

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт органического синтеза им. И.Я. Пастера
Уральского отделения Российской академии наук
(ИОС УрО РАН)

На правах рукописи

ВОЗДВИЖЕНСКАЯ Ольга Андреевна

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ КОНЪЮГАТЫ ПУРИНА: СИНТЕЗ,
СКРИНИНГ, ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БИОМИШЕНИ**

1.4.3. Органическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук, профессор
Краснов Виктор Павлович

Екатеринбург – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 Высшие ω -аминокислоты: синтез, биологическая активность, использование для изучения связи «структура–активность» (аналитический обзор литературы)	11
1.1 Методы синтеза высших ω -аминокислот	11
1.2 Биологическая активность высших ω -аминокислот	18
1.3 Использование ω -аминокислот для структурной модификации биологически активных соединений и изучения связи «структура–активность»	19
1.3.1 Противоопухолевая активность производных ω -аминоалкановых кислот	19
1.3.2 Другие виды биологической активности	55
ГЛАВА 2 Обсуждение результатов	69
2.1 Синтез исходных соединений	69
2.2 Синтез конъюгатов пурина и его аналогов с гетероциклическими аминами	71
2.2.1 Направления структурной модификации 3,4-дигидро-3-метил-4-[6-(пурин-6-иламино)гексаноил]-7,8-дифтор-2 <i>H</i> -[1,4]бензоксазина	71
2.2.2 Синтез конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2 <i>H</i> -[1,4]-бензоксазином (в т.ч. в энантиомерно чистом виде), содержащих в качестве линкера фрагменты ω -аминокислот	73
2.2.3 Синтез конъюгатов 6-(пурин-6-ил)аминогексановой кислоты с аминами	79
2.2.4 Получение нуклеозидов и их аналогов	82
2.2.5 Синтез аналогов соединения 18j с целью изучения влияния отдельных фрагментов молекулы на биологическую активность	85
2.2.6 Синтез конъюгатов аналогов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2 <i>H</i> -[1,4]бензоксазином	87
2.3 Изучение биологической активности и механизма действия полученных соединений	89
2.3.1 Противогерпетическая активность <i>in vitro</i>	89
2.3.1.1 Противогерпетическая активность конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2 <i>H</i> -[1,4]бензоксазином, содержащих ω -аминокислотный линкер	90
2.3.1.2 Противогерпетическая активность производных соединения-лидера, модифицированного путем введения аминов иной структуры	93
2.3.1.3 Противогерпетическая активность нуклеозидов и аналогов пурина	94
2.3.2 Изучение механизма действия соединения-лидера в отношении ВПГ-1	96

2.3.2.1	Определение стадии жизненного цикла ВПГ-1, на которую направлено действие соединения-лидера	96
2.3.2.2	Определение мишени противогерпетического действия соединения-лидера и молекулярный докинг к предполагаемому сайту связывания	98
2.3.3	Противогерпетическая активность <i>in vivo</i>	102
2.3.4	Противогерпетическая активность соединения-лидера в комбинации с известными противогерпетическими соединениями	102
2.3.5	Активность синтезированных соединений в отношении вируса гриппа	103
2.3.6	Антибактериальная активность синтезированных соединений.....	105
2.3.7	Противоопухолевая активность синтезированных соединений <i>in vitro</i>	106
ГЛАВА 3 Экспериментальная часть		111
ЗАКЛЮЧЕНИЕ		146
ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ		148
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ		153

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования. Важнейшей задачей органического синтеза является разработка методов получения новых соединений, обладающих биологической активностью. Одним из путей решения этой задачи является химическая модификация аналогов природных соединений, в частности, пурина.

Пурин (имидазо[4,5-*d*]пиримидин) и пуриновые основания играют важную роль в метаболизме живых организмов, в том числе, бактерий и вирусов. Фрагменты пурина входят в состав важнейших биомолекул: ДНК, РНК, АТФ, кофермента НАД, алкалоидов и др. Блокировка ключевых ферментов вирусов и бактерий, нарушение синтеза нуклеиновых кислот определяют терапевтический эффект производных пурина. В настоящее время для терапии опухолевых, вирусных и ряда других заболеваний широко применяются производные пурина, в том числе аналоги нуклеозидов [1-5]. Не вызывает сомнений, что разработка новых методов синтеза и исследование такого рода соединений представляет актуальную задачу с точки зрения создания на их основе эффективных лекарственных средств.

Важно подчеркнуть, что в число острейших проблем, с которыми сталкивается современная медицина, входят возрастающая лекарственная устойчивость известных возбудителей заболеваний и возникновение угрозы новых вирусных инфекций, таких как, например, эпидемия коронавируса. Для того чтобы успешно противостоять угрозам новых эпидемий, в арсенале потенциальных лекарств должны находиться соединения, на основе которых могут быть быстро созданы препараты, непосредственно действующие на возбудитель. Поэтому важным является синтез и исследование соединений, механизм действия которых отличается от существующих препаратов, а биоактивность связана с воздействием на новые мишени. В основе создания новых препаратов должен лежать синтез обширных библиотек потенциальных противовирусных агентов, выявление среди них наиболее перспективных структур и определение возможных молекулярных мишеней.

По оценкам, около 3,7 миллиарда человек в возрасте до 50 лет (67%) в мире инфицированы вирусом простого герпеса первого типа (ВПГ-1); 491 миллион человек в возрасте от 15 до 49 лет (13%) в мире являются носителями вируса простого герпеса второго типа (ВПГ-2) [6]. Чаще всего репликация вируса ограничивается эпителием и устанавливает латентный период в нейронах, периодически реактивируясь и вызывая локальные рецидивирующие поражения. Однако, вирусы герпеса также могут вызывать тяжелые заболевания, такие как рецидивирующий кератит, потенциально приводящий к слепоте, а также энцефалит и системные заболевания у новорожденных и пациентов с ослабленным

иммунитетом. Хотя противовирусная терапия эффективна для лечения как первичных, так и рецидивирующих инфекций, резистентность к имеющимся в настоящее время лекарствам представляет собой текущую и будущую угрозу, которую необходимо устранять путем создания новых противовирусных препаратов, направленных против новых мишеней [7]. Используемые для лечения ВПГ-инфекций противовирусные препараты первого и второго рядов воздействуют на вирусную полимеразу, поэтому поиск антивирусных агентов, которые используют другие мишени, расширит возможности воздействия на ВПГ-инфекции, включая резистентные к базовым лекарствам.

В связи с этим поиск новых терапевтических агентов, в том числе в ряду производных пурина, отличающихся по механизму действия от препаратов, применяемых в современной клинической практике, представляется важной задачей медицинской химии.

Распространенность онкологических заболеваний в мире колоссальна. Несмотря на имеющиеся успехи в области терапии опухолей, число зарегистрированных случаев рака увеличивается с каждым годом. По данным Международного агентства по изучению рака, в 2020 г. выявлено около 19,3 миллионов новых случаев заболевания раком; смертность от онкологических заболеваний достигла в 2020 г. 10 миллионов человек. Значительную долю в числе летальных случаев занимают рак легкого (18,0%), толстого кишечника и прямой кишки (9,4%), печени (8,3%), желудка (7,7%) и молочной железы (6,9%) [8].

Существующие химиотерапевтические препараты токсичны как для опухолевых, так и нормальных клеток – особенно, в отношении быстро пролиферирующих клеток, таких как клетки костного мозга, слизистой оболочки, желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и др. Зачастую их применение сопровождается серьезными побочными эффектами и может вызывать возникновение вторичных злокачественных новообразований, что приводит к значительному ухудшению качества жизни пациентов и даже смерти [9]. Получение новых соединений, обладающих высокой токсичностью в отношении опухолевых клеток, но хорошо переносимых в терапевтических дозах, способно заложить основу для новых схем лечения онкологических заболеваний и содействовать снижению смертности от рака.

Ранее в Лаборатории асимметрического синтеза Института органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН был выполнен цикл работ по синтезу и изучению противогерпетической активности производных пурина. В результате было выявлено соединение-лидер, (3*S*)-4-[6-(пурин-6-иламино)гексаноил]-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазин, проявляющее высокую активность в отношении ВПГ-1, в том числе штамма, устойчивого к действию ацикловира [10].

В рамках настоящей работы проведена модификация структуры соединения-лидера путем замены фрагментов пурина и 7,8-дифторбензоксазина, а также изменения длины

линкерного фрагмента с использованием высших ω -аминокислот (с числом метиленовых звеньев более 5). Разработаны методы синтеза новых конъюгатов пурина, изучена их противовирусная (в отношении вирусов герпеса и гриппа), противоопухолевая и антибактериальная активность. Большое внимание уделено синтезу высокоактивных соединений в энантиомерно чистом виде и анализу их энантиомерной чистоты, поскольку известно, что биологическая активность хиральных соединений существенно зависит от их стереоконфигурации [11-13]. Для некоторых из наиболее активных соединений выявлены потенциальные биологические мишени.

Целью работы являлась разработка методов синтеза новых конъюгатов пурина с гетероциклическими аминами (в том числе хиральными) или производными адамантана, в которых фрагмент пурина либо его структурного аналога связан с амином через остаток ω -аминокарбоновой кислоты; разработка методов анализа их энантиомерной чистоты; изучение противовирусной, противоопухолевой и антибактериальной активности полученных соединений.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Разработка синтетических подходов к получению новых конъюгатов пурина с остатком 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина, содержащих в качестве линкера остатки высших ω -аминокислот (с числом метиленовых звеньев более 5) – аналогов соединения-лидера, (3*S*)-4-[6-(пурин-6-иламино)гексаноил]-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина.

2. Разработка методов синтеза аналогов соединения-лидера, в которых фрагмент 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина заменен на гетероциклические амины (неаннелированные, бензаннелированные, содержащие атомы фтора) или производные адамантана.

3. Синтез структурных аналогов наиболее активных соединений путем введения углеводных и псевдоуглеводных фрагментов в положение N^9 пурина, а также посредством замены остатка пурина на его аналоги.

4. Разработка подходов к получению энантиомерно чистых конъюгатов пурина и его аналогов. Разработка методов анализа энантиомерного состава полученных соединений.

5. Изучение противовирусной активности полученных конъюгатов в отношении вирусов герпеса и гриппа, антибактериальной и противоопухолевой активности, выявление связей «структура–активность».

6. Разработка методов получения наиболее активных соединений в мультиграммовых количествах и их наработка для исследований механизма биологического действия и активности в опытах на животных.

Научная новизна и теоретическая значимость работы

1. С применением оригинальных синтетических подходов впервые получены новые конъюгаты пурина с фрагментом 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина, содержащие в качестве линкера остатки высших ω-аминокислот (с числом метиленовых звеньев более 5).

2. С целью выявления связи «структура–активность» впервые синтезированы конъюгаты пурина – аналоги соединения-лидера, в которых фрагмент 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина заменен на гетероциклические амины (неаннелированные, бензаннелированные, содержащие атомы фтора) или производные адамантана.

3. Впервые получены аналоги выявленных высокоактивных соединений путем введения углеводных и псевдоуглеводных фрагментов в положение *N*⁹ пурина.

4. Показана возможность применения разработанных подходов к синтезу структурных аналогов пурина, что позволило получить новые производные 6,7-диметоксихиназолина и энантиомерно чистые производные 7-дезапурина.

5. Найдены условия анализа энантиомерного и диастереомерного состава полученных соединений методом ВЭЖХ на хиральной неподвижной фазе.

6. Исследована противовирусная (в отношении ВПГ и вируса гриппа; в т.ч. *in vivo*), антибактериальная и противоопухолевая активность полученных соединений, выявлены связи «структура–активность». Установлен механизм противоопухолевого действия высокоактивного конъюгата на основе 11-аминоундекановой кислоты, связанный с ингибированием биосинтеза ДНК.

7. Впервые установлена мишень противогерпетического действия соединения-лидера: его ингибирующее действие обусловлено связыванием с большой субъединицей терминазы ВПГ-1. Также с использованием методов молекулярного моделирования определен возможный сайт связывания соединения-лидера с мишенью.

Практическая значимость работы. Разработаны оригинальные методы синтеза конъюгатов пурина и его аналогов с аминами, содержащих в качестве линкера остатки высших ω-аминокислот. Среди полученных соединений найдены вещества с высокой противовирусной (в отношении ВПГ, в т.ч. в отношении ацикловир-резистентного штамма ВПГ-1 и в опытах *in vivo*; а также в отношении вируса гриппа), антибактериальной (в отношении чувствительного к цефтриаксону штамма *N. gonorrhoeae*) и противоопухолевой активностью, представляющие интерес для создания на их основе новых эффективных препаратов. В ряду синтезированных соединений выявлены связи «структура–активность». Для конъюгата пурина с (*S*)-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином, содержащего остаток 6-аминогексановой кислоты, (соединения-лидера) впервые установлена

мишень его противогерпетического действия (большая субъединица терминазы ВПГ-1), не свойственная известным препаратам, что открывает возможности получения соединений с новым механизмом действия и создания на их основе эффективных лекарственных средств. Разработаны методы получения наиболее активных соединений в мультиграммовых количествах для исследований механизма биологического действия и активности в опытах *in vivo*.

Методология и методы исследования. В работе был использован комплекс современных методов тонкого органического синтеза и анализа энантиомерного и диастереомерного состава хиральных соединений. Строение и чистота полученных соединений доказаны с применением современных физико-химических методов исследования (^1H , ^{19}F , ^{13}C , ^{15}N ЯМР спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения, элементный анализ, поляриметрия, ВЭЖХ, в том числе на хиральных неподвижных фазах). Для анализа полученных соединений было использовано оборудование Центра коллективного пользования «Спектроскопия и анализ органических соединений» (ЦКП САОС) ИОС УрО РАН. Изучение биологической активности проводилось в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (г. Москва), Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (г. Москва), Санкт-Петербургском НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (г. Санкт-Петербург), Уральском НИИ дерматовенерологии и иммунопатологии (г. Екатеринбург), Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва) и Сибирском государственном медицинском университете (г. Томск) в соответствии с общепринятыми методами. Для исследования механизма действия соединения-лидера были привлечены методы молекулярного моделирования (Уфимский институт химии УФИЦ РАН, г. Уфа).

Степень достоверности результатов. В работе были применены современные методы синтеза и анализа органических соединений. Подтверждение строения, анализ чистоты, энантиомерного и диастереомерного состава полученных соединений осуществлялись на сертифицированных и поверенных приборах ЦКП САОС ИОС УрО РАН.

Положения, выносимые на защиту:

1. Методы синтеза конъюгатов пурина и его аналогов с аминами различного строения (в том числе, хиральными), содержащих в качестве линкера остатки высших ω -аминокислот.
2. Методы синтеза аналогов соединения-лидера, содержащих углеводные и псевдоуглеводные остатки в положении N^9 пурина.
3. Методы синтеза производных соединения-лидера, в которых фрагмент пурина

заменен на его аналоги, 6,7-диметоксихиназолин и 7-дезапурин.

4. Методы анализа энантиомерного и диастереомерного состава полученных соединений.

5. Результаты изучения противовирусной, антибактериальной, противоопухолевой активности и установления связей «структура–активность» полученных соединений.

6. Результаты установления мишени противогерпетического действия соединения-лидера и механизма противоопухолевой активности выявленного высокоактивного производного пурина.

Личный вклад соискателя состоял в сборе, систематизации и анализе литературных данных, планировании и проведении синтетических работ, наработке соединений для биологических испытаний, анализе и интерпретации полученных результатов. Автор принимал участие в обработке и обсуждении полученных результатов, подготовке публикаций, представлении результатов на научных конференциях.

Апробация результатов. Материалы работы представлены на 11 всероссийских и международных конференциях: V Всероссийская с международным участием конференция по органической химии (Владикавказ, 10-14 сентября 2018); 2-я Международная (российско-индийская) научно-практическая конференция «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» MOSM 2018 (Екатеринбург, 15–17 ноября 2018); VI Всероссийская конференция с международным участием «Техническая химия. От теории к практике» (Пермь, 20–24 мая 2019), 4-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2019» (Екатеринбург, 9–14 июня 2019), российская конференция «Марковниковские чтения: органическая химия от Марковникова до наших дней» (Красновидово, 17–20 января 2020), Chemistry Conference for Young Scientists «ChemCYS 2020» (Бланкенберге, Бельгия, 19–21 февраля 2020), XXX Российская молодежная научная конференция с международным участием, посвященной 100-летию Уральского федерального университета «Проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Екатеринбург, 6–9 октября 2020), Международная конференция «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (Екатеринбург, 18-21 ноября 2020), 6-й Северо-Кавказский симпозиум по органической химии (Ставрополь, 18–22 апреля 2022), XVII Всероссийская научно-практическая конференция им. А.Ю. Барышникова с международным участием «Новые перспективные противоопухолевые препараты и медицинские технологии: проблемы, достижения, перспективы» (Москва, 20–21 апреля 2023), VII Международная конференция «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» MOSM 2023 (Екатеринбург, Пермь, 10–16 сентября 2023).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты 14-13-01077, 19-13-00231, 19-13-00231-П) и Министерства науки и высшего образования РФ (проекты АААА-А19-119011790134-1, АААА-А19-119011790130-3, 124020200038-6, 124020500023-9, 124020500044-4).

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 7 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК РФ и в международные базы цитирования Scopus и Web of Science, 13 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях, получен 1 патент РФ.

Структура и объем диссертации. Работа общим объемом 167 страниц состоит из введения, трех глав: литературный обзор (глава 1), обсуждение результатов (глава 2), экспериментальная часть (глава 3); заключения, перечня условных обозначений и сокращений и списка литературы. Работа содержит 101 схему, 31 таблицу, 22 рисунка. Библиографический список цитируемой литературы состоит из 164 наименований.

Благодарность. Автор выражает глубокую и искреннюю благодарность коллективу ИОС УрО РАН, в частности, сотрудникам лаборатории асимметрического синтеза: научному руководителю, зав. лаб., д.х.н., проф. В.П. Краснову и в.н.с., д.х.н. Г.Л. Левит за неоценимую помощь в проведении исследований и подготовке работы, н.с., к.х.н. А.А. Тумашову за проведение ВЭЖХ, н.с., к.х.н. В.В. Мусияк, н.с. Т.В. Матвеевой помощь в проведении синтетических работ; сотрудникам лаборатории спектральных методов исследования (зав. лаб. к.х.н. М.И. Кодесс), группе элементного анализа (рук. н.с. И.В. Щур), к.х.н. И.Н. Ганебных за проведение масс-спектрометрии. Автор также благодарит д.б.н., проф. Г.А. Галегова, к.б.н. В.Л. Андронову (Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, г. Москва), д.б.н. А.В. Белявского (Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта, г. Москва), д.б.н. В.В. Зарубаева (Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, г. Санкт-Петербург), д.м.н. Н.П. Евстигнееву, к.м.н. Н.А. Герасимову (Уральский НИИ дерматовенерологии и иммунопатологии, г. Екатеринбург), к.фарм.н. М.А. Барышникову (Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва), к.б.н. А.Г. Першину (Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск) за проведение биологических исследований, д.х.н. С.С. Борисевич (Уфимский институт химии УФИЦ РАН, г. Уфа) за проведение исследований методами молекулярного моделирования.

ГЛАВА 1 Высшие ω -аминокислоты: синтез, биологическая активность, использование для изучения связи «структура–активность» (аналитический обзор литературы)

При создании новых биоактивных соединений часто используют подход, заключающийся в структурной модификации исходных соединений путем введения различных линкерных фрагментов. ω -Аминокислоты (ω -аминоалкановые кислоты) являются удобными структурами для применения их в качестве таких линкеров.

ω -Аминокислоты по длине алкильного фрагмента $-(\text{CH}_2)_n-$ можно условно разделить на низшие ($n < 5$) и высшие ($n \geq 5$). Низшие ω -аминокислоты, такие как глицин, β -аланин, γ -аминомасляная кислота и их производные играют исключительно важную роль в метаболизме живых организмов, поэтому имеется огромное количество литературы, посвященной их синтезу и свойствам.

Высшие ω -аминокислоты и их производные изучены значительно меньше, однако в связи с тем, что данные соединения все шире используются в качестве удобных линкеров при изучении связи «структура–биологическая активность», представляло интерес обобщить как методы синтеза таких соединений, так и возможности их использования для модификации химической структуры с целью увеличения активности потенциальных лекарственных веществ. Этому посвящен настоящий обзор.

1.1 Методы синтеза высших ω -аминокислот

Одним из наиболее распространенных подходов к синтезу ω -аминокислот является получение их из циклических кетонов и их производных. Авторы [14] разработали метод получения 10-аминодекановой кислоты исходя из циклодеканона **1**, который превращали в лактам циклодеканона **2** в результате перегруппировки Курциуса и последующего гидролиза (схема 1.1).

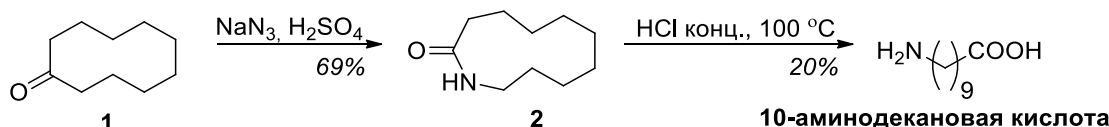


Схема 1.1 – Синтез 10-аминодекановой кислоты

Другой подход к получению ω -аминокислот (7-аминогептановой, 8-аминооктановой, 9-аминононановой, 10-аминодекановой, 11-аминоундекановой, 12-аминододекановой и 13-аминотридекановой кислот) заключался в проведении последовательных реакций: оксимы циклоалканонов **3a-g** подвергали действию бензолсульфохлорида, полученные

лактимсульфонаты **4a-g** конденсировали с морфолинциклогексеном, далее продукты **6a-g** гидролизовали в 50%-ном растворе уксусной кислоты, расщепляли при действии гидроксида натрия и подвергали восстановлению гидразингидратом по Кижнеру-Вольфу (схема 1.2) [15].

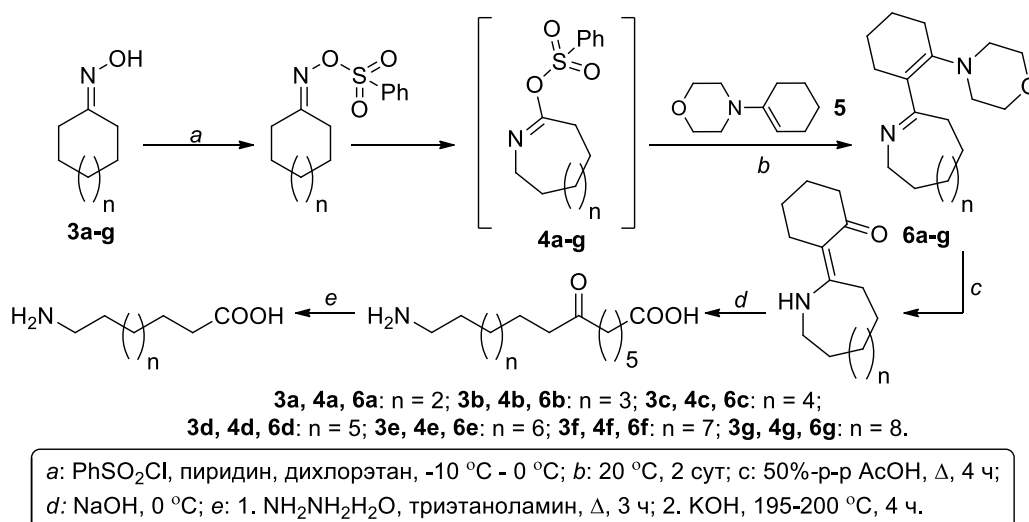


Схема 1.2 – Синтез ω-аминокислот из оксимов циклоалканонов **3a-g**

Предложен подход к получению 9-аминононановой кислоты из доступного циклогексанона **7** (схема 1.3) [16]. Циклогексанон **7** подвергали α-алкилированию акрилонитрилом в присутствии циклогексиламина/уксусной кислоты в качестве каталитической смеси. При действии циклогексанпероксикарбоновой кислоты (ЦГПКК) на кетон **8** происходила перегруппировка Байера-Виллигера, в результате которой получали лактон **9**. При нагреве до 550–600 °C лактон размыкался с получением мононенасыщенной цианкарбоновой кислоты **10**. В результате двух последующих реакций было проведено гидрирование двойной связи и восстановление нитрила до 9-аминононановой кислоты.

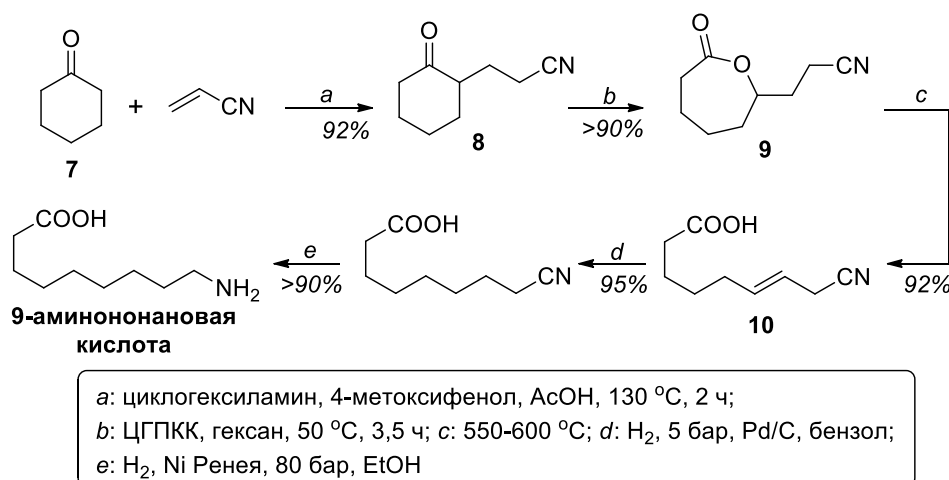


Схема 1.3 – Синтез 9-аминононановой кислоты из циклогексанона

Известен ряд подходов к синтезу ω-аминокислот исходя из жирных кислот. В патенте [17] описан синтез 9-аминононановой кислоты из олеиновой кислоты, которая содержится в

виде сложных эфиров во многих растительных и животных жирах (схема 1.4). Олеиновую кислоту подвергли воздействию озона, в результате чего был получен соответствующий озонид, который разлагали с образованием двух альдегидов **11** и **12**, при действии аммиака на альдегидокислоту **11** получили 9-аминононановую кислоту. Этот подход также позволил получить 10-аминодекановую кислоту из ундециленовой кислоты и 13-аминотридекановую кислоту из эруковой кислоты.

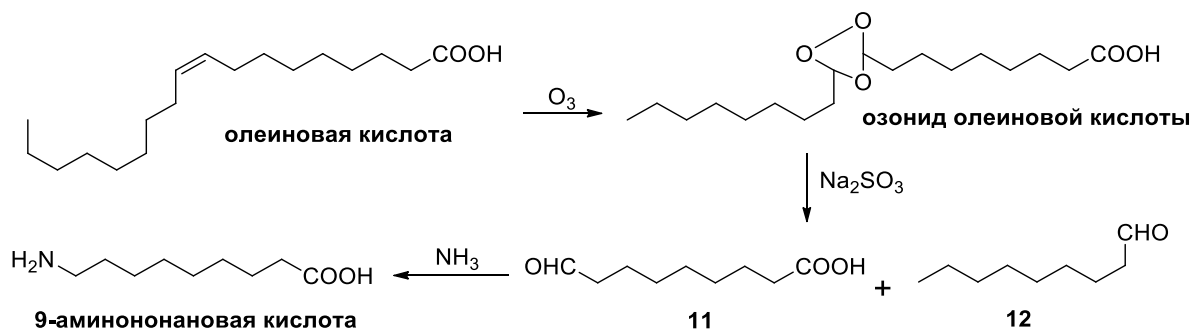


Схема 1.4 – Синтез 9-аминононановой кислоты из олеиновой кислоты

9-Аминононановую кислоту можно также получить из других кислот: элаидиновой (**13**), миристолеиновой (**14**) и пальмитолеиновой (**15**) (схема 1.5) [18]. Все эти соединения являются либо гомологами (**14**, **15**) вышеупомянутой олеиновой кислоты, либо ее *транс*-изомером (**13**). При взаимодействии с этиленом в присутствии катализатора Граббса второго поколения происходит метатезис с образованием двух ненасыщенных фрагментов, из которых нужным является только ненасыщенная кислота **16**. Далее при действии аммиака образуется ω -ненасыщенный нитрил **17**, который при обработке озоном и последующем восстановлении был превращен в целевую 9-аминононановую кислоту.

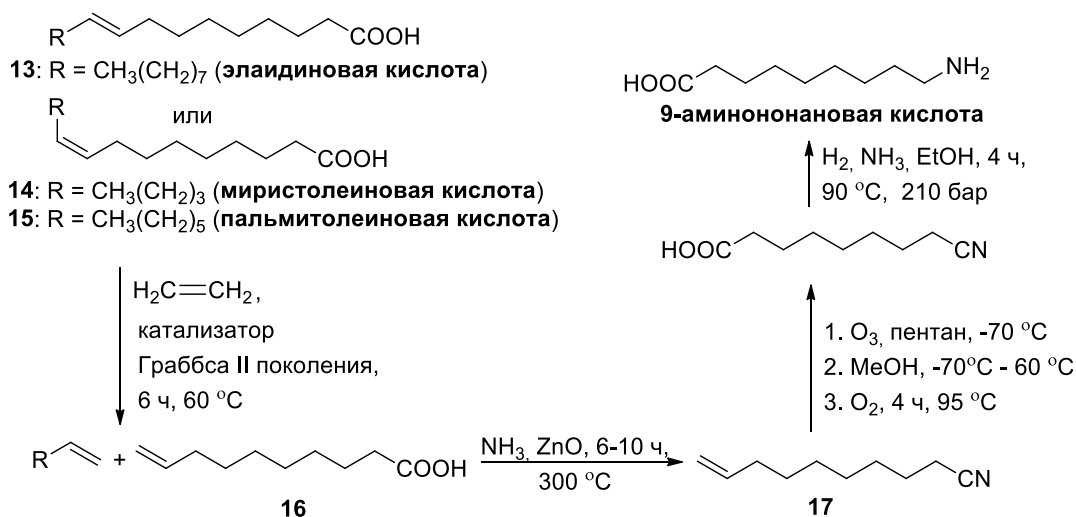


Схема 1.5 – Синтез 9-аминононановой кислоты из элаидиновой (**13**), миристолеиновой (**14**) и пальмитолеиновой (**15**) кислот

В этой работе также описан второй способ получения ω -аминокислот (схема 1.6). В качестве исходных соединений использовали эфиры рицинолевой (**18**) и лескероловой (**19**)

кислот. Триглицериды рицинолевой кислоты являются основным компонентом касторового масла. Его получают из растения *Ricinus communis*. Лескероловая кислота содержится в масле семян растения *Lesquerella lasiocarpa*. Схема синтеза аналогична вышеописанной. Были получены 11-аминоундекановая и 13-аминотридекановая кислоты.

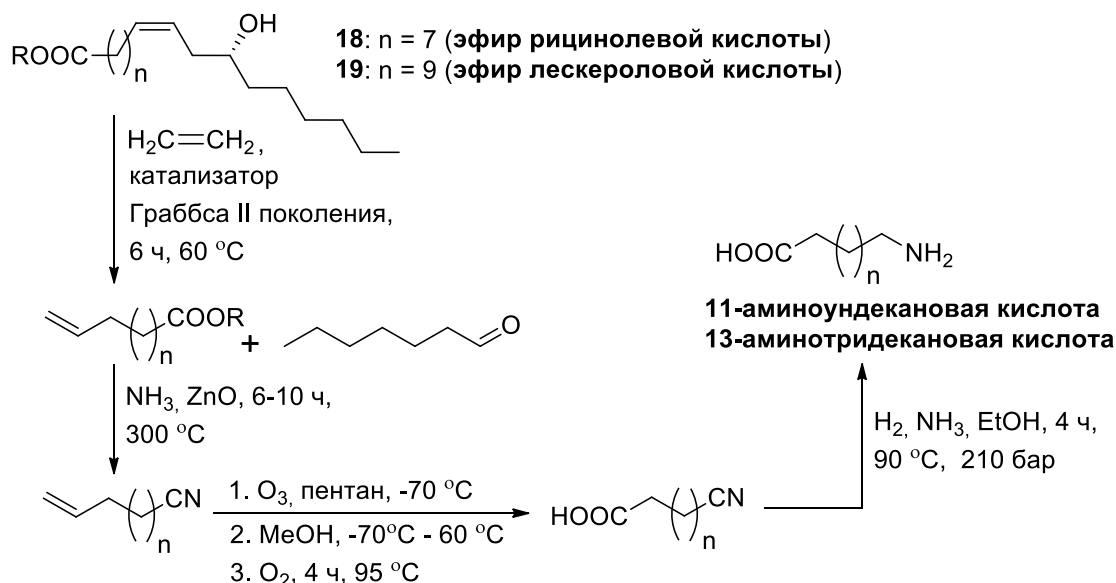


Схема 1.6 – Синтез 11-аминоундекановой и 13-аминотридекановой кислот из эфиров рицинолевой и лескероловой кислот

Вернолевая кислота – это длинноцепочечная мононенасыщенная жирная кислота, находящаяся в семенах растения *Vernonia galamensis*. В структуре содержится эпоксидный фрагмент, используя который можно получить 11-аминоундекановую и 12-аминододекановую кислоты (схема 1.7) [19]. Согласно предложенному методу вернолевая кислота подвергается восстановлению двойной связи в присутствии платины на угле до 12,13-эпоксистеариновой кислоты. Продукт окисляли иодной кислотой до 12-оксодекановой кислоты, затем действовали гидроксиламином с получением оксима 12-оксододекановой кислоты **20**, который стал исходным соединением в синтезе 11-аминоундекановой и 12-аминододекановой кислот.

Для получения 12-аминододекановой кислоты оксим **20** восстанавливали водородом в присутствии оксида платины, что позволило получить требуемый продукт.

11-Аминоундекановая кислота была получена в результате следующих реакций (схема 1.7): перегруппировки Бекмана в результате действия ацетата никеля в *n*-ксилоле, перегруппировки Гофмана при действии брома, метоксида натрия в метаноле и гидролиза с получением целевой 11-аминоундекановой кислоты.

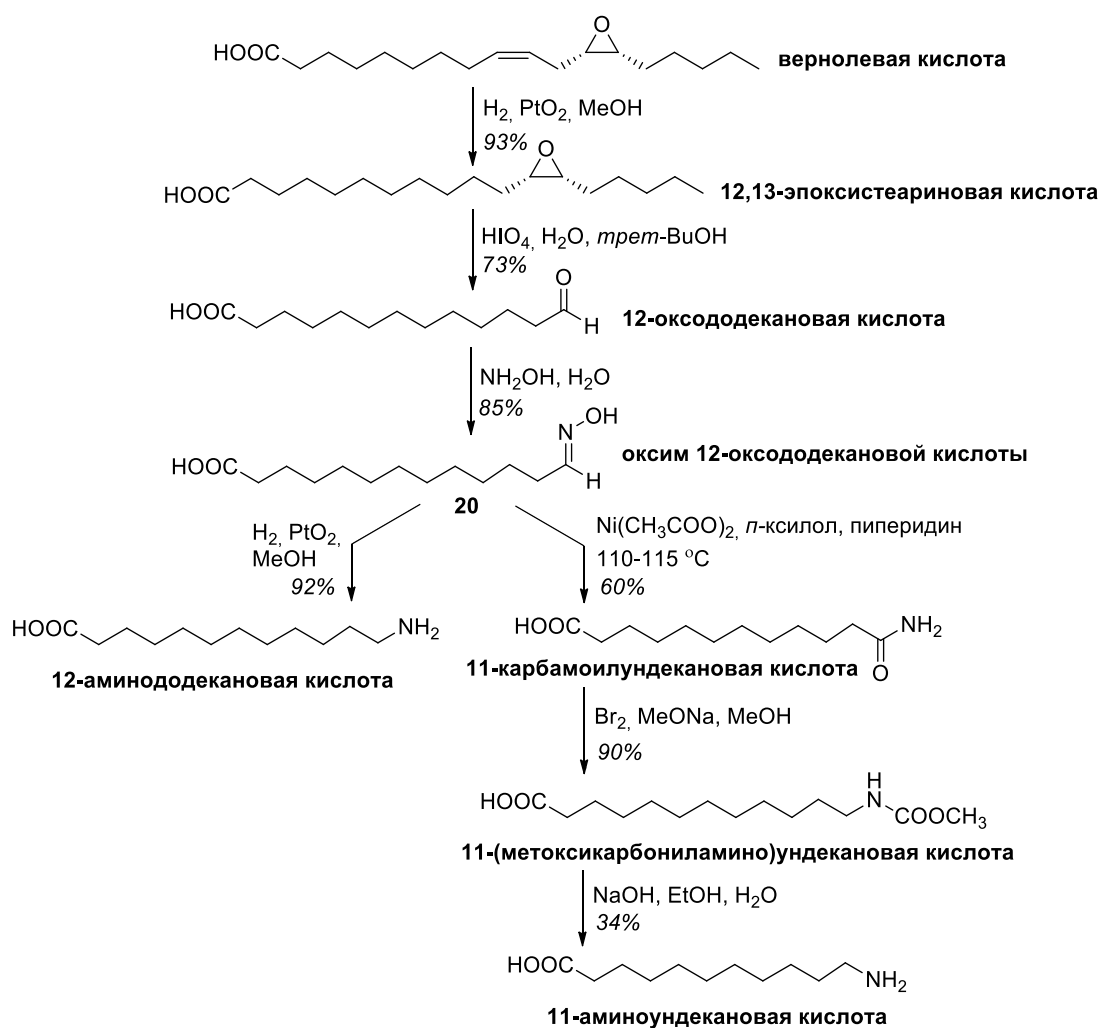


Схема 1.7 – Синтез 12-аминододекановой и 11-аминоундекановой кислот из вернолевой кислоты

Оксиметилфурфурол является продуктом разложения сахаров и может быть выделен из биомассы. При действии на него угарным газом образуется карбоксилпроизводное **21**, которое затем превращали в фурансодержащую аминокислоту **22** (схема 1.8). Действие палладия на силикагеле в уксусной кислоте привело к получению 7-аминогептановой кислоты [20].

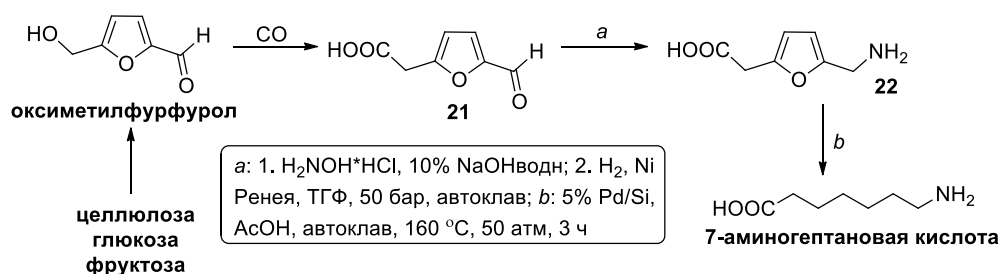


Схема 1.8 – Синтез 7-аминогептановой кислоты из оксиметилфурфурола

Для получения ω -аминокислот можно использовать доступные бромпроизводные карбоновых кислот, в частности, 9-бромнонановую кислоту. Авторами патента [21] предложен двухстадийный метод (схема 1.9), заключающийся в получении азида карбоновой

кислоты **23** при действии азидата натрия в ДМФА и последующего восстановления азидата до первичного амина водородом в присутствии катализатора Линдлара.

Удобный одностадийный подход предложен в патенте [22] (схема 1.9). Он заключается в обработке 9-бромнонановой кислоты водным раствором аммиака с образованием 9-аминононановой кислоты с количественным выходом.

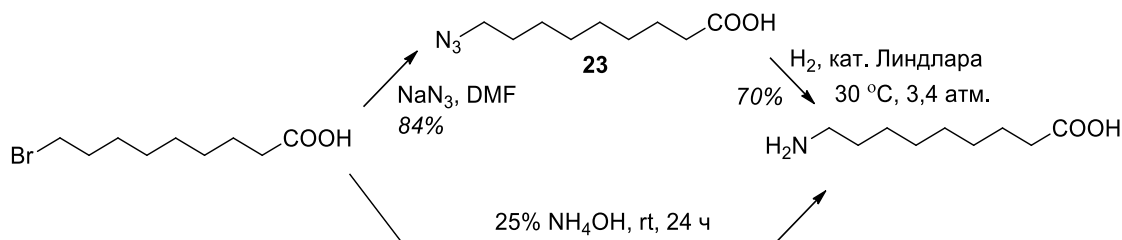


Схема 1.9 – Синтез 9-аминононановой кислоты из 9-бромнонановой кислоты

Авторами работы [23] предложен метод получения 12-аминододекановой кислоты, заключающийся в фотоиндуцированном восстановлении ω -нитрододекановой кислоты **24** с использованием диоксида титана (минерала анатаза, который является одной из трех природных полиморфных модификаций диоксида титана) (схема 1.10).

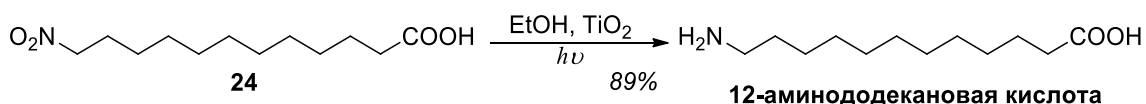


Схема 1.10 – Фотоиндуцируемое восстановление ω -нитрододекановой кислоты **24** до 12-аминододекановой кислоты

Еще один подход к синтезу ω -аминокислот заключается в действии различных ферментов, которые последовательно и селективно преобразуют доступные исходные соединения в целевые продукты.

12-Гидроксистеариновую кислоту **25** превращали в смесь ω -гидроксиундекановой **26** и *n*-гептановой кислот **27** в результате реакций в присутствии ферментов алкогольдегидрогеназы, монооксигеназы Байера-Виллигера и эстеразы. Далее гидроксилсодержащую кислоту **27** восстанавливали алкогольдегидрогеназой до соответствующего альдегида **28**, который, в свою очередь, преобразовали в целевую 11-аминоундекановую кислоту в присутствии трансминазы (схема 1.11) [24].

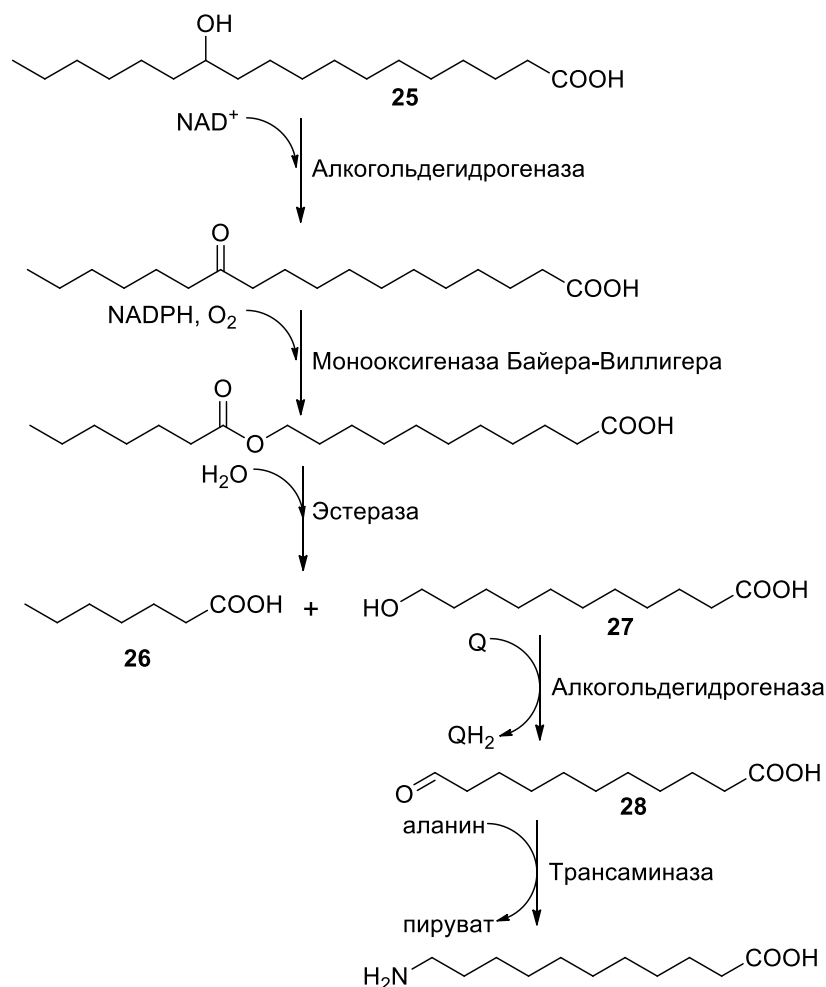


Схема 1.11 – Ферментативный синтез 11-аминоундекановой кислоты из 12-гидроксистеариновой кислоты (25)

Это исследование демонстрирует, что синтетически значимые строительные блоки могут быть получены из доступных жирных кислот с использованием биокатализа.

Внутриклеточный синтез соединений в виде двух параллельных цепочек реакций с использованием каскада ферментов на данный момент является сложной, но перспективной задачей. Авторы [25] разработали внутриклеточную систему, в которой происходят два параллельных каскада реакций, а именно, преобразование ω -гидроксисодержащих жирных кислот в ω -аминокислоты, а также превращение бензиламина в бензиловый спирт. Бензиламин служит в качестве донора амина и окислителя после дезаминирования. Для работы системы потребовалось всего два фермента, альдегидредуктаза (AR) и трансаминаза (TA) (схема 1.12).

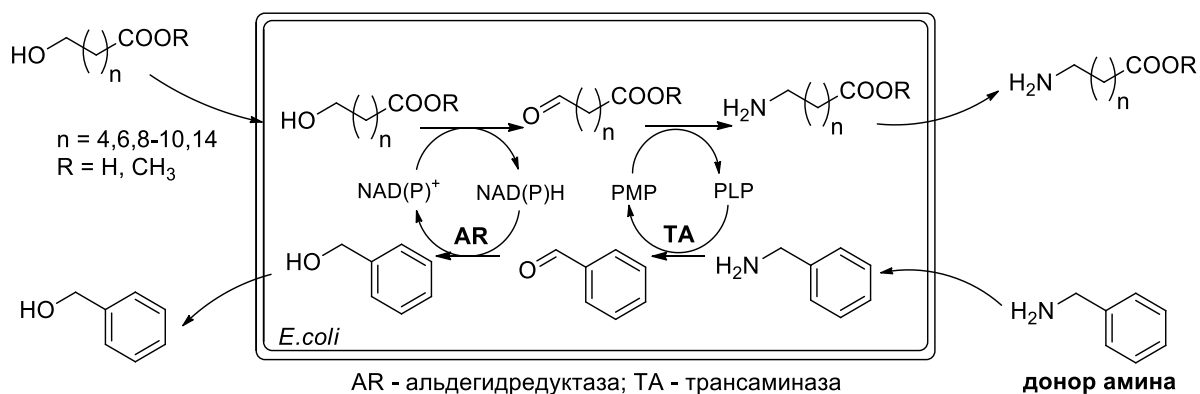


Схема 1.12 – Внутриклеточный синтез ряда ω -аминокислот из соответствующих ω -гидроксисодержащих жирных кислот

Следует подчеркнуть, что таким образом может быть получен целый ряд ω -аминокислот, включая 6-аминогексановую, 8-аминооктановую, 10-аминодекановую, 11-аминоундекановую, 12-аминододекановую, 16-аминогексадекановую кислоты.

Таким образом, в настоящее время предложен ряд как синтетических, так и хемо-энзиматических подходов к получению высших ω -аминокислот, что позволяет рассматривать эти соединения в качестве достаточно доступных исходных реагентов для создания на их основе новых биологически активных веществ.

1.2 Биологическая активность высших ω -аминокислот

Установлено, что некоторые ω -аминокислоты обладают биологической активностью.

Гликозилтрансферазы – это обширное семейство ферментов, которые ответственны за сборку моносахаридных фрагментов в линейные или разветвленные цепочки гликанов. К гликозилтрансферазам относятся маннозил-гликопротеин-*N*-ацетил-глюкозаминил-трансферазы (mGAT). Было показано, что гликозилтрансферазы mGAT3, mGAT4B, mGAT5A, mGAT5B влияют на развитие опухоли и метастазирование [26]. Нарушения синтеза гликанов связаны с онкогенезом, клеточным ростом, ингибированием апоптоза, адгезией клеток, инвазивностью и метастазированием опухолевых клеток [27]. Установлено, что 7-аминогептановая кислота проявляет высокую ингибирующую активность в отношении ферментов mGAT1–mGAT4 [28], что позволяет ее рассматривать в качестве перспективного противоопухолевого агента.

Некоторые гидрофильные нутриенты и лекарственные средства транспортируются специальными транспортными системами. Переносчики пептидов PEPT1 и PEPT2 принимают в качестве субстрата как внутренние малые пептиды, так и фармакологически активные соединения, схожие по строению с пептидами (например, β -лактамы

антибиотики), а также непептидные лекарственные соединения (например, валацикловир [29]). Исследования переносчиков тех или иных соединений (в частности, лекарственных веществ) позволяют понять и улучшить их биологическую доступность. Показано, что 8-аминооктановая кислота проявляет невысокое сродство к переносчику пептидов PEPT1 (3100 μM) [30].

Было показано, что 11-аминоундекановая кислота проявляет токсичность в отношении мочевыводящих путей как самцов, так и самок мышей и крыс [31]. Дозозависимые эффекты вызывали снижение средней прибавки массы тела и выживаемости, показали повышенную частоту гиперплазии переходного эпителия почки и мочевого пузыря. Карциномы мочевого пузыря чаще встречались в группе, получавшей высокие дозы 11-аминоундекановой кислоты. Также обнаружено повышение частоты появления неопластических узлов в печени и карцином в мочевом пузыре [31].

В результате исследований было показано, что 14-аминотетрадекановая кислота, выделенная из водного экстракта корней *D. hamiltonii*, обладает антиоксидантной активностью и снижает цитотоксичность ксенобиотиков [32].

1.3 Использование ω -аминокислот для структурной модификации биологически активных соединений и изучения связи «структура–активность»

ω -Аминокислоты представляют интерес ввиду возможности варьирования их длины, что позволяет рассматривать их в качестве удобных линкеров между двумя элементами молекулы, а также самостоятельного структурного фрагмента, способного определять биологическую активность. Изменение длины ω -аминокислотного остатка может приводить к получению целого ряда перспективных агентов, что позволяет определить оптимальную длину и изучить связь «структура–активность».

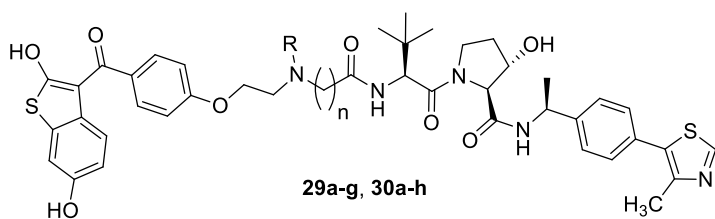
В этом разделе приведены группы биологически активных веществ, описаны подходы к их синтезу и биологическая активность, выявлены некоторые зависимости связи «структура–активность» в каждой группе соединений.

1.3.1 Противоопухолевая активность производных ω -аминоалкановых кислот

Рецептор эстрогена (ER) играет важную роль в патогенезе ER-позитивного рака молочной железы (ER⁺, гормонозависимый РМЖ) и является известной мишенью для его терапии [33]. Синтезирована серия соединений **29a-g**, **30a-g** – аналогов ингибитора эстрогеновых рецепторов в клетках РМЖ ERD-148 (**29e**, таблица 1.1) с длиной линкера от 3

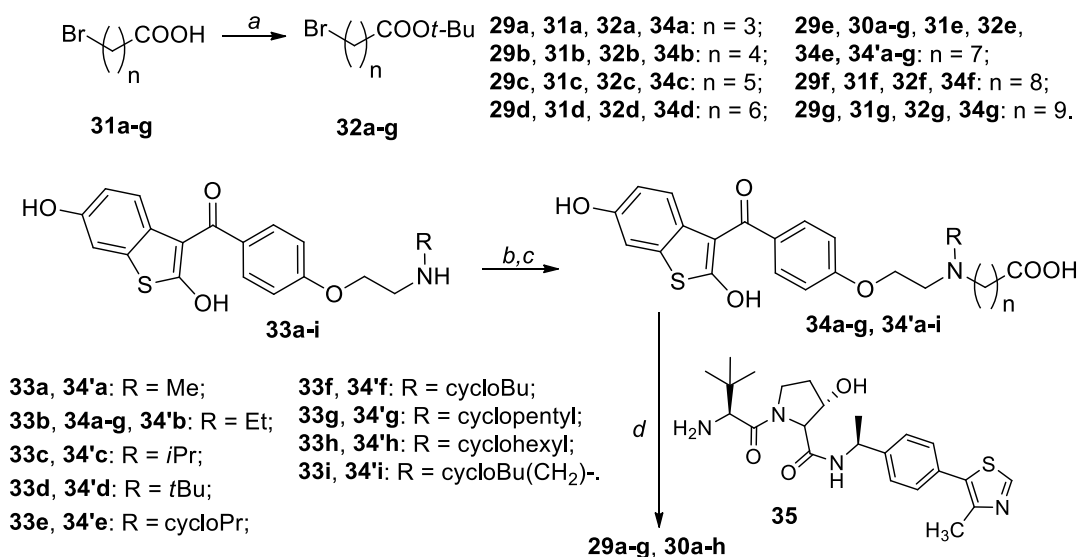
до 9 CH₂-групп [34].

Таблица 1.1 – Аналоги ERD-148 **29a-g**, **30a-h**



Соединение	n	R	Соединение	n	R
29a	3	Et	30a	7	Me
29b	4		30b		<i>i</i> -Pr
29c	5		30c		<i>t</i> -Bu
29d	6		30d		циклопропил
29e , ERD-148	7		30e		циклобутил
29f	8		30f		циклопентил
29g	9		30g		циклогексил
			30h		циклобутилметил

В качестве исходных соединений использовали коммерчески доступные ω-бромкислоты **31a-g** (схема 1.13), которые превращали в соответствующие *tert*-бутиловые эфиры бромкислот **32a-g**. Интермедиат **33** вводили в реакцию с эфирами **32a-g** в присутствии основания и затем удаляли защитную группу. Целевые продукты получали в результате конденсации кислот **34a-g**, **34'a-h** и амина **35** при действии NATU (*O*-(7-азабензотриазол-1-ил)-*N,N,N',N'*-тетраметилуруния гексафторфосфата) в присутствии DIPEA (*N,N*-диизопропилэтиламина) в ДМФА.



a: (F₃CCO)₂O, *t*-BuOH, CH₂Cl₂, от 0 °C до rt; b: **32a-g**, DIPEA, ДМФА, 80 °C, 12 ч;
c: F₃CCOOH, CH₂Cl₂, от 0 °C до rt; d: NATU, DIPEA, ДМФА, rt, 12 ч.

Схема 1.13 – Синтез аналогов ERD-148 **29a-g**, **30a-h**

Была проведена оценка способности этих соединений индуцировать деградацию ER в клетках MCF-7 в концентрациях 1, 10 и 100 нМ. Данные вестерн-блоттинга показали, что

соединения **29a** и **29b** с длиной линкера $n = 3$ и 4 не вызывают деградацию ER, в то время как соединения **29c-g** с длиной линкера $n = 5 \div 9$ очень эффективны при низкой концентрации 1 нМ. ERD-148 (**29e**) продемонстрировал бóльшую эффективность, чем аналоги **29a-g**. Также авторы провели модификацию соединения-лидера **29e** путем замены этильного фрагмента на другие алкильные остатки (соединения **30a-g**). На основании данных вестерн-блоттинга этих соединений в концентрации 10 нМ было показано, что производное **30e** с циклобутильной группой является наиболее сильным деструктором ER и превосходит активность соединения-лидера **29e** (ERD-148).

Синтезирован ряд производных D- и L-тирозина и хлорамбуцила **L-36a,b**, **L-37a,b**, **D-36a,b**, **D-37a,b** (схема 1.14) в качестве перспективных противоопухолевых препаратов для химиотерапии РМЖ [35].

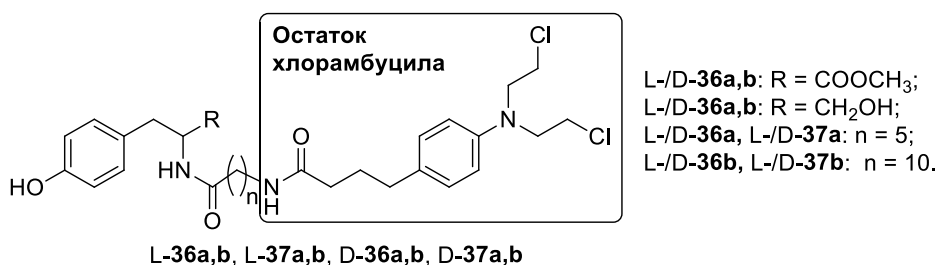


Схема 1.14 – Производные хлорамбуцила **L-36a,b**, **L-37a,b**, **D-36a,b**, **D-37a,b**

Соединения были получены с помощью двух подходов (схема 1.15). В первом, ω-аминокислоты защищали с использованием Boc-ON (2-(трет-бутоксикарбонилоксиимино)-2-фенилацетонитрила), получая N-Boc-аминокислоты **38a,b** с выходом 97%. Защищенные производные **38a,b** конденсировали с метиловым эфиром тирозина под действием DCC (*N,N'*-дициклогексилкарбодиимида) и HOBT (1-гидроксибензотриазола) в ДМФА. Удаление защитной группы трифторуксусной кислотой проводили в дихлорметане, полученные амины вводили в реакцию с хлорамбуцилом в присутствии DCC и HOBT в ДМФА. Полученные метиловые эфиры **L-36a,b** и **D-36a,b** восстанавливали до спиртов **L-37a,b** и **D-37a,b**. Второй подход заключался в введении защитной группы с использованием гексаметилдисилазана (HMDS), триметилсилилхлорида (TMSCl) и каталитических количеств H₂SO₄, последующей конденсации с хлорамбуцилом карбодиимидным методом в присутствии DCC и HOBT в ДМФА, взаимодействии с метиловым эфиром тирозина в аналогичных условиях и восстановлении до соответствующих спиртов **L-37a,b** и **D-37a,b**.

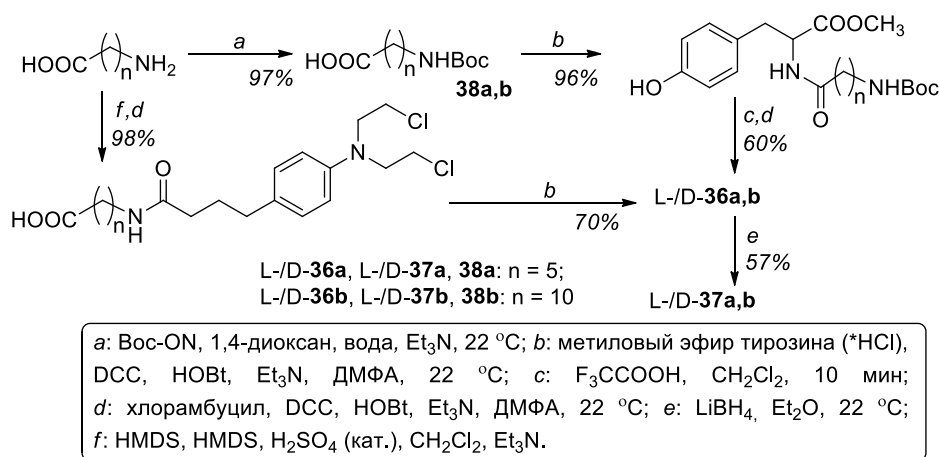


Схема 1.15 – Синтез производных хлорамбуцила L-36a,b, L-37a,b, D-36a,b, D-37a,b

Согласно руководству по проведению доклинических исследований [36], соединение нового класса считается цитотоксически активным при $ID_{50} \leq 10^{-4}$ М. Показано, что новые производные хлорамбуцила эффективны в отношении различных гормонозависимых и гормононезависимых (ER^+ и ER^-) клеточных линий РМЖ, причем эта активность в большинстве случаев выше, чем у хлорамбуцила (таблица 1.2). Исходя из исследования связи «структура–активность» можно увидеть особое значение и длины ω -аминокислотного линкера, и стереохимии тирозинового фрагмента.

Таблица 1.2 – Противоопухолевая активность производных хлорамбуцила L-36a,b, L-37a,b, D-36a,b, D-37a,b в отношении гормонозависимых и гормононезависимых (ER^+ и ER^-) клеточных линий РМЖ

Конфигурация	Соединение	R	n	ID ₅₀ , MCF-7 (ER^+), μ M	ID ₅₀ , MDA-MB-231 (ER^-), μ M
L	L-36a	COOCH ₃	5	25,43	36,81
	L-36b		10	67,90	не достигалась
	L-37a	CH ₂ OH	5	62,16	55,09
	L-37b		10	19,39	не достигалась
D	D-36a	COOCH ₃	5	152,37	не достигалась
	D-36b		10	не достигалась	не достигалась
	D-37a	CH ₂ OH	5	66,98	не достигалась
	D-37b		10	16,27	не достигалась
-	хлорамбуцил	-	-	130,36	136,85

MCF-7 (ER^+) – клеточная линия РМЖ, экспрессирующая рецепторы эстрогена и прогестерона
MDA-MB-231 (ER^-) – клеточная линия РМЖ, не экспрессирующая рецепторы эстрогена и прогестерона

Производные L-тирозина-хлорамбуцила в большинстве случаев более активны (L-36a,b, L-37a), чем D-аналоги. Противоопухолевая активность зависела одновременно как от длины линкера, так и от заместителя в модифицированном остатке тирозина (COOCH₃ или CH₂OH): для производных с фрагментом метилового эфира требуется уменьшение длины линкера, а для гидроксипроизводных, напротив, удлинение цепи. Судя по всему, так

достигается оптимальная водорастворимость.

Особо важным результатом можно считать обнаружение селективности в отношении гормонозависимого РМЖ (клеточная линия MCF-7 ER⁺) у производных L-37b и D-37b, содержащих остаток 11-аминоундекановой кислоты.

Синтезирован ряд циклических пептидных соединений **39a-c**, **40a-c**, **41a-c**, **42a,b**, которые ингибируют рост мелкоклеточного рака легких (таблица 1.3) [37]. Данные пептиды содержат в своей структуре фрагменты ω -аминокислот различной длины.

Таблица 1.3 – Противоопухолевая активность циклических пептидов **39a-c**, **40a-c**, **41a-c**, **42a,b** на клеточной линии мелкоклеточного рака легких SHP-77

Соединение	Структурная формула	ИД ₅₀ , мкМ
39a	c[DArg-Arg-C6-F5F-Oic-Arg]	45
39b	c[DArg-Arg-C11-F5F-Oic-Arg]	9,2
39c	c[DArg-Arg-C12-F5F-Oic-Arg]	5,5
40a	c[DArg-Arg-C6-Ser-F5F-Oic-Arg]	2,2
40b	c[DArg-Arg-C11-Ser-F5F-Oic-Arg]	22,5
40c	c[DArg-Arg-C12-Ser-F5F-Oic-Arg]	11
41a	c[DArg-Arg-C6-Igl-PFF-Arg]	65
41b	c[DArg-Arg-C11-Igl-PFF-Arg]	1,4
41c	c[DArg-Arg-C12-Igl-PFF-Arg]	4,5
42a	c[DArg-Arg-C5-Ser-Igl-PFF-Arg]	30
42b	c[DArg-Arg-C6-Ser-Igl-PFF-Arg]	4,5

F5c – 2,3,4,5,6-пентафторциннамоил

DArg – D-аргинил

Igl – α -2-инданилглицил

Oic – октагидроиндол-2-карбоновая кислота

C5 – 5-аминопентановая кислота

C6 – 6-аминогексановая кислота

C11 – 11-аминоундекановая кислота

C12 – 12-аминододекановая кислота

F5F – пентафтор-D-фенилаланил

PFF – *para*-фторфенилаланил

В первой группе соединений **39a-c** и **40a-c**, содержащих элемент F5F-Oic-Arg (пентафторфенилаланил-октагидроиндол-2-карбонил-L-аргинил), противоопухолевая активность существенно меняется при введении остатка серина (таблица 1.3): наиболее активным соединением в ряду **39a-c** является производное **39c** с наибольшей длиной линкера, фрагментом 12-аминододекановой кислоты, а в случае серинсодержащих **40a-c** – наименьшей (**40a**).

Во второй группе соединений с элементом Igl-PFF-Arg (α -2-инданилглицил-*para*-фторфенилаланил-L-аргинил) при введении остатка серина в пептид **41a** противоопухолевая активность увеличивается в 14,4 раза (серинсодержащий пептид **42b**).

Работа [38] также посвящена исследованию противоопухолевых циклических пептидов. Катепсин D (CatD), аспарагиновая протеаза семейства пепсинов, играет важную роль в прогрессировании и метастазировании опухоли [39]. Авторы сообщили о разработке биомиметических ингибиторов CatD в качестве новых инструментов для регуляции этой терапевтической мишени. В основе структуры заложен макроциклический каркас для

имитации пространственной конформации элемента связывания пепстатина А, микробного олигопептидного ингибитора катепсина D, в активном центре CatD. В частности, был получен ряд циклических соединений **43a-e**, содержащих фрагменты высших ω-аминоалкановых кислот (схема 1.16).

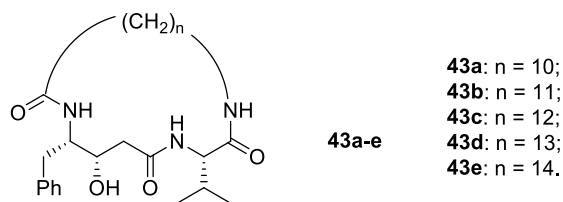


Схема 1.16 – Циклические пептиды **43a-e**, активные в отношении CatD

Синтез производного 12-аминододекановой кислоты **43b** (схема 1.17) включал конденсацию *N*-Вос-валина **44** с метиловым эфиром 12-аминододекановой кислоты в присутствии HBTU (*O*-(бензотриазол-1-ил)-*N,N,N',N'*-тетраметилуруний гексафторфосфат) и DIPEA в ДМФА. Полученный пептид обрабатывали трифторуксусной кислотой для удаления *N*-Вос-группы. Амин **45** вводили в реакцию с *N*-Вос-статином (**46**, (3*R*,4*S*)-*N*-трет-бутилоксикарбонилстатин) в присутствии HBTU и DIPEA в ДМФА, затем проводили гидролиз сложноэфирной группы LiOH. Целевой циклический эфир **43b** получен в результате последовательных реакций: образования *N*-гидроксисукцинимидилэфира при действии TSTU (*N,N,N',N'*-тетраметил-*O*-(*N*-сукцинимидил)уруния тетрафторбората) в присутствии DIPEA в ДМФА, удаления защитной *N*-Вос-группы и циклизации при медленном добавлении раствора DIPEA в ДМФА.

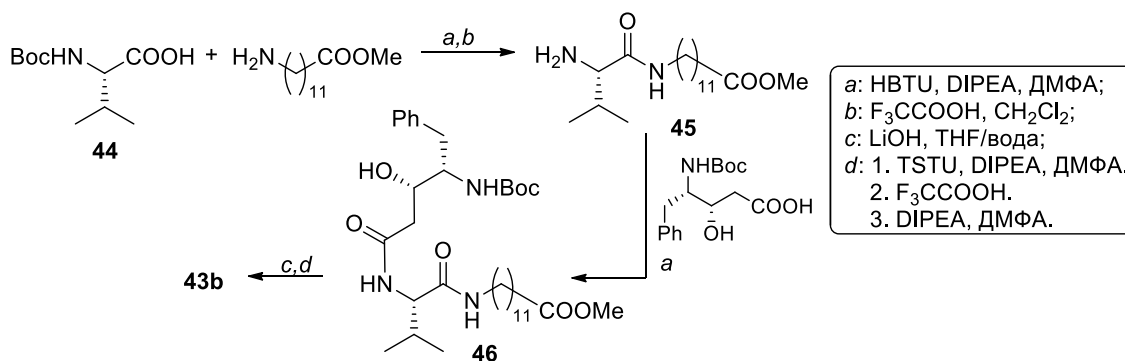


Схема 1.17 – Синтез циклического пептида **43b**

Наиболее активными оказались производные 12-аминододекановой и 13-амино-тридекановой кислот (таблица 1.4).

Таблица 1.4 – Ингибирующая активность циклических пептидов **43a-e** в отношении CatD

Соединение	n	ИД ₅₀ , нМ
43a	10	40
43b	11	5,8
43c	12	3,5
43d	13	11
43e	14	32

Простатспецифический мембранный антиген (PSMA, глутаматкарбоксипептидаза II) считается перспективной молекулярной мишенью для разработки радиофармацевтических препаратов с целью визуализации и лечения метастатического рака предстательной железы (РПЖ) [40]. Разработан ряд ренийсодержащих комплексов общей структуры Glu-мочевина-Lys-CIM/TIM **47a-d** (схема 1.18) [41]. Соединения модифицированы остатками 6-аминогексановой и 11-аминоундекановой кислоты, в качестве лигандов содержат CIM- и TIM-фрагменты: бис-((1-(карбоксиметил)-1*H*-имидазол-2-ил)метил)амин и бис-((1-(2-(бискарбоксиметил)амино)-2-оксоэтил)-1*H*-имидазол-2-ил)метил)амин соответственно.

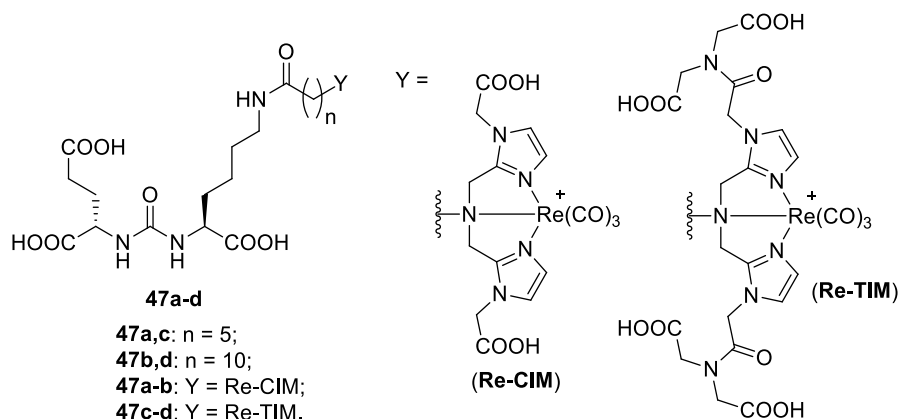


Схема 1.18 – Комплексы рения **47a-d** общей структуры Glu-мочевина-Lys-CIM/TIM

Интермедиаты **49a,b** были получены в результате реакции имидазол-2-карбоксальдегида **48a,b** с 6-аминогексановой или 11-аминоундекановой кислотами через образование оснований Шиффа *in situ* и их восстановления триацетоксиборгидридом натрия (STAB) (схема 1.19). Мочевину **50** вводили в реакцию конденсации с замещенными ω -аминокислотами **49a,b** в стандартных условиях (HATU, TЭА или EDC, HOBT, DIPEA). Целевые рениевые комплексы синтезированы с использованием трикарбонильного прекурсора $[\text{NEt}_4]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ и последующего удаления защитных групп трифторуксусной кислотой.

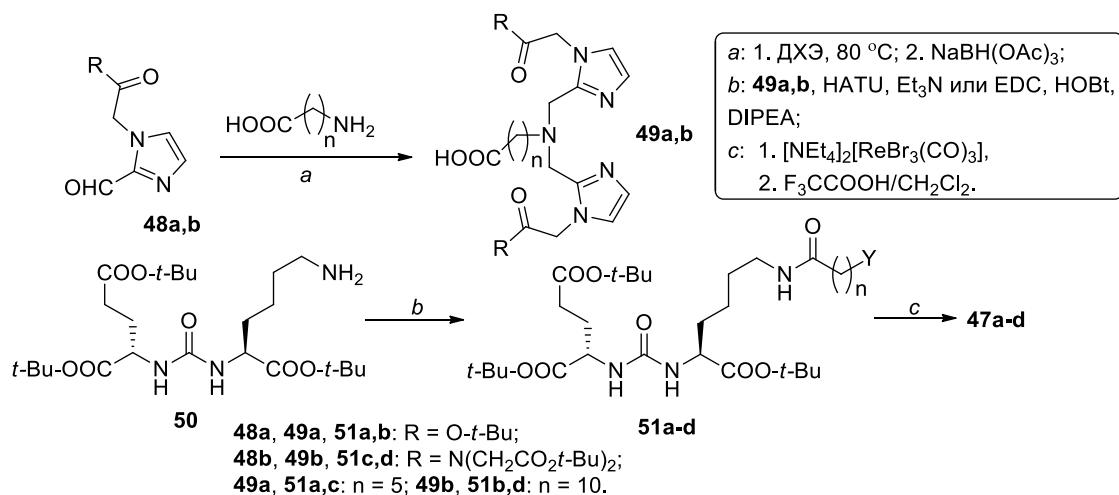


Схема 1.19 – Синтез комплексов рения **47a-d**

В случае Re-CIM-комплексов **47a,b** увеличение длины линкера приводило к небольшому снижению противоопухолевой активности в отношении PSMA-экспрессирующих клеток РПЖ LNCaP; в случае Re-TIM-комплексов **47c-d** наблюдалась обратная ситуация (таблица 1.5). В целом, Re-TIM-комплексы обладали большей активностью.

Таблица 1.5 – Противоопухолевая активность ренийсодержащих соединений **47a-d**

Соединение	n	Y	ИД ₅₀ , LNCaP, нМ
47a	5	Re-CIM	15
47b	10	Re-CIM	21
47c	5	Re-TIM	6,4
47d	10	Re-TIM	4,4

LNCaP – клеточная линия PSMA-экспрессирующего РПЖ

С целью изучения активности в отношении клеточных линий опухолей системы кроветворения получен большой ряд соединений **52a-f** и **53a-d** [42]. Соединения содержат в своей структуре остатки противомиеломного препарата помалидомида (**52a-f**) и его аналога (**53a-d**). Ряд производных получен в результате конденсации дизамещенного пиперидина **54** и ω-аминокислот **55a-h** под действием EDC (1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида), HOAt (1-гидрокси-7-азабензотриазола) в ДМСО в присутствии *N*-метилморфолина (схема 1.20).

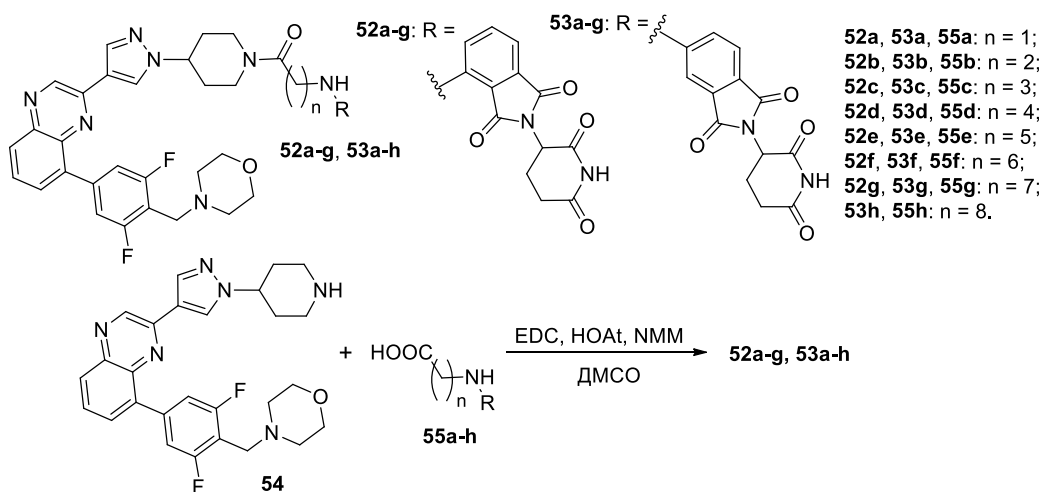


Схема 1.20 – Синтез соединений **52a-g**, **53a-h**

Активность соединений **52a-g**, содержащих в структуре остаток помалидомида, в отношении клеток острого лимфобластного лейкоза RS4;11 относительно слабо зависит от длины линкера, но является наибольшей в ряду для производного γ-аминомасляной кислоты **52c** (таблица 1.6). Обращает на себя внимание исключительно сильная зависимость противоопухолевой активности производных **53a-h**, содержащих в структуре остаток аналога помалидомида, от строения линкера. Наиболее активно производное 6-аминогексановой кислоты **53e**. Также примечателен переход от значительной активности

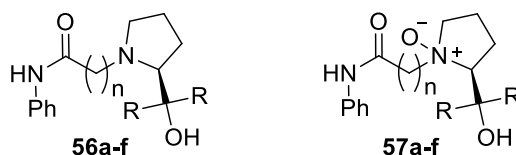
(**53g** ($n = 7$): ИД₅₀ 54,4 нМ) к полному ее исчезновению (**53h** ($n = 8$): ИД₅₀ >10000 нМ) при рассмотрении двух близких гомологов.

Таблица 1.6 – Противоопухолевая активность соединений **52a-g** и **53a-h** в отношении клеток острого лимфобластного лейкоза RS4;11

Соединение	n	ИД ₅₀ , нМ	Соединение	n	ИД ₅₀ , нМ
52a	1	5440	53a	1	9496
52b	2	3348	53b	2	5159
52c	3	510,3	53c	3	192
52d	4	6592	53d	4	13,8
52e	5	3169	53e	5	2,03
52f	6	>10000	53f	6	69,7
52g	7	>10000	53g	7	54,4
			53h	8	>10000

Противоопухолевая активность наиболее активного соединения **53e** (ИД₅₀ 2,03 нМ) была изучена на большом числе экспериментальных линий опухолевых клеток (HEL, MOLT-4, Jurkat, MV4;11 и др). Следует отметить специфичность действия данного соединения в отношении клеточных линий злокачественных заболеваний кроветворной системы: также изучена цитотоксичность в отношении колоректальной карциномы KM12 (ИД₅₀ 2370 нМ), которая значительно уступает активности в отношении лейкозов.

Получена группа соединений **56a-f**, **57a-f** – производных L-пролинола в свободной и N-оксидной формах (схема 1.21) [43].



56a, 57a: R = H, n = 3; **56b, 57b:** R = Ph, n = 3; **56c, 57c:** R = H, n = 5;
56d, 57d: R = Ph, n = 5; **56e, 57e:** R = H, n = 7; **56f, 57f:** R = Ph, n = 7.

Схема 1.21 – Производные пролинола **56a-f**, **57a-f**

В качестве исходных соединений использовали бромкислоты **58a-c**, которые конденсировали с анилином в присутствии DCC, DIPEA в ТГФ (схема 1.22). Бромпроизводные **59a-c** вводили в реакцию с L-пролинолом или дифенил-L-пролинолом в присутствии карбоната калия, йодида натрия в ДМФА. Соединения **56a-f** окисляли до их N-оксидов **57a-f** с помощью м-хлорнадбензойной кислоты (mCPBA) в ТГФ.

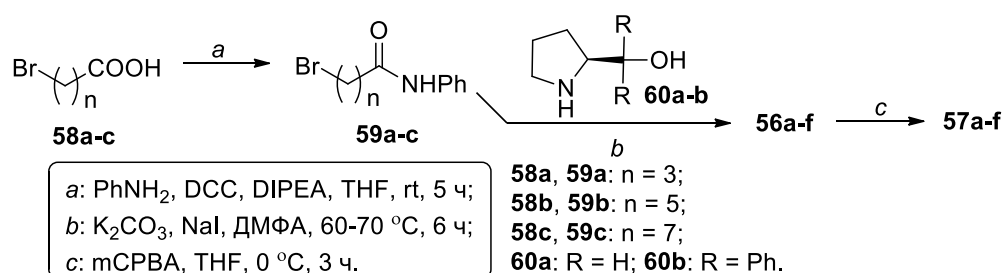
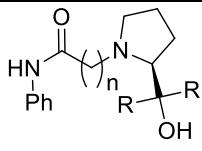
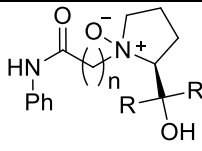


Схема 1.22 – Синтез производных L-пролинола **56a-f**, **57a-f**

Была изучена степень ингибирования пролиферации опухолевых клеток полученными соединениями в зависимости от их строения (таблица 1.7). На примере клеточной линии рака легкого A549 показано, что оптимальной длиной линкера, обеспечивающей максимальную степень влияния на опухолевые клетки, является $n = 5$ (степень ингибирования 76,59–79,03%). Замена водородных групп на более объемные фенильные остатки увеличивала антипролиферативную активность. *N*-Оксиды были более активны, чем соответствующие исходные соединения. Аналогичная зависимость наблюдалась и в случае других опухолевых клеточных линий: рака молочной железы MCF-7, гепатобластомы HepG2, глиобластомы U87, рака шейки матки HeLa.

Таблица 1.7 – Степень ингибирования пролиферации клеток рака легкого A549, % (концентрация соединений 100 ммоль/л)

	 56a-f		 57a-f	
R =	H	Ph	H	Ph
n = 3	60,55 (56a)	62,56 (56b)	63,45 (57a)	65,66 (57b)
n = 5	76,59 (56c)	77,66 (56d)	77,98 (57c)	79,03 (57d)
n = 7	72,26 (56e)	74,55 (56f)	74,95 (57e)	75,49 (57f)

Гастрин-высвобождающие пептидные рецепторы (GRPR) являются представителями семейства рецепторов бомбезина. GRPR активно экспрессируются при определенных видах рака человека, включая рак предстательной железы (РПЖ). Конъюгаты **61a-e**, меченные ^{64}Cu (схема 1.23) [44], являются ингибиторами GRPR и представляют интерес ввиду своего потенциала для диагностики РПЖ с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ).

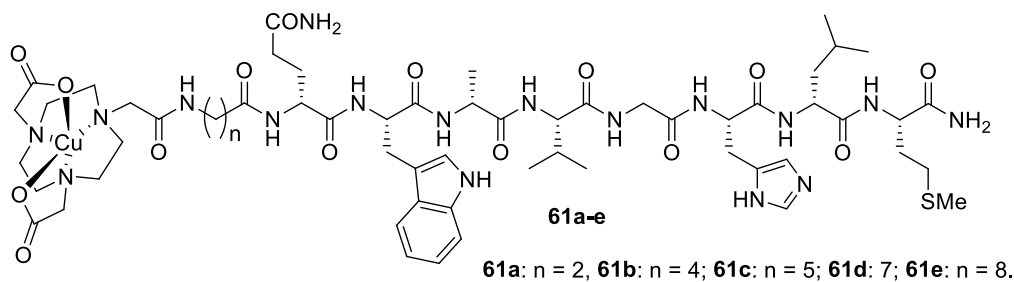


Схема 1.23 – Медьсодержащие конъюгаты **61a-e**

Соединения **61a,b,d** получали из пептидов, содержащих остатки различных ω-аминокислот, при взаимодействии с NOTA (2,2',2''-(1,4,7-триаза-1,4,7-триил)триуксусная кислота) в присутствии EDC, сульфо-*N*-гидросульфосукцинимид (sulfo-NHS) в MES-буферном растворе (схема 1.24) [45]. Дальнейшее комплексообразование проводили при действии $^{64}\text{CuCl}$ и ацетата аммония [46].

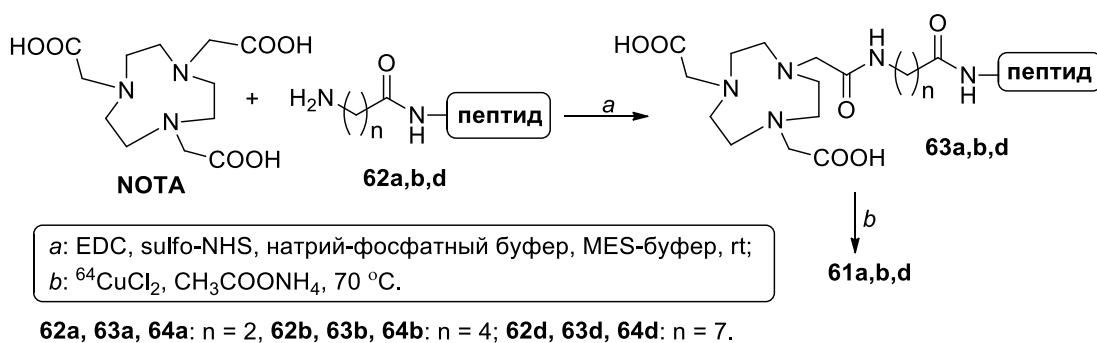


Схема 1.24 – Синтез конъюгатов **61a,b,d**

Было показано, что наилучшими показателями распределения в опухоли РС-3 у мышей среди соединений **61c-e** ($n = 5, 7, 8$) обладало производное 6-аминогексановой кислоты **61c** (процент введенной дозы (% ID)/г через 4 часа после введения: 1,89); с увеличением длины линкера процент распределения в опухоли снижался. Также соединение **61c** показало наиболее интенсивное накопление в опухоли через 24 ч на изображениях микроПЭТ среди группы соединений **61c-e**, с увеличением длины линкера интенсивность накопления снижалась.

Гистондеацетилазы (HDAC) представляют собой семейство ферментов, способных удалять ацетильные группы из остатков лизина в гистонах и негистоновых белках, включая, среди прочего, белки-шапероны и факторы транскрипции [47, 48]. Представители этого класса ферментов, HDAC1 и HDAC8, в основном локализируются в ядре, тогда как HDAC6 в основном локализуется в цитоплазме [49]. Эти HDAC связаны с прогрессированием и развитием рака [50].

Большинство из ингибиторов гистондеацетилаз представляют собой соединения на основе гидроксамовой кислоты, которые воспроизводят классическую фармакофорную модель ингибиторов HDAC (схема 1.25), состоящую из: (i) концевой металлсвязывающего фрагмента, который координирует катион Zn^{2+} в активном центре HDAC; (ii) гидрофобной Сар-группы, которая взаимодействует с внешним доменом фермента и регулирует взаимодействие между HDAC и субстратом; (iii) линкера (обычно цепь из шести метиленовых групп), который определяет положение металлсвязывающего фрагмента и Сар-группы для взаимодействий внутри сайта связывания [51].



Схема 1.25 – Фармакофорная модель ингибиторов HDAC

Описано получение большой группы производных пиримидина **64a-c**, **65a-i**, **66a-i**, содержащих фрагменты γ -аминомасляной, 5-аминопентановой и 6-аминогексановой кислот (схема 1.26) [52]. Часть соединений имеют в своей структуре остатки циклических аминов,

являются производными анилина или относятся к группе гидроксамовых кислот.

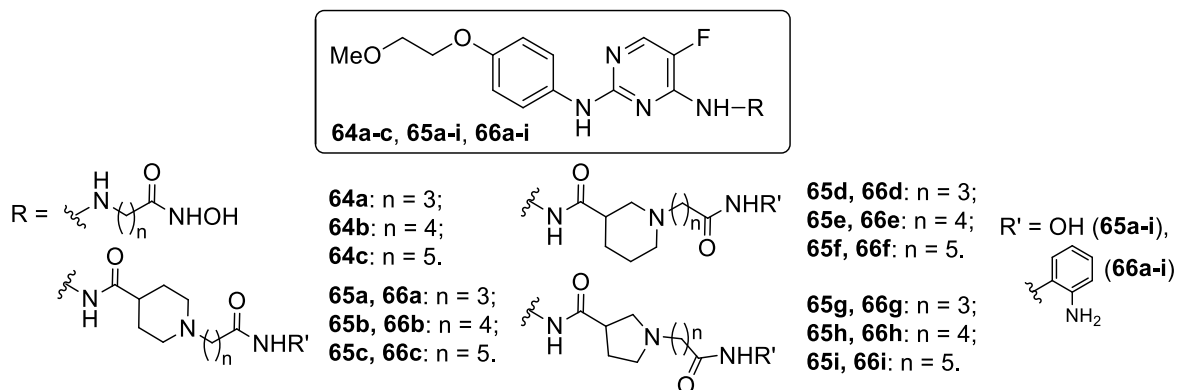


Схема 1.26 – Производные пириимидина **64a-c**, **65a-i**, **66a-i**

Производные всех групп (**64a-c**, **65a-i**, **66a-i**) были получены из производного 1,3-диаминобензола **67** (схема 1.27). Синтез соединений **64a-c**, содержащих в качестве линкера остаток только ω -аминокислоты без алкиламина, осуществляли в результате взаимодействия амина **67** с эфирами бромаминокислот различной длины ($n = 3, 4, 5$) в присутствии карбоната калия, йодида калия в ДМФА и последующей реакции с гидроксиламином.

В случае остальных производных **65a-i** и **66a-i**, содержащих остатки циклических аминов, потребовались еще три дополнительные стадии: (i) введение остатка амина в результате реакции конденсации **67** с *N*-Вос-защищенными кислотами **69a-c** в присутствии НВТУ, триэтиламина в ДМФА; (ii) удаление защитной группы; (iii) получение 1,2-диаминобензолсодержащих амидов в присутствии НВТУ и триэтиламина в ДМФА.

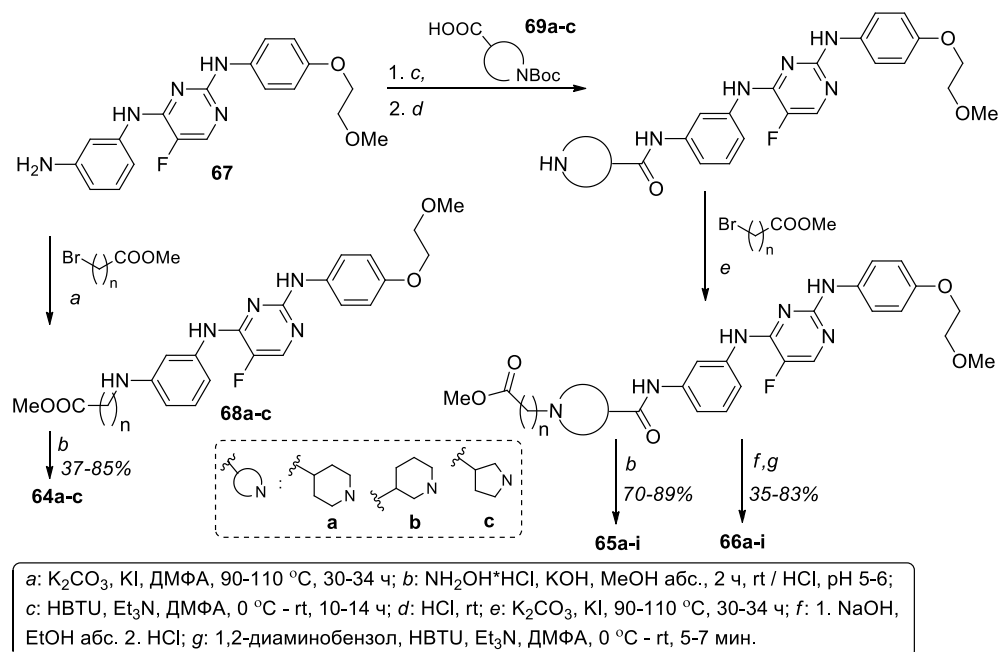


Схема 1.27 – Синтез производных пириимидина **64a-c**, **65a-i**, **66a-i**

Соединение **64c** с наибольшей ингибирующей активностью в отношении деацетилаз

гистонов HDAC1 и HDAC6 (72,50 и 88,20 % соответственно при 100 нМ) проявило наилучшие результаты противоопухолевой и антипролиферативной активности в отношении клеточной линии мантийноклеточной лимфомы Јеко-1 (ингибирование роста при 5 мкМ – 91,68% и ИД₅₀ 0,660 мкМ) [52]. В ряду соединений **64a-c** – производных, не содержащих остаток циклического амина, особое влияние на активность как в отношении ферментов, так и опухолевых клеточных линий оказывает длина аминокислотного линкера. Наблюдается ее существенное увеличение с увеличением длины линкера.

В ряду производных **65a-i** длина линкера существенно влияет на процент ингибирования развития опухолевой клеточной линии: например, при переходе от производного γ -аминомасляной кислоты **65d** к производному 5-аминопентановой кислоты **65e** антипролиферативное действие (43,80% ингибирование роста при 5 мкМ) сменяется, напротив, слабым усилением роста клеточной линии (1,74%) при 5 мкМ.

Исследование антипролиферативной активности производных **66a-i**, содержащих остаток анилина, показало, что тенденцию к наибольшей активности имеют производные 6-аминогексановой кислоты **66c**, **66f**, **66i** (ингибирование роста при 5 мкМ 90,49–94,76%), значения которой сравнимы с активностью препарата сравнения, вориностатом (95,52%).

Были получены производные гидроксамовых кислот: с 4,5-дизамещенным пиридином (**70a-f**) и аннелированные производные **71a-d** (схема 1.28, 1.29) [53].

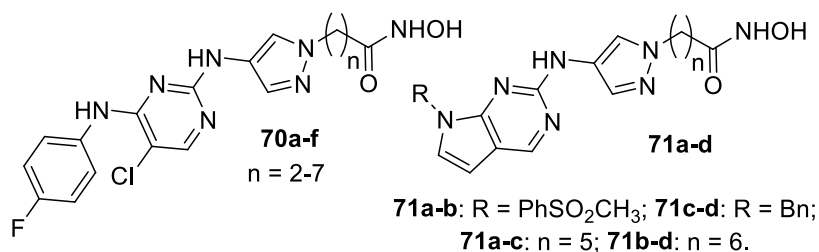


Схема 1.28 – Соединения **70a-f**, **71a-d**

Синтез проводили исходя из соответствующих этиловых эфиров бромкислот **72a-f**, которые вводили в реакцию с *N*-Вос-защищенным 4-аминопиразолом в присутствии карбоната цезия или DBU (1,8-дизабицикло[5.4.0]ундец-7-ен). Далее защитную группу удаляли, полученный амин вводили во взаимодействие с хлорпроизводным **74a-c** и получали целевые производные **70a-f** и **71a-d** в результате действия гидрохлорида гидросиламина и гидроксида калия.

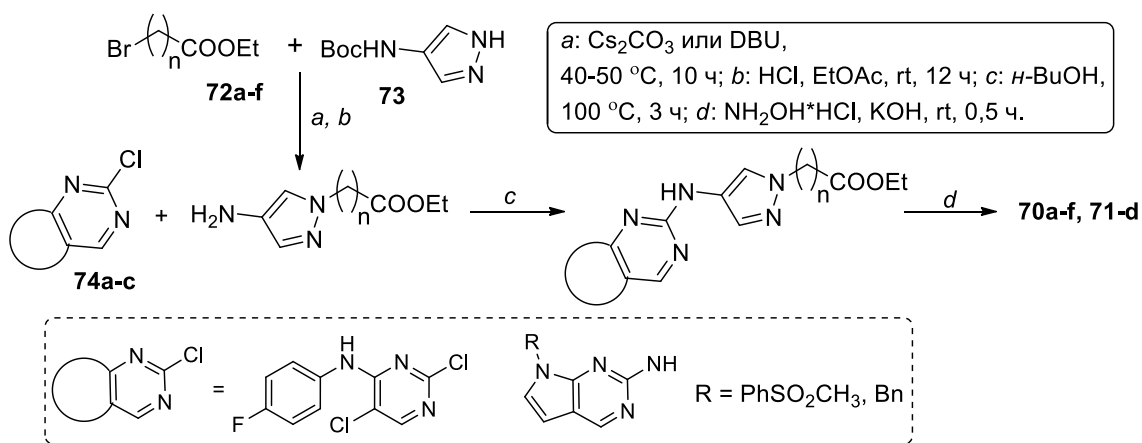


Схема 1.29 – Синтез соединений **70a-f**, **71a-d**

Показано, что противоопухолевая активность замещенных 4-(пиримидин-2-ил)амино)пиперазолов **70a-f** существенно зависит от длины ω-аминокислотного линкера (таблица 1.8). Установлено, что производные 6-аминогексановой и 7-аминогептановой кислот проявляют наибольшую активность. В случае аннелированных соединений **71a-d** противоопухолевая активность в отношении изученных клеточных линий была высокой; в частности, активность соединения **71b** ($\text{ID}_{50} < 0,0032$ мкМ) в отношении клеточной линии HeLa превосходит активность вориностата в 53 раза.

Таблица 1.8 – Противоопухолевая активность замещенных 4-(пиримидин-2-ил)амино)-пиперазолов **70a-f**, **71a-d** в отношении различных клеточных линий

Соединение	n	ИД ₅₀ , мкМ				
		HeLa	HEL	K562	MOLT-4	Jurkat
70a	2	>10	не иссл.	не иссл.	не иссл.	не иссл.
70b	3	>10	не иссл.	не иссл.	не иссл.	не иссл.
70c	4	0,569	не иссл.	не иссл.	не иссл.	не иссл.
70d	5	0,026	0,15	0,42	0,12	0,064
70e	6	0,003	0,21	0,50	0,22	0,119
70f	7	0,038	>0,5	0,76	не иссл.	0,18
71a	5	0,011	>8,3	>1,0	не иссл.	не иссл.
71b	6	<0,0032	>8,3	>1,0	не иссл.	не иссл.
71c	5	0,044	0,14	0,90	не иссл.	не иссл.
71d	6	0,02	>1,0	0,36	не иссл.	не иссл.
вориностат		0,168	0,27	1,48	0,4	0,27

HeLa – клеточная линия рака шейки матки
 HEL – клеточная линия острого эритроидного лейкоза
 K562 – клеточная линия хронического миелолейкоза
 MOLT-4 – клеточная линия Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза
 Jurkat – клеточная линия Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза

Описан синтез меркаптоацетамидсодержащих аналогов вориностата **75a-c** (схема 1.30) [54] как перспективных ингибиторов HDAC [55].

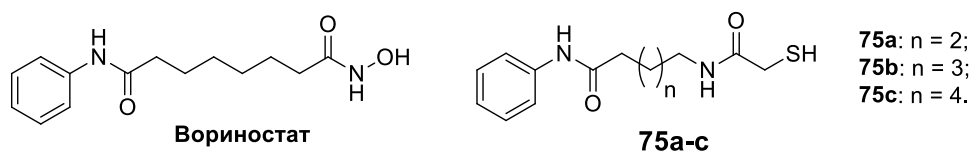


Схема 1.30 – Меркаптоацетамидсодержащие аналоги вориностата

Конденсация дикарбоновых кислот **76a-c** с эквивалентным количеством анилина приводила к моноанилидам **77a-c** с одной свободной карбоксильной группой, которую преобразовывали в амин через три стадии: (i) действие дифенилфорфорилазидом (DPPA) в присутствии ТЭА при кипячении в бензоле; (ii) обработка полученных изоцианатов бензиловым спиртом; (iii) удаление Cbz-группы с помощью гидрогенолиза. Последующие конденсация полученных аминов **78a-c** и бромацетилхлорида и обработка тиацетатом калия в этаноле приводили к получению меркаптоацетамидов **79a-c**. Их деацетилирование в присутствии карбоната калия в метаноле позволило получить целевые продукты **75a-c** (схема 1.31) [54].

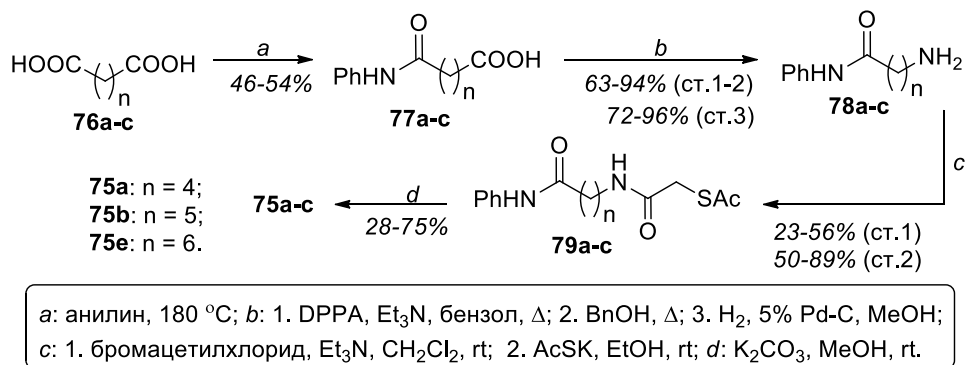


Схема 1.31 – Синтез аналогов вориностата

Наиболее активным в ряду оказалось производное 6-аминогексановой кислоты **75b** (ИД₅₀ 0,39 мкМ); близкое по активности – соединение **75c** с остатком 7-аминогептановой кислоты (ИД₅₀ 3,00 мкМ) [55].

Были получены новые ингибиторы гистондеацетилаз – «бориностаты» **80a,b**, **81a,b** (схема 1.32), содержащие в качестве гидрофобной Сар-группы фрагменты 1,2-дикарба-κ-лозо-додекаборана и 1,7-дикарба-κ-лозо-додекаборана [56].

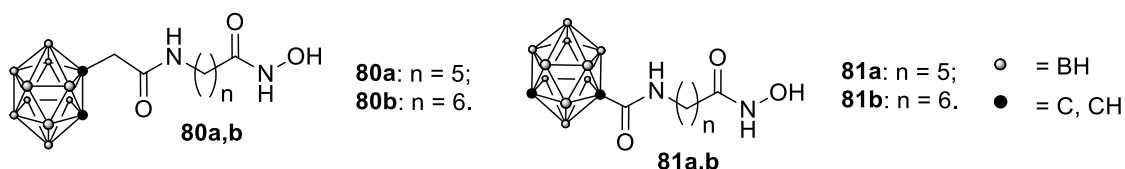


Схема 1.32 – Карборансодержащие производные вориностата – «бориностаты»

Карборансодержащие производные вориностата **80a,b**, **81a,b** были получены с использованием твердофазного метода синтеза пептидов (схема 1.33), который подразумевает взаимодействие двух аминокислот, карбоксильная группа одной из которых

защищена остатком нерастворимой смолы. В данном случае в качестве таких соединений выступают аминокислоты **83a,b**, несущие фрагмент 2-хлортритильной смолы. Для их получения коммерчески доступную 2-хлортритилхлоридную смолу модифицировали при действии *N*-гидроксифталоимида в присутствии ТЭА в ДМФА, при действии 5%-го раствора гидразингидрата в MeOH удаляли фталоильную группу, после чего полученный гидроксилламин конденсировали с *N*-Fmoc-защищенными 6-аминогексановой и 7-аминогептановой кислотами в присутствии HATU, HOBT и DIPEA в ДМФА и удаляли защитную *N*-Fmoc-группу. Для получения целевых конъюгатов **80a,b** и **81a,b** аминокислоты **82a,b** конденсировали с соответствующими карборанилсодержащими кислотами **83a,b** в присутствии HATU или COMU (1-циано-2-этокси-2-оксоэтилиденаминоокси)-диметиламино-морфолино-карбения гексафторфосфата) в зависимости от исходного карборана с последующим удалением остатка смолы при действии трифторуксусной кислоты.

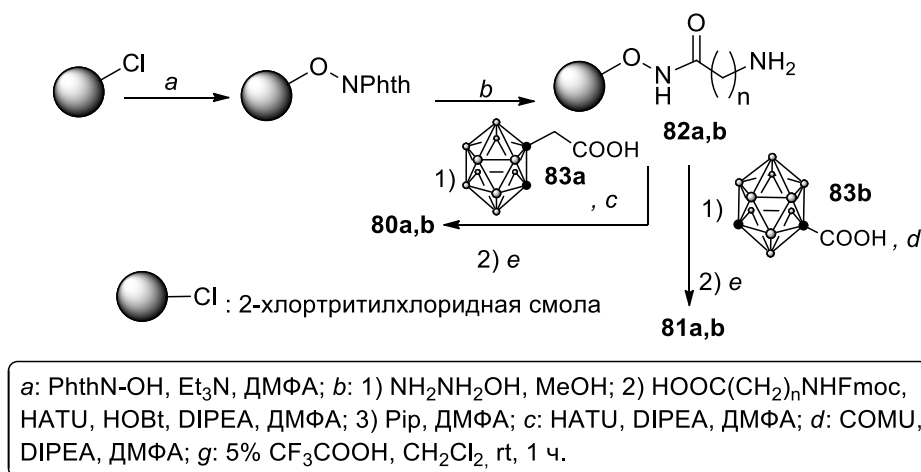


Схема 1.33 – Синтез «бориностатов» **80a,b** и **81a,b**

В ряду соединений **80a,b** наиболее активным и селективным к HDAC6 является производное 7-аминогептановой кислоты **80b** (фактор селективности к HDAC6 SF = 12). Соединение с остатком 6-аминогексановой кислоты **80a** обладает несколько меньшей активностью и селективностью к HDAC6 (SF = 2). Производные **81a,b** проявили аналогичную зависимость: производное 7-аминогептановой кислоты **81b** (SF = 18) более активно и селективно к HDAC6, чем соединение с линкером 6-аминогексановой кислоты **81a** (SF = 17) [56].

Церамиды (Cers) представляют собой длинноцепочечные амфифильные (2*S*,3*R*,4*E*)-2-аминоацил-1,3-диоли, способные регулировать широкий спектр важных клеточных процессов, таких как рост, дифференцировка и апоптоз клеток [57, 58]. Разработаны методы синтеза производных церамидов (цераминоиды) D,*e*-**84a-d**, L,*e*-**84b,d**, L,*t*-**84b,d**, D,*e*-**85a-d** (схема 1.34), конъюгированных с пиридиниевой солью [59]. Авторы полагали, что введение

этого водорастворимого фрагмента приведет к улучшенной доставке к раковым клеткам и избирательному накоплению в митохондриях.

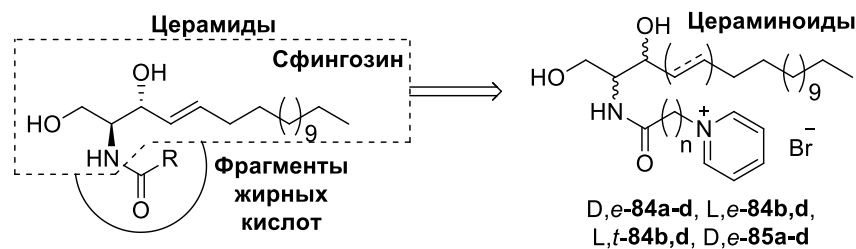


Схема 1.34 – Церамиды и цераминоиды D,*e*-**84a-d**, L,*e*-**84b,d**, L,*t*-**84b,d**, D,*e*-**85a-d**

Целевые соединения были получены в результате ацилирования ненасыщенных сфингозинов **86-88** и гидрированного сфингозина **89** хлор- или бромангидридами бром-ω-аминокислот в присутствии ацетата натрия в ТГФ (схема 1.35) [59]. Далее полученные амиды **90a-d**, **91a,b**, **92a,b**, **93a-d** модифицировали путем введения остатка пиридина. Внутри этой группы соединений можно выделить три типа модификации, заключающихся в изменениях: (i) длины цепи *N*-ацильной части ($n = 1, 5, 11, 15$), (ii) стереоконфигурации хиральных центров C2 и C3 сфингозинового остова и (iii) степени насыщения в положениях C4–C5.

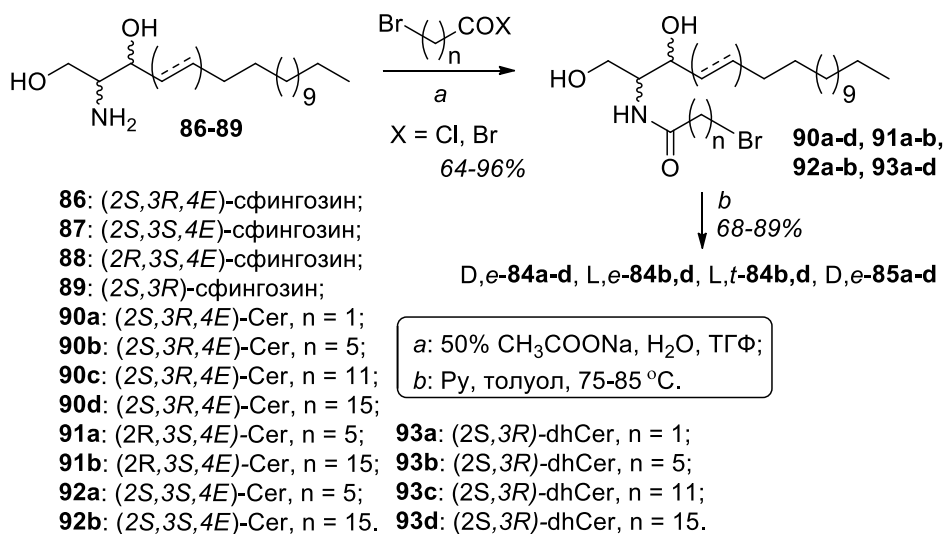


Схема 1.35 – Синтез цераминоидов D,*e*-**84a-d**, L,*e*-**84b,d**, L,*t*-**84b,d**, D,*e*-**85a-d**

Среди D,*e*-производных наибольшую активность проявил гомолог D,*e*-**84c** ($n = 11$), наименьшую – D,*e*-**84a** ($n = 1$). L-Гомологи с $n = 5$ и 15 были получены как в *трео*-, так и в *эритро*-вариантах относительного расположения заместителей при C2 и C3; модификация длины линкера в таком случае приводила к различным результатам: в случае *эритро*-наибольшей активностью обладало производное 16-аминогексадекановой кислоты, в случае *трео*- – 6-аминогексановой кислоты (таблица 1.9).

Таблица 1.9 – Противоопухолевая активность в отношении клеток рака молочной железы MCF-7 и растворимость в воде цераминоидов D,*e*-**84a-d**, L,*e*-**84b,d**, L,*t*-**84b,d**, D,*e*-**85a-d**

Соединение	L/D	<i>трео</i> - / <i>эритро</i> -	n	ИД ₅₀ , мкМ	Растворимость в воде при 22 °С, мг/мл	Растворимость в воде при 37 °С, мг/мл
D, <i>e</i> - 84a	D-	<i>e</i> -	1	6,0	1,2	82
D, <i>e</i> - 84b	D-	<i>e</i> -	5	1,0	715	не исследовали
D, <i>e</i> - 84c	D-	<i>e</i> -	11	0,6	34	495
D, <i>e</i> - 84d	D-	<i>e</i> -	15	2,1	0,5	2,8
L, <i>e</i> - 84b	L-	<i>e</i> -	5	7,5	не исследовали	не исследовали
L, <i>e</i> - 84d	L-	<i>e</i> -	15	2,9	не исследовали	не исследовали
L, <i>t</i> - 84b	L-	<i>t</i> -	5	1,0	845	не исследовали
L, <i>t</i> - 84d	L-	<i>t</i> -	15	2,2	0,8	не исследовали
D, <i>e</i> - 85a	D-	<i>e</i> -	1	18,5	0,9	45
D, <i>e</i> - 85b	D-	<i>e</i> -	5	5,0	не исследовали	не исследовали
D, <i>e</i> - 85c	D-	<i>e</i> -	11	2,5	не исследовали	не исследовали
D, <i>e</i> - 85d	D-	<i>e</i> -	15	2,5	0,3	1,4
C16-Cer						0,0003
C6-Cer						0,0014
C2-Cer						0,01

Следует отметить, что особое влияние стереохимии показано при переходе от *эритро*-производного L,*e*-**84b** к *трео*- L,*t*-**84b**: ингибирующая доза ИД₅₀ снижается в 7,5 раз.

Показано, что ряд дигидропроизводных D,*e*-**85a-d** заметно менее активен, чем ряд ненасыщенных соединений-аналогов D,*e*-**84a-d**.

Было также изучено влияние пиридинового фрагмента на водорастворимость: в сравнении с природными C16-, C6-, C2-церамидами она значительно увеличивается; наименьшей растворимостью в воде обладали самые коротко- (n = 1) и длинноцепочечные (n = 15) производные [59].

4-Дезоксиподофиллотоксин является сильнодействующим антимиотическим агентом (схема 1.36), выделенным из корней *Anthriscus sylvestris*. Показано, что это соединение обладает сильной цитотоксичностью в отношении большого числа опухолевых клеточных линий [60]. Были синтезированы производные 4-дезоксиподофиллотоксина **94a-f** (схема 1.36), замещенные ω-аминокислотами (глицином, β-аланином, γ-аминомасляной, 5-аминопентановой, 6-аминогексановой и 7-аминогептановой кислотами) [61].

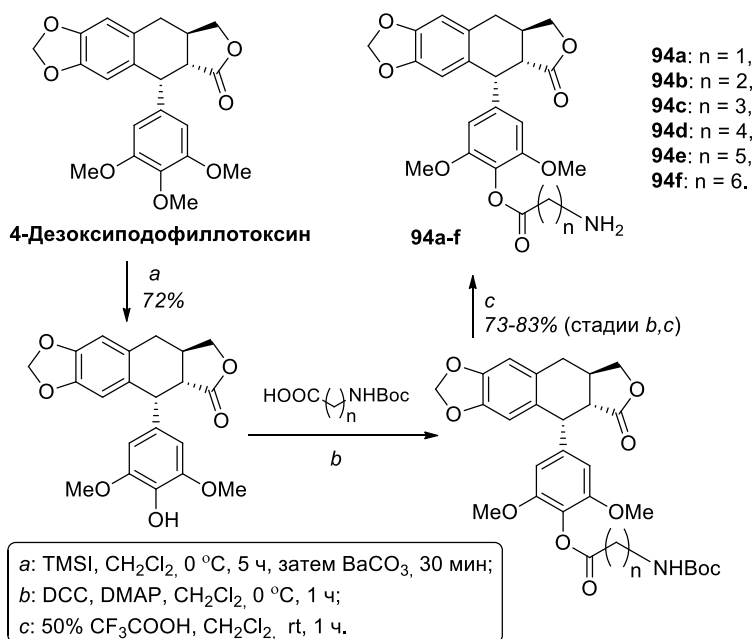


Схема 1.36 – Структура и синтез производных 4-дезоксиподофиллотоксина **94a-f**

Соединения **94a-f** синтезировали из 4-дезоксиподофиллотоксина, который подвергли селективному деметилированию триметилсилилидодом (TMSI) с получением 4'-деметил-4-дезоксиподофиллотоксина. Конденсация последнего с ω-аминокислотами в присутствии DCC и DMAP и удаление защитной *N*-Boc-группы трифторуксусной кислотой приводили к получению целевых производных.

Соединения **94a-f** проявляли высокую цитотоксичность в отношении трех клеточных линий в наномолярной концентрации (таблица 1.10). Наиболее активными были производные коротких ω-аминокислот: глицина **94a** и β-аланина **94b**. Следует отметить, что активность соединения **94a** в отношении клеточной линии SK-MEL-2 превосходит активность препарата сравнения, 4-дезоксиподофиллотоксина.

Таблица 1.10 – Противоопухолевая активность производных 4-дезоксиподофиллотоксина **94a-f**

Соединение	n	ИД ₅₀ , нМ		
		A549	SK-MEL-2	MCF-7
94a	1	22	9	11
94b	2	12	34	31
94c	3	97	79	83
94d	4	92	91	89
94e	5	89	77	72
94f	6	74	61	69
4-дезоксиподофиллотоксин		23	14	11

A549 – клеточная линия аденокарциномы легкого
SK-MEL-2 – клеточная линия меланомы
MCF-7 – клеточная линия РМЖ, экспрессирующая рецепторы эстрогена и прогестерона

Глицирретиновая кислота – это тритерпеноид, проявивший ряд важнейших

фармакологических свойств, а именно, противовирусную [62, 63], противовоспалительную [64] и противоопухолевую активность [65, 66]. Описан синтез метиловых эфиров глицерритиновой кислоты **96a-f**, модифицированных путем введения аминокислотного фрагмента при углероде С3 метилглицирретината (схема 1.37), а также исследована цитотоксическая активность [67].

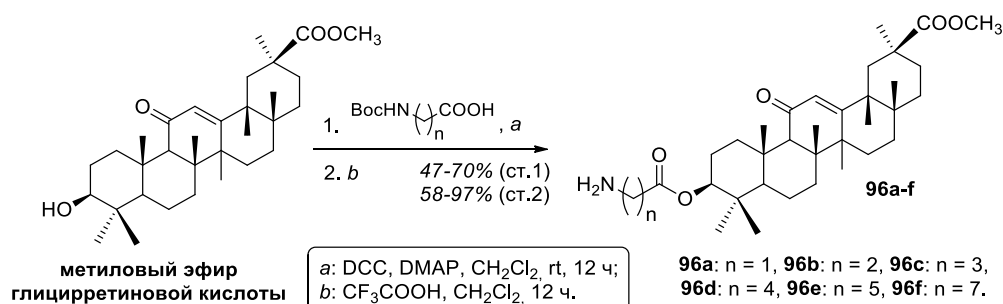


Схема 1.37 – Модифицированные эфиры глицирретининовой кислоты **96a-f**

Соединения **96a-f** получены в результате конденсации *N*-Вос-защищенных ω -аминокислот и метилового эфира глицирретининовой кислоты в присутствии DCC и DMAP и последующего удаления *N*-Вос-защитной группы трифторуксусной кислотой.

Цитотоксическую активность изучали на следующих клеточных линиях: 8505C (карцинома щитовидной железы), A253 (плоскоклеточный рак слюнной железы), A2780 (эндометриоидная аденокарцинома яичников), A549 (аденокарцинома легкого), DLD-1 (аденокарцинома толстой кишки), Lipo (недифференцированная липосаркома), MCF-7 (РМЖ). В качестве неопухолевой клеточной линии использовали эмбриональные фибробласты мыши NiH3T3 (таблица 1.11).

Таблица 1.11 – Цитотоксическая активность производных глицирретининовой кислоты **96a-f**

Соед.	n	ЦД ₅₀ , мкМ, клеточная линия							
		8505C	A253	A2780	A549	DLD-1	Lipo	MCF-7	NiH3T3
96a	1	7,45	6,26	5,99	6,42	8,59	7,54	7,10	5,73
96b	2	2,55	2,50	1,72	2,40	2,51	2,52	2,50	3,45
96c	3	3,47	3,41	3,13	3,39	3,41	3,54	2,73	3,14
96d	4	3,52	3,52	2,48	3,38	4,49	4,54	3,40	3,58
96e	5	5,48	4,05	4,94	5,43	6,27	5,95	4,03	6,06
96f	7	4,02	3,76	4,06	3,88	4,38	4,02	2,46	6,05

Следует отметить, что все изученные соединения **96a-f** обладают высокой противоопухолевой активностью (ЦД₅₀ < 10 мкМ, таблица 1.11). Изменение длины аминокислотного линкера не привело к существенному изменению цитотоксичности, однако можно выделить наиболее активное соединение **96b**, производное β -аланина. Наименее активным является его близкий гомолог, производное глицина **96a**. При переходе от производного 6-аминогексановой кислоты **96e** к производному 8-аминооктановой кислоты **96f** наблюдали некоторое увеличение цитотоксической активности.

Диосгенин является стероидным сапогенином и встречается в составе растений *Dioscorea alata*, *Smilax China* и *Trigonella foenum graecum*. Примечательно, что данное соединение используется в качестве исходного материала для синтеза ряда терапевтически полезных стероидных препаратов (например, прегненолона и прогестерона [68], а также биологически активных соединений (алкалоид соласодин [69]).

Разработан ряд производных диосгенина **97a-e**, **98a-c** и **99a-d**, модифицированных путем введения ω -аминокислот различного строения (схема 1.38) [70, 71]. Первая группа соединений представляет собой *спиро*-содержащие производные диосгенина **97a-e** с аминокислотными остатками глицина (**97a**), γ -аминомасляной кислоты (**97b**), 6-аминогексановой (**97c**), 8-аминооктановой (**97d**) и 12-аминододекановой кислот (**97e**) (схема 1.38).

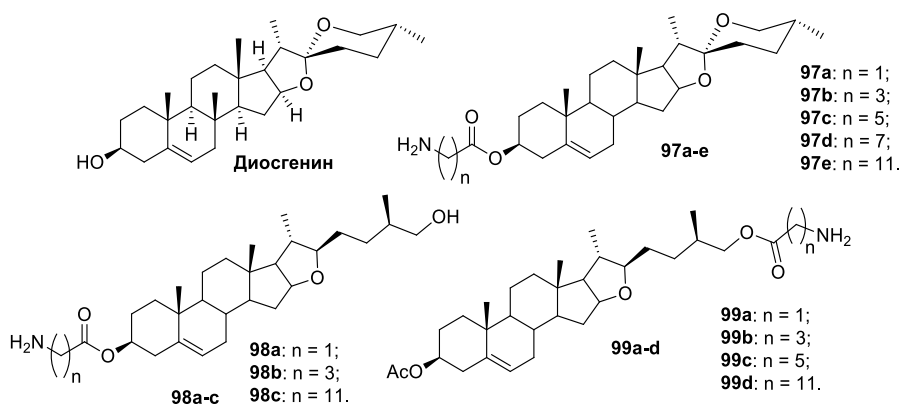


Схема 1.38 – Диосгенин и его производные **97a-e**, **98a-c** и **99a-d**

Соединения **97a-e** получали в результате последовательных реакций конденсации диосгенина с *N*-Вос-защищенными ω -аминокислотами в присутствии EDC и DMAP с получением промежуточных замещенных аминокислот **100a-e** и удаления защитной *N*-Вос-группы (схема 1.39). Синтез второй группы соединений (**98a-c**) предполагал раскрытие F-кольца по спирокетальной связи в мягких условиях восстановительного расщепления с использованием цианборгидрида натрия в уксусной кислоте и удаление защитной *N*-Вос-группы (схема 1.39) [71].

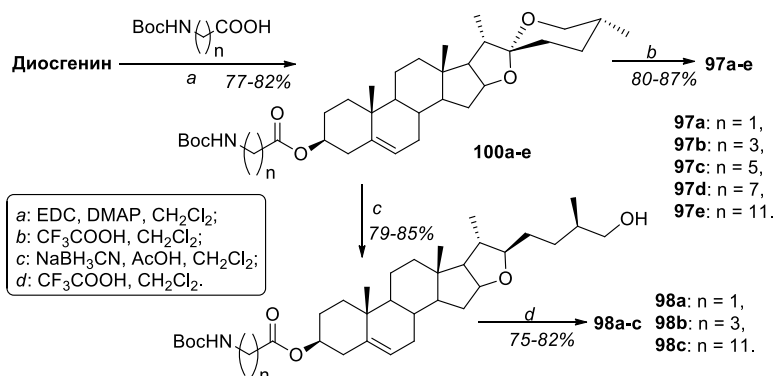


Схема 1.39 – Синтез производных диосгенина **97a-e** и **98a-c**

Третья группа соединений **99a-d** получена в результате ацетилирования диосгенина, раскрытия спирокетальной связи, конденсации спирта с защищенными ω -аминокислотами в присутствии EDC, DMAP и удаления защитной *N*-Вос-группы (схема 1.40) [71].

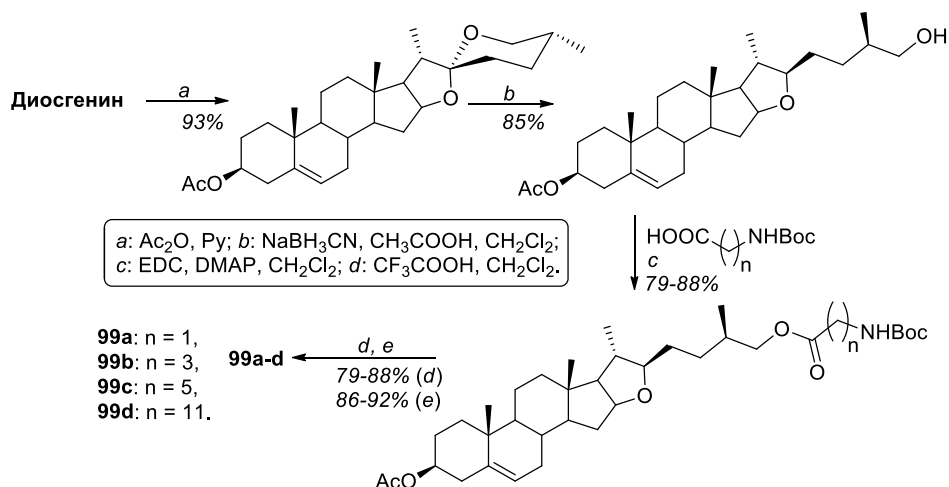


Схема 1.40 – Синтез производных диосгенина **99a-d**

Антипролиферативная активность соединений **97a-e** изучена в отношении клеточных линий C70 (колоректальная аденокарцинома мыши), B16 (меланома мыши), HepG2 (гепатобластома), A549 (аденокарцинома легкого человека), MDA-MB-231 (рак молочной железы) [71]. В ряду веществ можно выявить следующую тенденцию (таблица 1.12): наиболее активными являются производные со средней длиной фрагмента аминокислоты (γ -аминомасляной кислоты **97b**, 6-аминогексановой **97c**, 8-аминооктановой **97d**). Авторами особо выделяется активность производного 6-аминогексановой кислоты **97c**; в связи с этим было получено соединение, меченное флуоресцентной меткой (остаток NBD, 7-нитробенз-2-окса-1,3-диазола), и изучено его распределение в живых клетках C26 с целью исследования механизма противоопухолевого действия.

Таблица 1.12 – Антипролиферативная активность производных диосгенина **97a-e**

Соединение	n	ИД ₅₀ , мкМ				
		C26	B16	HepG2	A549	MDA-MB-231
97a	1	>30	>30	>30	>30	>30
97b	3	7,7	12,3	28,5	12,2	10,1
97c	5	5,5	8,6	16,9	13,4	8,3
97d	7	8,9	10,6	20,8	17,8	13,0
97e	11	>30	>30	>30	>30	>30
диосгенин		>30	>30	>30	>30	>30
делтонин		2,3	5,6	8,8	8,6	3,5

Также была изучена пролиферативная активность соединений **98a-c** с раскрытым спироацетальным F-кольцом [71]. В этом ряду наблюдалась следующая тенденция: соединения с «коротким» (глицин, **98a**) и «длинным» (12-аминододекановая кислота, **98c**) остатками не проявили активности; производное γ -аминомасляной кислоты **98b** проявило

высокую противолиферативную активность (таблица 1.13).

Таблица 1.13 – Антипролиферативная активность производных диосгенина **98a-c**

Соединение	n	ИД ₅₀ , мкМ				
		C26	B16	HepG2	A549	MDA-MB-231
98a	1	>30	>30	>30	>30	>30
98b	3	9,4	8,8	>30	10,7	14,4
98c	11	>30	>30	>30	>30	>30
диосгенин		>30	>30	>30	>30	>30
делтонин		2,3	5,6	8,8	8,6	3,5

Было показано, что соединения **99a-d** вне зависимости от длины аминокислотного остатка не обладают антипролиферативной активностью [71].

Фузидовая кислота – это природный тетрациклический тритерпен, выделенный из грибов *Fusidium coccineum* в 1960 г. Это соединение и его производные обладает широким рядом биологической активности, в частности, антибактериальной [72]. Производные фузидовой кислоты **101a-d** были получены в результате конденсации бензилового эфира фузидовой кислоты с *N*-Вос-защищенными аминокислотами в присутствии EDC и последующего удаления защитной *N*-Вос-группы (схема 1.41) [73].

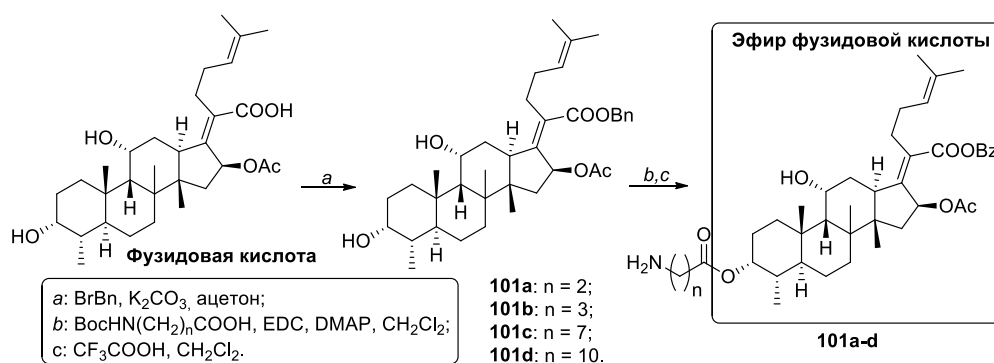


Схема 1.41 – Синтез производных фузидовой кислоты **101a-d**

Была изучена антипролиферативная активность производных **101a-d** в отношении следующих клеточных линий: HeLa (рак шейки матки); KBV (эпидермоидная карцинома полости рта с МЛУ); U87 (глиобластома); MKN45 (аденокарцинома желудка) в концентрациях 5 и 1,5 мкМ (таблица 1.14).

Таблица 1.14 – Жизнеспособность клеток (%) при действии фузидовой кислоты и ее производных **101a-d** в концентрациях 5 мкМ и 1,5 мкМ

Соединение	HeLa		KBV		U87		MKN45	
	5 мкМ	1,5 мкМ	5 мкМ	1,5 мкМ	5 мкМ	1,5 мкМ	5 мкМ	1,5 мкМ
101a	13	32	12	14	9	10	5	23
101b	23	101	13	98	9	10	6	90
101c	19	99	11	83	10	116	4	16
101d	19	100	9	93	10	49	5	96
Фузидовая к-та	73	70	67	71	87	92	83	80

Наиболее активным в обеих концентрациях на всех клеточных линиях было

соединение **101a**, содержащее фрагмент β-аланина. С увеличением длины аминокислоты (γ-аминомасляная, 8-аминооктановая, 11-аминоундекановая кислоты) становится заметным, что при малой концентрации (1,5 мкМ) соединения **101b-d** становятся неактивными. Однако при концентрации 5 мкМ сохраняется высокая антипролиферативная активность (жизнеспособность клеток от 5% до 23%) [73].

Тапсигаргин представляет собой сесквитерпен-γ-лактон, выделенный из семян и корней зонтичного растения *Thapsia garganica* (схема 1.42). Тапсигаргин селективно ингибирует Ca²⁺-зависимые АТФазы саркоплазматического и эндоплазматического ретикула (SERCA, sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase), что приводит к устойчивому повышению концентрации Ca²⁺ в цитозоле. Этот процесс приводит к фрагментации ДНК и апоптозу клеток [74]. В связи с этим, SERCA является новой терапевтической мишенью для активации апоптоза андрогеннезависимых клеток рака предстательной железы [75].

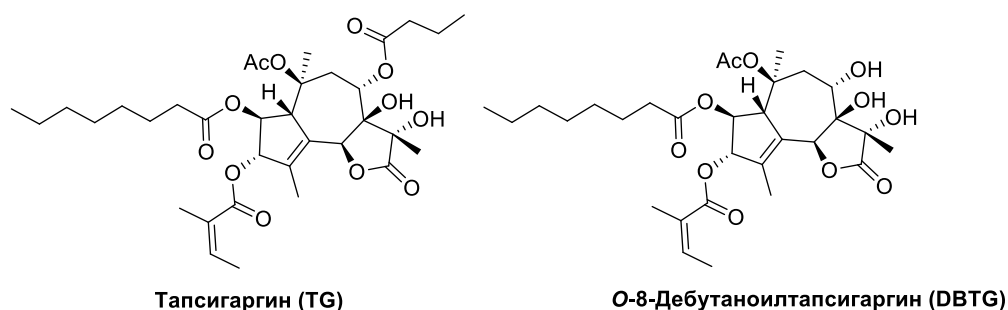


Схема 1.42 – Тапсигаргин и О-8-дебутоилтапсигаргин

Были синтезированы аналоги тапсигаргина (TG) и дебутоилтапсигаргина (DBTG) (схема 1.43) [76]: со свободной аминогруппой (**102a-e**) и с пептидным остатком (**103a-e**).

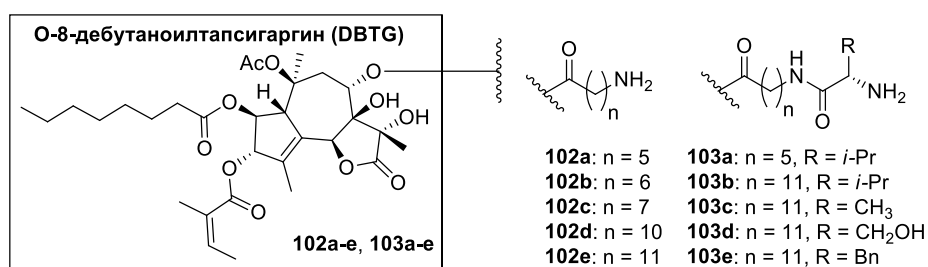


Схема 1.43 – Производные TG и DBTG **102a-e** и **103a-e**

Первая группа соединений (**102a-e**, схема 1.44) синтезирована в результате конденсации *N*-Вос-защищенных ω-аминокислот с DBTG в присутствии конденсирующего агента DCC, DMAP и последующего удаления защитной группы.

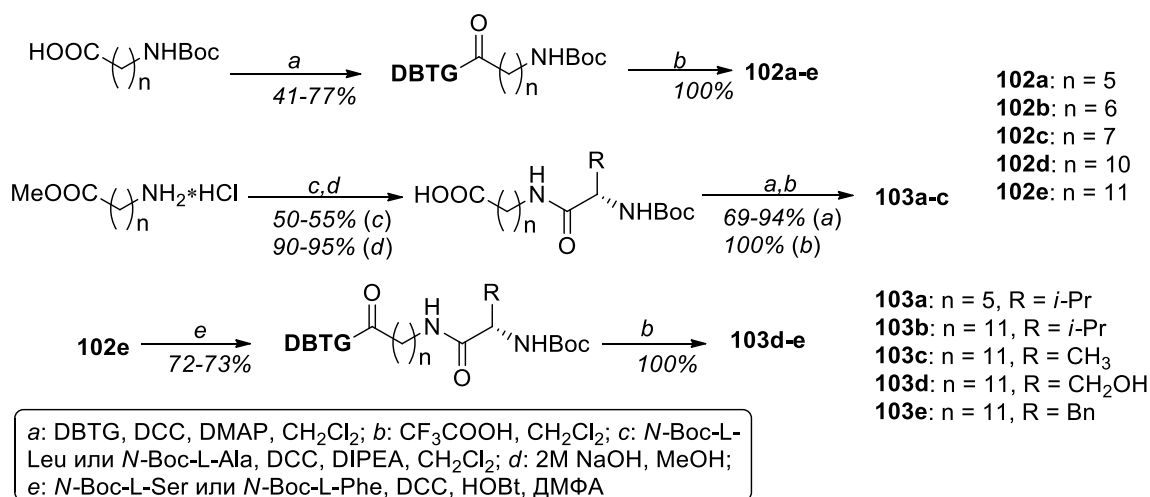


Схема 1.44 – Синтез соединений **102a-e** и **103a-e**

Для получения пептидных производных **103a-e** было реализовано два подхода. Соединения **103a-c**, содержащие остатки L-лейцина или L-аланина, синтезированы из метиловых эфиров 6-аминогексановой и 12-аминододекановой кислот, которые подвергали конденсации с *N*-Boc-L-лейцином или L-аланином в присутствии DCC и DIPEA. Далее проводили щелочной гидролиз метиловых эфиров. Последующие стадии аналогичны реакциям в синтезе соединений **102a-e** (конденсация с DBTG и удаление защитной *N*-Boc-группы). Для получения производных L-серина и L-фенилаланина (**103d-e**) соединение **102e**, содержащее остаток 12-аминододекановой кислоты, конденсировали с аминокислотами в присутствии DCC и HOBT, затем удаляли защитную *N*-Boc-группу.

С увеличением длины ω-аминокислотного фрагмента в соединениях **102a-e** увеличивалась и SERCA-ингибирующая активность (таблица 1.15). Показано, что наиболее активно производное 12-аминододекановой кислоты **102e** (ИД₅₀ 35 нм/мг SR белка). Практически аналогичная зависимость наблюдалась при рассмотрении апоптоз-индуцирующего действия: с увеличением длины аминокислотного остатка активность соединений **102a-e** увеличивалась, достигая максимума у производного 11-аминоундекановой кислоты **102d** (ЛД₅₀ 0,75 мкМ); активность 12-аминододекановой кислоты **102e** несколько ниже: ЛД₅₀ 1,16 мкМ [76].

Аналогичная картина наблюдалась в случае пептидных соединений **103a-e**: производное 6-аминогексановой кислоты **103a** неактивно, производные 12-аминододекановой кислоты **103b-e** проявили существенные SERCA-ингибирующую и антиапоптотическую активности.

Таблица 1.15 – Ингибирующая активность производных TG и DBTG **102a-e** и **103a-e**

Соединение	ИД ₅₀ ¹ , нмоль/мг SR белка (SERCA-ингибирующая активность)	Активность в сравнении с TG ИД _{50(соед.)} / ИД _{50(TG)}	ЛД ₅₀ ² , мкмоль (апоптоз-индуцирующая активность)	Активность в сравнении с TG ЛД _{50(соед.)} / ЛД _{50(TG)}
102a	1332	99	>20	>667
102b	1206	90	10,92	364
102c	223	17	3,85	128
102d	40	3,0	0,75	25
102e	35	2,6	1,16	39
103a	3842	287	>20	>667
103b	45	3,4	0,03	1,0
103c	16,5	1,2	0,28	9,3
103d	10,3	0,8	0,89	30
103e	нет данных	нет данных	0,21 ± 0,02	7,0
TG	13,4	1	0,03	1

¹ ИД₅₀, нмоль/мг белка SR – концентрация соединения, при которой происходит ингибирование 50% максимальной активности SERCA скелетных мышц кролика; ² ЛД₅₀, мкМ – концентрация соединения, при которой происходит 50% потери клоногенной выживаемости клеток рака мочевого пузыря TSU-Pr1

Микофеноловая кислота – это соединение, выделенное из штамма гриба *Penicillium brevicompactum*, которое ингибирует рост бактерий *Staphylococcus aureus*. Соединение обладает противоопухолевыми свойствами в отношении лимфомы, клеток опухолей молочной и предстательной желез и др. [77-79]. Синтезирован ряд конъюгатов аденозина **104a-e** и ацетальаденозина **105a-e** с микофеноловой кислотой, соединенных ω-аминокислотными линкерами различной длины: β-аланин, 6-аминогексановая, 7-аминогептановая, 8-аминооктановая и 11-аминоундекановая кислоты (схема 1.45) [80].

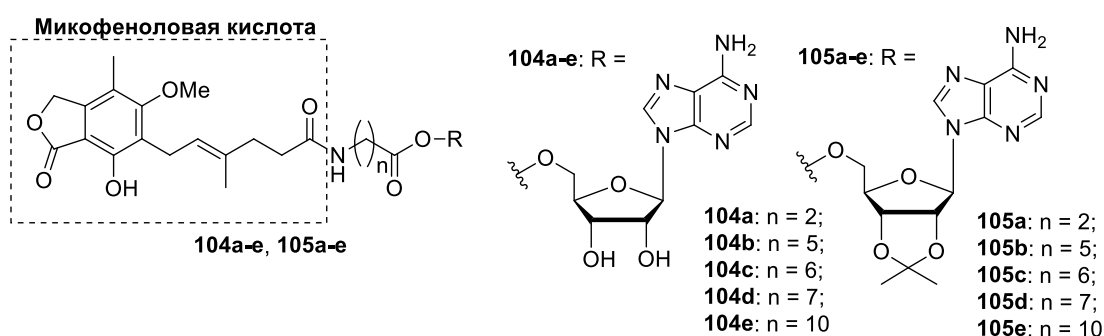


Схема 1.45 – Конъюгаты микофеноловой кислоты с аденозином **104a-e** и ацеталь-аденозином **105a-e**, содержащие фрагменты ω-аминокислот

Синтез соединений **104a-e** и **105a-e** (схема 1.46) проводили следующим образом: *N*-Фтос-защищенные ω-аминокислоты превращали в соответствующие 2',3'-*O*-изопропилиден-аденозин-5'-ильные эфиры **106a-e** в результате этерификации по Ямагучи с использованием 2,4,6-трихлорбензоилхлорида для получения соответствующего смешанного ангидрида и ДМАР в качестве катализатора; далее удаляли защитную группу и получали амины **107a-e**, которые конденсировали с микофеноловой кислотой. Наибольшие выходы и чистота

амидов **105a-e** достигались при применении EDC и HOBT. Наконец, был проведен селективный гидролиз эфирных связей для удаления изопропилиденового остатка в рибозиде.

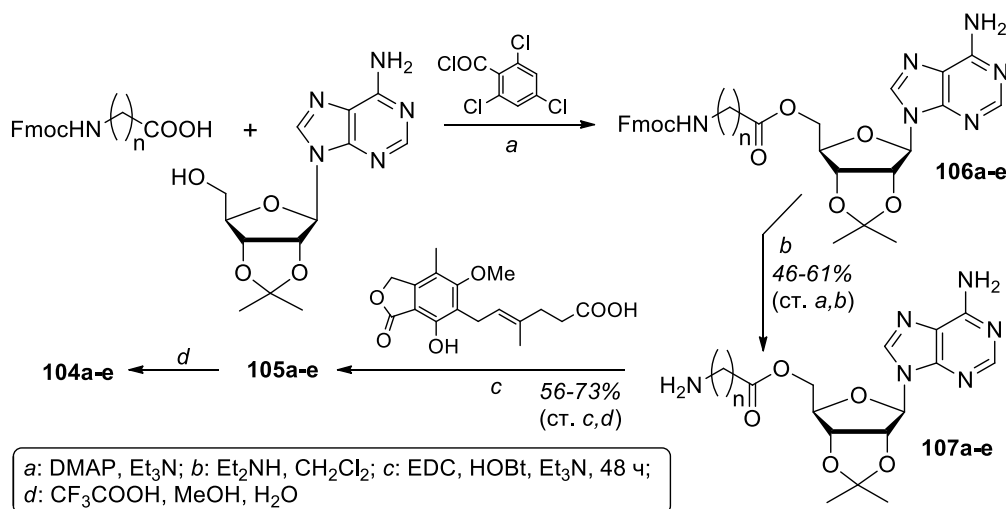


Схема 1.46 – Синтез конъюгатов **104a-e** и **105a-e**

Была изучена цитотоксическая и антипролиферативная активность соединений **104a-e** и **105a-e** на клетках Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза Jurkat [80]. Цитотоксичность росла с увеличением длины аминокислотного линкера, достигая максимум активности для $n = 6$ (**105c**) или 7 (**104d**) (таблица 1.16). Во многих случаях цитотоксическая доза ($ЦД_{50}$) была ниже эффективной дозы ($ЭД_{50}$), отражающей значение антипролиферативной активности, что говорит о неселективности действия. Однако в случае соединений **104a,b** и **105d** некоторая селективность все же достигалась, индекс селективности $SI = 4 \div 8$.

Таблица 1.16 – Цитотоксическая и антипролиферативная активность конъюгатов микофеноловой кислоты с аденозином **104a-e** и ацеталь-аденозином **105a-e**

Соединение	$ЦД_{50}^1$, мкМ	$ЭД_{50}^2$, мкМ	SI^3
104a	35,745	4,995	7
104b	41,891	4,980	8
104c	1,292	1,435	<1
104d	0,281	1,407	<1
104e	1,461	3,055	<1
105a	1,470	1,322	<1
105b	0,830	1,384	<1
105c	0,407	0,814	<1
105d	0,533	0,133	4
105e	1,328	1,261	<1
микофеноловая к-та	0,624	30,592	<1

¹ $ЦД_{50}$ – концентрация, при которой происходит гибель 50% клеток (МТТ-тест); ² $ЭД_{50}$ – концентрация, при которой происходит полумаксимальное ингибирование [³H]-TdR ([³H]-меченый тимидин). Отражает антипролиферативную активность; ³ SI – индекс селективности, рассчитываемый как отношение $ЦД_{50}$ к $ЭД_{50}$.

В большинстве случаев 2',3'-*O*-изопропилиденовая защита значительно повышала как

цитотоксичность, так и антипролиферативную активность, что могло быть связано со снижением чувствительности к аденозиндезаминазам.

Апоптоз – это процесс, который отвечает за запрограммированное уничтожение клеток во время нормального развития эукариот и поддержания гомеостаза организма. Этот путь контролируется семейством белков BCL-2 [81]. Устойчивость к апоптозу является общей чертой злокачественных новообразований и считается ключевым признаком рака [82], поэтому воздействие на специфические антиапоптотические пути является многообещающей стратегией лечения рака.

ABT-737 (схема 1.47) – это первый ингибитор белков BCL-2/BCL-X_L. Он обладает значительной противоопухолевой активностью в модели неходжкинской В-клеточной лимфомы [83], активностью в отношении мелкоклеточного рака легких [84], в комбинации с паклитакселом противоопухолевой активностью в отношении гепатобластомы [85]. Модификация структуры ABT-737 привела к получению навитоклакса (ABT-263), перспективного апоптотического препарата, эффективного при лечении гематологических злокачественных опухолей и мелкоклеточного рака легких [86].

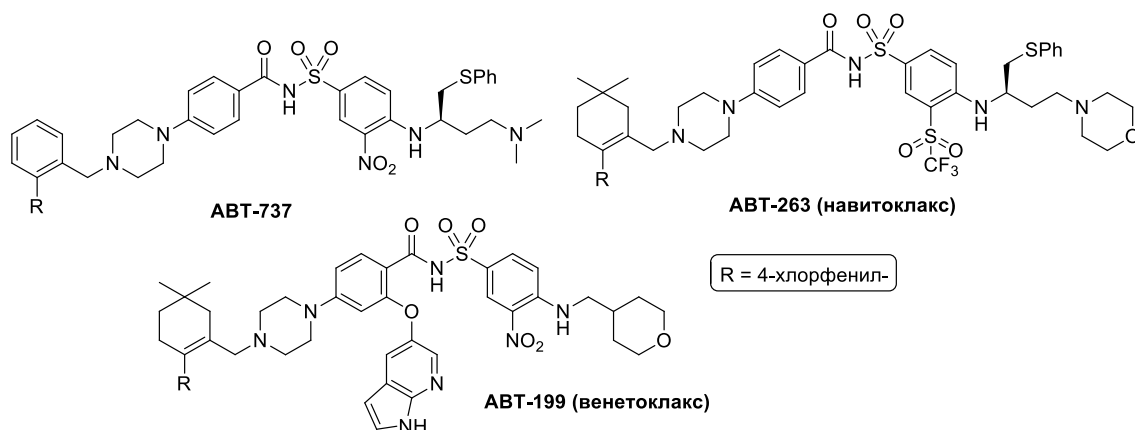


Схема 1.47 – Ингибиторы BCL-2/BCL-X_L

Была получена серия конъюгатов пиперазинзамещенного навитоклакса с VHL-лигандом 2 (VHL ligand 2) **108a-d**, **109a,b** (схема 1.48) [87]. Структура таких конъюгатов отвечает строению молекул-химер PROTAC (*proteolysis targeting chimera*, комбинированная молекула выборочного протеолиза белка), которые состоят из трех основных элементов: лиганда целевого белка (в частности, протеинкиназ, ядерных рецепторов, регуляторных белков и т.д.), лиганда фермента убиквитинлигазы E3 (помалидомид, талидомид, VHL-лиганды и др.) и линкера. В основе технологии PROTAC лежит стратегия использования убиквитин-протеасомной системы для нацеливания на определенный белок и индукции его деградации в клетке [88]. Использование PROTAC стало многообещающим подходом для таргетной терапии различных заболеваний, особенно, рака [89].

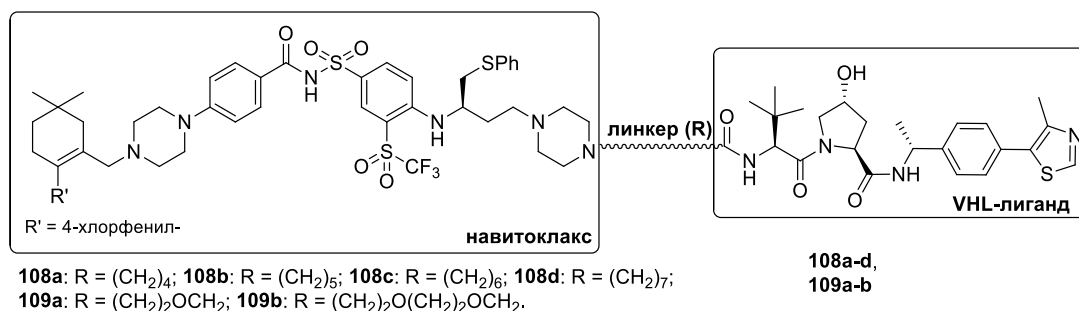


Схема 1.48 – PROTAC-конъюгаты пиперазинсодержащего производного навитоклакса и VHL-лиганда 2, содержащие различные ω -аминокислоты

Соединения **108a-d** и **109a,b** были получены из навитоклакса, в котором морфолиновый остаток замещен на пиперазин (**110**), по реакции с эфирами бромкислот **111a-d** или тозилатов **112a,b** в присутствии карбоната калия, йодида натрия в ДМСО. Гидролиз полученных эфиров приводил к получению кислот **113a-f**. Дальнейшая их конденсация с VHL-лигандом 2 в присутствии HATU и TЭА позволила получить целевые конъюгаты **108a-d** и **109a,b** (схема 1.49) [87]. В качестве линкера в данной группе соединений использованы ω -аминокислоты (**108a-d**) и кислородсодержащие «псевдо- ω -аминокислоты» (**109a,b**) (схема 1.49).

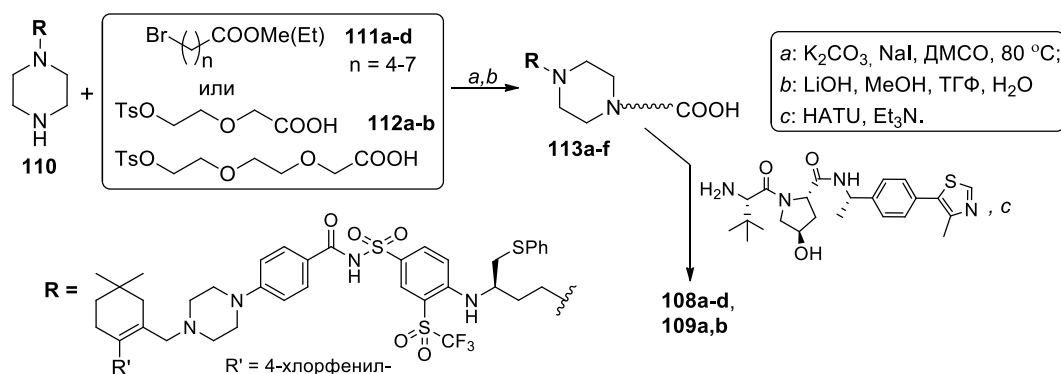


Схема 1.49 – Синтез производных **108a-d** и **109a,b**

Показано, что соединения **108a-d** и **109a,b** проявляют активность в отношении клеточной линии MOLT-4 в наномолярном количестве. Среди соединений **108a-d** наиболее активными являются производные 6-аминогексановой **108b** (ИД₅₀ 82,0 нМ) и 7-аминогептановой кислот **108c** (ИД₅₀ 94,5 нМ). Соединение с самым длинным линкером **108d** было наименее активным (ИД₅₀ 181 нМ). Для сравнения были получены соединения **109a,b** с кислородсодержащими «псевдо»- ω -аминокислотными линкерами. Такая модификация привела к снижению противоопухолевой активности (ИД₅₀ 914 и 1243 нМ соответственно).

Также были получены конъюгаты *N*-метиламинсодержащего навитоклакса с VHL-лигандом (соединения **114a-f**) (схема 1.50) [87].

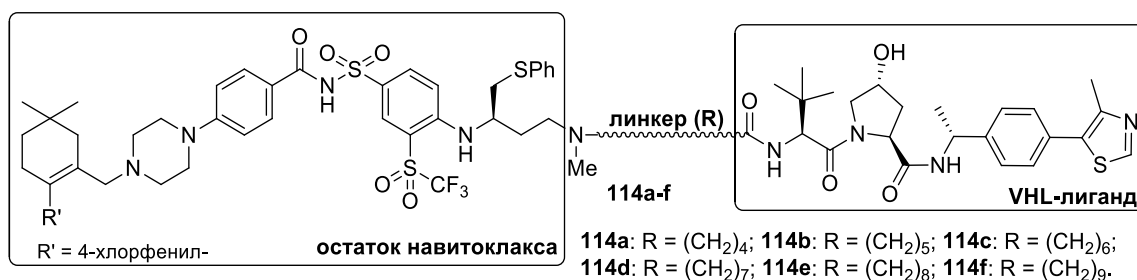


Схема 1.50 – PROTAC-конъюгаты метиламинсодержащих производных навитоклакса и VHL-лиганда

Соединения **114a-f** синтезировали исходя из соединения **115**, содержащего остаток метиламина, эфиров бромкислот **111a-f** и VHL-лиганда 2 (схема 1.51).

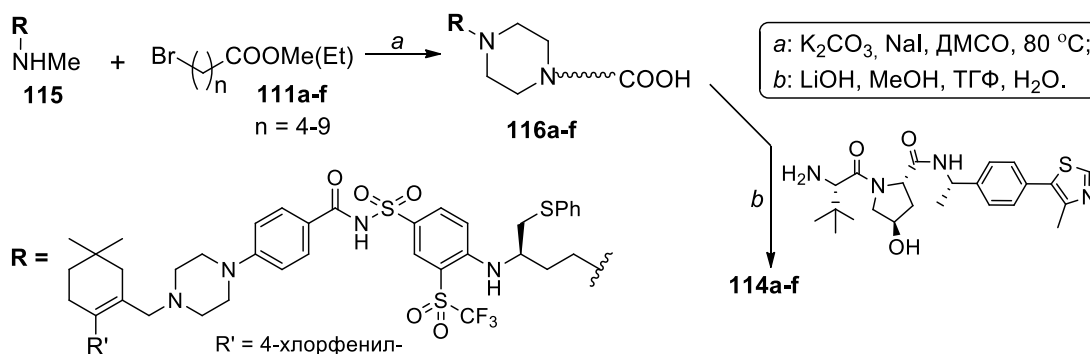


Схема 1.51 – Синтез конъюгатов **114a-f**

Показано, что при увеличении длины линкера (от γ -аминомасляной до 7-аминогептановой кислот) в соединениях **114a-c** происходит заметное увеличение противоопухолевой активности (ИД₅₀ от 1243 до 81,3 нМ). Значения ИД₅₀ производных 8-аминооктановой и 9-аминононановой кислот (**114d,e**) в отношении клеточной линии MOLT-4 составляли 147 и 139 нМ соответственно. Конъюгат с остатком 10-аминодекановой кислоты **114f** был неактивен (ИД₅₀ 1058 нМ) [87].

Была разработана и третья группа производных навитоклакса **117a-e** (схема 1.52) [87]. В данном случае в качестве аминокомпоненты использовали остаток противомиеломного препарата помалидомида.

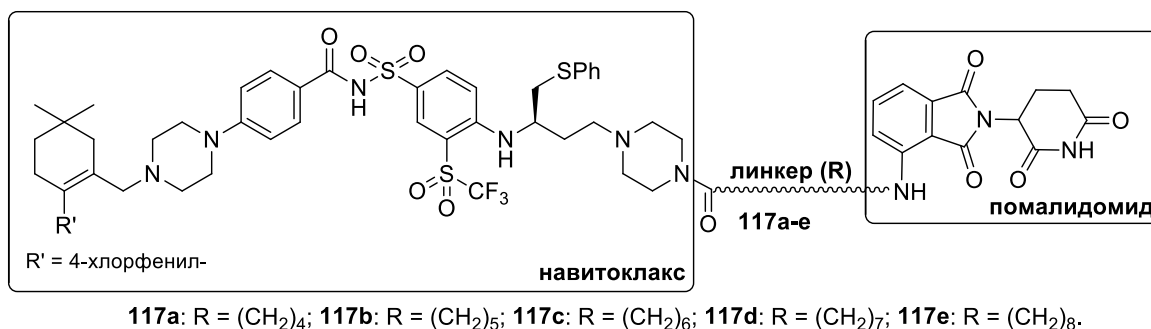


Схема 1.52 – PROTAC-конъюгаты производных пиперазинсодержащего навитоклакса и помалидомида

В качестве исходного соединения использовали фторированный талидомид **118** (талидомид 4-фторид, Cereblon ligand 4), который вводили в реакцию с соответствующими ω -аминокислотами в присутствии DIPEA в ДМФА (схема 1.53). Далее кислоты **119a-e** конденсировали с модифицированным навитоклаксом **110**, используя HATU в качестве конденсирующего агента.

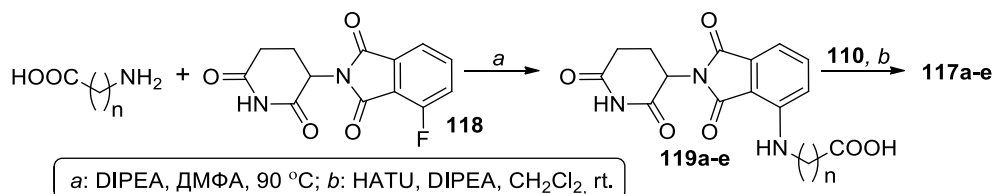


Схема 1.53 – Синтез конъюгатов **117a-e**

Показано, что активность конъюгатов навитоклакса **117a-e** сильно зависит от длины ω -аминокислотного линкера. Так, наиболее активным в ряду было производное γ -аминомасляной кислоты **117a** (ИД₅₀ 82,0 нМ), менее активными – 5-аминопентановой **117b** (ИД₅₀ 346 нМ) и 6-аминогексановой **117c** (ИД₅₀ 518 нМ) кислот. Дальнейшее увеличение линкера (**117d-e**) привело к потере противоопухолевой активности [87].

Получены две группы производных венетоклакса **120a-f** и **121a-f** (схема 1.54) [90].

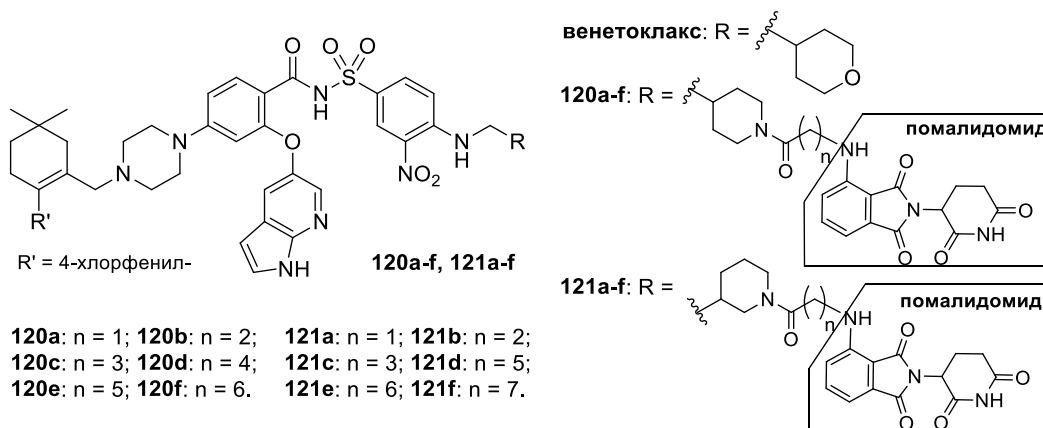


Схема 1.54 – PROTAC-конъюгаты – производные венетоклакса (соединения **120a-f** и **121a-f**)

В качестве исходных соединений использовали *tert*-бутиловые эфиры ω -аминокислот, которые вводили в реакцию нуклеофильного замещения фтора во фторированном талидомиде **118** в присутствии DIPEA в *N*-метилпирролидоне (NMP), затем полученные эфиры гидролизовали до кислот под действием муравьиной кислоты (схема 1.55). Кислоты **119a-g** конденсировали с пиперидинзамещенным венетоклаксом **122a** и его изомером **122b** в присутствии HATU и DIPEA в ДМФА [90].

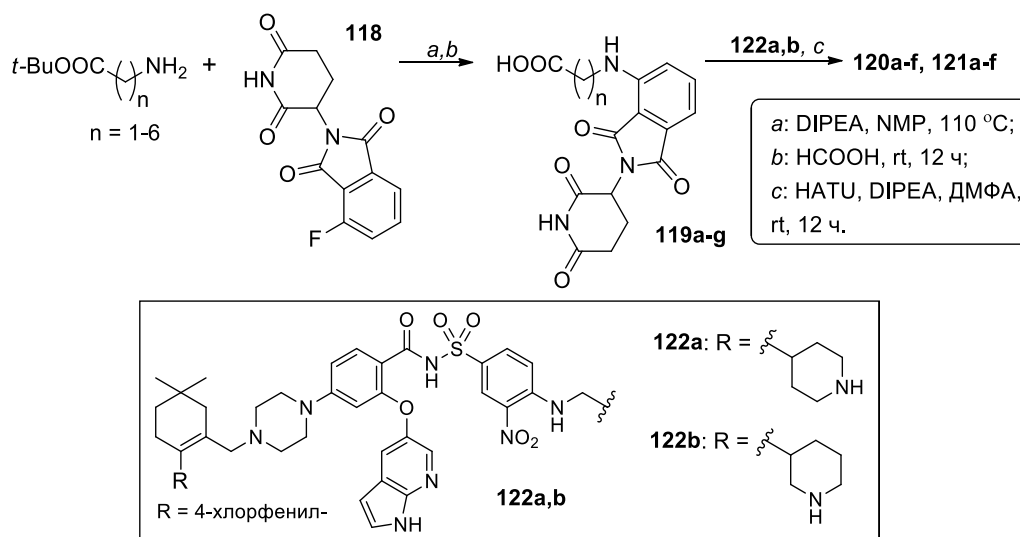


Схема 1.55 – Синтез производных венетоклакса **120a-f** и **121a-f**

Была исследована ингибирующая активность соединений **120a-f** и **121a-f** в концентрациях 100 и 10 нМ в отношении клеточной линии лимфобластного лейкоза RS4;11 (таблица 1.17). Одинаково эффективными были как производное глицина **120a** ($n = 1$), так и производные 6-аминогексановой (**120e**, $n = 5$) и 7-аминогептановой кислот (**120f**, $n = 6$). Среди соединений **121a-f** наиболее эффективным при обеих концентрациях было производное γ -аминомасляной кислоты **121c** ($n = 3$).

Таблица 1.17 – Ингибирующая активность производных **120a-f** и **121a-f** в отношении клеточной линии RS4;11

Соединение	n	Ингибирование роста клеток, %		Соединение	n	Ингибирование роста клеток, %	
		100 нМ	10 нМ			100 нМ	10 нМ
120a	1	93,43	70,18	121a	1	96,96	28,79
120b	2	88,24	28,69	121b	2	87,41	35,09
120c	3	90,89	19,91	121c	3	94,90	55,01
120d	4	96,08	34,93	121d	5	91,08	15,39
120e	5	97,50	64,96	121e	6	71,73	20,99
120f	6	97,01	76,64	121f	7	62,67	19,21

Были получены также еще две группы PROTAC-производных венетоклакса (схема 1.56, соединения **123a-g** и **124a-g**) [90].

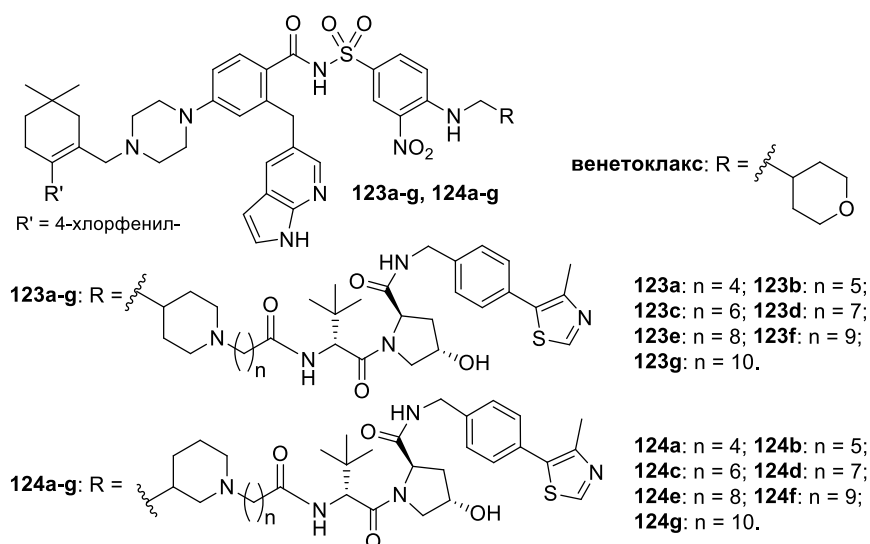


Схема 1.56 – PROTAC-конъюгаты – производные венетоклакса (соединения **123a-g** и **124a-g**)

Соединения **123a-g** и **124a-g** получены в результате ацилирования амина **125** (VH032 лиганд) хлорангидридом соответствующих бромкислот в присутствии ТЭА и последующего нуклеофильного замещения брома в бромкислотах **126a-g** производными венетоклакса **122a** и **122b** (схема 1.57).

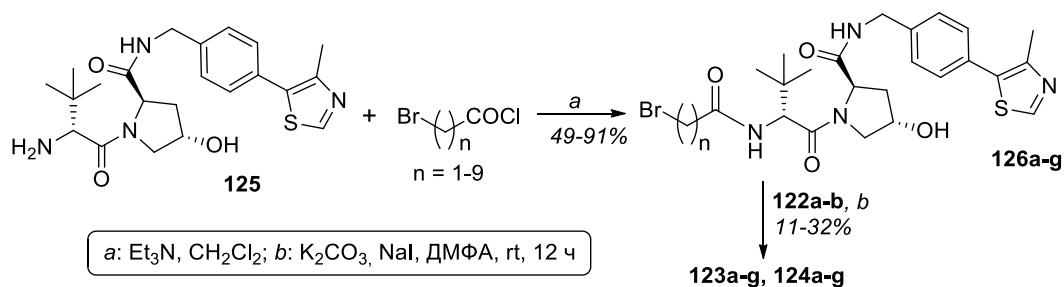


Схема 1.57 – Синтез соединений **123a-g** и **124a-g**

Изучение противоопухолевой активности соединений **123a-g** и **124a-g** в отношении острого лимфобластного лейкоза RS4;11 показало, что наиболее активными в этих группах соединений являются производные 10-аминодекановой кислоты **123f** и **124f** (таблица 1.18). Наблюдается некоторая зависимость ингибирующей активности от длины линкера. Все полученные конъюгаты (за исключением соединения **123b**) более активны, чем препарат сравнения венетоклакс.

Таблица 1.18 – Противоопухолевая активность PROTAC-производных **123a-g** и **124a-g**

Соединение	n	ИД ₅₀ , нМ	Соединение	n	ИД ₅₀ , нМ
123a	4	6,02	124a	4	5,35
123b	5	9,02	124b	5	4,05
123c	6	4,94	124c	6	4,22
123d	7	2,76	124d	7	2,03
123e	8	1,36	124e	8	1,29
123f	9	1,14	124f	9	0,72
123g	10	1,30	124g	10	0,96
венетоклакс		7,99			

Гистон-деметилаза JMJD2C является одной из гистон-лизин-деметилаз, она играет решающую роль в прогрессировании рака молочной железы [91], прямой кишки [92], остеосаркомы [93] и др. и поэтому представляет собой перспективную противоопухолевую мишень.

N-Гидроксилзамещенные производные β -аланина **129a-h** синтезированы исходя из хлорангидридов ω -бромалкановых кислот ($n = 4-11$) в результате ацилирования *tert*-бутилового эфира 3-(бензилоксиамино)пропановой кислоты **127**, замещения атома брома в амидах **128a-h** диметиламином и последующего удаления защитных групп (схема 1.58) [94].

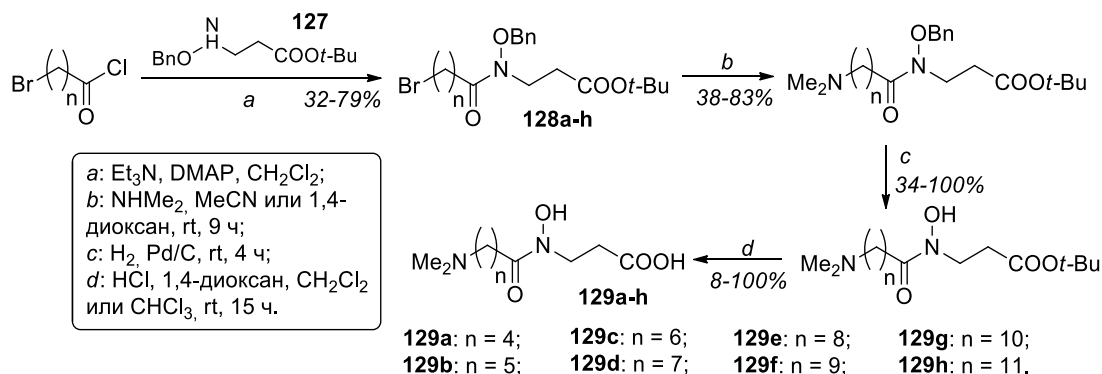


Схема 1.58 – Синтез *N*-гидроксилзамещенных производных β -аланина **129a-h**

Показано, что наибольшей ингибирующей активностью в отношении деметилазы JMJD2C обладает производное 9-аминононановой кислоты **129e**, ИД₅₀ 0,50 мкМ. Близкой активностью обладает гомолог, производное 8-аминооктановой кислоты **129d** (ИД₅₀ 0,70 мкМ) [94].

Наиболее активное соединение **129e** было модифицировано путем замены фрагмента диметиламина на другие амины, в результате чего были получены соединения **130a-f** (схема 1.59). Показано, что при замене диметиламина на другие амины ингибирующая активность сохраняется на высоком уровне; ИД₅₀ находится в диапазоне 0,50–1,20 мкМ.

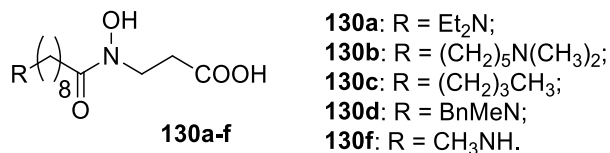


Схема 1.59 – *N*-Гидроксилзамещенные производные β -аланина **130a-f**, содержащие фрагмент 9-аминононановой кислоты

Протеинкиназа СК2 фосфорилирует множество субстратов и экспрессируется во всех клетках. Однако ее уровень обычно выше в раковых клетках, где она выполняет антиапоптотическую функцию, а также отвечает за миграцию и пролиферацию опухолевых клеток [95]. Получена группа производных 4-(2-амино-1,3-тиазол-5-ил)бензойной кислоты **131a-e**, содержащих фрагменты ω -аминокислот различной длины (схема 1.60), в качестве

ингибиторов протеинкиназы СК2 [96].

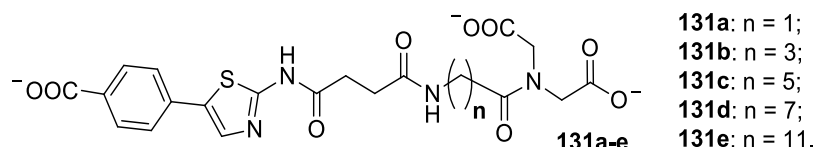


Схема 1.60 – Производные 4-(2-амино-1,3-тиазол-5-ил)бензойной кислоты, содержащие фрагменты ω-аминокислот различной длины

Твердофазный синтез соединений **131a-e** проводили с использованием пептоида **132**, содержащего остаток 2-хлортритильной смолы (схема 1.61) [96]. В результате конденсации Fmoc-защищенных ω-аминокислот с амином **132** в присутствии COMU и 2,4,6-коллидина были получены амиды **133a-e**, которые подвергали действию раствора пиперидина в ДМФА для удаления защитной группы; полученные амины **134a-e** конденсировали с метиловым эфиром 4-(2-амино-5-тиазолил)бензойной кислоты **135**, в качестве конденсирующего агента применяли COMU. Далее в результате последовательных реакций с трифторуксусной кислотой и гидроксидом калия были получены целевые производные 4-(2-амино-1,3-тиазол-5-ил)бензойной кислоты **131a-e**.

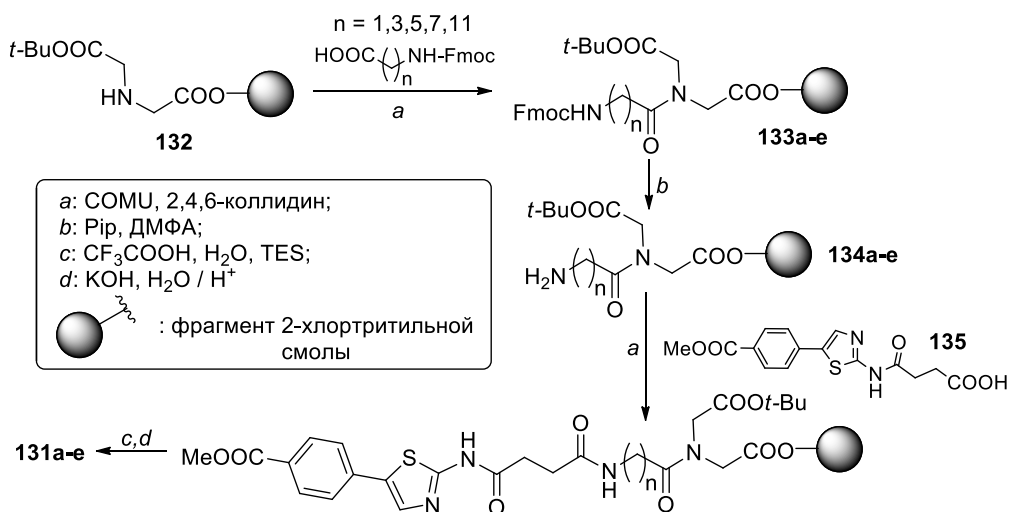


Схема 1.61 – Синтез соединений **131a-e**

Показано, что наиболее активно связывается с протеинкиназой СК2 производное 12-аминододекановой кислоты **131e** (таблица 1.19). Уменьшение длины линкера до γ-аминомасляной кислоты (**131b**) несущественно снижало активность, в то же время производное глицина **131a** обладало практически той же активностью, что и производное 6-аминогексановой кислоты **131c**.

Таблица 1.19 – Ингибирующая активность соединений **131a-e**, **136a-d** в отношении протеинкиназы СК2

Подход к модификации	Соединение	K_d , нМ	Подход к модификации	Соединение	K_d , нМ
Увеличение длины ω -аминокислотного линкера	131a	28	Модификация амина в производных 12-аминододекановой кислоты	136a	8
	131b	40		136b	4
	131c	27		136c	0,3
	131d	13		136d	0,04
	131e	9			

Была проведена модификация наиболее активного соединения **131e** (схема 1.62) путем добавления карбоксиметилглициновых остатков (**136a-d**), благодаря чему удалось оптимизировать структуру и получить вещество с наибольшей ингибирующей активностью (соединение **136d**, $K_d = 0,04$ нМ).

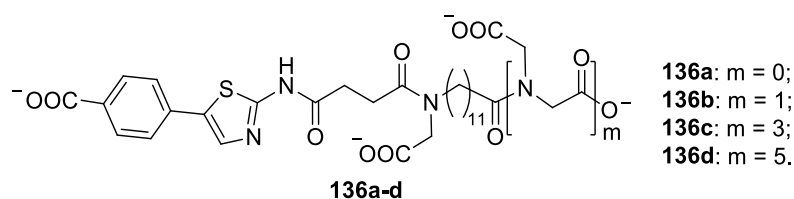


Схема 1.62 – Модифицированные производные 4-(2-амино-1,3-тиазол-5-ид)бензойной кислоты, содержащие фрагмент 12-аминододекановой кислоты

Доксорубин широко используется в онкологической практике с конца 1960-х годов. Синтезированы производные доксорубина, содержащие остатки ω -аминокислот, 6-аминогексановой и 11-аминоундекановой (**137a,b**, схема 1.63) [97], с целью достижения наилучшей селективности противоопухолевого действия. Эти производные также содержат фрагмент Glu-мочевина-Lys, который связывается с PSMA [98], являющимся молекулярным маркером РПЖ.

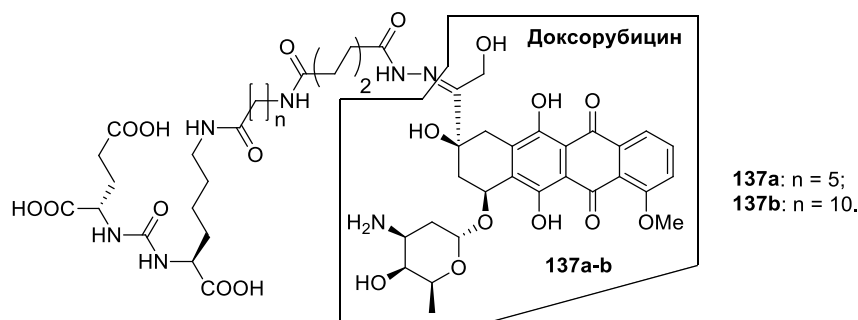


Схема 1.63 – Производные доксорубина **137a,b**

Синтез соединений **137a,b** проводили исходя их бензиловых эфиров 6-аминогексановой и 11-аминоундекановой кислот, которые подвергали ацилированию монометилловым эфиром адипиновой кислоты **138** с образованием амидов **139a,b** (схема 1.64). Далее защитную группу удаляли гидролизом, кислоты **140a,b** конденсировали по свободной аминогруппе PSMA-лиганда **141** в присутствии HBTU, HOBT и DIPEA в ДМФА. С целью направленной доставки в ткани-мишени целевых производных

был введен остаток гидразида. Далее проводили гидролиз сложноэфирных групп и взаимодействие полученных гидразидов с гидрохлоридом доксорубина.

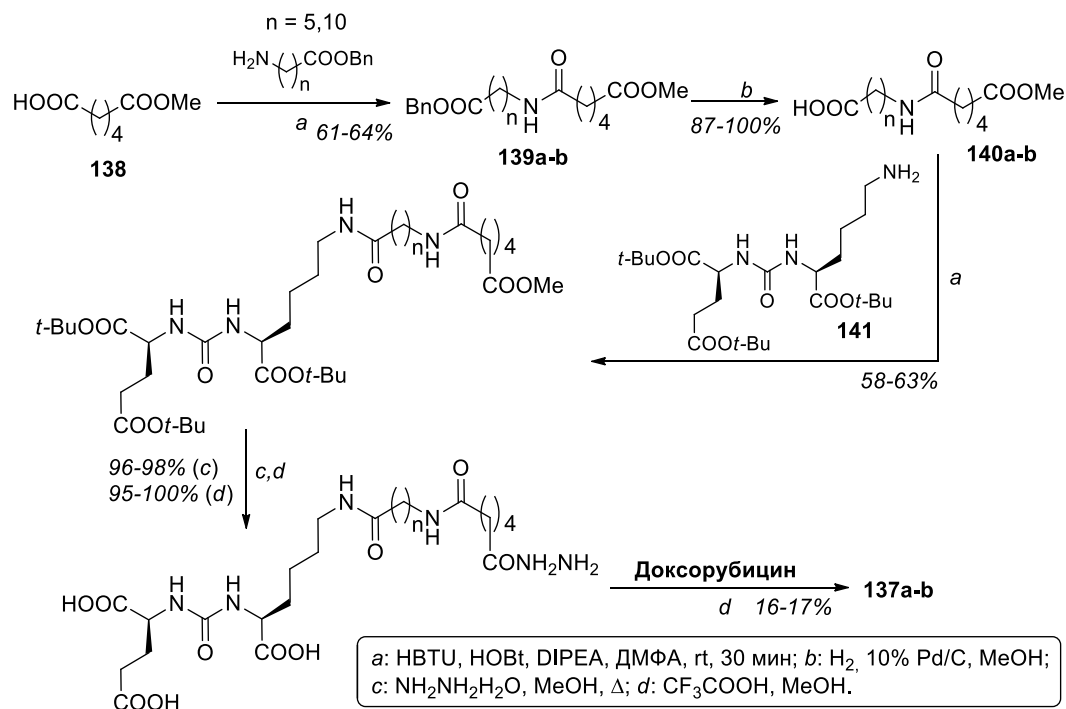


Схема 1.64 – Синтез производных доксорубина **137a,b**

Изучение противоопухолевой активности соединений **137a,b** в отношении двух клеточных линий аденокарцином предстательной железы LNCa (андроген-чувствительная) и PC-3 (не чувствительная к андрогенам) показало, что эти соединения более селективно действуют в отношении андроген-чувствительной линии клеток LNCaP, чем к не чувствительной к андрогенам линии PC-3. Наиболее активно производное 6-аминогексановой кислоты **137a** (ИД₅₀ 331 нМ).

1.3.2 Другие виды биологической активности

N-Миристоилтрансфераза является мишенью для разработки новых противовирусных и противогрибковых средств. Исследования показали, что грибы *C. albicans* и *C. neoformans*, нуждаются в *N*-миристоилтрансферазе для поддержания их жизнеспособности в культуре и *in vivo* [99, 100].

Чтобы определить, какое расстояние между *N*-концевой аминогруппой и критическим элементом узнавания Ser-Lys-Leu *N*-миристоилтрансферазы является оптимальным для ее ингибирования, были получены производные ω-аминокислот различной длины **144a-e** (схема 1.65) [101].

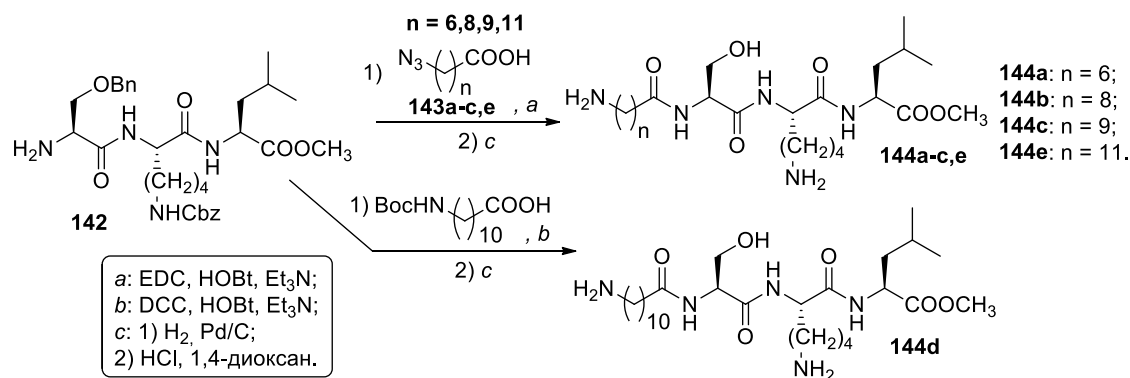


Схема 1.65 – Синтез ингибиторов *N*-миристоилтрансферазы *C. albicans*

В качестве исходных соединений – носителей остатков ω-аминокислот были выбраны соответствующие азиды **143a-c,e** (в случае n = 6, 8, 9, 11) и *N*-Boc-защищенная 11-аминоундекановая кислота, которые подвергались конденсации с защищенным трипептидом Ser-Lys-Leu **142** с последующим гидрогенолизом для удаления защитных групп и восстановления азидов (схема 1.66). В случае соединения **144d** последней стадией синтеза была обработка соляной кислотой в 1,4-диоксане для удаления *N*-Boc-группы.

Показано, что ингибирующая активность производных 10-аминодекановой (**144c**), 11-аминоундекановой (**144d**) и 12-аминододекановой кислот (**144e**) в отношении *N*-миристоилтрансферазы *C. albicans* сопоставима (таблица 1.20). Более короткие цепи, чем n = 6, не рассматривались, так как почти вся ингибирующая активность была потеряна уже для гептаноильного производного [101].

Таблица 1.20 – Ингибирующая активность соединений **144a-e** в отношении *N*-миристоилтрансферазы *C. albicans*

Соединение	n	ИД ₅₀ , мкМ
144a	6	>100
144b	8	5,2
144c	9	0,3
144d	10	0,6
144e	11	0,27

Нуклеозидный антибиотик капурамицин обладает активностью в отношении ряда микроорганизмов [102]. Синтезирована группа производных капурамицина, содержащих фрагменты различных ω-аминокислот (**145a,b**) и «псевдо»-ω-аминокислот (**145c-d**) (схема 1.66) [103]. Показано, что с увеличением длины алкильного фрагмента (от остатка 8-аминооктановой кислоты **145a** к фрагменту 11-аминоундекановой кислоты **145b**) минимальная ингибирующая концентрация уменьшается (МИК в отношении *M. tuberculosis* 8 мкг/мл → 2 мкг/мл). Соединения с «псевдо»-ω-аминокислотными фрагментами **145c,d** показали умеренную антитуберкулезную активность (МИК 8 мкг/мл и 4 мкг/мл).

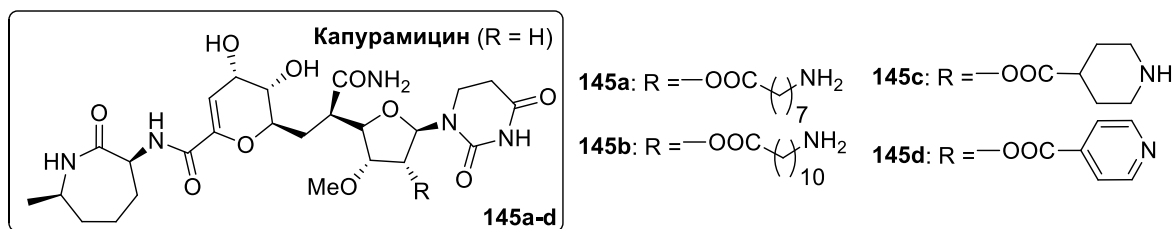


Схема 1.66 – Производные капурамицина **145a-d**

Антимикробные пептиды (АМП) относятся к классу небольших пептидов, которые широко распространены в природе, и являются важной частью жизнедеятельности различных организмов. АМП обладают ингибирующим эффектом в отношении бактерий, грибов, паразитов и вирусов [104]. Фундаментальный принцип, лежащий в основе их действия, – это способность молекулы принимать форму, в которой кластеры гидрофобных и катионных аминокислот пространственно организованы в дискретных секторах молекулы («амфипатический дизайн») [105].

Циклические пептидные структуры обычно разрабатываются как пространственно затрудненные структуры, хотя циклические антимикробные пептиды природного происхождения часто имеют гибкие остатки (например, коллистин и циннамицин). Авторы работы [106], напротив, синтезировали ряд циклических гептапептидов **146a-e** (схема 1.67) с гибкими ω -аминокислотными спейсерами.

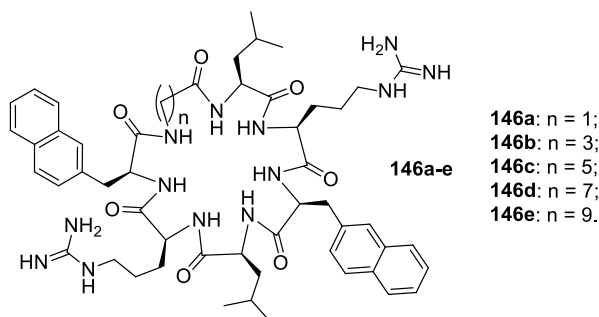


Схема 1.67 – Антимикробные пептиды **146a-e**

Синтез циклических пептидов **146a-e** можно разделить на два этапа: получение гептапептида и его циклизация (схема 1.68). Первый этап подразумевает постепенное наращивание цепи пептида с использованием метода твердофазного пептидного синтеза в результате повтора реакций конденсации Fmoc-защищенной кислоты и аминокислоты в присутствии HOAt, NATU, DIPEA и удаления Fmoc-группы. После получения необходимого линейного пептида, твердый носитель удаляли при выдерживании в растворе уксусной кислоты, трифторэтанола и хлористого метилена. Циклизацию пептида осуществляли с помощью DMTMM (4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2-ил)-4-метилморфолиния тетрафторборат).

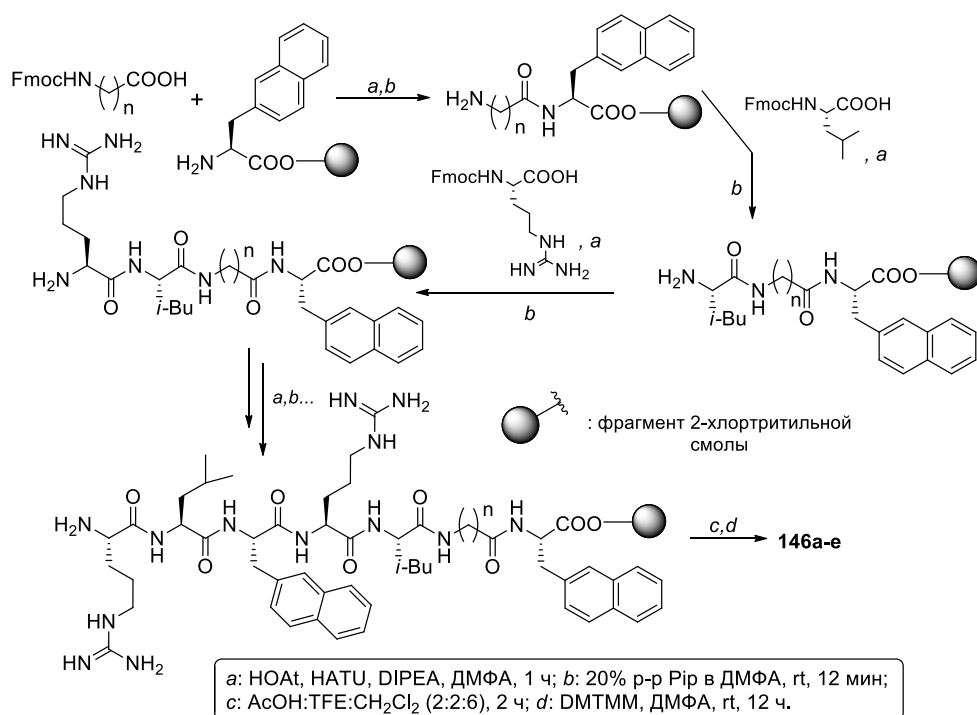


Схема 1.68 – Синтез антимикробных пептидов **146a-e**

При сравнении гемолитической активности соединений **146a-e** можно сделать вывод о том, что она существенно зависит от длины линкера и достигает наибольших значений для длинноцепочечных производных (8-аминооктановой и 10-аминодекановой кислот) (таблица 1.21).

Таблица 1.21 – Гемолитическая и антибактериальная активность пептидов **146a-e**

Соединение	Гемолитическая активность, ЭД ₅₀ , мкМ	МИК, мкг/мл			
		MRSA	VRE	MDR <i>K. pneumoniae</i>	MDR <i>A. baumannii</i>
146a , n = 1	225	8	8	128	128
146b , n = 3	230	16	8	128	128
146c , n = 5	105	8	4	128	64
146d , n = 7	22	2	2	16	8
146e , n = 9	15	4	8	128	16

MRSA – метициллинрезистентный золотистый стафилококк
 VRE – ванкомицинрезистентный энтерококк

Антибактериальная активность в отношении MRSA (метициллинрезистентный золотистый стафилококк) и VRE (ванкомицинрезистентный энтерококк) также связана с длиной алкильного остатка ω-аминокислоты: максимальная активность в отношении обоих патогенов наблюдается для производного 8-аминооктановой кислоты, **146d** (МИК 2 мкг/мл). Следует заметить, что только это соединение в ряду показало значительную активность в отношении других микроорганизмов, *K. pneumoniae* и *A. baumannii*. Соединения с короткими и умеренно гибкими остатками, такими как глицин (**146a**) и γ-аминомасляная кислота (**146b**), обладают близкой по значению антибактериальной активностью (МИК 8–16 мкг/мл). В то

же время эти производные обладают наименьшим повреждающим действием в отношении эритроцитов. Было обнаружено, что замена остатков глицина или γ -аминомасляной кислоты в циклическом пептиде на длинные ω -аминокислоты (6-аминогексановая, 8-аминооктановая и 10-аминодекановая кислоты) увеличивает токсичность для эритроцитов и несколько увеличивает антибактериальную активность.

Позднее эта же группа авторов продолжила изучение циклических пептидов и исследовали их антибактериальную и гемолитическую активность. Были получены производные, содержащие как ω -аминокислоты различной длины (соединения **147a-e**), так и «псевдо- ω -аминокислоты» (соединения **148a,b** и **149a,b**) (схема 1.69) [107].

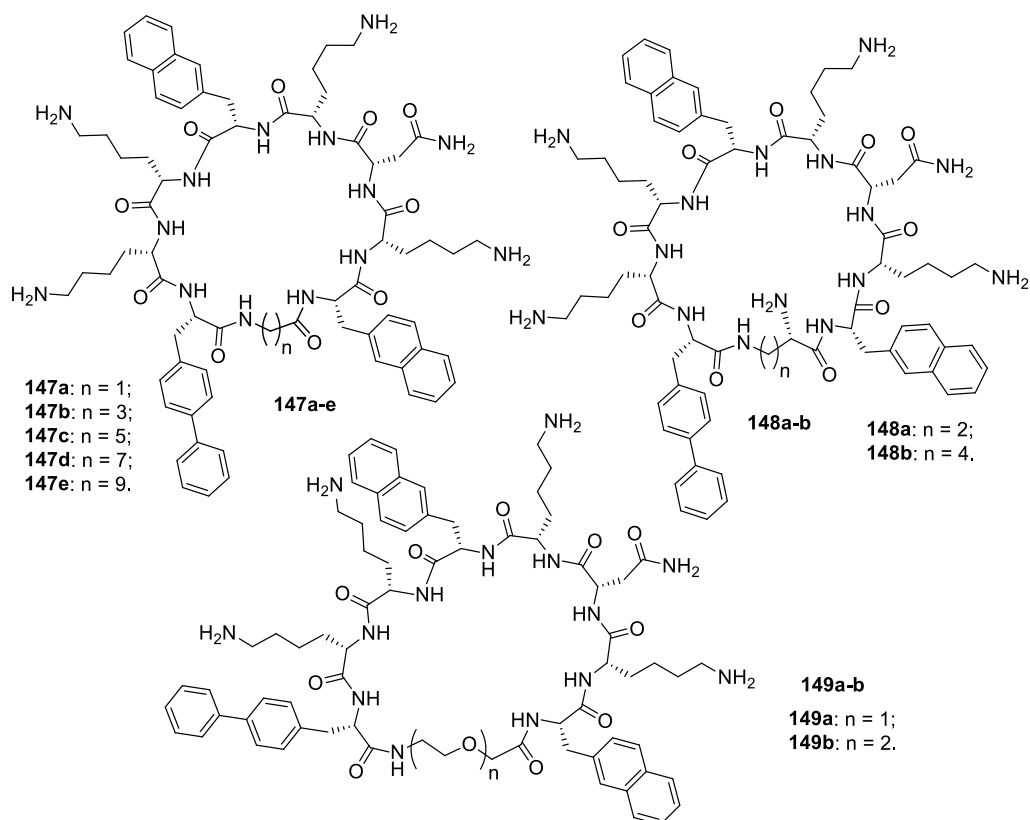


Схема 1.69 – Антимикробные пептиды, содержащие в качестве линкера остатки различных ω -аминокислот и «псевдо- ω -аминокислот»

Подход к синтезу соединений **147-149** был аналогичен синтезу соединений **146**, однако на некоторых этапах использовались иные реагенты. В качестве исходной аминокислоты использовали Fmoc-Asp-Odmb, твердофазного носителя – смолу Tentagel S RAM. Конденсация проводилась при использовании COMU, Охута (оксима этилцианоацетата) и DIPEA, циклизация пептида – при выдерживании в растворе трифторуксусной кислоты, трифторэтанола и воды. Удаление защитных групп осуществляли действием 20% раствора пиперидина в ДМФА и раствора трифторуксусной кислоты в дихлорметане.

В ряду соединений **147-149** наблюдается увеличение гемолитической активности при переходе от остатка γ -аминомасляной кислоты (**147b**) к остатку 8-аминооктановой кислоты. Наибольшую активность в отношении всех патогенов проявило производное 6-аминогексановой кислоты **147c** (таблица 1.22). Введение «псевдо- ω -аминокислот» в качестве линкера (соединения **148a,b**, **149a,b**) привело к исчезновению гемолитической активности.

Таблица 1.22 – Гемолитическая и антибактериальная активность пептидов **147a-e**, **148-149a,b**

Соединение	Гемолитическая активность, ЭД ₅₀ , мкМ	МИК, мкг/мл				
		MRSA	VRE	<i>K. pneumoniae</i> с МЛЮ	<i>A. baumannii</i> с МЛЮ	<i>P. aeruginosa</i>
147a , n = 1	45	8	4	32	32	32
147b , n = 3	155	16	4	32	32	32
147c , n = 5	18	8	2	8	8	16
147d , n = 7	12	4	2	16	16	16
147e , n = 9	5	16	8	>64	16	>64
148a , n = 2	>300	16	2	64	>64	32
148b , n = 4	>300	16	2	64	>64	16
149a , n = 1	>300	16	4	64	32	32
149b , n = 2	>300	16	2	64	16	32

Кожа является чрезвычайно эффективным барьером для поступления чужеродных веществ. Однако иногда его требуется преодолеть для трансдермального введения лекарственных препаратов. Для этого существуют специальные соединения, временно снижающие барьерные свойства кожи, – усилители трансдермальной проницаемости (*transdermal permeation enhancers*) [108]. Транскарбам **12** является мощным усилителем проницаемости с низкой токсичностью [109]. Целью работы [110] стала модификация структуры транскарбама **12**. Были получены две группы соединений: хлориды аммония **150a-h** и карбаматы аммония **151a-h** (схема 1.70). В качестве ω -аминокислот использовали β -аланин, γ -аминомасляную, 5-аминопентановую, 6-аминогексановую, 7-аминогептановую, 8-аминооктановую, 11-аминоундекановую и 12-аминододекановую кислоты.

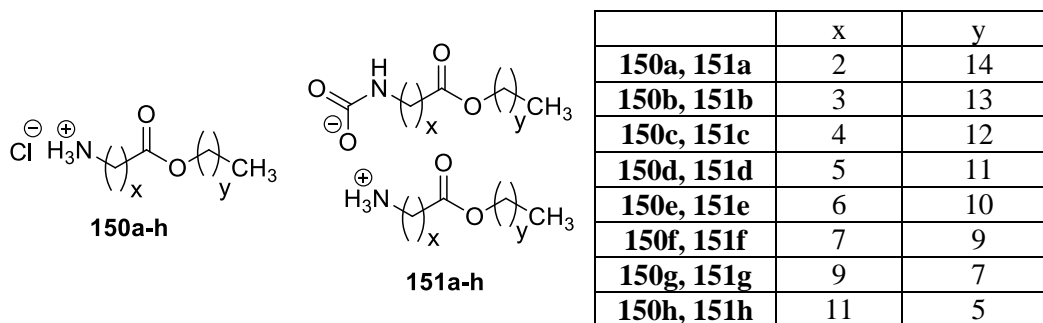


Схема 1.70 – Хлориды и карбаматы аммония – усилители трансдермальной проницаемости

Соединения были синтезированы из соответствующих ω -аминокислот ($n = 1-7, 11$) и ω -бромкислоты ($n = 9$), которые превращали в хлорангидриды и сразу же вводили в реакцию со спиртами с получением эфиров (схема 1.71). В случае производного 10-бромдекановой кислоты далее добавлялась стадия, которая предполагала превращение бромида в амин посредством реакции Габриэля. Полученные в обоих случаях хлориды аммония **151a-h** преобразовывали в карбаматы аммония **152a-h** при действии триэтиламина в смеси воды и диэтилового эфира и диоксида углерода.

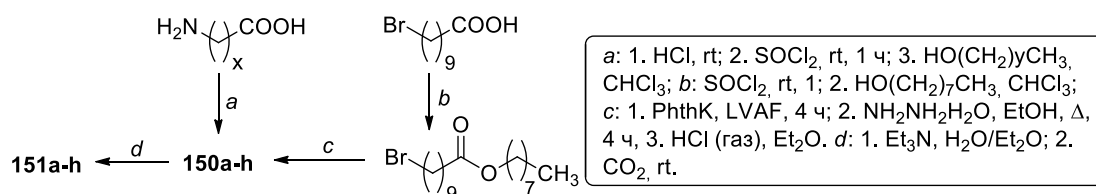


Схема 1.71 – Синтез соединений **150a-h** и **151a-h**

Было показано, что карбаматы аммония являются более активными усилителями проницаемости, чем хлориды аммония. Оптимальными структурами в ряду стали карбаматы **151f** (ундеcanoат 7-аминогептановой кислоты) и **151e** (деcanoат 8-аминооктановой кислоты).

Поиск эффективных методов лечения болезни Альцгеймера (БА) является одной из важнейших задач, стоящих перед современной медициной. Мемантин является антагонистом NMDA-рецепторов, который обладает благоприятным эффектом на когнитивные функции и поведение пациентов с БА, а также хорошо переносится [111]. Ингибиторы ацетилхолинэстеразы (АХЭ) эффективны для лечения БА легкой и средней степени тяжести. Галантамин обладает двойным механизмом действия: он является как ингибитором АХЭ, так и аллостерическим модулятором никотиновых рецепторов. Комбинированная терапия БА мемантином и галантамином является более эффективной в улучшении когнитивных функций, чем терапия только одним из препаратов [112]. В связи с этим были разработаны мультитаргетные соединения **152a-c** в отношении БА, в которых имеется как остаток мемантина, так и галантамина (схема 1.72) [113]. Эти фрагменты соединены друг с другом линкером – ω -аминоалкановыми кислотами различного строения (γ -аминомасляная, 5-аминопентановая, 6-аминогексановая кислоты).

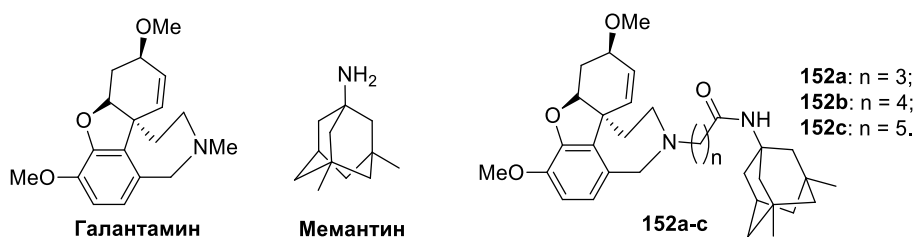


Схема 1.72 – Галантамин, мемантин и их производные **152a-c**

Соединения были синтезированы в результате ацилирования мемантина

хлорангидридами ω -хлоралкановых кислот в присутствии карбоната калия в ацетонитриле и нуклеофильного замещения хлора в дезметилгалантамине **153** в присутствии триэтиламина, йодида калия в ацетонитриле (схема 1.73).

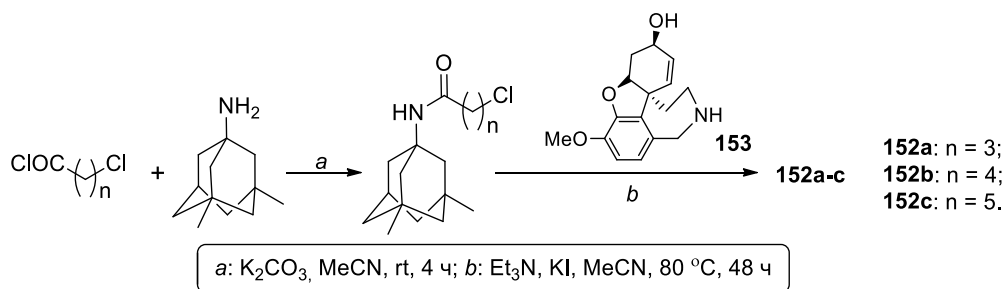


Схема 1.73 – Синтез соединений **152a-c**

По результатам определения ацетилхолинэстеразной активности полученных соединений было показано, что наибольшую активность проявляет производное 6-аминогексановой кислоты **152c**. Однако в целом вся группа веществ обладала большей активностью, чем препарат сравнения галантамин. Следует отметить, что соединение **152c** также показало значимую способность ингибировать NMDA-индуцированную нейротоксичность в субнаномолярной концентрации (ИД₅₀ 0,37 нМ). Остальные соединения не могли быть испытаны по причине высокой цитотоксичности.

В терапии БА применяются агонисты центральных мускариновых холинергических рецепторов, однако терапевтическим агентам этого класса присущи серьезные побочные эффекты и токсичность [114]. В связи с этим, были разработаны ω -функционализированные амиды – производные оксотреморина, селективного агониста мускариновых ацетилхолиновых рецепторов [115]. Был получен ряд веществ (схема 1.74), в которых последовательно увеличивается число метиленовых групп ω -аминокислоты от глицина до 8-аминооктановой кислоты. Также можно выделить три группы соединений: *N*-Вос-защищенные (**154a-g**), NH₂-содержащие (**155a-g**) и ацетилзамещенные (**156a-g**) (схема 1.74).

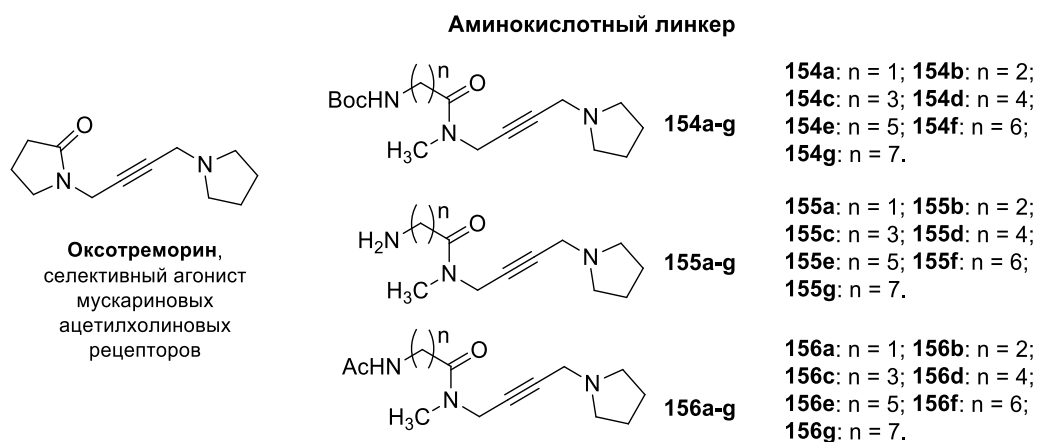


Схема 1.74 – Аналоги оксотреморина **154a-g**, **155a-g**, **156a-g**

В качестве исходного соединения использовали *N*-Вос-*N*-метилпропаргиламин **157**,

который подвергали конденсации по Манниху с пирролидином, параформальдегидом при катализе хлоридом меди(I) и удалению защитной *N*-Вос-группы при действии трифторуксусной кислоты (схема 1.75). Далее амин **158** конденсировали с *N*-Вос-защищенными ω-аминокислотами в присутствии DCC в ацетонитриле с получением целевых соединений **154a-g**, у которых далее удаляли защитную группу и ацетилировали уксусным ангидридом.

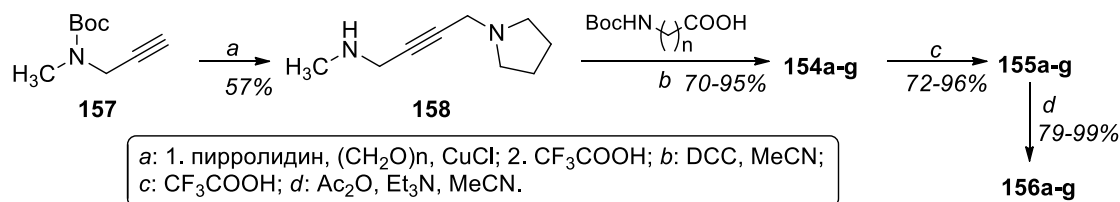


Схема 1.75 – Синтез аналогов оксотреморина **154a-g**, **155a-g**, **156a-g**

В целом наблюдалась следующая тенденция: в группе *N*-Вос- и ацетилсодержащих соединений **154a-g** и **156a-g** при увеличении длины аминокислотного фрагмента регистрировали уменьшение степени ингибирования цАМФ вплоть до полного исчезновения для соединений с наиболее длинным линкером, 8-аминооктановой кислотой. Для NH_2 -содержащих производных **155a-g** зависимость нелинейная, но отсутствие активности для производного 8-аминооктановой кислоты также сохранялось.

Были также получены пептидсодержащие производные **159a,b**, **160a,b**, **161a,b**, **162a,b**, которые содержат фрагменты γ-аминомасляной и 6-аминогексановой кислот (схема 1.76) [115].

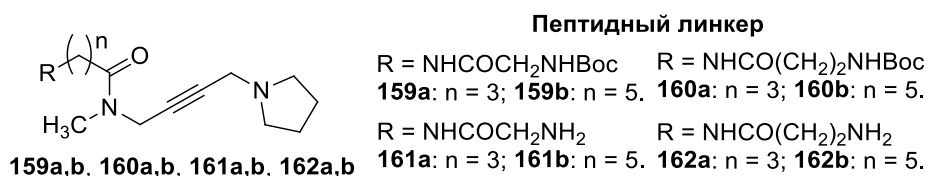


Схема 1.76 – Аналоги оксотреморина **159a,b**, **160a,b**, **161a,b**, **162a,b**

Исходные соединения, **155c** и **155e**, вводили в конденсацию с *N*-Вос-глицином и *N*-Вос-β-аланином в присутствии DCC и ТЭА – так были получены *N*-Вос-защищенные производные **159a,b** и **160a,b**, дальнейшее действие трифторуксусной кислоты позволило получить соединения **161a,b** и **162a,b**. Примечательно, что группа пептидных аналогов оксотреморина ингибирующей активности не проявила.

Бетулиновая кислота представляет собой пентациклический тритерпеноид, обычно выделяемый из березы (род *Betula*), но также и из других растений. Бетулиновая кислота обладает широким спектром фармакологической активности: противовирусной, противоопухолевой, противовоспалительной [116, 117].

Синтезированы производные бетулиновой кислоты **163a,b** и **164a,b** [118], содержащие

фрагменты глицина, 8-аминооктановой, 11-аминоундекановой кислот (схемы 1.77, 1.78), исследована противовирусная активность соединений в отношении ВИЧ-1.

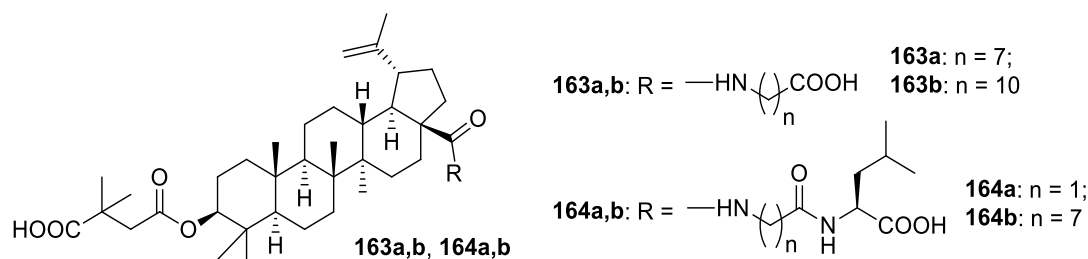


Схема 1.77 – Производные бетулиновой кислоты, содержащие фрагменты 8-аминооктановой и 10-аминоундекановой кислот

В качестве исходного соединения для синтеза производных **163a,b** и **164b** использовали 3-О-ацетилбетулиновую кислоту **165**, которую обрабатывали оксалилхлоридом, затем хлорангидрид вводили в реакцию ацилирования метиловых эфиров ω-аминокислот (схема 1.78).

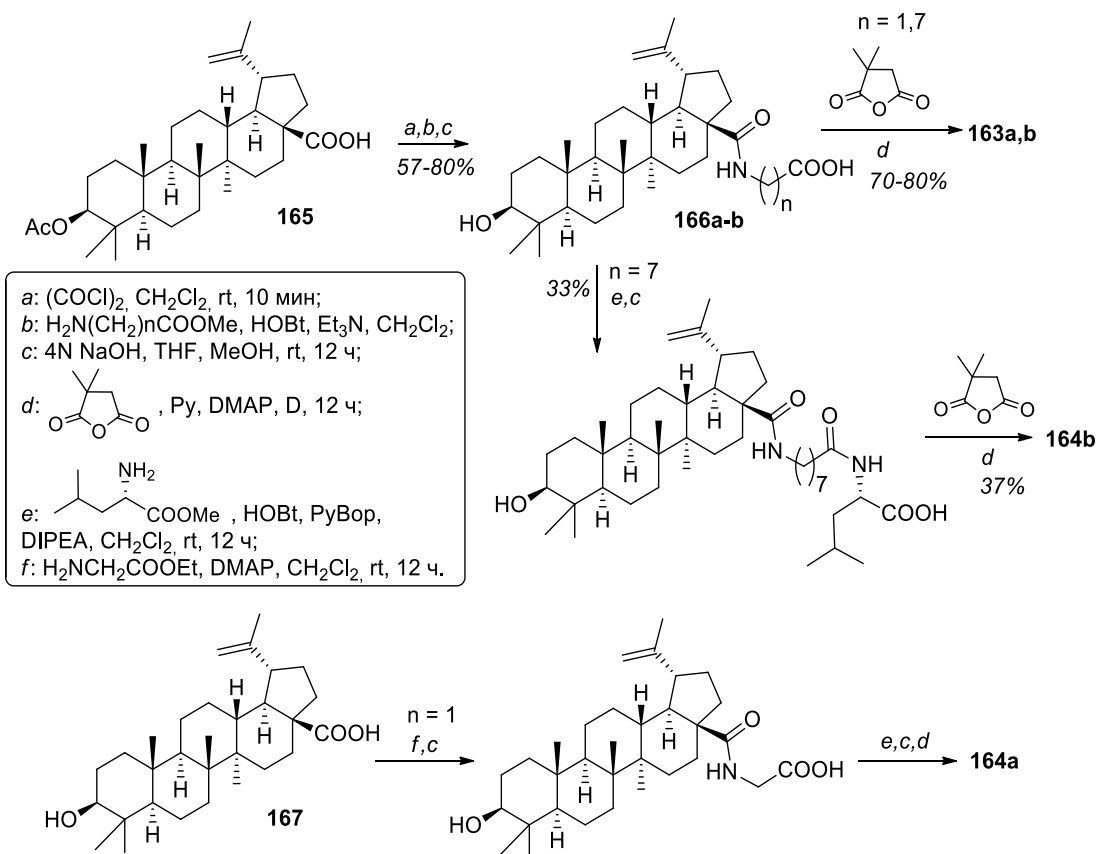


Схема 1.78 – Синтез производных бетулиновой кислоты **163a,b** и **164a,b**

Полученные интермедиаты подвергали действию гидроксида натрия в смеси ТГФ/MeOH. Кислоты **166a,b** этерифицировали 2,2-диметилсукциным ангидридом в присутствии диметиламинопиридина (DMAP) и пиридина с получением целевых бифункциональных соединений **163a,b**. В свою очередь, для синтеза производного **163b** интермедиат **166a** конденсировали с лейцином в присутствии PyVor (бензотриазол-1-

илокситрипирролидинофосфония гексафторфосфат), HOBT и DIPEA с образованием соответствующего амида, который далее подвергали последовательным стадиям гидролиза метилового эфира и этерификации 2,2-диметилянтарным ангидридом.

В качестве исходного соединения для синтеза производного **164a** использовали незащищенную бетулиновую кислоту **167**. В этом случае для первоначального образования амида использовались более мягкие условия, поэтому защита гидроксильной группы в виде ацетата не требовалась. Синтез соединения **164a** состоял из трех стадий: (i) конденсация бетулиновой кислоты с метиловым эфиром глицина и последующий гидролиз метилового эфира; (ii) конденсация полученного интермедиата с метиловым эфиром лейцина и гидролиз сложного эфира; (iii) этерификация кислоты 2,2-диметилянтарным ангидридом.

Изучение активности производных бетулиновой кислоты **163a,b** показало, что при увеличении длины ω -аминокислоты, увеличивается как противовирусная активность, так и цитотоксичность. Для соединения с 8-аминооктановой кислотой в структуре было получено значение ИД₅₀ 0,077 мкМ, а с остатком 11-аминоундекановой кислоты – значение ИД₅₀ 0,012 мкМ. В случае лейцинсодержащих соединений **164a,b** ситуация противоположная: при увеличении длины линкера от глицина до 8-аминооктановой кислоты противовирусная активность снизилась от ИД₅₀ 0,016 мкМ до ИД₅₀ 0,087 мкМ.

Бевиримат – это производное бетулиновой кислоты, ингибитор созревания ВИЧ-1 с механизмом действия, отличным от других антиретровирусных препаратов [119].

Синтезирован ряд производных бевиримата **168a-d**, содержащих в качестве линкера 7-аминогептановую, 8-аминооктановую, 9-аминононановую и 10-аминодекановую кислоты (схема 1.79) [120]. Соединения были получены по аналогии с вышеописанным синтезом **167a,b** и **168b** с некоторыми модификациями: в качестве исходных соединений использовали бензиловые эфиры ω -аминокислот, конденсацию проводили с метиловым эфиром L-глутамина в присутствии EDC, HOBT и NMM.

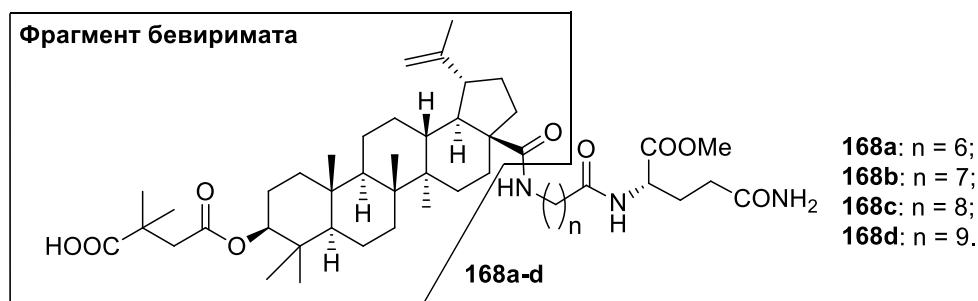


Схема 1.79 – Производные бевиримата, содержащие остатки ω -аминокислот различной длины

Показано, что наиболее активным в ряду **168a-d** в отношении обоих штаммов вируса иммунодефицита 1 типа (NL4-3 и NL4-3/V370A) является производное 9-аминононановой

кислоты **168c** ($\text{ID}_{50} (\text{NL4-3})$ 0,009 мкМ и $\text{ID}_{50} (\text{NL4-3/V370A})$ 0,16 мкМ). Активность этого соединения превышает активность бевиримата в отношении обоих штаммов вируса в 8 и 31 раз соответственно. Следует отметить, что производное 9-аминононановой кислоты также активно в отношении штаммов ВИЧ, резистентных к бевиримату.

Была также получена серия аналогов бевиримата, содержащих остаток 9-аминононановой кислоты **169a-b**, **170a-c**, **171a-f** (схема 1.80), однако их активность не достигала активности соединения-лидера **168c**.

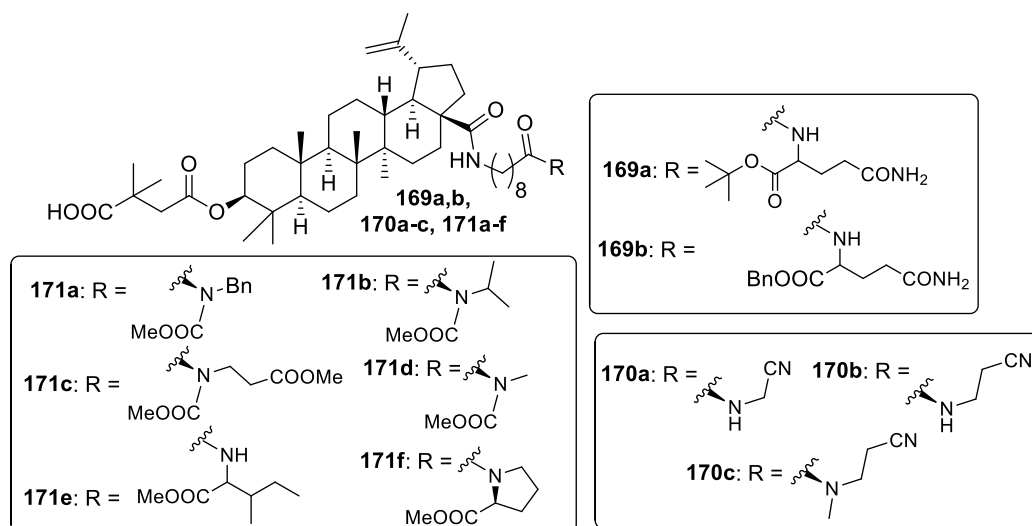


Схема 1.80 – Модифицированные производные бевиримата, содержащие фрагмент 9-аминононановой кислоты

Получен ряд соединений **172a-l**, содержащих остатки ω-аминокислот различной длины (схема 1.81), исследована их активность в отношении ВИЧ [121].

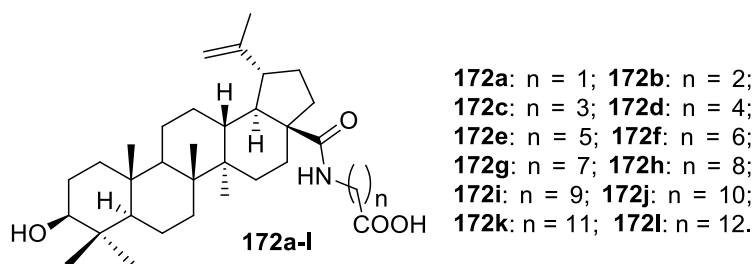


Схема 1.81 – Производные бетулиновой кислоты **172a-l**

Производные аминокислот малой длины **172a-d** (глицин, β-аланин, γ-аминомасляная и 5-аминопентановая кислоты) не проявили активность в отношении ВИЧ (таблица 1.23). Среди остальных соединений наиболее активными оказались производные 11-аминоундекановой (**172k**) и 12-аминододекановой кислот (**172l**).

Данная группа соединений была получена по аналогии с вышеописанным синтезом производных бетулиновой кислоты (см. схему 1.78) из 3-О-ацетилбетулиновой кислоты **165** в результате ее активации оксалилхлоридом, взаимодействия полученного хлорангирида с этиловыми/метиловыми эфирами ω-аминокислот в присутствии ТЭА и последующего

гидролиза эфиров раствором гидроксида натрия в смеси метанол/ТГФ.

Таблица 1.23 – Анти-ВИЧ активность производных бетулиновой кислоты, содержащих фрагменты ω-аминокислот

Соединение	n	ИД ₅₀ , нМ	
		СЕМ	МТ-4
172a	1	неакт.	не тестировалось
172b	2	неакт.	не тестировалось
172c	3	неакт.	не тестировалось
172d	4	неакт.	не тестировалось
172e	5	2300	2400
172f	6	12000	4300
172g	7	750	465
172h	8	420	3400
172i	9	600	420
172j	10	230	443
172k	11	550	250
172l	12	неакт.	не тестировалось
невирапин		84	
СЕМ – клеточная линия Т-лимфобластов человека с острым лимфобластным лейкозом			
МТ-4 – клеточная линия Т-лимфоцитов человека, продуцирующая HTLV-1 (вирус Т-клеточной лимфомы взрослых)			

Тем же коллективом исследователей были разработаны еще две группы производных бетулиновой кислоты (**173a-f** и **174a-d**): первая группа **173a-f** (схема 1.82) состоит из диамидов «одной длины», которая достигается одновременным увеличением длины одной аминокислоты и уменьшением длины второй. В этой группе соединений значительной активности не наблюдали. Вторая группа соединений **174a-d** (схема 1.82) является производными 8-аминооктановой кислоты, в которых увеличивается длина другой аминокислоты. Наиболее активным оказалось соединение **174c** с остатком γ-аминомасляной кислоты.

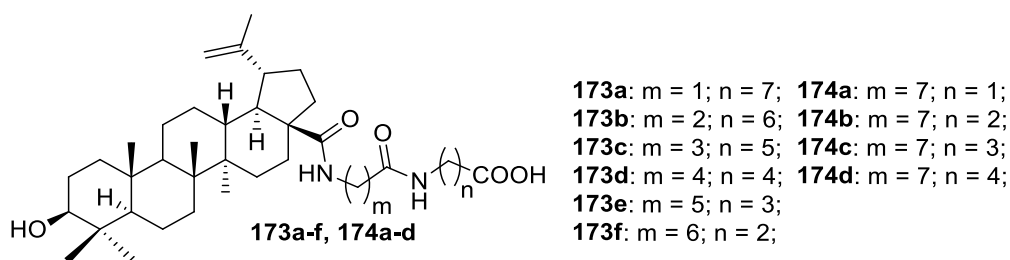


Схема 1.82 – Производные бетулиновой кислоты **173a-f** и **174a-d**

Таким образом, анализ литературных данных свидетельствует о том, что ω-аминокислоты довольно часто используются для модификации известных лекарственных веществ и биологически активных соединений с целью усиления или пролонгирования их действия, своеобразных молекулярных зондов для исследования особенностей взаимодействия с ферментами, получения новых высокоактивных соединений. Для синтеза

соединений, содержащих фрагменты ω -аминокислот, иногда весьма сложных, используются стратегии избирательного введения и удаления защитных групп, которая выбирается с учетом структуры исходных и конечных продуктов. Вместе с тем, хотя в ряде исследований были выявлены закономерности изменения биологического эффекта от длины полиметиленовой цепи, результаты исследований биологической активности производных ω -аминокислот как правило, непредсказуемы. Поэтому синтез новых биологически активных соединений, обладающих противовирусной, противоопухолевой и другими видами активности, а также выявление связей «структура–активность» с использованием ω -аминокислот представляет значительный интерес. Синтезу и исследованию конъюгатов пурина и родственных соединений, включающих фрагменты высших ω -аминокислот посвящена настоящая работа.

ГЛАВА 2 Обсуждение результатов¹

2.1 Синтез исходных соединений

Для получения целевых соединений был использован ряд гетероциклических аминов: бензаннелированных аминов (*RS*)-**1**, (*S*)-**1**, (*R*)-**1**, **4**, **5a-c**, аминов **2a-f**, производных адамантана **3a-c** (рисунок 2.1).

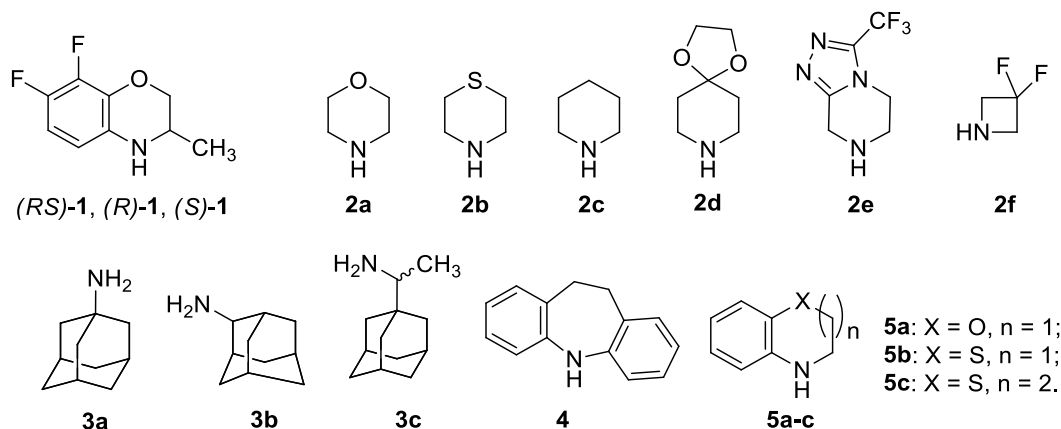


Рисунок 2.1 – Амины, использованные для синтеза целевых соединений

(*RS*)-3,4-Дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазин ((*RS*)-**1**) был синтезирован по известной методике [122]. Энантиомерно чистые амины (*S*)-**1** и (*R*)-**1** (*ee* > 99%) были получены путем кинетического разделения рацематов хиральными ацилирующими агентами [123, 124].

Морфолин (**2a**), тиоморфолин (**2b**), пиперидин (**2c**), 1,4-диокса-8-азаспиро[4.5]декан (**2d**), 3-трифторметил-5,6,7,8-тетрагидро[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиразин (**2e** в форме гидрохлорида), 3,3-дифторазетидин (**2f** в форме гидрохлорида), 1-аминоадамантан (**3a** в форме гидрохлорида), 2-аминоадамантан (**3b** в форме гидрохлорида), (*RS*)-1-(1-адамантил)этиламин (**3c** в форме гидрохлорида) и 10,11-дигидро-5*H*-добенз[*b,f*]азепин (иминодобензил **4**) коммерчески доступны.

3,4-Дигидро-2*H*-бензо[*b*][1,4]оксазин (**5a**), 3,4-дигидро-2*H*-бензо[*b*][1,4]тиазин (**5b**), 2,3,4,5-тетрагидробензо[*b*][1,4]тиазепин (**5c**) синтезированы по известной методике из соответствующих анилинов и дибромпроизводных (схема 2.1) [125].

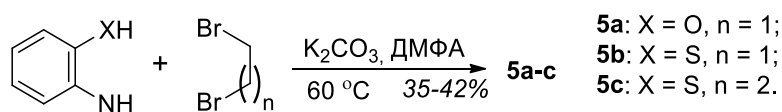


Схема 2.1 – Синтез бензаннелированных аминов **5a-c**

Для синтеза целевых соединений использованы ω-аминокислоты **6a-l** (рисунок 2.2).

¹ Нумерация соединений в главах 1 и 2 независимая

Глицин (**6a**), β-аланин (**6b**), γ-аминомасляная кислота (**6c**), 5-аминопентановая кислота (**6d**), 6-аминогексановая кислота (**6e**), 7-аминогептановая кислота (**6f**), 8-аминооктановая кислота (**6g**), 11-аминоундекановая кислота (**6j**), 12-аминододекановая кислота (**6k**) коммерчески доступны.

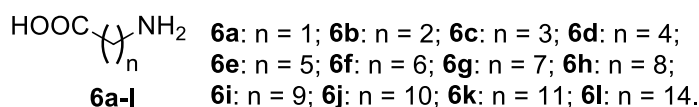


Рисунок 2.2 – ω-Аминокислоты **6a-l**

9-Аминононановую кислоту (**6h**) получали в результате этерификации коммерчески доступной себациновой кислоты (**7**) с получением диметилового эфира себациновой кислоты и гидролиза до монометилового эфира себациновой кислоты **8**, последующего каскада реакций получения ацилазида и перегруппировки Курциуса до соответствующего амина (схема 2.2).

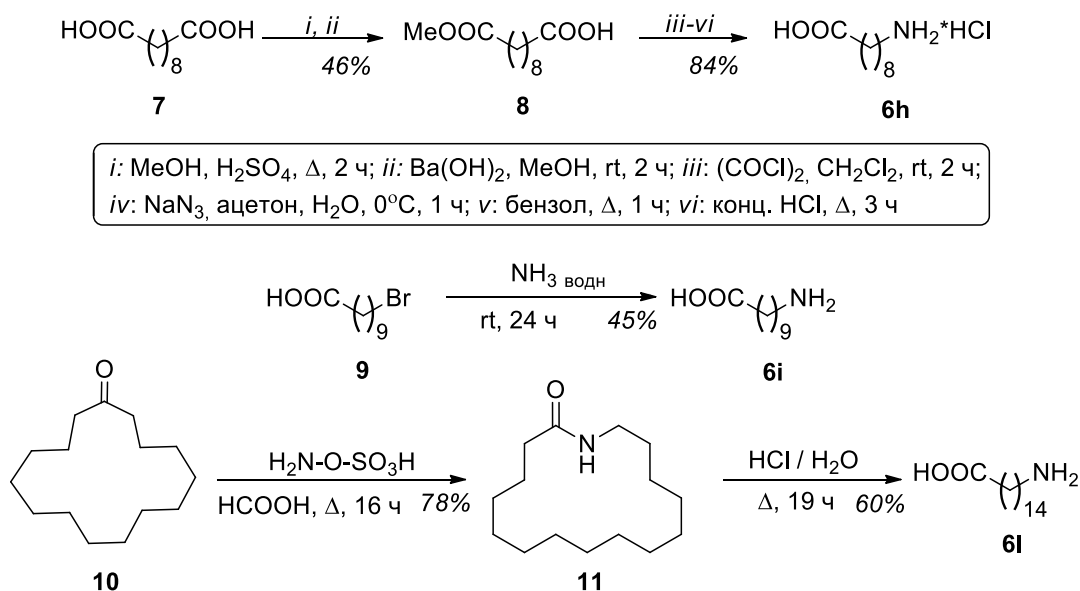
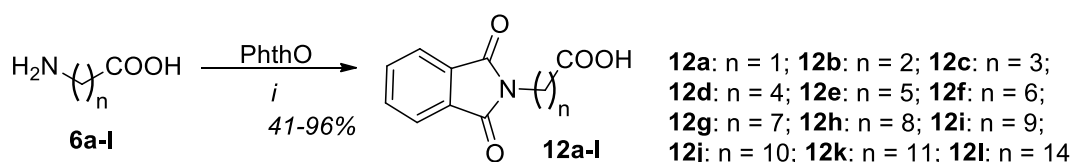


Схема 2.2 – Синтез аминокислот **6h,i,l**

10-Аминодекановая кислота (**6i**) получена из коммерчески доступной 10-бромдекановой кислоты (**9**) в результате реакции с водным раствором аммиака при комнатной температуре (схема 2.2).

15-Аминопентадекановая кислота (**6l**) синтезирована из циклопентадеканона **10**, подвергнутого перегруппировке Бекмана при действии гидросиламин-*O*-сульфоновой кислоты в HCOOH. Полученный лактам **11** гидролизовали до требуемой аминокислоты **6l** (схема 2.2).

N-Фталоил-ω-аминокислоты **12a-l** синтезированы в результате реакции кислот **6a-l** с фталевым ангидридом [126-130] (схема 2.3).



i: 180 °C, 2 ч (**12a,f,g,j-l**) или Et₃N, толуол, Δ, 2 ч (**12b-e,h-i**)

Схема 2.3 – Получение *N*-фталойл-ω-аминокислот **12a-l**

N-(Пурин-6-ил)глицилглицин (**14a**) и *N*-пуринил-ω-аминокислоты **14b-e** получены в результате конденсации 6-хлорпурина (**13**) с соответствующими ω-аминокислотами в щелочных условиях (схема 2.4) [131-133]. 6-Хлор-9-(2-ацетоксиэтоксиметил)пурин (**15**) [134] и 6-хлор-9-(2,3,5-три-*O*-ацетил-β-*D*-рибофуранозил)пурин (**17**) [135] синтезированы по известным методикам.

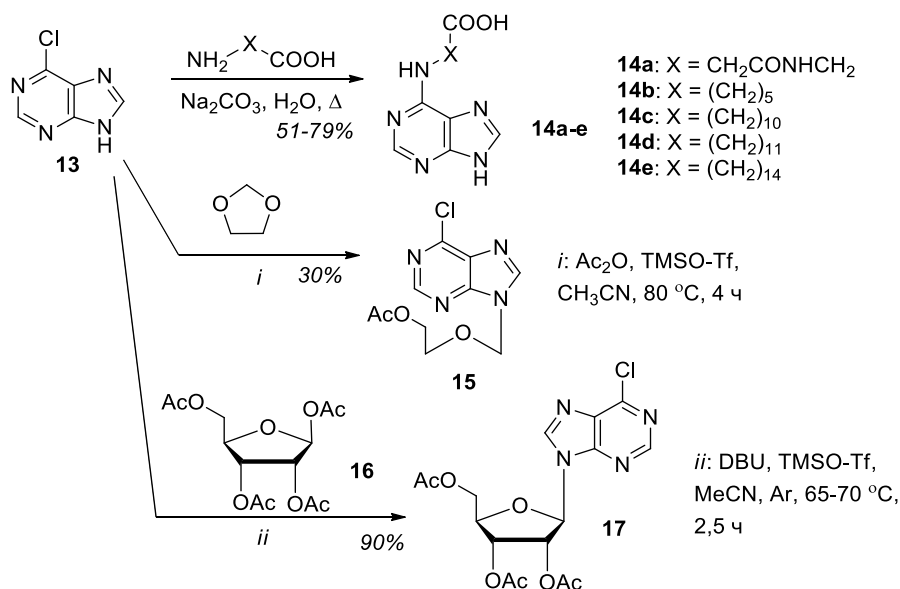


Схема 2.4 – Синтез производных пурина **14a-e**, **15**, **17**

2.2 Синтез конъюгатов пурина и его аналогов с гетероциклическими аминами

2.2.1 Направления структурной модификации 3,4-дигидро-3-метил-4-[6-(пурин-6-иламино)гексаноил]-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина

Ранее в лаборатории асимметрического синтеза ИОС УрО РАН был получен конъюгат пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином, содержащий в качестве линкера остаток 6-аминогексановой кислоты. Соединение было получено как в виде рацемата **18e** [136], так и в виде индивидуальных энантиомеров (*S*)-**18e** и (*R*)-**18e** [10] (рисунок 2.3).

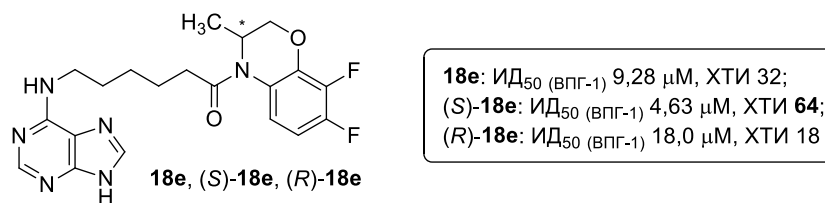


Рисунок 2.3 – Конъюгат пурина **18e** и его энантиомеры

Было показано, что конъюгаты **18e**, (*S*)-**18e** и (*R*)-**18e** проявляют высокую активность в отношении вируса простого герпеса первого типа (ВПГ-1), в том числе в отношении ацикловир-резистентного штамма. Энантиомер (*S*)-**18e** более активен и селективен в отношении ВПГ-1 (ХТИ¹ 64) по сравнению с (*R*)-**18e** и **18e** (ХТИ 18 и 32 соответственно) (рисунок 2.3) [10]. Всё это позволило рассматривать структуру соединения **18e** как родоначальную, а конъюгат (*S*)-**18e** в качестве соединения-лидера.

В рамках настоящей работы особый упор был сделан на синтетическую модификацию структуры соединения **18e** и изучение связи «структура–биологическая активность» полученных соединений (рисунок 2.4).

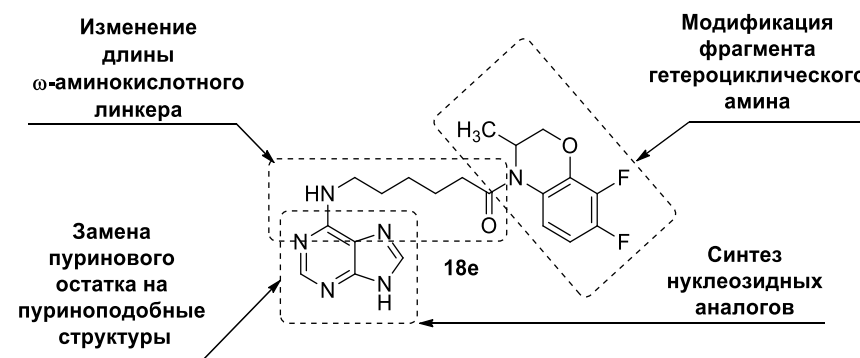


Рисунок 2.4 – Направления модификации структуры **18e**

Модификация структуры **18e** была проведена по следующим направлениям (рисунок 2.4):

1. Получение гомологов соединения **18e** за счет уменьшения и увеличения длины ω-аминокислотного линкера;
2. Синтез соединений, в которых остаток 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазина заменен на амины иной структуры;
3. Синтез нуклеозидных аналогов посредством введения в положение N⁹ пурина углеводных и псевдоуглеводных фрагментов;
4. Модификация структуры путем замены пуринового фрагмента на его аналоги.

Далее рассмотрен синтез новых аналогов соединения-лидера по всем представленным направлениям.

¹ ХТИ – химиотерапевтический индекс или индекс селективности, рассчитываемый как отношение цитотоксической дозы к ингибирующей дозе.

2.2.2 Синтез конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазином (в т.ч. в энантиомерно чистом виде), содержащих в качестве линкера фрагменты ω -аминокислот¹

Получены конъюгаты пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазином (соединения **18a-d,f-l**, (*R*)-**18g**, (*S*)-**18g,l**), содержащие в качестве линкера остатки ω -аминокислот с различной длиной полиметиленовой цепи, а именно: глицина, β -аланина, γ -аминомасляной, 5-аминопентановой, 7-аминогептановой, 8-аминооктановой, 9-аминононановой, 10-аминодекановой, 11-аминоундекановой, 12-аминододекановой и 15-аминопентадекановой кислот (рисунок 2.5) [10, 130, 133].

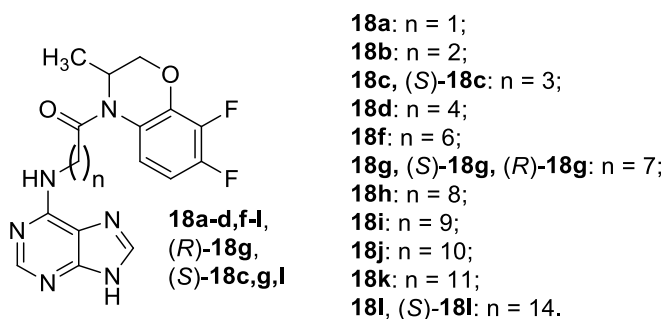


Рисунок 2.5 – Конъюгаты **18a-d,f-l**, (*R*)-**18g**, (*S*)-**18c,g,l**, содержащие в качестве линкера фрагменты ω -аминокислот

Целевые конъюгаты пурина с амином (*RS*)-**1** были получены исходя из *N*-фталоил- ω -аминокислот **12a-d,f-l** (схема 2.5). Обработка соединений **12a-d,f-l** оксалилхлоридом в дихлорметане приводила к хлорангидридам **19a-d,f-l**, которые затем вводили в реакцию ацилирования амина (*RS*)-**1** в дихлорметане в присутствии триэтиламина (ТЭА) или *N,N*-диэтиланилина (ДЭА). Было замечено, что использование ДЭА способствует образованию меньшего количества примесей, чем использование ТЭА, что обеспечивает более простую очистку продукта и более высокие выходы *N*-фталоилпроизводных **20a-d,f-l** (42-57% в случае использования ТЭА и 60-71% при применении ДЭА).

¹ Конъюгаты **18b-d,f** синтезированы совместно с к.х.н. В.В. Мусияк и описаны в [10], их синтез в данной работе детально не приводится. Соединения **18a** и **18e** синтезированы по методу [10] для сравнительного изучения биологической активности.

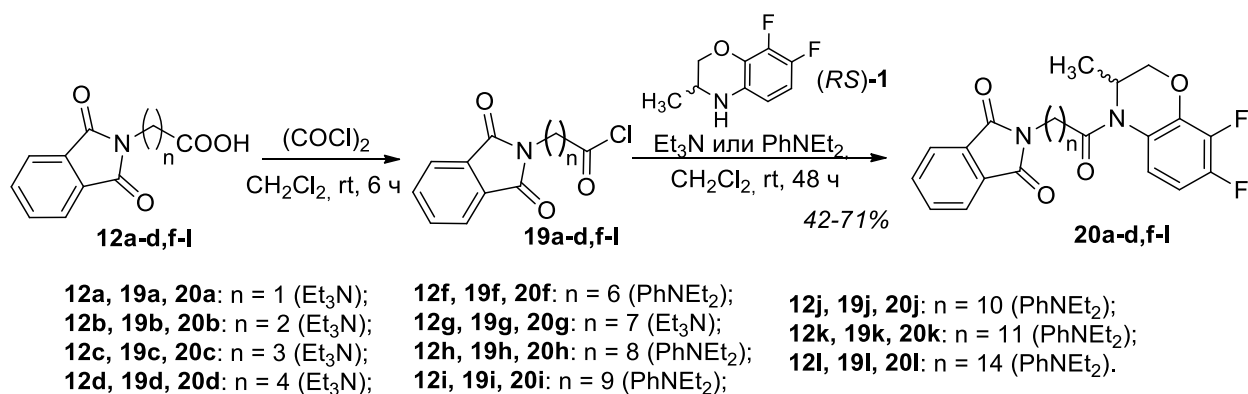


Схема 2.5 – Синтез амидов *N*-фталойл- ω -аминокислот **20a-d,f-l**

Обработка полученных соединений **20b-d,f-l** гидразингидратом в кипящем этаноле приводила к соответствующим первичным аминам **21b-d,f-l** (схема 2.6). При выделении аминов **21** из реакционной массы наблюдались некоторые особенности. Так, выделение первичных коротко- и среднецепочечных аминов **21b-d,f-i** проводили при обработке раствором соляной кислоты, при этом образовывался легкоотделяемый осадок фталгидразида [10].

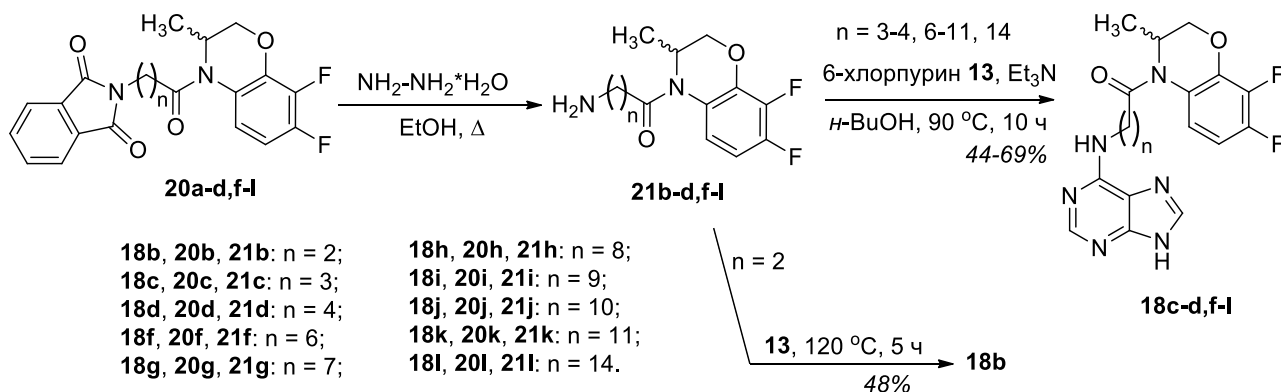


Схема 2.6 – Синтез конъюгатов **18b-d,f-l**

Следует подчеркнуть, что с удлинением линкера происходит увеличение липофильности продуктов, в том числе промежуточных первичных аминов **21j-l**, что значительно осложняет их отделение от побочного продукта реакции гидразинолиза (фталгидразида) по стандартной схеме. Мы модифицировали способ выделения аминов **21j-l**: выделение соединений **21j-l** из реакционной массы осуществляли экстракцией диэтиловым эфиром [130].

Первичные амины **21c-d,f-l** вводили в реакцию нуклеофильного замещения хлора в 6-хлорпурине (**13**) (схема 2.6). Реакцию проводили в *n*-бутаноле при температуре 90 °C в присутствии ТЭА, выделение продуктов реакции проводили методом колоночной флеш-хроматографии на силикагеле (элюент CHCl_3 -EtOH). Целевые соединения **18c-d,f-l** были получены с хорошими выходами 44–69%.

Попытки синтезировать в этих условиях (ТЭА, *n*-BuOH, 90 °C, 12 ч) конъюгат **18b**,

содержащий в качестве линкера остаток β-аланина, исходя из *N*-фталоилпроизводного **20b**, оказались неудачными: выход целевого соединения составил около 5%. Мы провели специальный эксперимент (нагревание амина **21b** в *n*-BuOH в присутствии ТЭА и в отсутствие 6-хлорпурина) и установили, что амин **21b** в этих условиях претерпевает превращение в акрилат **22** (акцептор Михаэля), который в результате взаимодействия с амином **21b** (донор Михаэля) образует соединение **23** по механизму реакции аза-Михаэля (схема 2.7). Строение соединения **23** подтверждено данными ¹H, ¹³C, ¹⁹F ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения [10]¹.

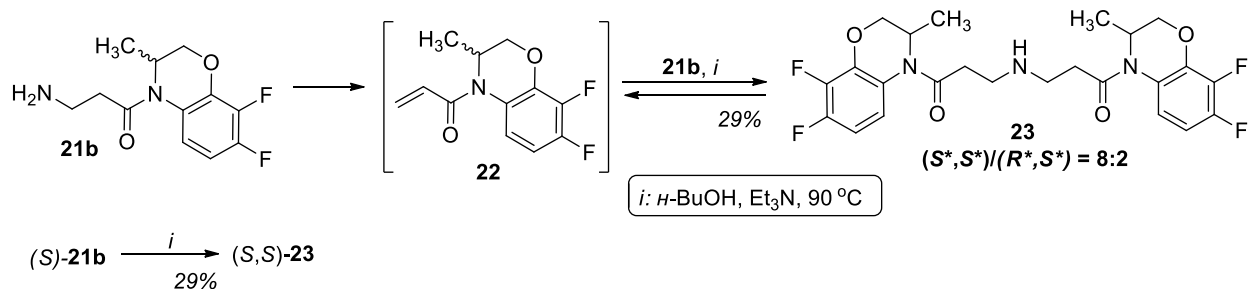


Схема 2.7 – Исследование поведения амина **21b** при нагревании в *n*-бутаноле в присутствии триэтиламина

Для установления стереоконфигурации продукта **23** был проведен аналогичный эксперимент с амином (*S*)-**21b**. В результате, выделен продукт (*S,S*)-**23** с выходом 29% (схема 2.7), строение которого подтверждено данными ¹H, ¹³C, ¹⁵N, ¹⁹F ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения [10]. Сравнение ¹H ЯМР спектров и данных обращенно-фазовой ВЭЖХ (рисунок 2.6) продуктов реакций привело нас к выводу, что соединение **23** представляет собой смесь диастереомеров в соотношении (*S**,*S**)/(*R**,*S**) 8:2.

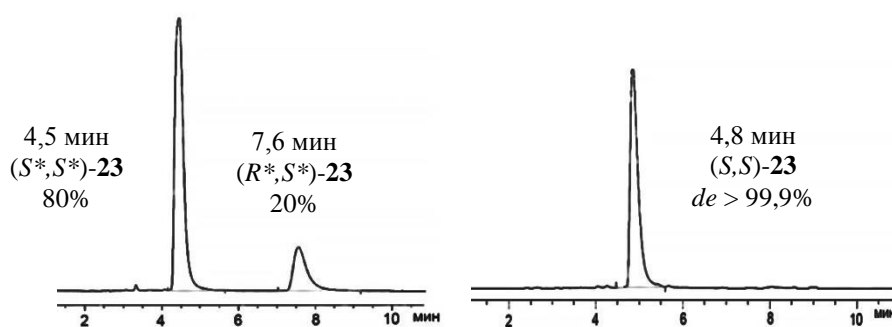


Рисунок 2.6 – Фрагменты ВЭЖХ хроматограмм соединений **23** и (*S,S*)-**23** (колонка Kromasil 100-5 C18, элюент MeCN–0,1M NH₄OAc 85:15)

Нами была подтверждена обратимость присоединения аза-Михаэля: в ¹H ЯМР спектре соединения **23** через 4 ч после нагревания его раствора в ДМСО-*d*₆ до 100 °C наблюдалось появление сигналов винильной группы, что указывает на образование

¹ Соединения **23**, (*S**,*S**)-**23**, **24**, **25** синтезированы совместно с к.х.н. В.В. Мусяк

акрилата **22** (рисунок 2.7). Предположительно, стереоселективность превращения амина **21b** обеспечивается обратимостью этого процесса: (*S**,*S**)-диастереоизомер **23**, образование которого более термодинамически выгодно, накапливается в реакционной смеси, тогда как (*R**,*S**)-**23** подвергается обратному превращению с образованием исходных соединений **21b** и **22**.

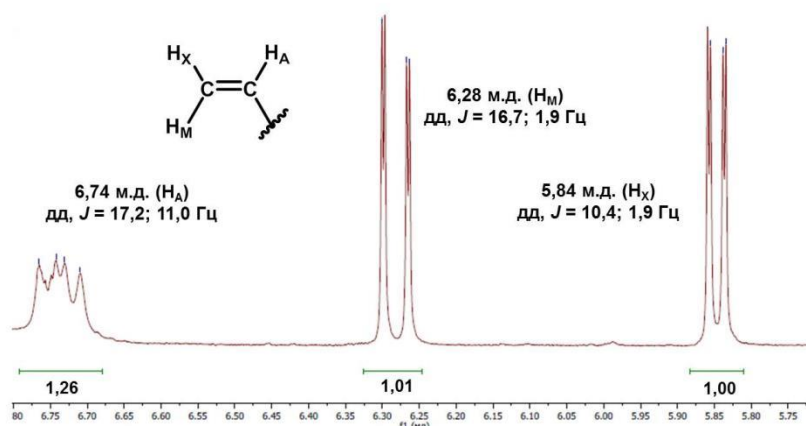


Рисунок 2.7 – Фрагмент ^1H ЯМР спектра соединения **23** через 4 ч после нагрева до 100 °С (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 25 °С)

В подтверждение предложенного механизма превращения амина **21b** в соединение **23** был проведен дополнительный эксперимент: амин **21b** вводили в реакцию с бензиламином с образованием соединения **24** (схема 2.8); при этом образования соединения **23** не наблюдалось, что предположительно связано с большей нуклеофильностью аминогруппы бензиламина, чем аминогруппы амина **21b**.

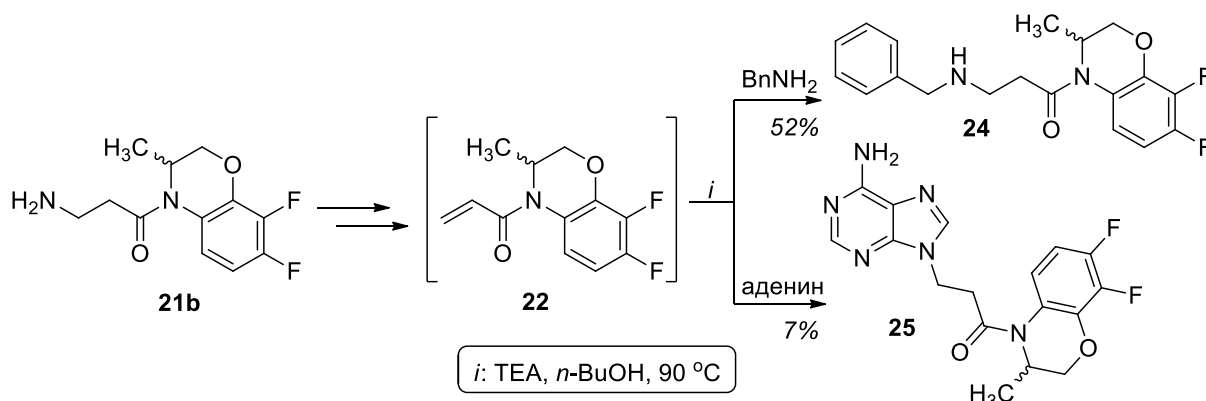


Схема 2.8 – Взаимодействие акцептора Михаэля **22** с бензиламином и аденином

Нами были подобраны условия синтеза целевого конъюгата **18b**, исключая образование соединения **23**. Нуклеофильное замещение хлора в 6-хлорпурине проводили в отсутствие растворителя и основания при 120 °С, что позволило получить соединение **18b** с удовлетворительным выходом 48% (схема 2.6). Синтезировать конъюгат **18b** в результате взаимодействия амина **21b** с аденином не удалось: в результате реакции был выделен *N*⁹-замещенный продукт **25** с выходом 7% (схема 2.8), что согласуется с литературными

данными, в соответствии с которыми акцепторы Михаэля взаимодействуют с центром аденина N^9H [137, 138], и тем самым подтверждает предложенный механизм.

Известно, что стереоконфигурация хиральных соединений оказывает существенное влияние на их биологические свойства. Два энантиомера хирального биологически активного соединения могут существенно различаться как по фармакокинетическим параметрам (биодоступности, скорости метаболизма, распределения и выведения), так и по фармакодинамике (по активности, токсичности и селективности действия). Один энантиомер может отвечать за терапевтические эффекты лекарства, тогда как другой энантиомер неактивен и/или способствует нежелательным процессам. В таком случае, использование одного энантиомера может быть предпочтительнее рацемической формы. В связи с этим, предложенный ранее подход был использован для синтеза энантиомерно чистых конъюгатов пурина с аминами (*S*)-**1** и (*R*)-**1** (схема 2.9).

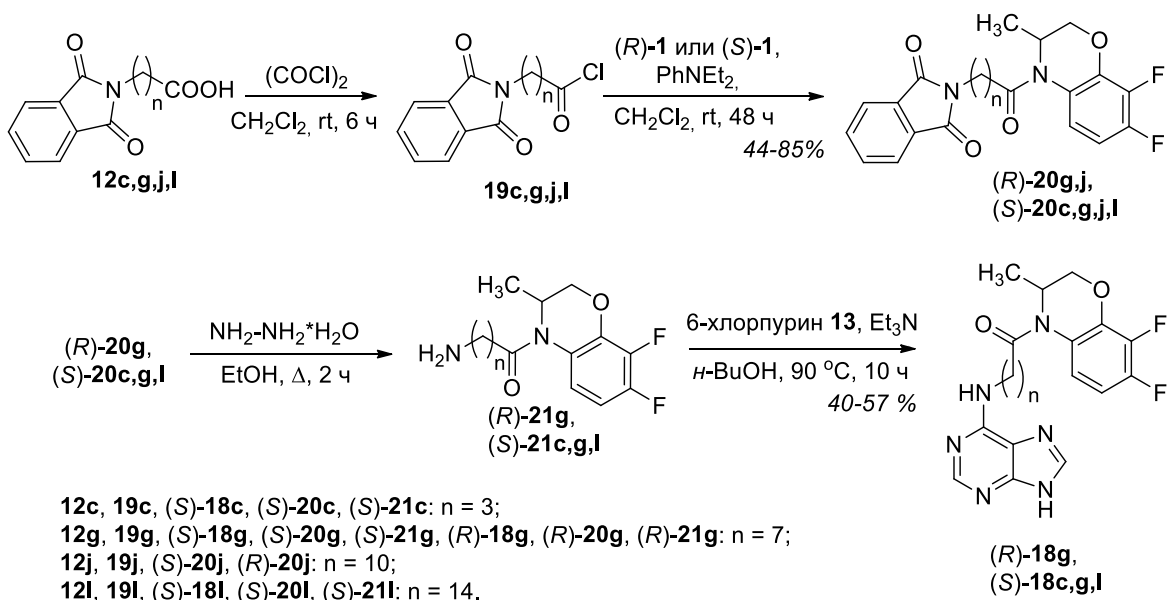


Схема 2.9 – Синтез энантиомерно чистых *N*-фталоилпроизводных (*R*)-**20g**, (*S*)-**20c, g, j, l** и конъюгатов пурина (*R*)-**18g**, (*S*)-**18c, g, l**

Исходя из *N*-фталоил- ω -аминокислот **12c, g, j, l** были получены соответствующие хлорангидриды **19c, g, j, l**, которые затем вводили в реакцию ацилирования амина (*S*)-**1** или (*R*)-**1** в присутствии *N,N*-диэтиланилина в качестве основания (схема 2.9). В результате были синтезированы *N*-фталоилпроизводные (*S*)-**20c, g, j, l** и (*R*)-**20g, l** с выходом 44–85%. Обработка соединений (*S*)-**20c, g, l** и (*R*)-**20g** гидразингидратом в кипящем этаноле приводила к соответствующим аминам, которые без выделения вводили в реакцию нуклеофильного замещения хлора в 6-хлорпурине с образованием целевых конъюгатов (*S*)-**18c, g, l** и (*R*)-**18g**.

Был проведен анализ энантиомерного состава полученных соединений: *N*-фталоилпроизводных (*R*)-**20g, j** и (*S*)-**20c, g, j, l** и производных пурина (*R*)-**18g** и (*S*)-**18c, g, l**. Методом нормально-фазовой ВЭЖХ на хиральной неподвижной фазе были найдены условия

разделения смесей энантимеров (*RS*)-**20c,g,j,l** (колонка Chiralcel ODH-3, элюент гексан–изопропанол 4 : 1) (рисунок 2.8). Анализ соединений в этих условиях показал их энантиомерную чистоту. Это указывает на отсутствие рацемизации в ходе ацилирования энантиомерно чистых аминов **1** хлорангидридами *N*-фталоил- ω -аминокислот в присутствии *N,N*-диэтиланилина.

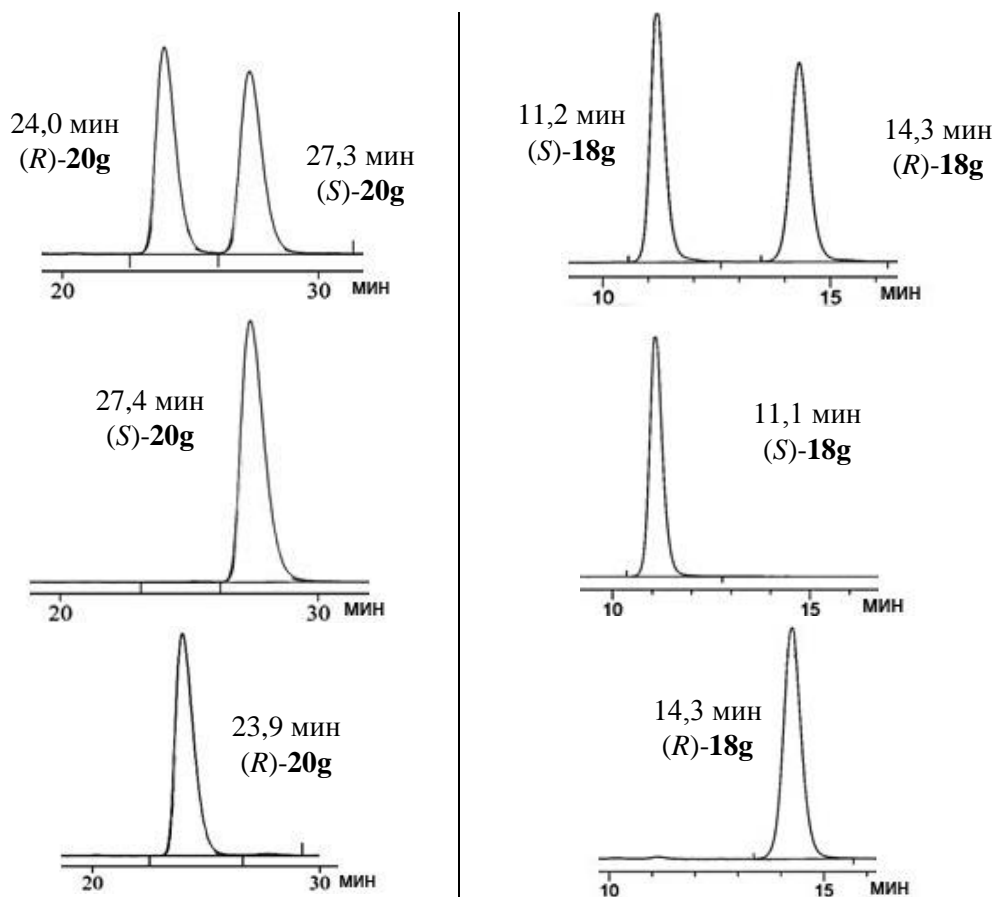


Рисунок 2.8 – Фрагменты ВЭЖХ хроматограмм соединений (*RS*)-**20g**, (*S*)-**20g**, и (*R*)-**20g** (колонка Chiralcel ODH-3, элюент гексан–изопропанол 4 : 1), (*RS*)-**18g**, (*S*)-**18g**, и (*R*)-**18g** (колонка (*S,S*)-Whelk-O1, элюент метанол–вода 8 : 2).

Для анализа производных пурина (*R*)-**18g** и (*S*)-**18c,g,l** применяли обращенно-фазовую ВЭЖХ на хиральной неподвижной фазе. Для рацемических соединений (*RS*)-**18c,g,l** были найдены условия разделения энантимеров (колонка (*S,S*)-Whelk-O1, элюент метанол–вода 8 : 2), показана энантиомерная чистота конъюгатов (*R*)-**18g** и (*S*)-**18c,g,l** (рисунок 2.8). Таким образом, показано, что гидролиз и последующее нуклеофильное замещение хлора в 6-хлопурине соответствующими аминами не сопровождаются рацемизацией.

В результате установлено, что предложенный нами подход позволяет синтезировать энантиомерно чистые конъюгаты пурина с хиральными гетероциклическими аминами.

2.2.3 Синтез конъюгатов 6-(пурин-6-ил)аминогексановой кислоты с аминами

Для изучения связи «структура – биологическая активность» были получены аналоги соединения **18e**, в которых фрагмент 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина заменен на остатки аминов различной структуры [139]. Для синтеза целевых соединений были использованы циклические алкиламины **2a-f**, адамантиламины **3a-c**, а также бензаннелированные амины **4**, **5a-c** (рисунок 2.1).

Выбор аминов определялся в первую очередь сходством структуры с соединением-лидером: наличием *N*-гетероцикла (гидрированного в случае соединений **26a-f**, или аннелированного с ароматическим кольцом в случае конъюгатов **28a-d**), а также использованием гетероциклов, содержащих атомы фтора (**26g,h**) (рисунок 2.9). В качестве альтернативы гетероциклическим аминам были использованы производные адамантана, фрагменты которых входят в структуру известных противовирусных препаратов (амантадин, римантадин, тромантадин, адапромин).

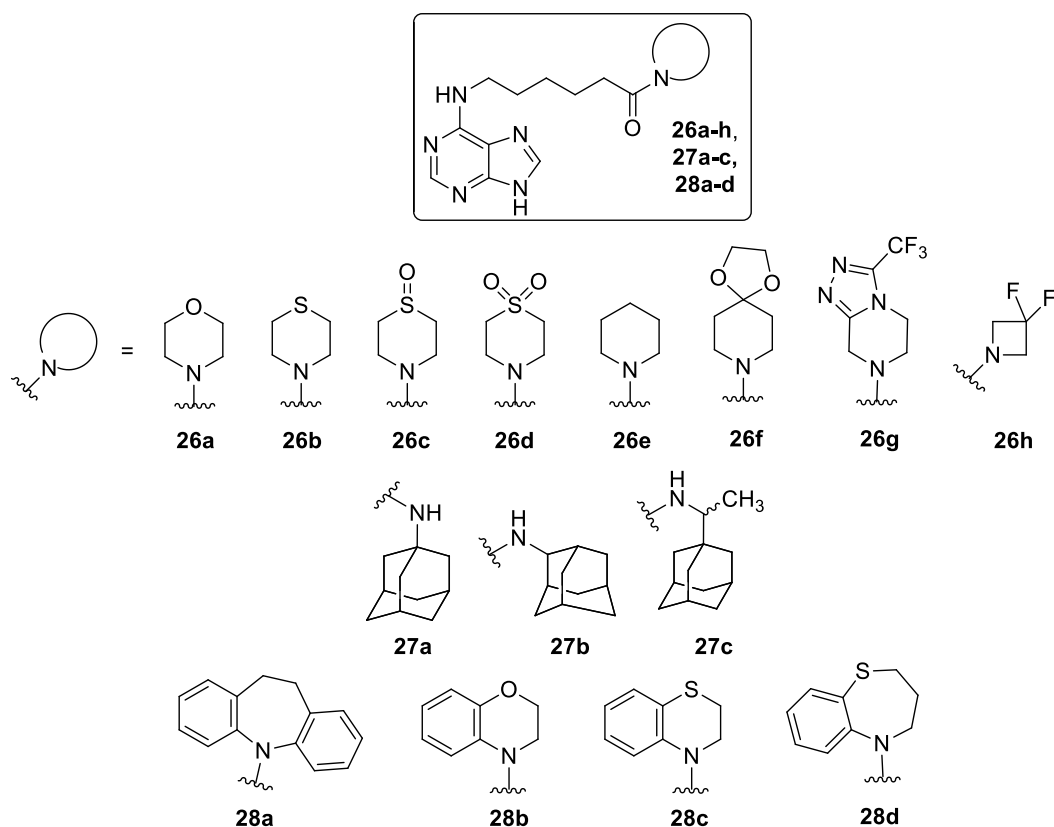


Рисунок 2.9 – Конъюгаты пурина с аминами **26a-h**, **27a-c**, **28a-d**

Для получения производных морфолина **26a**, тиоморфолина **26b**, пиперидина **26e**, 1,4-диокса-8-азаспиро[4.5]декана **26f**, 3-(трифторметил)-5,6,7,8-тетрагидро[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиридина **26g** и 3,3-дифторазетидина **26h** проводили конденсацию 6-(пурин-6-ил)аминогексановой кислоты (**14b**) с аминами **2a-f** карбодиимидным методом в присутствии

конденсирующего агента EDC, вспомогательного нуклеофила HOBT и DIPEA с образованием конъюгатов **26a,b,e-h** с выходами 39-72% (схема 2.10).

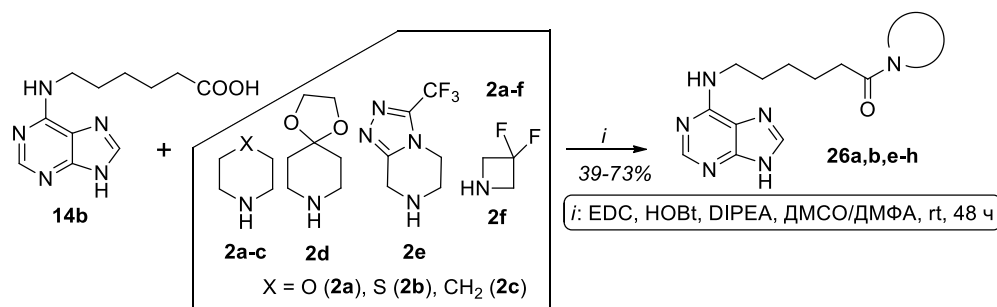


Схема 2.10 – Получение продуктов конденсации *N*-пуринил-6-аминогексановой кислоты **14b** и циклических аминов **2a-f**

Известно, что введение в структуру молекул биологически активных соединений сульфоксидных или сульфонильных групп позволяет, в ряде случаев, увеличить связывание с активным центром фермента (например, в случае такой модификации соединения-лидера был получен высокоактивный ингибитор тирозинкиназ GNE-4997 [140]). Примечательно, что циклические сульфоны могут выступать изостерами карбоновых кислот и кетонов, поэтому введение таких групп может улучшить биологическую активность (как в случае ингибитора ВИЧ-1 GSK3532795 [141]).

Поэтому производное тиоморфолина **26b** было модифицировано путем селективного окисления тиоморфолинового фрагмента до сульфоксида **26c** и сульфона **26d** (схема 2.11). Сульфоксид **26c** был получен в реакции окисления перекисью водорода в уксусной кислоте в течение 12 ч при охлаждении. Сульфон **26d** был синтезирован в результате реакции окисления реагентом Пэйна, образующегося *in situ* при взаимодействии ацетонитрила и перекиси водорода. Эти два подхода позволили селективно получить сульфоксид **26c** и сульфон **26d**. Синтез сульфоксида **26c** проводили при охлаждении, что позволило избежать дальнейшего окисления до сульфона. В свою очередь для полного превращения сульфоксида в сульфон требовались более жесткие условия: нагревание при 80 °С в течение 8 ч.

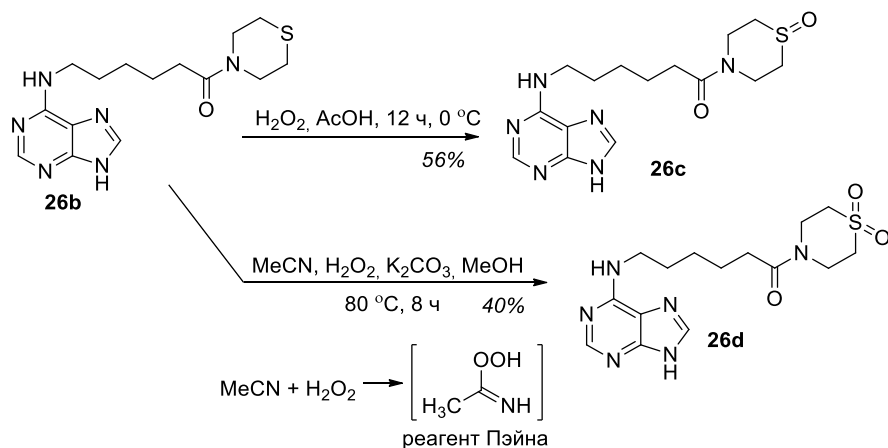


Схема 2.11 – Получение сульфоксида **26c** и сульфона **26d**

Также был получен ряд новых адамантансодержащих соединений **27a-c** (схема 2.12). Для синтеза этих конъюгатов применялся аналогичный подход, что и для производных **26a,b,e-h**, а именно, конденсация 6-(пурин-6-ил)аминогексановой кислоты (**14b**) с аминоадамантанами **3a-c** в присутствии конденсирующего агента EDC, вспомогательного нуклеофила HOBT и DIPEA.

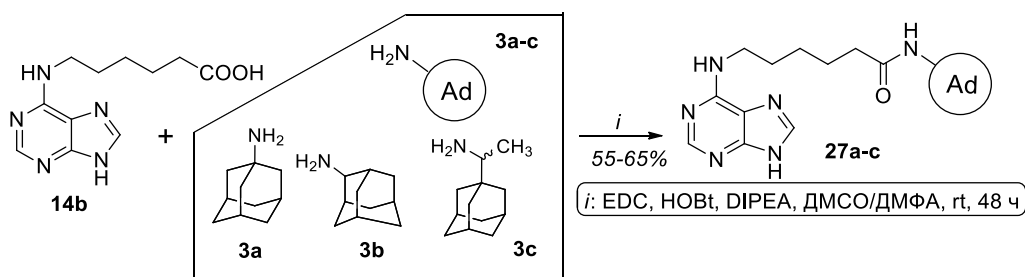


Схема 2.12 – Получение адамантансодержащих соединений **27a-c**

Получить конъюгаты пурина **28a-d**, содержащие остатки бензаннелированных аминов **4** и **5a-c**, с использованием одностадийного карбодиимидного подхода не удается в связи с низкой нуклеофильностью исходных реагентов. В связи с этим был предложен метод, аналогичный получению производных 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина **18a-l**, исходя из 6-фталимидогексановой кислоты **12e**: обработка оксалилхлоридом соединения **12e** приводила к соответствующему хлорангидриду, который вводили в реакцию ацилирования аминов **4** и **5a-c** в присутствии ДЭА. В результате получали фталоилпроизводные **29a-d** с выходами 51–70%. Соединения **29a-d** подвергали реакции гидразиолиза при кипячении в этаноле, полученные амины вводили в реакцию нуклеофильного замещения хлора в 6-хлорпурине (ТЭА, *n*-BuOH, 90 °C), что приводило к получению целевых соединений **28a-d** с выходами 40–62% (схема 2.13).

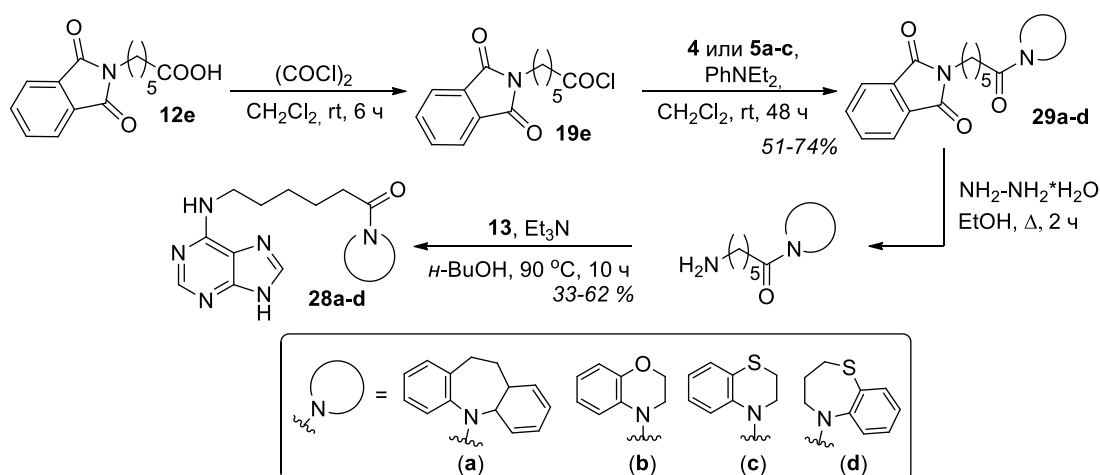


Схема 2.13 – Получение производных **28a-d**

Таким образом, нами были предложены два метода, при использовании которых возможно модифицировать соединение-лидер путем введения широкого ряда аминов, как высоко-, так и низконуклеофильных. Это позволило получить целевые конъюгаты пурина с

удовлетворительными выходами и в количествах, достаточных для изучения их биологической активности и установления связи «структура–активность» в описываемом ряду соединений.

2.2.4 Получение нуклеозидов и их аналогов

В ходе изучения биологической активности полученных соединений было показано, что конъюгаты пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином **18g,j-l** и (*R*)-**18g**, содержащие в качестве линкера фрагменты 8-аминооктановой, 11-аминоундекановой, 12-аминододекановой и 15-аминопентадекановой кислот, проявляют высокую цитотоксическую активность (см. раздел 2.3.7).

При этом дальнейшее изучение биологических свойств этих соединений представляется проблематичным ввиду их высокой липофильности и, как следствие, крайне низкой растворимости в воде.

На основе производного 11-аминоундекановой кислоты **18j** нами была предпринята попытка увеличения водорастворимости путем введения в положение *N*⁹ пурина псевдоуглеводного фрагмента CH₂-O-CH₂-CH₂-OH (соединение **31**, схема 2.14) и углеводных остатков 2'-дезоксирибозы, рибозы и арабинозы (конъюгаты **33a-c**, схема 2.15).

Синтез нуклеозидных аналогов **30** и **31** проводили исходя из *N*-фталоилпроизводного **20j**. Обработка этого соединения гидразингидратом в кипящем EtOH приводила к соответствующему амину, который без выделения вводили в реакцию нуклеофильного замещения хлора в 6-хлор-9-(2-ацетоксиэтоксиметил)пурине (**15**) (схема 2.14). Ацетилсодержащий конъюгат **30** подвергали щелочному гидролизу для удаления ацетильной группы и получения производного 11-аминоундекановой кислоты **31**.

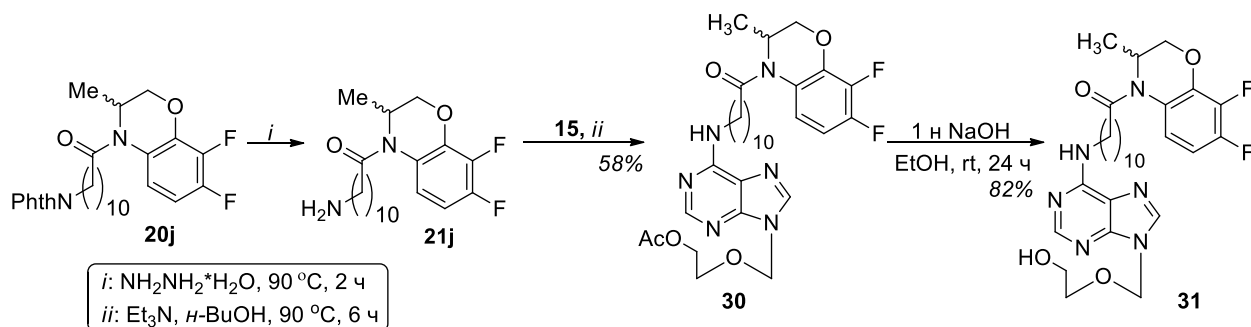


Схема 2.14 – Получение *N*⁹-замещенных конъюгатов **30** и **31**

Для получения производных **33a-c**, содержащих углеводные фрагменты, был

предложен хемознзиматический метод¹ [142]. Он заключался в использовании ферментативной реакции трансгликозилирования, катализируемой пурин-нуклеозидфосфорилазой (PNP) *E. coli*. В качестве исходного субстрата использовали конъюгат **18j**, в качестве доноров углеводного остатка – уридин **32a** (Urd), 2'-дезоксидуридин **32b** (2'-dUrd) и 1-β-D-арабинофуранозилурацил **32c** (AraU), которые фосфорилировали под действием уридинфосфорилазы (UP) *E. coli* (схема 2.15). Однако в связи с низкой растворимостью исходных соединений и необходимостью использования ВЭЖХ для их выделения, выход и количества целевых нуклеозидов были недостаточными для проведения биологических испытаний. Вследствие этого был предложен подход, основанный на реакции нуклеофильного замещения хлора в 6-хлор-9-(2,3,5-три-*O*-ацетил-β-D-рибофуранозил)пурине (**17**) амином **21j**, полученным из соответствующего *N*-фталойлпроизводного **20j**, в присутствии ТЭА в *n*-бутаноле. Защищенный конъюгат **34a** подвергали действию карбоната калия в метаноле с целью удаления ацетильных групп и получения целевого соединения **33a** с выходом 63% [133].

Предложенный подход с использованием реакции нуклеофильного замещения хлора в соответствующих 6-хлорпуринах **15** и **17** позволил наработать целевые соединения **30**, **31**, и **33a** в количествах, достаточных для изучения их цитотоксической и антибактериальной активности.

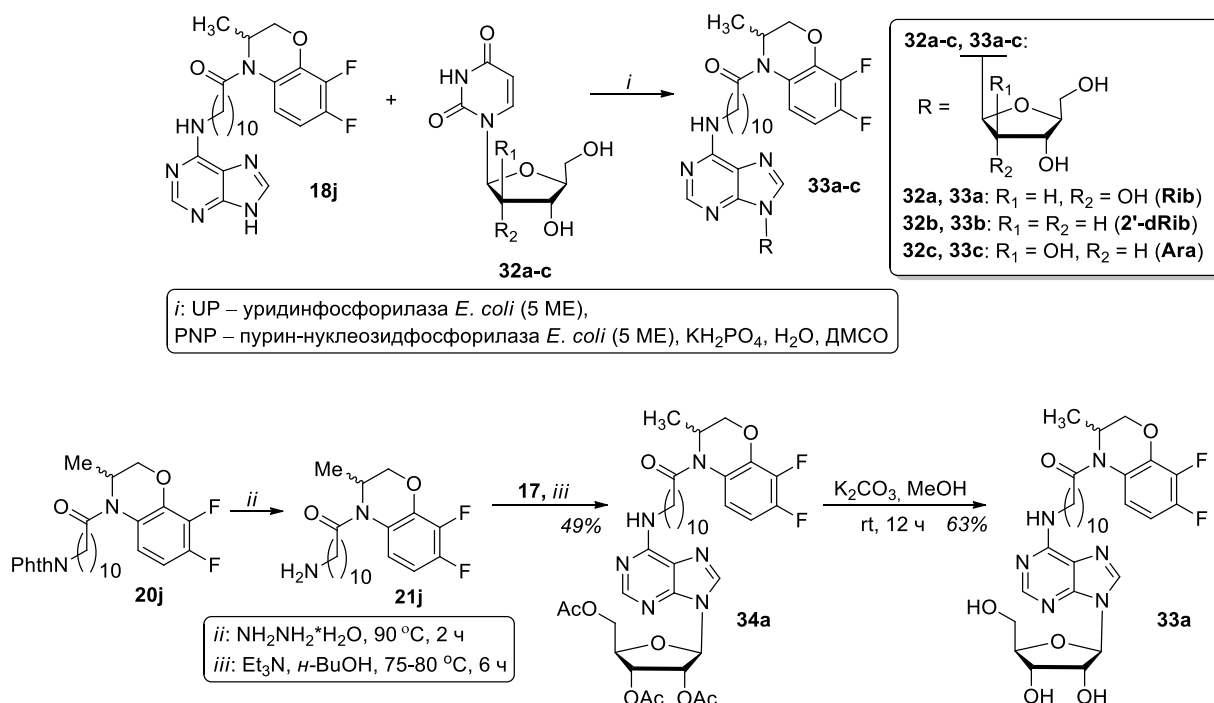


Схема 2.15 – Получение нуклеозидов **33a-c**

Соединения **33a** и **34a** должны представлять собой смеси диастереомеров ввиду

¹ Совместно с исследователями из Института биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН под руководством к.х.н. И.Д. Константиновой

наличия хирального центра в фрагменте бензоксазина и четырех асимметрических центров остатков рибозы, однако в спектрах ЯМР ^1H и ^{19}F не наблюдалось двойного набора сигналов даже при регистрации спектров при 100 °С. Подтверждение того, что указанные вещества являются смесями диастереомеров, было получено методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на хиральной неподвижной фазе, с помощью которой удалось разделить диастереомеры соединений **33a** и **34a** (рисунок 2.10).

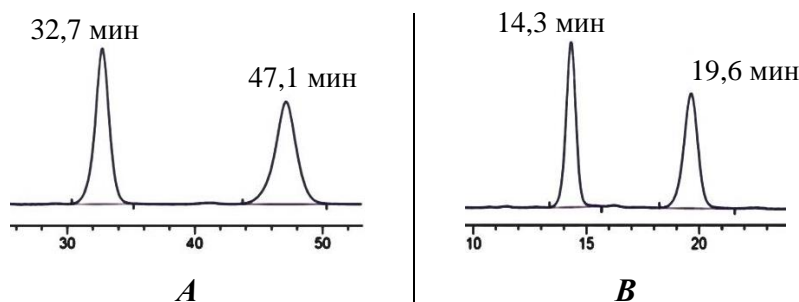
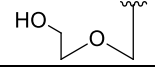
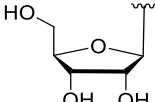


Рисунок 2.10 – Фрагменты ВЭЖХ хроматограмм соединений **34a** (A), **33a** (B) (колонка (S,S)-Whelk-O1, элюент метанол–вода 8 : 2, детектирование при 280 нм).

Для модифицированных конъюгатов **31** и **33a**, а также соединения **18j** с незамещенным положением N^9 пурина была определена растворимость в воде. «Исходный» конъюгат **18j** очень мало растворим в воде (0,8 мг/мл; требуется 1250 мл воды для растворения 1 г вещества), водорастворимость его аналога с псевдо-углеводным фрагментом (соединение **31**) в два раза выше (1,6 мг/мл), соединения с остатком β -D-рибофуранозы (**33a**) – в 10,6 раз выше (8,5 мг/мл, таблица 2.1). Соединения **31** и **33a** являются мало растворимыми в воде.

Таблица 2.1 – Растворимость в воде производных 11-аминоундекановой кислоты **18j**, **31**, **33a**

Соединение	Заместитель в положении N^9 пурина	Растворимость в воде, мг/мл	Объем воды, необходимой для растворения 1 г вещества, мл	Степень растворимости
18j	H	0,8	1250	очень мало растворим ¹
31		1,6	625	мало растворим ²
33a		8,5	118	мало растворим

¹ Согласно фармакопейной статье ОФС.1.2.1.0005 «Растворимость» Государственной фармакопеи РФ XV издания термин «очень мало растворим» используется для веществ, для которых объем растворителя, необходимого для растворения, находится в пределах от 1000 до 10000 мл.

² Термин «мало растворим» используется для веществ, для которых объем растворителя, необходимого для растворения 1 г, находится в пределах от 100 до 1000 мл.

Таким образом, в результате модификации соединения **18j** по положению N^9 пурина удалось получить аналоги со значительно улучшенной водорастворимостью, что расширяет перспективы использования данного ряда соединений в качестве противоопухолевых агентов.

2.2.5 Синтез аналогов соединения 18j с целью изучения влияния отдельных фрагментов молекулы на биологическую активность

Для выявления структурных фрагментов соединения **18j**, определяющих его биологическое действие (противовирусную и противоопухолевую активность), были получены соединения, в которых отсутствует фрагмент пурина, но сохранен остаток 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазина.

В результате ацилирования амина (*RS*)-**1** хлорангидридом себаценовой кислоты получено соединение **35**, представляющее собой смесь диастереомеров (схема 2.16) [133].

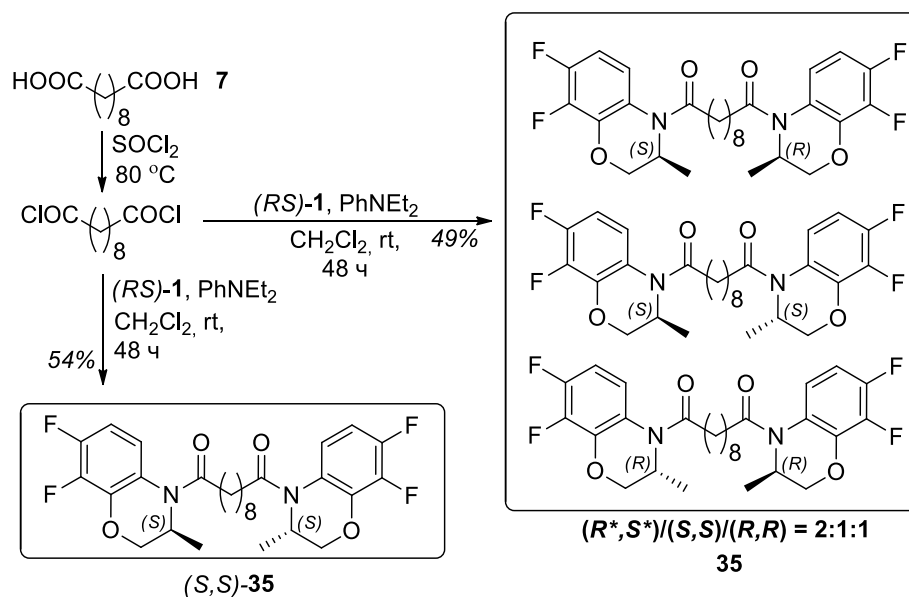


Схема 2.16 – Получение производных себаценовой кислоты

Методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на хиральной неподвижной фазе ((*S,S*)-Whelk-O1, 85% MeOH, детектирование при 254 нм) были найдены условия разделения диастереомеров (рисунок 2.11). Для корректного отнесения пиков на хроматограмме, мы получили индивидуальный диастереомер (*S,S*)-**35** в результате ацилирования энантиомерно чистого амина (*S*)-**1** хлорангидридом себаценовой кислоты (схема 2.16). Сравнение времен удерживания диастереомера (*S,S*)-**35** и диастереомеров в их смеси **35** позволило установить соотношение диастереомеров в смеси (R*,S*)/(*S,S*)/(*R,R*) = 2:1:1.

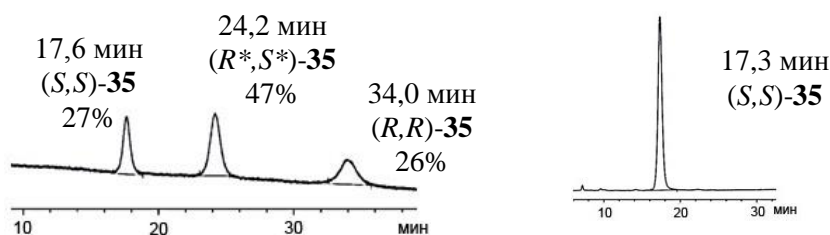


Рисунок 2.11 – Фрагменты ВЭЖХ хроматограмм смеси диастереомеров **35** и диастереомера (*S,S*)-**35** ((*S,S*)-Whelk-O1, элюент метанол–вода 85 : 15).

С целью выяснения необходимости фрагмента 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина для проявления биологической активности, были получены *N*-пуринил- ω -аминокислоты **14b-e** (см. раздел 2.1) [10, 133].

Кроме того, мы задались вопросом о том, необходим ли для биологической активности фрагмент ω -аминокислотного линкера или он может быть заменен на подобные структуры. В связи с этим был получен структурный аналог соединения **18j**, содержащий в качестве линкера остаток трипептида GlyGlyGly (соединение **36**, схема 2.17). В качестве исходного соединения использовали *N*-фталоилпроизводное **20a**, которое обрабатывали гидразингидратом в кипящем этаноле с образованием соответствующего амина. Последующая конденсация с *N*-(пурин-6-ил)глицилглицином (**14a**) в присутствии *N,N'*-дициклогексилкарбодиимида (DCC), *N*-гидроксисбензотриазола (HOBT) и *N,N*-диизопропилэтиламина (DIPEA) приводила к целевому продукту **36** с выходом 35%.

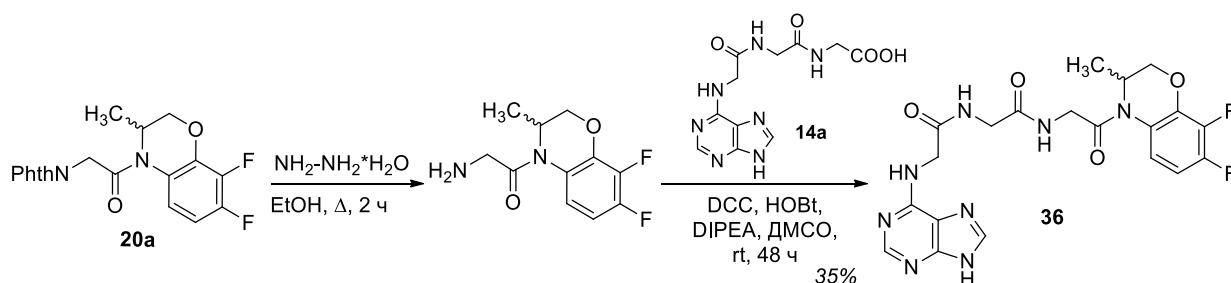


Схема 2.17 – Синтез конъюгата **36**, содержащего в качестве линкера остаток трипептида GlyGlyGly

Синтетические модификации соединения **18j**, описанные в данном разделе, имеют чрезвычайную важность для оценки необходимости основных структурных элементов конъюгата (пурина, ω -аминокислоты и 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина) для проявления биологической активности, поэтому получению таких соединений было уделено особое внимание.

2.2.6 Синтез конъюгатов аналогов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазином

Одним из подходов к дальнейшей модификации соединения **18e** стала замена фрагмента пурина на пуриноподобные структуры, таких как 7-дезапурин и 6,7-диметоксихиназолин.

В лаборатории асимметрического синтеза ИОС УрО РАН был получен конъюгат 7-дезапурина **37** с (*RS*)-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазином, содержащий остаток 11-аминоундекановой кислоты. Было показано, что соединение **37** селективно действует на ВПГ-1, в том числе в отношении ацикловир-резистентного штамма (рисунок 2.12).

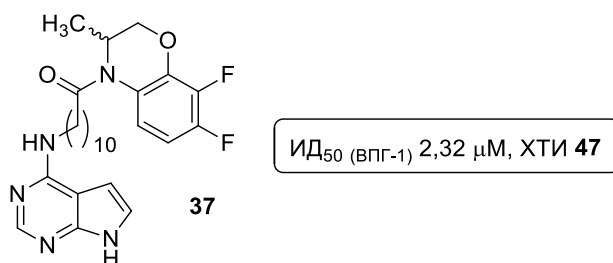


Рисунок 2.12 – Конъюгат 7-дезапурина **37**, обладающий высокой активностью в отношении ВПГ-1

Мы исследовали возможность применения ранее разработанного подхода для получения энантиомерно чистых конъюгатов (*S*)-**37** и (*R*)-**37**. Синтез заключался в последовательных реакциях гидразинолиза *N*-фталоилпроизводных (*R*)-**20j** и (*S*)-**20j** и нуклеофильного замещения хлора в 6-хлор-7-дезапурине **38** полученными аминами (*R*)-**21j** и (*S*)-**21j** (схема 2.18).

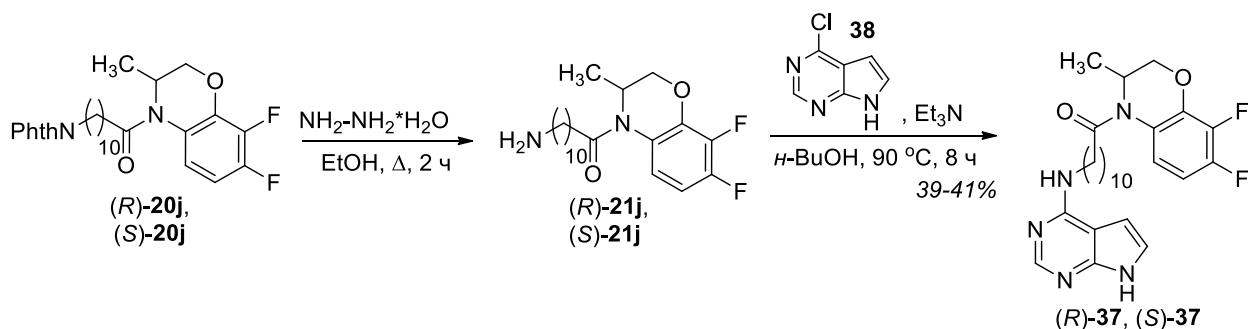


Схема 2.18 – Синтез конъюгатов 7-дезапурина (*R*)-**37** и (*S*)-**37**, содержащих остаток 11-аминоундекановой кислоты

Методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на хиральной неподвижной фазе были найдены условия разделения смеси энантиомеров **37** (колонка (*S,S*)-Whelk-O1, элюент метанол–вода 85 : 15); анализ соединений (*R*)-**37** и (*S*)-**37** в этих условиях показал их энантиомерную чистоту (рисунок 2.13). В результате установлено, что предложенный подход позволяет

синтезировать энантимерно чистые конъюгаты 7-дезапурина с аминами (*R*)-**1** и (*S*)-**1**.

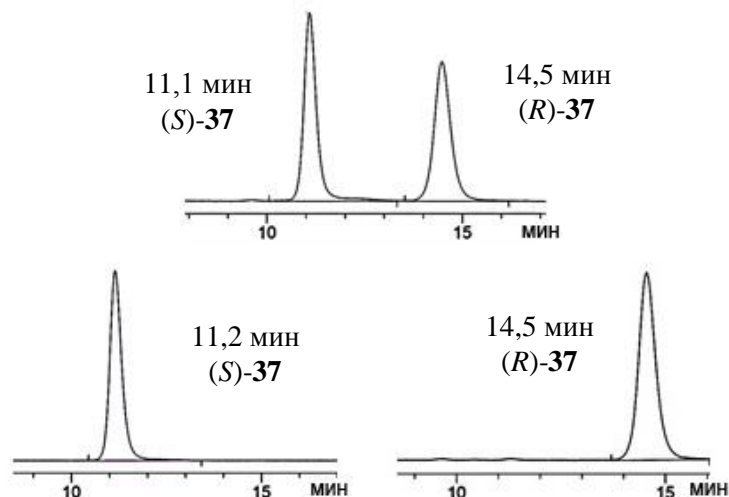


Рисунок 2.13 – Фрагменты ВЭЖХ хроматограмм соединений (*RS*)-**37**, (*S*)-**37** и (*R*)-**37** ((*S,S*)-Whelk-O1, элюент метанол–вода 85 : 15)

Также был получен аналог соединения **18e**, в котором фрагмент пурина заменен на остаток 6,7-диметоксихиназолина. Синтез проводили исходя из *N*-фталоилпроизводного **20e** [10], гидразинолиз которого приводил к соответствующему первичному амину; последующее нуклеофильное замещение хлора в 4-хлор-6,7-диметоксихиназолине **39** давало целевой конъюгат **40** с выходом 23% (схема 2.19).

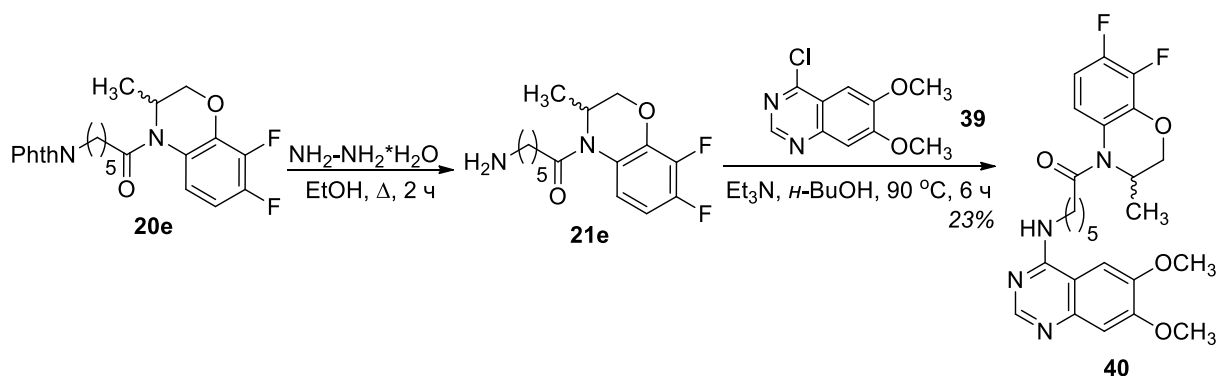


Схема 2.19 – Синтез конъюгата 6,7-диметоксихиназолина с амином (*RS*)-**1**

Таким образом, было показано, что предложенный ранее подход к получению конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином применим и для синтеза его аналогов на основе 7-дезапурина и 6,7-диметоксихиназолина. Следует отметить, что метод позволяет получить соединения в энантимерно чистой форме, что важно для последующего исследования биологической активности и возможного практического применения.

2.3 Изучение биологической активности и механизма действия полученных соединений

Изучена биологическая активность полученных соединений: противовирусная (в отношении вирусов герпеса и гриппа), противоопухолевая и антибактериальная. Для углубленного изучения наиболее активных соединений (*S*)-**18e** и **18j** разработаны методы синтеза, позволившие наработать их в мультиграммовых количествах.

2.3.1 Противогерпетическая активность *in vitro*

По оценкам, около 3,7 миллиарда человек в возрасте до 50 лет (67%) в мире инфицированы ВПГ-1; 491 миллион человек в возрасте от 15 до 49 лет (13%) в мире инфицированы ВПГ-2 [6]. Чаще всего репликация вируса ограничивается эпителием и устанавливает латентный период в нейронах, периодически реактивируясь и вызывая локальные рецидивирующие поражения. Однако вирусы герпеса также могут вызывать тяжелые заболевания, такие как рецидивирующий кератит, потенциально приводящий к слепоте, а также энцефалит и системные заболевания у новорожденных и пациентов с ослабленным иммунитетом. Используемые для лечения ВПГ-инфекций противовирусные препараты первого и второго рядов (ацикловир, пенцикловир, фоскарнет, цидофовир) воздействуют на вирусную полимеразу [143], поэтому создание антивирусных агентов, которые используют другие мишени, расширит возможности воздействия на ВПГ-инфекции. Хотя противовирусная терапия эффективна для лечения как первичных, так и рецидивирующих инфекций, резистентность к имеющимся в настоящее время лекарствам представляют собой текущую и будущую угрозу, которую необходимо устранять путем разработки новых противовирусных препаратов, направленных против новых мишеней [144].

Изучение противогерпетической активности полученных соединений проводилось в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (г. Москва) под руководством д.б.н., проф. Г.А. Галегова и к.б.н. В.Л. Андроновой. Была исследована активность амина (*RS*)-**1**, *N*-пуринил- ω -аминокислот **14b-e**, амидов себаценовой кислоты **35** и (*S,S*)-**35**, конъюгатов пурина **18a-d,f-l**, (*R*)-**18g**, (*S*)-**18g**, **26a-b,d-e**, **27a-c**, **28a-d**, **30**, **31**, **36** и 7-дезапурина (*S*)-**37**, (*R*)-**37** в отношении вируса простого герпеса (лабораторного штамма ВПГ-1/L₂ и ацикловир-резистентного штамма ВПГ-1/L₂/R) на клетках Vero E6 (таблицы 2.2–2.4). В качестве препаратов сравнения использовали клинически применяемые препараты ацикловир и фоскарнет, а также выявленное нами ранее

соединение-лидер (*S*)-**18e**. Изучение антигерпетической активности соединений *in vitro* проводили в соответствии с принятым в международной практике методом ингибирования развития вирусиндуцированного цитопатического эффекта (*CPE inhibition assay*) [145, 146]. К сформированному монослою клеток Vero E6 прибавляли растворы полученных соединений в ДМСО. Антигерпетическую активность соединений определяли как концентрацию, при которой происходит ингибирование вирус-индуцированной цитопатического эффекта на 50% (ИД₅₀). Цитотоксичность определяли как концентрацию, при которой выживаемость клеток составляет 50% (ЦД₅₀). Химиотерапевтический индекс (ХТИ) рассчитывали как отношение ЦД₅₀ к ИД₅₀.

2.3.1.1 Противогерпетическая активность конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазином, содержащих ω-аминокислотный линкер

Для ряда соединений **18a-d,f-l**, в котором широко варьируется длина ω-аминокислотного фрагмента, была исследована ингибирующая активность в отношении ВПГ-1, в том числе и ацикловир-резистентного штамма ВПГ-1/L₂/R (таблица 2.2).

Важно отметить, что короткоцепочечные конъюгаты и конъюгаты со средней длиной линкера, а именно производные глицина (**18a**), β-аланина (**18b**), γ-аминомасляной (**18c**), 5-аминопентановой (**18d**) и 7-аминогептановой кислот (**18f**), за исключением производного 6-аминогексановой кислоты **18e**, не проявили противогерпетической активности.

Последующее увеличение длины линкера (n = 7) позволило получить соединение **18g** (ИД₅₀ 2,32 μМ), противогерпетическая активность которого превосходит активность рацемата соединения-лидера **18e** (ИД₅₀ 9,28 μМ), что сопровождается трехкратным увеличением цитотоксичности. Конъюгат **18g** сохраняет активность и в отношении ацикловир-резистентного штамма ВПГ-1/L₂/R, что может свидетельствовать об ином механизме его действия по сравнению с ацикловиром, поскольку резистентность этого штамма обусловлена полной потерей активности вирусной тимидинкиназы. Сохранение чувствительности штамма ВПГ-1/L₂/R к соединению **18g** указывает на то, что для проявления его противовирусной активности фосфорилирование вирусной тимидинкиназой не требуется.

Исследование противогерпетической активности индивидуальных энантиомеров производного 8-аминооктановой кислоты (*R*)-**18g** и (*S*)-**18g** (ИД₅₀ 17,2 μМ и 2,20 μМ соответственно) показало, что тенденция к большей активности именно (*S*)-энантиомера, которая была выявлена для энантиомеров производного 6-аминогексановой кислоты **18e**, сохраняется. Однако важно отметить, что наилучшая селективность действия достигается

только при использовании рацемата **18g**, что, вероятно связано с синергическим действием энантиомеров (*R*)-**18** и (*S*)-**18** и требует дополнительного изучения.

Таблица 2.2 – Цитотоксичность и противогерпетическая активность конъюгатов пурина **18a-l** (в т.ч. их энантиомеров), **36**, амина (*RS*)-**1**, *N*-пуринил- ω -аминокислот **14b-e** и амидов **35** и (*S,S*)-**35**

Соединение	Длина линкера, n	ЦД ₅₀ , μ M	ВПГ-1/L ₂		ВПГ-1/L ₂ /R	
			ИД ₅₀ , μ M	ХТИ	ИД ₅₀ , μ M	ХТИ
(<i>RS</i>)- 1	–	1446	594	2,4	891	1,6
14b	–	1800	2375	<1	2375	<1
14c	–	293	148	2,0	148	2,0
14d	–	745	148	5,0	148	5,0
14e	–	334 ^a	297	1,1	297	1,1
35	–	796	466	1,7	466	1,7
(<i>S,S</i>)- 35	–	875	>932	<1	>932	<1
18a	1	594	594	1	594	1
18b	2	427	297	1,4	297	1,4
18c	3	1098	594	1,8	594	1,8
18d	4	1172	297	3,9	297	3,9
18e	5	293	9,28	32	9,28	32
(<i>R</i>)- 18e	5	316	18,0	18	18,0	18
(<i>S</i>)- 18e	5	293	4,63	64	4,63	64
18f	6	250	72,6	3,4	74,2	3,4
18g	7	90,0	2,32	39	2,32	39
(<i>R</i>)- 18g	7	106	17,2	6,2	17,2	6,2
(<i>S</i>)- 18g	7	17,4	2,20	7,9	2,32	7,5
18h	8	79,2	4,26	19	8,52	9,3
18i	9	63,4	4,05	16	4,05	16
18j	10	21,5	4,64	4,6	9,28	2,3
18k	11	196	18,6	11	37,1	5,3
18l	14	51,5	7,14	7,2	7,14	7,2
36	GlyGlyGly	2238	1188	1,9	1188	1,9
ацикловир	–	>444	1,73	>256	>444	>1
фоскарнет	–	>667	104	>4	104	>6,4

^a Число окрашенных (погибших) клеток не достигает показателя 50% и составляет 38,5 \pm 1,5% при использовании соединения в концентрации 250 мкг/мл. При более высоких концентрациях клетки полностью экранированы нерастворившимся препаратом.

При увеличении длины линкера (соединения **18h-j,l**) вклад цитотоксичности соединений оказывает существенное влияние на величину ХТИ (рисунок 2.14). Поэтому, несмотря на высокую противогерпетическую активность (ИД₅₀ 4,05–7,14 μ M), высоких значений значений ХТИ достичь не удастся (ХТИ 4,6–19; рисунок 2.15). Некоторое исключение из ряда составляет конъюгат **18k**, для которого заметно снижены как противогерпетическая активность, так и цитотоксичность. Наибольшей цитотоксичностью среди рацематов конъюгатов пурина (соединения **18a-l**) обладает производное 11-амиоундекановой кислоты **18j** (ЦД₅₀ 21,5 μ M).

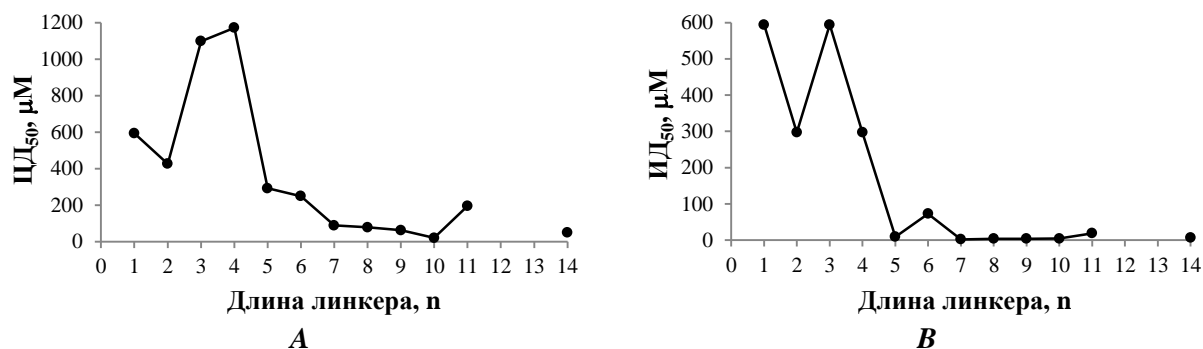


Рисунок 2.14 - **A**: Зависимость цитотоксического действия соединений **18a-l** (IC₅₀, μM) от длины линкера. **B**: Зависимость противогерпетической активности соединений **18a-l** (ID₅₀, μM) от длины линкера

Значение ХТИ > 7 является критерием отбора и позволяет рассматривать соединение в качестве потенциального противогерпетического агента. Среди изученной группы соединений **18a-d,f-l** (в т.ч. их энантиомеров) шесть конъюгатов обладают значением ХТИ более 7 (таблица 2.2), что свидетельствует о перспективности поиска противовирусных препаратов в указанном ряду соединений.

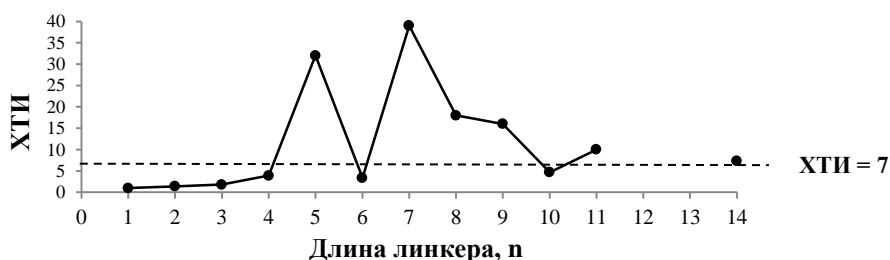


Рисунок 2.15 - Зависимость значения ХТИ соединений **18a-l** от длины линкера

Следует отметить, что антигерпетическая активность наблюдается при сохранении всех трех элементов структуры («пурин – ω-аминокислота – 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин»): соединения (*RS*)-**1**, **14b-e**, **35** и (*S,S*)-**35**, в которых не было одного или двух значимых фрагментов, активностью не обладали (рисунок 2.16). Не менее важно сохранение алкильной полиметиленовой цепи: замена фрагмента ω-аминокислоты на остаток трипептида GlyGlyGly (соединение **36**) привела к исчезновению активности.

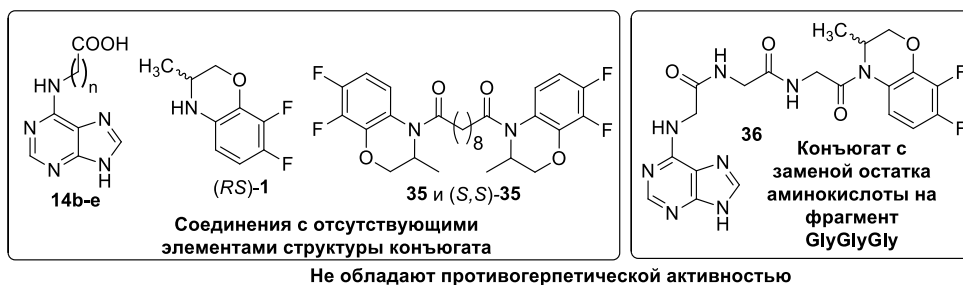


Рисунок 2.16 – Влияние удаления или замены основных элементов структуры изучаемых конъюгатов **18a-l**

Из полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Среди изученной группы соединений **18a-d,f-l** (в т.ч. их энантиомеров) выявлено шесть конъюгатов со значением ХТИ > 7 (таблица 2.2), что свидетельствует о перспективности поиска противовирусных препаратов в указанном ряду соединений. По значению ХТИ наиболее активные соединения превосходят препарат сравнения фоскарнет. Соединения активны как в отношении ВПГ-1, так и в отношении ацикловир-резистентного штамма, что свидетельствует об ином механизме их действия.
2. Соединения с короткой и средней полиметиленовой цепью **18a-d,f** не проявляют противогерпетической активности.
3. Для конъюгатов **18h-l** с длинной полиметиленовой цепочкой наблюдается высокая противогерпетическая активность, преимущественно в сочетании с высокой цитотоксичностью (за исключением соединения **18k**).
4. В ряду рацемических конъюгатов **18a-d,f-l** производное 8-аминооктановой кислоты **18g** продемонстрировало наибольший ХТИ, что, возможно, связано с синергетическим действием энантиомеров (*R*)-**18g** и (*S*)-**18g**.
5. Противогерпетическая активность обуславливается наличием всех трех структурных элементов конъюгатов: пурина, ω-аминокислоты и 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина. Удаление одного или двух из них, а также замена остатка ω-аминокислоты на фрагмент трипептида GlyGlyGly приводит к полному исчезновению активности.

2.3.1.2 Противогерпетическая активность производных соединения-лидера, модифицированного путем введения аминов иной структуры

При исследовании противогерпетической активности производных пурина, в которых остаток 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина заменен на амины иной структуры (соединения **26a-b,d-e**, **27a-c**, **28a-d**; таблица 2.3), выявлены следующие закономерности:

1. Конъюгаты пурина с гетероциклическими аминами (соединения **26a-b,d-h**) и производными адамантана **27a-c** активностью не обладают.
2. Введение бензаннелированных аминов по сравнению с неаннелированными приводило к увеличению противогерпетической активности, максимум которой достигался производным бензоксазина **28b** (ИД₅₀ 9,27 μМ, ХТИ 19), близким по структуре к соединению **18e**, что указывает на перспективность синтеза и исследования производных бензоксазина.

Таблица 2.3 – Цитотоксичность и противогерпетическая активность соединений **26a-b,d-h**, **27a-c**, **28a-d**

Соединение	Длина линкера, n	ЦД ₅₀ , μМ	ВПГ-1/L ₂		ВПГ-1/L ₂ /R	
			ИД ₅₀ , μМ	ХТИ	ИД ₅₀ , μМ	ХТИ
26a	5	>3141 ^a	2375	>1	3141	>1
26b	5	2089	594	3,5	594	3,5
26d	5	2329	1188	2,0	1188	2,0
26e	5	1400	297	4,7	297	4,7
26f	5	1965	594	3,3	594	3,3
26g	5	>2392	591	>4,0	591	>4,0
26h	5	>771	297	>2,6	297	>2,6
27a	5	653	148	4,4	148	4,4
27b	5	1365	654	2,1	654	2,1
27c	5	430	148	2,9	148	2,9
28a	5	96,6	26,4	3,7	26,4	3,7
28b	5	172	9,27	19	18,6	9,3
28c	5	760	74,2	10	74,2	10
28d	5	589	74,2	7,9	77,1	7,6
ацикловир	–	>444	1,73	>256	>444	>1
фоскарнет	–	>667	104	>4	104	>6,4
(S)- 18e	5	293	4,63	64	4,63	64

^a Эффект не достигается даже при использовании соединения в максимальной исследованной концентрации.

2.3.1.3 Противогерпетическая активность нуклеозидов и аналогов пурина

Как было описано выше, для производного 11-аминоундекановой кислоты **18j** была выявлена высокая антигерпетическая активность (ИД₅₀ 4,64 μМ), сопряженная с высокой цитотоксичностью (ЦД₅₀ 21,5 μМ). Модификация путем введения псевдо-углеводного фрагмента CH₂-O-CH₂-CH₂-OR (R = H, Ac), содержащегося в структуре ацикловира, привела к получению конъюгатов **30** и **31**, для которых наблюдалось одновременное снижение и активности, и цитотоксичности по сравнению с предшественником **18j** (таблица 2.4). Положительным результатом введения таких остатков можно считать увеличение селективности действия этих соединений по сравнению с предшественником: значение ХТИ > 7 позволяет рассматривать конъюгаты **30** и **31** в качестве перспективных противогерпетических агентов.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что введение псевдоуглеводного остатка привело к желаемому снижению цитотоксичности (что, вероятно, связано с увеличением водорастворимости соединений), однако это было сопряжено со снижением противогерпетической активности в 4 раза (соединение **30**) и 8 раз (соединение **31**)

(таблица 2.4) в сравнении с соединением-предшественником **18j**. Такой подход к модификации соединения-лидера представляет интерес ввиду того, что он позволяет получить перспективные противовирусные агенты с индексом ХТИ > 7, но требует дополнительных изменений в структуре (например, длины линкера *n*), что может стать предметом наших дальнейших исследований.

Соединение **34a**, содержащее ацетилзащищенный углеводный остаток, не обладает цитотоксичностью и не проявляет значимую противовирусную активность. Однако удаление защитных групп (соединение **34a**) привело к увеличению цитотоксичности в 54 раза и противовирусной активности в 16 раз.

Таблица 2.4 – Цитотоксичность и противовирусная активность нуклеозидов и аналогов пурина

Соединение	Длина линкера, <i>n</i>	ЦД ₅₀ , μМ	ВПГ-1/L ₂		ВПГ-1/L ₂ /R	
			ИД ₅₀ , μМ	ХТИ	ИД ₅₀ , μМ	ХТИ
30	10	149	18,6	8,0	25,9	5,8
31	10	359	37,1	9,7	55,7	6,4
34a	10	1098	148	7,4	148	7,4
33a	10	23,3	9,28	2,5	9,28	2,5
(<i>R</i>)- 37	10	97,5	3,88	25	3,88	25
(<i>S</i>)- 37	10	119	1,45	82	2,91	41
40	5	13,8	– ¹	–	–	–
ацикловир	–	>444	1,73	>256	>444	>1
фоскарнет	–	>667	104	>4	104	>6,4
(<i>S</i>)- 18e	5	293	4,63	64	4,63	64
18j	10	21,5	4,64	4,6	9,28	2,3
37	10	109	2,32	47	4,64	23

¹ Развитие вирусиндуцированного ЦПЭ (полное поражение клеточного монослоя) не ингибируется даже субтоксичными концентрациями соединения.

Энантиомеры соединения **37**, в котором фрагмент пурина заменен на его аналог, 7-дезапурин, показали высокую активность в отношении ВПГ-1 (таблица 2.4). Установлено, что энантиомер (*S*)-**37** обладает ИД₅₀ 1,45 μМ и ХТИ 82, что стало наилучшими показателями в рассматриваемом ряду соединений; активность (*R*)-**37** несколько ниже (ИД₅₀ 3,88 μМ; ХТИ 25).

Таким образом, модификации, заключающиеся в замене фрагмента пурина на его структурные аналоги, в данном случае, на остаток 7-дезапурина, представляются весьма перспективными и открывают возможность получения соединений, обладающих значительной противовирусной активностью.

Производное 6,7-диметоксихиназолина **40** не показало противовирусной активности, однако проявило высокую цитотоксическую активность (ЦД₅₀ 13,8 μМ), что является максимумом среди всех изученных соединений. Это соединение может стать основой для последующих работ по разработке противоопухолевых агентов.

2.3.2 Изучение механизма действия соединения-лидера в отношении ВПГ-1

Соединение-лидер (S)-18e показало высокую ингибирующую способность в отношении ВПГ-1. Для его дальнейшего продвижения в клиническую практику и рационального синтеза более эффективных аналогов требуется тщательное изучение его механизма действия. Для этого был проведен ряд исследований, описанных ниже.

2.3.2.1 Определение стадии жизненного цикла ВПГ-1, на которую направлено действие соединения-лидера

В Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России были проведены исследования стадии жизненного цикла ВПГ-1, на которую направлено действие соединения-лидера (S)-18e. Было изучено влияние времени введения соединения-лидера на репродукцию ВПГ-1 (рисунок 2.17) [147]. Оценку влияния (S)-18e на связывание вируса с рецепторами на поверхности клетки, на проникновение ВПГ-1 в клетку и на выход вируса из клетки проводили в соответствии с [148]. Основные стадии жизненного цикла ВПГ-1 изображены на рисунке 2.18.

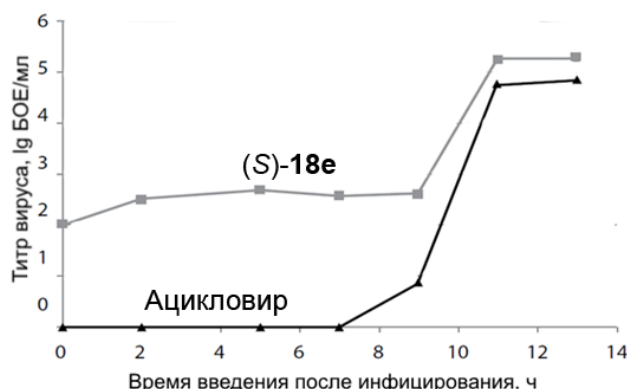


Рисунок 2.17 – Влияние времени введения (S)-18e и ацикловира на репродукцию ВПГ-1

Показано, что ингибирующая активность (S)-18e сохранялась при добавлении через 0, 3, 5, 7 и 9 ч после инфицирования (p.i.) и существенно снижалась при его введении спустя 11 ч p.i. Следует отметить, что синтез ДНК ВПГ-1 начинается через 2 ч p.i., достигает максимальной скорости к 4 ч p.i., сохраняется до 8 ч p.i., а через 14 ч p.i. репликация ДНК ВПГ-1 практически прекращается. Из этого было сделано предположение о том, что соединение-лидер (S)-18e наиболее вероятно ингибирует репродукцию ВПГ путем супрессии репликации вируса.

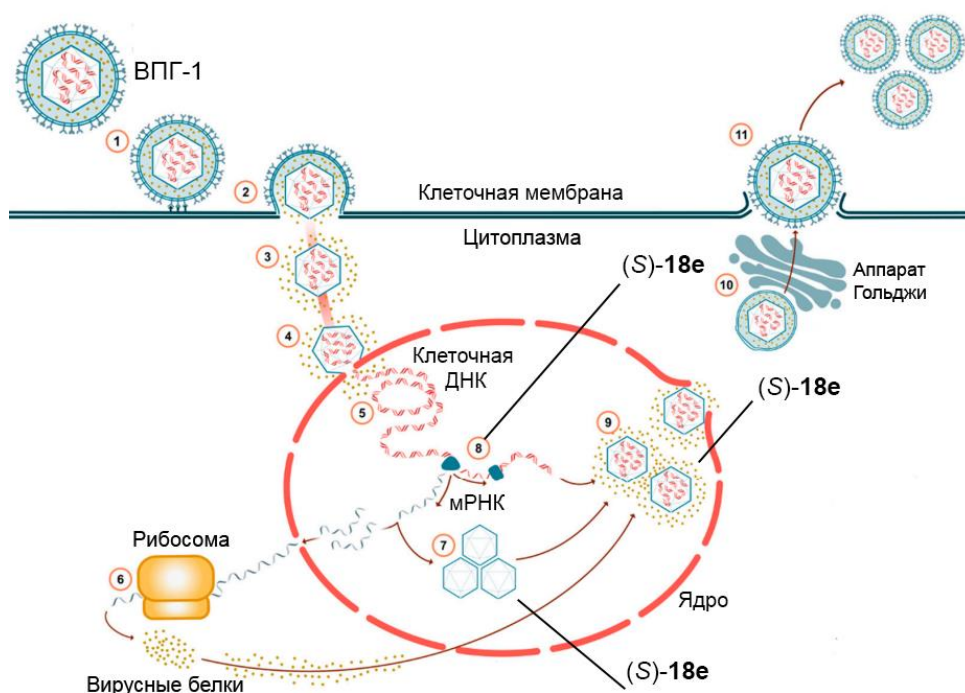


Рисунок 2.18 - Стадии жизненного цикла ВПГ-1 [149] (линиями обозначены стадии, на которые предположительно может действовать соединение-лидер (S)-18e): 1 – присоединение ВПГ-1 к клеточным рецепторам; 2 – проникновение в клетку; 3 – транслокация капсида в ядро; 4 – высвобождение вирусной ДНК; 5 – экспрессия генов; 6 – синтез вирусных протеинов; 7 – формирование капсида; 8 – репликация вирусной ДНК; 9 – сборка; 10 – формирование оболочки; 11 – выход вируса из клетки.

По результатам исследования стадии жизненного цикла ВПГ-1, чувствительной к действию соединения (S)-18e, сделаны следующие выводы:

1. Соединение (S)-18e не оказывает значительного влияния на стадии связывания с клеточными рецепторами, проникновения вируса в клетку и выхода вируса из клетки.
2. Соединение предположительно ингибирует репликацию вирусного генома, в которой участвуют различные вирусные белки и ферменты, имеющие значение в метаболизме нуклеотидов, включая тиминидинкиназу и рибонуклеотидредуктазу.
3. Возможно ингибирование репродукции соединения (S)-18e на этапе сборки капсида и упаковки вирусной ДНК в капсид, происходящих параллельно с репликацией. В этом процессе участвуют основной белок капсида, малый капсидный белок, порталный белок.

Эти данные стали основой для дальнейшего исследования механизма действия соединения (S)-18e.

2.3.2.2 Определение мишени противовирусного действия соединения-лидера и молекулярный докинг к предполагаемому сайту связывания

Для определения предполагаемой мишени, на которую направлено действие соединения-лидера (*S*)-**18e**, в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России была выполнена селекция устойчивых к данному конъюгату пурина штаммов ВПГ-1 [150].

Для получения резистентной к соединению (*S*)-**18e** популяции вируса герпеса 1 типа была проведена серия последовательных пассажей эталонного штамма ВПГ-1/L₂ в присутствии соединения (*S*)-**18e**. Чувствительность материала каждого пассажа контролировали с использованием метода ингибирования развития вирусиндуцированного ЦПЭ. Концентрацию препарата постепенно повышали в процессе пассирования по мере снижения чувствительности вируса.

В Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (г. Москва) под руководством д.б.н. А.В. Белявского было проведено высокопроизводительное секвенирование ДНК резистентных клонов.

В результате сравнительного анализа генома эталонного штамма ВПГ-1 и геномов трех клонов ВПГ-1, выделенных из устойчивой к соединению-лидеру популяции, установлено 5 мутаций, приводящих к заменам аминокислот у всех трех клонов. Однако показано, что за резистентность к (*S*)-**18e** наиболее вероятно ответственна мутация в гене UL15, задействованном в ряде ключевых этапов репродуктивного цикла ВПГ-1. Выявленная мутация состоит в замене остатка треонина в 321 положении на остаток изолейцина (T321I).

Ген UL15 кодирует большую субъединицу терминазного комплекса, в функции которого входят распознавание, транслокация конкатемерной двухцепочечной ДНК (dsDNA) ВПГ в предварительно сформированный прокапсид через додекамерный портал, ее расщепление в точном месте, чтобы высвободить геномы единичной длины, связанные «голова к хвосту», и обеспечение энергией процессов упаковки и нарезания dsDNA. Эти процессы являются одними из ключевых этапов репродуктивного цикла ВПГ [151, 152] и для их реализации необходимы по крайней мере семь кодируемых вирусом белков, среди которых pUL15.

Большая субъединица терминазы (протеин pUL15) может рассматриваться в качестве перспективной лекарственной мишени, поскольку потеря ее функциональной активности приводит к нарушению образования зрелых вирионов.

В Уфимском институте химии Уфимского федерального исследовательского центра РАН (г. Уфа) под руководством д.х.н. С.С. Борисевич проведено молекулярное

моделирование взаимодействия (*S*)-**18e** с большой субъединицей терминазы ВПГ-1. Подробности теоретических расчетов приведены в [150].

Большая субъединица терминазы включает в себя два домена: С-концевой нуклеазный домен (нарезает вирусную ДНК) и N-концевой АТФазный домен (гидролизует АТФ, обеспечивая энергию для разрезания и переноса генома). Установлено, что аминокислотная замена Т321I локализована в N-концевой части протеина рUL15. В качестве потенциальных сайтов связывания лиганда (*S*)-**18e** были рассмотрены АТФ-домен, центральный канал и подвижная петля. Основная стратегия расчетов заключалась в оценке аффинности (*S*)-**18e** к потенциальным сайтам связывания.

Геометрические параметры гетеротримера UL15–UL28–UL33, соответствующего PDB коду 6M5V [152], загружены из некоммерческой базы данных Protein Data Bank [153].

Молекулярный докинг исследуемого лиганда проводили с использованием протокола принудительного докинга (гибкий докинг) в следующих условиях: гибкий протеин и лиганд, были оптимизированы с учетом влияния лиганда. Для молекулярно-динамических симуляций использовали геометрические параметры гетеротримеров дикого и мутантного типа, а также лиганд-белковые комплексы.

Анализ данных молекулярного докинга позволил предположить, что исследуемый лиганд может связываться в АТФ-домеине ввиду образования межмолекулярных взаимодействий как пуринового фрагмента, так и ароматического фрагмента с рядом аминокислотных остатков (рисунок 2.19). Малая вероятность расположения молекулы в центральном канале была показана невысокой степенью сродства лиганда к предполагаемому месту связывания.

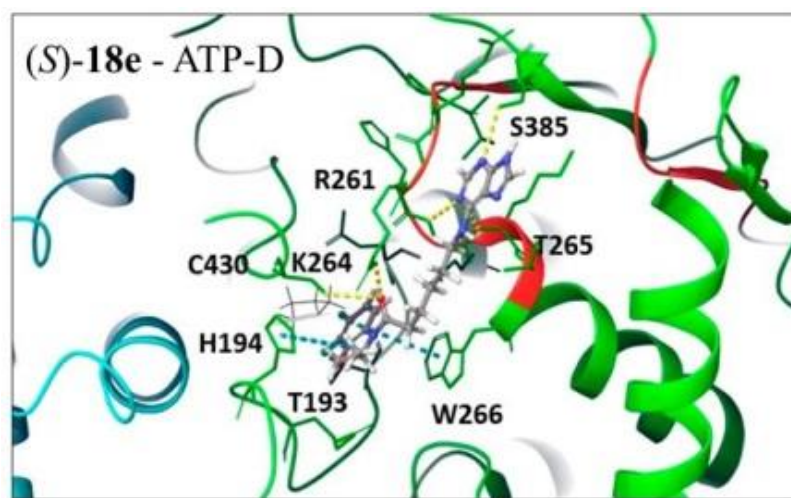


Рисунок 2.19 - Визуализация места связывания (*S*)-**18e** с АТФ-домеином. Вторичная структура, обозначенная зеленым цветом, соответствует субъединице UL15, голубым цветом – субъединице UL15. Зеленой линией обозначена поверхность субъединицы

В модели связывания лиганда в полости под подвижной петлей (рисунок 2.20) имелось два варианта положения молекулы (*S*)-**18e**: в первом случае, (*S*)-**18e** – loop1, молекула лежит под петлей, при котором пуриновый фрагмент лежит ближе к α -спирали (а.о. 365-373), во втором случае, (*S*)-**18e** – loop2, напротив, ближе к α -спирали расположен фрагмент дифторбензоксазина.

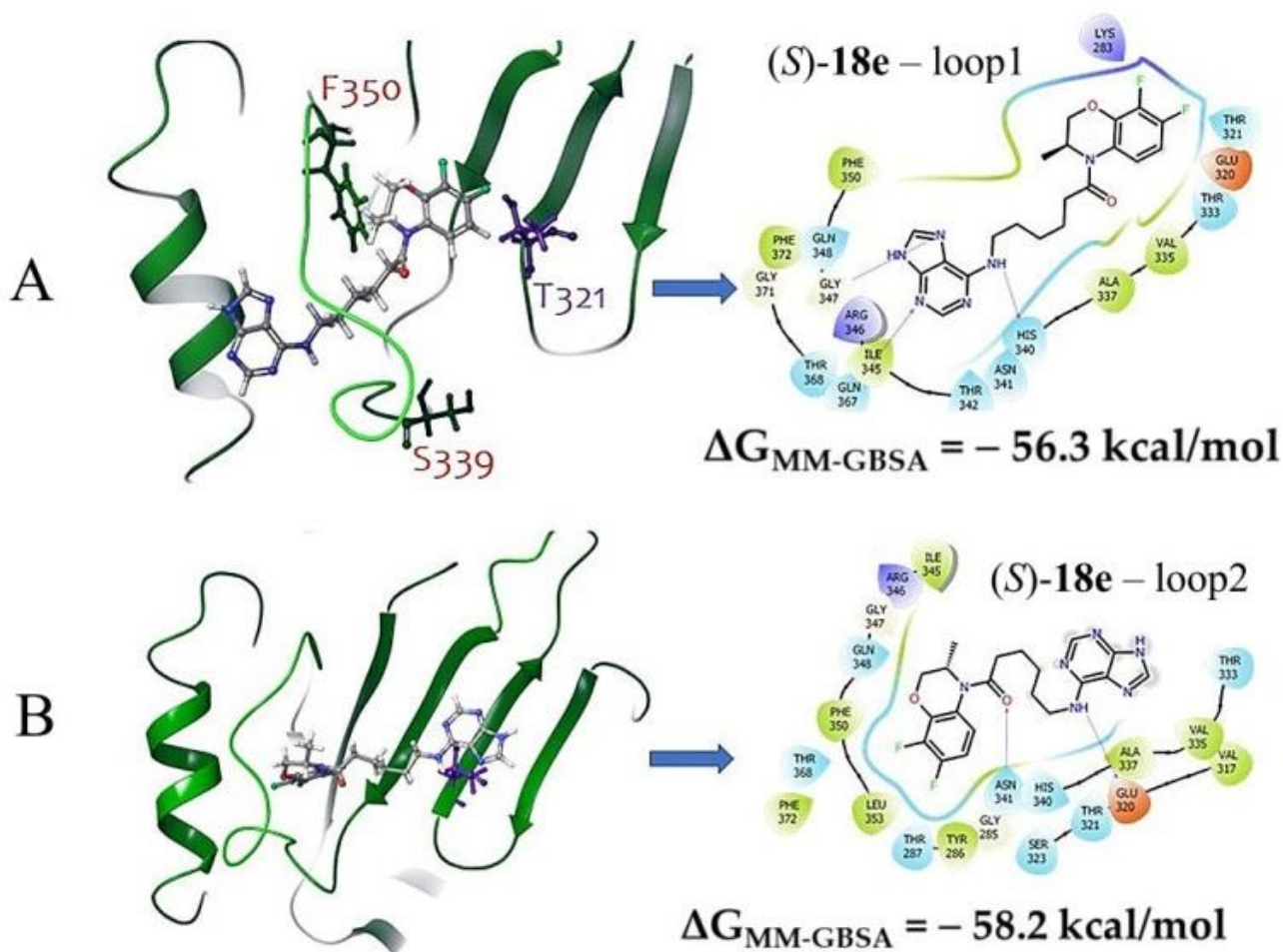


Рисунок 2.20 - Результаты молекулярного докинга (*S*)-**18e** в пространство около петли а.о. 339-350. **A**: Вариант (*S*)-**18e** – loop1. **B**: Альтернативный вариант комплекса (*S*)-**18e** – loop2

Для оценки поведения лиганда в рассмотренных сайтах связывания, а также степени влияния на вторичную структуру комплекса, были проведены молекулярно-динамические симуляции. По их результатам показано, что лиганд находится непродолжительное время в сайте связывания АТФ, после чего мигрирует к другой субъединице UL28. Исходя из этого можно предположить, что, несмотря на наличие аффинности к сайту связывания АТФ, лиганд там удерживаться не будет. При проведении молекулярно-динамических симуляций комплекса (*S*)-**18e** с подвижной петлей loop2 показано, что в течение всего времени симуляции лиганд расположен в заданной области, контактируя с аминокислотными остатками субъединицы UL15. Помимо этого в комплексе (*S*)-**18e**–loop2 наблюдается

изменение позиции лиганда по сравнению с комплексом (*S*)-**18e**–loop1: пуриновый фрагмент становится окружен полярными аминокислотными остатками Q348, N340, N341, T342; остаток дифторбензоксазина контактирует с гидрофобными аминокислотами V335, A337.

Таким образом, на основе результатов клонирования устойчивых штаммов, высокопроизводительного секвенирования, помощью молекулярного докинга и молекулярно-динамических симуляций был определен возможный сайт связывания с большой субъединицей терминазы ВПГ-1: участок под петлей 339-350 рядом с центральным каналом в непосредственной близости к остатку мутировавшей аминокислоты T321 (рисунок 2.21). Выявленные особенности взаимодействия соединения-лидера с терминазой позволят в дальнейшем проводить подбор структур высокоактивных соединений на основе методов молекулярного моделирования.

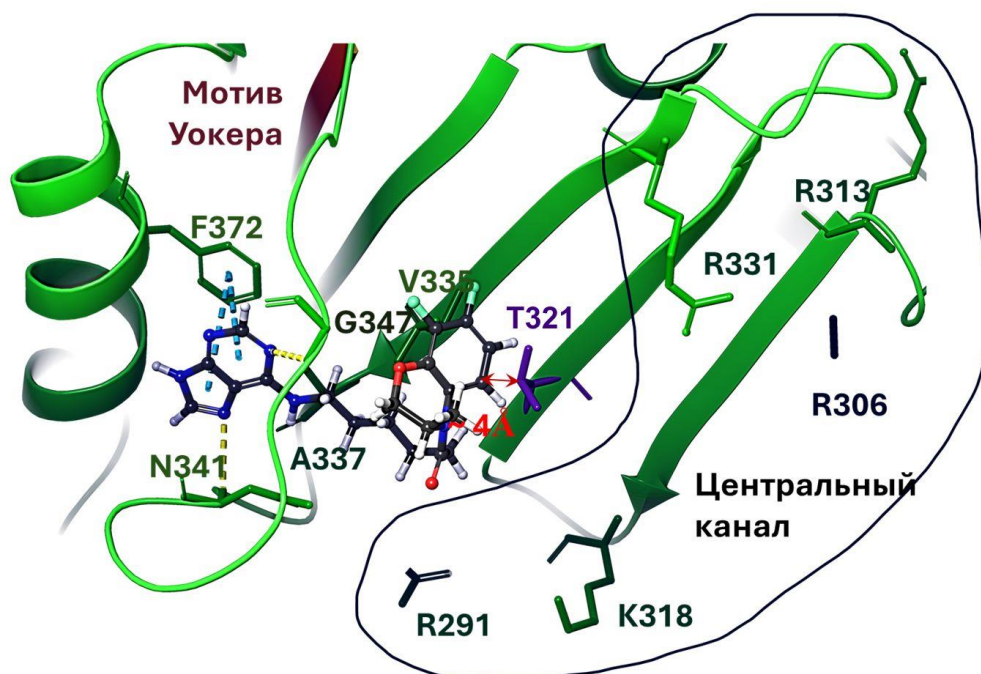


Рисунок 2.21 - Расположение лиганда (*S*)-**18e** в сайте связывания субъединице UL15.

Водородные мостики и π - π стэкинг-взаимодействия обозначены желтыми и голубыми линиями. Вторичная структура мотива Уокера В показана красным цветом.

Следует подчеркнуть, что используемые в настоящее время для лечения ВПГ-инфекций противовирусные препараты первого и второго рядов (ацикловир, цидофовир и др.) воздействуют на вирусную полимеразу. Открытие антивирусных агентов, которые поражают другие мишени, расширит возможности воздействия на ВПГ-инфекции, включая резистентные к базовым лекарствам. В настоящее время не существует средств лечения герпесвирусной инфекции, действие которых основано на ингибировании терминазы.

2.3.3 Противогерпетическая активность *in vivo*

Соединение (S)-**18e** было наработано и передано для изучения активности в отношении ВПГ-1 и ВПГ-2 в опытах *in vivo* в Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (г. Санкт-Петербург) под руководством д.б.н. В.В. Зарубаева.

Установлено, что при однократном внутривнутрибрюшинном введении белым мышам ЛД₅₀ составляет 332 мг/кг, что позволяет отнести указанное соединение к умеренно токсичным.

Проведено исследование протективной активности соединения-лидера на моделях герпетического энцефалита, вызванного вирусом простого герпеса 1 типа, и герпетического вагинита, вызванного вирусом простого герпеса 2 типа, у белых мышей. В качестве препарата сравнения использовали ацикловир. При использовании модели герпетического энцефалита тестируемое соединение (S)-**18e** проявляло способность к снижению специфической смертности в группах опыта на 37,5% по сравнению с группой плацебо. При использовании модели герпетического вагинита применение соединения (S)-**18e** приводило к снижению степени проявления патологии на всех сроках эксперимента. На этой модели показана способность соединения-лидера к снижению специфической смертности в группах опыта на 50% по сравнению с группой плацебо.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что соединение-лидер обладает выраженной противовирусной активностью в опытах *in vivo*, умеренно токсично и может служить основой для создания на его основе или на основе его аналогов препарата для лечения герпеса.

2.3.4 Противогерпетическая активность соединения-лидера в комбинации с известными противогерпетическими соединениями

Комбинированная лекарственная терапия представляет собой воздействие на патологический процесс сразу двумя и более препаратами. В этом случае удается повысить эффективность терапии и использовать соединения в более низких дозах, за счет чего может быть снижена вероятность развития нежелательных побочных эффектов. Также использование комбинации препаратов может препятствовать развитию резистентности, что особенно важно для терапии инфекционных заболеваний.

В Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России были получены результаты совместного применения соединения-лидера с известными противогерпетическими препаратами (ацикловиром, ганцикловиром,

пенцикловиром, БВДУ, идоксуридином, фоскарнетом, аденин арабинозидом, цидофовиром). При использовании комбинации (S)-**18e** с фоскарнетом обеспечивается аддитивный эффект, т.е. ИД₅₀ в раздельном применении каждого из соединений может быть снижена в два раза при использовании их в комбинации. Для комбинаций с остальными препаратами наблюдается синергетический (взаимоусиливающий) эффект. Наиболее выраженный синергетический эффект выявлен для комбинации (S)-**18e** с идоксуридином.

2.3.5 Активность синтезированных соединений в отношении вируса гриппа

Исследование ингибирующей активности соединений **18c-d,g,h-l**, (S)-**18e**, (S)-**18g**, (R)-**18g**, **26a-c**, **27a-c**, **28b** в отношении вируса гриппа проведено в Санкт-Петербургском НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера под руководством д.б.н. В.В. Зарубаева при помощи теста на подавление вирус-индуцированного цитопатического действия (ЦПД) в культуре клеток MDCK (клетки почек собаки Мадина–Дарби) по ранее описанной методике [154]. В опытах использовали эталонный штамм вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) и B/Florida/4/2006 из коллекции вирусных штаммов Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. В качестве препарата сравнения использовали осельтамивир (в форме карбоксилата) – препарат, применяемый для лечения гриппа. Жизнеспособность здоровых и инфицированных клеток оценивали с помощью метилтетразолиевого теста [155], определяя значения цитотоксической концентрации ЦД₅₀ (концентрация соединения, вызывающая гибель 50% культивируемых клеток) и ингибирующей концентрации ИД₅₀ (концентрация соединения, ингибирующая развитие вирус-индуцированного ЦПД на 50%) (таблица 2.5) [139].

Установлено, что значение ИД₅₀ уменьшается с ростом длины линкера, но сопровождается значительным увеличением цитотоксической активности. Особенно это заметно при переходе от производного 5-аминопентановой кислоты **18d** к производному 6-аминогексановой кислоты (S)-**18e**: введение только одного метиленового звена приводит к увеличению цитотоксичности в 29 раз, ингибирующей активности – в 20 раз.

Таблица 2.5 – Цитотоксичность и ингибирующая активность полученных соединений в отношении вируса гриппа в культуре клеток MDCK

Соединение	Длина линкера, n	Вирус гриппа A/Puerto Rico/8/34			Вирус гриппа B/Florida/4/2006		
		ЦД ₅₀ , мкг/мл	ИД ₅₀ , мкг/мл	ХТИ	ЦД ₅₀ , мкг/мл	ИД ₅₀ , мкг/мл	ХТИ
18a	1	>300	49,2	6			
18b	2	251	>100	3			
18c	3	>300	29	10	>300	90	3
18d	4	297	80,1	4			
(S)- 18e	5	10,2	>4	3			
18g	7	2	>1,1	2			
(S)- 18g	7	5	2	3			
(R)- 18g	7	3	>1	3			
18h	8	8,3	>3,7	2			
18i	10	0,21	>0,13	2			
18j	11	0,18	0,11	2			
18l	14	1,8	>1,1	2			
26a	5	>300	46	6			
26b	5	170	20	8	58,8	26	2
26c	5	>300	100	3	>300	>300	1
27a	5	>300	112	3	>300	47,2	6
27b	5	>300	58,2	5	>300	44,7	7
27c	5	37,6	5,1	7	35,2	9,7	4
28c	5	35,3	3,3	11	45,6	7	7
Осельтамивир		>200	0,3	>667			

Значение ХТИ > 10 является критерием отбора и позволяет рассматривать изученное соединение в качестве агента, активного в отношении вируса гриппа. Лишь одно из соединений, конъюгат **18c**, содержащий остаток γ -аминомасляной кислоты, проявил ХТИ = 10. В отношении вируса гриппа В это соединение оказалось неактивным (таблица 2.5). Среди производных адамантана **27a-c** высокоэффективных соединений не обнаружено. Замена остатка амина **1** на амины иной структуры позволила выявить одно соединение, производное бензотиазина **28c**, с ХТИ = 11.

Мы полагаем, что дальнейший поиск препаратов, активных в отношении вируса гриппа, в ряду производных пурина представляется достаточно перспективным.

2.3.6 Антибактериальная активность синтезированных соединений

В Уральском НИИ дерматовенерологии и иммунопатологии (г. Екатеринбург) под руководством д.м.н. Н.П. Евстигнеевой и к.м.н. Н.А. Герасимовой была изучена антимикробная активность конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазином **18e-l**, содержащих в качестве линкера остатки ω-аминокислот различной длины [156]. Показано, что активность соединений в отношении штамма *N. gonorrhoeae*, чувствительного к цефтриаксону, существенно зависит от длины линкера. Максимальная активность достигалась для производных 10-аминодекановой, 11-аминоундекановой и 12-аминододекановой кислот (**18i-k**), активность которых расценивается как высокая и превышает активность спектиномицина, действующего препарата выбора при лечении гонококковой инфекции (таблица 2.6, рисунок 2.22).

Соединения **18e-l** не проявили активности в отношении резистентного к цефтриаксону штамма *N. gonorrhoeae*, что может говорить о механизме действия, схожим с механизмом действия цефтриаксона, ингибитора синтеза клеточной стенки бактерий [157].

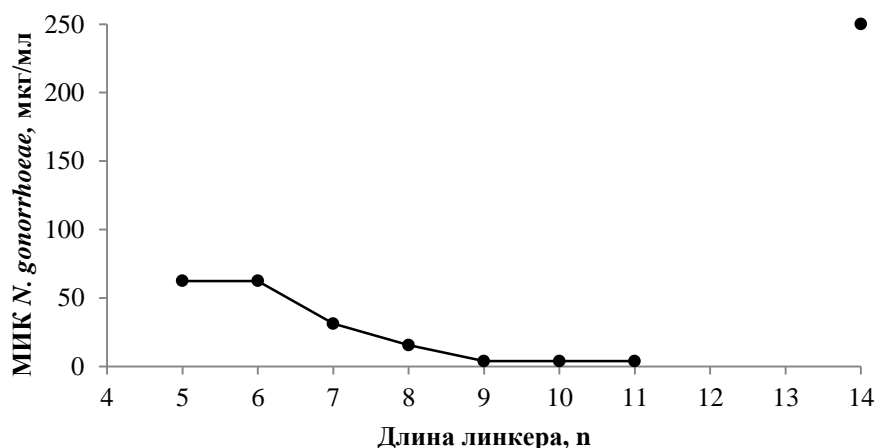


Рисунок 2.22 – Зависимость минимальной ингибирующей концентрации (МИК, мкг/мл) соединений **18e-l** в отношении штамма *N. gonorrhoeae*, чувствительного к цефтриаксону, от длины линкера n

Таблица 2.6 – Антимикробная активность (МИК, мкг/мл) конъюгатов пурина **18e-l**

Штамм <i>N. gonorrhoeae</i>	Длина линкера, n								Спектиномицин	Цефтриаксон
	5 (18e)	6 (18f)	7 (18g)	8 (18h)	9 (18i)	10 (18j)	11 (18k)	14 (18l)		
<i>N. gonorrhoeae</i> 12700 (чувств. к цефтриаксону)	62,5	62,5	31,2	15,6	3,9	3,9	3,9	>250	8,00-32,0	0,0156-0,0039
<i>N. gonorrhoeae</i> 59 (резист. к цефтриаксону)	–	–	–	62,5	>250	31,2	>250	–	Нет данных	Нет данных

Следует отметить избирательность в отношении *N. gonorrhoeae*, поскольку активность в отношении грибов-дерматофитов *T. rubrum*, *E. floccosum* и *M. canis*, дрожжеподобных грибов *C. albicans* и других исследованных бактерий (*E. coli*, *C. braakii*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *S. aureus* и *S. aureus* MRSA) не обнаружена.

Введение углеводных фрагментов в структуру производного 11-аминоундекановой кислоты **18j** привело к небольшому снижению активности в отношении штамма *N. gonorrhoeae* 12700 в случае рибозида **33a** (МИК 7,8 мкг/мл) и полному исчезновению активности его ацетилзащищенного предшественника **34a** (МИК > 250 мкг/мл). Углеводсодержащие производные **33a-c**, как и соединения **18e-1**, не проявляли противогрибковой активности.

Таким образом, в ряду конъюгатов пурина **18e-1**, **33a**, **34a** выявлены соединения, активные в отношении гонококковой инфекции.

2.3.7 Противоопухолевая активность синтезированных соединений *in vitro*

В связи с выявленной у некоторых соединений высокой цитотоксичностью в опытах *in vitro* (см. раздел 2.3.1.1) в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва) под руководством к.фарм.н. М.А. Барышниковой была изучена цитотоксическая активность соединений **18a,e,g,j-1**, (*S*)-**18e**, (*R*)-**18g** в отношении ряда клеточных линий. Исследование проведено на фибробластах легкого WI-38 (здоровые клетки) и линиях опухолевых клеток: немелкоклеточный рак легкого A549, аденокарцинома молочной железы SK-BR-3, карцинома желудка SNU-1 и острый Т-лимфобластный лейкоз Jurkat (таблицы 2.7 и 2.8) [133]. Для изучения цитотоксической активности соединений в отношении клеточных линий *in vitro* использовали МТТ-тест [155]. Согласно руководству по проведению доклинических исследований [36], соединение считается цитотоксически активным, если его ИД₅₀ ≤ 1·10⁻⁴М.

Показано, что противоопухолевая активность в изученном ряду существенно зависит от длины линкера: производное глицина **18a** оказалось не цитотоксичным, производные 6-аминогексановой кислоты **18e** и (*S*)-**18e** проявляли цитотоксическую активность (за исключением клеточной линии рака молочной железы SK-BR-3), но, в целом, уступали соединениям **18g** и (*R*)-**18g** (таблица 2.7).

Таблица 2.7 – Противоопухолевая активность (ИД₅₀, моль/л) конъюгатов пурина **18a,e,g,j-l**, (*S*)-**18e**, (*R*)-**18g** в зависимости от длины линкера

Соединение (длина линкера, n)	ИД ₅₀ , моль/л									
	Wi-38	A549	SK-BR-3	SNU-1	Jurkat	CT-26	MDA- MB231	4T1	COLO201	HepG2
18a (1)	>10 ⁻⁴	>10 ⁻⁴	>10 ⁻⁴	>10 ⁻⁴	>10 ⁻⁴	–	–	–	–	–
18e (5)	9,8·10 ⁻⁵	5,3·10 ⁻⁵	>10 ⁻⁴	2,0·10 ⁻⁵	6,7·10 ⁻⁵	–	–	–	–	–
(<i>S</i>)- 18e (5)	8,1·10 ⁻⁵	5,8·10 ⁻⁴	>10 ⁻⁴	2,6·10 ⁻⁵	3,7·10 ⁻⁵	–	–	–	–	–
18g (7)	5·10 ⁻⁵	4,3·10 ⁻⁵	7,5·10 ⁻⁵	7,0·10 ⁻⁶	8,5·10 ⁻⁶	1,9·10 ⁻⁵	4,4·10 ⁻⁵	2,3·10 ⁻⁵	6,8·10 ⁻⁷	8,5·10 ⁻⁶
(<i>R</i>)- 18g (7)	5,7·10 ⁻⁵	5,9·10 ⁻⁵	8,6·10 ⁻⁵	7,0·10 ⁻⁶	9,9·10 ⁻⁶	–	–	–	–	–
18j (10)	2,1·10 ⁻⁵	2,1·10 ⁻⁵	2,8·10 ⁻⁵	2,0·10⁻⁶	1,0·10 ⁻⁵	7,0·10 ⁻⁶	2,1·10 ⁻⁵	6,3·10⁻⁷	9,1·10⁻⁷	4,8·10 ⁻⁶
18k (11)	7,1·10 ⁻⁵	7,5·10 ⁻⁵	8,5·10 ⁻⁵	6,0·10 ⁻⁶	4,0·10 ⁻⁵	3,4·10 ⁻⁶	1,2·10 ⁻⁵	4,9·10 ⁻⁶	3,5·10 ⁻⁶	5,2·10 ⁻⁶
18l (14)	3,5·10 ⁻⁵	6,0·10 ⁻⁵	9,9·10 ⁻⁵	6,0·10 ⁻⁶	3,2·10 ⁻⁵	3,0·10 ⁻⁶	2,8·10 ⁻⁵	2,3·10 ⁻⁶	1,3·10 ⁻⁶	9,7·10 ⁻⁶
Доксорубицин	2,3·10 ⁻⁷	2,2·10 ⁻⁷	1,5·10 ⁻⁶	1,4·10 ⁻⁷	1,2·10 ⁻⁷	1,2·10 ⁻⁶	1,1·10 ⁻⁶	0,6·10 ⁻⁶	1,8·10 ⁻⁶	1,2·10 ⁻⁶

Стереоконфигурация не оказывала существенного влияния на противоопухолевую активность: индивидуальные энантиомеры (*S*)-**18e** и (*R*)-**18g** обладали активностью, близкой к активности соответствующих рацематов. Следует отметить, что среди исследуемых линий опухолевых клеток линия клеток рака молочной железы SK-BR-3 наименее подвержена действию конъюгатов пурина **18a,e,g,j-l**, (*S*)-**18e**, (*R*)-**18g** вне зависимости от длины линкера и конфигурации хирального центра. Наиболее активными в отношении изученных опухолевых клеточных линий были конъюгаты с длинной полиметиленовой цепью **18g,j-l**. Наибольшую цитотоксическую активность проявляло производное 11-аминоундекановой кислоты **18j** в отношении карциномы желудка SNU-1 (ИД₅₀ 2,0·10⁻⁶ М).

Цитотоксическая активность конъюгатов **18g,j-l** была также изучена в отношении других клеточных линий: CT-26 (колоректальная карцинома мыши), 4T1 (карцинома молочной железы мыши), MDA-MB-231 (аденокарцинома молочной железы человека), COLO201 (колоректальная аденокарцинома человека) и HepG2 (гепатоцеллюлярная карцинома человека) (таблица 2.7). Подобно клеткам рака молочной железы SK-BR-3, другая клеточная линия рака молочной железы человека, MDA-MB231, также менее подвержена действию конъюгатов **18g,j-l**. Наибольшей противоопухолевой активностью обладало производное 11-аминоундекановой кислоты **18j** в отношении линий 4T1 (ИД₅₀ 6,3·10⁻⁷ М) и COLO201 (ИД₅₀ 9,1·10⁻⁷ М) (таблица 2.7).

С целью изучения механизма цитотоксического действия конъюгата **18j** в Сибирском государственном медицинском университете (г. Томск) под руководством к.б.н. А.Г. Першиной был проведен эксперимент по анализу клеточного цикла с использованием проточной цитофлуориметрии путем окрашивания ДНК йодистым пропидием [158]. Для

исследования использованы две клеточные линии: MDA-MB231 – продемонстрировавшая высокую устойчивость к действию конъюгата **18j**, и COLO201 – напротив, проявившая высокую чувствительность к **18j**. Для анализа возможных эффектов на клеточный цикл тестировали три концентрации, близкие к концентрации ИД₅₀. Согласно полученным данным, конъюгат **18j** в концентрациях, близких к ИД₅₀, при инкубации в течение 24 ч оказывал дозозависимый цитостатический эффект на опухолевые клетки линий COLO201 и MDA-MB231 [133]. Для клеток COLO201 происходил арест клеточного цикла в G2/M-фазе, однако индекс пролиферации не изменялся по сравнению с контролем. Для клеток линии MDA-MB231 наблюдалось снижение индекса пролиферации и арест клеточного цикла в G0/G1-фазе во всем диапазоне исследуемых концентраций, при повышении концентрации соединения **18j** до 30 мкМ наблюдали увеличение доли клеток в G2/M-фазе.

На основании полученных результатов можно заключить, что механизм цитотоксического действия соединения **18j** в отношении опухолевых клеточных линий связан с ингибированием синтеза ДНК.

Ввиду высокой активности производного 11-аминоундекановой кислоты **18j** на большинстве клеточных линий, а также относительной доступности исходной ω-аминокислоты, соединение **18j** было выбрано в качестве соединения для дальнейших синтетических модификаций. С целью улучшения растворимости в воде были получены производные пурина, в которых в положение N⁹ пурина введены псевдоуглеводные (соединения **30** и **31**) и углеводные остатки (соединения **34a** и **33a**).

Значения противоопухолевой активности соединений **30** и **31**, полученных в результате введения псевдоуглеводного фрагмента аналогично ацикловиру, остались на уровне активности соединения-предшественника **18j** (таблица 2.8).

Таблица 2.8 – Противоопухолевая активность (ИД₅₀, моль/л) производных 11-аминоундекановой кислоты **18j**, **30**, **31**, **33a**, **34a**

Соединение	Длина линкера, n	ИД ₅₀ , моль/л				
		Wi-38	A549	SK-BR-3	SNU-1	Jurkat
30	10	3,0·10 ⁻⁵	1,5·10 ⁻⁵	3,7·10 ⁻⁴	5,6·10 ⁻⁶	1,0·10 ⁻⁵
31	10	1,4·10 ⁻⁵	9,4·10 ⁻⁶	4,2·10 ⁻⁵	3,7·10⁻⁶	7,3·10 ⁻⁶
34a	10	>10 ⁻⁴	8,1·10 ⁻⁵	>10 ⁻⁴	9,8·10 ⁻⁶	3,2·10⁻⁶
33a	10	9,7·10 ⁻⁵	6,9·10 ⁻⁵	3,0·10 ⁻⁵	2,0·10 ⁻⁵	1,4·10 ⁻⁵
18j	10	2,1·10 ⁻⁵	2,1·10 ⁻⁵	2,8·10 ⁻⁵	2,0·10⁻⁶	1,0·10 ⁻⁵
Доксорубицин		2,3·10 ⁻⁷	2,2·10 ⁻⁷	1,5·10 ⁻⁶	1,4·10 ⁻⁷	1,2·10 ⁻⁷

Среди соединений, содержащих фрагмент β-D-рибофуранозы, особо следует отметить соединение **34a**, которое содержит ацетилзащищенный углеводный остаток и впервые в описываемом ряду конъюгатов пурина не цитотоксично в отношении здоровых клеток Wi-38

(ИД₅₀ > 10⁻⁴ моль/л), но сохраняет активность в отношении ряда опухолевых клеточных линий, таких как A549, SNU-1 и, в особенности, Jurkat (таблица 2.8). Вышеописанная устойчивость клеточной линии рака молочной железы SK-BR-3 была также выявлена к действию конъюгатов **33a** и **34a** (ИД₅₀ > 10⁻⁴ моль/л).

В целом, исходя из результатов изучения цитотоксической активности синтезированных нуклеозидов, можно заключить, что модификация пурина в положении 9 не приводит к потере цитотоксической активности, поэтому такой подход может стать основой новых исследований с целью расширения ряда конъюгатов пурина с улучшенной биодоступностью и большой шириной терапевтического окна.

Диамиды себациновой кислоты, как смесь трех диастереомеров **35**, так и диастереомер (*S,S*)-**35**, а также пуринил- ω -аминокислоты **14b-d** не проявили цитотоксической активности (ИД₅₀ > 10⁻⁴ М). Это говорит о том, что за противоопухолевую активность отвечает именно сочетание фрагментов «пурин – ω -аминокислота с линкером $n > 5$ – 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазин».

По результатам исследования противоопухолевой активности можно сделать следующие выводы:

1. Показано, что противоопухолевая активность существенно зависит от длины ω -аминокислотного линкера.
2. Обнаружено, что наиболее активным соединением в ряду является производное 11-аминоундекановой кислоты **18j**, активное в отношении клеточных линий карциномы молочной железы мыши 4T1, колоректальной аденокарциномы человека COLO201 и карциномы желудка человека SNU-1.
3. Выявлена относительная устойчивость клеточных линий рака молочной железы SK-BR-3 и MDA-MB231 к изученным конъюгатам пурина.
4. По результатам углубленного изучения механизма действия конъюгатов пурина показано, что соединение **18j** можно рассматривать в качестве блокатора синтеза ДНК.
5. Обнаружено, что модификация положения *N*⁹ пурина путем введения углеводных и псевдоуглеводных остатков приводит к получению соединений с высокой противоопухолевой активностью, но не превышающей активности соединения-предшественника **18j**.
6. Впервые в ряду конъюгатов пурина получено соединение **34a**, которое не проявляет цитотоксической активности в отношении здоровых клеток линии Wi-38, но, при этом, сохраняет активность в отношении опухолевых клеточных линий, что является перспективным с точки зрения разработки селективных противоопухолевых агентов.
7. Показано, что наличие как дифторбензоксазинового фрагмента, так и пуринового

остатка, связанного через линкер определенной длины, имеет решающее значение для проявления цитотоксической активности этой группы соединений.

Как следствие, конъюгаты пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином можно рассматривать в качестве перспективных противоопухолевых агентов – блокаторов ДНК.

ГЛАВА 3 Экспериментальная часть

(*RS*)-3,4-Дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазин ((*RS*)-**1**) синтезирован по известной методике [122]. Энантиомерно чистые амины (*S*)-**1** и (*R*)-**1** получены в лаборатории асимметрического синтеза ИОС УрО РАН путем кинетического разделения [123, 124]. 3,4-Дигидро-2*H*-бензо[*b*][1,4]оксазин (**5a**), 3,4-дигидро-2*H*-бензо[*b*][1,4]тиазин (**5b**), 2,3,4,5-тетрагидробензо[*b*][1,4]тиазепин (**5c**) синтезированы по известной методике [125]. 6-(Пурин-6-ил)аминогексановая кислота (**14b**) [132], 6-хлор-9-(2-ацетоксиэтоксиметил)пурин (**15**) [134] и 6-хлор-9-(2,3,5-три-*O*-ацетил-β-*D*-рибофуранозил)пурин (**17**) [135] получены по известным методикам.

Синтез соединений **18c,d,g**, **20a-d,g** описан в [10].

Морфолин (**2a**), тиоморфолин (**2b**), пиперидин (**2c**), 1,4-диокса-8-азаспиро[4.5]декан (**2d**), 3-трифторметил-5,6,7,8-тетрагидро[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиазин (**2e** в форме гидрохлорида), 3,3-дифторазетидин (**2f** в форме гидрохлорида), 1-аминоадамantan (**3a** в форме гидрохлорида), 2-аминоадамantan (**3b** в форме гидрохлорида), (*RS*)-1-(1-адамантил)этиламин (**3c** в форме гидрохлорида), 10,11-дигидро-5*H*-дибенз[*b,f*]азепин (иминодибензил **4**) глицин (**6a**), β-аланин (**6b**), γ-аминомасляная кислота (**6c**), 5-аминопентановая кислота (**6d**), 6-аминогексановая кислота (**6e**), 7-аминогептановая кислота **6f**, 8-аминооктановая кислота (**6g**), 11-аминоундекановая кислота (**6j**), 12-аминододекановая кислота (**6k**), себациновая кислота (**7**), 6-хлорпурин (**13**), 6-хлор-7-дезапурин (**38**), 4-хлор-6,7-диметоксихиназолин (**39**), фталевый ангидрид, *N,N'*-дициклогексилкарбодиимид (DCC), *N*-гидроксibenзотриазол (HOBT), *N,N*-диизопропилэтиламин (DIPEA), гидроксилaмин-*O*-сульфоная кислота коммерчески доступны.

Для тонкослойной хроматографии использовали ТСХ-пластины Sorbfil (ООО «Имид», Россия), обнаружение в УФ-свете (254 нм), в случае необходимости идентификации первичных аминов обрабатывали 0,3%-ным раствором нингидрина в *n*-бутаноле. Для флеш-хроматографии применяли силикагель Silica gel 40 (0,023–0,040 мм) («Alfa Aesar», Великобритания). Температуры плавления определяли на приборе «Stuart SMP3» («Barloworld Scientific», Великобритания). Элементный анализ выполняли на элементном анализаторе CHN PE 2400, с. II («Perkin Elmer Instruments», США).

Масс-спектры высокого разрешения (HRMS) зарегистрированы на приборе «Bruker maXis Impact HD» (электрораспыление (ESI) для соединений **24c-d,f-g**, **29**, **36** или ионизация

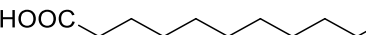
при атмосферном давлении (APCI) для **18g**); скорость газа-носителя (азот) 3 л/мин для соединения **18g**, 4 л/мин для соединений **26c**, **26d**, 8 л/мин для соединений **26f-g**, **31**, **40**; давление в небулайзере 0,2 бар для соединения **18g**, 0,3 бар для соединений **26c-d**, 2,0 бар для соединений **26c-d,f-g**, **31**, **40**.

Спектры ЯМР ^1H , ^{19}F и ^{13}C зарегистрированы на приборах «Bruker DRX-400» (400, 376, 100 МГц соответственно) или «Bruker Avance 500» (500, 470 и 125 МГц соответственно). В качестве внутренних стандартов использовали ТМС и гексафторбензол. Стереизомерный состав соединений определяли методом ВЭЖХ на приборах «Knauer Smartline-1100» и «Agilent 1100», условия хроматографирования указаны в конкретных методиках.

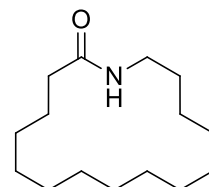
Монометилловый эфир себаценовой кислоты (8). $\text{HOOC}-\text{C}_8\text{H}_{17}-\text{COOCH}_3$
 раствору себаценовой кислоты **7** (5,0 г; 24,7 ммоль) в MeOH (25 мл) добавляют конц. H_2SO_4 (2,4 мл; 44,2 ммоль). Реакционную смесь кипятят в течение 2 ч, затем охлаждают до комнатной температуры и выливают в воду (100 мл). Полученную смесь экстрагируют бензолом (5×25 мл), объединенные органические фракции промывают насыщенным раствором NaCl (3×25 мл), 5 % раствором NaHCO_3 (3×25 мл) и водой (3×25 мл). Органический слой отделяют, сушат над MgSO_4 и упаривают досуха. Остаток растворяют в MeOH (20 мл) и к полученному раствору добавляют суспензию $\text{Ba}(\text{OH})_2$ (4,8 г; 15,2 ммоль) в MeOH (30 мл). Реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре в течение 2 ч, выпавший осадок отфильтровывают, промывают метанолом и суспендируют в воде (200 мл). Смесь подкисляют до pH 3, добавляя 4 М HCl, затем экстрагируют дихлорметаном (5×25 мл). Объединенные органические фракции сушат над MgSO_4 и упаривают досуха. Выход 2,46 г (46%), белый порошок, т. пл. 43–44 °С (лит. 41–43 °С [159]). ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ (м.д.): 1,24 (уш.с, 8H, $(\text{CH}_2)_4$); 1,45–1,54 (м, 4H, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2$); 2,18 (т, $J = 7,4$ Гц, 2H, CH_2CO); 2,28 (т, $J = 7,4$ Гц, 2H, CH_2CO); 3,58 (с, 3H, COOCH_3), 11,96 (уш.с, 1H, COOH). Найдено, %: C 61,04; H 9,55. $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_4$. Вычислено, %: C 61,09; H 9,32.

Гидрохлорид 9-аминононановой кислоты (6h). $\text{HOOC}-\text{C}_8\text{H}_{17}-\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$
 К раствору эфира **8** (2,5 г; 11,6 ммоль) в дихлорметане (20 мл) добавляют оксалилхлорид (2,5 мл; 28,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре течение 6 ч, затем упаривают досуха. Остаток растворяют в ацетоне (30 мл), к полученному раствору при охлаждении и перемешивании добавляют раствор азидата натрия (3,7 г; 56,5 ммоль) в воде (15 мл). Реакционную массу выдерживают при 0 °С в течение 1 ч, затем выливают в воду (300 мл) и экстрагируют этилацетатом (3 × 25 мл). Объединенные органические фракции сушат над MgSO_4 и упаривают досуха. Остаток кипятят в бензоле (100 мл) в течение 1 ч, затем упаривают. К полученному остатку

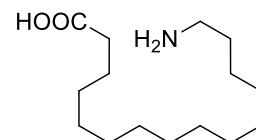
добавляют конц. HCl (15 мл), кипятят в течение 3 ч, упаривают досуха. Остаток перекристаллизовывают из смеси MeOH–Et₂O, 4:1. Выход 2,04 г (84%), белый порошок, т. пл. 132–133 °С (т. пл. 133–134 °С (MeOH–Et₂O) [14]). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,20–1,34 (м, 8H, (CH₂)₄); 1,42–1,60 (м, 4H, CH₂(CH₂)₄CH₂); 2,14–2,24 (м, 2H, CH₂CO); 2,68–2,80 (м, 2H, CH₂N); 7,75–8,05 (м, 3H, NH₃Cl); 11,99 (с, 1H, COOH). Найдено, %: С 51,61; Н 9,69; Cl 16,63; N 6,78. C₉H₂₀ClNO₂. Вычислено, %: С 51,54; Н 9,61; Cl 16,91; N 6,68.

10-Аминодекановая кислота (6i). 10-Бромдекановую HOOC––NH₂ кислоту (9) (3,0 г; 11,9 ммоль) добавляют к водн. NH₄OH (95 мл). Реакционную смесь выдерживают в течение 24 ч при комнатной температуре, затем упаривают досуха. Полученный остаток перекристаллизовывают из смеси H₂O–EtOH, 10:1. Выход 1,00 г (45%), белый порошок, т. пл. 185–186 °С (т. пл. 185–187 °С [160]). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆): 1,21–1,33 (м, 1H, (CH₂)₄); 1,45–1,54 (м, 4H, CH₂(CH₂)₅CH₂); 2,19 (т, *J* = 7,4 Гц, 2H, CH₂CO); 2,73–2,78 (м, 2H, CH₂N); 7,84 (уш.с, 2 H, NH₂). Найдено, %: С 63,92; Н 11,28; N 7,20. C₁₀H₂₁NO₂. Вычислено, %: С 64,13; Н 11,30; N 7,48.

Лактам 15-аминопентадекановой кислоты (11). К раствору циклопентадеканона **10** (5,0 г; 22,0 ммоль) в HCOOH (25 мл) добавляют суспензию гидроксилламин-*O*-сульфоновой кислоты (3,7 г; 33,0 ммоль) в 25 мл HCOOH. Реакционную массу кипятят в течение 16 ч, затем выливают в воду (200 мл) и экстрагируют этилацетатом (3 × 30 мл). Объединенные органические фракции промывают 5% раствором NaHCO₃ (5 × 20 мл), насыщенным раствором NaCl (3 × 20 мл), сушат над MgSO₄ и упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент – этилацетат). Выход 4,11 г (78%), белый порошок, 134–135 °С (т. пл. 134–135,5 °С (CH₂Cl₂–петролейный эфир) [161]). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,20–1,32 (м, 20H, (CH₂)₁₀); 1,32–1,40 (м, 2H, CH₂CH₂N); 1,45–1,55 (м, 2H, CH₂CH₂CO); 2,02–2,06 (м, 2H, CH₂CO); 3,04–3,12 (м, 2H, CH₂N); 7,72–7,80 (м, 1H, NHCO). Найдено, %: С 75,43; Н 12,43; N 5,81. C₁₅H₂₉NO. Вычислено, %: С 75,26; Н 12,21; N 5,85.

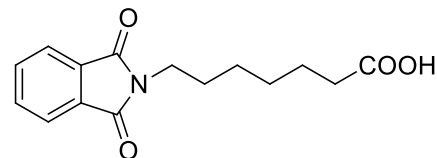


15-Аминопентадекановая кислота (6l). Раствор лактама **11** (4,1 г; 17,1 ммоль) в 6M HCl (150 мл) кипятят в течение 19 ч, затем охлаждают до комнатной температуры. Осадок отфильтровывают, суспендируют в воде (100 мл) и добавляют 5% раствор NaHCO₃ до pH 6. Осадок отфильтровывают и промывают на фильтре охлажденной смесью вода–ДМСО (1:1). Выход 2,64 г (60%), белый порошок, т. пл. 180–181 °С (т. пл. 180–182 °С (MeOH) [162]). ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃COOD), δ (м.д.): 1,26–1,42 (м, 20H, (CH₂)₁₀); 1,57–1,66 (м, 2H, CH₂CH₂N); 1,66–1,74 (м, 2H, CH₂CH₂CO); 2,33–2,39 (м, 2H, CH₂CO); 3,02–3,10 (м, 2H, CH₂N). Найдено, %: С 70,16; Н 12,01; N 5,32. C₁₅H₃₁NO₂. Вычислено, %: С 69,99; Н 12,14; N 5,44.



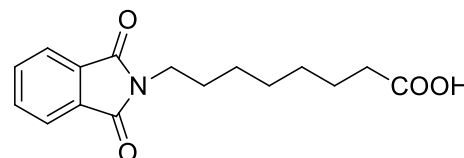
Получение *N*-фталоил- ω -аминокислот **12f,g,j-l. Общая методика.** Смесь аминокислоты **6f-g,j-l** (10 ммоль) и фталевого ангидрида (1,5 г; 10 ммоль) нагревают в течение 2 ч при 180 °С. Реакционную массу охлаждают, обрабатывают гексаном, образовавшийся осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из смеси H₂O–EtOH 1:1.

7-Фталимидогептановая кислота (12f**):** выход 2,45 г (89%), белый порошок, т. пл. 117–118 °С (т. пл. 115–118 °С (H₂O–EtOH) [163]). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,20–1,35 (м, 4H, (CH₂)₂); 1,41–1,51 (м, 2H, CH₂CH₂N);



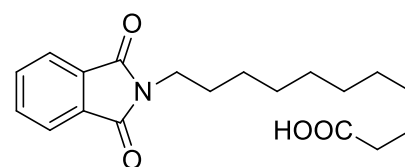
1,52–1,63 (м, 2H, CH₂CH₂CO); 2,13–2,21 (м, 2H, CH₂CO); 3,52–3,59 (м, 2H, CH₂N); 7,80–7,90 (м, 4H, Phth); 11,96 (с, 1H, COOH). Найдено, %: С 65,49; Н 6,53; N 5,06. С₁₅H₁₇NO₄. Вычислено, %: С 65,44; Н 6,22; N 5,09.

8-Фталимидооктановая кислота (12g**):** выход 2,31 г (80%), белый порошок, т. пл. 90–92 °С (т. пл. 94–95 °С (H₂O–EtOH) [163]). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,21–1,31 (м, 6H, (CH₂)₃); 1,41–1,51 (м, 2H,

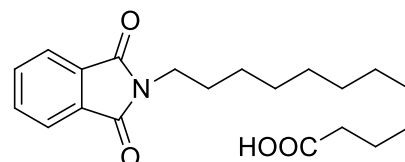


CH₂CH₂N); 1,53–1,63 (м, 2H, CH₂CH₂CO); 2,13–2,22 (м, 2H, CH₂CO); 3,52–3,60 (м, 2H, CH₂N); 7,81–7,89 (м, 4H, Phth); 11,96 (с, 1H, COOH). Найдено, %: С 66,28; Н 6,74; N 4,97. С₁₆H₁₉NO₄. Вычислено, %: С 66,42; Н 6,62; N 4,84.

11-Фталимидоундекановая кислота (12j**):** выход 2,78 г (84%), белый порошок, т. пл. 89–90 °С (т. пл. 86–88 °С (H₂O–EtOH) [163]). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,17–1,31 (м, 12H, (CH₂)₆); 1,40–1,52 (м, 2H, CH₂CH₂N); 1,52–1,63 (м, 2H, CH₂CH₂CO); 2,13–2,21 (м, 2H, CH₂CO); 3,52–3,59 (м, 2H, CH₂N); 7,80–7,90 (м, 4H, Phth); 11,95 (с, 1H, COOH). Найдено, %: С 68,96; Н 7,52; N 4,45. С₁₉H₂₅NO₄. Вычислено, %: С 68,86; Н 7,60; N 4,23.

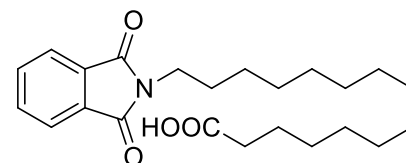


12-Фталимидододекановая кислота (12k**):** выход 1,66 г (48%), белый порошок, т. пл. 93–94 °С (т. пл. 90–92 °С (CH₂Cl₂) [164]). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,18–1,30 (м, 14H, (CH₂)₇); 1,40–1,52 (м, 2H, CH₂CH₂N); 1,52–1,63



(м, 2H, CH₂CH₂CO); 2,14–2,20 (м, 2H, CH₂CO); 3,51–3,59 (м, 2H, CH₂N); 7,80–7,90 (м, 4H, Phth); 11,95 (с, 1H, COOH). Найдено, %: С 69,54; Н 7,81; N 3,91. С₂₀H₂₇NO₄. Вычислено, %: С 69,54; Н 7,88; N 4,05.

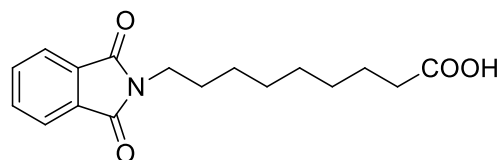
15-Фталимидопентадекановая кислота (12l**):** выход 2,75 г (71%), белый порошок, т. пл. 95–96 °С. ¹H ЯМР (500 МГц,



DMCO-*d*₆), δ (м.д.): 1,16–1,30 (м, 20H, (CH₂)₁₀); 1,40–1,52 (м, 2H, CH₂CH₂N); 1,52–1,63 (м, 2H, CH₂CH₂CO); 2,13–2,22 (м, 2H, CH₂CO); 3,52–3,59 (м, 2H, CH₂N); 7,80–7,90 (м, 4H, Phth); 11,96 (с, 1H, COOH). ¹³C ЯМР (125 МГц, DMCO-*d*₆), δ (м.д.): 24,47; 26,19; 27,83; 28,50; 28,53; 28,72; 28,82; 28,91; 28,96 (2C); 28,98; 33,64; 37,34; 122,95 (2C); 131,58 (2C); 134,34 (2C); 167,91 (2C); 174,47. Найдено, %: С 71,37; Н 8,81; N 3,75. С₂₃Н₃₃NO₄. Вычислено, %: С 71,29; Н 8,58; N 3,61.

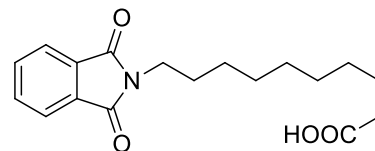
Получение *N*-фталойл- ω -аминокислот **12h,i. Общая методика.** К суспензии ω -аминокислоты **6h-i** (7,15 ммоль) в толуоле (25 мл) добавляют триэтиламин (1,1 мл; 7,87 моль) и фталевый ангидрид (1,1 г; 7,15 ммоль). Реакционную смесь кипятят в течение 2 ч, затем охлаждают и упаривают досуха. В случае **12h** остаток перекристаллизовывают из смеси H₂O–EtOH. В случае **12i** к остатку добавляют 1 М HCl (20 мл), образовавшийся осадок отфильтровывают и промывают на фильтре охлажденной водой.

9-Фталимидононановая кислота (12h): выход 0,89 г (41%), белый порошок, т. пл. 89–90 °С (т. пл. 89–91 °С (H₂O–EtOH) [163]). ¹H ЯМР (500 МГц, DMCO-*d*₆), δ (м.д.): 1,20–1,30 (м, 8H, (CH₂)₄); 1,41–1,52 (м, 2H,



CH₂CH₂N); 1,52–1,62 (м, 2H, CH₂CH₂CO); 2,13–2,20 (м, 2H, CH₂CO); 3,52–3,58 (м, 2H, CH₂N); 7,80–7,89 (м, 4H, Phth); 11,96 (с, 1H, COOH). Найдено, %: С 67,38; Н 7,00; N 4,88. С₁₇Н₂₁NO₄. Вычислено, %: С 67,31; Н 6,98; N 4,62.

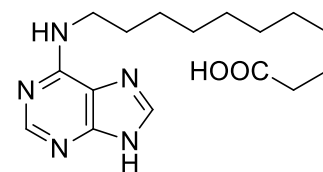
10-Фталимидодекановая кислота (12i): выход 2,18 г (96%), белый порошок, т. пл. 85–86 °С (т. пл. 82–83 °С (H₂O–EtOH) [163]). ¹H ЯМР (500 МГц, DMCO-*d*₆), δ (м.д.): 1,19–1,31 (м, 10H,



(CH₂)₅); 1,42–1,50 (м, 2H, CH₂CH₂N); 1,54–1,60 (м, 2H, CH₂CH₂CO); 2,14–2,20 (м, CH₂CO); 3,51–3,57 (м, 2H, CH₂N); 7,80–7,90 (м, 4H, Phth); 11,96 (с, 1H, COOH). Найдено, %: С 67,38; Н 7,00; N 4,48. С₁₇Н₂₁NO₄. Вычислено, %: С 67,12; Н 7,30; N 4,41.

Получение *N*-(пурин-6-ил)аминокислот **14c-e. Общая методика.** К суспензии соответствующей ω -аминокислоты (25,9 ммоль) в воде (40 мл) добавляют 6-хлорпурин (**13**) (2,00 г; 12,9 ммоль) и Na₂CO₃ (1,37 г; 12,9 ммоль). Реакционную смесь кипятят в течение 3 ч, затем добавляют 4 М HCl, образующийся осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола (в случае соединений **14c,d**) или промывают горячим этанолом (в случае **14e**).

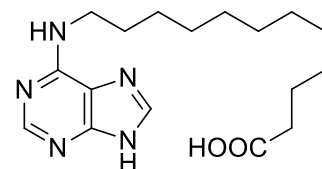
***N*-(Пурин-6-ил)-11-аминоундекановая кислота (14c):** выход 2,10 г (51%), белый порошок, т. пл. 172–174 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, DMCO-*d*₆), δ (м.д.): 1,24 (уш.с, 8H, 4×CH₂); 1,28–1,37 (м, 4H,



2×CH₂); 1,43–1,52 (м, 2H, CH₂); 1,59–1,64 (м, 2H, CH₂); 2,18 (дд, $J = 7,4$ и $7,4$ Гц, 2H, CH₂CO); 3,53 (уш.с, 2H, CH₂N); 8,33 (с, 1H, пурин Н-8); 8,41 (уш.с, 1H, пурин Н-2); 8,82 (уш.с, 1H, NH); 12,00 (уш.с, 1H, пурин NH); 13,65 (уш.с, 1H, COOH). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 24,42; 26,25; 28,47; 28,64 (3C); 28,77; 28,84; 33,61; 40,53 (уш.с); 114,46 (уш.с); 141,32; 148,49; 148,79; 152,11; 174,38. HRMS, m/z : 320,2080 [M+H]⁺ (вычислено для [C₁₆H₂₆N₅O₂]⁺ m/z : 320,2082).

***N*-(Пурин-6-ил)-12-аминододекановая кислота (14d):** выход

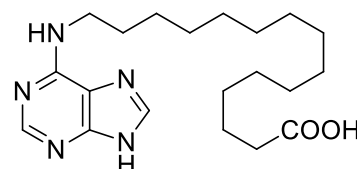
2,36 г (55%), белый порошок, т. пл. 190–191 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O + NaOD), δ (м.д.): 1,03 (уш.с, 6H, 3×CH₂); 1,07–1,17 (м, 6H, 3×CH₂); 1,19–1,25 (м, 2H, CH₂); 1,45–1,51 (м, 2H, CH₂); 1,51–1,57



(м, 2H, CH₂); 2,16 (дд, $J = 7,7$ и $7,6$ Гц, 2H, CH₂CO); 3,49 (дд, $J = 6,5$ и $6,4$ Гц; 2H, CH₂N); 7,93 (с, 1H, пурин Н-8); 8,15 (с, 1H, пурин Н-2). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 28,59; 28,68; 31,17; 31,26; 31,31; 31,33 (2C); 31,50; 31,61; 40,36; 43,51; 122,69; 152,27; 154,18; 156,57; 160,73; 186,70. HRMS, m/z : 334,2244 [M+H]⁺ (вычислено для [C₁₇H₂₈N₅O₂]⁺ m/z : 334,2239).

***N*-(Пурин-6-ил)-15-аминопентадекановая кислота (14e):**

выход 2,72 г (56%), белый порошок, т. пл. 198–199 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O + NaOD), δ (м.д.): 1,03 (уш.с, 12H, 6×CH₂); 1,14 (уш.с, 6H, 3×CH₂); 1,22–1,29 (м, 2H, CH₂); 1,45–1,51 (м, 2H,



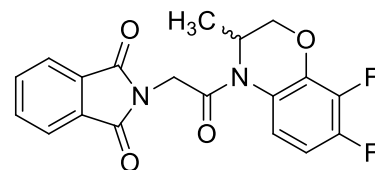
CH₂); 1,52–1,58 (м, 2H, CH₂); 2,14 (дд, $J = 7,9$ и $7,7$ Гц, 2H, CH₂CO); 3,47 (дд, $J = 6,5$ и $6,5$ Гц; 2H, CH₂N); 7,89 (с, 1H, пурин Н-8); 8,13 (с, 1H, пурин Н-2). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 17,57; 21,54; 28,67; 29,05; 31,65; 31,69; 31,78; 31,90 (6C); 40,34; 43,44; 122,78; 152,09; 153,72; 156,63; 160,51; 186,21. HRMS, m/z : 376,2711 [M+H]⁺ (вычислено для [C₂₀H₃₄N₅O₂]⁺ m/z : 376,2708).

Синтез хлорангидридов 19a-d,f-l (общая методика). К раствору *N*-фталлоил- ω -аминокислоты **12a-d,f-l** (10 ммоль) в дихлорметане (10 мл) добавляют оксалилхлорид (2,1 мл; 25 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 6 ч, затем упаривают досуха. Остаток растирают в сухом гексане, отфильтровывают и используют далее без дополнительной очистки.

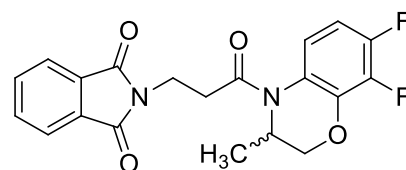
Синтез соединений 20a-d,f-l, (R)-20g,j, (S)-20b,c,g,j,l. Общая методика. Раствор ацилхлорида **19a-d,f-l** (3,83 ммоль) в дихлорметане (20 мл) прибавляют к раствору амина (*RS*)-**1**, (*S*)-**1** или (*R*)-**1** (0,71 г, 3,83 ммоль) и триэтиламина (0,53 мл, 3,83 ммоль) или *N,N*-диэтиланилина (0,61 мл, 3,83 ммоль) в дихлорметане (20 мл). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 2 сут, затем промывают 4 М HCl (3×5 мл), насыщенным раствором NaCl (5×10 мл), 5% раствором NaHCO₃ (3×10 мл) и водой (3×10

мл). Органический слой сушат над $MgSO_4$ и упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент гексан–этилацетат 65:35 или бензол–этилацетат 95:5).

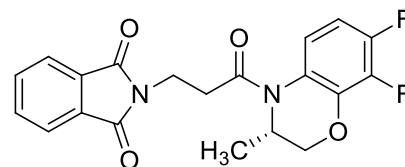
(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(N-фталоилглицил)-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин (20a): выход 0,81 г (57%), белый порошок, т. пл. 186–187 °С. 1H , ^{19}F , ^{13}C ЯМР спектры идентичны спектрам, описанным ранее [10]. Найдено, %: С 61,33; Н 3,86; N 7,45. $C_{19}H_{14}F_2N_2O_4$. Вычислено, %: С 61,29; Н 3,79; N 7,52.



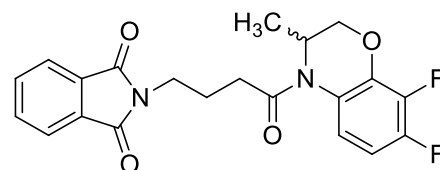
(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(3-фталимидопропаноил)-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин (20b): выход 0,62 г (42%), светло-бежевый порошок, т. пл. 138–141 °С. 1H , ^{19}F , ^{13}C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения, описанным ранее [10]. Найдено, %: С 62,15; Н 4,09; F 9,45; N 7,22. $C_{20}H_{16}F_2N_2O_4$. Вычислено, %: С 62,18; Н 4,17; F 9,84; N 7,25.



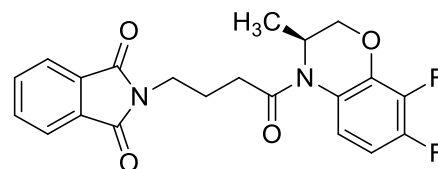
(S)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(3-фталимидопропаноил)-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин [(S)-20b]: выход 0,99 г (67%), бесцветный порошок, т. пл. 154–155 °С. $[\alpha]_D^{20} +88,6$ (с 0,5, MeOH), *ee* > 99 %, ВЭЖХ (Chiralcel OD-H, *n*-гексан–*i*-PrOH 5:1): $\tau_{(S)}$ 46,1 мин. 1H , ^{19}F , ^{13}C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения **20b**. Найдено, %: С 62,19; Н 4,25; F 9,55; N 7,15. $C_{20}H_{16}F_2N_2O_4$. Вычислено, %: С 62,18; Н 4,17; F 9,84; N 7,25.



(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(4-фталимидобутаноил)-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин (20c): выход 0,83 г (54%), белый порошок, т. пл. 157–159 °С. ВЭЖХ (Chiralcel OD-H, *n*-гексан–*i*-PrOH 4:1): $\tau_{(R)}$ 39,0 мин, $\tau_{(S)}$ 49,3 мин. 1H , ^{19}F , ^{13}C ЯМР спектры идентичны спектрам, описанным ранее [10]. Найдено, %: С 62,93; Н 4,52; F 9,00; N 6,93. $C_{21}H_{18}F_2N_2O_4$. Вычислено, %: С 63,00; Н 4,53; F 9,49; N 7,00.

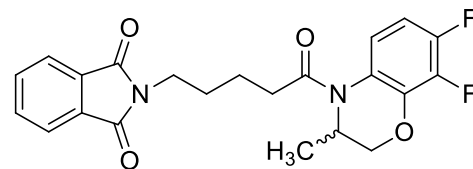
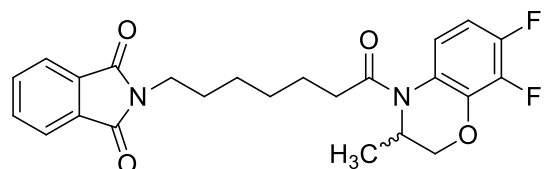


(S)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(4-фталимидобутаноил)-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин [(S)-20c]: выход 0,81 г (53%), белый порошок, т. пл. 139–140 °С. $[\alpha]_D^{20} +79,5$ (с 0,5, MeOH), *ee* > 99 %, ВЭЖХ (Chiralcel OD-H, *n*-гексан–*i*-PrOH 4:1): $\tau_{(S)}$ 48,8 мин. 1H , ^{19}F , ^{13}C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения **20c**. Найдено, %: С 63,22; Н 4,54; F 9,41; N 7,10. $C_{21}H_{18}F_2N_2O_4$. Вычислено, %: С 63,00; Н 4,53; F 9,49; N 7,00.

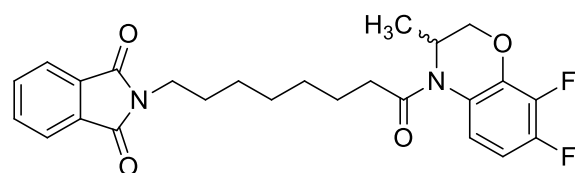
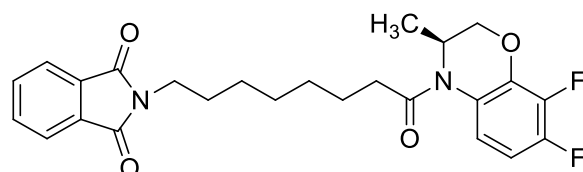


(*RS*)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(5-фталимидопентаноил)-**7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазин (20d):** выход 0,76 г(48%), светло-бежевый порошок, т. пл. 154–155 °С. ¹H,¹⁹F, ¹³C ЯМР спектры идентичны спектрам, описаннымранее [10]. Найдено, %: С 63,79; Н 4,77; F 9,02; N 6,69. C₂₂H₂₀F₂N₂O₄. Вычислено, %: С 63,76;

Н 4,86; F 9,17; N 6,76.

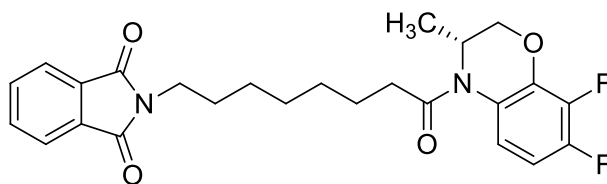
**(*RS*)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(7-****фталимидогептаноил)-7,8-дифтор-2*H*-****[1,4]бензоксазин (20f):** выход 1,20 г (71%), белыйпорошок, т. пл. 93–94 °С. ¹H ЯМР (500 МГц,DMCO-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,11 (д, *J* = 6,9 Гц, 3H,Me); 1,25–1,40 (м, 4H, (CH₂)₂); 1,54–1,66 (м, 4H, CH₂(CH₂)₂CH₂); 2,41–2,51 (м, 1H, CH_AH_BCO,частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,58 (дт, *J* = 16,0 и 7,3 Гц, 1H, CH_AH_BCO);3,54–3,61 (м, 2H, NCH₂); 4,13 (дд, *J* = 11,0 и 2,8 Гц, 1H, H-2B); 4,32 (дд, *J* = 11,0 и 1,5 Гц, 1H,H-2A); 4,72 (кдд, *J* = 6,9; 2,8 и 1,5 Гц, 1H, H-3); 6,83 (ддд, *J* = 9,9; 9,9 и 8,2 Гц, 1H, H-6); 7,50–7,58 (м, 1H, H-5); 7,77–7,84 (м, 4H, Phth). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,97(ддд, *J* = 21,0; 8,2 и 2,2 Гц, 1F; F-8); 20,00–20,15 (м, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ(м.д.): 15,08; 24,42; 25,98; 27,73; 28,03; 33,33; 37,27; 44,89; 69,81; 106,73 (д, *J* = 17,9 Гц);119,22; 121,77; 122,88 (2C); 131,53 (2C); 134,25 (2C); 135,64 (д, *J* = 7,9 Гц); 138,89 (дд, *J* =243,2; 15,4 Гц); 146,44 (д, *J* = 242,0 Гц); 167,86 (2C); 170,89. Найдено, %: С 65,03; Н 5,61; F8,68; N 6,32. C₂₄H₂₄F₂N₂O₄. Вычислено, %: С 65,15; Н 5,47; F 8,59; N 6,33.**(*RS*)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(8-****фталимидооктаноил)-7,8-дифтор-2*H*-****[1,4]бензоксазин (20g):** выход 0,75 г (43%),светло-желтое масло. ВЭЖХ (Chiralcel OD-H, *n*-гексан-*i*-PrOH 5:1): τ_(R) 24,0 мин, τ_(S) 27,3 мин. ¹H, ¹⁹F, ¹³C ЯМР спектры идентичны спектрам,описанным ранее [10]. Найдено, %: С 65,71; Н 5,58; F 8,40; N 6,00. C₂₅H₂₆F₂N₂O₄. Вычислено,

%: С 65,78; Н 5,74; F 8,32; N 6,14.

**(*S*)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(8-****фталимидооктаноил)-7,8-дифтор-2*H*-****[1,4]бензоксазин [(*S*)-20g]:** выход 0,77 г (44%),белый порошок, т. пл. 103–104 °С. [α]_D²⁰ +72,1(с 0,5, CHCl₃), *ee* > 99%, ВЭЖХ (Chiralcel OD-H, *n*-гексан-*i*-PrOH 5:1): τ_(S) 27,4 мин. ¹H, ¹⁹F,¹³C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения **20g**. Найдено (%): С 65,85; Н 5,71; F 8,41;N 6,10. Вычислено, C₂₅H₂₆F₂N₂O₄ (%): С 65,78; Н 5,74; F 8,32; N 6,14.

(R)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(8-фталимидооктаноил)-7,8-дифтор-2H-

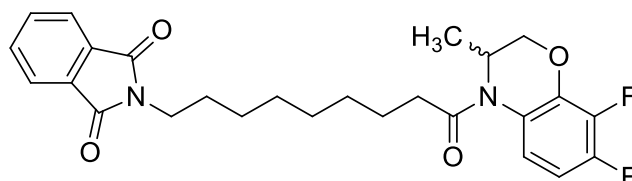
[1,4]бензоксазин [(R)-20g]: выход 0,98 г (56%), белый порошок, т. пл. 105–106 °С. $[\alpha]_D^{20}$ –62,0 (*c* 0,5; CHCl₃), *ee* >99%, ВЭЖХ



(Chiralcel OD-H, *n*-гексан–*i*-PrOH 5:1): $\tau_{(R)}$ 23,9 мин. ¹H, ¹⁹F, ¹³C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения **20g**. Найдено (%): С 65,58; Н 5,90; F 8,41; N 6,44. Вычислено, C₂₅H₂₆F₂N₂O₄ (%): С 65,78; Н 5,74; F 8,32; N 6,14.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(9-фталимидонаноил)-7,8-дифтор-2H-

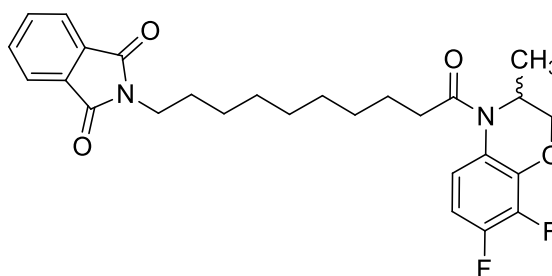
[1,4]бензоксазин (20h): выход 1,12 г (62%), белый порошок, т. пл. 79–80 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,12



(д, *J* = 6,9 Гц, 3H, Me); 1,23–1,35 (м, 8H, (CH₂)₄); 1,52–1,68 (м, 4H, CH₂(CH₂)₄CH₂); 2,41–2,48 (м, 1H, CH_AH_BCO, частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,57 (дт, *J* = 15,9 и 7,5 Гц, 1H, CH_AH_BCO); 3,50–3,62 (м, 2H, NCH₂); 4,13 (дд, *J* = 11,0 и 2,8 Гц, 1H, H-2B); 4,33 (дд, *J* = 10,9 и 1,5 Гц, 1H, H-2A); 4,73 (кдд, *J* = 6,9; 2,8 и 1,4 Гц, 1H, H-3); 6,84 (ддд, *J* = 9,8; 9,8 и 8,3 Гц, 1H, H-6); 7,52–7,58 (м, 1H, H-5); 7,78–7,84 (м, 4H, Phth). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,97 (ддд, *J* = 21,0; 8,2 и 2,3 Гц, 1F, F-8); 20,00–20,18 (м, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 15,09; 24,55; 26,11; 27,79; 28,35; 28,40; 28,57; 33,36; 37,29; 44,77; 69,84; 106,73 (д, *J* = 17,9 Гц); 119,24; 121,79; 122,88 (2C); 131,52 (2C); 134,27 (2C); 135,65 (д, *J* = 7,9 Гц); 138,89 (дд, *J* = 243 и 15,4 Гц); 146,46 (д, *J* = 242 Гц); 167,84 (2C); 170,94. Найдено, %: С 66,32; Н 5,97; F 8,04; N 5,92. C₂₆H₂₈F₂N₂O₄. Вычислено, %: С 66,37; Н 6,00; F 8,08; N 5,95.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(10-фталимидодеканойл)-7,8-дифтор-2H-

[1,4]бензоксазин (20i): выход 1,30 г (70%), белый порошок, т. пл. 165–166 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С) δ (м.д.): 1,12 (д, *J* = 6,9 Гц, 3H, Me); 1,21–1,35 (м, 10H, (CH₂)₅); 1,52–1,66 (м, 4H,

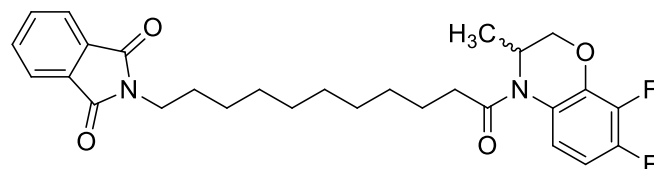


CH₂(CH₂)₅CH₂); 2,41–2,48 (м, 1H, CH_AH_BCO, частичное перекрывание сигналом ДМСО-*d*₆); 2,53–2,62 (м, 1H, CH_AH_BCO); 3,50–3,62 (м, 2H, NCH₂); 4,13 (дд, *J* = 10,9 и 2,9 Гц, 1H, H-2B); 4,33 (дд, *J* = 11,0 и 1,5 Гц, 1H, H-2A); 4,70–4,78 (м, 1H, H-3); 6,80–6,80 (м, 1H, H-6); 7,53–7,58 (м, 1H, H-5); 7,78–7,84 (м, 4H, Phth). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,97 (ддд,

$J = 21,0; 8,2$ и $2,3$ Гц, 1F, F-8); 20,01–20,16 (м, 1F, F-7). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6) δ (м.д.): 15,09; 24,60; 26,14; 27,78; 28,40; 28,44; 28,66 (2C); 33,38; 37,29; 44,72; 69,84; 106,74 (д, $J = 17,9$ Гц); 119,25; 121,80; 122,89 (2C); 131,53 (2C); 134,27 (2C); 135,67 (д, $J = 8,0$ Гц); 138,63 (дд, $J = 243$ и $15,4$ Гц); 146,47 (д, $J = 246$ Гц); 167,85 (2C); 170,96. Найдено, %: С 66,93; Н 6,24; F 7,84; N 5,78. $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_4$. Вычислено, %: С 66,37; Н 6,00; F 7,60; N 5,95.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(11-фталимидоундеcanoил)-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин

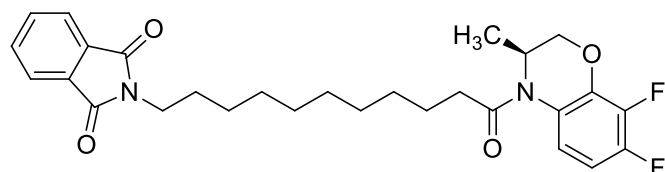
(20j): выход 1,24 г (65%), белый порошок, т. пл. 87–88 °С. ВЭЖХ (Chiralcel OD-H, *n*-гексан–*i*-PrOH 5:1): $\tau_{(R)}$ 13,7 мин, $\tau_{(S)}$ 17,7 мин. ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , 80 °С), δ



(м.д.): 1,12 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H, Me); 1,20–1,35 (м, 12H, $(\text{CH}_2)_6$); 1,52–1,66 (м, 4H, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2$); 2,42–2,48 (м, 1H, $\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{CO}$, частичное перекрытие сигналом ДМСО); 2,57 (дт, 1H; $J = 15,9$ и $7,3$ Гц, $\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{CO}$); 3,54–3,60 (м, 2H, NCH_2); 4,13 (дд, $J = 10,9$ и $2,8$ Гц, 1H, H-2B); 4,33 (дд, $J = 10,9$ и $1,5$ Гц, 1H, H-2A); 4,73 (кдд, $J = 7,0; 2,8$ и $1,5$ Гц, 1H, H-3); 6,84 (ддд, $J = 9,9; 9,8$ и $8,2$ Гц, 1H, H-6); 7,52–7,58 (м, 1H, H-5); 7,76–7,86 (м, 4H, Phth). ^{19}F ЯМР (470 МГц, ДМСО- d_6 , 80 °С), δ (м.д.): 1,97 (ддд, $J = 20,9; 8,2$ и $2,4$ Гц, 1F, F-8); 20,00–20,15 (м, 1F, F-7). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6) δ (м.д.): 15,10; 24,60; 26,15; 27,77; 28,42; 28,46; 28,69; 28,71; 28,75; 33,39; 37,30; 44,78; 69,86; 106,5 (д, $J = 17,9$ Гц); 119,26; 121,81; 122,90 (2C); 131,54 (2C); 134,28 (2C); 135,65 (д, $J = 7,8$ Гц); 138,91 (дд, $J = 243$ и $15,4$ Гц); 146,36 (д, $J = 243$ Гц); 167,86 (2C); 170,98. Найдено, %: С 67,25; Н 6,70; F 7,31; N 5,51. $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_4$. Вычислено, %: С 67,45; Н 6,47; F 7,62; N 5,62.

(S)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(11-фталимидоундеcanoил)-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин

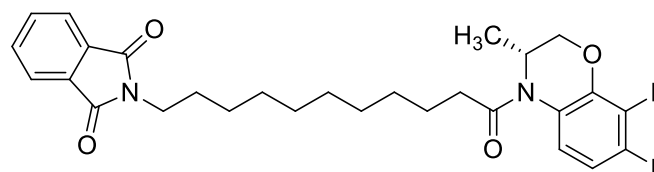
[(S)-20j]: выход 1,47 г (77%), светло-бежевый порошок, т. пл. 62–63 °С. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +62,8$ (c 0,5; CHCl_3), $ee > 99\%$, ВЭЖХ (Chiralcel OD-H, *n*-гексан–*i*-PrOH 5:1): $\tau_{(S)}$



17,7 мин. ^1H , ^{19}F , ^{13}C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения **20j**. Найдено, %: С 67,37; Н 6,40; F 7,66; N 5,31. $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_4$. Вычислено, %: С 67,45; Н 6,47; F 7,62; N 5,62.

(R)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(11-фталимидоундеcanoил)-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин

[(R)-20j]: выход 1,62 г (85%), желтое масло. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -59,4$ (c 0,5; CHCl_3), $ee > 99\%$, ВЭЖХ (Chiralcel OD-H, *n*-гексан–*i*-PrOH 5:1): $\tau_{(R)}$



13,4 мин. ^1H , ^{19}F , ^{13}C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения **20j**. Найдено, %: С 67,30; Н 6,21; F 7,54; N 5,62.

$C_{28}H_{32}F_2N_2O_4$. Вычислено, %: С 67,45; Н 6,47; F 7,62; N 5,62.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(12-фталимидодедеканоил)-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин

(20k): выход 1,40 г (70%), белый порошок,

т. пл. 63–64 °С. 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО-

d_6 , 100 °С) δ (м.д.): 1,12 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H,

Me); 1,20–1,33 (м, 14H, (CH_2)₇); 1,53–1,65

(м, 4H, $CH_2(CH_2)_7CH_2$); 2,42–2,50 (м, 1H, CH_AH_BCO , частичное перекрывание сигналом

ДМСО); 2,57 (дт, $J = 15,6$ и 7,3 Гц, 1H; CH_AH_BCO); 3,43–3,60 (м, 2H, NCH_2); 4,13 (дд, $J = 10,9$

и 2,9 Гц, 1H, H-2B); 4,33 (дд, $J = 10,9$ и 1,4 Гц, 1H, H-2A); 4,74 (кдд, $J = 6,9$; 2,7 и 1,5 Гц, 1H,

H-3); 6,84 (ддд, $J = 9,8$; 9,7 и 8,3 Гц, 1H; H-6); 7,52–7,60 (м, 1H, H-5); 7,77–7,85 (м, 4H, Phth).

^{19}F ЯМР (470 МГц, ДМСО- d_6 , 100 °С), δ (м.д.): 1,97 (ддд, $J = 21,1$; 8,2 и 2,3 Гц; 1F, F-8);

20,02–20,16 (м, 1F, F-7). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 15,08; 24,59; 26,13; 27,76;

28,42; 28,47; 28,69; 28,73; 28,79 (2C); 33,38; 37,29; 44,90; 69,84; 106,73 (д, $J = 17,9$ Гц); 119,24;

121,79; 122,87 (2C); 131,52 (2C); 134,26 (2C); 135,66 (дд, $J = 9,7$ и 2,5 Гц); 138,89 (дд, $J = 243$

и 15,4 Гц); 146,46 (д, $J = 242$ Гц); 167,83 (2C); 170,95. Найдено, %: С 67,89; Н 6,64; F 7,50; N

5,26. $C_{29}H_{34}F_2N_2O_4$. Вычислено, %: С 67,95; Н 6,69; F 7,41; N 5,47.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(15-фталимидопентадеканоил)-7,8-дифтор-2H-

[1,4]бензоксазин (20l): выход 1,27 г

(60%), белый порошок, т. пл. 86–

87 °С. 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 ,

100 °С), δ (м.д.): 1,12 (д, $J = 6,9$ Гц,

3H, Me); 1,20–1,34 (м, 20H, (CH_2)₁₀); 1,54–1,65 (м, 4H, $CH_2(CH_2)_{10}H_2$); 2,42–2,50 (м, 1H,

CH_AH_BCO , частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,57 (дт, $J = 15,8$ и 7,2 Гц, 1H,

CH_AH_BCO); 3,54–3,60 (м, 2H, NCH_2); 4,13 (дд, $J = 10,9$ и 3,0 Гц, 1H, H-2B); 4,33 (дд, $J = 10,9$

и 1,5 Гц, 1H, H-2A); 4,74 (кдд, $J = 6,8$; 2,7 и 1,5 Гц, 1H, H-3); 6,84 (ддд, $J = 9,8$; 9,8 и 8,3 Гц,

1H; H-6); 7,52–7,58 (м, 1H, H-5); 7,78–7,85 (м, 4H, Phth). ^{19}F ЯМР (470 МГц, ДМСО- d_6 , 100

°С), δ (м.д.): 1,99 (ддд, $J = 21,0$; 8,3 и 2,3 Гц, 1F, F-8); 20,02–20,18 (м, 1F, F-7). ^{13}C ЯМР (125

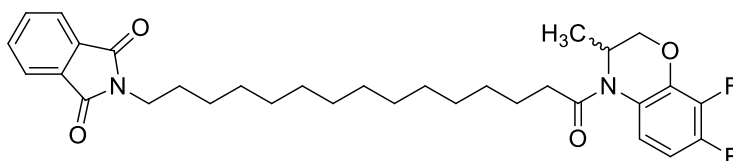
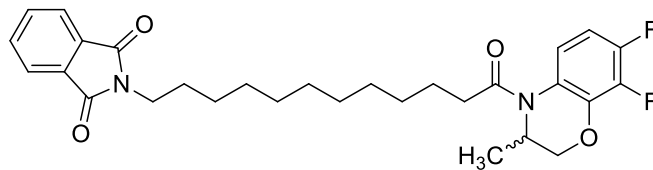
МГц, ДМСО- d_6) δ (м.д.): 15,09; 24,60; 26,13; 27,76; 28,42; 28,47; 28,74 (2C); 28,83 (2C); 28,88

(3C); 33,38; 37,30; 44,65; 69,85; 106,73 (д, $J = 17,9$ Гц); 119,24; 121,79 (2C); 131,52 (2C); 134,27

(3C); 135,66 (д, $J = 8,5$ Гц); 138,89 (дд, $J = 243$ и 15,4 Гц); 146,45 (д, $J = 239$ Гц); 167,85 (2C);

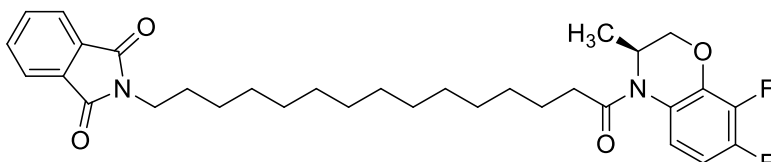
170,98. Найдено, %: С 69,37; Н 7,39; F 6,78; N 4,84. $C_{32}H_{40}F_2N_2O_4$. Вычислено, %: С 69,29; Н

7,27; F 6,85; N 5,05.



(S)-3,4-Дигидро-3-метил-4-(15-фталимидопентадеcanoил)-7,8-дифтор-2H-

[1,4]бензоксазин [(S)-20I]: выход 1,53 г (72%), белый порошок, т. пл. 59–60 °С. $[\alpha]_D^{20} +53,8$ (с 0,5; CHCl₃), *ee* > 99%, ВЭЖХ

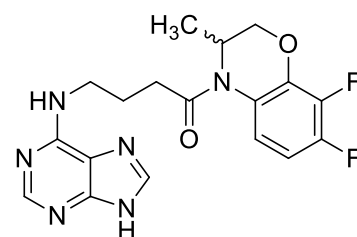


(Chiralcel OD-H, *n*-гексан–*i*-PrOH 5:1): $\tau_{(R)}$ 16,6 мин. ¹H, ¹⁹F, ¹³C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения **20I**. Найдено, %: С 69,32; Н 7,49; F 6,72; N 5,05. C₃₂H₄₀F₂N₂O₄. Вычислено, %: С 69,29; Н 7,27; F 6,85; N 5,05.

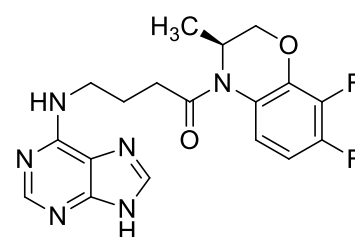
Синтез соединений 18c-d,f-l, (R)-18g, (S)-18c,g,l. Общая методика. К раствору соответствующего *N*-фталойл производного **20c-d,f-l** (1,91 ммоль) в EtOH (14 мл) прибавляют гидразингидрат (170 мкл; 3,43 ммоль). Реакционную смесь кипятят 2 ч, затем упаривают досуха. Обработка в случае соединений **18c-d,f-i**: к остатку прибавляют 2 н. HCl (25 мл), осадок отфильтровывают, промывают 1 н. HCl. К маточному раствору прибавляют твердый NaOH до pH 9, экстрагируют хлороформом (3×5 мл), органический слой сушат над MgSO₄ и упаривают досуха. Обработка в случае соединений **18j-l**: к остатку прибавляют Et₂O (25 мл), выдерживают при температуре –16 °С в течение 12 ч. Далее осадок отфильтровывают (3×3 мл), маточный раствор упаривают досуха. Далее для всех соединений **18c-d,f-l**: полученный остаток растворяют в *n*-бутаноле (4 мл) и добавляют к раствору 6-хлорпурина (**13**) (0,12 г; 0,80 ммоль) и триэтиламина (190 мкл; 1,35 ммоль) в *n*-бутаноле (4 мл). Реакционную смесь перемешивают 10 ч при 90 °С, затем охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 12 мл *n*-бутанола и промывают 1 н. HCl (3×5 мл), насыщенным раствором NaCl (3×10 мл), водой (3×10 мл). Растворитель упаривают, остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент хлороформ–этанол 9 : 1).

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[4-(пурин-6-иламино)бутаноил]-

7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин (18c): выход 0,17 г (55%), белый порошок, т. пл. 204–206 °С. ВЭЖХ ((*S,S*)-Whelk-O1, MeOH–H₂O 8:2): $\tau_{(S)}$ 10,3 мин, $\tau_{(R)}$ 12,9 мин. ¹H, ¹⁹F, ¹³C ЯМР спектры идентичны спектрам, описанным ранее [10]. Найдено, %: С 55,60; Н 4,85; F 9,46; N 21,70. C₁₈H₁₈F₂N₆O₂. Вычислено, %: С 55,67; Н 4,67; F 9,78; N 21,64.

**(S)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[4-(пурин-6-иламино)бутаноил]-**

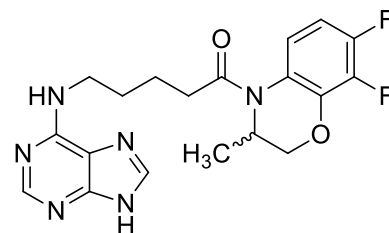
7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин [(S)-18c]: выход 0,18 г (57%), белый порошок, т. пл. 218–220 °С. ВЭЖХ ((*S,S*)-Whelk-O1, MeOH–H₂O 8:2): $\tau_{(S)}$ 10,2 мин. ¹H, ¹⁹F, ¹³C ЯМР спектры



идентичны спектрам соединения **18с**. Найдено, %: С 55,47; Н 4,87; F 9,53; N 21,45. $C_{18}H_{18}F_2N_6O_2$. Вычислено, %: С 55,67; Н 4,67; F 9,78; N 21,64.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[5-(пурин-6-иламино)пентаноил]-7,8-дифтор-2H-

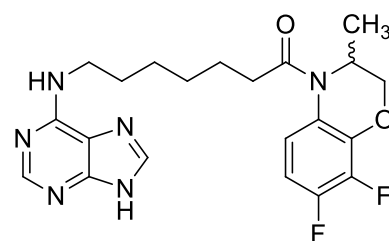
[1,4]бензоксазин (18d): выход 0,16 г (51%), белый порошок, т. пл. 80–81 °С (разл.). 1H , ^{19}F , ^{13}C ЯМР спектры идентичны спектрам, описанным ранее [10]. HRMS, m/z : 403,1685 $[M+H]^+$ (вычислено для $[C_{19}H_{21}F_2N_6O_2]^+$, m/z : 403,1689).



(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[7-(пурин-6-

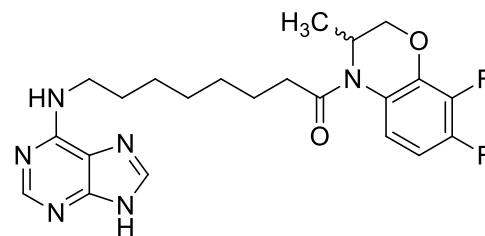
иламино)гептаноил]-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин (18f):

выход 0,21 г (62%), белый порошок, т. пл. 93–94 °С. 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , 100 °С), δ (м.д.): 1,11 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H, Me); 1,33–1,42 (м, 4H, $(CH_2)_2$); 1,55–1,67 (м, 4H, $CH_2(CH_2)_2CH_2$); 2,42–2,50 (м, 1H, CH_AH_BCO , частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,54–2,63 (м, 1H, CH_AH_BCO); 3,54–3,61 (м, 2H, NCH_2); 4,13 (дд, $J = 10,9$ и 2,8 Гц, 1H, H-2В); 4,33 (дд, $J = 10,9$ и 1,5 Гц, 1H, H-2А); 4,73 (кдд, $J = 6,9$; 2,8 и 1,5 Гц, 1H, H-3); 6,83 (ддд, $J = 9,9$; 9,8 и 8,2 Гц, 1H, H-6); 7,10 (уш.с, 1H, CH_2NH); 7,52–7,58 (м, 1H, H-5); 7,98 (с, 1H, H-8 пурина); 8,16 (с, 1H, H-2 пурина), 12,42 (уш.с, 1H, пурина NH). ^{19}F ЯМР (470 МГц, ДМСО- d_6 , 100 °С), δ (м.д.): 1,99 (ддд, $J = 21,0$; 8,2 и 2,4, 1F, F-8); 20,00–20,15 (м, 1F, F-7). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 15,10; 24,62; 26,19; 28,32; 28,97; 33,41; 40,31 (перекрывается сигналом ДМСО); 44,90; 69,81; 106,75 (д, $J = 17,9$ Гц); 117,41; 119,24; 121,79; 135,66 (д, $J = 7,9$ Гц); 138,90 (дд, $J = 243$ и 15,4 Гц); 139,05; 146,46 (д, $J = 246$ Гц); 150,03; 151,81; 153,79; 170,96. Найдено, %: С 58,40; Н 5,70; F 8,78; N 19,24. $C_{21}H_{24}F_2N_6O_2$. Вычислено, %: С 58,60; Н 5,62; F 8,83; N 19,52.

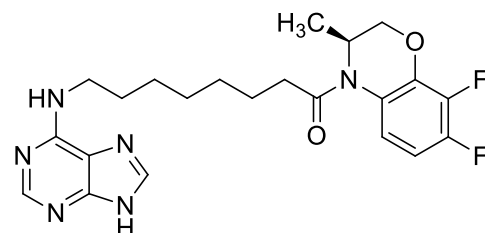


(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[8-(пурин-6-иламино)октаноил]-7,8-дифтор-2H-

[1,4]бензоксазин (18g): выход 0,25 г (69%), светло-желтый порошок, т. пл. 71–72 °С. ВЭЖХ ((S,S)-Whelk-O1, MeOH–H₂O 85:15, 0,8 мл/мин, 254 нм): $\tau_{(S)}$ 12,2 мин, $\tau_{(R)}$ 16,4 мин. 1H , ^{19}F , ^{13}C ЯМР спектры идентичны спектрам, описанным ранее [10]. HRMS, m/z : 445,2153 $[M+H]^+$ (вычислено для $[C_{22}H_{27}F_2N_6O_2]^+$, m/z : 445,2159).



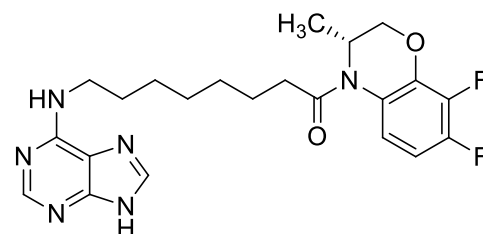
(S)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[8-(пурин-6-иламино)октаноил]-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин [(S)-18g]: выход 0,16 г (44%), светло-желтый порошок,



т. пл. 74–75 °С (разл.). $[\alpha]_D^{20} +55,5$ (*c* 0,5; MeOH), *ee* >99%, ВЭЖХ ((*S,S*)-Whelk-O1, MeOH–H₂O 85:15, 0,8 мл/мин, 254 нм): $\tau_{(S)}$ 12,0 мин. ¹H, ¹⁹F, ¹³C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения **18g**. Найдено (%): С 59,22; Н 6,15; F 8,33; N 18,62. Вычислено, C₂₂H₂₆F₂N₆O₂ (%): С 59,45; Н 5,90; F 8,55; N 18,91.

(R)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[8-(пурин-6-иламино)октаноил]-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин

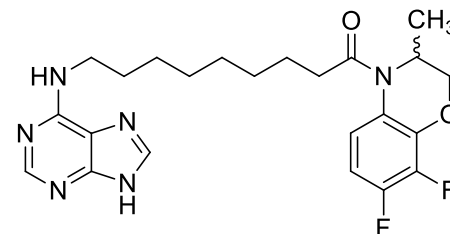
полуhydrat [(R)-18g]: выход 0,20 г (56%), светло-желтый порошок, т. пл. 77–78 °С (разл.). $[\alpha]_D^{20} -55,6$ (*c* 0,5; MeOH), *ee* >99%, ВЭЖХ ((*S,S*)-Whelk-O1, MeOH–H₂O 85:15, 0,8 мл/мин, 254 нм): $\tau_{(R)}$ 16,1 мин.



¹H, ¹⁹F, ¹³C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения **18g**. Найдено (%): С 58,57; Н 5,87; F 7,90; N 18,44. Вычислено, C₂₂H₂₆F₂N₆O₂×0,5H₂O (%): С 58,27; Н 6,00; F 8,38; N 18,53.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[9-(пурин-6-иламино)нонаноил]-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин

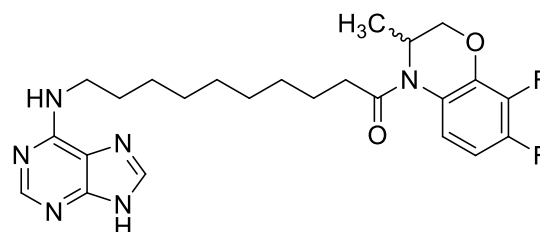
(18h): выход 0,16 г (44%), светло-желтый порошок, т. пл. 74–75 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,12 (д, *J* = 6,9 Гц, 3H, Me); 1,22–1,40 (м, 8H, (CH₂)₄); 1,52–1,68 (м, 4H, CH₂(CH₂)₄CH₂); 2,42–2,48 (м, 1H,



CH_AH_BCO, частичное перекрытие сигналом ДМСО-*d*₆); 2,52–2,62 (м, 1H, CH_AH_BCO); 3,52–3,60 (м, 2H, NCH₂); 4,13 (дд, *J* = 10,9 и 2,9 Гц, 1H, H-2B); 4,33 (дд, *J* = 10,9 и 1,4 Гц, 1H, H-2A); 4,74 (кдд, *J* = 6,9; 2,8 и 1,4 Гц, 1H; H-3); 6,84 (ддд, *J* = 9,8; 9,8 и 8,3 Гц, 1H, H-6); 7,04 (уш.с, 1H, CH₂NH); 7,52–7,58 (м, 1H, H-5); 7,97 (с, 1H, H-8 пури́н); 8,15 (с, 1H, H-2 пури́н). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С) δ (м.д.): 1,94–2,04 (м, 1F, F-8); 20,00–20,16 (м, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆) δ (м.д.): 15,10; 24,60; 26,32; 28,49; 28,66; 28,77; 29,07; 33,42; 40,28 (перекрывается сигналом ДМСО); 44,95; 69,85; 106,75 (д, *J* = 17,9 Гц); 117,56; 119,26; 121,80; 135,66 (д, *J* = 8,3 Гц); 138,90 (дд, *J* = 243 и 15,3 Гц); 138,95; 146,44 (д, *J* = 244 Гц); 150,06; 151,94; 153,82; 170,97. Найдено, %: С 60,33; Н 6,35; F 8,51; N 18,58. C₂₃H₂₈F₂N₆O₂. Вычислено, %: С 60,25; Н 6,16; F 8,29; N 18,33.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[10-(пурин-6-иламино)деканойл]-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин полуhydrat (18i): выход 0,17 г

(44%), светло-желтый порошок, т. пл. 74–75 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,11 (д, *J* = 6,9 Гц, 3H, Me); 1,22–1,40 (м, 10H, (CH₂)₅); 1,51–1,67 (м, 4H, CH₂(CH₂)₅CH₂); 2,41–2,50 (м, 1H,

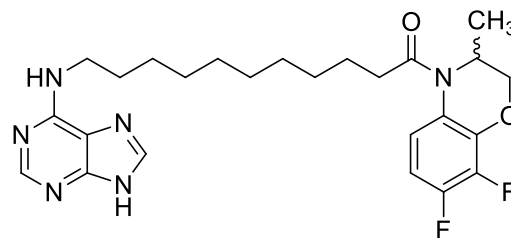


CH_AH_BCO, частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,53–2,62 (м, 1 H, CH_AH_BCO); 3,52–3,60 (м, 2 H, NCH₂); 4,13 (дд, $J = 10,9$; 2,9 Гц, 1 H, H-2B); 4,33 (дд, $J = 10,9$; 1,1 Гц, 1 H, H-2A); 4,69–4,77 (м, 1 H, H-3); 6,79–6,90 (м, 1 H, H-6); 6,99 (уш.с., 1 H, CH₂NH); 7,57–7,54 (1 H, м, H-5); 7,96 (с, 1 H, H-8 пурин); 8,15 (с, 1 H, H-2 пурин). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С) δ (м.д.): 1,92–2,04 (м, 1 F, F-8); 20,00–20,16 (м, 1 F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆) δ (м.д.): 15,10; 24,61; 26,36; 28,50 (2 C); 28,86; 29,10; 33,41; 40,28 (перекрывается сигналом ДМСО); 44,87; 69,85; 106,75 (д, $J = 17,9$ Гц); 117,90; 119,27; 121,81; 132,23; 135,70 (д, $J = 8,2$ Гц); 138,73; 138,88 (дд, $J = 243$; 15,4 Гц); 146,49 (д, $J = 241$ Гц); 149,83; 152,21; 154,03; 170,99. Найдено, %: С 59,45; Н 6,35; F 7,51; N 17,97. C₂₄H₃₀F₂N₆O₂×0,5H₂O. Вычислено, %: С 59,86; Н 6,49; F 7,49; N 17,45.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[11-(пурин-6-иламино)ундеcanoил]-7,8-дифтор-2H-

[1,4]бензоксазин (18j): выход 0,18 г (47%), светло-

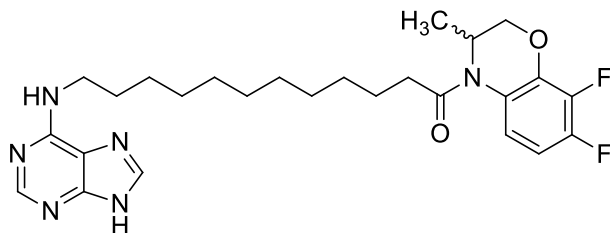
желтый порошок, т. пл. 74–75 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,12 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H, Me); 1,22–1,38 (м, 12H, (CH₂)₆); 1,52–1,66 (м, 4H, CH₂(CH₂)₆CH₂); 2,42–2,48 (м, 1H, CH_AH_BCO,



частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,52–2,60 (м, 1H, CH_AH_BCO); 3,52–3,60 (м, 2H, NCH₂); 4,13 (дд, $J = 10,9$ и 2,9 Гц, 1H, H-2B); 4,33 (дд, $J = 10,9$ и 1,5 Гц, 1H, H-2A); 4,74 (кдд, $J = 6,8$; 2,7 и 1,4 Гц, 1H, H-3); 6,84 (ддд, $J = 9,8$; 9,8 и 8,3 Гц; 1H, H-6); 6,94 (уш.с, 1H, CH₂NH); 7,53–7,58 (м, 1H, H-5); 7,95 (с, 1H, H-8 пурин); 8,14 (с, 1H, H-2 пурин); 12,42 (уш. с, 1H, NH пурин). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,98 (ддд, $J = 21,0$; 8,2 и 2,4 Гц, 1F, F-8); 20,02–20,16 (м, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆) δ (м.д.): 15,08; 24,60; 26,35; 28,48; 28,72 (2C); 28,80; 28,89; 29,07; 33,39; 39,50 (перекрывается сигналом ДМСО); 44,63; 69,85; 106,73 (д, $J = 17,9$ Гц); 118,63; 119,24; 121,79; 135,66 (дд, $J = 9,7$ и 2,5 Гц); 138,35; 138,89 (дд, $J = 243$ и 15,4 Гц); 146,47 (д, $J = 243$ Гц); 149,29; 152,29; 154,46; 170,98. Найдено, %: С 61,70; Н 6,65; F 7,66; N 17,47. C₂₅H₃₂F₂N₆O₂. Вычислено, %: С 61,71; Н 6,63; F 7,81; N 17,27.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[12-(пурин-6-иламино)додеcanoил]-7,8-дифтор-2H-

[1,4]бензоксазин (18k): выход 0,26 г (66%), светло-желтый порошок, т. пл. 62–63 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,12 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H, Me); 1,20–1,40

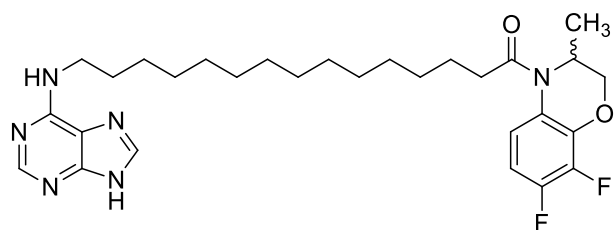


(м, 14H, (CH₂)₇); 1,53–1,65 (м, 4H, CH₂(CH₂)₇CH₂); 2,42–2,50 (м, 1H, CH_AH_BCO, частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,53–2,65 (м, 1H, CH_AH_BCO); 3,51–3,62 (м, 2H, NCH₂); 4,13

(дд, $J = 10,9$ и $2,7$ Гц, 1Н, Н-2В); 4,33 (д, $J = 11,0$ Гц; 1Н, Н-2А); 4,70–4,78 (м, 1Н, Н-3); 6,84 (ддд, $J = 9,8$; 9,7 и 8,4 Гц; 1Н, Н-6); 6,94 (уш.с, 1Н, CH_2NH); 7,50–7,60 (м, 1Н, Н-5); 7,94 (с, 1Н, Н-8 пурин); 8,14 (с, 1Н, Н-2 пурин); 12,49 (уш. с, 1Н, NH пурин). ^{19}F ЯМР (470 МГц, $\text{DMCO-}d_6$, 100 °С), δ (м.д.): 1,98 (ддд, $J = 21,0$; 8,3 и 1,9 Гц, 1F, F-8); 20,02–20,20 (м, 1F, F-7). ^{13}C ЯМР (125 МГц, $\text{DMCO-}d_6$) δ (м.д.): 15,10; 24,62; 26,37; 28,50; 28,76 (2С); 28,87 (2С); 28,94; 29,09; 33,40; 40,00 (перекрывается сигналом ДМСО); 44,71; 69,86; 106,75 (д, $J = 17,9$ Гц); 118,67; 119,26; 121,80; 135,68 (д, $J = 8,4$ Гц); 138,40; 138,91 (дд, $J = 243$ и $15,4$ Гц); 146,5 (д, $J = 240$ Гц); 149,28; 152,30; 154,43; 170,98. Найдено, %: С 62,29; Н 6,75; F 7,51; N 17,01. $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_2$. Вычислено, %: С 62,38; Н 6,85; F 7,59; N 16,79.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[15-(пурин-6-иламино)пентадеcanoил]-7,8-дифтор-2H-

[1,4]бензоксазин (18I): выход 0,20 г (46%), светло-желтый порошок, т. пл. 65–66 °С. ВЭЖХ ((S,S)-Whelk-O1, MeOH–H₂O 85:15, 0,8 мл/мин, 254 нм): $\tau_{(S)}$ 23,2 мин, $\tau_{(R)}$ 33,1

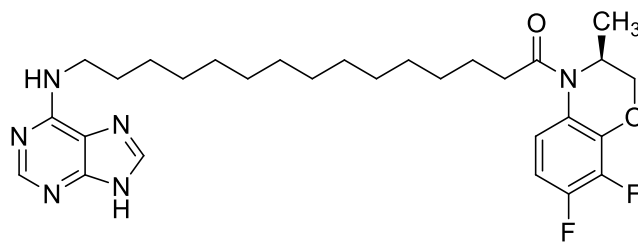


мин. ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMCO-}d_6$, 100 °С), δ (м.д.): 1,12 (д, $J = 6,9$ Гц, 3Н, Me); 1,20–1,40 (м, 20Н, $(\text{CH}_2)_{10}$); 1,52–1,70 (м, 4Н, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2$); 2,40–2,50 (м, 1Н, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CO}$, частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,53–2,63 (м, 1Н, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CO}$); 3,55–3,65 (м, 2Н, NCH_2); 4,13 (дд, $J = 11,0$ и $2,8$ Гц, 1Н, Н-2В); 4,33 (д, $J = 10,9$ Гц; 1Н, Н-2А); 4,74 (кдд, $J = 6,9$; 2,6 и 1,4 Гц, 1Н, Н-3); 6,84 (ддд, $J = 9,8$; 9,8 и 8,3 Гц; 1Н, Н-6); 7,50–7,58 (м, 1Н, Н-5); 7,61 (уш.с, 1Н, CH_2NH); 8,08 (с, 1Н, Н-8 пурин); 8,23 (с, 1Н, Н-2 пурин). ^{19}F ЯМР (470 МГц, $\text{DMCO-}d_6$, 100 °С), δ (м.д.): 2,00 (ддд, $J = 21,0$; 8,2 и 2,2 Гц, 1F, F-8); 20,02–20,22 (м, 1F, F-7). ^{13}C ЯМР (125 МГц, $\text{DMCO-}d_6$) δ (м.д.): 15,09; 24,61; 26,31; 28,49; 28,71; 28,74; 28,86; 28,91 (3С); 28,93 (2С); 33,39; 40,00 (перекрывается сигналом ДМСО); 44,92; 69,86; 106,75 (д, $J = 17,9$ Гц); 116,23; 119,26; 121,81; 135,68 (д, $J = 8,6$ Гц); 138,95 (дд, $J = 251$ и $15,4$ Гц); 140,00; 146,49 (д, $J = 240$ Гц); 149,40; 150,47; 150,47; 153,05; 170,99. Найдено, %: С 63,81; Н 7,37; F 6,67; N 15,36. $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_2 \times 0,2\text{H}_2\text{O}$. Вычислено, %: С 63,76; Н 7,45; F 6,96; N 15,38.

(S)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[15-(пурин-6-иламино)пентадеcanoил]-7,8-дифтор-2H-

[1,4]бензоксазин полугидрат [(S)-18I]:

выход 0,18 г (40%), желтый порошок, т. пл. 44–45 °С. $[\alpha]_D^{20} +104,5$ (с 0,5; MeOH), $ee > 99\%$, ВЭЖХ ((S,S)-Whelk-O1, MeOH–H₂O 85:15, 0,8 мл/мин, 254 нм): $\tau_{(S)}$ 22,7 мин. ^1H ,

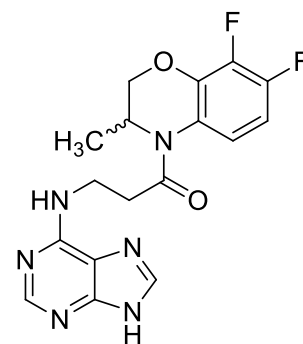


^{19}F , ^{13}C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения **18I**. Найдено, %: С 63,18; Н 7,30; F

6,86; N 15,01. $C_{29}H_{40}F_2N_6O_2 \times 0,5H_2O$. Вычислено, %: C 63,14; H 7,49; F 6,89; N 15,23.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[3-(пурин-6-иламино)пропаноил]-

7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин (18b). К раствору *N*-фталоил производного **20b** (0,97 г; 2,50 ммоль) в EtOH (25 мл) прибавляют гидразингидрат (0,22 мл; 4,50 ммоль). Реакционную смесь кипятят 2 ч, затем упаривают досуха. К остатку прибавляют 2 М HCl (25 мл), осадок отфильтровывают, промывают 1 М HCl. К маточному раствору прибавляют твердый NaOH до pH 7, затем 5%

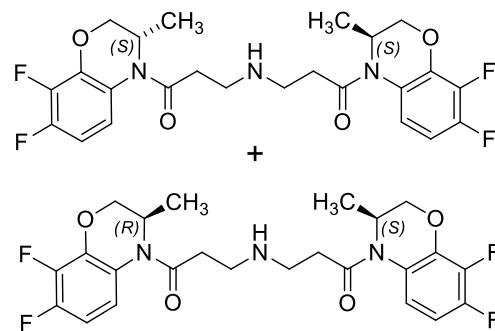


NaHCO₃ до pH 9, экстрагируют хлороформом (3×5 мл), органический слой сушат над MgSO₄ и упаривают досуха. К полученному остатку добавляют 6-хлорпурин (**13**) (0,13 г; 0,86 ммоль). Реакционную смесь перемешивают 5 ч при 120 °С, затем охлаждают до комнатной температуры, обрабатывают *n*-гексаном. Осадок отфильтровывают и очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент хлороформ–этанол 95 : 5). Выход 0,15 г (48%), белый порошок, т. пл. 143–145 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 80 °С), δ (м.д.): 1,12 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H, Me), 2,90 (дт, $J = 15,7$ и 7,5 Гц; 1H, CH_AH_BCO); 3,00 (дт, $J = 15,7$ и 6,9 Гц; 1H, CH_AH_BCO); 3,79–3,93 (м, 2H, NCH₂); 4,17 (дд, $J = 10,9$ и 2,5 Гц, 1H, H-2B); 4,32 (дд, $J = 10,9$ и 1,3 Гц, 1H, H-2A); 4,79 (уш.к, $J = 6,8$ Гц; 1H, H-3); 6,85 (тд, $J = 9,7$ и 8,5 Гц, 1H, H-6); 7,20 (уш.с, 1H, CH₂NH); 7,57–7,70 (м, 1H, H-5); 7,98 (с, 1H, пурин H-8); 8,16 (с, 1H, пурин H-2); 12,65 (уш.с, 1H, пурин NH). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 80 °С), δ (м.д.): 1,96 (уш.д, $J = 21,0$ Гц; 1F, F-8); 20,10–20,30 (м, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 15,02; 33,67; 36,80; 45,96; 69,74; 106,73 (д, $J = 17,7$ Гц); 118,79; 119,23; 121,62; 135,74 (д, $J = 8,1$ Гц); 138,73; 138,88 (дд, $J = 243$ и 15,4 Гц); 146,53 (д, $J = 245$ Гц); 149,40; 152,25; 154,19; 169,71. Найдено (%): C 54,26; H 4,45; N 22,21; F 9,94. Вычислено, C₁₇H₁₆F₂N₆O₂ (%): C 54,54; H 4,31; N 22,45; F 10,15.

Получение соединений 23 и (S*,S*)-23. Общая методика. К раствору соединения **20b** или (*S*)-**20b** (0,97 г; 4,50 ммоль) в этаноле (25 мл) добавляют гидразингидрат (0,22 мл; 4,50 ммоль). Реакционную смесь кипятят в течение 2 ч, затем упаривают досуха. Остаток обрабатывают 2 М HCl (25 мл) при 4 °С в течение 12 ч, образовавшийся осадок отфильтровывают и промывают 1 н. HCl (2×3 мл). К маточному раствору прибавляют твердый NaOH до pH 7, затем 5% раствор NaHCO₃ до pH 9, экстрагируют хлороформом (3×5 мл), органический слой сушат над MgSO₄ и упаривают досуха. Остаток растворяют в *n*-бутаноле (8 мл), к полученному раствору добавляют триэтиламин (0,26 мл; 1,88 ммоль). Реакционную смесь перемешивают 10 ч при 90 °С, затем охлаждают до комнатной температуры. Растворитель упаривают, остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент хлороформ–этанол 9:1).

Азанидилбис[1-(3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин-4-ил)пропан-1-он], смесь

диастереомеров (23): выход 0,18 г (29%), светло-бежевый порошок, т. пл. 61–62 °С. ВЭЖХ (Kromasil 100–5 C18, MeCN/0,1 M NH₄OAc 85:15, 0,8 мл/мин, 254 нм): $\tau_{(S^*,S^*)}$ 4,5 мин, $\tau_{(R^*,S^*)}$ 7,6 мин; $(S^*,S^*)/(R^*,S^*)$ 8:2. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,11 (д, $J = 5,9$ Гц, 3H, Me), 2,56–2,66 (м, 1H, CH_AH_BCO); 2,68–2,74 (м, 1H, CH_AH_BCO); 2,78–2,88 (м, 2H, NCH₂); 4,09–4,10 (м, 0,2H, H-2B (R^{*},S^{*})); 4,17 (д, $J = 10,8$ Гц, 0,8H, H-2B (S^{*},S^{*})); 4,31 (дд, $J = 11,2$ и 0,8 Гц; 0,2H, H-2A (R^{*},S^{*})); 4,36 (дд, $J = 10,8$ и 0,8 Гц; 0,8H, H-2A (S^{*},S^{*})); 4,55–4,85 (м, 1H, H-3); 6,82–6,88 (м, 0,2H, H-6 (R^{*},S^{*})); 6,93 (дт, $J = 9,5$ и 9,0 Гц; 0,8H, H-6 (S^{*},S^{*})); 7,30–7,90 (м, 2H, H-5). ¹⁹F ЯМР (376 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,90 (уш.с, 1F, F-8); 19,70–20,98 (м, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 15,00; 31,53 (R^{*},S^{*}); 33,78 (S^{*},S^{*}); 44,91 (уш.с); 69,80; 106,62 (д, $J = 17,9$ Гц; (R^{*},S^{*})); 106,74 (д, $J = 17,9$ Гц; (S^{*},S^{*})); 119,28 (уш.с); 121,65; 135,73 (уш.д, $J = 17,5$ Гц); 138,91 (дд, $J = 244$ и 15,4 Гц); 146,57 (уш.д, $J = 243$ Гц); 170,22 (R^{*},S^{*}); 170,33 (S^{*},S^{*}). HRMS, m/z : 496,1854 [M+H]⁺ (вычислено для [C₂₄H₂₆F₄N₃O₄]⁺, m/z : 496,1854).

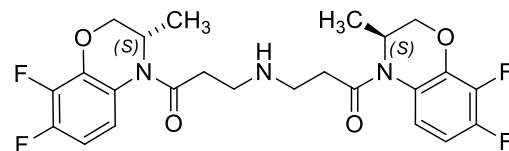


**Смесь диастереомеров
(S^{*},S^{*})/(R^{*},S^{*}) = 8:2**

(S,S)-3,3'-Азанидилбис[1-(3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин-4-ил)-пропан-1-он]

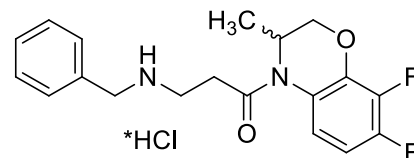
((S,S)-23): получено аналогично соединению **23**.

Выход 0,18 г (29%), светло-бежевый порошок, т. пл. 58–59 °С. $[\alpha]_D^{20} +88,2$ (*c* 0,5; MeOH). ВЭЖХ (Kromasil 100–5 C18, MeCN/0,1 M NH₄OAc 85:15, 0,8 мл/мин, 254 нм): $\tau_{(S^*,S^*)}$ 4,8 мин; *de* > 99,9%. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,12 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H, Me), 2,59–2,65 (м, 1H, CH_AH_BCO); 2,75–2,81 (м, 1H, CH_AH_BCO); 2,87 (дд, $J = 6,5$ и 6,4 Гц; 2H, NCH₂); 4,15 (ддд, $J = 10,9$; 2,3 и 2,1 Гц, 1H, H-2B); 4,33 (дд, $J = 10,9$ и 1,3 Гц; 1H, H-2A); 4,73–4,77 (м, 1H, H-3); 6,84 (дд, $J = 9,8$ и 8,3 Гц; 1 H, H-6); 7,56–7,59 (м, 2H, H-5). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,90 (ддд, $J = 20,9$; 7,6 и 1,0 Гц, 1F, F-8); 20,25–20,32 (м, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 14,52 (CH₃); 32,50 (C-2'); 43,97 (C-3'); 44,48 (C-3); 69,58 (C-2); 106,24 (д, $J = 18,2$ Гц; C-6); 118,79 (дд, $J = 7,2$ и 4,3 Гц; C-5); 121,40 (C-4a); 135,71 (дд, $J = 10,0$ и 3,3 Гц; C-8a); 138,67 (дд, $J = 244$ и 15,4 Гц; C-8); 146,45 (дд, $J = 242$ и 10,1 Гц; C-7); 169,33 (C-1'). ¹⁵N ЯМР (50 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 40,2; 132,1. HRMS, m/z : 496,1848 [M+H]⁺ (вычислено для [C₂₄H₂₆F₄N₃O₄]⁺, m/z : 496,1854).



(*RS*)-4-[3-(Бензиламино)пропаноил]-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-**[1,4]бензоксазин гидрохлорид (24).**

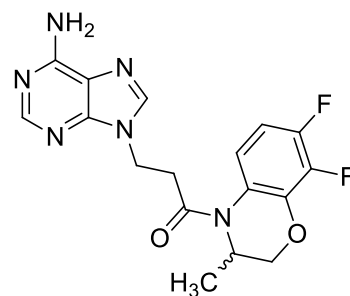
К раствору амина **21b** (0,30 г; 1,17 ммоль) в *n*-бутаноле (8 мл) последовательно прибавляют триэтиламин (180 мкл, 1,29 ммоль) и бензиламин (385 мкл, 3,51 ммоль). Реакционную смесь



перемешивают в течение 7 ч при 90 °С, затем охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 12 мл *n*-бутанола, промывают 1 М НСl (3×5 мл), насыщенным раствором NaCl (3×5 мл), водой (3×5 мл) и упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент хлороформ–этанол 97 : 3). Выход 0,23 г (52%), светло-розовый порошок, т. пл. 204–205 °С. ¹Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 80 °С), δ (м.д.): 1,14 (д, *J* = 5,6 Гц, 3Н, Ме); 2,87–3,00 (м, 1Н, СН_АН_ВСО); 2,98–3,07 (м, 1Н, СН_АН_ВСО, перекрывание сигналом воды); 3,12–3,28 (м, 2Н, NCH₂); 4,10–4,20 (м, 2Н, Вн СН₂); 4,23 (д, *J* = 10,8 Гц, 1Н, Н-2В); 4,37 (д, *J* = 10,7 Гц, 1Н, Н-2А); 4,64–4,80 (м, 1Н, Н-3); 6,85–6,98 (м, 1Н, Н-6); 7,32–7,53 (м, 3Н, Вн Н-3, Вн Н-4 и Вн Н-5); 7,45–7,60 (м, 2Н, Вн Н-2 и Вн Н-6); 7,50–7,70 (м, 1Н, Н-5); 9,08 (уш. с, 2Н, NH₂⁺). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 80 °С), δ (м.д.): 2,16–2,32 (м, 1F, F-8); 20,60–20,95 (м, 1F, F-7). ¹³С ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 15,93; 30,38; 42,37; 46,04; 50,01; 69,59; 106,86 (д, *J* = 17,9 Гц); 119,13; 121,31; 128,58 (2С); 128,78; 129,88 (2С); 132,08; 135,88; 138,93 (дд, *J* = 244 и 15,3 Гц); 146,66 (д, *J* = 231 Гц); 168,26. Найдено, %: С 59,54; Н 5,31; N 7,34; F 9,51; Cl 9,14. С₁₉Н₂₀F₂N₂O₂×НСl. Вычислено, %: С 59,61; Н 5,53; N 7,32; F 9,93; Cl 9,26.

(*RS*)-4-[3-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)пропаноил]-3,4-дигидро-**7,8-дифтор-3-метил-2*H*-[1,4]бензоксазин (25).**

К раствору амина **21b** (0,30 г; 1,17 ммоль) в *n*-бутаноле (25 мл) последовательно прибавляют триэтиламин (830 мкл; 5,97 ммоль) и раствор аденинсульфата (0,65 г, 3,51 ммоль) в смеси ДМСО–вода (5 : 5 мл). Реакционную смесь перемешивают 24 ч при 120 °С, затем охлаждают до комнатной температуры, промывают 1 н. НСl (3×7



мл), насыщенным раствором NaCl (3×7 мл), водой (3×7 мл) и упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент хлороформ–этанол 85 : 15). Выход 0,031 г (7%), белый порошок, т. пл. 87-89 °С (разл.). ¹Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 80 °С), δ (м.д.): 1,08 (д, *J* = 6,9 Гц, 3Н, Ме); 3,17 (дт, *J* = 16,4 и 7,1 Гц, 1Н, СН_АН_ВСО); 3,27 (дт, *J* = 16,4 и 6,5 Гц, 1Н, СН_АН_ВСО); 4,42–4,46 (м, 2Н, NCH₂); 4,07 (дд, *J* = 11,1 и 2,6 Гц, 1Н, Н-2В); 4,29 (дд, *J* = 11,0 и 1,4 Гц, 1Н, Н-2А); 4,66–4,73 (м, 1Н, Н-3); 6,81 (уш. с, 2Н, NH₂); 6,86 (ддд, *J* = 9,8; 9,8 и 8,4 Гц, 1Н, Н-6); 7,54 (м, 1Н, Н-5); 8,04 (с, 1Н, пурин Н-8); 8,11 (с, 1Н, пурин Н-2). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 80 °С), δ (м.д.): 2,01 (дд, *J* = 21,0 и 7,5 Гц, 1F, F-8); 20,30–

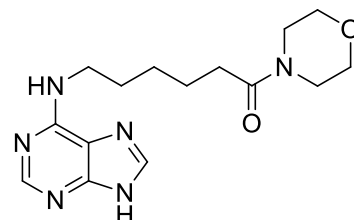
20,55 (м, 1F, F-7). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 14,93; 33,51; 40,09 (перекрывание сигналом ДМСО); 45,87; 69,67; 106,89 (д, $J = 17,9$ Гц); 118,91; 119,03; 121,49; 135,91 (д, $J = 10,7$ Гц); 139,05 (дд, $J = 243$ и $15,3$ Гц); 141,34; 146,76 (д, $J = 263$ Гц); 149,58; 152,40; 156,03; 168,86. HRMS, m/z : 375,1377 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (вычислено для $[\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_2]^+$, m/z : 375,1376).

Синтез соединений 26a,b,e. Общая методика. К охлажденной до 5 °С суспензии кислоты **14b** (0,50 г; 2,00 ммоль) в смеси ДМФА и ДМСО (10 мл, 4:1) при перемешивании добавляют DIPEA (0,43 мл; 2,48 ммоль), HOBT-гидрат (0,37 г; 2,40 ммоль) и амин **2a-c** (3,00 ммоль). К полученной смеси через 15 мин при 5 °С небольшими порциями добавляют EDC×HCl (0,58 г, 3,00 ммоль). Реакционную смесь перемешивают до растворения реагентов и выдерживают при 20 °С в течение 48 ч, затем выливают в смесь воды и льда (200 мл). Полученную смесь экстрагируют *n*-бутанолом (5×40 мл), органический слой промывают 10% раствором NaHCO_3 (3×20 мл), H_2O (3×20 мл) и упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент CHCl_3 –MeOH 9:1).

1-(Морфолин-4-ил)-6-[(9H-Пурин-6-ил)амино]гексан-1-он

(**26a**): выход 0,41 г (64%), бежевый порошок, т. пл. 164–165 °С.

^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 1,30–1,36 (м, 2H, CH_2); 1,49–1,55 (м, 2H, 2 CH_2); 2,29 (т, $J = 7,4$ Гц, 2H, CH_2); 3,40–3,48

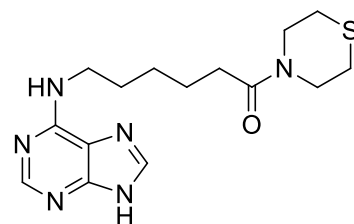


(м, 10H, 5 CH_2); 7,61 (уш.с, 1H, CH_2NH); 8,07 (с, 1H, H-8 пурин); 8,17 (уш.с, 1H, H-2 пурин); 12,86 (уш.с, 1H, пурин NH). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 24,45; 26,10; 28,95; 31,94; 39,50 (перекрывание сигналом ДМСО); 41,33; 45,37; 66,08 (2C); 118,21; 138,67; 150,02; 152,27; 154,15; 170,77. Найдено, %: С 56,63; Н 7,04; N 26,14. $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_2$. Вычислено, %: С 56,59; Н 6,97; N 26,40.

6-[(9H-Пурин-6-ил)амино]-1-(тиоморфолин-4-ил)-гексан-1-он

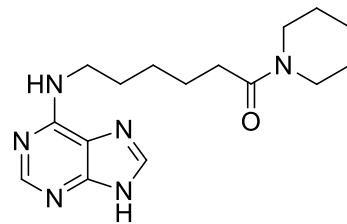
(**26b**): выход 0,41 г (61%), бежевый порошок, т. пл. 188–189 °С.

^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 1,34 (кв, $J = 7,5$ Гц, 2H, C(4)H₂); 1,52 (кв, $J = 7,5$ Гц, 2H, C(3)H₂); 1,60 (кв, $J = 7,3$ Гц, 2H, C(5)H₂); 2,29 (т, $J = 7,4$ Гц, 2H, CH_2CO); 2,49–2,51 (м, 2H, SCH_2 ,



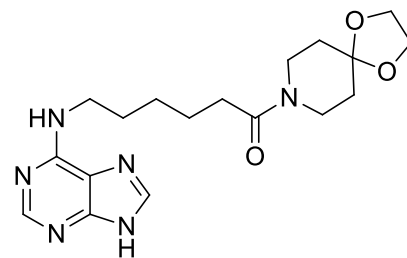
перекрывается сигналом ДМСО); 2,56–2,58 (м, 2H, SCH_2); 3,46 (уш.с, 2H, HNCH_2); 3,66–3,70 (м, 4H, CH_2NCH_2); 7,62 (уш.с, 1H, NH); 8,08 (с, 1H, H-8 пурин); 8,18 (уш.с, 1H, H-2 пурин); 12,87 (уш.с, 1H, пурин NH). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 24,52; 26,09; 26,52; 27,04; 28,94; 32,23; 39,50 (перекрывание сигналом ДМСО); 43,49; 47,63; 118,64; 138,43; 149,33; 152,3; 154,42; 170,57. Найдено, %: С 53,90; Н 6,70; N 25,26; S 9,59. $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{OS}$. Вычислено, %: С 53,87; Н 6,63; N 25,13; S 9,59.

1-(Пиперидин-1-ил)-6-[(9H-пурин-6-ил)амино]-гексан-1-он (26e): выход 0,46 г (73%), бежевый порошок, т. пл. 157–158 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСO-*d*₆), δ (м.д.): 1,29–1,62 (м, 12H, 6 CH₂), 2,26 (т, 2H, *J* = 7,4 Гц, CH₂CO), 3,34–3,39 (м, 4H, CH₂NCH₂), 3,45 (уш.с, 2H, NHCH₂), 7,62 (уш.с, 1H, NH), 8,06 (с, 1H, Н-8 пурин), 8,16 (уш.с, 1H, Н-2 пурин), 12,86 (с, 1H, пурин NH). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСO-*d*₆), δ (м.д.): 24,02; 24,68; 25,26; 26,10 (2C); 28,95; 32,22; 39,50 (перекрывание сигналом сигналом ДМСO); 41,75; 45,84; 118,68; 138,40; 149,29; 152,32; 154,45; 170,12. Найдено, %: С 60,57; Н 7,84; N 26,44. С₁₆Н₂₄Н₆О. Вычислено, %: С 60,74; Н 7,65; N 26,56.



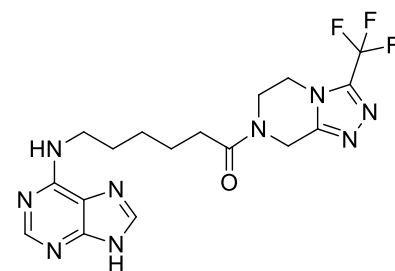
6-((9H-Пури-н-6-ил)амино-1-(1,4-окса-8-

азаспиро[4.5]декан-8-ил)гексан-1-он (26f). К охлажденной до 5 °С суспензии кислоты **14b** (0,50 г, 2,01 ммоль) в смеси ДМФА и ДМСO (10 мл, 4:1) при перемешивании добавляют DIPEA (700 мкл; 4,01 ммоль), НОВt-гидрат (0,50 г, 2,61 ммоль) и амин **2d** (385 мкл, 3,01 ммоль). К полученной смеси через 15 мин при 5 °С небольшими порциями добавляют EDC×HCl (0,50 г, 2,61 ммоль). Реакционную смесь перемешивают до растворения реагентов и выдерживают при 20 °С в течение 48 ч, затем выливают в смесь воды и льда (250 мл). Экстрагируют *n*-бутанолом (5×30 мл), органическую фазу промывают 5% раствора NaHCO₃ (3×20 мл), насыщенным раствором NaCl (2×20 мл), упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент СНCl₃–MeOH 95:5). Выход 0,54 г (72%), белый порошок, т. пл. 102–103 °С (разл). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСO-*d*₆), δ (м.д.): 1,28–1,37 (м, 2H, CH₂); 1,47–1,63 (м, 8H, CH₂(CH₂)₂CH₂, CH₂CCH₂); 2,31 (т, *J* = 7,4 Гц, 2H, CH₂CO); 3,42–3,52 (м, 6H, NHCH₂, CH₂NCH₂), 3,89 (с, 4H, (CH₂)₂); 7,61 (уш.с, 1H, NH); 8,05 (с, 1H, Н-8 пурин); 8,16 (уш.с, 1H, Н-2 пурин); 12,85 (уш.с, 1H, пурин NH). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСO-*d*₆), δ (м.д.): 24,59; 26,11; 28,93; 32,11; 34,37; 35,09, 40,00 (2C, перекрывается сигналом ДМСO); 42,93; 63,73; 106,34; 118,60; 138,42; 149,32; 152,31; 154,44; 170,37. HRMS, *m/z*: 375,2137 [M+H]⁺ (вычислено для [C₁₈H₂₇N₆O₃]⁺ *m/z*: 375,2140).



6-(9H-Пури-н-6-ил)амино)-1-(3'-трифторметил)-5',6'-

дигидро[1',2',4']триазоло[4,3-*a*]пиазин-7'(8'*H*)-ил)гексан-1-он (26g). К охлажденной до 5 °С суспензии кислоты **14b** (0,50 г; 2,01 ммоль) в смеси ДМФА и ДМСO (10 мл, 4:1) при перемешивании добавляют DIPEA (1,1 мл; 6,03 ммоль), НОВt-гидрат (0,40 г, 2,61 ммоль) и амин **2e** (2,01 ммоль). К полученной смеси через 15 мин при 5 °С небольшими порциями добавляют EDC×HCl



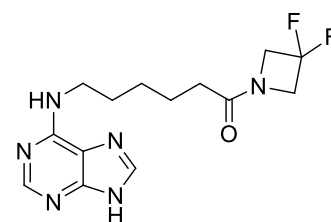
(0,58 г; 3,00 ммоль). Реакционную смесь перемешивают до растворения реагентов и выдерживают при 20 °С в течение 48 ч, затем выливают в смесь воды и льда (200 мл). Полученную смесь экстрагируют *n*-бутанолом (4×30 мл), органический слой промывают 5% раствором NaHCO₃ (3×20 мл), насыщенным раствором NaCl (3×20 мл) и упаривают досуха. Остаток растворяют в смеси CHCl₃–вода (100 мл, 1:1), водную фазу отделяют, экстрагируют этилацетатом (6×30 мл). Органический слой сушат над MgSO₄, упаривают досуха. Выход 0,33 г (39%), белый порошок, т. пл. 193–194 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,28–1,43 (м, 2Н, С(4)Н₂); 1,50–1,67 (м, 4Н, С(3)Н₂, С(5)Н₂); 2,39–2,50 (м, 2Н, СН₂СО, частичное перекрытие сигналом ДМСО); 3,46 (уш.с, 2Н, NHСН₂); 3,91–3,99 (м, 2Н, С(5')Н₂ или С(6')Н₂); 4,12 (т, *J* = 4,9 Гц, 0,8Н, *minor* С(5')Н₂ или С(6')Н₂); 4,22 (т, *J* = 4,7 Гц, 1,2Н, *major* С(5')Н₂ или С(6')Н₂); 4,86 (с, 1,2Н, *major* С(8')Н₂); 4,97 (с, 0,6Н, *minor* С(8')Н₂); 7,61 (уш.с, 1Н, NH); 8,05 (с, 1Н, Н-8 пурин); 8,16 (уш.с, 1Н, Н-2 пурин); 12,86 (уш.с, 1Н, пурин NH). ¹⁹F ЯМР (376 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 100,76 (уш.с, 1,8Н, *major* CF₃); 100,78 (уш.с, 1,2Н, *minor* CF₃). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 24,22; 26,03; 28,95; 31,94 (с, 0,6С, *major* СН₂СО); 32,18 (с, 0,4С, *minor* СН₂СО); 37,25 (с, 0,4С, *minor* С(8')); 37,23 (с, 0,6С, *major* С(8')); 40,00 (перекрывается сигналом ДМСО); 40,88 (с, 0,6С, *major* С(5') или С(6')); 41,60 (с, 0,4С, *minor* С(5') или С(6')); 43,08 (с, 0,4С, *minor* С(5') или С(6')); 43,59 (с, 0,6С, *major* С(5') или С(6')); 118,41 (к, ¹*J*_{C-F} = 270 Гц, 1С, CF₃); 118,69; 138,41; 142,36 (к, ²*J*_{C-F} = 39,5 Гц, 0,4С, *minor* С(3')); 142,46 (к, ²*J*_{C-F} = 39,0 Гц, 0,6С, *major* С(3')); 149,32; 150,89 (с, 0,4С, *minor* С(8а')); 151,02 (с, 0,6С, *major* С(8а')); 152,34; 154,47; 171,60. HRMS, *m/z*: 424,1819 [M+H]⁺ (вычислено для [C₁₇H₂₁F₃N₉O]⁺ *m/z*: 424,1816).

6-((9*H*-Пурин-6-ил)амино)-1-(3,3-дифторазетидин-1-

ил)гексан-1-он (26h). К охлажденной до 5 °С суспензии кислоты

14b (0,50 г, 2,01 ммоль) в смеси ДМФА и ДМСО (10 мл, 4:1) при перемешивании добавляют DIPEA (1,1 мл, 6,02 ммоль),

НОВt-гидрат (0,50 г, 2,61 ммоль) и гидрохлорид амина 2f (0,31 г,



3,01 ммоль). К полученной смеси через 15 мин при 5 °С небольшими порциями добавляют

EDC×HCl (0,50 г, 2,61 ммоль). Реакционную смесь перемешивают до растворения реагентов

и выдерживают при 20 °С в течение 48 ч, затем выливают в смесь воды и льда (250 мл).

Экстрагируют *n*-бутанолом (4×20 мл), органическую фазу промывают 5% раствора NaHCO₃

(3×20 мл), насыщенным раствором NaCl (2×20 мл), упаривают досуха. Полученный остаток

перекристаллизовывают из смеси вода–этанол, 10:3. Выход 0,33 г (51%), белый порошок, т.

пл. 206–207 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,26–1,37 (м, 2Н, СН₂); 1,47–1,64 (м,

4Н, СН₂СН₂СН₂); 2,14 (т, *J* = 7,4 Гц, 2Н, СН₂СО); 3,45 (уш.с, 2Н, NHСН₂); 4,23 (т, *J* = 12,6

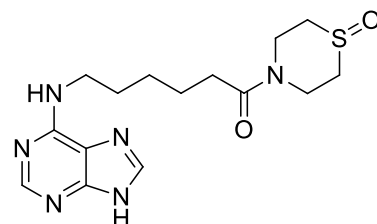
Гц, 2Н, СН_AН_BНСН_AН_B); 4,56 (т, *J* = 12,5 Гц, 2Н, СН_AН_BНСН_AН_B); 7,61 (уш.с, 1Н, NH); 8,05

(с, 1H, H-8 пурин); 8,16 (уш.с, 1H, H-2 пурин); 12,86 (уш.с, 1H, пурин NH). ^{19}F ЯМР (376 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 62,50–62,68 (м, 2F). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 23,77; 25,96; 28,89; 31,06; 40,00 (перекрывается сигналом ДМСО); 59,10 (т, $^2J_{\text{C-F}} = 27,5$ Гц, 1С); 60,94 (т, $^2J_{\text{C-F}} = 27,8$ Гц, 1С); 116,05 (т, $^1J_{\text{C-F}} = 272,5$ Гц, 1С), 118,67; 138,41; 141,89; 149,29; 152,31; 154,46; 172,80. Найдено, %: С 51,86; Н 5,80; F 11,72; N 25,96. $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}$. Вычислено, %: С 51,85; Н 5,59; F 11,40; N 25,91.

6-[(9H-Пурин-6-ил)амино]-1-(1-оксидотиоморфолин-4-ил)-

гексан-1-он (26c). К охлажденному раствору соединения **26b**

(1,3 г; 3,89 ммоль) в уксусной кислоте (5 мл) добавляют перекись водорода (30% раствор; 1,44 мл; 19,4 ммоль), перемешивают в течение 2 ч. К реакционной массе добавляют 100 мл *n*-бутанола, полученный раствор промывают 5%

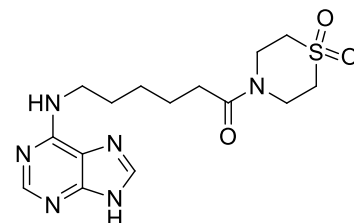


раствором NaHCO_3 (5×20 мл), насыщенным раствором NaCl (3×20 мл), водой (3×20 мл) и упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент CHCl_3 – EtOH 75:25). Выход 0,76 г (56%), бежевый порошок, т. пл. 183–184 °С. ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 1,34 (кв, $J = 7,6$ Гц, 2H, $\text{C}(4)\text{H}_2$), 1,53 (кв, $J = 7,6$ Гц, 2H, $\text{C}(3)\text{H}_2$), 1,60 (кв, $J = 7,4$ Гц, 2H, $\text{C}(5)\text{H}_2$); 2,27–2,43 (м, 2H, CH_2CO), 2,65–2,90 (м, 4H, оксидотиоморфолин), 3,40–3,50 (м, 2H, HNCH_2), 3,75–4,22 (м, 4H, оксидотиоморфолин), 7,61 (уш.с, 1H, NH), 8,07 (с, 1H, H-8 пурин), 8,17 (уш.с, 1H, H-2 пурин), 12,87 (уш.с, 1H, пурин NH). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 24,42; 26,08; 28,94; 32,01; 32,44; 36,46; 39,50 (перекрывается сигналом ДМСО); 44,61; 45,03; 118,28; 138,66; 149,48; 152,25; 154,07; 170,83. HRMS, m/z : 351,1603 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (вычислено для $[\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}]^+$ m/z : 351,1603).

6-[(9H-Пурин-6-ил)амино]-1-(1,1-диоксидотиоморфолин-4-

ил)-гексан-1-он (26d). К суспензии сульфида **26c** (1,38 г; 4,13

ммоль) в метаноле (20 мл) добавляют ацетонитрил (1,94 мл; 37,2 ммоль) и K_2CO_3 (0,40 г; 2,89 ммоль), затем в течение 30 мин при охлаждении (0 °С) прикапывают водн. 30% раствор H_2O_2 (3,80 мл; 37,2 ммоль). Далее реакционную смесь выдерживают при



комнатной температуре в течение 12 ч и при 8 ч при 80 °С, после чего выливают в ледяную воду (100 мл), экстрагируют *n*-бутанолом (4×20 мл), органическую фазу упаривают досуха. Полученный остаток перекристаллизовывают из смеси вода–этанол 2:1. Выход 0,57 г (40%), бежевый порошок, т. пл. 249–250 °С. ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 1,34 (кв, $J = 7,4$ Гц, 2H, $\text{C}(4)\text{H}_2$), 1,53 (кв, $J = 7,5$ Гц, 2H, $\text{C}(3)\text{H}_2$), 1,60 (кв, $J = 7,4$ Гц, 2H, $\text{C}(5)\text{H}_2$); 2,39 (т, $J = 7,5$ Гц, 2H, CH_2CO), 3,04–3,08 (м, 2H, диоксидотиоморфолин), 3,17–3,21 (м, 2H, диоксидотиоморфолин), 3,47 (уш.с, 2H, HNCH_2), 3,78–3,91 (м, 4H, диоксидотиоморфолин),

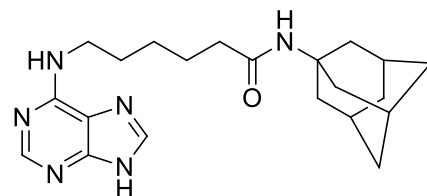
7,61 (уш.с, 1H, NH), 8,07 (с, 1H, H-8 пурин), 8,17 (с, 1H, H-2 пурин), 12,86 (уш.с, 1H, пурин NH). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 24,35; 26,04; 28,95 (уш.с), 31,85; 39,50 (2С, перекрывание сигналом сигналом ДМСО); 43,37; 51,00; 51,20; 118,61; 138,46; 149,33; 152,33; 154,49; 171,10. Найдено, %: С 48,41; Н 6,16; N 22,32; S 8,80. HRMS, m/z : 367,1550 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (вычислено для $[\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}]^+$ m/z : 367,1547).

Получение соединений 27а-с. Общая методика. К охлажденной до 5 °С суспензии кислоты **14b** (0,50 г; 2,01 ммоль) в смеси ДМФА и ДМСО (10 мл, 4:1) при перемешивании добавляют DIPEA (1,1 мл; 6,02 ммоль), НОВt·гидрат (0,40 г; 3,01 ммоль) и гидрохлорид амина **3а-с** (3,01 ммоль). К полученной смеси через 15 мин при 5 °С небольшими порциями добавляют EDC×HCl (0,58 г; 2,60 ммоль). Реакционную смесь перемешивают до растворения реагентов и выдерживают при 20 °С в течение 48 ч, затем выливают в смесь воды и льда (200 мл). В случае соединений **27а,б** выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой (3×5 мл), растворяют в хлороформе (50 мл), промывают 5% раствором NaHCO₃ (3×10 мл) и водой (5×20 мл). Органическую фазу сушат над MgSO₄, упаривают досуха, остаток перекристаллизовывают из смеси вода–этанол 2:1 (**27а**) или 1:1 (**27б**). В случае соединения **27с** продукт экстрагируют хлороформом (4×20 мл), объединенные органические фракции промывают 5% раствором NaHCO₃ (3×10 мл) и водой (5×20 мл), сушат над MgSO₄, упаривают досуха и остаток перекристаллизовывают из смеси вода–этанол 2:1,5.

1-[6-(Пурин-6-иламино)гексаноил]аминоадамantan

(**27а**): выход 0,47 г (62 %), белый порошок, т. пл. 200–201

°С. ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 1,22–1,32 (м, 2H, C(4)H₂); 1,47 (кв, $J = 7,4$ Гц, 2H, C(3)H₂); 1,53–1,62 (м, 8H, C(5)H₂, адамантан); 1,84–1,88 (м, 6H, адамантан); 1,95

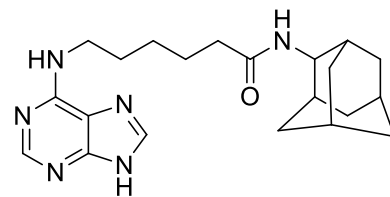


(уш.с, 3H, адамантан); 1,99 (т, $J = 7,4$ Гц, 2H, CH₂CO); 3,44 (уш.с, 2H, NHCH₂); 7,17 (с, 1H, NH-адамantan); 7,59 (уш.с, 1H, NH); 8,05 (с, 1H, H-8 пурин); 8,17 (уш.с, 1H, H-2 пурин); 12,85 (уш.с, 1H, пурин NH). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 25,25; 25,92; 28,74 (3С); 29,00; 36,01 (3С); 36,06; 39,50 (перекрывается сигналом ДМСО); 40,96 (3С); 50,37; 118,74; 138,35; 149,29; 152,30; 154,46; 171,41. Найдено, %: С 64,79; Н 8,02; N 21,84. C₂₁H₃₀N₆O×0,3H₂O. Вычислено, %: С 65,02; Н 7,95; N 21,67.

2-[6-(Пурин-6-иламино)гексаноил]аминоадамantan

(**27б**): выход 0,50 г (65 %), белый порошок, т. пл. 215–216 °С. ^1H

ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 1,25–1,33 (м, 2H, C(4)H₂); 1,43 (уш.д, $J = 12,6$ Гц, 2H, адамантан); 1,52 (кв, $J = 7,5$ Гц,

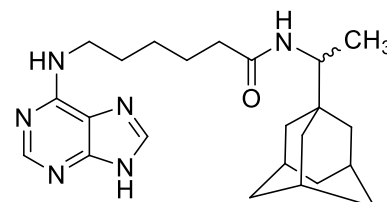


2H, C(3)H₂); 1,59 (кв, $J = 7,4$ Гц, 2H, C(5)H₂); 1,63–1,82 (м, 10H, адамантан); 1,93 (уш.д, $J = 12,7$ Гц, 2H, адамантан); 1,95 (уш.с, 1H, адамантан); 2,13 (т, $J = 7,3$ Гц, 2H, CH₂CO); 3,45

(уш.с, 2H, NHCH₂); 3,81 (уш.д, $J = 7,8$ Гц, 1H, адамантан); 7,58 (с, 1H, NH); 7,60 (с, 1H, NH); 8,06 (с, 1H, H-8 пурин); 8,16 (уш.с, H, H-2 пурин); 12,85 (уш.с, 1H, пурин NH). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 25,39; 26,02; 26,70 (2C); 28,98; 30,87 (2C); 31,46 (2C); 35,24; 36,83 (2C); 37,15; 39,50 (перекрывается сигналом ДМСО); 52,67; 118,59; 138,40; 149,39; 152,29; 154,48; 171,51. Найдено, %: С 65,81; Н 8,15; N 22,09. C₂₁H₃₀N₆O. Вычислено, %: С 65,94; Н 7,91; N 21,97.

1-[6-(Пурин-6-иламино)гексаноил]этиламиноадамантан

(27с): выход 0,45 г (55%), белый порошок, т. пл. 112–113 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 0,88 (д, $J = 7,0$ Гц, 3H, CH₃); 1,27–1,35 (м, 2H, C(4)H₂); 1,38–1,48 (м, 6H, адамантан); 1,50–1,66 (м, 10H, C(3)H₂, C(5)H₂, адамантан); 1,90 (уш.с, 3H, адамантан); 2,02–2,14 (м, 2H, CH₂CO); 3,45 (уш.с, 2H, NHCH₂); 3,50 (дк, $J = 9,5$ и 7,0 Гц, 1H, NHCH(CH₃)); 7,34 (д, $J = 9,5$ Гц, 1H, NHCO); 7,56 (уш.с, 1H, NHCH₂); 8,06 (с, 1H, H-8 пурин); 8,16 (уш.с, 1H, H-2 пурин); 11,99 (уш.с, 1H, пурин NH). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 14,17; 25,36; 26,09; 27,72 (3C); 28,97; 35,41; 35,45; 36,61 (3C); 37,93 (3C); 40,00 (перекрывается сигналом ДМСО); 51,67; 118,02; 138,69; 150,09; 152,28; 154,07; 171,31. Найдено, %: С 65,56; Н 8,61; N 19,59. C₂₃H₃₄N₆O×0,6H₂O. Вычислено, %: С 65,56; Н 8,42; N 19,94.



Получение соединений 29а-d. Общая методика. Раствор хлорангирида **19е** (2,1 г; 7,51 ммоль) в CH₂Cl₂ (20 мл) добавляют к раствору соответствующего амина **4, 5а-с** (7,51 ммоль) и *N,N*-диэтиланилина (1,2 мл; 7,51 ммоль) в CH₂Cl₂ (20 мл). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 48 ч, затем промывают 4 н. HCl (3×5 мл), насыщенным раствором NaCl (5×10 мл), 5 % раствором NaHCO₃ (3×10 мл) и водой (3×10 мл). Органический слой сушат над MgSO₄, упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент гексан–EtOAc 1:1 или бензол–EtOAc 9:1).

2-[6-(10,11-Дигидро-5H-добензо[*b,f*]азепин-5-ил)-6-

оксогексил]-1H-изоиндол-1,3(2H)-дион (29а):

выход 1,71 г (52%), светло-желтый порошок,

т. пл. 123–124 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.):

1,16–1,23 (м, 2H, C(4)H₂); 1,47–1,55 (м, 4H, C(3)H₂,

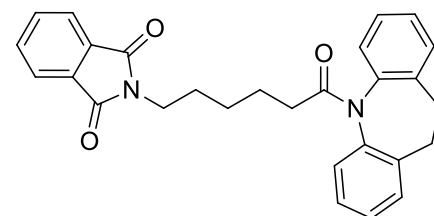
C(5)H₂); 1,99 (дт, $J = 15,1$ и 7,5 Гц, 1H, CH_AH_BCO); 2,31 (дт, $J = 15,1$ и 7,5 Гц, 1H, CH_AH_BCO);

2,70–2,82 (м, 2H, CH₂Ar); 3,16–3,28 (м, 2H, CH₂Ar); 3,52 (т, $J = 7,0$ Гц, 2H; NCH₂); 7,18 (с, 4H,

H Ar); 7,22–7,32 (м, 4H, H Ar); 7,82–7,88 (м, 4H, Phth). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.):

24,03; 25,86; 27,71; 29,53; 30,06; 33,06; 37,22; 122,96 (2C); 126,14; 127,11; 127,19; 127,81;

128,33; 128,69; 130,00; 130,25; 131,55 (2C); 134,34 (3C); 134,73; 140,69; 141,75; 167,89 (2 C);

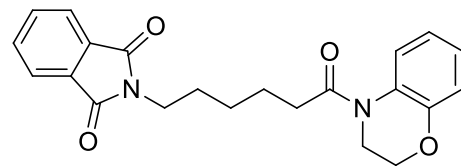


171,48. Найдено, %: С 76,44; Н 6,05; N 6,36. $C_{28}H_{26}N_2O_3$. Вычислено, %: С 76,69; Н 5,98; N 6,39.

2-[6-(2,3-Дигидро-4H-1,4-бензоксазин-4-ил)-6-оксогексил]-1H-изоиндол-1,3(2H)-дион

(29b): выход 1,45 г (51%), бесцветный порошок, т. пл.

105–106 °С. 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 1,23–1,34 (м, 2H, C(4)H₂); 1,53–1,65 (м, 4H, C(3)H₂, C(5)H₂);



2,55 (т, $J = 7,3$ Гц, 2H, CH₂CO, перекрывается сигналом

ДМСО- d_6); 3,56 (т, $J = 7,1$ Гц, 2H, CH₂N); 3,83 (т, $J = 4,7$ Гц, 2H, CH₂O); 4,22 (т, $J = 4,5$ Гц,

2H, CH₂NCO); 6,81–6,88 (м, 2H, Ar); 6,98–7,07 (м, 2H, Ar); 7,81–7,89 (м, 4H, Phth). ^{13}C ЯМР

(125 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 24,26; 25,79; 27,71; 33,33; 37,22; 40,03 (перекрывается

сигналом ДМСО- d_6); 66,05; 116,66; 119,60; 122,90 (2C); 124,07; 125,15; 126,22; 131,53 (2C);

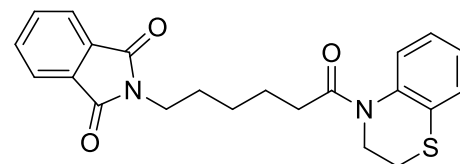
134,28 (2C); 146,22; 167,86 (2C); 170,94. Найдено, %: С 69,47; Н 5,90; N 7,35. $C_{22}H_{22}N_2O_4$.

Вычислено, %: С 69,83; Н 5,86; N 7,40.

2-[6-(2,3-Дигидро-4H-1,4-бензотиазин-4-ил)-6-оксогексил]-1H-изоиндол-1,3(2H)-дион

(29c): выход 2,07 г (70%), бесцветный порошок, т. пл.

127–128 °С. 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , 100 °С), δ



(м.д.): 1,22–1,28 (м, 2H, C(4)H₂); 1,50–1,58 (м, 4H, C(3)H₂,

C(5)H₂); 2,38 (т, $J = 7,3$ Гц, 2H, CH₂CO); 3,15 (т, $J = 5,9$ Гц,

2H, тиоморфолин); 3,54 (т, $J = 7,1$ Гц, 2H, CH₂N); 3,83 (т, $J = 5,9$, 2H, тиоморфолин); 7,07–

7,12 (м, 2H, Ar); 7,18–7,22 (м, 1H, Ar); 7,25–7,29 (м, 1H, Ar); 7,78–7,83 (м, 4H, Phth). ^{13}C ЯМР

(125 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 24,40; 25,69; 27,69; 28,11; 32,97; 37,21; 41,03; 122,95 (2C);

124,34; 126,26; 126,75; 126,83; 128,29; 131,57 (2C); 134,32 (2C); 137,76; 167,88 (2C); 171,34.

Найдено, %: С 67,22; Н 5,41; N 7,04; S 7,97. $C_{22}H_{22}N_2O_3S$. Вычислено, %: С 66,98; Н 5,62; N

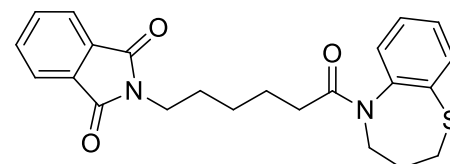
7,10; S 8,13.

2-[6-(2,3-Дигидро-4H-1,4-бензотиазепин-4-ил)-6-

оксогексил]-1H-изоиндол-1,3(2H)-дион (29d): выход

2,27 г (74%), бесцветный порошок, т. пл. 119–120 °С. 1H

ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.): 1,13 (кв, $J = 7,3$ Гц,



2H, C(4)H₂); 1,36–1,50 (м, 4H, C(3)H₂, C(5)H₂); 1,61–1,71 (м, 1H, CH_AH_BCO); 1,88–2,02 (м, 3H,

CH_AH_BCO, SCH₂); 2,54–2,68 (м, 2H, SCH₂CH₂); 2,79 (дт, $J = 14,0$ и 3,8 Гц, 1H, NCH_AH_B); 3,49

(т, $J = 6,9$ Гц, 2H, NCH₂); 4,50 (дт, $J = 13,7$ и 3,6 Гц, 1H, NCH_AH_B); 7,25–7,32 (м, 1H, Ar); 7,35–

7,40 (м, 2H, Ar); 7,58–7,64 (м, 1H, Ar); 7,80–7,89 (м, 4H, Phth). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО- d_6),

δ (м.д.): 23,97; 25,80; 27,66; 29,19; 31,79; 33,31; 37,21; 39,40 (перекрывается сигналом

ДМСО); 46,04; 122,93 (2C); 128,24; 129,12; 129,17; 131,56 (2C); 133,28; 134,30; 135,05; 146,09;

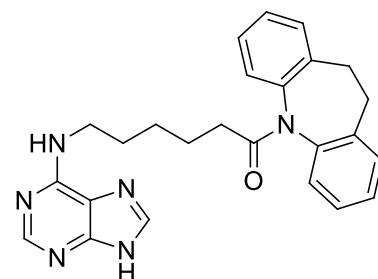
167,84 (2C); 170,46. Найдено, %: С 67,49; Н 5,76; N 6,73; S 7,67. $C_{23}H_{24}N_2O_3S$. Вычислено, %:

C 67,62; H 5,92; N 6,86; S 7,85.

Получение соединений 28a-d. Общая методика. К раствору соединения **29a-d** (3,91 ммоль) в этаноле (14 мл) добавляют гидразингидрат (343 мкл; 7,04 ммоль). Реакционную смесь кипятят в течение 2 ч, затем упаривают досуха. К остатку добавляют 2 н. HCl (14 мл), выдерживают в течение 12 ч при 5 °С. Осадок отфильтровывают. К фильтрату добавляют NaOH до pH 9, затем экстрагируют CHCl₃ (3×20 мл). Органический слой сушат над MgSO₄, упаривают досуха. Остаток растворяют в *n*-бутаноле (8 мл), полученный раствор добавляют к раствору 6-хлорпурина (**13**) (0,60 г; 3,91 ммоль) и триэтиламина (0,88 мл, 6,31 ммоль) в *n*-бутаноле (8 мл). Реакционную смесь выдерживают в течение 10 ч при 90 °С, затем добавляют 9 мл *n*-бутанола. Раствор последовательно промывают 1 н. HCl (3×5 мл), насыщенным раствором NaCl (5×10 мл) и водой (3×10 мл), упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент CHCl₃-EtOH).

1-(10,11-Дигидро-5H-дibenзо[*b,f*]азепин-5-ил)-6-[(9H-

пурин-6-ил)амино]гексан-1-она гидрат (28a): выход 0,92 г (58%), светло-желтый порошок, т. пл. 111–112 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,22–1,29 (м, 2H, C(4)H₂); 1,48–1,56 (м, 4H, C(3)H₂, C(5)H₂); 1,98–2,04 (м, 1H, CH_AH_BCO); 2,28–2,35 (м, 1H, CH_AH_BCO); 2,70–2,79 (м, 2H, дибензоазепин

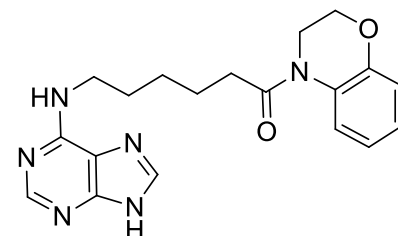


CH₂); 3,17–3,26 (м, 2H, дибензоазепин CH₂); 3,43 (уш.с, 2H, NCH₂); 7,16–7,38 (м, 8H, Ar); 7,64 (уш.с, 1H, NH); 8,10 (с, 1H, H-8 пурин); 8,18 (с, 1H, H-2 пурин); 12,90 (с, 1H, пурин NH). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 24,21; 25,98; 28,91; 29,49; 30,05; 33,16; 39,50 (перекрывается сигналом ДМСО-*d*₆); 117,73; 126,09; 127,05; 127,13; 127,77; 128,27; 128,68; 129,93; 130,21; 134,69; 136,84; 138,86; 140,68; 141,77; 150,22; 152,10; 153,95; 171,54. Найдено, %: C 67,75; H 6,19; N 19,04. C₂₅H₂₆N₆O×H₂O. Вычислено, %: C 67,55; H 6,35; N 18,91.

1-(2,3-Дигидро-4H-1,4-бензоксазин-4-ил)-6-[(9H-пурин-6-ил)амино]гексан-1-он (28b):

выход 0,52 г (33%), бесцветный порошок, т. пл. 80–81 °С.

¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,32–1,43 (м, 2H, C(4)H₂); 1,56–1,67 (м, 4H, C(3)H₂, C(5)H₂); 2,57 (т, *J* = 7,2 Гц, 2H, CH₂CO); 3,53 (уш.с, 2H, CH₂NH, перекрывается сигналом H₂O); 3,85 (т, *J* = 4,7 Гц, 2H, бензоксазин); 4,22 (т, *J* = 4,4 Гц,

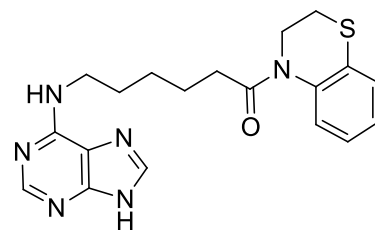


2H, бензоксазин); 6,82–6,89 (м, 2H, Ar); 6,99–7,05 (м, 1H, Ar); 7,76 (уш.с, 1H, NH); 8,33 (с, 1H, H-8 пурин); 8,41 (с, 1H, H-2 пурин); 8,83 (уш.с, 1H, Ar); 13,61 (уш.с, 1H, пурин NH). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 24,49; 25,98; 28,94; 33,47; 39,50 (перекрывается сигналом ДМСО-*d*₆); 41,47; 66,11; 116,69; 118,65; 119,62; 124,12; 125,20; 126,28; 138,40; 146,25; 149,34; 152,33; 154,47; 171,09. HRMS, *m/z*: 367,1878 [M+H]⁺ (вычислено для [C₁₉H₂₃N₆O₂]⁺ *m/z*:

367,1877).

1-(2,3-Дигидро-4H-1,4-бензотиазин-4-ил)-6-[(9H-пурин-6-

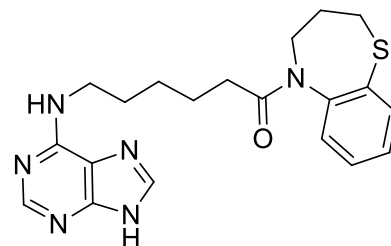
ил)амино]гексан-1-он (28с): выход 0,88 г (62%), бесцветный порошок, т. пл. 150–151 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С) δ (м.д.): 1,29–1,35 (м, 2H, C(4)H₂); 1,52–1,59 (м, 4H, C(3)H₂, C(5)H₂); 2,40 (т, *J* = 7,3 Гц, 2H, CH₂CO); 3,16 (т, *J* = 5,9 Гц, 2H, CH₂S); 3,54 (т, *J* = 6,5 Гц, 2H, NHCH₂); 3,85 (т, *J* = 5,9



Гц; 2H, NCH₂); 7,07–7,12 (м, 2H, Ar); 7,19–7,29 (м, 3H, Ar, NH); 8,02 (с, 1H, H-8 пурин); 8,18 (с, 1H, H-2 пурин), 12,93 (уш.с, 1H, пурин NH). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 24,57; 25,84; 28,12; 28,85; 33,08; 39,50 (перекрывается сигналом ДМСО-*d*₆); 41,14; 118,64; 124,30; 126,16; 126,72; 126,82; 128,43; 137,78; 138,45; 149,37; 152,29; 154,39; 171,42. Найдено, %: С 59,56; Н 5,96; N 21,72; S 8,47. C₁₉H₂₂N₆OS. Вычислено, %: С 59,66; Н 5,80; N 21,97; S 8,38.

6-((9H-Пурин-6-ил)амино-(3,4-дигидробензо[*b*][1,4]тиазепин-5(2H)-ил)гексан-1-он (28d):

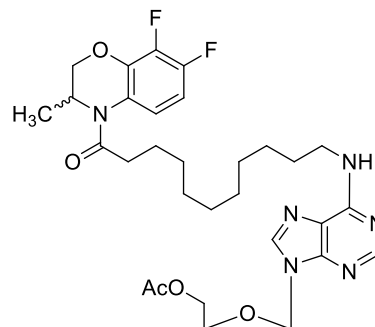
выход 0,62 г (40%), бесцветный порошок, т. пл. 87–88 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,14–1,22 (м, 2H, C(4)H₂); 1,41–1,49 (м, 4H, C(3)H₂, C(5)H₂); 1,67 (дт, *J* = 15,7 и 7,6 Гц, 1H, CH_AH_BCO); 1,90–2,05 (м, 3H, CH_AH_BCO, бензотиазепин CH₂); 2,56–2,68 (м, 2H, бензотиазепин CH₂); 2,87 (дт, *J* = 14,2 и 3,8 Гц, 1 H, бензотиазепин NCH_AH_B); 3,40 (уш.с, 1H,



NHCH₂, перекрывается сигналом H₂O); 4,52 (дт, *J* = 13,7 и 3,8 Гц, 1H, бензотиазепин NCH_AH_B); 7,27–7,31 (м, 1H, Ar); 7,35–7,38 (м, 2H, Ar); 7,55 (уш.с, 1H, NH); 7,60–7,64 (м, 1H, Ar); 8,07 (с, 1H, H-8 пурин); 8,16 (уш.с, 1H, H-2 пурин), 12,87 (уш.с, 1H, пурин NH). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 24,19; 25,97; 28,84; 29,14; 31,77; 33,42; 39,50 (перекрывается сигналом ДМСО); 46,02; 118,59; 128,20; 129,10 (2C); 133,23; 135,08; 138,39; 146,08; 149,19; 152,28; 154,43; 170,58. Найдено, %: С 60,55; Н 6,42; N 20,95; S 7,93. C₂₀H₂₄N₆OS. Вычислено, %: С 60,58; Н 6,10; N 21,20; S 8,00.

(*RS*)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[11-(9-((2-ацетоксиэтокси)метил)пурин-6-ил)ундеканонил]-7,8-

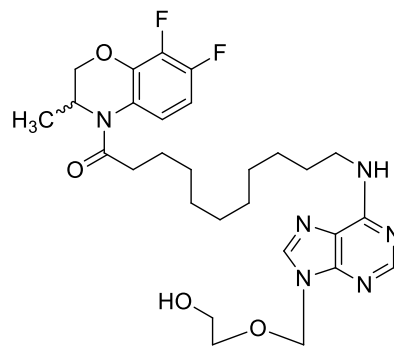
дифтор-2H-[1,4]бензоксазин (30). К раствору соединения **20j** (1,25 г; 2,51 ммоль) в этаноле (25 мл) добавляют гидразингидрат (0,22 мл; 4,52 ммоль). Реакционную смесь кипятят в течение 2 ч, затем упаривают досуха. К остатку добавляют Et₂O (15 мл) и выдерживают 12 ч при –16 °С, образовавшийся осадок отфильтровывают, фильтрат упаривают досуха. Остаток растворяют в *n*-бутаноле (10 мл), полученный раствор добавляют к раствору соединения **15** (0,27 г; 1,00



ммоль) и триэтиламина (0,42 мл; 3,00 ммоль) в *n*-бутаноле (10 мл). Реакционную смесь кипятят в течение 6 ч, охлаждают до комнатной температуры, промывают 1 н. HCl (3×10 мл), насыщенным раствором NaCl (3×15 мл), водой (10 мл) и упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент CHCl₃–EtOH 98:2). Выход 0,35 г (58%), бесцветное масло. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,10 (д, *J* = 6,8 Гц, 3H, Me); 1,26 (уш.с, 8H, (CH₂)₄); 1,29–1,36 (м, 4H, CH₂(CH₂)₄CH₂); 1,55–1,65 (м, 4H, CH₂(CH₂)₆CH₂); 1,91 (с, 3H, CH₃CO); 2,43–2,49 (м, 1H, CH_AH_BCO, частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,54–2,60 (м, 1H, CH_AH_BCO); 3,56–3,60 (м, 2H, NCH₂); 3,74 (дд, *J* = 5,0 и 4,7 Гц, 2H, OCH₂); 4,08 (дд, *J* = 6,0 и 4,7 Гц, 2H, CH₂OAc); 4,13 (дд, *J* = 11,0 и 2,9 Гц, 1H, H-2A); 4,33 (дд, *J* = 11,0 и 1,5 Гц, 1H, H-2B); 4,71–4,76 (м, 1H, H-3); 5,56 (с, 2H, NCH₂O), 6,85 (тд, *J* = 9,8 и 8,3 Гц, 1H, H-6); 7,17–7,22 (м, 1H, NH); 7,55 (ддд, *J* = 9,3, 5,6 и 2,6 Гц, 1H, H-5); 8,14 (уш.с, 1H, пурин H-8); 8,19 (с, 1H, пурин H-2). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,98 (ддд, *J* = 20,5, 8,0 и 2,0 Гц, 1F, F-8); 20,04–20,14 (м, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 15,10; 20,43; 24,61; 26,33; 28,49; 28,72; 28,74; 28,81; 28,89; 29,00 (уш.с); 33,40; 40,00 (перекрывается сигналом ДМСО); 44,65 (уш.с); 62,70; 66,86; 69,86; 71,94; 106,77 (д, *J* = 17,9 Гц); 118,75; 119,25; 121,82; 135,69 (д, *J* = 8,5 Гц); 138,92 (дд, *J* = 243, 15,5 Гц); 140,70; 146,48 (д, *J* = 244 Гц); 148,87 (уш.с); 152,87; 154,55; 170,12; 171,01. Найдено, %: C 60,02; H 7,00; F 6,55; N 13,64. C₃₀H₄₀F₂N₆O₅. Вычислено, %: C 59,79; H 6,69; F 6,30; N 13,94.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[11-(9-((2-гидроксиэтокси)метил)пурин-6-ил)ундеканонил]-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин (31). К раствору

соединения **30** (0,21 г; 0,35 ммоль) в этаноле (4 мл) добавляют 1 н. NaOH (1,8 мл). Реакционную смесь перемешивают в течение 24 ч при комнатной температуре, нейтрализуют 4 н. HCl до pH 6 и упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент CHCl₃–EtOH 95:5). Выход 0,16 г (82%), бесцветное масло.



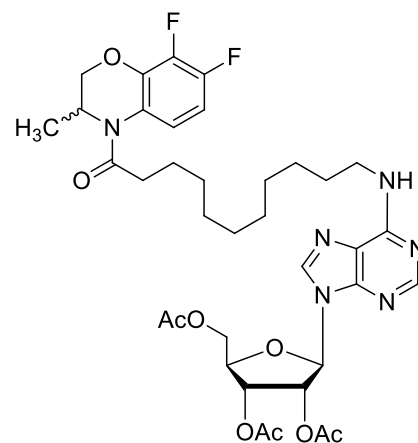
¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,12 (д, *J* = 6,8 Гц, 3H, Me); 1,26 (уш.с, 8H, (CH₂)₄); 1,29–1,36 (м, 4H, CH₂(CH₂)₄CH₂); 1,55–1,65 (м, 4H, CH₂(CH₂)₆CH₂); 2,43–2,49 (м, 1H, CH_AH_BCO, частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,54–2,60 (м, 1H, CH_AH_BCO); 3,48–3,50 (м, 2H, NCH₂); 3,55–3,60 (м, 4H, HO(CH₂)₂O); 4,13 (дд, *J* = 10,9 и 2,9 Гц, 1H, H-2A); 4,25 (уш.с, 1H, OH); 4,33 (дд, *J* = 10,9 и 1,4 Гц, 1H, H-2B); 4,71–4,76 (м, 1H, H-3); 5,55 (с, 2H, NCH₂O), 6,84 (тд, *J* = 9,8 и 8,3 Гц, 1H, H-6); 7,17 (уш.т, *J* = 5,6 Гц, 1H, NH); 7,55 (ддд, *J* = 7,9, 5,4 и 2,4 Гц, 1H, H-5); 8,13 (уш.с, 1H, пурин H-8); 8,19 (с, 1H, пурин H-2). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,98 (ддд, *J* = 21,0, 8,0 и 2,0 Гц, 1F, F-8); 20,06–20,13 (м, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 15,09; 24,68; 26,35; 28,48; 28,71; 28,73; 28,81; 28,89;

29,00 (уш.с); 33,40; 40,00 (перекрывается сигналом ДМСО); 44,65 (уш.с); 59,85; 69,86; 70,69; 72,15; 106,77 (д, $J = 18,0$ Гц); 118,77 (уш.с); 119,27; 121,81; 135,68 (дд, $J = 10,0, 2,5$ Гц); 138,91 (дд, $J = 244, 15,5$ Гц); 140,71; 146,50 (д, $J = 244$ Гц); 148,86 (уш.с); 152,80; 154,52; 171,00. HRMS, m/z : 561,2999 $[M+H]^+$ (вычислено для $[C_{28}H_{39}F_2N_6O_4]^+$ m/z : 561,2995).

(*RS*)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[11-(9-(2',3',5'-три-*O*-ацетил- β -*D*-рибофуранозил))пурин-6-ил]ундеcanoил]-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазин (34a). К

раствору соединения **20j** (0,63 г; 1,23 ммоль) в этаноле (15 мл) добавляют гидразингидрат (110 мкл, 2,21 ммоль).

Реакционную смесь кипятят в течение 2 ч, затем упаривают досуха. К остатку добавляют Et₂O (15 мл) и выдерживают 12 ч при -16 °С, образовавшийся осадок отфильтровывают, фильтрат упаривают досуха. Остаток растворяют в *n*-бутаноле (10 мл), полученный раствор добавляют к раствору соединения **17** (0,34 г; 0,82 ммоль) и триэтиламина

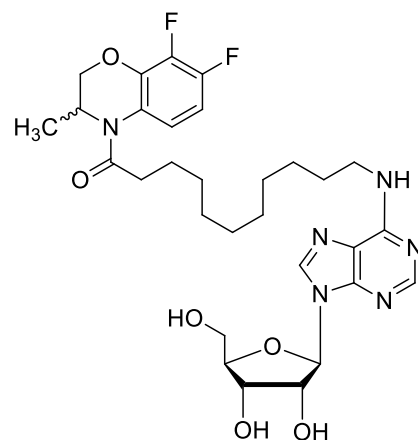


(195 мкл; 1,40 ммоль) в *n*-бутаноле (10 мл). Реакционную смесь перемешивают в течение 6 ч при температуре 75–80 °С, охлаждают до комнатной температуры, промывают 0,5 н. HCl (1×10 мл), насыщенным раствором NaCl (4×20 мл), водой (2×20 мл) и упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (CHCl₃). Выход 0,31 г (49%), светло-бежевый порошок, т. пл. 75–76 °С. ВЭЖХ ((*S,S*)-Whelk-O1, MeOH–H₂O 8:2, 0,8 мл/мин, 280 нм): τ_1 32,7 мин, τ_2 47,1 мин. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,12 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H, Me); 1,25 (уш.с, 8H, (CH₂)₄); 1,26–1,36 (м, 4H, CH₂(CH₂)₄CH₂); 1,54–1,65 (м, 4H, CH₂(CH₂)₆CH₂); 1,71 (с, 3H, Ac); 1,99 (с, 3H, Ac); 2,19 (с, 3H, Ac); 2,42–2,49 (м, 1H, CH_AH_BCO, частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,54–2,61 (м, 1H, CH_AH_BCO); 3,52–3,59 (м, 2H, NCH₂); 3,95 (т, $J = 10,9$ Гц, 1H, H-5'В); 4,01 (ддд, $J = 11,5; 5,2$ и $0,7$ Гц, 1H, H-5'А); 4,13 (дд, $J = 11,0$ и $3,0$ Гц, 1H, H-2А); 4,33 (дд, $J = 11,0$ и $1,5$ Гц, 1H, H-2В); 4,74 (кдд, $J = 6,7; 3,0$ и $1,5$ Гц, 1H, H-3); 5,19 (ддд, $J = 10,7, 5,7$ и $2,8$ Гц, 1H, H-4'); 5,75 (тд, $J = 2,7$ и $0,5$ Гц, 1H, H-3'); 5,87 (дд, $J = 9,5$ и $3,0$ Гц, 1H, H-2'); 5,95 (д, $J = 9,5$ Гц, 2H, H-1'); 6,84 (ддд, $J = 9,8; 9,8$ и $8,3$ Гц, 1H, H-6); 7,24 (уш.т, $J = 6,4$ Гц, 1H, NH); 7,55 (ддд, $J = 9,3; 5,5$ и $2,6$ Гц, 1H, H-5); 8,18 (с, 1H, пурин Н-8); 8,24 (с, 1H, пурин Н-2). ¹⁹F ЯМР (376 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,98 (ддд, $J = 21,2; 8,1$ и $2,2$ Гц, 1F, F-8); 20,03–20,15 (м, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 15,09; 19,96; 20,36; 20,40; 24,60; 26,35; 28,48; 28,69; 28,72; 28,80; 28,87; 29,00 (уш.с); 33,39; 40,00 (перекрывается сигналом ДМСО); 44,72 (уш.с); 62,64; 65,65; 67,39; 67,46; 69,85; 77,66; 106,76 (д, $J = 17,9$ Гц); 118,80 (уш.с); 119,26; 121,81; 135,69 (дд, $J = 9,5$ и $1,9$ Гц); 138,92 (дд, $J = 243$ и $15,5$ Гц); 138,95; 146,47 (д, $J = 241$ Гц); 148,61; 152,86; 154,48;

168,59; 169,22; 169,83; 171,00. Найдено, %: С 57,88; Н 5,91; F 4,90; N 11,00. $C_{36}H_{46}F_2N_6O_9$. Вычислено, %: С 58,06; Н 6,23; F 5,10; N 11,28.

(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[11-(9-(β-D-рибофуранозил))пурин-6-ил]ундеcanoил]-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин (33a). К раствору соединения

34a (0,31 г; 0,42 ммоль) в MeOH (15 мл) при охлаждении (0 °C) добавляют K_2CO_3 (0,17 г; 1,25 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 12 ч при комнатной температуре и упаривают досуха. Остаток растворяют в $CHCl_3$ (200 мл), промывают водой (3×30 мл). Органический слой сушат над $MgSO_4$, упаривают досуха. Остаток обрабатывают Et_2O (10 мл), выдерживают при -16 °C, образовавшийся осадок отфильтровывают, промывают



охлажденным Et_2O (3×1 мл). Выход 0,16 г (63%), светло-бежевый порошок, т. пл. 92–93 °C. ВЭЖХ ((S,S)-Whelk-O1, MeOH– H_2O 85:15, 0,8 мл/мин, 280 нм): τ_1 14,3 мин, τ_2 19,6 мин. 1H ЯМР (500 МГц, $DMCO-d_6$, 100 °C), δ (м.д.): 1,12 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H, Me); 1,26 (уш.с, 8H, $(CH_2)_4$); 1,27–1,36 (м, 4H, $CH_2(CH_2)_4CH_2$); 1,53–1,64 (м, 4H, $CH_2(CH_2)_6CH_2$); 2,42–2,49 (м, 1H, CH_AH_BCO , частичное перекрытие сигналом $DMCO$); 2,54–2,61 (м, 1H, CH_AH_BCO); 3,54–3,60 (м, 2H, NCH_2); 3,60–3,63 (м, 1H, H-5'В); 3,69 (т, $J = 10,4$ Гц, 1H, H-5'А); 3,76 (ддд, $J = 10,5, 5,3$ и $2,7$ Гц, H-4'); 4,08–4,10 (м, 1H, H-3'); 4,13 (дд, $J = 10,9$ и $2,9$ Гц, 1H, H-2А); 4,23 (дд, $J = 9,3$ и $2,8$ Гц, 1H, H-2'); 4,33 (дд, $J = 10,9$ и $1,6$ Гц, 1H, H-2В); 4,48 (уш.с, 1H, OH); 4,64 (уш.с, 2H, $2 \times OH$); 4,74 (кдд, $J = 6,8; 2,9$ и $1,5$ Гц, 1H, H-3); 5,65 (д, $J = 9,4$ Гц, 1H, H-1'); 6,81–6,88 (м, 1H, H-6); 7,24 (уш.т, $J = 6,0$ Гц, 1H, NH); 7,55 (ддд, $J = 9,5; 5,3$ и $2,5$ Гц, 1H, H-5); 8,12 (с, 1H, пурин H-8); 8,15 (с, 1H, пурин H-2). ^{19}F ЯМР (376 МГц, $DMCO-d_6$, 100 °C), δ (м.д.): 1,98 (ддд, $J = 21,1; 8,2$ и $2,5$ Гц, 1F, F-8); 20,04–20,14 (м, 1F, F-7). ^{13}C ЯМР (125 МГц, $DMCO-d_6$), δ (м.д.): 15,09; 24,61; 26,33; 28,49; 28,73 (2C); 28,81; 28,89; 29,06 (уш.с); 33,40; 40,00 (перекрывается сигналом $DMCO$); 44,72 (уш.с); 65,15; 66,68; 68,23; 69,86; 71,04; 79,63; 106,76 (д, $J = 17,9$ Гц); 119,00 (уш.с); 119,28; 121,82; 135,69 (дд, $J = 9,7, 2,7$ Гц); 138,92 (дд, $J = 243, 15,4$ Гц); 139,26; 146,47 (д, $J = 243$ Гц); 149,15; 152,46; 154,51; 171,01. Найдено, %: С 56,14; Н 6,56; F 5,61; N 12,74. $C_{30}H_{40}F_2N_6O_5$. Вычислено, %: С 56,59; Н 6,65; F 5,97; N 13,20.

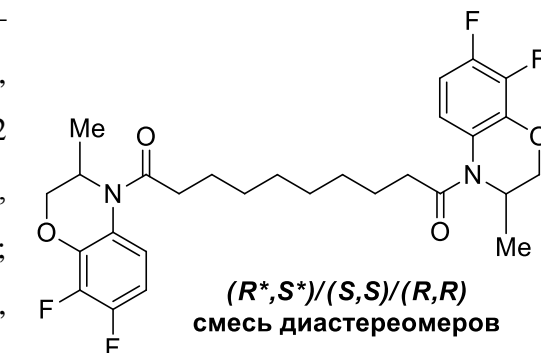
Синтез производных себациновой кислоты 35 (смесь диастереомеров) и (S,S)-35. Общая методика. К себациновой кислоте (**7**) (2,00 г; 9,89 ммоль) добавляют тионилхлорид (3,6 мл; 49,62 ммоль), реакционную смесь кипятят в течение 1 ч, затем упаривают досуха. Остаток растворяют CH_2Cl_2 (25 мл) и добавляют *N,N*-диэтиланилин (3,2 мл; 20,0 ммоль) и (RS)-**1** или (S)-**1** (3,60 г; 19,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 48 ч при комнатной

температуре, затем промывают 4 н. HCl (3×10 мл), насыщенным раствором NaCl (5×10 мл), 5% раствором NaHCO₃ (3×10 мл), водой (3×10 мл), сушат над MgSO₄ и упаривают досуха. Остаток перекристаллизовывают из смеси этанол–вода 2:1.

1,10-бис((7,8-Дифтор-3-метил-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)декан-1,10-дион (35):

выход 2,61 г (49%), бесцветный порошок, т. пл. 103–104 °С. ВЭЖХ ((*S,S*)-Whelk-O1, MeOH–H₂O 85:15, 0,8 мл/мин, 254 нм): $\tau_{(S,S)}$ 17,6 мин (27%), $\tau_{(R,S)}$ 24,2 мин (47%), $\tau_{(R,R)}$ 34,0 мин (26%). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,11 (д, *J* = 6,1 Гц, 6H, 2×Me); 1,27 (уш.с, 8H, (CH₂)₄); 1,49–1,60 (м, 4H, CH₂(CH₂)₄CH₂); 2,42–2,48 (м, 2H, 2×CH_AH_BCO);

2,60–2,66 (м, 2H, 2×CH_AH_BCO); 4,14 (уш.д, *J* = 10,0 Гц, 2H, 2×H-2B); 4,36 (д, *J* = 10,8 Гц, 2H, 2×H-2A); 4,71 (уш.с, 2H, 2×H-3); 6,92 (тд, *J* = 9,6 и 8,9 Гц, 2H, 2×H-6); 7,66 (уш.с, 2H, 2×H-5). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,86 (уш.с, 2F, F-8); 19,56 (уш.с, 2F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 15,08; 24,59; 28,46; 28,66; 33,40; 44,86 (уш.с); 69,85; 106,75 (д, *J* = 18,0 Гц); 119,25; 121,81, 135,69 (дд, *J* = 9,5 и 2,5 Гц); 138,92 (дд, *J* = 244 и 15,5 Гц); 146,48 (д, *J* = 244 Гц); 170,98. Найдено, %: C 62,47; H 6,01; F 14,03; N 5,25. C₂₈H₃₂F₄N₂O₄. Вычислено, %: C 62,68; H 6,01; F 14,16; N 5,22.



1,10-бис((7,8-Дифтор-3-метил-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)декан-1,10-дион

((*S,S*)-**35**): выход 2,87 г (54%), желтоватый

порошок, т. пл. 41–42 °С. ВЭЖХ ((*S,S*)-Whelk-O1,

MeOH–H₂O 85:15, 0,8 мл/мин, 254 нм): $\tau_{(S,S)}$ 17,3

мин. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 1,11 (д,

J = 6,2 Гц, 6H, 2×Me); 1,27 (уш.с, 8H, (CH₂)₄); 1,51–

1,58 (м, 4H, CH₂(CH₂)₄CH₂); 2,42–2,48 (м, 2H,

2×CH_AH_BCO); 2,60–2,66 (м, 2H, 2×CH_AH_BCO); 4,14

(уш.д, *J* = 10,4 Гц, 2H, 2×H-2B); 4,36 (д, *J* = 10,8 Гц, 2H, 2×H-2A); 4,71 (уш.с, 2H, 2×H-3);

6,92 (тд, *J* = 9,4 и 9,0 Гц, 2H, 2×H-6); 7,65 (уш.с, 2H, 2×H-5). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆), δ

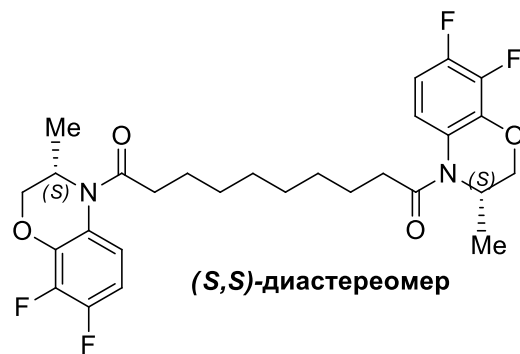
(м.д.): 1,86 (уш.с, 2F, F-8); 19,56 (уш.с, 2F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 15,09;

24,60; 28,47; 28,67; 33,40; 44,83 (уш.с); 69,85; 106,76 (д, *J* = 18,0 Гц); 119,26; 121,80, 135,68

(дд, *J* = 9,5 и 2,5 Гц); 138,92 (дд, *J* = 244 и 15,5 Гц); 146,48 (д, *J* = 244 Гц); 171,00. Найдено,

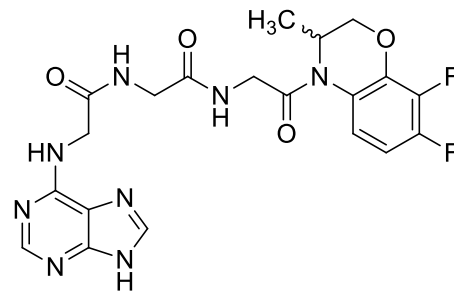
%: C 62,47; H 6,15; F 14,16; N 5,22. C₂₈H₃₂F₄N₂O₄. Вычислено, %: C 62,68; H 6,01; F 14,16; N

5,22.



(*RS*)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[*N*-(пурин-6-ил)глицилглицилглицил]-7,8-дифтор-2*H*-

[1,4]бензоксазин (36). К раствору соединения **20a** (0,93 г, 2,50 ммоль) в этаноле (25 мл) прибавляют гидразингидрат (220 мкл, 4,50 ммоль). Реакционную смесь кипятят 2 ч, затем упаривают досуха. К остатку прибавляют 2 н. HCl (25 мл), осадок отфильтровывают, промывают 1 н. HCl. К маточному раствору добавляют

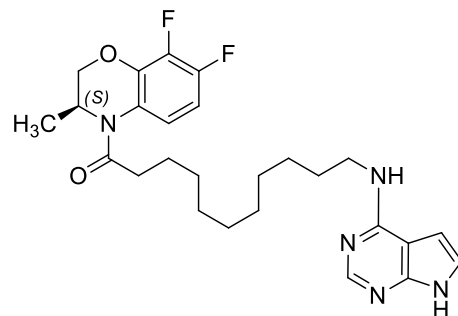


NaOH, затем 5% раствор NaHCO₃ до pH 9, экстрагируют хлороформом (3×5 мл), органический слой сушат над MgSO₄ и упаривают досуха. Остаток растворяют в ДМСО (15 мл), к раствору последовательно прибавляют соединение **14a** (0,63 г, 2,50 ммоль), DIPEA (435 мкл, 2,50 ммоль), HOBT (0,34 г, 2,50 ммоль) и DCC (0,52 г, 2,50 ммоль). Реакционную смесь перемешивают 48 ч при комнатной температуре; осадок отфильтровывают и промывают ДМСО (2×2 мл). Маточный раствор выливают в 150 мл ледяной воды, экстрагируют *n*-бутанолом (4×30 мл), органический слой промывают 5% раствором NaHCO₃ (3×25 мл), насыщенным раствором NaCl (3×25 мл) и упаривают досуха, остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (элюент этилацетат–метанол 75:25). Выход 0,42 г (35%), белый порошок, т. пл. 197-198 °С (разл). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,15 (д, *J* = 6,9 Гц, 3H, Me); 3,80 (д, *J* = 5,8 Гц, 2H, CH₂ Gly); 4,06 (дд, *J* = 16,5 и 5,5 Гц, 1H, CH_BCH_ACO); 4,18 (дд, *J* = 11,0 и 2,7 Гц, 1H, H-2B); 4,23 (д, *J* = 4,0 Гц, 2H, CH₂ Gly); 4,26 (дд, *J* = 16,5 и 5,5 Гц, 1H, CH_BCH_ACO); 4,33 (дд, *J* = 11,0 и 1,5 Гц, 1H, H-2A); 4,68 (кдд, *J* = 6,8; 2,7 и 1,5 Гц, 1H, H-3); 6,89 (ддд, *J* = 9,9; 9,9 и 8,2 Гц, 1H, H-6); 7,22 (уш. с, 1H, NH Gly); 7,62–7,68 (м, 1H, H-5); 7,80 (уш.с, 1H, NH Gly); 7,96 (уш.с, 1H, NH Gly); 8,03 (с, 1H, пурип H-8); 8,20 (с, 1H, пурип H-2); 12,50 (уш.с, 1H, пурип NH). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 2,20 (ддд, *J* = 20,9; 8,2 и 2,3 Гц, 1F, F-8), 20,61-20,69 (м, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 15,01; 41,49; 41,94; 43,30; 44,68; 69,60; 106,97 (д, *J* = 18,0 Гц); 118,90 (2C); 121,36; 135,76 (дд, *J* = 9,9 и 2,7 Гц); 138,91 (дд, *J* = 243 и 15,4 Гц); 139,03; 146,64 (д, *J* = 243 Гц); 149,60; 152,14; 154,22; 167,27; 169,13; 169,76. Найдено, %: C 50,61; H 4,31; F 7,71; N 22,80. C₂₀H₂₀F₂N₈O₄. Вычислено, %: C 50,63; H 4,25; F 8,01; N 23,62.

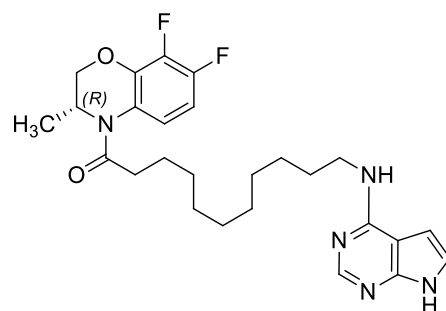
Получение энантиомеров (*S*)-37 и (*R*)-37. Общая методика. К раствору соединения (*S*)-**20j** или (*R*)-**20j** (0,84 г, 1,68 ммоль) в этаноле (20 мл) добавляют гидразингидрат (150 мкл, 3,02 ммоль). Реакционную смесь кипятят в течение 2 ч, затем упаривают досуха. К остатку добавляют Et₂O (15 мл) и выдерживают 12 ч при –16 °С, образовавшийся осадок отфильтровывают, фильтрат упаривают досуха. Остаток растворяют в *n*-бутаноле (5 мл), полученный раствор добавляют к раствору 6-хлор-7-дезапурина (**38**) (0,17 г, 1,12 ммоль) и триэтиламина (270 мкл, 1,91 ммоль) в *n*-бутаноле (5 мл). Реакционную смесь перемешивают

в течение 8 ч при температуре 90 °С, охлаждают до комнатной температуры, промывают 1 М HCl (3×5 мл), водой (5×10 мл) и упаривают досуха. Остаток очищают флеш-хроматографией на силикагеле (CHCl₃–EtOH 98:2).

(S)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[11-((7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)амино)ундеcanoил]-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин [(S)-37]: выход 0,22 г (41%), бежевый порошок, т. пл. 60–61 °С. $[\alpha]_D^{20} +32,1$ (с 0,5; ДМСО), *ee* > 99%, ВЭЖХ ((S,S)-Whelk-O1, MeOH–H₂O 85:15, 0,8 мл/мин, 254 нм): $\tau_{(S)}$ 12,1 мин. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,12 (д, *J* = 6,9 Гц, 3H, Me); 1,27 (уш.с, 8H, (CH₂)₄); 1,28–1,40 (м, 4H, CH₂(CH₂)₄CH₂); 1,54–1,65 (м, 4H, CH₂(CH₂)₆CH₂); 2,41–2,49 (м, 1H, CH_AH_BCO, частичное перекрывание сигналом ДМСО); 2,53–2,62 (м, 1H, CH_AH_BCO); 3,43–3,50 (м, 2H, NCH₂); 4,13 (дд, *J* = 11,0 и 2,8 Гц, 1H, H-2A); 4,33 (дд, *J* = 10,9 и 1,1 Гц, 1H, H-2B); 4,70–4,77 (м, 1H, H-3); 6,52 (д, *J* = 3,4 Гц, 1H, деазапурин H-6); 6,84 (ддд, *J* = 9,7, 9,7 и 8,4 Гц, 1H, H-6); 6,92 (уш.с, 1H, NH); 6,98 (д, *J* = 3,6 Гц, 1H, деазапурин H-5); 7,55 (ддд, *J* = 9,5, 5,6 и 2,6 Гц, 1H, H-5); 8,06 (с, 1H, деазапурин H-2); 11,09 (уш.с, 1H, деазапурин NH). ¹⁹F ЯМР (376 МГц, ДМСО-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,99 (ддд, *J* = 21,0, 8,3 и 2,4 Гц, 1F, F-8); 20,10 (ддд, *J* = 20,7, 10,2 и 5,6 Гц, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ (м.д.): 15,09; 24,61; 26,49; 28,49; 28,75; 28,78; 28,83; 28,90; 28,18; 33,40; 40,00 (перекрывается сигналом ДМСО); 44,77 (уш.с); 69,85; 98,64; 102,41; 106,76 (д, *J* = 17,9 Гц); 119,27; 120,58; 121,81; 135,67 (дд, *J* = 10,0 и 2,3 Гц); 138,92 (дд, *J* = 243 и 15,5 Гц); 146,47 (д, *J* = 238 Гц); 149,83; 151,01; 155,84; 171,00. Найдено, %: C 64,01; H 6,66; F 7,50; N 14,13. C₂₆H₃₃F₂N₅O₂. Вычислено, %: C 64,31; H 6,85; F 7,83; N 14,42.



Гидрат (R)-3,4-дигидро-3-метил-4-[11-((7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)амино)-ундеcanoил]-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазина [(R)-37]: выход 0,21 г (39%), бежевый порошок, т. пл. 68–69 °С. $[\alpha]_D^{20} -36,8$ (с 0,5; ДМСО), ВЭЖХ ((S,S)-Whelk-O1, MeOH–H₂O 85:15, 0,8 мл/мин, 254 нм): $\tau_{(R)}$ 16,6 мин, *ee* > 99%. ¹H, ¹⁹F, ¹³C ЯМР спектры идентичны спектрам соединения (S)-37. Найдено, %: C 62,00; H 6,84; F 7,61; N 13,64. C₂₈H₃₂F₄N₂O₄·H₂O. Вычислено, %: C 62,01; H 7,01; F 7,55; N 13,91.



(RS)-3,4-Дигидро-3-метил-4-[6-(6,7-диметоксихиназолин-4-иламино)гексаноил]-7,8-**дифтор-2H-[1,4]бензоксазин (40):** К раствору соединения **20e**

(1,32 г; 3,08 ммоль) в этаноле (30 мл) прибавляют гидразингидрат

(270 мкл; 0,28 г; 5,55 ммоль). Реакционную смесь кипятят 2 ч,

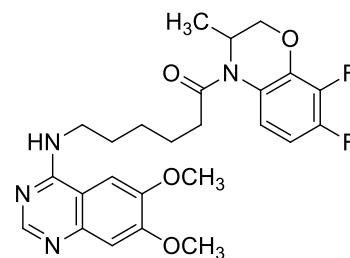
затем упаривают досуха. К остатку добавляют 2 н. HCl (30 мл),

выдерживают при 5 °С в течение 12 ч. Осадок отфильтровывают.

К фильтрату добавляют NaOH до pH 9, затем экстрагируют

CHCl₃ (3×20 мл). Органический слой сушат над MgSO₄, упаривают досуха. Остатокрастворяют *n*-бутаноле (5 мл), добавляют к раствору 4-хлор-6,7-диметоксихиназолина (**39**)(0,46 г; 2,06 ммоль) и триэтиламина (490 мкл; 3,50 ммоль) в *n*-бутаноле (5 мл). Реакционнуюсмесь перемешивают в течение 6 ч при 90 °С, затем добавляют 40 мл *n*-бутанола. Растворпоследовательно промывают 1 н. HCl (3×10 мл), H₂O (5×20 мл), упаривают досуха. Остаток

очищают перекристаллизацией из этанола. Выход 0,23 г (23%), светло-желтый порошок, т.

пл. 257–258 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 1,11 (д, *J* = 6,8 Гц, 3H, Me);1,30–1,49 (м, 4H, CH₂); 1,62–1,79 (м, 4H, CH₂CH₂CH₂); 2,46–2,58 (м, 1H, CH_AH_BCO,частичное перекрывание сигналом DMSO); 2,63 (дт, *J* = 15,6 и 7,2 Гц 1H, CH_AH_BCO); 3,66–3,73 (м, 2H, NCH₂); 3,96 (с, 3H, OMe); 3,97 (с, 3H, OMe); 4,12 (дд, *J* = 11,1 и 2,7 Гц, 1H, H-2B); 4,32 (дд, *J* = 10,9 и 1,5 Гц, 1H, H-2A); 4,74 (кдд, *J* = 6,8; 2,8 и 1,4 Гц, 1H, H-3); 6,84 (ддд,*J* = 10,0; 9,7 и 8,2 Гц, 1H, H-6); 7,31 (с, 1H, хиназолин H-8); 7,55 (ддд, *J* = 9,5; 5,4 и 2,5 Гц, 1H,H-5); 8,04 (с, 1H, хиназолин H-5); 8,63 (с, 1H, хиназолин H-2); 9,74 (уш.с, 1H, NH). ¹⁹F ЯМР(376 МГц, DMSO-*d*₆, 100 °С), δ (м.д.): 2,05 (ддд, *J* = 20,9; 8,0 и 2,5, 1F, F-8); 20,16 (ддд, *J* =20,8; 10,2 и 5,4, 1F, F-7). ¹³C ЯМР (125 МГц, DMSO-*d*₆), δ (м.д.): 15,09; 24,32; 25,86; 28,10;33,28; 41,21; 44,81; 56,23; 56,79; 69,85; 99,43; 104,04; 106,53; 106,74 (д, *J* = 17,9 Гц); 119,21;121,76; 133,91; 135,66 (д, *J* = 9,6 Гц); 138,89 (дд, *J* = 243 и 15,3 Гц); 146,47 (д, *J* = 245 Гц);148,64; 149,75; 155,66; 158,93; 170,88. HRMS, *m/z*: 487,2155 [M+H]⁺ (вычислено для[C₂₅H₂₉F₂N₄O₄]⁺ *m/z*: 487,2152).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработаны методы получения новых конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином, содержащие в качестве линкера остатки высших ω-аминокислот (с числом метиленовых звеньев более 5). Синтезирована большая группа конъюгатов пурина – аналогов соединения-лидера, в которых фрагмент 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина заменен на гетероциклические амины или производные адамантана. Впервые получены конъюгаты пурина, содержащие углеводные и псевдоуглеводные фрагменты в положении *N*⁹, а также производные 6,7-диметоксихиназолина и энантимерно чистые производные 7-дезапурина.

2. Разработаны подходы к получению энантимерно чистых конъюгатов пурина и его аналогов, предложены методы анализа их энантимерной чистоты.

3. Исследована реакция нуклеофильного замещения хлора в 6-хлорпурине, в ходе которой наблюдалось превращение 4-(3-аминопропаноил)-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина в соответствующий акрилат. Показана способность к взаимодействию акрилата с различными аминами.

4. Разработаны методы получения наиболее активных конъюгатов в мультиграммовых количествах для углубленного изучения их биологической активности, в том числе, в опытах на животных.

5. Изучена противовирусная в отношении вирусов герпеса и гриппа, антибактериальная и противоопухолевая активность полученных соединений. Установлено, что противогерпетическая активность новых конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином, содержащих в качестве линкера остаток ω-аминокислоты, существенно зависит от длины линкерного фрагмента: соединения с короткой и средней полиметиленовой цепью (1÷4, 6 метиленовых звеньев) не проявляют противогерпетической активности; конъюгаты с длинной полиметиленовой цепью (7 и более метиленовых звеньев) обладают высокой активностью в отношении ВПГ-1 (в том числе в отношении ацикловир-резистентного штамма), что в большинстве случаев сопровождается высокой цитотоксичностью. Показано, что синтезированные конъюгаты 7-дезапурина с энантимерно чистым 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином обладают высокой противогерпетической активностью, превосходящей активность соединения-лидера. Впервые установлена мишень противогерпетического действия соединения-лидера – большая субъединица терминазы ВПГ-1. С использованием методов молекулярного

моделирования определен возможный сайт связывания соединения-лидера с мишенью. Выявлены связи структуры и активности соединений в отношении вируса гриппа, обнаружено два высокоактивных конъюгата.

6. Впервые выявлена противоопухолевая активность полученных конъюгатов пурина. Показано, что наиболее активным в отношении большого ряда опухолевых клеточных линий является (*RS*)-3,4-дигидро-3-метил-4-[11-(пурин-6-иламино)ундеcanoил]-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазин. На основании исследований механизма его противоопухолевого действия установлено, что соединение является ингибитором биосинтеза ДНК.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Структурные модификации соединения-лидера могут быть продолжены в последующих исследованиях, нацеленных на поиск новых высокоэффективных соединений среди производных пурина и его аналогов. Выявленные связи «структура–активность» открывают возможности дальнейшей оптимизации структуры соединения-лидера с учетом новых данных. Обнаруженная мишень противогерпетического действия соединения-лидера, большая субъединица терминазы ВПГ, позволяет в дальнейшем проводить подбор структур активных производных на основе методов молекулярного моделирования.

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ

8505C	клеточная линия карциномы щитовидной железы
АТФ	аденозинтрифосфат
АХЭ	ацетилхолинэстераза
БА	болезнь Альцгеймера
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ВПГ-1	вирус простого герпеса типа 1
ВПГ-2	вирус простого герпеса типа 2
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
ДМСО	диметилсульфоксид
ДМФА	<i>N,N</i> -диметилформамид
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДЭА	<i>N,N</i> -диэтиланилин
ИД ₅₀	концентрация исследуемого соединения, при которой происходит ингибирование вирус-индуцированного цитопатического эффекта на 50%
МИК	минимальная ингибирующая концентрация
МЛУ	множественная лекарственная устойчивость
мРНК	матричная РНК
НАД	никотинамидадениндинуклеотид
ПЭТ	позитронно-эмиссионная томография
РМЖ	рак молочной железы
РНК	рибонуклеиновая кислота
РПЖ	рак предстательной железы
ТЭА	триэтиламин
ХТИ	химиотерапевтический индекс, вычисляемый как отношение ЦД ₅₀ /ИД ₅₀
ЦГПКК	циклогексанпероксикарбоновая кислота
ЦД ₅₀	концентрация исследуемого соединения, при которой происходит гибель 50% клеток
ЦПЭ	цитопатический эффект
ЯМР	ядерный магнитный резонанс
A253	клеточная линия плоскоклеточного рака слюнной железы
A549	клеточная линия рака легкого
A2780	клеточная линия эндометриоидной аденокарциномы яичников

Ac	ацетил
Ala	аланин
β -Ala	β -аланин
AR	альдегидредуктаза
B16	клеточная линия меланомы мышцы
Bn	бензил
Boc	<i>трет</i> -бутилоксикарбонил
Boc-ON	2-(<i>трет</i> -бутоксикарбонилоксиимино)-2-фенилацетонитрил
<i>i</i> -Bu	<i>изо</i> -бутил
<i>t</i> -Bu	<i>трет</i> -бутил
C26	клеточная линия колоректальной аденокарциномы мышцы
CatD	катепсин D
Cbz	карбоксибензил
CEM	клеточная линия Т-лимфобластов человека с острым лимфобластным лейкозом
Cers	церамиды
CIM	бис-((1-(карбоксиметил)-1 <i>H</i> -имидазол-2-ил)метил)амин
COMU	(1-циано-2-этокси-2-оксоэтилиденаминоокси)диметиламино-морфолино-карбения гексафторфосфат
DArg	D-аргинил
DBTG	8- <i>O</i> -дебутаноилтапсигаргин
DBU	1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен
DCC	<i>N,N'</i> -дициклогексилкарбодиимид
<i>de</i>	диастереомерный избыток
DIPEA	<i>N,N</i> -диизопропилэтиламин
DLD-1	клеточная линия аденокарциномы толстой кишки
DMAP	4-диметиламинопиридин
DMF	<i>N,N</i> -диметилформамид
DPPA	дифенилфорфорилазид
dRib	2'-дезоксид- β -D-рибофуранозил
DMAP	диметиламинопиридин
DMSO	диметилсульфоксид
DMTMM	4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2-ил)-4-метилморфолиния тетрафторборат
EDC	1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид
<i>ee</i>	энантиомерный избыток
ER	рецептор эстрогена

Et	этил
F5c	2,3,4,5,6-пентафторциннамоил
F5F	пентафтор-D-фенилаланил
Fmoc	фторфенилметилоксикарбонил
Gly	глицин
GRPR	гастрин-высвобождающие пептидные рецепторы
HATU	<i>O</i> -(7-азабензотриазол-1-ил)- <i>N,N,N',N'</i> -тетраметилурионий гексафторфосфат
HBTU	<i>O</i> -(бензотриазол-1-ил)- <i>N,N,N',N'</i> -тетраметилурионий гексафторфосфат
HDAC	гистондеацетилазы
HEL	клеточная линия острого эритроидного лейкоза
HeLa	клеточная линия рака шейки матки
HepG2	клеточная линия гепатобластомы
HMDS	гексаметилдисилазан
HOAt	1-гидрокси-7-азабензотриазол
HOBT	1-гидроксибензотриазол
HTLV-1	вирус Т-клеточной лимфомы взрослых
Igl	α -2-инданилглицил
Jeko-1	клеточная линия мантийноклеточной лимфомы
Jurkat	клеточная линия Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза
K562	клеточная линия хронического миелолейкоза
KBV	клеточная линия эпидермоидной карциномы полости рта с МЛУ
KM12	клеточная линия колоректальной карциномы
Lipo	клеточная линия недифференцированной липосаркомы
LNCaP	клеточная линия рака предстательной железы, PSMA-экспрессирующая
MCF-7	клеточная линия рака молочной железы, экспрессирующая рецепторы эстрогена и прогестерона
mCPBA	<i>m</i> -хлорнадбензойная кислота
MDA-MB-231	клеточная линия рака молочной железы, не экспрессирующая рецепторы эстрогена и прогестерона
Me	метил
mGAT	маннозил-гликопротеин- <i>N</i> -ацетил-глюкозаминил-трансферазы
MKN45	клеточная линия аденокарциномы желудка
MOLT-4	клеточная линия острого лимфобластного лейкоза
MT-4	клеточная линия Т-лимфоцитов человека, продуцирующая HTLV-1
MRSA	метициллинрезистентный золотистый стафилококк

MV4;11	клеточная линия В-миеломоноцитарного лейкоза
NADP ⁺	никотинамидадениндинуклеотидфосфат, окисленная форма
NADPH	никотинамидадениндинуклеотидфосфат, восстановленная форма
NBD	7-нитробенз-2-окса-1,3-диазол
NiH3T3	клеточная линия эмбриональных фибробластов мыши
NMDA	<i>N</i> -метил-D-аспартат
NMP	<i>N</i> -метилпирролидон
NOTA	2,2',2''-(1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триил)триуксусная кислота
Oic	октагидроиндол-2-карбоновая кислота
Охума	оксим этилцианоацетата
PC-3	клеточная линия рака предстательной железы, не чувствительная к андрогенам
PEPT	переносчики пептидов (peptide transporters)
PFF	<i>para</i> -фторфенилаланил
Ph	фенил
Phth	фталоил
Rib	β -D-рибофуранозил
PLP	пиридоксаль 5'-фосфат
PMP	пиридоксамин 5'-фосфат
<i>i</i> -Pr	<i>изо</i> -пропил
PSMA	простатспецифический мембранный антиген, глутаматкарбокси-пептидаза II
RS4;11	клеточная линия острого лимфобластного лейкоза
rt	комнатная температура
PyBOP	бензотриазол-1-илокситрипирролидинофосфония гексафторфосфат
SERCA	Ca ²⁺ -зависимые АТФазы саркоплазматического и эндоплазматического ретикулума
SK-MEL-2	клеточная линия меланомы
STAB	триацетоксиборгидрид натрия
SRB assays	метод оценки цитотоксичности соединений в тесте с сульфородамино В
sulfo-NHS	сульфо- <i>N</i> -гидроксисульфосукцинимид
TA	трансаминаза
TBTU	<i>O</i> -(бензотриазол-1-ил)- <i>N,N,N',N'</i> -тетраметилуроний тетрафторборат
TFA	трифторуксусная кислота
TFE	2,2,2-трифторэтанол
THF	тетрагидрофуран

Thr	треонин
TIM	бис-((1-(2-(бискарбоксиметил)амино)-2-оксоэтил)-1 <i>H</i> -имидазол-2-ил)метил)амин
TSU-Pr1	клеточная линия рака мочевого пузыря
TMSCl	триметилсилилхлорид
TMSI	триметилсилилийодид
TSTU	<i>N,N,N',N'</i> -тетраметил- <i>O</i> -(<i>N</i> -сукцинимидил)уроний тетрафторборат
U87	клеточная линия глиобластомы
VRE	ванкомицин-резистентные энтерококки

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rosemeyer, H. The Chemodiversity of Purine as a Constituent of Natural Products / H. Rosemeyer // *Chem. Biodiversity*. – 2004. – V. 1, Is. 3. – Pp. 361–401.
2. Legraverend, M. The Purines: Potent and Versatile Small Molecule Inhibitors and Modulators of Key Biological Targets / M. Legraverend, D.S. Grierson // *Bioorg. Med. Chem.* – 2006. – V. 14, Is. 12. – Pp. 3987–4006.
3. Metabolism, Biochemical Actions, and Chemical Synthesis of Anticancer Nucleosides, Nucleotides, and Base Analogs / J. Shelton, X. Lu, J.A. Hollenbaugh, J.H. Cho, F. Amblard, R.F. Schinazi // *Chem. Rev.* – 2016. – V. 116, Is. 23. – Pp. 14379–14455.
4. Antiviral and Antimicrobial Nucleoside Derivatives: Structural Features and Mechanisms of Action / A.A. Zenchenko, M.S. Drenichev, I.A. Il'icheva, S.N. Mikhailov // *Mol. Biol.* – 2021. – V. 55. – Pp. 786–812.
5. Seley-Radtke, K.L. Broad Spectrum Antiviral Nucleosides – Our Best Hope for the Future / K.L. Seley-Radtke, J.E. Thames, C.D. Waters III // *Annu. Rep. Med. Chem.* – 2021. – V. 57. – Pp. 109–132.
6. Herpes simplex virus, WHO Fact Sheet [Электронный ресурс] // URL: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus> (дата обращения 26.02.2024).
7. Whitley, R. Clinical management of herpes simplex virus infections: Past, present, and future / R. Whitley, J. Baines // *F1000Research*. – 2018. – V. 7. – 1726.
8. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries / H. Sung, J. Ferlay, R.L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, F. Bray // *CA Cancer J. Clin.* – 2021. – V. 71. – Pp. 209–249.
9. Remesh, A. Toxicities of anticancer drugs and its management / A. Remesh // *Int. J. Basic Clin. Pharmacol.* – 2012. – V. 1. – Pp. 2319–2003.
10. N-[omega-(Purin-6-yl)aminoalkanoyl] Derivatives of Chiral Heterocyclic Amines as Promising Anti-Herpesvirus Agents / V.P. Krasnov, V.V. Musiyak, O.A. Vozdvizhenskaya, G.A. Galegov, V.L. Andronova, D.A. Gruzdev, E.N. Chulakov, A.Yu. Vigorov, M.A. Ezhikova, M.I. Kodess, G.L. Levit, V.N. Charushin // *Eur. J. Org. Chem.* – 2019. – V. 30. – Pp. 4811–4821.
11. Lin, G.Q. *Chiral Drugs* / G.Q. Lin, Q.D. You, J.F. Cheng; Hoboken, New Jersey: John Wiley &

- Sons, Inc. – 2011. – 456 p.
12. Islam, M.R. Pharmacological Importance of Stereochemical Resolution of Enantiomeric Drugs / M.R. Islam, J.G. Mahdi, I.D. Bowen // *Drug Saf.* – 1997. – V. 17. – Pp. 149–165.
 13. Melchert, M. The thalidomide saga / M. Melchert, A. List // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2007. – V. 39. – Pp. 1489–1499.
 14. Kalgutkar, A.S. Design, Synthesis, and Biochemical Evaluation of N-Substituted Maleimides as Inhibitors of Prostaglandin Endoperoxide Synthases / A.S. Kalgutkar, B.C. Crews, L.J. Marnett // *J. Med. Chem.* – 1996. – V. 39, Is. 8. – Pp. 1692–1703.
 15. Synthesen mit Enaminen, XIV. Synthese Langkettiger ω -Aminosäuren / S. Hünig, W. Gräßmann, V. Meuer, E. Lücke, W. Brenninger // *Chem. Ber.* – 1967. – V. 100, Is. 9. – Pp. 3039–3044.
 16. Efficient Synthesis of ω -Functionalized Nonanoic Acids / L. Cotarca, P. Delogu, P. Maggioni, A. Nardelli, R. Bianchini, S. Sguassero // *Synthesis.* – 1997. – V. 1997, Is. 3. – P. 328–332.
 17. Patent US 2862940 A. Process for the Production of Omega-Amino Acids / H. Otsuki, H. Funahashi; заявл. 24.11.1953; опубл. 02.12.1958.
 18. Patent US 2011224454. Method for the Synthesis of an Omega-Amino Acid or Ester Starting from a Monounsaturated Fatty Acid or Ester / J.-L. Dubois; заявл. 17.11.2009; опубл. 15.09.2011.
 19. Syntheses of 12-aminododecanoic and 11-aminoundecanoic acids from vernolic acid / F.O. Ayorinde, E.Y. Nana, P.D. Nicely, A.S. Woods, E.O. Price, C.P. Nwaonicha // *J. Am. Oil Chem. Soc.* – 1997. – V. 74. – Pp. 531–538.
 20. Patent US 2017002143 A1. Methods for producing nylon 7 / K.J. Peter; заявл. 10.03.2014; опубл. 05.01.2017.
 21. Patent US 5610145. Tachykinin antagonists / D.C. Horwell, W. Howson, M.C. Pritchard, J. Rarhy; заявл. 29.11.1994; опубл. 11.03.1997.
 22. Patent WO 2011001419. Covalent inhibition of bacterial quorum sensing / M.M. Meijler, N. Amara, J. Rayo; заявл. 04.07.2010; опубл. 06.01.2011.
 23. Mahdavi, F. Photoinduced reduction of nitro compounds on semiconductor particles / F. Mahdavi, T.C. Bruton, Y. Li // *J. Org. Chem.* – 1993. – V. 58. – Pp. 744–746.
 24. Microbial Synthesis of Medium- Chain α,ω - Dicarboxylic Acids and ω - Aminocarboxylic Acids from Renewable Long- Chain Fatty Acids / J.-W. Song, J.-H. Lee, U.T. Bornscheuer, J.-B. Park // *Adv. Synth. Catal.* – 2014. – V. 356, Is. 8. – Pp. 1782–1788.
 25. Parallel Anti-Sense Two-Step Cascade for Alcohol Amination Leading to ω -Amino Fatty Acids and α,ω -Diamines / S.Sung, H. Jeon, S. Sarak, M.M. Ahsan, M.D. Patil, W.Kroutil,

- B.-G. Kim, H. Yun // *Green Chem.* – 2018. – V. 20. – Pp. 4591–4595.
26. The Role of Glycosyltransferases in Colorectal Cancer / C. Fernández-Ponce, N. Geribaldi-Doldán, I. Sánchez-Gomar, R.N. Quiroz, L.A. Ibarra, L.G. Escorcía, R. Fernández-Cisnal, G.A. Martínez, F. García-Cózar, E.N. Quiroz // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – V. 22. – 5822.
27. The cancer glycome: carbohydrates as mediators of metastasis / S.V. Glavey, D. Huyh, M.R. Reagan, S. Manier, M. Moschetta, Y. Kawano, A.M. Roccaro, I.M. Ghobial, L. Joshi, M.E. O'Dwyer // *Blood Rev.* – 2015. – V. 29, Is. 4. – Pp. 269–279.
28. Development of imidazole alkanolic acids as mGAT3 selective GABA uptake inhibitors / S. Hack, B. Wörlein, G. Höfner, J. Pabel, K.T. Wanner // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – V. 46, Is. 5. – Pp. 1483–1498.
29. Valacyclovir: a substrate for the intestinal and renal peptide transporters PEPT1 and PEPT2 / M.E. Ganapathy, W. Huang, H. Wang, V. Ganapathy, F. Leibach // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1998. – V. 246, Is. 2. – Pp. 470–475.
30. Recognition and Transport Characteristics of Nonpeptidic Compounds by Basolateral Peptide Transporter in Caco-2 Cells / M. Irie, T. Terada, K. Sawada, H. Saito, K.-I. Inui // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2001. – V. 298, Is. 2. – Pp. 711–717.
31. Lesions of the urinary tract produced in Fischer 344 Rats and B6C3F1 mice after chronic administration of 11-aminoundecanoic acid / J.K. Dunnick, J.E. Huff, J.K. Hasemann, G.A. Boorman // *Fundam. Appl. Toxicol.* – 1983. – V. 3, Is. 6. – Pp. 614–618.
32. Srivastava, A. 14-Aminotetradecanoic acid exhibits antioxidant activity and ameliorates xenobiotics-induced cytotoxicity / A. Srivastava, L.J.M. Rao, T. Shivanandappa // *Mol. Cell. Biochem.* – 2012. – V. 364. – Pp. 1–9.
33. Sommer, S. Estrogen receptor and breast cancer / S. Sommer, S.A. Fuqua // *Semin. Cancer Biol.* – 2001. – V. 11, Is. 5. – Pp. 339–352.
34. Discovery of ERD-308 as a Highly Potent Proteolysis Targeting Chimera (PROTAC) Degradator of Estrogen Receptor (ER) / J. Hu, B. Hu, M. Wang, F. Xu, B. Miao, C.-Yi. Yang, M. Wang, Z. Liu, D.F. Hayes, K. Chinnaswamy, J. Delproposto, J. Stuckey, S. Wang // *J. Med. Chem.* – 2019. – V. 62, Is. 3. – Pp. 1420–1442.
35. Synthesis of D-and L-tyrosine-chlorambucil analogs active against breast cancer cell lines / C. Descôteaux, V. Leblanc, K. Brasseur, A. Gupta, E. Asselin, G. Bérubé // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2010. – V. 20, Is. 24. – Pp. 7388–7392.
36. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова – М.: Гриф

- и К. – 2012. – С. 642–656.
37. Patent WO 0011022 A1. Anti-cancer compounds and methods related thereto / J.M. Stewart, D.C.F. Chan, L. Gera, E. York, P. Bunn; заявл. 20.08.1998; опубл. 02.03.2000.
 38. Biomimetic Macrocyclic Inhibitors of Human Cathepsin D: Structure–Activity Relationship and Binding Mode Analysis / R. Houštická, M. Hadzima, J. Fanfrlík, J. Brynda, L. Pallová, I. Hánová, H. Mertlíková-Kaiserová, M. Lepšík, M. Horn, M. Smrčina, P. Majer, M. Mareš // *J. Med. Chem.* 2020. – V. 63, Is. 4. – Pp. 1576–1596.
 39. Dubey, V. Cathepsin D as a Promising Target for the Discovery of Novel Anticancer Agents / V. Dubey, S. Luqman // *Curr. Cancer Drug Targets.* – 2017. – V. 17, Is. 5. – Pp. 404–422.
 40. Prostate- specific membrane antigen (PSMA) enzyme activity is elevated in prostate cancer cells / R.G. Lapidus, C.W. Tiffany, J.T. Isaacs, B.S. Slusher // *Prostate.* – 2000. – V. 45, Is. 4. – Pp. 350–354.
 41. Synthesis and SAR of ^{99m}Tc/Re-Labeled small molecule prostate specific membrane antigen inhibitors with novel polar chelates / G. Lu, K.P. Maresca, S.M. Hillier, C.N. Zimmerman, W.C. Eckelman, J. L. Joyal, J.W. Babich // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2013. – V. 23, Is. 5. – Pp. 1557–1563.
 42. Patent WO 2020200291 A1. Compounds and methods of treating cancers / P.M. Bruno, W. Jialiang, H. Xiaoran, C. Liqun; заявл. 02.04.2020; опубл. 08.10.2020.
 43. Patent CN 107226791 A. Antineoplastic application of nitrogen oxides as novel histone deacetylase inhibitor / H. Bin, W. Fang, L. Yan, C. Xiaoxue, W. Chun, Y. Ling, Z. Hong, Z. Yefang; заявл. 13.06.2017; опубл. 03.10.2017.
 44. Optimization, biological evaluation and microPET imaging of copper-64-labeled bombesin agonists [⁶⁴Cu-NO₂A-(X)-BBN (7–14) NH₂], in a prostate tumor xenografted mouse model / S.R. Lane, P. Nanda, T.L. Rold, G.L. Sieckman, S.D. Figueroa, T.J. Hoffman, S.S. Jurisson, C.J. Smith // *Nucl. Med. Biol.* – 2010. – V. 37, Is. 47. – Pp. 751–761.
 45. [⁶⁴Cu-NOTA-8-Aoc-BBN(7-14)NH₂] targeting vector for positron-emission tomography imaging of gastrin-releasing peptide receptor-expressing tissues / A.F. Prasanphanich, P.K. Nanda, T.L. Rold, L. Ma, M.R. Lewis, J.C. Garrison, T.J. Hoffman, G.L. Sieckman, S.D. Figueroa, C.J. Smith // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – V. 104, Is. 30. – Pp. 12462–12467.
 46. In vitro and in vivo analysis of [⁶⁴Cu-NO₂A-8-Aoc-BBN(7–14)NH₂]: a site-directed radiopharmaceutical for positron-emission tomography imaging of T-47D human breast cancer tumors / A.F. Prasanphanich, L. Retzlöff, S.R. Lane, P.K. Nanda, G.L. Sieckman, T.L. Rold, L. Ma, S.D. Figueroa, S. V. Sublett, T.J. Hoffman, C.J. Smith // *Nucl. Med. Biol.* – 2009. –

- V. 36. – Pp. 171–181.
47. Acetylation and deacetylation of non-histone proteins / M.A. Glozak, N. Sengupta, X. Zhang, E. Seto // *Gene*. – 2005. – V. 363. – Pp. 15–23.
 48. Histone Deacetylases (HDACs): Characterization of the Classical HDAC Family / A.J.M. de Ruijter, A.H. van Gennip, H.N. Caron, S. Kemp, A.B.P. van Kuilenburg // *Biochem. J.* – 2003. – V. 370. – Pp. 737–749.
 49. Functional significance of histone deacetylase diversity / S. Khochbin, A. Verdel, C. Lemerrier, D. Seigneurin-Berny // *Curr. Opin. Genet. Dev.* – 2001. – V. 11, Is. 2. – Pp. 162–166.
 50. HDAC family: What are the cancer relevant targets? / O. Witt, H.E. Deubzer, T. Milde, I. Oehme // *Cancer Lett.* – 2009. – V. 277, Is. 1. – P. 8–21.
 51. A structural insight into hydroxamic acid based histone deacetylase inhibitors for the presence of anticancer activity / H. Rajak, A. Singh, K. Raghuwanshi, R. Kumar, P.K. Dewangan, R. Veerasamy, P.C. Sharma, A. Dixit, P. Mishra // *Curr. Med. Chem.* – 2013. – V. 21, Is. 23. – P. 2642–2664.
 52. Patent CN 115286583 A. Diphenylamino-containing pyrimidine compound, preparation and application thereof as HDACs enzyme inhibitor / Z. Guisen, H. Yue, D. Xiaoming, J. Yongkui, Y. Wenjuan, S. Jinxiao.; заявл. 10.08.2022; опубли. 04.11.2022.
 53. Patent CN 108864057 A. JAK (Janus kinase) and HDAC (histone deacetylase) double-target-spot inhibitor with 4-aminopyrazole structure, and preparation method and application thereof / Z. Yingjie, L. Xuewu, X. Wenwang; заявл. 16.05.2017; опубли. 23.11.2018.
 54. Identification of a Potent non-Hydroxamate Histone Deacetylase Inhibitor by Mechanism-based Drug Design / T. Suzuki, A. Matsuura, A. Kouketsu, H. Nakagawa, N. Miyata // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2005. – V. 15, Is. 2. – Pp. 331–335.
 55. Tavares, M.T. Mercaptoacetamide: A promising zinc-binding group for the discovery of selective histone deacetylase 6 inhibitors / M.T. Tavares, A.P. Kozikowski, S. Shen // *Eur. J. Med. Chem.* – 2021. – V. 209. – 112887.
 56. Borinostats: solid phase synthesis of carborane-capped histone deacetylase inhibitors with a tailor-made selectivity profile / C. Selg, A. Schöler, J. Schliehe-Diecks, M. Hanl, L. Sinatra, A. Borkhardt, M. Sárosi, S. Bhatia, E. Hey-Hawkins, F.K. Hansen // *Chem. Sci.* – 2021. – V. 12. – Pp. 11873–11881.
 57. Programmed cell death induced by ceramide / L.M. Obeid, C.M. Linardic, L.A. Karolak, Yu.A. Hannun // *Science*. – 1993. – V. 259, Is. 5102. – Pp. 1769–1771.
 58. Ruvolo, P.P. Intracellular signal transduction pathways activated by ceramide and its

- metabolites / P.P. Ruvolo // *Pharmacol. Res.* – 2003. – V. 47. – Pp. 383–315.
59. Tailoring structure–function and targeting properties of ceramides by site-specific cationization / Z.M. Szulc, J. Bielawski, H. Gracz, M. Gustilo, N. Mayroo, Yu. A. Hannun // *Bioorg. Med. Chem.* – 2006. – V. 14, Is. 21. – Pp. 7083–7104.
60. Antiproliferative Constituents in Umbelliferae Plants. III. Constituents in the root and the ground part of *Anthriscus sylvestris Hoffm.* / R. Ikeda, T. Nagao, H. Okabe, Y. Nakano, H. Matsunaga, M. Katano, M. Mori // *Chem. Pharm. Bull.* – 1998. – V. 46, Is. 5. – Pp. 871–874.
61. Prodrugs of 4'-demethyl-4-deoxypodophyllotoxin: synthesis and evaluation of the antitumor activity / Yo. Kim, Yo.-J. You, N.H. Nam, B.-Z. Ahn // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2002. – V. 12, Is. 23. – Pp. 3435–3438.
62. Anti-herpes virus type 1 activity of oleanane-type triterpenoids / I. Tsuyoshi, K. Yokomizo, M. Okawa, R. Tsuchihashi, J. Kinjo, T. Nohara, M. Uyeda // *Biol. Pharm. Bull.* – 2005. – V. 28, Is. 9. – Pp. 1779–1781.
63. Antiviral activity of glycyrrhizic acid derivatives against SARS–coronavirus / G. Hoever, L. Baltina, M. Michaelis, R. Kondratenko, L. Baltina, G.A. Tolstikov, H.W. Doerr, J. Cinatl, Jr // *J. Med. Chem.* – 2005. – V. 48, Is. 4. – Pp. 1256–1259.
64. Kao, T.C. Glycyrrhizic acid and 18 β -glycyrrhetic acid inhibit inflammation via PI3K/Akt/GSK3 β signaling and glucocorticoid receptor activation // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – V. 58, Is. 15. – Pp. 8623–8629.
65. 18 β -Glycyrrhetic acid induces apoptotic cell death in SiHa cells and exhibits a synergistic effect against antibiotic anti-cancer drug toxicity / C.S. Lee, Y.J. Kim, M.S. Lee, E.S. Han, S.J. Lee // *Life Sci.* – 2008. – V. 83, Is. 13–14. – Pp. 481–489.
66. Novel effects of glycyrrhetic acid on the central nervous system tumorigenic progenitor cells: Induction of actin disruption and tumor cell-selective toxicity / H. Yamaguchi, T. Noshita, T. Yu, Y. Kidachi, K. Kamiie, H. Umetsu, K. Ryoyama // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. – V. 45, Is. 7. – Pp. 2943–2948.
67. Synthesis and Cytotoxic Activity of Methyl Glycyrrhetinate Esterified with Amino Acids / R. Csuk, S. Schwarz, B. Siewert, R. Kluge, D. Ströhl // *Z. Naturforsch., B: J. Chem. Sci.* – 2012. – V. 67, Is. 7. – P. 731–746.
68. Marker, R.E. Sterols. CXII. Sapogenins. XLI. The Preparation of Trillin and its Conversion to Progesterone / R.E. Marker, J. Krueger // *J. Am. Chem. Soc.* – 1940. – V. 62, Is. 12. – Pp. 3349–3350.
69. A facile and efficient method for the synthesis of solasodine from diosgenin / G.-P. Zhang, S.-D. Shen, M. Lei, L.-H. Hu // *Tetrahedron.* – 2011. – V. 67, Is. 33. – P. 5894–5896.

70. Huang, B. Synthesis, characterization and biological studies of diosgenyl analogues / B. Huang, D. Du, R. Zhang, X. Wu, Z. Xing, Y. He, W. Huang // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2012. – V. 22, Is. 24. – Pp. 7330–7334.
71. Synthesis, characterization, and biological studies of diosgenyl analogs / B.-Z. Huang, G. Xin, L.-M. Ma, Z.-H. Zhang, H. Niu, W. Huang // *J. Asian Nat. Prod. Res.* – 2017. – V. 19, Is. 3. – Pp. 272–298.
72. Verbist, L. The antimicrobial activity of fusidic acid / L. Verbist // *J. Antimicrob. Chemother.* – 1990. – V. 25. – Pp. 1–5.
73. Discovery, synthesis of novel fusidic acid derivatives possessed amino-terminal groups at the 3-hydroxyl position with anticancer activity / J. Ni, M. Guo, Yu. Cao, L. Lei, K. Liu, B. Wang, F. Lu, R. Zhai, X. Gao, C. Yan, H. Wang, Yi. Bi // *Eur. J. Med. Chem.* – 2019. – V. 162. – Pp. 122–131.
74. Thapsigargin, a tumor promoter, discharges intracellular Ca^{2+} stores by specific inhibition of the endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase / O. Thastrup, P.J. Cullen, B.K. Drøbak, M. Hanley, A.P. Dawson // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1990. – V. 87. – Pp. 2466–2470.
75. Mechanism and role of growth arrest in programmed (apoptotic) death of prostatic cancer cells induced by thapsigargin / X.S. Lin, S.R. Denmeade, L. Cisek, J.T. Isaacs // *Prostate.* – 1997. – V. 33, Is. 3. – Pp. 201–207.
76. Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation of Thapsigargin Analogues for Targeting Apoptosis to Prostatic Cancer Cells / C.M. Jakobsen, S.R. Denmeade, J.T. Isaacs, A. Gady, C.E. Olsen, S.B. Christensen // *J. Med. Chem.* – 2001. – V. 44, Is. 26. – Pp. 4696–4703.
77. Lymphocyte- Selective Cytostatic and Immunosuppressive Effects of Mycophenolic Acid in vitro: Role of Deoxyguanosine Nucleotide Depletion / E.M. Eugui., S.J. Almquist, C.D. Muller, A.C. Allison // *Scand. J. Immunol.* – 1991. – V. 33, Is. 2. – Pp. 161–173.
78. Growth inhibition and induction of phenotypic alterations in MCF-7 breast cancer cells by an IMP dehydrogenase inhibitor / Y. Sidi, C. Panet, L. Wasserman, A. Cyjon, A. Novogrodsky, J. Nordenberg // *Br. J. Cancer.* – 1988. – V. 58, Is. 1. – Pp. 61–63.
79. Floryk D., Huberman E. Mycophenolic acid-induced replication arrest, differentiation markers and cell death of androgen-independent prostate cancer cells DU145 // *Cancer Lett.* – 2006. – V. 231, Is. 1. – Pp. 20–29.
80. Synthesis and antiproliferative activity of new mycophenolic acid conjugates with adenosine derivatives / M. Prejs, G. Cholewiński, P. Trzonkowski, A. Kot-Wasik, K. Dzierzbicka // *J. Asian Nat. Prod. Res.* – 2019. – V. 21, Is. 2. – Pp. 178–185.
81. Singh, R. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family

- proteins / R. Singh, A. Letai, K. Sarosiek // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2019. – V. 20. – Pp. 175–193.
82. Hanahan, D. Hallmarks of cancer: the next generation / D. Hanahan, R.A. Weinberg // *Cell.* – 2011. – V. 144, Is. 5. – Pp. 646–674.
83. The Bcl-2 inhibitor ABT-737 shows significant anti-tumor efficacy in a model of non-Hodgkin's B cell lymphoma / M.J. Mitten, A. Oleksijew, J. Powlas, J.M. O'Connor, B. Wang, S. Akler, M. Joseph, H. Zhang, P. Nimmer, M. Bruncko, S. Ng, A. Wei, D. Wang, C. Tse, S.W. Elmore, T. Oltersdorf, S. Rosenberg, D.J. Frost, A.R. Shoemaker // *Cancer Res.* – 2005. – V. 65. – Pp. 399–400.
84. Therapeutic efficacy of ABT-737, a selective inhibitor of BCL-2, in small cell lung cancer / C.L. Hann, V.C. Daniel, E.A. Sugar, I. Dobromilskaya, S.C. Murphy, L. Cope, X. Lin, J.S. Hierman, D.L. Wilburn, D.N. Watkins, C.M. Rudin // *Cancer Res.* – 2008. – V. 68, Is. 7. – P. 2321–2328.
85. The BH3 mimetic ABT-737 increases treatment efficiency of paclitaxel against hepatoblastoma / J. Lieber, C. Eicher, J. Wenz, B. Kirchner, S.W. Warmann, J. Fuchs, S. Armeanu-Ebinger // *BMC Cancer.* – 2011. – V. 11. – 362.
86. Clinical Review: Navitoclax as a Pro-Apoptotic and Anti-Fibrotic Agent / N.N.M. Anuar, N.S.N. Hisam, S.L. Liew, A. Ugusman // *Front. Pharmacol.* – 2020. – V. 11. – 564108.
87. Discovery of PROTAC BCL-X_L degraders as potent anticancer agents with low on-target llatelet toxicity / X. Zhang, D. Thummuri, X. Liu, W. Hu, P. Zhang, S. Khan, Ya. Yuan, D. Zhou, G. Zheng // *Eur. J. Med. Chem.* – 2020. – V. 192. – 112186.
88. Zou, Y. The PROTAC technology in drug development / Y. Zou, D. Ma, Y. Wang // *Cell Biochem. Funct.* – 2019. – V. 37, Is. 1. – Pp. 21–30.
89. Proteolysis-targeting chimeras (PROTACs) in cancer therapy / X. Li, W. Pu, Q. Zheng, M. Ai, S. Chen, Y. Peng // *Mol. Cancer.* – 2022. – V. 21. – 99.
90. Patent WO 2021078301 A1. Protein degrading agent and use thereof in treatment of diseases / Y. Xiaobao, J. Biao, T. Wenfu, X. Zhongli, L. Jia, W. Juan, Y. Jun, Z. Shaoqing; заявл. 26.10.2020; опублик. 29.04.2021.
91. Histone Demethylase JMJD2C is a coactivator for hypoxia-inducible factor 1 that is required for breast cancer progression / W. Luo, R. Chang, J. Zhong, A. Pandey, G.L. Semenza // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2012. – V. 109, Is. 49. – Pp. E3367–E3376.
92. Pro-growth role of the JMJD2C histone demethylase in HCT-116 colon cancer cells and identification of curcuminoids as JMJD2 inhibitors / T.D. Kim, J.R. Fuchs, E. Schwartz, D. Abdelhamid, J. Etter, W.L. Berry, C. Li, M. Ihnat, P.-K. Li, R. Janknecht // *Am. J. Transl. Res.*

- 2014. – V. 6, Is. 3. – Pp. 234–247.
93. Li, X. Histone demethylase JMJD2B and JMJD2C induce fibroblast growth factor 2: mediated tumorigenesis of osteosarcoma / X. Li, S. Dong // *Med. Oncol.* – 2015. – V. 32, Is. 3. – P. 53–62.
94. Patent JP 2011168581 A (B2). Hydroxamic acid derivative, and JHDM inhibitor / M. Naoki, S. Takayoshi, H. Shohei, M. Tamio, S. Ryuzo; заявл. 18.01.2011; опубли. 01.09.2011.
95. Borgo, C. Role of protein kinase CK2 in antitumor drug resistance / C. Borgo, M. Ruzzene // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2019. – V. 38, Is. 1. – 287.
96. A Selective Biligand Inhibitor of CK2 Increases Caspase-3 Activity in Cancer Cells and Inhibits Platelet Aggregation / H. Rahnel, K. Viht, D. Lavogina, O. Mazina, T. Haljasorg, E. Enkvist, A. Uri // *Chem. Med. Chem.* – 2017. – V. 12, Is. 20. – Pp. 1723–1736.
97. Synthesis and biological evaluation of doxorubicin-containing conjugate targeting PSMA / Y.A. Ivanenkov, A.E. Machulkin, A.S. Garanina, D.A. Skvortsov, A.A. Uspenskaya, E.V. Deyneka, A.V. Trofimenko, E.K. Beloglazkina, N.V. Zyk, V.E. Koteliansky, D.S. Bezrukov, A.V. Aladinskaya, N.S. Vorobyeva, M.M. Puchinina, G.K. Riabykh, A.A. Sofronova, A.S. Malychev, A.G. Majouga // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2019. – V. 29, Is. 10. – Pp. 1246–1255.
98. A series of halogenated heterodimeric inhibitors of prostate specific membrane antigen (PSMA) as radiolabeled probes for targeting prostate cancer / K.P. Maresca, S.M. Hillier, F.J. Femia, D. Keith, C. Barone, J.L. Joyal, C.N. Zimmerman, A.P. Kozikowski, J.A. Barrett, W.C. Eckelman, J.W. Babich // *J. Med. Chem.* – 2009. – V. 52, Is. 2. – Pp. 347–357.
99. Genetic studies reveal that myristoylCoA: protein N- myristoyltransferase is an essential enzyme in *Candida albicans* / R.A. Weinberg, C.A. McWherter, S.K. Freeman, D.C. Wood, J.I. Gordon, S.C. Lee // *Mol. Microbiol.* – 1995. – V. 16, Is. 2. – Pp. 241–250.
100. Targeted gene replacement demonstrates that myristoyl-CoA: protein N-myristoyltransferase is essential for viability of *Cryptococcus neoformans* / J.K. Lodge, E. Jackson-Machelski, D.L. Toffaletti, J.R. Perfect, J.I. Gordon // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1994. – V. 91, Is. 25. – Pp. 12008–12012.
101. Conformationally constrained [p-(ω -aminoalkyl) phenacetyl]-L-seryl-L-lysyl dipeptide amides as potent peptidomimetic inhibitors of *Candida albicans* and human myristoyl-CoA:protein N-myristoyl transferase / S.R. Nagarajan, B. Devadas, M.E. Zupec, S.K. Freeman, D.L. Brown, H.-F. Lu, P.P. Mehta, N.S. Kishore, C.A. McWherter, D.P. Getman, J.I. Gordon, J.A. Sikorski // *J. Med. Chem.* – 1997. – V. 40, Is. 10. – Pp. 1422–1438.
102. Capuramycin, a new nucleoside antibiotic. Taxonomy, fermentation, isolation and

- characterization / H. Yamaguchi, S. Sato, S. Yoshida, K. Takada, M. Itoh // *J. Antibiot.* – 1986. – V. 39, Is. 8. – Pp. 1047–1053.
103. Patent US 2009281054 A1. Compositions and methods comprising capuramycin analogues / V. Reddy, M.N. Protopopova, E. Bogatcheva; заявл. 10.12.2008; опубл. 11.12.2009.
104. Antimicrobial Peptides: Classification, Design, Application and Research Progress in Multiple Fields / Y. Huan, Q. Kong, H. Mou, H. Yi // *Front. Microbiol.* – 2020. – V. 11. – 582779.
105. Zasloff, M. Antimicrobial Peptides of Multicellular Organisms / M. Zasloff // *Nature.* – 2002. – V. 415. – Pp. 389–395.
106. The effect of glycine replacement with flexible ω -amino acids on the antimicrobial and haemolytic activity of an amphipathic cyclic heptapeptide / A. Oddo, N.T. Nyberg, N. Frimodt-Møller, P.W. Thulstrup, P.R. Hansen // *Eur. J. Med. Chem.* – 2015. – V. 102. – Pp. 574–581.
107. Modulation of Backbone Flexibility for Effective Dissociation of Antibacterial and Hemolytic Activity in Cyclic Peptides / A. Oddo, T.T. Thomsen, H.M. Britt, A. Løbner-Olesen, P.W. Thulstrup, J.M. Sanderson, P.R. Hansen // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2016. – V.7. – Pp. 741–745.
108. Permeation enhancer strategies in transdermal drug delivery / H. Marwah, T. Garg, A.K. Goyal, G. Rath // *Drug delivery.* – 2016. – V. 23, Is. 2. – Pp. 564–578.
109. Synthesis and enhancing effect of transkarbam 12 on the transdermal delivery of theophylline, clotrimazole, flobufen, and griseofulvin / A. Hrabálek, P. Doležal, K. Vávrová, J. Zbytovská, T. Holas, J. Klimentová, J. Novotný // *Pharm. Res.* – 2006. – V. 23. – Pp. 912–919.
110. Transkarbams as transdermal permeation enhancers: Effects of ester position and ammonium carbamate formation / M. Novotný, A. Hrabálek, B. Janůšová, J. Novotný, K. Vávrová. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2010. – V. 20, Is. 9. – Pp. 2726–2728.
111. Matsunaga, S. Memantine Monotherapy for Alzheimer's Disease: a Systematic Review and Meta-Analysis / S. Matsunaga, T. Kishi, N. Iwata // *PLoS One.* – 2015. – V. 10, Is. 4. – e0123289.
112. Koola, M. M. Galantamine-Memantine Combination in the Treatment of Alzheimer's Disease and beyond / M. M. Koola // *Psychiatry Res.* – 2020. – V. 293. 113409.
113. Combining galantamine and memantine in multitargeted, new chemical entities potentially useful in Alzheimer's disease / E. Simoni, S. Daniele, G. Bottegoni, D. Pizzirani, M.L. Trincavelli, L. Goldoni, G. Tarozzo, A. Reggiani, C. Martini, D. Piomelli, C. Melchiorre, M. Rosini, A. Cavalli // *J. Med. Chem.* – 2012. – V. 55, Is. 22. – Pp. 9708–9721.
114. Messer, W.S. Cholinergic Agonists and the Treatment of Alzheimer's Disease / W.S. Messer // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2002. – V. 2, Is. 4. – Pp. 353–358.

115. Bradbury, B.J. Functionalized congener approach for the design of novel muscarinic agents. Synthesis and pharmacological evaluation of *N*-methyl-*N*-[4-(1-pyrrolidiny)-2-butynyl] amides / B.J. Bradbury, J. Baumgold, K.A. Jacobson // *J. Med. Chem.* – 1990. – V. 33, Is. 33. – Pp. 741–748.
116. Ríos, J. L. New Pharmacological Opportunities for Betulinic Acid / J. L. Ríos, S. Máñez // *Planta Med.* – 2018. – V. 84, Is. 1. – Pp. 8–19.
117. Yogeewari, P. Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties / P. Yogeewari, D. Sriram // *Curr. Med. Chem.* – 2005. – V. 12, Is. 6. – Pp. 657–666.
118. Synthesis and anti-HIV activity of bi-functional betulinic acid derivatives / L. Huang, P. Ho, K.-H. Leeb, C.-H. Chena // *Bioorg. Med. Chem.* – 2006. – V. 14, Is. 7. – Pp. 2279–2289.
119. Martin, D.E. Bevirimat: a novel maturation inhibitor for the treatment of HIV-1 infection / D.E. Martin, K. Salzwedel, G.P. Allaway // *Antiviral Chem. Chemother.* – 2008. – V. 19, Is. 3. – Pp. 107–113.
120. New Betulinic Acid Derivatives for Bevirimat-Resistant Human Immunodeficiency Virus Type-1 / Z. Dang, P. Ho, L. Zhu, K.Qian, K.-H. Lee, L. Huang, C.-H. Chen // *J. Med. Chem.* – 2013. – V. 56, Is. 5. – Pp. 2029–2037.
121. Betulinic Acid Derivatives: A New Class of Specific Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Entry / F. Soler, C. Poujade, M. Evers, J.-C. Carry, Y. Henin, A. Bousseau, T. Huet, R. Pauwels, E. De Clercq, J.-F. Mayaux, J.-B. Le Pecq, N. Dereu // *J. Med. Chem.* – 1996. – V. 39, Is. 5. – Pp. 1069–1083.
122. Патент РФ 2434005. Способ получения 7,8-дифтор-2,3-дигидро-3-метил-2*H*-[1,4]бензоксазина / В.Н. Чарушин, Е.Б. Горбунов, Г.Л. Русинов, В.А. Лихолобов, В.А. Родионов; заявл. 25.10.2010; опубл. 20.11.2011.
123. Хлорангидрид *N*-тозил-(*S*)-пролина в кинетическом разделении рацемических гетероциклических аминов / Д.А. Груздев, С.А. Вакаров, Г.Л. Левит, В.П. Краснов // *Хим. гетероцикл. соед.* – 2013. – Т. 49. – С. 1936–1950.
124. Kinetic resolution of (\pm)-2,3-dihydro-3-methyl-4*H*-1,4-benzoxazines with (*S*)-naproxen / V.N. Charushin, V.P. Krasnov, G.L. Levit, M.A. Korolyova, M I. Kodess, O.N. Chupakhin, M.H. Kim, H.S. Lee, Y.J. Park, K.C. Kim // *Tetrahedron: Asymmetry.* – 1999. – V. 10, Is. 14. – Pp. 2691–2702.
125. Synthesis, anti-cancer evaluation of benzenesulfonamide derivatives as potent tubulin-targeting agents / J. Yang, S. Yang, Sh. Zhou, D. Lu, L. Ji, Zh. Li, S. Yu, X. Meng // *Eur. J. Med. Chem.* – 2016. – V. 122. – Pp. 488–496.
126. Rombach, L.H. Peptide derivatives of the carcinogen aminofluorene / L.H. Rombach, I.R.

- MacGregor // *J. Org. Chem.* – 1954. – V. 19, Is. 3. – Pp. 428–433.
127. Antistaphylococcal and antifibrinolytic activities of omega-amino acids and their L-histidine dipeptides / E.S. Cook, A. Fujii, K. Tanaka, Y. Tsuchiya // *J. Med. Chem.* – 1971. – V. 14, Is. 4. – Pp. 354–357.
128. Chapman, J.M. Hypolipidemic Activity of Phthalimide Derivatives. IV: Further Chemical Modification and Investigation of the Hypolipidemic Activity of N- Substituted Imides / J.M. Chapman, G.H. Cocolas, I.H. Hall // *J. Pharm. Sci.* – 1983. – V. 72, Is. 11. – Pp. 1344–1347.
129. Syntheses of Phosphonic Esters of Alendronate, Pamidronate and Neridronate / E. Guénin, M. Monteil, N. Bouchemal, T. Praugé, M. Lecouvey // *Eur. J. Org. Chem.* – 2007. – V. 2007, Is. 20. – Pp. 3380–3391.
130. Синтез и противогерпетическая активность новых конъюгатов пурина с 3-метил-7,8-дифтор-3,4-дигидро-2*H*-1,4-бензоксазином / О.А. Воздвиженская, В.Л. Андропова, Г.А. Галегов, Г.Л. Левит, В.П. Краснов, В.Н. Чарушин // *Химия гетероцикл. соед.* – 2021. – Т. 57, № 4. – С. 490–497.
131. Fujii, T. Purines. XIV. Selective Removal of N-Terminal Amino Acids from Peptides by the Use of Purin-6-yl Group at the N-Terminus / T. Fujii, T. Nishitani // *Chem. Pharm. Bull.* – 1973. – V. 21, Is. 11. – Pp. 2349–2358.
132. The Synthesis of N-(6-Purinyloxy)amino Acids. Amino Acids with a Single Reactive Amino Group / D.N. Ward, J. Wade, E.F. Walborg, Jr., T.S. Osdexe // *J. Org. Chem.* – 1961. – V. 26, Is. 12. – Pp. 5000–5005.
133. Synthesis and Cytotoxic Activity of the Derivatives of N-(Purin-6-yl)aminopolymethylene Carboxylic Acids and Related Compounds / V.P. Krasnov, O.A. Vozdvizhenskaya, M.A. Baryshnikova, A.G. Pershina, V.V. Musiyak, T.V. Matveeva, G.L. Levit // *Molecules.* – 2023. – V. 28, Is. 4. – 1853.
134. Efficient Synthesis of α -Branched Purine-Based Acyclic Nucleosides: Scopes and Limitations of the Method / J. Frydrych, L. Pořtová Slavětínská, M. Dračinský, Z. Janeba // *Molecules.* – 2020. – V. 25, Is. 18. – 4307.
135. Structure–Activity Relationship of Adenosine 5'-Diphosphoribose at the Transient Receptor Potential Melastatin 2 (TRPM2) Channel: Rational Design of Antagonists / C. Moreau, T. Kirchberger, J.M. Swarbrick, S.J. Bartlett, R. Fliegert, T. Yorgan, A. Bauche, A. Harneit, A.H. Guse, B.V.L. Potter // *J. Med. Chem.* – 2013. – V. 56, Is. 24. – Pp. 10079–10102.
136. Synthesis of novel purin-6-yl conjugates with heterocyclic amines linked *via* 6-aminohexanoyl fragment / V.P. Krasnov, D.A. Gruzdev, E.N. Chulakov, A.Yu. Vigorov, V.V. Musiyak, T.V. Matveeva, A.A. Tumashov, G.L. Levit, V.N. Charushin // *Mendeleev Commun.* – 2015. –

- V. 25, Is. 6. – Pp. 412–414.
137. Synthesis and biological evaluation of immunosuppressive agent DZ2002 and its stereoisomers / Y.M. Zhang, Y. Ding, W. Tang, W. Luo, M. Gu, W. Lu, J. Tang, J.P. Zuo, F.J. Nan // *Bioorg. Med. Chem.* – 2008. – V. 16, Is. 20. – P. 9212–9216.
138. Dubois, L. Microwave-Promoted Michael Addition of Azaheterocycles to α,β -Unsaturated Esters and Acid under Solvent-Free Conditions / L. Dubois, F.C. Acher, I. McCort-Tranchepain // *Synlett.* – 2012. – V. 23. – Pp. 791–795.
139. Новые конъюгаты пурина с *N*-гетероциклами: синтез и противогриппозная активность / В.П. Краснов, В.В. Зарубаев, Д.А. Груздев, О.А. Воздвиженская, С.А. Вакаров, В.В. Мусияк, Е.Н. Чулаков, А.С. Волобуева, Е.О. Синегубова, М.А. Ежикова, М.И. Кодесс, Г.Л. Левит, В.Н. Чарушин // *Хим. гетероцикл. соед.* – 2021. – Т. 57. – С. 498–504.
140. Tetrahydroindazoles as Interleukin-2 Inducible T-Cell Kinase Inhibitors. Part II. Second-Generation Analogues with Enhanced Potency, Selectivity, and Pharmacodynamic Modulation *in vivo* / J.D. Burch, K. Barrett, Yu. Chen, J. DeVoss, Ch. Eigenbrot, R. Goldsmith, M.H.A. Ismaili, K. Lau, Z. Lin, D.F. Ortwine, A.A. Zarrin, P.A. McEwan, J.J. Barker, C. Ellebrandt, D.Kordt, D.B. Stein, X. Wang, Y. Chen, B. Hu, X. Xu, P.-W. Yuen, Y. Zhang, Z. Pei // *J. Med. Chem.* – V. 58, Is. 9. – Pp. 3806–3816.
141. Design, Synthesis, and SAR of C-3 Benzoic Acid, C-17 Triterpenoid Derivatives. Identification of the HIV-1 Maturation Inhibitor 4-((1*R*,3*aS*,5*aR*,5*bR*,7*aR*,11*aS*,11*bR*,13*aR*,13*bR*)-3*a*-((2-(1,1-Dioxidothiomorpholino)ethyl)amino)-5*a*,5*b*,8,8,11*a*-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)-2,3,3*a*,4,5,5*a*,5*b*,6,7,7*a*,8,11,11*a*,11*b*,12,13,13*a*,13*b*-octadecahydro-1*H*-cyclopenta[*a*]chrysen-9-yl)benzoic Acid (GSK3532795, BMS-955176) / A. Regueiro-Ren, J.J. Swidorski, Z. Liu, Y. Chen, N. Sin, S.-Y. Sit, J. Chen, B.L. Venables, J. Zhu, B. Nowicka-Sans, T. Protack, Z. Lin, B. Terry, H. Samanta, S. Zhang, Z. Li, J. Easter, B.R. Beno, V. Arora, X.S. Huang, S. Rahematpura, D.D. Parker, R.Haskell, K.S. Santone, M.I. Cockett, M. Krystal, N.A. Meanwell, S. Jenkins, U. Hanumegowda, I.B. Dicker // *J. Med. Chem.* – 2018. – V. 61, Is. 16. – Pp. 7289–7313.
142. Новые конъюгаты пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином, содержащие (псевдо)углеводные фрагменты / О.А. Воздвиженская, Б.З. Елецкая, А.Ф. Миронов, К.Ф. Уранская, Г.Л. Левит, Т.В. Матвеева, И.Д. Константинова, В.П. Краснов // *Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов (MOSM 2023): сборник тезисов VII Международной конференции, Екатеринбург–Пермь, 10–16 сентября 2023 г.* – С. 244.
143. Das, D. Chapter 12 - Herpesvirus Polymerase Inhibitors. In *Viral Polymerases: Structures, Functions and Roles as Antiviral Drug Targets* / D. Das, J. Hong // Academic Press: London,

- UK. – 2019. – Pp. 333–356.
144. Whitley, R. Clinical management of herpes simplex virus infections: past, present, and future / R. Whitley, J. Baines // *F1000Research*. – 2018. – V.7. – 1726.
145. Comparative Efficacy of Antiherpes Drugs against Different Strains of Herpes Simplex Virus / E. De Clerck, J. Descamps, G. Verheist, R.T. Walker, A.S. Jones, P.F. Torrence, D. Shugar // *J. Infect. Dis.* – 1980. – V. 141, Is. 5. – Pp. 563–573.
146. Antiherpetic Properties of Acyclovir 5'-Hydrogenphosphonate and the Mutation Analysis of Herpes Virus Resistant Strains / A.A. Gus'kova, M.Y. Skoblov, A.N. Korovina, M.V. Yasko, I.L. Karpenko, M.K. Kukhanova, V.L. Andronova, G.A. Galegov, Y.S. Skoblov // *Chem. Biol. Drug Des.* – 2009. – V. 74, Is. 4. – Pp. 382–389.
147. Антивирусный эффект нового конъюгата пурина LAS-131 в отношении вируса простого герпеса 1 типа (*Herpesviridae: alphaherpesvirinae: simplexvirus: human alphaherpesvirus 1*) *in vitro* / В.Л. Андропова, Г.А. Галегов, В.В. Мусияк, О.А. Воздвиженская, Г.Л. Левит, В.П. Краснов // *Вопросы вирусологии*. – 2020. – Т. 65. – С. 374–380.
148. MacLean, C.A. HSV entry and spread / C.A. MacLean // *Methods Mol. Med.* – 1998. – V. 10. – Pp. 9–18.
149. A Narrative Review of Alternative Symptomatic Treatments for Herpes Simplex Virus / J.Y. Chang, C. Balch, J. Puccio, H.S. Oh // *Viruses*. – 2023. – V. 15. – 1314.
150. Large Subunit of the Human Herpes Simplex Virus Terminase as a Promising Target in Design of Anti-Herpesvirus Agents / V.P. Krasnov, V.L. Andronova, A.V. Belyavsky, S.S. Borisevich, G.A. Galegov, O.F. Kandarakov, D.A. Gruzdev, O.A. Vozdvizhenskaya, G.L. Levit // *Molecules*. – 2023. – V. 28, Is. 21. – 7375.
151. Isolation and Characterization of the Herpes Simplex Virus 1 Terminase Complex / J.D. Heming, J.B. Huffman, L.M. Jones, F.L. Homa // *J. Virol.* – 2014. – V. 88, Is. 1. – Pp. 225–236.
152. Architecture of the herpesvirus genome-packaging complex and implications for DNA translocation / Y. Yang, P. Yang, N. Wang, Z. Chen, D. Su, Z.H. Zhou, Z. Rao, X. Wang // *Protein Cell*. – 2020. – V. 11, Is. 5. – Pp. 339–351.
153. The Protein Data Bank / H.M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T.N. Bhat, H. Weissig, I.N. Shindyalov, P.E. Bourne // *Nucleic Acids Res.* – 2000. – V. 28, Is. 1. – Pp. 235–242.
154. Competitive routes to cyclizations of polyfluoroalkyl-containing 2-tolylhydrazinylidene-1,3-diketones with 3-aminopyrazoles into bioactive pyrazoloazines / N.A. Elkina, Ya.V. Burgart, E.V. Shchegolkov, O.P. Krasnykh, V.V. Maslova, G.A. Triandafilova, S.S. Solodnikov, A.A.

- Muryleva, M.A. Misiurina, A.V. Slita, V.V. Zarubaev, V.I. Saloutin // *J. Fluor. Chem.* – 2020. – V. 240. – 109648.
155. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays // *J. Immunol. Methods.* – 1983. – V. 65, Is. 1–2. – Pp. 55–63.
156. Герасимова Н.А., Воздвиженская О.А., Левит Г.Л., Краснов В.П., Евстигнеева Н.П. Изучение связи «структура–антимикробная активность» конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазином // *Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов (MOSM 2023)* : сборник тезисов VII Международной конференции, Екатеринбург–Пермь, 10–16 сентября 2023 г. – С. 272.
157. Fisher, J.F. Bacterial Resistance to β -Lactam Antibiotics: Compelling Opportunism, Compelling Opportunity / J.F. Fisher, S.O. Meroueh, S. Mobashery // *Chem. Rev.* – 2005. – V. 105, Is. 2. – Pp. 395–424.
158. Rahmé, R. Assaying Cell Cycle Status Using Flow Cytometry / R. Rahmé // *Methods Mol. Biol.* – 2021. – V. 2267. – Pp. 165–179.
159. Zav'yalov, S.I. KOH-MeOH-MeCN-Et₂O system for the partial hydrolysis of dicarboxylic acid diesters / S.I. Zav'yalov, N.E. Kravchenko // *Russ. Chem. Bull.* – 1988. – V. 37. – 1514.
160. Patent US2327119A. Process of making amino acids / L.M. Elmore; заявл. 06.02.1941; опубл. 17.08.1943.
161. Medium ring homologs of proline as potential amino acid antimetabolites / H. T. Nagasawa, J. A. Elberling, P. S. Fraser, N. S. Mizuno // *J. Med. Chem.* – 1971. – V. 14, Is. 6. – Pp. 501–508.
162. Ballini, R. Synthesis of ω -Nitro Acids and ω -Amino Acids by Ring Cleavage of α -Nitrocycloalkanones / R. Ballini, F. Papa, C. Abate // *Eur. J. Org. Chem.* – 1999. – V. 1999, Is. 1. – Pp. 87–90.
163. Synthesis and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of 1,5-benzothiazepine and 1,5-benzoxazepine derivatives. II / K. Itoh, M. Kori, Y. Inada, K. Nishikawa, Y. Kawamatsu, H. Sugihara // *Chem. Pharm. Bull.* – 1986. – V. 34, Is. 5. – Pp. 2078–2089.
164. Tomar, R. Assembling of Medium/Long Chain-Based β -Arylated Unnatural Amino Acid Derivatives via the Pd(II)-catalyzed sp³ β -C-H Arylation and a Short Route for Rolipram-Type Derivatives / R. Tomar, D. Bhattacharya, A.S. Babu // *Tetrahedron.* – 2019. – V. 75, Is. 17. – Pp. 2447–2465.