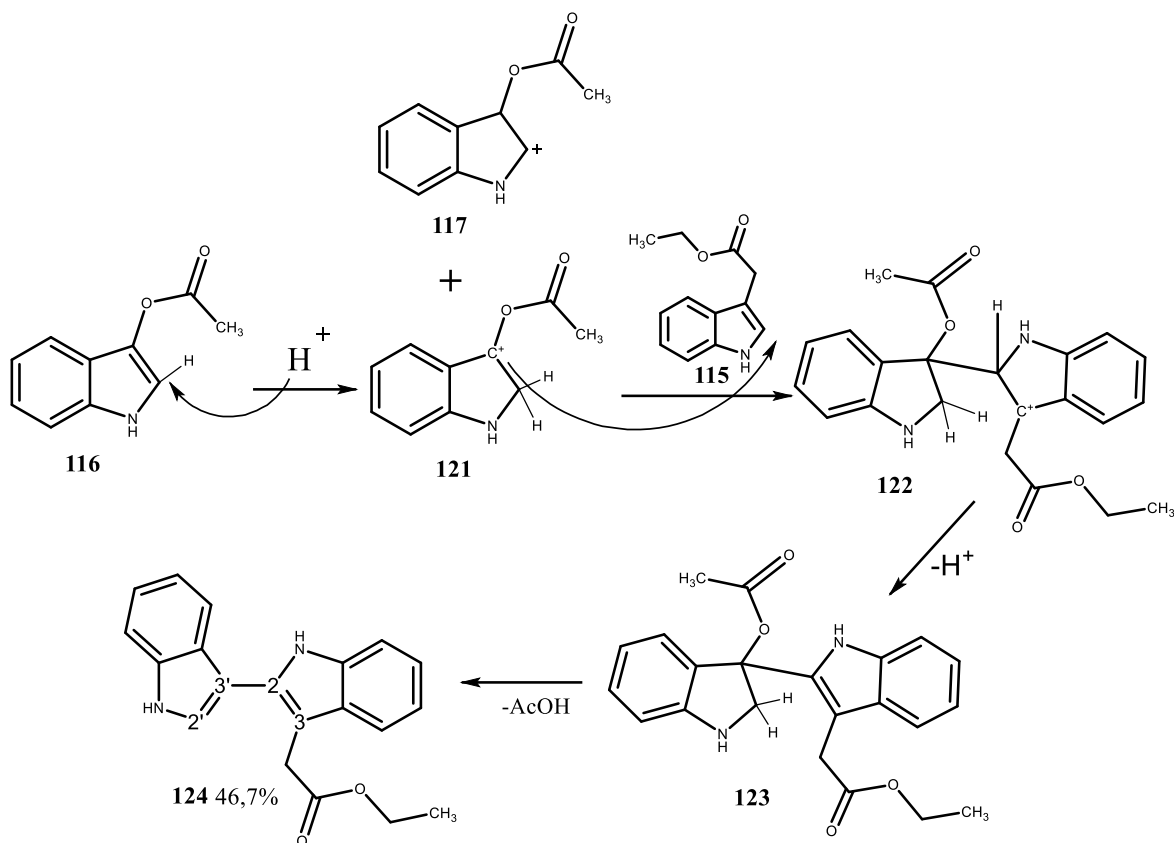


Рисунок 27 – Предполагаемый механизм взаимодействия этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (**115**) и 3-ацетоксииндола (**116**)

В качестве таких соединений были выбраны 3-бром-, 3-гидрокси- и 3-формилиндола (**125a-c**). Предполагалось, что их применение должно было привести к образованию продуктов 2,2'-кросс-сочетания (Рис. 28). В результате

пробных экспериментов были получены сложные смеси соединений, не содержащие целевые продукты.

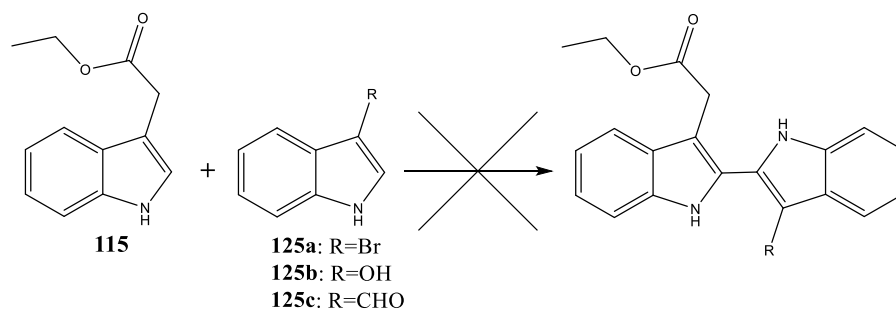


Рисунок 28 – Предполагаемая схема реакции этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (**115**) и различных индолов **125a-c**

2.1.2 Взаимодействие этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (**115**) и индола (**55**)

Так как в результате реакций соединения **115** с серией замещенных по положению 3 индолов целевая 2,2'-бис-индольная структура не образовывалась, то мы были вынуждены использовать в качестве исходного соединения незамещенный индол (**55**) (Рис. 29), предполагая возможность получения продуктов как 2,2', так и 2,3'-кросс-сочетания.

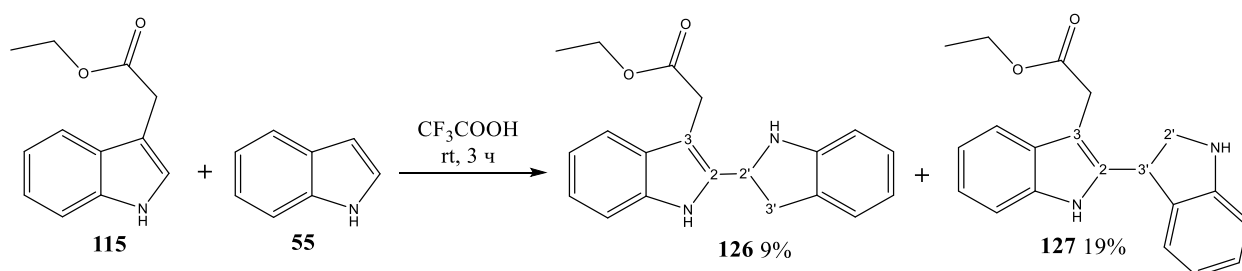


Рисунок 29 – Схема реакции этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (**115**) и индола (**55**)

Как и было предположено, использование незамещенного индола привело к образованию изомерных продуктов **126** и **127** с выходами 9 % и 19 % соответственно. Оптимизация условий путем изменения времени проведения реакции или соотношения реагентов не привело к значительному увеличению выхода продуктов. Несмотря на то, что оба соединения имеют близкие значения

времени удерживания, удалось их выделить в индивидуальном виде методом колоночной хроматографии с последующей очисткой при помощи ПТСХ с закрепленным слоем сорбента. Таким образом, было показана принципиальная возможность получения несимметричного 2,2'-бис-индола на основе кросс-сочетания двух разных производных индола.

Следующим этапом в получении целевой системы являлась внутримолекулярная циклизация полученного этил-2',3'-дигидро-2,2'-бис-индол-3-илацетата (**126**). Для ее проведения были опробованы два подхода, использованные авторами работы [71]: нагревание чуть выше температуры плавления соединения **126** (150°C) в течение 30 мин и кипячение в изопропиловом спирте в присутствии толуолсульфокислоты (Рис. 30). В данных условиях происходит активация сложноэфирной группы с последующей нуклеофильной атакой на индольный атом азота, что приводит к образованию лактама **128**.

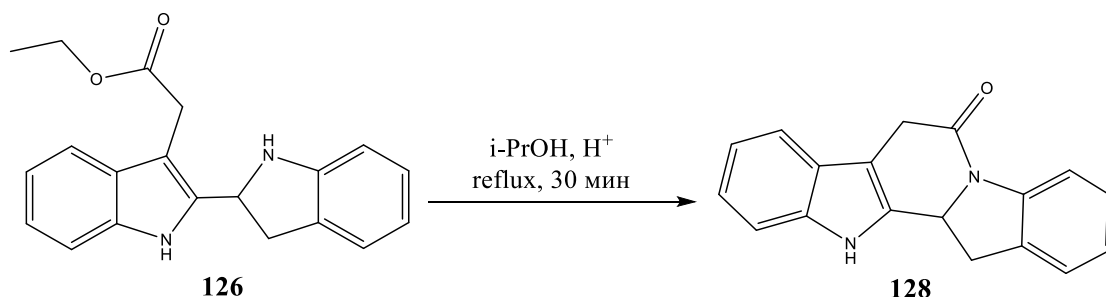


Рисунок 30 – Внутримолекулярная циклизация соединения **126**

В первом случае циклизация происходит не полностью, тогда как при кипячении в растворе пропанола-2 имеет место полная конверсия исходного соединения в продукт циклизации.

По результатам ГЖХ-МС было определено, что наряду с внутримолекулярной циклизацией частично имело место дегидрирование полученного продукта, так как в масс-спектре пробы наряду с молекулярным ионом целевого соединения **128** M^+ с m/z 274 присутствовал ион с $m/z = 272$. (Рис. 31)

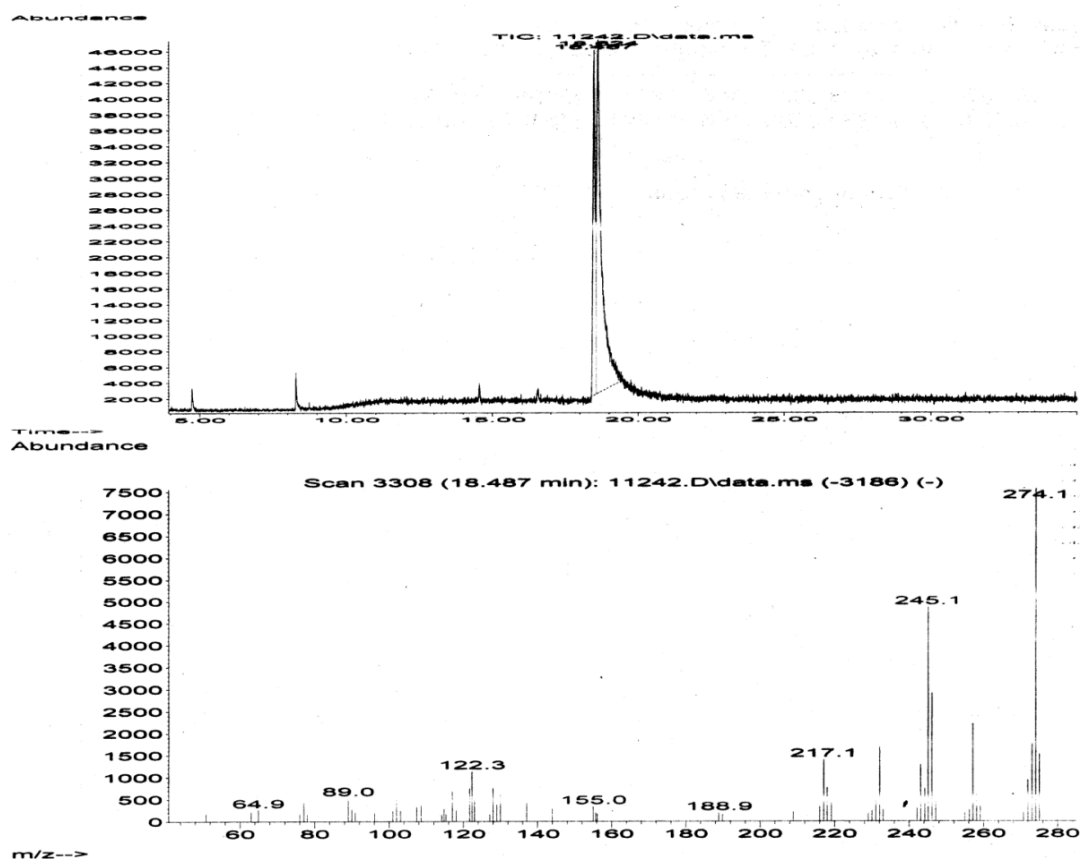


Рисунок 31 – Хроматограмма реакционной смеси и масс-спектр соединения **128**

Для увеличения содержания соединения **129** было решено подействовать на экстракт реакционной смеси мягким окислителем, таким как MnO_2 (Рис. 32).

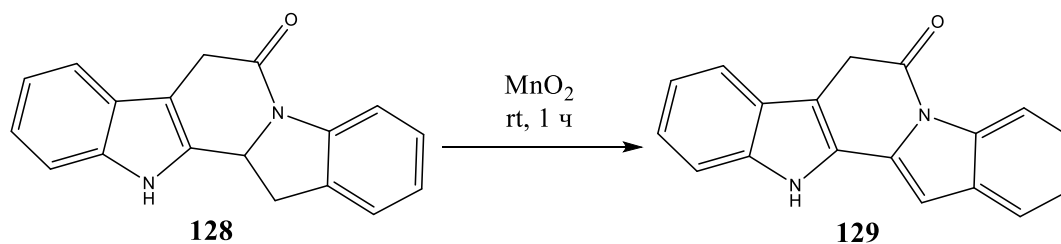


Рисунок 32 – Дегидрирование соединения **128**

В результате, на предварительном этапе исследований в рамках одной экспериментальной процедуры удалось объединить стадии внутримолекулярной циклизации и дегидрирования и тем самым отработать метод получения модельной пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндольной системы.

2.1.3 Взаимодействие 3-индолилацетона (**130**) и индола (**55**)

Опираясь на разработанную выше методологию, следующим этапом работы является введение в реакцию индольного производного с карбонильным заместителем, на основе которого можно синтезировать целевые производные гетероциклической системы. В качестве такого соединения был выбран 3-индолилацетон (**130**), полученный по известной методике [72] по схеме, представленной на Рисунке 33.

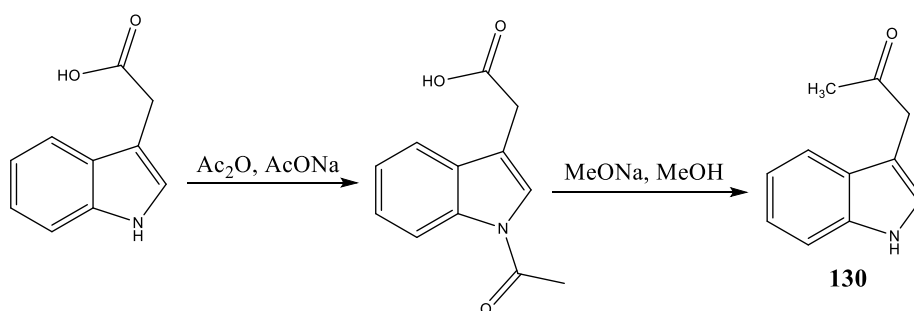


Рисунок 33 – Получение 3-индолилацетона (**130**)

Раствор смеси соединений **55** и **130** в трифторуксусной кислоте выдерживали при комнатной температуре в течение 3 часов. Методом ГЖХ-МС было показано, что смесь является многокомпонентной (Рис. 34). В ней присутствует, среди прочих, соединение, значение m/z молекулярного иона которого соответствовало значению m/z $[\text{M}]^+$ продукта **132** (31%), образующегося в результате внутримолекулярной циклизации продукта кросс-сочетания **131**; и соединение с m/z $[\text{M}]^+$ равным 270, что соответствует значению m/z $[\text{M}]^+$ продукта его дегидрирования **133**.

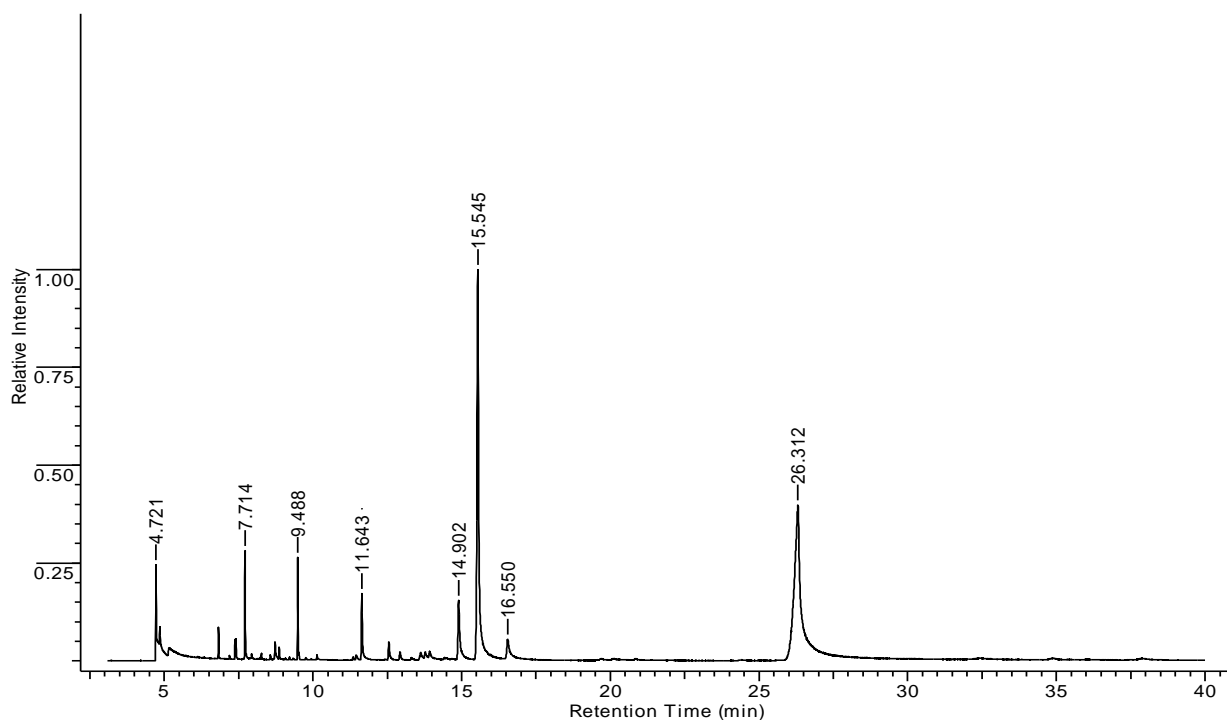


Рисунок 34 – Хроматограмма смеси продуктов реакции индолов **130** и **55**

Значительное увеличение содержания целевых веществ в смеси вызвано, по-видимому, смещением равновесия на стадии кросс-сочетания в сторону образования продуктов из-за немедленного выведения продукта – бис-индольного производного (**131**), из зоны реакции, которое в условиях реакции циклизуется в соединение **132** (Рис. 35).

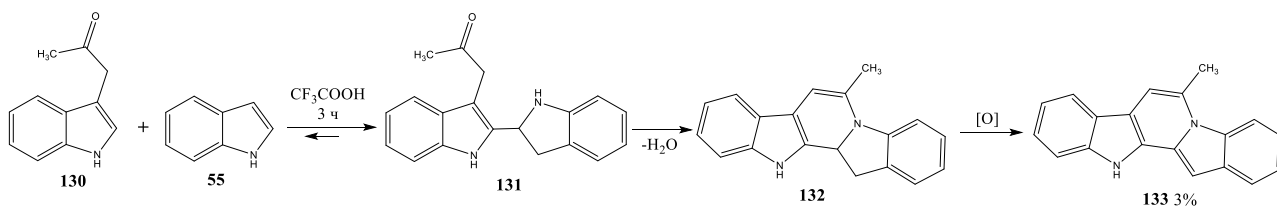


Рисунок 35 – Предполагаемая схема взаимодействия соединений **130** и **55**

Тем не менее, после попытки препаративной наработки и выделения соединения **133** его выход составил 3 %, что является неприемлимым для последующей многостадийной конверсии полученного соединения в соответствующее производное фаскаплизина.

Подводя итог результатам, полученным в ходе предварительных исследований в рамках данного направления, можно констатировать, что, несмотря на принципиальную возможность получения целевой гетероциклической системы, указанное направление следует признать малоперспективным для получения широкого набора производных фаскаплизина по центральному циклу, поскольку результат ключевой стадии кросс-сочетания в значительной мере зависит от природы заместителей в исходных индолах. Кроме того, необходимо приложить значительные усилия для выделения необходимых продуктов из реакционной смеси, а также для их последующей конверсии в целевые производные. Опираясь на другие подходы, нами была предложена и в полной мере реализована альтернативная схема получения подобных соединений, подробно описанная ниже в разделе 2.2.

2.2 Использование индиго (99) в качестве исходного соединения

Как было уже отмечено в литературном обзоре, другим известным способом получения целевой гетероциклической системы является конденсация индиго (**99**) с метиленактивными соединениями, например, диэтиловым эфиром малоновой кислоты (Рис. 21). Однако при таком подходе атом углерода в шестом положении полученного продукта содержит карбонильную группу, что обусловлено использованием для данных синтезов производных карбоновых кислот. Поэтому для получения производных фаскаплизина более логичным представляется применение кетонов и альдегидов, что позволит избежать получения амидов, подобных соединениям **102** и **103**.

2.2.1 Взаимодействия индиго (99) с ацетофеноном (134)

Для реализации данного синтетического пути также необходимо было решить проблемы, связанные с малой растворимостью индиго в органических растворителях и его низкой реакционной способностью. Оба затруднения можно преодолеть либо введением защитных групп по атомам азота, используя, например, N, N-диацетилиндиго **104**, либо получением аниона индиго **135** (Рис. 36). Вторым вариантом был выбран как более простой.

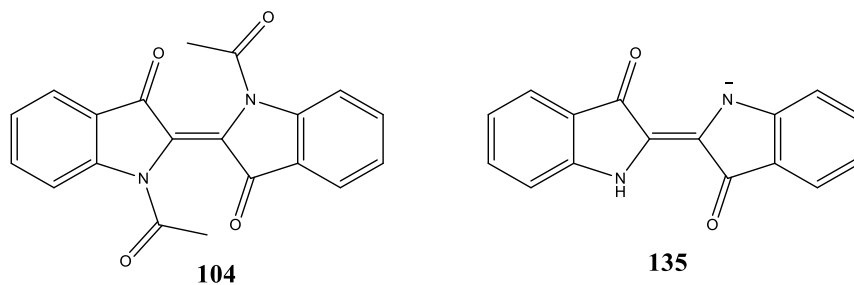


Рисунок 36 – Структуры N, N-диацетилиндиго (**104**) и индиго-аниона (**135**)

Ацетофенон (**134**), выбранный в качестве модельного реактанта из-за своей доступности и с целью избежать проблемы получения смеси региоизомеров при конденсации, был введен в реакцию с полученным под действием сильного основания (NaH) индиго-анионом (**135**). Так как данное взаимодействие проводилось впервые, то было решено провести реакцию в условиях как кинетического (перемешивание реакционной смеси в течение часа при комнатной температуре), так и термодинамического (быстрый нагрев реакционной смеси до температуры кипения) контроля для изучения влияния условий на образующиеся продукты. Результаты обеих реакций были сопоставимы. В реакционной смеси присутствуют несколько веществ, два из которых - желтое и оранжевое - являлись основными продуктами реакции. Одно из этих соединений (желтое) оказалось неустойчивым и постепенно конвертировалось во второе. Кроме того, масс-спектры полученных продуктов оказались идентичными. Исходя из этого, можно сделать предположение, что данные соединения являются изомерами.

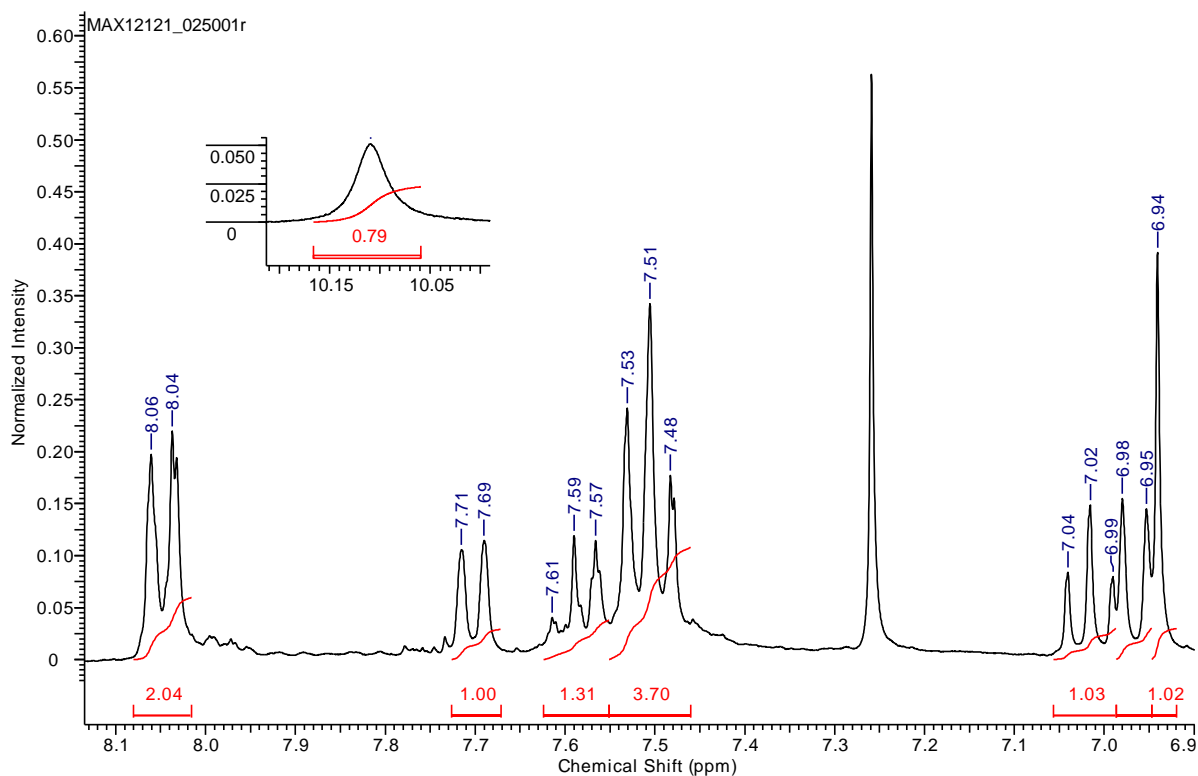


Рисунок 37 – ЯМР ^1H -спектр оранжевого соединения

На основании данных ^1H -ЯМР и масс-спектров было установлено, что полученные соединения являются геометрическими изомерами 2-(2-оксо-2-фенилэтилиден)-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-она **136** и **137**. Принимая в внимание, что в спектре ЯМР ^1H оранжевого продукта сигнал протона NH-группы индола находится в более слабом поле, чем в спектре желтого, ему была приписана структура *Z*-изомера (наличие внутримолекулярной водородной связи). Исходя из этого, малоустойчивый продукт желтого цвета, имеющий схожий масс-спектр, был отнесен к *E*-изомеру. Выходы данных соединений составляют 13 % и 7 % соответственно (Рис. 38).

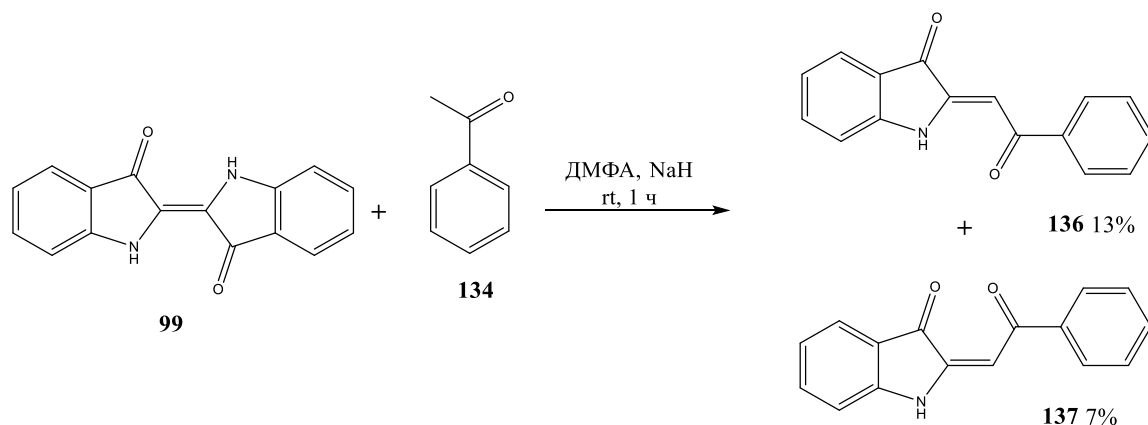


Рисунок 38 – Схема реакции индиго (**99**) с ацетофеноном (**134**) в условиях кинетического контроля.

Предполагаемый механизм взаимодействия индиго с ацетофеноном показан на Рис. 39. По-видимому, в данном случае имеет место нуклеофильная атака аниона **i1**, образующегося из ацетофенона при отщеплении протона под действием гидрида натрия, по кратной связи, сопряженной с карбонильными группами в структуре индиго. В образовавшемся еноляте **i2** происходит внутримолекулярное депротонирование СН-кислотного центра присоединившегося фрагмента ацетофенона с образованием енола **i3**. Енол **i3** переходит далее в более устойчивую кето-форму **i4** с последующим разрывом связи С-С между двумя индольными фрагментами и отщеплением сопряженного основания 3-оксоиндола, что приводит к стабилизации структуры и образованию смеси геометрических изомеров **136** и **137**. Далее изомер **137** постепенно конвертируется в термодинамически более стабильный продукт **136**.

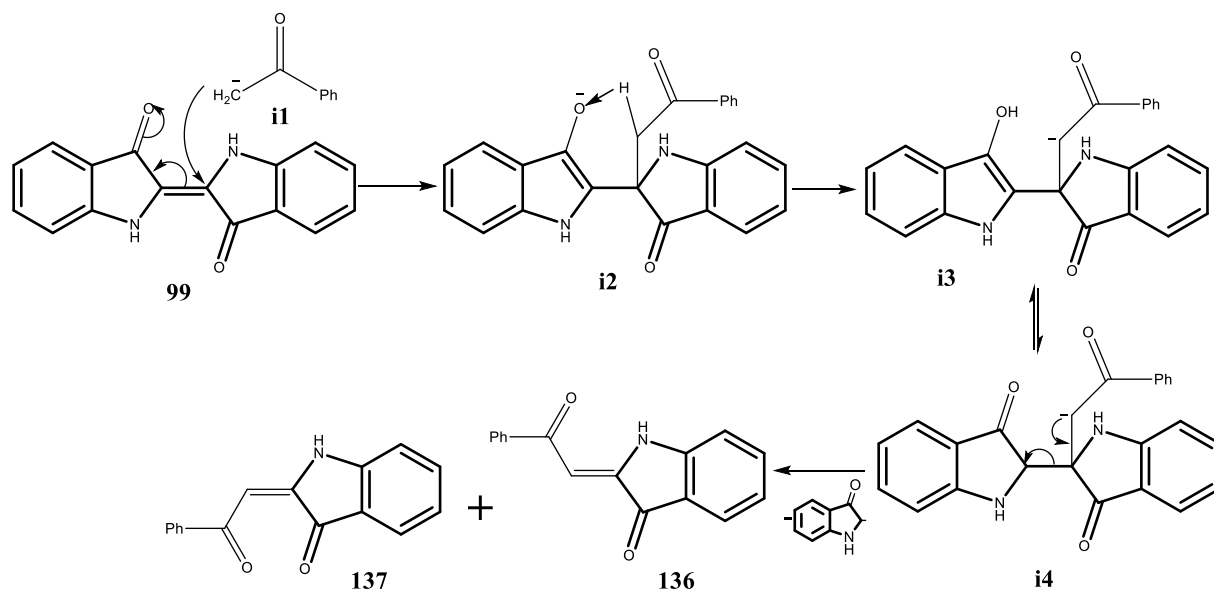


Рисунок 39 – Предполагаемый механизм взаимодействия индиго (**99**) с сопряженным основанием ацетофенона (**i1**)

Поскольку при взаимодействии индиго с ацетофеноном пиридодиндольные структуры не образуются, было решено использовать вариант конденсации индиго с производными карбоновых кислот, что привело бы к образованию соединений типа **102** и **103**. При этом главной задачей становилась разработка метода, позволяющего конвертировать получающиеся амиды в замещенные фаскаплизины. Для этого был предложен подход, представленный на Рис. 40. Полученный путем конденсации производного карбоновой кислоты с индиго пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндол предполагалось обработать сильным восстановителем для восстановления амидного фрагмента в положении 6, что также должно было затронуть карбонильную группу в положении 13. Затем на полученный интермедиат **138** планировалось подействовать мягким окислителем в кислой среде с целью ароматизации центрального цикла молекулы и одновременного окисления вторичной гидроксильной группы в положении 13 до карбонильной группы.

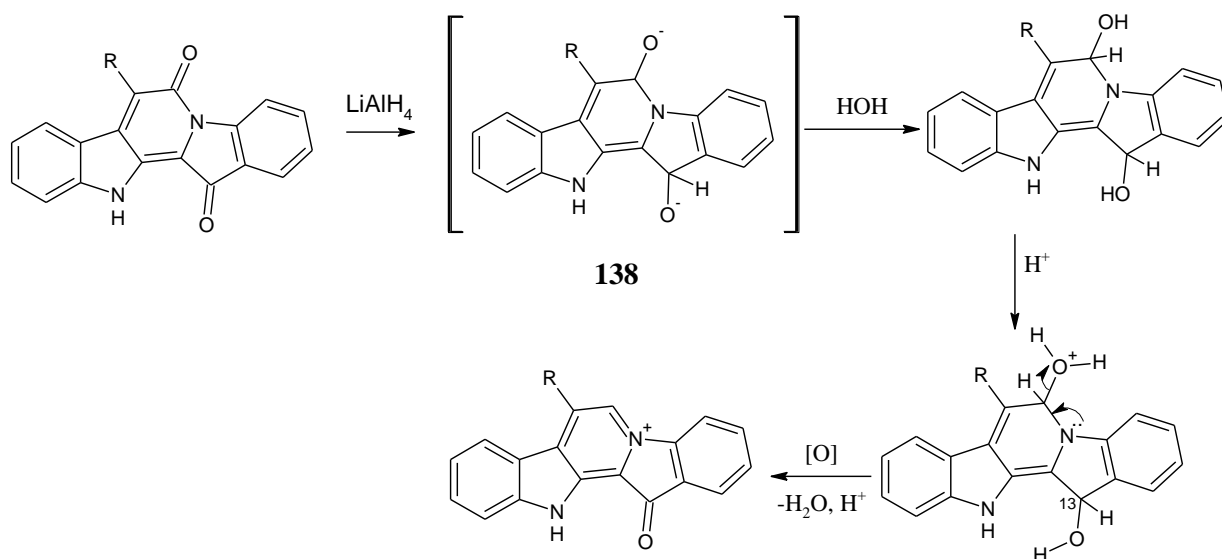
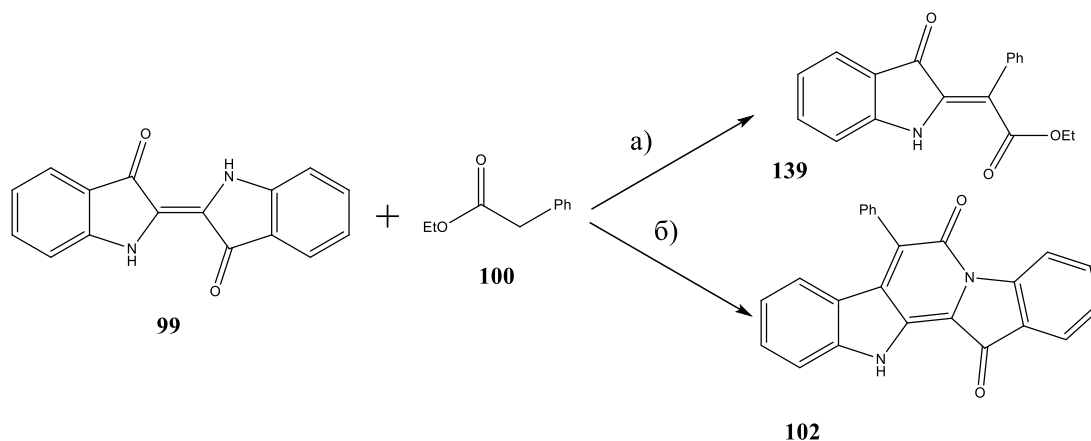


Рисунок 40 – Предполагаемая схема получения производных фаскаплизина

2.2.2 Изучение механизма взаимодействия индиго (**99**) с фенилуксусным эфиром (**100**)

Прежде чем приступить к синтезу производных фаскаплизина по предложенной схеме, было решено изучить условия получения продуктов конденсации индиго с производными карбоновых кислот. В литературе описано взаимодействие индиго с фенилуксусным эфиром, которое, в зависимости от условий, проходило по двум различным направлениям [68]. При «медленном» проведении реакции (в суспензию индиго был добавлен по каплям этилфенилацетат, далее смесь перемешивалась 30 мин при комнатной температуре и затем доводилась до кипения) в реакционной смеси преобладало соединение **139**. В случае «быстрого» проведения реакции (все реагенты были смешаны сразу, и реакционная смесь была быстро доведена до кипения) происходило образование продукта конденсации **102** (Рис. 41).



Реагенты и условия: а) «медленное» проведение реакции; б) «быстрое» проведение реакции

Рисунок 41 – Конденсация индиго (**99**) с фенилуксусным эфиром (**100**) в различных условиях [67]

Выдвинутое авторами работы объяснение данного явления заключалось в том, что в варианте «медленного» проведения реакции имеет место кинетический контроль, и продукт **139** образуется быстрее продукта конденсации **102**, а в условиях «медленного» проведения реакции получается энергетически более выгодный продукт **102**, так как реакция контролируется термодинамически. Оба варианта были нами воспроизведены. При этом наблюдалось получение только продукта **102** как в условиях кинетического, так и термодинамического контроля. Одновременно было изучено влияние на течение реакции природы используемых оснований. Конденсацию проводили в присутствии пирролидина, гидроксида натрия, метилата натрия, гидрида натрия, *трет*-бутоксидка калия (Рис. 42).

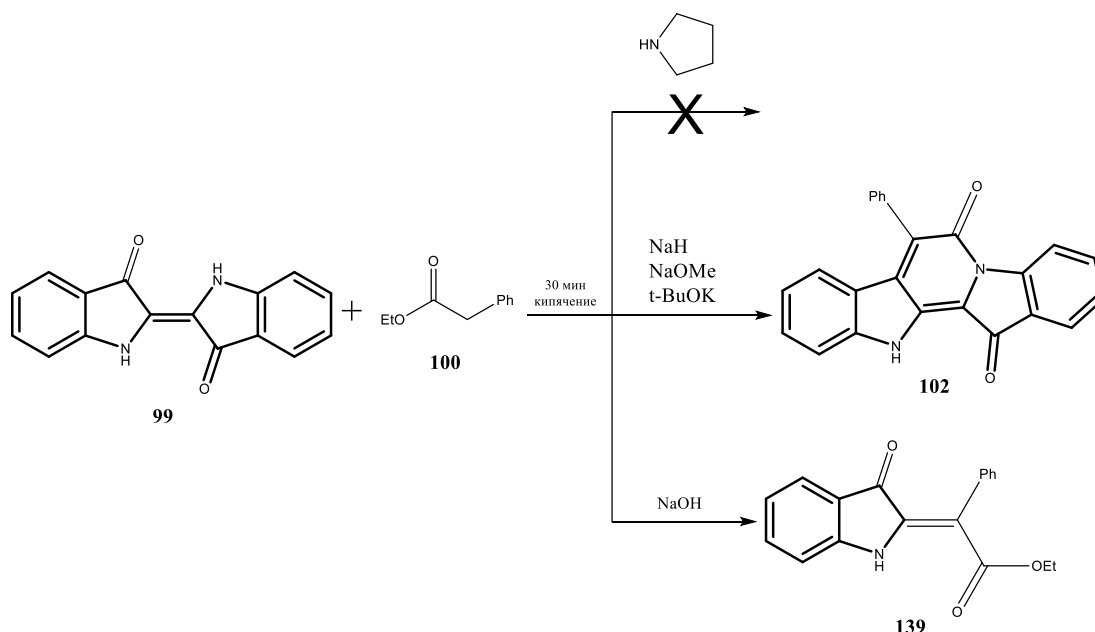


Рисунок 42 – Взаимодействие индиго (**99**) с фенилуксусным эфиром (**100**) под действием различных оснований

В результате образование продукта **139** наблюдалось только в случае использования гидроксида натрия. Таким образом, получение разных продуктов реакции у авторов описанной выше работы можно объяснить попаданием влаги в реакционную смесь, что приводило к образованию гидроксида натрия. По-видимому, на первом этапе нуклеофильная атака гидроксид-аниона по активированной сопряжением с карбонильной группой двойной связи индиго приводит к получению енолята **i1**. Далее происходит его дегидратация и образование имида **i2**. В условиях реакции анион, образующийся через депротонирование CH_2 -звена этилового эфира фенилуксусной кислоты гидридом натрия, взаимодействует с двойной связью имида, приводя к образованию интермедиата **i3**. Реакция далее протекает по механизму, предложенному выше при объяснении результатов взаимодействия ацетофенона и индиго (Рис. 43).

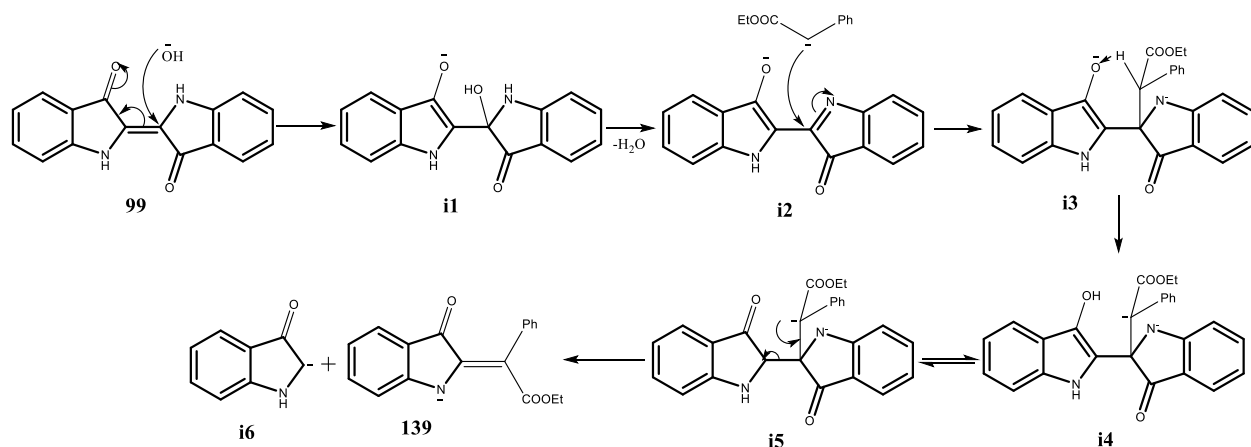


Рисунок 43 – Предполагаемый механизм образования продукта **139**

Таким образом, была изучена реакция индиго с этиловым эфиром фенилуксусной кислоты. После отработки условий данного взаимодействия было решено применить разработанную методику для получения продукта взаимодействия индиго и диэтилового эфира малоновой кислоты. В результате было успешно получено соединение **103**.

2.2.3 Синтез незамещенного фаскаплизина (**1**)

Так как использование кетонов в качестве метиленактивных соединений не привело к образованию целевых продуктов, то нам пришлось вернуться к производным карбоновых кислот, а именно производным малонового и ацетоуксусного эфиров. Выбор данных соединений был обусловлен их достаточно высокой СН-кислотностью, доступностью, легкостью получения их производных, и наличием хорошей уходящей группы (сложный эфир), что важно для получения продуктов конденсации с индиго по предложенной нами схеме (Рис. 44).

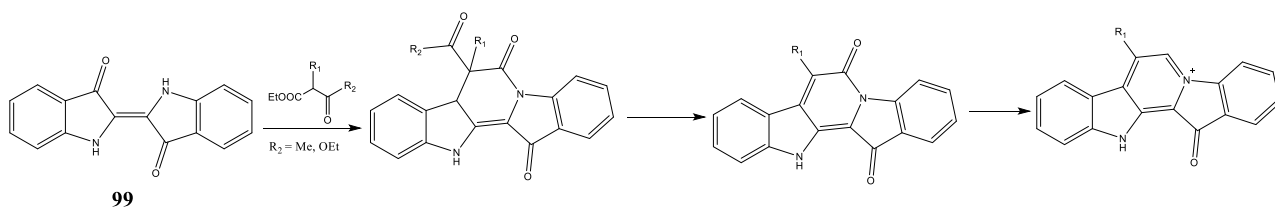


Рисунок 44 – Схема конденсации индиго (**99**) с производными малонового или ацетоуксусного эфира

В качестве модели для отработки следующего этапа реализации предложенной нами синтетической схемы в качестве целевого продукта был выбран незамещенный фаскаплизин (**1**) для упрощения идентификации полученного соединения путем сравнения его спектральных характеристик с описанными в литературе. В качестве промежуточной стадии необходимо было гидролизовать сложный эфир **103** с последующим декарбоксилированием образующейся кислоты. Применение концентрированной серной кислоты в различных условиях не привело к получению промежуточного продукта **140**. Целевое соединение удалось получить путем использования в качестве реагента 40%-ной бромоводородной кислоты (Рис. 45).

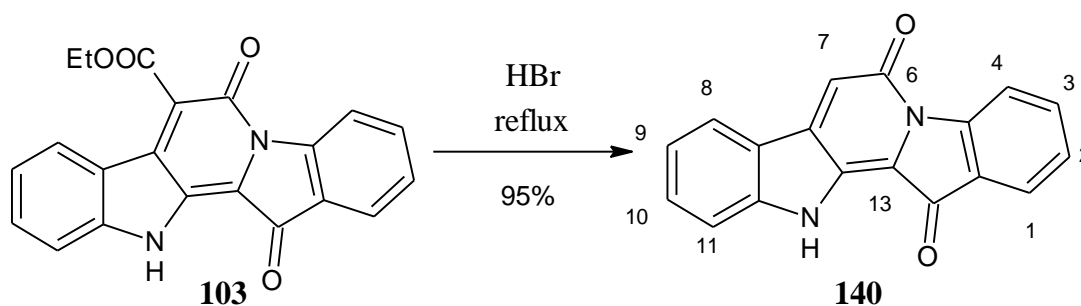


Рисунок 45 – Синтез соединения **140** из **103**

В результате был получен темно-фиолетовый порошок, представляющий собой основной продукт с небольшим количеством примесей. Целевое соединение было очищено и для него были получены ^1H и ^{13}C ЯМР-спектры. Очевидно, что точное отнесение сигналов протонов в спектре данного соединения не может быть выполнено без привлечения методов двумерной спектроскопии. Однако при анализе литературы нами было обнаружено, что аналогичное по структуре соединение было выделено в 2014 году из морской губки *Hyrtios* sp. и названо 6-оксофаскаплизином [73]. Авторы данной работы высказывали сомнения относительно правильности предложенной ими структуры для выделенного соединения. На основании идентичности данных ЯМР-спектра, приведенных в литературе, и данных ЯМР-спектра полученного нами соединения **140** (Табл. 3) (смещение всех сигналов атомов углерода в одну сторону на 0.8 м.д. в

спектре ЯМР ^{13}C и на 0.02 м.д. всех атомов водорода в спектре ЯМР ^1H можно объяснить особенностями условий их съемки) было сделано заключение об осуществлении первого синтеза и подтверждении структуры нового представителя фаскаплизиновых алкалоидов, известного как 6-оксофаскаплизин [74].

Таблица 3 - Значения химических сдвигов ядер ^1H и ^{13}C природного и синтетического 6-оксофаскаплизинов

Положение атома	ЯМР ^1H , м.д.		ЯМР ^{13}C , м.д.	
	Природный	Синтетический	Природный	Синтетический
1	7.81 (д, 1H)	7.79 (д, 1H)	123.6	124.3
2	7.38 (дд, 1H)	7.36 (дд, 1H)	126.0	126.8
3	7.74 (дд, 1H)	7.71 (дд, 1H)	135.6	136.3
4	8.62 (д, 1H)	8.58 (д, 1H)	117.4	118.1
4a			146.1	146.9
5				
6			157.0	157.8
7	7.51 (с, 1H)	7.49 (с, 1H)	119.4	120.1
7a			142.4	143.2
7b			119.4	120.0
8	8.07 (д, 1H)	8.05 (д, 1H)	123.8	124.5
9	7.15 (дд, 1H)	7.13 (дд, 1H)	121.1	121.8
10	7.52 (дд, 1H)	7.51 (м, 1H)	132.1	132.8
11	7.37 (д, 1H)	7.35 (д, 1H)	112.1	112.9
11a			147.4	148.1
12	11.65 (с, 1H)	11.66 (с, 1H)		
12a			128.6	129.4
12b			115.3	116.1
13			180.2	180.9
13a			124.4	125.2

Следующим этапом в синтетической схеме являлось восстановление амидного фрагмента соединения **140** и последующее окисление интермедиата и его гидролиз 10%-ной HCl до фаскаплизина (**1**). В качестве восстановителя было решено использовать алюмогидрид лития. В результате было получено соединение **1** (Рис. 46).

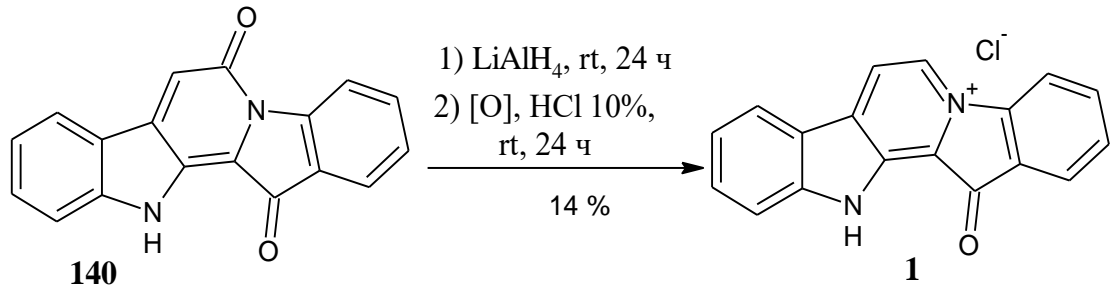


Рисунок 46 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) из **140** с использованием алюмогидрида лития

Из анализа спектра ЯМР ^1H полученного продукта (Рис. 47) следовало, что он представляет собой, по-видимому, смесь целевого соединения и его устойчивого комплекса с солями алюминия. Этот вывод был сделан на основании общего вида спектра, а также наличия в нем характерных сигналов атомов ^1H фаскаплизина.

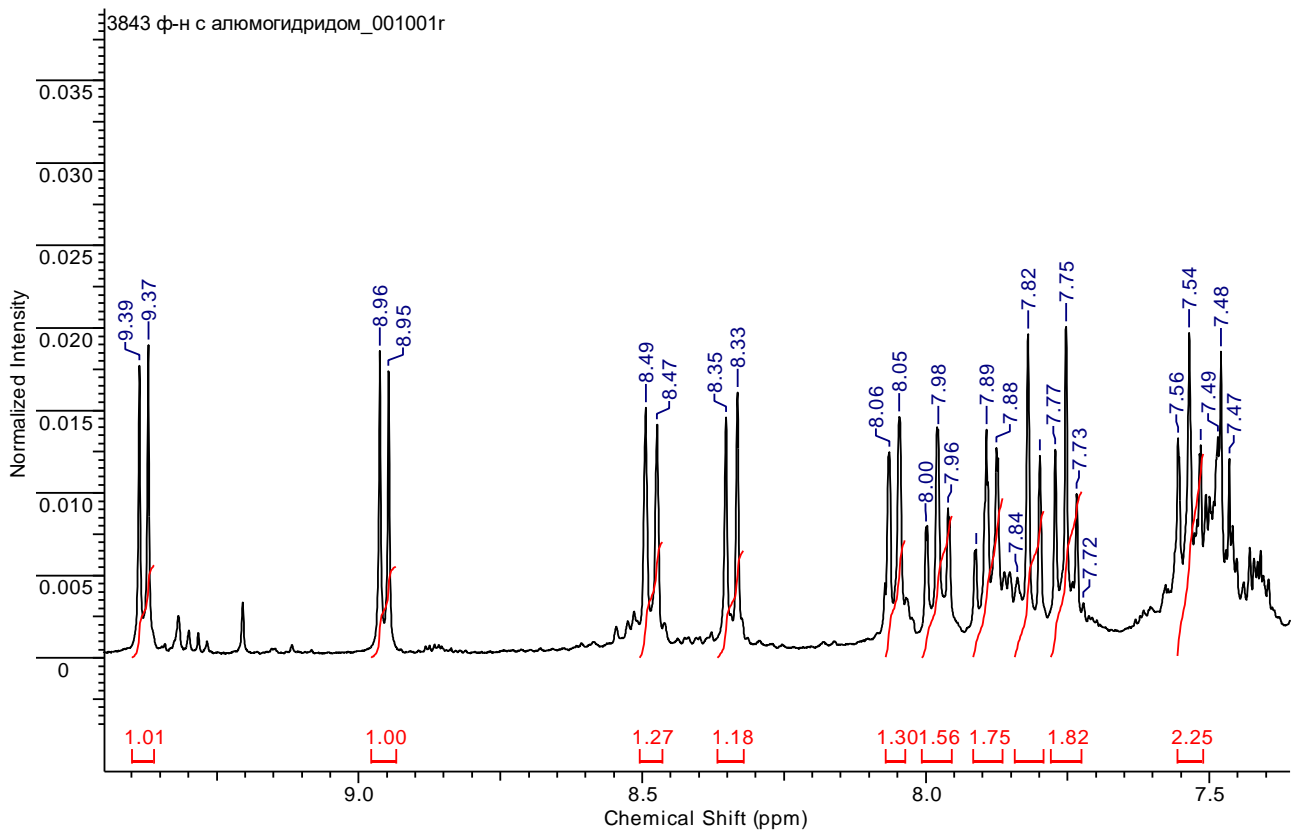


Рисунок 47 – ЯМР ^1H -спектр полученного продукта

Следовательно, перед нами стояла задача отработки условий проведения данной стадии. Условия, в которых проводилось восстановление, представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Условия реакции восстановления соединения **140** под действием LiAlH_4

Время, ч	Температура, °С	Наличие растворителя (ТГФ)	Соотношение реактантов по массе
2	66	+	1:1
6	66	+	1:1
8	66	+	1:1
24	20	+	1:1
24	20	+	1:3
8	66	-	1:1
2	66	-	1:1
2	66	+	1:3

Важнейшим составляющим данной методики является процедура выделения целевого продукта из реакционной смеси. По всей видимости, в ходе восстановления имеет место образование устойчивых комплексов продуктов реакции с ионами алюминия. Для выделения фаскаплизина в индивидуальном виде использовались различные способы обработки реакционной смеси: добавление гидрофосфата натрия для связывания ионов алюминия в малорастворимые соли; экстракция щелочного водного раствора хлороформом с дальнейшим подкислением полученного экстракта и упариванием; упаривание водного раствора и экстракция твердого остатка этиловым спиртом и т.п. На конечном этапе выделения фаскаплизин был очищен методом ПТСХ на незакрепленном слое сорбента. В результате удалось увеличить выход желаемого продукта до 25%. Однако после изучения полученных образцов оказалось, что данные их как ^1H - так и ^{13}C -спектров ЯМР по-прежнему не совпадают с литературными данными, известными для фаскаплизина. По-видимому, полученные образцы целевого продукта по-прежнему представляли собой устойчивые комплексы с ионами алюминия.

У описанной выше методики есть еще один существенный недостаток, который заключается в использовании LiAlH_4 , являющегося чрезвычайно активным восстановителем. При введении в структуру любых других функциональных групп и заместителей, кроме арильных или алкильных, данный реагент активно восстанавливал бы и их наряду с амидным фрагментом в цикле С. Принимая во внимание полученные результаты, а также тот факт, что основной целью данной работы является разработка универсальных методов синтеза производных фаскаплизина, мы сосредоточились на поиске другого, менее активного и более селективного восстановителя для проведения данной стадии.

В качестве альтернативного восстановителя был выбран раствор BH_3 в тетрагидрофуране. Экспериментальная процедура заключалась в добавлении соединения **140** к восстановителю и кипячении смеси в течение 2-х часов с последующим добавлением 10%-ной соляной кислоты и кипячением в течение 2 часов (Рис. 48). На ТСХ реакционной смеси присутствовали пятна нескольких соединений, одно из которых по характерным признакам (цвет, R_f) соответствовало целевой структуре. Данное соединение было выделено в индивидуальном виде.

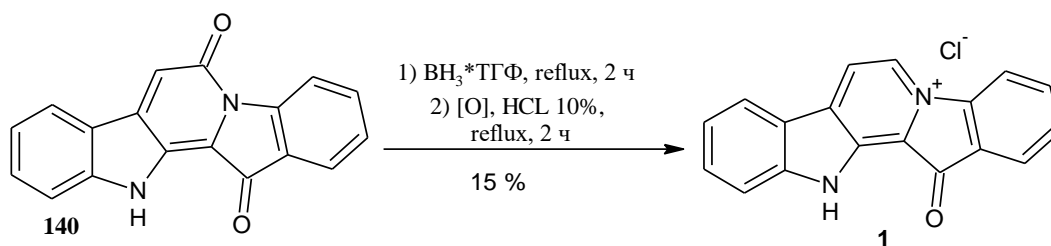


Рисунок 48 – Схема синтеза фаскаплизина (**1**) с использованием BH_3 в ТГФ

В спектре ^1H ЯМР полученного продукта, снятого в дейтерированном метаноле, общая интегральная интенсивность всех сигналов соответствует 10 протонам (Рис. 49). В его ^{13}C ЯМР-спектре общее количество сигналов соответствует 18 атомам углерода (Рис. 50). Выбор растворителя обусловлен наличием в литературе данных о химических сдвигах атомов ^1H и ^{13}C фаскаплизина в

аналогичных условиях, но выделенного из природных источников [8]. Значения химических сдвигов атомы полученного нами продукта и нативного фаскаплизина приведены в Таблице 5 (смещение всех сигналов атомов углерода в спектре ЯМР ^{13}C и всех атомов водорода в спектре ЯМР ^1H можно объяснить особенностями условий их съемки).

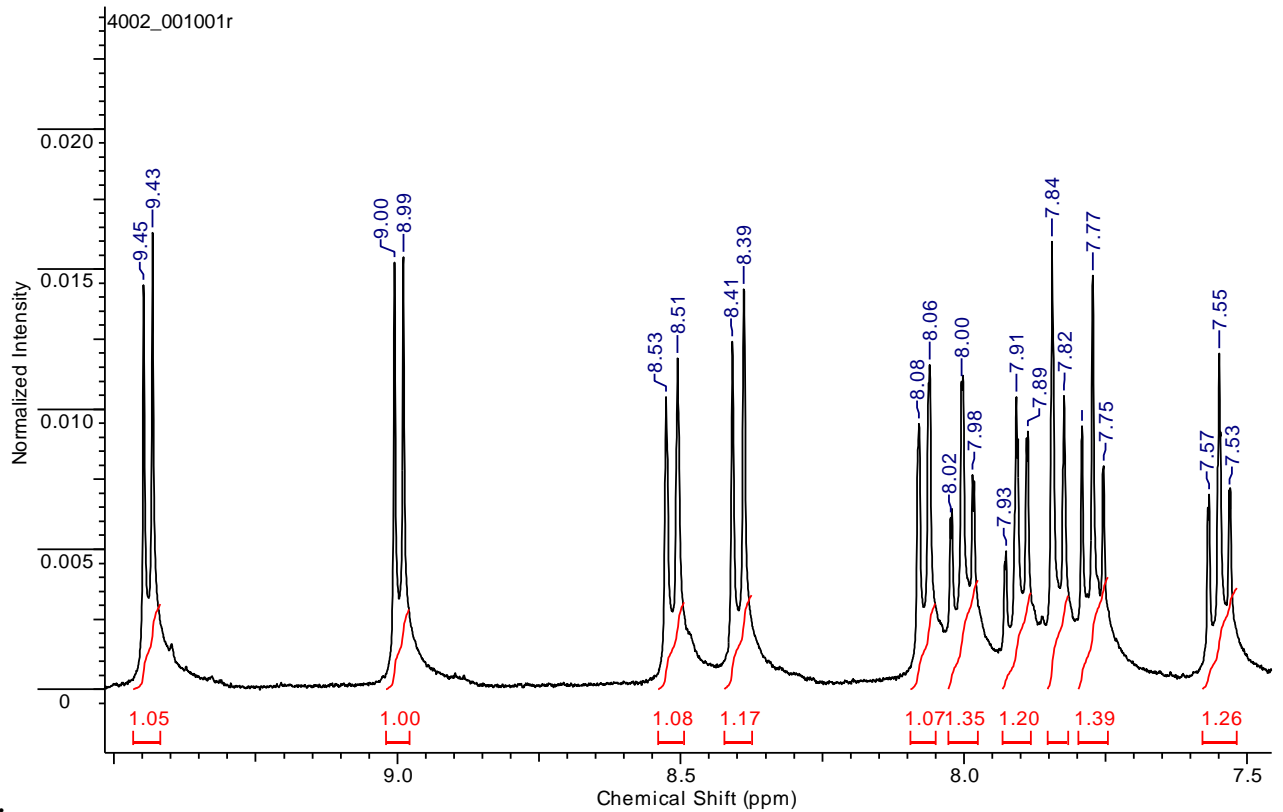


Рисунок 49 – ^1H ЯМР-спектр полученного продукта

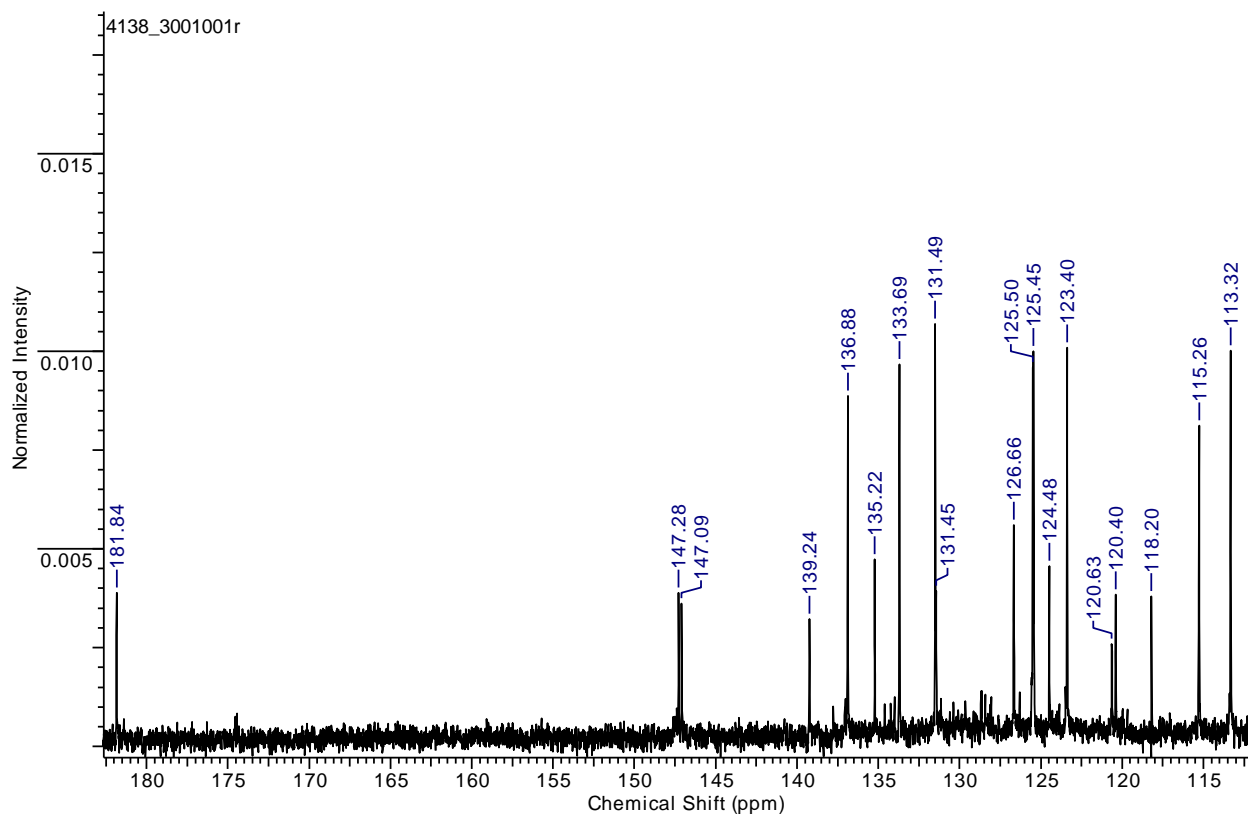


Рисунок 50 – ^{13}C ЯМР-спектр полученного продукта

Таблица 5 – Значения химических сдвигов ядер ^1H и ^{13}C природного и синтетического фаскаплизинов

Положение	ЯМР ^1H , м.д.		ЯМР ^{13}C , м.д.	
	Природный	Синтетический	Природный	Синтетический
1a			126.2	125.5
1	8.11	8.07	127.6	125.5
2	7.80	7.77	133.5	131.5
3	8.03	8.00	139.2	136.9
4	8.37	8.40	117.3	115.3
4a			149.4	147.1
6	9.41	9.44	128.4	126.7
7	9.00	9.00	121.9	120.4
7a			143.6	139.4
7b			121.9	120.6
8	8.53	8.52	125.9	124.5
9	7.59	7.55	125.4	123.4

Продолжение Таблицы 5

10	7.94	7.91	136.7	135.2
11	7.86	7.83	115.4	113.3
11a			149.6	147.3
12	11.65	11.65		
12a			133.7	131.5
12б			121.3	118.2
13			183.9	181.8

На основании сравнения данных Таблицы 5 был сделан вывод о том, что полученный продукт является незамещенным фаскаплизином. Общий выход после трех стадий составил 10%. Это позволило нам перейти к следующему этапу исследования.

2.2.4 Попытка синтеза 3,10-дибромфаскаплизина (6)

Поскольку нам успешно удалось конвертировать индиго в фаскаплизин, было решено получить в рамках разработанной методологии еще один фаскаплизиновый алкалоид, а именно 3,10-дибромфаскаплизин (6), на основе другого производного индиго - 6,6'-диброминдиго, более известного как тирский пурпур (141e). Синтез данного соединения был осуществлен нами по известной схеме, представленной на Рисунке 51 [75].

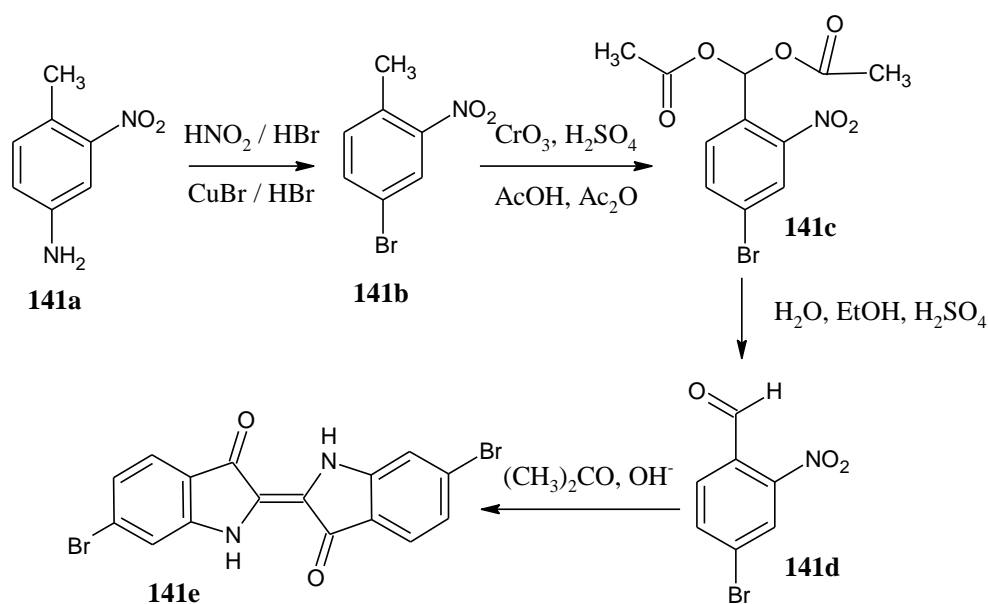


Рисунок 51 – Синтез 6,6'-диброминдиго (141e)

Далее полученный продукт был введен в реакцию с малоновым эфиром (**101**) в растворе ДМФА в присутствии гидрида натрия (Рис. 52). Однако полученный в результате реакции порошок темно-фиолетового цвета представлял собой смесь соединений, выделить из которой целевое соединение **142** нам не удалось.

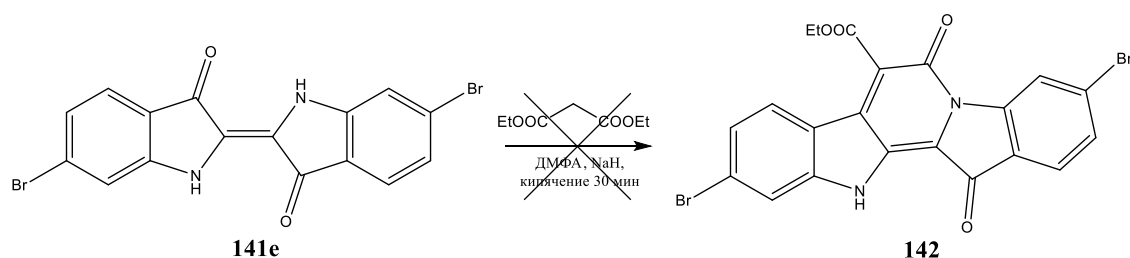


Рисунок 52 – Взаимодействие **141e** с малоновым эфиром (**101**)

2.2.5 Синтез 7-фенилфаскаплизина (**143**)

Далее было решено применить разработанную методику к полученному ранее соединению **102**. Предстояло синтезировать целевой продукт **143** (Рис. 53) путем восстановления амидного фрагмента соединения **102** комплексом $\text{VH}_3 \cdot \text{TГФ}$ с последующей дегидратацией интермедиата.

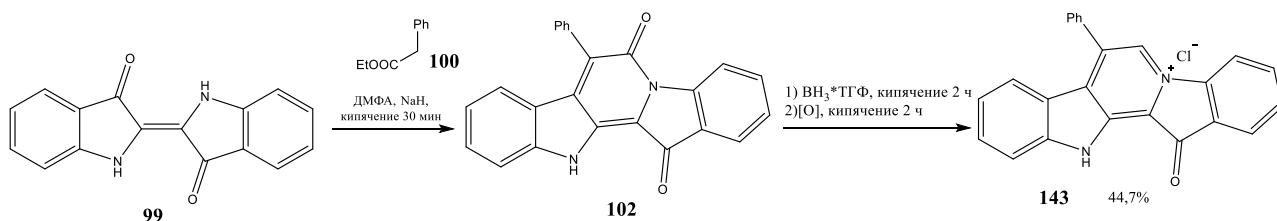
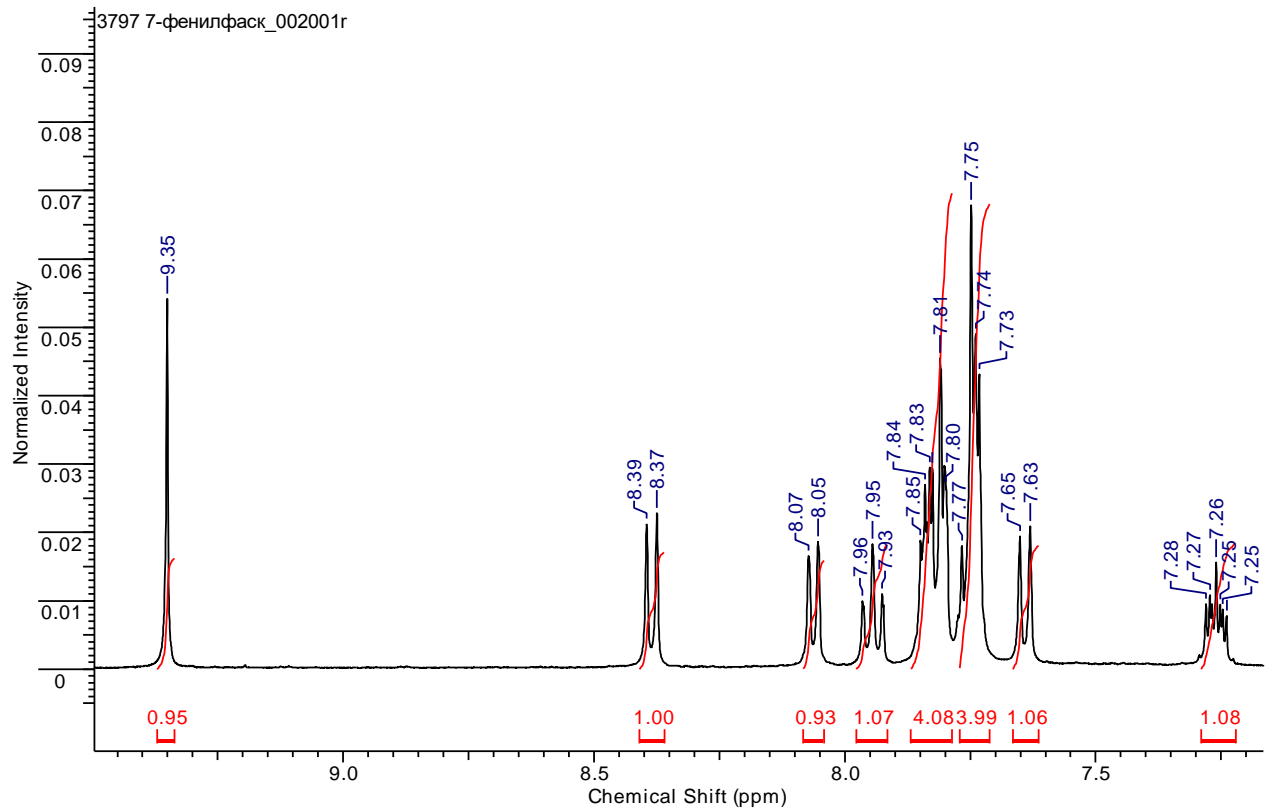
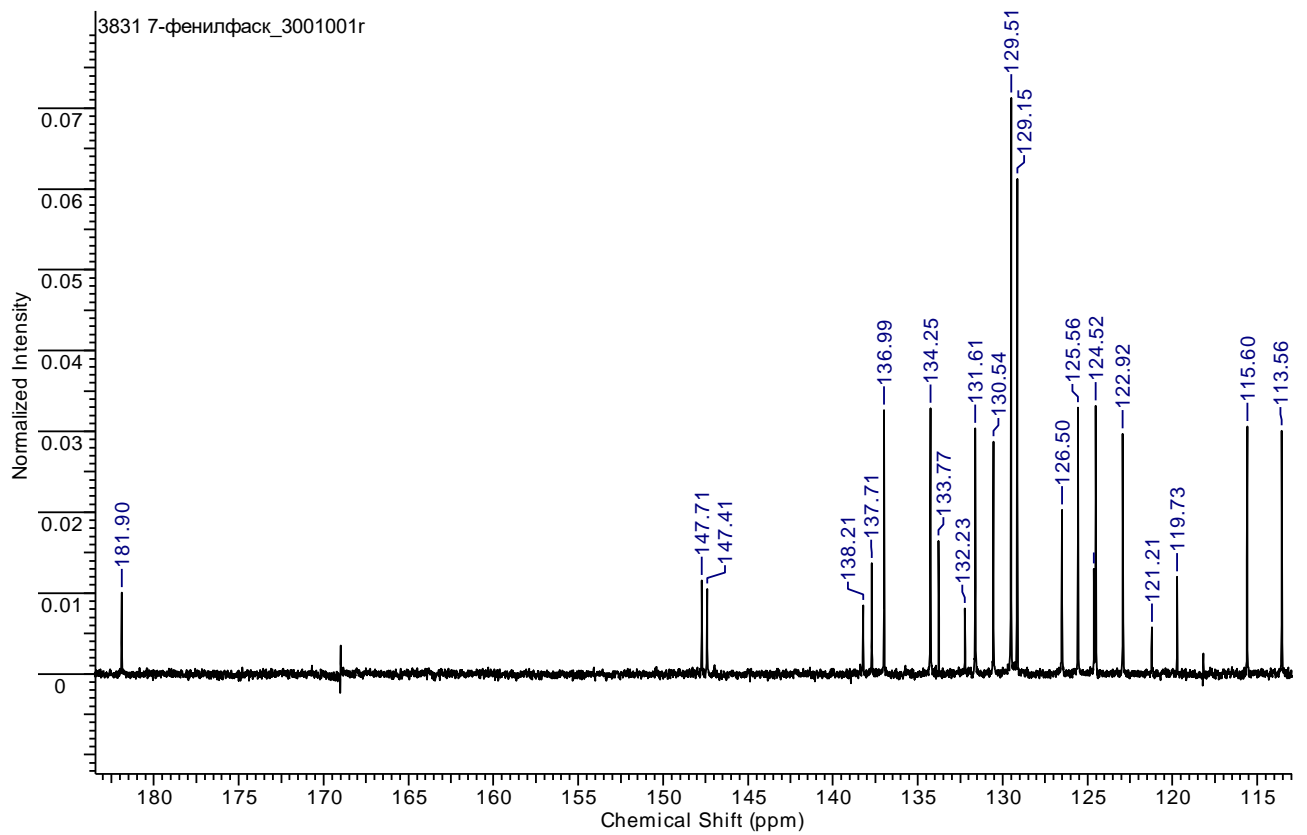


Рисунок 53 – Схема синтеза 7-фенилфаскаплизина (**143**)

Данные ^1H и ^{13}C ЯМР-спектров подтверждают предложенную структуру целевого соединения **143**. В ^1H -ЯМР спектре присутствуют сигналы с общей интегральной интенсивностью, соответствующей четырнадцати атомам водорода. ^{13}C ЯМР-спектре присутствуют сигналы двадцатичетырех атомов углерода, один из которых соответствует атому углерода карбонильной группы

Рисунок 54 – ^1H ЯМР-спектр соединения **143**Рисунок 55 – ^{13}C ЯМР-спектр соединения **143**

2.2.6 Синтез 7-этилфаскаплизина (**144**)

Следующим этапом в данной работе было применение разработанной методики для получения большего количества замещенных по положению 7 фаскаплизинов. В качестве метиленактивных соединений решено было использовать производные диэтилового эфира малоновой кислоты по следующим причинам: а) возможность модификации данных соединений различными заместителями; б) достаточно высокая метиленовая активность, обусловленная наличием двух электроноакцепторных групп рядом с реакционным центром. Использование подобных соединений приведет к образованию промежуточных продуктов, содержащих в седьмом положении базовой структуры как целевой заместитель, так и сложноэфирную группу, которую в дальнейшем предполагалось гидролизовать с последующим декарбоксилированием. В связи с этим было решено изучить данную реакцию на примере взаимодействия индиго (**99**) с диэтиловым эфиром этилмалоновой кислоты (**145**).

На этапе конденсации индиго с диэтиловым эфиром этилмалоновой кислоты (Рис. 56) образовался продукт **146**, не содержащий сложноэфирную группу, что подтверждается отсутствием характеристических сигналов в ^1H и ^{13}C -ЯМР спектрах данного соединения. Таким образом, в реакционной смеси происходит «one-pot» синтез пиридоиндольного скелета с последующим декарбоксилированием, что говорит о возможности применения данной методики для получения широкого круга соединений типа **146**.

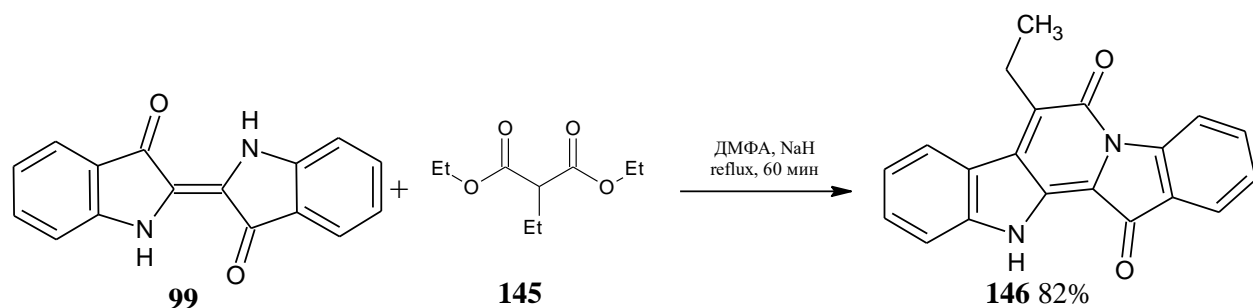


Рисунок 56 – Схема взаимодействия индиго (**99**) с диэтиловым эфиром этилмалоновой кислоты (**145**)

По результатам анализа состава реакционной смеси после попытки конверсии соединения **146** в соответствующее производное фаскаплизина **144** было обнаружено только исходное соединение (Рис. 57).

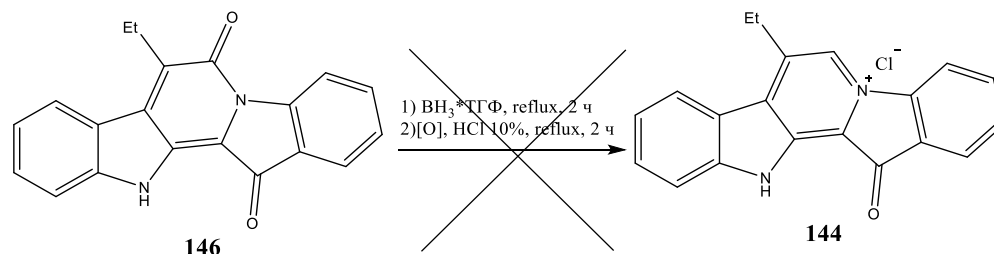


Рисунок 57 – Попытка синтеза 7-этилфаскаплизина (**144**)

Было выдвинуто предположение о том, что энергия активации, которую может сообщить реактантам кипячение в ТГФ, недостаточна для получения продукта восстановления соединения **146**. Самым простым решением данной проблемы является увеличение температуры реакционной смеси заменой растворителя на более высококипящий. В данном случае, однако, это невозможно, так как ТГФ необходим для образования комплексного восстановителя $\text{BH}_3 \cdot \text{TGF}$. Наиболее подходящим способом добиться желаемого результата является использованием автоклава, что позволило бы увеличить температуру в реакционной смеси без смены растворителя или проведение реакции в микроволновом реакторе. Так как микроволновое излучение значительно увеличивает скорость реакции, было решено использовать данный вариант вместе с автоклавированием. В ходе серии экспериментов был изучен широкий набор условий восстановления под действием микроволнового излучения (Табл. 6)

Таблица 6 – Оптимизация условий восстановления соединения **146** под действием микроволнового излучения

№	Время, мин	Мощность, Вт	Результат (контроль по ТСХ)
1	10	50	144 отсутствует
2	30	50	144 присутствует с небольшим количеством примесей
3	60	50	144 присутствует. Количество примесей значительно выше и увеличивается при увеличении времени проведения реакции
4	90	50	
5	120	50	
6	а) 120 б) 60	а) 50 б) 100	После этапа б) наблюдается образование нового продукта желтого цвета

В результате соединения **144** было получено в автоклаве под действием микроволнового излучения мощностью 50 Вт в течение 30 минут. В результате целевой продукт **144** был сформирован, выделен и очищен.

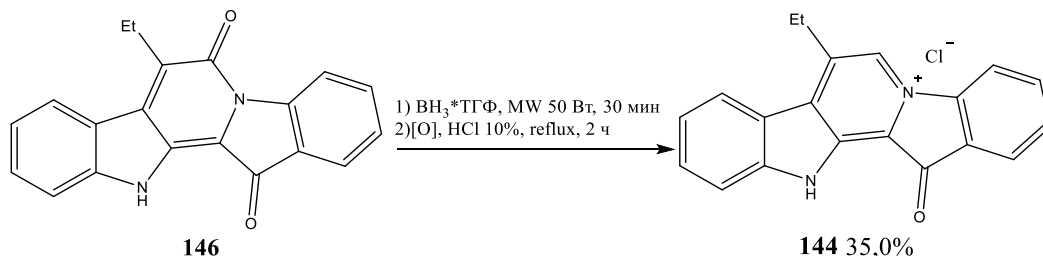


Рисунок 58 – Схема синтеза 7-этифаскаплизина (**144**)

2.2.7 Синтез 7-метилфаскаплизина (**147**)

В качестве следующего соединения был выбран 7-метилфаскаплизин. После стадии циклизации индиго (Рис. 59) была получена плохо поддающаяся хроматографическому разделению смесь соединений. Несмотря на это, целевой пиродоиндол был выделен, и его структура была подтверждена.

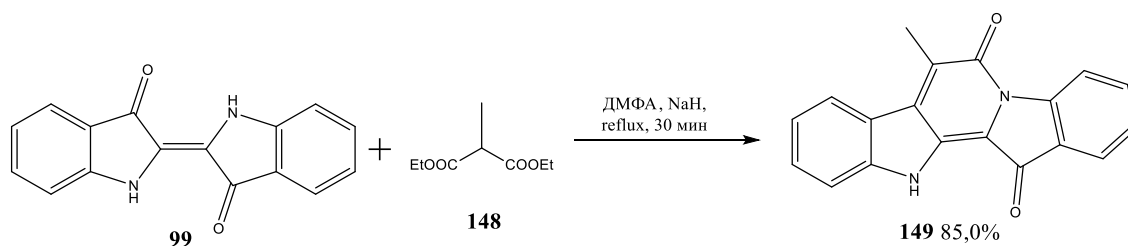


Рисунок 59 – Схема взаимодействия индиго (**99**) с 2-метил-малоновым эфиром (**148**)

Для конверсии промежуточного продукта **149** в соответствующий фаскаплизин было использовано восстановление под действием микроволнового излучения (Рис. 60), примененное нами ранее для получения 7-этилфаскаплизина (**144**).

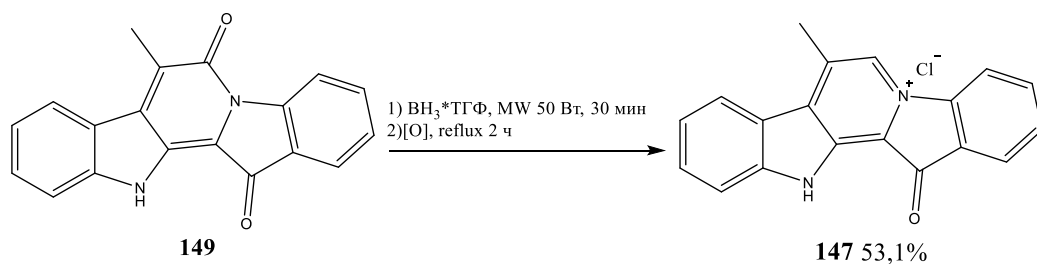


Рисунок 60 – Синтез 7-метилфаскаплизина (**147**)

2.2.8 Попытка синтеза 7-трет-бутилфаскаплизина (**150**)

Выбор 7-трет-бутилфаскаплизина в качестве следующего целевого производного фаскаплизина для синтеза обусловлен следующими соображениями. Как уже отмечалось выше, недостатком фаскаплизина является планарность его структуры, являющаяся причиной способности этого алкалоида интеркалировать в ДНК. Считается, что это свойство в значительной степени обуславливает достаточно высокую токсичность данного соединения. Один из способов решения названной проблемы, связанный с получением его непланарных аналогов, не оправдал ожиданий. Наличие *трет*-бутильного заместителя в седьмом положении позволяет, с одной стороны, сохранить скелет фаскаплизина и связанный с ним спектр биологической активности, а с другой, исключить возможность интеркаляции в ДНК, что, исходя из существующих представлений, должно привести к уменьшению токсичности данного производного по сравнению с незамещенным алкалоидом.

В качестве предварительного этапа предстояло получить диэтиловый эфир 2-трет-бутилмалоновой кислоты (**151**). Синтез этого соединения был найден в литературе [76] и воспроизведен нами (Рис. 61).

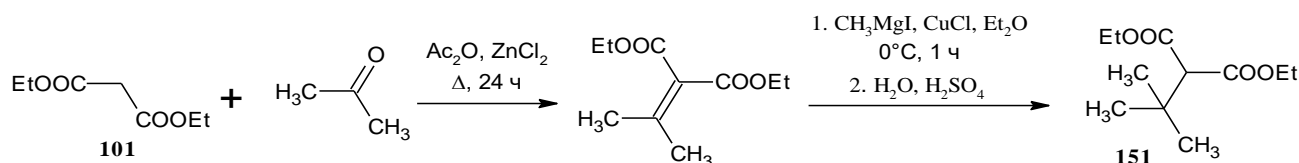


Рисунок 61 – Синтез диэтилового эфира 2-трет-бутилмалоновой кислоты (**151**)

Взаимодействие соединения **151** с индиго проводилось в обычных условиях. Образец для получения спектральных данных был выделен путем ПТСХ на незакрепленном слое сорбента. Однако в масс-спектрах полученного соединения были обнаружены пики молекулярных ионов $[M+H]^+$ с $m/z = 359$ и $[M-H]^-$ с $m/z = 357$ (Рис. 62), тогда как молекулярная масса целевого продукта должна быть равна 342 г/моль.

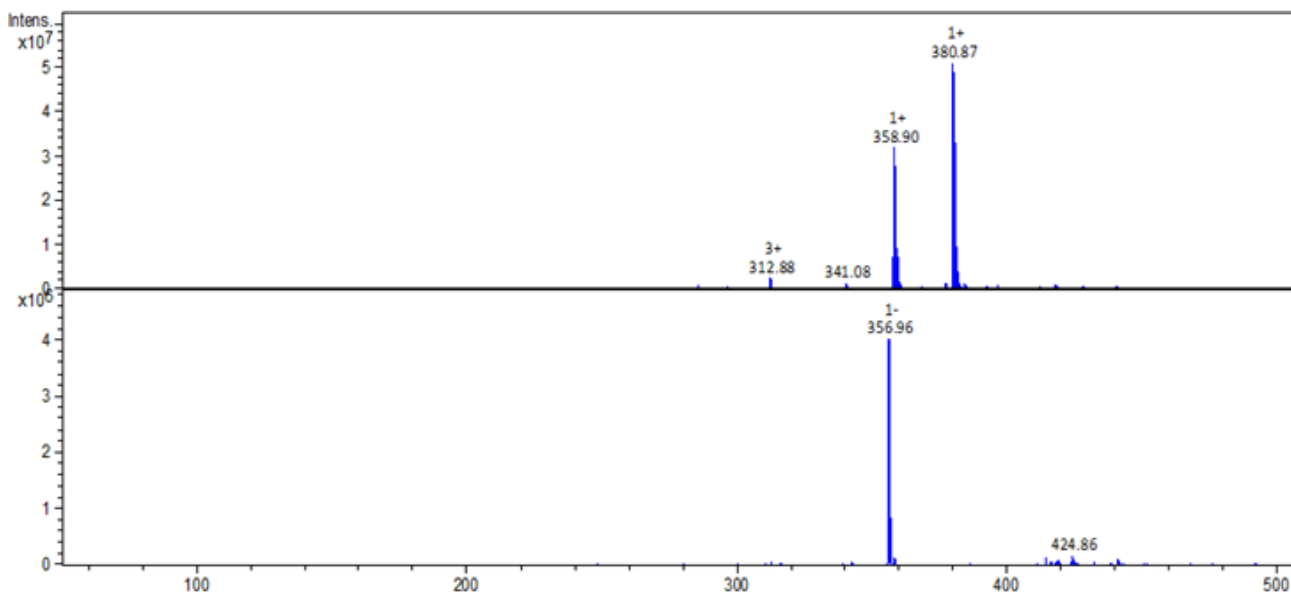


Рисунок 62 – Масс-спектры продукта конденсации индиго (**99**) с диэтиловым эфиром 2-*трет*-бутилмалоновой кислоты (**151**)

Данные масс-спектров продукта позволяют заключить, что в результате проведенной реакции целевая структура не была сформирована. В то же время молекулярную массу 358 г/моль имеет продукт конденсации индиго и незамещенного малонового эфира, что позволило нам сделать предположение о получении соединения **103** в ходе данной реакции.

Для подтверждения данной гипотезы был записан ^1H ЯМР-спектр полученного продукта. Сопоставление химических сдвигов сигналов ^1H полученного соединения и образца продукта конденсации индиго с малоновым эфиром (Табл. 7) позволяет говорить об их идентичности.

Таблица 7 – Значения химических сдвигов ядер ^1H полученного реакцией индигос с малоновым эфиром **151** соединения и соединения **103**

Положение	Продукт реакции 99 и 151 , м.д.	Эфир 103 , м.д.
(т, 3H) сложноэфирный	1.37	1.37
(к, 2H) сложноэфирный	4.52	4.51
(т, 1H) ароматический	7.16	7.16
(м, 2H) ароматический	7.41	7.41
(т, 1H) ароматический	7.58	7.57
(д, 1H) ароматический	7.65	7.64
(т, 1H) ароматический	7.76	7.75
(д, 1H) ароматический	7.82	7.82
(д, 1H) ароматический	8.55	8.56
(с, 1H) NH-группа	11.88	11.82

Нами было высказано предположение о механизме обсуждаемого превращения, представленного на Рис. 63. По-видимому, в данном случае доминирующим направлением реакции является элиминирование изобутилена через циклический интермедиат **i5**, а не гидролиз и последующее декарбоксилирование сложноэфирной группы.

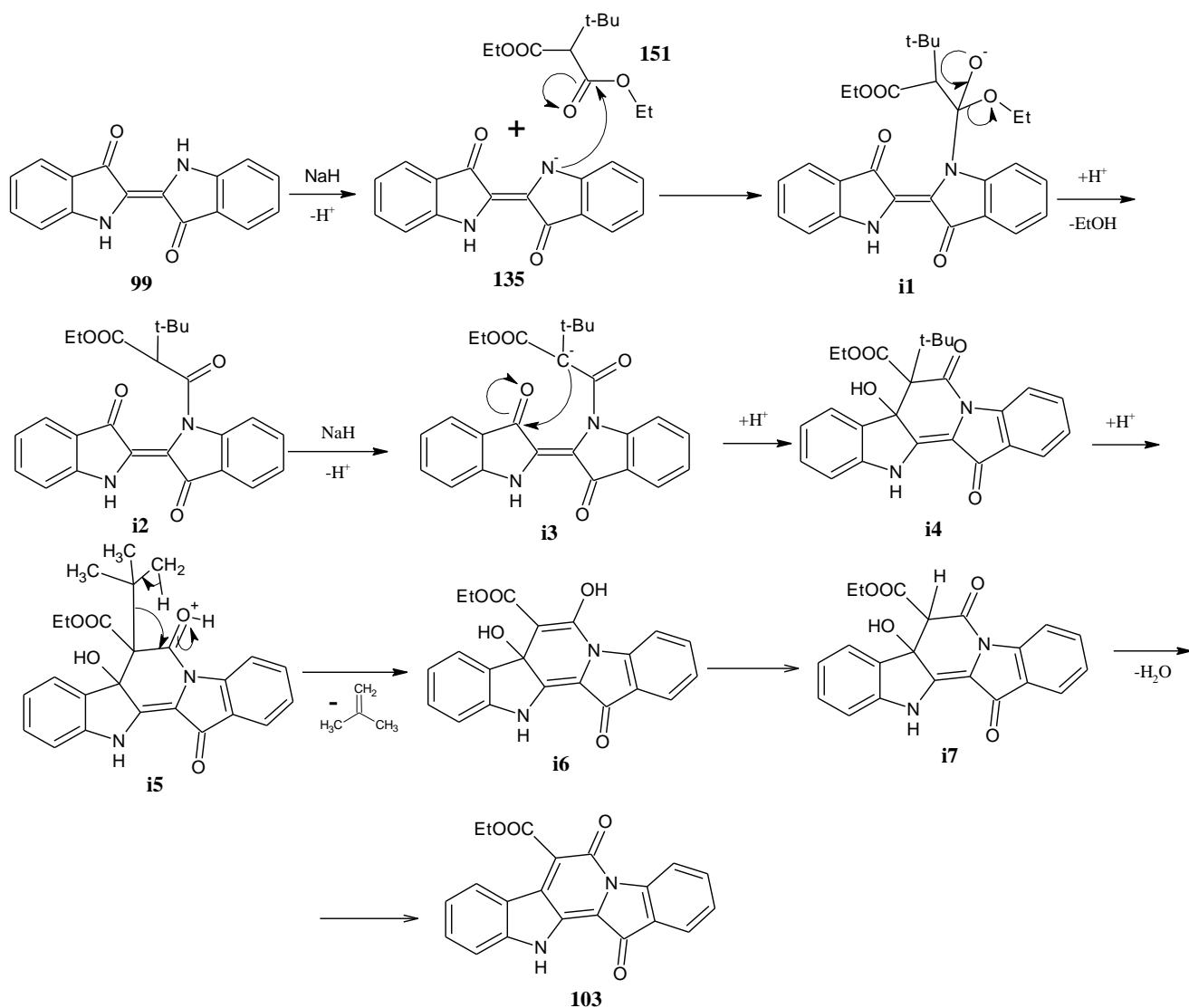


Рисунок 63 – Предполагаемый механизм взаимодействия индиго (99) с диэтиловым эфиром *трет*-бутилмалоновой кислоты (151)

Полученный результат свидетельствует о том, что при проведении данной реакции существенную роль ожидаемо играет природа вводимого заместителя, а именно его способность к элиминированию в виде устойчивой частицы, что ограничивает, например, использование в рамках данного метода разветвленных алкильных заместителей для модификации структуры фаскаплизина по положению 7. Таким образом, был выявлен недостаток данной синтетической схемы, которая, тем не менее, остается весьма эффективной для получения целого ряда производных фаскаплизина по положению 7.

2.3 Получение производных фаскаплизина по положению 6

Описанная в разделе 2.2 синтетическая схема не позволяет решить задачу функционализации шестого положения фаскаплизина в силу особенностей строения исходных метиленактивных соединений. Одним из наиболее простых и эффективных методов синтеза фаскаплизина и некоторых его производных является использование триптамина для получения замещенного 1-бензоил- β -карболина. Данный метод представляет собой мультикомпонентную реакцию, включающую йодирование соответствующего ацетофенона, окисление по Корнблему промежуточного соединения в присутствии ДМСО до фенилглиоксаля и его конденсацию по Пикте-Шпенглеру с триптамимином с последующим окислением промежуточного продукта. Далее образующийся β -карболин подвергается кватернизации под действием высокой температуры [61]. Использование замещенного в положении 2' триптамина может привести к получению производного фаскаплизина, содержащего заместитель в шестом положении. Таким образом, перед нами встала задача введения заместителей в данное положение триптамина. При анализе литературы были найдены сведения [77, 78] о получении 2'-замещенных триптаминов по представленной на Рис. 64 схеме.

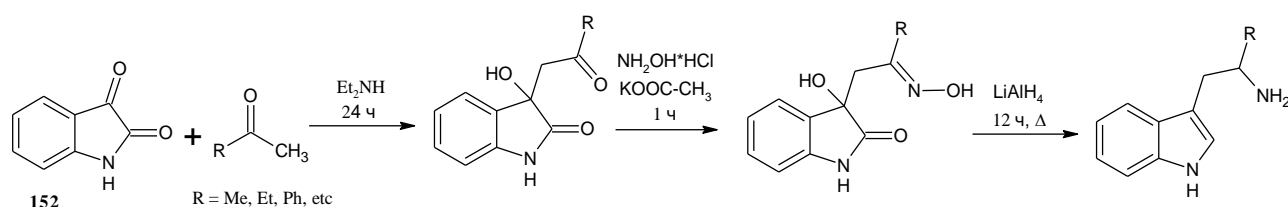


Рисунок 64 – Схема синтеза 2'-замещенных триптаминов [77]

2.3.1 Синтез 6-метилфаскаплизина (153)

В качестве модельного соединения для синтеза был выбран фаскаплизин, содержащий метильный заместитель в шестом положении. На первом этапе необходимо было получить 2'-метилтриптамин по методике из работы [77]. По результатам пробных экспериментов были подобраны оптимальные условия. В оригинальной методике ацетон был использован одновременно в качестве реа-

гента и растворителя, что приводило к образованию нежелательных продуктов конденсации ацетона. Использование этилового спирта в качестве растворителя позволило избежать протекания побочной реакции альдольно-кетоновой конденсации ацетона и способствовало выпадению полупродукта **154** из реакционной смеси при его образовании, что упростило получение целевого продукта. Получение оксима **155** не потребовало дополнительной доработки. На этапе восстановления оксима **155** до триптамина **156** кипячение в ТГФ с алюмогидридом лития в течение 12 часов было заменено на показавшее ранее отличные результаты кипячение с комплексом $\text{VH}_3 \cdot \text{ТГФ}$ в ТГФ с последующей обработкой смеси водным раствором HCl для разрушения образующегося комплекса (Рис. 65).

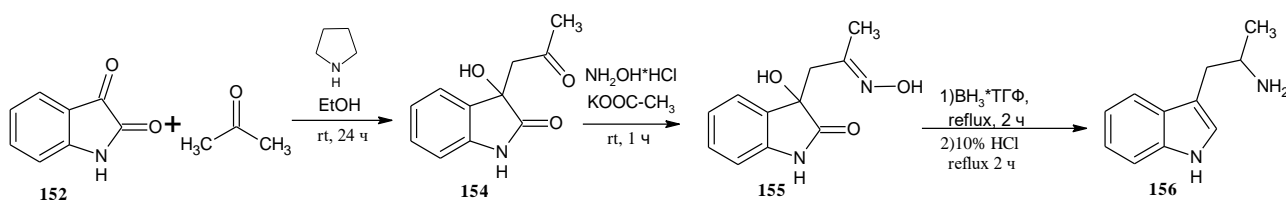


Рисунок 65 – Синтез 2'-метилтриптамина (**156**)

Полученный триптамин **156** без дополнительной очистки был введён в реакцию с *o*-бромацетофеноном **86** для формирования замещенного β -карболина **157** (Рис. 66).

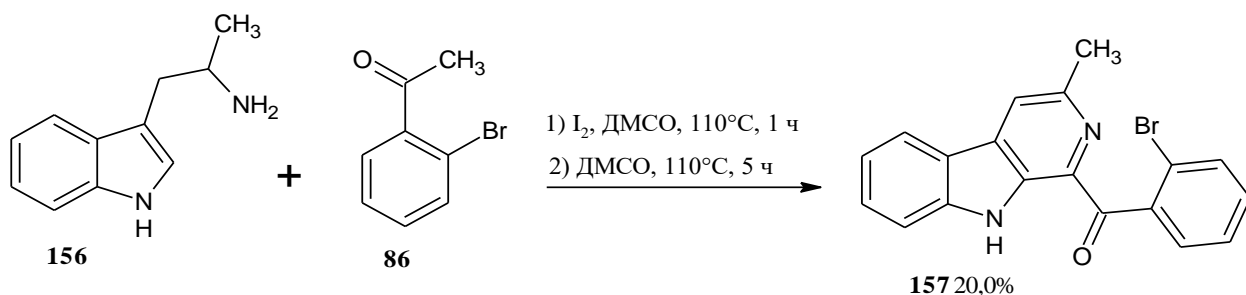


Рисунок 66 – Синтез 1-(2'-бромбензоил)-3-метил- β -карболина (**157**)

На завершающем этапе предстояло провести кватернизацию соединения **157** для получения целевого 6-метилфаскаплизина (**153**). Для этого исходный β -карболин был нагрет до $220\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 30 минут (Рис. 67).

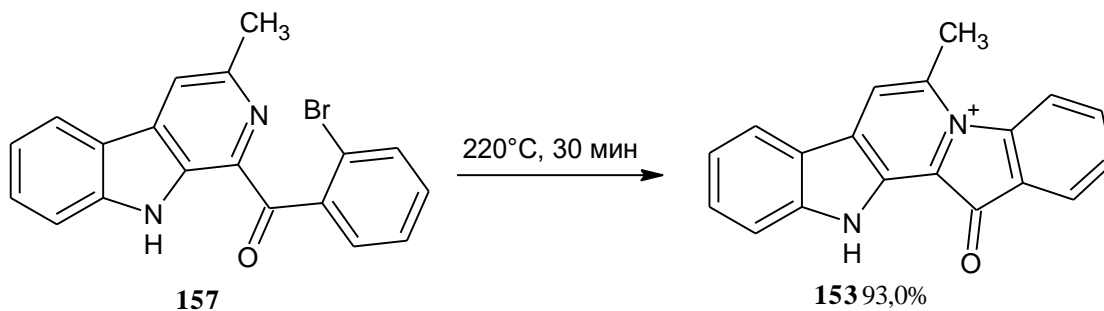


Рисунок 67 – Синтез 6-метилфаскаплизина (**153**)

Полученный порошок темно-красного цвета был очищен, и его структура была подтверждена с помощью ЯМР-спектроскопии.

2.3.2 Синтез 6-фенилфаскаплизина (**158**)

По модифицированной методике было получено еще одно производное фаскаплизина, содержащее фенил в качестве заместителя (Рис. 68). Его структура была доказана на основании данных ЯМР-спектров.

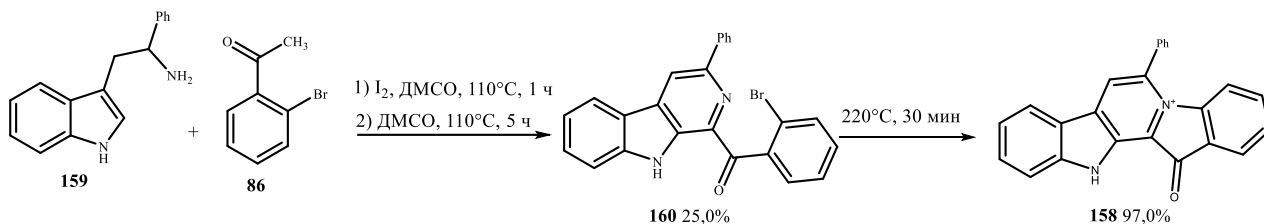


Рисунок 68 – Синтез 6-фенилфаскаплизина (**158**)

2.3.3 Синтез 6-трет-бутилфаскаплизина (**161**)

Так как попытка получить 7-трет-бутилфаскаплизин на основе индиго не дала положительных результатов, то было решено получить его изомер, содержащий трет-бутильный заместитель в положении 6. Наличие данного заместителя внесло значительные изменения в схему синтеза. Были изменены условия альдольной конденсации изатина и пинаколины. Ввиду того, что в результате взаимодействия альдоля **162** с гидроксилами происходил ретроальдольный распад, для получения оксима **165** были добавлены две дополнительные стадии дегидратации и последующего восстановления полученной двойной связи; само получение оксима **165** проводилось в течение 48 часов. Прямое восстановление полученного оксима **165** в триптамин **167** под действи-

ем различных реагентов не привело к желаемым результатам, поэтому оно было заменено на двухстадийное: 1) восстановление оксима **165** до амина **166** водородом над оксидом платины (IV); 2) восстановление оставшегося амидного фрагмента комплексом гидридом бора (III) с ТГФ (Рис. 69).

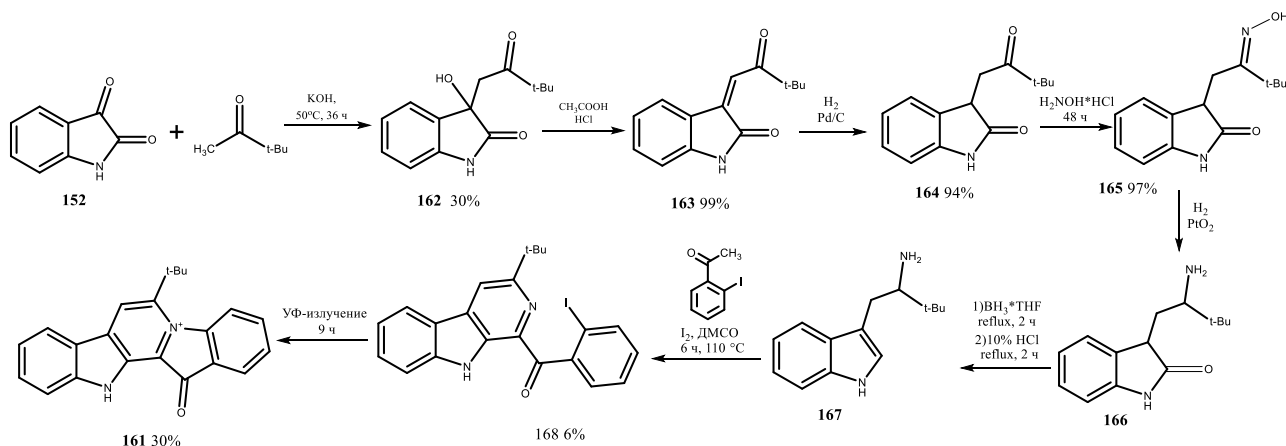


Рисунок 69 – Схема синтеза 6-*tert*-бутилфаскаплизина (**161**)

Помимо этого, со сложностями пришлось столкнуться на этапе кватернизации β -карболина **168**. Были использованы различные варианты методики, но положительный результат дало только УФ-облучение – недавно разработанный способ конверсии β -карболинов в соответствующие фаскаплизины [79] (Табл. 8).

Таблица 8 – Условия кватернизации β -карболина **168**

№ п/п	Температура, °С	Время	Дополнительные условия	Результат
1	225	30 мин	-	-
2	225	60 мин	-	-
3	235	30 мин	-	-
4	235	30 мин	-	-
5	200	30 мин	Нанесение на силикагель	-
6	225	30 мин	Нанесение на силикагель	-
7	225	30 мин	Присутствие хлорида пиридиния	-
8	225	60 мин	Присутствие хлорида пиридиния	168 + следовые количества 161
9	225	30 мин	Расплав хлорида пиридиния	-

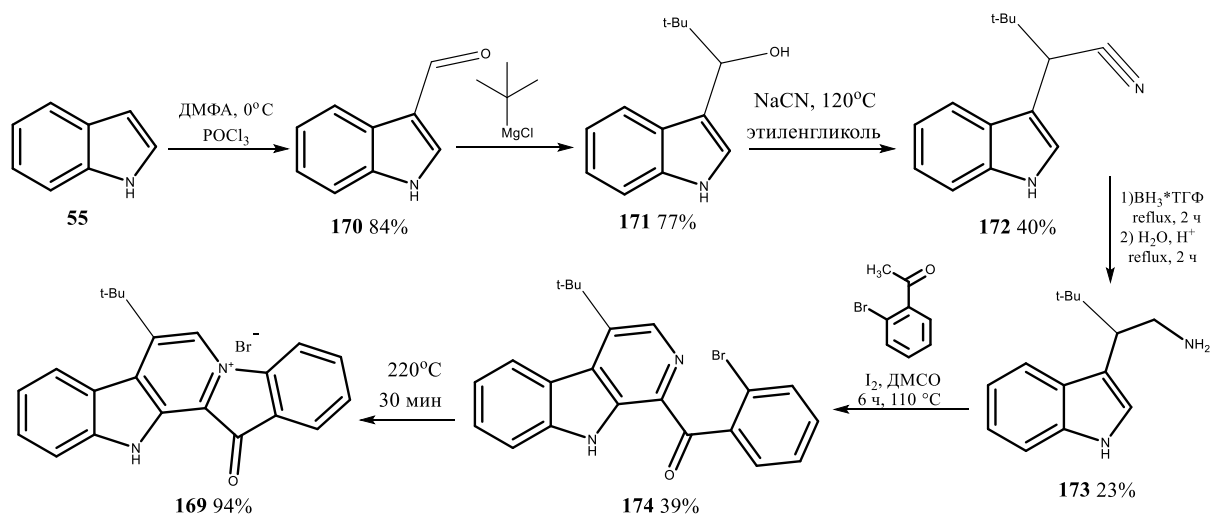
Продолжение Таблицы 8

10	20°C	6 ч	УФ-облучение	168 + небольшое количество 161
11	20°C	9 ч	УФ-облучение	168 + 161
12	20°C	12 ч	УФ-облучение	168 + 161 . Начинают образовываться различные побочные продукты

Несмотря на то, что целевое соединение **161** было получено, его суммарный выход в пересчете на изатин составил 2%. Основные потери происходят на этапах восстановления оксима **165** до триптамина **167**, дальнейшем получении β-карболина **168** и финальной кватернизации, что связано, по-видимому, с наличием объемного *tert*-бутильного заместителя рядом с реакционным центром.

2.3.4 Синтез 7-*tert*-бутилфаскаплизина (**169**)

В связи с этим было решено в рамках данной синтетической схемы получить изомерный 7-*tert*-бутилфаскаплизин (**169**). Соединение **172** было синтезировано по известным методикам [80-82] и восстановлено в триптамин **173**. Далее был получен β-карболин **174**, успешно кватернизованный при нагревании до 220°C в соответствующий фаскаплизин **169** (Рис. 70).

Рисунок 70 – Синтез 7-*tert*-бутилфаскаплизина (**169**)

В данном случае стадии получения триптамина, β -карболина и фаскаплизина дают хорошие выходы, что подтверждает высказанное предположение о влиянии стерического фактора в случае с 6-*трет*-бутилфаскаплизином (**161**).

Таким образом, успешное получение в рамках данной схемы производных фаскаплизина по положению 6 и 7 доказывает ее эффективность и перспективность использования для расширения серии подобных соединений в дальнейшем. Данный метод подобно способу, основанному на использовании индиго, позволяет функционализировать центральный цикл нативного алкалоида, но отличается от последнего большей универсальностью, более простыми процедурами очистки и выделения промежуточных соединений, но в тоже время включает большее число стадий.

2.4 Биологическая активность полученных соединений

Так как первым соединением из семи, полученных в рамках данного исследования, являлся 7-фенилфаскаплизин (**143**), то было решено провести предварительную оценку биологической активности именно на нем. Для этого была изучена цитотоксическая эффективность соединения **143** на модели глиомы линии C6 *in vitro* [39]. При концентрации 0.5 мкМ в образцах, обработанных фаскаплизином и 7-фенилфаскаплизином, через 72 ч зафиксированное число живых клеток составляло 45.5% и 31.1% соответственно, что свидетельствует о перспективности проведения испытаний на всей линейке полученных производных фаскаплизина по центральному циклу.

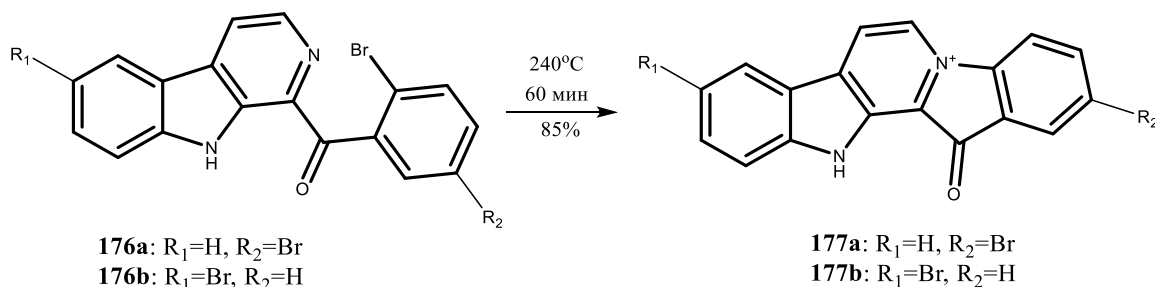


Рисунок 71 – Синтез 2-бромфаскаплизина (**177a**) и 9-бромфаскаплизина (**177b**)

Для определения противоопухолевого потенциала синтезированных соединений было проведено комплексное исследование их цитотоксической активности в условиях *in vitro*. При этом с целью оценки влияния модификации именно центрального цикла базовой системы в качестве положительного контроля наряду с фаскаплизином (**1**) были использованы его природные бромпроизводные (3-бромфаскаплизин (**4**) и 3,10-дибромфаскаплизин (**6**)), а также два их синтетических аналога: 2-бромфаскаплизин (**177a**) и 9-бромфаскаплизин (**177b**), содержащие заместители в боковых циклах фаскаплизина. Схема синтеза последних двух соединений приведена на рисунке 71.

В качестве модельных систем были выбраны клетки рака предстательной железы человека с различной степенью злокачественности PC3, 22Rv1, DU145 и LNCaP, а также на неопухолевые клеточные линии PNT2, MRC-9 и HEK293. По результатам МТТ-теста, все синтезированные производные были активны, обладая $IC_{50} < 5$ мкМ для подавляющего большинства линий опухолевых клеток (Таблица 9). В целом исследованные соединения показали определенную селективность в отношении гормононезависимых клеток 22Rv1 и более низкую активность в отношении клеток РС-3, которые также известны своей устойчивостью к многочисленным средствам гормональной и стандартной химиотерапии. Поэтому клеточные линии 22Rv1 были выбраны для последующих исследований с целью определения антипролиферативных и цитотоксических свойств синтезированных производных фаскаплизина. Поскольку МТТ-тест оценивает метаболическую активность клеток, дополнительно был применен анализ окрашивания трипановым синим, который позволяет различать клетки с интактными и пермеабиллизированными клеточными мембранами. Кроме того, методом проточной цитометрии в сочетании с окрашиванием клеток йодидом пропидия оценивали влияние соединений на клеточный цикл, а также индукцию апоптоза (Таблица 10).

Таблица 9 – Цитотоксичность некоторых производных фаскаплизина по циклу А, С или Е

№	Соединение	Цитотоксичность, IC ₅₀ (мкМ), МТТ-тест							Индекс селектив-
		линии опухолевых клеток				линии неопухолевых клеток			
		PC-3	22Rv1	DU145	LNCaP	PNT2	MRC-9	HEK293	
1	фаскаплизин	0.77±0.13	0.24±0.81	0.80±0.05	0.41±0.02	0.46±0.08	0.89±0.0.0 5	0.46±0.19	1.03
2	2-бромфаскаплизин	3.40±1.89	0.53±0.07	1.90±0.63	0.35±0.08	0.82±0.08	4.27±0.66	1.10±0.07	1.10
3	3-бромфаскаплизин	10.03±6.75	0.42±0.06	1.51±0.13	1.25±0.38	0.73±0.06	2.30±0.87	1.01±0.07	0.29
4	9-бромфаскаплизин	2.78±0.37	1.07±0.09	2.24±0.18	1.41±0.09	0.45±0.10	15.50±2.5 0	2.54±1.14	2.74
5	3,10-дибромфаскаплизин	7.28±0.48	0.69±0.02	1.51±0.06	0.59±0.09	3.49±1.01	>50.00	0.54±0.05	4.40
6	6-метилфаскаплизин	2.67±0.14	1.59±0.51	2.24±0.89	2.24±0.81	3.25±0.80	2.98±0.93	1.82±0.39	1.23
7	7-метилфаскаплизин	1.07±0.55	0.79±0.04	1.79±0.48	0.80±0.08	0.96±0.09	1.18±0.10	0.59±0.09	0.82
8	7-этилфаскаплизин	0.56±0.10	0.27±0.05	2.37±0.45	0.61±0.05	0.49±0.09	1.45±0.65	0.70±0.21	0.86
9	6-фенилфаскаплизин	0.43±0.10	0.16±0.03	0.44±0.10	0.28±0.04	0.44±0.08	0.86±0.11	0.41±0.07	1.73
10	7-фенилфаскаплизин	0.39±0.08	0.18±0.04	0.49±0.07	0.14±0.06	0.43±0.02	0.60±0.11	0.54±0.07	1.40
11	6-трет-бутилфаскаплизин	1.10±0.22	0.58±0.14	1.73±0.36	1.33±0.47	1.82±0.59	1.37±0.21	0.35±0.09	0.99
12	7-трет-бутилфаскаплизин	0.22±0.06	0.10±0.04	0.34±0.14	0.30±0.13	0.28±0.05	0.30±0.09	0.16±0.05	0.95

Общий анализ зависимости структура-активность показал, что введение одного радикала в один из циклов А, С или Е фаскаплизина не приводит к значительному повышению цитотоксической активности в отношении раковых клеток по сравнению с активностью фаскаплизина. В то же время для 9-

бромфаскаплизина (**177b**) и 3,10-дибромфаскаплизина (**6**) индекс селективности составил, соответственно, 2.7 и 4.4, против 1.0 у фаскаплизина, что, впрочем, обусловлено многократным снижением цитотоксичности данных соединений в отношении единственной культуры неопухолевых клеток MRC-9. Интересно отметить, что для данных соединений величина IC_{50} , определенная с помощью метода окрашиванием трипановым синим, была в 2.5 и 7.5 раз выше, чем с помощью МТТ-теста. Это свидетельствует о том, что данные производные по-видимому обладают специфическим действием на клеточный метаболизм, ингибирование которого демонстрируется МТТ-тестом. В то же время, целостность клеточной мембраны, оцениваемая с помощью анализа с трипановым синим, под действием данных соединений не нарушается.

Таблица 10 – Антипролиферативные и цитотоксические свойства некоторых производных фаскаплизина

№	Соединение	Активность в клетках 22Rv1		
		Тест с трипановым синим, IC_{50} (мкМ)	Фаза остановки клеточного цикла при IC_{50}	% клеток, подвергшихся апоптозу при IC_{50}
1	фаскаплизин	0.33±0.09	G1	11.43±0.84
2	2-бромфаскаплизин	0.26±0.05	G1	8.83±0.70
3	3-бромфаскаплизин	0.24±0.04	G1	23.30±9.19
4	9-бромфаскаплизин	2.79±0.22	отсутствует	32.38±1.00
5	3,10-дибромфаскаплизин	5.14±0.22	отсутствует	3.83±0.44
6	6-метилфаскаплизин	2.03±0.61	G1	14.20±0.57
7	7-метилфаскаплизин	0.47±0.19	G1	23.10±3.42
8	7-этилфаскаплизин	0.37±0.09	G1	13.40±0.92
9	6-фенилфаскаплизин	0.21±0.07	отсутствует	16.40±2.47
10	7-фенилфаскаплизин	0.17±0.07	G1	7.00±1.40
11	6-трет-бутилфаскаплизин	0.47±0.11	G1	15.17±0.95
12	7-трет-бутилфаскаплизин	0.11±0.03	-	-

Далее сравнение активности производных фаскаплизина по циклу С продемонстрировало тенденцию к увеличению цитотоксичности в ряду заместителей Me- < Et- < *t*-Bu- < Ph-. Более того, фенильные производные **143** и **158**, а

также 7-*трет*-бутилфаскаплизин (**150**) проявили самую высокую цитотоксичность среди всех протестированных соединений. Сравнение изомерных 6- и 7-фенилфаскаплизинов не выявило существенной разницы в активности между ними, в то время как цитотоксичность 6- и 7-*трет*-бутилфаскаплизинов различалась в пять раз (см. строки 9/10 и 11 /12 в Таблице 9). Аналогичным образом цитотоксичность 7-метилфаскаплизина превышает результаты его изомера по положению 6, однако эта закономерность менее выражена. Следует отметить, что соединения, обладающие модифицированным центральным циклом, в примерно равной степени цитотоксичны для большинства культур исследованных опухолевых клеток, включая резистентные к терапии клетки линии РС-3, тогда как незамещенный фаскаплизин и его производные по боковым циклам были менее активны в отношении данной клеточной линии.

Также было показано, что фаскаплизин и большинство его производных вызывали остановку клеточного цикла у опухолевых клеток 22Rv1 на фазе G1, что коррелирует с ранее полученными данными для фаскаплизина как селективного ингибитора циклинзависимой киназы 4 [17]. Кроме того, все изученные соединения в концентрациях, близких к значениям IC₅₀, индуцировали определенную фрагментацию ДНК. Однако корреляции данного эффекта со строением протестированных соединений обнаружить не удалось.

Для оценки влияния введенных заместителей на способность фаскаплизина интеркалировать в ДНК была изучена способность полученных соединений вытеснять флуоресцентный интеркалятор тиазол оранжевый из комплекса с ДНК в условиях *in vitro* [83] (Таблица 11). Как следует из данных Таблицы 11, введение фенильных радикалов в центральный цикл фаскаплизина не повлияло на его способность взаимодействовать с ДНК. Наблюдаемый эффект можно объяснить тем, что в процессе формирования комплекса с ДНК молекула соответствующего производного принимает конформацию, при которой данный фрагмент находится в одной плоскости с основным скелетом молекулы. Одновременно с этим производное фаскаплизина **169**, содержащие *трет*-бутильный

заместитель в положении 7, связывается с ДНК в почти семь раз хуже, чем незамещенный фаскаплизин, сохраняя при этом сопоставимый уровень цитотоксичности и селективности. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что в механизме цитотоксического действия фаскаплизина и его производных на опухолевые клетки интеркаляция в ДНК не играет ведущую роль.

Таблица 11 - EC_{50} фаскаплизинов в тесте вытеснения тиазола оранжевого из комплекса с ДНК.

Соединение	EC_{50}	SD	SEM	$EC_{50} \pm SEM$ (мкМ)
пропидиум иодид	0.05	0.00	0.00	0.04±0.01
фаскаплизин	0.54	0.02	0.01	0.54±0.01
7- фенилфаскаплизин	1.17	0.04	0.02	1.17±0.02
7- <i>трет</i> - бутилфаскаплизин	3.56	0.28	0.16	3.56±0.15

3 Экспериментальная часть

ИК-спектры записаны на ИК-фурье-спектрометре Perkin-Elmer Spectrum BX-II в таблетках с KBr и в растворах в хлороформе. Полосы поглощения указаны в обратных сантиметрах (см^{-1}). Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C получены на спектрометре Bruker Advance 400 (400 МГц для ядер ^1H и 100 МГц для ядер ^{13}C) в $\text{CHCl}_3\text{-d}_1$, MeOH-d_4 , C_6D_6 и DMCO-d_6 при 30°C , внутренний стандарт – ТМС. Химические сдвиги приведены в м. д. в δ -шкале относительно ТМС, константы спин-спинового взаимодействия (J) в Гц. Температуры плавления определяли на приборе Buchi B-540 в капилляре и не корректировали. 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. Препаративную жидкостную хроматографию среднего давления проводили на приборе на основе насоса Buchi C-601.

В ходе данной работы по известным методикам были получены следующие соединения: этиловый эфир индолил-3-уксусной кислоты [72]; 3-формилиндол [72]; 3-гидроксииндол [72]; 3-броминдол [72]; 3-индолилацетон [72], индигофенилацетоуксусный эфир (**96**) [66], индигомалоновый эфир (**95**) [67], 6,6'-диброминдиго (**134**) [75], диэтиловый эфир 2-*трет*-бутилмалоновой кислоты (**145**) [74], 2'-метилтриптамин (**149**) [77], 2'-фенилтриптамин (**159**) [77], 2'-*трет*-бутилтриптамин (**166**) [77], 1'-*трет*-бутилтриптамин (**173**) [80-82].

3.1 Этил-2,3'-бис-индол-3-илацетат (**124**)

Раствор 1 г этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (**115**) (0.005 моль) и 0.875 г 3-ацетоксииндола (**116**) (0.005 моль) в 3 мл CF_3COOH перемешивали течение 3 ч при 22°C . Реакционная смесь была вылита в воду (50 мл) проэкстрагирована этилацетатом (3×15 мл), полученный экстракт был промыт насыщенным раствором NaHCO_3 (2×5 мл), затем водой (2×5 мл) и высушен

над сульфатом натрия. Растворитель был упарен при пониженном давлении. Полученная смесь была разделена на фракции при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления на колонке с SiO₂, элюент – система гексан : этилацетат = 5 : 1. Продукт был выделен в индивидуальном виде с помощью ТСХ с закрепленным слоем сорбента, элюент - система гексан : этилацетат = 5 : 1. Выход продукта 47%.

ИК-спектр (KBr), ν/cm^{-1} : 3387, 3339, 3057, 2982, 1705.

Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z : 318 (M⁺); 272; 245; 217; 122; 89.

Спектр ЯМР ¹H (CHCl₃-d₁): 10.74 (уш. с., 1H), 8.34 (уш. с., 1H), 7.69 (д., $J = 8.0$ Гц, 1H), 7.54 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.41 (д., $J = 8.0$ Гц, 1H), 7.16-7.29 (м., 4H), 6.75 (д., $J = 1.5$ Гц, 1H), 4.27 (к., $J = 7.0$ Гц, 2H), 3.94 (с., 2H), 1.36 (т., $J = 7.8$ Гц, 3H),

3.2 *Этил-2',3'-дигидро-2,2'бис-индол-3-илацетат (126)*

Раствор 1.142 г этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (0.0056 моль) и 0.658 г индола (0.0056 моль) в 1.5 мл CF₃COOH перемешивали 3 ч при 22°C. Реакционная смесь после разбавления водой была проэкстрагирована этилацетатом (3 × 15 мл), полученный экстракт был промыт насыщенным раствором NaHCO₃ (2 × 5 мл), затем водой (2 × 5 мл) и высушен над сульфатом натрия. Растворитель был упарен при пониженном давлении. Полученная смесь была разделена на фракции при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления на колонке с SiO₂, элюент – система гексан : этилацетат = 5 : 1. Продукт был выделен в индивидуальном виде с помощью ТСХ с закрепленным слоем сорбента, элюент - система гексан : этилацетат = 5 : 1. Выход продукта 9%.

Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z : 320 (M⁺); 245; 233; 217; 130; 89.

ИК-спектр (KBr), ν/cm^{-1} : 3371, 3048, 2983, 1608.

Спектр ЯМР ¹H (CHCl₃-d₁):, 8.42 (уш. с., 1H), 7.58 (д., $J = 7.7$ Гц, 1H), 7.28 (д., $J = 7.9$ Гц, 1H), 7.06-7.73 (м., 4H), 6.78 (т., $J = 7.4$ Гц, 1H), 6.70 (д., $J = 7.7$ Гц,

1H) 5.26 (т., $J = 9.4$ Гц, 1H), 4.12 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H), 3.73 (дд., $J = 23.0$; 7.6 Гц, 2H), 3.02-3.51 (м., 2H), 1.24 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H).

3.3 7,13-Дигидро-6-оксо-12H-пиридо[1,2-а:3,4-в']дииндол (128)

К раствору 0.02 г Этил 2',3'-дигидро-2,2'бис-индол-3-илацетата (**126**) в 4 мл изопропилового спирта было добавлено каталитическое количество *n*-толуолсульфокислоты, после чего смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2.5 ч. Реакционная смесь после разбавления водой была проэкстрагирована этилацетатом (3 × 15 мл), полученный экстракт был промыт насыщенным раствором NaHCO₃ (2 × 5 мл), затем водой (2 × 5 мл) и высушен над сульфатом натрия. Растворитель был упарен при пониженном давлении. По данным ГЖХ-МС в смеси преобладает целевой продукт циклизации.

Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z : 274 (M⁺); 245; 217; 155; 122; 89.

3.4 7-Гидро-6-оксо-12H-пиридо[1,2-а:3,4-в']дииндола (129)

К экстракту реакционной смеси, полученной описанным выше способом, был добавлен γ -диоксид марганца (0.02 г), после чего смесь перемешивалась 1 ч при 22°C. Далее окислитель был отфильтровыван, фильтрат проанализирован при помощи ГЖХ-МС.

Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z : 272 (M⁺); 243; 216; 121; 94; 75.

3.5 Взаимодействие 3-индолилацетона (130) и индола (55)

Раствор 0.346 г 3-индолилацетона (**130**) (0.002 моль) и 0.234 г индола (**55**) (0.002 моль) в 2 мл CF₃COOH и перемешивался в течение 3 ч при 22°C. Реакционная смесь после разбавления водой была проэкстрагирована этилацетатом (3 × 10 мл), полученный экстракт был промыт насыщенным раствором NaHCO₃ (2 × 5 мл), затем водой (2 × 5 мл) и высушен над сульфатом натрия. По данным ГЖХ-МС, содержание соединений **132** и **131** – 31 и 44% соответственно.

Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z : 272 [M]⁺; 241; 204; 128; 77.

3.6 2-(2-Оксо-2-фенилэтилиден)-1,2-дигидро-3H-индол-3-он (136, 137)

К суспензии 80 мг индиго (**99**) (0.3 ммоль) в 1 мл безводного ДМФА был добавлен 29 мг NaN (1.2 ммоль), после чего смесь перемешивалась несколько минут до получения раствора интенсивного зеленого цвета. В отдельной пеницилинке к 29 мг NaN (1.2 ммоль) было добавлено 0.5 мл безводного ДМФА, после чего, при интенсивном перемешивании, по каплям было добавлено 60 мг ацетофенона (0.5 ммоль) в 0.5 мл безводного ДМФА. Полученная смесь была добавлена к раствору аниона индиго. Реакционная смесь перемешивалась в течение 3 ч при 22°C. Реакционная смесь после разбавления водой была проэкстрагирована этилацетатом (3 × 5 мл). Основные продукты реакции были выделены и очищены методом ПТСХ на незакрепленном слое сорбента SiO₂, элюент - система гексан : этилацетат = 2 : 1. Выход Z-изомера 2-(2-оксо-2-фенилэтилиден)-1,2-дигидро-3H-индол-3-она (**136**) составил 10 мг (13%), выход E-изомера (**137**) данного соединения - 5,6 мг (7%).

ИК-спектр (KBr), ν/cm^{-1} : 3320, 3053, 2923, 1707, 1658, 1614, 1598, 1567.

Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z: 249, 220, 105, 89, 77, 51 (M⁺)

Спектр ЯМР ¹H (CHCl₃-d₁): 10.11 (уш.с., 1H), 8.03 – 8.06 (м., 2H), 7.70 (д., J = 7.5 Гц, 1H), 7.59 (т., J = 7.2 Гц, 1H), 7.48 – 7.53 (м., 3H), 7.02 (т., J = 7.5 Гц, 1H), 6.97 (д., J = 8.0 Гц, 1H), 6.94 (с., 1H).

Спектр ЯМР ¹³C (CHCl₃-d₁): 192.5, 188.3, 153.0, 144.6, 138.2, 137.3, 132.9, 128.7, 127.9, 125.5, 122.1, 120.0, 111.9, 95.0.

3.7 7-Этил-6H-пиридо[1,2-a:3,4-b']дииндол-6,13(12H)-дион (146)

К суспензии 1.31 г (0.005 моль) индиго (**99**) в 100 мл безводного ДМФА при перемешивании был добавлен 1 г NaN (0.042 моль) в результате чего реакционная смесь приобрела изумрудно-зеленую окраску. Через 10 мин к ней было добавлено 3.72 г (0.020 моль) диэтилового эфира 2-этилмалоновой кислоты (**145**), и смесь кипятили в течение 2 ч. После этого реакционная смесь была охлаждена до комнатной температуры и разбавлена в 200 мл подкисленной во-

ды. Выпавший осадок малинового цвета был отфильтрован на фильтре Шотта, промыт водой (100 мл), серным эфиром (50 мл) и высушен. Выход продукта составил 1.47 г (82%).

ИК-спектр (KBr), ν/cm^{-1} : 3438, 3438, 2962, 2926, 1614.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6): 11.71 (уш. с., 1H), 8.62 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.98 (д., $J = 7.9$ Гц, 1H), 7.77 (д., $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.70 (т., $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.50 (т., $J = 7.3$ Гц, 1H), 7.43 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.37 (т., $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.19 (т., $J = 7.5$ Гц, 1H), 3.09 (к., $J = 7.5$ Гц, 2H), 1.23 (т., $J = 7.5$ Гц, 3H).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6): 180.3, 170.0, 157.5, 147.8, 146.6, 139.4, 137.3, 135.9, 131.9, 129.9, 126.8, 125.7, 124.2, 122.2, 120.4, 118.2, 113.0, 68.4, 20.9, 12.8.

HRMS-ESI, m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}^+$ 337.0952, найдено 337.1121.

3.8 7-Метил-6H-пиридо[1,2-а:3,4-*b'*]дииндол-6,13(12H)-дион (149)

К суспензии 1.31 г индиго (0.005 моль) (**99**) в 100 мл безводного ДМФА при перемешивании был добавлен 1 г NaN (0.042 моль) в результате чего реакционная смесь приобрела изумрудно-зеленую окраску. Через 10 мин к ней было добавлено 3.48 г (0.020 моль) диэтилового эфира 2-метилмалоновой кислоты (**148**), и смесь кипятили в течение 30 мин. После этого реакционная смесь было охлаждена до комнатной температуры и разбавлена в 200 мл подкисленной воды. Выпавший осадок малинового цвета был отфильтрован на фильтре Шотта, промыт водой (100 мл), серным эфиром (50 мл) и высушен. Выход продукта составил 1.27 г (85%).

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6): 11.55 (уш. с., 1H), 8.61 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H), 8.02 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.76 (д., $J = 7.3$ Гц, 1H), 7.68 (т., $J = 7.2$ Гц, 1H), 7.48 (т., $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.40 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.35 (т., $J = 7.2$ Гц, 1H), 7.16 (т., $J = 7.2$ Гц, 1H), 2.58 (с., 3H).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6): 182.3, 164.3, 157.8, 147.5, 146.5, 135.7, 133.4, 131.5, 131.4, 126.5, 125.7, 125.6, 123.9, 123.0, 121.8, 121.0, 118.0, 20.9, 12.8.

HRMS-ESI, m/z : $[M + Na]^+$ рассчитано для $C_{29}H_{12}N_2O_2Na^+$ 323.0796, найдено 323.0815.

3.9 6-Оксофаскаплизин (140)

Соединение **103** (100 мг, 0.28 ммоль) было добавлено к 2 мл 40%-ного раствора бромоводородной кислоты в воде. Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником при перемешивании в течение 2 ч. По окончании реакции смесь была охлаждена до комнатной температуры разбавлена 50 мл воды. Выпавший темно-фиолетовый осадок был отфильтрован, промыт водой (50 мл), диэтиловым эфиром (20 мл) и высушен. Выход продукта составил 76 мг (95%).

ИК-спектр (KBr), ν/cm^{-1} : 3446, 3367, 1701, 1641, 1615, 1578, 1458, 1087, 748.

Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6): 11.66 (уш.с., 1H), 8.56 (д., $J = 8.1$ Гц, 1H), 8.04 (д., $J = 7.6$ Гц, 1H), 7.79 (д., $J = 7.1$ Гц, 1H), 7.71 (т., $J = 7.7$ Гц, 1H), 7.51 (т., $J = 7.7$ Гц, 1H), 7.47 (с., 1H), 7.38 (дд., $J = 7.7, 0.5$ Гц, 1H), 7.34 (д., $J = 8.0$ Гц, 1H), 7.13 (т., $J = 7.4$ Гц, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6): 180.2, 157.0, 147.4, 146.2, 142.4, 135.6, 132.0, 128.7, 126.1, 124.5, 123.8, 123.6, 121.1, 119.3, 119.2, 117.4, 115.4, 112.2.

HRMS-ESI, m/z : $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{18}H_{11}N_2O_2^+$ 287.0815, найдено 287.0817.

3.10 Фаскаплизин (1)

Использование в качестве восстановителя $LiAlH_4$

В конической колбе на 50 мл было смешано 50 мг (0.2 ммоль) соединения **140** и 50 мг (1.3 ммоль) алюмогидрида лития, после чего к ним было добавлено 10 мл безводного ТГФ. Смесь, довольно быстро поменявшую цвет с красно-фиолетового на кирпично-оранжевый, кипятили с перемешиванием в течение 2 ч. После чего содержимое колбы было охлаждено до комнатной температуры и вылито в 300 мл подкисленной соляной кислотой воды. К полученному раствору было добавлено 50 мл этилацетата. Данная смесь перешивалась при 22°C в течение 24 ч. После этого реакционная смесь была разбавлена водой и проэкс-

трагирована хлороформом (3×10 мл) для избавления от примесей, водный слой отделен, упарен при пониженном давлении и высушен в вакуумном шкафу. Сухой остаток был растворен в воде. К данному раствору был добавлен гидрофосфат натрия, после чего раствор был проэкстрагирован хлороформом (3×10 мл). В экстракт была добавлена соляная кислота до слабокислой среды (наблюдается переход из зеленой окраски в красную). Экстракт был упарен при пониженном давлении и высушен в вакуумном шкафу. Выход продукта 15 мг (25%).

Спектр ЯМР ^1H (MeOH- d_4): 9.38 (д., $J = 6.2$ Гц, 1H), 8.95 (д., $J = 6.2$ Гц, 1H), 8.48 (д., $J = 8.0$ Гц, 1H), 8.34 (д., $J = 8.0$ Гц, 1H), 8.06 (д., $J = 7.6$ Гц, 1H), 7.98 (т., $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.89 (т., $J = 7.7$ Гц, 1H), 7.81 (д., $J = 8.3$ Гц, 1H), 7.75 (т., $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.54 (т., $J = 8.0$ Гц, 1H).

Использование в качестве восстановителя VH_3 в ТГФ

В 30 мл свежеперегнанного ТГФ, находившегося в плоскодонной конической колбе с мешальником, было добавлено 0.135 г NaVH_4 . Колба была помещена в ледяную баню, ее содержимое было охлаждено до 0°C , после чего порциями было добавлено 0.564 мл свежеперегнанного $\text{VF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. В растворе появилась белая взвесь. Ледяная баня была убрана, и реакционная смесь перемешивалась еще 15 мин при комнатной температуре. К раствору далее было добавлено 0.214 г соединения **140**. Смесь была нагрета до кипения. Спустя 2 ч смесь было охлаждена до комнатной температуры, после чего к ней приливалась подкисленная соляной кислотой вода до прекращения выделения газа. Смесь снова была нагрета до кипения. После этого реакционная смесь была проэкстрагирована хлороформом для отделения непрореагировавшего исходного соединения **140**, водный слой отделен, в него добавили водный раствор аммиака до слабощелочной среды (раствор сменил окраску с красной на зеленую), проэкстрагирован хлороформом. Хлороформенный слой профильтровали, добавили соляной кислоты до слабокислой среды (окраска сменилась с зеленой на красную), растворитель упарен, содержимое колбы высушено при пониженном давлении. Соединение было очищено методом тонкослойной хроматографии на

незакрепленном слое сорбента (силикагель). Элюент-система хлороформ : этанол = 1 : 1. Выход составил 0.034 г (15%).

Спектр ЯМР ^1H (MeOH-d₄): 9.44 (д., $J = 6.4$ Гц, 1H), 9.00 (д., $J = 6.2$ Гц, 1H), 8.52 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H), 8.40 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H), 8.07 (д., $J = 7.4$ Гц, 1H), 8.00 (т., $J = 8.00$ Гц, 1H), 7.91 (т., $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.83 (д., $J = 8.4$ Гц, 1H), 7.77 (т., $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.55 (т., $J = 7.6$ Гц, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (MeOH-d₄): 181.8, 147.3, 147.1, 139.2, 136.9, 135.2, 133.7, 131.5, 131.4, 126.7, 125.5, 125.4, 124.5, 123.4, 120.6, 120.4, 118.2, 115.3, 113.3.

HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}$ 271.0871, найдено 271.0862.

3.11 7-Фенилфаскаплизин (143)

Плоскодонную колбу на 50 мл, снабженную магнитной мешалкой, охладили до 0°C и затем внесли в нее NaBH_4 (0.37 г, 0.010 моль) с последующим добавлением сухого ТГФ (5 мл) и $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1.74 г, 0.012 моль) по каплям при 0°C. После полного добавления эфирата ледяная баня была убрана и содержимое перемешивалось при комнатной температуре в течение 15 мин с последующим добавлением соединения **102** (0.20 г, 0.0006 моль) к смеси. Реакционная смесь кипятилась с обратным холодильником в течение 2 ч. После охлаждения до комнатной температуры смесь осторожно была разбавлена до 40 мл 10%-ной HCl и снова кипятилась с обратным холодильником в течение 2 часов. После охлаждения до комнатной температуры реакционная смесь была подщелочена до 8-9 pH с помощью насыщенного раствора NaHCO_3 (цвет смеси изменился с красного на зеленый) и проэкстрагирована CHCl_3 (3 × 20 мл). Объединенный органический слой был отфильтрован, подкислен соляной кислотой (цвет меняется с зеленого на красный), упарен при пониженном давлении и высушен. Получено 89 мг (44 %) целевого соединения в виде темно-оранжевого водорастворимого порошка.

ИК-спектр (KBr), ν/cm^{-1} : 3346, 3051, 2927, 1715, 1608, 1571.

Спектр ЯМР ^1H (MeOH-d4): 9.35 (с., 1H), 8.38 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H), 8.06 (д., $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.95 (т., $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.80-7.85 (м., 4H), 7.73-7.77 (м., 4H), 7.64 (д., $J = 8.3$ Гц, 1H), 7.23-7.29 (м., 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (MeOH-d4): 181.9, 147.7, 147.4, 138.2, 137.7, 137.0, 134.3, 133.8, 132.2, 131.6, 130.5, 129.5, 129.2, 126.5, 125.6, 124.5, 122.9, 121.2, 119.7, 115.6, 113.6.

HRMS (ESI⁺): m/z расчетная для $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}$ M^+ 347.1181, полученная 347.1185

3.12 7-Этилфаскаплизин (144)

К раствору NaBH_4 (135 мг, 4.0 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл), помещенному в виал для микроволнового реактора и охлажденному до 0°C при интенсивном перемешивании, по каплям был добавлен свежеперегнанный $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (564 мкл, 4.4 ммоль). После полного прибавления эфирата ледяная баня была убрана и содержимое виала перемешивалось при комнатной температуре в течение 15 мин с последующим добавлением соединения **146** (62.8 мг, 0.2 ммоль) к смеси. Реакционная смесь нагревалась в микроволновом реакторе в автоклаве в атмосфере аргона в течение 30 мин при мощности 50 Вт. После охлаждения до комнатной температуры смесь осторожно была подкислена 10%-ной HCl , разбавлена водой и кипятилась с обратным холодильником в течение 2 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционная смесь была подщелочена до pH 8-9 с помощью насыщенного раствора NaHCO_3 (цвет смеси изменился с красного на зеленый) и экстрагирована CHCl_3 (3×20 мл). Объединенный органический слой был отфильтрован, подкислен соляной кислотой до pH 4.5 – 5.0 (цвет меняется с зеленого на красный), упарен при пониженном давлении и высушен. Получено 23 мг (35 %) целевого соединения темно-оранжевого водорастворимого порошка.

ЯМР ^1H (400 МГц, MeOH-d4): 8.80 (с, 1H), 8.56 (д, $J = 7.5$ Гц, 1H), 8.38 (д, $J = 7.4$ Гц, 1H), 8.10 (д, $J = 7.2$ Гц, 1H), 8.00 (т, $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.84 (т, $J = 7.9$

Гц, 1H), 7.78 (т, $J = 7.9$ Гц, 1H), 7.73 (д, $J = 7.2$ Гц, 1H), 7.48 (т, $J = 7.7$ Гц, 1H), 3.29 (к, $J = 8.1$ Гц, 2H), 1.26 (т, $J = 7.8$ Гц, 3H).

ЯМР ^{13}C (100 МГц, ДМСО- d_6): 181.9, 147.7, 147.4, 137.7, 137.0, 134.3, 133.8, 131.6, 130.5, 129.5, 129.2, 126.5, 125.6, 124.5, 122.9, 119.7, 115.6, 113.6, 20.48, 15.8.

HRMS (ESI $^+$): m/z расчетная для $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}$ M^+ 299.1179, полученная 299.1194

3.13 7-Метилфаскаплизин (147)

К раствору NaBH_4 (135 мг, 4.0 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл), помещенному в виал для микроволнового реактора и охлажденному до 0°C при интенсивном перемешивании, по каплям был добавлен свежеперегнанный $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (564 мкл, 4.4 ммоль). После полного прибавления эфирата ледяная баня была убрана и содержимое виала перемешивалось при комнатной температуре в течение 15 мин с последующим добавлением соединения **149** (60 мг, 0.2 ммоль) к смеси. Реакционная смесь нагревалась в микроволновом реакторе в автоклаве в атмосфере аргона в течение 30 минут при мощности 50 Вт. После охлаждения до комнатной температуры смесь осторожно была подкислена 10%-ной HCl , разбавлена водой и кипятилась с обратным холодильником в течение 2 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционная смесь была подщелочена до рН 8-9 с помощью насыщенного раствора NaHCO_3 (цвет смеси изменился с красного на зеленый) и экстрагирована CHCl_3 (3×20 мл). Объединенный органический слой был отфильтрован, подкислен соляной кислотой до рН 4.5 – 5.0 (цвет меняется с зеленого на красный), упарен при пониженном давлении и высушен. Получено 33.9 мг (53%) целевого соединения в виде темно-оранжевого водорастворимого порошка.

Спектр ЯМР ^1H ($\text{MeOH-}d_4$): 3.17 (с., 3H), 7.56 (т., $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.73 (т., $J = 7.6$ Гц, 1H), 7.83 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.88 (дд., $J = 7.1, 1.1$ Гц, 1H), 7.96 (т., $J = 7.8$ Гц, 1H), 8.03 (д., $J = 7.3$ Гц, 1H), 8.35 (д., $J = 8.1$ Гц, 1H), 8.47 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H), 9.35 (с., 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (MeOH-d₄): 181.8, 148.6, 147.0, 139.1, 137.0, 136.6, 135.0, 133.5, 131.2, 126.4, 125.3, 124.4, 123.2, 123.3, 120.3, 115.0, 113.2, 112.0, 17.0.

HRMS (ESI⁺): m/z расчетная для C₁₉H₁₃N₂O M⁺ 285.1022, полученная 285.1040

3.14 1-(2'-Бромбензоил)-3-метил-β-карболин (157)

Раствор 2-бромацетофенона (**86**) (113 мг, 0.6 ммоль) и йода (173 мг, 1.1 ммоль) в 2 мл ДМСО перемешивались при 110°C в течение 1 ч. После этого к реакционной смеси был постепенно добавлен 2'-метилтриптамин (**156**) (100 мг, 0.6 ммоль), после чего раствор перемешивался при 110°C в течение 5 ч до завершения реакции (контроль с помощью ТСХ). Затем реакционная смесь была охлаждена до комнатной температуры, разбавлена водой (50 мл) и экстрагирована EtOAc (2 × 25 мл). Экстракт был промыт 10%-ным раствором Na₂S₂O₃, высушен над Na₂SO₄, профильтрован и упарен при пониженном давлении. Сухой остаток очищен методом жидкостной хроматографии среднего давления с использованием бензола в качестве элюента. Получено 350 мг (20 %) целевого соединения в виде желтого порошка.

ЯМР ^1H (400 МГц, CHCl₃-d₁): 10.37 (ушир. с, 1H), 8.52 (с, 1H), 8.23 (д, $J = 5.1$ Гц, 1H), 8.00 (д, $J = 5.0$ Гц, 1H), 7.73 (дд, $J = 7.6, 1.7$ Гц, 1H), 7.68 (д, $J = 7.7$ Гц, 1H), 7.61 (д, $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.57 (дд, $J = 7.4, 1.7$ Гц, 1H), 7.48 (дд, $J = 7.2$ Гц, 1H), 7.40 (ддд, $J = 7.7, 1.8$ Гц, 1H), 2.62 (с, 3H).

ЯМР ^{13}C (100 МГц, CHCl₃-d₁): 193.8, 149.7, 149.2, 145.0, 142.5, 138.5, 136.0, 132.7, 132.1, 127.2, 126.9, 125.5, 124.5, 124.5, 123.7, 121.3, 120.1, 113.8, 25.9.

HRMS (ESI⁺): m/z расчетная для [M + H]⁺ C₁₉H₁₄⁷⁹BrN₂O⁺ 365.0289, полученная 365.0370.

3.15 6-Метилфаскаплизин (153)

1-(2'-Бромбензоил)-3-метил-β-карболин (**157**) (0.15 ммоль, 0.055 г) был нагрет в закрытом виале при 220°C в течение 30 мин. После охлаждения смесь была промыта этилацетатом (3 × 3 мл) и водой (3 × 10 мл). Водные слои были

объединены и подкислены соляной кислотой. После чего упарены при пониженном давлении. Получено 0.41 г (25 %) целевого соединения в виде красного порошка.

ЯМР ^1H (400 МГц, MeOH-d₄): 8.76 (с, 1H), 8.37 (д, $J = 8.2$ Гц, 2H), 8.07 (д, $J = 7.2$ Гц, 1H), 7.97 (т, $J = 7.7$ Гц, 1H), 7.82 (т, $J = 7.7$ Гц, 1H), 7.76 (т, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.70 (д, $J = 7.7$ Гц, 1H), 7.45 (т, $J = 7.4$ Гц, 1H), 3.40 (с, 3H).

ЯМР ^{13}C (100 МГц, MeOH-d₄): 183.8, 150.0, 149.6, 145.1, 142.8, 138.6, 136.1, 132.8, 132.3, 127.2, 126.6, 125.5, 124.6, 124.5, 124.0, 121.6, 120.6, 114.6, 23.4.

HRMS (ESI⁺): m/z расчетная для C₁₉H₁₃N₂O M⁺ 285.1022, полученная 285.1039

3.16 1-(2'-Бромбензоил)-3-фенил-β-карболин (160)

В круглодонной колбе объемом 25 мл смешали 2-бромацетофенон (**86**) (0.328 г, 0.0017 моль) и йод (0.305 г, 0.0012 моль) в 3 мл ДМСО, полученный раствор нагревали при перемешивании в течение 1 ч на глицериновой бане при 110°C. После этого добавили раствор 2'-фенилтриптамина (**159**) (0.400 г, 0.0015 моль) в 4,5 мл ДМСО. Реакционную смесь нагревали при перемешивании еще в течение 5 часов при 110°C до завершения реакции (контроль вели с помощью ТСХ). Затем реакционную смесь вылили в воду и добавили тиосульфат натрия Na₂S₂O₃. Выпал черный осадок, который отфильтровали на фильтре Шотта, промыв этилацетатом. Далее фильтрат экстрагировали EtOAc (2 × 25 мл), высушили над Na₂SO₄, профильтровали и упарили при пониженном давлении. Сухой остаток очищали с помощью жидкостной хроматографии среднего давления с использованием бензола в качестве элюента. Получено 0.41 г (25 %) целевого соединения в виде ярко-желтого порошка.

Спектр ЯМР ^1H (CHCl₃-d₁): 10.38 (уш. с., 1H), 8.65 (с., 1H), 8.25 (д., $J = 7.8$ Гц, 1H), 8.02 (д., $J = 1.4$ Гц, 1H), 8.01 (с., 1H), 7.74 (дд., $J = 8.0, 1.0$ Гц, 1H), 7.68 (дд., $J = 7.5, 1.7$ Гц, 1H), 7.67-7.64 (м., 2H), 7.52-7.36 (м., 6H).

Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{CHCl}_3\text{-d}_1$): 199.6, 148.2, 143.2, 141.8, 141.0, 137.7, 135.7, 134.7, 134.5, 132.7, 132.1, 131.0, 130.3, 129.7, 128.2, 128.1, 123.4, 122.7, 122.6, 122.1, 117.5, 117.2, 113.7.

HRMS (ESI⁺): m/z расчетная для $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_{24}\text{H}_{16}^{79}\text{BrN}_2\text{O}^+$ 427.0446, полученная 427.0465

3.17 6-Фенилфаскаплизин (158)

1-(2'-Бромбензоил)-3-метил- β -карболин (**160**) (0.15 ммоль, 0.055 г) был нагрет в закрытом виале при 220°C в течение 30 мин. После охлаждения смесь была промыта этилацетатом (3 x 3 мл) и водой (3 x 10 мл). Водные слои были объединены и подкислены соляной кислотой. После чего упарены при пониженном давлении. Получено 0.030 г (97 %) целевого соединения в виде красно-коричневого порошка.

ЯМР ^1H (400 МГц, MeOH-d₄): 8.86 (с., 1H), 8.46 (д., $J = 8.1$ Гц, 1H), 8.06 (дд., $J = 7.4, 0.9$ Гц, 1H), 7.77-7.94 (м., 7H), 7.62 (дд., $J = 7.7, 7.7$ Гц, 1H), 7.49-7.64 (м., 2H), 6.49 (д., $J = 8.4$ Гц, 1H).

ЯМР ^{13}C (100 МГц, MeOH-d₄): 183.8, 149.9, 149.8, 144.1, 142.6, 137.6, 136.3, 134.1, 133.1, 132.2, 131.1, 130.8, 126.9, 126.7, 125.7, 124.7, 124.5, 124.4, 121.2, 120.4, 114.8, 113.5.

HRMS (ESI⁺): m/z расчетная для $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}$ M⁺ 347.1179, полученная 347.1196

3.18 3-(3,3-Диметил-2-оксобутил)-3-гидроксииндолин-2-он (162)

К суспензии изатина (**152**) (0.034 моль, 5.0 г) в этаноле были последовательно добавлены пинаколин (0.060 моль, 6.0 г) и раствор гидроксида калия (0.020 моль, 1.15 г) в 5 мл воды. Далее реакционная смесь была нагрета до 50°C при перемешивании. После того, как значение pH реакционной смеси стало ≈ 7 , смесь была исследована на наличие продукта. Если в смеси присутствовали только целевое соединение и исходный изатин, то значение pH смеси доводилось 20%-ным раствором KOH до 9-10, и каждый час проводился контроль состава реакционной смеси методом ТСХ. Если в смеси появлялись следы побоч-

ного продукта, то реакцию останавливали. Если в смеси все еще были только продукт **162** и изатин, то реакция проводилась далее с периодическим подщелачиванием. После прохождения реакции смесь была упарена при пониженном давлении и остаток перекристаллизован из воды. Кристаллы были отфильтрованы, промыты холодной водой и высушены. К оставшемуся маточному раствору по каплям добавлялась соляная кислота для полного осаждения целевого соединения, которое было обработано, как описано выше. Получено 2.3 г, (30%) целевого продукта, представляющего собой кристаллы светло-бежевого цвета. Степень конверсии изатина составила 58%.

ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{CHCl}_3\text{-d}_1$): 8,46 (с., 1H), 7,30 (д., $J = 7.4$ Гц, 1H), 7,24 (т., $J = 7.8$ Гц, 1H), 7,02 (т., $J = 7.4$ Гц, 1H), 6,88 (д., $J = 7.7$ Гц, 1H), 4,82 (с., 1H), 3,16 (дд., $J = 112.0, 17.6$ Гц, 2H), 1,08 (с., 9H).

ЯМР ^{13}C (100 МГц, $\text{CHCl}_3\text{-d}_1$): 215.3, 178.6, 140.7, 130.4, 129.9, 124.0, 123.0, 110.5, 74.8, 44.6, 42.6, 25.9.

3.19 3-(3,3-Диметил-2-оксобутен-4-ил)-индолин-2-он (163)

К раствору соединения **162** (0.008 моль, 2.0 г) в 5 мл уксусной кислоты было добавлено 4 капли соляной кислоты. Реакционная смесь нагревалась при 75°C и перемешивании до исчезновения исходного соединения. Контроль состава реакционной смеси проводился с помощью ТСХ. Далее смесь была вылита в воду и нейтрализована насыщенным раствором NaHCO_3 , полученный раствор был проэкстрагирован EtOAc (3×20 мл), экстракт высушен и упарен при пониженном давлении. Получено 1.8 г, (99%) целевого продукта, представляющего собой оранжевые кристаллы.

ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{CHCl}_3\text{-d}_1$): 8,21 (уш. с., 1H), 7,46 (с., 1H), 7,32 (т., $J = 7.7$ Гц, 1H), 7,30 (д., $J = 7.8$ Гц, 1H), 7,02 (т., $J = 7.7$ Гц, 1H), 6,86 (д., $J = 7.7$ Гц, 1H), 1,29 (с., 9H).

ЯМР ^{13}C (100 МГц, $\text{CHCl}_3\text{-d}_1$): 206.5, 169.5, 143.1, 136.1, 132.7, 128.1, 125.6, 122.9, 120.7, 110.0, 44.8, 26.2.

3.20 3-(3,3-Диметил-2-оксобутил)-индолин-2-он (164)

К раствору **163** (975 мг, 4.3 ммоль) в 30 мл метанола было добавлено каталитическое количество 10%-ного палладия на угле. После этого сосуд был герметично соединен с установкой подачи водорода. Три раза из сосуда откачивался воздух с последующим заполнением водородом. После этого смесь перемешивалась при комнатной температуре 15 ч. При этом наблюдалось исчезновение ярко-оранжевой окраски раствора. После этого смесь была вылита в воду и проэкстрагирована EtOAc (3×20 мл). Экстракт высушен над Na₂SO₄ и упарен. Получено 930 мг (94%) соединения **164**, представляющего собой светло-желтые кристаллы.

ЯМР ¹H (400 МГц, CHCl₃-d₁): 8.29 (уш. с., 1H), 7.19 (т., *J* = 7.7 Гц, 1H), 7.09 (д., *J* = 7.4 Гц, 1H), 6.97 (т., *J* = 7.3 Гц, 1H), 6.88 (д., *J* = 7.7 Гц, 1H), 3.91 (дд., *J*₁ = 8.3, 3.3 Гц, 1H), 3.34 - 2.97 (м., 2H), 1.17 (с., 9H).

ЯМР ¹³C (100 МГц, CHCl₃-d₁): 212.8, 180.0, 141.4, 129.7, 128.0, 124.2, 122.4, 109.6, 43.9, 41.4, 38.1, 26.4.

3.21 3-(2-(Гидроксиамино)-3,3-диметилбутил)индолин-2-он (165)

В плоскодонную колбу были внесены мелко растертые NH₂OH·HCl (0.022 моль, 1.50 г) и CH₃COONa (0.022 моль, 1.76 г). Далее было добавлено 30 мл метанола с последующим внесением в смесь исходного соединения **164** (0.005 моль, 1.28 г). Реакционная смесь перемешивалась при 40°C в течение 24 ч. Далее в смесь были внесено еще такое же количество NH₂OH·HCl и CH₃COONa и смесь перемешивалась при нагревании еще 24 ч. По окончании реакции смесь была разбавлена водой и проэкстрагирована EtOAc (3×30 мл). Экстракт был высушен над Na₂SO₄ и упарен. Получено 1.25 г (97%) соединения **165**, представляющего собой светло-кремовый порошок.

ЯМР ¹H (400 МГц, CHCl₃-d₁): 8.84 (уш. с., 1H), 8.46 (с., 1H), 7.24 (д., *J* = 7.5 Гц, 1H), 7.19 (т., *J* = 7.8 Гц, 1H), 6.99 (т., *J* = 7.6 Гц, 1H), 6.86 (д., *J* = 7.6 Гц, 1H), 4.43 (т., *J* = 8.6 Гц, 1H), 3.01 - 2.64 (м., 2H), 1.09 (с., 9H).

ЯМР ^{13}C (100 МГц, $\text{CHCl}_3\text{-d}_1$): 180.2, 163.9, 141.2, 129.5, 128.0, 125.3, 122.2, 109.4, 42.1, 37.7, 28.0, 27.2.

3.22 1-(2'-Йодбензоил)-3-трет-бутил- β -карболин (168)

К раствору **165** (3.0 ммоль, 742 мг) в 20 мл метанола было добавлено каталитическое количество PtO_2 . После этого сосуд был герметично соединен с установкой подачи водорода. Три раза из сосуда откачивался воздух с последующим заполнением водородом. Далее смесь перемешивалась при 22°C 48 ч. После этого смесь была отфильтрована от осадка, упарена и высушена. Полученный продукт **166** в силу своей неустойчивости сразу вводился в следующий этап синтеза.

К раствору NaBH_4 (15 ммоль, 569 мг) в 10 мл свежеперегнанного ТГФ, охлажденному в ледяной бане до 0°C , порциями был добавлен свежеперегнаный $\text{VF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (16 ммоль, 2.0 мл). После образования в растворе белой взвесь. ледяная баня была убрана, и реакционная смесь перемешивалась еще 15 мин при 22°C . К полученному раствору был добавлен полученный ранее продукт **166**, и смесь была нагрета до кипения. Спустя 2 ч смесь была охлаждена до 22°C , после чего к ней был прилит 10%-ный раствор соляной кислоты до пятикратного разбавления. Смесь снова была нагрета до кипения и спустя 2 ч охлаждена до 22°C . Далее смесь была нейтрализована Na_2CO_3 , проэкстрагирована EtOAc (3×30 мл). Экстракт был высушен, упарен и сразу же введен в реакцию получения целевого β -карболина.

Раствор 2-йодацетофенона (620 мг, 2.5 ммоль) и йода (510 мг, 2.0 ммоль) в 2 мл ДМСО был помещен в сосуд и герметично запечатан. Далее полученная смесь перемешивались при 90°C в течение 1 ч. После охлаждения смеси к ней постепенно был добавлен раствор триптамина **167** в 2 мл ДМСО. Полученная смесь перемешивалась при 110°C в течение 5 ч до завершения реакции (контроль методом ТСХ). Затем реакционная смесь была охлаждена до 22°C , разбавлена водой (50 мл) и экстрагирована EtOAc (3×25 мл). Экстракт промыт 10%-ным раствором $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, высушен над Na_2SO_4 , профильтрован и упарен

при пониженном давлении. Сухой остаток очищен с помощью жидкостной хроматографии среднего давления на колонке с SiO₂ с использованием бензола в качестве элюента. Фракция, содержащая целевое соединение была далее очищена с помощью ПТСХ на незакрепленном слое силикагеля в системе бензол : гексан = 1 : 2. Получено 80 мг (6%) соединения **168**, представляющего собой желтый порошок, в расчете на введенный в реакцию оксим **165**.

ЯМР ¹H (400 МГц, CHCl₃-d₁): 10.20 (уш. с., 1H), 8.20 (с., 1H), 8.18 (д., *J* = 7.9 Гц, 1H), 7.67 (д., *J* = 7.9 Гц, 1H), 7.60 – 7.58 (м., 3H), 7.44 (т., *J* = 7.6 Гц, 1H), 7.38 – 7.31 (м., 2H), 1.35 (с., 9H).

ЯМР ¹³C (100 МГц, CHCl₃-d₁): 198.2, 158.4, 141.4, 140.8, 135.1, 133.4, 132.6, 132.5, 130.7, 130.2, 129.0, 126.3, 121.7, 121.1, 120.6, 120.4, 114.4, 37.5, 30.5.

HRMS (ESI⁺): *m/z* расчетная для C₂₂H₁₉IN₂O M⁺ 453.2999, полученная 453.2994

3.23 6-трет-Бутилфаскаплизин

Раствор 1-(2'-йодбензоил)-3-трет-бутил-β-карболина (**168**) (0.11 ммоль, 50 мг) в 5 мл ДМСО в кварцевом виале был помещен в УФ-реактор. Далее смесь облучалась при охлаждении в течение 9 ч. После этого смесь была разбавлена водой (75 мл) и упарена при пониженном давлении. Продукт был очищен с помощью ПТСХ на незакрепленном слое силикагеля. Элюэнт - этилацетат, а затем система этанол : хлороформ = 1 : 5. Получено 12 мг (34%) соединения **161**, представляющего собой красно-коричневый порошок.

ЯМР ¹H (400 МГц, MeOH-d₄): 8.76 (с, 1H), 8.02 (д, *J* = 7.4 Гц, 1H), 7.95 (д, *J* = 7.6 Гц, 1H), 7.73-7.70 (м, 2H), 7.60 (т, *J* = 8.9 Гц, 1H), 7.51 (д, *J* = 7.4 Гц, 1H), 7.39 (т, *J* = 7.2 Гц, 1H), 7.33 (т, *J* = 7.4 Гц, 1H), 1.28 (с, 9H).

ЯМР ¹³C (100 МГц, MeOH-d₄): 180.2, 149.4, 146.4, 140.8, 137.1, 133.4, 133.6, 132.8, 129.7, 126.2, 125.0, 123.3, 120.7, 120.1, 119.6, 116.4, 113.4, 36.5, 29.5.

HRMS (ESI⁺): m/z расчетная для C₂₂H₁₉N₂O M⁺ 326.3955, полученная 326.3961

3.24 1-(2'-Бромбензоил)-4-трет-бутил-β-карболин (174)

Раствор 2-бромацетофенона (28 мг, 0.14 ммоль) и йода (28 мг, 0.11 ммоль) в 1 мл ДМСО был помещен в сосуд и герметично запечатан. Далее полученная смесь перемешивались при 110°C в течение 1 ч. После охлаждения смеси к ней постепенно был добавлен раствор триптамина **173** в 1 мл ДМСО. Полученная смесь перемешивался при 110°C в течение 4 ч до завершения реакции (контроль методом ТСХ). Затем реакционная смесь была охлаждена до 22°C, разбавлена водой (50 мл) и экстрагирована EtOAc (3 × 25 мл). Экстракт промыт 10%-ным раствором Na₂S₂O₃, высушен над Na₂SO₄, профильтрован и упарен при пониженном давлении. Продукт был выделен в индивидуальном методом ПТСХ на незакрепленном слое SiO₂, элюент – бензол. Выход продукта составил 22 мг (39%).

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CHCl₃-d₁): 10.88 (уш. с., 1H), 8.63 (с., 1H), 8.47 (д., $J = 8.3$ Гц, 1H), 7.69 (т., $J = 7.4$ Гц, 2H), 7.63 (т., $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.51 (дд., $J = 7.5, 1.8$ Гц, 1H), 7.47 (тд., $J = 7.5, 1.0$ Гц, 1H), 7.41 (м., 2H), 1.75 (с., 9H).

Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CHCl₃-d₁): 198.2, 145.5, 141.2, 140.7, 137.5, 136.9, 133.8, 133.0, 130.9, 129.5, 128.7, 128.3, 127.4, 126.8, 120.6, 119.09, 119.8, 112.2, 35.2, 29.5.

HRMS (ESI⁺): m/z расчетная для C₂₂H₁₉BrN₂O M⁺ 406.2995, полученная 406.2987

3.25 7-трет-Бутилфаскаплизин (169)

17 мг (0.09 ммоль) 1-(2'-Бромбензоил)-4-трет-бутил-β-карболина (**174**) в закрытом сосуде нагревали на металлической бане при 220°C в течение 30 мин. После чего колба была охлаждена, полученное вещество было промыто этилацетатом до прекращения окрашивания раствора. Полученный продукт был растворен в горячей воде и отфильтрован от угля. К фильтрату было добавлено небольшое количество Na₂CO₃, после чего выпал зеленый осадок. Осадок был от-

фильтрован на фильтре Шотта и растворен подкисленным соляной кислотой этанолом. Раствор был высушен и упарен при пониженном давлении. Получено 16 мг (94%) соединения **169**, представляющего собой красно-коричневый порошок.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, MeOH-d₄): 9.00 (с, 1H), 8.63 (д., $J = 8.6$ Гц, 1H), 8.50 (д., $J = 8.1$ Гц, 1H), 8.04 (д., $J = 7.3$ Гц, 1H), 7.97 (т., $J = 7.6$ Гц, 1H), 7.88 (м., 2H), 7.75 (т., $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.60 (м., 1H), 1.87 (с., 9H).

Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, MeOH-d₄): 181.8, 147.6, 147.4, 147.1, 138.0, 136.7, 131.3, 133.1, 132.4, 128.6, 125.3, 124.3, 122.9, 122.8, 120.7, 118.6, 115.3, 113.5, 35.6, 27.9.

HRMS (ESI⁺): m/z расчетная для C₂₂H₁₉N₂O M⁺ 326.3955, полученная 326.3959

3.26 1-(2',4'-Дибромбензоил)- β -карболин (176a)

Раствор 2,4-дибромфациетофенона (126 мг, 0.46 ммоль) и йода (92 мг, 0.37 ммоль) в 2 мл ДМСО был помещен в сосуд и герметично запечатан. Далее полученная смесь перемешивались при 90°C в течение 1 ч. После охлаждения смеси к ней постепенно был добавлен раствор триптамина **78a** в 2 мл ДМСО. Полученная смесь перемешивался при 90°C в течение 4 ч до завершения реакции (контроль методом ТСХ). Затем реакционная смесь была охлаждена до 22°C, разбавлена водой (50 мл) и экстрагирована EtOAc (2 × 25 мл). Экстракт промыт 10%-ным раствором Na₂S₂O₃, высушен над Na₂SO₄, профильтрован и упарен при пониженном давлении. Продукт был выделен в индивидуальном методом жидкостной хроматографии среднего давления с использованием бензола качестве элюента. Получено 74 мг (38%) соединения **176a**, представляющего собой желтый порошок.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО-d₆): 12.23 (уш. с., 1H, NH), 8.48 (д, $J = 4.9$ Гц, 1H), 8.44 (д, $J = 4.9$ Гц, 1H), 8.34 (д, $J = 7.9$ Гц, 1H), 8.02 (д, $J = 1.9$ Гц, 1H), 7.85 (д, $J = 8.0$ Гц, 1H), 7.76 (дд, $J = 8.3, 1.9$ Гц, 1H), 7.64 (ддд, $J = 7.2, 7.2, 1.0$ Гц, 1H), 7.57 (д, $J = 8.3$ Гц, 1H), 7.35 (ддд, $J = 7.2, 7.2, 1.0$ Гц, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, ДМСО- d_6): 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 : $[\text{M} + \text{H}]^+$ расчетная для $\text{C}_{18}\text{H}_{11}^{79}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}^+$ 428.9238, полученная 428.9264

3.27 2-Бромфаскаплизин (177a)

1-(2',5'-Дибромбензоил)- β -карболин (**176a**) (0.15 ммоль, 55 мг) был нагрет в закрытом виале при 240°C в течение 60 минут. После охлаждения смесь была промыта этилацетатом (3 x 3 мл) и водой (3 x 10 мл). Водные слои были объединены, подкислены соляной кислотой и упарены при пониженном давлении. Получено 30 мг (97%) соединения **177a**, представляющего собой красно-коричневый порошок.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, MeOH- d_4): 9.38 (д, $J = 6.1$ Гц, 1H), 8.97 (д, $J = 6.0$ Гц, 1H), 8.48 (д, $J = 8.0$ Гц, 1H), 8.29 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H), 8.19 (д, $J = 1.8$ Гц, 1H), 8.14 (дд, $J = 8.4, 1.7$ Гц, 1H), 7.89 (т, $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.79 (д, $J = 8.3$ Гц, 1H), 7.53 (т, $J = 7.5$ Гц, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, MeOH- d_4): 182.1, 149.1, 147.6, 143.2, 140.6, 136.2, 133.2, 129.7, 128.0, 127.5, 126.1, 125.5, 124.8, 123.5, 121.4, 118.4, 115.5, 114.8.

HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}]^+$ расчетная для $\text{C}_{18}\text{H}_{10}^{79}\text{BrN}_2\text{O}^+$ 348.9974, полученная 348.9982.

3.28 1-(2'-Бромбензоил)-6-бром- β -карболин (176b)

Раствор 1-(2'-бромбензоил)- β -карболина (**83a**) (40.6 мг, 0.12 ммоль) и N-бромсукцинимид (41.5 мг, 0.23 ммоль) в уксусной кислоте (3 мл) перемешивался при 22°C в течение 24 ч. Затем к реакционной смеси был добавлен насыщенный водного раствора Na_2CO_3 (50 мл) и экстракцией EtOAc (2x25 мл). Экстракт был промыт H_2O , высушен над Na_2SO_4 , отфильтрован и упарен при пониженном давлении. Остаток был очищен методом жидкостной хроматографии сред-

него давления с использованием бензола. Получено 47.3 мг (95%) соединения **176b**, представляющего собой светло-желтый порошок.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3): 10.47 (уш. с., 1H), 8.58 (д, $J = 4.9$ Гц, 1H), 8.32 (д, $J = 1.9$ Гц, 1H), 8.13 (дд, $J = 4.9, 0.5$ Гц, 1H), 7.73 (Гц, $J = 8.7, 1.9$ ГГц, 1H), 7.70 (Гц, $J = 8.0, 1.0$ Гц, 1H), 7.56 (дд, $J = 7.5, 1.7$ Гц, 1H), 7.53 (д, $J = 8.6$ Гц, 1H), 7.49 (дд, $J = 7.5, 1.1$ Гц, 1H), 7.47 (дд, $J = 7.5, 1.1$ Гц, 1H), 7.40 (ддд, $J = 7.7, 1.7$ Гц, 1H).

Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3): 198.1, 140.0, 139.7, 139.2, 137.0, 135.6, 133.2, 132.3, 131.4, 130.7, 129.8, 126.9, 124.7, 122.5, 120.1, 119.3, 113.8, 113.6.

HRMS-ESI, m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ расчетная для $\text{C}_{18}\text{H}_{11}^{79}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}^+$ 428.9238, полученная 428.9260.

3.29 9-Бромфаскаплизин (**177b**)

1-(2'-Бромбензоил)-6-бром- β -карболин (**176b**) (0.15 ммоль, 55 мг) был нагрет в закрытом виале при 240°C в течение 60 минут. После охлаждения смесь была промыта этилацетатом (3 x 3 мл) и водой (3 x 10 мл). Водные слои были объединены и подкислены соляной кислотой. После чего упарены при пониженном давлении. Получено 31 мг (98%) соединения **176b**, представляющего собой красно-коричневый порошок.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, MeOH-d_4): 9.41 (д, $J = 6.2$ Гц, 1H), 8.98 (д, $J = 6.2$ Гц, 1H), 8.71 (д, $J = 1.8$ Гц, 1H), 8.34 (д, $J = 8.1$ Гц, 1H), 8.06 (дд, $J = 7.5, 0.6$ Гц, 1H), 7.94–8.01 (м, 2H), 7.71–7.79 (м, 2H).

Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, MeOH-d_4): 183.2, 148.9, 147.5, 141.7, 138.5, 138.4, 133.4, 133.0, 127.9, 127.8, 127.0, 125.6, 124.4, 123.0, 122.1, 117.3, 116.7, 116.4.

HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}]^+$ расчетная для $\text{C}_{18}\text{H}_{10}^{79}\text{BrN}_2\text{O}^+$ 348.9974, полученная 348.9978.

3.30 Исследование биологической активности полученных соединений

Клеточные линии и условия культивирования

Линии клеток рака предстательной железы человека PC-3, DU145, 22Rv1 и LNCaP, а также линию нераковых клеток предстательной железы человека PNT2 культивировали в виде монослоя при 37°C во влажной атмосфере с 5% (об./об.) CO₂ в соответствующей среде: среда 10% FBS/RPMI (среда RPMI с добавлением GlutaMax™-I (gibco® Life Technologies™, Пейсли, Великобритания), содержащая 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS, gibco® Life Technologies™) и 1% пенициллина/стрептомицина (Invi-trogen)) для PNT2, LNCaP, 22Rv1, PC-3 и DU145 и клеток; 10% среда FBS/DMEM (среда DMEM с добавлением GlutaMax™-I (gibco® Life Technologies™), содержащая 10% FBS и 1% пенициллина/стрептомицина (gibco® Life Technologies™)) для клеток MRC-9 и HEK 293. Клетки непрерывно сохраняли в культуре в течение максимум 3 месяцев и регулярно проверяли на стабильный фенотип и микоплазменную инфекцию.

Определение цитотоксической активности соединений

Цитотоксическую активность веществ *in vitro* оценивали стандартным МТТ методом. Клетки предварительно инкубировались в течение ночи в 96-луночных планшетах (6×10^3 клеток/лунку в 100 мкл/лунку) в соответствующих средах. Затем среду заменяли свежей 10% средой FBS/RPMI, содержащей исследуемые соединения (100 мкл/лунку), и клетки инкубировались в течение 48 ч. Затем добавляли 10 мкл/лунку раствора (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид) (МТТ) с концентрацией 5 мг/мл. Через 2–4 ч инкубации среда была удалена и планшеты высушены. Затем в каждую лунку было добавлено 50 мкл ДМСО, и жизнеспособность клеток была измерена с помощью ридера. Результаты были рассчитаны с использованием программного обеспечения GraphPad Prism v.9.1.1 и представлены как IC₅₀ соединений [83].

Анализ жизнеспособности клеток на основе трипанового синего

Влияние соединений на жизнеспособность клеток с точки зрения целостности клеточной мембраны оценивали по методике описанной в [84]. Клетки (0.2×10^6 клеток/лунку) высевали в 6-луночные планшеты и инкубировали в течение ночи, далее среду заменяли свежей (1 мл/лунку), содержащей исследуемые соединения в указанных концентрациях. После обработки в течение 48 ч клетки собирали путем трипсинизации, окрашивали трипановым синим и измеряли жизнеспособность. Считалось, что клетки, положительные по трипановому синему, имеют поврежденную клеточную мембрану.

Анализ клеточного цикла и фрагментации ДНК

Влияние клеточный цикл и фрагментацию ДНК анализировали с помощью проточной цитометрии с использованием йодида пропидия. Клетки (2×10^5 клеток/лунку) предварительно инкубировали в течение ночи в 6-луночных планшетах, а затем обрабатывали растворами исследуемых соединений в свежей среде (2 мл/лунку) в течение 48 часов. Клетки собирали путем трипсинизации, фиксировали в 70% EtOH, окрашивали раствором пропидий йодида и анализировали [85].

Интеркаляция ДНК

Активность соединений в качестве интеркаляторов ДНК рассчитывалась по способности вытеснять тиазоловый оранжевый из двухцепочечной ДНК. К водному раствору (100 мкл), содержащему 1 мкМ двухцепочечной ДНК тимуса теленка (в пересчете на концентрацию спаренных оснований) и 2 мкМ тиазолового оранжевого были добавлены исследуемые соединения. Концентрация ДМСО в образцах составляла $<0,02\%$. Пропидий йодид использовался в качестве положительного контроля. После 7 мин инкубации при комнатной температуре флуоресценция ТО была измерена при длине волны возбуждения $\lambda = 480$ нм; флуоресценцию регистрировали при $\lambda = 530$ нм. Ширина полосы составляла 10 нм. Концентрацию препарата, вызывающую снижение флуорес-

ценции ТО на 50% (EC_{50}), определяли путем аппроксимации экспериментальных данных алгоритмом нелинейной регрессии [83].

Выводы

1. Показано, что подход к синтезу производных фаскаплизина по центральному циклу, в основе которого лежит катализируемое кислотами кросс-сочетание замещенных по положению 3 индолов, малоперспективен для получения подобных соединений.

2. Установлено, что при взаимодействии индиго и ацетофенона вместо ожидаемых производных 12*H*-пиридо[1,2-*a*; 3,4-*b*]дииндола происходит образование производных 1,2-дигидро-3*H*-индол-3-она.

3. Разработан новый двухстадийный метод синтеза фаскаплизина и его производных по положению 7 исходя из индиго и замещенных малонового и ацетоксусного эфиров.

4. Впервые осуществлен синтез алкалоида 6-оксофаскаплизина и подтверждена его структура.

5. Известный метод синтеза фаскаплизина из триптамина и *o*-бромфацифенона был адаптирован для получения некоторых его производных по положению 6 исходя из изатина.

6. На примере линий клеток рака простаты человека PC-3, 22Rv1, DU145, LNCaP показано, что производные фаскаплизина по центральному циклу обладают сходной цитотоксичностью, в том числе в отношении опухолевых клеток, резистентных к химиотерапевтическим средствам.

7. Показано, что введение *tert*-бутильного заместителя в центральный цикл фаскаплизина не приводит к ожидаемому уменьшению его цитотоксичности. На фоне значительного снижения интеркалирующей способности это свидетельствует о том, что вклад данного механизма в спектр биологической активности фаскаплизина и его производных не является определяющим.

Список публикаций

1. I. A. Lyakhova, I. S. Bryukhovetsky, I. V. Kudryavtsev, Y. S. Khotimchenko, M. E. Zhidkov, A. V. Kantemirov. Antitumor activity of fascalysin derivatives on glioblastoma model *in vitro*. // Bull. Exp. Biol. Med.- 2018.- V. 164.- No 5.- P. 666-672.
2. M. E. Zhidkov, A. V. Kantemirov, A. V. Koisevnikov, A. N. Andin, A. S. Kuzmich. Syntheses of the marine alkaloids 6-oxofascalysin, fascalysin and their derivatives // Tetrahedron Letters.- 2018.- Vol. 59.- No 8.- P. 708-711.
3. 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 fascalysin and reticulatine alkaloids and their analogues // Mar. Drugs.- 2019.- Vol. 17.- No 9.- P.496-508.
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 fascalysin and its derivatives as potent anticancer agents // Mar. Drugs.- 2022.- Vol. 20.- No 3.- P. 185-208.

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. Se Graves, 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. Sanchez, I. A. Butovich, A. F. Brana, J. Rohr, C. Mendez, J. A. Salas. The biosynthetic gene cluster for the antitumor rebeccamycin: characterization and generation of indolocarbazole derivatives // Chem. Biol.- 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. Biochem.- 2003.- V. 67.- No 1.- P. 127-138.
- 5 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.
- 6 C. Jimenez, E. Quinoa, P. Crews. Novel marine sponge alkaloids 3. β -carbolinium salts from *Fascaplysinopsis reticulata* // Tetrahedron Lett.- 1991.- V. 32.- No 16.- P. 1843-1846.
- 7 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.
- 8 G. Kirsch, G. M. Konig, A. D. Wright, R. Kaminsky. A new bioactive sesterterpene and antiplasmodial alkaloids from the marine sponge *Hyrtios* cf. *erecta* // J. Nat. Prod.- 2000.- V. 63.- No 6.- P. 825-829.

- 9 R. D. Charan, T. C. McKee, K. R. Gustafson, L. K. Pannell, M. R. Boyd. Thorectandramine, a novel β -carboline alkaloid from the marine sponge *Thorectandra* sp. // *Tetrahedron Lett.*- 2002.- V. 43.- No 29.- P. 5201-5204.
- 10 А. М. Попов, В. А. Стоник. Физиологическая активность фаскаплизина – необычного пигмента из морских тропических губок // *Антибиотики и химиотерапия.*- 1991.- Т. 36.- № 1.- С. 96-98.
- 11 А. М. Попов, Т. Н. Макарьева, С. А. Федореев, В. А. Стоник. Противоопухолевая и цитостатическая активности низкомолекулярных метаболитов из морских тропических губок // *Химиотерапия Опухолей в СССР.*- 1991.- Т. 56.- С. 61-66.
- 12 N. L. Segraves, S. Lopez, T. A. Johnson, S. A. Said, X. Fu, F. J. Schmitz, H. Pietraszkiewicz, F. A. Valeriotec, P. Crews. Structures and cytotoxicities of fascaplysin and related alkaloids from two marine phyla—*Fascaplysinopsis* sponges and *Didemnum* tunicates // *Tetrahedron Letters.*- 2003.- V. 44.- No 17.- P. 3471-3475.
- 13 T. A. Foderaro, L. R. Barrows, P. Lassota, C. M. Ireland. Bengacarboline, a new β -carboline from a marine ascidian *Didemnum* sp. // *J. Org. Chem.*- 1997.- V. 62.- No 17.- P. 6064-6065.
- 14 L. A. Tziveleka, C. Vagias, V. Roussis. Natural products with anti-HIV activity from marine organisms // *Curr. Top. Med. Chem.*- 2003.- V. 3.- No 13.- P. 1512-1535.
- 15 Z. Lu, Y. Ding, X. C. Li, D. R. Djigbenou, B. T. Grimberg, D. Ferreira, C. M. Ireland, R. M. V. Wagoner. 3-bromohomofascaplysin A, a fascaplysin analogue from a Fijian *Didemnum* sp. ascidian // *Bioorg. Med. Chem.*- 2011.- V. 19.- No 22.- P. 6604-6607.
- 16 M. Q. Klinkert, V. Heussler. The use of anticancer drugs in antiparasitic chemotherapy // *Mini Rev. Med. Chem.*- 2006.- V. 6.- No 2.- P. 131-143.
- 17 R. Soni, L. Muller, P. Furet, J. Schoepfer, C. Stephan, S. Zunstein-Mecker, H. Fretz, B. Chaudhuri. Inhibition of cyclin-dependent kinase 4 (Cdk4) by

- fascaplysin, a marine natural product // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*- 2000.- V. 275.- No 3.- P. 877-884.
- 18 B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter. *Molecular biology of the cell* // - New York: Garland Science,- 2002.- 536 p.
- 19 S. Chen, X. Guan, L. Wang, B. Li, X. Sang, Y. Liu, Y. Zhao. Fascaplysin inhibit ovarian cancer cell proliferation and metastasis through inhibiting CDK4 // *Gene.*- 2017.- V. 635.- P. 3-8.
- 20 I. Lyakhova, M. Piatkova , V. Gulaia, A. Romanishin, M. Shmelev, A. Bryukhovetskiy, A. Sharma, HS. Sharma, R. Khotimchenko, I. Bryukhovetskiy. Alkaloids of fascaplysin are promising chemotherapeutic agents for the treatment of glioblastoma: Review // *Int. Rev. Neurobiol.*- 2020.- V. 151.- P. 299-324.
- 21 I. Bryukhovetskiy, I. Lyakhova, P. Mischenko, E. Milkina, S. Zaitsev, Y. Khotimchenko, A. Bryukhovetskiy, A. Polevshchikov, I. Kudryavtsev, M. Khotimchenko, M. Zhidkov. Alkaloids of fascaplysin are effective conventional chemotherapeutic drugs, inhibiting the proliferation of C6 glioma cells and causing their death in vitro // *Oncol. Lett.*- 2017.- V. 13.- No 2.- P. 738-746.
- 22 B. Rath, M. Hochmair, A. Plangger, G. Hamilton. Anticancer activity of fascaplysin against lung cancer cell and small cell lung cancer circulating tumor cell lines // *Mar. Drugs.*- 2018.- V. 16.- No 10.- P. 383-395.
- 23 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.
- 24 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.

- 25 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 // *Biomed. Pharmacother.*- 2019.- V. 114.
- 26 X. Yan, H. Chen, X. Lu, F. Wang, W. Xu, H. Jin, P. Zhu. Fascaplysin exert anti-tumor effects through apoptotic and anti-angiogenesis pathways in sarcoma mice model // *Eur. J. Pharm. Sci.*- 2011.- V. 43.- No 4.- P. 251-259.
- 27 J. Lin, X-J. Yan, H-M. Chen. Fascaplysin, a selective CDK 4 inhibitor, exhibit antiangiogenic activity *in vitro* and *in vivo* // *Cancer Chemother. Pharmacol.*- 2007.- V. 59.- No 4.- P. 439–445.
- 28 Y. L. Zheng, X. L. Lu, J. Lin, H. M. Chen, X. J. Yan, F. Wang, W. F. Xu. Direct effects of fascaplysin on human umbilical vein endothelial cells attributing the anti-angiogenesis activity // *Biomed. Pharmacother.*- 2010. V. 68.- No 8.- P. 527-533.
- 29 T. Oh, Y. Lee, T. Nam, Y. Ko, S. Mah, J. Kim, Y. Kim, R. H. Reddy, Y. J. Kim, S. Hong, J. Lim. Fascaplysin exerts anti-cancer effects through the downregulation of survivin and HIF-1 α and inhibition of VEGFR2 and TRKA // *Int. J. Mol. Sci.*- 2017.- V. 18.- No 10.- P. 2074-2089.
- 30 M. Mischitelli, M. Jemaà, M. Almasry, C. Faggio, F. Lang. Triggering of suicidal erythrocyte death by fascaplysin // *Cell. Physiol. Biochem.*- 2016.- V. 39.- No 4.- P. 1638-1647.
- 31 E. Ampofo, T. Später, I. Müller, H. Eichler, M. D. Menger, M. W. Laschke. The marine-derived kinase inhibitor fascaplysin exerts anti-thrombotic activity // *Mar. Drugs.*- 2015.- V. 13.- No 11.- P. 6774-6791.
- 32 T. A. Johnson, L. Milan-Lobo, T. Che, M. Ferwerda, E. Lambo, N. L. McIntosh, F. Li, L. He, N. Lorig-Roach, P. Crews, J. L. Whistler. Identification of the first marine-derived opioid receptor “balanced” agonist with a signaling profile that resembles the endorphins // *ACS Chem. Neurosci.*- 2017.- V. 8.- No 3.- P. 473-485.

- 33 Q. Sun, F. Liu, J. Sang, M. Lin, J. Ma, X. Xiao, S. Yan, C. B. Naman, N. Wang, S. He, X. Yan, W. Cui, H. Liang. 9-Methylfascaplysin is a more potent A β aggregation inhibitor than the marine-derived alkaloid, fascaplysin, and produces nanomolar neuroprotective effects in SH-SY5Y cells // *Mar. Drugs.*- 2019.- V. 17.- No 2.- P. 121-136.
- 34 H. Pan, H. Qiu, K. Zhang, P. Zhang, W. Liang, M. Yang, C. Mou, M. Lin, M. He, X. Xiao, D. Zhang, H. Wang, F. Liu, Y. Li, H. Jin, X. Yan, H. Liang, W. Cui. Fascaplysin derivatives are potent multi-target agents against Alzheimer's disease: *in vitro* and *in vivo* evidence // *ACS Chem. Neurosci.*- 2019.- V. 10.- No 11.- P. 4741-4756
- 35 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 fascaplysin, as a new class of potent P-glycoprotein inducer and establishment of its structure-activity relationship // *Eur. J. Med.*- 2016.- V. 107.- P. 1-11.
- 36 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. V. 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. 496-508.
- 37 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.- P. 609-626.
- 38 P. Spirin, E. Shyrokova, T. Lebedev, E. Vagapova, P. Smirnova, A. Kantemirov, S. A. Dyshlovoy, G. V. Amsberg, M. Zhidkov, V. Prassolov. Cytotoxic marine alkaloid 3,10-dibromofascaplysin induces apoptosis and synergizes with cytar-

- bine resulting in leukemia cell death // *Mar. Drugs.*- 2021.- V. 19.- No 9.- P. 489-506.
- 39 I. A. Lyakhova, I. S. Bryukhovetsky, I. V. Kudryavtsev, Y. S. Khotimchenko, M. E. Zhidkov, A. V. Kantemirov. Antitumor activity of fascaplysin derivatives on glioblastoma model *in vitro* // *Bull. Exp. Biol. Med.*- 2018.- V. 164.- No 5.- P. 666-672.
- 40 S. Sharma, S. G. Kumar, S. Manda, A. Kumar, M. J. Minto, V. D. Prasad, P. R. Sharma, D. M. Mondhe, S. B. Bharate, S. Bhushan. A marine sponge alkaloid derivative 4-chloro fascaplysin inhibits tumor growth and VEGF mediated angiogenesis by disrupting PI3K/Akt/mTOR signaling cascade // *Chem. Biol. Interact.*- 2017.- V. 275.- P. 47-60.
- 41 S. B. Bharate, S. Manda, N. Mupparapu, N. Battini, R. A. Vishwakarma. Chemistry and biology of fascaplysin, a potent marine-derived CDK 4 inhibitor // *Mini Rev Med Chem.*- 2012.- V. 12.- No 7.- P. 650-664.
- 42 C. Aubry, A. Patel, S. Mahale, B. Chaudhuri, J.-D. Maréchal, M. J. Sutcliffe, P. R. Jenkins. The design and synthesis of novel 3-[2-indol-1-yl-ethyl]-1*H*-indole derivatives as selective inhibitors of CDK4 // *Tetrahedron Lett.*- 2005.- V. 46.- No 9.- P. 1423-1425.
- 43 C. Aubry, A.J. Wilson, D. Emmerson, E. Murphy, Y.Y. Chan, M.P. Dickens, M.D. García, P.R. Jenkins, S. Mahale, B. Chaudhuri. Fascaplysin-inspired di-indolyls as selective inhibitors of CDK4/cyclin D1 // *Bioorg. Med. Chem.*- 2009.- V. 17.- No 16.- P. 6073–6084.
- 44 C. Aubry, P. R. Jenkins, S. Mahale, B. Chaudhuri, J.-D. Maréchal. New fascaplysin-based CDK4-specific inhibitors: design, synthesis and biological activity // *Chem. Commun.*- 2004.- No 15.- P. 1696-1697.
- 45 P.R. Jenkins, J. Wilson, D. Emmerson, M.D.Garcia, M.R. Smith, S.J. Gray, R.G. Britton, S. Mahale, B. Chaudhuri. Design, synthesis and biological evaluation of new tryptamine and tetrahydro- β -carboline-based selective inhibitors of CDK4 // *Bioorg. Med. Chem.*- 2008.- V. 16.- No 16- P. 7728–7739.

- 46 S. Mahale, SB. Bharate, S. Manda, P. Joshi, SS. Bharate, PR. Jenkins, RA. Vishwakarma, B. Chaudhuri. Biphenyl-4-carboxylic acid [2-(1H-indol-3-yl)-ethyl]-methanamide (CA224), a nonplanar analogue of faspalylin, inhibits Cdk4 and tubulin polymerization: evaluation of *in vitro* and *in vivo* anticancer activity // J. Med. Chem.- 2014.- V. 57.- No 22.- p. 9658-9672.
- 47 C. Aubry, A. J. Wilson, P. R. Jenkins, S. Mahale, B. Chaudhuri, J-D. Mare'chal, M. J. Sutcliffe. Design, synthesis and biological activity of new CDK4-specific inhibitors, based on faspalylin // Org. Biomol. Chem.- 2006.- No 6.- P. 787-801.
- 48 S. Mahale, C. Aubry, P. R. Jenkins, J-D. Mare'chal, M. J. Sutcliffe, B. Chaudhuri. Inhibition of cancer cell growth by cyclin dependent kinase 4 inhibitors synthesized based on the structure of faspalylin // Bioorg. Chem.- 2006.- V. 34.- No 5.- P. 287-297.
- 49 S. Mahale, S. B. Bharate, S. Manda, P. Joshi, PR. Jenkins, R. A. Vishwakarma, B. Chaudhuri. Antitumour potential of BPT: a dual inhibitor of cdk4 and tubulin polymerization // Cell Death Dis.- 2015.- V. 6.- No 5.- P. 1743-1756.
- 50 H. Fretz, K. Ucci-Stoll, P. Hug, J. Schoepfer, M. Lang. Investigations on the reactivity of faspalylin. Part I. Aromatic electrophilic substitutions occur at position 9 // Helv. Chim. Acta.- 2000.- V. 83.- No 11.- P. 3064-3068.
- 51 H. Fretz, K. Ucci-Stoll, P. Hug, J. Schoepfer, M. Lang. Investigations on the reactivity of faspalylin Part II General stability considerations and products formed with nucleophiles // Helv. Chim. Acta.- 2001.- V. 84.- No 4.- P. 867-873.
- 52 G. W. Gribble, B. Pelcman. Total synthesis of the marine sponge pigment faspalylin // Tetrahedron Lett. - 1990.- V. 31.- No 17.- P. 2381-2384.
- 53 G. W. Gribble, B. Pelcman Total syntheses of the marine sponge pigments faspalylin and homofaspalylin B and C // J. Org. Chem.- 1992.- V. 57.- No 13.- P. 3636-3642.

- 54 Y. Dai, W. Zhang, K. Wang, W. Wang, W. Zhang. Synthesis of homofascaplysin B, C and analogues by the photocyclization of 3-acyl-2-chloro-1-[2-(indol-3-yl)ethyl]indoles // *Tetrahedron*.- 2013.- V. 69.- No 7.- P. 1912-1918.
- 55 P. Rocca, F. Marsais, A. Godart, G. Queguiner. A short synthesis of the antimicrobial marine sponge pigment fascaplysin // *Tetrahedron Lett.*- 1993.- V. 34.- No 49.- P. 7917-7918.
- 56 P. Molina, P. M. Fresneda, S. Garciazafra, P. Almendros. Iminophosphorane-mediated syntheses of the fascaplysin alkaloid of marine origin and nitramarine // *Tetrahedron Lett.*- 1994.- V. 35.- No 47.- P. 8851-8854.
- 57 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.
- 58 M. D. Garcia, A. J. Wilson, D. P. G. Emmerson, P. R. Jenkins. Regioselective photo-oxidation of 1-benzyl-4,9-dihydro-3H- β -carbolines // *Chem. Commun.*- 2006.- No 24.- P. 2586-2588
- 59 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.
- 60 S. B. Bharate, S. Manda, P. Joshi, B. Singh, R. A. Vishwakarma. Total synthesis and anti-cholinesterase activity of marine-derived bisindole alkaloid fascaplysin // *Med. Chem. Comm.*- 2012.- No 9.- P.1098-1103.
- 61 Y. P. Zhu, M. C. Liu, Q. Cai, F. C. Jia, A. X. Wu. A cascade coupling strategy for one-pot total synthesis of β -carboline and isoquinoline-containing natural products and derivatives // *Chem. Eur. J.*- 2013.- V. 19.- No 31.- P. 10132 – 10137.

- 62 S. V. Dubovitskii. Method for synthesis of 12*H*-pyrido[1,2-*a*:3,4-*b'*]diindoles. Total synthesis of homofascaplysin C // *Tetrahedron Lett.*- 1996.- V. 37.- No 29.- P. 5207-5208.
- 63 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.
- 64 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.- No 25.- p. 4622–4624.
- 65 M. E. Zhidkov, V. A. Kaminskii. A new method for the synthesis of the marine alkaloid fascaplysin based on the microwave-assisted Minisci reaction // *Tetrahedron Lett.*- 2013.- V. 54.- No 27.- P. 3530–3532.
- 66 T. Posner, G. Pyl. Beitrage zur kenntnis der indigo-gruppe, II.: uber einen neuen, aus indigo und malonester entstehenden kupenfarbstoff // *Ber.*- 1923.- Bd. 56.- C. 31-44.
- 67 T. Posner, W. Kemper. Beitrage zur kenntnis der indigo-gruppe, IV.: uber einen neuen aus indigo und phenylessigester entstehenden kupenfarbatoff // *Ber.*- 1924.- Bd. 57.- C. 1311-1315.
- 68 Б. П. Машнев. Изучение взаимодействия индиго с различными реагентами : выпускная квалификационная работ // Дальневосточный Государственный Университет (ДВГУ).- Владивосток, 2007.- 107 с.
- 69 M. A. Kolaczowski, B. He, Y. Liu. Stepwise bay annulation of indigo for the synthesis of desymmetrized electron acceptors and donor–acceptor constructs // *Org. Lett.*- 2016.- V. 18.- No 22.- P. 5224–5227.
- 70 X. Mei, A. Ru, H. Tao, H. Xiao-jiang, L. Sheng. A biomimetic synthesis of homofascaplysin C from ditryptophans // *Tetrahedron Lett.*- 2016.- V. 57.- No 11.- P. 1247-1249.
- 71 J. Bergman, E. Kosh, B. Pelcman. Reactions of indole-3-acetic acid derivatives in trifluoroacetic acid // *Tetrahedron Lett.*- 1995.- V. 36.- No 22.- P. 3945-3948.

- 72 Г. И. Жунгиету, В. А. Будылин, А. Н. Кост. Препаративная химия индола // - Кишинев : "Штиинца".- 1975.- 264 с.
- 73 S. Khokhar, Y. Feng, M. R. Campitelli, M. G. Ekins, J. N. A. Hooper, K. D. Beattie, M. C. Sadowski, C. C. Nelson, R. A. Davis. Isolation, structure determination and cytotoxicity studies of tryptophan alkaloids from an Australian marine sponge *Hyrtios* sp. // Bioorg. Med. Chem. Lett.- 2014.- V. 24.- No 15.- P. 3329 - 3332.
- 74 M. E. Zhidkov, A. V. Kantemirov, A. V. Koisevnikov, A. N. Andin, A. S. Kuzmich. Syntheses of the marine alkaloids 6-oxofascaplysin, fascaplysin and their derivatives // Tetrahedron Lett.- 2018.- V. 59.- No 8.- P. 708-711.
- 75 P. Imming, I. Imhof, M. Zentgraf. An improved synthetic procedure for 6,6'-dibromoindigo (Tirian purple) // Synth. Commun.- 2001.- V. 31.- No 23.- P. 3721-3727.
- 76 E. L. Eliel, R. O. Hutchins, S. M. Knoeber. Diethyl tert-butylmalonate // Org. Synth.- 1970.- V. 50.- P. 38-40.
- 77 C. S. Franklin, A. C. White. A novel preparation of α -substituted triptamines from isatins // J. Chem. Soc.- 1963.- V. 196.- No 2.- P. 1335-1337
- 78 A. G. Terzian, R. R. Safrabekian, R. S. Sukasian, G. T. Tatevosian. Synthesis and some pharmacological properties of alpha-methyltryptamine and its 5-methoxy derivative // Experimentia.- 1961.- V. 17.- P. 493-494.
- 79 О. А. Тряпкин, М. Е. Жидков. Получение алкалоида фаскаплизина и его производных кватернизацией под УФ-излучением // Сборник тезисов первой всероссийской школы по медицинской химии MedChemSchool-2021.- Новосибирск.- 2021.- С. 198.
- 80 М. Тишлер, А.Ф. Платэ. Синтезы органических препаратов // Изд-во иностр. лит. – Сб. 2 – 1961 г. – С. 30-31.
- 81 K. Bodendorf, A. Walk. Darstellung und reduktion von indolyl-(3)-aminomethylketonen // Archiv der Pharmazie.- 1961.- No 8.- P. 484-487.

- 82 E. P. Styngach, A. A. Semenov. Carbolines // Chem. Heterocycl. Compd.-1971.- No 7.- P. 582.
- 83 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.- No 3.- P. 185-208.
- 84 S. A. Dyshlovoy, D. N. Pelageev, J. Hauschild, K. L. Borisova, M. Kaune, C. Krisp, S. Venz, Y. E. Sabutskii, E. A. Khmelevskaya, T. Busenbender, V. A. Denisenko, N. D. Pokhilo, L. N. Atopkina, M. Graefen, H. Schlüter, V. A. Stonik, C. Bokemeyer, V. P. Anufriev, G. von Amsberg. Successful targeting of the Warburg effect in prostate cancer by glucose-conjugated 1,4-naphthoquinones // Cancers.- 2019.- V. 11.- No 11.- P. 1690-1711.
- 85 S. A. Dyshlovoy, D. N. Pelageev, L. S. Jakob, K. L. Borisova, J. Hauschild, T. Busenbender, M. Kaune, E. A. Khmelevskaya, M. Graefen, C. Bokemeyer, V. P. Anufriev, G. von Amsberg. Activity of new synthetic (2-chloroethylthio)-1,4-naphthoquinones in prostate cancer cells. // Pharmaceuticals.- 2021.- V. 14.- No 10.- P. 949-972.