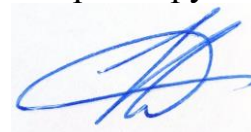


Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Дальневосточный федеральный университет»

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)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Владивосток – 2023

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

**Научный руководитель:**

**Жидков Максим Евгеньевич**  
кандидат химических наук, доцент

**Официальные оппоненты:**

**Сабуцкий Юрий Евгеньевич**  
кандидат химических наук,  
Тихоокеанский институт биоорганической химии  
им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,  
старший научный сотрудник лаборатории  
органического синтеза природных соединений

**Русинов Владимир Леонидович**  
доктор химических наук,  
член-корреспондент РАН,  
Уральский федеральный университет имени  
первого Президента России Б.Н. Ельцина,  
заведующий кафедрой органической и биомоле-  
кулярной химии химико-технологического ин-  
ститута

**Ведущая организация:**

Научно-исследовательский институт по изыска-  
нию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе,  
г. Москва

Защита диссертации состоится 23 марта 2023 года в часов на заседании диссертационного совета 24.1.213.01 при Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН по адресу: 690022, г. Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159, ТИБОХ ДВО РАН. Факс: (423) 231-40-50, e-mail: [dissovet@piboc.dvo.ru](mailto:dissovet@piboc.dvo.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН (г. Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159, ТИБОХ ДВО РАН, [www.piboc.dvo.ru](http://www.piboc.dvo.ru) ).

Автореферат разослан

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2023

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук



Чингизова Е. А.

## 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 является агонистом  $\mu$ -опиоидных рецепторов с сигнальным профилем, напоминаю-

щим 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).

### **Личный вклад автора**

Вся экспериментальная часть работы выполнена автором или при его непосредственном участии.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 126 страницах, состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы, состоящего из 85 источников. Результаты проиллюстрированы 71 рисунком и 11 таблицами.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В ходе данной работы были проведены исследования, направленные на получение производных алкалоида фаскаплизина по центральному циклу. Были изучены три возможных синтетических подхода: а) получение 2,2'-бис-индолов из индола и его производных с последующей внутримолекулярной конденсацией бис-индолов в 12*H*-пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндолы и их дальнейшей конверсии в соответствующие фаскаплизины; б) конденсация индиго с метиленактивными соединениями и восстановление промежуточных продуктов с последующей конверсией их в соответствующие фаскаплизины; в) модификация известного способа синтеза фаскаплизина из триптамина и *o*-бромацетофенона через использование различных замещенных триптаминов. Для полученных соединений была изучена их цитотоксичность в отношении культур клеток рака простаты PC-3, 22Rv1, DU145, LNCaP, VCaP, а также линий неопухолевых клеток MRC-9, PNT2, RWPE-1, HEK293.

### 1 Подход к синтезу фаскаплизинов с использованием замещенных индолов в качестве исходных соединений

По данным литературы, фаскаплизин может быть легко получен действием надкислот на 12*H*-пиридо[1,2-*a*:3,4-*b*]дииндол (**2**) (Рис. 1). Следовательно, для достижения целей исследования необходимо предложить способ синтеза данной пиридодииндольной системы с заместителями в центральном цикле С.

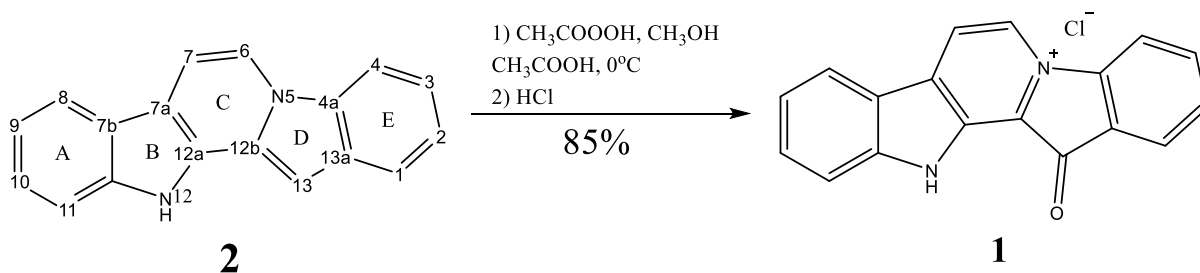


Рисунок 1 – Синтез фаскаплизина (**1**) по Гриббл

Получение подобных систем возможно путем внутримолекулярной циклизации симметричного 2,2'-бис-индола, полученного димеризацией триптофана. Применительно к данной работе необходимо использование двух различ-



ных 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 было решено использовать легкодоступный этиловый эфир индолил-3-уксусной кислоты (**3**) как модель для отработки на его основе схемы получения целевых соединений. В качестве второго компонента были изучены 3-ацетокси- (**4**), 3-бром- (**6**), 3-гидрокси- (**7**), 3-формилиндол (**8**), а также незамещенный индол (**9**) (Рис. 2).

В случае соединения **4** наблюдалось образование 2,3'-бис-индола **5**. В результате взаимодействия этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (**3**) с соединениями **6-8** были получены сложные смеси соединений, не содержащие целевые продукты. Использование незамещенного индола (**9**) привело к образованию изомерных бис-индолов. В результате реакции были получены изомерные продукты **10** и **11** с выходом 19 и 9% соответственно.

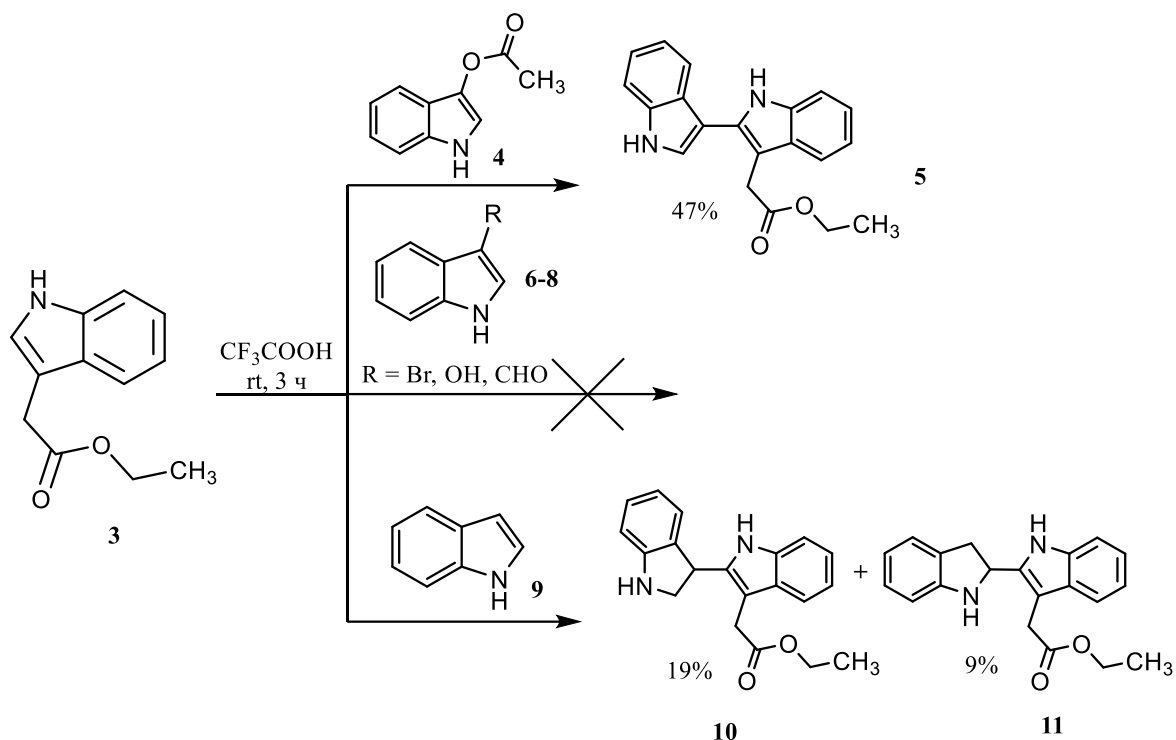


Рисунок 2 – Схема реакции этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты (3) с различными индолами (4, 6-9)

Следующим этапом в получении целевой системы являлась внутримолекулярная циклизация полученного этил-2',3'-дигидро-2,2'-бис-индол-3-илацетата (11). По результатам ГЖХ-МС было определено, что наряду с получением продукта внутримолекулярной циклизации 12 частично имело место дегидрирование полученного продукта и образование соединения 13. Для увеличения содержания 13 было решено подействовать на экстракт реакционной смеси мягким окислителем, таким как  $\text{MnO}_2$  (Рис. 3). 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 (13).

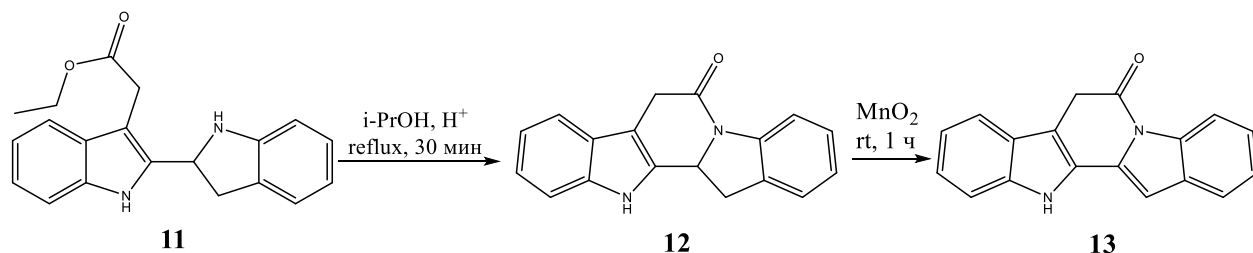


Рисунок 3 – Внутримолекулярная циклизация соединения **11** и последующее окисление полупродукта **12**

Опираясь на разработанную методологию, следующим этапом нашей работы стало введение в реакцию 3-индолилацетона (**14**), на основе которого можно синтезировать целевые производные гетероциклической системы (Рис. 4). Методом ГЖХ-МС было показано, что реакционная смесь является многокомпонентной. В ней присутствует, среди прочих, соединение, значение  $m/z$  молекулярного иона которого соответствовало значению  $m/z [M]^+$  продукта **16**, образующегося в результате внутримолекулярной циклизации продукта кросс-сочетания **15**; и соединение с  $m/z [M]^+$ , равным 270, что соответствует значению  $m/z [M]^+$  продукта его дегидрирования **17** (Рис. 4).

Значительное увеличение содержания целевых веществ в смеси вызвано, по-видимому, смещением равновесия на стадии кросс-сочетания в сторону образования продуктов из-за немедленного выведения обращающегося бис-индольного производного (**15**) из зоны реакции, которое циклизуется в соединение **16** (рис. 4). Тем не менее, после попытки препаративной наработки и выделения соединения **17** его выход составил 3%, что является неприемлемым для последующей многостадийной конверсии полученного соединения в соответствующий фаскаплизин.

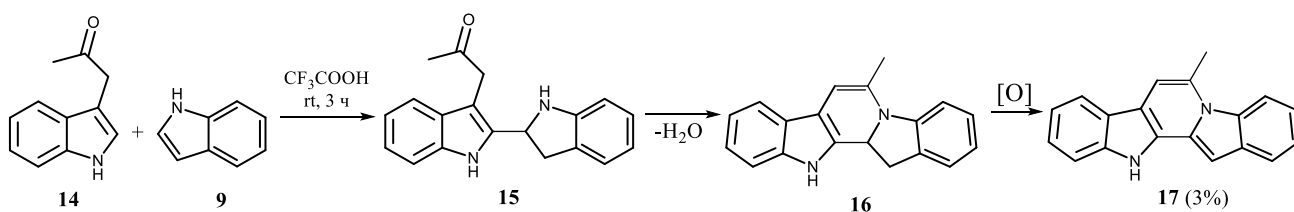


Рисунок 4 – Схема взаимодействия соединений **9** и **14**

Несмотря на принципиальную возможность получения целевой гетероциклической системы, указанное направление следует признать малоперспективным для получения широкого набора производных фаскаплизина по центральному циклу. Опираясь на другие подходы, нами была предложена и в полной мере реализована альтернативная схема получения подобных соединений.

## 2 Использование индиго в качестве исходного соединения

Другим известным способом получения целевой гетероциклической системы является конденсация индиго (**18**) с производными диэтилового эфира малоновой кислоты (Рис. 5). Однако при таком подходе атом углерода в шестом положении образующегося продукта будет содержать 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 соединению **20**.

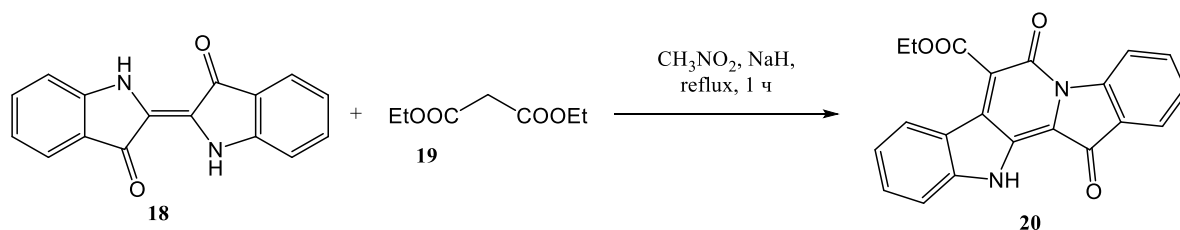


Рисунок 5 – Взаимодействие индиго (**18**) с диэтиловым эфиром малоновой кислоты (**19**)

Ацетофенон (**21**), выбранный из-за своей доступности, был введен в реакцию с полученным под действием сильного основания ( $\text{NaH}$ ) индиго-анионом. Реакция была проведена в условиях как кинетического, так и термодинамического контроля для изучения влияния условий на образующиеся продукты. Результаты обеих реакций были сопоставимы. В реакционной смеси присутствовало 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.

На основании данных ЯМР  $^1\text{H}$  и масс-спектров было установлено, что полученные соединения являются геометрическими изомерами 2-(2-оксо-2-фенилэтилиден)-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-она **22** и **23**. Принимая в внимание, что в спектре ЯМР  $^1\text{H}$  оранжевого продукта сигнал протона NH-группы индола находится в более слабом поле, чем в спектре желтого, ему была приписана структура *Z*-изомера (**22**) (наличие внутримолекулярной водородной связи). Исходя из этого, малоустойчивый продукт желтого цвета, имеющий схожий масс-спектр, был отнесен к *E*-изомеру (**23**). Выходы данных соединений составляют 13 и 7% соответственно (Рис. 6).

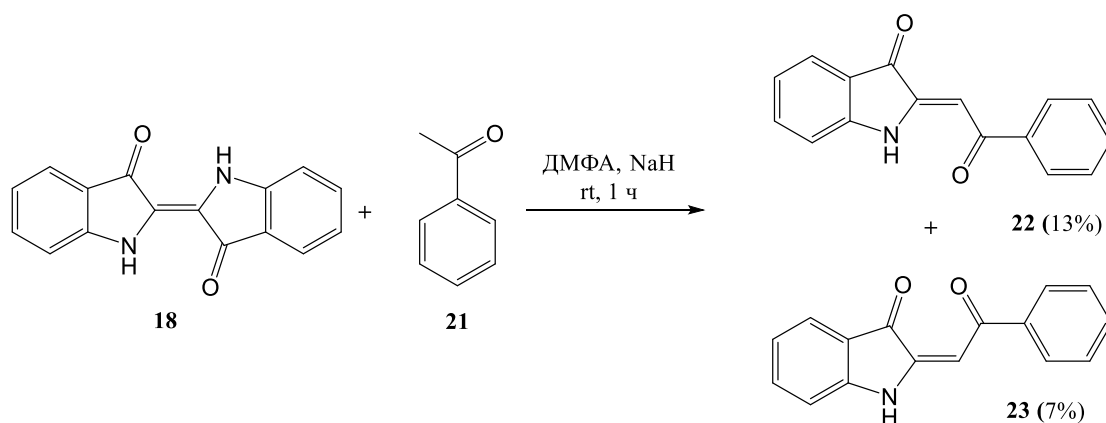


Рисунок 6 – Схема реакции индиго (**18**) с ацетофеноном (**21**) в условиях кинетического контроля.

Предполагаемый механизм взаимодействия индиго с ацетофеноном показан на Рис. 7. 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 **22** и **23**. Изомер **23** постепенно конвертируется в термодинамически более стабильный продукт **22**.

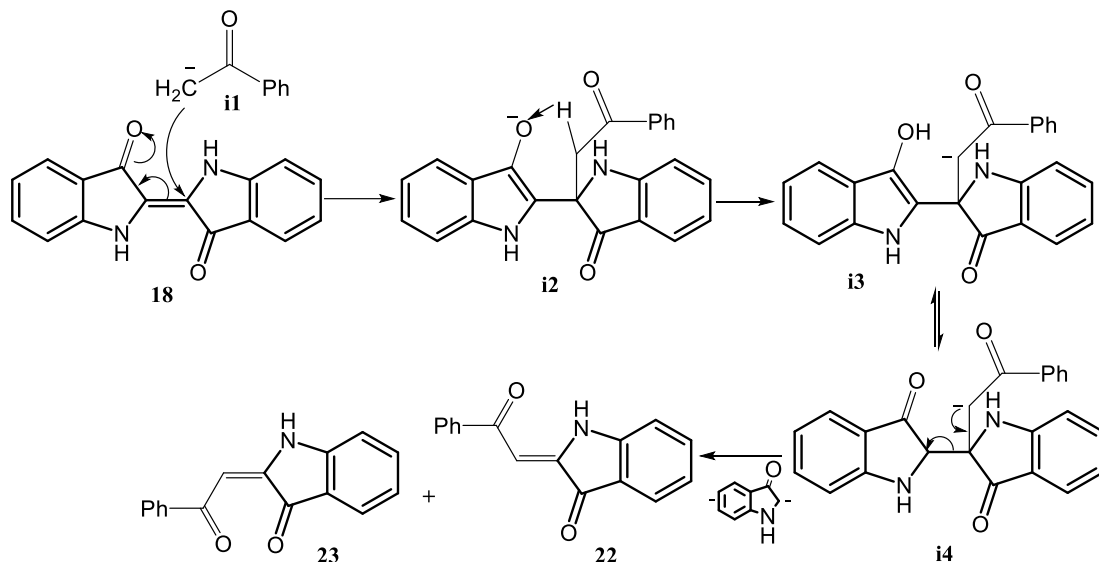


Рисунок 7 – Предполагаемый механизм взаимодействия индиго (**18**) с сопряженным основанием ацетофенона (**i1**)

Поскольку при взаимодействии индиго с ацетофеноном пиридоиндольные структуры не образуются, было решено использовать вариант конденсации индиго с производными карбоновых кислот, что привело бы к образованию соединений типа **20**. При этом главной задачей становилась разработка метода, позволяющего конвертировать получающиеся амиды в замещенные фаскаплизины. Для этого был предложен подход, представленный на Рис. 8. 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 могло затронуть карбонильную группу в положении 13. Затем на полученный интермедиат **i1** планировалось подействовать мягким окислителем в кислой среде с целью ароматизации центрального цикла молекулы интермедиата **24** и одновременного окисления его вторичной гидроксильной группы в положении 13 до карбонильной группы.

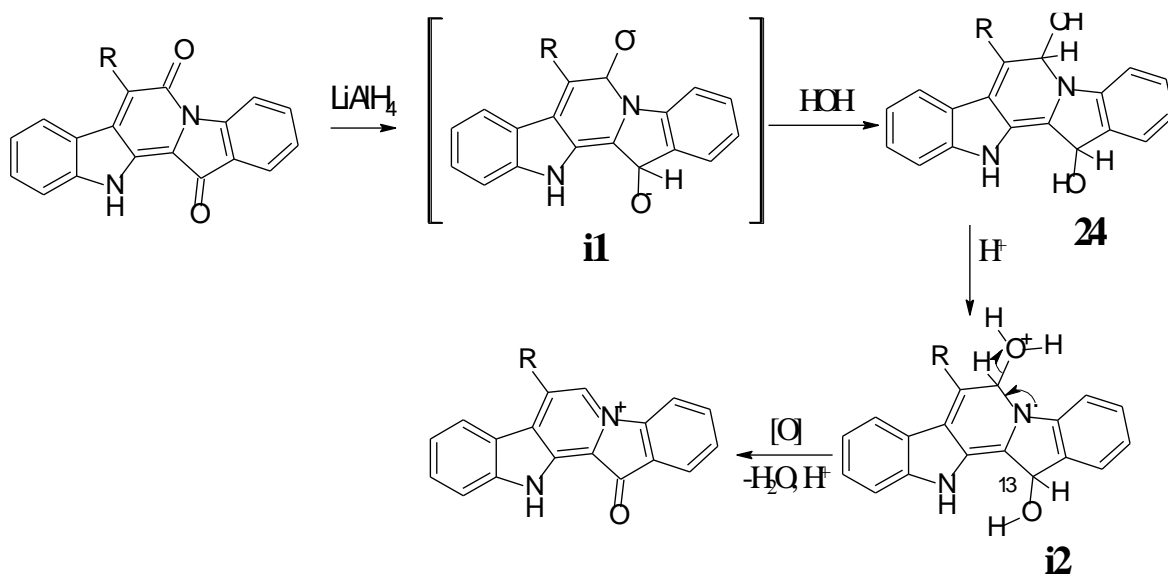
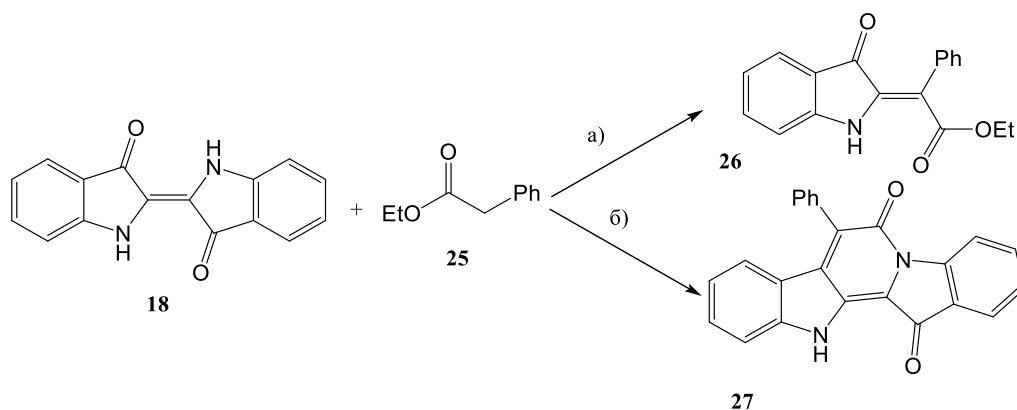


Рисунок 8 – Предполагаемая схема получения производных фаскаплизина

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 (**18**) с фенилуксусным эфиром (**25**) в присутствии  $\text{NaN}$ , которое, в зависимости от условий, проходило по двум различным направлениям. 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 **26**. В случае «быстрого» проведения реакции (все реагенты были смешаны сразу, реакционная смесь быстро доведена до кипения) образовывался продукт конденсации **27** (Рис. 9).



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

Рисунок 9 – Конденсация индиго (**18**) с фенилуксусным эфиром (**25**) в различных условиях

Оба варианта проведения данной реакции были нами воспроизведены. При этом наблюдалось получение только продукта **27** 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, гидроксида натрия, *трет*-бутилата калия (Рис. 10).

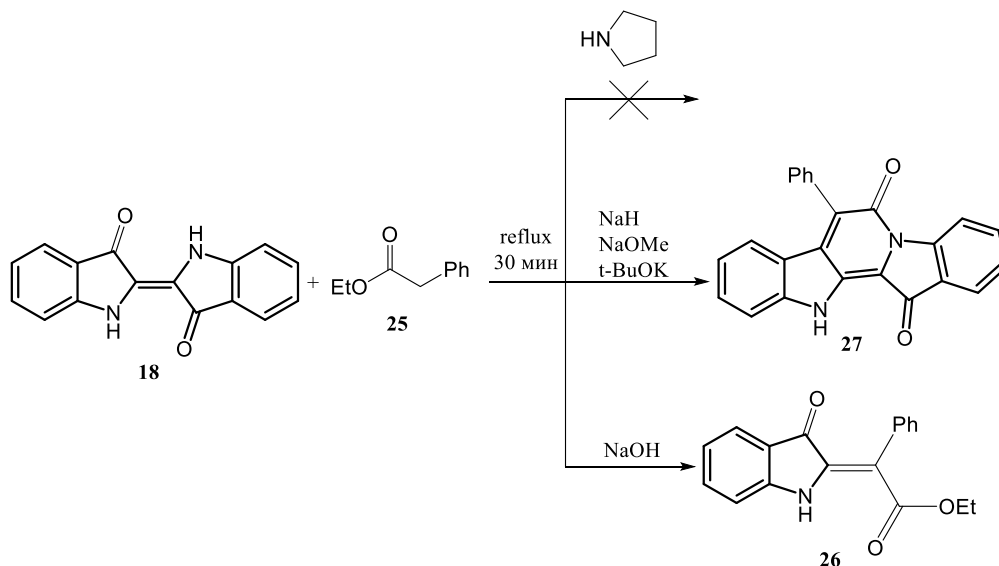


Рисунок 10 – Взаимодействие индиго (**18**) с фенилуксусным эфиром (**25**) под действием разных оснований



В результате образование продукта **26** наблюдалось только в случае использования гидроксида натрия. Таким образом, получение разных продуктов реакции в упомянутой выше работе 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  $\text{CH}_2$ -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. 7).

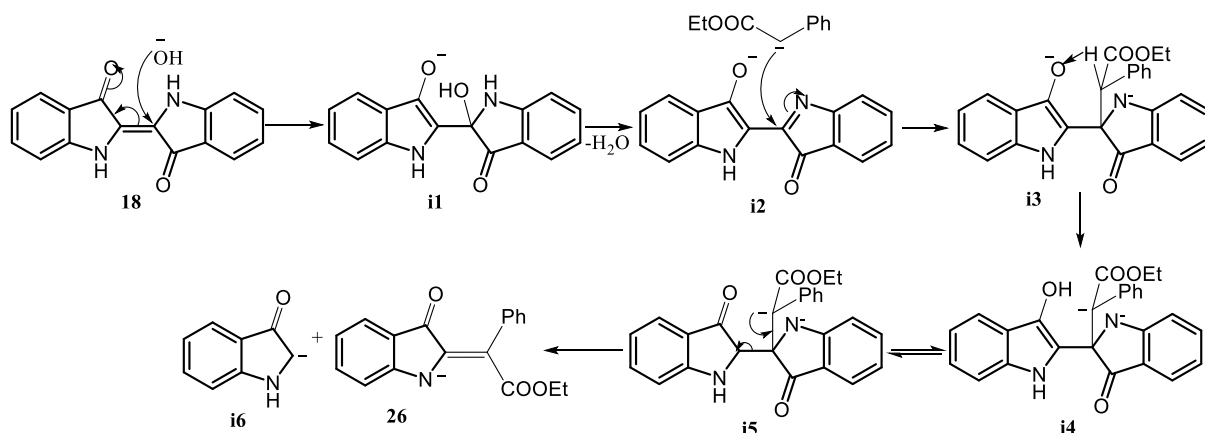


Рисунок 11 – Предполагаемый механизм образования продукта **26**

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 **20**, на котором было опробовано превращение его в незамещенный фаскаплизин (**1**). В качестве промежуточной стадии необходимо было гидролизовать сложный эфир **20** с последующим декарбоксилированием образующейся кислоты. Применение концентрированной серной кис-

лоты в различных условиях не привело к получению промежуточного продукта **28**. Целевое соединение **28** удалось получить путем использования в качестве реагента 40%-ной бромоводородной кислоты.

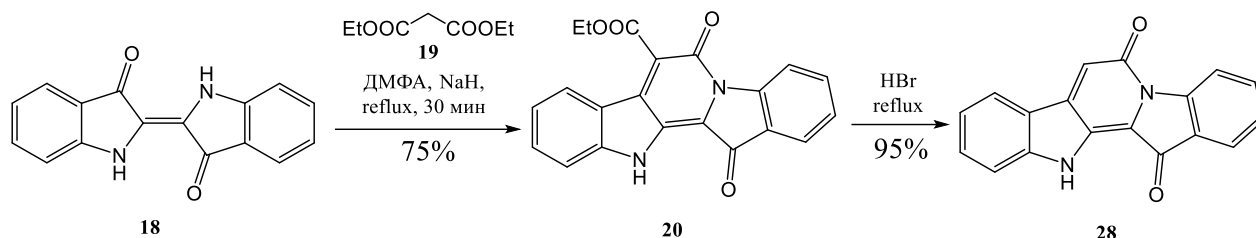


Рисунок 12 – Синтез 6-оксофаскаплизина (**28**)

При анализе текущей литературы было обнаружено, что аналогичное по строению соединение было выделено в 2014 году из морской губки *Hyrtilos* sp. и названо 6-оксофаскаплизином. Авторы данной работы высказали сомнение относительно правильности предложенной ими структуры соединения. На основании идентичности данных ЯМР-спектров, приведенных в литературе, и данных ЯМР-спектра полученного нами соединения **28** было сделано заключение об осуществлении первого синтеза и подтверждении структуры нового представителя фаскаплизиновых алкалоидов, известного как 6-оксофаскаплизин.

Следующим этапом в нашей синтетической схеме являлось восстановление амидного фрагмента в соединении **28** и его последующая конверсия в фаскаплизин (Рис. 13). В качестве восстановителя было решено использовать  $\text{LiAlH}_4$ . Из анализа спектра ЯМР  $^1\text{H}$  полученного продукта 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 характеристических сигналов атомов  $^1\text{H}$  фаскаплизина. В качестве альтернативного восстановителя был выбран раствор  $\text{NH}_3$  в тетрагидрофуране. Смесь соединения **28** и восстановителя кипятили в течение 2 ч с последующим добавлением 10%-ного раствора соляной кислоты и кипячением в течение еще 2 ч (Рис. 13). В результате был получен фаскапли-

зин, структура которого была подтверждена сравнением значений химических сдвигов ядер  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  природного фаскаплизина и полученного нами.

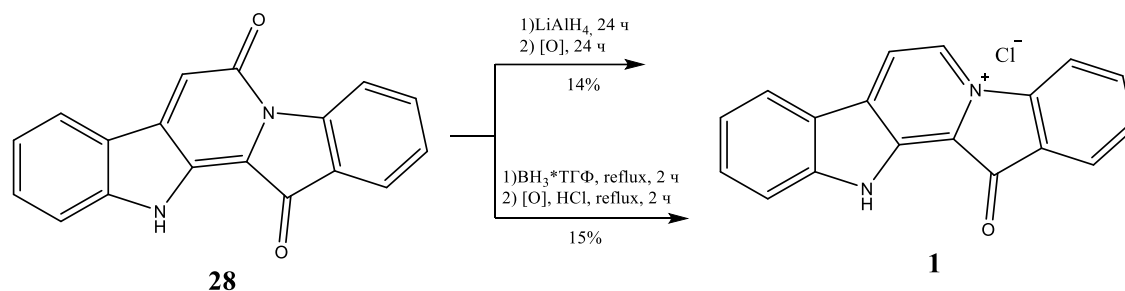


Рисунок 13 – Синтез фаскаплизина (**1**) в различных условиях

Далее было решено применить разработанную методику восстановления к полученному ранее соединению **27** (Рис. 14). В результате было получено производное фаскаплизина (**29**), содержащее фенильный заместитель в положении 7.

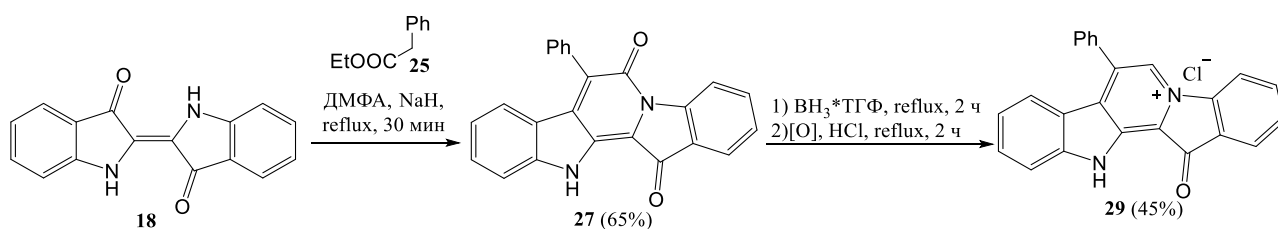


Рисунок 14 – Схема синтеза 7-фенилфаскаплизина (**29**)

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, обуславливающаяся наличием двух электроноакцепторных групп рядом с реакционным центром. Но использование подобных соединений приведет к образованию промежуточных продуктов, содержащих в седьмом положении базовой структуры как целевой заместитель, так и сложноэфирный радикал, которую в дальнейшем предполагалось гидролизовать с последующим декарбоксилированием. В связи

с этим было решено изучить данную реакцию на примере взаимодействия индиго (**18**) с диэтиловым эфиром этилмалоновой кислоты (**30a**).

На этапе конденсации индиго с диэтиловым эфиром этилмалоновой кислоты (Рис. 15) образовался продукт **31a**, не содержащий сложноэфирную группу. 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 **31a**. По результатам анализа состава реакционной смеси после стадии конверсии соединения **31a** в соответствующее производное фаскаплизина **32a** было обнаружено только исходное соединение. Было предположено, что энергия активации, которую может сообщить реактантам кипячение в ТГФ, недостаточна для получения продукта восстановления соединения **31a**. Поэтому было решено провести реакцию в автоклаве под действием микроволнового (MW) излучения. В результате целевое соединение **32a** было сформировано, выделено и очищено. Таким же образом был получен 7-метилфаскаплизин (**32b**).

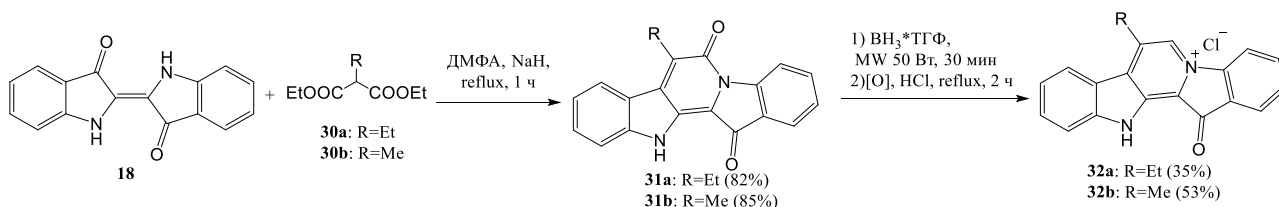


Рисунок 15 – Синтез 7-этил- (**32a**) и 7-метилфаскаплизина (**32b**)

Считается, что планарность фаскаплизина в значительной степени обуславливает достаточно высокую токсичность данного соединения. Один из способов решения названной проблемы, связанный с получением синтетических аналогов фаскаплизина, содержащих в своей основе различные бис-индолы или  $\beta$ -карболины, не оправдал ожиданий, так как полученные вещества обладали крайне низкой противоопухолевой активностью. Наличие *трет*-бутильного заместителя в седьмом положении позволяет, с одной стороны, сохранить скелет

фаскаплизина и связанный с ним спектр биологической активности, а с другой ограничить возможность интеркаляции в ДНК, что, предположительно, должно привести к уменьшению токсичности данного производного по сравнению с незамещенным алкалоидом.

Взаимодействие диэтилового эфира *трет*-бутилмалоновой кислоты (**33**) с индиго проводилось в рамках разработанной синтетической процедуры. Однако в масс-спектрах полученного соединения были обнаружены пики молекулярных ионов  $[M+H]^+$  с  $m/z = 359$  и  $[M-H]^-$  с  $m/z = 357$ , тогда как молекулярная масса целевого 7-*трет*-бутилфаскаплизина должна составлять 342 г/моль. В то же время молярную массу 358 г/моль имеет продукт конденсации индиго и незамещенного малонового эфира **19**. Для подтверждения данной гипотезы был получен  $^1H$  ЯМР-спектр продукта. Сопоставление химических сдвигов сигналов  $^1H$  полученного соединения и соединения **20** позволяет говорить об их полной идентичности. Нами было высказано предположение о механизме обсуждаемого превращения, представленного на Рис. 16. По-видимому, в данном случае доминирующим направлением реакции является элиминирование *трет*-бутильного катиона и его последующая фрагментация до изобутилена, а не гидролиз и последующее декарбоксилирование сложноэфирной группы.

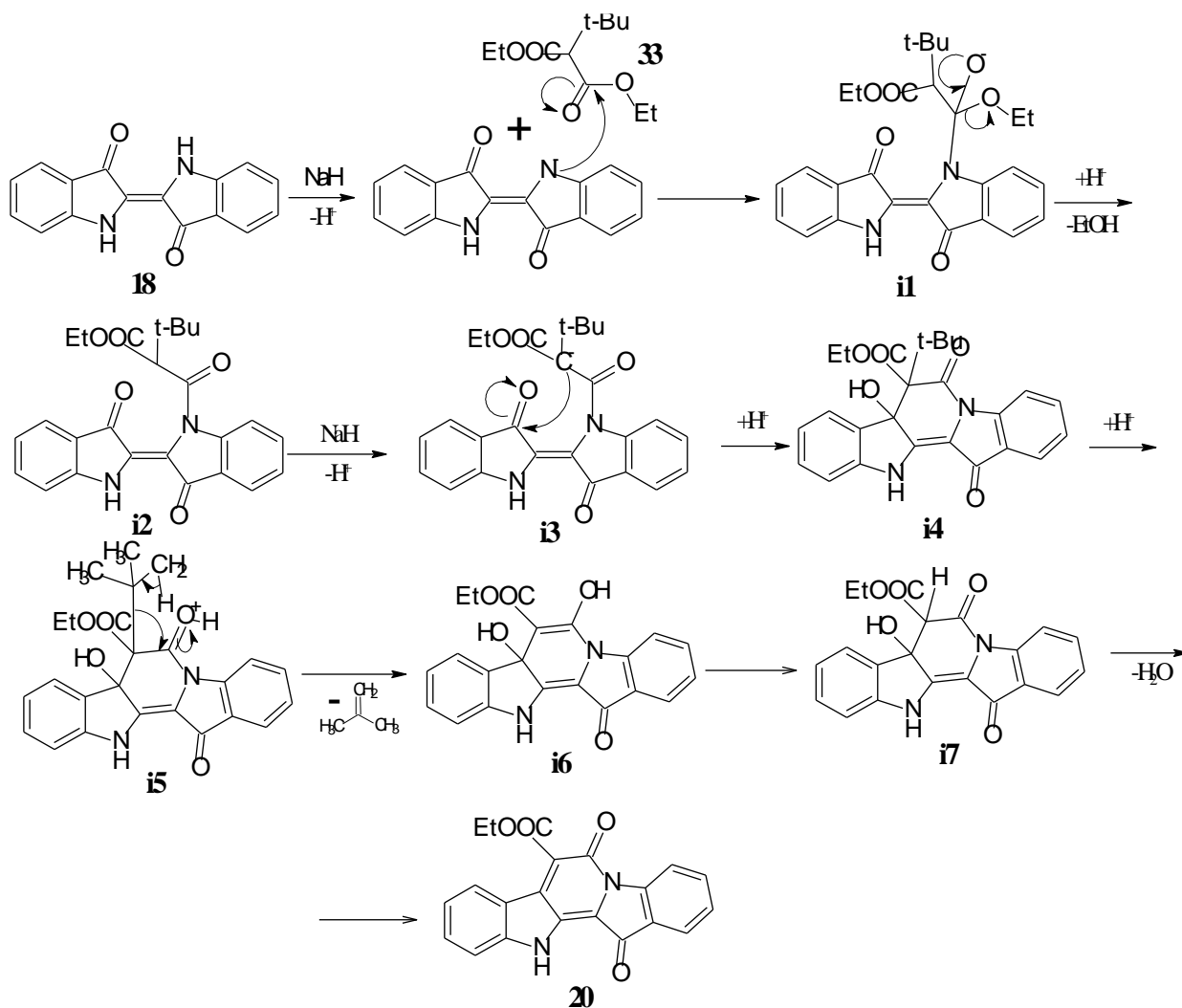


Рисунок 16 – Предполагаемый механизм взаимодействия индиго (18) с диэтиловым эфиром *трет*-бутилмалоновой кислоты (33)

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.

По результатам данного раздела исследований были получены следующие соединения: 6-оксофаскаплизин, фаскаплизин, 7-фенил-, 7-этил- и 7-метилфаскаплизины.

### 3 Получение производных фаскаплизина по положению 6

Описанная выше 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- $\beta$ -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 триптамином с последующим окислением промежуточного продукта. Далее образующийся  $\beta$ -карболин подвергается кватернизации под действием высокой температуры (220-230°C). Использование замещенного в положении 2' триптамина может привести к получению производного фаскаплизина, содержащего заместитель в шестом положении.

В качестве модельного соединения для синтеза был выбран фаскаплизин, содержащий метильный заместитель в шестом положении. Исходя из изатина (**34**) по известным методикам, доработанным нами, был получен оксим **37a**, который был восстановлен до триптамина **38a** комплексом  $\text{VH}_3 \cdot \text{TГФ}$  по разработанной ранее схеме. Полученный триптамиин **38a** был использован в модифицированной реакции получения  $\beta$ -карболина **40a** с последующей высокотемпературной кватернизацией в фаскаплизин **41a**. По данной методике было получено еще одно производное фаскаплизина **41b**, содержащее фенильный фрагмент в качестве заместителя (Рис. 17).

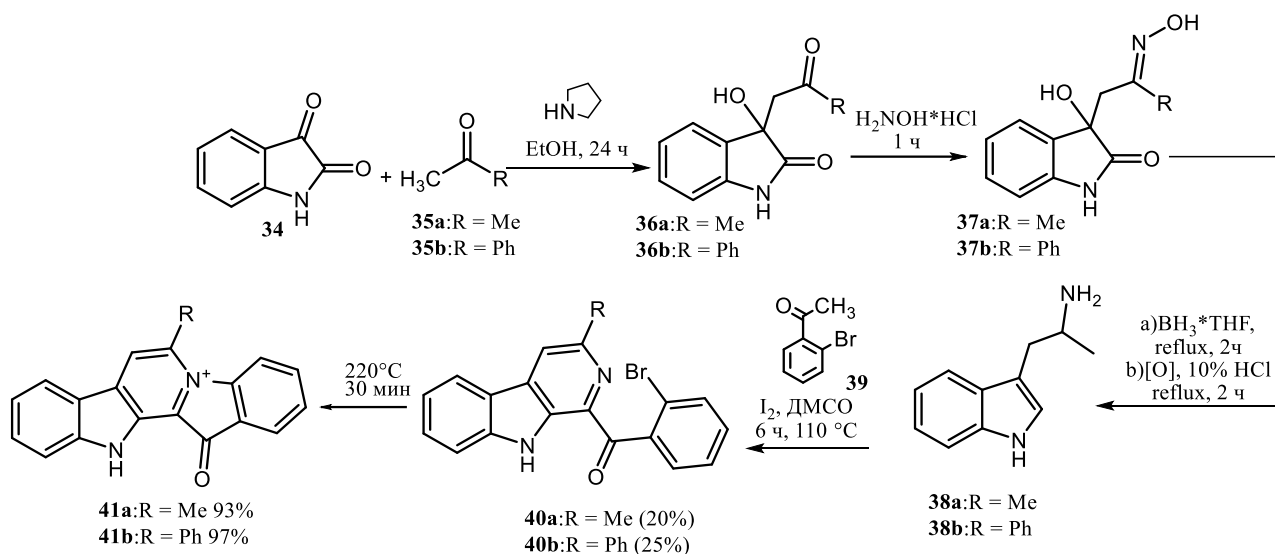


Рисунок 17 – Синтез 6-метил- (**41a**) и 6-фенилфаскаплизина (**41b**)

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 (**34**) и пинаколина (**42**). Ввиду того, что в результате взаимодействия альдоля **43** с гидроксиламином происходил ретроальдольный распад, для получения оксима **46** были добавлены две дополнительные стадии дегидратации и последующего восстановления полученной двойной связи; само получение оксима **46** проводилось в течение 48 ч. Прямое восстановление полученного оксима **46** в триптамин **48** под действием различных реагентов не привело к желаемым результатам, поэтому оно было заменено на двухстадийное: 1) восстановление оксима **46** до амина **47** водородом над оксидом платины (IV); 2) восстановление амидного фрагмента в соединении **47** гидридом бора (III) (Рис. 18).



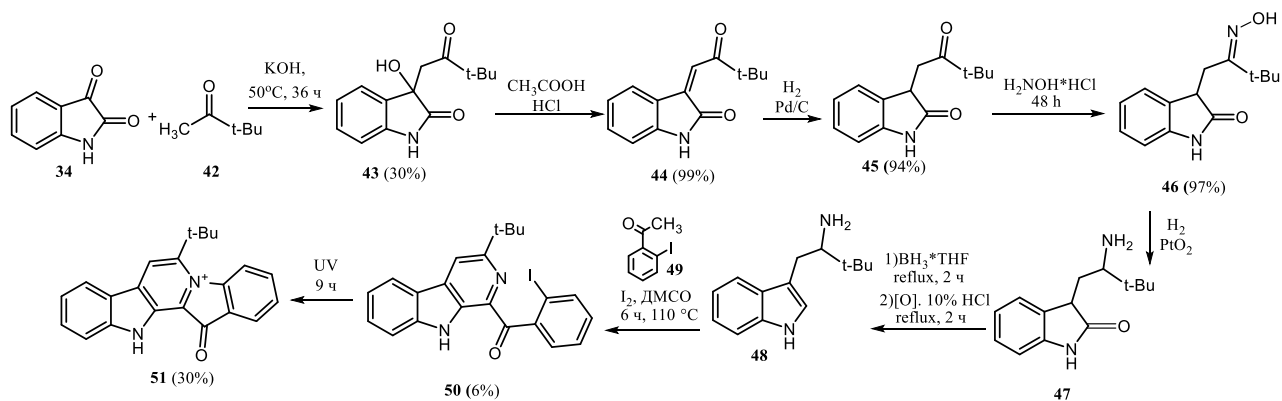


Рисунок 18 – Синтез 6-*tert*-бутилфаскаплизина (**51**)

Для проведения кватернизации β-карболина **50** варьировали температуру, время реакции, были использованы силикагель и хлорид пиридиния в качестве активаторов реакции, но положительный результат дало только УФ-облучение реакционной смеси – недавно разработанный способ конверсии β-карболинов в соответствующие фаскаплизины. Несмотря на то, что целевое соединение **51** было получено, его суммарный выход в пересчете на изатин составил 2%. Основные потери происходят на этапах восстановления оксима **46** до триптамина **48**, дальнейшем получении β-карболина **50** и финальной кватернизации, что связано, по-видимому, с наличием объемного *tert*-бутильного заместителя рядом с реакционным центром.

В связи с этим было решено в рамках данной синтетической схемы получить изомерный 7-*tert*-бутилфаскаплизин (**57**). Соединение **54** было получено по известным методикам и успешно восстановлено в триптамин **55**. Далее был получен β-карболин **56**, успешно кватернизованный при 220 °C в соответствующий фаскаплизин **57** (Рис. 19).

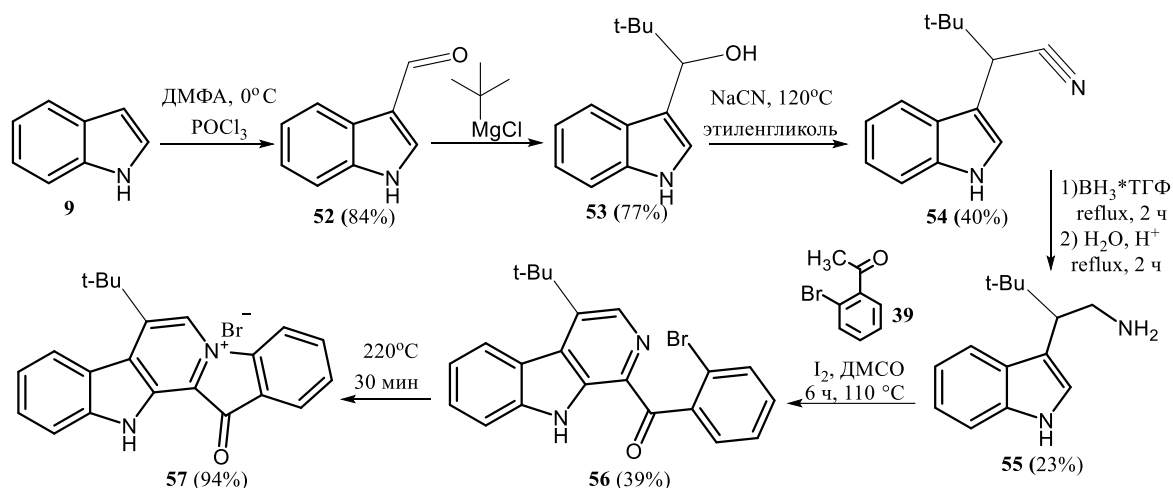


Рисунок 19 – Синтез 7-*tert*-бутилфаскаплизина (57)

В данном случае стадии получения триптамина,  $\beta$ -карболина и фаскаплизина дают хорошие выходы, что подтверждает высказанное предположение о влиянии стерического фактора в случае синтеза 6-*tert*-бутилфаскаплизина.

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 позволяет функционализировать центральный цикл нативного алкалоида, как и метод, основанный на использовании индиго, но отличается от последнего более высокими выходами и более простыми процедурами очистки и выделения промежуточных соединений.

По результатам данного блока были получены следующие соединения: 6-метил-, 6-фенил-, 6- и 7-*tert*-бутилфаскаплизины.

### 3.1 Биологическая активность полученных соединений

Так как первым соединением из семи, полученных в рамках данного исследования, являлся 7-фенилфаскаплизин (29), то было решено провести предварительную оценку биологической активности именно на нем. Для этого была изучена цитотоксическая эффективность соединения 29 на модели глиомы линии C6 *in vitro*. 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 перспек-

тивности проведения испытаний на всей линейке полученных производных фаскаплизина по центральному циклу.

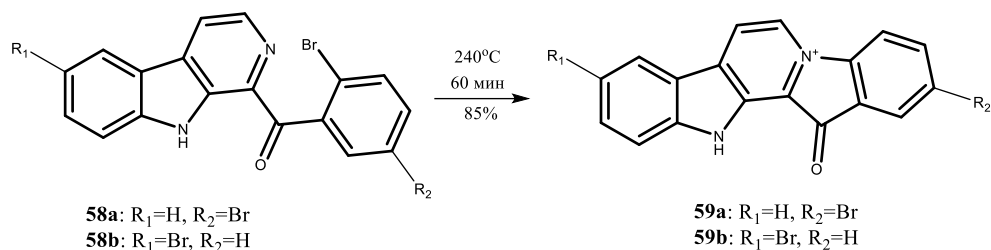


Рисунок 20 – Синтез 2-бром- (**59a**) и 9-бромфаскаплизина (**59b**)

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 (**60**) и 3,10-дибромфаскаплизин (**61**)), а также два их синтетических аналога: 2-бромфаскаплизин (**59a**) и 9-бромфаскаплизин (**59b**), содержащие заместители в боковых циклах фаскаплизина. Схема синтеза последних двух соединений приведена на Рисунке 20.

В качестве модельных систем были выбраны клетки рака предстательной железы человека с различной степенью злокачественности PC3, 22Rv1, DU145 и LNCaP, а также 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 1). В целом исследованные соединения проявили определенную селективность в отношении гормононезависимых клеток 22Rv1 и более низкую активность в отношении клеток PC-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, позволяющий 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 2).

Таблица 1 – Цитотоксичность некоторых производных фаскаплизина по циклу А, С или Е

№	Соединение	Цитотоксичность, IC <sub>50</sub> (мкМ), МТТ-тест							Индекс селективности
		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±0.005	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±2.50	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 зна-

чительному повышению цитотоксической активности в отношении раковых клеток по сравнению с активностью фаскаплизина. В то же время для 9-бромфаскаплизина (**59b**) и 3,10-дибромфаскаплизина (**61**) 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 окрашивания 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 2 – 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- <i>трет</i> -бутилфаскаплизин	0.47±0.11	G1	15.17±0.95
12	7- <i>трет</i> -бутилфаскаплизин	0.11±0.03	-	-

Далее сравнение активности производных фаскаплизина по циклу С продемонстрировало тенденцию к увеличению цитотоксичности в ряду заместите-

лей Me- < Et- < *t*-Bu- < Ph-. Более того, фенильные производные **29**, **41b** и 7-*трет*-бутилфаскаплизин **57** 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 1). Аналогичным образом цитотоксичность 7-метилфаскаплизина превышает цитотоксичность 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. Кроме того, все изученные соединения в концентрациях, близких к значениям IC<sub>50</sub>, индуцировали определенную фрагментацию ДНК. Однако корреляцию 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* (Таблица 3). Как следует из данных Таблицы 3, 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. Одновре-

менно с этим производное фаскаплизина **57**, содержащее *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 ведущей роли.

Таблица 3 – Значения  $EC_{50}$  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

## 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 faspaplysin 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-oxofaspaplysin, faspaplysin 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 faspaplysin 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 faspaplysin and its derivatives as potent anticancer agents // Mar. Drugs.- 2022.- Vol. 20.- No 3.- P. 185-208.

**Тезисы докладов**

1. А. В. Кантемиров. Разработка подхода к синтезу производных алкалоида фаскаплизина из индиго. Первый синтез алкалоида 6-оксофаскаплизина // Научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых учёных по естественным наукам. – Владивосток, 15–30 апреля 2015 г. – С. 406.
2. Е. В. Рыбинская, А. В. Кантемиров. Синтез некоторых производных фаскаплизина по циклу С // Научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых учёных по естественным наукам. – Владивосток, 15–30 апреля 2019 г. – С. 510
3. A. V. Kantemirov, E. V. Ribinskaya, M. E. Zhidkov. Syntheses of substituted at cycle C derivatives of marine alkaloid fascaplysin // Markovnikov Congress on Organic Chemistry. – Russia, Moscow-Kazan, 21-28 June 2019 г. – Book of abstracts. – P. 241.
4. А. В. Кантемиров, Е. В. Кантемирова, М. Е. Жидков. Синтез производных фаскаплизина по положению 6 // XVII Всероссийская школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии. – Владивосток, 07 – 10 сентября 2020 г. – Материалы конференции. – С. 15.
5. А. В. Кантемиров, Е. В. Кантемирова, М. Е. Жидков. Синтез и связь структура-активность производных фаскаплизина по циклу С // Первая всероссийская школа для молодых ученых по медицинской химии MedChemSchool. – Новосибирск, 4 – 9 июля 2021 г. – Сборник докладов. – С. 168.
6. А. В. Кантемиров, Н. А. Рамм, Е. В. Кантемирова, М. Е. Жидков. Синтез и активность 6- и 7-трет-бутилфаскаплизин // VIII Международный симпозиум "Химия и химическое образование" – Владивосток, 04 – 06 октября 2021 г. – Материалы конференции. – С. 15.