

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

На правах рукописи



ВОЗДВИЖЕНСКАЯ Ольга Андреевна

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

1.4.3. Органическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Екатеринбург – 2024

Работа выполнена в лаборатории медицинской химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор,
КРАСНОВ Виктор Павлович

Официальные оппоненты:

УТЕПОВА Ирина Александровна, доктор химических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», профессор кафедры органической и биомолекулярной химии Химико-технологического института;

ЯРОВАЯ Ольга Ивановна, доктор химических наук, ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологически активных веществ;

РОЖКОВА Юлия Сергеевна, кандидат химических наук, «Институт технической химии Уральского отделения Российской академии наук» – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, старший научный сотрудник лаборатории синтеза активных реагентов.

Защита состоится «11» ноября 2024 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета УрФУ 1.4.06.09 по адресу: 620062, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, ауд. И-420 (зал Ученого совета).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»: <https://dissovet2.urfu.ru/mod/data/view.php?id=12&rid=6312>.

Автореферат разослан «___» _____ 2024 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета

 Пospelова Татьяна Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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. 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.

В связи с этим в рамках настоящей работы была проведена разработка методов синтеза новых конъюгатов пурина и изучение их противовирусной в отношении вирусов герпеса и гриппа, противоопухолевой и антибактериальной активности. Большое внимание уделено синтезу высокоактивных соединений в энантиомерно чистом виде и анализу их энантиомерной чистоты. 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 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 энантимерно чистых конъюгатов пурина и его аналогов. Разработка методов анализа энантимерного 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. 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). Впервые синтезирован широкий круг 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 (неаннелированные, бензаннылированные, содержащие атомы фтора) или производные адамантана, изучена их биологическая активность, выявлены связи между структурой и активностью полученных соединений. Впервые получены аналоги выявленных высокоактивных соединений путем введения углеводных и псевдоуглеводных фрагментов в положение N^9 пурина, что позволило увеличить их растворимость и биодоступность. Показана возможность применения разработанных подходов к синтезу структурных аналогов пурина, что позволило получить новые производные 6,7-диметоксихиназолина и энантимерно чистые производные 7-деазапурина. Впервые установлена мишень противогерпетического действия соединения-лидера: его ингибирующее действие обусловлено связыванием с большой субъединицей терминазы вируса простого герпеса типа 1 (ВПГ-1). Также с использованием методов молекулярного моделирования определен возможный сайт связывания соединения-лидера с мишенью.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость исследования заключается в разработке методов получения 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), также большой группы 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 и производные адамантана. Показана возможность синтеза аналогов выявленных высокоактивных соединений путем введения углеводных и псевдоуглеводных фрагментов в положение N^9 пурина. Разработаны подходы к получению энантимерно чистых конъюгатов пурина и его аналогов, предложены методы анализа их энантимерной чистоты. Показано, что за противогерпетическую и противоопухолевую активность отвечает сочетание трех фрагментов (пурина, ω -аминокислоты с определенной длиной полиметиленового остатка и 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина); удаление одного или нескольких структурных элементов конъюгата приводят к исчезновению биологической активности. 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, 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. 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)ундеканойл]-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазин. На основании исследований механизма его противоопухолевого действия установлено, что соединение является ингибитором биосинтеза ДНК.

Практическая значимость работы состоит в том, что разработанные оригинальные методы синтеза конъюгатов пурина и его аналогов с аминами, содержащих в качестве линкера остатки высших ω-аминокислот, могут быть применены к синтезу других производных пурина. На примере синтеза производных 6,7-диметоксихиназолина и энантимерно чистых производных 7-дезапурина показано, что методы синтеза, использованные для получения конъюгатов пурина, применимы для синтеза их структурных аналогов. Разработаны методы получения наиболее активных конъюгатов в мультиграммовых количествах для углубленного изучения их биологической активности, в том числе опытах на животных. Среди полученных соединений обнаружены вещества с высокой противовирусной, антибактериальной, противоопухолевой активностью, представляющие интерес для создания на их основе или на основе их аналогов новых эффективных препаратов. Для соединения-лидера установлена мишень его противогерпетического действия, что открывает возможности получения соединений с иным механизмом действия, чем у применяемых в настоящее время препаратов, и создания на их основе эффективных лекарственных средств.

Методология и методы исследования. В работе 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). 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 им. Пастера (г. Санкт-Петербург), Уральском НИИ дерматовенерологии и иммунопатологии (г. Екатеринбург), Сибирском государственном медицинском университете (г. Томск) и Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва) 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 N⁹ 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 состоит в сборе, систематизации и анализе литературных данных, постановке практических задач, планировании и проведении синтетических работ, обобщении результатов биологических исследований. 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); «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» MOSM 2018 (Екатеринбург, 15–17 ноября 2018); «Техническая химия. От теории к практике» (Пермь, 20–24 мая 2019), «МедХим-Россия 2019» (Екатеринбург, 9–14 июня 2019), «Марковниковские чтения: органическая химия от Марковникова до наших дней» (Красновидово, 17–20 января 2020), «ChemCYS 2020» (Бланкенберге, Бельгия, 19–21 февраля 2020), «Проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Екатеринбург, 6–9 октября 2020), «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (Екатеринбург, 18-21 ноября 2020), 6-й Северо-Кавказский симпозиум по органической химии (Ставрополь, 18–22 апреля 2022), «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 РФ (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 опубликована 21 научная работа, в том числе опубликовано 7 статей в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ и входящих 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 им. 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.

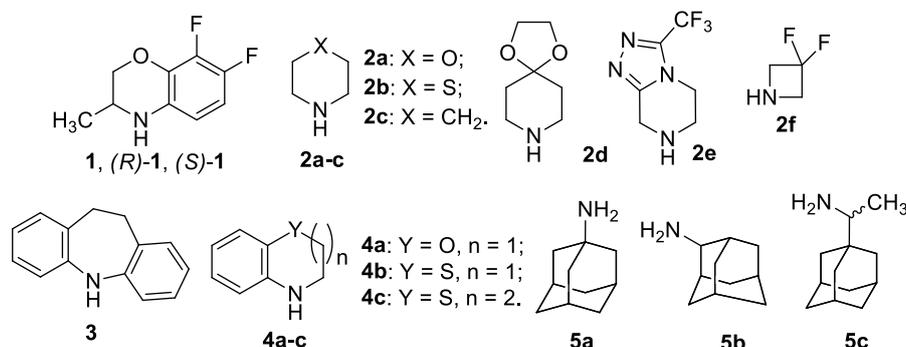
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** обоснована актуальность и практическая значимость работы, сформулированы цель и задачи исследования. В **обзоре литературы** (глава 1) описываются методы синтеза, биологическая активность высших ω-аминокислот и их производных и использование для изучения связи «структура–активность». **Основные результаты** работы приводятся в главе 2, где обсуждаются методы синтеза новых конъюгатов пурина и его аналогов с различными аминами, методы анализа энантиомерного и диастереомерного состава, биологическая активность полученных соединений, а также связь «структура–активность». В **экспериментальной части** (глава 3) описаны использованное оборудование, методы синтеза и характеристики полученных соединений.

Глава 2 Обсуждение результатов

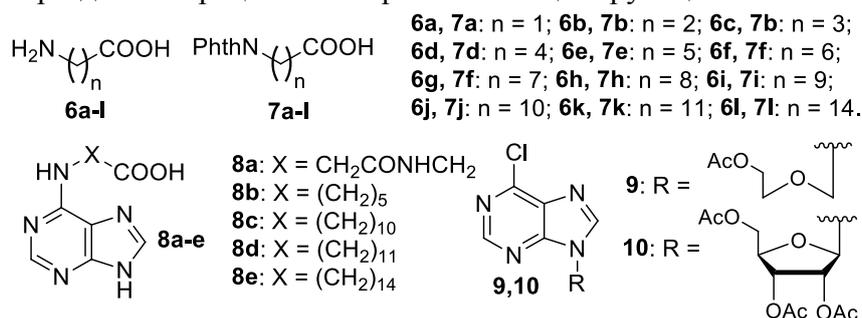
2.1 Синтез исходных соединений

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



Соединения **1**, **4a-c**, **9**, **10** синтезированы по известным методикам.

Энантимерно чистые амины (*S*)-**1** и (*R*)-**1** (*ee* > 99%) получены путем кинетического разделения рацематов хиральными ацилирующими агентами.



9-Аминононановая кислота (**6h**) и 10-аминодекановая кислота (**6i**) получены из себаценовой и 10-бромдекановой кислот соответственно. 15-Аминопентадекановая кислота (**6l**) синтезирована из циклопентадеканона через соответствующий лактам. *N*-Фталоил- ω -аминокислоты **7a-l** получены путем взаимодействия кислот **6a-l** с фталевым ангидридом. *N*-(Пурин-6-ил)глицилглицин (**8a**) и *N*-пуринил- ω -аминокислоты **8b-e** получены в результате конденсации 6-хлорпурина (**11**) с соответствующими ω -аминокислотами.

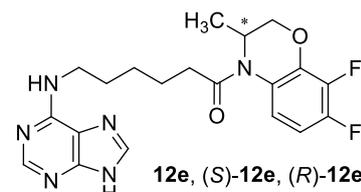
2.2 Синтез конъюгатов пурина и его аналогов с гетероциклическими аминами

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

Ранее в лаборатории асимметрического синтеза ИОС УрО РАН был получен конъюгат пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазином, содержащий в качестве линкера остаток 6-аминогексановой кислоты. Соединение было получено как в виде рацемата **12e**, так и в виде индивидуальных энантиомеров (*S*)-**12e** и (*R*)-**12e**.

Показано, что конъюгаты **12e**, (*S*)-**12e** и (*R*)-**12e** проявляют высокую активность в отношении вируса простого герпеса первого типа (ВПГ-1), в том числе в отношении ацикловир-резистентного штамма. Энантиомер (*S*)-**12e** более активен и селективен в отношении ВПГ-1 (ХТИ¹ 64) по сравнению с (*R*)-**12e** и **12e** (ХТИ 18 и 32 соответственно). Это позволило рассматривать конъюгат (*S*)-**12e** в качестве соединения-лидера.

В рамках настоящей работы особый упор сделан на синтетическую модификацию структуры соединения **12e** и изучение связи «структура–биологическая активность» полученных соединений.



12e: ИД₅₀ (ВПГ-1) 9,28 μM , ХТИ 32
 (*S*)-**12e:** ИД₅₀ (ВПГ-1) 4,63 μM , ХТИ **64**
 (*R*)-**12e:** ИД₅₀ (ВПГ-1) 18,0 μM , ХТИ 18

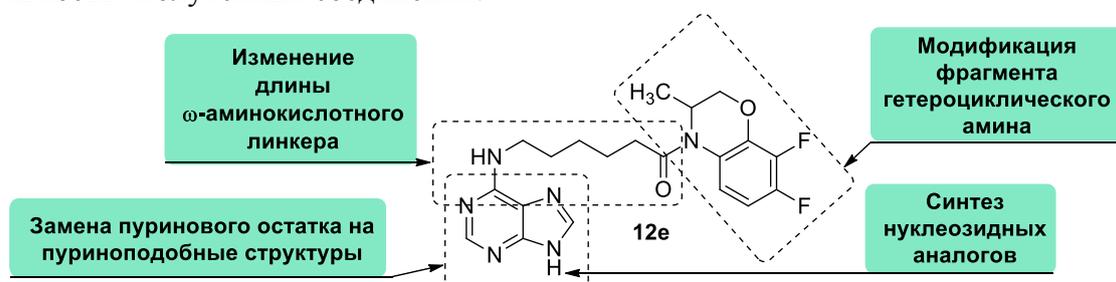


Рисунок 1 – Направления синтетической модификации структуры **12e**

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

Для модификации структуры **12e** использованы следующие подходы (рисунок 1):

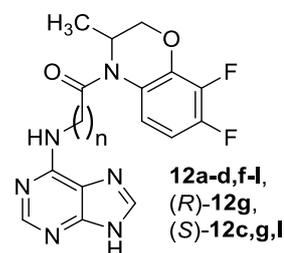
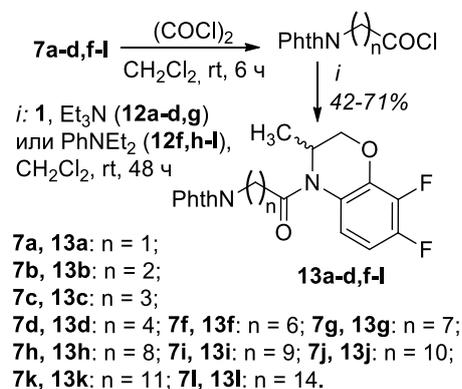
1. Получение гомологов соединения **12e** за счет уменьшения и увеличения длины ω -аминокислотного линкера;
2. Синтез соединений, в которых остаток 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина заменен на амины иной структуры;
3. Синтез нуклеозидных аналогов посредством введения в положение *N*⁹ пурина углеводов и псевдоуглеводных фрагментов;
4. Модификация структуры путем замены пуринового фрагмента на его аналоги.

Далее рассмотрен синтез новых конъюгатов по всем представленным направлениям.

2.2.2 Синтез конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином, содержащих в качестве линкера фрагменты ω -аминокислот¹

Получены конъюгаты пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином **12a-d,f-l**, (*R*)-**12g**, (*S*)-**12c,g,l**, содержащие в качестве линкера остатки широкого ряда ω -аминокислот.

Целевые конъюгаты пурина с амином **1** получены исходя из *N*-фталоил- ω -аминокислот **7a-d,f-l**. Обработка этих соединений оксалилхлоридом приводила к соответствующим хлорангидридам, которые затем вводили в реакцию ацилирования амина **1** в присутствии триэтиламина (ТЭА) или *N,N*-диэтиланилина (ДЭА). Замечено, что использование ДЭА способствует образованию меньших количеств примесей, чем использование ТЭА, и обеспечивает более простую очистку продукта и более высокие выходы *N*-фталоил- ω -аминокислот (42–57% в случае использования ТЭА и 60–71% при применении ДЭА).

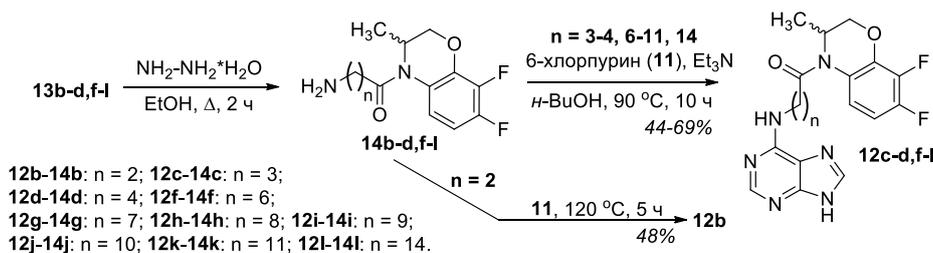


12a: *n* = 1; **12h**: *n* = 8;
12b: *n* = 2; **12i**: *n* = 9;
12c: *n* = 3; **12j**: *n* = 10;
12d: *n* = 4; **12k**: *n* = 11;
12f: *n* = 6; **12l**: *n* = 14.
12g: *n* = 7;

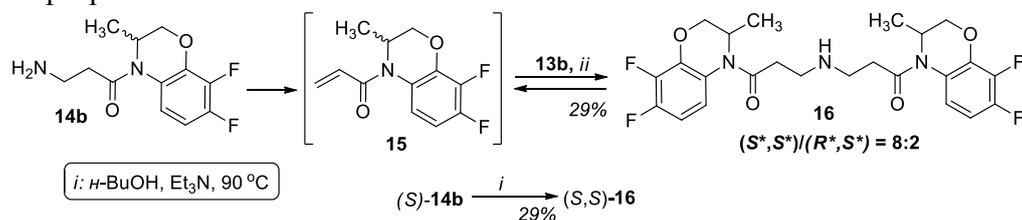
Обработка полученных соединений **13b-d,f-l** гидразингидратом в кипящем этаноле приводила к соответствующим первичным аминам. При выделении аминов **14b-d,f-l** из реакционной массы наблюдались некоторые особенности. Так, выделение первичных коротко- и среднецепочечных аминов **14b-d,f-i** проводили при обработке раствором соляной кислоты, при этом образовывался легкоотделяемый осадок фталгидразида. Следует подчеркнуть, что с удлинением линкера происходит увеличение липофильности продуктов, в том числе промежуточных первичных аминов **14j-l**, что значительно осложняет их отделение от побочного продукта реакции гидразинолиза (фталгидразида) по стандартной схеме. Нами был модифицирован способ выделения аминов **14j-l**: их выделение из реакционной массы осуществляли экстракцией диэтиловым эфиром.

Первичные амины **14c-d,f-l** вводили в реакцию нуклеофильного замещения хлора в 6-хлорпурине (**11**) (ТЭА, *n*-BuOH, 90 °C) и получали целевые конъюгаты **12c-d,f-l**.

¹ Конъюгаты **12b-d,f** синтезированы совместно с к.х.н. В.В. Мусияк.



Попытки синтезировать в этих условиях конъюгат **12b**, содержащий в качестве линкера остаток β -аланина, оказались неудачными: выход целевого соединения составил около 5%. Установлено, что амин **14b** в этих условиях претерпевает превращение в соответствующий акрилат **15**. В результате взаимодействия с амином **14b** по механизму реакции аза-Михаэля образуется соединение **16**, строение которого подтверждено данными ^1H , ^{13}C , ^{19}F ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения¹.



Для установления стереоконфигурации продукта **16** был проведен аналогичный эксперимент с амином (S) -**14b**, в результате чего выделен продукт (S,S) -**16**, строение которого подтверждено данными ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения. Сравнение ^1H ЯМР спектров и данных ВЭЖХ продуктов реакций привело нас к выводу, что соединение **16** представляет собой смесь диастереомеров в соотношении $(S^*,S^*)/(R^*,S^*)$ 8:2 (рисунок 2).

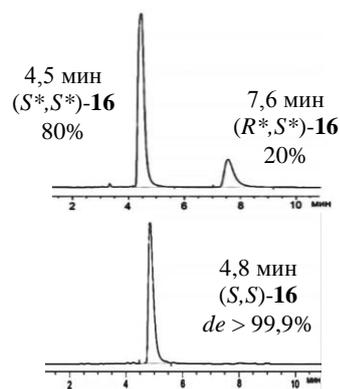
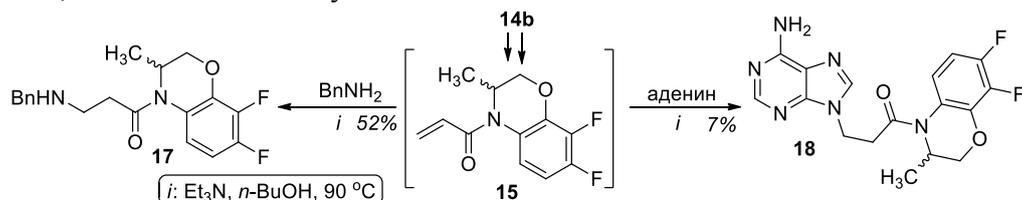


Рисунок 2 – Фрагменты ВЭЖХ хроматограмм соединений **16** и (S,S) -**16** (Kromasil 100-5-C18, MeCN-0,1M NH₄OAc 85:15)

В подтверждение предложенного механизма превращения амина **14b** был проведен дополнительный эксперимент: амин **14b** вводили в реакцию с более основным бензиламином, что приводило к получению продукта **17**; при этом образования соединения **16** не наблюдалось. Синтезировать конъюгат **12b** в результате взаимодействия амина **14b** с аденином не удалось: в результате реакции был выделен N^9 -замещенный продукт **18** с выходом 7%.

Нами были подобраны условия синтеза целевого конъюгата **12b**, исключая выявленный процесс аза-Михаэля: нуклеофильное замещение хлора в 6-хлорпурине проводили в отсутствие растворителя и основания при 120 °C, что позволило получить соединение **12b** с выходом 48%.

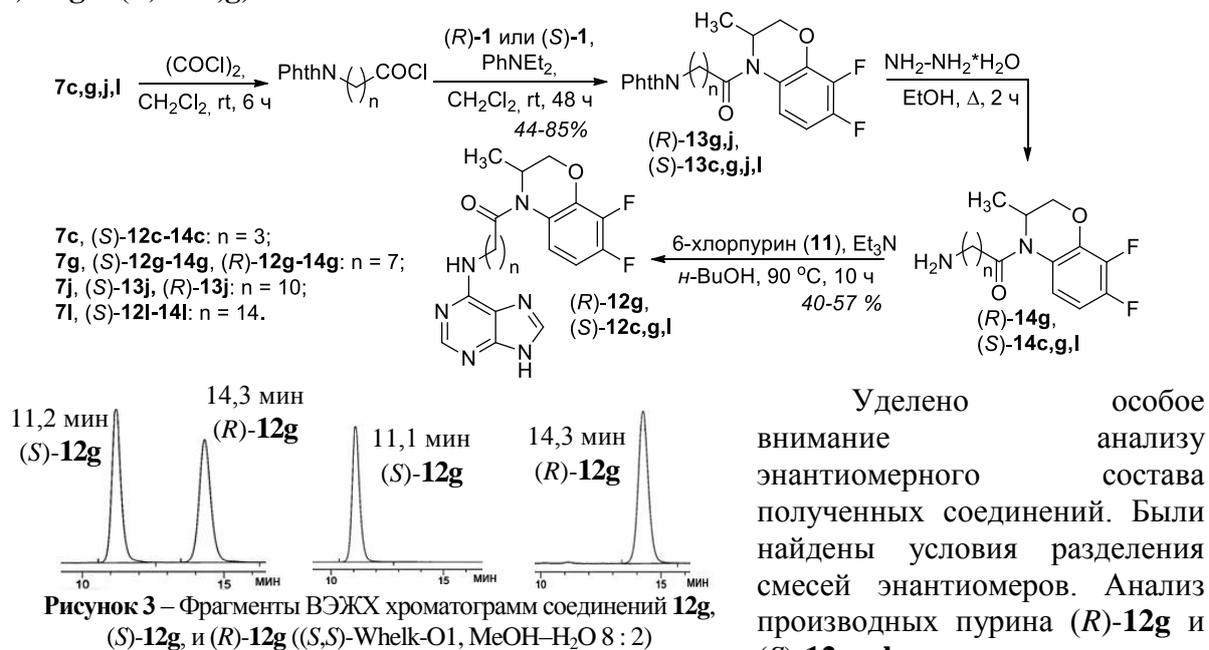


Известно, что стереоконфигурация хиральных соединений оказывает существенное влияние на их биологические свойства. В связи с этим, предложенный ранее подход был использован для синтеза энантимерно чистых конъюгатов пурина с

¹ Совместно с к.х.н. В.В. Мусияк.

аминами (*S*)-**1** и (*R*)-**1**.

Исходя из *N*-фталоил- ω -аминокислот **7c,g,j,l** были получены соответствующие хлорангидриды, которые затем вводили в реакцию ацилирования амина (*S*)-**1** или (*R*)-**1** в присутствии ДЭА. Обработка соединений (*S*)-**13c,g,j,l** и (*R*)-**13g** гидразингидратом в кипящем EtOH приводила к соответствующим аминам, которые вводили в реакцию нуклеофильного замещения хлора в 6-хлорпурине с образованием целевых конъюгатов (*S*)-**12g** и (*R*)-**12c,g,l**.

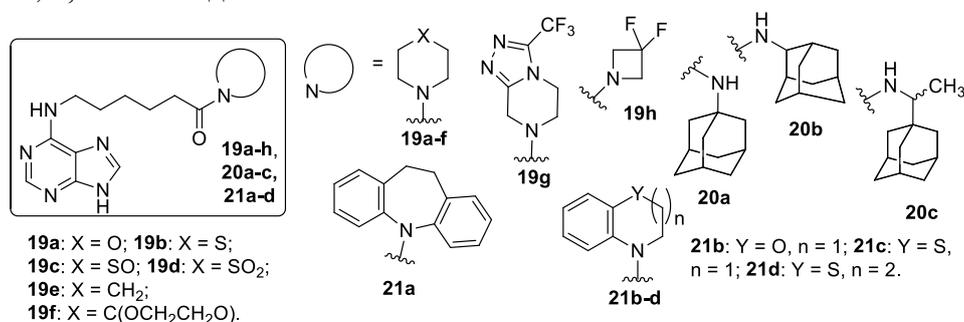


энантиомерную чистоту ($ee > 99\%$, рисунок 3). Это указывает на отсутствие рацемизации в ходе реакций ацилирования, гидразиолиза и нуклеофильного замещения хлора.

Таким образом, 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

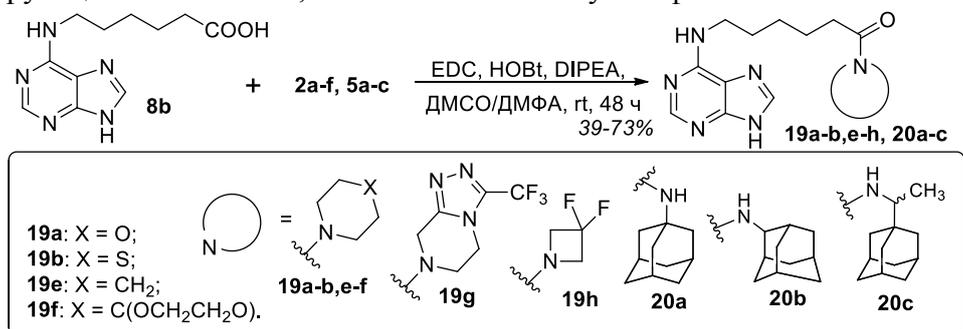
Для изучения связи «структура–биологическая активность» получены аналоги соединения **12e**, в которых фрагмент 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина заменен на остатки аминов различной структуры. Для синтеза целевых соединений использованы циклические алкиламины **2a-f**, бензаннелированные амины **3a-c**, **4**, а также адамантиламины **5a-c**.



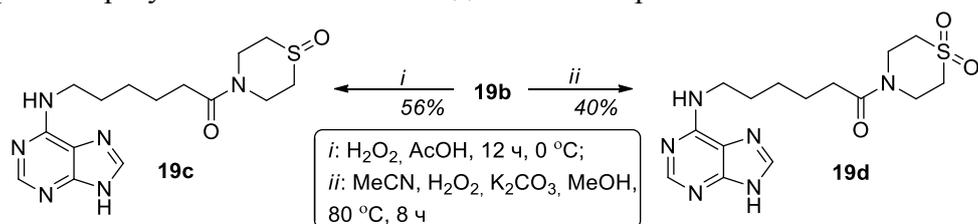
Выбор аминов определялся в первую очередь сходством структуры с соединением-лидером: наличием *N*-гетероцикла, а также использованием гетероциклов, содержащих атомы фтора. В качестве альтернативы использованы производные адамантана, фрагменты которых входят в структуру известных противовирусных

препаратов (амантадин, римантадин и др.).

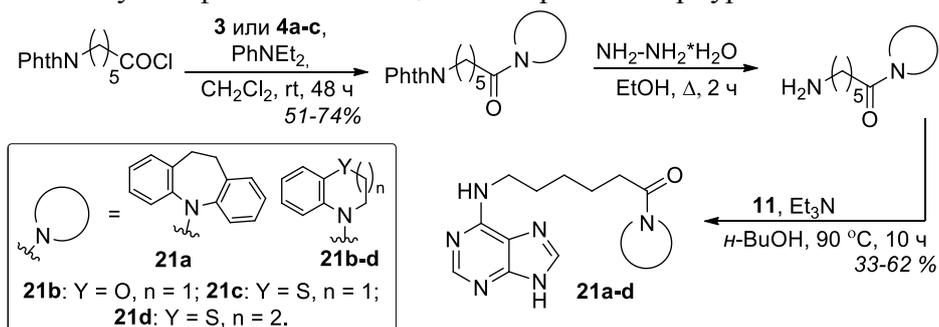
Для получения производных **19a-b,e-h**, **20a-c** проводили конденсацию кислоты **8b** с аминами **2a-f**, **5a-c** с помощью карбодиимидного метода в присутствии конденсирующего агента EDC, вспомогательного нуклеофила HOBT и DIPEA.



Известно, что введение в структуру молекул биологически активных соединений сульфоксидных или сульфонильных групп позволяет, в ряде случаев, увеличить связывание с активным центром фермента, поэтому производное тиоморфолина **19b** было модифицировано путем селективного окисления тиоморфолинового фрагмента до сульфоксида **19c** и сульфона **19d**. Сульфоксид **19c** получен в реакции окисления соединения **19b** перекисью водорода в AcOH при охлаждении. Сульфон **19d** синтезирован в результате окисления соединения **19b** реагентом Пэйна.



Получить конъюгаты пурина **21a-d**, содержащие остатки бензаннелированных аминов, карбодиимидным методом в одну стадию не удастся в связи с низкой нуклеофильностью исходных реагентов, поэтому был предложен метод, аналогичный синтезу производных **12a-l**, в результате последовательности реакций ацилирования, гидразинолиза и нуклеофильного замещения хлора в 6-хлорпурине.



Таким образом, нами были предложены два метода, при использовании которых возможно модифицировать соединение-лидер путем введения широкого ряда аминов, как высоко-, так и низконуклеофильных.

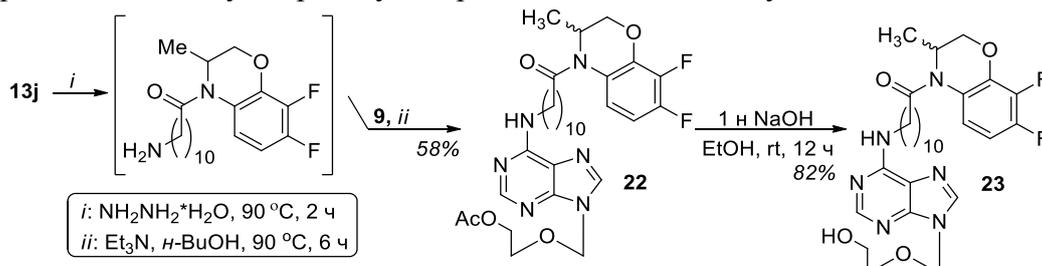
2.2.4 Получение нуклеозидов и их аналогов

В ходе изучения биологической активности полученных соединений было показано, что конъюгаты **12g,j-l** и (*R*)-**12g**, содержащие фрагменты 8-аминооктановой, 11-аминоундекановой, 12-аминододекановой, 15-аминопентадекановой кислот, проявляют высокую цитотоксическую активность. При этом дальнейшее изучение биологических свойств этих соединений представляется проблематичным ввиду их

высокой липофильности и, как следствие, крайне низкой растворимости в воде.

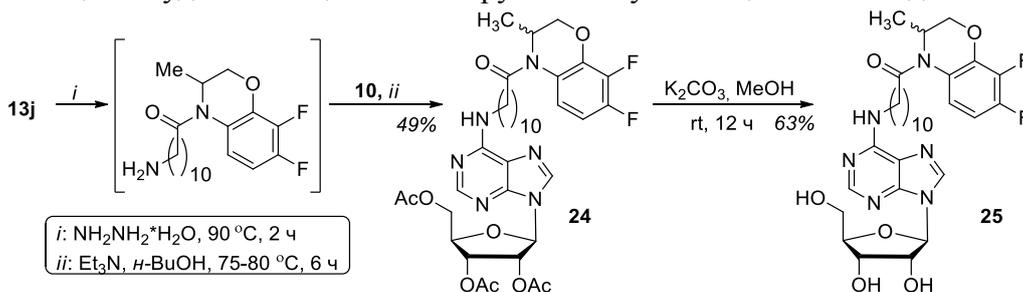
На основе производного 11-аминоундекановой кислоты **12j** была предпринята попытка увеличения водорастворимости путем введения в положение N^9 пурина псевдоуглеводного фрагмента $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$ и углеводных остатков 2'-дезоксирибозы, рибозы и арабинозы.

Синтез нуклеозидных аналогов **22** и **23** проводили исходя из *N*-фталоилпроизводного **13j**. Обработка этого соединения гидразингидратом приводила к соответствующему амину, который вводили в реакцию нуклеофильного замещения хлора в 6-хлор-9-(2-ацетоксиэтоксиметил)пурине (**9**). Ацетилсодержащий конъюгат **22** подвергали щелочному гидролизу до производного 11-аминоундекановой кислоты **23**.



Для получения производных, содержащих углеводные фрагменты (остатки 2'-дезоксирибозы, рибозы и арабинозы), первоначально был предложен хеомэнзиматический метод¹. Он заключался в использовании ферментативной реакции трансгликозилирования, катализируемой пурин-нуклеозидфосфорилазой (PNP) *E. coli*. В качестве исходного субстрата использовали конъюгат **12j**. Однако в связи с низкой растворимостью исходных соединений и необходимостью использования ВЭЖХ для выделения, выход и количества целевых нуклеозидов были недостаточными для проведения биологических испытаний.

Поэтому нами был разработан подход, основанный на реакции нуклеофильного замещения хлора в 6-хлор-9-(2,3,5-три-*O*-ацетил- β -D-рибофуранозил)пурине (**10**) амином, полученным из соответствующего *N*-фталоилпроизводного **13j**, в присутствии ТЭА в *n*-бутаноле. Защищенный конъюгат **24** подвергали действию карбоната калия в метаноле с целью удаления ацетильных групп и получения целевого соединения **25**.



Соединения **24** и **25** должны представлять собой смеси диастереомеров ввиду 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°C . Подтверждение того, что указанные вещества являются смесями диастереомеров, было получено методом ВЭЖХ на хиральной неподвижной фазе, с помощью которой удалось разделить диастереомеры соединений **24** и **25** ((*S,S*)-Whelk-O1, детектирование при 280 нм, $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ 8 : 2).

Для конъюгатов **23** и **25**, а также соединения **12j**, была определена

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

растворимость в воде. «Исходный» конъюгат **12j** был очень мало растворим в воде (0,8 мг/мл), водорастворимость его аналога с псевдоуглеводным фрагментом (**23**) в два раза выше (1,6 мг/мл), соединения с остатком β-D-рибофуранозы (**25**) – в 10,6 раз выше (8,5 мг/мл).

Таким образом, в результате такой модификации удалось получить аналоги с улучшенной водорастворимостью, что расширяет перспективы использования данного ряда соединений в качестве противоопухолевых агентов.

2.2.5 Синтез аналогов соединения **12j** с целью изучения влияния отдельных фрагментов молекулы на биологическую активность

Для выявления фрагментов молекулы конъюгата **12j**, определяющих его биологическое действие, получены соединения, в которых фрагмент пурина отсутствует. В результате взаимодействия хлорангида себациновой кислоты с амином **1** получено соединение **26**, представляющее собой смесь диастереомеров.

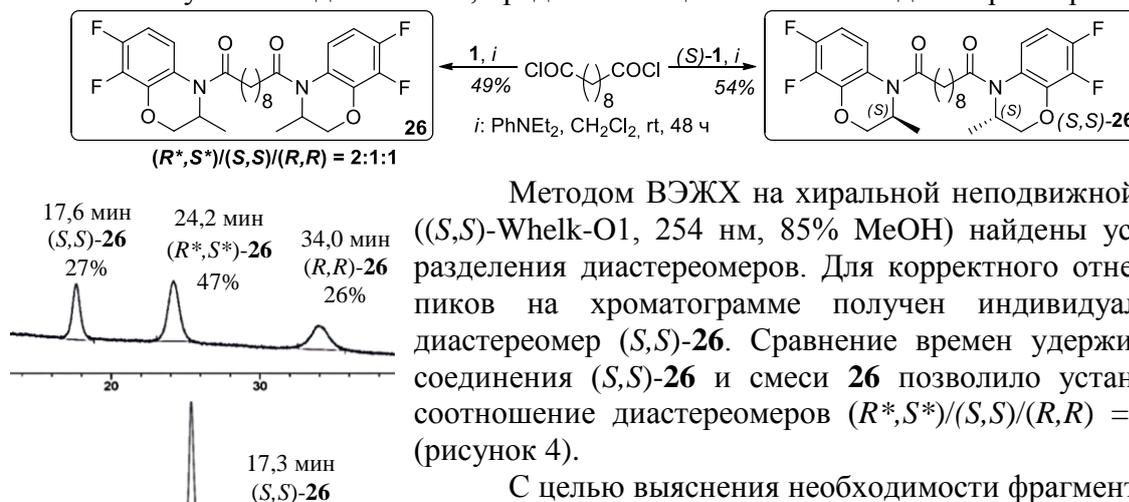
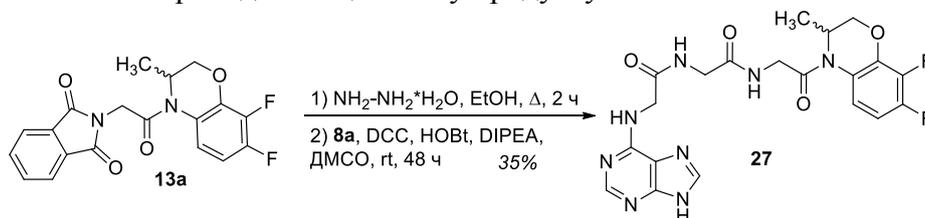


Рисунок 4 – Фрагменты ВЭЖХ хроматограмм **26** и **(S,S)-26** ((S,S)-Whelk-O1, MeOH–H₂O, 85 : 15).

Методом ВЭЖХ на хиральной неподвижной фазе ((S,S)-Whelk-O1, 254 нм, 85% MeOH) найдены условия разделения диастереомеров. Для корректного отнесения пиков на хроматограмме получен индивидуальный диастереомер (S,S)-**26**. Сравнение времен удерживания соединения (S,S)-**26** и смеси **26** позволило установить соотношение диастереомеров (R*,S*)/(S,S)/(R,R) = 2:1:1 (рисунок 4).

С целью выяснения необходимости фрагмента 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазина для проявления биологической активности были получены N-пуринил-ω-аминокислоты **8b-e**. 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 **12j**, содержащий в качестве линкера остаток трипептида GlyGlyGly (соединение **27**). В качестве исходного соединения использовали N-фталоилпроизводное **13a**, которое обрабатывали гидразингидратом. Последующая конденсация амина с N-(пурин-6-ил)глицилглицином (**8a**) в присутствии DCC, HOBT и DIPEA приводила к целевому продукту **27**.

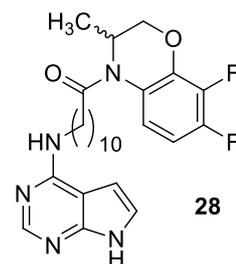


Синтетические модификации соединения **12j**, описанные в данном разделе, имеют чрезвычайную важность для оценки необходимости основных структурных элементов конъюгата для проявления биологической активности, поэтому получению таких соединений было уделено особое внимание.

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

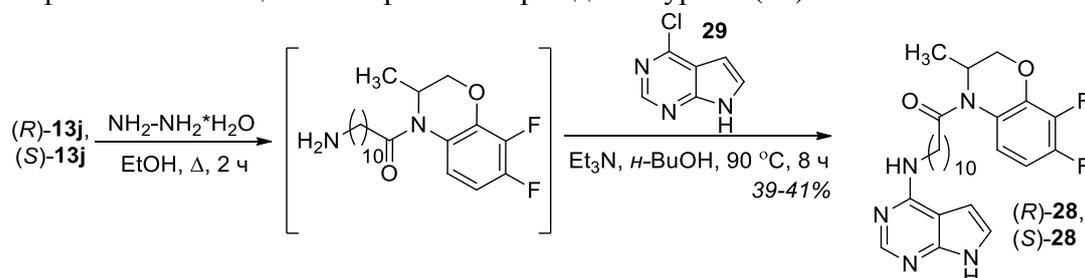
Одним из подходов к модификации соединения **12e** стала замена фрагмента пурина на пуриноподобные структуры, такие как 7-дезапурин и 6,7-диметоксихиназолин.

В лаборатории асимметрического синтеза ИОС УрО РАН был получен конъюгат 7-дезапурина **28** с (*RS*)-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазином, содержащий остаток 11-аминоундекановой кислоты. Показано, что соединение **28** селективно действует на ВПГ-1.



ИД₅₀ (ВПГ-1) 2,32 μM
ХТИ **47**

Нами исследована возможность применения разработанного подхода для получения энантиомерно чистых конъюгатов (*S*)-**28** и (*R*)-**28**. Синтез заключался в последовательных реакциях гидразинолиза *N*-фталоилпроизводных (*R*)-**13j** и (*S*)-**13j** и нуклеофильного замещения хлора в 6-хлор-7-дезапурине (**29**).



Разработан метод анализа энантиомерного состава полученных конъюгатов дезапурина (*R*)-**28** и (*S*)-**28** (рисунок 5), который подтвердил их энантиомерную чистоту (*ee* > 99%).

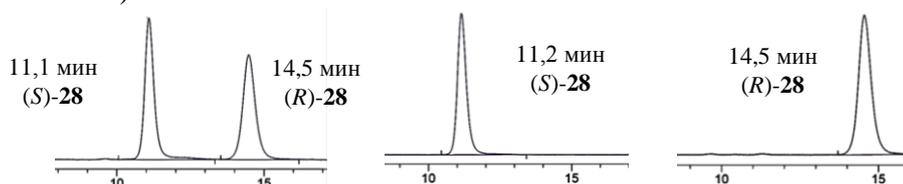
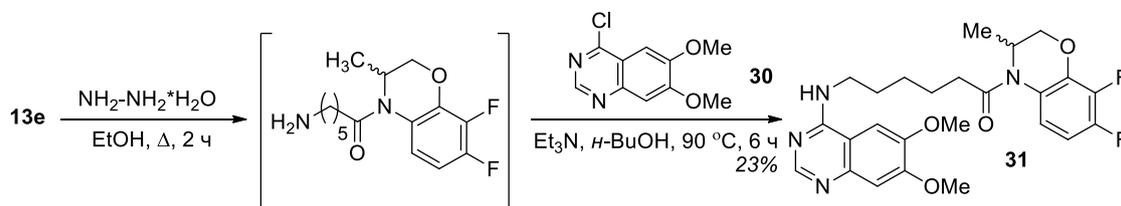


Рисунок 5 – Фрагменты ВЭЖХ хроматограмм соединений **28**, (*S*)-**28** и (*R*)-**28** ((*S,S*)-Whelk-O1, элюент MeOH–H₂O, 85 : 15)

Соединение **12e** было модифицировано путем замены фрагмента пурина на остаток 6,7-диметоксихиназолина. *N*-Фталоилпроизводное **13e** подвергали гидразинолизу с получением первичного амина и нуклеофильному замещению хлора в 4-хлор-6,7-диметоксихиназолине (**30**), в результате чего был получен целевой конъюгат **31**.



Таким образом, показано, что предложенный ранее подход к получению конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазином применим и для синтеза его аналогов на основе 7-дезапурина и 6,7-диметоксихиназолина. Метод позволяет получить соединения в энантиомерно 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), антибактериальная и противоопухолевая. Для углубленного изучения наиболее активных соединений (*S*)-**12e** и **12j** разработаны методы синтеза, позволившие получить их в мультиграммовых количествах.

2.3.1 Противогерпетическая активность *in vitro*

Систематическое изучение противогерпетической активности полученных соединений проводилось в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского (г. Москва)¹. Исследована активность 42 соединений в отношении лабораторного штамма ВПГ-1/L₂ и ацикловир-резистентного штамма ВПГ-1/L₂/R на клетках Vero Еб. В качестве препаратов сравнения использовали ацикловир и фоскарнет, а также выявленное нами ранее соединение-лидер (*S*)-**12e**.

Для соединений **12a-d,f-l**, в которых варьируется длина ω-аминокислотного фрагмента, показано, что короткоцепочечные конъюгаты и конъюгаты со средней длиной линкера (**12a-d,f**, $n = 1-4$, 6) не обладают противогерпетической активностью (рисунок 6 В,С). Последующее увеличение длины линкера позволило получить соединение **12g** ($n = 7$), активность которого превосходит активность соединения **12e** ($n = 5$) и сохраняет активность в отношении ацикловир-резистентного штамма.

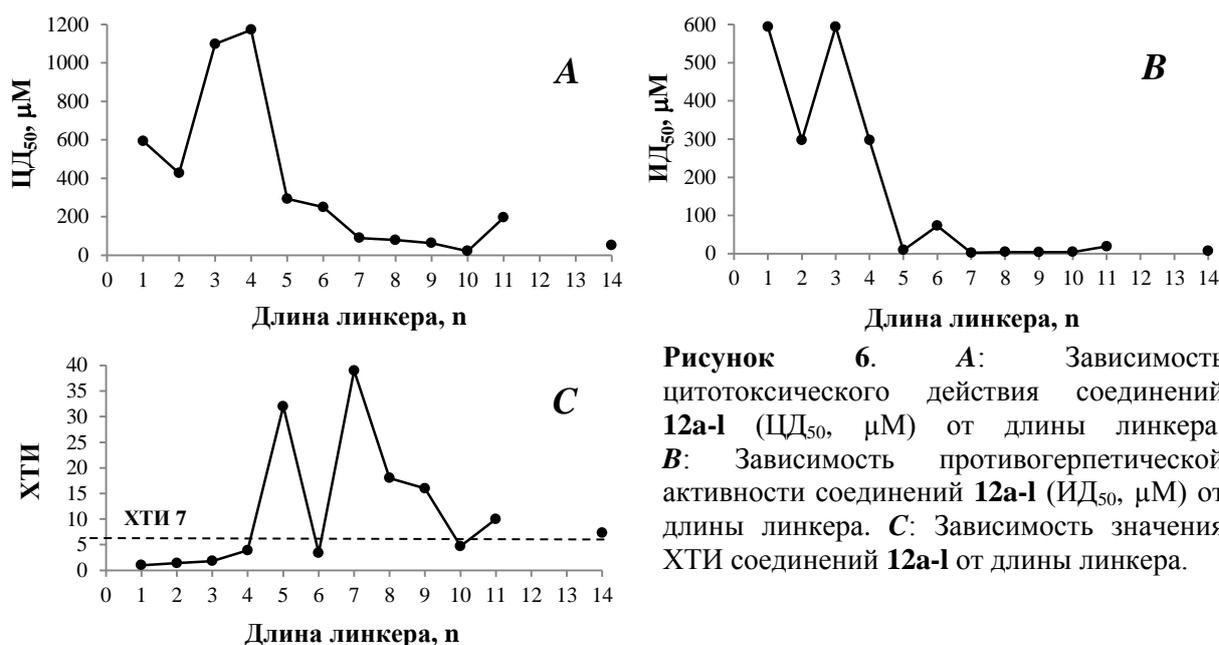


Рисунок 6. А: Зависимость цитотоксического действия соединений **12a-l** (IC₅₀, μM) от длины линкера. В: Зависимость противогерпетической активности соединений **12a-l** (ID₅₀, μM) от длины линкера. С: Зависимость значения ХТИ соединений **12a-l** от длины линкера.

Исследование противогерпетической активности энантиомеров (*R*)-**12g** и (*S*)-**12g** показало, что тенденция к бóльшей активности (*S*)-энантиомера, которая была выявлена для энантиомеров соединения **12e**, сохраняется. Наилучшая селективность действия достигается только при использовании рацемата **12g**, что, вероятно, связано с синергическим действием его энантиомеров.

При увеличении длины линкера (**12h-j,l**, $n = 8-10, 14$) вклад цитотоксичности оказывает существенное влияние на величину ХТИ (рисунок 6С). Поэтому, несмотря на высокую противогерпетическую активность, высокие значения ХТИ не достигались.

Среди соединений **12a-l** шесть конъюгатов обладают значением ХТИ более 7 (рисунок 6С), что свидетельствует о перспективности поиска противовирусных препаратов в указанном ряду соединений.

¹ Исследования выполнены под руководством д.б.н., проф. Г.А. Галегова и к.б.н. В.Л. Андроновой.

Следует отметить, что антигерпетическая активность проявляется при сохранении всех трех элементов структуры («пурин – ω -аминокислота – 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазин»): соединения **1**, **8b-e**, **26** и (*S,S*)-**26**, в которых не было одного или двух значимых фрагментов, активностью не обладали.

При исследовании противогерпетической активности производных пурина **19a-b,d-h**, **20a-c**, **21a-d**, в которых остаток 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина заменен на амины иной структуры, было показано, что конъюгаты пурина с гетероциклическими аминами (соединения **19a-b,d-h**) и производными адамантана **20a-c** активностью не обладают. Введение бензаннелированных аминов по сравнению с неаннелированными приводило к увеличению активности, максимум которой достигался для производного бензоксазина **21b** (ИД₅₀ 9,27 μ M, ХТИ 19), близкого по структуре к соединению **12e**, что указывает на перспективность синтеза и исследования производных бензоксазина.

Соединение **12j** обладало высокой антигерпетической активностью, сопряженной с высокой цитотоксичностью (ЦД₅₀ 21,5 μ M). Модификация путем введения псевдоуглеводного фрагмента СН₂-О-СН₂-СН₂-О привела к получению конъюгатов **22** и **23** (таблица 1). Положительным результатом введения таких остатков можно считать увеличение селективности действия этих соединений (ХТИ > 7) по сравнению с предшественником **12j**. Соединение **24**, содержащее ацетилзащищенный углеводный остаток, не обладает высокой цитотоксичностью и не проявляет значимую противогерпетическую активность. Однако удаление защитных групп (соединение **25**) привело к существенному увеличению как цитотоксичности, так и противогерпетической активности.

Энантиомеры конъюгата **28**, в котором фрагмент пурина заменен на его аналог, 7-деазапурин, показали высокую активность в отношении ВПГ-1 (в том числе в отношении ацикловир-резистентного штамма): обнаружено, что энантиомер (*S*)-**28** обладает ИД₅₀ 1,45 μ M и ХТИ 82, что стало наилучшими показателями в рассматриваемом ряду соединений.

Производное 6,7-диметоксихиназолина **31** не показало противогерпетической активности даже в субтоксической концентрации, однако проявило высокую цитотоксическую активность (ЦД₅₀ 13,8 μ M), что является максимумом среди всех изученных соединений. Это соединение может стать основой для последующих работ по разработке противоопухолевых агентов.

Таким образом, модификации, заключающиеся в замене фрагмента пурина на его структурные аналоги, представляются весьма перспективными и открывают возможность получения соединений, обладающих значительной биологической активностью.

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

Соединение-лидер (*S*)-**12e** показало высокую ингибирующую способность в отношении ВПГ-1. Для его дальнейшего продвижения в клиническую практику и

Таблица 1 – Цитотоксичность и противогерпетическая активность нуклеозидов и аналогов пурина

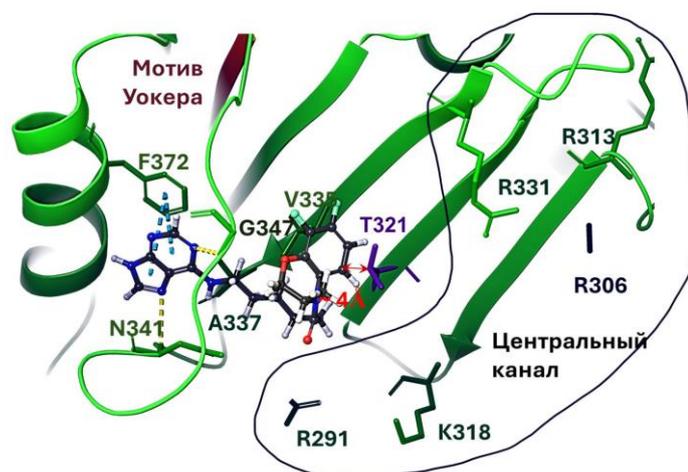
Соед.	n	ЦД ₅₀ , μ M	ВПГ-1/L ₂		ВПГ-1/L ₂ /R	
			ИД ₅₀ , μ M	ХТИ	ИД ₅₀ , μ M	ХТИ
22	10	149	18,6	8,0	25,9	5,8
23	10	359	37,1	9,7	55,7	6,4
24	10	1098	147	7,4	147	7,4
25	10	23,3	9,28	2,5	9,28	2,5
(<i>R</i>)- 28	10	97,5	3,88	25	3,88	25
(<i>S</i>)- 28	10	119	1,45	82	2,91	41
Ацикловир	–	>444	1,73	>256	>444	>1
12j	10	21,5	4,64	4,6	9,28	2,3
28	10	109	2,32	47	4,64	23

рационального синтеза более эффективных аналогов требуется тщательное изучение его механизма действия.

В Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского проведены исследования стадии жизненного цикла ВПГ-1, на которую направлено действие (*S*)-**12e**. Показано, что (*S*)-**12e** не оказывает значительного влияния на стадии связывания с клеточными рецепторами, проникновения ВПГ в клетку и выхода ВПГ из клетки; предположительно ингибирует репликацию вирусного генома на этапе сборки капсида и упаковки вирусной ДНК в капсид.

Для определения предполагаемой мишени, на которую направлено действие соединения-лидера (*S*)-**12e**, в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского выполнена селекция устойчивых к данному конъюгату пурина штаммов ВПГ-1. В Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (г. Москва)¹ проведено высокопроизводительное секвенирование ДНК резистентных клонов. Показано, что за резистентность к (*S*)-**12e** ответственна мутация в гене UL15. Ген UL15 кодирует большую субъединицу терминазного комплекса, ответственную за ключевые процессы репродуктивного цикла ВПГ; потеря ее функциональной активности приводит к нарушению образования зрелых вирионов.

В Уфимском институте химии УФИЦ РАН (г. Уфа) под руководством д.х.н. С.С. Борисевич проведено молекулярное моделирование взаимодействия (*S*)-**12e** с большой субъединицей терминазы ВПГ-1. Определен возможный сайт связывания с большой субъединицей терминазы ВПГ-1



(рисунок 7): участок под петлей 339-350 рядом с центральным каналом в непосредственной близости к остатку мутировавшей аминокислоты T321. Полученный результат позволит проводить целенаправленный поиск конъюгатов пурина на основе молекулярного моделирования.

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*)-**12e** было наработано и передано для изучения активности в отношении ВПГ-1 и ВПГ-2 в опытах *in vivo* в Санкт-Петербургском НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (г. Санкт-Петербург) под руководством д.б.н. В.В. Зарубаева. Установлено, что при однократном внутривнутреннем введении белым мышам ЛД₅₀ составляет 332 мг/кг (умеренно токсичное соединение). Проведено

¹ Исследование выполнено под руководством д.б.н. А.В. Белявского

исследование протективной активности соединения-лидера на моделях герпетического энцефалита, вызванного ВПГ-1, и герпетического вагинита, вызванного ВПГ-2. В качестве препарата сравнения использовали ацикловир. При использовании модели герпетического энцефалита соединение (S)-**12e** 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)-**12e** приводило к снижению степени проявления патологии на всех сроках эксперимента и снижению специфической смертности 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 удастся повысить эффективность терапии и использовать соединения в более низких дозах, за счет чего может быть снижена вероятность развития нежелательных побочных эффектов. Показано, что при использовании комбинации (S)-**12e** с фоскарнетом обеспечивается аддитивный эффект, доза каждого из соединений может быть снижена в два раза при использовании их в комбинации. Для комбинаций с другими препаратами наблюдали взаимоусиливающий эффект.

2.3.5 Активность синтезированных соединений в отношении вируса гриппа

Для ряда гомологов **12a-1** изучена активность в отношении вируса гриппа А (таблица 2). Установлено, что ИД₅₀ снижается с ростом длины линкера, но сопровождается значительным увеличением цитотоксичности. Лишь одно из соединений, конъюгат **12c**, имело ХТИ 10. В отношении вируса гриппа В это соединение оказалось неактивным.

Замена остатка амина **1** на амины иной структуры позволила выявить одно соединение, производное бензотиазина **21c**, с ХТИ, равным 11. Среди производных адамантана **20a-c** высокоэффективных соединений не обнаружено.

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

Таблица 2 – Цитотоксичность и активность полученных соединений в отношении вируса гриппа А

Соед.	n	ЦД ₅₀ , мкг/мл	ИД ₅₀ , мкг/мл	ХТИ
12a	1	>300	49,2	6
12b	2	251	>100	3
12c	3	>300	29	10
12d	4	297	80,1	4
(S)- 12e	5	10,2	>4	3
12g	7	2	> 1,1	2
(S)- 12g	7	5	2	3
(R)- 12g	7	3	> 1	3
12h	8	8,3	>3,7	2
12i	10	0,21	> 0,13	2
12j	11	0,18	0,11	2
12l	14	1,8	> 1,1	2
21c	5	35,3	3,3	11
Осельта- мивир		>200	0,3	>667

2.3.6 Антибактериальная активность

В Уральском НИИ дерматовенерологии и иммунопатологии (г. Екатеринбург) под руководством д.м.н. Н.П. Евстигнеевой и к.м.н. Н.А. Герасимовой изучена антимикробная активность конъюгатов **12e-1**, содержащих в качестве линкера остатки ω-аминокислот (таблица 3). Показано, что активность соединений в отношении штамма *N. gonorrhoeae*, существенно зависит от длины линкера. Максимальная активность

достигалась для производных с длинной полиметиленовой цепью **12i-k** и превышала активность спектиномицина, действующего препарата выбора при лечении гонококковой инфекции.

Соединения **12e-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.

Таблица 3 – Антимикробная активность **12e-l**, МИК, мкг/мл

Штамм <i>N. gonorrhoeae</i>	Длина линкера, n								Спектиномицин	Цефтриаксон
	5 (12e)	6 (12f)	7 (12g)	8 (12h)	9 (12i)	10 (12j)	11 (12k)	14 (12l)		
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
Резист. к цефтриаксону	–	–	–	62,5	>250	31,2	>250	–	–	–

Введение углеводных фрагментов в структуру **12j** привело к небольшому снижению активности в отношении штамма *N. gonorrhoeae* в случае рибозида **25** (МИК 7,8 мкг/мл).

2.3.7 Противоопухолевая активность синтезированных соединений *in vitro*

В связи с выявленной у некоторых соединений высокой цитотоксичностью в опытах *in vitro* в НИИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва) под руководством к.фарм.н. М.А. Барышниковой изучена цитотоксическая активность полученных соединений в отношении ряда клеточных линий (таблица 4). Исследование проводилось на фибробластах легкого WI-38 (здоровые клетки) и опухолевых клеточных линиях (ОКЛ). Следует отметить, что соединение считается цитотоксически активным, если его ИД₅₀ ≤ 100 μМ.

Показано, что противоопухолевая активность в ряду существенно зависит от длины линкера: производное глицина **12a** оказалось не цитотоксичным, производные б-аминогексановой кислоты **12e** и (*S*)-**12e** проявляли цитотоксическую активность, но, в целом, уступали соединениям **12g** и (*R*)-**12g**. Стереоконфигурация не оказывала существенного влияния на противоопухолевую активность (на примере (*S*)-**12e** и (*R*)-**12g**). Наиболее активными в отношении изученных ОКЛ стали конъюгаты с длинной полиметиленовой цепью **12g,j-l**. Максимум активности достигался производным 11-аминоундекановой кислоты **12j** в отношении ОКЛ SNU-1 (ИД₅₀ 2,0 μМ).

Таблица 4 – Противоопухолевая активность (ИД₅₀, μМ) ряда конъюгатов пурина

Соединение, n	Wi-38	A549	SK-BR-3	SNU-1	Jurkat	CT-26	MDA-MB231	4T1	COLO201	HepG2
12a (1)	>100	>100	>100	>100	>100	–	–	–	–	–
12e (5)	98	53	>100	20	67	–	–	–	–	–
(<i>S</i>)- 12e (5)	81	>100	>100	26	37	–	–	–	–	–
12g (7)	50	43	75	7,0	8,5	19	44	23	0,68	8,5
(<i>R</i>)- 12g (7)	57	59	86	7,0	9,9	–	–	–	–	–
12j (10)	21	21	28	2,0	10	7,0	21	0,63	0,91	4,8
12k (11)	71	75	85	6,0	40	3,4	12	4,9	3,5	5,2
12l (14)	35	60	99	6,0	32	3,0	28	2,3	1,3	9,7
Доксорубин	0,23	0,22	1,5	0,14	0,12	1,2	1,1	0,6	1,8	1,2

WI-38 (фибробласты легкого), A549 (немелкоклеточный рак легкого), SK-BR-3 (рак молочной железы, РМЖ), SNU-1 (карцинома желудка), Jurkat (острый Т лимфобластный лейкоз), CT-26 (колоректальная карцинома мыши), MDA-MB-231 (РМЖ человека), 4T1 (РМЖ мыши), COLO201 (колоректальная аденокарцинома человека), HepG2 (гепатоцеллюлярная карцинома человека)

С целью изучения механизма действия конъюгата **12j** в Сибирском

государственном медицинском университете (г. Томск) под руководством к.б.н. А.Г. Першиной был проведен эксперимент по исследованию клеточного цикла с использованием проточной цитофлуориметрии на ОКЛ MDA-MB231 и COLO201. По результатам сделан вывод о том, что механизм цитотоксического действия соединения **12j** связан с ингибированием синтеза ДНК.

Ввиду высокой противоопухолевой активности производного **12j**, оно было выбрано в качестве соединения для дальнейших синтетических модификаций. Значения активности соединений **22** и **23** с остатком $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ остались на уровне предшественника **12j** (таблица 5). Следует особо отметить, соединение **24**, содержащее остаток $\beta\text{-D-рибофуранозы}$, впервые в описываемом ряду не цитотоксично в отношении здоровых клеток Wi-38, но сохраняет активность в отношении ряда ОКЛ.

Таблица 5 – Противоопухолевая активность (ID_{50} , μM) нуклеозидных аналогов

Соединение	n	Wi-38	A549	SK-BR-3	SNU-1	Jurkat
22	10	30	15	>100	5,6	10
23	10	14	9,4	42	3,7	7,3
24	10	> 100	81	>100	9,8	3,2
25	10	97	69	30	20	14
12j	10	21	21	28	2,0	10
Доксорубин		0,23	0,22	1,5	0,14	0,12

Можно заключить, что модификация пурина в положении N^9 не приводит к потере цитотоксической активности, поэтому такой подход может стать основой новых исследований с целью расширения ряда конъюгатов пурина с улучшенной водорастворимостью.

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

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 энантиомерно чистые производные 7-дезапурина.
2. Разработаны подходы к получению энантиомерно чистых конъюгатов пурина и его аналогов, предложены методы анализа их энантиомерной 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 энантиомерно 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)ундеканойл]-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.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ:

1. **Vozdvizhenskaya O.A.** *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. 2019. Is. 30. Pp. 4811–4821 (0,69 п.л./0,07 п.л.) (*Scopus, Web of Science*).
2. **Воздвиженская О.А.** 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. № 6. С. 373–380 (0,44 п.л./ 0,07 п.л.) [**Vozdvizhenskaya O.A.** Antiviral effect of novel purine conjugate LAS-131 against Herpes simplex virus type 1 (*Herpesviridae: Alphaherpesvirinae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) *in vitro* / V.L. Andronova, G.A. Galegov, V.V. Musiyak, **O.A. Vozdvizhenskaya**, G.L. Levit, V.P. Krasnov // *Voprosy virusologii.* 2020. V. 65. Is. 6. Pp. 373–380 (*Scopus, Web of Science*)].
3. **Воздвиженская О.А.** Синтез и противогерпетическая активность новых конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином / **О.А. Воздвиженская**, В.Л. Андропова, Г.А. Галегов, Г.Л. Левит, В.П. Краснов, В.Н. Чарушин // *Химия гетероциклических соединений.* 2021. Т. 57. № 4. С. 490–497 (0,50 п.л./0,08 п.л.) [**Vozdvizhenskaya O.A.** Synthesis and antiherpetic activity of novel purine conjugates with 7,8-difluoro-3-methyl-3,4-dihydro-2*H*-1,4-benzoxazine / **O.A. Vozdvizhenskaya**, V.L. Andronova,

- G.A. Galegov, G.L. Levit, V.P. Krasnov, V.N. Charushin // Chem. Heterocycl. Compd. 2021. V. 57. Is. 4. Pp. 490–497 (0,50 п.л./0,08 п.л.) (*Scopus, Web of Science*)].
4. **Воздвиженская О.А.** 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 // Химия гетероциклических соединений. 2021. Т. 57. № 4. С. 498–504 (0,44 п.л./0,04 п.л.) [**Vozdvizhenskaya O.A.** Novel purine conjugates with N-heterocycles: synthesis and anti-influenza activity / V.P. Krasnov, V.V. Zarubaev, D.A. Gruzdev, **O.A. Vozdvizhenskaya**, S.A. Vakarov, V.V. Musiyak, E.N. Chulakov, A.S. Volobueva, E.O. Sinegubova, M.A. Ezhikova, M.I. Kodess, G.L. Levit, V.N. Charushin // Chem. Heterocycl. Compd. 2021. V. 57. Is. 4. Pp. 498–504 (0,44 п.л./0,04 п.л.) (*Scopus, Web of Science*)].
 5. **Vozdvizhenskaya O.A.** 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, K.V. Nevskaya, O.Y. Brikunova, D.A. Gruzdev, G.L. Levit // Molecules. 2023. V. 28. Is. 4. 1853 (0,81 п.л./0,08 п.л.) (*Scopus, Web of Science*).
 6. **Vozdvizhenskaya O.A.** 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. Belyavskiy, 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 (1,38 п.л./0,15 п.л.) (*Scopus, Web of Science*).
 7. **Vozdvizhenskaya O.A.** Combined Effect of Basic Antitherpetic Drugs with a New Inhibitor of the Terminase Complex of Herpes Simplex Virus Type 1 in Vero Cell Cultures / V.L. Andronova, G.A. Galegov, **O.A. Vozdvizhenskaya**, G.L. Levit, V.P. Krasnov, V.N. Charushin // Dokl. Biol. Sci. 2024. V. 517. Pp. 55–58. Усл. п. л. 0,46. (0,46 п.л./0,08 п.л.) (*Scopus, Web of Science*).

Патенты

8. Патент РФ № 2760305. 4-[(Пурин-6-ил)аминополиметилкарбонил]-производные 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина, обладающие противоопухолевой активностью / В.П. Краснов, **О.А. Воздвиженская**, Г.Л. Левит, Д.А. Груздев, М.А. Барышникова, А.Г. Першина, О.Я. Брикунова, В.Н. Чарушин В.Н.; заявитель и патентообладатель ИОС УрО РАН – заявл. 26.04.2021; опубл. 23.11.2021. (1,60 п.л./0,2 п.л.).

Другие публикации

9. **Воздвиженская О.А.** Синтез новых конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином / **О.А. Воздвиженская**, В.В. Мусияк, Г.Л. Левит, В.П. Краснов // V Всероссийская с международным участием конференция по органической химии. Сборник тезисов (Владикавказ, 10–14 сентября 2018). С. 408 (0,06 п.л. / 0,02 п.л.).
10. **Воздвиженская О.А.** Синтез и противовирусная активность новых конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином / **О.А. Воздвиженская**, В.В. Мусияк, Г.Л. Левит, В.П. Краснов // 2-я Международная научно-практическая конференция MOSM 2018. Сборник тезисов (Екатеринбург, 15–17 ноября 2018). С. 66 (0,06 п.л. / 0,02 п.л.).
11. **Воздвиженская О.А.** Синтез *N*-[ω-(пурин-6-ил)аминоалканоил] производных (*RS*)-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина / **О.А. Воздвиженская**, В.В. Мусияк, Г.Л. Левит, В.П. Краснов // VI Всероссийская конференция с международным участием «Техническая химия. От теории к практике». Сборник тезисов (Пермь, 20–24 мая 2019). С. 102 (0,06 п.л. / 0,02 п.л.).
12. **Воздвиженская О.А.** Синтез конъюгатов пурина с *N,S*-гетероциклами – потенциальных противовирусных агентов / **О.А. Воздвиженская**, Г.Л. Левит, В.П. Краснов, В.Н. Чарушин

- // 4-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2019». Сборник тезисов (Екатеринбург, 9–14 июня 2019). С. 304 (0,06 п.л. / 0,02 п.л.).
13. **Воздвиженская О.А.** Синтез новых конъюгатов пурина с гетероциклическими аминами / **О.А. Воздвиженская**, Г.Л. Левит, В.П. Краснов // Всероссийская конференция «Марковниковские чтения: органическая химия от Марковникова до наших дней». Сборник тезисов (Красновидово, 17–20 января 2020). С. 111. (0,06 п.л. / 0,03 п.л.).
 14. **Vozdvizhenskaya O.** Peculiarities in the Synthesis of Novel Biologically Active Purine Derivatives Containing Fragments of Amino Acids and Heterocyclic Amines Peculiarities / V. Musiyak, **O. Vozdvizhenskaya**, T. Matveeva, G. Levit, V. Krasnov // Chemistry Conference for Young Scientists “ChemCYS 2020”. Book of Abstracts (Blakenberge, Belgium, February 19–21, 2020). P. 114 (0,06 п.л. / 0,01 п.л.).
 15. **Воздвиженская О.А.** Разделение рацемических конъюгатов 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина с производными пурина и пиримидина методом ВЭЖХ на хиральных стационарных фазах / А.А. Тумашов, В.В. Мусияк, **О.А. Воздвиженская**, Г.Л. Левит, В.П. Краснов // Проблемы теоретической и экспериментальной химии. Тезисы докладов XXX Российской молодежной научной конференции (Екатеринбург, 6–9 октября 2020). С. 427 (0,06 п.л. / 0,01 п.л.).
 16. **Воздвиженская О.А.** Синтез и противовирусная активность новых конъюгатов пурина / В.П. Краснов, Г.Л. Левит, В.В. Мусияк, Д.А. Груздев, С.А. Вакаров, Т.В. Матвеева, **О.А. Воздвиженская**, В.Н. Чарушин // Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» OrgChemBioTech2020. Сборник тезисов (Екатеринбург, 18–21 ноября 2020). С. 51–52 (0,12 п.л. / 0,02 п.л.).
 17. **Воздвиженская О.А.** Синтез новых конъюгатов пурина с *N,O*- и *N,S*-гетероциклами – потенциальных противовирусных агентов / **О.А. Воздвиженская**, Г.Л. Левит, В.П. Краснов // Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» OrgChemBioTech2020. Сборник тезисов (Екатеринбург, 18-21 ноября 2020 г). С. 336–337. (0,12 п.л. / 0,04 п.л.).
 18. **Vozdvizhenskaya O.A.** Synthesis and biological activity of novel purine conjugates / V.P. Krasnov, G.L. Levit, D.A. Gruzdev, V.V. Musiyak, **O.A. Vozdvizhenskaya**, V.L. Andronova, G.A. Galegov, M.A. Baryshnikova, V.N. Charushin // VI North Caucasus Organic Chemistry Symposium, Book of Abstracts (Stavropol, April 18–22, 2022) P. 39 (0,06 п.л. / 0,01 п.л.).
 19. **Воздвиженская О.А.** Синтез и цитотоксическая активность производных *N*-(пурин-6-ил)аминополиметилкарбоновых кислот / В.П. Краснов, **О.А. Воздвиженская**, М.А. Барышникова, А.Г. Першина, Д.А. Груздев, Г.Л. Левит // XVII Всероссийская научно-практическая конференция «Новые перспективные противоопухолевые препараты и медицинские технологии: проблемы, достижения, перспективы». Сборник тезисов (Москва, 20–21 апреля 2023 г) С. 49 (0,06 п.л. / 0,01 п.л.).
 20. **Воздвиженская О.А.** 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 // VII Международная конференция MOSM 2023. Сборник тезисов (Екатеринбург, Пермь, 10–16 сентября 2023 г) С. 244. (0,06 п.л. / 0,01 п.л.).
 21. **Воздвиженская О.А.** Изучение связи «структура – антимикробная активность» конъюгатов пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазином / Н.А. Герасимова, **О.А. Воздвиженская**, Г.Л. Левит, В.П. Краснов, Н.П. Евстигнеева // VII Международная конференция MOSM 2023. Сборник тезисов (Екатеринбург, Пермь, 10–16 сентября 2023 г) С. 272 (0,06 п.л. / 0,01 п.л.).