

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова
Сибирского отделения Российской академии наук
(НИОХ СО РАН)

На правах рукописи



Филимонов Александр Сергеевич

**Дизайн и синтез производных усниновой кислоты в качестве ингибиторов
тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2, ферментов репарации ДНК человека**

1.4.3. Органическая химия (химические науки)

1.4.16 Медицинская химия (химические науки)

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:
д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Новосибирск – 2024

Оглавление

Список используемых сокращений	3
Введение	4
1. Препаративные методы модификации усниновой кислоты (обзор литературы)	11
1.1 Введение	11
1.2 Восстановление карбонильных групп	14
1.3 Присоединение по $C^4=C^{4a}$ двойной связи.....	16
1.4 Модификация ацетильной группы кольца С.....	18
1.5 Модификация трикетонной системы кольца С путём конденсации с бинуклеофилами	23
1.6 Эфиры усниновой кислоты	29
1.7 Введение заместителя в положение C^{14}	36
1.8 Модификация кольца А.....	46
1.9 Заключение	47
3. Обсуждение результатов.....	49
3.1 Введение	49
3.2 Синтез ингибиторов TDP1 на основе усниновой кислоты	53
3.2.1 Синтез аналогов соединения 2a с вариацией линкера между тиазолом на основе усниновой кислоты и арильным заместителем	53
3.2.2 Синтез библиотеки производных усниновой кислоты, содержащих гидразонотиазольный фрагмент.....	59
3.2.3 Синтез аналогов соединения 3 с вариацией структуры заместителя в енаминовом фрагменте.....	64
3.2.4 Изучение реакции усниновой кислоты с аммиаком	67
3.2.5 Разработка подходов к синтезу енаминов на основе производного усниновой кислоты с тиазольным циклом.....	72
3.3 Синтез дуальных ингибиторов TDP1 и TDP2 на основе усниновой кислоты.....	74
3.3.1 Синтез сульфидов, сульфоксидов и сульфонов на основе усниновой кислоты.....	75
3.3.2 Синтез пиразолов на основе производных усниновой кислоты, содержащих гидразонотиазольный фрагмент	80
3.3.3 Ингибирующая активность гидразонотиазолов на основе усниновой кислоты в отношении TDP2	82
4. Экспериментальная часть	84
Результаты и выводы.....	130
Список литературы.....	131

Список используемых сокращений

- TDP1 – Tyrosyl-DNA phosphodiesterase (Тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1)
TDP2 – Tyrosyl-DNA phosphodiesterase (Тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 2)
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
РНК – рибонуклеиновая кислота
УВ – ультразвук
УФ – ультрафиолет
MW – микроволновое излучение
ЯМР – ядерный магнитный резонанс
MeOH – метанол
EtOH – этанол
IPA – изопропанол
MeCN – ацетонитрил
DMFA – диметилформамид
DMSO – диметилсульфоксид
ТГФ – тетрагидрофуран
NEt₃ – триэтиламин
EtOAc – этилацетат
AcOH – уксусная кислота
NaOAc – ацетат натрия
Me – метил
Et – этил
Ph – фенил
Bn – бензил
Alk – алкил
Cy – циклогексил
Ar – арил
ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
ИК₅₀ – концентрация вещества, необходимая для 50 % ингибирования тестовой реакции
РСА – рентгено-структурный анализ

Введение

Актуальность и степень разработанности темы исследования.

Поиск ингибиторов ферментов системы репарации ДНК относится к перспективным направлениям современной фармакологии и является одним из путей увеличения эффективности терапии онкологических заболеваний, особенно для борьбы с лекарственно-устойчивыми опухолями. Перспективными мишенями для лечения онкологических заболеваний являются тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 и 2 (TDP1 и TDP2), которые играют ключевую роль в удалении повреждений ДНК, образующихся при ингибировании топоизомераз 1 и 2, соответственно, клинически важными противоопухолевыми препаратами (иринотекан, топотекан, этопозид, доксорубин), а также задействованы в удалении повреждений ДНК, вызванных другими противоопухолевыми препаратами [1, 2, 3].

Спектр описанных в литературе ингибиторов TDP1 широк [4], включает синтетические, природные и полусинтетические соединения, но эффективность большинства из них невысока, как правило, полуингибирующая TDP1 концентрация варьируется в микромолярном диапазоне. Хотя зачастую изученные соединения подавляют активность TDP1 при низких микромолярных или субмикромолярных концентрациях, некоторые классы соединений были исключены из дальнейших исследований и разработок из-за отсутствия синергического или сенсibiliзирующего эффекта или из-за высокой цитотоксичности. Только несколько соединений были протестированы на животных моделях, и для еще меньшего количества веществ доказано, что они сенсibiliзируют опухоли у мышей к противораковому препарату - топотекану. Поэтому поиск новых ингибиторов TDP1 остается актуальной исследовательской целью.

Наиболее эффективные ингибиторы TDP1 ($IC_{50} = 0,026-1$ мкМ) были обнаружены среди производных вторичного метаболита лишайников усниновой кислоты – соединения **2a-5** (рис. 1), сенсibiliзирующее действие которых в сочетании с ингибитором топоизомеразы 1, топотеканом подтверждено в экспериментах на культурах клеток и на животных моделях [4]. Важно, что для производных **2a** и **3** впервые в мировой практике была продемонстрирована способность значительно усиливать противоопухолевый и анти-метастатический эффект топотекана *in vivo*. Опубликованные данные безусловно свидетельствуют о высоком потенциале усниновой кислоты как платформы для создания высокоэффективных ингибиторов TDP1, однако, не в достаточной степени раскрывают

влияние структуры отдельных частей молекул ингибиторов как на ингибирующую, так и на собственную цитотоксическую активность производных.

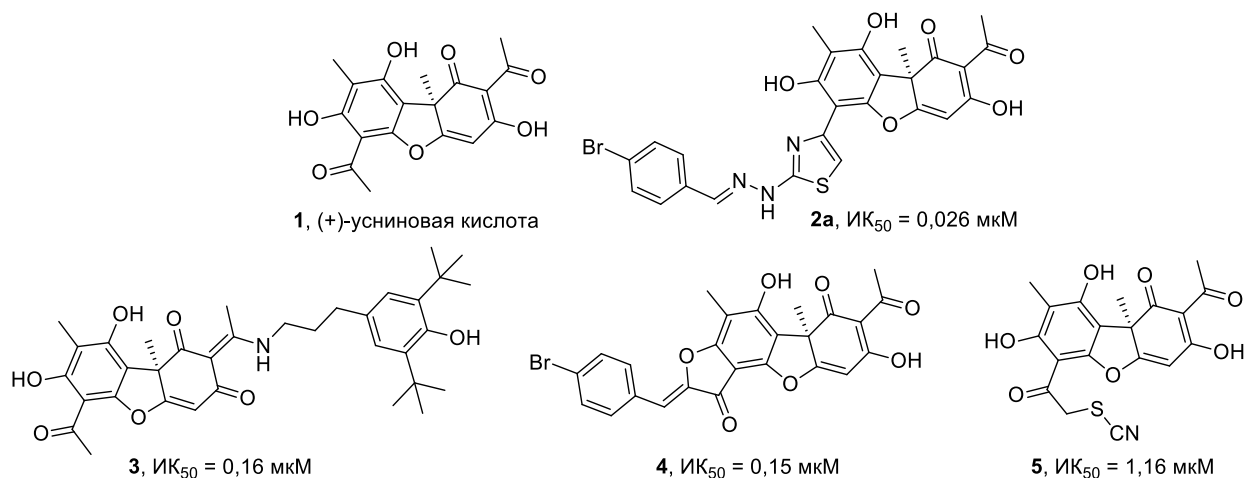


Рисунок 1. Ингибиторы TDP1 на основе усниновой кислоты

Крайне немногочисленные известные ингибиторы TDP2 обладают или весьма умеренной активностью, или неудовлетворительными фармакокинетическими характеристиками, что делает необходимым поиск ингибиторов новых структурных типов [5]. Кроме того, недавно обнаруженная способность TDP1 и TDP2 брать на себя функции друг друга [2] делает высокоперспективным совместное применение селективных ингибиторов этих двух ферментов или создание агентов, способных одновременно ингибировать TDP1 и TDP2. На данный момент в литературе отсутствуют данные об ингибиторах TDP 2 на основе усниновой кислоты.

Цель исследования

Синтез новых производных усниновой кислоты в качестве потенциальных ингибиторов ферментов репарации ДНК человека TDP1 и TDP2 и изучение влияния структурных модификаций на ингибирующую активность и цитотоксичность получаемых производных.

Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

- 1) С учётом литературных данных о реакционной способности усниновой кислоты и её производных, а также на основе анализа тематической литературы по ингибиторам TDP1 и TDP2 разработать дизайн новых производных усниновой кислоты - аналогов известных ингибиторов TDP1 и потенциальных ингибиторов TDP1 и/или TDP2.
- 2) Разработать подходы к синтезу новых производных усниновой кислоты и осуществить их синтез.

- 3) Осуществить анализ данных по ингибирующей активности в отношении TDP1 и TDP2, а также цитотоксичности новых производных усниновой кислоты.

Научная новизна

Синтезирован ряд тиазолов на основе усниновой кислоты, содержащих амидный или карбамидный заместитель в тиазольном кольце. Показано, что такие соединения являются менее эффективными ингибиторами TDP1 по сравнению с аналогами с гидразоновым заместителем.

Разработана новая эффективная методика синтеза гидразонотиазолов на основе усниновой кислоты, позволяющая без использования колоночной хроматографии получать целевые продукты с высокими выходами и чистотой более 95%. С использованием данного подхода синтезирован широкий ряд новых замещенных гидразонотиазолов. Среди ряда новых производных обнаружены новые более эффективные и низкотоксичные ингибиторы TDP1, содержащие в своем составе терпеновый заместитель в гидразоновом фрагменте молекулы и действующие в наномолярном диапазоне концентраций полуингибирования.

Исходя из монотерпеновых аминов, был синтезирован ряд новых енаминов на основе усниновой кислоты. Показано, что енамины с терпеновыми заместителями проявляют ингибирующую TDP1 активность в субмикромольном диапазоне концентраций, что сопоставимо с активностью известного соединения-лидера в данном классе веществ. Показано, что ингибирующая активность по отношению к TDP1 данного типа производных несущественно зависит от структуры терпенового заместителя.

Разработан новый подход к синтезу производных усниновой кислоты, содержащих енаминную группу при C¹ атоме углерода.

Предложен подход к синтезу, а также синтезированы первые представители нового класса производных усниновой кислоты, модифицированные как по кольцу А (гидразонотиазольный заместитель), так и по кольцу С (енаминная группа или аннелированный пиразольный цикл). Полученные соединения ингибируют TDP1 в субмикромольном диапазоне концентраций полуингибирования. Показано, что данные производные проявляют значительно меньший цитотоксический эффект по сравнению с эффектом гидразонотиазолов с немодифицированным кольцом С дибензофуранового остова.

Предложен дизайн и осуществлен синтез ряда новых дуальных ингибиторов TDP1 и TDP2. В качестве потенциальных ингибиторов TDP2 синтезирован ряд новых сульфидов, сульфоксидов, а также сульфонов на основе усниновой кислоты, содержащих гетероциклический заместитель при атоме серы. Выявлены дуальные ингибиторы TDP1 и

TDP2 в ряду производных усниновой кислоты класса гидразонотиазов и производных, сочетающих гидразонотиазольный фрагмент с конденсированным с кольцом С пиразольным циклом.

Выявлены структурные модификации усниновой кислоты, ведущие к снижению собственной цитотоксичности соединений.

Теоретическая и практическая значимость.

Разработаны синтетические подходы к синтезу ранее не известных классов производных усниновой кислоты, с использованием которых могут быть получены библиотеки новых биологически активных соединений.

Выявлены закономерности взаимосвязи структуры производных усниновой кислоты с их ингибирующей активностью в отношении тирозил_ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2, а также цитотоксичностью соединений, что позволит прогнозировать и направленно менять эти свойства в будущих производных усниновой кислоты и её аналогов. Обнаружены высокоэффективные низкотоксичные ингибиторы TDP1, проявляющие активность в концентрациях вплоть до 10 нМ, усиливающие цитотоксический эффект топотекана в 2-6 раз. Для (R,E)-8-(2-(2-(4-бромбензилиден)гидразинил)тиазол-4-ил)-1-(4-бромфенил)-5,7-дигидрокси-3,4а,6-триметил-1,4а-дигидро-4H-бензофуоро[3,2-f]индазол-4-она противоопухолевое и антиметастатическое действие при совместном применении с топотеканом было подтверждено в экспериментах *in vivo*, что указывает на перспективность данного направления исследования.

Впервые синтезированы производные усниновой кислоты, являющиеся эффективными дуальными ингибиторами TDP1 и TDP2.

Предложены синтетические подходы, приводящие к снижению цитотоксичности производных усниновой кислоты.

Методология и методы исследования.

В ходе данной работы проводился анализ и обобщение имеющихся и полученных данных по синтезу производных усниновой кислоты, структурам известных ингибиторов TDP1 и TDP2 и зависимости «структура-активность» для ингибиторов TDP1 и TDP2 на основе усниновой кислоты. В настоящей работе использовались существующие литературные методики синтеза целевых соединений, а также разработаны новые оригинальные методики с использованием классических методов органического синтеза. Выделение и очистка продуктов осуществлялась методами экстракции, осаждения, колоночной хроматографии. Структуры полученных соединений подтверждали физико-химическими методами анализа: ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия высокого

разрешения, элементный анализ, определение температуры плавления, рентгеноструктурный анализ.

Положения, выносимые на защиту

- 1) Методы синтеза тиазолов на основе усниновой кислоты, содержащих амидный или карбамидный заместитель в тиазольном кольце.
- 2) Препаративно удобная методика синтеза гидразонотиазолов на основе усниновой кислоты.
- 3) Синтез енаминов усниновой кислоты с монотерпеновыми заместителями.
- 4) Метод синтеза производных усниновой кислоты, содержащих енаминовую группу при C1 атоме углерода.
- 5) Синтез нового класса производных усниновой кислоты, модифицированных как по кольцу А (гидразонотиазольный заместитель), так и по кольцу С (с формированием енаминового или аннелированного пиразольного фрагментов).
- 6) Изучение зависимости «структура-ингибирующая TDP1/TDP2 активность/цитотоксичность» для полученных на основе усниновой кислоты производных.

Личный вклад соискателя заключался в поиске, анализе и обобщении литературных данных по теме диссертации. Автор принимал участие в разработке плана исследования, им или под его руководством осуществлены все химические эксперименты, выделение, очистка и подготовка соединений к физико-химическим методам анализа и биологическим испытаниям. Автор принимал участие в обработке и обсуждении полученных данных, а также осуществлял подготовку материалов к публикации в научных журналах, представлял доклады и отчеты по теме диссертации.

Степень достоверности обеспечена тщательностью проведения эксперимента и применением физико-химических методов исследования. Строение новых соединений доказано методами ^1H и ^{13}C ЯМР, масс-спектрометрии высокого разрешения, элементного анализа, а также методами рентгеноструктурного анализа.

Структура диссертации.

Работа изложена на 158 страницах машинописного текста, содержит 86 схем, 14 рисунков и 31 таблиц. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы (139 литературных источников) и 9 приложений (стр. 146-158).

Апробация работы.

Результаты работы докладывались на следующих конференциях: Молодёжной научной школе-конференции "Актуальные проблемы органической химии" 2018, МОБИ-ХимФарма2018; Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2018»; Научной конференции, посвященной 55-летию ТИБОХ ДВО РАН и 90-летию со дня рождения его основателя академика Г.Б. Елякова; 4-ой Российской Конференции по Медицинской Химии «МедХим-Россия 2019»; Первой всероссийской школе по медицинской химии для молодых ученых; 7th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry; Всероссийской молодежной научной школе-конференции "Актуальные проблемы органической химии" 2022 СТОС-2022; 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021»; Всероссийской конференции «Синтетическая биология и биофармацевтика – 2022»; VII Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 50-летию академической науки на Урале Техническая химия; Всероссийской конференции с международным участием «Идеи и наследие А.Е. Фаворского в органической химии» 2023; Всероссийской конференции «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» 2023; Всероссийской молодежной научной школе-конференции "Актуальные проблемы органической химии" 2024.

По теме работы опубликованы 8 статей в рецензируемых научных журналах, а также 17 тезисов докладов на российских и международных конференциях. Результаты работы докладывались на конференциях в виде устных (10) и стендовых (7) докладов.

Благодарности

Автор выражает глубокую признательность своему научному руководителю д.х.н. Лузине Ольге Анатольевне за постановку задач исследования, помощь в их реализации, а также помощь в написании диссертационной работы и всестороннюю поддержку. Автор благодарит всех сотрудников Лаборатории физиологически активных веществ под руководством д.х.н., чл.-корр. РАН, проф. Салахутдинова Н.Ф. и Лаборатории направленных трансформаций природных соединений под руководством к.х.н. Суслова Е.В. за предоставление необходимых реактивов и дружественную атмосферу.

Автор благодарит всех сотрудников центра спектральных исследований НИОХ СО РАН за регистрацию и предоставление физико-химических экспериментальных данных. Также особую признательность соискатель хочет выразить д.х.н. Гатилову Ю.В. (НИОХ СО РАН) за проведение рентгено-структурного анализа, сотрудникам Лаборатории биоорганической химии ферментов ИХБФМ СО РАН, под руководством д.х.н., акад. РАН,

проф. Лаврик О. И. за определение ингибирующей активности синтезированных соединений по отношению к TDP1 и их цитотоксичности, к.б.н. Поповой Н.А. и её группу (ИЦиГ) за проведение исследований *in vivo*. Замещённые по положению 3 4-метоксибензальдегиды были предоставлены нам к.х.н. Хачатряном С. Х., заведующим лабораторией института химических реактивов и особо чистых химических веществ Национального исследовательского центра "Курчатовский институт". Терпеновые альдегиды и амины были предоставлены к.х.н. Можайцевым Е. С.

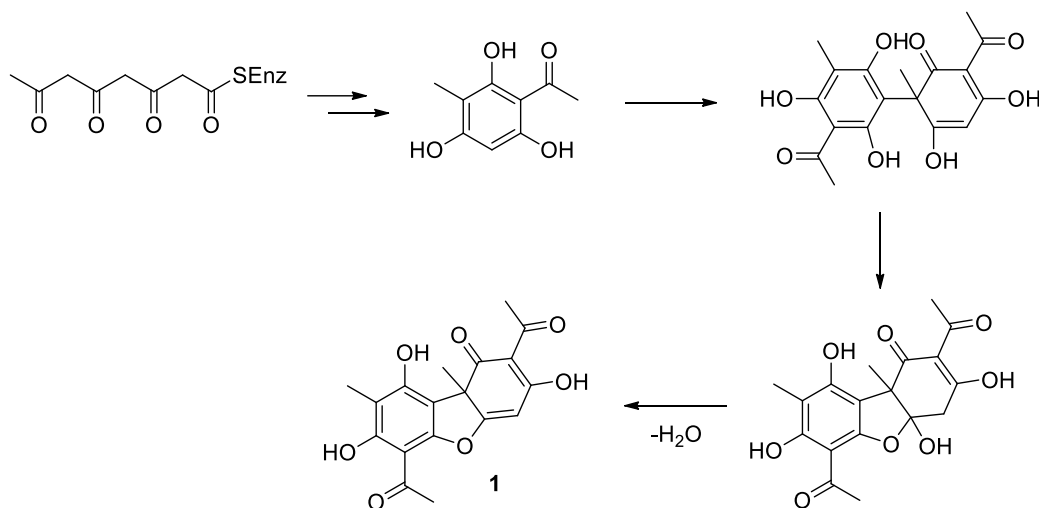


Схема 1

В молекуле присутствуют гидроксильные группы, которые образуют сильные внутримолекулярные водородные связи с соседними карбонильными группами. Константы диссоциации гидроксильных групп усниновой кислоты: $pK_{a1} \approx 4.4$ (OH^3), $pK_{a2} \approx 8.8$ (OH^7), $pK_{a3} \approx 10.7$ (OH^9) [11]. Наличие гидроксильной группы OH^3 с достаточно низким значением pK_a , а также возможность делокализации полученного при депротонировании заряда на соседних карбонильных группах обуславливает протоннофорные свойства усниновой кислоты, что может являться одним из механизмов цитотоксичности этого соединения [12, 13]. Таким образом, модификации, влияющие на кислотные свойства гидроксильных групп, могут привести к снижению собственной цитотоксичности получаемых производных.

Авторы работы [14] провели квантовохимические расчёты стабильности возможных таутомеров. В результате этой работы было показано, что возможно существование 3 стабильных таутомеров усниновой кислоты **1a-в**, из которых наиболее стабильным является **1a** (схема 2). Однако, в более поздней работе были проведены расчёты методом DFT. Оказалось, что таутомеры **1a** и **1б** практически изоэнергетичны. Тем не менее, таутомер **1a** назван авторами работы более устойчивым. Хотя энергетический обмен взаимного перехода **1a** в **1б** составляет всего $0.78 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$, следовательно, этот переход может осуществляться при комнатной температуре. Авторы другой работы [15] отмечают, что соотношение таутомеров **1a:1б** составляет 1:1, о чем свидетельствует исследования изотопного эффекта в методах ЯМР. При этом замещение, проводимое по OH^9 гидроксильной группе, может повлиять на соотношение таутомерных форм.

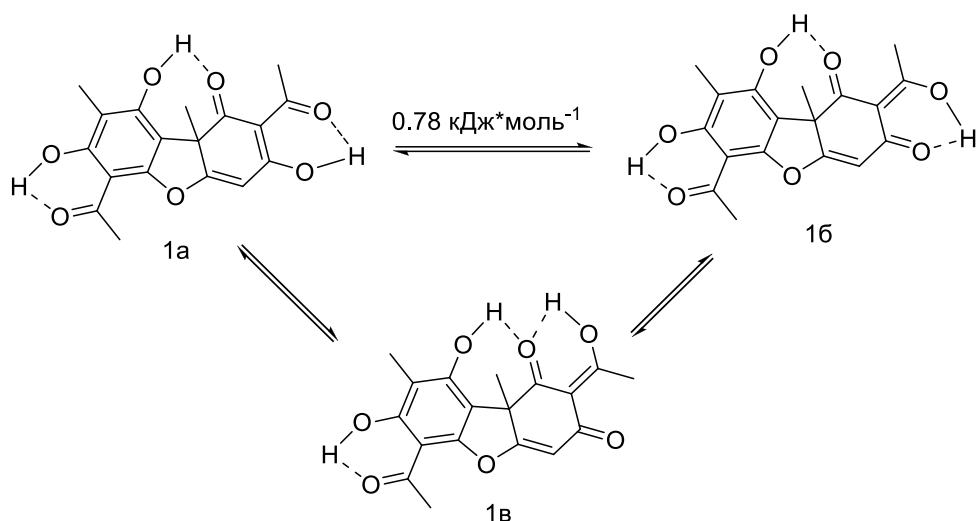


Схема 2 Наиболее устойчивые таутомерные формы усниновой кислоты

Исследования, проводимые на протяжении последних десятилетий, свидетельствуют о том, что направленный синтез производных усниновой кислоты позволяет получать различные полициклические соединения, обладающие мощной биологической активностью по отношению к ряду серьезных заболеваний, таких как малярия, грипп и туберкулез [16, 17, 18].

В данном обзоре реакционная способность усниновой кислоты рассмотрена с использованием подхода с выделением отдельных реакционноспособных групп или фрагментов молекулы, которые могут быть модифицированы. В частности, в структуре этого соединения дибензофуранового типа присутствуют ацетильная группа кольца А, гидроксильные группы кольца А, флороглюцин, в качестве фрагмента с особыми химическими свойствами, поляризованная двойная связь $C^4=C^{4a}$ и трикетонная система кольца С (рис. 3). Модификация каждого из этих фрагментов может приводить к новым соединениям с изменёнными физико-химическими свойствами и реакционной способностью, и, зачастую, значительному усилению биологической активности либо появлению новых фармакологических свойств.

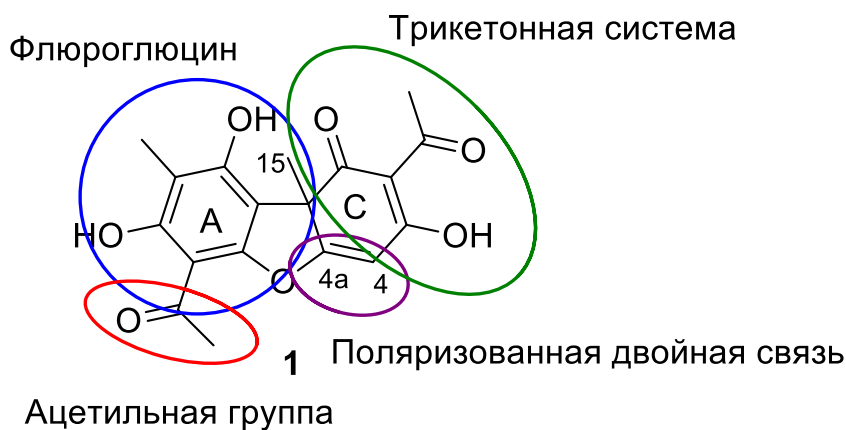


Рисунок 3

В диссертации сделан акцент на исследованиях, посвященных синтезу новых производных на основе усниновой кислоты, опубликованных после 2012 года, с привлечением и более ранних публикаций, более подробный обзор которых представлен в публикации [10].

1.2 Восстановление карбонильных групп

В молекуле усниновой кислоты в явном виде присутствуют три карбонильные группы, которые могут быть модифицированы. Одним из способов модификации может являться восстановление их до спиртовой группы.

Авторы работы [19] показали, что при реакции усниновой кислоты с боргидридом натрия в метаноле происходит восстановление ацетильной группы кольца А – соединение **6** (схема 3). Производное **6** было выделено в виде смеси диастереомеров с выходом 52%. Однако, в другой более поздней работе, было показано, что при введении в реакцию усниновой кислоты с боргидридом натрия в ТГФ при пониженной температуре -20°C восстанавливаются только карбонильные группы $\text{C}^1=\text{O}$ и $\text{C}^{11}=\text{O}$ трикетонной системы с образованием продуктов **7** и **8** с соотношением 4:5 с общим выходом 57% [20]. Вероятно, выбор растворителя играет важную роль в направлении данной реакции. При этом восстановление карбонильной группы $\text{C}^1=\text{O}$ протекает стереоселективно с *цис*-расположением образующейся гидроксильной группы относительно ангулярной метильной группы C^{15} .

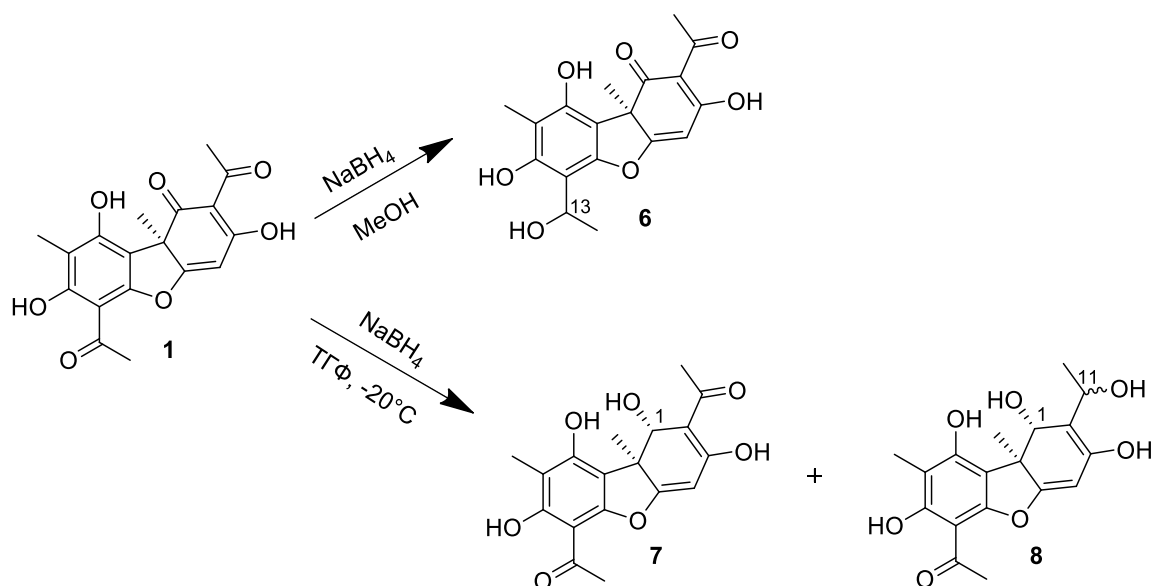


Схема 3

Авторы той же работы [20] показали различие в реакционной способности карбонильных групп на примере восстановления производного **9**, в котором карбонильная группа $C^{11}=O$ была намеренно модифицирована, и таким образом выведена из реакции, путем образования пиразольного цикла (схема 4). Реакцию проводили с боргидридом натрия в ТГФ. В этом случае восстановление карбонильных групп $C^1=O$ и $C^{13}=O$ происходило последовательно. В диапазоне температур от -40 до 0°C стереоселективно восстанавливалась $C^1=O$ карбонильная группа (соединение **10**), а при повышении температуры до 50°C происходило восстановление $C^{13}=O$ карбонильной группы с образованием смеси диастереомеров (соединение **11**).

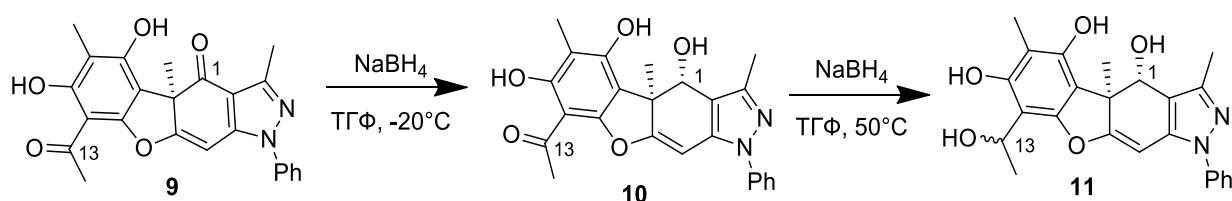


Схема 4

Важно отметить высокую подвижность получаемой при C^{13} гидроксильной группы. Авторы работы [21] отмечают, что данная группа легко замещается рядом алифатических спиртов в присутствии кислоты. При этом, при наличии метильного заместителя OH^9 фенольной группы, такая реакция протекает в условиях длительного нагревания. Известно, что образование в ходе подобных реакций *n*-хинонметидной частицы протекает легче, чем образование *o*-метидхиноидной частицы [22]. Исходя из чего авторы заключили, что наиболее вероятным механизмом такой реакции в случае производных усниновой кислоты

может служить образование частиц **12** и **15**, которые затем реагирует с молекулой спирта (схема 5).

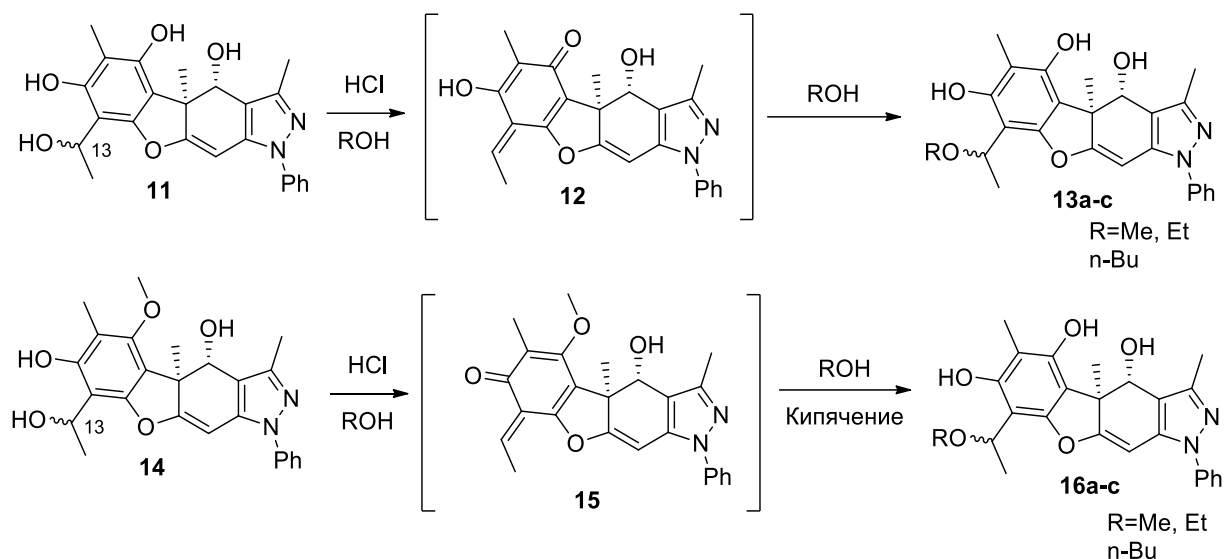


Схема 5

1.3 Присоединение по $C^4=C^{4a}$ двойной связи

В литературе известно всего несколько примеров реакций усниновой кислоты с участием двойной связи $C^4=C^{4a}$. Этими реакциями являются гидрирование и реакция присоединения спиртов.

Данная двойная связь восстанавливается водородом в присутствии катализатора – палладий на активированном угле, при атмосферном давлении. Такая реакция была продемонстрирована авторами работ [23, 24]. Взаимодействие усниновой кислоты с водородом протекает при атмосферном давлении (схема 6). Реакция проходит количественно и стереоселективно: атом водорода находится в *цис*-положении к метильной группе C^{15} .

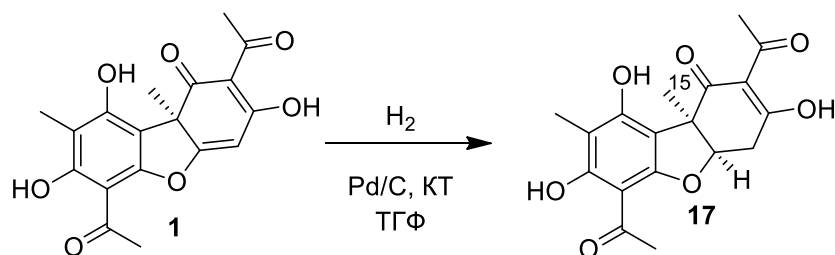


Схема 6

Присоединение метанола по $C^4=C^{4a}$ связи может протекать в присутствии кислоты. Sassa T. и др. показали, что кипячение усниновой кислоты **1** в метаноле, содержащем 15%

HCl, приводит к образованию соединения **18** с выходом 23% при конверсии в 60% (схема 7) [25]. Введение заместителя селективно в C^{4a} положение объясняется поляризованностью двойной связи, и происходит за счет наличия при C^{4a} донора по мезомерному эффекту – атома кислорода, а также за счёт наличия акцепторной сопряженной с двойной связью трикетонной системы. Конфигурация метоксильной группы представлена авторами работы как *цис*- по отношению к метильной группе C¹⁵. При этом в ходе реакции происходит перегруппировка цикла A с образованием изомерного соединению **18** производного изоусниновой кислоты **19** с выходом 6%. В недавнем исследовании структуры производных **18** и **19** были подтверждены как методами двумерной ЯМР-спектроскопии, так и РСА [26]. *Цис*-ориентация метокси-группы, как и наличие продукта с изоусниновым остовом, может быть объяснена раскрытием фуранового цикла и последующим закрытием путем реакции с одной из фенольных групп OH⁷ или OH⁹. В этом случае атака атома кислорода фенольной группы протекает с обратной стороны от метильной группы C¹⁵, так как она создает пространственное затруднение со своей стороны циклического фрагмента.

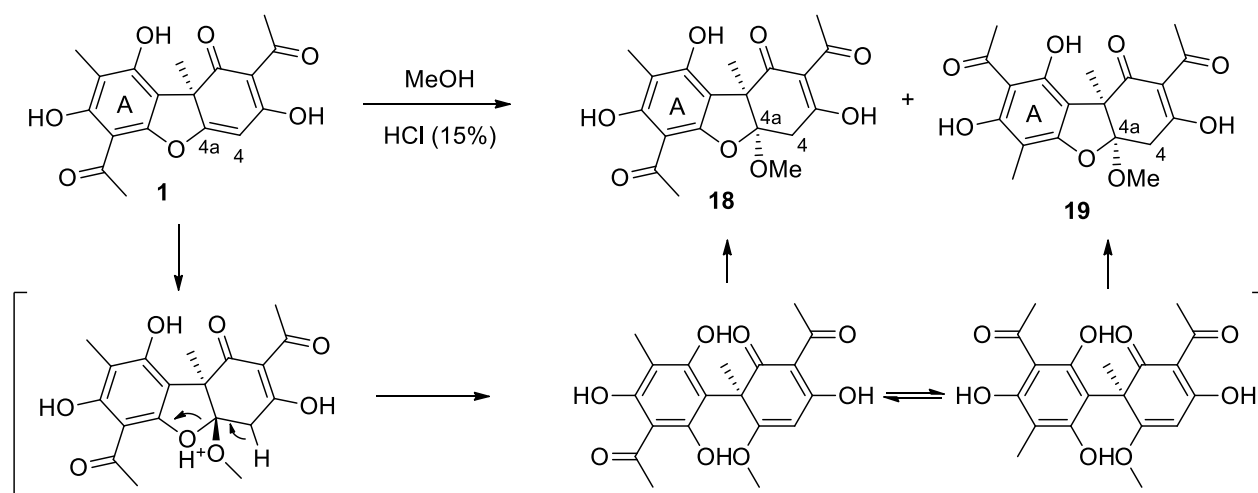


Схема 7

Авторами работы [27] было показано, что изоксазол на основе усниновой кислоты **20** (схема 8) может присоединять метанол по двойной связи C⁴=C^{4a}. При выдерживании данного производного в метанольном растворе гидроксида калия 20% при лёгком нагреве происходит образование изомеров **21** и **22**. Реакция проходит с выходом 60%, причём соотношение диастереомеров **21** и **22** - 1:4. При этом авторы не сообщают о продуктах, содержащих остов изоусниновой кислоты, аналогичных соединению **19**. Вероятно в таких условиях раскрытия фуранового цикла не происходит, что и может объяснить преобладание соединения **22** в смеси продуктов реакции.

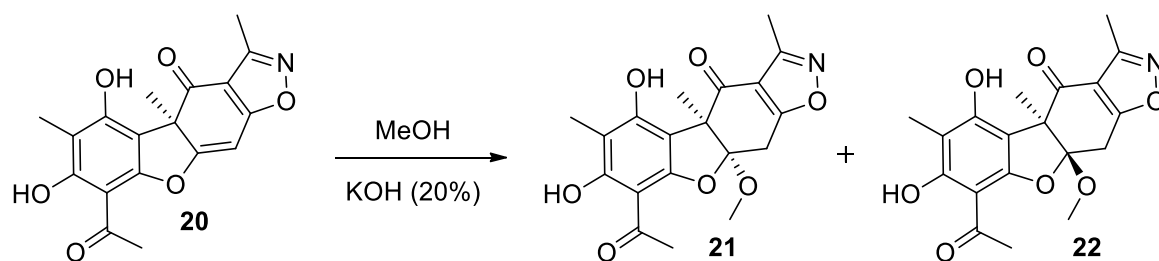


Схема 8

1.4 Модификация ацетильной группы кольца С

Одним из наиболее распространённых и изученных производных усниновой кислоты являются енамины на её основе с общей структурной формулой **23** (схема 9) [28, 29, 30, 31, 32, 33]. Такие производные могут быть получены при реакции усниновой кислоты с различными первичными аминами как ароматическими, так и алифатическими. Реакция протекает региоселективно по $C^{11}=O$ карбонильной группе. Стандартные условия реакции включали кипячение эквимольной смеси амина и усниновой кислоты в этиловом/метиловом спирте в течение 1,5-4 часов.

В ранних работах, посвященных изучению реакции усниновой кислоты с аминами, полученные соединения трактовали как производные иминов [34, 35, 36, 37, 38, 39]. Однако, авторы более поздних работ описывают аналогичные соединения как енаминовые производные [40, 41, 42]. Данный факт подтверждался методом РСА для ряда производных, а также наличием расщепления сигнала протона группы NH на протонах соседней метиленовой группы заместителя R (при наличии) в ПМР спектрах енаминов **23**.

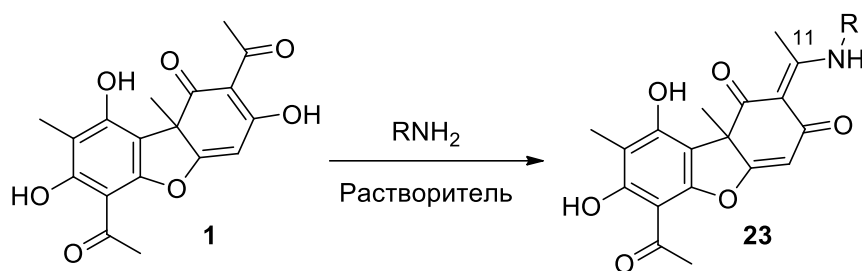


Схема 9

При использовании в реакции более чем двукратного избытка амина происходит аминирование и карбонильной группы кольца А с образованием иминового фрагмента (соединение **24** и **25**, схема 10) [41]. Выход продуктов реакции составил 20-22%. По данным авторов этой работы с карбонильной группой $C^{13}=O$ реагируют исключительно алифатические амины.

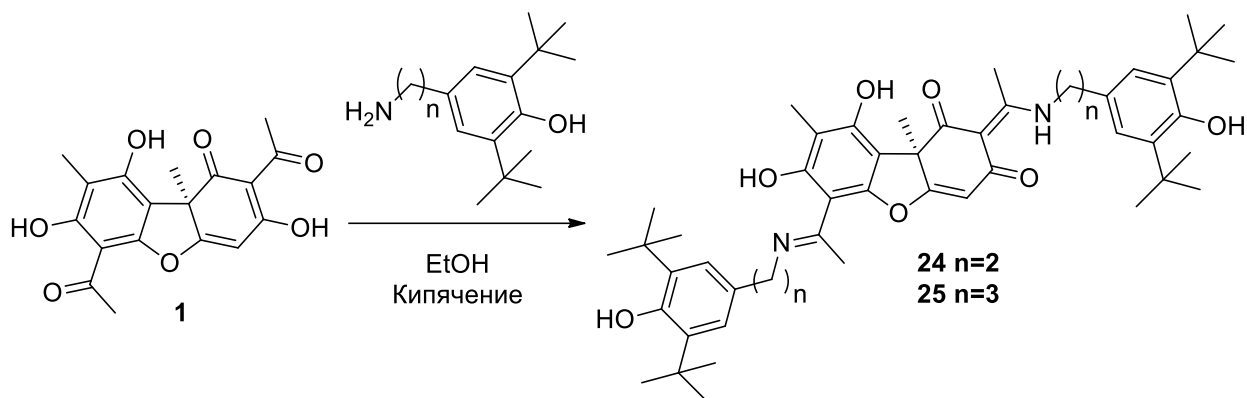


Схема 10

Отмечается, что восстановление связи $C^4=C^{4a}$ в структуре усниновой кислоты не отражается на ее способности вступать в конденсацию с аминами, а также на региоселективности данной реакции [40]. В результате реакции соединения **17** с *o*-фенилендиамином образуется енамин **26** с количественным выходом (схема 11).

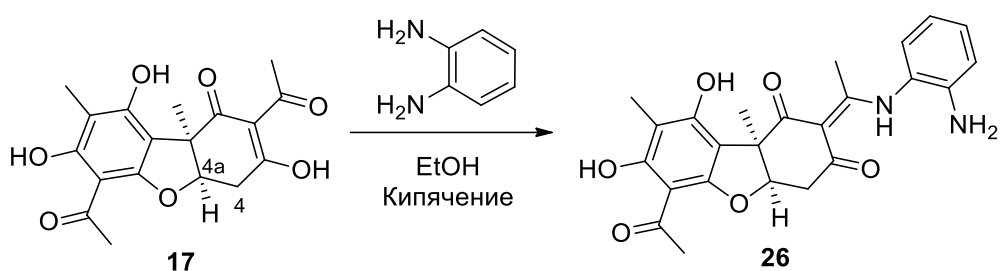


Схема 11

Особое внимание уделяется реакциям усниновой кислоты с α -аминокислотами. Помимо того, что такая модификация может значительно увеличить биологическую активность получаемых соединений, а также растворимость в водных средах, в структуру продукта вводится карбоксильная группа, которая затем может быть модифицирована. Однако в отличие от первичных аминов, аминокислоты вступают в реакцию с усниновой кислотой только в основных условиях. Авторы работы [43] показали, что в данном случае реакция протекает в узком интервале pH=9-10 в водно-этанольном (1:1) растворе в присутствии гидроксида калия при кипячении. Так, например, был получен продукт реакции с метионином **27a** с выходом 17 % (схема 12). В более поздних работах, проводимых группой Verrota L. и др., было показано, что для успешного протекания реакции усниновой кислоты с широким рядом α -аминокислот достаточно использовать два эквивалента триэтиламина в качестве основания [44, 45]. Продукты реакции с метионином и триптамином – соединения **27a,b** были получены с высокими выходами 79 и 86% соответственно (схема 12).

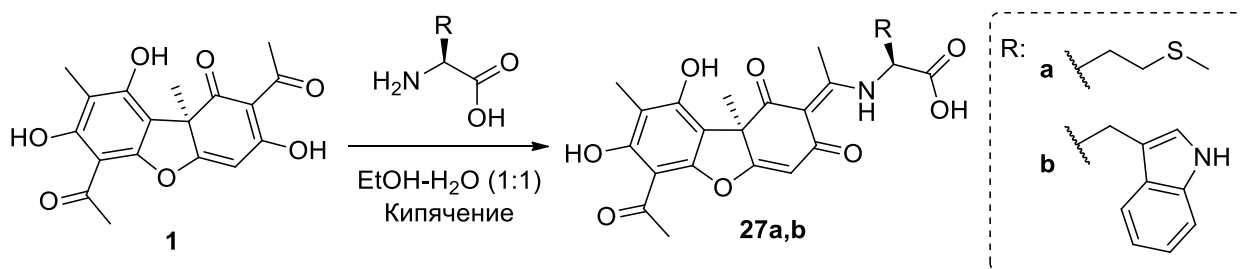


Схема 12

При введении усниновой кислоты **1** в реакцию с полиаминами могут получены димерные продукты. В данном случае реакция проходит по C¹¹ карбонильным атомам углерода двух молекул усниновой кислоты **1**. Например, авторы работы [46] провели реакцию усниновой кислоты **1** с этилендиамином в соотношении 2:1 при кипячении в смеси ТГФ-EtOH (10:3). В результате реакции образовался димерный продукт **28** с высоким выходом 84%. Такой димер склонен к образованию комплексов с некоторыми переходными металлами, например, с медью или никелем (схема 13).

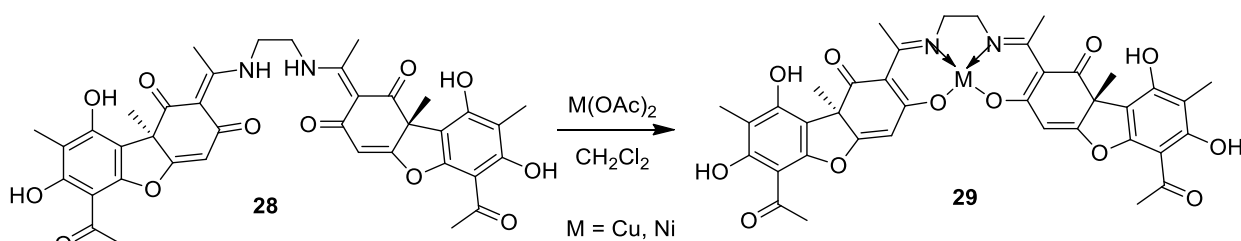


Схема 13

Соединения такого строения также могут являться молекулярными пинцетамми. Авторы работы [47] синтезировали диамин **30** по реакции усниновой кислоты с 1,2-трансдиаминоциклогексаном при кипячении в ТГФ-EtOH (1:4) с выходом 90% (схема 14). Расстояния между плоскостями дибензофурановых остовов усниновой кислоты в такой молекуле 7.486 Å, по данным РСА. Такое соединение способно образовывать комплексы с ароматическими системами за счёт π-π-стэкинг-взаимодействия.

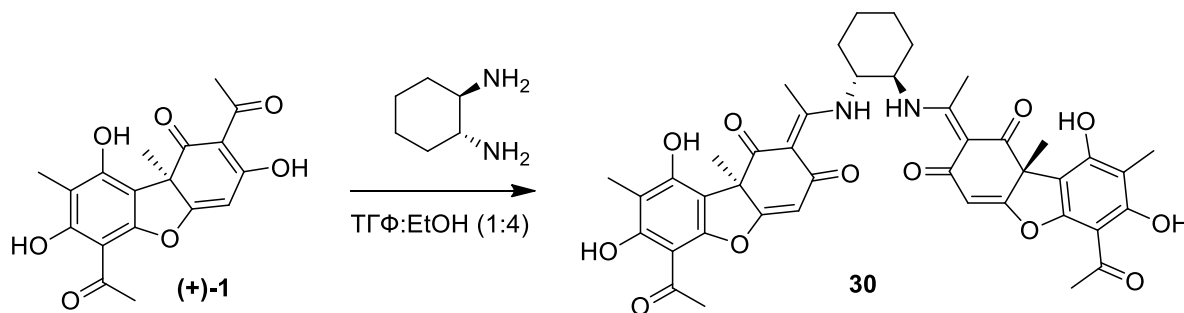


Схема 14

Реакция с диаминами может протекать и без образования димеров. Авторы работы [48] исследовали реакцию усниновой кислоты с алифатическими линейными

полиаминами. Для того, чтобы избежать образования димеров, авторы на первом этапе присоединяли амины одной аминогруппой к полимерной подложке, проводили реакцию с усниновой кислотой (+)-**1** в системе ТГФ:EtOH (1:1) при нагревании и затем снимали продукты реакции обработкой трифторуксусной кислотой в хлористом метиле. В результате была получена линейка енаминов **31** и **32** (рис. 4) с общими выходами 17-50%.

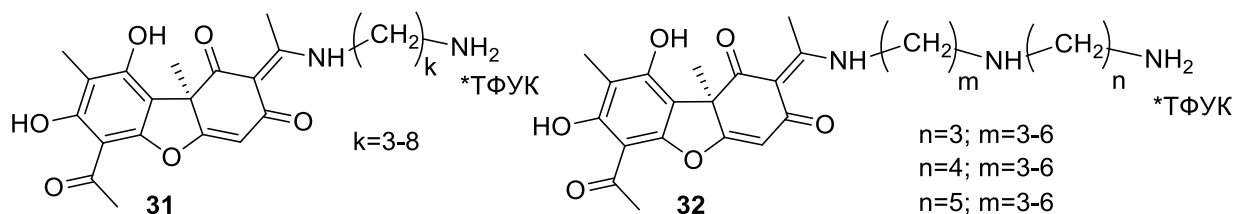


Рисунок 4

Альтернативным вариантом защиты одной из концевых аминогрупп является применение Вос-защиты. В работе [42] авторы таким образом получили линейку гидрохлоридов енаминов **33a-d** (рис. 4) с общими выходами 12-55%, что сопоставимо с выше использованным методом. Вос-защита снималась под действием 2,4 N HCl в этилацетате.

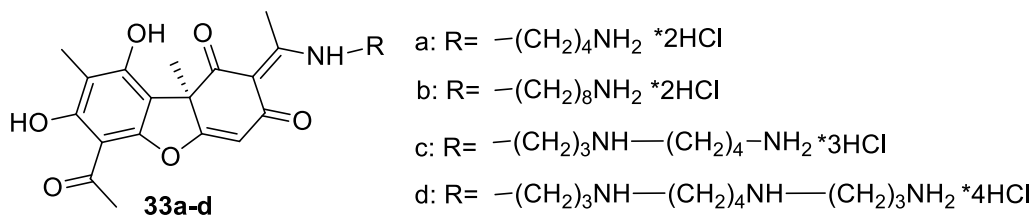


Рисунок 5

Исходя из подобных структур могут быть получены четвертичные аммонийные соли. Авторами работ [41, 49] была проведена реакция алкилирования метилиодидом и этилбромидом енаминов **34**, в которых второй атом азота заместителя является третичным (схема 15). Соединения **35a,b** выделены с выходами 42-88% после перекристаллизации. Стоит отметить, что в ходе данной реакции алкилируется только атом азота, в то время как фенольные группы остаются немодифицированными.

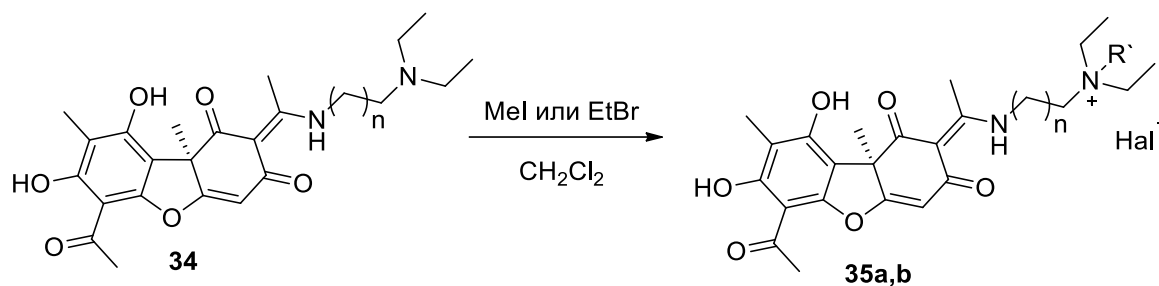


Схема 15

Помимо реакций с различными аминами, ацетильная группа кольца С усниновой кислоты может взаимодействовать и с другими N-нуклеофилами, а именно гидразинами. При этом реакция с гидразинами, в которых нуклеофильность одного из атомов азота снижена за счёт наличия акцепторного заместителя, приводит к соответствующим гидразонам. Как было показано авторами работы [50], реакция с *para*-нитро или *ortho-para*-динитрозамещёнными фенилгидразинами в этаноле при кипячении приводит к образованию продуктов общей структуры **36** (схема 16). Реакция, как и в случае аминов, протекает по $\text{C}^{11}=\text{O}$ карбонильной группе. Согласно данным спектров ЯМР ^1H и ^{13}C соединения **36** существуют в виде гидразонов, в отличие от енаминов на основе усниновой кислоты.

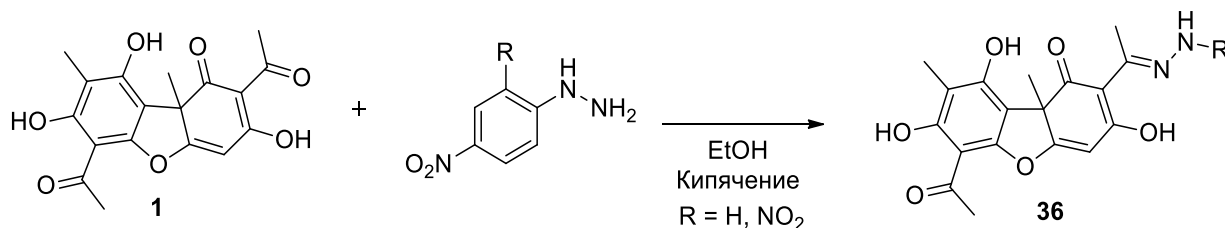


Схема 16

Аналогичным образом протекает реакция с ацилгидразинами и тиосемикарбазидом [51]. Таким образом авторы работы получили ряд гидразонов **37a-d** и тиосемикарбазон **38** (рис. 5). Полученные соединения были использованы в качестве тридентатных лигандов для получения комплексов с Pd(II) и Cu(II) .

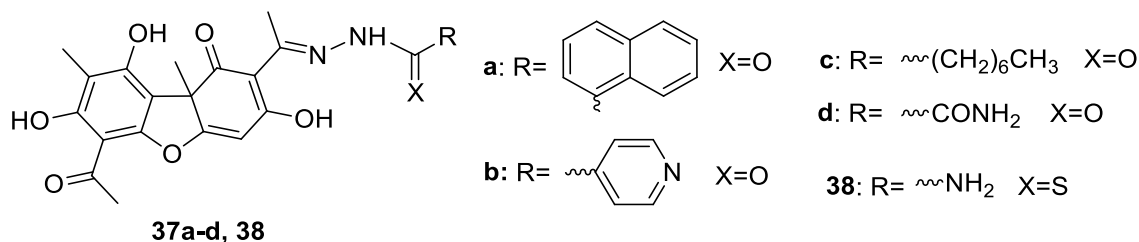


Рисунок 6

Ацетильная группа кольца С может быть замещена. Авторы работы [52] обнаружили, что при проведении реакции Манниха атака электрофильной частицы

происходит по C^2 узловому атому трикарбонильной системы, что затем сопровождается деацилированием полученного интермедиата. Реакцию проводили с морфолином или пиперидином в качестве вторичных аминов и формальдегидом в присутствии бромоводородной кислоты в этаноле при нагревании (схема 17). Структуру полученных продуктов **39a,b** устанавливали с использованием двумерной спектроскопии ЯМР. В недавнем исследовании данное необычное превращение было использовано для синтеза ряда аналогичных соединений **39a,b** биологически активных производных [53].

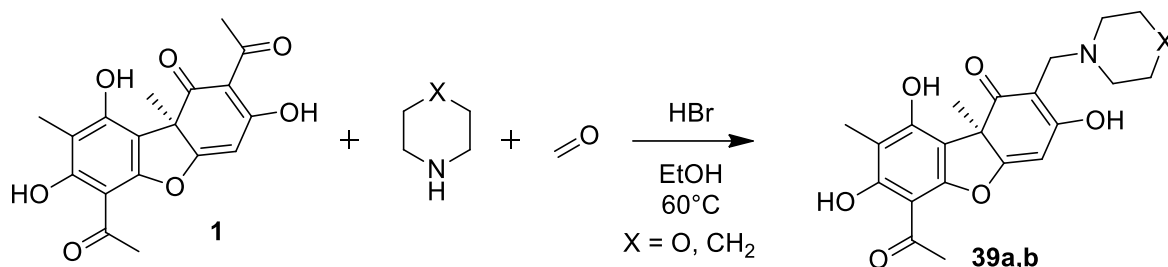


Схема 17

1.5 Модификация трикетонной системы кольца С путём конденсации с бинуклеофилами

Трикетонная система кольца С усниновой кислоты может реагировать с бинуклеофилами, например, гидразинами, с образованием конденсированных с кольцом С гетероциклических фрагментов. В случае использования арил-замещенных гидразинов реакция протекает с участием C^{11} и C^3 карбонильных атомов углерода усниновой кислоты. В случае использования гидразина с менее объемным заместителем, например метилгидразина, или гидразина без заместителей, а также гидроксиламина, реакция может протекать и с участием C^{11} и C^1 карбонильных групп.

Так, например, в работах [54] было показано, что при реакции усниновой кислоты с одним эквивалентом фенилгидразина получается продукт с аннелированным кольцу С пиразольным циклом **40** (схема 18). Такая реакция может протекать и с рядом донорнозамещенных фенилгидразинов, давая целевые пиразолы с выходами 45-95% при проведении реакции в этаноле [50]. При этом при введении в реакцию избытка гидразина происходит не только образование пиразольного цикла, но и гидразинового фрагмента, как результат реакции фенилгидразинов по C^{13} карбонильной группе (соединение **41**, схема 18). Замыкания пиразольного цикла, конденсированного с кольцом А, при этом не происходит, так как атом углерода C^7 является значительно менее электрофильным по сравнению с атомами углерода трикарбонильной системы кольца С. Как уже отмечалось выше, при

введении в реакцию акцепторнозамещенных гидразинов, образования пиразольного цикла не происходит (схема 18) [50, 51].

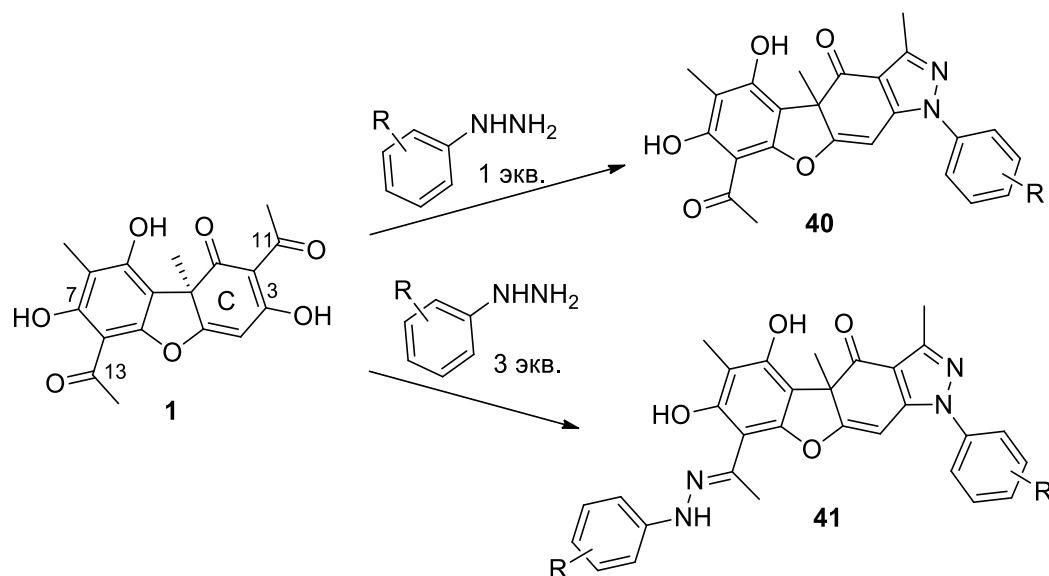


Схема 18

Однако авторы недавнего исследования показали возможность замыкания конденсированного с кольцом А пиразольного цикла [55]. Введение усниновой кислоты в реакцию с фенилгидразином в этаноле под действием микроволнового излучения протекает с образованием бипиразола **42** с выходом 72% (схема 19).

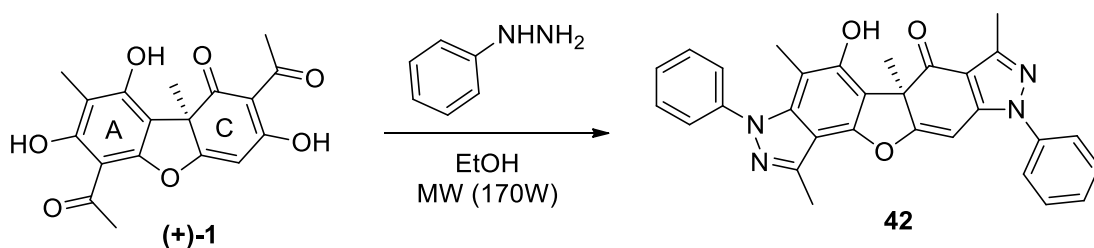


Схема 19

Аналогичным образом могут проходить и реакции с N,O-бинуклеофилами, например, с гидросиламином. В работе [56] было выделено 3 различных продукта данной реакции. Авторы считают, что на первой стадии реакции образуется оксим А, который может находиться в таутомерном равновесии с формами В и С, из которых в последствии получают продукты **20**, **43** и **44** соответственно (схема 20).

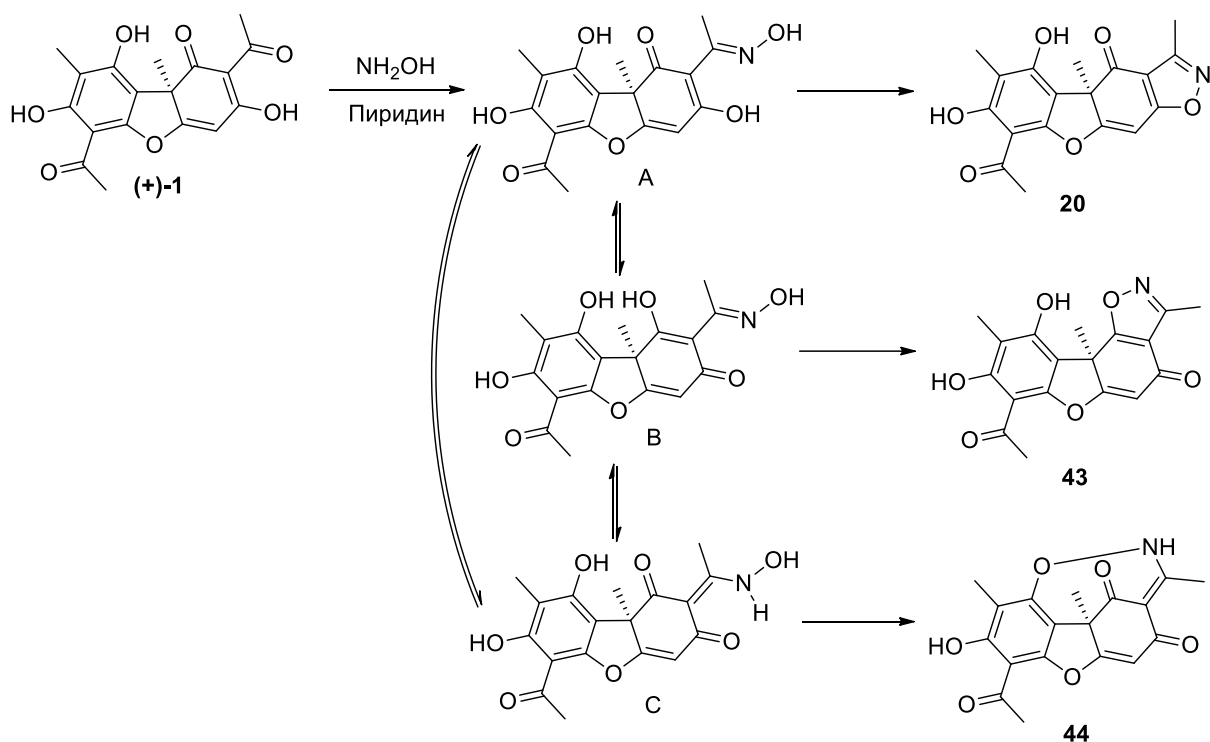


Схема 20

Авторы предполагают, что на соотношение продуктов реакции могут влиять условия ее проведения. Введение усниновой кислоты в реакцию с гидроксидом гидроксиламина в сухом пиридине при комнатной температуре, с последующим разбавлением сухим этиловым спиртом и кипячением приводило к образованию смеси всех трех продуктов реакции с преобладанием соединения **44**, выделенного с выходом 67%. Проведение одностадийной реакции в смеси этанол:пиридин 1:1 при кипячении приводило к образованию соединения **20** с выходом 35% в качестве единственного выделенного продукта реакции. Проведение реакции последовательно, а именно синтез оксима в сухом пиридине, его выделение и введение в реакцию циклизации при кипячении в сухом этаноле или сухом пиридине, приводило к образованию смеси всех трех продуктов, но с преобладанием соединения **43** с общими выходами 56-58%.

В более поздней работе было показано, что в условиях проведения реакции в сухом пиридине при комнатной температуре, с последующим разбавлением сухим этиловым спиртом и кипячением преобладающим продуктом реакции является соединение **20**, а не **44**, как упоминалось выше [57]. Авторы работы выделили продукты **20** и **43** и подтвердили их строение методом РСА. Такой результат подтвердили и более поздние исследования [58, 59]. Так, Gunawan G. et al. показали, что при проведении такой реакции в сухом этаноле в одну стадию образуется смесь изоксазолов **20** и **43** с преобладанием в реакционной смеси производного **43**. Продукты **20** и **43** были выделены с выходами 22% и 66% соответственно.

Недавно проведенные исследования демонстрируют возможность варьирования направления замыкания конденсированного цикла и для реакции усниновой кислоты с метилгидразином [59]. Так, например при проведении реакции усниновой кислоты с метилгидразином в этаноле при 80°C авторы наблюдали образование смеси из трех основных продуктов реакции (соединения **45-47**, схема 21). Оказалось, что в соединениях **46** и **47** в образовании пиразольного цикла участвуют C¹ и C¹¹ карбонильные группы. Исходя из структуры продукта **46** авторами было сделано предположение, что данное соединение могло быть получено путем первичной атаки NH₂ группы метилгидразина по C¹ атому усниновой кислоты, что затем сопровождалось замыканием пиразольного цикла. Авторы отмечают, что соотношение продуктов реакции существенно зависит как от используемого растворителя, так и от температуры проведения реакции. При проведении реакции в этаноле при 80°C преимущественно происходило образование соединения **45**, в то время как реакция, проходящая в толуоле при 20°C, протекала с образованием соединения **46** в качестве основного продукта реакции. Структуры продуктов **45-47** реакции подтверждены методами двумерной ЯМР спектроскопии.

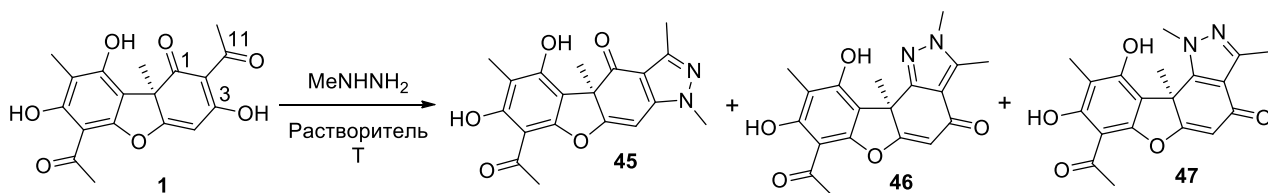


Схема 21 Реакция усниновой кислоты с метилгидразином

Авторы этой же работы [59] показали, что направление замыкания пиразольного цикла при реакции усниновой кислоты с гидразином также существенно зависит от условий проведения реакции. Проведение реакции в ацетоне с 1,1 эквивалентом гидразингидрата приводит к образованию смеси продуктов реакции – преобладающего в смеси пиразола **48**, пиразола **49** и продуктов реакции конденсации гидразонов с ацетоном – соединений **50** и **51** (схема 22). Структуры полученных продуктов были подтверждены методами РСА. В более позднем исследовании [60] подобранные в работе [59] условия были применены для получения пиразола **49**.

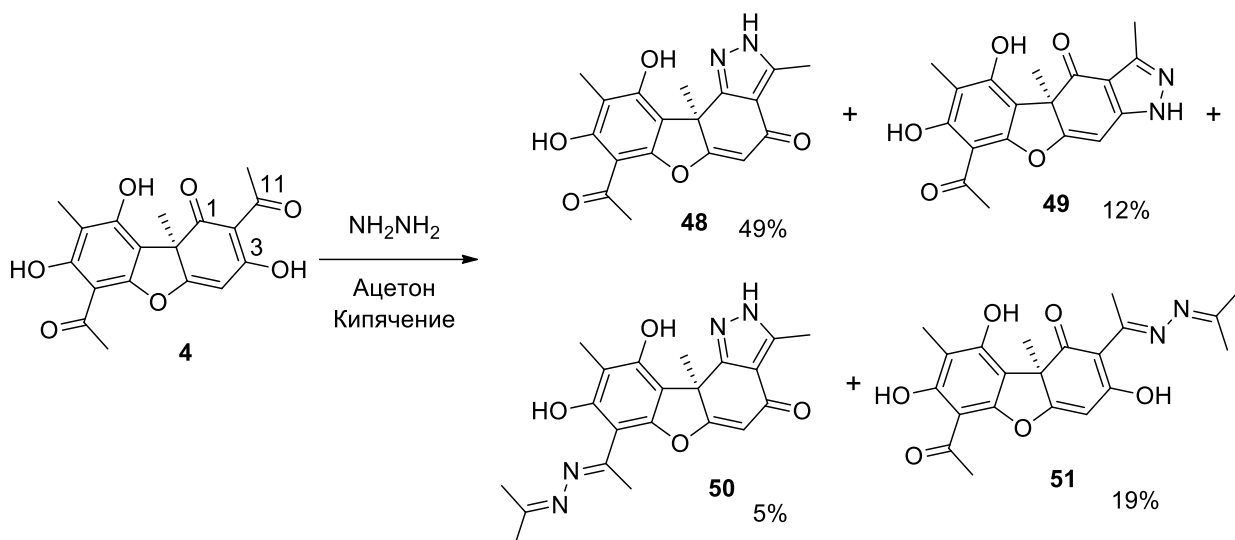


Схема 22

Проведение такой же реакции в этаноле при кипячении привело к образованию единственного продукта реакции – соединения **48**, с выходом 78% (схема 23). При снижении температуры реакции до 0°C происходило образование гидразона **52** с выходом 96%. Замыкания пиразольного цикла в этом случае не происходило [59].

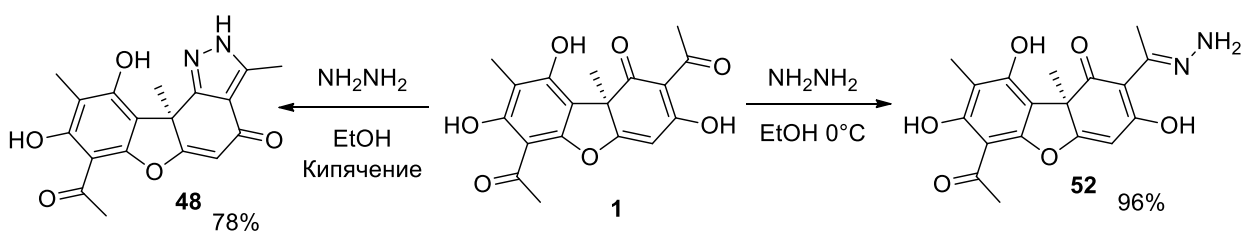


Схема 23

Интересно отметить, что пиразол **48**, в отличие от производного **9** (схема 4), не подвергается восстановлению боргидридом натрия в ТГФ при -10°C . Авторы работы [59] ожидали восстановления карбонильной группы C^3 в данном соединении (схема 24).

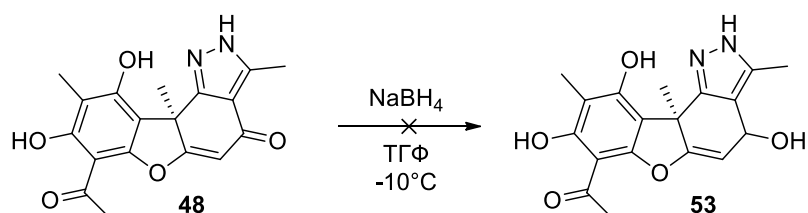


Схема 24

К неожиданным результатам привела реакция дигидроусниновой кислоты **17** с гидразингидратом в этаноле при кипячении [59]. В таких условиях также, как и в случае реакции усниновой кислоты (схема 25), происходит образование только одного продукта реакции. Однако пиразольный цикл замыкался с участием C^{11} и C^3 карбонильных групп, а

не C¹¹ и C¹, как в вышеописанном опыте (схема 23). Структура пиразола **54** была подтверждена методом РСА. Изменение в реакционной способности карбонильных групп трикетонной системы можно объяснить отсутствием дополнительного сопряжения, в частности с атомом кислорода, являющимся донором по мезомерному эффекту, вследствие восстановления связи C⁴=C^{4a}. Авторы также показали, что восстановление оставшейся C¹ карбонильной группы под действием боргидрида натрия протекает с образованием гидроксильной группы в *транс*-ориентации по отношению к C¹⁵ метильной группе (соединение **55**, схема 25), что было доказано методом двумерной ЯМР спектроскопии. Хотя в случае восстановления пиразола **9** (схема 4) гидроксильная группа имела *цис*-ориентацию по отношению к метильной группе C¹⁵ (соединение **11**, схема 3), что характерно для реакций восстановления кетонов боргидридами.

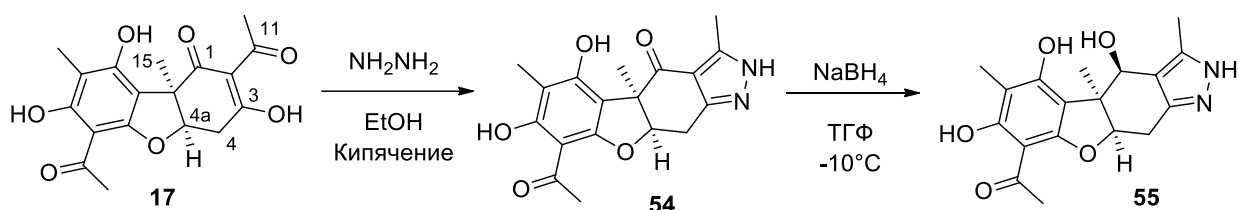


Схема 25

В качестве бинуклеофилов для построения конденсированного кольца С гетероциклического фрагмента могут служить 1,2-диамины. Например, при реакции усниновой кислоты с *o*-фенилендиамином в этаноле в присутствии кислоты происходит образование продукта **56**, содержащего в своем составе diazepиновый цикл (схема 26) [40]. При этом положение двойных связей в новообразованном цикле зависит от условий проведения реакции. Так, согласно более ранним исследованиям [61] при проведении этой реакции в этаноле при кипячении и в отсутствие кислоты происходит образование соединения **57**, в diazepиновом цикле которого присутствует два гидразоновых фрагмента. По данным авторов работ [40, 61], спектры соединений **56** и **57** отличаются.

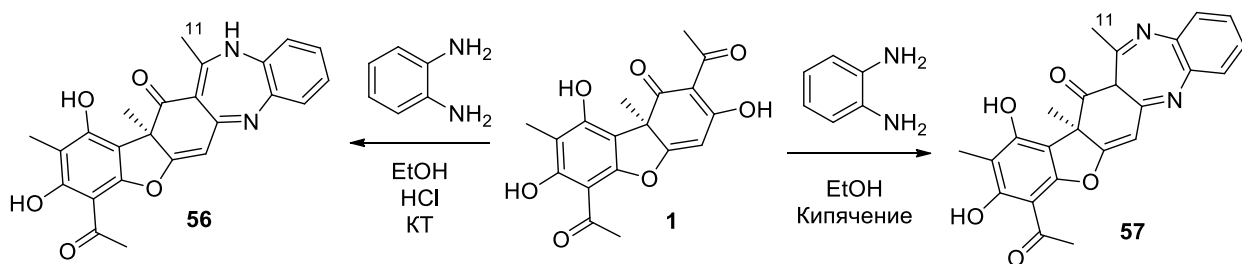


Схема 26

В работах [62, 63] проводили реакцию усниновой кислоты с еще одним диамином, а именно этилендиамином. Реакцию проводили в смеси ТГФ:этанол (1:5) при кипячении

(схема 27). При этом, помимо образования димерного продукта **58**, авторы исследований выделяли производное **59**, содержащее в своем составе дигидродиазепиновый фрагмент. Продукты **58** и **59** были выделены с выходами 46% и 33% соответственно. Важно отметить, что в этом случае в образовании дигидродиазепинового цикла участвуют C^{11} и C^1 карбонильные группы, в отличие от вышеописанного примера. Структура соединения **59** была подтверждена методом двумерной ЯМР спектроскопии [62]. Авторы данного исследования показали, что соединение **59** существует в таутомерном равновесии с производным **60**. Соотношение таутомеров, по данным ЯМР спектроскопии при пониженной температуре, составляет 1:1 [62].

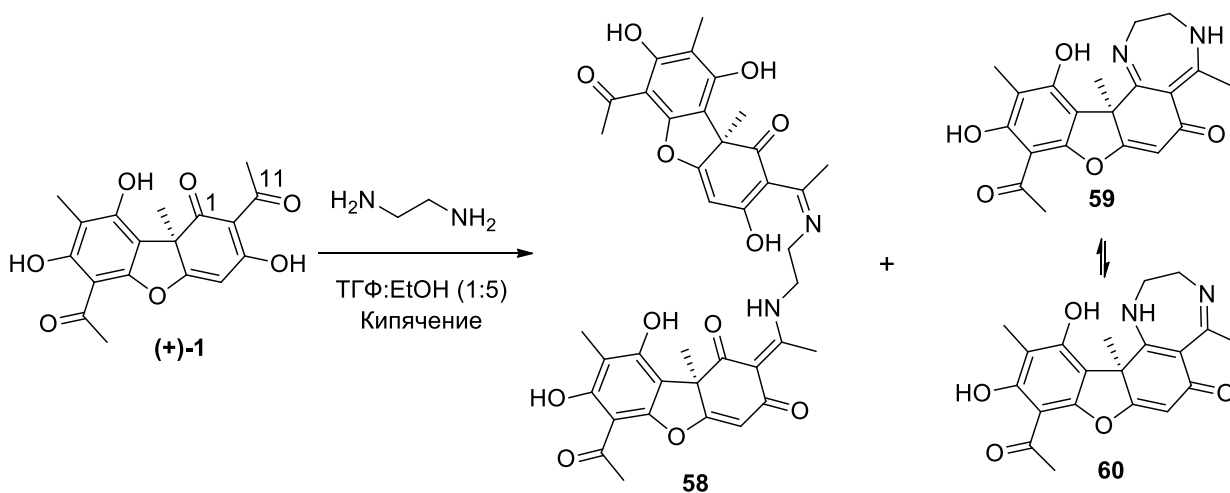


Схема 27

1.6 Эфиры усниновой кислоты

В усниновой кислоте присутствуют две ароматические гидроксильные группы, каждая из которых может выступать в качестве нуклеофила в реакции образования простых и сложных эфиров. Защита гидроксильных групп в усниновой кислоте важна как с точки зрения химических модификаций, так и с биологической точки зрения. Предполагается, что фенольная часть УК ответственна за её окислительно-восстановительные свойства [64, 65]. Модификация этого фрагмента, таким образом, также будет влиять на свойства соединений как анти- или про-оксидантов.

Эфиры усниновой кислоты, как правило, получают по реакции различных галогенпроизводных с усниновой кислотой. В частности, в работе [66] было описано образование метилового эфира усниновой кислоты **61** по её реакции с метилиодидом в кипящем ацетоне в присутствии карбоната калия (схема 28). Продукт **61** был выделен с выходом 11%. Причём, реакция проходит селективно по OH^7 группе, образования продукта

метилирования второй гидроксильной группы OH^9 не наблюдалось. Позднее, авторы работы [67] подобрали условия получения соединения **61** с более высоким выходом путем перемешивания усниновой кислоты с прокалённым и измельчённым карбонатом калия в сухом ДМФА с выходом 76 %.

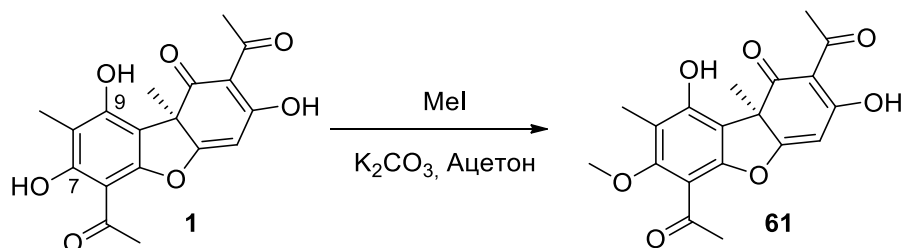


Схема 28

При проведении метилирования усниновой кислоты **1** другим классическим и более жестким в рамках теории ЖМКО реагентом – диметилсульфатом, реакция происходит не по атомам кислорода, а по атому C^8 ароматического кольца усниновой кислоты (схема 29) [68, 66]. Продукт **62** был выделен с выходом 43%. Авторы работы [68] показали, что при проведении аналогичной реакции с дигидроусниновой кислотой **17**, метилирование также идёт по пути разрушения ароматичности кольца А (схема 29). Такое течение реакции характерно для производных 1,3,5-тригидроксибензола [69].

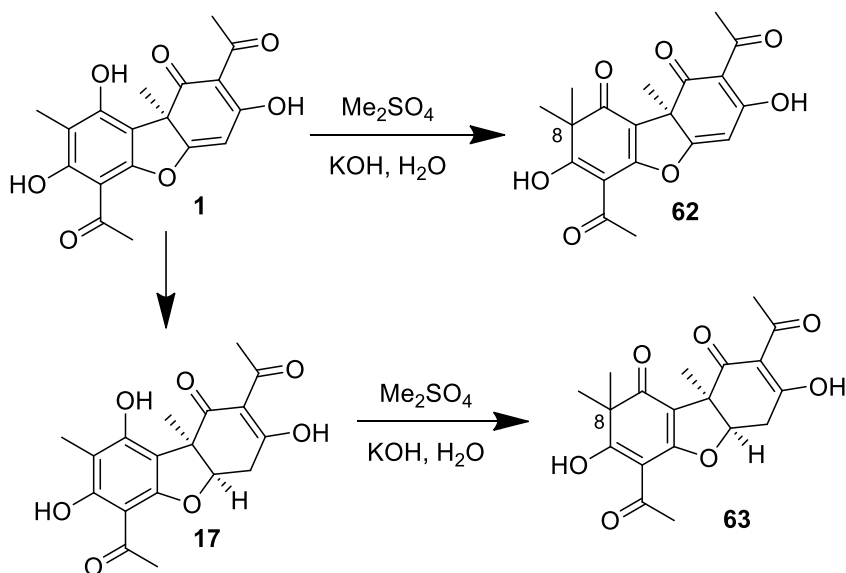


Схема 29

Использование диазометана в качестве алкилирующего продукта не приводит к образованию ожидаемых эфиров по фенольным группам. Реакция протекает с участием трикарбонильной системы кольца С с образованием сложной смеси продуктов даже при понижении температуры реакции до -35°C (схема 30) [66, 70]. Авторами были выделены продукты **64** и **65** с выходами 8% и 7% соответственно.

31

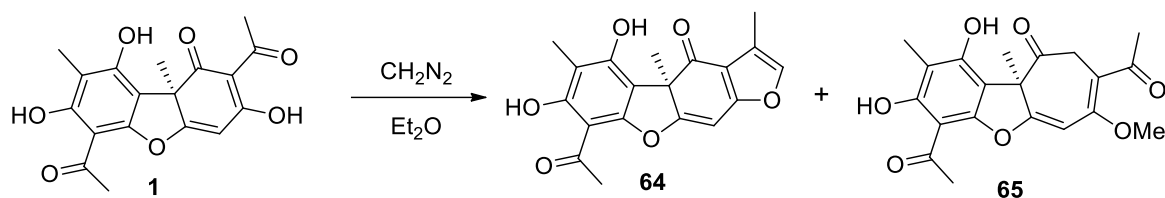


Схема 30

Вероятнее всего образование соединения **64** протекает с получением промежуточного оксирана **66**, который затем раскрывается при атаке соседней гидроксильной группы OH^3 , с последующей дегидратацией полученного цикла (схема 31).

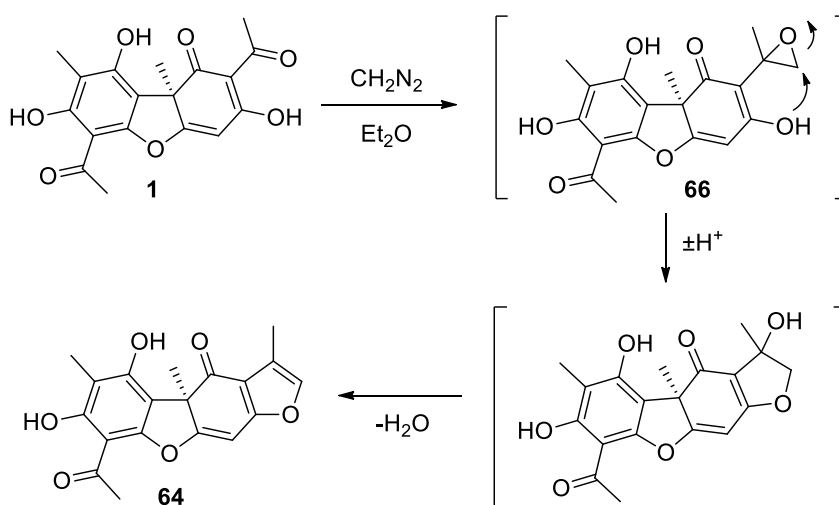


Схема 31

В работе [71] был реализован более системный подход к синтезу простых эфиров усниновой кислоты. В качестве алкилирующего агента был использован бензилбромид. Реакцию проводили в сухом гексаметилфосфортриамиде при 0°C . В результате чего была получена смесь моно- и ди-бензильного эфиров **67** и **68** с выходами 75% и 14% (схема 32).

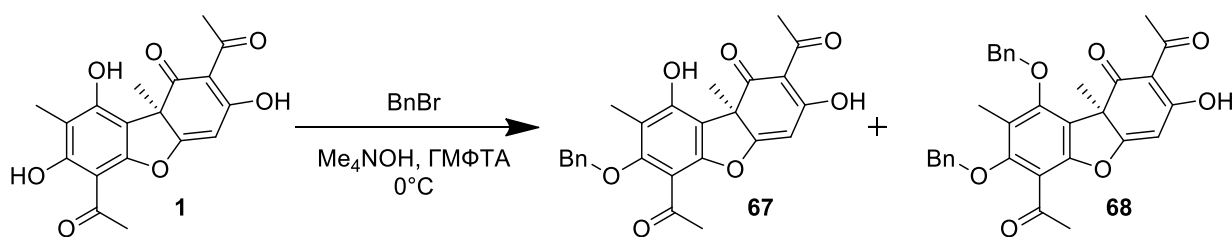


Схема 32

Также авторами этой же работы была показана возможность синтеза смешанного эфира **69** (схема 33). Последний был получен при взаимодействии монобензильного эфира **67** с диметилсульфатом в сухом ТГФ в присутствии гидрида натрия с выходом продукта реакции 72%. При этом не наблюдается продуктов метилирования с нарушением ароматичности кольца А, подобных соединению **62** (схема 29), что может быть связано с

образованием эфира по OH^7 фенольной группе. Такое превращение дало возможность в дальнейшем получить моноэфир по OH^9 гидроксильной группе **70** со свободной OH^7 группой.

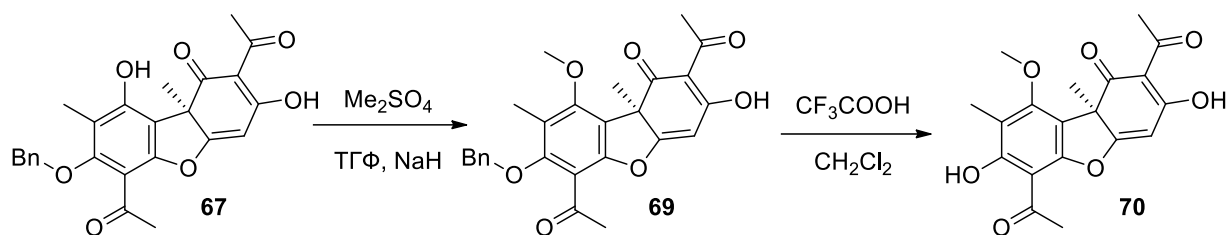


Схема 33

Гидроксильная группа OH^7 также способна вступать в реакцию присоединения к некоторым активированным алкенам. Авторы работы [72] вводили в реакцию с усниновой кислотой различные полифторалкены **71**, ожидая получения продуктов нуклеофильного замещения атомов фтора, однако происходила реакция присоединения OH^7 группы по двойной связи алкена с образованием продуктов **72a-d** с выходами 52-94% (схема 34).

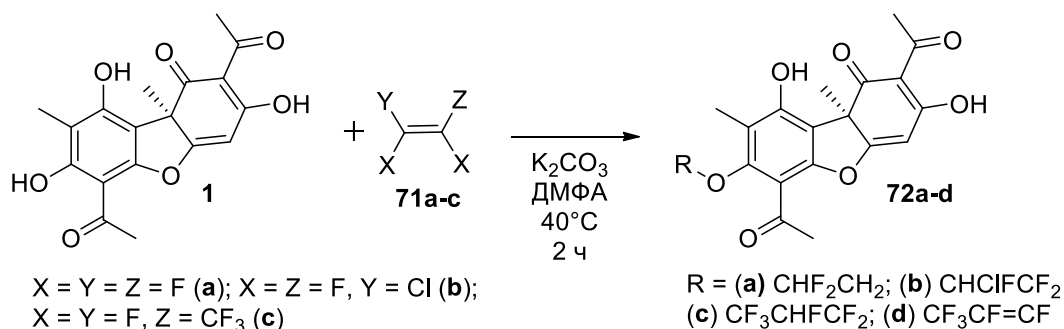


Схема 34

Авторы отмечают, что решающее влияние на направление данной реакции оказывает влажность растворителя. Так, в реакции с перфторпропиленом использование ДМФА, содержащего 0,2% воды, приводило к образованию продукта присоединения по двойной связи **72c** с выходом 52%, в то время как проведение реакции в абсолютном ДМФА – к продукту реакции замещения атома фтора **72d** с выходом 76%.

Авторы более позднего исследования [73] отмечают, что в ходе реакции усниновой кислоты с перфторпропиленом в ДМФА, содержащем 0,2% воды, помимо продукта присоединения по двойной связи – соединения **72c**, происходит образование пиранового цикла (соединение **73**) в качестве побочного процесса. На стадии присоединения фенолята по двойной связи перфторпропилена реакция может пойти двумя путями – протонирование полученного интермедиата или электрофильная атака карбоаниона по атому углерода

соседней карбонильной группы, сопровождающееся дегидратацией, что приводит к образованию пиранового цикла (схема 35).

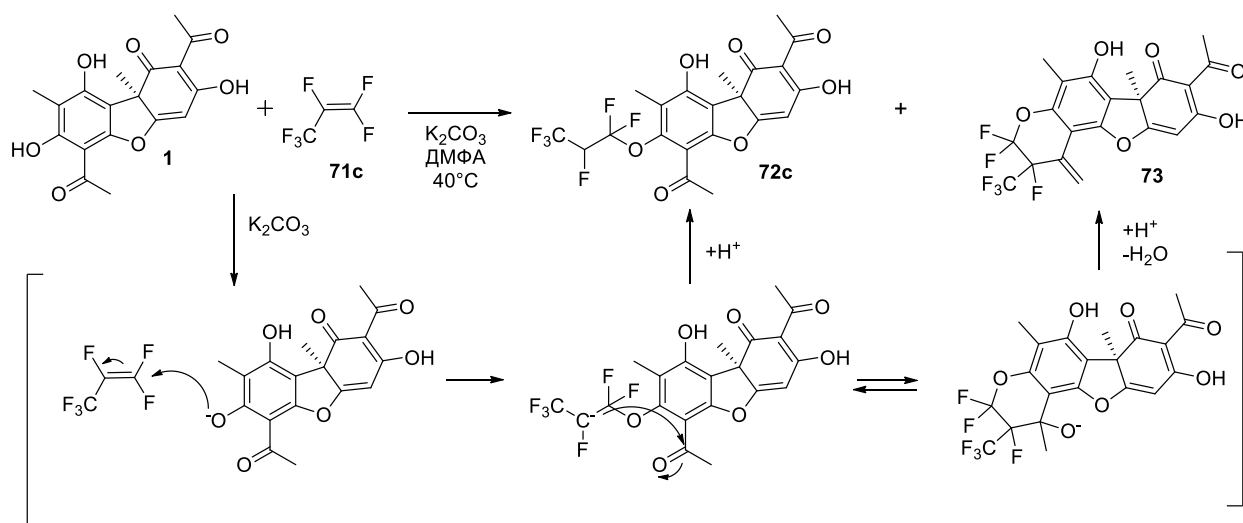


Схема 35

Усниновую кислоту вводили в реакцию с перфторароматическими соединениями в ДМФА в присутствии карбоната калия (схема 36) [74]. Реакция замещения протекала только при использовании сухого ДМФА. Продукты **74a,b** были выделены с выходами 84% и 98%. Соединение **74c** было выделено с выходом 35% при конверсии 75%. Во всех случаях происходило замещение атома фтора в *para*-положении по отношению к заместителю в перфторбензольном кольце или в четвертое положение пиридинового цикла.

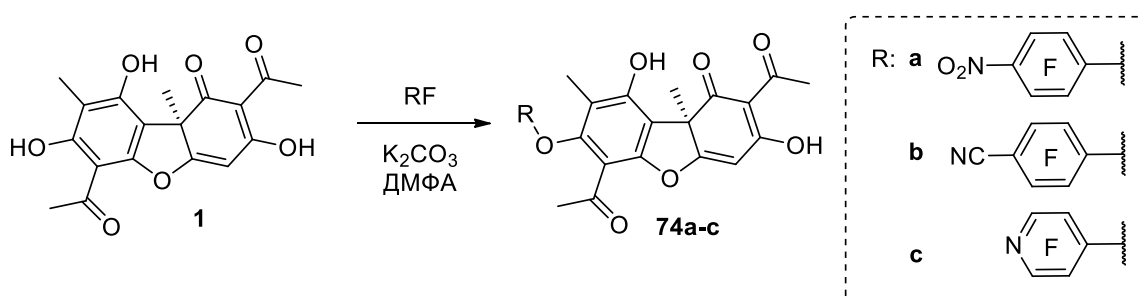


Схема 36

Путём модификации OH^7 фенольной группы может быть получен гликозид **75** (схема 37) [75]. Для этого авторы работы модифицировали большую часть функциональных групп усниновой кислоты. На первой стадии был получен изоксазол **20**. Затем полученное соединение вводили в реакцию ацилирования уксусным ангидридом в серной кислоте с получением диацетата **76** (выход 70%), последующий селективный гидролиз приводил к образованию производного **77** с выходом 70%. Моноацетат **77** вводили в реакцию с тетра-О-ацетил- α -D-глюкопиранозил бромидом в присутствии Ag_2O при кипячении в ацетонитриле, в результате чего было получено соединение **78** с выходом 21%. После

проводили раскрытие изоксазольного цикла, заключающееся в разрыве связи N-O под действием водорода в присутствии платиновой черни, и последующее снятие всех ацетильных групп метилатом натрия. Выход соединения **79** за две стадии составил 86%. На последней стадии енамин **79** вводили в реакцию с водной щелочью, в результате чего был получен целевой гликозид **75** с выходом 40%.

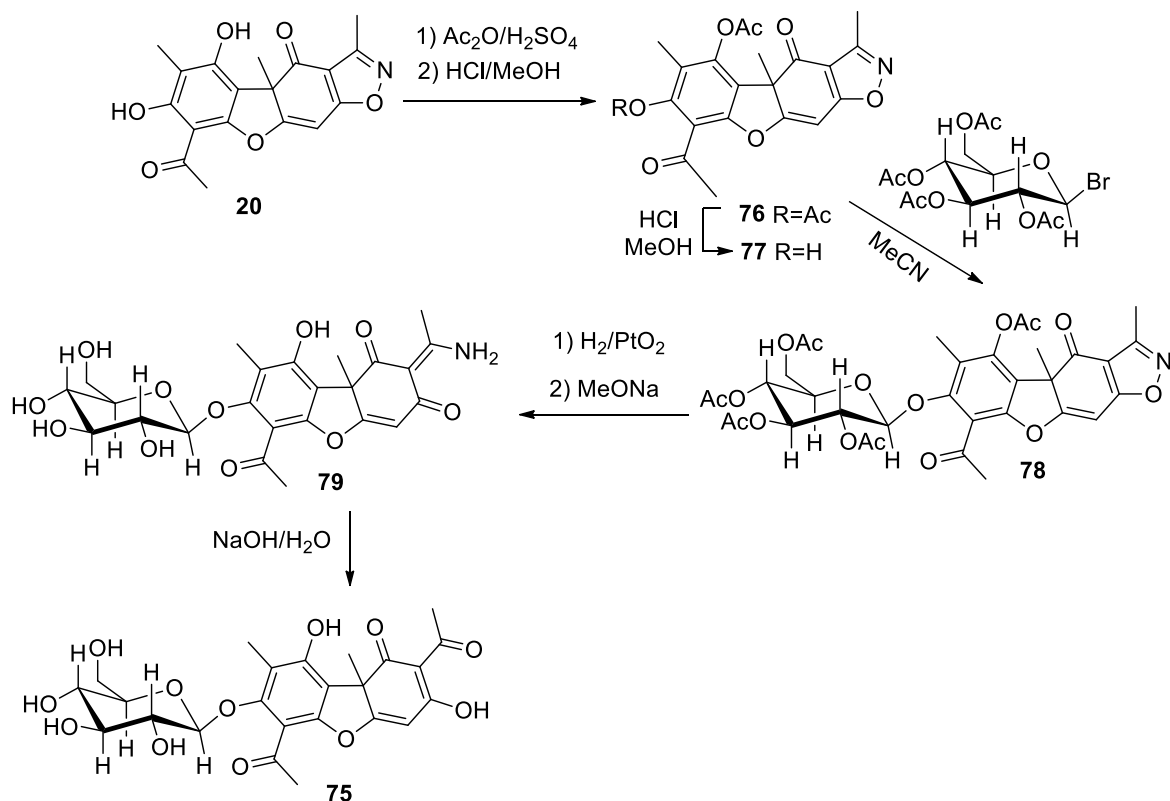


Схема 37

На основе усниновой кислоты также был получен ряд сложных эфиров. Первый такой эфир был получен авторами работ [76, 77] по реакции усниновой кислоты с уксусным ангидридом в присутствии серной кислоты. В ходе данной реакции образуется диэфир усниновой кислоты **81** с выходом 98%. А в работе [66] было показано, что реакцию можно остановить на образовании моноэфира по OH^7 группе **80** (схема 38). Выход такой реакции невысок (8%), однако, авторы отмечают, что и конверсия усниновой кислоты неполная.

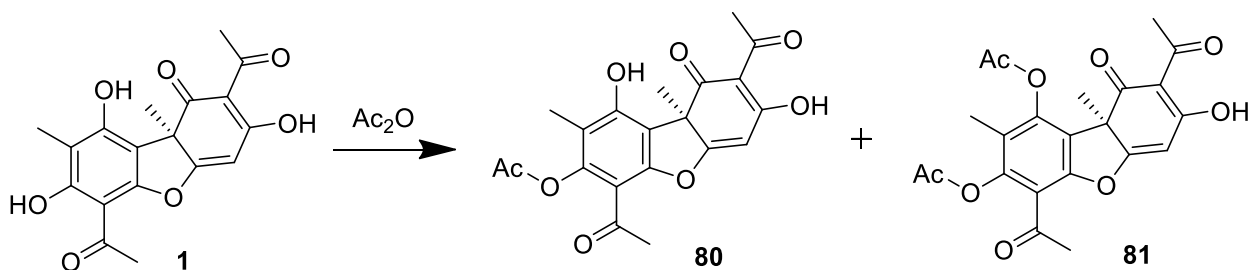


Схема 38

В дальнейшем были получены диэфиры усниновой кислоты с пропионатными и хлорацетатными заместителями [78]. Реакцию проводили при комнатной температуре в пиридине. Продукты получали с выходами 80-82%.

Авторы более позднего исследования [79] отмечают, что в ходе реакции усниновой кислоты с избытком хлористого ацетила в смеси хлороформ:пиридин, помимо ацилирования OH^7 и OH^9 фенольных групп, происходит ацилирование OH^3 гидроксильной группы (схема 39). Продукт **83** был выделен с выходом 10%.

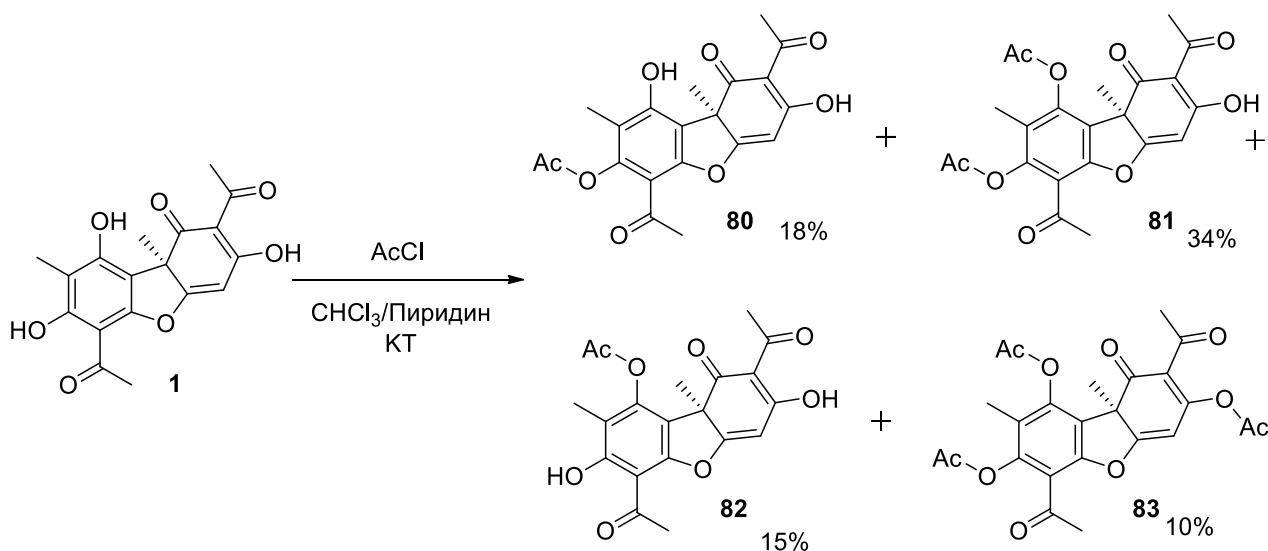


Схема 39

Неожиданный результат был обнаружен при проведении реакции усниновой кислоты с бензоилхлоридом, в качестве ацилирующего агента, в пиридине. Авторами работы [78] в этих условиях была получена смесь енольных эфиров **84** и **85** с выходами 42% и 31% соответственно (схема 40). При этом на первой стадии происходит ацилирование атомов кислорода трикарбонильной системы кольца С усниновой кислоты, а уже затем реакция протекала с участием фенольных групп. В работе [79] отмечается, что при проведении такой реакции в смеси хлороформ:пиридин происходит образование единственного продукта реакции – соединения **84**, выделенного с выходом 81%.

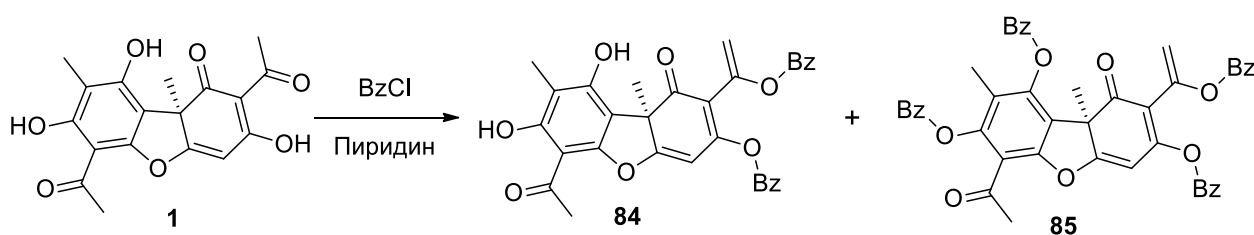


Схема 40

Как было показано, введение соединения **82** в реакцию с бензоилхлоридом протекает исключительно с образованием продукта **86**, в котором новая сложноэфирная связь была образована с участием OH^7 фенольной группы (схема 41) [79]. Выход реакции составил 71%.

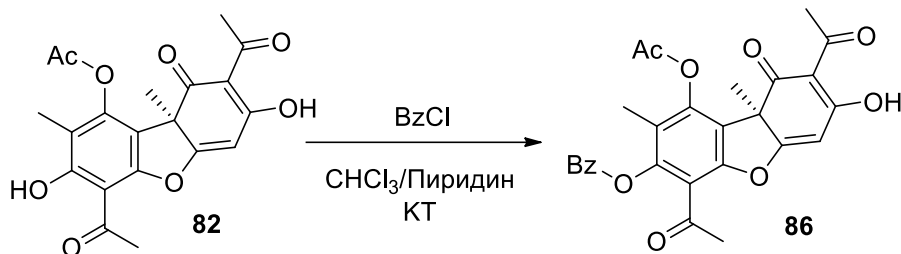


Схема 41

1.7 Введение заместителя в положение C^{14}

Одним из способов введения заместителя в структуру ацетильной группы кольца А является проведение альдольно-кетоновой конденсации. В этом случае в структуре продукта может быть образован фрагмент халкона. Такая реакция для усниновой кислоты была исследована в работах [80, 81]. Поскольку целевая конденсация у авторов работы при использовании соотношения усниновой кислоты и альдегида 1:1 и эквимольного количества щёлочи не проходила, они использовали всевозможные подходы для защиты реакционноспособных групп и увеличения реакционной способности ацильного фрагмента. А именно, модифицировали ацетильную группу кольца С путем образования пиразольного цикла, восстановили эндоциклическую карбонильную группу до гидроксильной и затем провели селективное метилирование OH^9 фенольной группы. Восстановление карбонильной группы $\text{C}^1=\text{O}$ было необходимо, чтобы избежать побочных реакции на стадии реакции производного **10** с диазометаном (схема 42). Целевые продукты **88** с фрагментом халкона были получены с выходами 46-80%.

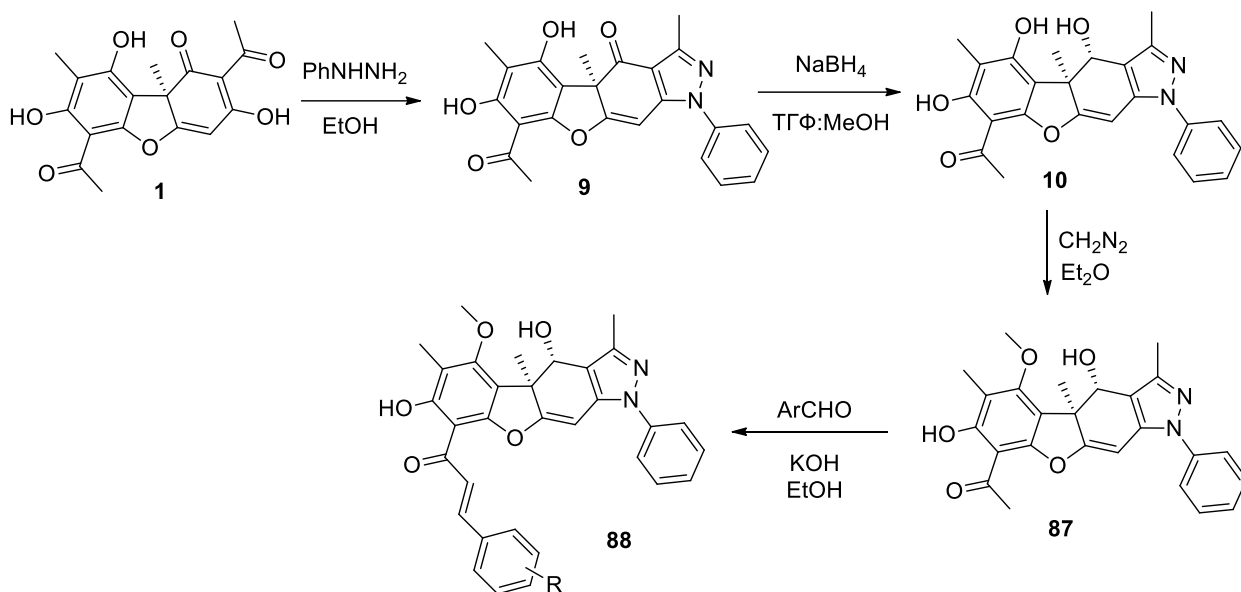


Схема 42

Затем авторы показали возможность получения соединений **86** и **87** с конденсированными гидроксипираноновым и гидроксидигидропираноновым циклами путем введения соединения **88a** в реакцию с таким окислителем, как перекись водорода, в присутствии щелочи (схема 43). Производные **89** и **90** были получены с общим выходом 80%.

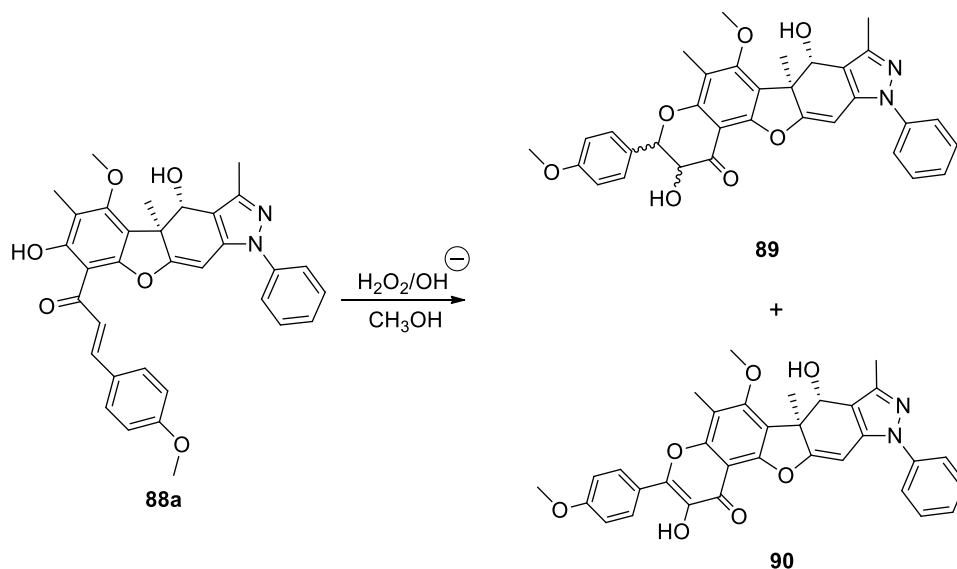


Схема 43

Отмечается, что использование в качестве окислителя— *трет*-бутилпероксида в присутствии ацетилацетоната ванадила не приводит к замыканию пиранонового цикла. В этом случае происходит селективное окисление $\text{C}^1\text{-OH}$ группы с образованием производного **91** с выходом 67% (схема 44).

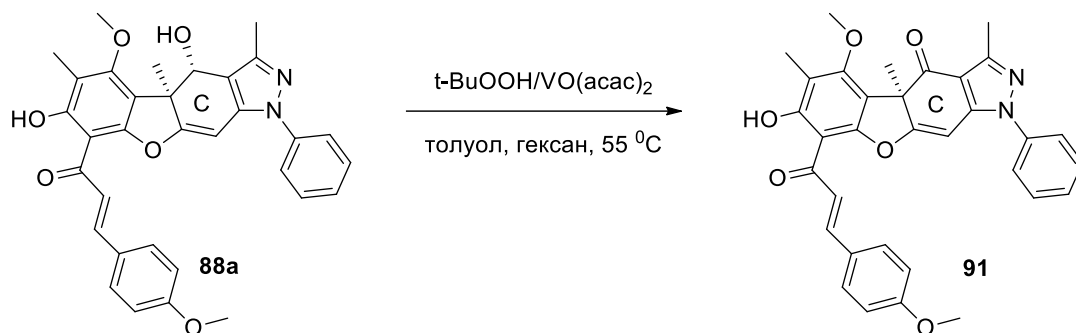


Схема 44

Использование дихлордидицианобензохинона (DDQ) также привело к окислению гидроксильной группы кольца С. Однако при дальнейшем выдерживании реакционной смеси замыкание пиранонового цикла наблюдается, флаванон **92** образуется с выходом 75% (схема 45).

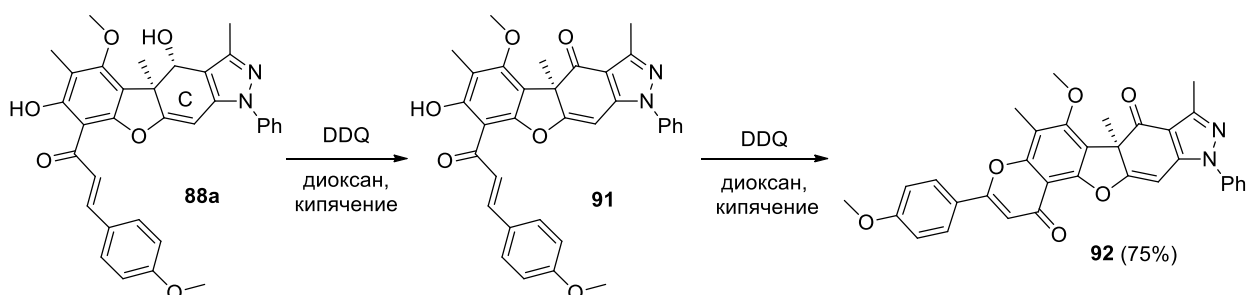


Схема 45

Авторы работы [82] показали, что реакция конденсации с альдегидами может быть проведена и для самой усниновой кислоты **1** при условии использования четырёх эквивалентов щёлочи. В результате реакции усниновой кислоты с замещёнными бензальдегидами в таких условиях при комнатной температуре образуется смесь продуктов **93** и **94** с преобладанием продукта с хроменым остовом (схема 46). В ряде случаев из смеси также был выделен гидроксифалкон **95**. Выход продуктов **93**, **94** и **95** составил 10-35%, 9-18% и 23-25% соответственно. В последующих исследованиях данные условия применялись для синтеза ряда пиранонов общей структуры **94** для изучения их биологической активности [83].

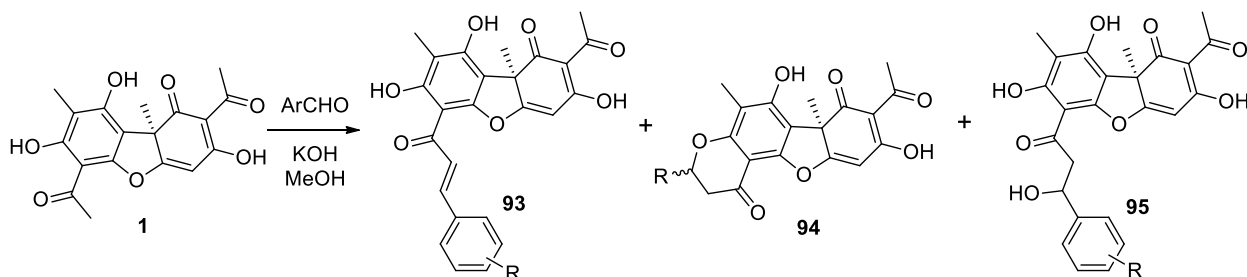


Схема 46

В более поздних исследованиях [84] аналогичную реакцию авторы работы проводили при температуре 60°C (схема 47). Было обнаружено, что в таком случае реакция может протекать не только по ацетильной группе кольца А (соединения **93**, **94**), но и с участием ацетильной группы кольца С (соединения **96-98**), при этом выход продуктов конденсации по ацетильной группе кольца С очень низок 1-2%.

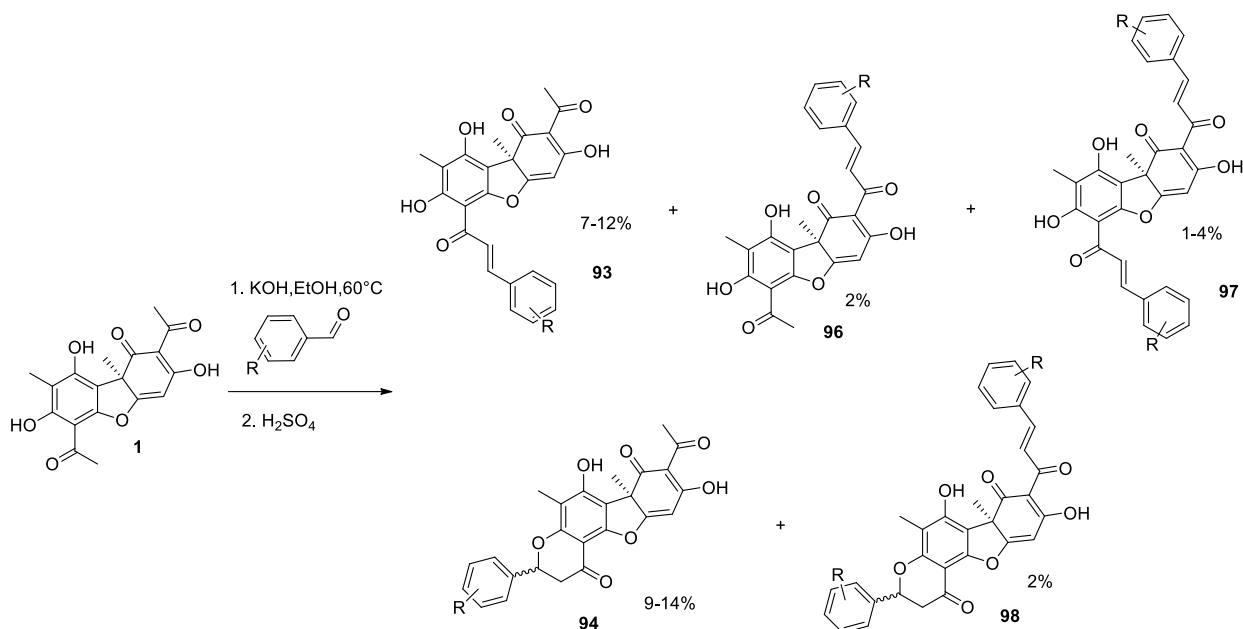


Схема 47

Использование фуранона на основе усниновой кислоты **99** может увеличить эффективность реакции конденсации с альдегидами по C¹⁴ атому углерода за счёт повышенной по сравнению с усниновой кислотой кислотности протонов при C¹⁴ атоме (схема 48). Авторами работ [85] была проведена конденсация фуранона **99** с рядом ароматических альдегидов с использованием гидроксида калия в качестве основания в кипящем метаноле. Реакция протекала селективно по C¹⁴ атому углерода и с высокими выходами 55-74%. На примере одного из соединений авторы доказали совокупностью спектральных методов, что соединения представляют собой *Z*-изомеры.

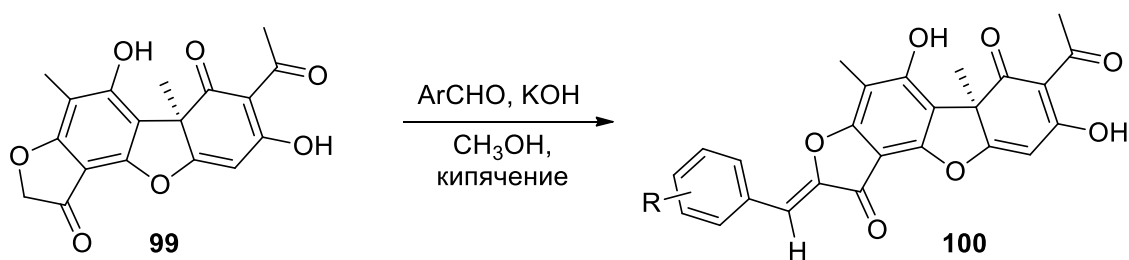


Схема 48

Помимо реакции конденсации, заместитель по C¹⁴ атому углерода усниновой кислоты может быть введен путем проведения реакции цианэтилирования. Введение усниновой кислоты в реакцию с двумя эквивалентами акрилонитрила в присутствии прокаленного поташа в ДМФА при 90°C приводит к образованию продукта **101** с выходом 88% (схема 49) [86]. Реакция протекает селективно, не затрагивая трикарбонильную систему кольца С.

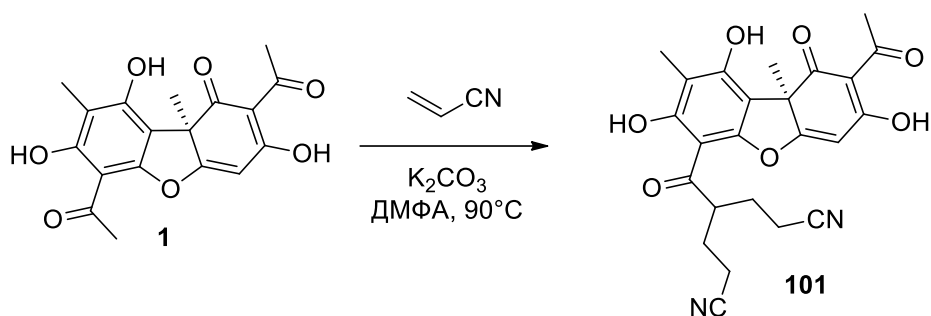


Схема 49

Цианэтилирование пиразола **9** протекает аналогичным образом (схема 50). Однако выход такой реакции оказался ниже ожидаемого и составил всего 30%. Авторами работы [86] было показано, что изменение последовательности стадий синтеза соединения **102** из усниновой кислоты приводит к повышению суммарного выхода до 62%.

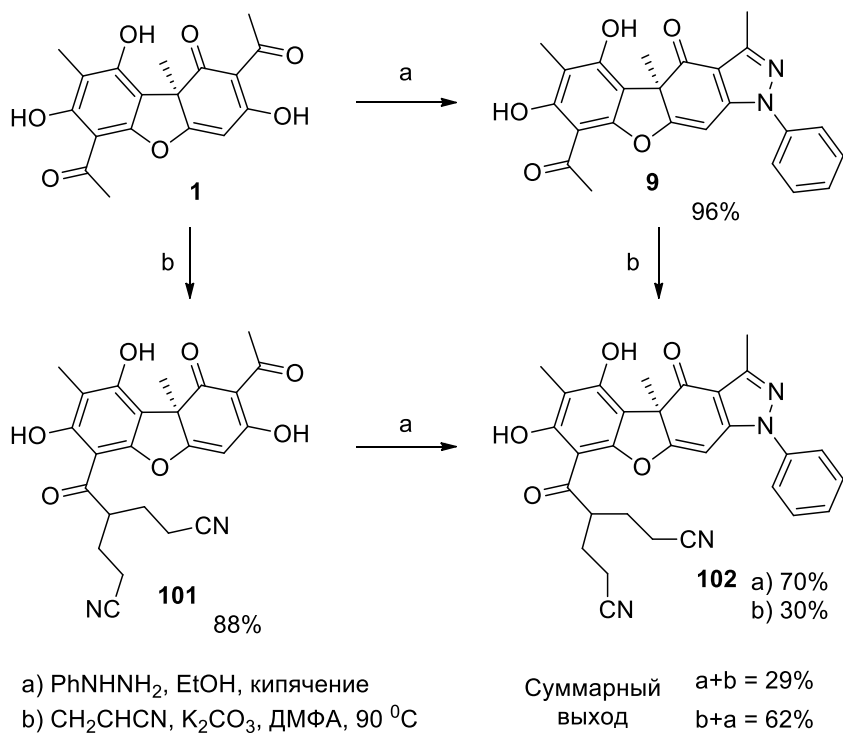


Схема 50

Авторы работы [86] также показали, что при введении фуранона **99** в реакцию с двумя эквивалентами акрилонитрила в присутствии карбоната калия в ДМФА при 40°C образуется продукт **103** с выходом 91% (схема 51).

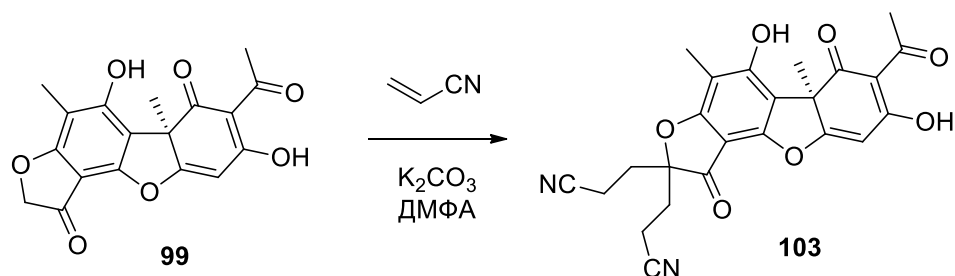


Схема 51

Ещё одним способом введения заместителя к атому углерода C¹⁴ ацетильной группы кольца А усниновой кислоты является реакция бромирования. Для этого усниновую кислоту вводили в реакцию с двумя эквивалентами брома в диоксане в присутствии каталитических количеств бромоводородной кислоты, реакционную смесь выдерживали в течение одной недели при комнатной температуре [85]. Реакция протекает селективно по ацетильной группе кольца А с образованием бромусниновой кислоты **104** в качестве основного продукта реакции с выходом 67% (схема 52). Конверсия реакции неполная, основным побочным продуктом является дибромусниновая кислота **105** (выход 16%). Увеличение количества брома в реакции с целью повышения конверсии реакции увеличивает выход дибромусниновой кислоты. Продуктов бромирования ацетильной группы кольца С при этом не наблюдается.

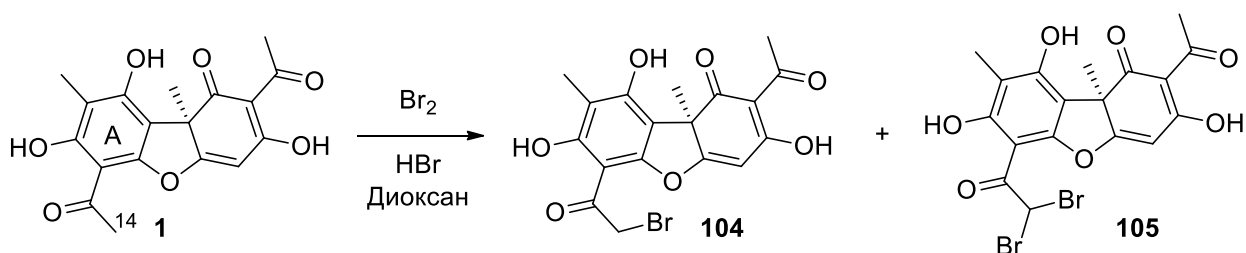


Схема 52

В последующих исследованиях отмечается важность наличия водородной связи между атомом кислорода ацетильной группы кольца А и атомом водорода соседней фенольной группы для протекания бромирования [67]. Введение в реакцию с бромом метилового эфира усниновой кислоты **61** позволяет значительно увеличить селективность реакции, уменьшить время её проведения до 20 минут без повышения температуры реакции. При этом использование одного эквивалента брома позволяет достичь полной конверсии реакции, а производное **106** выделяется в качестве единственного продукта

реакции с выходом 86% (схема 53). Использование двух эквивалентов брома приводит к продукту **107** с выходом 83%. По всей видимости наличие водородной связи значительно затрудняет енолизацию ацетильной группы кольца А, что приводит к повышению времени реакции электрофильного бромирования.

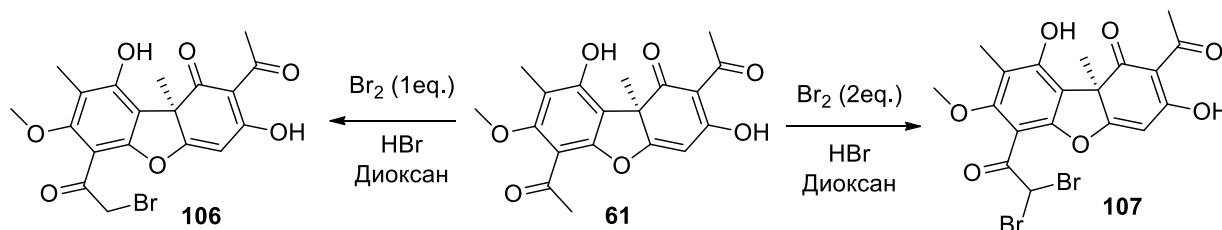


Схема 53

Бромусниновая кислота **104** является важным промежуточным продуктом для синтеза широкого ряда производных усниновой кислоты. Атом брома может быть замещен под действием различных O- и S-нуклеофилов, а наличие рядом карбонильной группы позволяет проводить построение гетероциклических фрагментов.

В качестве O-нуклеофила может выступать гидроксильная группа OH^7 . При обработке бромусниновой кислоты **104** гидроксидом калия в ацетоне происходит реакция внутримолекулярного замещения, с образованием фуранона **99** с количественным выходом (схема 54) [85]. Как уже упоминалось выше, фуранон **99** используется для реакции конденсации с ароматическими альдегидами (схема 48) и цианэтилирования (схема 51). Возможность осуществления замыкания фуранонового цикла накладывает ограничения на основность реакционных смесей при проведении реакций замещения атома брома различными нуклеофилами [85].

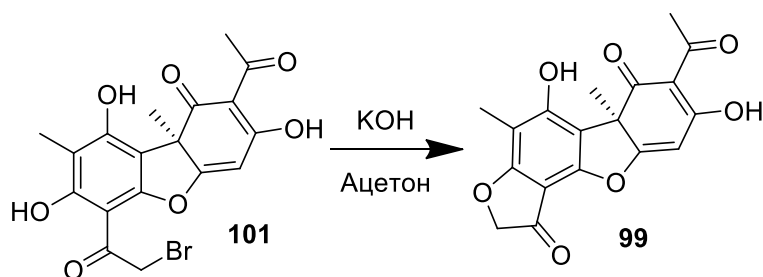


Схема 54

Так, например, при попытке замещения атома брома ацетатом калия в ацетоне происходило образование фуранона **99** с выходом 90%. Однако, при проведении этой реакции в среде ацетон:уксусная кислота (1:1) помимо фуранона авторам удалось выделить продукт межмолекулярного замещения – соединение **108** с выходом 20% (схема 55).

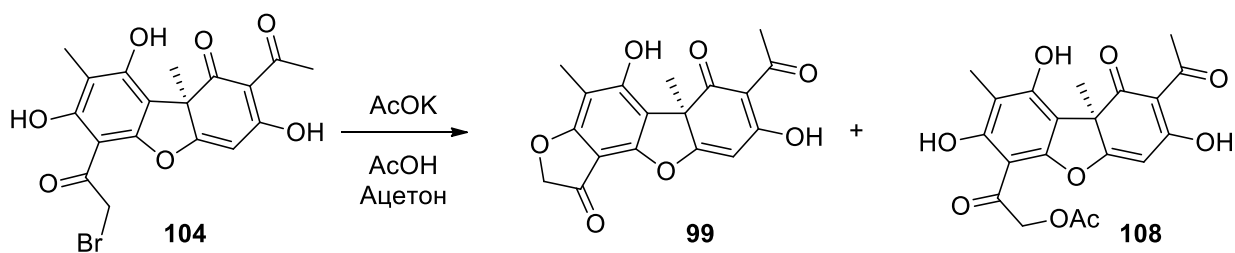


Схема 55

В литературе отсутствуют данные о реакциях бромусниновой кислоты или её метилового эфира как с другими O-нуклеофилами, так и с N-нуклеофилами. Однако известно, что атом брома может быть замещен широким рядом S-нуклеофилов. Поскольку атом серы является лучшим нуклеофилом, по сравнению с атомом кислорода, в ходе такой реакции не наблюдается образования фуранона **99** при использовании соединения **104** в качестве реагента. Авторы работы [67] вводили бромусниновую кислоту **104** и её метиловый эфир **106** в реакцию с генерируемыми *in situ* тиолятами ароматического, алифатического и гетероциклического рядов (схема 56). Реакция протекает при комнатной температуре с полной конверсией. Сульфиды **109** и **110** выделены с выходами 16-82% для реакции с бромусниновой кислотой **104** и 53-90% в случае использования метилового эфира бромусниновой кислоты **106**.

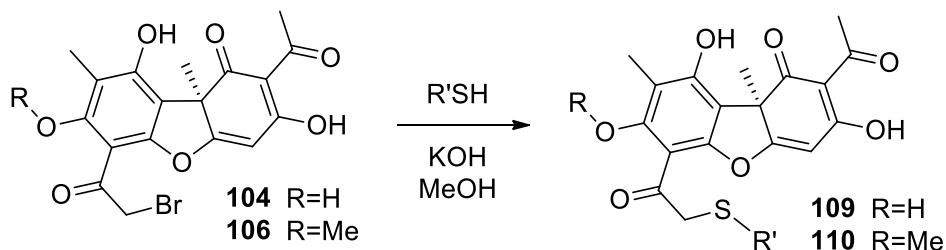


Схема 56

Полученные сульфиды нередко используются в качестве стартовых соединений для последующих модификаций. Так, гидролиз производного **5** приводит к новому соединению **111**, содержащему в своем составе тиокарбаматную группу, что может быть перспективно для дальнейшей модификации (схема 57).

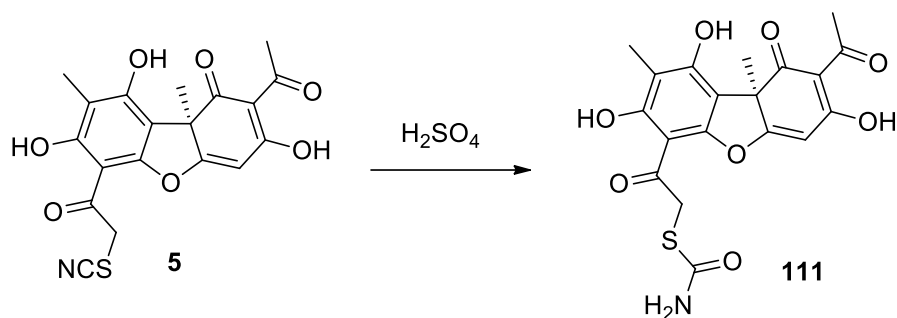


Схема 57

Ещё одной модификацией сульфидов может являться реакция окисления. В работе [87] были разработаны методики синтеза производных усниновой кислоты - соединений класса сульфонов и сульфоксидов. Введение сульфогруппы в молекулу представляется перспективным, поскольку, как правило, сопровождается снижением токсичности и повышением растворимости в воде, что немаловажно для биологически активных соединений.

Для получения сульфонов **112a,b**, сульфиды **109a,b** вводили в реакцию с избытком *m*-хлорнадбензойной кислоты с последующей обработкой реакционной смеси насыщенным раствором сульфита натрия. Продукты **112a,b** выделяли с выходами 52% и 50% (схема 58).

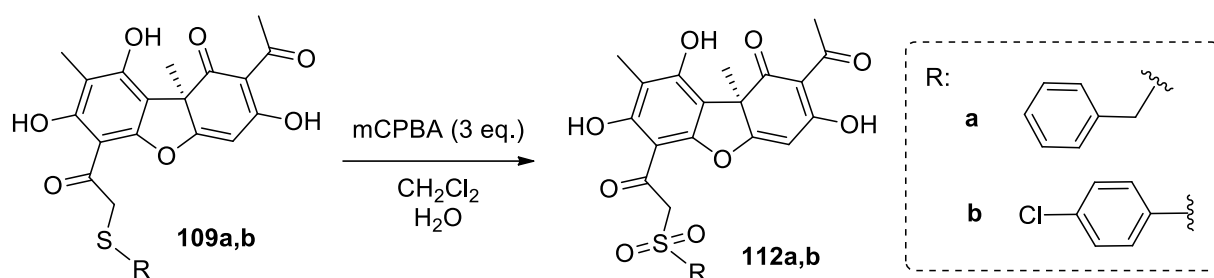


Схема 58

Сульфоксиды **113a,b** были получены путем введения сульфидов **109a,b** в реакцию окисления 30% перекисью водорода в присутствии металлокомплексного катализатора ацетилацетоната ванадила, а также хирального лиганда при комнатной температуре (схема 59).

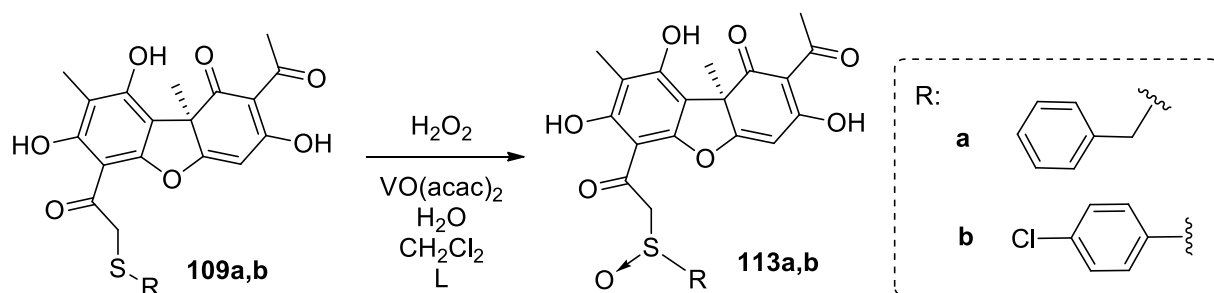


Схема 59

Исследования, посвящённые влиянию структуры лиганда на величину диастереомерного избытка [87] показали, что на диастереомерную чистоту продуктов реакции окисления влияет в первую очередь структура окисляемого тиоэфира. В случае сульфоксида **113b** диастереомерный избыток достигал 58%, в то время как аналогичный показатель для производного **113a** - только 14%. Структура лиганда на диастереомерную чистоту продуктов влияла в значительно меньшей степени.

Атом брома в бромметилусниновой кислоте **106** может быть замещен и С нуклеофилами. Например, авторами работы [88] была проведена реакция производного **106** с такими С-Н кислотами, как малондинитрил и цианоуксусный эфир. Соответствующие продукты реакции **114** и **115** были выделены с умеренными выходами 35% и 40% соответственно (схема 60). Очевидно, что без метильного заместителя при OH^7 фенольной группе такое превращение было бы невозможно вследствие высокой основности реакционной среды.

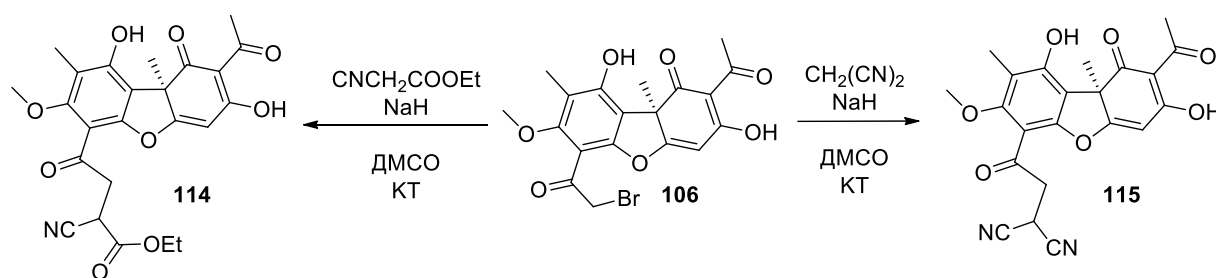


Схема 60

Бромусниновая кислота **104**, как и её метиловый эфир **106**, могут взаимодействовать с S,N-бинуклеофилами, что приводит к образованию тиазольного цикла (схема 61). Так, авторами работы [89] путем реакции соединений **104** и **106** с тиомочевинной в воде при кипячении были получены соответствующие тиазолы **116** и **117** с выходами 52 и 65% соответственно. Структура тиазола **116**, как и его (-)-энантиомера, была подтверждена методом РСА, что также косвенно доказывает направление реакции бромирования усниновой кислоты.

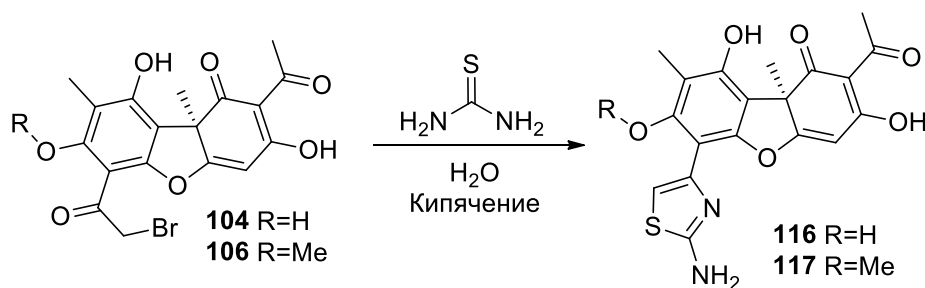


Схема 61

Аналогичным образом протекает реакция соединения **104** с селеномочевинной. Реакция протекает с образованием соединения **118**, содержащем в своем составе аминоселеназольный фрагмент (схема 62). Выход продукта **118** составил 57%, что сопоставимо с выходами аналогичных тиазолов **116** и **117**.

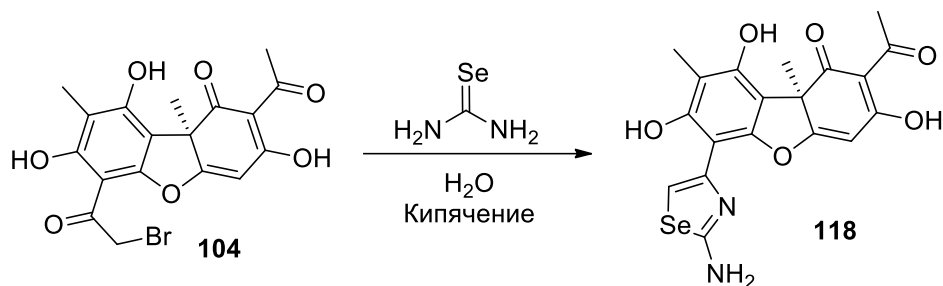


Схема 62

Тиазолы могут быть синтезированы и при реакции бромусниновой кислоты **104** с тиамидами, замещенными тиомочевинами [89] и тиосемикарбазонами ароматических альдегидов [90]. На примере реакции с замещенными тиомочевинами было показано, что выход реакции повышается при использовании этанола в качестве растворителя вместо воды (схема 63). Соответствующие тиазолы **119** и **120** были выделены с выходами 66-95%.

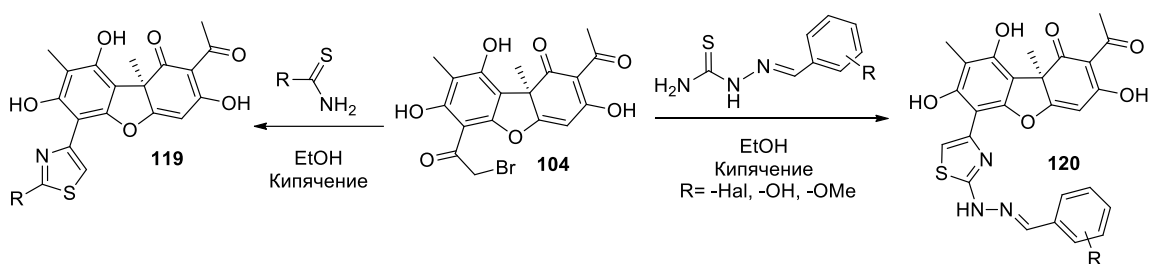


Схема 63

1.8 Модификация кольца А

Известно небольшое количество реакций, приводящих к изменениям в структуре кольца А усниновой кислоты. Одной из таких модификаций является метилирование усниновой кислоты диметилсульфатом, описанное выше (схема 29) и протекающее с введением метильного заместителя при С⁸ атоме ароматической системы.

Ещё одним способом модификации кольца А является реакция с органическими надкислотами (*m*-хлорнадбензойной, надфталевой, надуксусной). Так, при введении усниновой кислоты в реакцию с надуксусной кислотой в хлороформе при комнатной температуре происходит образование смеси эпоксидов **121** и **122** с выходами 41% и 27% соответственно (схема 64) [91]. Строение одного из продуктов – соединения **121**, было

подтверждено методом РСА. Показано, что эпоксидная и гидроксильная группа имеют транс-ориентацию в отношении C¹⁵ метильной группы, что может быть связано со стерическими затруднениями. При введении в такую же реакцию пиразола **9**, происходит образование производного **123**, выделенного в качестве единственного продукта реакции с выходом 43%.

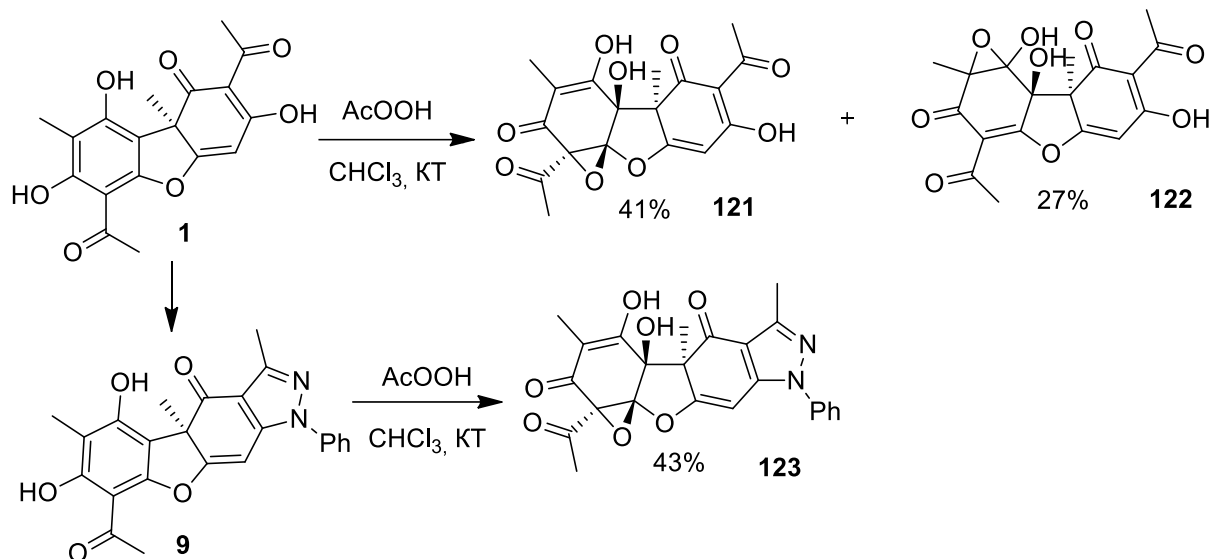


Схема 64

1.9 Заключение

Усниновая кислота – давно и хорошо известный вторичный метаболит многих лишайников, в силу своей доступности и широкого спектра биологической активности постоянно привлекает интерес исследователей как биологической, так и химической специализаций. Интерес химиков-синтетиков к этому низкомолекулярному соединению претерпевал спады и подъёмы, последние, в первую очередь, под влиянием обнаружения новых биологически активных производных с заметной активностью.

Усниновая кислота относится к классу дибензофуранов, последней стадией её биосинтеза фактически является димеризация метилфлорацетофенона с образованием в одной молекуле двух различных ацетилзамещённых трикетонных систем, реакционная способность которых существенно отличается. Анализ литературы по химической модификации усниновой кислоты показывает, что одна из них, включающая цикл А, вступает в реакцию преимущественно с электрофильными реагентами, в то время как вторая, включающая кольцо С - с нуклеофилами. Этот факт обуславливает большое разнообразие химических трансформаций, которым может быть подвергнута усниновая кислота. Несмотря на то, что химия усниновой кислоты изучается уже почти сто лет,

исследования последних двух десятилетий позволили обнаружить новые аспекты её реакционной способности, с использованием которых получены новые структурные типы её производных.

Анализ литературы позволяет выделить несколько реакционноспособных структурных фрагментов, а именно: трикетонная система кольца С, поляризованная двойная связь $C^4=C^{4a}$, фенольные группы кольца А, ацетильная группа кольца А, а также непосредственно бензольное кольцо А.

Для целей синтеза новых биологически активных соединений все известные модификации можно условно поделить на позволяющие трансформировать непосредственно дибензофурановый остов, и, возможно, изменить направления дальнейших модификаций, и на те, которые позволяют вводить разнообразные заместители, что позволит получить серии структурноподобных соединений.

Наиболее доступной и легко воспроизводимой модификацией, позволяющей вводить различные заместители, является модификация экзоциклической карбонильной группы кольца С реакцией с первичными аминами, протекающая с образованием соединений енаминового типа. Реакция усниновой кислоты с N,N- или N,O-бинуклеофилами протекает с формированием аннелированного цикла С пяти-, шести- или семичленного гетероцикла, расположение которого зависит как от структуры бинуклеофила, так и от условий реакции.

Кольцо А усниновой кислоты подвергается характерным для 2,4-дигидроксиацетофенонового фрагмента модификациям, таким как эпоксидирование и метилирование по атому углерода бензольного кольца. С точки зрения введения заместителей при кольце А, наиболее важным является реакция бромирования усниновой кислоты. Образующаяся при этом 14-монобромусниновая кислота содержит α -галогенкетонный фрагмент, который позволяет получать различные производные с заместителями линейного или гетероциклического строения, хотя небольшое разнообразие описанных в литературе кажется несоответствующим синтетическому потенциалу этого фрагмента. Модификация ацетильной группы цикла А также позволяет получать соединения с новым пяти- и шестичленными конденсированными с кольцом А гетероциклическими фрагментами.

Таким образом, можно заключить, что проведённые исследования показывают возможности селективной модификации усниновой кислоты по различным положениям, что делает её перспективной платформой для синтеза широкого ряда разнообразных соединений.

3. Обсуждение результатов

3.1 Введение

Тирозил-ДНК фосфодиэстераза 1 (TDP1) является одним из важнейших ферментов репарации ДНК, который играет ключевую роль в устранении повреждений ДНК, вызванных клинически используемыми противоопухолевыми препаратами. TDP1 принадлежит к суперсемейству фосфолипаз D и восстанавливает повреждения ДНК на 3'-конце, в частности, он гидролизует комплексы расщепления топомеразы 1 (Top1) [92], которые образуются под действием ингибиторов топоизомеразы 1, таких как камптотecin и его производные - топотекан и иринотекан (рис. 7).

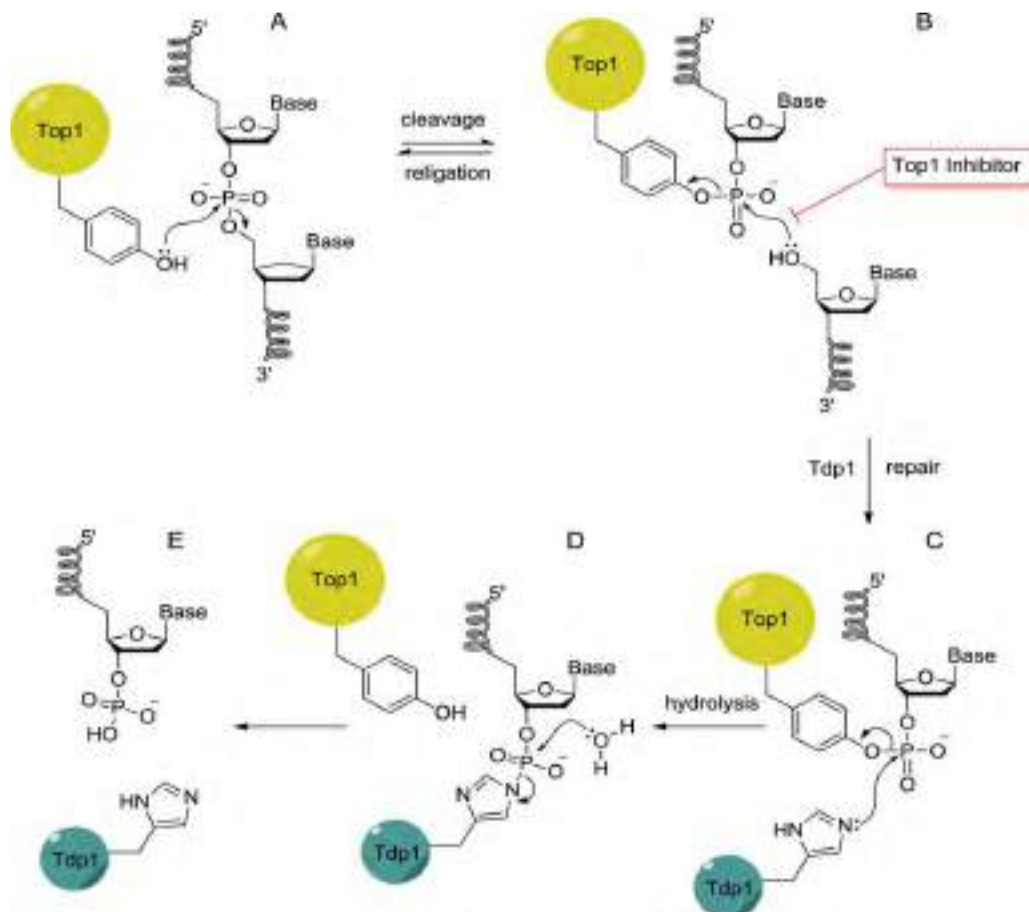


Рисунок 7 Механизм действия TDP1 [93]

Ингибиторы TDP1 изучаются с 2000-х годов. К настоящему времени синтезировано и исследовано множество соединений в качестве ингибиторов TDP1. Наиболее эффективными являются производные роданина [93], пиррола [94], бензотиопина [95], а также 3,4-депостатин [96] (соединения **124-127**, рис. 8).

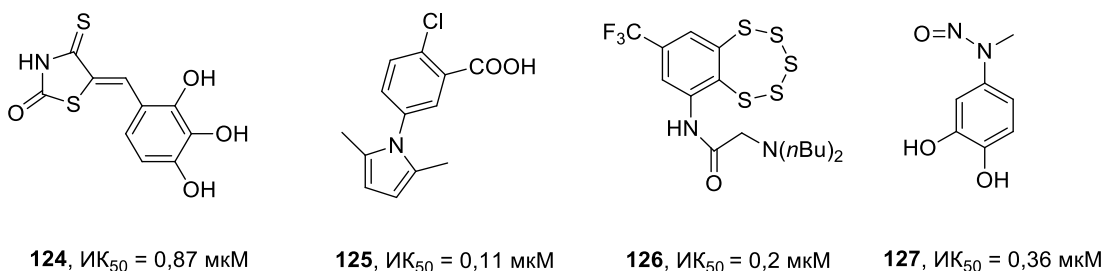


Рисунок 8 Структура наиболее эффективных синтетических ингибиторов TDP1

Анализ литературы показывает, что природные соединения являются перспективной платформой для разработки эффективных ингибиторов этого фермента. В качестве ингибиторов TDP1 исследованы различные классы соединений, например, моно-, ди- и тритерпеноиды; алкалоиды; гликозиды; фенольные соединения. Большинство изученных природных соединений ингибируют TDP1 в микромолярных и более высоких концентрациях. Тем не менее, химические модификации природных соединений позволяют получать более эффективные ингибиторы (соединения **128-131**), которые работают в субмикромолярных концентрациях (рис. 9) [97, 98, 99, 100, 101, 102].

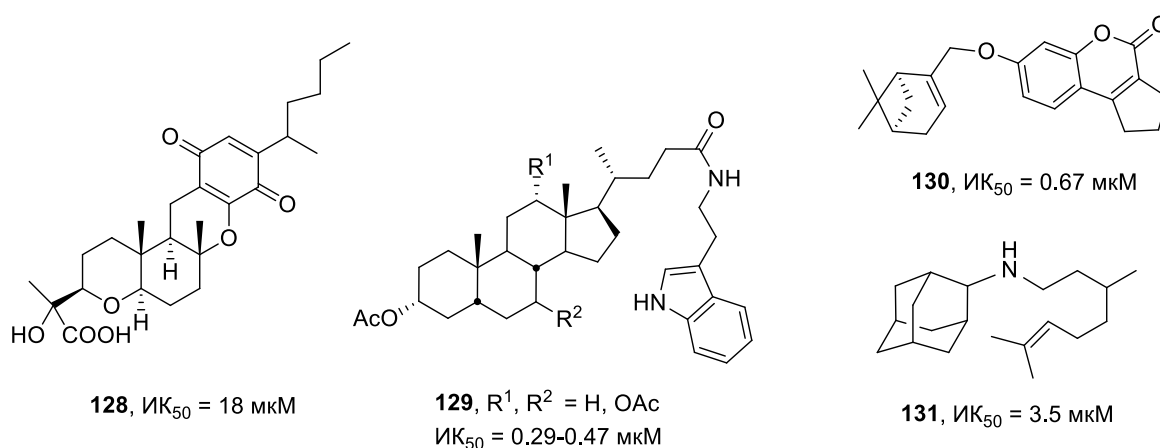


Рисунок 9 Структуры ингибиторов TDP1, полученных на основе природных соединений

Для многих изученных соединений ингибирующая активность, наблюдаемая в скрининговых тестах на очищенном ферменте, была подтверждена в экспериментах на культивируемых клетках, о чем свидетельствует синергизм между ингибитором TDP1 и противоопухолевым препаратом (топотекан). Фенольные соединения, представленные классами кумаринов, изохинолинов и дибензофуранов, являются наиболее многочисленными веществами среди эффективных ингибиторов TDP1 природного происхождения. В этом ряду особо выделяются производные вторичного метаболита лишайников усниновой кислоты, ингибирующая активность которых проявляется в концентрациях вплоть до наномолярных (рис. 10). Для соединений **2a** и **3** синергический

эффект с противоопухолевым препаратом был подтвержден как *in vitro*, так и в экспериментах на животных [4].

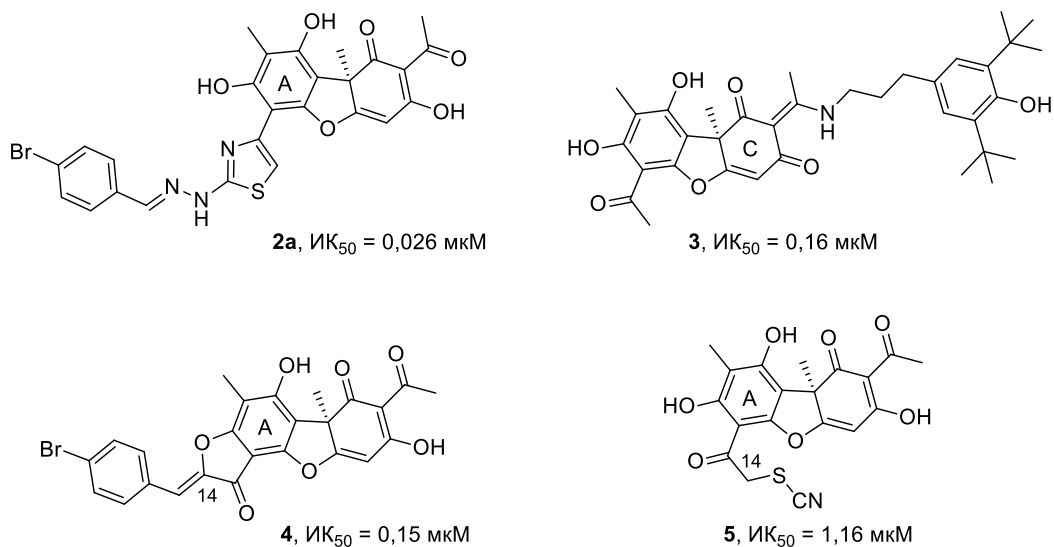


Рисунок 10 Ингибиторы TDP1 на основе усниновой кислоты

Несмотря на данные, подтверждающие высокую активность соединений **2** и **3**, синтезированных на основе усниновой кислоты, каждое из них не лишено недостатков, ограничивающих, либо же делающих невозможным, их внедрение в качестве фармакологических агентов. Для соединения **2a** это, прежде всего, высокая цитотоксичность (ЦК₅₀ = 1,7 - 12,0 мкМ). Для соединения **3** – недостаточно высокая эффективность связывания с ферментом. Небольшое количество аналогов соединений **2** и **3** на основе усниновой кислоты, протестированных в отношении TDP1, делает неочевидным влияние отдельных структурных модификаций на ингибирующую и цитотоксическую активность и актуализирует синтез новых эффективных и безопасных ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 на основе усниновой кислоты.

Тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 2 (TDP2) принадлежит к суперсемейству Mg²⁺/Mn²⁺-зависимых фосфодиэстераз и восстанавливает повреждения на 5'-конце, такие, как образование 5'-фосфотирозина, продукта ковалентного присоединения Топоизомеразы 2 (Тор2) к ДНК. [103, 104]. Ингибиторы Тор2, широко используемые в клинической практике в качестве противораковых препаратов (этопозид, доксорубин), стабилизируют ковалентный комплекс Тор2-ДНК и вызывают гибель клеток [105]. Аналогично действию TDP1, повышенный уровень TDP2 снижает эффективность этих препаратов, и наоборот, дефицит TDP2 приводит к значительному повышению чувствительности к ингибиторам Тор2 [103, 106]. Таким образом, ингибиторы TDP2 могут повышать эффективность химиотерапии за счет синергии с ингибиторами Тор2.

Тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 2 известна в качестве фермента репарации ДНК человека с 2009 года [104]. В связи с этим список известных ингибиторов TDP2 значительно ограничен и представлен в основном деазафлавинами [107, 108], производными хинолинов и изохинолинов [109, 110] а также триазолопиридинов (соединения **132-135** рис. 11). Анализ тематической литературы показывает, что для эффективных ингибиторов TDP2 характерно наличие в структуре гетероциклических фрагментов, в первую очередь азотистых циклов. На данный момент в литературе отсутствуют данные об ингибиторах TDP2 на основе усниновой кислоты.

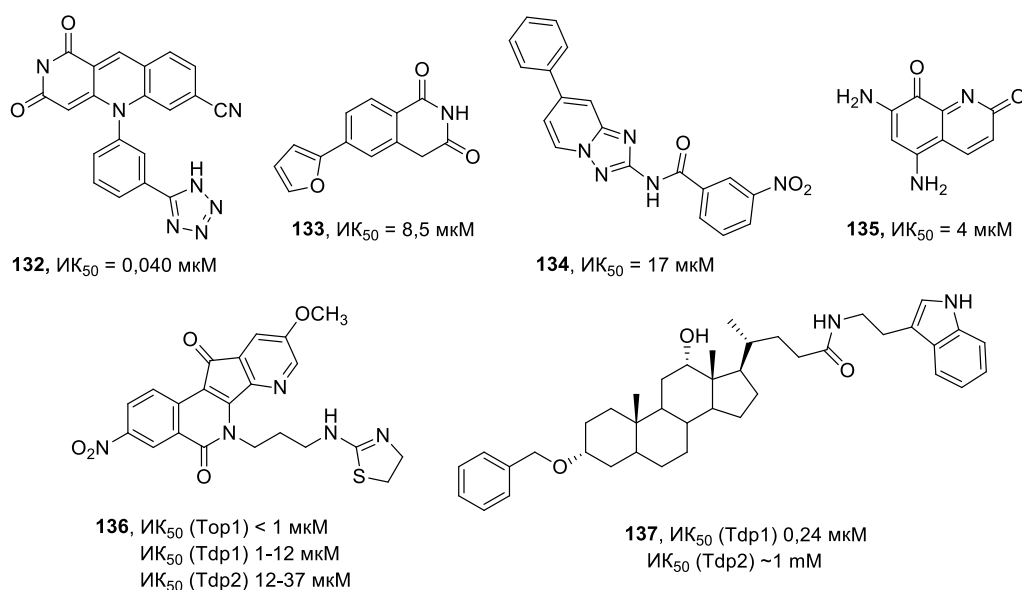


Рисунок 11. Структура наиболее эффективных ингибиторов TDP2

Следует отметить недавно обнаруженную способность TDP1 и TDP2 брать на себя функции друг друга, хотя и с меньшей эффективностью [111, 112, 113]. Это делает весьма перспективным создание препаратов, способных одновременно ингибировать TDP1 и TDP2. Недавние исследования демонстрируют принципиальную возможность синтеза соединений, ингибирующих одновременно и TDP1 и TDP2 (соединения **136** и **137**) [114, 115].

Для планирования направления синтетических модификаций усниновой кислоты, ведущих к потенциальным ингибиторам тирозил-ДНК-фосфодиэстераз, нами проведён анализ современной литературы по химическим трансформациям усниновой кислоты. Из данных литературного обзора сделан вывод, что структура усниновой кислоты, несмотря на наличие большого количества функциональных групп, не способствует большому разнообразию химических модификаций, подходящих для препаративного синтеза. Наиболее изученными и препаративно удобными направлениями модификации являются модификации трикетонной системы кольца С – введение енаминового или пиразольного фрагментов, а также ацетильной группы кольца А – введение заместителей при С¹⁴

положении усниновой кислоты или построение тиазольного цикла. Кроме того, литературные данные подтверждают перспективность таких модификаций для получения эффективных ингибиторов TDP1 (рис. 10) [4]. В нашей работе для синтеза новых потенциальных ингибиторов TDP1 и TDP2 на основе усниновой кислоты использовались как эти химические модификации с использованием реагентов, содержащих фармакофорные по отношению к тирозил-ДНК-фосфодиэстеразам фрагменты, так и были разработаны новые синтетические подходы.

Исследование ингибирующей активности в отношении TDP1 и TDP2, а также цитотоксичности полученных в данной работе производных усниновой кислоты проведено сотрудниками лаборатории биоорганической химии ферментов Института химической биологии и фундаментальной медицины под руководством д.х.н., акад. РАН, проф. Лаврик О. И. Исследование противоопухолевого эффекта соединения **162b** в экспериментах на животных проведено сотрудниками ФИЦ Институт цитологии и генетики под руководством к.б.н. Поповой Н.А. (см. приложение 1)

3.2 Синтез ингибиторов TDP1 на основе усниновой кислоты

За основу дизайна ингибиторов TDP1 взяты соединения **2a** и **3** (рис. 10) как наиболее перспективные классы производных усниновой кислоты в качестве ингибиторов TDP1, задачей данного этапа работы был синтез альтернативных аналогов этих соединений, выявление зависимостей «структура-активность».

3.2.1 Синтез аналогов соединения 2a с вариацией линкера между тиазолом на основе усниновой кислоты и арильным заместителем

Полученное ранее производное усниновой кислоты **2a**, содержащее в своем составе гидразонотиазольный фрагмент, проявляет высокую активность в отношении TDP1 с ИК₅₀ = 0,026 мкМ [90]. Однако, как уже упоминалось выше, производное **2a** обладает высокой цитотоксичностью и содержит в своей структуре фрагмент, относящийся к категории PAINS. Литературные данные свидетельствуют, что в ряду фенилзамещённых тиазолов с гидразоновым, аминным линкерами и без линкера ингибирующая TDP1 активность снижается, что говорит о влиянии структуры линкера (возможно, длины и/или количества гетероатомов) на ингибирующую активность (рис. 12).

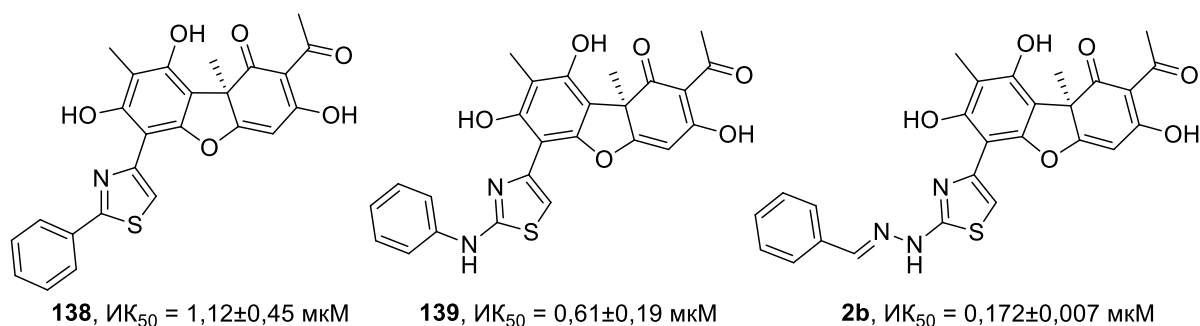


Рисунок 12 Ингибирующая TDP1 активность фенилзамещённых тиазолов на основе усниновой кислоты [90]

В качестве альтернативы гидразоновому линкеру может выступать амидный. Такая функциональная группа является малореакционноспособной и устойчивой к гидролизу. Удобным исходным веществом для синтеза производных усниновой кислоты с тиазольным циклом с амидным линкером **140** является производное усниновой кислоты с аминотиазольным фрагментом **116** (схема 65). Для получения целевого производного **140** нами была проведена реакция ацилирования синтезированного по литературной методике [90] тиазола **116** бензоилхлоридом в присутствии триэтиламина. Однако, в классических условиях ацилирования реакция не протекала, из реакционной смеси был выделен лишь исходный тиазол **116**.

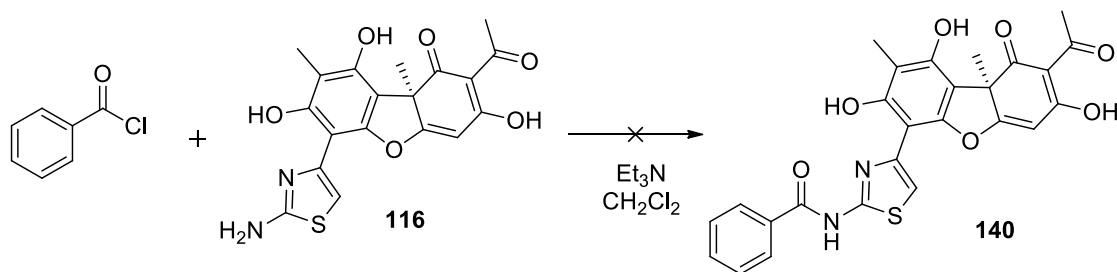
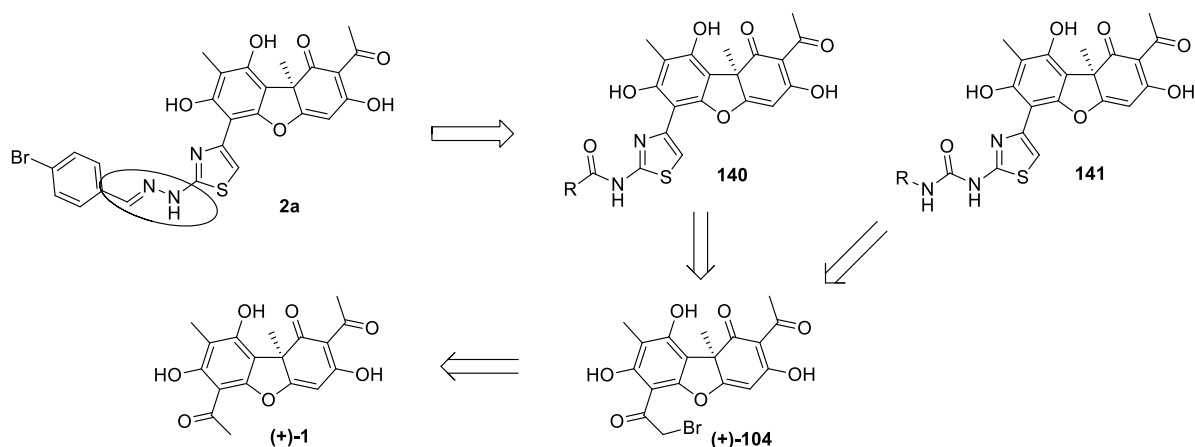
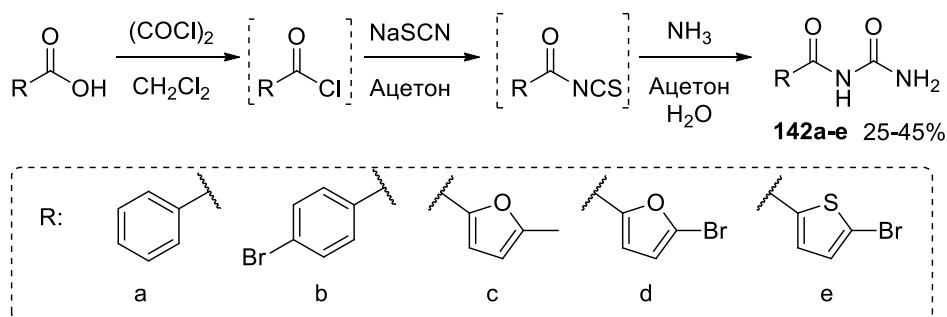


Схема 65

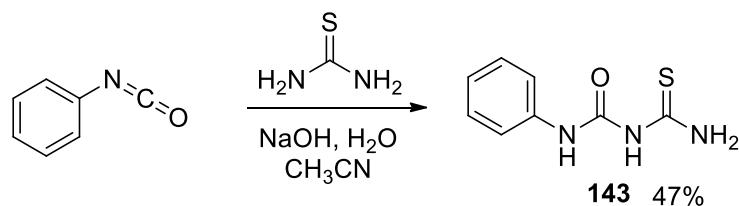
Так как такой подход не привёл к желаемому результату, было решено синтезировать целевое соединение **140** исходя из (+)-бромусниновой кислоты и производных тиомочевины. Таким образом гидразоновый фрагмент может быть заменен не только на тиаамидный, но и карбамидный – производные структуры **140** и **141** соответственно (схема 66). Синтез целевых соединений предполагалось проводить исходя из (+)-бромусниновой кислоты **(+)-104** и соответствующих ацилтиомочевин или тиодимочевин.



Ацилтиомочевины **142a-e** были синтезированы исходя из соответствующих ароматических и гетероароматических кислот согласно литературной методике [116]. На первой стадии были получены хлорангидриды путём реакции кислот с оксалилхлоридом (схема 67). Затем хлорангидриды без дополнительной очистки вводили в реакцию с роданидом натрия в ацетоне при комнатной температуре в течение часа, после чего к реакционной смеси добавляли водный аммиак. Целевые ацилтиомочевины выделяли методом высаживания водой и при необходимости очищали методом колоночной хроматографии. Выходы продуктов варьировались от 25 до 45%.



Синтез тиодимочевины **143** проводили по реакции фенилизотиоцианата с тиомочевинной в присутствии гидроксида натрия в смеси вода-ацетонитрил при комнатной температуре (схема 68). Продукт был получен с выходом 47% после колоночной хроматографии.



На последней стадии была проведена реакция между (+)-бромусниновой кислотой **(+)-104** и соответствующей ацилмочевинной **142** или тиодимочевинной **143**. Реакцию проводили в метаноле при комнатной температуре (схема 69). Продукты выделяли методом осаждения. Выход продуктов составил 82-95%.

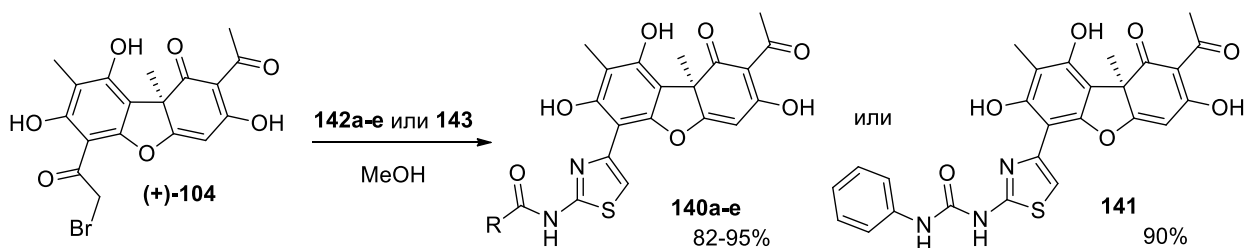


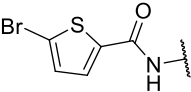
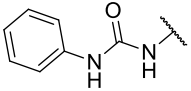
Схема 69

Таким образом был получен ряд новых тиазолов на основе усниновой кислоты с амидным заместителем **140a-e** (5 соединений), а также карбамидным (соединение **141**).

Все полученные на данном этапе тиазолы на основе усниновой кислоты как с амидным (соединения **140a-e**), так и с карбамидным (соединение **141**) заместителем обладают ингибирующей активностью приближенной к субмикромольному диапазону ($IK_{50} = 0,6-4,7$ мкМ; таблица 1). Анализ данных таблицы 1 позволяет отметить, что соединения, содержащие атом брома в заместителе (производные **140b,d,e**) имеют несколько большую активность, по сравнению с остальными соединениями. Наименьшую активность проявило производное **140c**, содержащее 5-метилфурановый заместитель – $IK_{50} = 4,7 \pm 0,2$ мкМ.

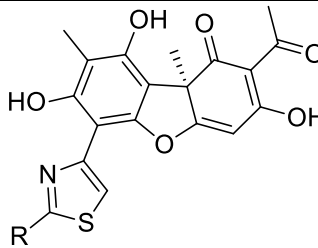
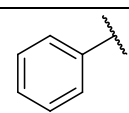
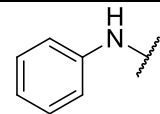
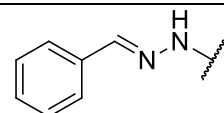
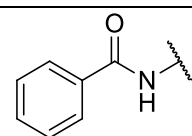
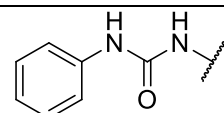
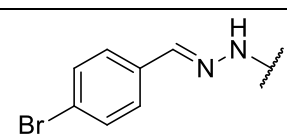
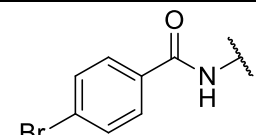
Таблица 1 Ингибирующая TDP1 активность производных **140a-e** и **141**

№		IK_{50} TDP1, мкМ
140a		$1,5 \pm 0,6$
140b		$0,9 \pm 0,2$
140c		$4,7 \pm 0,2$
140d		$0,9 \pm 0,4$

140e		0,6±0,4
141		1,3±0,1

В таблице 2 приведены данные об ингибирующей TDP1 активности тиазолов с амидным заместителем (соединения **140a,b**) в сравнении с аналогичными тиазолами, содержащими отличный по строению линкер. Анализ данных ингибирующей активности в ряду фенилзамещённых тиазолов **138**, **139**, **2b**, **140a**, **141** свидетельствует, что замена гидразонового линкера на амидный или карбамидный приводит к значительному уменьшению ингибирующей активности (на порядок величины), уравнивая соединения **140a** и **141** по ингибирующей активности с фенилтиазолом **138**. Такая же разница в активности наблюдается и в паре соединений **2a** и **140b**. При этом из данных таблицы 2 можно видеть, что снижение цитотоксичности соединения при переходе от гидразонового линкера (соединение **2a**) к амидному (соединение **140b**) незначительное, хотя эффект усиления действия топотекана сохраняется.

Таблица 2 Ингибирующая TDP1 активность тиазолов на основе усниновой кислоты

№		ИК ₅₀	ЦК ₅₀ , MCF-7	Усиление цитотоксического эффекта топотекана <i>in vitro</i> (MCF-7) *
138		1,12 ± 0,45	н/и	н/и
139		0,61 ± 0,19	н/и	н/и
2b		0,172 ± 0,007	н/и	н/и
140a		1,5 ± 0,6	н/и	н/и
141		1,3 ± 0,1	н/и	н/и
2a		0,026 ± 0,011	1,69 ± 0,05 μM	3
140b		0,9 ± 0,2	5,8 ± 1,1	4

*Измерялась как соотношение полуцитотоксической концентрации топотекана и топотекана с добавкой ингибитора TDP1 (см. приложение 2).

Полученные данные свидетельствуют о том, что в ряду синтезированных нами тиазолов на основе усниновой кислоты производные с гидразоновым линкером являются наиболее перспективным классом производных. Поэтому следующая часть работы была направлена на расширение библиотеки данного типа производных.

3.2.2 Синтез библиотеки производных усниновой кислоты, содержащих гидразонотиазольный фрагмент

С целью выявления зависимости ингибирующей TDP1 активности от структуры заместителя R в гидразоновом фрагменте производных общей структуры **2** библиотека соединений такого типа была расширена путем синтеза новых производных с варьированием заместителя в гидразоновом фрагменте молекулы. Методика синтеза описанных ранее (схема 70, раздел 2.6) гидразонотиазолов **120** предполагает на первой стадии введение усниновой кислоты в реакцию бромирования, а также синтез широкого ряда тиосемикарбазонов альдегидов. Полученные тиосемикарбазоны **144** взаимодействуют с 14-бромусниновой кислотой **104** с образованием целевых гидразонотиазолов.

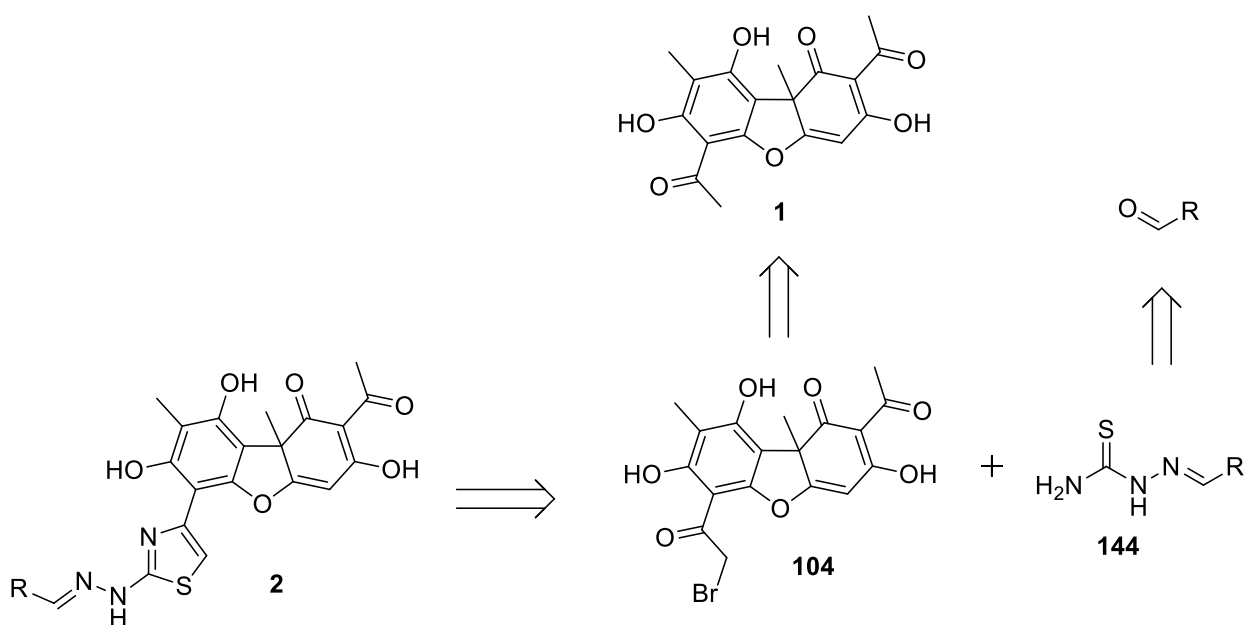


Схема 70

Для синтеза новых гидразинотиазолов **2** было выбрано несколько классов альдегидов (схема 71). Первый включает в себя гетероароматические альдегиды, содержащие один или два гетероатома – альдегиды на основе пиридина, тиофена, фурана, пиррола, имидазола и индола. Такие соединения являются ближайшими аналогами ароматическим альдегидам, однако в их структуре могут присутствовать атомы, способные к созданию водородных связей с молекулой фермента. Например, снижение полуингибирующей TDP1 концентрации при замене арильного заместителя на гетарильный наблюдалось в ряду синтезированных нами амидотиазолов **140a-e** (таблица 1). Второй класс включает в себя ароматические альдегиды, содержащие протяженный заместитель, связанный с бензольным кольцом через метиленовую группу, что добавляет дополнительную степень вращательной свободы молекуле. Такой заместитель может

являться своеобразным «якорем», что может способствовать лучшему связыванию с активным сайтом фермента. Третий тип – монотерпеновые альдегиды. Монотерпеноиды слишком малы и слишком липофильны, чтобы ингибировать фермент самостоятельно, но они согласно литературным данным [4] могут быть очень полезны для корректировки структуры лиганда, чтобы он более плотно прилегал к активному центру фермента; это особенно верно для гибких ациклических лигандов, способных принимать любую желаемую конформацию. Для выявления зависимости «структура-активность» монотерпеновые альдегиды для синтеза выбирали как ациклические, так и моно- и бициклические. Для выявления влияния структуры используемого в качестве основы для синтеза дибензофуранового остова целевые гидразонотиазолы были синтезированы исходя как из (+)-усниновой кислоты, так и из её (-)-энантиомера.

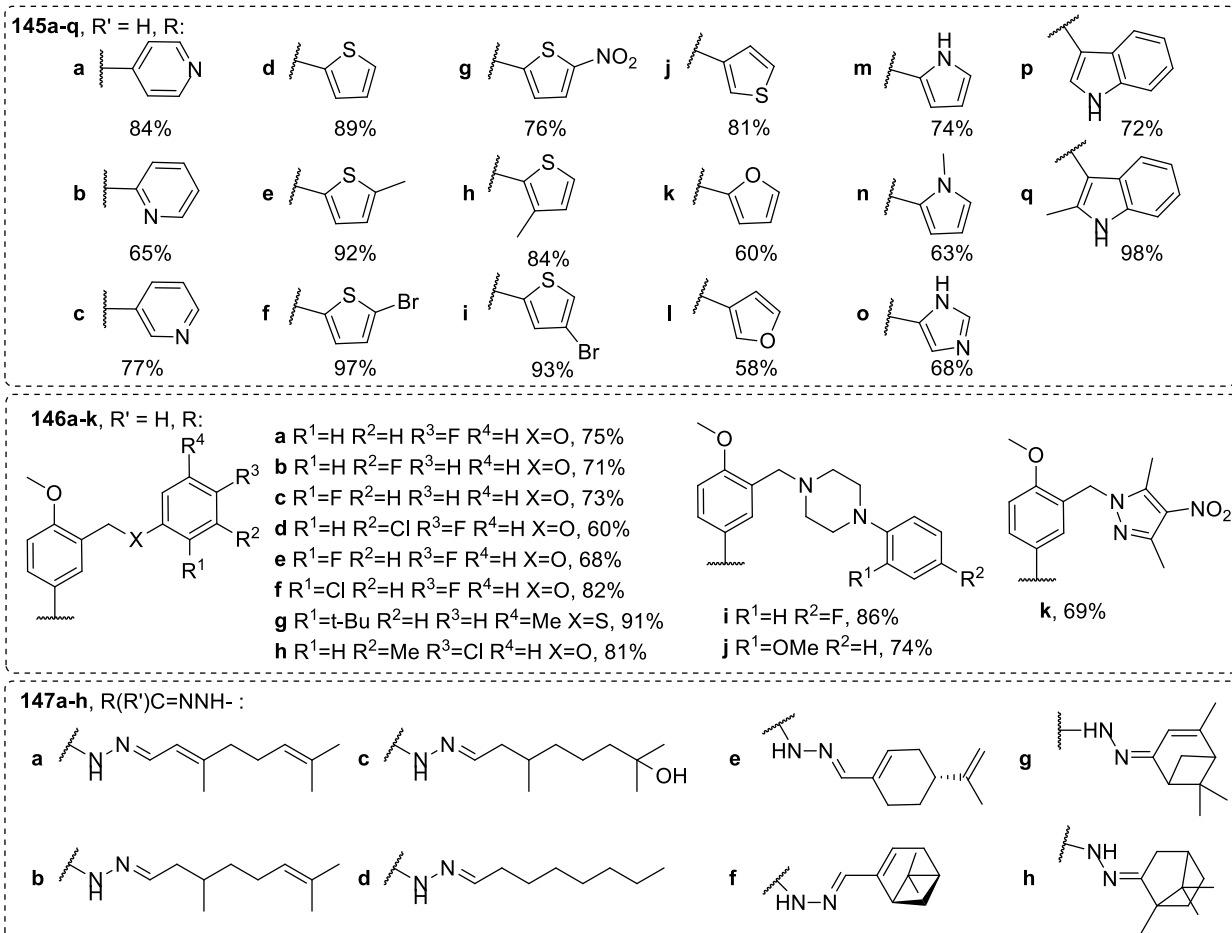
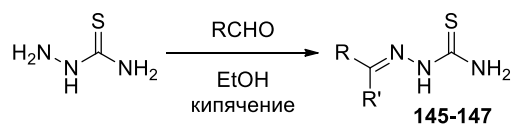


Схема 71

Синтез тиосемикарбазонов **145-147** осуществляли путем реакции выбранных альдегидов с избытком тиосемикарбазида в этаноле при кипячении. В результате было получено 36 тиосемикарбазонов с выходами 60-97%. Так как цитронелаль и

гидроксицитронелаль использовались в виде рацемической смеси, получаемые из них соединения **147b,c** выделялись также в виде рацемических смесей. Тиосемикарбазон вербенона **147g** был выделен в виде смеси E и Z изомеров.

Методика, использованная ранее для синтеза гидразинотиазолов на основе усниновой кислоты (соединения типа **2**, схема 70) [90], была нами модифицирована, поскольку не позволяла получить целевые производные **148a-q** с достаточной для тестирования биологической активности чистотой. Ранее синтез гидразинотиазолов **2** проводили кипячением эквимолярных количеств соединения **104** и соответствующего тиосемикарбазона бензальдегидов в этиловом спирте (95% или абсолютированный) в течение 1 часа, целевые продукты типа **2** выделяли методом колоночной хроматографии. Нами было обнаружено, что гидразинотиазолы с гетероароматическим заместителем (соединения **148a-q**) неустойчивы в условиях колоночной хроматографии, (выделяются с низкими выходами и с ещё большим количеством примесей). Содержание вещества около 70-80%. Поэтому методика проведения была модифицирована путем замены этанола на метанол, при этом происходит осаждение образующегося продукта из реакционной смеси, что позволило выделять соединения с большими выходами и чистотой (схема 72). Новая методика была применена для реакции бромусниновой кислоты **104** со всеми синтезированными тиосемикарбазонами **145-147**. В случае синтеза тиазолов **148a-c** с пиридиновым циклом, продукты были получены осаждением бромоводородной кислотой с получением соответствующих гидробромидов, что было подтверждено элементным анализом.

Тиазолы с гетероароматическими и ароматическими заместителями **148a-q** и **149a-k** были получены на основе как (+)- так и (-)-усниновой кислоты. Согласно данным по ингибирующей активности производных **148a-q** и **149a-k** (таблица 3) влияние выбранного энантиомера усниновой кислоты не оказывает однозначного влияния на ингибирующую TDP1 активность получаемых производных. Поэтому тиазолы с терпеновым заместителем были синтезированы с использованием одного энантиомера – (+)-усниновой кислоты. Всего на данном этапе работы было получено 64 новых соединения.

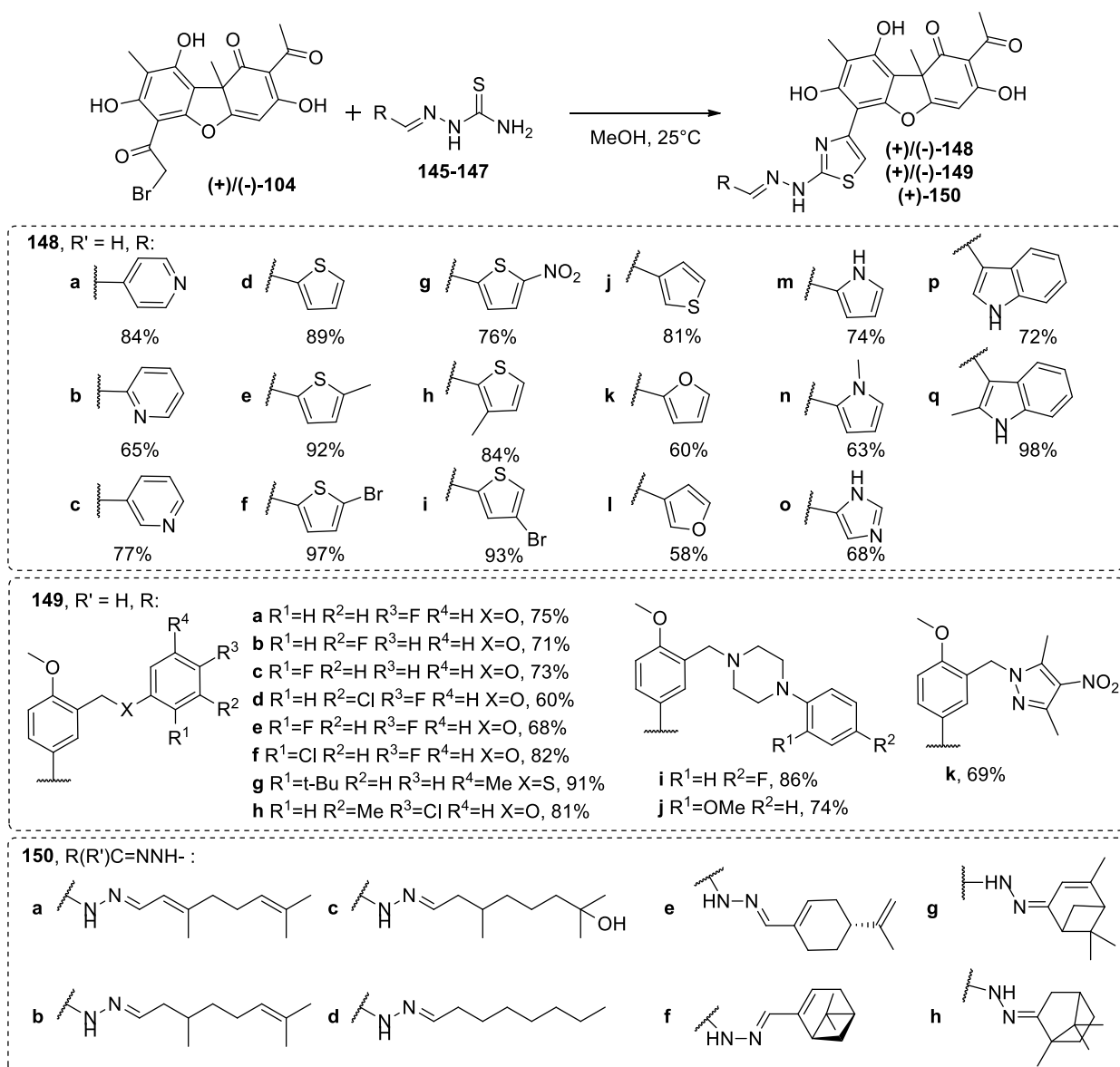


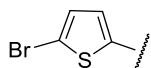
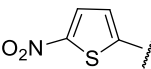
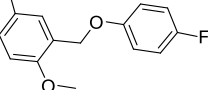
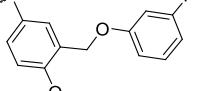
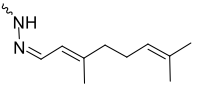
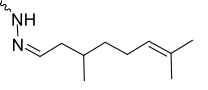
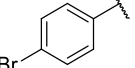
Схема 72

Гидразонотиазолы с гетероциклическим или протяженным ароматическим, а также заместителем проявили ингибирующую TDP1 активность, преимущественно лежащую в диапазоне концентраций 10-180 нМ (приложения 3-5). Полуингибирующая концентрация наиболее активных соединений оказалась сопоставимой по сравнению с активностью производного **2a** (табл. 2). Наиболее высокую ингибирующую активность (большую, чем гидразонотиазол **2a**) проявили соединения, полученные на основе цитраля и citronellal **150a,b**.

Для ряда наиболее перспективных соединений (производные **148f,g**, **149a,b** и **150a,b**) была измерена цитотоксичность, а также синергическое действие на цитотоксический эффект топотекана. Выбранные тиазолы оказались слаботоксичными в отношении линии клеток рака шейки матки HeLa (ЦК₅₀ >20 мкМ). Данные производные усиливали

цитотоксическое действие топотекана в отношении линии клеток HeLa в 2-7 раз (приложение 6).

Таблица 3 Ингибирующая TDP1 активность и цитотоксичность гидразонотиазолов на основе усниновой кислоты

№	R	(+)–энантиомер		(–)–энантиомер	
		ИК ₅₀ , мкМ	ЦК ₅₀ , мкМ HeLa	ИК ₅₀ , мкМ	ЦК ₅₀ , мкМ HeLa
148f		0,088 ± 0,003	80	0,043 ± 0,001	80
148g		0,070 ± 0,004	20	0,142 ± 0,004	20
149a		0,026 ± 0,008	>100	0,054 ± 0,003	>100
149b		0,026 ± 0,004	>100	0,078 ± 0,003	>100
150a		0,010±0,001	40	-	-
150b		0,016±0,001	90	-	-
2a		0,026 ± 0,011	26	-	-

Таким образом, в результате скрининга биологической активности библиотеки синтезированных нами гидразонотиазолов удалось выявить соединения с ингибирующей активностью в отношении TDP1, превышающей активность соединения-прототипа **2a**, и более низкой цитотоксичностью. Сохранение усиливающего действие топотекана эффекта при использовании этих соединений в тестах *in vitro* позволяет рассматривать их как перспективные для разработки агентов вспомогательной терапии ряда опухолевых заболеваний.

3.2.3 Синтез аналогов соединения 3 с вариацией структуры заместителя в енаминовом фрагменте

Основываясь на том факте, что введение терпенового фрагмента привело к повышению ингибирующей активности в ряду гидразонотиазолов **148-150** мы использовали данный подход к дизайну ингибиторов TDP1 для синтеза аналогов второго соединения на основе усниновой кислоты, взятого в качестве прототипа (енамина **3**).

Енамины на основе усниновой кислоты являются одним из наиболее активных классов ингибиторов TDP1, например, соединение **3**, проявляющее активность в субмикромольном диапазоне концентраций (рис. 7). Такого типа енамины являются наиболее распространенным классом производных, среди соединений, синтезированных на основе усниновой кислоты.

Единственным известным способом введения такого фрагмента в структуру усниновой кислоты является реакция с различными аминами в спирте, при этом реакция проходит региоселективно по C¹¹ карбонильной группе.

Целевые енамины **151a-e** были получены путем реакции (+)-усниновой кислоты с рядом терпеновых аминов в этаноле при комнатной температуре (схема 73). Производные **151a-e** были выделены с выходами 33-75% после колоночной хроматографии.

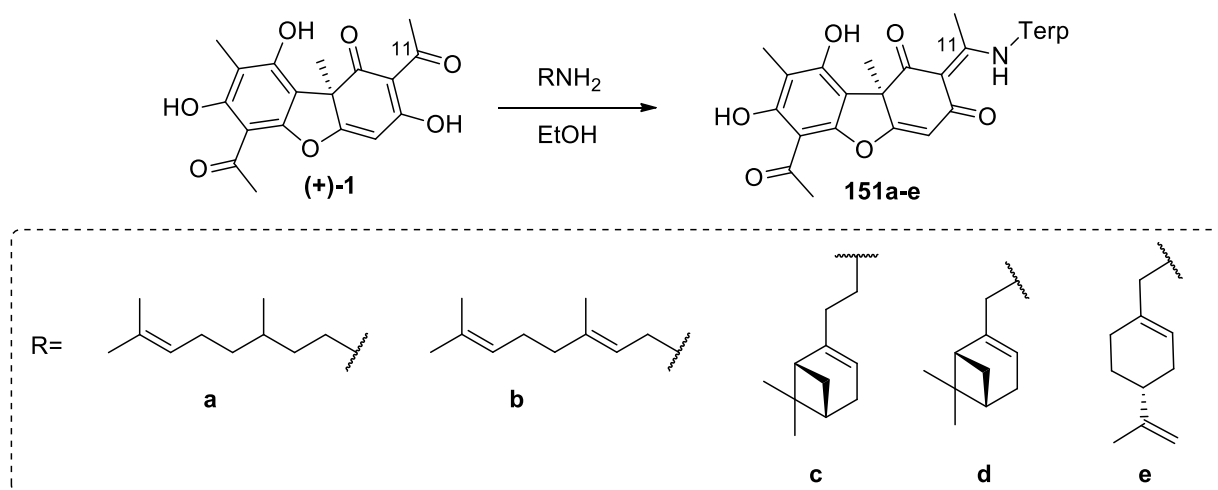


Схема 73

Известно, что структура заместителя в енаминовом фрагменте влияет не только на связывание с TDP1, но и на клеточные эффекты, выражаясь в изменении усиливающего цитотоксическое действие противоопухолевого препарата эффекта. Так, в ряду енаминов с 2,6-дитребутил-фенольным заместителем (соединения **3** и **152**, рисунок 13) такой эффект сильно зависит от длины линкера между усниновой кислотой и ионольным фрагментом, сильно падая при укорочении от трех до двух метиленовых звеньев.

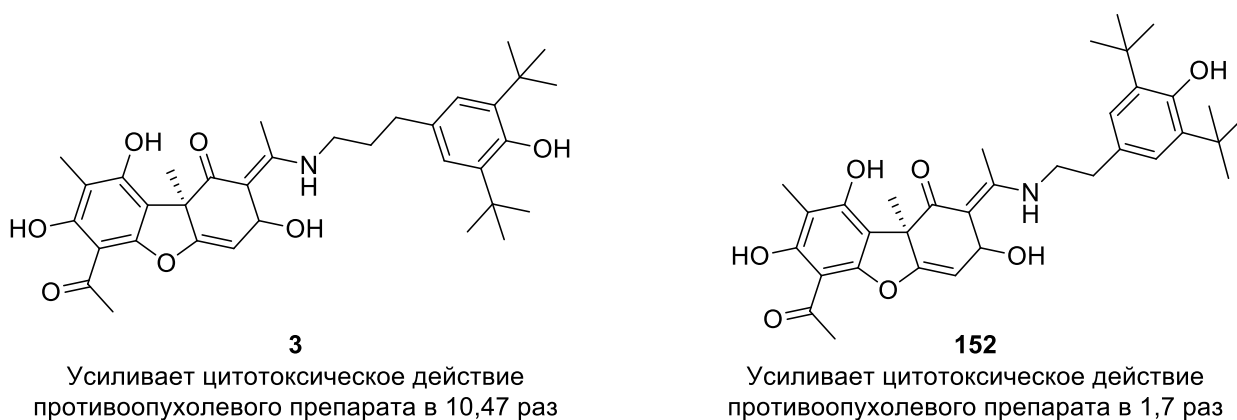


Рисунок 13. Соединения 3 и 152

Для выявления зависимости ингибирующей TDP1 активности и усиления цитотоксического действия топотекана эффекта на клеточном уровне от структуры соединений, в частности от положения терпенового фрагмента по отношению к дибензофурановому ядру, нами были синтезированы енамины, терпеновый заместитель в которых отдалён от остова усниновой кислоты через линкер. В качестве линкера был выбран мостик на основе γ -аминомасляной кислоты. Для того, чтобы уменьшить количество стадий синтеза целевых соединений **154a-e**, был выбран следующий порядок проведения реакций: на первом этапе была проведена реакция (+)-усниновой кислоты с γ -аминомасляной кислотой в этаноле при нагревании, затем полученное производное **153** вводили в реакцию с рядом терпеновых спиртов (схема 74). Для активации карбоксильной группы использовался 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (EDC) и диметиламинопиридин (DMAP) в качестве катализатора. Целевые енамины **154a-e** были выделены с выходами 45-69% после колоночной хроматографии.

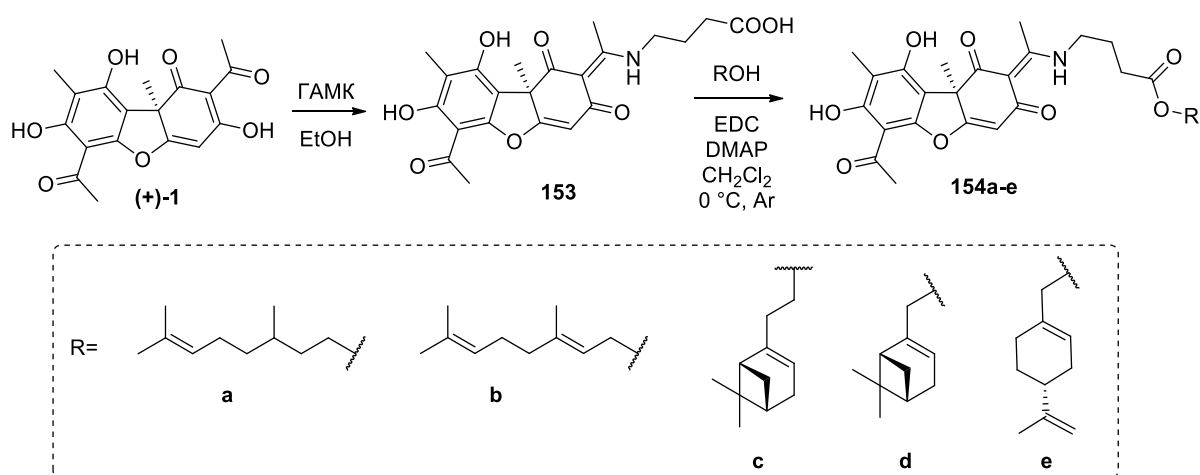
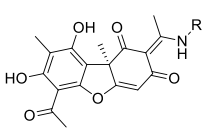
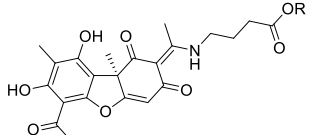
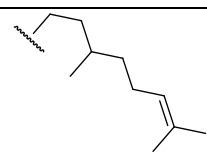
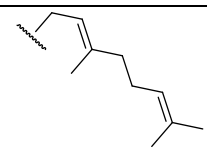
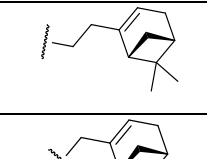
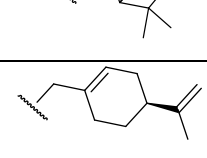
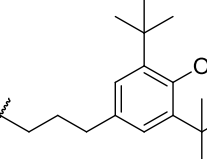
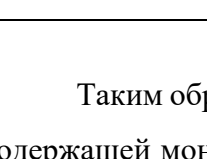


Схема 74

Производные **152a-e** проявили ингибирующую активность в отношении TDP1 в диапазоне концентраций полуингибирования 0,23-0,40 мкМ (табл. 4), что сопоставимо с

активностью соединения **3** (рис. 13). Интересно отметить, что полуингибирующая концентрация для аналогичных енаминов, содержащих линкер на основе ГАМК (соединения **154a-e**), оказалась на несколько порядков меньше. Полуцитотоксическая концентрация в отношении к линии клеток HeLa всех наиболее активных енаминов (соединения **154a-d**) оказалась больше 50 мкМ, что сравнимо с цитотоксичностью соединения **3** (>50 мкМ, [124]). Также данные производные показали усиливающий цитотоксическое действие топотекана в отношении линии клеток HeLa в 2-3 раза (приложение 7).

Таблица 4 Ингибирующая активность енаминов на основе усниновой кислоты **152** и **154**

		IC ₅₀ , μМ		IC ₅₀ , μМ
	152a	0,40±0,09	154a	>10
	152b	0,32±0,13	154b	>10
	152c	0,32±0,10	154c	>10
	152d	0,23±0,10	154d	>10
	152e	>10	154e	>10
	3	0,16±0,04	-	-

Таким образом, была получена серия новых енаминов на основе усниновой кислоты, содержащей монотерпеновый фрагмент (всего 10 соединений). По результатам скрининга биологической активности были обнаружены производные, обладающие ингибирующей

TDP1 активностью и цитотоксичностью, сравнимыми с теми же показателями соединения 3.

3.2.4 Изучение реакции усниновой кислоты с аммиаком

Известно, что енамины на основе усниновой кислоты являются преимущественно менее цитотоксичными по сравнению с самой усниновой кислотой [117, 118, 119, 120]. Это может быть связано с уменьшением протонной активности, которая в свою очередь зависит от кислотности гидроксильной группы OH^3 в структуре трикарбонильной системы кольца С усниновой кислоты [121, 122, 123]. Известно всего два препаративных метода модификации усниновой кислоты, которые затрагивают OH^3 гидроксильную группу: реакция с аминами, которая протекает исключительно по C^{11} карбонильной группе (см. раздел 2.4, схема 9) и реакция с гидразинами, которая может протекать с участием C^3 и C^{11} карбонильных групп или же C^1 и C^{11} атомов углерода (см. раздел 2.5, схема 21). При этом авторы исследования указывают на существенное влияние выбора растворителя, а также температурного режима реакции усниновой кислоты с гидразином или метилгидразином на её направление. Поэтому, с целью поиска новых возможных модификаций усниновой кислоты с целью уменьшения цитотоксичности получаемых производных мы исследовали возможность введения енаминового фрагмента в положение, отличное от C^{11} .

Согласно литературным данным, при взаимодействии усниновой кислоты с избытком водного аммиака (20%) в смеси бензол-этанол при кипячении с обратным холодильником происходит образование енамина **155** с выходом 82% (схема 75) [40]. Строение соединения было подтверждено методом РСА.

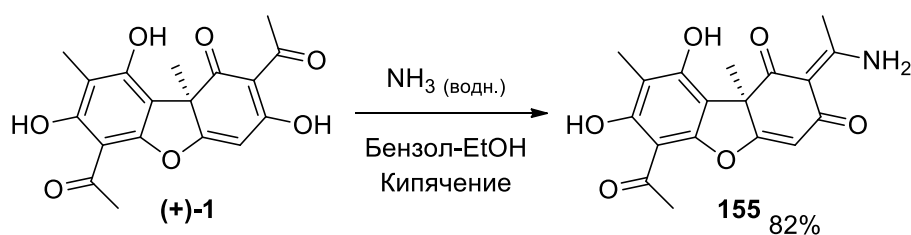


Схема 75

Нами была проведена аналогичная реакция с варьированием растворителей. Оказалось, что при проведении реакции в метаноле, этаноле, ДМСО, ДМФА, ацетонитриле и бензоле происходит образование ожидаемого продукта реакции – соединения **155**. Однако, при проведении реакции в воде образуется не только производное **155**, но и новое производное. Согласно спектрам ЯМР ^1H и ^{13}C для нового соединения была предложена структура **156**, в которой енаминовый фрагмент находится при атоме C^1 (схема 76).

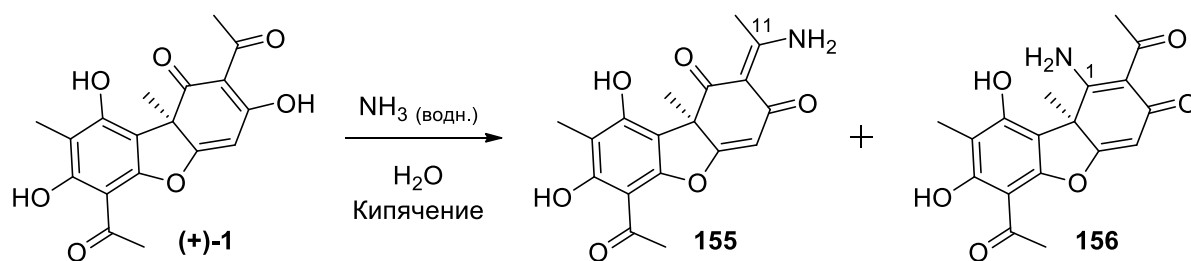


Схема 76

Продукты реакции могут быть легко разделены последовательным высаживанием из реакционной смеси. При понижении pH до 7 енамин **155** выпадает в виде осадка жёлтого цвета, который может быть отфильтрован. Затем, при дальнейшем подкислении реакционной смеси до значений pH < 5 происходит образование осадка серо-зелёного цвета – производное **156**.

Было отмечено, что соотношение продуктов данной реакции зависит от количества аммиака. Так при увеличении избытка аммиака происходит повышение содержания соединения **156** в реакционной смеси (табл. 5). Реакции проводили при кипячении с обратным холодильником при одинаковом объеме раствора.

Таблица 5 Соотношение енаминов **155** и **156** в реакционной смеси (согласно данным ЯМР) в зависимости от количества аммиака

Количество аммиака	Соединение 155	Соединение 156
12,5 экв.	72	28
50 экв.	65	35
75 экв.	59	41
100 экв.	51	49
125 экв.	34	66

Также было обнаружено, что соотношение продуктов **155** и **156** зависит от температуры проведения реакции (табл. 6). Количество енамина **156** повышается при снижении температуры. Реакции проводили с фиксированным количеством аммиака (125 экв.).

Таблица 6 Соотношение енаминов **155** и **156** в реакционной смеси (согласно данным ЯМР) в зависимости от температуры проведения реакции.

Температура*	Соединение 155	Соединение 156
9°C	следы	100
23°C	64	36
70°C	70	30
100°C	80	20

*Температура была измерена для песчаной или водяной бани.

Однако, при проведении данной реакции в других растворителях (метаноле, этаноле, ДМСО, ДМФА, ацетонитриле и бензоле) при варьировании как количества аммиака, так и температуры реакции происходит образование исключительно производного **155**.

Таким образом, нами показано, что реакция (+)-усниновой кислоты с водным аммиаком (125 экв.) при охлаждении (+9°C) приводит к образованию соединения **156** в качестве единственного основного продукта реакции с выходом 90%. Структура енамина **156** была подтверждена методом РСА (рис. 14). Енаминовая группа находится при C¹ атоме углерода.

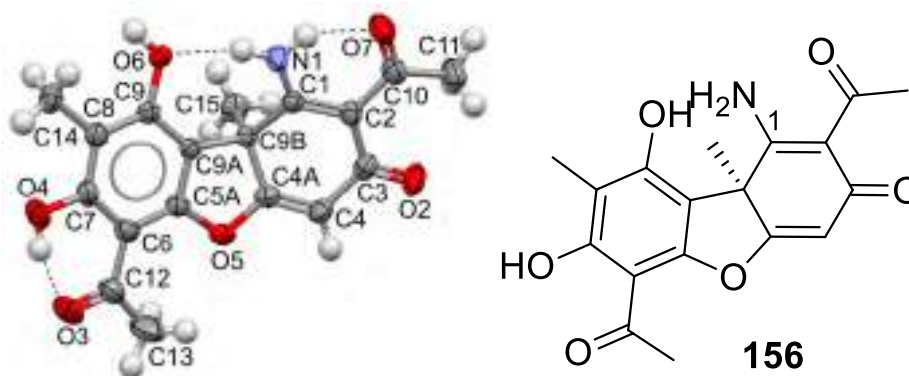


Рисунок 14

Разработанные условия аминирования (раздел 1.5) применили к тиазолу **2a**. Данное превращение может способствовать снижению собственной цитотоксичности получаемых соединений за счет снижения протонной активности получаемых производных [121].

При введении в реакцию аминирования гидразонотиазола **2a** реакция протекала исключительно по C¹¹ карбонильной группе (соединение **157**, схема 77) независимо от использованного растворителя, количества аммиака и температуры реакции. Наблюдаемая региоселективность процесса может быть связана со значительным влиянием гидразонотиазольного фрагмента на распределение электронной плотности на атомах углерода карбонильных групп. Об этом же свидетельствует и тот факт, что в ранее

проведенных исследованиях наблюдалась низкая скорость реакции тиазола **2a** с п-броманилином, по сравнению со скоростью аналогичной реакции для усниновой кислоты.

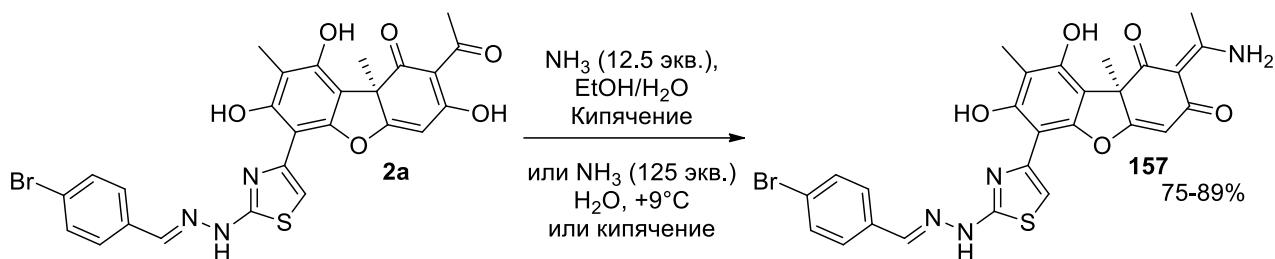


Схема 77

Для выявления влияния заместителей в кольце А усниновой кислоты на данное превращение нами в реакцию с избытком водного аммиака при охлаждении вводилось более простое производное, модифицированное по кольцу А – фуранон **99**. Для фуранона **99** также, как и в случае усниновой кислоты, в данных условиях наблюдалось образование енаминовой группы при C¹ атоме углерода (соединение **158**, схема 78). При этом при проведении аналогичной реакции в спирте наблюдался ожидаемый продукт реакции аминирования C¹¹ карбонильной группы – енамин **159**. Продукты реакции были выделены с выходами, близкими к количественным.

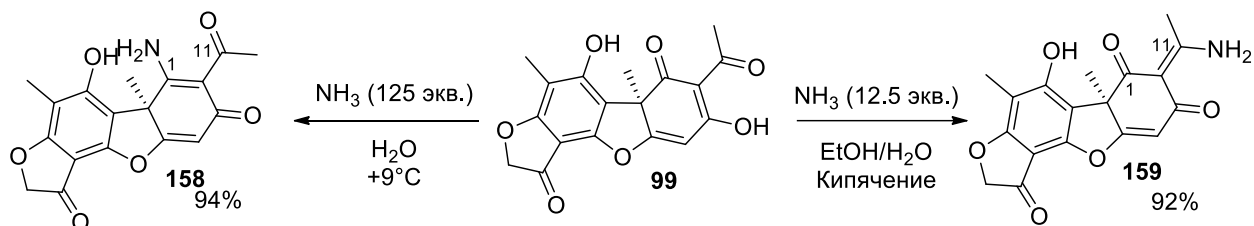


Схема 78

Аналогичные закономерности наблюдались и в случае реакции производного **100a**, в котором, в отличие от фуранона **99**, присутствует сопряженный заместитель. При проведении реакции в этаноле происходило аминирование C¹¹ карбонильной группы (соединение **160**, схема 79), в то время как при реакции в воде и при охлаждении наблюдалось образование производного **161**. Реакции протекали с количественными выходами.

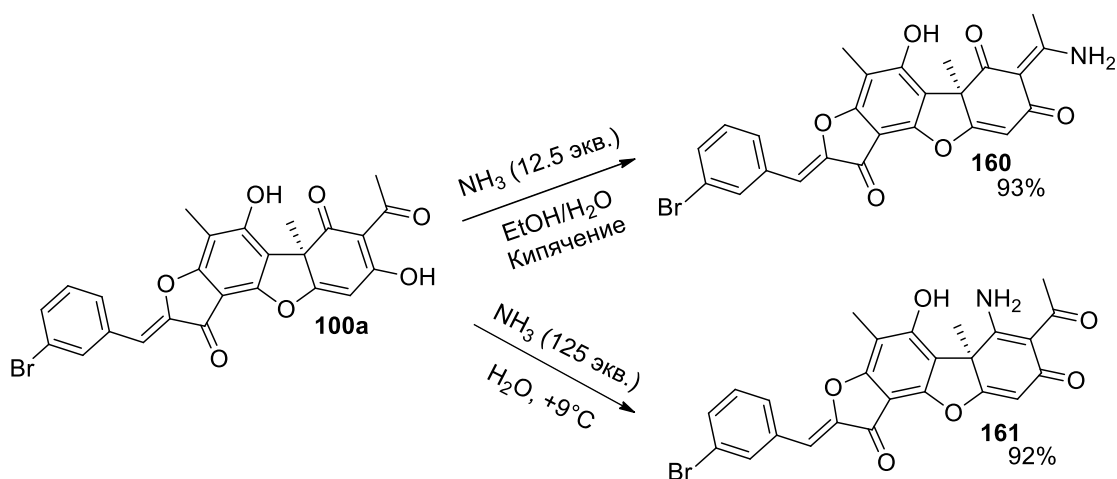


Схема 79

Таким образом было показано, что направление реакции аминирования неоднозначно зависит от структуры вводимого в реакцию производного усниновой кислоты. Изучение региоселективности этого процесса является вопросом для дальнейших исследований.

Для соединения **157** была изучена ингибирующая активность в отношении TDP1 (таблица 7). Результаты показали, полуингибирующая концентрация для производного **157** оказалась на порядок выше, чем для исходного гидразонотиазола **2a**. Введение енаминового фрагмента негативно сказалось на ингибирующей способности гидразонотиазола.

Таблица 7

№	Структура	ИК ₅₀ (TDP1), мкМ
157		0,25 ± 0,13
2a		0,026 ± 0,011

3.2.5 Разработка подходов к синтезу енаминов на основе производного усниновой кислоты с тиазольным циклом

Гидразонотиазол **2a** обладает высокой активной в отношении TDP1 ($IC_{50} = 0,026$ мкМ), однако при этом проявляет относительно высокую цитотоксичность (CC_{50} 1,69 – 12,00 мкМ) [90]. В то же время енамины на основе усниновой кислоты, как ранее описанные, так и синтезированные нами в рамках данной работы, как правило, обладают низкой цитотоксичностью по отношению к ряду клеточных линий, в том числе и неопухолевых: кератоцитов HaCaT, клеток фибробластов крысы L-6 и LMTK, MDCK (клетки почек собаки Мадина-Дарби) [117, 118, 119, 120]. Как правило, полутоксическая концентрация превышает 100 мкМ. При этом многие енамины на основе усниновой кислоты также проявляют ингибирующую TDP1 активность. Поэтому синтез производных усниновой кислоты, сочетающих в себе обе эти модификации, представляется перспективным и интересным с точки зрения возможного влияния как на ингибирующую, так и на цитотоксическую активности.

Данную модификацию проводили исходя из производного с тиазольным циклом **2a** (схема 80), опираясь на предположение, что обратный порядок сборки может быть более неудобным (в первую очередь из-за неоднозначности бромирования енаминов усниновой кислоты). В качестве аминной компоненты были выбраны те амины, модификация которыми усниновой кислоты приводила к усилению её ингибирующих в отношении TDP1 свойств и снижению токсичности - пара-броманилин и 1-амино-3-(3,5-ди-третбутил-4-гидроксифенил)пропан. Реакцию с аминами проводили в этаноле при кипячении согласно разработанным ранее в нашем коллективе методикам [124]. Было обнаружено, что для образования целевых производных необходимо существенно большее время реакции (15-20 часов), чем для реакции с аминами самой усниновой кислоты (2 часа).

Для выявления зависимости «структура-активность» аналогичная реакция была проведена и для соединения **148f** с 5-бромтиофеновым заместителем в гидразоновом фрагменте молекулы. На основе данного производного также были получены соответствующие енаминорные соединения **162c,d**. Выходы енаминов **162a-d** достаточно высокие (70-78%), выделение проводилось методом колоночной хроматографии.

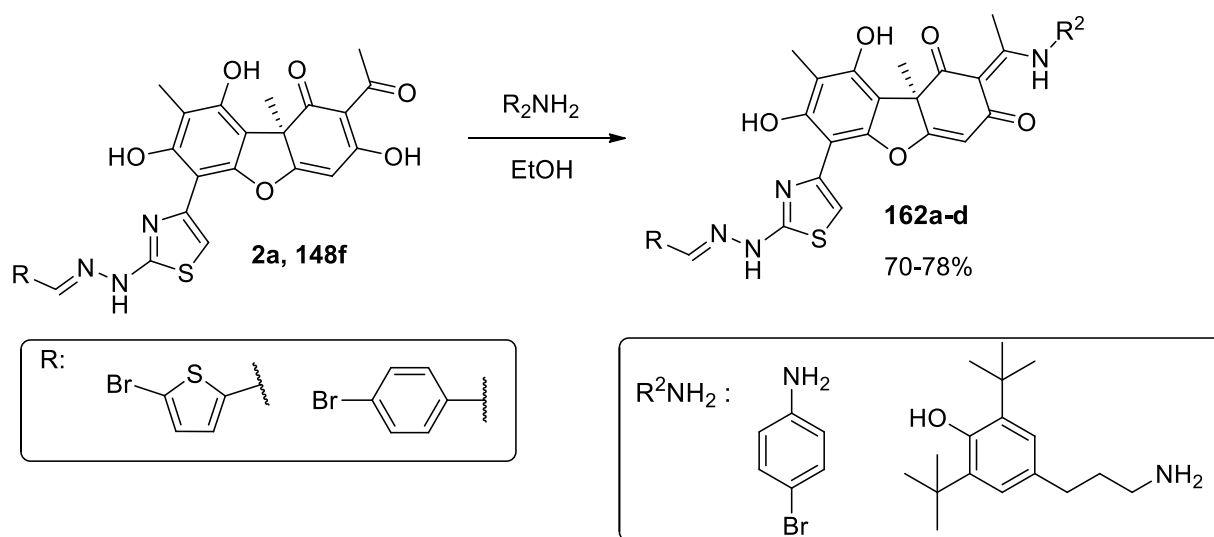
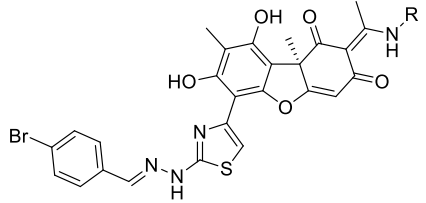
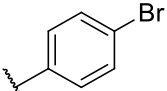
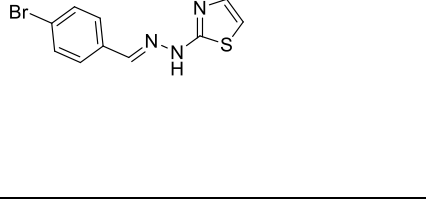
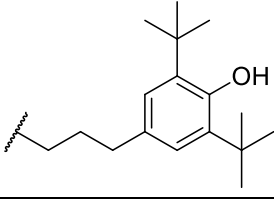
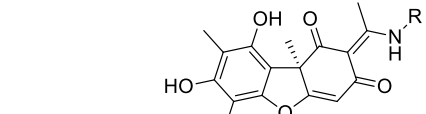
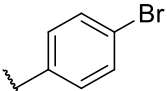
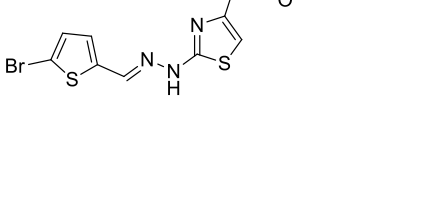
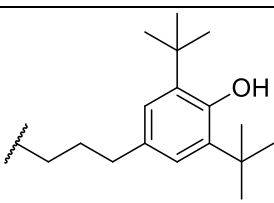


Схема 80

Таким образом, модифицированием усниновой кислоты, содержащих гидразонотиазольный фрагмент, были получены новые соединения, содержащие енаминовые фрагменты в кольце С.

Полученные производные **162a-d** ингибируют TDP1 в концентрациях полуингибирования 0,12-5 мкМ (табл. 8). Интересно отметить, что производные содержащие ионоловый фрагмент **162b,d** оказались более активным, чем производные с п-бромфенильным заместителем **162a,c**. Полученные соединения также показали низкий уровень цитотоксичности в отношении линий клеток HeLa, рака молочной железы MCF-7, эмбриональных клеток надпочечников HEK293A, диплоидных клеток MRC-5, клеток рака толстой кишки человека HCT-116, аденокарциномных альвеолярных базальных эпителиальных клетки человека A-549, клеток глиобластомы T98G – полуцитотоксическая концентрация > 30 мкМ (приложение 8). Наименее цитотоксичным соединением оказалось соединение **162b**, полуцитотоксическая концентрация которого превышала 100мкМ в отношении всех исследованных клеточных линий. Производное **162b** показало и наибольшее сенсibiliзирующее действие к цитотоксическому эффекту топотекана на линиях клеток HeLa, HCT-116, A-549, MCF-7 – соединение усиливало эффект топотекана в 2-6 раз.

Таблица 8

№		R	ИК ₅₀ , мкМ	ЦК ₅₀ , мкМ
162a			5±1	30-100
162b			0,12±0,01	>100
162c			1,0±0,4	47-100
162d			0,14±0,02	>100

Производное **162b** было выбрано для дальнейших исследований на животной модели (приложение 9). В качестве животной модели были выбраны мыши C57BL, которым была трансплантирована карцинома легкого Льюиса. Результаты показали, что соединение **162b** в дозе 50 мг/кг снижает вес опухоли до 57% в комбинации с топотеканом, а также приводит к значительному снижению числа метастазов при его внутривенном введении. При этом само соединение **162b** не приводит ни к снижению веса опухоли, ни к снижению числа метастазов.

3.3 Синтез дуальных ингибиторов TDP1 и TDP2 на основе усниновой кислоты

Поскольку данных о синтезе ингибиторов TDP2 на основе усниновой кислоты в литературе нет, то дизайн соответствующих ингибиторов мы разрабатывали, основываясь на предположении, сделанном на основе литературных данных, о том, что повышению ингибирующей TDP2 активности способствует введение в структуру ингибитора насыщенных атомами азота гетероциклов. Согласно литературе по синтетическим модификациям усниновой кислоты удобными способами введения гетероциклических фрагментов в структуру усниновой кислоты являются замещение атома брома в 14-бромусниновой кислоте тиолами с образованием соответствующих сульфидов и реакция с

енаминами и гидразинами. Последняя ведёт к формированию аннелированного цикла С усниновой кислоты пиразола.

Среди производных усниновой кислоты этих классов выявлены довольно эффективные ингибиторы TDP1, поэтому вполне реализуемым становится поиск дуальных ингибиторов TDP1 и TDP2, что актуально в свете тех данных, что TDP1 и TDP2 способны брать на себя функции друг друга [111, 112, 113].

3.3.1 Синтез сульфидов, сульфоксидов и сульфонов на основе усниновой кислоты

Бромусниновая кислота **104** является удобным исходным веществом для введения гетероциклических фрагментов, так как атом брома может быть замещен рядом S-нуклеофилов с получением соответствующих сульфидов **163** (схема 81) [67, 87]. Данные сульфиды затем могут быть окислены до соответствующих сульфоксидов **164** или сульфонов **165** (раздел 1.7). В литературе известно ограниченное количество данных типов соединений. Поэтому нами была синтезирована широкая линейка таких типов производных.

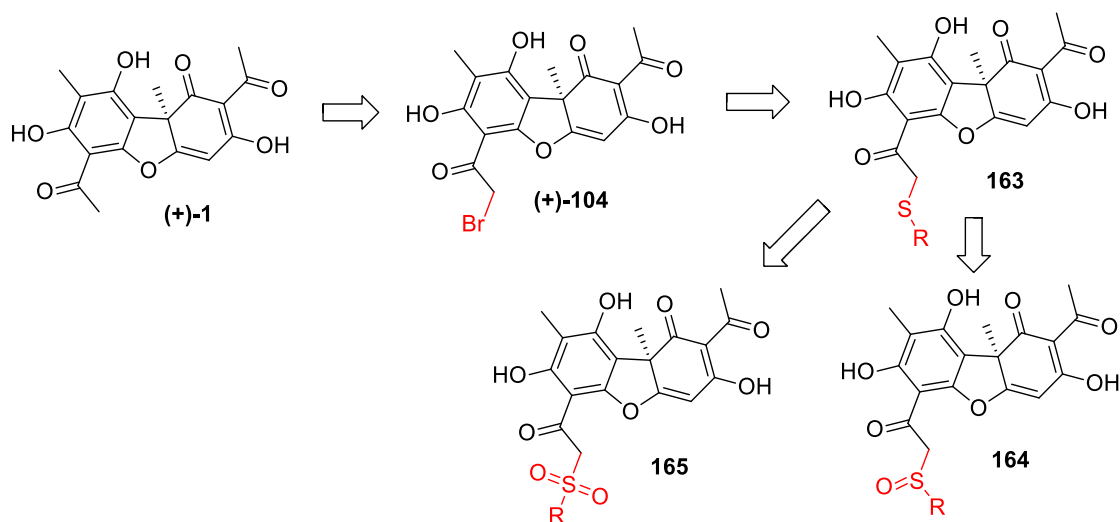


Схема 81

(+)-Бромусниновую кислоту (+)-**104** вводили в реакцию с выбранными тиолятами натрия в метаноле, по аналогии с ранее разработанной методикой [67]. Продукты при необходимости очищали методом колоночной хроматографии. В результате было получено пятнадцать тиоэфиров на основе (+)-усниновой кислоты, десять из которых (соединения **163a,c,f-j,l,m,o**) ранее не были описаны.

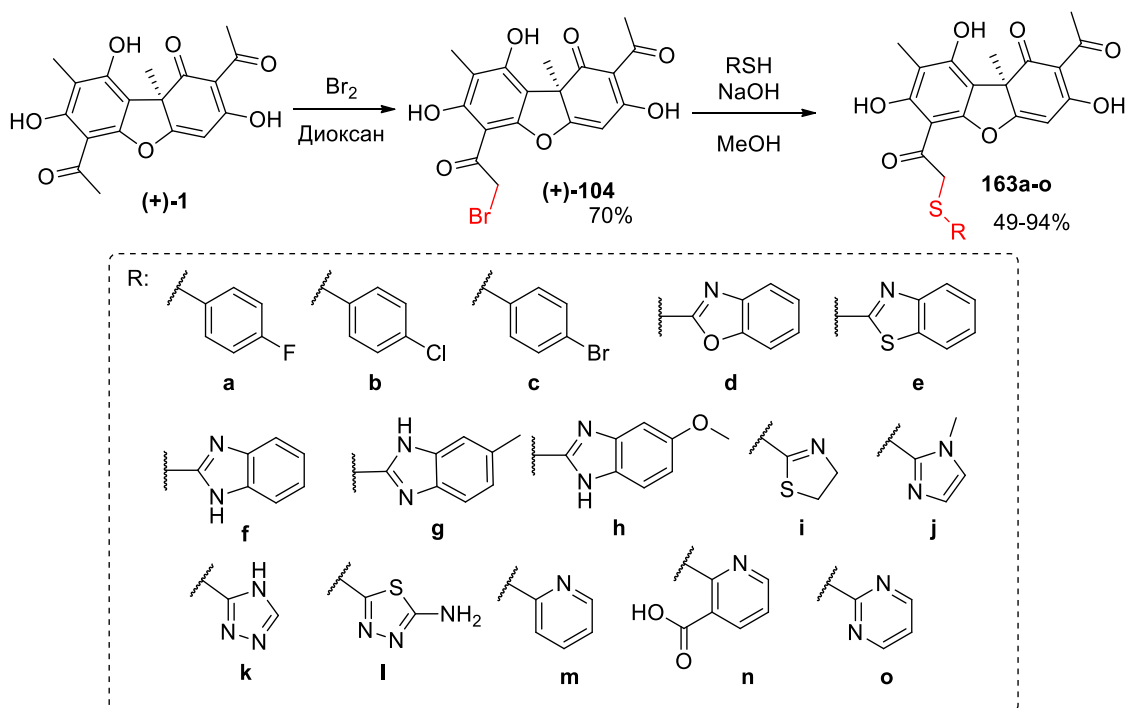


Схема 82

Синтез сульфоксидов **164** был осуществлен путем реакции соответствующих тиоэфиров **163** с водной перекисью водорода (30%) в присутствии ванадилацетилацетоната ($\text{VO}(\text{AcAc})_2$) в качестве катализатора (схема 83). Реакции проводили при комнатной температуре с использованием избытка (1,5 – 2 экв.) перекиси водорода в качестве окислителя. В результате проведения данной реакции происходило образование смеси диастереомерных сульфоксидов **164** в соотношении 1:1 (по данным спектров ^1H ЯМР). С использованием данных условий были получены диастереомерные смеси (1:1) сульфоксидов **164c** и **164l** с выходами 65% и 78% соответственно. Однако, для большинства тиолятов реакция протекала очень медленно, в большинстве случаев не достигая 50%-ной конверсии даже через неделю и даже при повышении температуры.

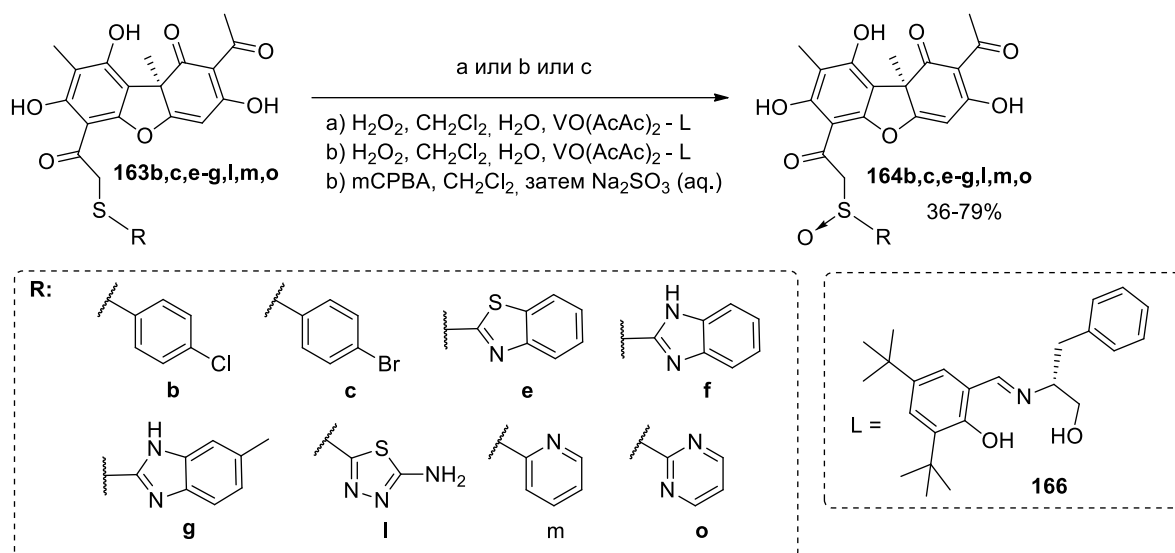


Схема 83

Для повышения конверсии было предложено добавить в реакционную среду хиральный лиганд **166**, который ранее использовался для хирального окисления тиоэфира **163b** [87]. Использование лиганда не только существенно ускорило реакцию, которая протекала в данных условиях, за 3-4 часа, но и привело в ряде случаев к изменению соотношения диастереомерных сульфоксидов. Таким образом были получены сульфоксиды **164b,e,m,o** с выходами 50-79%. Некоторые из синтезированных соединений (**164f,g**) оказались не устойчивыми в ходе колоночной хроматографии и поэтому не были выделены в чистом виде.

Целевые сульфоксиды в виде смесей диастереомеров **164** выделяли колоночной хроматографией. Можно отметить, что соотношение диастереомеров зависит от структуры заместителя, достигая наибольших значений (50%) для соединения **164b** (табл. 9). При этом в остальных случаях диастереомерный избыток не превышал 15%.

Таблица 9. Выход и диастереомерный избыток продуктов реакции окисления сульфидов перекисью водорода в присутствии лиганда **166**

	164b	164c	164e	164l	164m	164o
Выход	50%	65%	50%	78%	70%	74%
de	50%	0%	10%	0%	5%	6%

Соединения **164f,g** были получены путем окисления соответствующих сульфидов **163f,g** эквимольным количеством *m*-хлорнадбензойной кислоты с выходами 46% и 34%. Окисление производных **163a,d,h-k,n** как под действием перекиси водорода, так и *m*-

хлорнадбензойной кислотой приводило к многокомпонентной и трудноразделимой смеси продуктов реакции. Сульфоксиды **164c,e-g,l,m,o** ранее не были описаны.

Для окисления сульфидов **163** до соответствующих сульфонов **165** была проведена реакция с избытком *мета*-хлорнадбензойной кислоты в хлористом метиле при перемешивании реакционной смеси на ледяной бане (схема 84). По завершении реакции добавлялся водный насыщенный раствор Na_2SO_3 для выведения из реакции избытка окислителя. Сульфоны **165a-c,e,h,j,m** были выделены с выходами 25-81% после колоночной хроматографии. Сульфоны **165a,c,e,h,j,m** не были описаны ранее. В случае реакции окисления тиоэфиров **163f,g,l** происходило образование соответствующих сульфоксидов в виде смеси диастереомеров. Окисление сульфидов **163d,i,k,n** сопровождалось образованием трудноразделимой смеси продуктов реакции.

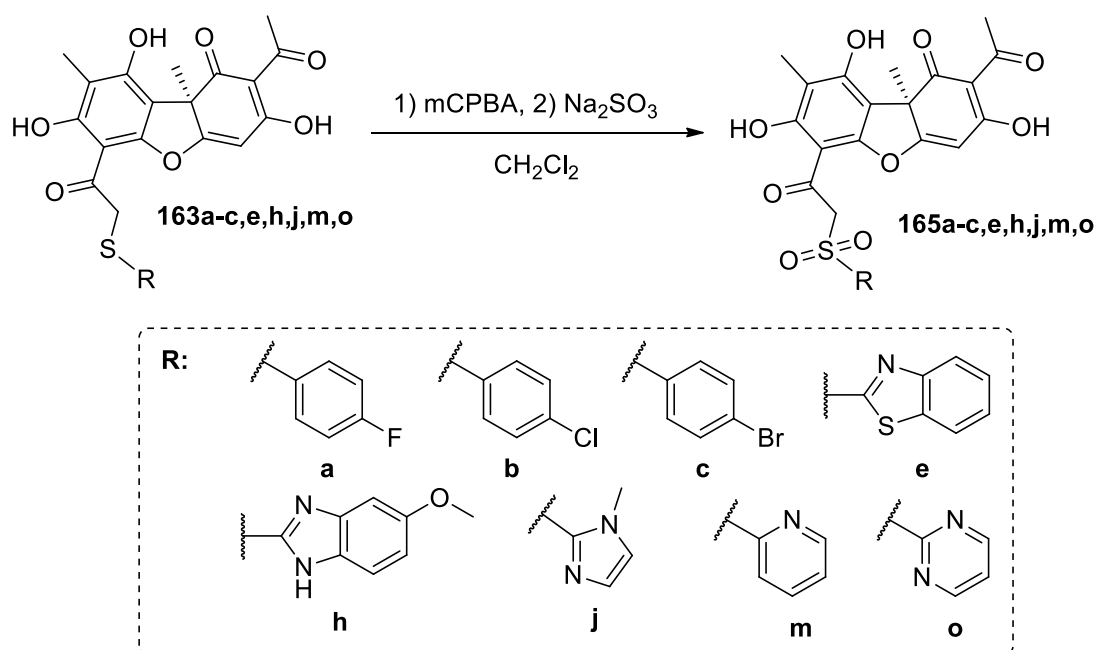


Схема 84

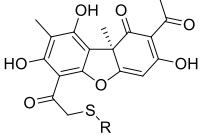
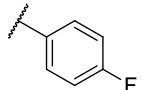
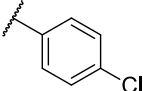
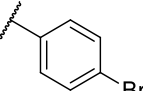
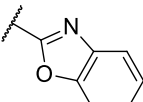
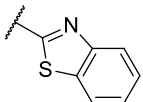
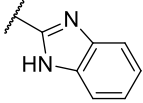
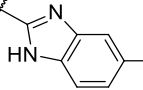
В результате был синтезирован широкий ряд сульфидов 4 на основе (+)-усниновой кислоты (15 соединений, 10 не описаны ранее), ряд сульфоксидов (8 соединений, 7 не описаны ранее) и сульфонов (8 соединений, 7 не описаны ранее).

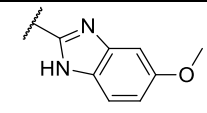
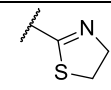
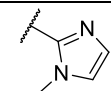
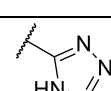
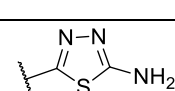
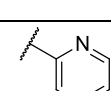
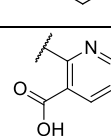
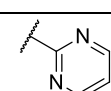
Тиоэфиры **163** преимущественно показали активность в отношении TDP1 в нижнем микромолярном диапазоне концентраций (таблица 10). Сульфоксиды **164** проявили сопоставимый уровень активности против TDP1. В случае соединений **164c,g,l** наблюдалось значительное повышение значения IC_{50} по сравнению с аналогичными тиоэфирами. Производные ряда сульфонов **165** преимущественно демонстрировали активность в отношении TDP1 более низкую, чем соответствующие тиоэфиры **163** и

сульфоксиды **164**. Исключение составило соединение **165m**, которое оказалось на порядок более активным соединений **163m** и **164m**.

В отношении TDP2 тиоэфиры **163** в ряде случаев проявили активность в диапазоне концентраций 138-380 мкМ. Соединения **163a,e,j,m,o** не проявили существенной активности в концентрациях до 1000мкМ. Сульфоксиды **164** преимущественно проявляли активность ниже, чем соответствующие тиоэфиры, за исключением соединений **164b,c**, показавшего сопоставимый уровень активности по сравнению с аналогичными сульфидами **163b,c**. Подавляющее большинство исследованных сульфонов **165** не проявили существенной активности по отношению к TDP2. Исключением является соединение **165m**, обладающее существенно более высокой активностью по сравнению с соединениями **163m** и **164m**.

Таблица 10 Ингибирующая активность сульфидов, сульфоксидов и сульфонов на основе (+)-усниновой кислоты

		Тиоэфиры (163)		Сульфоксиды (164)		Сульфоны (165)	
		TDP1 IC ₅₀ , μM	TDP2 IC ₅₀ , μM	TDP1 IC ₅₀ , μM	TDP2 IC ₅₀ , μM	TDP1 IC ₅₀ , μM	TDP2 IC ₅₀ , μM
a		6,6 ± 0,8	> 1000	н/с*	н/с	>50	>1000
b		2,2 ± 0,5	165 ± 5	1,4 ± 0,2	159 ± 41	20 ± 4	>1000
c		1,8 ± 0,5	380 ± 60	15 ± 4	150 ± 10	>50	421 ± 62
d		3,2 ± 0,5	> 1000	н/с	н/с	н/с	н/с
e		1,7 ± 0,6	>1000	2,1 ± 0,2	>1000	21 ± 5	>1000
f		2,4 ± 1,0	370 ± 30	4 ± 2	>1000	н/с	н/с
g		0,33 ± 0,09	138 ± 25	5,0 ± 2,1	>1000	н/с	н/с

h		$0,4 \pm 0,1$	313 ± 8	н/с	н/с	$3,7 \pm 1,9$	332 ± 35
i		$4,4 \pm 1,0$	> 1000	н/с	н/с	н/с	н/с
j		21 ± 5	>1000	н/с	н/с	24 ± 3	>1000
k		$25,2 \pm 6,5$	> 1000	н/с	н/с	н/с	н/с
l		$4,3 \pm 0,5$	245	21 ± 5	>1000	н/с	н/с
m		$11,9 \pm 0,4$	>1000	25 ± 4	>1000	2 ± 2	228 ± 43
n		$19,6 \pm 2,8$	> 1000	н/с	н/с	н/с	н/с
o		$16,9 \pm 2,4$	>1000	$14,8 \pm 0,9$	>1000	>50	>1000

* н/с – не было синтезировано

3.3.2 Синтез пиразолов на основе производных усниновой кислоты, содержащих гидразонотиазольный фрагмент

Ещё одним препаративным способом введения дополнительных гетероциклических фрагментов является введение конденсированного с кольцом С пиразольного цикла. Также известно, что такая модификация (соединение **40**) однозначно приводит к снижению собственной цитотоксичности соединений [88]. Для синтеза потенциальных ингибиторов TDP2 было решено провести такую модификацию для гидразонотиазолов **2** (схема 85), которые уже содержат в своем составе гетероциклический фрагмент, а также являются наиболее перспективным классом ингибиторов TDP1.

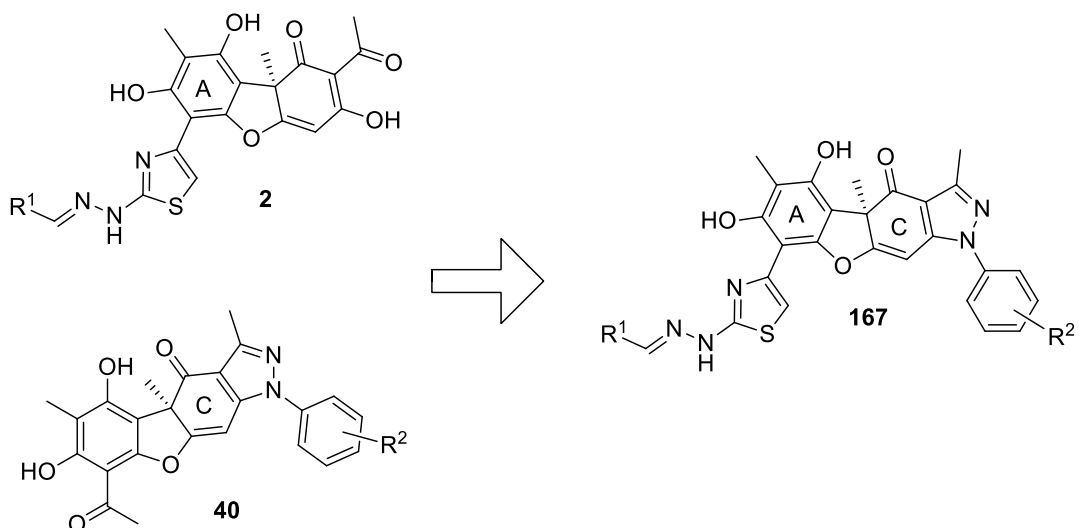


Схема 85

Стратегия синтеза целевых соединений была аналогичной синтезу производных **162a-d** (схема 80): на первом этапе предполагалось синтезировать гидразонотиазолы структуры **2** и затем ввести конденсированный пиразольный цикл.

Для синтеза целевых соединений тиазолы **2a** и **148f** вводили в реакцию с выбранными гидрохлоридами ароматических гидразинов в этаноле при комнатной температуре в присутствии пиридина (схема 86). Производные **168a,b** и **169a,b** были выделены с выходами 35-45% после колоночной хроматографии.

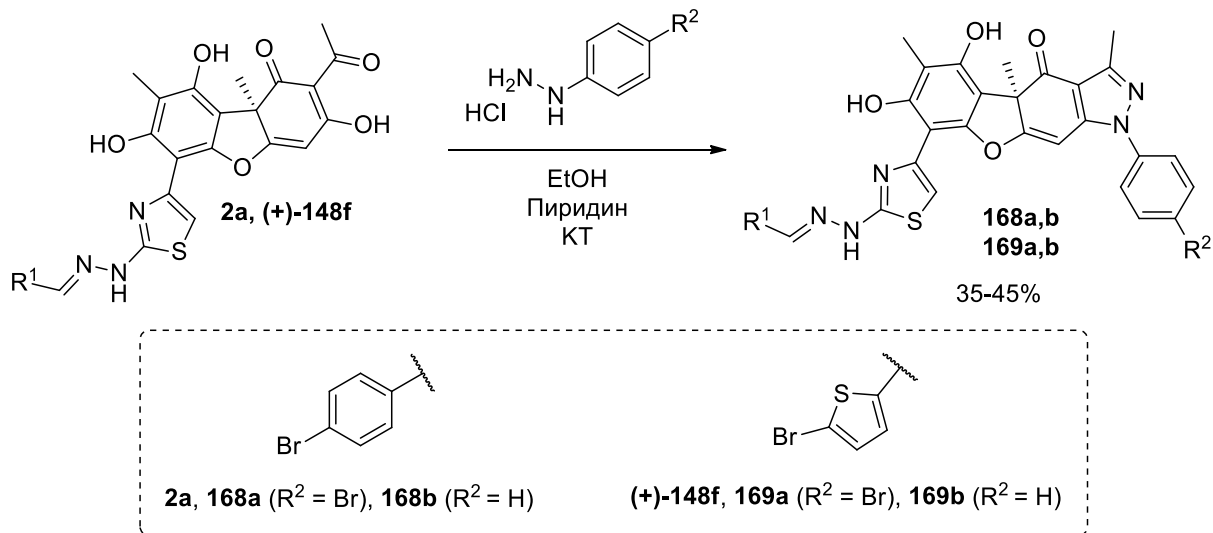


Схема 86

Все изученные соединения **168a,b** и **169a,b** ингибировали TDP1 в субмикромольном диапазоне концентраций (табл. 11). Полученные соединения также проявили активность в отношении TDP2, подавляя активность фермента на 80 – 20 % в концентрации 500 мкМ. При этом более активными оказались соединения, содержащие 4-бромфенильный заместитель в пиразольном цикле. (**147b**, **148b**).

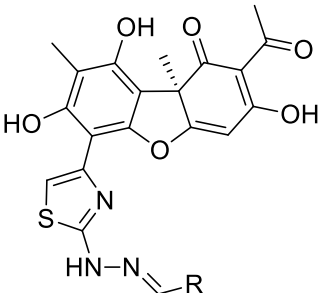
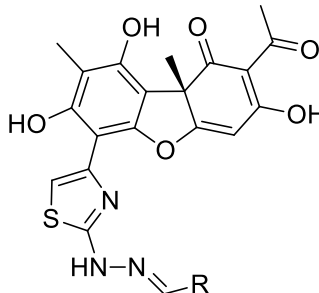
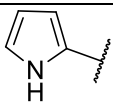
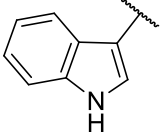
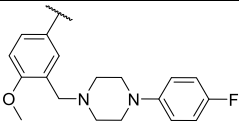
Таблица 11 Влияние соединений **168a,b** и **169a,b** на активность TDP1 и TDP2

	R	№	ИК ₅₀ , мкМ TDP1	Остаточная активность TDP2, % (500 мкМ ингибитора)
		168a	0,34±0,01	80±20
		168b	0,5±0,3	20±10
		169a	0,34±0,1	80±30
		169b	0,3±0,2	20±10

3.3.3 Ингибирующая активность гидразонотиазолов на основе усниновой кислоты в отношении TDP2

Поскольку гидразонотиазолы **148a-c,m-q** и **149i,j** содержат структурные фрагменты, обогащённые атомами азота, то для ряда полученных в данной работе гидразонотиазолов, преимущественно содержащих гетероциклические мотивы, была изучена ингибирующая активность в отношении TDP2. В результате было выявлено несколько соединений из серий **148** и **149**, которые проявили ингибирующую TDP2 активность (таблица 12). Среди наиболее эффективных ингибиторов TDP2 производные **148m,p** и **149i** с пиррольным, индольным и 3-(4-фторфенил)пиперазин-(4-метоксибензильным заместителями. Для этой выборки соединений обнаружилась явная зависимость ингибирующей TDP2 активности от строения стереоцентра (C^{9b}) усниновой кислоты. Заметную активность (ИК₅₀ = 6-9 мкМ) проявили именно производные (-)-энантиомера усниновой кислоты.

Таблица 12 Ингибирующая активность производных **148m,p** и **149i** в отношении TDP1 и TDP2.

№	R				
		TDP1 ИК ₅₀ , мкМ	TDP2 ИК ₅₀ , мкМ	TDP1 ИК ₅₀ , мкМ	TDP2 ИК ₅₀ , мкМ
148m		0,188±0,003	>50	0,018±0,001	8±4
148p		0,026±0,006	>50	0,057±0,001	6±3
149i		0,080±0,007	>50	0,059±0,005	9±1

4. Экспериментальная часть

Аналитические и спектральные исследования были выполнены в Химическом Сервисном Центре коллективного пользования СО РАН. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C растворов соединений были записаны на спектрометре Bruker AV-400 (400.13 и 100.61 МГц, соответственно). В качестве растворителей использовали CDCl_3 и $\text{DMCO-}d_6$. В качестве внутреннего стандарта использовались сигналы хлороформа (δ_{H} 7.26 м.д. δ_{C} 76.16) или DMCO (δ_{H} 2.50 м.д. δ_{C} 39.52). Химические сдвиги сигналов приведены в м.д. (миллионные доли), а значения констант спин-спинового взаимодействия в герцах (Гц). Масс-спектры были записаны на DFC Thermo Scientific масс-спектрометре высокого разрешения. Температура плавления измерялась на столике Кофлера. Рентгеноструктурный анализ был проведен д.х.н. Гатиловым Ю.В. Очистку продуктов реакций проводили с использованием колоночной хроматографии на силикагеле (Merk 60-200 mesh).

Синтетические исходные материалы и реагенты были приобретены у компании Acros organics (Бельгия), (+)-усниновая кислота ($\alpha_D +478$ (с 0.1, CHCl_3)) – у компании Zhejiang Yixin Pharmaceutical Co., Ltd (Китай). (-)-Усниновая кислота ($\alpha_D -456$ (с 0.1, CHCl_3)) была выделена из *Cladonia stellaris* согласно методике [125]. Бромусниновая кислота **104**, а также тиазол **2a** были получены по методике, описанной в работе [90]. Фуранон **99**, а также производное **100a** были получены по литературной методике [85].

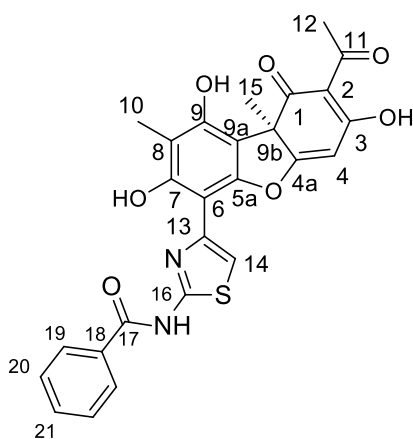
Растворители

Диоксан перегоняли над окисью фосфора (V), собирая фракции с температурой кипения 101°C . Метанол осушали над молекулярными ситами 4\AA . Этанол был использован в виде ректификата. Диметилформамид (ДМФА) перегоняли над прокалённым сульфатом меди под вакуумом водоструйного насоса, собирая фракции с температурой кипения 56°C , затем ДМФА хранили над гидридом кальция. DMCO был использован без предварительной очистки. Ацетон осушали над прокалённым карбонатом калия и затем перегоняли, собирая фракции с температурой кипения 56°C . Хлористый метилен перегоняли над оксидом фосфора V, собирая фракции с температурой кипения $39-40^\circ\text{C}$. ТГФ кипятили над натрием в присутствии бензофенона с обратным холодильником в атмосфере аргона до образования синей окраски. Затем ТГФ перегоняли, собирая фракции с температурой кипения 66°C и хранили над ситами 4\AA . Этилацетат высушивали и затем перегоняли над прокалённым поташом, собирая фракции с температурой кипения 77°C . Триэтиламин перегоняли над гидроксидом калия, собирая фракции с температурой кипения $89-90^\circ\text{C}$. Пиридин выдерживали над едким кали и перегоняли над оксидом бария, собирая фракции с температурой кипения 115°C .

Методика получения производных усниновой кислоты с тиазольным циклом с амидным (140а-е) или карбамидным (141) заместителем

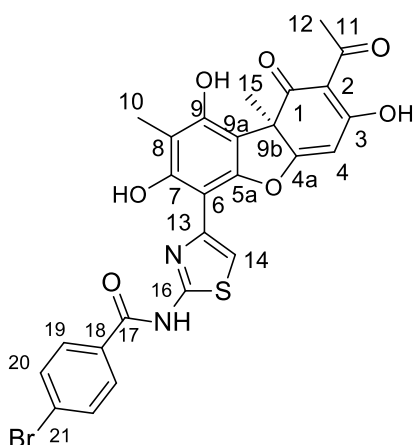
Бромусниновую кислоту (1 ммоль) растворили в 35 мл метилового спирта. К раствору добавили ацилтиомочевину **142а-f** (1 ммоль) или тиодимочевину **143** (1 ммоль). Раствор оставили при перемешивании в течение 1 часа. Затем раствор разбавили водой, а выпавший осадок отфильтровали, промыли водой и высушили на воздухе.

(R)-N-(4-(8-ацетил-1,3,7-тригидрокси-2,9а-диметил-9-оксо-9,9а-дигидродибензо[*b,d*]фуран-4-ил)тиазол-2-ил)бензамид (140а)



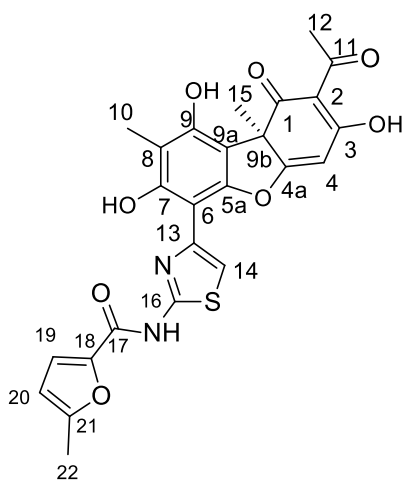
Желтый аморфный порошок. Выход: 95%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.76 (3H, с, H-15), 2.10 (3H, с, H-10), 2.67 (3H, с, H-12), 5.96 (1H, с, H-4), 7.48 (3H, м, H-20 и H-14), 7.60 (1H, м, H-21), 7.35 (1H, д, J = 7.35 Гц, H-14), 9.92 (1H, с, NH), 10.30 (1H, с, OH-9), 12.27 (1H, шс, OH-7), 18.82 (1H, с, OH-3). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ): 8.18 (C-10), 27.74 (C-15), 32.03 (C-12), 59.29 (C-9b), 96.85 (C-9a), 97.41 (C-4), 103.51 (C-6), 105.11 (C-2), 108.91 (C-8), 109.16 (C-14), 127.25 (C-19), 128.83 (C-20), 130.96 (C-18), 133.02 (C-21), 142.47 (C-13), 151.42 и 151.52 (C-7 и C-9), 156.1 и 156.29 (C-5a и C-16), 164.14 (C-17), 180.39 (C-4a), 191.54 (C-3), 197.94 (C-11), 201.33 (C-11). HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{O}_7\text{N}_2^{32}\text{S})^+$ 504,0986; найдено 504,0991.

(R)-N-(4-(8-ацетил-1,3,7-тригидрокси-2,9а-диметил-9-оксо-9,9а-дигидродибензо[*b,d*]фуран-4-ил)тиазол-2-ил)-4-бромбензамид (140b)



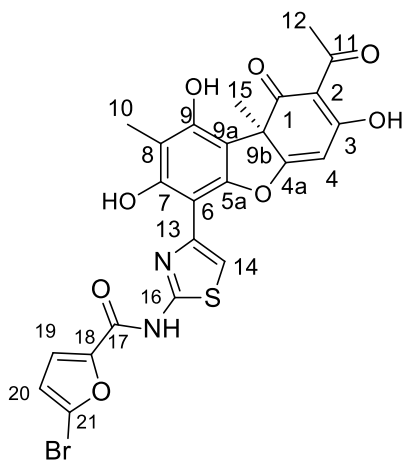
Желтый аморфный порошок. Выход: 92%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.75 (3H, с, H-15), 1.96 (3H, с, H-10), 2.64 (3H, с, H-12), 5.95 (1H, с, H-4), 7.43 (1H, с, H-14), 7.50 (2H, H-20, J = 8.05 Гц, АВ-сист.), 7.72 (2H, H-19, J = 8.05 Гц, АВ-сист.), 10.27 (1H, с, OH-9), 10.32 (1H, с, NH), 12.43 (1H, шс, OH-7), 18.81 (1H, с, OH-3). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ): 8.25 (C-10), 27.80 (C-15), 32.09 (C-12), 59.27 (C-9b), 96.88 (C-9a), 97.58 (C-4), 103.86 (C-6), 105.18 (C-2), 108.81 (C-8), 109.41 (C-14), 128.04 (C-21), 128.89 (C-19), 129.74 (C-18), 132.01 (C-20), 142.33 (C-13), 151.49 и 151.61 (C-7 и C-9), 155.82 и 156.30 (C-5a и C-16), 163.35 (C-17), 180.32 (C-4a), 191.59 (C-3), 197.92 (C-11), 201.42 (C-11). HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{N}_2^{79}\text{BR}^{32}\text{S})^+$ 582,0091; найдено 582,0092.

(R)-N-(4-(8-ацетил-1,3,7-тригидрокси-2,9а-диметил-9-оксо-9,9а-дигидродибензо[*b,d*]фуран-4-ил)тиазол-2-ил)-5-метилфуран-2-карбоксамид (140с)



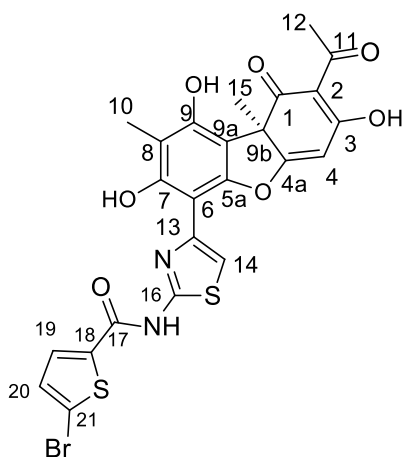
Желтый аморфный порошок. Выход: 89%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.54-2.10 (9H, шс, H-10 и H-15 и H-22), 2.65 (3H, с, H-12), 6.00 (1H, с, H-4), 6.07 (1H, шс, H-20), 7.09 (1H, шс, H-19), 7.35 (1H, с, H-14), 10.17 (1H, с, OH-9), 13.13 (1H, шс, OH-7), 18.83 (1H, с, OH-3). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ): 7.69 (C-10), 13.19 (C-22), 27.80 (C-15), 32.09 (C-12), 59.43 (C-9b), 97.17 (C-9a), 97.46 (C-4), 103.99 (C-6), 105.28 (C-2), 109.07 (C-8 и C-20), 109.47 (C-14), 118.73 (C-19), 141.92 (C-18), 143.73 (C-13), 151.30 и 151.61 (C-7 и C-9), 154.6 (C-21), 155.85 (C-5a), 156.06 и 156.29 (C-16 и C-17), 180.79 (C-4a), 191.70 (C-3), 198.24 (C-11), 201.30 (C-11). HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{O}_8\text{N}_2^{32}\text{S})^+$ 508,0931; найдено 508,0935.

(R)-N-(4-(8-ацетил-1,3,7-тригидрокси-2,9а-диметил-9-оксо-9,9а-дигидродибензо[*b,d*]фуран-4-ил)тиазол-2-ил)-5-бромфуран-2-карбоксамид (140d)



Желтый аморфный порошок. Выход: 82%. Спектр ЯМР ^1H (DMCO-d_6 , δ , J Гц): 1.70 (3H, с, H-15), 2.06 (3H, с, H-10), 2.59 (3H, с, H-12), 6.17 (1H, с, H-4), 6.92 (1H, H-20, АВ-сист., J = 3.58 Гц), 7.58 (2H, м, H-14 и H-19), 10.30 (1H, с, OH-9), 12.54 (1H, с, NH), 12.86 (1H, с, OH-7), 18. (1H, шс, OH-3). Спектр ЯМР ^{13}C (DMCO-d_6 , δ): 8.51 (C-10), 27.69 (C-15), 31.79 (C-12), 59.18 (C-9b), 96.16 (C-9a), 97.46 (C-4), 103.61 (C-6), 105.19 (C-2), 109.07 (C-8), 109.20 (C-20), 114.97 (C-14), 119.53 (C-19), 127.53 (C-21), 141.78 (C-13), 147.23 (C-18), 150.76 и 151.43 (C-7 и C-9), 154.46 (C-16), 156.21 и 156.68 (C-5a и C-16), 180.46 (C-4a), 191.44 (C-3), 198.15 (C-11), 201.14 (C-11). HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{O}_8\text{N}_2^{79}\text{Br}^{32}\text{S})^+$ 571,9877; найдено 571,9877.

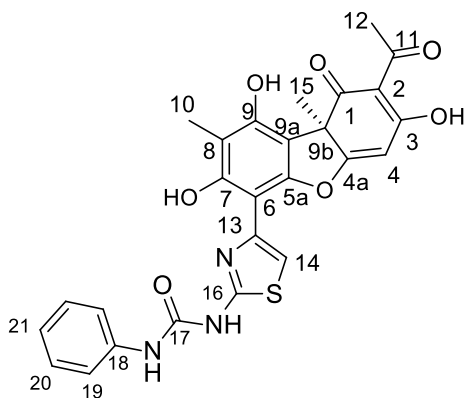
(R)-N-(4-(8-ацетил-1,3,7-тригидрокси-2,9а-диметил-9-оксо-9,9а-дигидродибензо[*b,d*]фуран-4-ил)тиазол-2-ил)тиофен-2-карбоксамид (140e)



Желтый аморфный порошок. Выход: 90%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.74 (3H, с, Н-15), 1.94 (3H, с, Н-10), 2.66 (3H, с, Н-12), 5.98 (1H, с, Н-4), 6.96 (1H, шс, Н-20), 7.33 (1H, шс, Н-19), 7.43 (1H, с, Н-14), 10.15 (1H, с, NH), 10.29 (1H, с, OH-9), 12.47 (1H, шс, OH-7), 18.83 (1H, с, OH-3). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ): 8.27 (C-10), 27.78 (C-15), 32.04 (C-12), 59.32 (C-9b), 96.92 (C-9a), 97.61 (C-4), 104.05 (C-6), 105.23 (C-2), 108.85 (C-8), 109.61 (C-14), 121.45 (C-21), 129.76 (C-20), 131.18 (C-19), 137.18 (C-18), 142.41 (C-

13), 151.64 и 151.71 (C-7 и C-9), 155.86 (C-17), 155.88 (C-5a), 157.57 (C-16), 180.42 (C-4a), 191.61 (C-3), 197.95 (C-11), 201.42 (C-11). HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{O}_7\text{N}_2^{79}\text{BR}^{32}\text{S}_2)^+$ 587,9655; найдено 587,9654.

(R)-1-(4-(8-ацетил-1,3,7-тригидрокси-2,9а-диметил-9-оксо-9,9а-дигидродибензо[*b,d*]фуран-4-ил)тиазол-2-ил)-3-фенилмочевина (141)



Желтый аморфный порошок. Выход: 90%. Спектр ЯМР ^1H (DMCO-d_6 , δ , J Гц): 1.72 (3H, с, Н-15), 2.06 (3H, с, Н-10), 2.60 (3H, с, Н-12), 6.20 (1H, с, Н-4), 7.06 (1H, т, Н-21, $J = 7.23$ Гц), 7.33 (2H, дд, $J_1 = 7.23$ Гц, $J_2 = 7.63$ Гц), 7.50 (1H, д, $J = 7.63$ Гц, Н-19), 7.50 (1H, с, Н-14), 9.01 (1H, с, NH), 10.31 (1H, с, NH), 11.09 (1H, с, OH-9), 12.52 (1H, с, OH-7), 18.77 (1H, шс, OH-3).

Спектр ЯМР ^{13}C (DMCO-d_6 , δ): 8.07 (C-10), 27.58 (C-15), 31.93 (C-12), 59.27 (C-9b), 97.11 (C-9a), 97.12 (C-4), 103.02 (C-6), 104.97 (C-2), 107.36 (C-14), 108.52 (C-8), 118.80 (C-19), 123.09 (C-21), 128.69 (C-20), 137.86 (C-18), 141.90 (C-13), 151.04 и 151.25 и 151.40 (C-7 и C-9 и C-17), 156.54 (C-5a), 158.30 (C-16), 180.48 (C-4a), 191.40 (C-3), 198.00 (C-11), 201.10 (C-11). HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{O}_7\text{N}_3^{32}\text{S}_2)^+$ 519,1094; найдено 519,1095.

Методика синтеза тиосемикарбазонов 146а-г, 147а-к, 148а-н

Альдегид (3 ммоль) и тиосемикарбазон (3,3 ммоль) поместили в колбу с 10 мл этилового спирта (95%). Смесь перемешивали при кипячении в течение часа. Затем раствор остудили и разбавили водой в 2 раза. Выпадал осадок тиосемикарбазона. Отфильтровали на бумажном фильтре и промыли водой. Осадок сушили на воздухе. Использовали без

дополнительной очистки. Тиосемикарбазоны были выделены с выходами 81-98%. Спектр соединения **145a** соответствуют литературным данным [126]. Спектр соединения **145b** соответствуют литературным данным [127]. Спектры соединений **145c,f,k,m** соответствуют литературным данным [128]. Спектры соединений **145d,l** соответствуют литературным данным [129]. Спектры соединений **145e,g** соответствуют литературным данным [130]. Спектр соединения **145f** соответствуют литературным данным [131]. Спектр соединения **145h** соответствуют литературным данным [132]. Спектр соединения **145n** соответствуют литературным данным [133]. Спектр соединения **145o** соответствуют литературным данным [134]. Спектры соединений **145p,q** соответствуют литературным данным [135]. Спектры соединений **147a** и **147b** соответствуют литературным данным [136]. Спектр соединения **147d** соответствует литературным данным [137]. Спектр соединения **147f** соответствует литературным данным [138]. Спектр соединения **147g** соответствует литературным данным [139].

(Z)-2-((4-бромотиофен-2-ил)метил)гидразинкарботиоамид (35i)

Бежевые кристаллы. Выход: 93%. Спектр ЯМР¹H (ДМСО-d₆, δ, м.д., J Гц): 1.52 (1H, с, Н-3), 7.67 (1H, ш с, NH₂), 7.74 (1H, с, Н-1), 8.16 (1H, с, Н-5), 8.24 (1H, ш с, NH₂), 11.52 (1H, с, NH). Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО-d₆, δ, м.д.): 109.33 (C-2), 125.95 (C-1), 131.55 (C-3), 135.81 (C-5), 140.08 (C-4), 177.82 (C-6).

[(Z)-{(4C)-4-(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-1-ен-1-ил}метилен]амино]тиомочевина (147e)

Белые кристаллы. Выход 81%, ЯМР ¹H (CDCl₃, δ, J Гц): 1.46 (1H, м), 1.72 (3H, с), 1.85-2.46 (6H, м), 4.69 (2H, д, J=18.8 Гц), 6.17 (1H, с), 6.51 (1H, с), 7.05 (1H, с), 7.55 (1H, с), 10.02 (1H, с). ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ): 20.52, 23.34, 26.50, 31.38, 40.60, 109.03, 134.05, 138.47, 147.22, 148.63, 177.75.

{(2Z)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илиден}амино}тиомочевина и {(2E)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илиден}амино}тиомочевина (3:2) (147h)

Белый аморфный порошок. Выход 98%, ЯМР ¹H (ДМСО-d₆, δ м.д., J Гц): 0.81 (3H, с), 1.42 (3H, с), 1.49 (1H, д), 1.87 (3H, с), 2.23 (1H, т), 2.65 (2H, м), 3.41 (1H, м), 6.68 (1H, с), 7.50 (1H, с), 7.93 (1H, с), 10.36 (1H, с). NMR¹³C (ДМСО-d₆, δ м.д.): 21.70, 23.57, 25.87, 37.27, 47.86, 48.63, 50.67, 110.71, 153.87, 160.27, 177.91.

ЯМР ¹H (ДМСО-d₆, δ м.д., J Гц): 0.81 (3H, с), 1.39 (3H, с), 1.58 (1H, д), 1.90 (3H, с), 2.29 (1H, т), 2.62 (2H, м), 3.53 (1H, м), 5.77 (1H, с), 7.50 (1H, с), 7.93 (1H, с), 10.27 (1H, с). ЯМР ¹³C (ДМСО-d₆, δ м.д.): 21.97, 22.87, 25.52, 36.49, 43.11, 47.73, 48.40, 118.53, 155.70, 156.65, 178.13.

(E)-2-(3-((4-фторфенокси)метил)-4-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид (146a): Белый аморфный порошок. Выход 75%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6): см. табл. 13. NMR ^{13}C (ДМСО-*d*6): см. табл. 14.

(E)-2-(3-((3-фторфенокси)метил)-4-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид (146b): Белый аморфный порошок. Выход 71%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6): см. табл. 13. NMR ^{13}C (ДМСО-*d*6): см. табл. 14.

(E)-2-(3-((2-фторфенокси)метил)-4-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид (146c): Белый аморфный порошок. Выход 73%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6): см. табл. 13. NMR ^{13}C (ДМСО-*d*6): см. табл. 14.

(E)-2-(3-((3-Хлор-4-фторфенокси)метил)-4-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид (146d): Белый аморфный порошок. Выход 60%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6): см. табл. 13. NMR ^{13}C (ДМСО-*d*6): см. табл. 14.

(E)-2-(3-((2,4-дифторфенокси)метил)-4-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид (146E): Белый аморфный порошок. Выход 68%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6): см. табл. 13. NMR ^{13}C (ДМСО-*d*6): см. табл. 14.

(E)-2-(3-((2-Хлор-4-фторфенокси)метил)-4-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид (146f): Белый аморфный порошок. Выход 82%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6): см. табл. 13. NMR ^{13}C (ДМСО-*d*6): см. табл. 14.

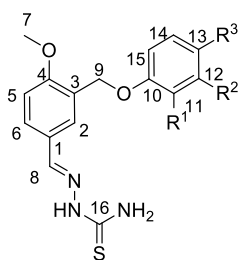
(E)-2-(3-((2-tert-бутил-5-метилфенилтио)метил)-4-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид (146g): Белый аморфный порошок. Выход 91%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6): см. табл. 15. NMR ^{13}C (ДМСО-*d*6): см. табл. 16.

(E)-2-(3-((4-хлор-3-метилфенокси)метил)-4-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид (146h): Белый аморфный порошок. Выход 81%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6): см. табл. 15. NMR ^{13}C (ДМСО-*d*6): см. табл. 16.

(E)-2-(3-((4-(4-фторфенил)пиперазин-1-ил)метил)-4-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид (146i): Белый аморфный порошок. Выход 86%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6): см. табл. 15. NMR ^{13}C (ДМСО-*d*6): см. табл. 16.

(E)-2-(4-Метокси-3-((4-(3-метоксифенил)пиперазин-1-ил)метил)бензилиден)гидразинкарботиоамид (146j): Белый аморфный порошок. Выход 74%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6): см. табл. 15. NMR ^{13}C (ДМСО-*d*6): см. табл. 16.

(E)-2-(3-((3,5-Диметил-4-нитро-1H-пиразол-1-ил)метил)-4-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид (146k): Белый аморфный порошок. Выход 69%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6): см. табл. 15. NMR ^{13}C (ДМСО-*d*6): см. табл. 16.



146a R¹=H R²=H R³=F

146b R¹=H R²=F R³=H

146c R¹=F R²=H R³=H

146d R¹=H R²=Cl R³=F

146e R¹=F R²=H R³=F

146f R¹=Cl R²=H R³=F

Таблица 13 ЯМР ¹H спектры **146a–146f** (ДМСО-*d*₆, δ).

№	146a	146b	146c	146d	146e	146f
H-2	с 8.00	с 8.01	с 8.01	с 8.00	с 8.01	с 8.01
H-5	м 7.00–7.15	м 7.08–7.30	д 7.09 (J = 8.7 Гц)	д 7.07 (J = 8.6 Гц)	д 7.01 (J = 8.6 Гц)	д 7.01 (J = 8.6 Гц)
H-6	м 7.72	м 7.75	м 7.77	м 7.72	м 7.75	м 7.77
H-7	с 3.86	с 3.86	с 3.85	с 3.85	с 3.86	с 3.86
H-8	с 8.12	с 8.13	с 8.16	с 8.14	с 8.13	с 8.15
H-9	с 5.00	с 5.09	с 5.09	с 5.02	с 5.04	с 5.09
H-11	м 7.00–7.15	м 7.08–7.30		т 7.35 (J = 9.1 Гц)		
H-12	м 7.00–7.15		м 7.21		м 6.77	м 7.42
H-13		м 7.08–7.30	м 7.28			
H-14	м 7.00–7.15	м 7.08–7.30	т 7.11 (J = 7.7 Гц)	м 7.27	м 6.77	м 7.28
H-15	м 7.00–7.15	м 6.95	м 6.95	м 7.02	м 6.77	м 7.17
NH	с 11.32	с 11.33	с 11.35	с 11.34	с 11.33	с 11.33
NH ₂	м 7.90	м 7.89	м 7.90	м 7.92	м 7.93	м 7.87

Таблица 14 ЯМР ¹³C спектры **146a–146f** (ДМСО-*d*₆, δ).

№	146a	146b	146c	146d	146e	146f
C-1	125.39	124.99	124.57	124.94	124.53	124.93
C-2	129.11	129.54	129.12	129.27	129.57	129.20
C-3	126.95	126.97	126.56	126.99	127.01	126.98
C-4	159.03	159.18	158.78	159.07	159.17	159.10
C-5	111.60	111.74	111.32	111.65	111.68	111.78
C-6	129.85	129.99	129.57	130.08	130.30	129.83
C-7	56.23	56.27	55.86	56.25	56.26	56.29
C-8	142.52	142.41	141.99	142.42	142.33	142.44
C-9	65.62	66.17	65.75	66.03	66.12	66.78
C-10	155.33	д 146.83 (J = 10 Гц)	д 146.42 (J = 11 Гц)	д 155.62 (J = 2.4 Гц)	т 161.17 (J = 14 Гц)	д 151.14 (J = 2.4 Гц)
C-11	д 116.37 (J = 4 Гц)	115.69	д 150.60 (J = 248 Гц)	д 115.53 (J = 7 Гц)	д 162.40 (J = 244 Гц)	д 122.50 (J = 10 Гц)
C-12	д 116.19 (J = 11 Гц)	д 151 (J = 244 Гц)	д 115.96 (J = 18 Гц)	д 120.08 (J = 17 Гц)	т 96.65 (J = 27 Гц)	д 117.51 (J = 28 Гц)
C-13	д 155.83 (J = 240 Гц)	д 116.38 (J = 18 Гц)	д 121.21 (J = 7 Гц)	д 151.12 (J = 247 Гц)	д 162.25 (J = 244 Гц)	д 155.08 (J = 247 Гц)
C-14	д 116.19 (J = 11 Гц)	д 125.30 (J = 3 Гц)	д 124.88 (J = 3 Гц)	д 117.56 (J = 22 Гц)	м 99.15	д 115.01 (J = 21 Гц)
C-15	д 116.37 (J = 4 Гц)	д 121.63 (J = 7 Гц)	115.27	116.63	м 99.43	д 115.54 (J = 9.4 Гц)
C-16	178.04	178.06	177.64	178.06	178.07	178.09

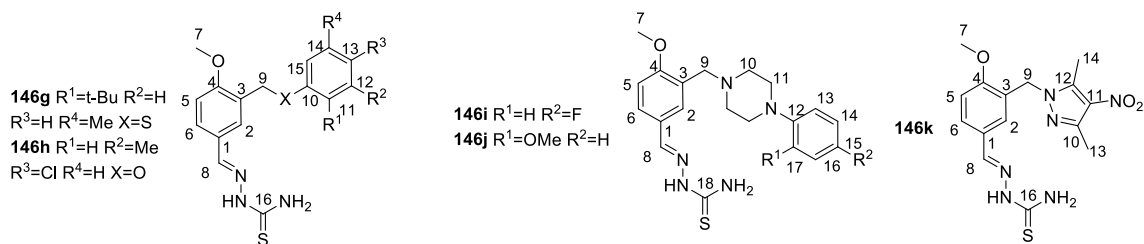


Таблица 15 ЯМР ¹H спектры **146g–146k** (ДМСО-*d*₆, δ).

№	146g	146h	146i	146j	146k
H-2	с 7.91	с 7.99	с 8.00	с 8.00	с 7.89
H-5	д 7.00 (J = 9.3 Гц)	м 7.04	м 7.02	д 7.05 (J = 8.5 Гц)	д 7.03 (J = 8.5 Гц)
H-6	м 7.62	м 7.72	м 7.69	bc 7.75	м 7.63
H-7	с 3.80	с 3.85	с 3.83	с 3.83	с 3.81
H-8	с 8.14	с 8.14	с 8.11	с 8.15	с 7.97
H-9	с 4.09	с 5.00	с 3.55	с 3.68	с 5.21
H-10			bc 2.57	bc 2.69	
H-11	с 1.19 (t-Bu)		bc 3.07	bc 2.93	
H-12	с 7.09	с 2.28 (Me)			
H-13	с 7.18	м 7.06	м 6.90	м 6.87-6.94	2.34
H-14	с 2.21 (Me)	м 7.28	м 7.02	м 6.87-6.94	2.67
H-15	с 7.09	м 6.86		м 6.87-6.94	
H-16			м 7.02	м 6.87-6.94	
H-17			м 6.90	с 3.74 (OMe)	
NH	с 11.32	с 11.33	с 11.29	с 11.34	с 11.33
NH ₂	с 7.62 анд с 7.80	с 7.89 анд с 7.93	м 7.69 анд с 7.85	bc 7.72 анд bc 7.90	с 7.75 анд с 7.78

Таблица 16 ЯМР ¹³C спектры **146g–146k** (ДМСО-*d*₆, δ).

№	146g	146h	146i	146j	146k
C-1	125.87	124.88	127.95	126.36	123.74
C-2	129.13	129.36	126.19	128.64	129.05
C-3	126.31	126.52	127.95	126.36	126.59
C-4	158.47	158.57	159.03	159.28	158.26
C-5	111.11	111.19	111.16	111.38	111.30
C-6	129.59	129.50	129.64	130.46	129.37
C-7	55.77	55.80	55.67	55.89	55.83
C-8	142.02	142.12	142.24	142.42	141.87
C-9	31.52	64.84	48.73	49.30	48.10
C-10	134.24	157.29	55.06	55.05	145.04
C-11	148.8 (C, Ar) 30.88 (Me t-Bu) 34.14 (C, t-Bu)	117.36	52.36	52.55	130.02
C-12	128.25	128.60 (C, Ar) 19.79 (Me)	147.75	152.02	141.38
C-13	125.88	136.52	117.02 (J = 7 Гц)	111.92	11.39
C-14	134.58 (C, Ar) 19.32 (Me)	124.70	115.06 (J = 22 Гц)	118.13	13.90
C-15	123.05	113.82	d 155.00 (J = 232 Гц)	122.77	
C-16	177.58	177.66	115.06 (J = 22 Гц)	120.92	177.67
C-17			117.02 (J = 7 Гц)	140.08	
C-18			177.60	177.64	

Методика синтеза гидразинтиазольных производных (148a-q, 149a-k, 150a-h)

Бромусниновую кислоту **104** (1 ммоль) растворили в 35 мл метилового спирта. К раствору добавили 1 ммоль тиосемикарбазона **146-148**. Раствор перемешивали в течение 1 часа. Выпавший осадок отфильтровали и промыли метанолом, затем водой.

4-[(1E)-(2-{4-[(1R)-12-Ацетил-3,5,11-тригидрокси-1,4-диметил-13-оксо-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-2(7),3,5,9,11-пентаен-6-ил]-1,3-тиазол-2-ил}гидразин-1-илден)метил]пиридин-1- иум бромид (+)-148a: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 74%. ЯМР ¹H (ДМСО-*d*6): см. табл. 17. ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*6): см. табл. 18. HRMS: *m/z* вычислено для (C₂₅H₂₀O₆N₄³²S₁)⁺ 504,1094; найдено 504,1098. элементный анализ: вычислено для C₂₅H₂₁O₆N₄S₁Br (585.42): Br 13.65%, Найдено Br 13,58%.

4-[(1E)-(2-{4-[(1S)-12-Ацетил-3,5,11-тригидрокси-1,4-диметил-13-оксо-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-2(7),3,5,9,11-пентаен-6-ил]-1,3-тиазол-2-ил}гидразин-1-илден)метил]пиридин-1-иум бромид (-)-148a: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 77%.

2-[(1E)-(2-{4-[(1R)-12-Ацетил-3,5,11-тригидрокси-1,4-диметил-13-оксо-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-2(7),3,5,9,11-пентаен-6-ил]-1,3-тиазол-2-ил}гидразин-1-илден)метил]пиридин-1-иум бромид (+)-148b: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 62%. ЯМР ¹H (ДМСО-*d*6): см. табл. 17. ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*6): см. табл. 18. HRMS: *m/z* вычислено для (C₂₅H₂₀O₆N₄³²S₁)⁺ 504,1094; найдено 504,1089. элементный анализ: вычислено для C₂₅H₂₁O₆N₄S₁Br (585.42): Br 13.65%, Найдено Br 13,59%.

2-[(1E)-(2-{4-[(1S)-12-Ацетил-3,5,11-тригидрокси-1,4-диметил-13-оксо-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-2(7),3,5,9,11-пентаен-6-ил]-1,3-тиазол-2-ил}гидразин-1-илиден)метил]пиридин-1-ил бромид (-)-148b: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 63%.

3-[(1E)-(2-{4-[(1R)-12-Ацетил-3,5,11-тригидрокси-1,4-диметил-13-оксо-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-2(7),3,5,9,11-пентаен-6-ил]-1,3-тиазол-2-ил}гидразин-1-илден)метил]пиридин-1-иум бромид (+)-148c: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 58%. ЯМР ¹H (ДМСО-*d*6): см. табл. 17. ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*6): см. табл. 18. HRMS: *m/z* вычислено для (C₂₅H₂₀O₆N₄³²S₁)⁺ 504,1094; найдено 504,1104. элементный анализ: вычислено для C₂₅H₂₁O₆N₄S₁Br (585.42): Br, 13.65%, Найдено Br, 13,62%.

3-[(1E)-(2-{4-[(1S)-12-Ацетил-3,5,11-тригидрокси-1,4-диметил-13-оксо-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-2(7),3,5,9,11-пентаен-6-ил]-1,3-тиазол-2-ил}гидразин-1-илден)метил]пиридин-1-иум бромид (-)-148c: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 54%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(5-нитротиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-148d: Красный аморфный порошок. Выход: 74%. ЯМР ¹H (DMCO-*d*6): см. табл. 17. ЯМР ¹³C (DMCO-*d*6): см. табл. 18. HRMS: *m/z* вычислено для (C₂₄H₁₈O₈N₄³²S₂)⁺ 554,0561; найдено 554,0555.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(5-нитротиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-148d: Красный аморфный порошок. Выход: 75%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(5-метилтиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-148e: Коричневый аморфный порошок. Выход: 66%. ЯМР ¹H (DMCO-*d*6): см. табл. 17. ЯМР ¹³C (DMCO-*d*6): см. табл. 18. HRMS: *m/z* вычислено для (C₂₅H₂₁O₆N₃³²S₂)⁺ 523,0866; найдено 523,0860.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(5-метилтиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-148e: Коричневый аморфный порошок. Выход: 65%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(5-бромтиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-1486f: Коричневый аморфный порошок. Выход: 75%. ЯМР ¹H (CDCl₃): см. табл. 19. ЯМР ¹³C (CDCl₃): см. табл. 20. HRMS: *m/z* вычислено для (C₂₄H₁₈O₆N₃⁷⁹Br³²S₂)⁺ 586,9815; найдено 586,9820.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(5-бромтиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-148f: Коричневый аморфный порошок. Выход: 78%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(тиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-148g: Коричневый аморфный порошок. Выход: 71%. ЯМР ¹H (CDCl₃): см. табл. 19. ЯМР ¹³C (CDCl₃): см. табл. 20. HRMS: *m/z* вычислено для (C₂₄H₁₉O₆N₃³²S₂)⁺ 509,0710; найдено 509,0707.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(тиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-148g: Коричневый аморфный порошок. Выход: 70%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(4-бромтиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-

1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-148h: Коричневый аморфный порошок. Выход: 73%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 19. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 20. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{O}_6\text{N}_3^{79}\text{Br}^{32}\text{S}_2)^+$ 586,9815; найдено 586,9807.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(4-бромтиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-148h: Коричневый аморфный порошок. Выход: 77%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(3-метилтиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-148i: Коричневый аморфный порошок. Выход: 65%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 19. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 20. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{O}_6\text{N}_3^{32}\text{S}_2)^+$ 523,0866; найдено 523,0864.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(3-метилтиофен-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-148i: Коричневый аморфный порошок. Выход: 67%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(тиофен-3-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он амин (+)-148j: Коричневый аморфный порошок. Выход: 67%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 19. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 20. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{N}_3^{32}\text{S}_2)^+$ 509,0710; найдено 509,0705.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(тиофен-3-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он амин (-)-148j: Коричневый аморфный порошок. Выход: 70%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(фуран-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-148k: Коричневый аморфный порошок. Выход: 65%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 21. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 22. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{N}_3^{32}\text{S}_1)^+$ 493,0938; найдено 493,0942.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(фуран-2-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-16k: Коричневый аморфный порошок. Выход: 63%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(фуран-3-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-148l: Коричневый аморфный порошок. Выход: 78%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см.

табл. 21. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 22. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{N}_3^{32}\text{S}_1)^+$ 493,0938; найдено 493,0941.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(фуран-3-ил)метил иден]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12 - пентаен-3-он (-)-148l: Коричневый аморфный порошок. Выход: 75%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(1H-пиррол-2-ил)метилен] гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-148m: Коричневый аморфный порошок. Выход: 21%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 21. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 22. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{N}_4^{32}\text{S}_1)^+$ 492,1080; найдено 492,1090.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(1H-пиррол-2-ил)метил иден]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12 - пентаен-3-он (-)-148m: Коричневый аморфный порошок. Выход: 20%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(1-метил-пиррол-2-ил) метилиден]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-148n: Коричневый аморфный порошок. Выход: 80%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 21. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 22. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{O}_6\text{N}_4^{32}\text{S}_1)^+$ 506,1255; найдено 506,1258.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(1-метил-пиррол-2-ил) метилиден]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-148n: Коричневый аморфный порошок. Выход: 81%.

5-[(1E)-(2-{4-[(1R)-12-Ацетил-3,5,11-тригидрокси-1,4-диметил-13-оксо-8-оксатри цикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-2(7),3,5,9,11-пентаен-6-ил]-1,3-тиазол-2-ил}гидразин-1-илиден)метил]-1H-имидазол-1-ум бромид (+)-148o: Коричневый аморфный порошок. Выход: 79%. ЯМР ^1H ($\text{DMFSO}-d_6$): см. табл. 21. ЯМР ^{13}C ($\text{DMFSO}-d_6$): см. табл. 22. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{N}_5^{32}\text{S}_1)^+$ 493,1051; найдено 493,1045. Элементный анализ $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{N}_5\text{S}_1\text{Br}$ (585,42): рассчитано Br, 13,91%; найдено Br, 13,90%.

5-[(1E)-(2-{4-[(1S)-12-Ацетил-3,5,11-тригидрокси-1,4-диметил-13-оксо-8-оксатри цикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-2(7),3,5,9,11-пентаен-6-ил]-1,3-тиазол-2-ил}гидразин-1-илиден)метил]-1H-имидазол-1-ум бромид (-)-148o: Коричневый аморфный порошок. Выход: 79%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(1H-индол-3-ил) метилиден]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-148p: Коричневый аморфный порошок. Выход: 80%. ЯМР

^1H (ДМСО-*d6*): см. табл. 23. ЯМР ^{13}C (ДМСО-*d6*): см. табл. 23. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_6\text{N}_4^{32}\text{S}_1)^+$ 542,1255; найдено 542,1243.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(1H-индол-3-ил)метилиден]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-148p: Коричневый аморфный порошок. Выход: 79%.

(2R)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(1H-2-метил-индол-3-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-148q: Коричневый аморфный порошок. Выход: 80%. ЯМР ^1H (ДМСО-*d6*): см. табл. 23. ЯМР ^{13}C (ДМСО-*d6*): см. табл. 23. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{N}_4^{32}\text{S}_1)^+$ 556,1411; найдено 556,1415.

(2S)-4-Ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(1H-3-метил-индол-3-ил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-148q: Коричневый аморфный порошок. Выход: 88%.

(2R)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(4-фторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилен)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-149a: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 79%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 24. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 25. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{O}_8\text{N}_3\text{F}^{32}\text{S}_1)^+$ 657,1576; найдено 657,1557.

(2S)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(4-фторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилен)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-149a: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 77%.

(2R)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(3-фторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилен)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-149b: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 70%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 24. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 25. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{O}_8\text{N}_3\text{F}^{32}\text{S}_1)^+$ 657,1576; найдено 657,1590.

(2S)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(3-фторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилен)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-149b: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 65%.

(2R)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(2-фторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилен)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-149c: Оранжевый аморфный порошок.

Выход: 94%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 24. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 25. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{O}_8\text{N}_3\text{F}^{32}\text{S}_1)^+$ 657,1576; найдено 657,1590.

(2S)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(2-фторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилиден)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло [7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-149с: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 97%.

(2R)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(3-хлор-4-фторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилиден)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло [7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-149d: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 95%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 24. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 25. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{34}\text{H}_{27}\text{O}_8\text{N}_3^{35}\text{ClF}^{32}\text{S}_1)^+$ 691,1186; найдено 691,1194.

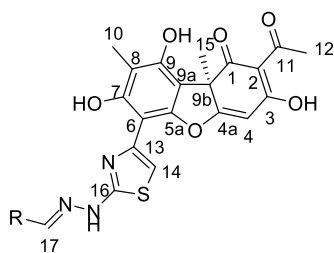
(2S)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(3-хлор-4-фторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилиден)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло [7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-149d: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 97%.

(2R)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(3,4-дифторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилиден)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло [7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-149e: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 96%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 24. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 25. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{34}\text{H}_{27}\text{O}_8\text{N}_3\text{F}_2^{32}\text{S}_1)^+$ 675,1481; найдено 675,1474.

(2S)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(3,4-дифторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилиден)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло [7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-149e: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 93%.

(2R)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(4-хлор-3-фторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилиден)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло [7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (+)-149f: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 95%. ЯМР ^1H (CDCl_3): см. табл. 24. ЯМР ^{13}C (CDCl_3): см. табл. 25. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{34}\text{H}_{27}\text{O}_8\text{N}_3^{35}\text{ClF}^{32}\text{S}_1)^+$ 691,1186; найдено 691,1195.

(2S)-4-Ацетил-10-{2-[(E)-2-({3-[(4-хлор-3-фторфенокси)метил]-4-метоксифенил}метилиден)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло [7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-3-он (-)-149f: Оранжевый аморфный порошок. Выход: 94%.



ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ м.д.): 1.67 (3H, с, H-15), 2.13 (3H, с, H-10), 2.61 (3H, с, H-12), 5.88 (1H, с, H-4). ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ м.д.): 8.3 (C-10), 27.6 (C-12), 32.0 (C-15), 59.3 (C-9b), 97.2 (C-4), 97.3 (C-9a), 103.3 (C-6), 104.4 (C-14), 105.0 (C-2), 108.8 (C-8), 143.4 (C-13), 151.3 (C-7), 151.4 (C-9), 156.3 (C-5a), 166.4 (C-16), 180.4 (C-4a), 191.5 (C-3), 197.9 (C-1), 201.2 (C-11).

ЯМР ^1H ($\text{DMCO-}d_6$, δ м.д.): 1.70 (3H, с, H-15), 2.03 (3H, с, H-10), 2.60 (3H, с, H-12), 6.20 (1H, с, H-4). ЯМР ^{13}C ($\text{DMCO-}d_6$, δ м.д.): 8.3 (C-10), 27.6 (C-12), 32.0 (C-15), 59.0 (C-9b), 96.9 (C-9a), 97.3 (C-4), 103.3 (C-6), 105.1 (C-2), 105.6 (C-14), 107.3 (C-8), 143.0 (C-13), 151.3 (C-7), 151.4 (C-9), 156.3 (C-5a), 166.4 (C-16), 180.4 (C-4a), 191.5 (C-3), 197.9 (C-1), 201.2 (C-11).

Таблица 17 ЯМР ^1H спектры **148a-e** (ДМСО-*d*6 для **148a-d**, CDCl_3 для **148e**, δ).

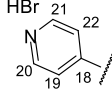
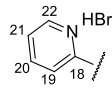
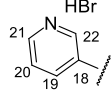
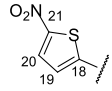
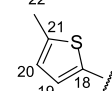
№	148a	148b	148c	148d	148e
Структура					
H-14	с 7.39	с 7.39	с 7.38	с 7.27	с 7.23
H-17	с 8.16	с 8.15	с 8.22	с 8.08	с 8.16
H-19	d 8.10 (J = 5.5 Гц)	d 8.07 (J = 8.0 Гц)	с 9.13	d 7.34 (J = 4.5 Гц)	d 7.19 (J = 4.9 Гц)
H-20	d 8.84 (J = 5.5 Гц)	т 7.66 (J = 5.9 Гц)	d 8.85 (J = 5.1 Гц)	d 7.98 (J = 4.5 Гц)	м 6.79
H-21	d 8.84 (J = 5.5 Гц)	т 8.21 (J = 5.1 Гц)	м 8.21		
H-22	d 8.10 (J = 5.5 Гц)	d 8.71 (J = 5.1 Гц)	d 8.70 (J = 5.1 Гц)		с 2.46
NH	bc 12.37	bc 12.45	---	с 12.78	---
OH-3	---	bc 18.82	bc 18.76	bc 18.78	bc 18.82
OH-7	с 13.28	с 13.05	с 12.96	с 12.49	с 12.27
OH-9	---	bc 10.30	bc 10.30	с 10.23	с 10.27

Таблица 18 ЯМР ^{13}C спектры **148a-148e** (ДМСО-*d*6 для **148a-d**, CDCl_3 для **148e**, δ).

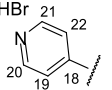
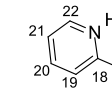
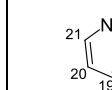
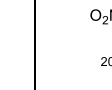
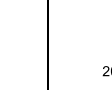
№	148a	148b	148c	148d	148e
Структура					
C-17	137.15	146.33	137.05	135.56	138.62
C-18	148.81	150.12	133.07	146.60	136.51
C-19	122.41	124.82	141.66	130.58	130.36
C-20	143.16	138.72	143.08	128.13	126.38
C-21	143.16	121.21	126.76	149.84	142.34
C-22	122.41	140.70	139.95		15.35

Таблица 19 ЯМР ^1H спектры **148f-j** (CDCl_3 , δ).






№	148f	148g	148h	148i	148j
Структура					
H-14	с 7.11	с 7.08	с 7.04	с 7.09	с 7.12
H-17	с 7.58	с 7.81	bc 8.12	с 7.73	с 7.78
H-19	d 6.77 (J = 3.8 Гц)	d 7.08 (J = 3.4 Гц)	с 7.04		с 7.43
H-20	d 6.86 (J = 3.8 Гц)	м 6.94		d 6.72 (J = 5.3 Гц)	d 7.46 (J = 4.9 Гц)
H-21		d 7.27 (J = 5.0 Гц)	с 7.19	d 7.14 (J = 4.9 Гц)	м 7.31
H-22				с 2.23	
NH	bc 9.06	bc 9.48	---	bc 9.11	bc 8.99
OH-3	с 18.79	с 18.78	с 18.79	с 18.78	с 18.79
OH-7	---	---	---	---	---
OH-9	с 10.29	с 10.27	с 10.40	с 10.26	с 10.28

Таблица 20 ЯМР ^{13}C спектры **148f-j** (CDCl_3 , δ).






№	148f	148g	148h	148i	148j
Структура					
C-17	135.97	142.67	138.68	136.47	137.90
C-18	139.39	138.12	138.72	131.71	136.51
C-19	128.64	137.70	131.84	138.95	124.77
C-20	129.92	127.87	110.30	126.73	126.09
C-21	115.29	129.21	125.35	130.60	126.59
C-22	-	-	-	13.95	-

Таблица 21 ЯМР ^1H спектры **148k-o** (CDCl_3 для **148k-n**, $\text{DMSO-}d_6$ для **148o**, δ).






№	148k	148l	148m	148n	148o
Структура					
H-14	c 7.15	c 7.11	c 7.24	c 7.09	c 7.37
H-17	c 7.60	c 7.63	c 7.94	c 7.68	c 8.09
H-19	d 6.65 ($J = 2.5 \text{ Гц}$)	c 7.59	c 6.46	м 6.39	c 8.00
H-20	м 6.45	c 7.39	c 6.14	м 6.11	c 9.17
H-21	d 7.49 ($J = 2.2 \text{ Гц}$)	м 6.75	c 6.92	c 6.72	
H-22				c 3.91	
NH	c 8.88	bc 8.93	---	bc 8.68	---
NH (HetAr)			c 11.30		c 12.60
OH-3	c 18.77	c 18.79	bc 18.77	c 18.79	---
OH-7	bc 12.40	---	c 12.05	---	c 12.71
OH-9	c 10.26	c 10.95	c 10.28	c 10.28	c 10.31

Таблица 22 ЯМР ^{13}C спектры **148к-о** (CDCl_3 для **148к-н**, $\text{DMCO-}d_6$ для **148о, д**).






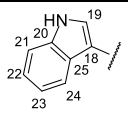
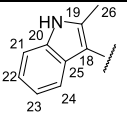
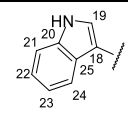
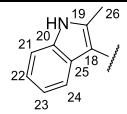
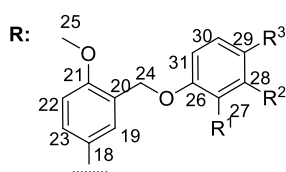
№	16к	16л	16м	16н	16о
Структура					
C-17	132.37	135.09	136.59	136.37	130.90
C-18	148.62	121.97	126.80	126.39	128.58
C-19	112.28	143.42	109.33	115.74	119.55
C-20	111.72	144.00	112.13	108.03	132.36
C-21	144.26	107.19	122.14	128.01	
C-22				37.09	

Таблица 23 ЯМР ^1H и ^{13}C спектры **148р,д** ($\text{DMCO-}d_6$, д).

№	16р	16д	№	16н	16о
Структура			Структура		
H-14	с 7.24	с 7.22	C-17	140.39	140.29
H-17	с 8.30	с 8.33	C-18	111.35	107.42
H-19	м 8.21		C-19	130.13	135.76
H-20			C-20	137.11	139.52
H-21	с 7.45	м 7.34	C-21	111.95	110.99
H-22	м 7.21	м 7.13	C-22	121.59	120.63
H-23	м 7.21	м 7.13	C-23	120.59	120.46
H-24	d 7.83 ($J = 2.7 \text{ Гц}$)	м 8.10	C-24	122.64	121.83
H-25			C-25	124.02	124.02
H-26		с 2.51	C-26		11.53
H-27					
NH	с 12.08	с 12.00			
NH (НетAr)	с 11.59	с 11.51			
OH-3	bc 18.82	bc 18.82			
OH-7	с 13.03	bc 13.05			
OH-9	с 10.30	с 10.31			



17a R¹=H R²=H R³=F

17b R¹=H R²=F R³=H

17c R¹=F R²=H R³=H

17d R¹=H R²=Cl R³=F

17e R¹=F R²=H R³=F

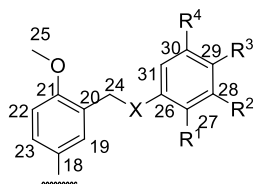
17f R¹=Cl R²=H R³=F

Таблица 24 ЯМР ¹H спектры **149a-f** (CDCl₃, δ).

№	149a	149b	149c	149d	149e	149f
H-14	с 7.09	с 7.02	м 7.05	с 7.06	с 7.09	с 7.07
H-17	м 7.45–7.65	с 7.81	с 7.68	с 7.64	с 7.60	с 7.85
H-19	м 7.45–7.65	с 7.71	с 7.62	с 7.61	с 7.56	с 7.71
H-22	м 6.82–6.97	d 6.77 (J = 8.6 Гц)	d 6.78 (J = 7.0 Гц)	м 6.82	d 6.51 (J = 7.9 Гц)	м 6.90
H-23	м 7.45–7.65	d 7.44 (J = 8.6 Гц)	d 7.44 (J = 7.0 Гц)	d 7.48 (J = 7.3 Гц)	d 7.48 (J = 8.3 Гц)	d 7.41 (J = 8.1 Гц)
H-24	с 5.00	с 5.07	с 5.09	с 4.97	с 5.00	с 5.04
H-25	с 3.83	с 3.79	с 3.79	с 3.82	с 3.84	с 3.83
H-27	м 6.82–6.97	м 6.90–7.10	с 6.91	м 7.01		d 8.47 (J = 8.5 Гц)
H-28	м 6.82–6.97	м 6.90–7.10	м 7.05		d 6.82 (J = 7.9 Гц)	м 6.90
H-29		м 6.90–7.10	м 7.05			
H-30	м 6.82–6.97		м 7.05	м 7.01	т 6.41 (J = 8.4 Гц)	м 7.12
H-31	м 6.82–6.97	м 6.90–7.10		м 6.82		
NH	bc 8.92	---	bc 9.45	bc 9.45	bc 8.93	bc 9.60
OH-3	с 18.78	с 18.77	с 18.76	с 18.77	с 18.78	с 18.75
OH-7	---	---	---	---	bc 12.21	---
OH-9	с 10.24	с 10.29	с 10.23	с 10.24	с 10.23	с 10.22

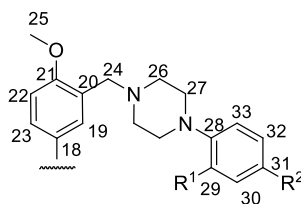
Таблица 25 ЯМР ¹³C спектры **149a-f** (CDCl₃, δ).

№	149a	149b	149c	149d	149e	149f
C-17	142.43	143.82	143.09	142.48	142.30	142.35
C-18	125.64	125.43	125.30	125.01	124.84	125.12
C-19	127.14	127.14	127.13	127.07	127.11	127.14
C-20	126.07	125.93	126.00	126.04	126.20	126.28
C-21	158.06	158.19	158.08	158.03	158.10	158.05
C-22	110.26	110.21	110.14	110.25	110.41	110.34
C-23	127.69	128.96	127.93	127.96	128.06	128.65
C-24	65.26	65.91	65.88	65.32	65.16	65.22
C-25	55.47	55.46	55.36	55.46	55.53	55.78
C-26	d 154.74 (J = 2.2 Гц)	d 146.61 (J = 10 Гц)	d 146.61 (J = 11 Гц)	d 154.81 (J = 2.4 Гц)	т 160.57 (J = 13.4 Гц)	d 150.14 (J = 2.4 Гц)
C-27	d 115.56 (J = 12 Гц)	115.50	d 151.42 (J = 247 Гц)	116.44	d 162.68 (J = 244 Гц)	d 121.50 (J = 10 Гц)
C-28	d 115.83 (J = 3.2 Гц)	d 151.84 (J = 249 Гц)	d 116 (J = 16 Гц)	120.83 (J = 19 Гц)	т 96.47 (J = 29 Гц)	d 118.51 (J = 28 Гц)
C-29	d 155.68 (J = 239 Гц)	d 116.00 (J = 19 Гц)	d 121.24 (J = 7 Гц)	d 151.54 (J = 247 Гц)	d 162.55 (J = 244 Гц)	d 156.08 (J = 247 Гц)
C-30	d 115.83 (J = 3.2 Гц)	d 124.08 (J = 3.5 Гц)	d 124.10 (J = 3.4 Гц)	d 116.51 (J = 22 Гц)	м 98.50	d 114.06 (J = 21 Гц)
C-31	d 115.56 (J = 12 Гц)	d 121.25 (J = 8 Гц)	115.41	d 114.30 (J = 6.7 Гц)	м 98.50	d 114.67 (J = 9.4 Гц)



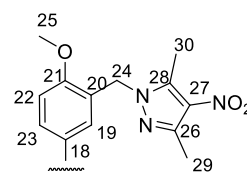
17g R¹=t-Bu R²=H R³=H R⁴=Me X=S

17h R¹=H R²=Me R³=Cl R⁴=H X=O



17i R¹=H R²=F

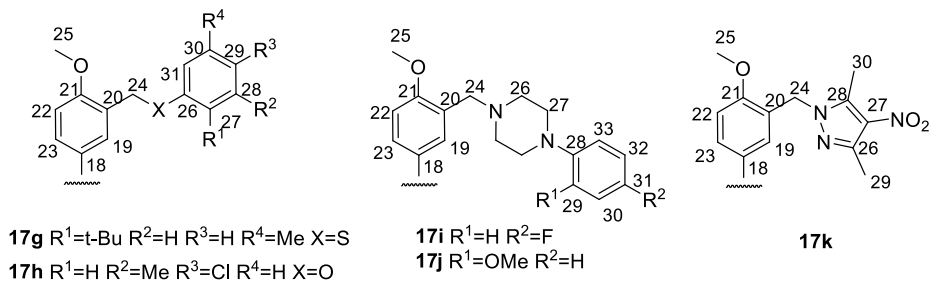
17j R¹=OMe R²=H



17k

Таблица 26 ЯМР ¹Н спектры **149g-k** (CDCl₃, δ).

№	149g	149h	149i	149j	149k
H-14	с 7.08	с 7.07	с 7.00	с 6.98	с 7.23
H-17	с 7.49	с 7.69	bc 7.98	с 8.13	с 7.26
H-19	с 7.32	с 7.64	bc 7.98	с 8.05	с 7.67
H-22	d 6.76 (J = 8.5 Гц)	м 6.76	d 6.56 (J = 8.0 Гц)	d 6.46 (J = 8.1 Гц)	d 7.08 (J = 8.4 Гц)
H-23	м 7.40	d 7.51 (J = 8.3 Гц)	м 7.34	м 6.84-7.03	d 7.50 (J = 8.4 Гц)
H-24	с 4.04	с 4.99	с 4.11	с 4.19	с 5.27
H-25	с 3.77	с 3.84	с 3.61	bc 3.51	с 3.85
H-26			с 3.29	bc 3.51	
H-27	с 1.22 (t-Bu)	d 6.88 (J = 2.4 Гц)	с 3.48	м 3.85	
H-28	м 7.23	с 2.34 (Me)			
H-29	м 7.08		м 6.83-6.94	м 6.84-7.03	с 2.40
H-30	с 2.33 (Me)	d 7.21 (J = 8.6 Гц)	м 6.83-6.94	м 3.85 (OMe)	с 2.59
H-31	м 7.32	d 6.83 (J = 8.5 Гц)		м 6.84-7.03	
H-32			м 6.83-6.94	м 6.84-7.03	
H-33			м 6.83-6.94	м 6.84-7.03	
NH	bc 9.09	bc 9.56	bc 11.22	bc 11.22	bc 12.28
OH-3	с 18.79	с 18.79	bc 18.7	bc 18.76	bc 18.80
OH-7	---	---	bc 12.64	bc 12.63	bc 12.77
OH-9	с 10.26	с 10.27	с 10.24	с 10.23	с 10.30

Таблица 27 ЯМР ¹³C спектры **149g-k** (CDCl₃, δ).

№	149g	149h	149i	149j	149k
C-17	142.74	143.61	141.77	141.03	142.40
C-18	125.70	125.47	127.27	127.72	123.52
C-19	127.77	127.19	129.01	129.77	126.09
C-20	126.47	125.90	127.27	127.72	126.99
C-21	158.61	158.08	158.70	158.36	157.16
C-22	110.38	110.21	110.52	110.89	110.26
C-23	128.79	129.46	131.17	131.96	128.05
C-24	32.56	64.74	48.25	47.48	47.97
C-25	55.50	55.45	55.35	55.26	55.41
C-26	134.44	157.12	54.52	54.64	140.77
C-27	149.06 (C _{Ar}) 31.09 (t-Bu)	113.28	51.98	52.05	145.97
C-28	129.57	127.92 20.25 (Me)	146.65	151.77	130.90
C-29	128.79	136.97	d 115.45 (J = 22 Гц)	139.11 (C _{Ar}) 54.96 (O-Me)	11.32
C-30	135.72 (C _{Ar}) 19.73 (Me)	126.01	d 118.53 (J = 7.43 Гц)	110.89	14.07
C-31	123.63	117.22	d 156.02 (J = 240 Гц)	118.75	
C-32			d 118.53 (J = 7.43 Гц)	124.02	
C-33			d 115.45 (J = 22 Гц)	121.04	

(2R)-4-ацетил-10-{2-[(E)-2-[(2E)-3,7-диметиллокта-2,6-диен-1-илиден]гидразин-1-ил]-1,3-гиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),4,6,9,11-пентаен-3-он (150a).

Жёлтый аморфный порошок. Выход 64 %, T_{пл.} – 145-150°C. ¹H ЯМР (CDCl₃, δ м.д., J Гц): 1.60 (3H, с), 1.66 (3H, с), 1.72 (3H, с), 1.84 (3H, шс), 2.14 (5H, шс), 2.21 (2H, м), 2.63 (3H, с), 5.07 (1H, т), 5.91 (1H, с), 6.01 (1H, д, J=10.4 Гц), 7.10, (1H, с), 7.73 (1H, м), 8.88 (1H, шс), 10.25 (1H, с), 12.80 (1H, шс), 18.78 (1H, с). ¹³C ЯМР (CDCl₃, δ м.д., J Гц): 8.24, 17.04, 17.53, 25.52, 25.89, 27.73, 32.02, 39.97, 59.36, 97.21, 97.51, 102.66, 103.19, 105.06, 108.74 120.64, 123.05, 132.14, 142.54, 143.48, 147.66, 151.06, 151.15, 156.41, 166.21, 180.62, 191.53, 198.04, 201.26. HRMS: Найдено m/z: 549,1925 [M]⁺ C₂₉H₃₁O₆N₃S, рассчитано.: M = 549,1928.

(2R)-4-ацетил-10-{2-[(E)-2-(3,7-диметиллокта-6-ен-1-илиден]гидразин-1-ил]-1,3-гиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-

1(13),4,6,9,11-пентаен-3-он (150b)

Жёлтый аморфный порошок. Выход: 44 %, $T_{пл}$ – 118-121°C. 1H ЯМР ($CDCl_3$, δ м.д., J Гц): 0.94 (3H, д, J=6.3 Гц), 1.14 (1H, м), 1.23 (2H, м), 1.39 (1H, м), 1.59 (3H, с), 1.67 (3H, с), 1.73 (3H, с), 2.00 (2H, м), 2.13 (4H, м), 2.63 (3H, с), 5.08 (1H, т, J=7.1 Гц), 5.90 (1H, с), 7.09 (1H, с), 7.17 (1H, т, J=5.7 Гц), 8.55 (1H, шс), 10.24 (1H, с), 12.84 (1H, шс), 18.78 (1H, с). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, δ м.д., J Гц): 8.24, 17.57, 19.46, 25.29, 25.58, 27.76, 30.87, 32.08, 36.59, 39.06, 59.44, 97.28, 97.44, 103.19, 104.17, 105.14, 108.89, 124.14, 131.49, 145.64, 146.13, 151.24, 151.52, 156.54, 166.65, 180.72, 191.59, 198.12, 201.30. HRMS: м/z Найдено: 551,2082 $[M]^+$ $C_{29}H_{33}O_6N_3S$, рассчитано: M = 551,2085.

(2R)-4-ацетил-5,11,13-тригидрокси-10-{2-[(E)-2-(7-гидрокси-3,7-диметилоктилиден)гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),4,6,9,11-пентаен-3-он (150c)

Жёлтый аморфный порошок. Выход: 63 %, $T_{пл}$ – 133-136°C, разл. 1H ЯМР ($CDCl_3$, δ м.д., J Гц): 0.94 (3H, д, J=6.7 Гц), 1.20 (7H, м), 1.34-1.46 (7H, м), 1.72 (3H, с), 2.13 (3H, с), 2.16 (1H, м), 2.64 (3H, с), 5.89 (1H, с), 7.08 (1H, с), 7.17 (1H, т, J=5.6 Гц), 8.73 (1H, шс), 10.24 (1H, с), 12.37 (1H, шс), 18.77 (1H, с). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, δ м.д., J Гц): 8.27, 19.59, 21.53, 27.79, 29.17, 29.21, 31.31, 32.10, 36.97, 39.06, 43.85, 59.45, 70.97, 97.27, 97.53, 103.18, 104.24, 105.15, 108.75, 143.47, 146.28, 151.21, 151.53, 156.60, 166.64, 180.69, 191.60, 198.13, 201.32. HRMS: Найдено м/z: 569,2187 $[M]^+$ $C_{29}H_{35}O_7N_3S$, рассчитано: M = 569,2190.

(2R)-4-ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-октилилиденгидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),4,6,9,11-пентаен-3-он (150d)

Жёлтый аморфный порошок. Выход: 82 %, $T_{пл}$ – 100-104°C. 1H ЯМР ($CDCl_3$, δ м.д., J Гц): 0.88 (3H, м), 1.28 (8H, м), 1.54 (2H, шт), 1.73 (3H, с), 2.13 (3H, с), 2.31 (2H, шт), 2.64 (3H, с), 5.91 (1H, с), 7.09 (1H, с), 7.18 (1H, шт), 8.53 (1H, шс), 10.23 (1H, с), 12.37 (1H, шс), 18.77 (1H, с). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, δ м.д., J Гц): 8.19, 13.92, 22.41, 26.31, 27.76, 28.86, 28.92, 31.54, 31.96, 32.03, 59.38, 97.22, 97.44, 103.10, 104.89, 105.06, 108.82, 142.54, 143.27, 147.16, 151.14, 151.44, 156.49, 166.51, 180.69, 191.54, 198.05, 201.28. HRMS: Найдено м/z: 525,1927 $[M]^+$ $C_{27}H_{31}O_6N_3S$, рассчитано: M = 525,1928.

(2R)-4-ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-{2-[(E)-2-[(4S)-4-(проп-1-ен-2-ил)циклогек-1-ен-1-ил]метилен}гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),4,6,9,11-пентаен-3-он (150e)

Жёлтый аморфный порошок. Выход: 73 %, $T_{пл}$ – 140-145°C. 1H ЯМР ($CDCl_3$, δ м.д., J Гц): 1.50 (1H, м), 1.75 (3H, с), 1.77 (3H, с), 1.92 (1H, м), 2.13 (1H, м), 2.18 (4H, м), 2.31 (1H,

м), 2.56 (1H, м), 2.67 (3H, с), 4.76 (2H, д, J=18.5 Гц), 5.93 (1H, с), 6.01 (1H, с), 7.11 (1H, с), 7.34 (1H, с), 8.72 (1H, с), 10.28 (1H, с), 12.58 (1H, с), 18.81 (1H, с). ¹³C ЯМР (CDCl₃, δ м.д., J Гц): 8.25, 20.60, 23.44, 26.63, 27.69, 31.21, 32.05, 40.76, 59.37, 97.20, 97.53, 103.17, 104.33, 105.08, 108.81, 108.91, 134.35, 135.20, 143.41, 146.12, 148.86, 151.12, 151.45, 156.41, 166.54, 180.61, 191.53, 198.04, 201.23. HRMS: Найдено m/z: 547,1767 [M]⁺ C₂₉H₂₉O₆N₃S, рассчитано: M = 547,1772.

(2R)-4-ацетил-10-{2-[(E)-2-[(1S,5R)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]метилиден}гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),4,6,9,11-пентаен-3-он (150f)

Жёлтый аморфный порошок. Выход: 66 %, T_{пл} – 150-154°C. ¹H ЯМР (CDCl₃, δ м.д., J Гц): 0.83 (3H, с), 1.18 (1H, шд), 1.39 (3H, с), 1.75 (3H, с), 1.77 (1H, шд), 2.17 (3H, с), 2.18 (1H, м), 2.38-2.60 (2H, м), 2.67 (3H, с), 2.99 (1H, т, J=5.6 Гц), 5.91 (1H, шт), 5.94 (1H, с), 7.11 (1H, с), 7.43 (1H, с), 8.88 (1H, шс), 10.28 (1H, с), 12.49 (1H, шс), 18.80 (1H, с). ¹³C ЯМР (CDCl₃, δ м.д., J Гц): 8.22, 20.70, 25.90, 27.67, 30.99, 32.03, 32.24, 37.50, 40.01, 40.60, 59.35, 97.25, 97.49, 103.21, 104.32, 105.08, 108.90, 131.71, 143.18, 144.72, 144.78, 151.23, 151.50, 156.46, 166.48, 180.63, 191.51, 198.07, 201.25. HRMS: Найдено m/z: 547,1728 [M]⁺ C₂₉H₂₉O₆N₃S, рассчитано: M = 547,1772.

(2R)-4-ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-(2-{2-[(2Z)-4,6,6-триметилбицикло[3.1.1]гепт-3-ен-2-илиден]гидразин-1-ил}-1,3-тиазол-4-ил)-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),4,6,9,11-пентаен-3-он и (2R)-4-ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-(2-{2-[(2E)-4,6,6-триметилбицикло[3.1.1]гепт-3-ен-2-илиден]гидразин-1-ил}-1,3-тиазол-4-ил)-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),4,6,9,11-пентаен-3-он (150g)

Жёлтый аморфный порошок. Выход: 62 %, T_{пл} 180-182°C, разл. Спектр ¹H ЯМР (CDCl₃, δ м.д., J Гц): 0.90 (3H, с), 1.41 (3H, с), 1.51 (1H, м), 1.76 (3H, с), 1.92 (3H, с), 2.12 (3H, с), 2.39 (1H, шт), 2.67 (3H, с), 2.79 (2H, м), 5.89 (1H, с), 6.09 (1H, с), 7.09 (1H, с), 8.58 (1H, шс), 10.22 (1H, с), 12.37 (1H, шс), 18.79 (1H, с). Спектр ¹³C NMR (CDCl₃, δ м.д., J Гц): 8.24, 21.19, 23.90, 25.97, 27.75, 32.08, 37.63, 49.56, 50.99, 57.49, 59.48, 97.20, 97.64, 103.05, 104.22, 105.15, 108.19, 108.92, 142.54, 143.53, 151.16, 151.53, 154.16, 156.32, 156.77, 166.51, 167.40, 180.88, 191.60, 198.17, 201.27.

Спектр ¹H ЯМР (CDCl₃, δ м.д., J Гц): 0.90 (3H, с), 1.41 (3H, с), 1.51 (1H, м), 1.76 (3H, с), 1.92 (3H, с), 2.12 (3H, с), 2.32 (1H, шт), 2.67 (3H, с), 2.69 (2H, м), 5.89 (1H, с), 5.93 (1H, с), 7.08 (1H, с), 8.45 (1H, шс), 10.22 (1H, с), 12.37 (1H, шс), 18.79 (1H, с). Спектр ¹³C ЯМР (CDCl₃, δ м.д., J Гц): 8.24, 22.16, 23.40, 26.47, 27.75, 32.08, 36.66, 40.69, 49.61, 57.49, 59.48,

97.20, 97.64, 103.05, 104.22, 105.15, 108.92, 118.65, 142.54, 143.53, 151.16, 151.53, 155.08, 156.32, 161.94, 166.51, 167.61, 180.88, 191.60, 198.17, 201.27. HRMS: найдено m/z : 547,1777 $[M]^+$ $C_{29}H_{29}O_6N_3S$, рассчитано: $M = 547,1772$.

(2R)-4-ацетил-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-10-(2-{2-[(2E)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илиден]гидразин-1-ил}-1,3-тиазол-4-ил)-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),4,6,9,11-пентаен-3-он (150h)

Жёлтый аморфный порошок. Выход: 91 %, $T_{пл}$ – 168-173°C, разл. Спектр 1H ЯМР ($CDCl_3$, δ м.д., J Гц): 0.77 (3H, с), 0.94 (3H, с), 1.05 (3H, с), 1.22 (1H, м), 1.44 (1H, м), 1.71 (3H, с), 1.87 (2H, м), 2.01 (1H, м), 2.13 (3H, с), 2.63 (3H, с), 5.88 (1H, с), 7.06 (1H, с), 7.95 (1H, шс), 10.21 (1H, с), 12.54 (1H, шс), 18.77 (1H, с). Спектр ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, δ м.д., J Гц): 8.22, 10.90, 18.52, 19.44, 27.19, 27.80, 32.10, 32.49, 33.37, 44.01, 48.09, 52.64, 59.46, 97.22, 97.57, 103.06, 104.21, 105.13, 108.89, 143.43, 147.16, 151.14, 151.49, 156.71, 165.49, 167.58, 180.84, 191.60, 198.14, 201.32. HRMS: Найдено m/z : 549,1917 $[M]^+$ $C_{29}H_{31}O_6N_3S$, рассчитано: $M = 549,1928$.

Метод синтеза енаминов 151a-e

Усниновую кислоту **1** (1 ммоль) растворили в 10 мл этилового спирта. К раствору добавили терпеновый амин (1,2 ммоль) и триэтиламин (0,2 ммоль). Раствор оставили при перемешивании при кипячении с обратным холодильником в течение 2 часов. Затем реакционную смесь охладил и разбавил водой и 1M раствором соляной кислоты до выпадения осадка. Выпавший осадок отфильтровали и высушили на воздухе. Продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – хлористый метилен).

(2R,4E)-10-Ацетил-4-(1-[(3S)-3,7-диметил-окта-6-ен-1-ил]амино)этилиден)-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),6,9,11-тетраен-3,5-дион (151a)

Желтый аморфный порошок. Выход: 75%. ЯМР 1H : см. таблицу 28. ЯМР ^{13}C : см. таблицу 29. HRMS: m/z вычислено для $(C_{28}H_{35}O_6N)^+$ 481,2459; найдено 481,2457.

(2R,4E)-10-Ацетил-4-(1-[(3S)-3,7-диметил-окта-2,6-диен-1-ил]амино)этилиден)-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),6,9,11-тетраен-3,5-дион (151b)

Желтый аморфный порошок. Выход: 68%. ЯМР 1H : см. таблицу 28. ЯМР ^{13}C : см. таблицу 29. HRMS: m/z вычислено для $(C_{28}H_{33}O_6N)^+$ 479,2302; найдено 479,2295.

(2R,4E)-10-Ацетил-4-[1-({2-[(1R,5S)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил}этил)амино)етилиден]-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),6,9,11-тетраен-3,5-дион (151c)

Желтый аморфный порошок. Выход: 92%. ЯМР ¹H: см. таблицу 28. ЯМР ¹³C: см. таблицу 29. HRMS: m/z вычислено для (C₂₉H₃₃O₆N)⁺ 491,2302; найдено 491,2307.

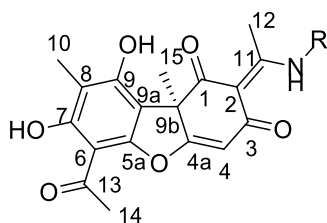
(2R,4E)-10-Ацетил-4-[1-({[(1R,5S)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]метил}амино)етилиден]-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),6,9,11-тетраен-3,5-дион (151d)

Желтый аморфный порошок. Выход: 66%. ЯМР ¹H: см. таблицу 28. ЯМР ¹³C: см. таблицу 29. HRMS: m/z вычислено для (C₂₈H₃₁O₆N)⁺ 477,2144; найдено 477,2146.

(2R,4E)-10-Ацетил-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-4-[1-({[(4S)-4-(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-1-ен-1-ил]метил}амино)етилиден]-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),6,9,11-тетраен-3,5-дион (151e)

Желтый аморфный порошок. Выход: 33%. ЯМР ¹H: см. таблицу 28. ЯМР ¹³C: см. таблицу 29. HRMS: m/z вычислено для (C₂₈H₃₁O₆N)⁺ 477,2151; найдено 477,2146.

ЯМР ¹H (CDCl₃, δ, J Гц): 1.7 (3H, с, Н-15), 2.1 (3H, с, Н-10),



2.6 (3H, с, Н-12), 2.6 (3H, с, Н-14), 5.8 (1H, с, Н-4), 12.0 (1H, с, ОН-9), 13.3 (2H, с и шс, ОН-7 и NH). ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ): 7.4 (C-10), 20.9 (C-12), 31.1 (C-15), 31.2 (C-12), 56.6 (C-9b), 101.2 (C-9a), 102.1 (C-6), 102.4 (C-4), 105.0 (C-8), 107.8 (C-2), 155.8 (C-7), 158.2 (C-9),

163.3 (C-5a), 173.8 (C-11), 174.5 (C-4a), 189.4 (C-3), 198.0 (C-1), 200.6 (C-11).

Таблица 28 ЯМР ¹H спектры производных 151a-e

№	151a	151b	151c	151d	151e
Структура					
H-16	3.45, м	4.0, м	3.44, м	3.95, м	3.94, м
H-17	1.15-1.52, м	5.28, м	2.18-2.38, м	---	---
H-18	1.73, м	---	---	5.47, шс	5.67, шс

H-19	1.15-1.52, м	2.08, с	5.44, с	2.30, м	1.94-2.20, м
H-20	1.99, м	2.09, с	2.18-2.38, м	2.44, м	1.94-2.20, м
H-21	5.06, м	5.05, м	2.18-2.38, м	---	1.50, м и 1.86, м
H-22	---	---	---	2.0, м	1.94-2.20, м
H-23	1.59, с	1.58, с	2.0, м	1.2 d (8.9) и 2.1, м	---
H-24	0.94, д (6.25)	1.65, с	1.1, d (8.6) и 2.1, м	0.84, с	4.7, д (13.5)
H-25	1.68, с	1.77, с	0.78, с	1.29, с	1.71, с
H-26	---	---	1.25, с	---	---

Таблица 29 ЯМР ^{13}C спектры производных **151a-e**

№	151a	151b	151c	151d	151e
Структура					
C-16	42.00	41.8	45.2	48.4	49.5
C-17	36.6	117.0	35.7	120.2	148.9
C-18	31.9	142.15	120.4	141.5	125.0
C-19	35.8	39.2	143.0	31.4	30.2
C-20	25.2	26.0	31.2	40.5	40.5
C-21	123.9	123.2	40.5	38.1	26.9
C-22	131.7	132.0	38.0	44.0	27.0
C-23	17.6	25.6	42.0	31.9	131.1
C-24	25.6	16.5	32.0	18.8	108.9
C-25	18.2	17.6	18.4	25.9	18.1
C-26	---	---	26.1	---	---

Методика синтеза енаминов на основе усниновой кислоты 154a-e

Енамин **153** (1 ммоль), терпеновый спирт (1,3 ммоль), 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида гидрохлорид (EDC) (1,45 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (DMAP) (0,5 ммоль) растворили в 10 мл хлористого метилена под атмосферой аргона. Смесь оставили при перемешивании на ледяной бане в течение 2 часов, а затем при комнатной температуре на ночь. Полученную смесь промыли раствором 0,1 М соляной кислоты, раствором гидрокарбоната калия, высушили над прокаленным сульфатом магния и затем упарили на ротационном испарителе. Продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – хлористый метилен).

(3R)-3,7-диметилдекта-6-ен-1-ил ($\{1-[(2R,4E)-10\text{-ацетил-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-3,5-диоксо-8-оксатрицикло}[7.4.0.0^{2,7}]$ тридека-1(13),6,9,11-тетраен-4-илиден]этил}амино)бутаноат (**154a**)

Аморфный порошок коричневого цвета. Выход: 53%. ЯМР ^1H : см. таблицу 30. ЯМР ^{13}C : см. таблицу 31. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{O}_8\text{N})^+$ 567,2827; найдено 567,2824.

(2E)-3,7-диметилдекта-2,6-диен-1-ил ($\{1-[(2R,4E)-10\text{-ацетил-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-3,5-диоксо-8-оксатрицикло}[7.4.0.0^{2,7}]$ тридека-1(13),6,9,11-тетраен-4-илиден]этил}амино)бутаноат (**154b**)

Аморфный порошок коричневого цвета. Выход: 45%. ЯМР ^1H : см. таблицу 30. ЯМР ^{13}C : см. таблицу 31. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{O}_8\text{N})^+$ 565,2670; найдено 565,2667.

2-[(1R,5C)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]этил ($\{1-[(2R,4E)-10\text{-ацетил-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-3,5-диоксо-8-оксатрицикло}[7.4.0.0^{2,7}]$ тридека-1(13),6,9,11-тетраен-4-илиден]этил}амино)бутаноат (**154c**)

Аморфный порошок коричневого цвета. Выход: 69%. ЯМР ^1H : см. таблицу 30. ЯМР ^{13}C : см. таблицу 31. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{33}\text{H}_{39}\text{O}_8\text{N})^+$ 577,2670; найдено 577,2668.

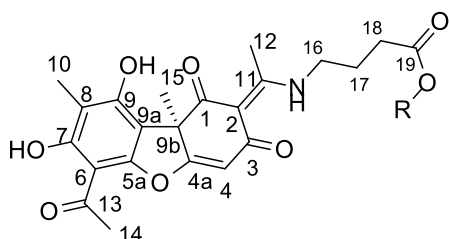
[(1R,5C)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]метил ($\{1-[(2R,4E)-10\text{-ацетил-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-3,5-диоксо-8-оксатрицикло}[7.4.0.0^{2,7}]$ тридека-1(13),6,9,11-тетраен-4-илиден]этил}амино)бутаноат (**154d**)

Аморфный порошок коричневого цвета. Выход: 53%. ЯМР ^1H : см. таблицу 30. ЯМР ^{13}C : см. таблицу 31. HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{O}_8\text{N})^+$ 563,2514; найдено 563,517.

[(4C)-4-(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-1-ен-1-ил]метил ({1-[(2R,4E)-10-ацетил-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-3,5-диоксо-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),6,9,11-тетраен-4-илиден]этил}амино)бутаноат (154e)

Аморфный порошок коричневого цвета. Выход: 68%. ЯМР ¹H: см. таблицу 30. ЯМР ¹³C: см. таблицу 31. HRMS: m/z вычислено для (C₃₂H₃₉O₈N)⁺ 563,2519; найдено 563,2521.

ЯМР спектры производных 137a-e



ЯМР ¹H (CDCl₃, δ, J Гц): 1.7 (3H, с, H-15), 2.1 (3H, с, H-10), 2.1 (2H, п, J = 6.9 Гц), 2.6 (3H, с, H-12), 2.6 (3H, с, H-14), 2.45 (2H, т, J = 6.9 Гц), 3.52 (2H, м, H-16), 5.8 (1H, с, H-4), 12.0 (1H, с, OH-9), 13.3 (2H, с и шс, OH-7 и NH). ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ): 7.4 (C-10), 20.9 (C-12), 24.2 (C-17), 30.8 (C-18), 31.1 (C-15), 31.2 (C-12), 42.9 (C-16), 56.6 (C-9b), 101.2 (C-9a), 102.1 (C-6), 102.4 (C-4), 105.0 (C-8), 107.8 (C-2), 155.8 (C-7), 158.2 (C-9), 163.3 (C-5a), 172.1 (C-19), 173.8 (C-11), 174.5 (C-4a), 189.4 (C-3), 198.0 (C-1), 200.6 (C-11).

Таблица 30 ЯМР ¹H спектры производных 137a-e

№	a	b	c	d	e
Структура					
H-16	4.10, м	4.61, м	4.01, м	4.45, м	4.45, м
H-17	1.15-1.52, м	5.31, м	2.10-2.30, м	---	---
H-18	1.68, м	---	---	5.55, м	5.73, с
H-19	1.15-1.52, м	2.09, с	5.27, с	2.25, м	1.86-2.17, м
H-20	1.95, м	2.09, с	2.10-2.30, м	2.38, м	1.86-2.17, м
H-21	5.06, м	5.06, м	2.40, м	---	1.44, м и 1.80, м
H-22	---	---	---	2.0, м	1.86-2.17, м
H-23	1.57, с	1.57, с	2.0, м	1.1 д (8.9) и 2.1, м	---

H-24	0.96, д (6.5)	1.65, с	1.1, д (8.6) и 2.1, м	0.78, с	4.68, м
H-25	1.65, с	1.68, с	0.78, с	1.28, с	1.69, с
H-26	---		1.23, с	---	---

Таблица 31 ЯМР ^{13}C производных 137а-е

№	a	b	c	d	e
Структура					
C-16	63.3	61.7	63.0	67.3	68.65
C-17	36.8	117.7	35.7	121.8	149.1
C-18	31.8	142.7	118.8	142.5	126.1
C-19	35.2	39.4	143.7	31.1	30.2
C-20	25.2	26.1	31.2	42.9	40.5
C-21	124.3	123.5	40.5	37.9	26.2
C-22	131.2	132.8	37.8	43.4	27.0
C-23	17.5	25.6	45.4	31.8	132.1
C-24	25.6	16.4	32.0	18.5	108.9
C-25	18.1	17.6	18.2	25.9	18.0
C-26	---	---	26.1	---	---

Общая методика реакции усниновой кислоты с аммиаком в растворителях отличных от воды

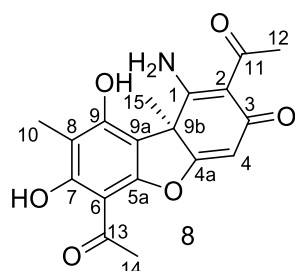
Усниновую кислоту **1** (0,29 ммоль) растворили в 5 мл растворителя (этанол, метанол, ДМФА, ДМСО, бензол, ацетонитрил). Затем к раствору добавили водный аммиак (3.64 ммоль или 18.2 ммоль или 36.4 ммоль) или продули газообразным аммиаком со скоростью пузырек в 2-3 секунды. Реакционную смесь оставили при перемешивании и при +9°C, комнатной температуре или кипячении с обратным холодильником на 3 часа. Полученный раствор разбавили водой. Образовавшийся осадок отфильтровали и высушили на воздухе.

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C соединения **155** совпадали с литературными данными [40].

Методика реакции усниновой кислоты с аммиаком в воде

Усниновую кислоту **1** (0,29 ммоль) поместили в колбу с водным аммиаком (3,64 ммоль или 18,2 ммоль или 36,4 ммоль – общий объем смеси доводился до 2500 мкл). Реакционную смесь оставили при перемешивании и при $+9^\circ\text{C}$, комнатной температуре или кипячении с обратным холодильником на 3 часа. Полученный раствор разбавили водой и подкислили до слабокислой реакции индикаторной бумаги (pH 4-5). Образовавшийся осадок отфильтровали и высушили на воздухе.

(2S)-4,10-диацетил-3-амино-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло [7.4.0.02,7]тридека-1(9),3,6,10,12-пентаен-5-он (156)



Порошок светло-жёлтого цвета. Выход 90%. $T_{\text{пл.}}$: $269-271^\circ\text{C}$.

ЯМР ^1H (ДМСО-*d*6, δ , J Гц): 1.72 (3H, с, H-15), 2.02 (3H, с, H-10), 2.42 (3H, с, H-12), 2.63 (3H, с, H-14), 5.75 (1H, с, H-4), 9.41 (1H, с, NH₂), 11.35 (1H, с, NH₂), 13.51 (1H, с, OH-7). ЯМР ^{13}C (ДМСО-*d*6, δ): 8.48 (C-10), 31.33 (C-14), 32.54 (C-12), 33.80 (C-15), 51.13 (C-9b)

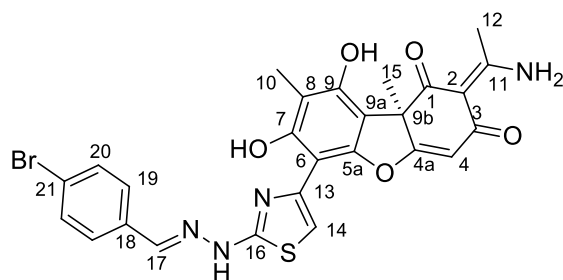
101.38 (C-6), 102.79 (C-4), 103.67 (C-2), 106.20 (C-8), 107.11 (C-9a), 156.71 (C-9), 156.90 (C-5a), 162.72 (C-7), 171.1 (C-4a), 174.52 (C-1), 184.32 (C-3), 198.75 (C-11), 201.36 (C-13). $[\alpha]_D^{24,6} +599$ (с 0.1980, EtOH). HRMS: m/z вычислено для $(\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_6\text{N}_1)^+$ 343,1050; найдено 343,1049.

Данные кристалла соединения **156**: $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_6 + \text{H}_2\text{O}$, $M = 361.34$ г/моль, Размер кристалла $0.50 \times 0.60 \times 0.70$ мм³, орторомбический, пространственная группа $P2_12_12_1$: $a = 11.6754(6)$ Å, $b = 15.9925(11)$ Å, $c = 18.5031(12)$ Å, $V = 3454.9(4)$ Å³, $Z = 8$, $D_{\text{расч}} = 1.389$ г/см³, $T = 296$ К, 30802 reflectionс измерено ($4.32^\circ \leq 2\theta \leq 56.00^\circ$), 8330 уникальных ($R_{\text{int}} = 0.0606$). Данные данные были использованы для расчета. Конечные $R_1 = 0.0546$ ($I > 2\sigma(I)$) и $wR_2 = 0.1506$ (все данные), $\text{GOF} = 1.004$. Наибольший диф. peak/hole/e Å⁻³ 0.27/–0.26. Данные были депонированы в Cambridge Crystallographic Data Centre (<http://www.ccdc.cam.ac.uk/structurec>), CCDC 2248817.

Общая методика реакции производных усниновой кислоты с аммиаком в спирте

Производное усниновой кислоты (соединение **4**, **99** или **100a**) (0,29 ммоль) растворили в 5 мл этанола. Затем к раствору добавили водный аммиак (3.64 ммоль). Реакционную смесь оставили при перемешивании и при кипячении с обратным холодильником на 3 часа. Полученный раствор разбавили водой. Образовавшийся осадок отфильтровали и высушили на воздухе.

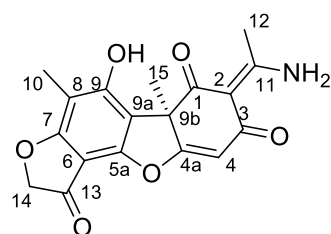
(2*R*,4*E*)-4-(1-аминоэтилиден)-10-{2-[(*E*)-2-[(4-бромофенил)метилен]гидразин-1-ил]-1,3-тиазол-4-ил}-11,13-дигидрокси-2,12-диметил-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(13),6,9,11-тетраен-3,5-дион (157)



Аморфный порошок коричневого цвета. Выход 93%. Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆, δ, J Гц): 1.62 (3H, с, Н-15), 2.03 (3H, с, Н-10), 2.53 (3H, с, Н-12), 5.84 (1H, с, Н4), 7.27 (1H, с, Н-14), 7.64 (4H, с, Н-19, Н-20), 8.04 (1H, с, Н-16), 9.73 (1H, шс, NH₂), 11.30 (1H, с, ОН-9), 11.56 (1H, шс, NH₂),

12.50 (1H, с, NH), 12.66 (1H, шс, ОН-7). ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*₆, δ): 8.50 (C-10), 24.56 (C-12), 31.83 (C-15), 56.53 (C-9b), 96.52 (C-2), 101.38 (C-6), 102.08 (C-8), 104.04 (C-4), 104.23 (C-9a), 106.37 (C-14), 122.78 (C-21), 128.35 (C-19), 131.87 (C-20), 133.34 (C-18), 141.66 (C-17), 143.38 (C-13), 151.33 (C-7), 151.65 (C-9), 155.93 (C-5a), 167.15 (C-16), 174.07 (C-4a), 175.55 (C-11), 188.91 (C-3), 198.06 (C-1). HRMS: *m/z* вычислено для (C₂₆H₂₁O₅N₄³²S⁷⁹Br)⁺ 580,0411; найдено 580,0408.

(10*R*,12*E*)-12-(1-аминоэтилиден)-8-гидрокси-7,10-диметил-5,16-диоксаттрацикло[7.7.0.0^{2,6}.0^{10,15}]гексадека-1,6,8,14-тетраен-3,11,13-трион (159)

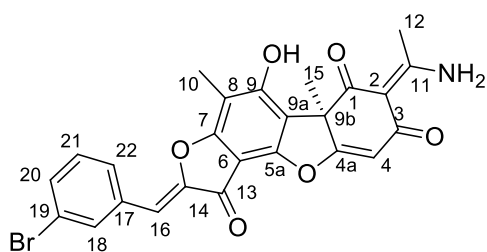


Аморфный порошок светло-коричневого цвета. Выход 92%.

Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆, δ, J Гц): 1.59 (3H, с, Н-15), 2.00 (3H, с, Н-10), 2.48 (3H, с, Н-12), 4.75 (2H, с, Н-14), 5.86 (1H, с, Н-4), 9.83 (1H, шс, NH₂), 11.48 (1H, шс, NH₂), 12.45 (1H, с, ОН-9). ЯМР

¹³C (ДМСО-*d*₆, δ): 7.00 (C-10), 24.50 (C-12), 31.62 (C-15), 55.85 (C-9b), 75.69 (C-14), 100.07 (C-2), 101.21 (C-6), 102.93 (C-4), 103.06 (C-8), 107.79 (C-9a), 149.19 (C-5a), 159.50 (C-9), 172.92 (C-4a), 173.53 (C-7), 175.85 (C-11), 188.45 (C-3), 193.69 (C-13), 197.48 (C-1). HRMS: *m/z* вычислено для (C₁₈H₁₅O₆N)⁺ 341,0894; найдено 341,0892.

(10*R*,12*E*)-12-(1-аминоэтилиден)-4-[(3-бромофенил)метилен]-8-гидрокси-7,10-диметил-5,16-диоксатетрацикло[7.7.0.0^{2,6}.0^{10,15}]гексадека-1,6,8,14-тетраен-3,11,13-трион (160)



Аморфный порошок светло-желтого цвета. Выход 93%. Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆, δ, J Гц): 1.65 (3H, с, Н-15), 2.17 (3H, с, Н-10), 2.53 (3H, с, Н-12), 5.94 (1H, с, Н4), 6.90 (1H, с, Н-16), 7.33 (1H, м, Н-21), 7.55 (1H, м, Н-20), 7.75 (1H, м, Н-22), 8.23 (1H, м, Н-18), 9.91

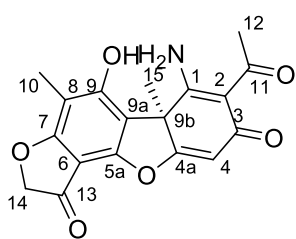
(1H, шс, NH₂), 11.53 (1H, шс, NH₂), 11.67 (1H, шс, ОН-9). ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*₆, δ): 7.11 (C-

10), 24.55 (C-12), 31.45 (C-15), 56.01 (C-9b), 100.12 (C-2), 102.99 (C-4), 103.86 (C-6), 104.11 (C-8), 106.28 (C-9a), 111.01 (C-16), 122.13 (C-19), 129.29 (C-22), 130.86 (C-21), 131.33 (C-18), 132.88 (C-20), 135.22 (C-17), 149.16 (C-14), 150.31 (C-5a), 159.67 (C-9), 172.81 (C-4a), 173.16 (C-7), 175.91 (C-1), 188.52 (C-13), 188.48 (C-3), 197.41 (C-11). HRMS: m/z вычислено для $(C_{25}H_{18}O_6N^79Br)^+$ 507,0317; найдено 507,0314.

Общая методика реакции производных усниновой кислоты с аммиаком в воде

Производное усниновой кислоты (соединение **4**, **99** или **100a**) (0,29 ммоль) поместили в колбу с 2,5 мл водного аммиака (18,2 ммоль). Реакционную смесь оставили при перемешивании и при +9°C на 8 часов или при кипячении с обратным холодильником на 3 часа. Полученный раствор разбавили водой, подкислили до слабокислой реакции индикаторной бумаги (pH 4-5). Образовавшийся осадок отфильтровали и высушили на воздухе. В случае отсутствия осадка, смесь экстрагировали этилацетатом, органический слой отделяли, сушили над сульфатом натрия и упаривали.

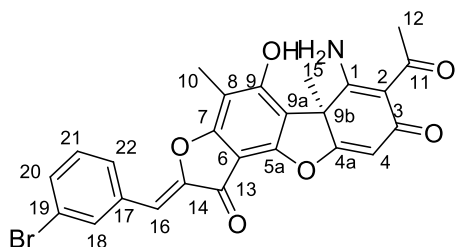
(10S)-12-ацетил-11-амино-8-гидрокси-7,10-диметил-5,16-диоксатетрацикло [7.7.0.0²,⁶.0¹⁰,¹⁵]гексадека-1,6,8,11,14-пентаен-3,13-дион (158)



Порошок светло-жёлтого цвета. Выход 94%. ЯМР ¹H (DMCO-*d*6, δ, J Гц): 1.68 (3H, с, H-15), 2.06 (3H, с, H-10), 2.46 (3H, с, H-12), 4.77 (3H, с, H-14), 5.78 (1H, с, H-4), 9.43 (1H, с, NH₂), 11.30 (1H, с, NH₂). ЯМР ¹³C (DMCO-*d*6, δ): 7.99 (C-10), 32.47 (C-12), 33.77 (C-15), 51.03 (C-9b), 75.88 (C-14), 100.52 (C-6), 103.10 (C-4), 103.61 (C-2), 103.92

(C-8), 108.83 (C-9a), 150.35 (C-5a), 156.90 (C-9), 171.80 (C-4a), 173.2 (C-7), 174.43 (C-1), 184.24 (C-3), 193.76 (C-13), 198.67 (C-11). HRMS: m/z вычислено для $(C_{18}H_{15}O_6N)^+$ 341,0894; найдено 341,0893.

(10S)-12-ацетил-11-амино-4-[(3-бромфенил)этилиден]-8-гидрокси-7,10-диметил-5,16-диоксатетрацикло [7.7.0.0²,⁶.0¹⁰,¹⁵]гексадека-1,6,8,11,14-пентаен-3,13-дион (161)



Аморфный порошок оранжевого цвета. Выход 92%. Спектр ЯМР ¹H (DMCO-*d*6, δ, J Гц): 1.69 (3H, с, H-15), 2.12 (3H, с, H-10), 2.42 (3H, с, H-12), 5.75 (1H, с, H-4), 6.59 (1H, с, H-16), 7.39 (1H, м, H-21), 7.51 (1H, м, H-20), 7.85 (1H, м, H-22), 8.06 (1H, м, H-18), 11.09 (1H, шс, NH₂), 11.21 (1H, шс, NH₂). ЯМР ¹³C (DMCO-*d*6, δ): 8.11 (C-10),

32.35 (C-12), 33.45 (C-15), 50.93 (C-9b), 96.45 (C-6), 102.89 (C-4), 103.36 (C-2), 104.11 (C-8), 106.28 (C-9a), 110.26 (C-16), 122.03 (C-19), 129.27 (C-22), 130.84 (C-21), 131.36 (C-18), 132.68 (C-20), 135.02 (C-17), 149.13 (C-14), 151.61 (C-5a), 164.67 (C-9), 167.01 (C-4a), 172.16 (C-7),

175.31 (C-1), 176.50 (C-13), 184.48 (C-3), 198.41 (C-11). HRMS: m/z вычислено для $(C_{25}H_{18}O_6N^79Br)^+$ 507,0317; найдено 507,0319.

Синтез соединений 162a-d

Гидрохлориды фенилгидразинов (1.1 ммоль) поместили в колбу с 10 мл этанола с добавлением эквимольного количества (0.1 мл) пиридина. Реакционную смесь оставили при кипячении до полного растворения реагента (5 мин). К полученному кипящему раствору добавили взвесь соединения **4a** или **148f** (1 ммоль) в 5 мл этилового спирта и оставили при кипячении на водяной бане в течение 2 часов. Затем реакционную смесь охладили до комнатной температуры и разбавили водой. Выпавший осадок коричневого цвета отфильтровали, промыли водой и высушили на воздухе. Продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – хлористый метилен).

(R,E)-8-(2-(2-(4-бромбензилиден)гидразинил)тиазол-4-ил)-5,7-дигидрокси-3,4a,6-триметил-1-фенил-1,4a-дигидро-4H-бензофуоро[3,2-f]индазол-4-он (162a)

Коричневый аморфный порошок. Выход 33%. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, δ , J Гц): 1.70 (3H, с, H-15), 2.18 (3H, с, H-10), 2.60 (3H, с, H-12), 6.07 (1H, с, H-4), 7.04 (1H, с, H-14), 7.17 (1H, с, H-17), 7.23 (2H, H-19, $J_{AB}=8.6$ Гц, АВ-сист.), 7.29 (2H, H-20, $J_{AB}=8.6$ Гц, АВ-сист.), 7.40-7.60 (5H, м, H-23, H-24 и H-25), 9.06 (1H, с, NH), 10.37 (1H, с, OH-9), 12.49 (1H, шс, OH-7). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ): 8.4 (C-10), 13.2 (C-12), 30.5 (C-15), 60.5 (C-9b), 88.0 (C-4), 97.4 (C-6), 103.6 (C-9a), 104.2 (C-14), 107.8 (C-8), 110.6 (C-2), 123.5 (C-21), 123.8 (C-23), 127.8 (C-19), 128.4 (C-25), 129.5 (C-24), 131.5 (C-20), 132.3 (C-22), 137.9 (C-18), 140.9 (C-17), 143.7 (C-13), 148.3 (C-11), 151.1 (C-3 и C-5a), 152.4 (C-9), 155.8 (C-7) 166.0 (C-16), 173.6 (C-4a), 196.4 (C-1). HRMS: m/z вычислено для $C_{32}H_{24}O_4N_5BrS^+$ 653,0727; найдено 653,0721.

(R,E)-8-(2-(2-(4-бромбензилиден)гидразинил)тиазол-4-ил)-1-(4-бромофенил)-5,7-дигидрокси-3,4a,6-триметил-1,4a-дигидро-4H-бензофуоро[3,2-f]индазол-4-он (162b)

Коричневый аморфный порошок. Выход 34%. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, δ , J Гц): 1.69 (3H, с, H-15), 2.17 (3H, с, H-10), 2.58 (3H, с, H-12), 6.04 (1H, с, H-4), 7.03 (1H, с, H-14), 7.17 (1H, с, H-17), 7.23 (2H, H-19, $J_{AB}=8.6$ Гц, АВ-сист.), 7.29 (2H, H-20, $J_{AB}=8.6$ Гц, АВ-сист.), 7.46 (2H, H-23, $J_{AB}=8.7$ Гц, АВ-сист.), 7.65 (2H, H-24, $J_{AB}=8.7$ Гц, АВ-сист.), 8.97 (1H, с, NH), 10.28 (1H, с, OH-9), 12.48 (1H, шс, OH-7). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ): 8.3 (C-10), 13.2 (C-12), 30.4 (C-15), 60.5 (C-9b), 87.7 (C-4), 97.3 (C-6), 103.5 (C-9a), 104.3 (C-14), 107.8 (C-8), 110.7 (C-2), 122.1 (C-21), 123.5 (C-25), 125.2 (C-23), 127.7 (C-19), 131.4 (C-20), 132.6 (C-24), 132.2 (C-18), 136.9 (C-22), 140.8 (C-17), 143.7 (C-13), 148.3 (C-11), 151.1 (C-3), 151.4 (C-5a) 152.3 (C-9), 155.8 (C-7) 165.9 (C-16), 173.9 (C-4a), 196.1 (C-1). HRMS: m/z вычислено для $C_{31}H_{20}O_4N_5Br_2S^+$ 715,9597; найдено 715,9579.

(*R,E*)-8-(2-(2-((5-бромтиофен-2-ил)метилен)гидразинил)тиазол-4-ил)-5,7-дигидрокси-3,4а,6-триметил-1-фенил-1,4а-дигидро-4*H*-бензофуоро[3,2-*f*]индазол-4-он (162с)

Коричневый аморфный порошок. Выход 40%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ): 1.72 (3H, с, Н-15), 2.19 (3H, с, Н-10), 2.59 (3H, с, Н-12), 6.15 (1H, с, Н-4), 6.63 (2H, Н-19, $J_{\text{AB}} = 3.8$ Гц, АВ-сист.), 6.71 (2H, Н-20, $J_{\text{AB}} = 3.8$ Гц, АВ-сист.), 7.07 (1H, с, Н-14), 7.24 (1H, с, Н-17), 7.44–7.60 (5H, м, Н-23, Н-24, Н-25), 8.75 (1H, с, NH), 10.34 (1H, с, OH-9), 12.30 (1H, шс, OH-7). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ): 8.3 (C-10), 13.2 (C-12), 30.5 (C-15), 60.4 (C-9b), 88.05 (C-4), 97.4 (C-6), 103.6 (C-9a), 104.4 (C-14), 107.6 (C-8), 110.6 (C-2), 114.62 (C-21), 123.7 (C-23), 128.4 (C-25), 128.5 (C-19), 129.5 (C-24), 130.0 (C-20), 135.6 (C-17), 137.8 (C-22), 139.8 (C-18), 143.5 (C-13), 148.4 (C-11), 151.0 (C-3), 151.1 (C-5a) 152.3 (C-9), 155.7 (C-7) 165.6 (C-16), 173.7 (C-4a), 196.2 (C-1). HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{N}_5\text{BrS}_2^+$ 659,0291; найдено 659,0279.

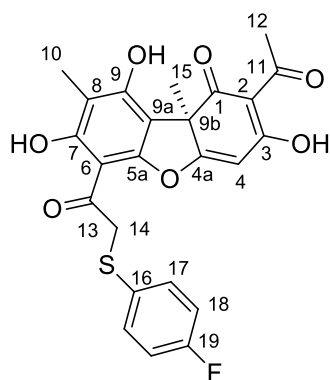
(*R,E*)-1-(4-бромфенил)-8-(2-(2-((5-бромтиофен-2-ил)метилен)гидразинил)тиазол-4-ил)-5,7-дигидрокси-3,4а,6-триметил-1,4а-дигидро-4*H*-бензофуоро[3,2-*f*]индазол-4-он (162d)

Коричневый аморфный порошок. Выход 38%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.70 (3H, с, Н-15), 2.17 (3H, с, Н-10), 2.58 (3H, с, Н-12), 6.12 (1H, с, Н-4), 6.63 (2H, Н-19, $J_{\text{AB}} = 3.8$ Гц, АВ-сист.), 6.71 (2H, Н-20, $J_{\text{AB}} = 3.8$ Гц, АВ-сист.), 7.05 (1H, с, Н-14), 7.25 (1H, с, Н-17), 7.45 (2H, Н-23, $J_{\text{AB}} = 8.6$ Гц, АВ-сист.), 7.66 (2H, Н-24, $J_{\text{AB}} = 8.6$ Гц, АВ-сист.), 8.83 (1H, с, NH), 10.26 (1H, с, OH-9), 11.97 (1H, шс, OH-7). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ): 8.4 (C-10), 13.2 (C-12), 30.5 (C-15), 60.6 (C-9b), 87.85 (C-4), 97.5 (C-6), 103.6 (C-9a), 104.5 (C-14), 107.9 (C-8), 110.9 (C-2), 114.8 (C-21), 122.16 (C-25), 125.2 (C-23), 128.7 (C-19), 130.2 (C-20), 132.6 (C-24), 135.8 (C-17), 137.05 (C-22), 139.9 (C-18), 143.7 (C-13), 148.5 (C-11), 151.1 (C-3), 151.2 (C-5a) 152.4 (C-9), 155.9 (C-7) 165.8 (C-16), 174.2 (C-4a), 196.2 (C-1). HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{30}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}_5\text{S}_2\text{Br}_2$ 736,9396; найдено 736,9402.

Синтез сульфидов на основе усниновой кислоты 163а-о

Тиол (1,1 ммоль) и гидроксид калия (1,1 ммоль) поместили в колбу с 6 мл метанола и оставили при перемешивании в течение 10-15 минут при комнатной температуре. К полученному раствору добавили бромусниновую кислоту **104** (1 ммоль). Смесь оставили при перемешивании при комнатной температуре на 2-3 часа. Контроль реакции осуществляли с помощью ТСХ. Полученную смесь разбавили водой до выпадения осадка. Полученный осадок отфильтровали и высушили на воздухе. Продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – хлористый метилен).

(R)-2-ацетил-6-(2-((4-фторфенил)тио)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил дибензо[b,d]фуран-1(9bH)-он (163a)

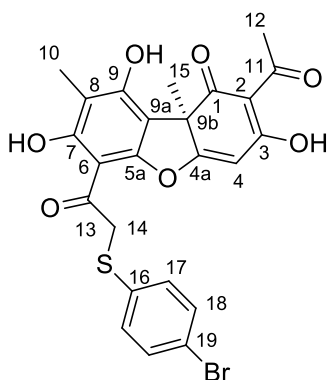


Аморфный порошок желтого цвета. Выход 40%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.74 (3H, с), 2.10 (3H, с), 2.65 (3H, с), 4.13 (2H, д, J = 14.3 Гц и д, J = 14.3 Гц, АВ-сист.), 5.95 (1H, с), 6.97 (2H, м), 7.37 (2H, м), 11.11 (ОН, с), 12.81 (ОН, с), 18.84 (ОН, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.4, 27.8, 31.8, 45.3, 58.7, 98.4, 99.6, 104.1, 105.1, 109.5, 116.0 и 116.1, 128.9, 134.0 и 134.1, 154.3, 157.8, 161.4 и 163.4 ($J_{\text{C-F}} = 248$), 164.1, 178.7, 191.5, 196.0, 197.7, 201.7. HRМС: m/z вычислено для $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{FO}_7^{32}\text{S}$ 470,0836; найдено 470,0825.

(R)-2-ацетил-6-(2-((4-хлорфенил)тио)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил дибензо[b,d]фуран-1(9bH)-он (163b)

Аморфный порошок желтого цвета, выход 80%. Спектр соединения совпадает с литературными данными [67].

(R)-2-ацетил-6-(2-((4-бромфенил)тио)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил дибензо[b,d]фуран-1(9bH)-он (163c)



Аморфный порошок желтого цвета. Выход 75%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.74 (3H, с), 2.09 (3H, с), 2.65 (3H, с), 4.19 (2H, д, J = 14.3 Гц и д, J = 14.3 Гц, АВ-сист.), 5.93 (1H, с), 7.23 (2H, д, J = 8.5 Гц), 7.37 (2H, д, J = 8.5 Гц), 11.11 (ОН, с), 12.77 (ОН, с), 18.82 (ОН, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.6, 27.9, 31.9, 44.3, 58.8, 98.5, 99.7, 104.1, 105.1, 109.6, 121.4, 133.5, 154.3, 157.9, 164.2, 178.6, 191.5, 195.8, 197.7, 201.7. HRМС: m/z вычислено для $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{BrO}_7^{32}\text{S}$ 530,0029; найдено 530,0024.

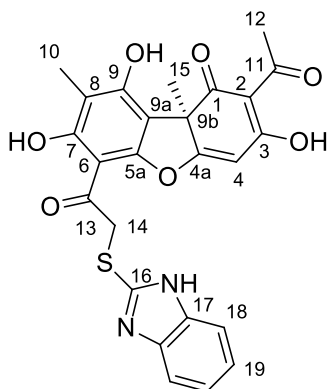
(R)-6-(2-((1H-бензо[d]оксазол-2-ил)тио)ацетил)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдибензо[b,d]фуран-1(9bH)-он (163d)

Аморфный порошок желтого цвета, выход 42%. Спектр соединения совпадает с литературными данными [67].

(R)-6-(2-((1H-бензо[d]тиазол-2-ил)тио)ацетил)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдибензо[b,d]фуран-1(9bH)-он (163e)

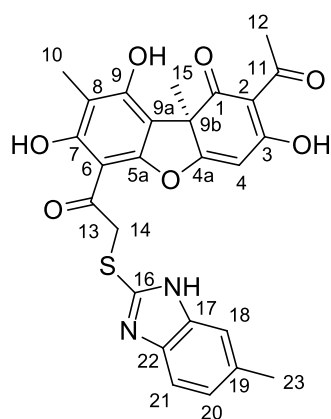
Аморфный порошок желтого цвета, выход 72%. Спектр соединения совпадает с литературными данными [67].

(R)-6-(2-((1*H*-бензо[d]имидазол-2-ил)тио)ацетил)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9*b*-диметилдибензо[b,d]фуран-1(9*b*H)-он (163f)



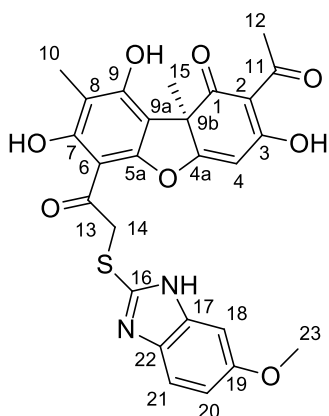
Аморфный порошок желтого цвета. Выход 54%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.70 (3H, с), 2.07 (3H, с), 2.64 (3H, с), 4.67 (2H, м), 5.94 (1H, с), 7.16 (2H, м), 7.47 (2H, м), 11.18 (OH, с), 12.64 (OH, шс), 18.78 (OH, шс). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.3, 27.7, 31.7, 42.9, 58.5, 98.6, 100.0, 104.1, 104.9, 109.1, 113.8, 122.1, 138.4, 148.5, 154.5, 157.9, 163.3, 178.3, 191.3, 194.5, 197.6, 201.5. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{O}_7\text{N}_2^{32}\text{S}$ 492,0986; найдено 492,0981.

(R)-2-Ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9*b*-диметил-6-(2-((5-метил-1*H*-бензо[d]имидазол-2-ил)тио)ацетил)дибензо[b,d]фуран-1(9*b*H)-он (163g)



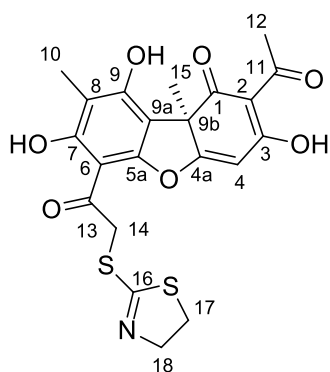
Аморфный порошок желтого цвета. Выход 56%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.61 (3H, с), 2.01 (3H, с), 2.32 (3H, с), 2.61 (3H, с), 4.56 (2H, д, $J = 16.9$ Гц и д, $J = 16.9$ Гц, АВ-сист.), 5.80 (1H, с), 6.87 (1H, д, $J = 8.3$ Гц), 7.15 (1H, с), 7.26, (1H, д, $J = 8.3$ Гц), 11.11 (OH, с), 11.41 (NH, с), 12.61 (OH, с), 18.68 (OH, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.5, 21.5, 27.8, 31.8, 42.7, 58.6, 98.8, 100.0, 104.4, 105.1, 109.4, 113.9, 123.9, 132.4, 138.4, 148.0, 154.6, 158.3, 163.7, 178.2, 191.4, 195.2, 197.7, 201.7. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_7^{32}\text{S}$ 506,1142; найдено 506,1139.

(R)-2-Ацетил-3,7,9-тригидрокси-6-(2-((5-метокси-1*H*-бензо[d]имидазол-2-ил)тио)ацетил)-8,9*b*-диметилдибензо[b,d]фуран-1(9*b*H)-он (163h)



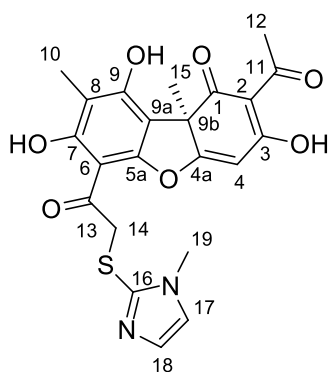
Аморфный порошок желтого цвета. Выход 71%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.64 (3H, с), 2.03 (3H, с), 2.62 (3H, с), 3.74 (3H, с), 4.61 (2H, д, $J = 16.6$ Гц и д, $J = 16.6$ Гц, АВ-сист.), 5.86 (1H, с), 6.70 (1H, д, $J = 8.8$ Гц), 6.90 (1H, с), 7.30, (1H, д, $J = 8.8$ Гц), 11.14 (OH, с), 12.64 (OH, с), 18.74 (OH, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.4, 27.7, 29.6, 31.8, 42.8, 55.6, 58.6, 96.7, 98.8, 100.0, 104.4, 105.1, 109.4, 111.8, 116.5, 137.5, 147.3, 154.6, 156.3, 158.3, 163.7, 178.2, 191.4, 195.3, 197.7, 201.6. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_8^{32}\text{S}$ 522,1091; найдено 522,1094.

(R)-2-ацетил-6-(2-((4,5-дигидротиазол-2-ил)тио)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (163i)



Аморфный порошок желтого цвета. Выход 49%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.73 (3H, с), 2.06 (3H, с), 2.63 (3H, с), 3.41 (2H, шт), 4.15 (2H, шт), 4.43 (2H, м), 5.99 (1H, с), 11.09 (OH, с), 12.71 (OH, с), 18.81 (OH, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.5, 27.8, 31.9, 43.0, 58.8, 63.7, 75.7, 98.7, 100.2, 104.1, 105.1, 109.5, 154.6, 157.9, 163.7, 167.7, 178.7, 191.5, 194.2, 197.8, 201.7. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{N}^{\text{32}}\text{S}_2$ 461,0598; найдено 461,0592.

(R)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил-6-(2-((1-метил-1H-имидазол-2-ил)тио)ацетил)дibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (163j)

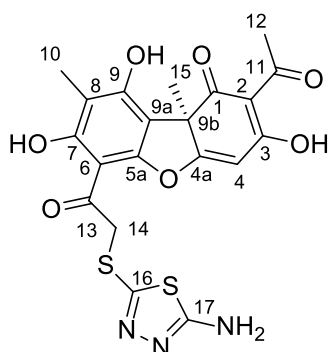


Аморфный порошок желтого цвета. Выход 50%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.73 (3H, с), 2.07 (3H, с), 2.63 (3H, с), 3.62 (3H, с), 4.47 (2H, д, J = 15.8 Гц и д, J = 15.8 Гц, АВ-сист.), 5.98 (1H, с), 6.90 (2H, д, J = 1.1 Гц), 7.01, (1H, д, J = 1.1 Гц), 11.10 (OH, с), 12.77 (OH, с), 18.77 (OH, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.5, 27.8, 31.9, 33.4, 44.9, 58.8, 98.7, 100.0, 104.2, 105.1, 109.4, 122.7, 129.6, 139.6, 154.6, 157.9, 163.8, 178.7, 191.5, 195.4, 197.9, 201.7. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7^{\text{32}}\text{S}$ 456,0986; найдено 456,0979.

(R)-6-(2-((4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетил)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (163k)

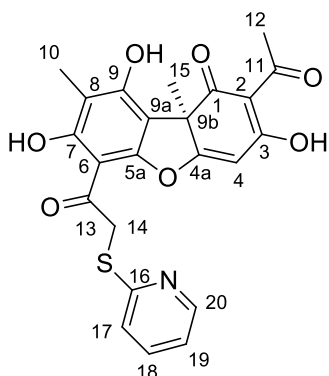
Аморфный порошок желтого цвета, выход 41%. Спектр соединения совпадает с литературными данными [67].

(R)-2-ацетил-6-(2-((5-амино-1,3,4-тиадиазол-2-ил)тио)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (163l)



Аморфный порошок желтого цвета. Выход 81%. ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, δ , J Гц): 1.71 (3H, с), 1.99 (3H, с), 2.56 (3H, с), 4.62 (2H, с), 6.89 (1H, с), 7.32 (NH_2 , с), 11.56 (OH, шс), 12.75 (OH, с). ^{13}C ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, δ): 7.6, 27.9, 31.5, 44.2, 58.3, 98.7, 100.0, 105.1, 105.6, 107.5, 107.6, 148.7, 154.8, 157.2, 157.4, 162.3, 162.6, 170.2, 178.3, 190.9, 195.4, 197.4, 201.0. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{O}_7\text{N}_3^{\text{32}}\text{S}_2$ 475,0502; найдено 475,0507.

(R)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил-6-(2-(пиридин-2-илтио)ацетил)добензо[b,d]фуран-1(9bH)-он (163m)



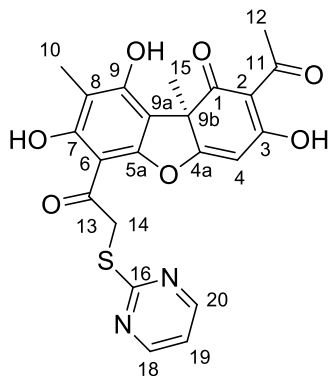
Аморфный порошок желтого цвета. Выход 90%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.76 (3H, с), 2.09 (3H, с), 2.65 (3H, с), 4.70 (2H, м), 5.92 (1H, с), 6.98 (1H, дд, $J_1 = 7.3$ Гц, $J_2 = 5.0$ Гц), 7.26 (1H, д, $J = 7.3$ Гц), 7.49 (1H, дт, $J_1 = 7.3$ Гц, $J_2 = 1.5$ Гц), 8.33 (1H, д, $J = 5.0$ Гц), 11.09 (ОН, с), 12.86 (ОН, с), 18.83 (ОН, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.5, 27.8, 32.0, 40.3, 58.9, 98.5, 100.5, 104.1, 105.1, 109.5, 119.8, 122.0, 136.1, 149.3, 154.7, 156.8, 157.7, 163.8, 179.0, 191.6, 195.9, 197.9, 201.7. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{N}^{32}\text{S}$ 453,0877; найдено

453,0874.

(R)-2-((2-(8-ацетил-1,3,7-тригидрокси-2,9a-диметил-9-оксо-9,9a-дигидродобензо[b,d]фуран-4-ил)-2-оксоэтил)тио)никотиновая кислота (163n)

Аморфный порошок желтого цвета, выход 61%. Спектр соединения совпадает с литературными данными [67].

(R)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил-6-(2-(пиримидин-2-илтио)ацетил)добензо[b,d]фуран-1(9bH)-он (163o)



Аморфный порошок желтого цвета. Выход 92% ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.77 (3H, с), 2.09 (3H, с), 2.65 (3H, с), 4.65 (2H, м), 5.98 (1H, с), 6.96 (1H, т, $J = 6.4$ Гц), 8.45 (2H, д, $J = 6.4$ Гц), 11.09 (ОН, с), 12.82 (ОН, с), 18.83 (ОН, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.5, 27.8, 32.0, 41.4, 58.9, 98.5, 100.5, 104.1, 105.1, 109.5, 116.77, 154.7, 157.2, 157.4, 163.7, 170.7, 178.9, 191.5, 195.2, 197.8, 201.7. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{N}_2^{32}\text{S}$ 454,0829; найдено 454,0823.

Методика синтеза сульфоксидов на основе усниновой кислоты 164

Метод А: Вандилацетилацетонат (0.0018 ммоль) растворили в 5 мл хлористого метилена. К полученному раствору добавили раствор сульфида **127с** или **127I** (0,215 ммоль) в 3 мл хлористого метилена и водную перекись водорода (0,027 мл, 30%). Смесь оставили при перемешивании на 3-4 часа при комнатной температуре. Затем раствор разбавили водой, экстрагировали хлористым метиленом, высушили над прокаленным сульфатом магния и упарили на ротационном испарителе. Продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – хлористый метилен: метанол 100:1). В результате выделили сульфоксиды **128с** и **128I** в виде смеси диастереомеров в соотношении 1:1 по данным ЯМР.

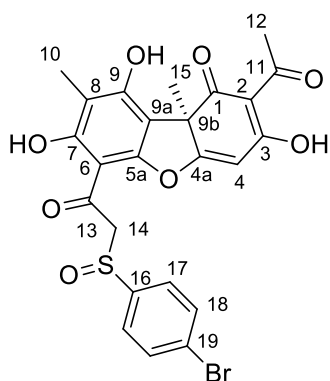
Метод Б: Вандилацетилацетонат (0.0018 ммоль) и (R,E)-2,4-ди-трет-бутил-6-(((1-гидрокси-3-фенилпропан-2-ил)имино)метил)фенол **166** (0.0013 ммоль) растворили в 5 мл хлористого метилена. К полученному раствору добавили раствор сульфида **163b,e,h,m,o** (0,215 ммоль) в 3 мл хлористого метилена и водную перекись водорода (0,027 мл, 30%). Смесь оставили при перемешивании на 3-4 часа при комнатной температуре. Затем раствор разбавили водой, экстрагировали хлористым метиленом, высушили над прокаленным сульфатом магния и упарили на ротационном испарителе. Продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – хлористый метилен: метанол 100:1).

Метод В: Сульфид **163f** или **163g** (0,215 ммоль) растворили в 5 мл хлористого метилена на ледяной бане. К полученному раствору добавили м-хлорнадбензойную кислоту (1 ммоль, 78%) и оставили при перемешивании на ледяной бане в течение 30 минут. Затем к полученной смеси добавили 3 мл насыщенного раствора сульфита натрия. Смесь оставили при перемешивании в течение 1 часа при комнатной температуре. Полученную смесь экстрагировали хлористым метиленом. Экстракт промыли водой, высушили над прокаленным сульфатом магния и упарили на ротационном испарителе. Продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – хлористый метилен: метанол 100:1).

(9bR)-2-ацетил-6-(2-((4-хлорфенил)сульфинил)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдибензо[b,d]фуран-1(9bH)-он (164b)

Аморфный порошок желтого цвета, выход 50%. Спектр соединения совпадает с литературными данными [87].

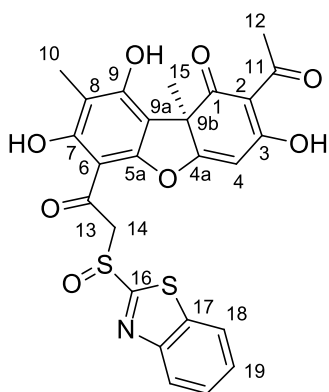
((9bR)-2-ацетил-6-(2-((4-бромфенил)сульфинил)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдибензо[b,d]фуран-1(9bH)-он (164c)



Аморфный порошок желтого цвета. Выход 65%. ¹H ЯМР (CDCl₃, δ, J Гц): 1.70 (3H, с), 2.08 (3H, с), 2.64 (3H, с), 4.51 (2H, д и д, J 13.7 = Гц, АВ-сист.) и 4.52 (2H, д и д, J = 14.3 Гц, АВ-сист.), 5.97 (1H, с) и 5.94 (1H, с), 7.52 (1H, д, J = 8.8 Гц), 7.62 (1H, д, J = 8.8 Гц), 11.26 (ОН, с), 12.59 (ОН, с) и 12.63 (ОН, с), 18.84 (ОН, с). ¹³C ЯМР (CDCl₃, δ): 7.4, 27.8, 31.8, 58.6, 68.6 и 68.8, 98.9, 101.5, 104.51, 105.1, 108.6, 125.8, 126.2, 132.4, 154.6, 158.9, 163.8, 178.1, 191.0, 191.4, 197.6, 201.8. ESI-MS: m/z вычислено для

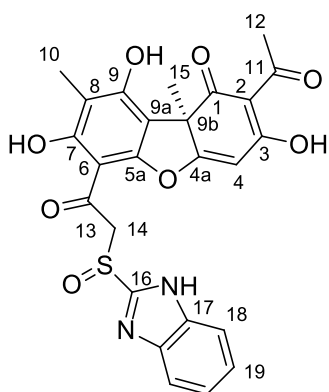
C₂₅H₁₉O₇BrO₈³²S⁺ 545,998; найдено 545,997.

(9bR)-2-ацетил-6-(2-(бензо[d]тиазол-2-илсульфинил)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (164e)



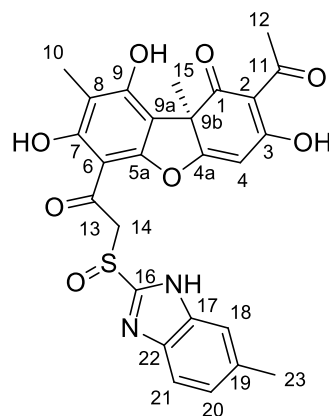
Аморфный порошок желтого цвета. Выход 50%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.64 и 1.69 (3H, с), 2.06 и 2.09 (3H, с), 2.63 и 2.63 (3H, с), 4.72 и 5.01 (2H, м), 5.93 и 5.98 (1H, с), 7.46 (2H, м), 8.00 (2H, м), 11.18 и 11.21 (OH, с), 12.52 и 12.59 (OH, с), 18.78 (OH, шс). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.4 и 7.4, 27.7, 31.7 и 31.8, 58.5 и 58.6, 68.0 и 68.6, 99.0, 101.3 и 101.4, 104.4 и 104.5, 105.0 и 105.1, 109.5 и 109.6, 122.1 и 122.2, 123.9 и 124.0, 126.4 и 127.0, 136.0 и 136.1, 153.5, 154.5 и 154.5, 158.8 и 158.9, 163.8 и 164.0, 176.1 и 176.2, 178.1, 190.4 и 190.6, 191.4, 197.6, 201.6 и 201.7. ESI-MS: m/z вычислено для $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{O}_8\text{NO}_8^{32}\text{S}_2^+$ 525,055; найдено 525,054.

(9bR)-6-(2-((1H-бензо[d]имидазол-2-ил)сульфинил)ацетил)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (164f)



Аморфный порошок желтого цвета. Выход 46%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.58 (3H, с), 2.02 (3H, с), 2.61 (3H, с), 4.98 (2H, д и д, J = 14.8 Гц, АВ-сист.), 4.94 (2H, д и д, J = 14.8 Гц, АВ-сист.), 5.93 (1H, с), 5.98 (1H, с), 7.26 (1H, м), 7.48 (1H, м), 7.67 (1H, м), 11.19 (OH, с), 12.26 (OH, с), 12.43 (NH, с), 18.46 (OH, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.3, 29.2, 29.6, 58.4, 66.7, 99.3, 100.9, 104.6, 105.0, 109.5, 112.3, 120.3, 123.3, 124.8, 131.6, 134.4, 143.5, 151.3, 154.5, 159.0, 163.8, 178.0, 190.8, 191.3, 197.5, 201.7. ESI-MS: m/z вычислено для $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_8^{32}\text{S}^-$ 507,087; найдено 507,087.

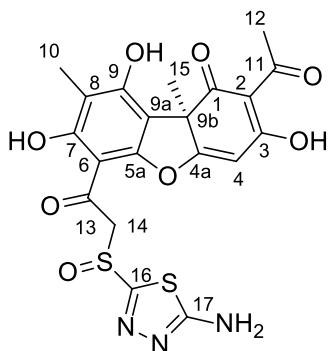
(9bR)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил-6-(2-((6-метил-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)сульфинил)ацетил)дibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (164g)



Аморфный порошок желтого цвета. Выход 34%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.62 и 1.66 (3H, с), 2.07 и 2.08 (3H, с), 2.47 и 2.48 (3H, с), 2.66 и 2.68 (3H, с), 4.76 (1H, д, J = 15.4 Гц) и 5.21 (1H, д, J = 15.4 Гц, АВ-сист.) и 4.91 (1H, д, J = 15.0 Гц) и 5.08 (1H, д, J = 15.0 Гц, АВ-сист.), 5.95 (1H, с), 5.99 (1H, с), 6.85-6.96 (1H, м), 7.38 (1H, с), 7.47-7.54 (1H, м), 9.78 (NH), 11.20 и 11.23 (OH, с), 12.51 (OH, с), 18.82 и 18.86 (OH, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.2 и 7.5, 21.0 и 21.2, 27.7, 31.2, 58.4, 65.2 и 65.9, 98.6 и 98.9, 101.3, 105.1 и 105.2, 105.3 и 105.4, 107.4 и 107.5, 108.1 и 109.1, 108.9 и 109.6, 120.8 и 123.1, 127.4 и 130.2, 129.3,

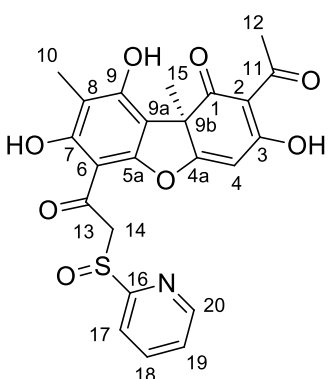
129.8 и 131.6, 152.5 и 152.6, 154.7 и 155.4, 157.5 и 157.6, 162.2 и 162.3, 178.6 и 179.8, 191.3 и 191.4, 192.5 и 192.6, 197.7, 201.2. ESI-MS: m/z вычислено для $C_{26}H_{21}N_2O_8^{32}S^-$ 521,102; найдено 521,103.

(9bR)-2-ацетил-6-(2-((5-амино-1,3,4-тиадиазол-2-ил)сульфинил)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (164l)



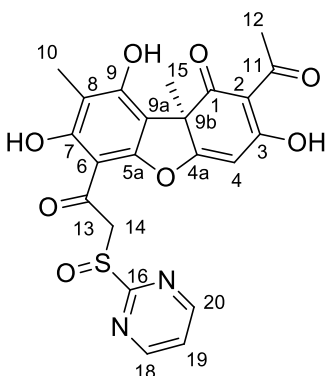
Аморфный порошок желтого цвета. Выход 81%. 1H ЯМР ($CDCl_3$, δ , J Гц): 1.683 и 1.69 (3H, c), 1.99 (3H, c), 2.59 (3H, c), 4.76 (2H, д, J = 14.1 Гц) и 4.96 (2H, д, J = 14.1 Гц, АВ-сист.), 4.82 (д, J = 15.5 Гц) и 4.92 (2H, д, J = 15.5 Гц, АВ-сист.), 5.99 и 6.02 (1H, c), 6.65 (2H, NH_2), 11.21 и 11.22 (ОН, c), 12.37 (ОН, c), 18.71 (ОН, c). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, δ): 7.4, 27.7, 31.8, 58.7 и 60.3, 67.8 и 67.9, 99.2 и 99.3, 100.9 и 101.1, 104.7, 105.1, 109.6, 154.7, 159.1, 163.8, 171.9, 178.1, 190.8 и 190.9, 191.6, 197.7, 201.7. ESI-MS: m/z вычислено для $C_{20}H_{17}N_3O_8^{32}S_2Na^+$ 514,035; найдено 514,035.

(9bR)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил-6-(2-(пиридин-2-илсульфинил)ацетил)дibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (164m)



Аморфный порошок желтого цвета. Выход 70%. 1H ЯМР ($CDCl_3$, δ , J Гц): 1.73 (3H, c), 2.07 (3H, c), 2.63 (3H, c), 4.36 (1H, м), 4.94 (1H, м), 5.96 (1H, c), 7.40 (1H, м), 7.96 (2H, м), 8.62 (1H, м), 11.19 (ОН, c), 12.62 и 12.67 (ОН, c и c), 18.82 (ОН, c). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, δ): 7.4, 27.8, 31.8, 58.7, 65.9 и 66.6, 98.7 и 98.9, 101.4 и 101.7, 104.3 и 105.1, 109.4 и 109.5, 120.3 и 120.4, 125.0, 138.1, 149.5, 154.7, 158.5 и 158.6, 163.7 и 163.8, 178.4, 191.5, 191.7 и 192.0, 197.7, 201.7. ESI-MS: m/z вычислено для $C_{23}H_{20}NO_8^{32}S^+$ 470,090; найдено 470,090.

(9bR)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил-6-(2-(пиримидин-2-илсульфинил)ацетил)дibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (164o)



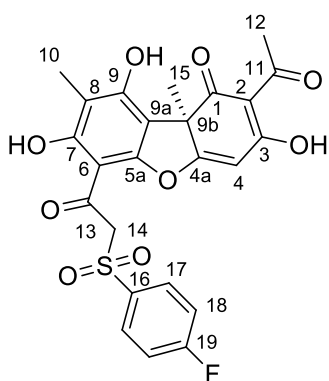
Аморфный порошок желтого цвета. Выход 74%. 1H ЯМР ($CDCl_3 + DMSO-d_6$, δ , J Гц): 1.61 (3H, c), 1.91 (3H, c), 2.50 (3H, c), 4.47 (1H, м), 4.88 (1H, м), 5.84 (1H, c), 7.36 (1H, м), 8.77 (2H, м), 11.10 (ОН, c), 12.40 и 12.42 (ОН, c и c), 18.69 (ОН, c). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, δ): 7.4, 27.8, 31.9, 58.7, 64.4 и 65.3, 98.8 и 98.9, 101.3 и 101.8, 104.5, 105.1, 109.4 и 109.6, 122.0, 154.7 и 154.9, 158.5 и

158.6, 158.8, 163.7 и 163.8, 172.4 и 172.6, 178.4, 191.5, 191.4 и 191.7, 197.7, 201.8. $C_{22}H_{19}N_2O_8^{32}S^+$ 471,086; найдено 471,086.

Методика синтеза сульфонов на основе усниновой кислоты 165

Сульфид **163a-c,e,h,I,j,m,o** (3 ммоль) растворили в 5 мл хлористого метилена на ледяной бане. К полученному раствору добавили м-хлорнадбензойную кислоту (3 ммоль, 78%). Смесь оставили при перемешивании на ледяной бане в течение 30 минут. Затем к полученной смеси добавили 3 мл насыщенного раствора сульфита натрия и оставили при перемешивании в течение 1 часа при комнатной температуре. Полученную смесь экстрагировали хлористым метиленом. Экстракт промыли водой, высушили над прокаленным сульфатом магния и упарили на ротационном испарителе. Продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – хлористый метилен: метанол 100:1).

(R)-2-ацетил-6-(2-((4-фторфенил)сульфонил)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил дибензо[b,d]фуран-1(9bH)-он (165a)

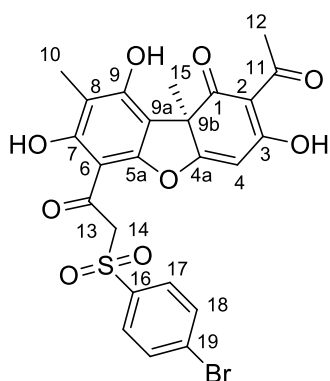


Аморфный порошок желтого цвета. Выход 57%. 1H ЯМР ($CDCl_3$, δ , J Гц): 1.75 (3H, с), 2.08 (3H, с), 2.65 (3H, с), 4.80 (1H, д, $J = 13.7$ Гц) и 4.89 (1H, д, $J = 13.7$ Гц, АВ-сист.), 6.04 (1H, с), 7.20 (2H, м), 7.87 (2H, м), 11.35 (ОН, с), 12.48 (ОН, с), 18.85 (ОН, с). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, δ): 7.4, 27.8, 31.8, 58.7, 66.6, 98.9, 101.7, 104.8, 105.1, 109.5, 116.3, 116.6, 131.3, 131.4, 135.0, 154.7, 159.2, 164.1, 164.3, 167.7, 178.0, 191.5, 191.7, 197.7, 201.8. HRMS: m/z вычислено для $C_{24}H_{19}O_9^{32}SF$ 502,0728; найдено 502,0730.

(R)-2-ацетил-6-(2-((4-хлорфенил)сульфонил)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил дибензо[b,d]фуран-1(9bH)-он (165b)

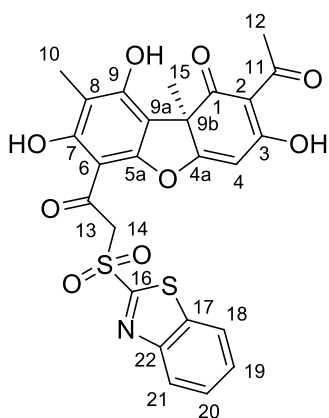
Аморфный порошок желтого цвета, выход 56%. Спектр соединения совпадает с литературными данными [87].

(R)-2-ацетил-6-(2-((4-бромфенил)сульфонил)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (165c)



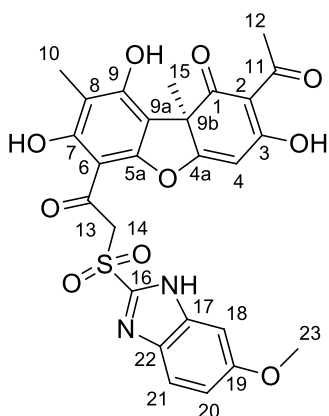
Аморфный порошок желтого цвета. Выход 55%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.72 (3H, с), 2.07 (3H, с), 2.64 (3H, с), 4.80 (1H, д, $J = 13.7$ Гц) и 4.87 (1H, д, $J = 13.7$ Гц, АВ-сист.), 6.00 (1H, с), 7.64 (2H, д, $J = 8.5$ Гц) и 7.69 (2H, д, $J = 8.5$ Гц, АВ-сист.), 11.33 (ОН, с), 12.47 (ОН, с), 18.83 (ОН, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.5, 27.8, 31.9, 58.7, 66.5, 98.9, 101.7, 104.8, 105.2, 109.6, 129.6, 129.9, 132.4, 137.9, 154.7, 159.2, 164.2, 178.0, 188.1, 191.5, 197.7, 201.9. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{O}_9^{32}\text{SBr}$ 561,9928; найдено 561,9930.

(R)-2-ацетил-6-(2-(бензо[d]тиазол-2-ил)сульфонил)ацетил)-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметилдibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (165e)



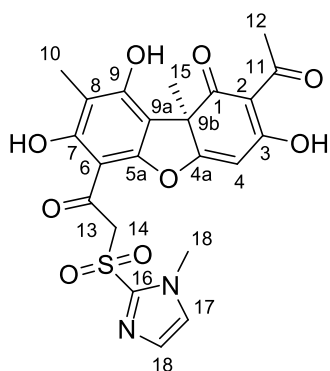
Аморфный порошок желтого цвета. Выход 60%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.69 (3H, с), 2.06 (3H, с), 2.64 (3H, с), 5.25 (1H, д, $J = 14.7$ Гц) и 5.31 (1H, д, $J = 14.7$ Гц, АВ-сист.), 6.02 (1H, с), 7.61 (2H, м), 7.99 (1H, м), 8.15 (1H, м), 11.31 (ОН, с), 12.35 (ОН, с), 18.84 (ОН, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.4, 27.7, 31.7, 58.6, 64.6, 99.0, 101.5, 104.7, 105.1, 109.7, 122.2, 125.4, 127.6, 128.2, 137.0, 152.3, 154.6, 159.2, 164.1, 170.6, 177.9, 187.2, 191.5, 197.6, 201.8. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{NO}_9^{32}\text{S}_2$ 541,0496; найдено 541,0498.

(R)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-6-(2-((6-метокси-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)сульфонил)ацетил)-8,9b-диметилдibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (165h)



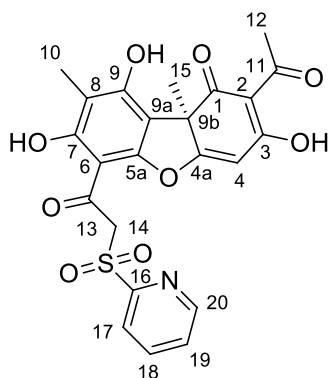
Аморфный порошок желтого цвета. Выход 20%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.63 (3H, с), 2.05 (3H, с), 2.66 (3H, с), 3.83 (3H, с), 5.12 (1H, д, $J = 15.0$ Гц) и 5.44 (1H, д, $J = 15.0$ Гц, АВ-сист.), 6.00 (1H, с), 6.96 (1H, д, $J = 7.5$ Гц), 6.97 (1H, с), 7.56 (1H, д, $J = 7.5$ Гц), 11.29 (ОН, с), 12.37 (ОН, с), 18.82 (ОН, с). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.4, 27.7, 31.8, 55.6, 58.4, 65.3, 99.2, 101.4, 104.7, 105.0, 109.5, 154.4, 159.2, 164.0, 175.2, 177.6, 187.7, 191.5, 197.5, 201.8. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_{10}^{32}\text{S}$ 554,0990; найдено 554,0995.

(R)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил-6-(2-((1-метил-1H-имидазол-2-ил)сульфонил)ацетил)дibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (165j)



Аморфный порошок желтого цвета. Выход 43%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.74 (3H, c), 2.05 (3H, c), 2.64 (3H, c), 3.95 (3H, c), 5.15 (2H, c), 6.05 (1H, c), 7.00 (1H, c), 7.55 (1H, c), 11.33 (OH, c), 12.38 (OH, c), 18.83 (OH, c). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.5, 27.8, 31.9, 58.7, 66.5, 98.9, 101.7, 104.8, 105.2, 109.6, 129.6, 129.9, 132.4, 137.9, 154.7, 159.2, 164.2, 178.0, 188.1, 191.5, 197.7, 201.9. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_9^{32}\text{S}$, 488,0884; найдено 488,0883.

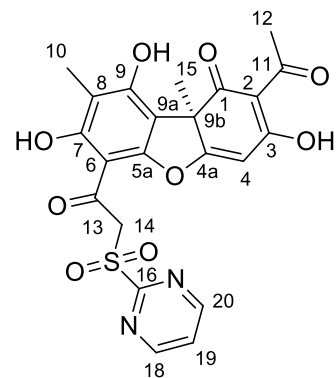
(R)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил-6-(2-(пиридин-2-илсульфонил)ацетил)дibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (165m)



Аморфный порошок желтого цвета. Выход 52%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.75 (3H, c), 2.03 (3H, c), 2.64 (3H, c), 5.21 (2H, c), 6.05 (1H, c), 7.56 (1H, m), 7.95 (1H, m), 8.04 (1H, m), 8.72 (1H, m), 11.30 (OH, c), 12.35 (OH, c), 18.84 (OH, c). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.4, 27.8, 31.9, 58.7, 61.8, 99.0, 101.5, 104.7, 105.1, 109.5, 122.2, 127.5, 138.1, 150.0, 154.7, 156.9, 159.0, 164.0, 178.1, 188.7, 191.5, 197.7, 201.8. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_9^{32}\text{S}$, 485,0775;

найдено 485,0773.

(R)-2-ацетил-3,7,9-тригидрокси-8,9b-диметил-6-(2-(пиримидин-2-илсульфонил)ацетил)дibenzo[b,d]фуран-1(9bH)-он (165o)



Аморфный порошок желтого цвета. Выход 21%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.81 (3H, c), 2.07 (3H, c), 2.69 (3H, c), 5.38 (2H, c), 6.10 (1H, c), 7.62 (1H, t, J = 4.8 Гц), 9.89 (2H, d, J = 4.8 Гц), 11.36 (OH, c), 12.26 (OH, c), 18.88 (OH, c). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , δ): 7.3, 27.7, 31.8, 58.7, 61.1, 99.0, 101.1, 104.7, 105.1, 109.5, 123.7, 154.7, 158.5, 159.0, 163.9, 165.3, 178.1, 188.8, 191.5, 197.7, 201.8. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_9^{32}\text{S}$, 486,0728; найдено

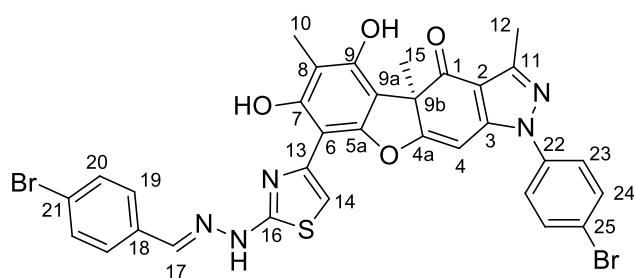
486,0727.

Методика синтез производных усниновой кислоты (168a,b–169a,b)

Гидрохлориды фенилгидразинов (1,1 ммоль) поместили в колбу с 10 мл этанола с добавлением эквимолярного количества (0,1 мл) пиридина. Реакционную смесь оставили при кипячении до полного растворения реагента (5 мин). К полученному кипящему раствору добавили взвесь соединения **120a** или **120b** (1 ммоль) в 5 мл этилового спирта и

оставили при кипячении на водяной бане в течении 2 часов. Затем реакционную смесь охладили до комнатной температуры и разбавили водой. Выпавший осадок коричневого цвета отфильтровали, промыли водой и высушили на воздухе. Продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – хлористый метилен).

(*R,E*)-8-(2-(2-(4-бромбензилиден)гидразинил)тиазол-4-ил)-5,7-дигидрокси-3,4а,6-триметил-1-фенил-1,4а-дигидро-4H-бензофуоро[3,2-f]индазол-4-он (168a)

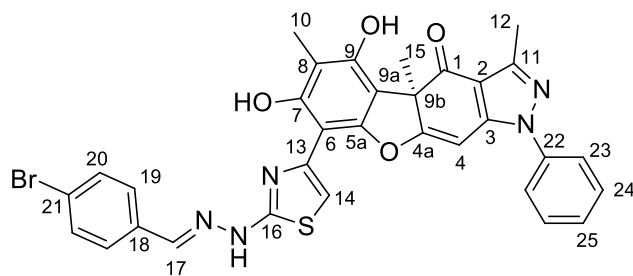


Коричневый аморфный порошок.

Выход 33%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.70 (3H, с, Н-15), 2.18 (3H, с, Н-10), 2.60 (3H, с, Н-12), 6.07 (1H, с, Н-4), 7.04 (1H, с, Н-14), 7.17 (1H, с, Н-17), 7.23 (2H, Н-19, $J_{\text{AB}} = 8.6$ Гц, АВ-сист.), 7.29 (2H, Н-

20, $J_{\text{AB}} = 8.6$ Гц, АВ-сист.), 7.40-7.60 (5H, м, Н-23, Н-24 и Н-25), 9.06 (1H, с, NH), 10.37 (1H, с, OH-9), 12.49 (1H, шс, OH-7). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ): 8.4 (C-10), 13.2 (C-12), 30.5 (C-15), 60.5 (C-9b), 88.0 (C-4), 97.4 (C-6), 103.6 (C-9a), 104.2 (C-14), 107.8 (C-8), 110.6 (C-2), 123.5 (C-21), 123.8 (C-23), 127.8 (C-19), 128.4 (C-25), 129.5 (C-24), 131.5 (C-20), 132.3 (C-22), 137.9 (C-18), 140.9 (C-17), 143.7 (C-13), 148.3 (C-11), 151.1 (C-3 и C-5a), 152.4 (C-9), 155.8 (C-7) 166.0 (C-16), 173.6 (C-4a), 196.4 (C-1). HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{32}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{N}_5\text{BrS}$ 653,0727; найдено 653,0721.

(*R,E*)-8-(2-(2-(4-бромбензилиден)гидразинил)тиазол-4-ил)-1-(4-бромфенил)-5,7-дигидрокси-3,4а,6-триметил-1,4а-дигидро-4H-бензофуоро[3,2-f]индазол-4-он (168b)

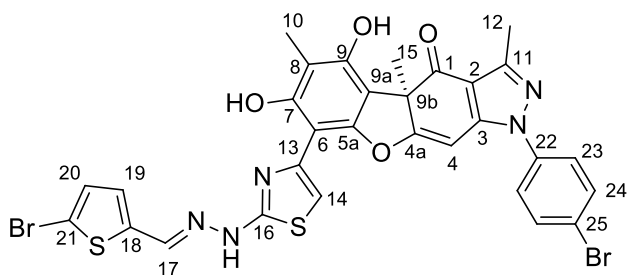


Коричневый аморфный порошок.

Выход 34%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.69 (3H, с, Н-15), 2.17 (3H, с, Н-10), 2.58 (3H, с, Н-12), 6.04 (1H, с, Н-4), 7.03 (1H, с, Н-14), 7.17 (1H, с, Н-17), 7.23 (2H, Н-19, $J_{\text{AB}} = 8.6$ Гц, АВ-сист.), 7.29 (2H, Н-

20, $J_{\text{AB}} = 8.6$ Гц, АВ-сист.), 7.46 (2H, Н-23, $J_{\text{AB}} = 8.7$ Гц, АВ-сист.), 7.65 (2H, Н-24, $J_{\text{AB}} = 8.7$ Гц, АВ-сист.), 8.97 (1H, с, NH), 10.28 (1H, с, OH-9), 12.48 (1H, шс, OH-7). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ): 8.3 (C-10), 13.2 (C-12), 30.4 (C-15), 60.5 (C-9b), 87.7 (C-4), 97.3 (C-6), 103.5 (C-9a), 104.3 (C-14), 107.8 (C-8), 110.7 (C-2), 122.1 (C-21), 123.5 (C-25), 125.2 (C-23), 127.7 (C-19), 131.4 (C-20), 132.6 (C-24), 132.2 (C-18), 136.9 (C-22), 140.8 (C-17), 143.7 (C-13), 148.3 (C-11), 151.1 (C-3), 151.4 (C-5a) 152.3 (C-9), 155.8 (C-7) 165.9 (C-16), 173.9 (C-4a), 196.1 (C-1). HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{31}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{N}_5\text{Br}_2\text{S}$ 715,9597; найдено 715,9579.

(*R,E*)-8-(2-(2-((5-бромтиофен-2-ил)метилен)гидразинил)тиазол-4-ил)-5,7-дигидрокси-3,4а,6-триметил-1-фенил-1,4а-дигидро-4H-бензофуоро[3,2-f]индазол-4-он (169а)

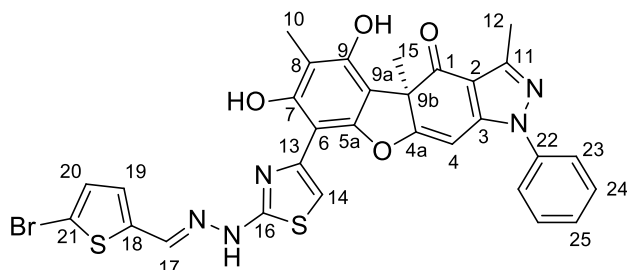


Коричневый аморфный порошок.

Выход 40%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.72 (3H, с, Н-15), 2.19 (3H, с, Н-10), 2.59 (3H, с, Н-12), 6.15 (1H, с, Н-4), 6.63 (2H, Н-19, $J_{\text{AB}} = 3.8$ Гц, АВ-сист.), 6.71 (2H, Н-20, $J_{\text{AB}} = 3.8$ Гц, АВ-сист.), 7.07 (1H, с, Н-

14), 7.24 (1H, с, Н-17), 7.44–7.60 (5H, м, Н-23, Н-24, Н-25), 8.75 (1H, с, NH), 10.34 (1H, с, OH-9), 12.30 (1H, шс, OH-7). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ): 8.3 (C-10), 13.2 (C-12), 30.5 (C-15), 60.4 (C-9b), 88.05 (C-4), 97.4 (C-6), 103.6 (C-9a), 104.4 (C-14), 107.6 (C-8), 110.6 (C-2), 114.62 (C-21), 123.7 (C-23), 128.4 (C-25), 128.5 (C-19), 129.5 (C-24), 130.0 (C-20), 135.6 (C-17), 137.8 (C-22), 139.8 (C-18), 143.5 (C-13), 148.4 (C-11), 151.0 (C-3), 151.1 (C-5a) 152.3 (C-9), 155.7 (C-7) 165.6 (C-16), 173.7 (C-4a), 196.2 (C-1). HRМС: m/z вычислено для $\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{N}_5\text{BrS}_2$ 659,0291; найдено 659,0279.

(*R,E*)-1-(4-бромфенил)-8-(2-(2-((5-бромтиофен-2-ил)метилен)гидразинил)тиазол-4-ил)-5,7-дигидрокси-3,4а,6-триметил-1,4а-дигидро-4H-бензофуоро[3,2-f]индазол-4-он (169b)



Коричневый аморфный порошок.

Выход 38%. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , J Гц): 1.70 (3H, с, Н-15), 2.17 (3H, с, Н-10), 2.58 (3H, с, Н-12), 6.12 (1H, с, Н-4), 6.63 (2H, Н-19, $J_{\text{AB}} = 3.8$ Гц, АВ-сист.), 6.71 (2H, Н-20, $J_{\text{AB}} = 3.8$ Гц, АВ-сист.), 7.05 (1H, с, Н-14), 7.25 (1H, с, Н-17), 7.45 (2H, Н-23, $J_{\text{AB}} = 8.6$

Гц, АВ-сист.), 7.66 (2H, Н-24, $J_{\text{AB}} = 8.6$ Гц, АВ-сист.), 8.83 (1H, с, NH), 10.26 (1H, с, OH-9), 11.97 (1H, шс, OH-7). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ): 8.4 (C-10), 13.2 (C-12), 30.5 (C-15), 60.6 (C-9b), 87.85 (C-4), 97.5 (C-6), 103.6 (C-9a), 104.5 (C-14), 107.9 (C-8), 110.9 (C-2), 114.8 (C-21), 122.16 (C-25), 125.2 (C-23), 128.7 (C-19), 130.2 (C-20), 132.6 (C-24), 135.8 (C-17), 137.05 (C-22), 139.9 (C-18), 143.7 (C-13), 148.5 (C-11), 151.1 (C-3), 151.2 (C-5a) 152.4 (C-9), 155.9 (C-7) 165.8 (C-16), 174.2 (C-4a), 196.2 (C-1). HRМС: m/z вычислено для $\text{C}_{30}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}_5\text{S}_2\text{Br}_2$ 736,9396; найдено 736,9402.

Результаты и выводы

- 1) Синтезирован ряд тиазолов на основе усниновой кислоты, содержащих амидный или карбамидный заместитель в тиазольном кольце. Показано, что такого типа соединения являются менее эффективными ингибиторами по сравнению с аналогами с гидразоновым заместителем. Расширен ряд гидразонотиазолов на основе усниновой кислоты. Обнаружены эффективные ингибиторы TDP1, действующие в наномолярном диапазоне концентраций полуингибирования и обладающие низкой цитотоксичностью.
- 2) Исходя из монотерпеновых аминов был синтезирован ряд новых енаминов на основе усниновой кислоты. Показано, что полученные соединения проявляют ингибирующую TDP1 активность в субмикромольном диапазоне концентраций, что сопоставимо с активностью известного соединения лидера в данном классе веществ. Показано, что ингибирующая активность данного типа производных несущественно зависит от структуры терпенового заместителя.
- 3) Впервые разработан подход к синтезу производных усниновой кислоты, содержащих енаминовую группу при C¹ атоме углерода. Показано, что региоселективность аминирования зависит как от условий проведения реакции, таких как температура, количество аммиака и используемый растворитель, так и строения периферии молекулы производного усниновой кислоты.
- 4) Предложен дизайн и осуществлён синтез нового класса производных усниновой кислоты, модифицированных как по кольцу А (гидразонотиазольный заместитель), так и по кольцу С (с формированием енаминового или аннелированного пиразольного фрагментов). Показано, что введение объемного заместителя в кольцо С гидразонотиазолов на основе усниновой кислоты способствует снижению ингибирующего действия в отношении TDP1, а также значительному снижению цитотоксичности получаемых соединений.
- 5) Предложен дизайн и осуществлён синтез дуальных ингибиторов TDP1 и TDP2 на основе усниновой кислоты. Обнаружены соединения, проявляющие, наряду с высокой активностью против TDP1, активность в отношении TDP2 в низком микромолярном диапазоне концентраций полуингибирования. Выявлено, что активность в отношении TDP2 зависит как от структуры заместителей, так и от конфигурации стереоцентра дибензофуранового остова усниновой кислоты.

Список литературы

-
- 1 Alagoz, M., Gilbert, D.C., El-Khamisy, S., Chalmers, A.J. DNA repair and resistance to topoisomerase I inhibitors: mechanisms, biomarkers and therapeutic targets. // *Curr Med Chem.* – 2012. – V. 19(23). – P. 3874-85. doi:10.2174/092986712802002590.
 - 2 Pommier, Y., Huang, S.Y., Gao, R., Das, B.B., Murai, J., Marchand, C. Tyrosyl-DNA-phosphodiesterases (TDP1 and TDP2). // *DNA Repair (Amst).* – 2014. – V. 19. – P. 114-29. doi:10.1016/j.dnarep.2014.03.020.
 - 3 Zeng Z., Cortés-Ledesma F., El Khamisy S.F., Caldecott K.W. TDP2/TTRAP is the major 5'-tyrosyl DNA phosphodiesterase activity in vertebrate cells and is critical for cellular resistance to topoisomerase II-induced DNA damage. // *J Biol Chem.* – 2011. – V. 286(1). – P. 403-9. doi:10.1074/jbc.M110.181016.
 - 4 Zakharenko, A.L., Luzina, O.A., Chepanova, A.A., Dyrkheeva, N.S., Salakhutdinov, N.F., Lavrik, O.I. Natural Products and Their Derivatives as Inhibitors of the DNA Repair Enzyme Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 1. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – V. 24. – P. 5781. doi:10.3390/ijms24065781
 - 5 Laev S.S., Salakhutdinov N.F., Lavrik O.I. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase inhibitors: Progress and potential. // *Bioorg Med Chem.* – 2016. – V. 24(21). – P. 5017-5027. doi:10.1016/j.bmc.2016.09.045.
 - 6 Luzina O.A., Salakhutdinov N.F. Biological activity of usnic acid and its derivatives: Part 1. Activity against unicellular organisms. // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2016. – V. 42. – P. 115-132. doi:10.1134/S1068162016020084.
 - 7 Macedo D.C.S, Almeida F.J.F., Wanderley M.S.O., Ferraz M.S., Santos N.P.S., López A.M.Q., Santos-Magalhães N.S., Lira-Nogueira M.C.B. Usnic acid: from an ancient lichen derivative to promising biological and nanotechnology applications. // *Phytochem. Rev.* – 2021. – V. 20. – P. 609–630. doi:10.1007/s11101-020-09717-1.
 - 8 Luzina O.A., Salakhutdinov N.F. Biological activity of usnic acid and its derivatives: Part 2. effects on higher organisms. Molecular and physicochemical aspects. // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2016. – V. 42. – P. doi: 10.1134/S1068162016030109.
 - 9 Galanty A., Pasko P., Podolak I. Enantioselective activity of usnic acid: a comprehensive review and future perspectives. // *Phytochem. Rev.* – 2019. – V. 18. – P. 527-548. doi:10.1007/s11101-019-09605-3.
 - 10 Соколов Д.Н., Лузина О.А., Салахутдинов Н.Ф. Усниновая кислота: получение,

- строение, свойства и химические превращения // Успехи химии. – 2012. – № 8. – P. 747-768. doi:10.1070/RC2012v081n08ABEH004245
- 11 König G.M., Wright. A.D. ¹H and ¹³C-NMR and biological activity investigations of four lichen-derived compounds // *Phytochem. Anal.*. – 1999. – V. 10. – P. 279. doi:10.1002/(SICI)1099-1565(199909/10)10:5<279::AID-PCA464>3.0.CO;2-3.
- 12 Bessadottir M, Egilsson M, Einarsdottir E, Magnúsdóttir IH, Ógmundsdóttir MH, Ómarsdóttir S., Ógmundsdóttir H.M. Proton-Shuttling Lichen Compound Usnic Acid Affects Mitochondrial and Lysosomal Function in Cancer Cells. // *PLoS ONE* – 2012. – V. 7. – № 12. – P. e51296. doi:10.1371/journal.pone.0051296.
- 13 Antonenko Y.N., Khailova L.S., Rokitskaya T.I., Nosikova E.S., Nazarov P.A., Luzina O.A., Salakhutdinov N.F., Kotova E.A. Mechanism of action of an old antibiotic revisited: Role of calcium ions in protonophoric activity of usnic acid. // *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* – 2019. – V. 1860. – Is. 4. – P. 310–316. doi:10.1016/j.bbabi.2019.01.005.
- 14 Buemi, G.; Zuccarello., F. Molecular conformations, hydrogen-bond strengths and electronic structure of usnic acid: an AM1 and CNDO/S study // *J. Mol. Struct. TheoChem.* – 1990. – V. 209. – P. 89. doi: 10.1016/0166-1280(90)85048-R.
- 15 Hansen P.E. NMR of Natural Products as Potential Drugs. // *Molecules.* – 2021. – V. 26. – Is. 12. – P. 3763. doi:10.3390/molecules26123763.
- 16 Bruno M., Trucchi B., Monti D., Romeo S., Kaiser M., Verotta L. Synthesis of a potent antimalarial agent through natural products conjugation. // *ChemMedChem.* – 2013. – V. 8. – P. 221-225. doi:10.1002/cmde.201200503.
- 17 Shtro A.A., Zarubaev V.V., Luzina O.A., Sokolov D.N., Kiselev O.I., Salakhutdinov N.F. Novel derivatives of usnic acid effectively inhibiting reproduction of influenza A virus. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2014. – V. 22. – P. 6826-6836. doi:10.1016/j.bmc.2014.10.033.
- 18 Bekker O.B., Sokolov D.N., Luzina O.A., Komarova N.I., Gatilov Y.V., Andreevskaya S.N., Smirnova T.G., Maslov D.A., Chernousova L.N., Salakhutdinov N.F., Danilenko V.N. Synthesis and activity of (+)-usnic acid and (–)-usnic acid derivatives containing 1,3-thiazole cycle against *Mycobacterium tuberculosis*. // *Med. Chem. Res.* – 2015. – V. 24(7). – P. 2926-2938. doi:10.1007/s00044-015-1348-2.
- 19 Proska B., Studnikova M., Pronayova N., Liptaj T. Usnic acid and its derivatives. Their inhibition of fungal growth and enzyme activity. // *Pharmazie,* – 1996. – V. 51. – P. 195-196.
- 20 Sokolov D.N., Luzina O.A., Polovinka M.P., Salakhutdinov N.F. Reduction of (+)-usnic acid and its pyrazole derivative by sodium borohydride. // *Chem. Nat. Compd.* – 2011. – V. 47. – Is. 2. – P. 203-205. doi: 10.1007/s10600-011-9882-8.

-
- 21 Sokolov D.N., Luzina O.A., Salakhutdinov N.F. Synthesis of ethers of (+)-usnic acid pyrazole derivatives. // *Chem. Nat. Compd.* – 2012. V. 48. – Is. 3. – P. 379–384. doi:10.1007/s10600-012-0257-6.
- 22 Van De Water R.W., Pettus T.R.R. o-Quinone methides: intermediates underdeveloped and underutilized in organic synthesis. // *Tetrahedron.* – 2002. – V. 58. – Is. 27. – P. 5367–5405. doi:10.1016/s0040-4020(02)00496-9.
- 23 Shibata S., Takahashi K., Tanaka Y. Decomposition of Usnic Acid. V. Pyrolysis of dihydrousnic acid. (2). Some observations on dihydrousnic acid // *Chem. Pharm. Bull.* – 1956. – V. 4. – P. 65-67. doi: 10.1248/cpb1953.4.65.
- 24 Shoji J. Decomposition of Usnic Acid. VII. Pyrolysis of Dihydrousnic Acid. (3). Isodihydrousnic Acid. // *Chem. Pharm. Bull.* – 1962. – V. 10. – Is. 6. – P. 483-491. doi:10.1248/cpb.10.483.
- 25 Sassa T., Igarashi M. Structures of (-)-Mycousnine, (+)-Isomycousnine and (+)-Oxymycousnine, New Usnic Acid Derivatives from Phytopathogenic *Mycosphaerella nawae*. // *Agric. Biol. Chem.* – 1990. – V. 54. – Is. 9. – P. 2231-2237. doi:10.1271/bbb1961.54.2231.
- 26 Zhang H., Li X., Liu X., Ji X., Ma X., Chen J., Bao Y., Zhang Y., Xu L., Yang L., Wei X. The usnic acid derivative peziculone targets cell walls of Gram-positive bacteria revealed by high-throughput CRISPRi-seq analysis // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2023. – V. 62. – Is. 3. – P. 106876. doi:10.1016/j.ijantimicag.2023.106876.
- 27 Kutney J.P., Sanchez I.H. Studies in the usnic acid series. V. The base catalyzed usnic acid – isousnic acid rearrangement. Part III. (-)-Usnic acid isomethoxide monoacetate. // *Can. J. Chem.* – 1977. – V. 55. – Is. 6. – P. 1079–1084. doi:10.1139/v77-150.
- 28 Vanga N.R., Kota A., Sistla R. Synthesis and anti-inflammatory activity of novel triazole hybrids of (+)-usnic acid, the major dibenzofuran metabolite of the lichen *Usnea longissima*. // *Mol. Divers.* – 2017. – V. 21. – P. 273–282. doi:10.1007/s11030-016-9716-5.
- 29 Somasekhar T., Javadi M., Sistla R. Synthesis of novel anti-inflammatory usnic acid-based imidazolium salts. // *Eur. Chem. Bull.* – 2021. – V. 10. – P. 67–72. doi:10.17628/ecb.2021.10.67-72.
- 30 Pastrana-Mena R., Mathias D.K., Delves M., Rajaram K., King J.G., Yee R., Trucchi B., Verrotta L., Dinglasan R.R. A Malaria Transmission-Blocking (+)-Usnic Acid Derivative Prevents Plasmodium Zygote-to-Ookinete Maturation in the Mosquito Midgut. // *ACS Chem. Biol.* – 2016. – V. 11. – Is. 12. – P. 3461–3472. doi:10.1021/acscchembio.6b00902.
- 31 Venkata Mallavadhani U., Vanga N. R., Balabhaskara Rao K., Jain N. Synthesis and antiproliferative activity of novel (+)- usnic acid analogues. // *J. Asian Nat. Prod. Res.* – 2019. –

-
- P. 1–16. doi:10.1080/10286020.2019.1603220.
- 32 Angeli A., Petrou A., Kartsev V., Lichitsky B., Komogortsev A., Capasso C., Geronikaki A., Supuran C.T. Synthesis, Biological and In Silico Studies of Griseofulvin and Usnic Acid Sulfonamide Derivatives as Fungal, Bacterial and Human Carbonic Anhydrase Inhibitors. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – V. 24. – P. 2802. doi:10.3390/ijms24032802.
- 33 Bangalore P.K., Pedapati R.K., Pranathi A.N., Batchu U.R., Misra S., Esthara M., Sriram D., Kantevari S. Aryl-n-hexanamide linked enamines of usnic acid as promising antimicrobial agents. // *Mol. Divers.* – 2023. – V. 27. – P. 811–836. doi:10.1007/s11030-022-10456-y.
- 34 Virtanen E.O., Viitanen H., Kortekangas A.E. Antibiotic activity of some amino compound derivatives of l-usnic acid. I Sulfonamides, isonicotinoyl hydrazide. // *Suomen Kemistilehti Bi.* – 1954. – V. 27B. – P. 18-20.
- 35 Virtanen E.O. Antibiotic activity of amino compound derivatives of l-usnic acid. II. // *Suomen Kemistilehti Bi.* – 1954. – V. 27B. – P. 67-70.
- 36 Kortekangas A.E., Virtanen E.O. The antibiotic activity of some amino-compound derivatives of usnic acid. III. // *Suomen Kemistilehti Bi.* – 1956. – V. 29B. – P. 2-4.
- 37 Virtanen E.O., Vahatalo M.-L. Usnic acid derivative of 4-amino-3-isoxazolidone (cycloserine). // *Suomen Kemistilehti Bi.* – 1956. – V. 29B. – P. 30-31.
- 38 Manaktala S.K., Neelakantan S., Seshadri T.R. A Study of Condensation Products of usnic Acid with Amino Compounds. // *Indian J. Chem.* – 1967. – V. 5. – P. 29.
- 39 Huneck S., Akinniyi J.A., Cameron A.F., Connolly J.D., Mulholland A.G. The absolute configurations of (+)-usnic and (+)-isousnic acid. X-ray analyses of the (–)- α -phenylethylamine derivative of (+)-usnic acid and of (–)-pseudoplacodiolic acid, a new dibenzofuran, from the lichen *Rhizoplaca chrysoleuca*. // *Tetrahedron Lett.* – 1981. – V. 22. – P. 351-352. doi:10.1016/0040-4039(81)80095-0.
- 40 Kutney J.P., Sanchez I.H. Studies in the usnic acid series. I. The condensation of (+)-usnic acid with aliphatic and aromatic amines. // *Can. J. Chem.* – 1976. – V. 54. – Is. 17. – P. 2795-2803. doi:10.1139/v76-395.
- 41 Tazetdinova A.A., Luzina O.A., Polovinka M.P., Salakhutdinov N.F., Tolstikov G.A. Amino-derivatives of usnic acid // *Chem. Nat. Comp.* – 2009. – V. 45. – Is. 6. – P. 800-804. doi:10.1007/s10600-010-9502-z.
- 42 Bazin M.-A., Le Lamer A.-C., Delcros J.-G., Rouaud I., Uriac P., Boustie J., Corbel J.-C., Tomasi S. Synthesis and cytotoxic activities of usnic acid derivatives. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2008. – V. 16. – P. 6860-6866. doi:10.1016/j.bmc.2008.05.069.
- 43 Лузина О.А., Половинка М.П., Салахутдинов Н.Ф., Толстиков Г.А. Химическая

модификация усниновой кислоты. Сообщение 2. Взаимодействие (+)-усниновой кислоты с аминокислотами. // Изв. АН, Сер. Хим. – 2007. – № 56(6). – С. 1203-1205. doi:10.1007/s11172-007-0189-7.

44 Bruno M., Trucchi B., Monti D., Romeo S., Kaiser M., Verotta L. Synthesis of a Potent Antimalarial Agent through Natural Products Conjugation. // ChemMedChem. – 2013. – V. 8. – Is. 2. – P. 221–225. doi:10.1002/cmde.201200503.

45 Cirillo D., Borroni E., Festoso I., Monti D., Romeo S., Mazier D., Verotta L. Synthesis and antimycobacterial activity of (+)-usnic acid conjugates. // Archiv Der Pharmazie. – 2018. – P. 1800177. doi:10.1002/ardp.201800177.

46 Chollet-Krugler M., Tomasi S., Uriac P., Toupet L., van de Weghe P. Preparation and characterization of copper(II) and nickel(II) complexes of a new chiral salen ligand derived from (+)-usnic acid. // Dalton Trans. – 2008. – V. 46. – P. 6524-6526. doi:10.1039/B811589C.

47 Legouin B., Uriac P., Tomasi S., Toupet L., Bondon A., van de Weghe P. Novel chiral molecular tweezer from (+)-usnic acid. // Org. Lett. – 2009. – V. 11. – Is. 3. – P. 745-748. doi:10.1021/ol802842m.

48 Tomasi S., Picard S., Laine S., Babonneau V., Goujeon A., Boustie J., Uriac P. Solid-phase synthesis of polyfunctionalized natural products: application to usnic acid, a bioactive lichen compound. // J. Comb. Chem. – 2006. – V. 8. – P. 11-14, doi:10.1021/cc050122t.

49 Беккер О.Б., Даниленко В.Н., Лузина О.А., Салахутдинов Н.Ф. Получение квартернизованных производных усниновой кислоты и их биологические свойства. Патент РФ № 2477127, 2013.

50 Лузина, О.А., Половинка, М.П., Салахутдинов, Н.Ф., Толстикова, Г.А. Химическая модификация усниновой кислоты. III. Реакции (+)-усниновой кислоты с замещенными фенилгидразинами // Журнал орг. химии. – 2009. – В. 45. – С. 1790-1795. doi:10.1134/S1070428009120069

51 Beljanski V., Andelkovic K., Poleti D., Tesik Z., Brceski I., Sladic D. Copper(II) Complexes of Usnic Acid Condensation Products and Their Antibacterial Activities. // Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem. – 1998. – V. 28. – Is. 10. – P. 1607. doi:10.1080/00945719809349417.

52 Nguyen H.G.T., Nguyen V.N., Kamounah F.S., Hansen P.E. Structure of a new usnic acid derivative from a deacylating Mannich reaction: NMR studies supported by theoretical calculations of chemical shifts. // Magn. Res. Chem. – 2018. – V. 56. – Is. 11. – P. 1094-1100. doi:10.1002/mrc.4760.

53 Guddeti D.K., Kolukula A., Siva B., Jadav S.S., Tiwari A.K., Komati A., Andugulapati S.B., Ramalingam V., Katragadda S.B. Synthesis of aminomethyl linked (+)-usnic acid derivatives via

- the Mannich reaction and evaluation of their biological activities. // *Nat Prod Res.* – 2023. – P. 1-7. doi:10.1080/14786419.2023.2263900.
- 54 Barton D.H.R., Bruun T. Some observations on the constitution of usnic acid. // *J. Chem. Soc.* – 1953. – P. 603-609. doi:10.1039/JR9530000603.
- 55 Castañeta G., Villagomez R., Salamanca E., Canaviri-Paz P., Bravo J.A., Vila J.L., Bárcenas-Pérez D., Cheel J., Sepúlveda B., Giménez A., et al. Microwave-Assisted Semisynthesis and Leishmanicidal Activity of Some Phenolic Constituents from Lichens. // *Separations.* – 2023. – V. 10. – P. 524. doi:10.3390/separations10100524.
- 56 Kutney, J.P.; Sanchez, I.H.; Yee, T. Studies in the usnic acid series. II. The condensation of (+)-usnic acid with hydroxylamine // *Can. J. Chem.* – 1976. – V. 54. – P. 3713. doi:10.1139/v76-533.
- 57 Cooper A.B., Wang J., Saksena A.K., Girijavallabhan V., Ganguly A.K., Chan T.-M., McPhail A.T. Synthesis of (+)-8-methyl cercosporamide: Stereochemical correlation of natural (–)-cercosporamide with (+)-usnic acid. // *Tetrahedron.* – 1992. – V. 48. – Is. 23. – P. 4757-4766. doi:10.1016/S0040-4020(01)81572-6.
- 58 Pyrczak-Felczykowska, A., Narlawar, R., Pawlik, A., Guzow-Krzemińska, B., Artymiuk, D., Hać, A., Rys K., Rendina L.M., Reekie T.A., Herman-Antosiewicz A., Kassiou, M. Synthesis of Usnic Acid Derivatives and Evaluation of Their Antiproliferative Activity against Cancer Cells. // *J. Nat. Prod.* – 2019. – V. 82. – Is. 7. – P. 1768-1778. doi:10.1021/acs.jnatprod.8b00980.
- 59 Gunawan G.A., Gimła M., Gardiner M.G., Herman-Antosiewicz A., Reekie T.A. Divergent reactivity of usnic acid and evaluation of its derivatives for antiproliferative activity against cancer cells // *Bioorg. Med. Chem.* – 2023. – V. 79. – P. 117157. doi: 10.1016/j.bmc.2023.117157.
- 60 Gimła M., Pyrczak-Felczykowska A., Malinowska M., Hac A, Narajczyk M., Bylinska I., Reekie T.A., Herman-Antosiewicz A. The pyrazole derivative of usnic acid inhibits the proliferation of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. // *Cancer Cell Int.* – 2023. – V. 23. – P. 210. doi:10.1186/s12935-023-03054-x.
- 61 Manaktala S.K., Neelakantan S., Seshadri T.R. A Study of Condensation Products of usnic Acid with Amino Compounds. // *Indian J. Chem.* – 1967. – V. 5. – P. 29.
- 62 Nguyen H.G.T., Nguyen N.V., Vo V.A., Kamounah F.S., Vang O., Hansen P.E. Synthesis and cytotoxicity of (+)-usnic acid derivatives in U87MG glioblastoma cells. // *Nat. Prod. Chem. Res.* – 2016. – V. 4. – P. 216–223. doi:10.4172/2329-6836.1000216.
- 63 Samuelsen L., Hansen P. E., Vang O. Derivatives of usnic acid cause cytostatic effect in Caco-2 cells. // *Nat. Prod. Res.* – 2020. – P. 1–7. doi:10.1080/14786419.2020.1756796
- 64 Verotta L., Monti D. Compounds with antimalarial activity. Patent WO 034512 A1, 2010.

-
- 65 Rabelo T.K., Zeidán-Chuliá F., Vasques L.M., dos Santos J.P.A., da Rocha R.F., de Bittencourt Pasquali M.A., Rybarczyk-Filho J.L., Araújo A.A.S., Moreira J.C.F., Gelain D.P. Redox characterization of usnic acid and its cytotoxic effect on human neuron-like cells (SH-SY5Y). // *Toxicology in Vitro*. – 2012. – V. 26. – P. 304–314, doi: 10.1016/j.tiv.2011.12.003.
- 66 Bertilsson L., Wachtmeister C.A. Methylation and Racemisation Studies on Usnic Acid // *Acta Chem. Scand.* – 1968. – V. 22. – P. 1791. doi:10.3891/acta.chem.scand.22-1791.
- 67 Лузина О.А., Соколов Д.Н., Комарова Н.И., Салахутдинов Н.Ф. (2014) Синтез сульфидов на основе(+)-усниновой кислоты. // *ХПС*. – 2014. – В. 50(2). – С. 236-240. doi:10.1007/s10600-014-0928-6.
- 68 Takahashi K., Akai A., Oshima K., Ueda Y., Miyashita S. Usnic Acid. II. Methylusnic Acid. // *Chem. Pharm. Bull.* – 1962. – V. 10. – Is. 7. – P. 607-611. doi:10.1248/cpb.10.607.
- 69 Hawranik D.J., Anderson K.S., Simmonds R., Sorensen J.L. The chemoenzymatic synthesis of usnic acid. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2009. – V. 19. – Is. 9. – P. 2383–2385. doi:10.1016/j.bmcl.2009.03.087.
- 70 Соколов Д.Н., Лузина О.А., Корчагина Д.В., Половинка М.П., Салахутдинов Н.Ф. Взаимодействие (+)-усниновой кислоты и некоторых ее производных с diazometаном. // *ХПС*. – 2011. – В. 47(5). – С. 623-627. doi:10.1007/s10600-011-0041-z.
- 71 Kutney J.P., Sanchez I.H. Studies in the usnic acid series. VI. The preparation of some ether derivatives of (+)-usnic acid. // *Can. J. Chem.* – 1977. – V. 55. – Is. 6. – P. 1085-1090. doi:10.1139/v77-151.
- 72 Фурин Г.Г., Лузина О.А., Сокуев Р.И., Половинка М.П., Салахутдинов Н.Ф., Толстикова Г.А. Химическая модификация усниновой кислоты. Сообщение 1. Взаимодействие (+)-усниновой кислоты с перфторолефинами. // *Изв. АН. Сер. хим.* – 2007. – В. 56(6). – С. 1198-1202. doi:10.1007/s11172-007-0188-8.
- 73 Krukov V.Yu., Tomilova O.G., Luzina O.A., Yaroslavtseva O.N., Akhanaev Yu.B., Tyurin M.V., Duisembekov B.A., Salakhutdinov N.F., Glupov V.V. Effects of fluorine-containing usnic acid and fungus *Beauveria bassiana* on the survival and immune-physiological reactions of Colorado potato beetle larvae // *Pest Manage. Sci.* – 2018. – V. 74. – Is. 3. – P. 598-606. doi:10.1002/ps.4741.
- 74 Zakharenko A., Sokolov D., Luzina O., Sukhanova M., Khodyreva S., Zakharova O., Salakhutdinov N., Lavrik O. Influence of Usnic Acid and its Derivatives on the Activity of Mammalian Poly(ADP-ribose)polymerase 1 and DNA Polymerase. // *Med. Chem.* – 2012. – V. 8. – P. 883-893. doi:10.2174/157340612802084225.
- 75 Takai M., Uehara Y., Beisler J.A. Usnic acid derivatives as potential antineoplastic agents. // *J.*

Med. Chem. – 1979. – V. 22. – P. 1380-1384. doi:10.1021/jm00197a019.

76 Asahina, Y.; Yanagita, M. Untersuchungen über Flechtenstoffe, LXXXIX. Mitteil.: Über die Usninsäure (V. Mitteil.) // Ber. Dtsch. Chem. Ges., B. – 1938. – V. 71. – P. 2260. doi:10.1002/cber.19380711108.

77 Kutney, J.P.; Sanchez, I.H. Studies in the usnic acid series. V. The base catalyzed usnic acid – isousnic acid rearrangement. Part III. (—)-Usnic acid isomethoxide monoacetate // Can. J. Chem. – 1977. – V. 55. – P. 1079. doi:10.1139/v77-150.

78 Erba, E.; Pocar, D.; Rossi, L.M. New esters of R-(+)-usnic acid // Farmaco – 1998. – V. 53. – P. 718. doi:10.1016/S0014-827X(98)00113-X

79 Dung P.D., Huy D.T., Kieu N.V. Synthesis and evaluation of α -glucosidase and tyrosinase inhibitory activities of ester derivatives of usnic acid. // Sci. Tech. Dev. J. – 2020. – V. 23. – Is. 3. – P. 590-597. doi:10.32508/stdj.v23i3.1850.

80 Соколов Д.Н., Лузина О.А., Половинка М.П., Салахутдинов Н.Ф., Толстикова Г.А. Синтез халконов на основе (+)- и (-)-усниновой кислоты. // Изв. Акад. Наук. Сер. Химическая – 2011. – №. 11. – С. 2359-2364. doi:10.1007/s11172-011-0370-x.

81 Соколов Д. Н., Рахманова М. Е., Лузина О. А., Шернюков А. В., Салахутдинов Н. Ф. Синтез новых производных (+)-усниновой кислоты с флавоновым остовом. // Изв. Акад. наук Сер. Хим. – 2013. – №. 1. – С. 211-215.

82 Ebrahim H.Y., Akl M.R., Elsayed H.E., Hill R.A., El Sayed K.A. Usnic Acid Benzylidene Analogues as Potent Mechanistic Target of Rapamycin Inhibitors for the Control of Breast Malignancies. // J. Nat. Prod. – 2017. – V. 80. – Is 4. P. 932–952. doi:10.1021/acs.jnatprod.6b00917.

83 Wang S., Zang J., Huang M., Guan L., Xing K., Zhang J., Liu D., Zhao L. Discovery of novel (+)-Usnic acid derivatives as potential anti-leukemia agents with pan-Pim kinases inhibitory activity. // Bioorg. Chem. – 2019. – P. 102971. doi:10.1016/j.bioorg.2019.102971.

84 Nguyen V.-K., Sichaem J., Nguyen H.-H., Nguyen X. H., Huynh T.-T.-L., Nguyen T.-P., Niamnont N., Mac D.-H., Pham D.-D., Chavasiri W., Nguyen K.-P.-P., Duong T.-H. Synthesis and cytotoxic evaluation of usnic acid benzylidene derivatives as potential anticancer agents // Nat. Prod. Res. – 2019. – P. 1-10. doi:10.1080/14786419.2019.1639176.

85 Лузина О.А., Соколов Д.Н., Шернюков А.В., Салахутдинов Н.Ф. Синтез ауранов на основе усниновой кислоты. // ХПС. – 2012. – В. 3. – С. 350-355. doi:10.1007/s10600-012-0258-5.

86 Рахманова М.Е., Лузина О.А., Покровский М.А., Покровский А.Г., Салахутдинов Н.Ф. Синтез цианэтильных производных усниновой кислоты и их цитотоксическая активность.

// Изв. Акад. Наук. Сер. Химическая. – 2016. – В. 2. – С. 566-569. doi:10.1007/s11172-016-1338-7.

87 Sokolov D.N., Luzina O.A., Salakhutdinov N.F. Synthesis of Sulfones and Sulfoxides Based on (+)-usnic Acid. // Chem. Nat. Comp. – 2018. – V. 54. – Is. 1. – P. 46-49. doi:10.1007/s10600-018-2256-8.

88 Zakharenko A.L., Luzina O.A., Sokolov D.N., Zakharova O.D., Rakhmanova M.E., Chepanova A.A., Dyrkheeva N.S., Lavrik O.I., Salakhutdinov N.F. Usnic Acid Derivatives Are Effective Inhibitors of Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 1. // Russ. J. Bioorg. Chem. – 2017. – V. 43. – Is. 1. – P. 84–90. doi: 10.1134/S1068162017010125.

89 Bekker O.B., Sokolov D.N., Luzina O.A., Komarova N.I., Gatilov Y.V., Andreevskaya S.N., Smirnova T.G., Maslov D.A., Chernousova L.N., Salakhutdinov N.F., Danilenko V.N. Synthesis and activity of (+)-usnic acid and (–)-usnic acid derivatives containing 1,3-thiazole cycle against Mycobacterium tuberculosis. // Med. Chem. Res. – 2015. – V. 24. – Is. 7. – P. 2926-2938. doi:10.1007/s00044-015-1348-2.

90 Zakharenko A.L., Luzina O.A., Sokolov D.N., Kaledin V.I., Nikolin V.P., Popova N.A., Patel J., Zakharova O.D., Chepanova A.A., Zafar A., Reynisson J., Leung E., Leung I.K-H., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F., Lavrik O.I. Novel tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors enhance the therapeutic impact of topotecan on in vivo tumor models. // Eur. J. Med. Chem. – 2019. – V. 161. – P. 581-593. doi:10.1016/j.ejmech.2018.10.055.

91 Sokolov D.N., Luzina O.A., Polovinka M.P., Korchagina D.V., Gatilov U.V., Salakhutdinov N.F. Oxidation of usnic acid // Chem. Nat. Compd. – 2010. – V. 46. – P. 730-733. doi:10.1007/s10600-010-9727-x.

92 Yang, S.W.; Burgin, A.B.; Huizenga, B.N.; Robertson, C.A.; Yao, K.C.; Nash, H.A. A Eukaryotic Enzyme That Can Disjoin Dead-End Covalent Complexes between DNA and Type I Topoisomerases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 11534–11539.

93 Sirivolu V.R., Vernekar S.K.V., Marchand C., Naumova A., Chergui A., Renaud A., Stephen A.G., Chen F., Sham Y.Y., Pommier Y., Wang Z. 5-Arylidene-thioxothiazolidinones as Inhibitors of Tyrosyl–DNA Phosphodiesterase I // J. Med. Chem. – 2012. – V. 55. – Is. 20., - P. 8671–8684. doi:10.1021/jm3008773.

94 Dean R.A., Fam H.K., An J., Choi K., Shimizu Y., Jones S.J., Boerkoel C.F., Interthal H., Pfeifer T.A. Identification of a putative TDP1 inhibitor (CD00509) by in vitro and cell-based assays. // J. Biomol. Screen. – 2014. – V. 10. – P. 1372–1382. doi: 10.1177/1087057114546551.

95 Zakharenko A., Khomenko T., Zhukova S., Koval O., Zakharova O., Anarbaev R., Lebedeva N., Korchagina D., Komarova N., Vasiliev V., Reynisson J., Volcho K., Salakhutdinov N., Lavrik

- O. Synthesis and biological evaluation of novel tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors with a benzopentathiepine moiety. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2015. – V. 23. – P. 2044–2052. doi:10.1016/j.bmc.2015.03.020.
- 96 Marchand C., Lea W.A., Jadhav A., Dexheimer T.S., Austin C.P., Inglese J., Pommier Y., Simeonov A. Identification of phosphotyrosine mimetic inhibitors of human tyrosyl-DNA phosphodiesterase I by a novel AlphaScreen high-throughput assay. // *Mol. Cancer Ther.* – 2009. – V. 8. – P. 240–248. doi:10.1158/1535-7163.MCT-08-0878.
- 97 Takagi M., Ueda J.Y., Hwang J.H., Hashimoto J., Izumikawa M., Murakami H., Sekido Y., Shin-ya K. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitor from an anamorphic fungus. // *J. Nat. Prod.* – 2012. – V. 75. – P. 764–767. doi:10.1021/np2007389.
- 98 Salomatina O.V., Popadyuk I.I., Zakharenko A.L., Zakharova O.D., Fadeev D.S., Komarova N.I., Reynisson J., Arabshahi H.I., Chand R., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F., Lavrik O.I. Novel Semisynthetic Derivatives of Bile Acids as Effective Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 1 Inhibitors. // *Molecules.* – 2018. – V. 23. – P. E679. doi:10.3390/molecules23030679.
- 99 Khomenko T., Zakharenko A., Odarchenko T., Arabshahi H.J., Sannikova V., Zakharova O., Korchagina D., Reynisson J., Volcho K., Salakhutdinov N., Lavrik O. New inhibitors of tyrosyl-DNA phosphodiesterase I (TDP 1). // *Bioorg. Med. Chem.* – 2016. – V. 24. – P. 5573–5581. doi:10.3390/ijms21010126.
- 100 Ponomarev K.Y., Suslov E.V., Zakharenko A.L., Zakharova O.D., Rogachev A.D., Korchagina D.V., Zafar A., Reynisson J., Nefedov A.A., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F., Lavrik O.I. Aminoadamantanes containing monoterpene-derived fragments as potent tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors. // *Bioorg. Chem.* – 2018. – V. 76. – P. 392–399. doi:10.1016/j.bioorg.2017.12.005.
- 101 Mozhaitsev E.S., Zakharenko A.L., Suslov E.V., Korchagina D.V., Zakharova O.D., Vasil'eva I.A., Chepanova A.A., Black E., Patel J., Chand R., Reynisson J., Leung I.K.H., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F., Lavrik O.I. Novel Inhibitors of DNA Repair Enzyme TDP1 Combining Monoterpenoid and Adamantane Fragments. *Anti-Cancer Agents // Med. Chem.* – 2019. – V. 19. – P. 463–472. doi:10.2174/1871520619666181207094243.
- 102 Chepanova A.A., Mozhaitsev E.S., Munkuev A.A., Suslov E.V., Korchagina D.V., Zakharova O.D., Zakharenko A.L., Patel J., Ayine-Tora D.M., Reynisson J., Leung I.K.H., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F., Lavrik O.I. The development of Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors. Combination of monoterpene and adamantane moieties via amide or thioamides bridges. // *Appl. Sci.* – 2019. – V. 9. – P. 2767. doi:10.3390/app9132767.
- 103 Zeng Z., Cortes-Ledesma F., El Khamisy S.F., Caldecott K.W. TDP2/TTRAP Is the Major 5'-

Tyrosyl DNA Phosphodiesterase Activity in Vertebrate Cells and Is Critical for Cellular Resistance to Topoisomerase II-induced DNA Damage // *J. Biol. Chem.* – 2011. – V. 286. – P. 403-409. doi:10.1074/jbc.M110.181016.

104 Ledesma F.C., El Khamisy S.F., Zuma M.C., Osborn K., Caldecott K.W. A human 5'-tyrosyl DNA phosphodiesterase that repairs topoisomerase-mediated DNA damage // *Nature.* – 2009. – V. 461. – P. 674-678. doi:10.1038/nature08444

105 Pommier Y., Leo E., Zhang H.L., Marchand C. DNA Topoisomerases and Their Poisoning by Anticancer and Antibacterial Drugs // *Chem. Biol.* – 2010. – V. 17. – P. 421-433. doi:10.1016/j.chembiol.2010.04.012

106 Gomez-Herreros F., Romeo-Granados R., Zeng Z., Alvarez-Quilon A., Quintero C., Ju L., Umans L., Vermeire L., Huylebroeck D., Caldecott K.W., Cortes-Ledesma F. TDP2-Dependent Non-Homologous End-Joining Protects against Topoisomerase II-Induced DNA Breaks and Genome Instability in Cells and *In Vivo* // *PLoS Genet.* – 2013. – V. 9. – P. e1003226. doi:10.1371/journal.pgen.1003226.

107 Marchand C., Abdelmalak M., Kankanala J., Huang S. Y., Kiselev E., Fesen K., Kurahashi K., Sasanuma H., Takeda S., Aihara H., Wang Z., Pommier Y. Deazaflavin Inhibitors of Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 2 (TDP2) Specific for the Human Enzyme and Active against Cellular TDP2 // *ACS Chemical Biology.* – 2016. – V. 11. – No. 7. – P. 1925-1933. doi:10.1021/acscchembio.5b01047.

108 Kankanala J., Ribeiro C.J.A., Kiselev E., Ravji A., Williams J., Xie J., Aihara H., Pommier Y., Wang Z. Novel Deazaflavin Analogues Potently Inhibited Tyrosyl DNA Phosphodiesterase 2 (TDP2) and Strongly Sensitized Cancer Cells toward Treatment with Topoisomerase II (TOP2) Poison Etoposide // *J. Med. Chem.* – 2019. – V. 9. – No. 62(9). – P. 4669-4682. doi:10.1021/acs.jmedchem.9b00274.

109 Yu L. M., Hu Z., Chen Y., Ravji A., Lopez S., Plescia C. B., Yu Q., Yang H., Abdelmalak M., Saha S., Agama K., Kiselev E., Marchand C., Pommier Y., An L.K. Synthesis and structure-activity relationship of furoquinolinediones as inhibitors of Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 2 (TDP2) // *Eur. J. Med. Chem.* – 2018. – V. 10. – No. 151. – P. 777-796. doi:10.1016/j.ejmech.2018.04.024.

110 Kont Y. S., Dutta A., Mallisetty A., Mathew J., Minas T., Kraus C., Dhopeswarkar P., Kallakury B., Mitra S., Üren A., Adhikari S. Depletion of tyrosyl DNA phosphodiesterase 2 activity enhances etoposide-mediated double-strand break formation and cell killing // *DNA Repair.* 2016. Vol. 43. P. 38-47. doi:10.1016/j.dnarep.2016.04.009.

111 Murai J., Huang S.N., Das B.B., Dexheimer T.S., Takeda S., Pommier Y. Tyrosyl-DNA

Phosphodiesterase 1 (TDP1) Repairs DNA Damage Induced by Topoisomerases I and II and Base Alkylation in Vertebrate Cells // *J. Biol. Chem.* – 2012. – V. 287. – P. 12848-12857. doi:10.1074/jbc.M111.333963.

112 Zeng Z., Sharma A., Ju L., Murai J., Umans L., Vermire L., Pommier Y., Takeda S., Huylebroeck D., Caldecott K.W., El-Khamisy S.F. TDP2 promotes repair of topoisomerase I-mediated DNA damage in the absence of TDP1 // *Nucleic Acids Res.* – 2012. – V. 40. – P. 8371-8380. doi:10.1093/nar/gks622.

113 Maede Y., Shimizu H., Fukushima T., Kogame T., Nakamura T., Miki T., Takeda S., Pommier Y., Murai J. Differential and Common DNA Repair Pathways for Topoisomerase I- and II-Targeted Drugs in a Genetic DT40 Repair Cell Screen Panel // *Mol. Cancer Ther.* – 2014. – V. 13. – P. 214–220. doi:10.1158/1535-7163.MCT-13-0551

114 Wang P., Elsayed M.S.A., Plescia C.B., Ravji A., Redon C.E., Kiselev E., Marchand C., Zeleznik O., Agama K., Pommier Y., Cushman M. Synthesis and Biological Evaluation of the First Triple Inhibitors of Human Topoisomerase 1, Tyrosyl–DNA Phosphodiesterase 1 (TDP1), and Tyrosyl–DNA Phosphodiesterase 2 (TDP2) // *J. Med. Chem.* – 2017. – V. 60. – Is. 8. – P. 3275–3288. doi:10.1021/acs.jmedchem.6b01565.

115 Salomatina O.V., Dyrkheeva N.S., Popadyuk I.I., Zakharenko A.L., Ilina E.S., Komarova N.I., Reynisson J., Salakhutdinov N.F., Lavrik O.I., Volcho K.P. New Deoxycholic Acid Derived Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 1 Inhibitors Also Inhibit Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 2. // *Molecules.* – 2022. – V. 27. – P. 72. doi:10.3390/molecules27010072.

116 Dato F.M., Neudörfl J.-M., Gütschow M., Goldfuss B., Pietsch M. ω -Quinazolinonylalkyl aryl ureas as reversible inhibitors of monoacylglycerol lipase // *Bioorg. Chem.* – 2020. – V. 94. – art No. 103352, doi:10.1016/j.bioorg.2019.103352.

117 Bruno M., Trucchi B., Burlando B., Ranzato E., Martinotti S., Akkol E.K., Süntar I., Keleş H., Verotta L. (+)-Usnic acid enamines with remarkable cicatrizing properties. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2013. – V. 21. – P. 1834–1843. doi:10.1016/j.bmc.2013.01.045.

118 Verotta L., Bruno M., Trucchi B. (2013) Dibenzofuran derivatives with antibacterial and wound-healing activity. Patent WO2013189950A1.

119 Bruno M., Trucchi B., Monti D., Romeo S., Kaiser M., Verotta L. Synthesis of a potent new antimalarial through natural products conjugation. // *Chem. Med. Chem.* – 2013. – V. 8. – Is. 2. – P. 221 – 225. doi:10.1002/cmde.201200503.

120 Захаренко А.Л., Соколов Д.Н., Лузина О.А., Суханова М.В., Ходырева С.Н., Захарова О.Д., Салахутдинов Н.Ф., Лаврик О.И. (2013) Средство для ингибирования фермента поли(АДФ-рибозо)полимеразы 1 человека. Патент РФ № RU 2500675.

-
- 121 Antonenko Y.N., Khailova L.S., Rokitskaya T.I., Nosikova E.S., Nazarov P.A., Luzina O.A., Salakhutdinov N.F., Kotova E.A. Mechanism of action of an old antibiotic revisited: Role of calcium ions in protonophoric activity of usnic acid. // *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* – 2019. – V. 1860. – Is. 4. – P. 310–316. doi:10.1016/j.bbabi.2019.01.005.
- 122 Pramyothin P., Janthasoot W., Pongnimitprasert N., Phrukudom S., Ruangrunsi N. Hepatotoxic effect of (+)usnic acid from *Usnea siamensis* Wainio in rats, isolated rat hepatocytes and isolated rat liver mitochondria. // *J. Ethnopharmacol.* – 2004. – V. 90(2-3). – P. 381–387. doi:10.1016/j.jep.2003.10.019.
- 123 Abo-Khatwa A.N., al-Robai A.A., al-Jawhari D.A. Lichen acids as uncouplers of oxidative phosphorylation of mouse-liver mitochondria. // *Nat. Toxins.* – 1996. – V. 4(2). – P. 96–102. doi:10.1002/19960402NT7.
- 124 Zakharenko A., Luzina O., Koval O., Nilov D., Gushchina I., Dyrkheeva N., Švedas V., Salakhutdinov N., Lavrik O. Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 1 Inhibitors: Usnic Acid Enamines Enhance the Cytotoxic Effect of Camptothecin // *J. Nat. Prod.* – 2016. – V. 79. – P. 2961-2967. doi:10.1021/acs.jnatprod.6b00979.
- 125 Polovinka, M.P.; Salakhutdinov, N.F.; Panchenko, M.Y. Method for preparing usnic acid. Patent RU2317076, 2008.
- 126 Fonseca N.C., Faria da Cruz L., da Silva Villela F., Aparecida do Nascimento Pereira G., Lage de Siqueira-Neto J., Kellar D., Suzuki B.M., Ray D., Belarmino de Souza Th., Alves R.J., Ademar Sales Júnior P., Romanha A.J., Fonseca Murta S.M., McKerrow J.H., Caffrey C.R., Barbosa de Oliveira R., Salgado Ferreira R. Synthesis of a Sugar-Based Thiosemicarbazone Series and Structure-Activity Relationship versus the Parasite Cysteine Proteases Rhodesain, Cruzain, and *Schistosoma mansoni* Cathepsin B1 // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2015. – V. 59 – No. 5. – P. 2666-2677. doi:10.1128/AAC.04601-14.
- 127 Veríssimo de Oliveira Cardoso M., Rabelo Pessoa de Siqueira L., Barbosa da Silva E., Bandeira Costa L., Zaldini Hernandez M., Montenegro Rabello M. 2-Pyridyl thiazoles as novel anti-*T. cruzi* agents: Structural design, synthesis and Pharmacological evaluation // *European Journal of Medicinal Chemistry.* – 2014. – V. 86. – P. 48-59. doi:10.1016/j.ejmech.2014.08.012.
- 128 Pervaiz A.C., Aamer S., Fayaz A., Muhammad R., Zaman A., Farukh J., Tanzeela A.F. Synthesis, computational studies and enzyme inhibitory kinetics of substituted methyl[2-(4-dimethylamino-benzylidene)-hydrazono)-4-oxo-thiazolidin-5-ylidene]acetates as mushroom tyrosinase inhibitors // *Bioorg. Med. Chem.* – 2017. – V. 25. – No. 21. – P. 5929-5938. doi:10.1016/j.bmc.2017.09.009.
- 129 Xie J., Dong H., Yu Y., Cao Sh. Inhibitory effect of synthetic aromatic heterocycle

thiosemicarbazone derivatives on mushroom tyrosinase: Insights from fluorescence, ¹H NMR titration and molecular docking studies // *Food Chemistry*. – 2016. – V. 190. – P. 709-716. doi:10.1016/j.foodchem.2015.05.124.

130 Xu J., Liu J., Zhu X., Yu Y., Cao Sh. Novel inhibitors of tyrosinase produced by the 4-substitution of TCT // *Food Chemistry*. – 2017. –V. 221. – P. 1530-1538. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.05.036.

131 Alomar K., Landreau A., Kempf M., Khan M.A., Allain M., Bouet G. Synthesis, crystal structure, characterization of zinc(II), cadmium(II) complexes with 3-thiophene aldehyde thiosemicarbazone (3TTSCH). Biological activities of 3TTSCH and its complexes // *J. Inorg. Biochem.* – 2010. – V. 104. – No. 4. – P. 397-404. doi:10.1016/j.jinorgbio.2009.11.012.

132 Cohen M., Ladd J.R. Dimethylvinylethoxysilane and Methylvinyl-dieth-oxysilane // *Am. Chem. Soc.* – 1953. – V. 75 (4). – P. 988–988.

133 Abram U., Ortner K., Gust R., Sommer K. Gold complexes with thiosemicarbazones: reactions of bi- and tridentate thiosemicarbazones with dichloro[2-(dimethylaminomethyl)phenyl]-C¹,N]gold(III), [Au(damp-C¹,N)Cl₂] // *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* – 2000. – V. 0. – P. 735-744. doi:10.1039/A908712E.

134 Reis D.C., Recio Despaigne A.A., Da Silva J.G., Silva N.F., Vilela C.F., Mendes I.C., Takahashi J.A., Beraldo H. Structural Studies and Investigation on the Activity of Imidazole-Derived Thiosemicarbazones and Hydrazones against Crop-Related Fungi // *Molecules*. – 2013. – V. 18. – No. 10. – P. 12645-12662. doi:10.3390/molecules181012645.

135 Yi W., Dubois C., Yahiaoui S., Haudecoeur R., Belle C., Song H., Hardré R., Réglier M., Boumendjel A. Refinement of arylthiosemicarbazone pharmacophore in inhibition of mushroom tyrosinase // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – V. 46 – No. 9. – P. 4330-4335. doi:10.1016/j.ejmech.2011.07.003.

136 Tarasconi P., Capacchi S., Pelosi G., Cornia M., Albertini R., Bonati A., Dall'Aglio P., Lunghi P., Pinelli S. Synthesis, spectroscopic characterization and biological properties of new natural aldehydes thiosemicarbazones // *Bioorg. Med. Chem.* – 2000. – V. 8. – P. 157-162. doi:10.1016/S0968-0896(99)00260-6.

137 Wiles D.M., Gingras B.A., Suprunchuk T. The C=S stretching vibration in the infrared spectra of some thiosemicarbazones // *Can. J. Chem.* – 1967. – V. 45. – P. 469 – 473. doi:10.1139/v67-081.

138 de Oliveira R.B., de Souza-Fagundes E.M., Soares R.P., Andrade A.A., Krettli A.U., Zani C.L. Synthesis and antimalarial activity of semicarbazone and thiosemicarbazone derivatives // *Eur. J. Med. Chem.* – 2008. – V. 43. – P. 1983-1988. doi:10.1016/j.ejmech.2007.11.012.

139 Łączkowski K., Misiura K., Biernasiuk A., Malm A., Siwek A., Plech T., Ciok-Pater E., Skowron K., Gospodarek E. Synthesis, in vitro biological screening and molecular docking studies of novel camphor-based thiazoles. // *Med. Chem.* – 2014. – V. 10. – P. 600 – 608. doi:10.2174/15734064113096660054.

Приложение 1. Биологические исследования

Исследование влияния соединений на активность Tdp1 и Tdp2

Ингибирующие свойства соединения по отношению к ферменту Tdp1 изучали с использованием методики, разработанной ранее группой. В качестве биосенсора использовали 16-мерный одноцепочечный олигонуклеотид, несущий флуорофор (FAM) на 5'-конце и тушител (BHQ1) на 3'-конце. При инкубации такой ДНК с ферментом тушител удалялся за счет активности Tdp1, что приводило к излучению флуоресценции. Реакцию проводили при разных концентрациях ингибиторов (1,5% ДМСО, Sigma, Сент-Луис, Миссури, США, в контрольных образцах). Реакционные смеси содержали буфер TDP1 (50 мМ Tris-HCl pH 8,0, 50 мМ NaCl и 7 мМ β-меркаптоэтанол), 50 нМ биосенсор и испытуемый ингибитор. Ферментом TDP1 (1,5 нМ) запускали реакцию. Интенсивность флуоресценции измеряли с помощью флуориметра POLARstar OPTIMA (BMG LABTECH, GmbH, Ортенберг, Германия). Значения концентраций полумаксимального ингибирования IC₅₀ определяли как минимум в трех независимых экспериментах и рассчитывали с использованием встроенного программного обеспечения MARS Data Analysis 2.0 (BMG LABTECH, GmbH, Ортенберг, Германия).

Для измерения ингибирующей TDP2 активности, использовали 16-мерный олигонуклеотид, несущий остаток тирозина на 5'-конце и краситель (FAM) на 3'-конце. При инкубации ДНК с ферментом тирозин отщеплялся, что приводило к изменению электрофоретической подвижности олигонуклеотида. Реакцию проводили при разных концентрациях ингибитора, контрольные образцы содержали 10% ДМСО. Реакционные смеси содержали буфер TDP2 (50 мМ Tris-HCl pH 8,0, 50 мМ NaCl, 8 мМ MgCl₂ и 7 мМ β-меркаптоэтанол), 100 нМ биосенсор и испытуемый ингибитор. TDP2 (200 нМ) запускали реакцию. Реакцию останавливали через 15 минут добавлением буфера для нанесения на ПААГ и прогреванием до 90°C в течение 7 минут. Электрофорез проводили в 20% денатурирующем ПААГ. Продукты реакции анализировали с помощью сканера Typhoon FLA 9500 phosphorimager (GE Healthcare), количественную обработку проводили с помощью программного обеспечения QuantityOne 4.6.7.

Исследование собственной цитотоксичности соединений и их влияние на цитотоксический эффект топотекана

Цитотоксичность соединений в отношении клеточных линий HeLa (рак шейки матки человека), HCT-116 (колоректальная карцинома человека), MRC-5 (фибробласты легких человека) и HEK293A (эмбриональная почка человека), MCF-7 (аденокарцинома протоков

молочной железы человека), A549 (аденокарцинома легкого), HepG2 (гепатоцеллюлярная карцинома) исследовали с использованием МТТ-теста путем колориметрического измерения количества формазана, превращенного из 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия бромида (МТТ) клетками, подвергшимися воздействию соединений. Клетки выращивали в среде DMEM с 50 МЕ/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина (MP Biomedicals, Санта-Ана, Калифорния, США) и 10% эмбриональной бычьей сыворотки (Биолот, Санкт-Петербург, Россия) в атмосфере 5% CO₂. После достижения 30–50% конfluenceности в среду добавляли испытуемые соединения. Объем добавляемых реагентов составлял 1/100 от общего объема культуральной среды, а количество ДМСО составляло 1% от конечного объема. С каждым ингибитором проводили не менее двух независимых испытаний. Для оценки влияния ингибиторов на цитотоксический эффект топотекана (Selleck Chemicals, Хьюстон, Техас, США) варьировали концентрации топотекана в присутствии или в отсутствие 10 мкМ ингибиторов Tdp1. Было проведено не менее двух независимых испытаний с каждым ингибитором в сочетании с топотеканом.

Лабораторные животные и опухолевые модели

В исследовании использовались самки мышей C57BL с массой тела ~19-21 г. Мыши содержались в пластиковых клетках с подстилкой из древесной стружки и имели свободный доступ к воде и пище. В качестве экспериментальных моделей опухолей использовали карциному легкого Льюиса (LLC) и асцит Кребса-2.

Трансплантируемые опухоли были получены из банка клеток Института цитологии и генетики (Новосибирск, Россия). Модель мыши LLC является наиболее распространенной моделью рака легкого; клетки LLC остаются туморигенными и способны метастазировать в легкое у мышей линии C57BL. Перед трансплантацией опухолевую ткань измельчали и ресуспендировали в 0,9% NaCl. LLC вводили в правое бедро мышей в количестве 800 000 клеток в 0,2 мл на мышшь.

Все эксперименты с мышами проводились в соответствии с протоколами, утвержденными Межинститутской комиссией по биоэтике Института цитологии и генетики СО РАН № 21.11 от 30 мая 2014 г., и директивой 2010/63/EU.

Противоопухолевые и антиметастатические эффекты соединения 162d, используемого в качестве монотерапии или в комбинации с топотеканом в модели LLC

Животных разделили на 7 групп по 6-7 особей в каждой, лечение проводили один раз через 7 дней после пересадки опухоли. Лечение проводили однократно через 7 дней после трансплантации опухоли:

- Группа 1 – (intact control) - мышам этой группы инокулировали опухоль, вводили 0,2 мл физиологического раствора внутривентриально;

- Группа 2 – (DMSO-Tween-80) мышам вводили однократно внутривентриально с помощью зонда 200 мкл раствора, содержащего физраствор, Tween-80 (10%) и DMSO (15%), растворитель для 7;

- Группа 3-(Trc)-мышам однократно внутривентриально вводили 200 мкл водного раствора топотекана в разовой дозе 1 мг/кг;

- Группа 4- (Trc + AF-185) -мышь получали топотекан однократно, как описано для группы 3, и соединение **162b** в виде 200 мкл суспензии (Tween-80 (10%) и DMSO (15%) в физиологическом растворе) однократно внутривентриально в дозе 50 мг/кг;

- Группа 5 – (AF-185 i/g) мышам вводили только соединение **162b**, как описано для группы 4;

- Группе 6 – (Trc + AF-185 i/p) - мышам однократно вводили топотекан, как описано для группы 3, и соединение AF-185 в виде 200 мкл суспензии (Tween-80 (10%) и DMSO (15%) в физиологическом растворе) однократно внутривентриально в дозе 50 мг/кг;

- Группа 7 – (AF-185 i/p) -мышам вводили AF-185 инъекцией, как и в группе 6.

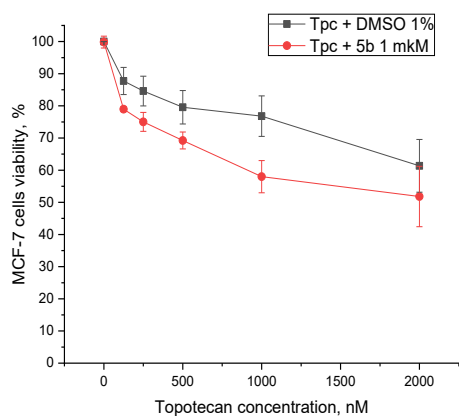
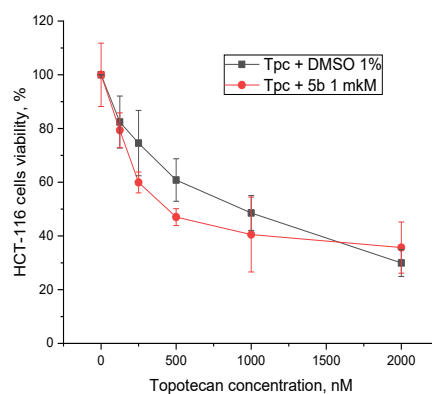
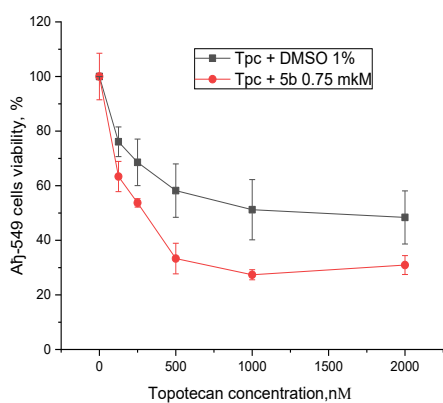
Вещества вводили в виде однократной инъекции в объеме 0,2 мл на 13-й день после пересадки опухоли. Противоопухолевый эффект оценивали по росту первичной опухоли и количеству метастазов в легких у всех мышей. Метастазы подсчитывали после фиксации в 10% формалине под микроскопом МБИ-3 (ЛОМО, Санкт-Петербург, СССР) при трехкратном увеличении.

Приложение 2

Усиление цитотоксического действия топотекана при использовании производного 140b

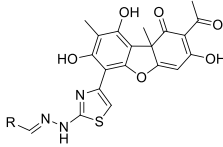
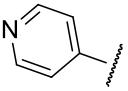
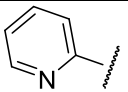
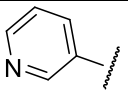
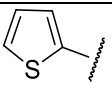
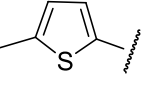
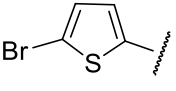
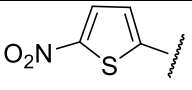
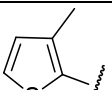
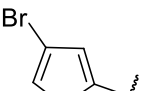

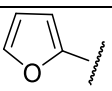
	ИК ₅₀ Tdp1, мкМ	ЦК ₅₀ , мкМ, HCT116	ЦК ₅₀ , мкМ, A549	ЦК ₅₀ / *ЦК ₂₅ , мкМ, MCF7
140b	0.9±0.2	3.1±7.4	6.7±0.5	5.8±1.1
TPC		0.9	1.3	1,1*
TPC+140b		0.4	0.3	0,25*

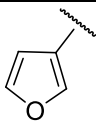
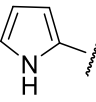
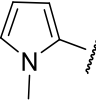
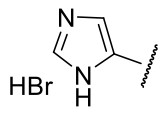
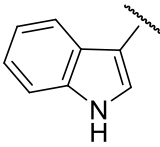
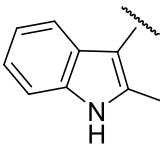
* Была измерена ЦК₂₅, т.к. ЦК₅₀ не могла быть определена



Приложение 3

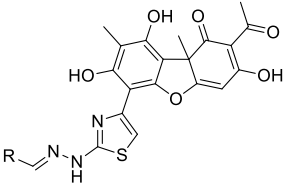
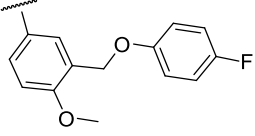
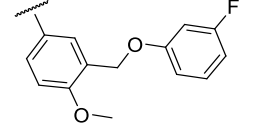
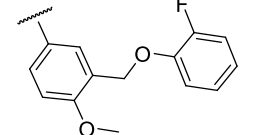
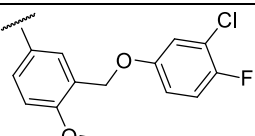
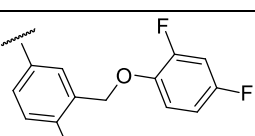
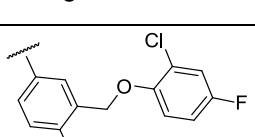
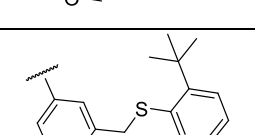
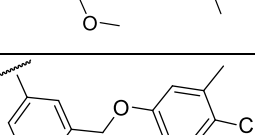
Ингибирующая активность гидразонотиазолов на основе усниновой кислоты с гетероциклическим заместителем в гидразоновом фрагменте молекулы

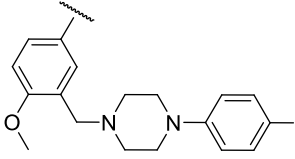
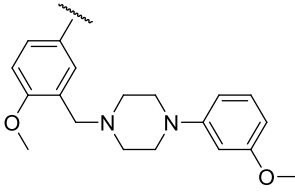
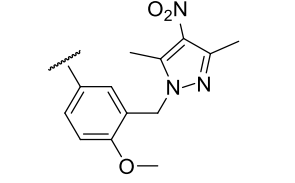
№		(+)-энантиомер	(-)-энантиомер
		ИК ₅₀ , нМ	ИК ₅₀ , нМ
148a	 HBr	160 ± 16	139 ± 38
148b	 HBr	492 ± 88	1480 ± 265
148c	 HBr	353 ± 17	154 ± 18
148d		52 ± 18	169 ± 6
148e		91 ± 7	54 ± 25
148f		88 ± 3	43 ± 1
148g		70 ± 4	142 ± 4
148h		72 ± 3	121 ± 25
148i		70 ± 18	56 ± 4
148j		107 ± 31	40 ± 3
148k		120 ± 15	46 ± 24

148l	 A furan ring with a wavy line representing a substituent at the 2-position.	77 ± 6	178 ± 4
148m	 An imidazole ring with a wavy line representing a substituent at the 2-position.	188 ± 3	18 ± 1
148n	 An imidazole ring with a methyl group at the 1-position and a wavy line representing a substituent at the 2-position.	151 ± 14	29 ± 9
148o	 An imidazole ring with a wavy line representing a substituent at the 2-position. The label "HBr" is written to the left of the structure.	1690 ± 890	570 ± 109
148p	 An indazole ring with a wavy line representing a substituent at the 2-position.	138 ± 3	57 ± 1
148q	 An indazole ring with a methyl group at the 3-position and a wavy line representing a substituent at the 2-position.	21 ± 6	81 ± 20

Приложение 4

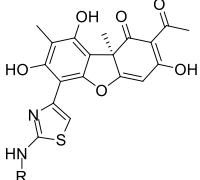
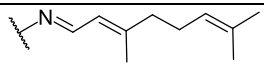
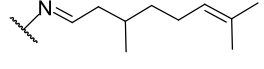
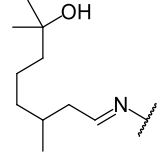
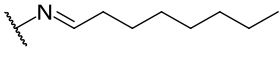
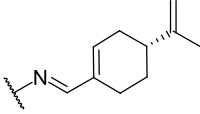
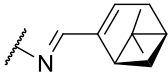
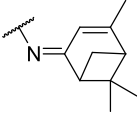
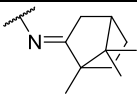
Ингибирующая активность гидразонотиазолов на основе усниновой кислоты с протяженным ароматическим заместителем в гидразоновом фрагменте молекулы

№		(+)-энантиомер	(-)-энантиомер
		ИК ₅₀ , нМ	ИК ₅₀ , нМ
149a		26 ± 8	54 ± 3
149b		26 ± 4	78 ± 3
149c		41 ± 7	37 ± 10
149d		77 ± 3	18 ± 1
149e		64 ± 6	30 ± 11
149f		60 ± 1	21 ± 5
149g		122 ± 25	94 ± 20
149h		74 ± 1	48 ± 2

149i		80 ± 7	59 ± 5
149j		69 ± 14	71 ± 15
149k		54 ± 8	46 ± 5

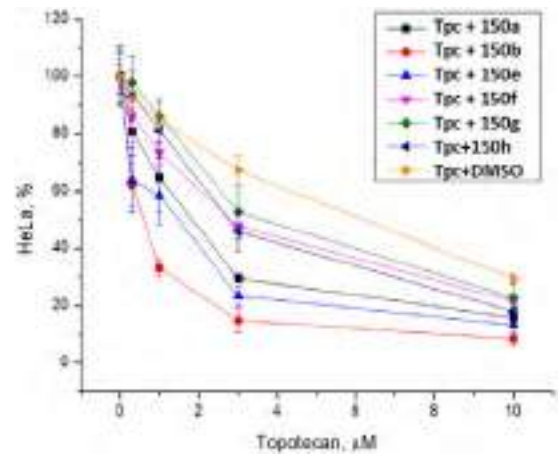
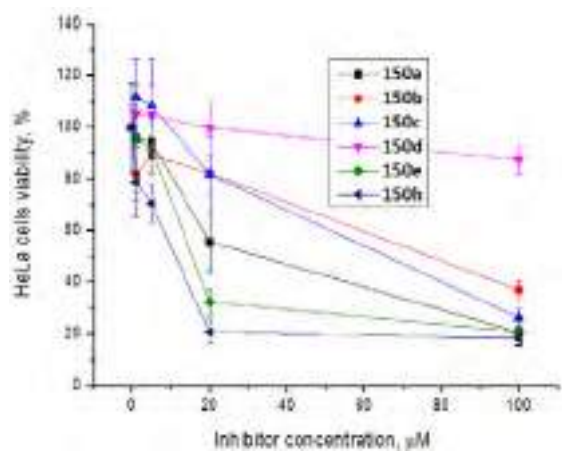
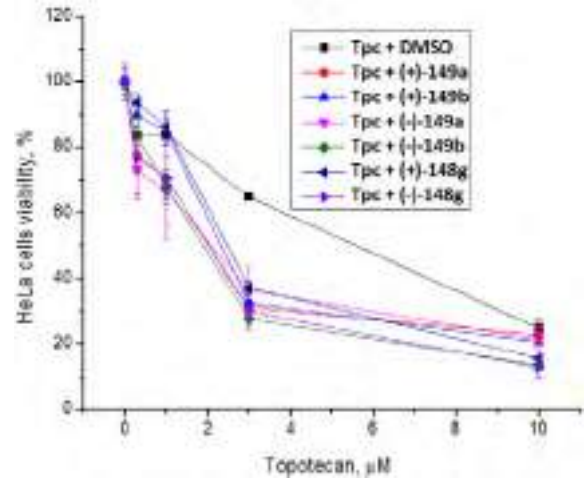
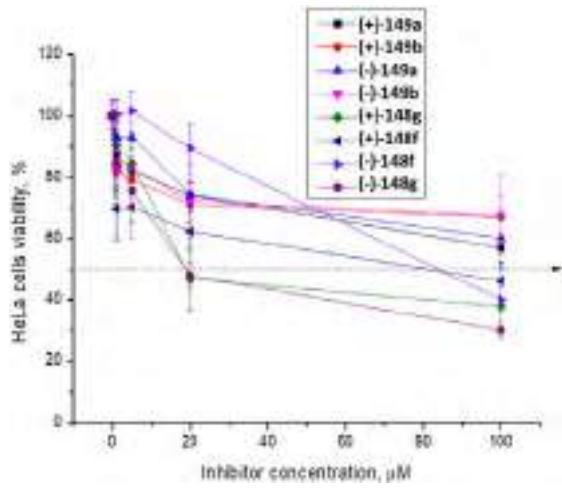
Приложение 5

Ингибирующая активность гидразонотиазолов на основе усниновой кислоты с гетероциклическим заместителем в гидразоновом фрагменте молекулы

		ИК ₅₀ , нМ
150a		10.3±0.4
150b		16.4±0.1
150c		139±1
150d		88±16
150e		27,2±1,9
150f		45±12
150g		46,1±2
150h		31,4±10,8

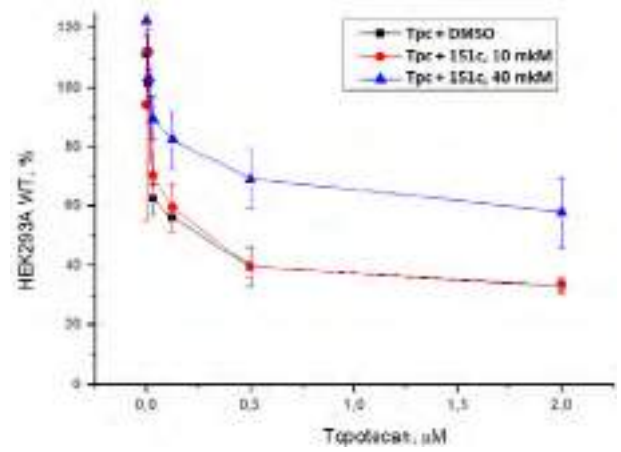
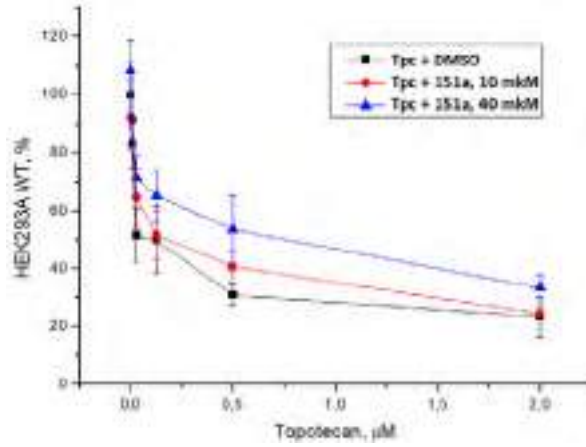
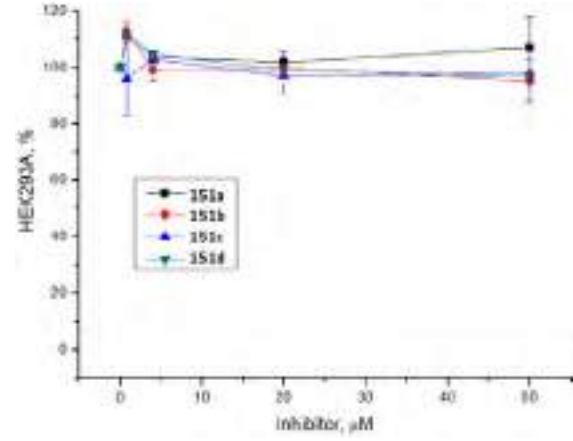
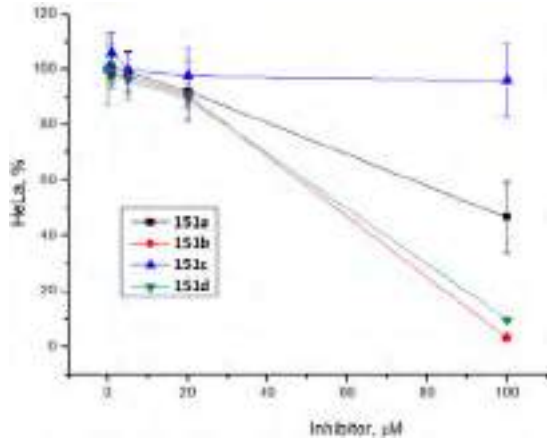
Приложение 6

Цитотоксичность гидразонотиазолов 148-150 и их влияние на цитотоксический эффект топотекана



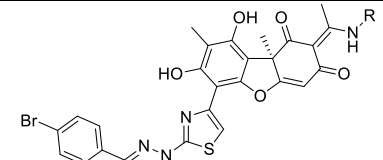
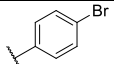
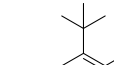
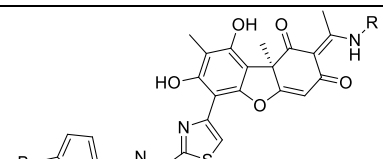
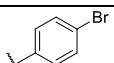
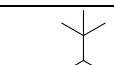
Приложение 7

Цитотоксичность енаминов на основе усниновой кислоты с терпеновым заместителем 152a-d и их влияние на цитотоксический эффект топотекана



Приложение 8

Ингибирующая Tdp1 активность и цитотоксичность производных 162a-d

№		R	ИК ₅₀	HeLa	НСТ-116	A-549	MCF-7	T98G	MRC-5	HepG2	HEK293A
162a			5±1	>100	>100	30±10	30±20	44±13	>100	>100	88±26
162b			0.12±0.01	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
162c			1.0±0.4	47±12	62±8	>100	60±20	>100	90±20	>100	>100
162d			0.14±0.02	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

Данные приведены в мкМ

Приложение 9

Влияние соединения 162b (AF-185) на противоопухолевый и антиметастатический эффект топотекана in vivo

