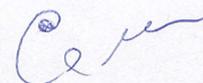


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПРОБЛЕМ ХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И
МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

На правах рукописи



Семаков Алексей Владимирович

**МОДИФИКАЦИЯ АНТРАЦИКЛИНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ
ПРИРОДНЫМИ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫМИ ЛАКТОНАМИ**

1.4.16 – Медицинская химия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:

д.х.н. Брель Валерий Кузьмич

Черноголовка – 2026

Оглавление

Введение.....	3
1. Химическая модификация антрациклиновых антибиотиков (Литературный обзор)	8
1.1 Введение. Антрациклины и возникновение антрациклиновой кардиотоксичности	8
1.2 Модификации по С-14 атому агликона.....	16
1.3 Модификации по С-8 и С-9 атомам кольца А агликона.....	27
1.4 Модификации по С-13 атому агликона.....	30
1.5 Гидразоны по С-13 атому агликона.....	36
1.6 Ацильные производные по азоту аминасахара	41
1.7 Уретаны по азоту аминасахара	55
1.8 Алкильные производные по аминогруппе.....	62
1.9 Прочие производные по аминогруппе	73
1.10 Модификации по кольцу С агликона	76
1.11 Модификации по кольцу D агликона	81
2. Результаты и обсуждение	85
2.1 Часть I. Выделение стартовых сесквитерпеновых лактонов	86
2.2 Часть II. Химическая модификация сесквитерпеновых лактонов.....	101
2.3 Часть III. Синтез конъюгатов антрациклинов с сесквитерпеновыми лактонами	117
3. Экспериментальная часть.....	140
Заключение	202
Список сокращений	204
Список литературы	205

Введение

Актуальность исследования. Антрациклиновые антибиотики с момента введения в клиническую практику в 70х годах остаются широко используемым классом противоопухолевых препаратов. Данные противоопухолевые агенты и сегодня остаются препаратами первой линии при лечении новообразований самого различного генеза, таких как: различных сарком мягких тканей, раке молочной железы, мелкоклеточном раке легкого, а также бластом, возникших из клеток кроветворной системы. Прошло чуть более 50 лет от открытия антрациклинов как пигментов стрептомицетов до клинических испытаний антрациклинов 3 поколения. Хотя арсенал противоопухолевых антрациклинов природного и синтетического происхождения довольно велик, поиски эффективных противоопухолевых препаратов среди вторичных метаболитов стрептомицетов продолжаются. Исследования направлены не только на получение препаратов, цитотоксичных сами по себе, но и на создание препаратов со сниженной токсичностью и работающих на более широком спектре опухолей. На данный момент основным ограничивающим фактором применения антрациклинов является развиваемая ими кардиотоксичность, что вынуждает клиницистов ограничивать общую кумулятивную дозу антрациклинов. Преодоление кардиотоксичности — приоритетная цель при поиске новых антрациклинов и их лекарственных форм. Другая важная задача на текущий момент — создание препаратов, способных обходить множественную лекарственную устойчивость, что расширит в итоге спектр чувствительных к антрациклинам опухолей. Такие исследования безусловно важны, поскольку позволят в конечном счете избежать ежегодно сотни тысяч смертей от той части онкологических заболеваний, что плохо поддаются химиотерапии.

Цель данной работы – синтез высокоактивных производных антрациклиновых антибиотиков с потенциально сниженным, по сравнению с исходными антрациклиновыми антибиотиками, кардиотоксическим действием. Для достижения этой цели был выбран подход, основанный на получении алкилированных аналогов антрациклинов по аминогруппе даунозаминного фрагмента через реакцию присоединения аза-Михаэля с сесквитерпеновыми лактонами природного или полусинтетического происхождения.

Для достижения поставленной цели в работе решались следующие задачи:

- 1) Поиск доступных растительных источников с большим содержанием сесквитерпеновых лактонов и выделение стартовых сесквитерпеновых лактонов из этих источников;
- 2) Расширение набора сесквитерпеновых источников как строительных блоков для реакции аза-Михаэля путем химической модификации имеющихся сесквитерпеновых лактонов;
- 3) Синтез конъюгатов даунорубицина с полученной библиотекой сесквитерпеновых лактонов, а также синтез amino-конъюгатов других антрациклинов (доксорубицина и 5-имино-даунорубицина) с СЛ;

- 4) Установление цитотоксической активности *in vitro* полученных модифицированных конъюгатов антрациклинов на клеточных культурах опухолевых линий.

Научная новизна и практическая значимость работы. Впервые были синтезированы гибридные молекулы, соединяющие в себе фрагмент молекулы даунорубицина и сесквитерпеновых лактонов со структурными типами эвдесманолидов, гваянолидов, эремофианолидов, гемакранолидов. Впервые показана возможность использования сесквитерпеновых лактонов для модификации антрациклинов напрямую как строительных блоков в реакции аза-Михаэля. Впервые получена серия *N*-алкильных производных доксорубицина и 5-имино-даунорубицина с алкильными заместителями из сесквитерпеновых лактонов. Большая работа проведена по исследованию возможностей применения лактонов девясила, алантолактона и изоалантолактона, как материала для синтеза других соединений-лактонов с разным строением углеродного скелета и несущих разные функциональные группы. Ее применимость выходит за границы данной работы, заключённой в модификации антрациклиновых антибиотиков, эти подходы могут быть использованы для создания библиотек лактонов способных к реакции Михаэля как с целью использования их как относительно небольших строительных блоков в комбинаторной химии, так и для поиска селективных ковалентных ингибиторов широкого круга ферментов (гликолиза, NF- κ B, ферментов сигнальных каскадов) и в перспективе создания на их основе лекарств при использовании их как самостоятельных агентов. В работе собраны методы выделения сесквитерпеновых лактонов в препаративных количествах из коммерчески доступного растительного сырья, а также из растений который каждый исследователь может вырастить в условиях средней полосы России. Синтетические находки в области миграции двойной связи в алкенах могут быть применимы и более широкому количеству субстратов в органическом синтезе чем СЛ. С первого взгляда несложная реакция алкенов с синглетным кислородом не так проста в реализации на практике, особенно в случае в “темновом” варианте, в препаративных масштабах. На примере синтеза артемизитена, включающий этап взаимодействия алкена с синглетным кислородом, подобраны условия где подобный синтез протекает быстро и с высокими выходами, что может быть интересно широкому кругу химиков. Скрининг полученных производных на линиях раковых клеток карциномы легкого A549, рабдомиосаркомы RD, карциномы толстого кишечника HCT116 и аденокарциномы молочной железы MCF7 позволил отобрать 2 соединения-лидера (конъюгаты DAU с эпокси-изо-алантолактоном и дегидрокостус-лактоном), существенно превосходящих исходный даунорубицин по антипролиферативному действию и обладающих низкими значениями острой токсичности. Данные соединения уже проходят исследования на более глубокую биологическую активность, в том числе и на развитие антрациклин-индуцированной кардиомиопатии *in vivo*, что выходит за рамки данной работы.

Методология и методы исследования

Методология диссертационного исследования включала анализ данных о опубликованных ранее работах природных источниках сесквитерпеновых лактонов, данных о известных путях их модификациях и общих подходах в органической химии. Для выполнения работы, связанной с выделением веществ из растительных источников, использовались классические приемы химии природных соединений такие как разные методы экстракции, осаждения, перекристаллизации тонкослойной и колоночной хроматографии. В ходе выполнения работы использовались методы органического синтеза, основанные на реакциях окисления, этерификации, присоединения по типу аза-Михаэля, скелетных перегруппировок, раскрытия эпоксидных циклов, изомеризаций. Вновь полученные соединения были охарактеризованы необходимым набором физико-химических и спектральных данных с применением методов 1D (^1H , ^{13}C и DEPT) и 2D (^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC, ^1H - ^1H NOESY) спектроскопии ЯМР, ТСХ и масс-спектрометрии. Они же использовались для контроля протекания многих реакций и процессов выделения метаболитов из растений.

Положения выносимые на защиту:

- Способы препаративного извлечения лактонов корней девясила. Практичнее проводить выделение этих лактонов по отдельности, с целью получить либо алантолактон, либо изоалантолактон.
- Способы выделения лактонов костуса (горькуши лопуховидной), способ отделения липофильных лактонов от липидов.
- Способность алантолактона к реакциям галоген-перелактонизации с сохранением углеродного скелета или нет.
- Подобранные условия препаративной реакции алкенов с синглетным кислородом на примере синтеза артемизитена из артемизинина.
- Синтез серии *N*-замещенных аналогов даунорубицина через реакцию присоединения сесквитерпеновых лактонов природного или полусинтетического происхождения.
- Синтез *N*-замещенных аналогов доксорубицина и 5-ID через реакцию присоединения сесквитерпеновых лактонов природного или полусинтетического происхождения.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность результатов синтетических исследований обеспечена применением адекватных методов физико-химического анализа, прежде всего ЯМР, структур полученных новых органических соединений. Для конъюгатов антрациклиновых антибиотиков, целевых соединений в данной диссертации, кроме непосредственных выводов следующих из анализа их ЯМР спектров значительная часть информации позволяющая точно произвести отнесения сигналов была взята путем сравнения с данными ЯМР антрациклиновых антибиотиков, исходных сесквитерпеновых лактонов а также

их аминоконъюгатов. Получение целевых конъюгатов антрациклиновых антибиотиков в виде серий веществ позволяло сравнивать между их собой и исключить из выборки все спорные случаи. Основные результаты работы были представлены на следующих конференциях: VIII Молодежная конференция ИОХ РАН, (Москва, Россия, 22-23 мая 2019 г.), XII Всероссийская научная конференция с международным участием и школой молодых ученых Химия и технология растительных веществ (Киров, Россия, 29 ноября – 02 декабря 2022 г.), VII Всероссийская конференция по молекулярной онкологии (Москва, Россия, 21–23 декабря 2022 г.), V Всероссийская конференция по молекулярной онкологии (Москва, Россия, 16–19 декабря 2019 г.), VI Всероссийская конференция по молекулярной онкологии (Москва, Россия, 21–23 декабря 2021 г.), 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» (Волгоград, Россия, 16–19 мая, 2022 г.), 4-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2019» (Екатеринбург, Россия, 9-14 июня 2019 г.), Весенняя школа-конференция ХимРар по медицинской химии МедХимРар-21 (Химки, Россия, 29–30 марта 2021 г.), X Всероссийская научная конференция и школа молодых ученых “Химия и технология растительных веществ” (Казань, Россия, 5-9 июня 2017 г.), Международная научно-практическая конференция “Достижения и перспективы развития фитохимии” (Караганда, Казахстан, 10-11 апреля 2015 г.).

Публикации. Основное содержание работы опубликовано в 14 статьях в отечественных и иностранных научных журналах, рекомендованных ВАК, 1 статье в научном журнале, входящим в список РИНЦ и в 27 тезисах в сборниках докладов конференций.

Соответствие паспорту специальности

Диссертация соответствует паспорту специальности 1.4.16–Медицинская химия – согласно пунктам: 1. Поиск, структурный дизайн и синтез соединений-лидеров - потенциальных физиологически активных (лекарственных) веществ. 4. Оптимизация структур химических веществ с целью улучшения их комплексных физико-химических, фармакокинетических и фармакодинамических характеристик. 6. Биологическое и физиологическое (*in vitro* и *in vivo*) тестирование сконструированных и синтезированных соединений

Личный вклад автора заключается в планировании и выполнении экспериментальной работы, поиске и систематизации литературы, описании спектров полученных соединений, выращивании растений-источников СЛ, поиске поставщиков и закупке реагентов и принадлежностей необходимых для выполнения работы. Вся синтетическая часть выполнена автором лично, также как и вся часть, связанная с выделением лактонов из растительных источников. Оформление результатов в виде научных публикаций в виде статей и тезисов конференций по материалам работы проведены автором лично, либо при непосредственном участии автора.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы. В первой главе (литературный обзор) обобщены имеющиеся в литературе данные по механизму антрациклиновой кардиотоксичности, существующим подходам модификации структуры антрациклиновых антибиотиков. Во второй главе приведены методики получения стартовых сесквитерпеновых лактонов из природных источников и пути их модификации и обсуждаются данные, полученные нами при непосредственном синтезе производных антрациклинов, показаны результаты первичного скрининга соединений на цитотоксическую активность. В третьей главе (экспериментальная часть) подробно описаны методики проведения экспериментов по получению как исходных лактонов, так и самих производных антрациклинов. Работа изложена на 231 стр., включает 80 рисунков и 15 таблиц. Список цитируемой литературы состоит из 426 наименований.

Благодарности (и финансовая поддержка).

Диссертационная работа выполнена в лаборатории природных соединений Института физиологически активных веществ ФИЦ Проблем химической физики и медицинской химии РАН. Автор благодарит своих коллег по лаборатории к.б.н. Аникину Л.В. за помощь в проведении тестирования полученных соединений на культурах клеток, а также к.х.н. Пухова С.А. за проведение биологических испытаний цитотоксических свойств полученных производных антрациклинов и проведении тестов с проточной цитометрией; к.х.н. Афанасьеву С.В. за постоянную помощь в сопровождении документальной части в процессе написания диссертации. Также автор благодарит к.х.н. Черняка А.В. и Бородачева А.В. за регистрацию ЯМР-спектров; сотрудника ИФАВ Белоусову Т.А. за помощь с посадкой растений источников лактонов на территории института и, особенно, свою бабушку Семакову В.П. за помощь с выращиванием и сборкой растительного сырья в Нижегородской области. Отдельная благодарность моему изначальному научному руководителю к.х.н. Ключкову С.Г. предложившему тему диссертационной работы, связанной с получением N-алкильных производных антрациклинов, а также моему текущему научному руководителю д.х.н. Брелю В.К. за согласие взять руководство над выполнением диссертации, ценные советы по тексту и долготерпение.

Выносимые на защиту результаты получены при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 18-33-00567 мол_а, № 15-03-03940, № 16-03-00674, № 18-33-20209, №18-03-00757 А), а также фонда РФ (проект РФ № 19-73-00343).

РАЗДЕЛ 1. Химическая модификация антрациклиновых антибиотиков (литературный обзор)

1.1 Введение. Антрациклины и возникновение антрациклиновой кардиотоксичности

Антрациклины – обширный класс аминогликозидных антибиотиков, получаемых путем ферментации различных микроорганизмов рода *Streptomyces* и названы так благодаря строению своего агликона в виде тетрациклической системы, несущей антрахиноновую группу (Рис. 1). Антрациклины, метаболиты микроорганизмов, с биогенетической точки зрения являются представителями большого семейства поликетидов. Эти молекулы синтезируются мультифункциональными ферментами поликетид синтазами, которые конденсируют несколько молекул ацил-СоА с образованием углеродной цепочки, содержащей множество β -кетогрупп. Они затем подвергаются многочисленным внутримолекулярным реакциям, с образованием ароматических циклов, как например агликонов антрациклинов. Конечные продукты характеризуются значительным молекулярным разнообразием.

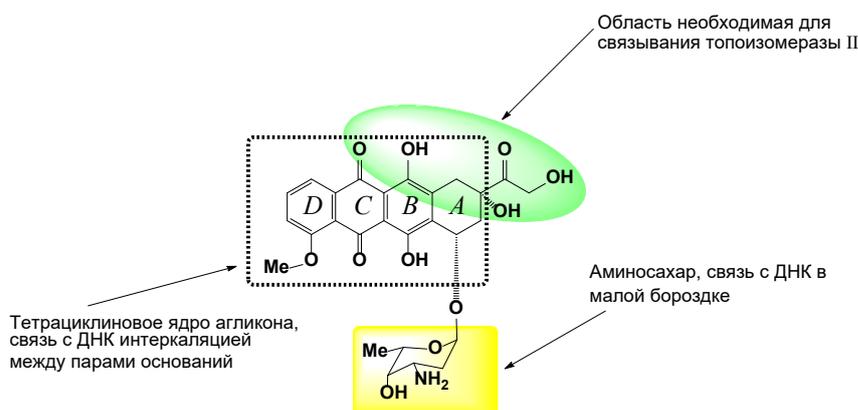


Рисунок 1 Строение антрациклиновых антибиотиков и значимые фрагменты

В 1950 году Брокманн и Байер опубликовали работу [1] о выделении вещества красного цвета из *Streptomyces purpurascens*, что послужило началом исследования антрациклинов. Оно показало большую активность против золотистого стафилококка и по своему цвету для антибиотика предложено имя родомицин. В последующих работах было установлено, что родомицин представляет собой смесь отдельных антибиотиков со схожим планом строения. Позже, на основании изучения химической структуры индивидуальных компонентов родомицина на основании их сходства с хромофорами изородомиценонов, пирромицетинов и аклавина, Брокманн предложил объединить их в группу с названием антрациклиноны. Ядро антрациклинонов представляет собой систему четырех сопряженных шестичленных колец (как в тетрациклинах), три из которых образуют антрахинон (Рис. 1), откуда происходит и название ядра. Гликозиды антрациклинонов получили название антрациклинов.

Впервые о противоопухолевых свойствах природных антрациклинов было сообщено в 1959 г. Впоследствии полезные фармакологические свойства были найдены у соединений,

продуцируемых актиномицетами *Streptomyces peucetius* и родственными штаммами. Доксорубин, наиболее известный представитель этой группы. С момента его появления в начале 70х, он до сих пор остается одним из наиболее часто используемых в противоопухолевой терапии лекарств. На Рис. 2 приведены формулы клинически значимых антрациклинов, для которых также даны сокращенные названия, под которыми они будут использоваться далее: DAU для даунорубина (рубомидина В), DOX для доксорубина (адриамицина), ACLA для акларубина, CARM для карминоцицина (карубидина), EPI для эпирубина, PYR для пирарубина, IDA для идарубина (Заведос), PNU для антрациклина PNU-159582. Большинство известных химически модифицированных антрациклинов можно свести к вариациям в структуре названных антрациклинов, причем чаще всего к вариациям от даунорубина (DAU). Из рисунка видно, что перечисленные антрациклины имеют минимальные отличия в структуре, часто на уровне одного атома, однако и эти минимальные отличия ведут к разным характерам накопления лекарств внутри клетки и в ядре [2], разным предпочитаемым паттернам для связывания в ДНК и разной эффективности против опухолей разных первичных локализаций.

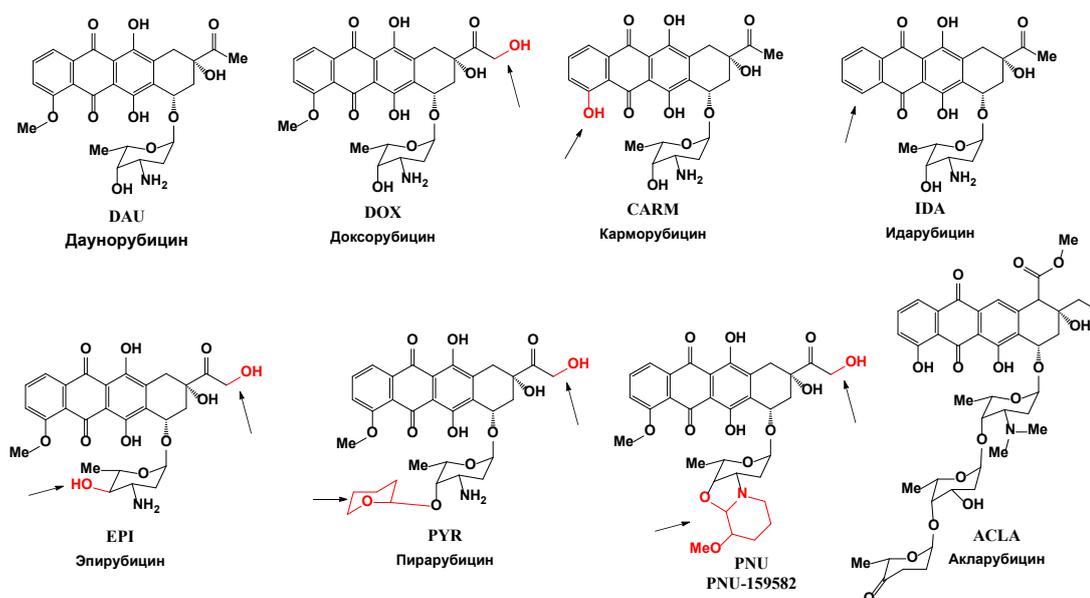


Рисунок 2 Основные антрациклины и сокращённые названия используемые для них

Антрациклины в классической противоопухолевой химиотерапии используются как типичные цитотоксические препараты, чье действие связано с остановкой клеточного цикла и гибелью быстроделющихся клеток в тканях опухолей. Первой целевой мишенью их действия в клетке являются топоизомеразы IIa и IIb, активно действующие в ядре как в процессах трансляции, так и репликации ДНК (Рис.3). Последнее наиболее важно, поскольку, выступая как яды для топоизомераз II типа, антрациклины выступают и как митотические яды. Противоопухолевые свойства антрациклинов непосредственно связаны с особенностями их

структуры – наличием плоского хромофора, дающего способность к интеркаляции между парами оснований ДНК и аминсахара, дополнительно фиксирующего молекулу в малой бороздке ДНК. Однако способность к интеркаляции сама по себе не ведет к противоопухолевой активности, к примеру типичные интеркаляторы этидий бромид и акридины практически не проявляет никакой противоопухолевой активности. Для ингибирования топоизомераз в молекулах антрациклинов должна присутствовать необходимая область (Рис. 1). Ингибирование антрациклинами топоизомераз ведет к образованию однонитевых и двунитевых разрывов в ДНК. Однонитевые разрывы (“ники”) быстро устраняются системами репарации ДНК и вносят незначительный вклад в итоговую цитотоксичность. Двунитевые разрывы ДНК, напротив напрямую связаны с гибелью опухолевых клеток [3] [4]. При этом целевой активностью антрациклинов следует считать ингибирование топоизомеразы подтипа IIa, более специфичного для активно пролиферирующих опухолевых клеток. Ингибирование топоизомеразы подтипа IIb, более специфичного для соматических клеток, в том числе и клеток миокарда [5], считается нежелательным, поскольку ведет к побочным эффектам. Прочие, не связанные с ингибированием топоизомераз, мишени антрациклинов в клетке обычно признаются *off-target* активностями и также являются нежелательными.

Второй принципиальной мишенью антрациклинов в клетке является хроматин. Установлено, что большинство антрациклинов, такие как DOX, DAU и EPI кроме повреждения ДНК, вызванного подавлением топоизомеразы II, также вызывают и повреждение хроматина, опосредованное вытеснением гистонов (“histone eviction”) в выбранных участках генома [6]. Вытеснение гистонов антрациклинами имеет множество последствий, включая эпигеномные и транскрипционные изменения и ослабление репарации разрывов ДНК, которые в совокупности называются повреждением хроматина. Эти два механизма составляют основной источник происхождения цитотоксического действия антрациклинов. Соотношение вкладов этих двух слагаемых в цитотоксичность может различаться в зависимости от антрациклина, но обычно присутствует и та и другая активность. Встречаются чистые ингибиторы топоизомеразы II, такие как амрубицин и неантрациклиновый ингибитор этопозид, вызывающие только двунитевые разрывы ДНК без повреждения хроматина. Также существуют антрациклины, такие как ACLA и *N,N*-диметил-DOX, неспособные к эффективному повреждению ДНК, но эффективные только за счет способности вытеснять гистоны из ДНК [7]. Вполне вероятно, что одновременное проявление этих двух активностей уже достаточный фактор для развития кардиотоксичности.

Цитотоксическое действие препарата по отношению к активно делящимся клеткам неизбежно ведет к токсичности антрациклинов и в отношении неопухолевых тканей. Довольно частыми эффектами являются угнетение кроветворения, в первую очередь лейкопоэза, расстройства ЖКТ, нефротоксичность [8], гепатотоксичность, кожные реакции. Тем не менее

такие эффекты могут либо вовсе не проявляться, либо быть проходящими. Как и многие другие химиотерапевтические лекарства, антрациклины, вошедшие в практику, не убивают в организме клетки только по признаку нахождения в клеточном цикле, что происходит из-за использования ими неочевидных фармакокинетических (ADME) эффектов или биохимических отличий опухолевых клеток. Гораздо важнее другой типичный побочный эффект антрациклинов – кардиотоксичность.

Кардиомиопатия вызванная DOX и другими антрациклинами, получившая название антрациклиновой кардиомиопатии, занимает центральное место во всем классе лекарственно-индуцированных кардиомиопатий из-за высокой частоты возникновения и злокачественности течения. Она характеризуется признаками застойной сердечной недостаточности, при которой сердце перестает выполнять насосную функцию и резко снижает сердечный выброс [9]. На уровне организма в легких случаях антрациклиновая кардиомиопатия выявляется лишь инструментально или имеет типичные признаки характерные для сердечной недостаточности (отек конечностей, отек легких, одышка, непереносимость физических нагрузок), в тяжелых – заканчивается фатально. Причем в антрациклиновой кардиотоксичности условно можно выделить два периода. В остром периоде осложнения возникают в первые недели проведения химиотерапии. Более же грозной является отсроченная кардиомиопатия, наступающая по завершении лечебной программы спустя один год и далее [10]. Острая антрациклиновая токсичность на уровне организма внешне напоминает признаки инфаркта миокарда – инфарктоподобные изменения на ЭКГ и на эхо-КГ, боль в сердце, иррадиирующая в левую или обе руки, повышение в плазме уровней сердечного тропонина и трансаминаз АЛТ и АСТ [11]. Однако острая форма является потенциально обратимым состоянием, в отличие от отсроченной, которая имеет тенденцию к прогрессированию. При хронической токсичности изменения ЭКГ незначительны (уширение QRS-комплекса, брадикардия) [12] [9], на первый план выступают механические свойства миокарда.

На клеточном уровне при длительном введении DOX практически все миокардиальные клетки в той или иной степени повреждены – клеток с совершенно интактной ультраструктурой обнаружить не удалось [9]. В ядрах отмечены агрегация и маргинализация ядерного хроматина, набухание митохондрий с признаками кристолизиса. В наиболее пострадавших клетках миокарда группы саркомеров остаются необратимо пересокращенными или в других клетках напротив растянуты, сократительный аппарат частично разобран, Z-полоски теряют четкий контакт с сарколеммой и деградируют, наблюдается большое количество вакуолей лизомального происхождения. В энергетическом плане клетки истощены – в них отсутствуют запасы коллагена, снижается содержание основных энергетических метаболитов (АТФ, фосфокреатина, креатина) [13]. Между кардиомиоцитами возникают лакуны, часто заполненные пучками

коллагена. Наблюдается выраженный перинуклеарный отек, связанный с дисфункцией ионных каналов эндоплазматического ретикулума и митохондрий и проявляющийся как расширение перинуклеарного пространства [14] [15]. Избыточное накоплению жидкости способствует дезорганизации миофибрилл.

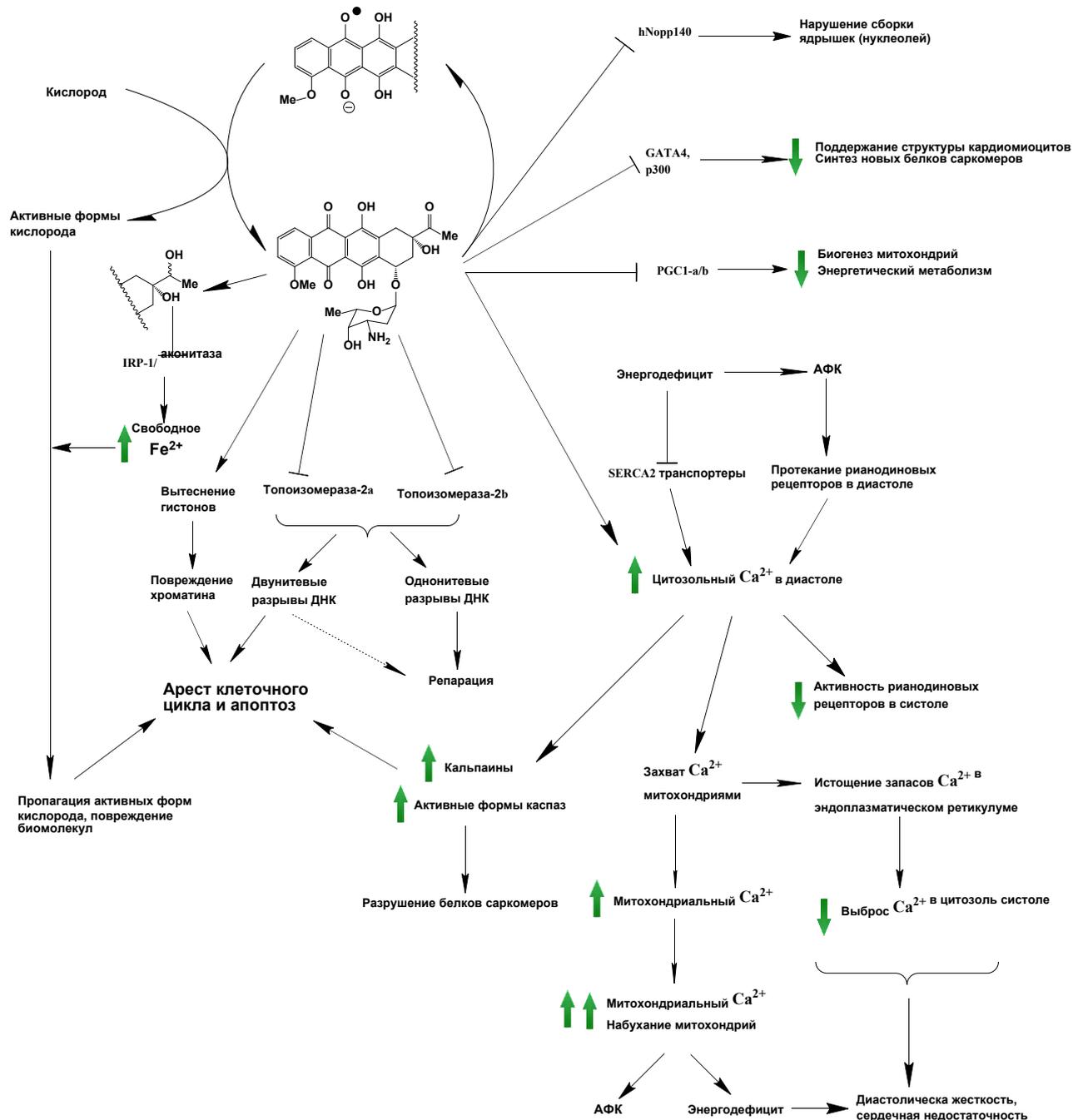


Рисунок 3 Пути, приводящие к цитотоксическому действию антрациклинов и к развитию кардиотоксичности

Для изучения действия антрациклинов применяли животные модели антрациклиновой кардиотоксичности на данио-рерио [16], кроликах, макаках-резусах, крысах, морских свинках [9]. Для изучения молекулярных механизмов действия больше подходят клеточные модели. Кардиомиоциты взрослых животных, новорожденных животных довольно точно воспроизводят

биохимию миокарда, но сложны в культивировании. Более распространённой моделью клеток миокарда является линия клеток H9c2 из ткани желудочков сердца эмбрионов крыс, которые легко дифференцируются в миоциты [17]. Также сейчас для этих целей нашли применение кардиомиоциты, получаемые из стволовых плюрипотентных клеток человека [2].

В основе механизма кардиотоксичности антрациклинов лежат три взаимосвязанных явления: 1) энергодефицит создаваемый в кардиомиоцитах, 2) формирование активных форм кислорода, 3) нарушение кальциевого гомеостаза (Рис.3). Наиболее мейнстримная теория возникновения кардиотоксичности связана с участием антрациклинов в образовании в клетках активных форм кислорода (АФК). В норме часть кислорода в митохондриях клетки в процессе окислительного фосфорилирования неизбежно идет на образование АФК, однако они подвергаются быстрой детоксикации. При нарушении работы ЭТЦ митохондрий, например при ишемии-реперфузии, АФК могут образовываться в избытке, и в этом случае они уже могут выступать в качестве повреждающих и проапоптотических факторов. Антрациклины способны вступать в окислительно-восстановительный цикл с образованием АФК (Рис.3). Антрахиновое ядро антрациклинов, благодаря своему достаточно высокому редокс потенциалу, может вступать в процесс одноэлектронного восстановления с образованием семихинона-радикала. Источником электронов служат комплексы ЭТЦ митохондрий или NADH/NADPH. В последнем случае реакция катализируется Cyt p450 редуктазой. Восстановленная форма в виде семихинон-радикала достаточно стабильна и может непосредственно регистрироваться методом электрон-парамагнитного резонанса [18] [19] [20]. Восстановленный семихинон-радикал может реагировать с кислородом с образованием супероксида, из которого далее синтезируются прочие АФК. Тем самым цикл замыкается, что означает что одна молекула антрациклина способна сгенерировать множество молекул супероксида и при этом будет потрачено эквимолярное им количество в клетке восстановительных эквивалентов. Это ведет к дополнительному поглощению кислорода клетками в присутствии антрациклинов который напрямую идет на образование супероксида [21]. Процесс циклического восстановления антрациклинов сопровождающийся потреблением кислорода идет как в микросомах [19], так и в митохондриях и, в меньшей степени, в ядре клетки [21].

Поражение биомолекул АФК усугубляется следующим явлением. Основной метаболит DOX в организме – 13,13-дигидро-DOX (DOXol), продукт восстановления DOX по C-13 кетогруппе. Он взаимодействует с транскрипционным фактором IRP1/аконитазой, отвечающим за правильный метаболизм железа в клетке и необратимо его ингибирует [22]. Это приводит к сильному повышению концентрации несвязанных ионов Fe^{2+} в клетке. В норме железо как жизненно важный металл необходимо в цитоплазме лишь в следовых количествах, в избытке оказывается токсичным. Для клеток железо токсичнее чем обычно предполагают из-за его

способности инициировать цепные реакции образования радикалов [23]. Сочетание этих двух неблагоприятных факторов: появления в цитоплазме свободных ионов Fe^{2+} и активного образования супероксид-иона, ведет к синергетическому эффекту и к конверсии супероксид-иона в более активные радикальные формы АФК, а в итоге к поражению белков, мембран и окислительному стрессу. Исходя из этих предположений изначально механизм повреждающего действия ДНК антрациклинами во многом связывали с разрывами цепи под действием АФК [24] [25]. Последующие исследования пришли к выводу, что свободные радикалы, продуцируемые DOX, играют незначительную роль, если вообще играют, в деградации ДНК [4].

Изменения кальциевого гомеостаза в клетках миокарда позволяет нагляднее проследить за механизмами развития именно кардиотоксичности антрациклинов. Повреждение миокарда усугубляется тем, что в литературе принято под названием “кальциевая триада” [26]: контрактуры миофибрилл, нарушения функции митохондрий, перегруженных кальцием, и активации кальций-зависимых протеаз и митохондриальных фосфолипаз. При максимальном проявлении кальциевая триада приводит к некробиозу миокарда. Гладкий саркоплазматический ретикулум (СР) – основной источник ионов Ca^{2+} , четкая регуляция синхронного выброса которого обеспечивает электромеханическое сопряжение в миокарде. В норме, при диастоле в цитозоле кардиомиоцитов концентрация Ca^{2+} поддерживается на постоянно низком уровне, а при антрациклиновой кардиомиопатии наблюдается повышение концентрации Ca^{2+} в покое. Повышение концентрации Ca^{2+} связано с его утечкой из СР через риаудиновые рецепторы (кальций-зависимые кальциевые каналы, RyR). Такое протекающее состояние риаудиновых рецепторов опосредовано окислительной модификацией нескольких сайтов на их поверхности при действии АФК [27], уровень которых повышается при действии антрациклинов. Другие причины протечки в риаудиновых рецепторах – постоянное фосфорилирование состояние их сайтов связывания белков-модуляторов (кальстабин и другие) при действии протеин-киназы А (РКА), а также нитрозилирование. Множество мест утечки Ca^{2+} в диастоле эпизодически генерирует локальные всплески его концентрации [28] не приводящие к развитию сокращения. Антрациклиновый окислительный стресс по большей части является следствием нарастающего энергодефицита, и именно его следует назвать первопричиной аномального повышения уровня Ca^{2+} . Второе слагаемое, определяющее уровень цитозольного Ca^{2+} , является скоростью обратного захвата в СР и большей частью зависит от активности SERCA2 кальциевой АТФ-азы. При воздействии антрациклина этот компонент также подвергается удару из-за сниженной экспрессии SERCA2 [29], снижению возможностей к выработке АТФ. Более того, утечка Ca^{2+} ведет к постоянному фосфорилированию белка-регулятора активности SERCA2 фосфоламбану [30] через активацию PLA и CaMKII, держа SERCA2 в постоянно активном состоянии закачки

Ca^{2+} . Это вызывает нарушение правильных периодов работы SERCA2 и приводит к отсутствию резкого повышения Ca^{2+} в систоле и неэффективному электромеханическому сопряжению.

Постоянная кальциевая утечка имеет несколько важных следствий. Во-первых, высокая концентрация Ca^{2+} приводит к активации кальций-зависимых протеаз кальпаинов. Кальпаины расщепляют большое количество белков, участвуют в разборке комплексов саркомеров. Уже на ранних этапах происходит расщепление белка саркомеров титина [31]. Высокие концентрации Ca^{2+} ведут также к появлению активных форм протеаз каспаз, что в крайней форме ведет к апоптозу кардиомиоцитов. Во-вторых, компенсаторной реакцией на высокую концентрацию в цитозоле Ca^{2+} является его захват митохондриями. Переток Ca^{2+} в митохондрии постепенно истощает его запасы в СР, что означает меньший его запас для выброса в систолу. Тем самым складывается ситуация хронического недостатка и скорости выброса Ca^{2+} в кардиомиоцитах систоле, что уменьшает возможности развития сокращения. В диастоле напротив не происходит полного удаления Ca^{2+} и полного расслабления саркомеров. На уровне органа это ведет к диастолической жесткости [9], при этом во время диастолы желудочки сердца остаются не полностью расслабленными и давление не падает до нужной величины что ведет к малому наполнению желудочков и малому сердечному выбросу. При увеличении частоты сердечных сокращений все процессы проявляются еще сильнее, желудочки в диастоле остаются еще более напряженными и эффективность работы сердца еще более снижается. В дальнейшем это развивается в прогрессирующую дилатационную кардиомиопатию.

Изменения энергетического метаболизма под действием антрациклинов лежат в основе прочих явлений кардиотоксичности. Ключевые игроки в этом процессе – митохондрии. Благодаря своей химической природе молекулы антрациклинов легко проникают в межмембранное пространство митохондрий, значительно концентрируясь в нем, но не проходят внутреннюю мембрану митохондрий. Антрациклины, вступая в редокс цикл способны принимать электроны от мембранных комплексов ЭТЦ митохондрий, обрывая цепочки передачи в ЭТЦ. Антрациклины напрямую ингибируют НАДН-оксидазу (комплекс-I) и сукцинатдегидрогеназу (комплекс-II), возможно конкурируя с коэнзимом-Q10 [32]. Склонность антрациклинов образовывать комплексы с кардиолипином, специфичным мембранным липидом митохондрий, возможно, ведет к вытеснению его из комплексов с ферментами митохондрий, вовлеченных в энергетический обмен, таких как креатинкиназа, АДФ-АТФ-транслоказа и комплексы ЭТЦ. Со временем антрациклины снижают экспрессию сразу нескольких компонентов цитохром-с оксидазы (комплекс-IV), не позволяя осуществляться сборке полноценного комплекса [33].

Возможность выработки АТФ, цитозольный уровень Ca^{2+} и АФК являются тремя взаимосвязанными процессами [34] [35]. В норме переход Ca^{2+} в митохондрии из СР

используется клетками для регуляции энергетического обмена. В нормальных физиологических концентрациях, Ca^{2+} модулирует активность ферментов цикла Кребса и активность ЭТЦ митохондрий, однако дальнейший захват Ca^{2+} митохондриями приводит к угнетению их энергетической функции. Перегрузка кальцием ведет к набуханию митохондрий, снижению разницы мембранного потенциала, что снижает возможность окислительного фосфорилирования и, кроме того, повышает уровень образования АФК митохондриями. Еще большая перегрузка Ca^{2+} и воздействие митохондриальной поры (mPTP) и гибели митохондрии. Гибель сразу большого количества митохондрий с выходом их содержимого в цитозоль ведет к апоптозу кардиомиоцитов.

С другой стороны, действие на некоторые другие мишени антрациклинов ограничивает возможности репарации кардиомиоцитов. Действие антрациклинов приводит к подавлению сердце-специфичных транскрипционных факторов GATA4 [36] [37] и p300. Подавление GATA4 ведет к ограничению возможностей поддержания существующих и синтезу новых саркомеров в клетках миокарда. Методами фагового дисплея выяснено [38], что в клетке DOX напрямую связывается с белком h-NOP (p140) необходимым для сборки ядрышек (нуклеолей) в ядре клетки и не дает ему переходить в активную фосфорилированную форму. Нарушение сборки ядрышек (ядрышковый стресс) одно из наиболее ранних изменений в клетках миокарда при действии DOX [39]. Оно в итоге дополнительно ведет к ограничению возможностей клетки нарастить синтез новых рибосом и белков для устранения возникших повреждений кардиомиоцитов. Подавление антрациклинами синтеза белков PGC-1a/b, мастер-регуляторов биогенеза митохондрий, ограничивает возможности адекватного ответа кардиомиоцитов на энергетический кризис.

1.2. Модификации по C-14 атому агликона

Наиболее важной реакцией такого типа является реакция синтеза доксорубина из даунорубина через C-14 бром-даунорубин (**1**) [40]. Доксорубин изначально вошел в клиническую практику как антибиотик, выделяемый из мутантного штамма *Streptomyces peucetius*, однако в настоящее время его практичнее получать полусинтетически из более дешевого DAU чем непосредственно из культуральной среды *S. peucetius*. DAU при взаимодействии с бромом в холодном метаноле дает C-14 бром-даунорубин (**1**) с высоким выходом. Последний обычно используется для синтеза других C-14 производных DAU путем реакции с O-, S-, N-нуклеофилами. В простейшем случае при реакции **1** со щелочью [41] или с водой в ДМСО [40] образуется доксорубин, но с небольшими выходами (Рис. 4). Более высокий выход конверсии достигается при реакции бромпроизводного (**1**) с солями карбоновых кислот, такими как ацетат калия, с последующим мягким гидролизом 14-ацил-доксорубинов в среде NaHCO_3 [41]. Также позволяет увеличить выход DOX введение ацетальной защиты с помощью этилортоформиата на стадии реакции бромирования DAU [42]. Образующийся 13,13-

диэтокси-14-бром даунорубицин (2) затем разлагают действием последовательно щавелевой кислоты и гидрокарбоната натрия до доксорубина. Аналогичный синтез 14-гидрокси аналога (3) описан для карминомицина [43]. Для этого CARM последовательно бродируют с введение ацетальной защиты, с получившегося 13,13-диметокси-14-бром карминомицина (4) разбавленной кислотой снимают защиту и 14-бром-карминомицин (5) обрабатывают раствором карбоната натрия, получая 14-гидрокси-карминомицин (3).

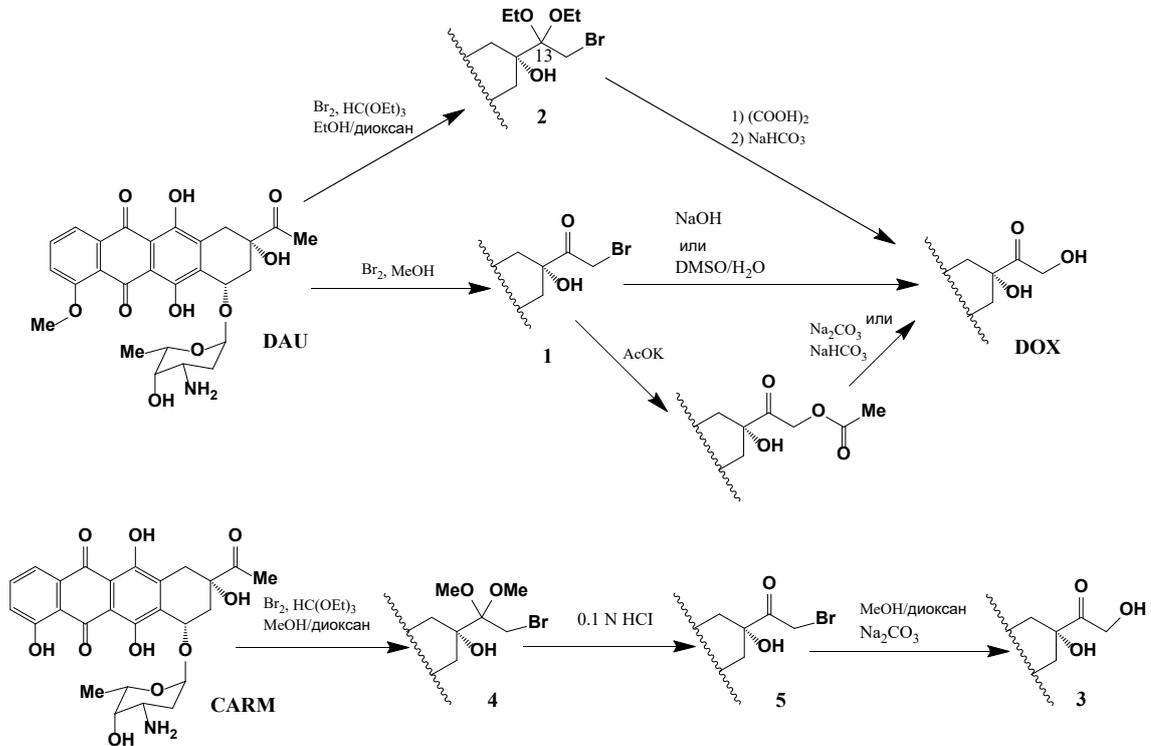


Рисунок 4 Введение С-14 гидроксигруппы в молекулу даунорубицина или карминомицина

Прямое введение атома фтора в С-14 положение затруднительно. Поэтому монофторпроизводные даунорубицина (6) и идарубицина (7) были синтезированы из С-14 бромпроизводных чистых агликонов сначала путем замещения атома брома на фтор при действии ТВАФ, а затем присоединением к агликонам аминсахара [44] (Рис.5). Полученные 14-фтордауно-(6) и 14-фтор-идарубицин (7) обладают умеренной ($IC_{50} = 1.3 \times 10^{-4}$ мкг/мл для 6; $IC_{50} = 1.5 \times 10^{-4}$ мкг/мл для 7) токсичностью на линии лейкоза Р-388. Через отдельный синтез агликона синтезирован и С-14 дифтор-аналог идарубицина (8) [45]. 14,14-Дифтор-идарубицин (8) в 15 раз более активен ($IC_{50} = 4.6 \times 10^{-5}$ мкг/мл) чем DOX на линии мышинной лейкемии Р-388, в то время как 14-монофтор-идарубицин (7) сопоставим по активности. Описан синтез антрациклина (9) с одновременным расположением двух заместителей при С-14 атоме – гидроксильной группы и атома фтора [46]. Подобный фтор-аналог доксорубина синтезируется из агликона даунорубицина путем двух последовательных бромирований с заменой первого атома брома на фтор при действии $Et_3N \cdot 3HF$, а второго на спиртовую с высоким выходом группу $AgBF_4$ в DMSO. Как побочные продукты, 14-хлорпроизводные антрациклинов получают в небольших

количества самопроизвольно из солянокислых солей 14-бромзамещенных антрациклинов путем обмена галогенов.

Замена в С-14 положении галогена на другую нуклеофильную группу (Рис.6) описана для антрациклина с модифицированным сахарным остатком без аминогруппы (**10**) [47]. При реакции 14-бром антрациклина (**10**) в ацетоне с азидом натрия, тиоцианатом калия, ацетатом натрия или тиоацетатом калия получают соответственно 14-азидо- (**11**), 14-тиоцианат- (**12**), 14-ацетилокси- (**13**) или 14-ацетилтио (**14**) антрациклины (Рис. 14). По сравнению с исходным антибиотиком **10** все такие соединения сильно теряют в тестах *in vivo* против привитой опухоли линии Р-388 кроме 14-ацильного производного (**13**). Само исходное 14-бромпроизводное (**10**) получают синтезом отдельно из 14-бром агликона и сахара [48]. По-другому протекает реакция с роданидом в водной среде [49]. Реакция гидрохлорида 14-бром-даунорубицина (**1**) с роданидом при 50 °С в течение 24 ч не останавливается на стадии образования 14-тиоцианата, а идет далее с циклизацией по С-13 кетогруппе. В итоге образуется 9-дезацетил-9-тиазолинонил-DAU (**15**) с дополнительным пятичленным циклом в составе. Данное соединение на два порядка менее активно по сравнению с DAU в тестах *in vivo*.

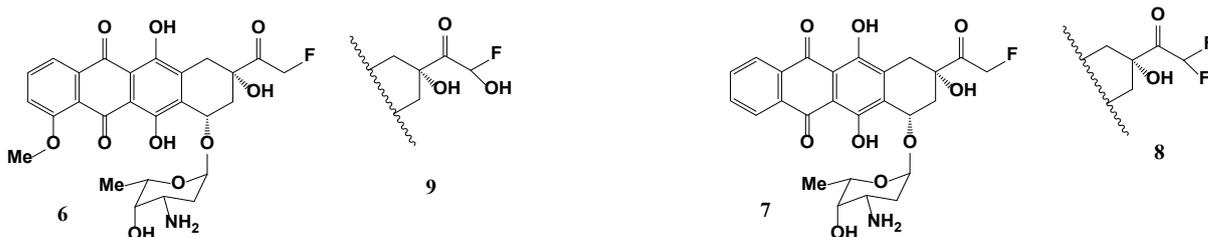


Рисунок 5 С-14 Фторзамещенные антрациклины

14-Хлор производные антрациклинов могут образовываться как побочный продукт при получении 14-бром антрациклинов при использовании антибиотиков для синтеза в виде солянокислых солей. Как основные продукты реакции они могут быть получены при избытке в реакционной среде хлорид-ионов. Таким образом уже упомянуты 14-бром диметилкеталь карминомицина при реакции с избытком соляной кислоты дает 14-хлор карминомицин (**16**). Аналогично из 14-бром диметилкетала даунорубицина получают 14-хлор даунорубицин (**17**) [50]. 14-Йод замещенные антрациклины более реакционноспособны, чем 14-бром аналоги и их удобнее получать *in situ* в реакционной среде действием на них йодида натрия в сухом ацетоне. Таким образом, из 14-бром-даунорубицина(**1**) образуется 14-йод-даунорубицин (**18**), а из 14-бром-карминомицина – 14-йод-карминомицин (**19**) [51]. Хотя последний нестабилен и легко восстанавливается до карминомицина-основания. По другому способу синтезировали йодпроизводное антрациклина *N*-трифторацетил-даунорубицина (**20**) напрямую путем действия на него элементарного йода и сухой негашёной извести с образованием 14-йод-производного (**21**)

[52] [41]. Все это говорит о легкости протекания реакции обмена галогенов у 14-бром замещенных антрациклинов [50].

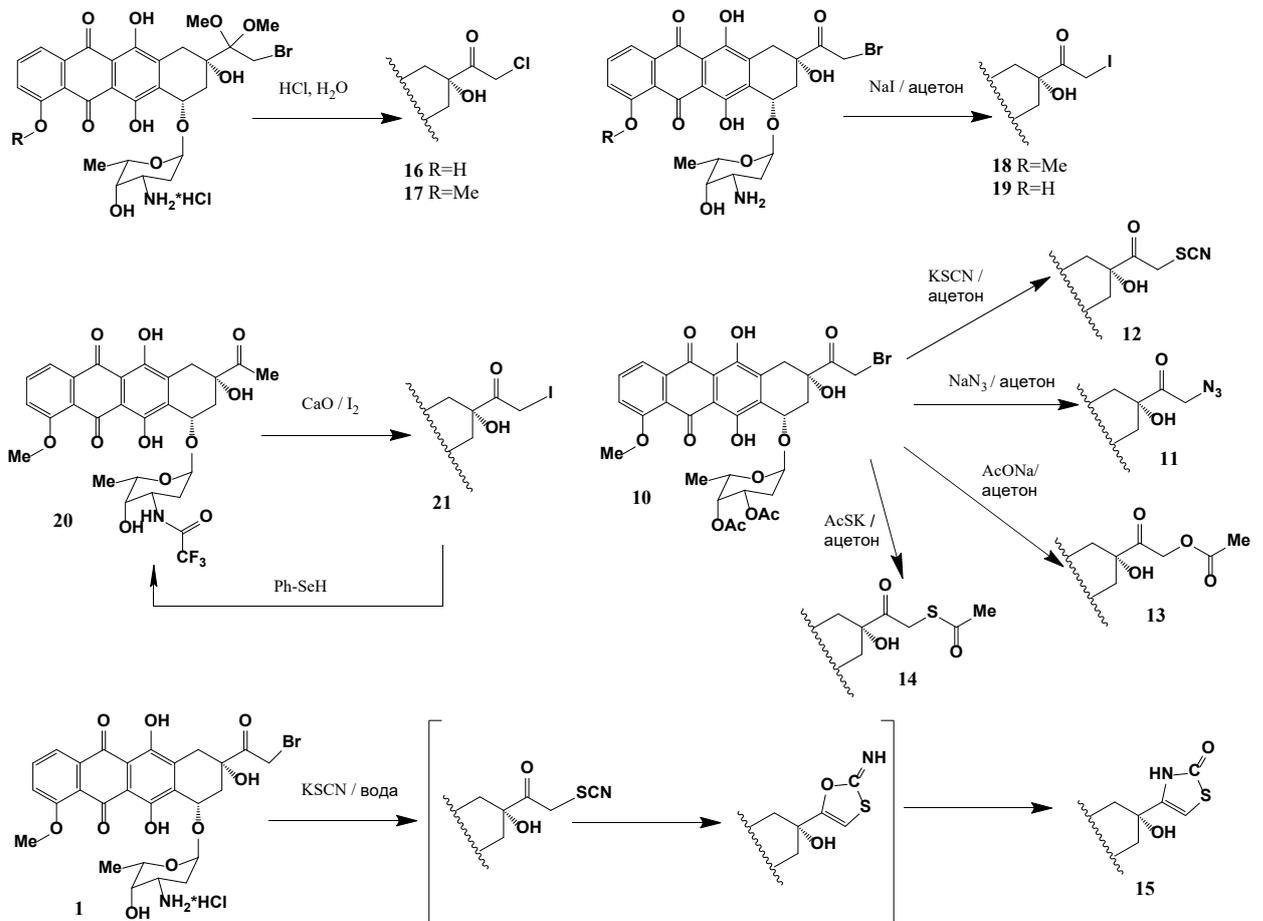


Рисунок 6 Введение различных функциональных групп в С-14 положение

Аналоги DOX, ацилированные по спиртовой группе при С-14 атоме, несут остаток карбоновой кислоты, которая способна отщепляться при действии неспецифических эстераз клетки (Рис.7). Непосредственно сами С-14 ацильные производные антрациклинов не связываются с ДНК и не ингибируют деление клетки, однако они являются пролекарствами антрациклинов. Синтез С-14 ацилированных доксорубицинов осуществляется по реакции 14-бром даунорубицина (**1**), который ранее упоминался как прекурсор для синтеза DOX, с натриевыми или калиевыми солями карбоновых кислот [41] [53]. Таким образом, из 14-бром даунорубицина (**1**) были получены С-14 конъюгаты с уксусной (**22**), пропионовой (**23**), октановой (**24**), фенилуксусной (**25**), бензойной (**26**), никотиновой (**27**) [53], пировиноградной (**28**), аспарагиновой (**29**) и *N*-ацетил-аспарагиновой (**30**) [54] кислотами (Рис. 15). Цитотоксическая активность таких конъюгатов меньше или на уровне активности DOX. Среди них можно выделить 14-октаноил-доксорубицин (**24**), который показывает несколько лучшую противоопухолевую активность в оптимальных дозах на мышинных моделях с привитыми опухолями по сравнению с DOX. Более важно изменение распределения 14-октаноил-доксорубицина (**24**) в организме: по сравнению с DOX, он меньше накапливается в почках и

сердце, а в легких, селезенке и печени – больше, что потенциально дает пониженную кардиотоксичность за счет меньшей концентрации антрациклина в миокарде [53].

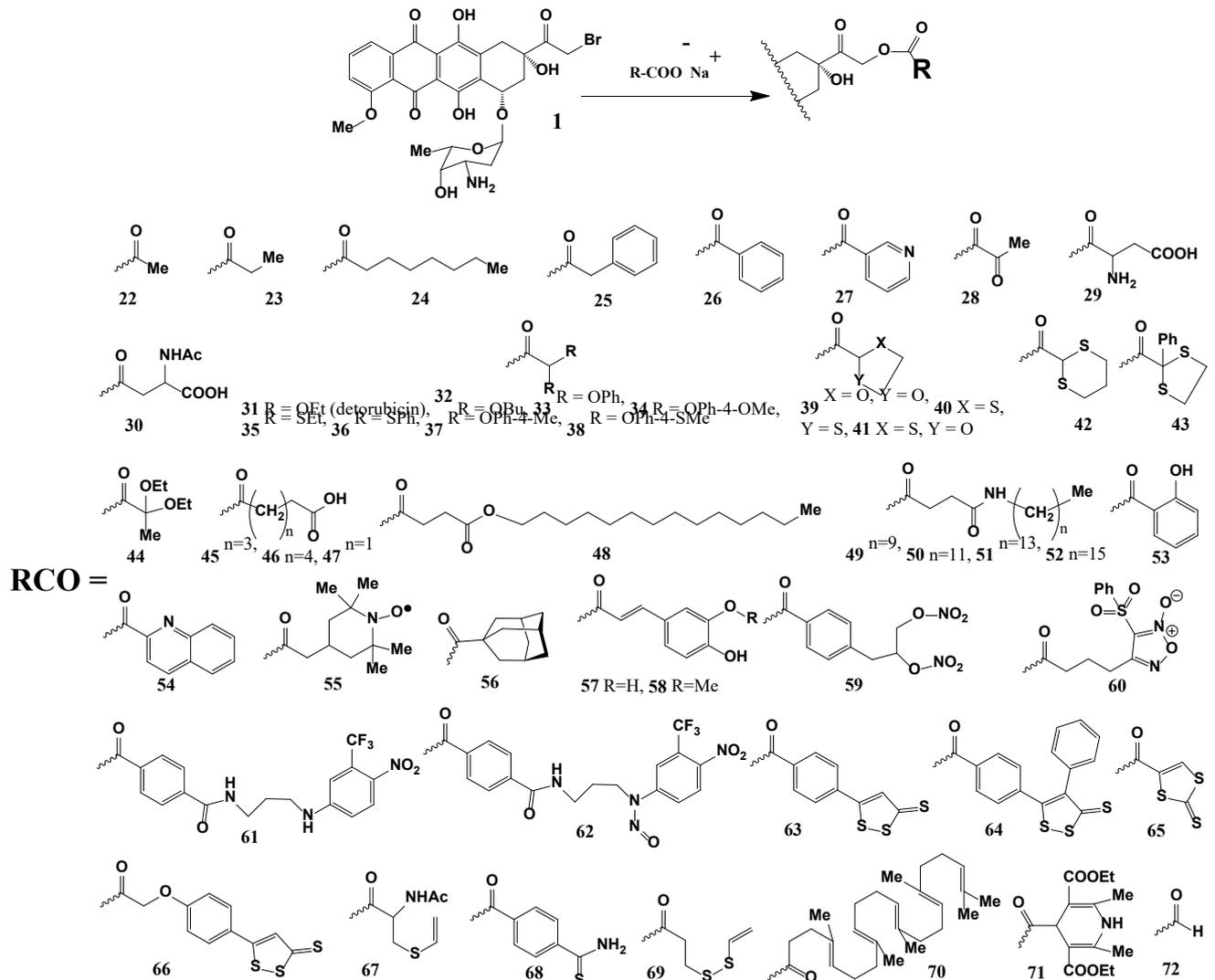


Рисунок 7 С-14 Ацильные производные доксорубина

Одной из ранних модификация такого же рода стала серия С-14 эфиров DOX **31-44** с карбоновыми кислотами производными от дихлоруксусной кислоты в которых атомы хлора заменены на алкокси- или тиоксигруппу [55]. Конъюгат **31** с диэтокси-уксусной кислотой из этой серии получил название деторубин и проходил испытания в клинике против большого числа типов опухолей [56] [57]. Однако, деторубин **31** обладал очень быстрым клиренсом в плазме с периодом полураспада до DOX порядка нескольких минут. Тем не менее, профиль его распределения по органам отличался от DOX и DAU, за исключением сердца и печени в остальных органах деторубин **31** накапливался меньше. Профиль его активности близок к DOX, так же деторубин **31** ведет к схожим побочным эффектам (алопеции, тошноте, угнетению кроветворения, кардиотоксичности в высоких дозах). Превосходящую DOX активность деторубин продемонстрировал только для кожных форм опухолей (грибовидного

микоза), неходжкинских лимфом [57] и метастатической меланомы, для которой в то время отсутствовала эффективная химиотерапия [58].

Схожим образом получены C-14 конъюгаты DOX с адипиновой (45) и пимелиновой (46) кислотами. По сравнению с DOX, конъюгаты 45 и 46 показали не настолько резкое падение цитотоксичности при переходе от опухолевых линий MCF7 и P388 к вариантам тех же линий с устойчивостью к DOX. Прямым ацилированием C-14 спиртовой группы DOX действием янтарного ангидрида получен C-14 конъюгат с янтарной кислотой (47), а также его производные (48-52), в которых к свободной карбоксильной группе 47 присоединен остаток жирного спирта (48) или жирных амидов (49-52) [59]. Подобные высоколипофильные конъюгаты доксорубицина 48-52 обладают повышенной способностью проникать и накапливаться внутри клеток, постепенно высвобождая активный DOX. Сообщалось так же об аналогичном синтезе C-14 конъюгатов с еще двумя ароматическими кислотами – салициловой (53) и хинальдиновой (54) кислотами [51]. В этом случае также замечено, что обычно умеренные выходы конъюгатов в этой реакции удается повысить при использовании добавки краун-эфира к реакционной смеси, что повышает растворимость соли карбоновой кислоты в растворителе для проведения реакции – сухом ацетоне, а также сокращает время реакции. Конъюгат (55, Рубоксил-2) с карбоновой кислотой, содержащий остаток ТЕМРО в качестве спиновой метки, был синтезирован как зонд для дополнительного анализа встраивания доксорубицина в ДНК между парами оснований методом ЭПР [60]. ТЕМРО-содержащий антрациклин 55 обладает рядом преимуществ по сравнению с исходным DAU: он не обладает такой острой токсичностью, в оптимальных дозах ведет к ощутимо большему времени выживания мышей с перевитой опухолью *in vivo*. При этом 55 не так эффективен, как другой ТЕМРО-содержащий антрациклин Рубоксил-1 при использовании линии лейкоза La, в то же время в случае привитой аденокарциномы 755 он даже превосходит Рубоксил-1 [61]. Другой конъюгат DOX 56 с адамантан-карбоновой кислотой был синтезирован как лиганд для образования водорастворимого комплекса с циклодекстрином, однако оказался практически неактивным *in vitro* [62].

Конъюгаты 14-бром-даунорубицина с остатками кофейной (57) и феруловой (58) кислот были синтезированы как попытка объединить в одной молекуле антрациклин с антиоксидантом – соответственно с природными кофейной и феруловой кислотами – с целью снизить нежелательное губительное действие антрациклин-зависимого образования АФК на клетки миокарда [63]. Полученные соединения 57 и 58 были протестированы на двух опухолевых, а также кардиомиоцит-подобной линии H9c2. Конъюгат с феруловой кислотой (58) показал сниженную токсичность (по тесту на высвобождение лактат-дегидрогеназы) на линии H9c2 и повышенную токсичность и способность накапливаться в клетках опухолевых линий MCF7, с умеренной, и линии MDA-MB-231 с сильной экспрессией ABC-транспортеров по сравнению с

DOX. Кроме того, в отличие от DOX, действие конъюгата **58** на кардиомиоцит-подобные клетки H9c2 не приводит в них к повышению концентрации внутриклеточных АФК и продуктов перекисного окисления, что говорит о праве на существование данного подхода, объединения в одной молекуле с антрациклином антиоксидантного компонента, как способа преодоления кардиотоксичности.

Несколько С-14 эфиров DOX сконструированы так, чтобы содержать фрагменты с разными структурными мотивами, но способными высвободить оксид азота при активации в клетке. Первый из них, конъюгат **59** (NitDox), является аналогом нитроглицерина и несет две нитроэфирные группы. Второй – конъюгат **60** (FurDox) несет фуроксаноновый фрагмент, способный давать NO при активации тиолами [64]. Третий – конъюгат **61** содержит активируемый синим светом NO-донор [65]. Близкий к нему С-14 эфир **62** отличается от **61** дополнительной *N*-нитрозо группы, что однако ведет к дополнительной возможности активации этого конъюгата зеленым светом с большей глубиной проникновения вглубь кожи [66]. Во всех случаях NO-донорные конъюгаты DOX накапливаются в опухолевых клетках в большей концентрации чем исходный DOX из-за эффекта NO подавлять активность MDR-насосов через нитрозилирование в них важных для работы цистеиновых остатков. Для NO-доноров NitDox (**59**) и FurDox (**60**) кроме свойства больше накапливаться в клетке также имеются и другие отличия от свойств DOX. Так, их действие в меньшей части связано с ингибированием топоизомеразы II, они не накапливаются в ядре, а локализуются в цитозоле преимущественно в митохондриях где подавляют деятельность ферментов цикла Кребса и дыхательной цепи, стимулируют образование АФК [67]. Небольшая серия серусодержащих С-14 эфиров DOX **63-69** была синтезирована для поиска эффективного пролекарства DOX дающего при распаде также молекулу сероводорода. Предполагается, что дополнительное выделение сероводорода оказывает кардиозащитный эффект через химическое взаимодействие с нежелательными АФК. Конъюгаты **65-67** сразу оказались неподходящими из-за нестабильности в плазме, а по соотношению других характеристик лучше себя показал серусодержащий конъюгат **63**. Немного уступает ему, главным образом в степени релиза сероводорода, конъюгат **64** (H2SDox, Sdox). Конъюгат **63** не проявляет токсического действия на H9c2 кардиомиоцитов и полностью нивелирует действие АФК [68]. Дополнительные тесты с негативным воздействием антрациклинов на кровеносные сосуды показали, что для достижения с **63** того же эффекта на подавление сократимости аортальных колец что для DOX требуется в 10 раз большая концентрация **63**. Эфир **63** показывает более благоприятный профиль сосудистой токсичности чем DOX [69]. После тестирования на большой панели опухолевых клеточных линий оказалось, что антрациклины-доноры NO и сероводорода NitDox (**59**) и H2SDox (**64**) более всего эффективны против линии рака простаты DU-145 [70]. В дозе 10^{-5} М они подавляют их рост на

99,7% и 95,08% соответственно. Также высокие результаты эффективности они показали в тестах *in vivo* с привитой опухолью при отсутствии видимых изменений в ткани сердца. Донор сероводорода H2SDox (64) сейчас рассматривается как потенциальный агент для терапии остеосаркомы сам по себе или в составе липосом [71]. Он продемонстрировал хорошую активность против линий остеосаркомы U-2OS и Saos-2 в том числе и к их подтипам с устойчивостью к действию DOX [72]. В клетке H2SDox (64) локализуется в основном в эндоплазматическом ретикулуме, где вмешивается в работу белков-регуляторов, сигнализирующих о наличии несвернутых белков или отвечающих за удаление таких белков, а также в работу системы убиквитин-зависимой деградации белков. В итоге H2SDox (64) ведет к клеточной смерти, стимулированной через стресс эндоплазматического ретикулума.

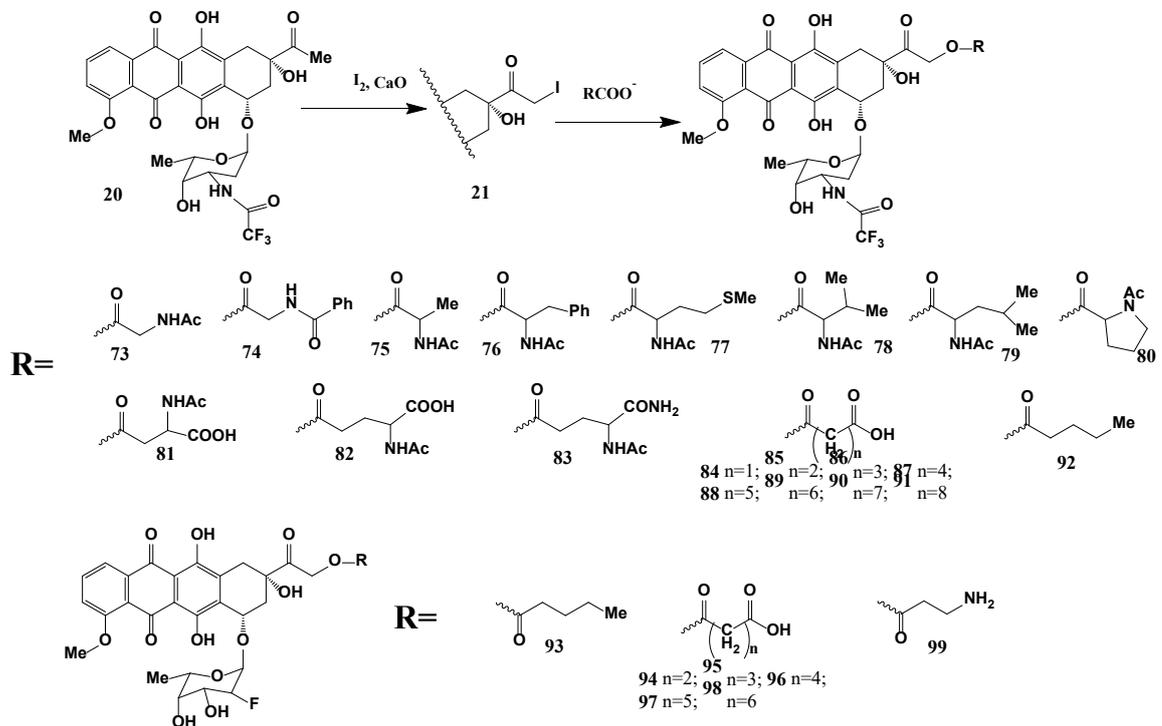


Рисунок 8 С-14 Ацильные производные фторсодержащих антрациклинов

Эфирный конъюгат **70** антрациклина с трис-нор-сваленовой кислотой был получен для создания наноразмерных форм доставки DOX [73]. Конъюгат **70** обладает способностью к самосборке в нитевидные мицеллы размером порядка 150 нм. Использование **70** в виде такой наноразмерной формы обладает очевидными преимуществами перед простым раствором DOX: при этом не происходит развитие кардиотоксичности, в плазме не наблюдается появление сердечного тропонина, нет видимых гистологических поражений миокарда с формированием вакуолей клеток, обладает лучшей фармакокинетикой и в 15 раз меньше накапливается в миокарде. Мицеллярная форма **70** на мышинных моделях ксенографтов с привитыми опухолевыми линиями MiaPaCa-2 и M109 превосходит по активности не только DOX и его механическую смесь со скваленовой кислотой, но и коммерчески доступные нанолечекарственные

формы антрациклинов Myocet и Caelyx. Как способ повысить липофильность молекулы антрациклина был получен С-14 ацильный конъюгат **71** содержащий фрагмент 1,4-дигидро-пиридина [74]. Липофильный конъюгат был использован для встраивания в липопротеины низкой плотности как замена липосомам. Предполагается также что 1,4-дигидро-пиридин в составе **71** может выступать как ловушка радикалов, что приведет к сниженной кардиотоксичности.

Альтернативные способы получения 14-*O*-Ацил-производные антрациклинов предполагают, например использование 14-хлор-антрациклинов в качестве прекурсора для синтеза С-14 эфиров. Таким способом был получен 14-*O*-формиат даунорубицина (**72**). Другие С-14 ацильные производные, в частности, производные *N*-трифторацетил-даунорубицина (**20**) (Рис. 8) были получены исходя из его С-14 йодпроизводного **21**. Соединения (**73-92**) синтезировались путем действия на 14-йод-*N*-трифторацетил-даунорубицин (**21**) щелочных солей различных карбоновых кислот, что привело к образованию соответствующих 14-ацил-производных. Наиболее важным среди них является *N*-трифторацетил доксорубицин-14-валерат (**92**, AD32) [75] [76], также известный как вальрубицин, или под торговой маркой Valstar. Вальрубицин (**92**) обладает сниженной цитотоксичностью, по оценке в IC_{50} , по сравнению с DOX и DAU, однако по изменению увеличения продолжительности жизни в оптимальных дозах на мышинной модели (+429% на привитой опухоли линии P388 и >+445% на линии L1210) сильно превосходит их [75]. Вальрубицин прошел клинические испытания и стал противоопухолевым лекарством. Однако, крайне малая растворимость вальрубицина (**92**), одновременно при высоких требуемых дозах, предопределила его специфическую область применения – лечение рака мочевого пузыря, лекарство при этом вводится напрямую в полость мочевого пузыря. Поскольку вальрубицин (**92**) малорастворим в воде, были синтезированы аналогичные конъюгаты (**84-91**) доксорубицина с заменой остатка валериановой кислоты на линейные двухосновные карбоновые кислоты с различной длиной (C_3 - C_{10}) цепи [77]. Наиболее активен в этом ряду конъюгат с адипиновой кислотой (**87**). Он, как и его ближайший гомолог (**86**), имеют приемлемую стабильность и растворимость при pH=7,4, что позволяет использовать их в чистом виде для внутривенного введения. В продолжение этой работы был получен ряд аналогов вальрубицина с *N*-ацетильной группой в остатке кислоты (**81-83**) [52]. Такая модификация должна способствовать расщеплению сложноэфирной группы в молекуле пролекарства неспецифическими эстеразами, однако при инкубации с плазмой крови мышей эти соединения обычно демонстрировали большую стабильность. С другой стороны, конъюгаты (**81-83**) более цитотоксичны по отношению к CCRF-CEM клеткам чем вальрубицин (**92**), из чего был сделан вывод, что С-14 ацил-антрациклины (**81-83**) гидролизуются до активной формы

преимущественно внутриклеточно. О С-14 эфирах 9,10-ангидро-антрациклина сказано далее в разделе, посвященном модификациям по кольцу А [78].

Этот подход был применен для синтеза серии С-14 эфиров (**93-98**) антрациклина, активного аналога DOX, содержащего атом фтора в сахарном остатке. Конъюгат фторантрациклина с одноосновной кислотой в виде С-14 валерата (**93**) имел слишком малую растворимость, а конъюгаты с двухосновными кислотами (**94-98**) были хорошо водорастворимы и показывали отличную эффективность *in vivo* [79]. Конъюгат с двухосновной пимелиновой кислотой (**97**), получивший название ME-2303 (FAD-104), далее подробнее исследовался на предмет биологической активности и показал меньшую токсичность по сравнению с DOX при одновременной высокой противоопухолевой активности [80]. В организме он действует как пролекарство и расщепляется эстеразами крови с высвобождением фторсодержащего антрациклина. Далее был получен другой водорастворимый С-14 эфир фторантрациклина (**99**, DA-125) с заменой остатка пимелиновой кислоты в эфирной части на остаток β-аланина. На нескольких протестированных линиях опухолей ЖКТ эфир **99** обычно показывал большую цитотоксичность чем DOX и большую скорость накопления в клетках [81]. Хотя эфир **99** не показывает выраженной острой токсичности, в том числе и в отношении сердца, но для него характерны эмбриотоксические и тератогенные свойства [82], а также выраженная токсичность по отношению к клеткам семенников [83].

Кроме образования сложных эфиров, возможны и реакции 14-бром-даунорубидина (**1**) с другими нуклеофилами – аминами, амидами, тиолами и селенолами (Рис. 9). 14-Бром даунорубидин (**1**) реагирует с тиолами в основных условиях, давая серусодержащие конъюгаты (**100-104**). Аналогичные серусодержащие конъюгаты (**105-109**) образуются в тех же условиях исходя из 14-бром-*N*-трифторацетил даунорубидина [84]. Селенофенол в присутствии основного катализа присоединяется к 14-бром-даунорубидину давая 14-фенилселенил-даунорубидин (**110**). Аналогичная реакция идет и между селенофенолом и 14-бром *N*-трифторацетил даунорубидином, что приводит к образованию *N*-трифторацетил-14-фенилселенил-даунорубидина (**111**), причем реакция присоединения идет только с 14-бром антрациклином, а с аналогичным 14-йод-антрациклином (**21**) происходит отщепление галогена с образованием *N*-трифторацетил-даунорубидина (**20**) [85]. При использовании реагента с двумя тиольными группами, по этой же методике получены также бис-антрациклины (**112-115**), связанные по С-14 атомам через линейный линкер. Все С-14 селен- и серусодержащие антрациклины (**100-115**) устойчивы к расщеплению эстеразами и обладают сниженной *in vivo* противоопухолевой активностью по сравнению с DOX [84]. Также известно о синтезе 14-сульфоновой кислоты даунорубидина (**116**) исходя из 14-бром-DAU и сульфита натрия, но биологической активности этого соединения ничего не известно [86].

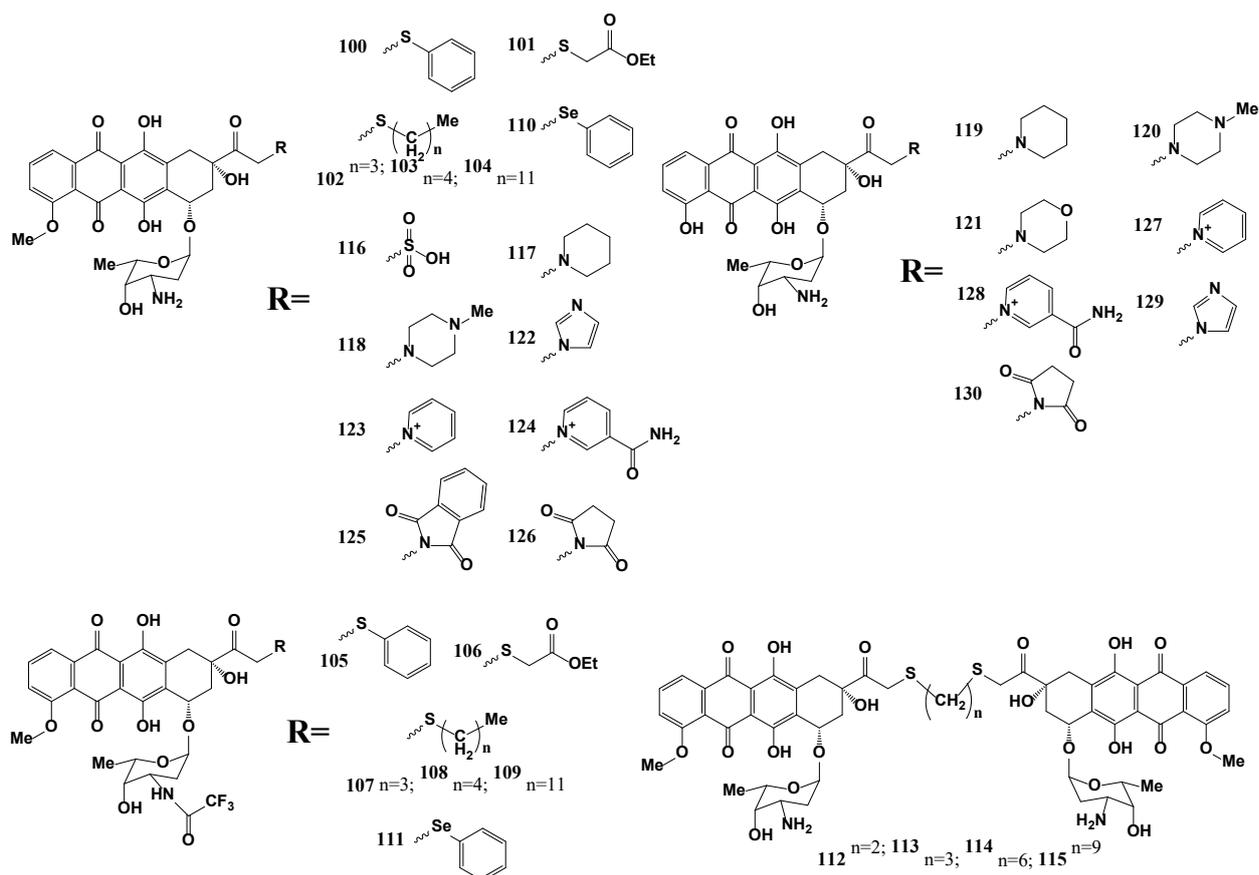


Рисунок 9 Конъюгаты антрацилинов по C-14 положению с N-, S- и Se-нуклеофилами

Соединения с NH₂- группой при C-14 атоме значительно менее активны, чем исходные антрациклины, что продемонстрировано в тесте на бактериальной культуре *Bacillus mycoides* [87] [51]. Результаты этого теста часто коррелируют с цитотоксической активностью ингибиторов деления клеток на культурах опухолевых клеток. Первым описанным синтезом C-14 аминоконъюгатов антрациклинов служит реакция образования продуктов присоединения пиперидина (117) и N-метил-пиперазина (118) к 14-бром-даунорубину в ацетоне [87]. Аналогичные конъюгаты с остатками пиперидина (119), N-метил-пиперазина (120) и морфолина (121) образуются при реакции 14-бром-карминомицина с аминами в диоксане. 14-Бром-даунорубин также легко дает продукты присоединения с имидазолом (122) в среде метанола и с чистым пиридином (123) [51] [88]. В последнем случае образуется заряженная соль пиридиния (123). Аналогичным образом получен конъюгат с замещенным пиридином – никотиномидом (124) [88]. Присоединение амидов идет не так легко и требует использования 14-йод-даунорубина, который образуется через реакцию обмена галогенов *in situ* при действии на 14-бром-даунорубина (1) йодида натрия в ацетоне. Таким образом при реакции с фталимидом калия в присутствии краун-эфира образуются конъюгат даунорубина с фталимидом (125) [51], но с небольшим выходом. Повысить выходы конъюгата (125) удастся при использовании в качестве субстрата 14-бром-рубицина в виде гидрохлорида [88]. Описано еще несколько

соединений, образующихся при реакции 14-бром антрациклинов с аминами. Так, образуется аддукт (126) при реакции 14-бром даунорубицина (1) с сукцинимидом [89]. Похожим способом, через образование 14-бром производного, были получены С-14 конъюгаты карминомицина с аминами – пиридином (127) [89], никотиномидом (128), имидазолом (129), а также с сукцинимидом (130). Внесение таких модификации ослабляет цитостатическое действие в 1,5-7 раз в тесте на включение в делящиеся клетки меченного тимидина. В тесте на торможение роста опухоли в переносимых дозах эти соединения показывают либо лишь слабую активность, либо стимулируют рост опухоли. К тому же в отличие от исходных антибиотиков DAU и CARM эти соединения показывают острую токсичность и приводят незамедлительно к смерти мышей в токсических дозах в отличие от отсроченной токсичности прочих антрациклинов [88].

1.3 Модификации по С-8 и С-9 атомам кольца А агликона

При использовании пиридина как растворителя и основания в процессе ацилирования антрациклинов при этом кроме целевых продуктов также получают *N*-ацилированные антрациклины с изменённым агликоном. При этом происходит дегидрирование по С-9 спиртовой группе и образование 9-,10-ангидроантрациклинов [78] [90]. Увеличение времени реакции ацилирования в пиридине и проведение ее при комнатной температуре дает ангидро-антрациклины как основной продукт реакции (Рис. 10). Обработка DAU ангидридом трифторуксусной кислоты в пиридине ведет к образованию *N*-трифтоацетил-ангидро-DAU (131) [78]. Аналогично синтезировали и *N*-трифтоацетил-ангидро-DOX (132). Свободный ангидро-DAU (133) получают снятием защиты с аминсахара в мягких щелочных условиях [90]. Прямая конверсия DOX в его ангидро-аналог (134), аналогичным образом невозможна из-за сложности снятия трифторацетил-защитной группы, что связано с лабильностью гидроксиметил-кетогруппы агликона в основных условиях. Поэтому, для ее защиты от действия щелочи, С-14 спиртовую группу в (132) сначала защищали с образованием *n*-анизил-дифенил-метилового эфира. После снятия защиты с аминсахара в основной среде и снятия защиты с С-14 спирта в кислой получали ангидро-DOX (134).

Легкость получения ангидро-антрациклинов позволяет синтезировать модифицированные по С-9 и С-10 атомам антрациклины напрямую из DAU. 9-Дезокси-DAU (135) может быть получен гидрированием на палладии *N*-трифтоацетил-ангидро-DAU (131) и снятием защиты с полученного 9-дезокси-антрациклина (136) [90]. 9-Дезокси-DOX (137) легче синтезировать из полученного DAU-аналога (135) используя обычную схему конверсии DAU в DOX [91]. *In vitro* 9-дезокси-DAU (135) для той же активности требует в 8,25 раз большую концентрацию чем DAU для подавления роста CCRF-CEM клеток лимфобластной лейкемии человека [90], а *in vivo* в больших дозах соответствует активности DAU на привитой мышам линии P3888. 9-Дезокси-DOX (137) в тех же тестах *in vivo* не достигает активности DOX [91].

Исходя из ангидро-антрациклина **131** так же был получен его 9-,10-эпоксианалог (**138**) [92] в виде смеси изомеров. Метанолиз эпокси-антрациклина **138** в итоге ведет к 10-метокси-DAU (**139**) его 9-эпимеру (**140**). Обычным методом конверсии DAU в DOX из этих аналогов DAU получали соответствующий 10-метокси-DOX (**141**) и его 9-эпимер (**142**). Все 10-метокси антрациклины показывали похожую активность в тестах *in vivo*, давая увеличение выживания мышей с привитой линией P3888 на 120-130%, но в увеличенных оптимальных дозах, что не давало им превзойти активность DOX.

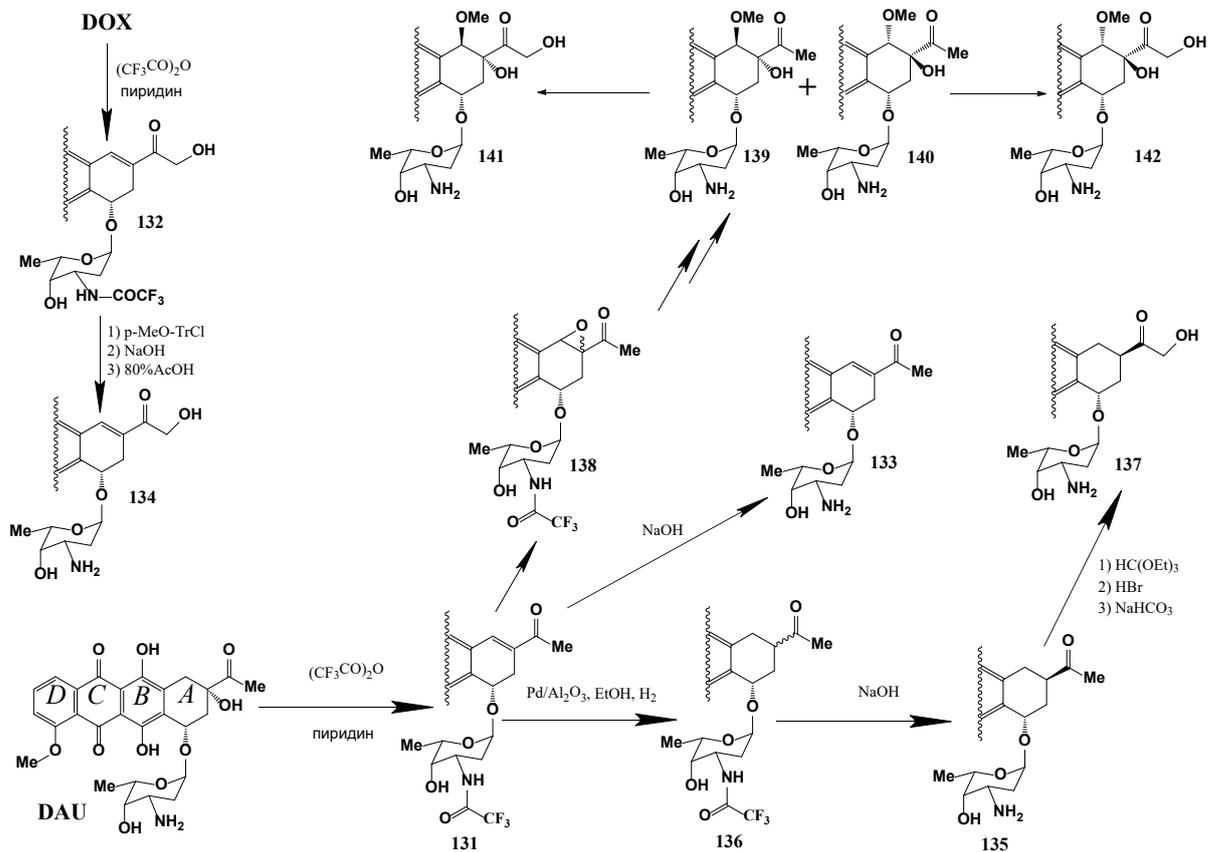


Рисунок 10 Ангидроантрациклины и их производные

Хотя гидроксильная группа в С-9 положении крайне желательна для проявления активности, она может быть заменена на амин (Рис. 11). Из синтетических агликонов было синтезировано три 9-амино-антрациклина (**143-145**) [93]. Один из этих синтетических антрациклинов стал известен как амрубицин (**145**, SM-5887, Calsed). Амрубицин (**145**) значительно менее цитотоксичен чем DOX на многих линиях, однако его основной метаболит амрубицинол (продукт восстановления кетогруппы) на порядки активнее **145** и равен по активности DOX или даже превосходит его, и, по-видимому, он в организме ответственен за эффект **145** [94]. В настоящее время амрубицин (**145**) применяется в Японии для терапии в основном мелкоклеточных раков легких и немелкоклеточного рака легких. При терапии амрубицином (**145**) у пациентов реже развивается кардиомиопатия, основное ограничение его применения - развитие миелосупрессии и расстройства ЖКТ. Недавно сообщено о синтезе

уторубицина (**146**) еще одного потенциально некардиотоксичного 9-амино аналога антрациклина [95]. Уторубицин (**146**) заранее содержит восстановленную кетогруппу, аналогично высокоактивному амрубицинолу и формальдегидную сшивку в аminosахаре для увеличения активности. В чистом виде он в 2-16 раз более активен *in vitro* на линиях U937, Jurkat, A549 и HT-29 чем DOX. Предлагается использовать его в составе наночастиц для повышения избирательности действия и устранения высокой липофильности.

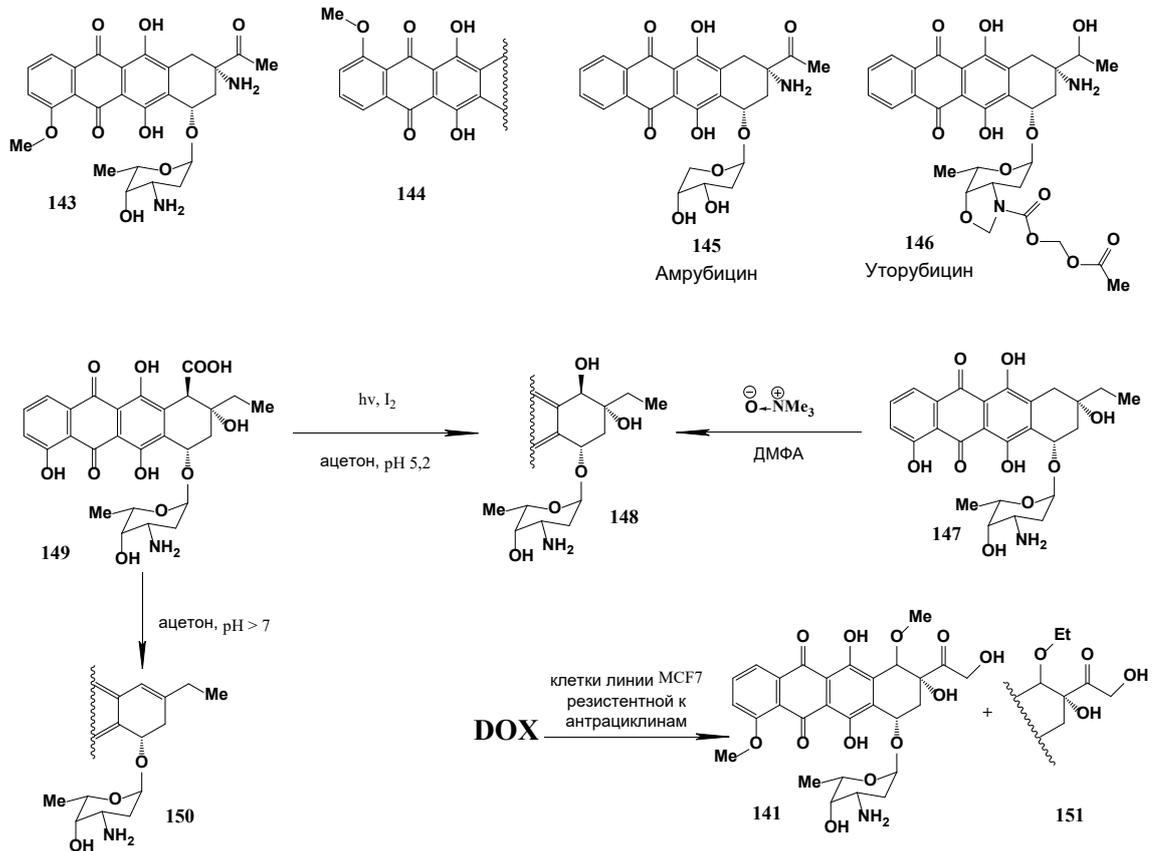


Рисунок 11 Модификации по кольцу А некоторых антрациклинов

Интересен способ функционализации А-кольца прямым введением спиртовой группы [96]. При действии на 13-деоксо-CARM (**147**, R20X) оксида триметиламина в среде ДМФА происходит окисление при хромофоре в С-10 с образованием у продукта (**148**, R20X2, оксауномицин) гидроксильной группы. Кроме того, описан еще один способ синтеза антрациклина **148** из антрациклина карборубицина (**149**) методом декарбокислирования [97] [98], аналогичному реакции декарбокислированию в биосинтезе **148**. При облучении светом ртутной лампы и йода в среде водного ацетона карборубицин (**149**, D788-1) теряет карбоксильную группу с заменой ее на спирт в С-10 положении с выходом до 70%. Кроме того, этот же карборубицин (**149**) недостаточно стабилен и способен декарбокислироваться с образованием фиолетового антрациклина ангидро-серии, известного как акробомицин (**150**) [99]. Реакция активнее протекает в ацетоне при щелочных рН. Обнаружено, что DOX может по-разному

аминогруппу применяют более избирательный NaCNBH_3 . Таким образом получены и замещенные С-13 аминоканалоги DAU с метиламином (**152**), бутиламином (**153**), 3-аминопропанолом (**154**) и *N,N*-диметил-1,3-диаминопропаном (**155**) [101] (Рис. 12). Один из механизмов развития антрациклиновой кардиотоксичности связывают с образованием в кардиомиоцитах гидрофобного агликона, а значит введение на месте С-13 кетонной группы такой катионной группы как аминная должно привести к большей водорастворимости, а значит и способности к выведению, агликона. С другой стороны, такая замена снижает способность к проницаемости клеточной мембраны. Полученные аминоканалоги **152-155** сохраняют цитотоксические свойства, но, в отличие от исходного DAU, для достижения как оптимальной, так и токсической дозы требуются большие концентрации. Несколько повысить эффективность аминоканалов **152-155** удастся если вводить их в виде комплекса с ДНК лосося.

Из простых случаев также можно выделить взаимодействие антрациклинов с незамещенным гидразином. При взаимодействии DAU с гидразин-гидратом в метаноле образуется 13-гидразон даунорубицина (**156**, 13-гидразон рубомицина) [102] [103]. По химиотерапевтическому индексу $\text{LD}_{50}/\text{ED}_{50}$ и токсичности LD_{50} он напоминает DAU. Также он использовался для синтеза дизамещенных гидразонов DAU без выделения. Аналогично получается 13-гидразон карминомицина (**157**) из CARM [104] (Рис. 2). Его также использовали для синтеза без выделения. При добавлении в реакционную среду с гидразином и антрациклином спустя время второго кетона удастся получить несимметричные дизамещенные гидразоны. Таким образом из DAU получены несимметричные гидразоны с циклогексаном (**158**), циклопентаном (**159**), гексаном-2 (**160**), гептаном-2 (**161**) и 4-метил-пентаном-2 (**162**) [103]. 13-Циклогесилиденгидразон DAU (**158**) обладал повышенной избирательностью противоопухолевого действия чем DAU в отношении карциномы Эрлиха, лимфосаркомы ЛИО1, равен по избирательности DAU в отношении четырех других линий. Остальные гидразоны были менее активны чем DAU. Это означает, что тип алкильного заместителя в гидразоне имеет значение [102] [103]. Аналогично, реакцией с гидразином и вторым кетоном были получены несимметричные дизамещенные гидразоны карминомицина. Так, из CARM получены гидразоны с циклогексаном (**163**), циклопентаном (**164**), и 5-гидрокси-пентаном-2 (**165**). 13-Циклогесилиденгидразон карминомицина (**163**) обладал примерно той же избирательностью действия что и CARM при внутривенном введении, но при пероральном введении был эффективнее его в отношении лимфосаркомы ЛИО1, саркомы 180 и лимфоаденоза НК/Ли [104]. В условиях недостатка гидразина в среде происходит сшивка двух молекул антрациклина гидразоновым мостиком, то есть образуется симметричный азин. При этом DAU дает бис-антрациклин названный рубидазин, а CARM - карминазин (**166**). По химиотерапевтическому индексу он близок к CARM.

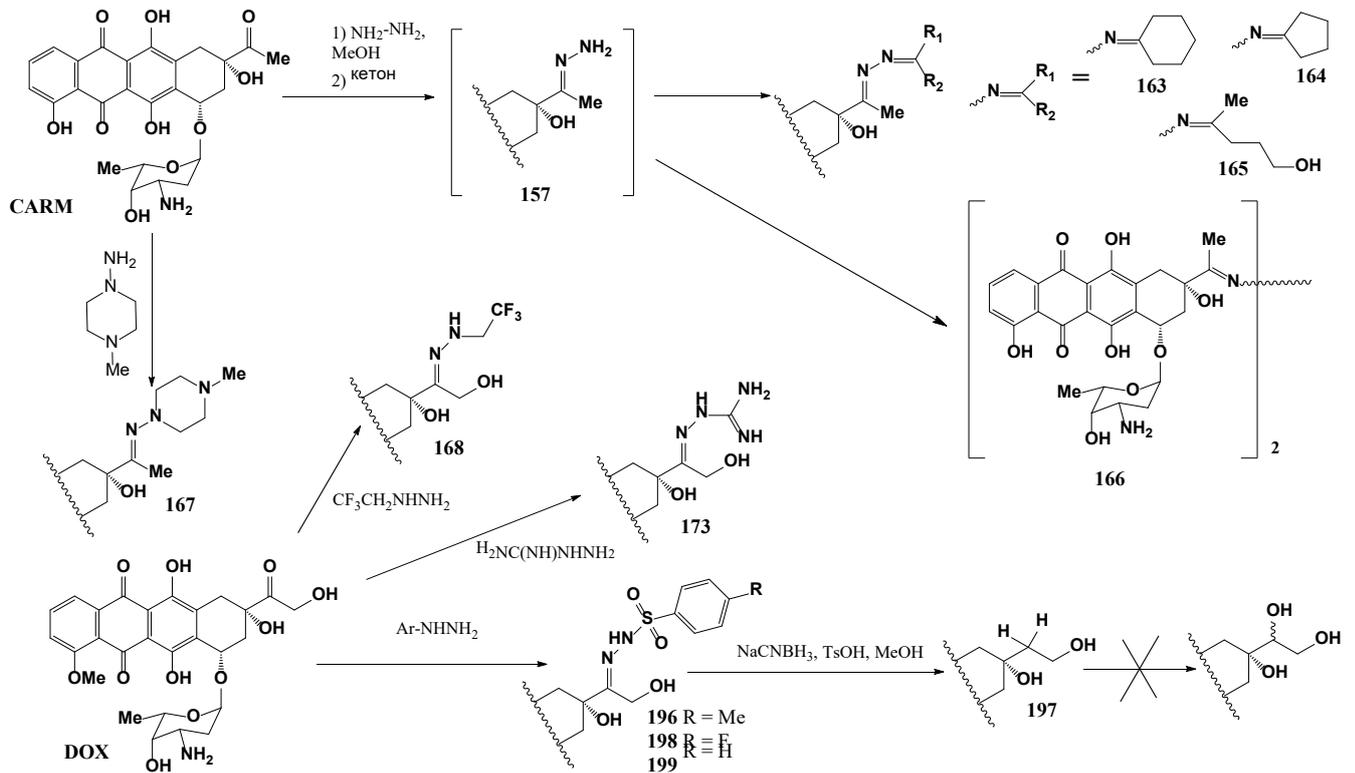


Рисунок 13 Иминопроизводные карминомицина и доксорубицина по C-13 кетогруппе

Несколько гидразонов получено при реакции антрациклинов с изначально замещенными гидразинами. Так, из CARM получен гидразон (167) при реакции с *N*-метил-*N*-аминопиперазином [105]. Он менее токсичен, но и менее активен, такая модификация особых преимуществ не несет. Из DOX был получен фторсодержащий гидразон (168) при реакции с 2,2,2-трифторэтилгидразином [106] (Рис. 13). Аналогичный гидразон (169) был синтезирован из DAU. Фторсодержащие гидразоны довольно стабильны и лучше захватываются клетками из-за большей липофильности чем исходные антрациклины. Однако, они менее эффективно способны связываться с ДНК [107].

Некоторые другие простые производные гидразина могут также давать устойчивые гидразоны при взаимодействии с антрациклинами. Известно о существовании гидразона даунорубицина (170) который очевидно был получен из семикарбазида [108]. Он способен подавлять окислительное фосфорилирование в митохондриях уже в очень низких дозах, однако при этом довольно мало токсичен и не ведет в низких дозах к патологическим изменениям ЭКГ [109]. Описано также получение из DAU гидразонов при реакции с тиосемикарбазидом (171) и аминогуанидином (172) [110]. Гидразон с аминогуанидином (173) был синтезирован также и из DOX [111], однако оказался малоактивным соединением *in vitro* в 2D и 3D моделях. Он активно накапливался в клетках, но не проникал в ядро. Серия иминоконъюгатов с незамещенным (174) [112] и замещенными (175-188) тиосемикарбазидами получена из аналога даунорубицина в котором аминогруппа заменена на азид (189) [113] (Рис. 14). Кроме того, для 3'-азидо-

даунорубицина (**189**) был получен семикарбазон (**190**) при реакции с семикарбазидом. Незамещенный тиосемикарбазон (**174**) этого антрациклина способен к встраиванию в ДНК, что было выяснено физико-химическими методами [112].

Исследователи рассматривают С-13 гидразоны как способ создания лабильных конъюгатов молекулы антрациклина с еще одним терапевтическим агентом или молекулой-вектором. В частности, была попытка синтезировать С-13 гидразиды-конъюгаты даунорубицина с аналогами алкилирующего агента циклофосамида [114]. Были синтезированы С-13 конъюгаты DAU (**191-193**) с несколькими гидразидами амидофосфорных эфиров с остатком азотистого иприта в молекуле. Эта модификация заметно снижает токсичность антрациклина, но также снижает и противоопухолевую активность по сравнению с исходным DAU за исключением крысиной модели гемобластоза La, где активность гидразонов (**191-193**) выше.

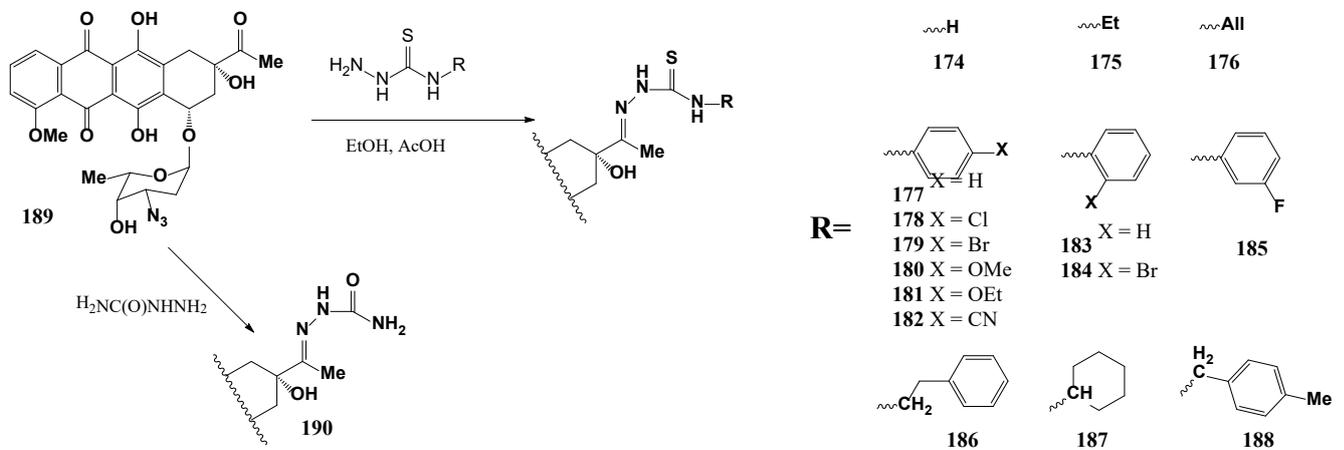


Рисунок 14 Иминопроизводные 4'-азидоаналога даунорубицина по С-13 кетогруппе

Существующий сейчас метод получения С-13 дезоксо-форм антрациклинов основан на получении как промежуточных продуктов иминов по С-13 кетогруппе. Для этого на первой стадии проводят реакцию конденсации антрациклинов с тозил-гидразином, на второй стадии проводят восстановление полученного имиона до метиленовой группы (Рис.13). После первых пробных попыток найдено, что приемлемый выход на второй стадии достигается, если использовать в качестве восстанавливающего реагента NaCNBH_3 в кипящем метаноле с 1% добавкой тозилловой кислоты [115]. Преимущество такого подхода состоит в сохранении гликозидной связи, что означает что антрациклины можно восстанавливать таким способом напрямую без конверсии в агликоны. Так, из DAU был получен сначала 13-тозилгидразон даунорубицина (**194**) и затем 13-дезоксо-даунорубицин (**195**), а из DOX - сначала 13-тозилгидразон доксорубицина (**196**) и затем 13-дезоксо-доксорубицин (**197**). Замысел подобной конверсии состоит в том, чтобы лишить антрациклинов давать 13-дигидро метаболиты в организме которые отвечают развитие кардиомиопатии. Оказалось, что 13-дезоксо антрациклины немного теряют в активности при подавлении синтеза ДНК и РНК, однако *in vivo*

Обработка DOX периодатом натрия ведет к избирательному расщеплению по связи C(13)-C(14) с образованием на этом месте карбоновой кислоты (**200**) (Рис. 15). Из последней реакцией с метанолом в кислой среде получен также метиловый эфир этой кислоты (**201**). Кислота **200** обладает малой способностью связываться с ДНК и слабо подавляет в тестах *in vitro* внутриклеточный синтез РНК и ДНК. Ее эфир, напротив по этим свойствам близок к исходному DOX. Тем не менее, как эфир **201**, так и кислота **200** в тестах на мышах *in vivo* не достигают эффектов DOX, имеют сходную эффективность (максимальная ILS=146-163%) и действуют только в больших дозах [118]. Более классическими для органической химии субстратами для периодатного расщепления являются *виц*-диола, которые при этом в виде продуктов дают карбонилы. Для DOX также описан [119] такой путь периодатного расщепления с образованием антрациклина **202** со свободной альдегидной группой по C-13 положению через предварительное мягкое восстановление DOX до *виц*-диола (**203**). Альдегид **202** имеет пониженное сродство к ДНК и менее способен к ингибированию синтеза нуклеиновых кислот, однако в больших дозах *in vivo* у мышей обладает эффективностью сопоставимой с DAU. Аналогично, периодатным расщеплением, получена [120] карбоновая кислота **204** из DOX с защитой аминогруппы сахара. Кислота **204** в виде смешанного ангидрида реагирует с диазометаном, давая диазо-аналог DOX (**205**) по C-14 атому. Авторами предложено применять **205** для конверсии в исходный DOX, а в случае использования C¹⁴-меченного диазометана – для получения C¹⁴-меченного DOX.

К этой же группе модификаций антрациклинов следует отнести стратегию синтеза антрациклинов (**206-208**) с удлинённым заместителем в C-14 положении [121]. Они могут быть получены из синтетического агликона (**209**) с карбоксильной группой по C-13 положению, соединения аналогичного продукту окисления DOX периодатом. Кислота **209** при действии карбонилдиимидазола дает ацил-имидазол (**210**), который при реакции с реактивами Гриньяра эффективно ведет к образованию агликонов (**211**) с удлинённым боковым заместителем. Из таких агликонов далее в несколько стадий синтезировали аналоги IDA с октильным (**206**), бутильным (**207**) или этильным (**208**) заместителями вместо C-14 метила. Однако, оказалось, что они в 5,3-47 раз менее цитотоксичны чем DOX на P3888 клетках лейкемии, а C-14 октильный аналог антрациклина (**206**) *in vivo* не показывает выраженной активности даже в больших дозах. Тот же подход, с использованием реактивов Гриньяра, применялся для синтеза C¹⁴-меченного DAU [122]. Действие на адриамиценон (агликон DOX, **212**) C¹⁴-меченным метил-магниййодидом ведет к образованию *виц*-диола **213**. Последний, при расщеплении периодатом, регенерирует кетогруппу в прежнем положении и дает меченный дауномиценон (агликон DAU, **214**), из которого далее получали углерод-меченные DAU и DOX по известным методикам. Другой подход [119] к удлинению бокового заместителя при агликоне также предполагает реакцию по C-13 кетону. Даунорубин, после предварительной защиты амина аминсахара, при действии

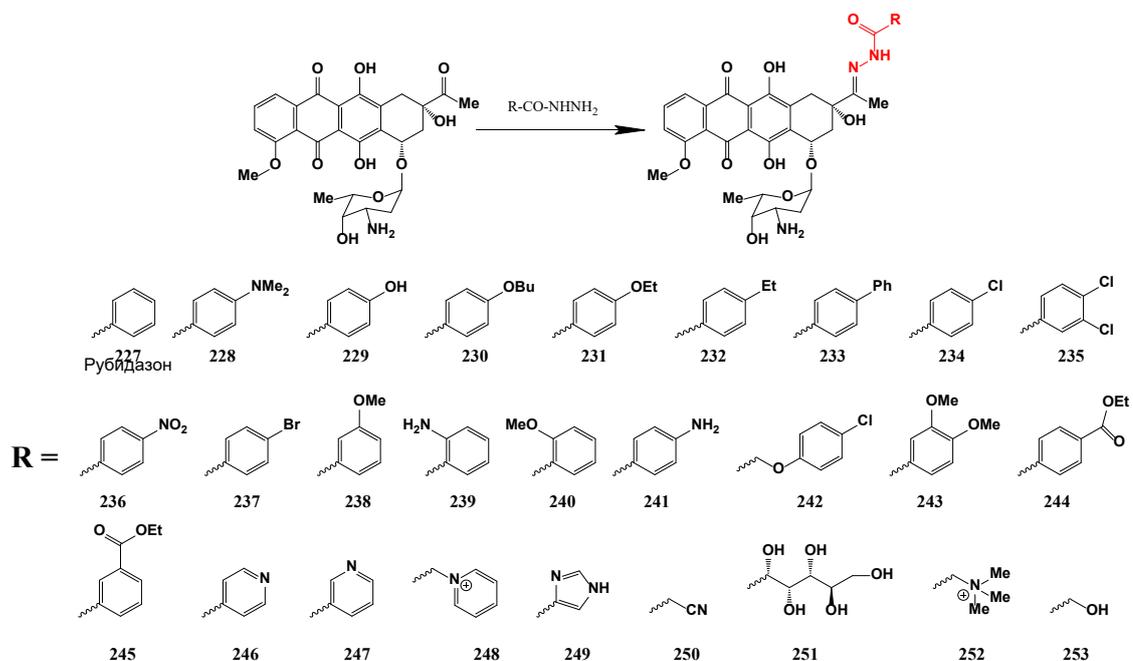
LDA дает енолят лития (**215**), который подвергается алкилированию при действии метил-иодида с образованием C-14 метилированного аналога DAU (**216**). При повторении процедуры образования енолята и алкилирования получают C-14 ди-метилированный аналог DAU (**217**). При алкилировании енолята (**215**) в среде с добавкой НМРА получали сразу смесь моно- (**218-220**) и дизамещенных (**221-223**) аналогов DAU по C-14 атому. Такие удлиненные антрациклины, после снятия защитной группы с аминсахара, сохраняют некоторое сродство к ДНК, но *in vivo* не достигают активности DAU или DOX в тестах на мышах даже в больших дозах.

Поскольку антрациклины имеют также спиртовую группу в C-9 положении, периодатным окислением можно достичь более глубокой деградации при которой агликон полностью лишается бокового заместителя [123]. C-13-Дигидро-даунорубицин (**224**) с защитой аминогруппы также можно представить как *виц*-диол и вполне ожидаемо, что можно достичь его расщепления при действии периодатом до соединения (**225**) с новой кетогруппой в C-9 положении. При восстановлении антрациклина-кетона (**225**) циан-боргидридом натрия и снятии защиты с аминогруппы получают смесь 9-дезацил-даунорубицина (**226**) и его 9-эпимера. Несмотря на утрату бокового заместителя, 9-дезацил-даунорубицин (**226**) в тестах *in vivo* сохраняет активность и даже несколько превосходит по активности DOX на привитой опухолевой линии P388, но в больших дозах (среднее время выживания 180% T/C в дозе 2 мг/кг для DOX против 228% T/C в дозе 12,5 мг/кг для **226**). Его эпимер в оптимальной дозе показывает активность близкую к DOX.

1.5 Гидразоны по C-13 атому агликона

Гидразоны-аналоги антрациклинов фактически являются основаниями Шиффа и могут быть синтезированы через конденсацию антрациклина в виде солянокислой соли с избытком гидразида интересующей кислоты. Реакция проходит в минимальном количестве метанола при кипячении в течение нескольких часов [124]. Одним из первых соединений этого типа был получен [110] гидразон даунорубицина с бензойной кислотой (**227**), который затем получил название рубидазон (Рис. 16). Также он известен под маркой Зорубицин. Уже первые клинические испытания, проведенные в 70х годах, показали, что он, по крайней мере, эквивалентен даунорубицину при лечении лейкемии и имеет потенциально полезные фармакологические свойства. В частности, сообщается, что рубидазон (**227**) менее токсичен (меньше риск кардиомиопатии и угнетения костного мозга) и проще в применении, чем исходный DAU. Позже рубидазон проходил большое количество клинических испытаний для лечения онкологических заболеваний различной локализации. Благоприятные клинические отчеты побудили принять рубидазон (**227**) как отправную точку для синтеза других гидразонов антрациклинов. Таким образом, были получены гидразоны DAU с замещенными аналогами бензойной кислоты (**228-249**) [125] [124] и гидразоны DAU с алифатическими заместителями

(250-252). Поскольку гидразоны (228-249) отличаются от рубидазона (227) только заместителями при бензольном кольце, то для таких соединений удобно проводить связь структура-активность используя константы Гаммета (σ) и Ганча-Фуджиты (π). Однако варьирование заместителей в соединениях (228-249) не приводит к резкому изменению уровня синтеза ДНК, температуре плавления комплекса лекарства с ДНК и эффективности против опухоли Р-388 (изменению времени выживания на мышинной модели опухоли в оптимальных дозах) [125]. Однако, гидразоны-пролекарства DAU по эффективности в оптимальных дозах превосходят чистый DAU и сравнимы с DOX, но в больших дозах. В то же время кардиотоксичность, выраженная в минимальной кумулятивной кардиотоксичной дозе в мг/кг, четко зависит от электронного характера заместителя. Чем больше σ -константа, тем менее кардиотоксичны гидразоны DAU при схожей с DOX эффективностью, а наименее кардиотоксичен в этой серии хлорзамещенный гидразон (234). Также характер заместителя влияет на скорость гидролиза гидразонов [124] [125]. Гидразид с остатком гликолевой кислоты (253), одно из ранних производных DAU, показал себя как соединение с малой эффективностью *in vivo* [126].



В настоящее время для создания новых С-13 гидразидов используют DOX как изначально более клинически значимый антибиотик (Рис.17). В ряде исследований сообщалось что докозогесаеновая кислота обладает ингибирующим действием на рост опухолей. Поэтому, в целях получения синергичного эффекта с цитотоксическим DOX, был синтезирован конъюгат (254) по С-13 карбонильной группе. Для этого предварительно докозогесаеновая кислота была предварительно переведена в форму гидразида. Хотя полученный конъюгат обладал сниженной цитотоксичностью, но в дозах с сопоставимой токсичностью для мышей он показывал увеличение продолжительности жизни и меньшую потерю массы на мышях с привитыми

линиями В16 и L1210 [127]. Аналогичные конъюгаты были также синтезированы с другими гидразидами насыщенных и ненасыщенных жирных кислот (**255-258**) [128], а также **259** [111]. В рамках того же исследования использовались и гидразиды аналогов жирных кислот разной длины с пришитыми через линкер из двухосновной кислоты монотерпеновыми остатками ментола (**260-263**) и борнеола (**264**). При схожей химии полученные конъюгаты тем не менее отличались по механизму цитотоксического действия. Часть из них увеличивала образование АФК в клетках линий опухолей, в то время как для других конъюгатов антрациклина скорость образования АФК резко падала. Резко отличались и процент поврежденных митохондрий, и тип каспазы (3, 8 или 9-ая), который приводил к запуску апоптоза. Соединение с остатком ментола (**263**) показывало большую цитотоксичность по сравнению с исходным DOX особенно на линиях с МЛУ, как в присутствии верапамила, ингибитора МЛУ, так и без него [128]. Конъюгат с гидразидом пальмитиновой кислоты **259** проникает внутрь клеток MCF-7 устойчивых к действию DOX эффективнее свободного антибиотика, причем лучшую активность конъюгат **259** показывает при его использовании как комплекса с альбумином [111]. Сообщается также о синтезе высоколипофильного гидразона-конъюгата DOX **265** с двумя липидными заместителями для эффективного закоривания в липидной стенке наночастиц [129] и о синтезе конъюгата DOX с адамантановой кислотой **266** через образование гидразона для образования комплекса включения с циклодекстрином [62].

Малеимид является сильным акцептором в реакции присоединения по Михаэлю. Использование кислот, содержащих его остаток, для создания C-13 гидразидов привело к аналогам DOX (**267-270**) способным к присоединению нуклеофилов [130]. При введении в кровоток, эти соединения самопроизвольно привязываются к сывороточному альбумину и в таком виде разносятся по организму. Альбумин, аналогично наночастицам, хоть и в меньшей степени, способен к эффекту повышенного проникновения и удержания (EPR-эффект) в ткани опухоли, а, следовательно, его можно рассматривать как потенциальный носитель терапевтических агентов. Соединения (**267-270**) обладают разной длиной линкера между антрациклином и малеимидом и характеризуются разной скоростью связывания с цистеиновым остатком молекулы альбумина. Соединение **270** с наибольшей скоростью связывания с альбумином, привело к созданию альдоксорубина (INNO-206). Альдоксорубин (**270**) лучше переносится пациентами чем исходный DOX и несколько менее кардиотоксичен. Аналог альдоксорубина (**271**), с заменой активного остатка малеимида на близкий ему остаток сукцинимиды, не способен ковалентно связываться с альбумином и образует с ним комплекс только спустя длительное время. Альдоксорубин (**270**) может непосредственно использоваться для синтеза конъюгатов и с низкомолекулярными нуклеофилами. Так, при реакции с бутантиолом и октедецилтиолом получены липофильные производные **272** и **273**. Они способны

к встраиванию в полимерные наночастицы с постепенным высвобождением в организме, причем конъюгат **272** с более короткой цепью высвобождается быстрее [131].

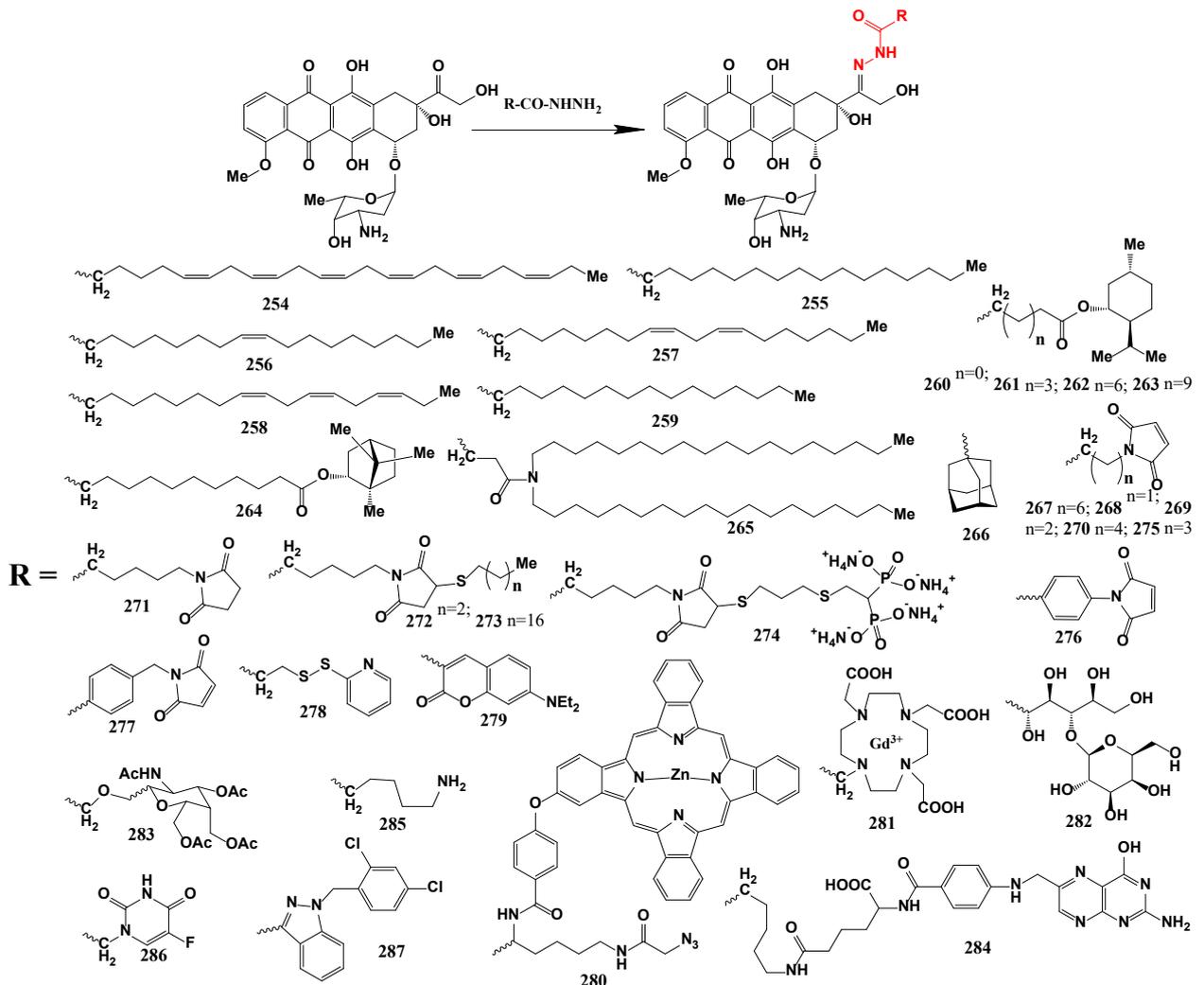


Рисунок 17 C-13 Гидразиды доксорубицина

Другой конъюгат **274** на основе альдоксорубицина несет в своем составе бисфосфонатный фрагмент, что позволяет конъюгату **274** как целому более избирательно действовать на метастазы в костях. Как и прочие гидразоны, при попадании бис-фосфонатного конъюгата **274** в более кислую среду происходит его распад с высвобождением активного DOX [132]. Малеимид-несущий конъюгат DOX **270** также неоднократно использовался для синтеза нагруженных DOX других белков и макромолекул, например: моноклонального антитела BR96 против олигосахарида Lewis-y [133], пептиду-фрагменту сывороточного альбумина [134], полимеру на основе поликарбоната, со способностью самосборки в мицеллы [135], к поверхности наночастиц дендримера на основе поли-глицерина [136]. Сходные конъюгаты с фрагментом малеимида содержали другой тип линкера. Конъюгат DOX **275** с гомологичным укороченным линкером использовался для создания наночастиц железа в виде нано-провода нагруженных DOX [137], а гидразоны **276** и **277** с ароматическим линкером были синтезированы как реагенты для

пришивки молекул DOX к поверхности трансферрина [138]. Альтернативой для сшивки DOX с остатками цистеина на поверхности белков служит гидразон DOX **278** с активированным дисульфидом, который по обменной реакции использовался для пришивки DOX к моноклональным антителам против Lewis- y [133], или к Fab-фрагментам антител против CD-20 [139].

DOX как и прочие антрациклины окрашен и способен к флуоресценции. Гидразид по C-13 атому DOX с кумарином (**279**) не светится из-за тушения флуоресценции. Однако при гидролизе гидразидной связи в лизосомах клетки два компонента конъюгата **279** высвобождаются и по флуоресценции можно установить местонахождение сразу обоих окрашенных компонентов, что позволяет проследить за судьбой конъюгата [140]. Другая комбинация в одной молекуле DOX и красителя представляет собой гидразид DOX с молекулы с остатком фталоцианина цинка (**280**). Предполагается использовать такой конъюгат для одновременной доставки в клетки опухоли агента для фотодинамической терапии – фталоцианина цинка – и непосредственно цитотоксического агента – DOX. Дополнительная азидная группа в конъюгате служит для ковалентной сшивки с носителем – наночастицами силикагеля [141]. Для целей тераностики синтезирован конъюгат **281** антрациклина с хелатом гадолиния [142]. При этом гадолиний используется как МРТ-контрастный агент и потенциально позволяет следить за распределением пролекарства **281** в организме.

Оригинальная система доставки основана на использовании в качестве вектора остатка лактозы, которая служит лигандом для мембранного белка ASGPR1 (рецептора асиалогликопротеина), экспрессирующегося на поверхности гепатоцитов. Конъюгат-гидразон DOX с остатком дисахарида лактозы **282** на мышинной модели гепатокарциномы способен к селективному накоплению в печени и ткани опухоли. Для достижения такой селективности, применяли систему доставки в виде наночастиц из сшитого желатина, они способны деградировать с высвобождением конъюгата **282** под действием матриксной металлопротеиназы MMP-2 в ткани опухоли [143]. Как компонент для системы доставки и пролонгированного действия использовали гидразон DOX **283** с фрагментом моносахарида N-ацетил-галактозамина [144]. Такой фрагмент также служит вектором к клеткам со свехэкспрессией рецептора асиалогликопротеина. Липосомы нагруженные пролекарством антрациклина **283** и ингибитором киназ софаренибом оказались очень эффективны *in vivo* на модели привитой карциномы печени. Еще один вариант сшивки DOX с молекулой-вектором через образование гидразона предполагает использование в конъюгате **284** остатка фолиевой кислоты для направленной доставки к клеткам со свехэкспрессией фолатных рецепторов [145]. Опухолевые клеточные линии (KB и HepG2) положительные по экспрессии фолатных рецепторов активнее захватывали конъюгат **284** из среды в отличие от фолат-рецептор отрицательной линии A549. Гидразон **285**,

несущий только линкер из аминокaproновой кислоты без остатка фолата, не проявлял способности к накоплению внутри клеток.

Несколько конъюгатов-гидразонов DOX получено как способ связать антрациклин с другим активным соединением. Попытка образования гидразона **286**, совмещающего в себе остатки DOX и 5-фтор-урацила, привела к неактивному соединению [111]. Аджудин – это аналог лонидамина, вещества с противоопухолевыми свойствами, который по структуре представляет собой гидразид лонидамина и активнее него в несколько раз. Получен прямой конъюгат-гидразон аджудина и DOX **287** [146]. Тесты на клетках с устойчивостью антрациклинам MCF-7/ADR показали, что применение конъюгат **287** в виде мицелл в 7,3 раза более активен чем DOX, хотя близкой активностью обладает и простая смесь гидразона и DOX. Эффект частичного обращения МЛУ связан с подавлением энергетической функции митохондрий аджудином и снижением уровня АТФ.

1.6 Ацильные производные по азоту аминсахара

Ацилирование 3'-аминогруппы аминсахарного остатка является, пожалуй, наиболее часто встречающимся в литературе типом модификаций антрациклинов. В основном известны *N*-ацильные производные DAU и DOX как изначально наиболее клинически значимых противоопухолевых антибиотиков. Ацильные производные по аминогруппе получают как непосредственной реакцией с ангидридами [147] [148], галогенангидридами соответствующих карбоновых кислот, так и через образование активных смешанных эфиров карбоновых кислот, таких как эфиры гидроксисукцинимиды (NHS) [149] [150] [149], эфиры с гидроксibenзотриазолом (HOBT) [151], или с использованием конденсирующих агентов – DCC [50], EDCI [152], HBTU [153] [154], диэтил цианофосфоната [155] и других. Хотя наличие аминогруппы в сахарном остатке антрациклинов не является критичным для проявления цитотоксических свойств, тем не менее общим местом *N*-ацильных конъюгатов является сильно сниженная противоопухолевая активность по сравнению с исходным антрациклином. Это связано с малой активностью неспецифических амидаз в организме способных к гидролизу амидной связи производных антрациклинов. Исключением в этом классе соединений являются *N*-ацильные конъюгаты изначально способные к распаду с высвобождением исходного антрациклина [156].

Наиболее простыми соединениями в классе 3'-*N*-ацильных производных антрациклинов являются *N*-ацетил-даунорубин (**288**) и *N*-ацетил-доксорубин (**289**) (Рис.4). Ацетил DAU (**288**) был получен [147] еще при установлении химической структуры DAU, позже и многими другими исследователями [126] [157] [158]. Такая модификация DAU сильно снижает сродство **288** к препарату ДНК [159], снижает токсичность, но в то же время сильно снижает активность по сравнению с DAU как на клеточных моделях так и на моделях *in vivo* [126], но даже в дозах десятки-сотни мг/кг эффект на продление срока выживания остается умеренным (ILS

увеличивается менее чем на 100%) и в конце концов мышцы погибают от истощения, хотя видимые опухоли могут и отсутствовать [158]. *N*-Ацетил DOX (**289**, AD-38) проявляет себя похожим образом и в тестах *in vitro* он в больших дозах показывает сниженную, но еще проявляющуюся, способность к ингибированию топоизомеразы II, сниженную способность к интеркаляции в ДНК и сильно уменьшенную цитотоксичность на линии клеток L1210 [76] и на четырех других линиях [153]. В тестах *in vivo* ситуация хуже - даже в дозах 100 мг/кг на модели с привитой опухолью P388 **289** не достигает эффекта исходного DOX [160] [76].

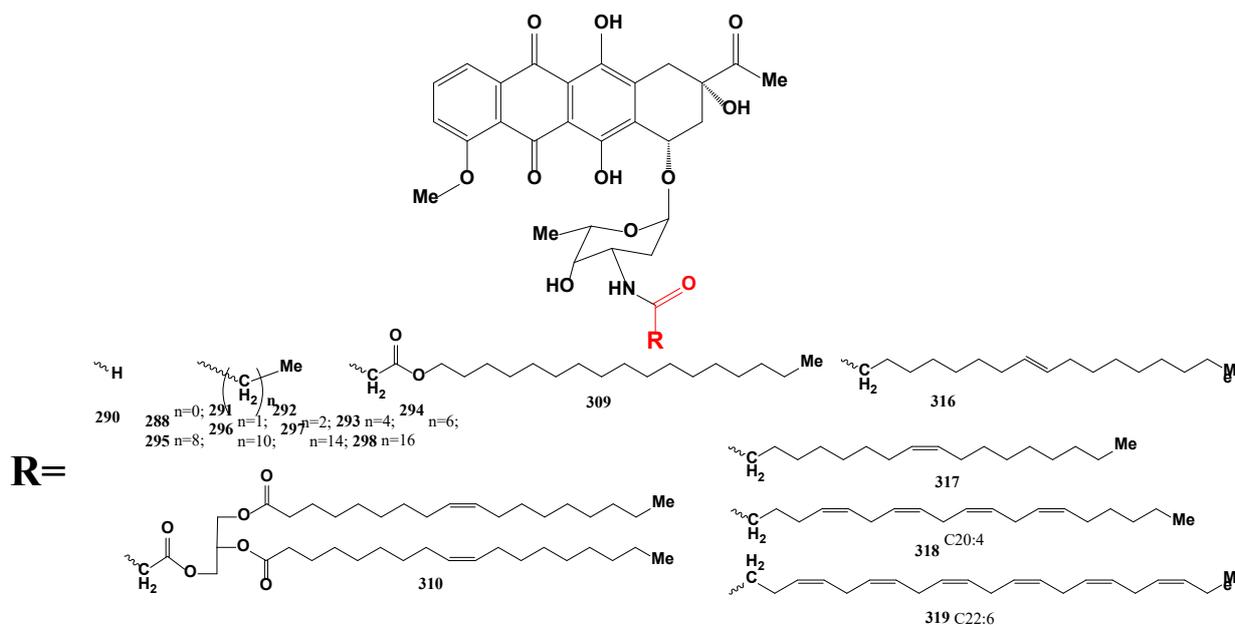


Рисунок 18 Ацильные конъюгаты даунорубицина с липофильными жирными кислотами
Липофильные *N*-ацильные производные

Разными исследователями получены ацильные конъюгаты с другими членами гомологичного ряда линейных карбоновых кислот. Описаны *N*-ацильные конъюгаты DAU (Рис.18) с остатками муравьиной **290** (баумицин С1) [50], пропионовой **291** [126], масляной **292** [126], капроновой **293** [158], каприловой **294** [161], каприновой **295** [158], лауриновой **296** [161], пальмитиновой **297** [161] [158] [162], стеариновой **298** [163] кислотами. Эти соединения с ростом количества атомов в липидном хвосте теряют способность специфически взаимодействовать с ДНК и способность к ингибированию ДНК-полимераз [161], однако еще проявляют некоторую способность к ингибированию роста клеток *in vitro*. Но *in vivo* на модели с перевитой опухолью соединения с пропионовой **291** и масляной **292** кислот не активны [126]. Для DOX (Рис.19) также получены прямые *N*-ацильные производные с линейными алифатическими карбоновыми кислотами: конъюгаты с муравьиной **299** [164], масляной(с4) **300** [165], каприловой(с8) **301**, каприновой(с10) **302**, лауриновой(с12) **303**, миристиновой(с14) **304** [153], пальмитиновой(с16) **305** [111] [166] [162], стеариновой(с18) **306** [163] [153] и арахидиновой(с20) **307** [153] кислотами. Тестирование на цитотоксическую активность показало, что на всех клеточных линиях

наибольшую активность проявили соединения **303** и **304** с остатками лауриновой (с12) и миристиновой кислот (с14), а соединения с самыми короткими и самыми длинными хвостами почти не обладают цитотоксичностью [153] [111]. Клетки рака яичников и прямой кишки более восприимчивы к действию таких ацильных производных чем клетки РМЖ и лейкемии. Причем выраженный эффект развивался только спустя 96-120 часов инкубации, поэтому такие соединения могут использоваться как пролекарства с замедленным высвобождением DOX [153].

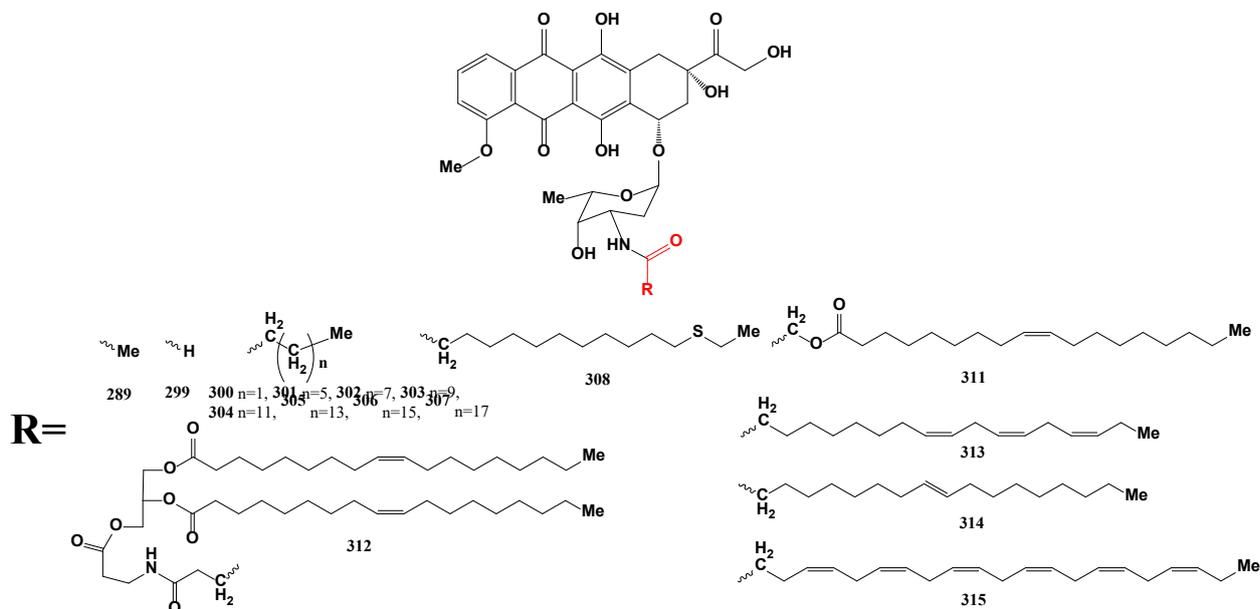


Рисунок 19 Ацильные конъюгаты доксорубина с липофильными жирными кислотами

Кроме прямых конъюгатов с длинными жирными кислотами также имеются сообщения о синтезе *N*-ацильных конъюгатов антрациклинов с другими сильно липофильными фрагментами. В составе серии *N*-ацильных производных DOX с длинноцепочечными жирными кислотами [153] был также синтезирован конъюгат DOX с серусодержащим аналогом пентадекановой кислоты **308**, однако его цитотоксическая активность оказалась даже ниже чем у наиболее близких к нему по строению конъюгатов **304** и **305**. Хотя известны и давно применяются в клинике липосомальные формы антрациклинов, возможны случаи повреждения липосом в кровотоке с преждевременным высвобождением внутреннего содержимого. Высоколипофильные *N*-ацильные производные DAU с длинным жирнокислотным хвостом [167] способны эффективно закоривать остаток DAU в липидном бислое липосом, это не дает возможности преждевременной утечки противоопухолевого антибиотика. В качестве липидного “якоря” использовались остатки гептадеканола (**309**) и аналогичного естественному диолеил глицерина (**310**) пришитых через линкер из малоновой кислоты нужный для облечения распада конъюгата в клетке. Близкие к ним липофильные конъюгаты **311-312** были синтезированы и для DOX [168] с целью включения в липосомы через закоривание в липидных стенках. Оба соединения несут остатки олеиновой кислоты, вещество **311** – один, а вещество **312** – два остатка

на молекулу. Показано, что в данном случае использование одного остатка предпочтительней. Также описаны примеры образования прямых *N*-конъюгатов DOX с ненасыщенными жирными кислотами, в частности с α -линоленовой **313** [166] [169] [170], элаидиновой (транс-олеиновой) **314** [171] [172] и докозагексаеновой **315** [170]. Такая модификация ведет к снижению цитотоксичности во всех случаях, но иногда наблюдается положительные эффекты, как повышение селективности действия конъюгатов при сравнении с цитотоксическим действием на нормальные V79 клетки [170], или повышение захвата липофильного конъюгата клетками опухоли [169]. В сумме несмотря на снижение цитотоксичности такие соединения могут быть полезны как пролекарства с замедленным высвобождением DOX и концентрированием лекарства в ткани опухоли [166]. Предположительно этот эффект связан с эффективным образованием комплексов с белками плазмы крови, прежде всего альбумином.

Для DAU также описаны синтезы его прямых амидов с ненасыщенными жирными кислотами – с элаидиновой (транс-олеиновой) кислотой **316** [171] [172], олеиновой **317** [173], а также с арахидоновой **318** и догозогесаеновой **319** кислотами [158]. Конъюгат **316** показывает улучшенную способность к преодолению MDR насосов и накоплению в клетке, а также способствует ее сенситизации к действию чистого DAU или DOX. Конъюгаты с полиненасыщенными жирными кислотами **318** и **319** имеют большое сродство к α -фетопротейну, который сверхэкспрессируется большинством карцином печени. Эти конъюгаты показывают отличный противоопухолевый эффект *in vivo* на мышинных моделях с асцитными культурами гепатокарцином АН66 и АН34. Близкие по строению насыщенные аналоги такие как конъюгат **297** не проявляют такого свойства. В то же время на аналогичной культуре гепатокарциномы АН782 без сверхэкспрессии α -фетопротейна весь позитивный эффект от модификации DAU исчезает [158]. К положительным эффектам также стоит отнести и отсутствие развития истощения мышей в оптимальных дозах. *N*-Олеоил-даунорубин **317** синтезировался с целью инкорпорирования в липидную микроэмульсию напоминающую ЛППП, а не для использования в чистом виде [173]. Такая наноразмерная форма доставки обладает рядом преимуществ перед липосомами. В то время как использование чистого DAU ведет к ряду гистологических изменений в миокарде (внеклеточный отек, расширение ЭПР, лизис митохондрий и миофиламентов), для эмульсии с **317** такие изменения не характерны. Выживаемость мышей в *in vivo* модели опухоли высокая, даже при высоких, потенциально токсичных, дозах конъюгата.

Бинарные молекулы в виде ацильных конъюгатов

Значительное число конъюгатов по аминокислотной группе аминосакхара антрациклинов представляют собой бинарные молекулы, полученные путем объединения в одной молекуле кроме фрагмента антрациклина также и фрагмента другого вещества с выраженной биологической активностью, зачастую лекарства (Рис.20). Представителем такого класса

веществ является конъюгат DOX с полностью-транс ретиноевой кислотой **320** [174]. Ее выбор в качестве ацилирующего агента объясняется, во-первых, тем, что амид этой кислоты с парааминофенолом известен как активное противоопухолевое средство (фенретинид) способен вызывать апоптоз даже в клетках, устойчивых к ретиноевой кислоте; во-вторых, за счет ее способности также специфически связываться с опухолевым фетопроотеином появляется возможность направленного транспорта антибиотика к злокачественным клеткам. Итоговая противоопухолевая активность **320** сравнима с DOX на асцитной модели опухоли Эрлиха.

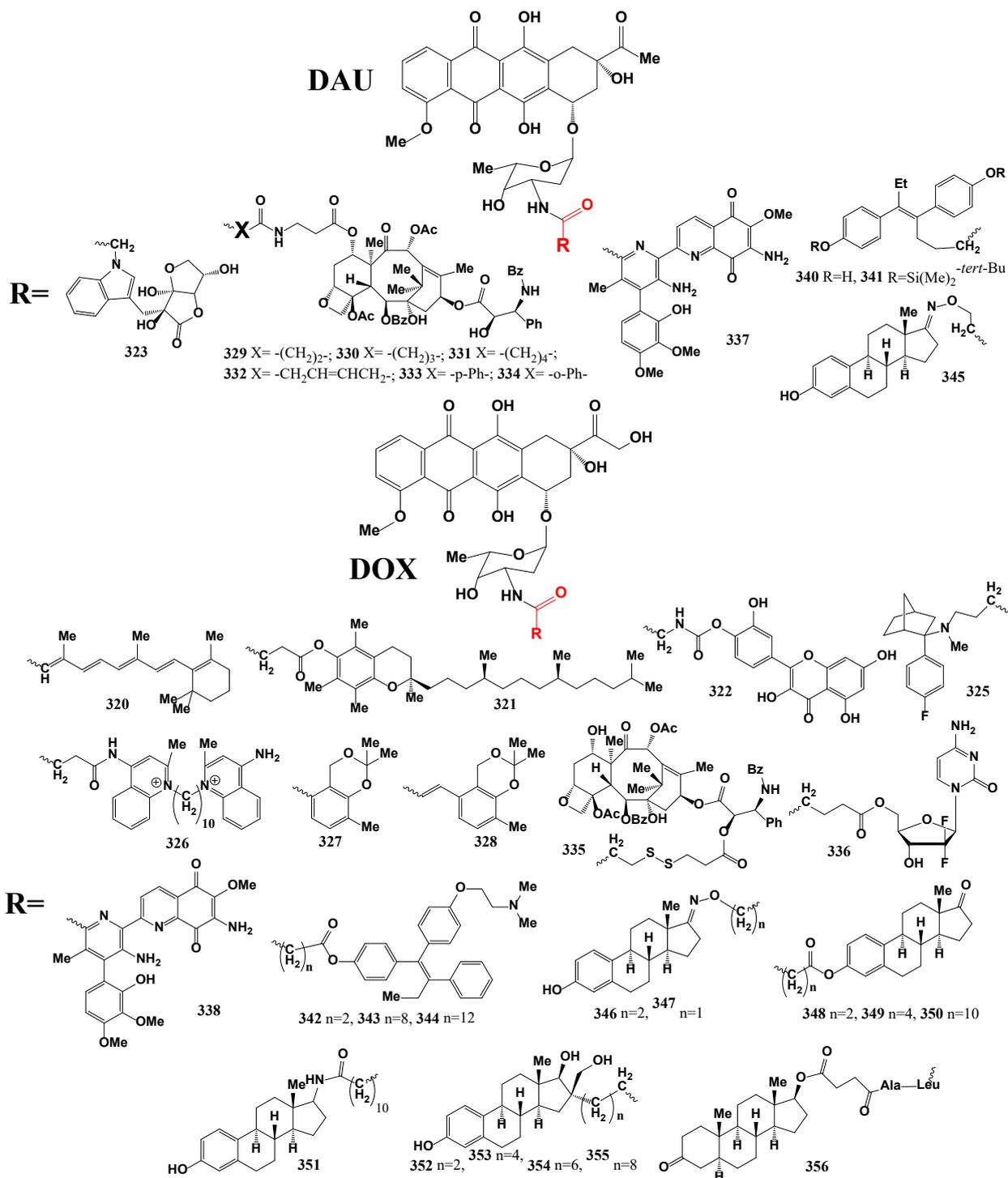


Рисунок 20 Ацильные конъюгаты антрациклинов с биологически активными молекулами

Другой липофильный фрагмент, использованный для синтеза конъюгата DOX **321** – токоферол (витамин E) [175]. Авторами предлагается использовать **321** для формирования самособирающихся микроэмульсий как системы доставки. Или, тот же конъюгат предлагается использовать для сборки в наноразмерные слоистые кристаллы [151]. Такая форма DOX слегка снижает скорость роста опухоли в *in vivo* модели. Другой амидный конъюгат DOX **322** содержит остаток флавоноида кверцетина [176]. Предполагалось, что введение фрагмента кверцетина придаст молекуле конъюгата некоторые его нужные свойства: способность к ингибированию P-гp, всасывание из кишечника напрямую в лимфу, антиоксидантные свойства. Не все эти свойства в явном виде демонстрирует молекула конъюгата **322**, тем не менее наблюдаются и некоторые положительные изменения: сниженная по сравнению с DOX способность активировать CYP3A4, фермент метаболической инактивации лекарств печени, что открывает путь к пероральной форме лекарства, также повышается захват вещества **322** клетками и снижается экспрессия маркеров гипертрофии миокарда на изолированных кардиомиоцитах. Из DAU и CARM через модификацию ацилированием с введением фрагмента пролекарства аскорбиновой кислоты [149] получены амидные конъюгаты **323** и **324** для DAU и CARM соответственно. По мнению авторов, внутриклеточное высвобождение аскорбиновой кислоты из конъюгатов (**323**, **324**) должно повысить чувствительность клеток к действию противоопухолевых препаратов. Однако тестирование на ингибирование пролиферации на моделях мышинового лейкоза L-1210, человеческих Т-лимфобластов Molt-4F и человеческих Т-лимфоцитов MT-4 показало, что эти соединения менее активны чем исходные антибиотики.

Ранее было обнаружено, что клетки многих опухолей человека и грызунов сверхэкспрессируют на своей поверхности σ 2-рецепторы. Поэтому недавно сообщено [177] о попытке использовать известный лиганд к σ 2-рецепторам для построения гибридной молекулы DOX **325** с фрагментом этого лиганда как вектора для селективного связывания с поверхностью опухолевых клеток. Хотя полученная гибридная молекула DOX (**325**) не обладала таким высоким сродством к σ 2-рецепторам, что ограничивало синергический эффект от двух фрагментов, цитотоксическая активность сразу на семи клеточных линиях превосходила активность исходного DOX в дозе 10 мкМ. Также сообщено [178] о получении N-ацильного бинарного конъюгата DOX с деквалинием **326**. Деквалиний обычно применяют как наружный антисептик, однако внутри организма он обладает сродством к митохондриям благодаря своей липофильной и катионной природе. *In vitro* конъюгат **326** локализуется в клетках преимущественно в митохондриях в отличие от DOX, а *in vivo*, при использовании в виде наночастиц, на мышинной модели опухоли накапливается в опухолевой ткани и ощутимо меньше в других органах. Также положительным эффектом такой модификации у конъюгата **326** является сохранение цитотоксичности на линии MDA-MB-231/ADR, устойчивой к действию антрациклинов. Другая

биологически активная молекула с участием, которой недавно синтезировано два конъюгата DOX (**327**, **328**) – пиридоксин, известный как витамин B6 [179]. Ожидалось что в организме пиридоксин сможет эффективно увеличивать транспорт антрацилина в живые клетки и ткани, усиливая проникновение препарата через различные биологические барьеры. Однако оба ацильных конъюгата **327** и **328** оказались менее активными на всех протестированных клеточных линиях, к тому же они теряли возможность проникать из цитоплазмы в ядро.

Другие бинарные молекулы конъюгатов несут также фрагмент другого противоопухолевого лекарства. Димерные молекулы DAU и таксола **329-334** связаны через ликер из двухосновной кислоты. С одной стороны такие димерные молекулы способны связываться с тубулином, что приводит к необратимой стабилизации микротрубочек, с другой способны связываться с ДНК. Однако в итоге эти вещества обладают как сильно сниженной или отсутствующей аффинностью к микротрубочкам и менее цитотоксичны чем каждый из мономеров в смеси или поодиночке [180]. Для DOX также сообщалось о синтезе ацильного конъюгата с таксолом [181]. В полученном бинарном конъюгате **335** молекулы DOX и таксола связан линкером из дитиопропионовой кислоты. В отличие от аналогичных конъюгатов DAU, он способен к распаду в клетке и высвобождению DOX при восстановлении дисульфидной связи глутатионом.

Гемцитабин был использован для синтеза конъюгата DOX с гидролизуемым линкером **336** [182]. Объединение в одной молекуле фрагментов двух терапевтических агентов преследовало собой цель решить их недостатки, когда они используются по отдельности, для гемцитабина – малое время полужизни (42-92 мин) в плазме, а для DOX – адриамициновую кардиомиопатию. Бинарный конъюгат **336** использовался авторами для формирования липидных наночастиц с улучшенными показателями фармакокинетики инкапсулированных терапевтических агентов. Стрептонигрин (брунеомицин) – высокоактивный представитель другой группы противоопухолевых антибиотиков, который в настоящее время не применяется из-за его тяжелых и непредсказуемых побочных эффектов. Описан синтез прямых *N*-ацильных производных DAU (**337**) DOX (**338**) и CARM (**339**) с стрептонигрином по его карбоксильной группе [183]. Однако все они не показали активности в тестах на бактериях *Bacillus subtilis*, а также не проявляли токсичности на мышах *in vivo*. Потеря активности скорее всего говорит о невозможности расщепления в клетках стерически затрудненной амидной связи.

В частности, *N*-ацильные конъюгаты с эстрогенами

Еще один пример сочетания в одной молекуле сразу двух остатков молекул лекарственных веществ – синтез конъюгата **340** DAU с кислотой, содержащей фрагмент диэтилстильбэстрола, лиганда эстрогеновых рецепторов [184] (Рис.20). В этом случае модификация происходила путем действия на аминогруппу даунорубина ацилирующим

агентом - сложным эфиром кислоты и пентахлорфенола. После образования ацильного производного **341** с фенольных групп снималась защита, что приводило к целевому конъюгату **340**. Предполагалось, что присоединение к молекуле антиэстрогена диэтилстильбэстрола молекулы с цитотоксическими свойствами приведет к созданию лекарств селективных для гормон-зависимых опухолей. Однако, введение такого объемного заместителя как даунорубицин в молекулу диэтилстильбэстрола привело к полной утрате конъюгатом способности связываться с эстрогеновыми рецепторами (средой из цитозоля матки крыс), что ставит под сомнение целесообразность такого подхода. Тамоксифен, другой нестероидный синтетический лиганд ЭР также использовался [185] для построения амидных конъюгатов антрациклинов. Известно о синтезе его конъюгатов **342-344** с DOX, получивших названия Doxotam2, Doxotam8 и Doxotam12 различающихся длиной линкера. Наибольшую избирательность в тестах на ЭР-положительной клеточной линии MCF7 и ЭР-отрицательной HS0578T проявил последний (Doxotam12, **344**), кроме того, он показал угнетение роста привитой опухоли MCF7 на модели *in vivo* в два раза в дозе 20 мг/кг.

Другая группа конъюгатов антрациклинов образована соединениями с эстрогенами стероидной природы. Эстрон имеет в своем составе кетогруппу, которая при реакции с замещенным гидроксиламином дает имин. Заявлено о синтезе конъюгатов такого рода связью с остатком эстрона – **345** для DAU [186], а также гомологичных **346** [186] и **347** [187] для DOX. Конъюгат **347** не активен по отношению к большинству клеточных линий и не представляет интереса. Для DOX описан синтез его амидного конъюгата **348** с другим лигандом ЭР – эстроном [150]. Конъюгат **348** показывает лишь слегка увеличенную цитотоксическую активность *in vitro* на клетках MCF-7 РМЖ и на клетках HepG2 гепатомы человека по сравнению с исходным DOX [150], в тестах на мышах *in vivo* конъюгат **348** показывает улучшенную фармакокинетику за счет концентрирования в ткани опухоли. Использование **348** в составе биоразлагаемых наночастиц позволяет еще несколько улучшить показатели преимущественного накопления в опухоли и время жизни в плазме [188]. Потеря аффинности **348** к ЭР, по-видимому, связана с замещением важной для биологической активности фенольной группы эстрона [189]. Позже были синтезированы [187] гомологичные ему соединения **349** и **350** с удлиненным линкером между эстрогеном и остатком DOX. Они также не показали избирательности цитотоксичности к ЭР положительной клеточной линии MCF7 РМЖ. В то же время, при использовании другого типа сшивки с остатком эстрогена в конъюгате DOX **351** удалось достичь избирательности цитотоксического действия на линии MCF7, в то время как на других клеточных линиях активность **351** меньше. Развитием этой идеи стала работа [189] в ходе которой были синтезированы *N*-амидные конъюгаты DOX **352-355** с различной длиной линкера. Конъюгаты **352-355** также несут в себе остаток эстрогена со свободной фенольной группой. Однако тестирование

их цитотоксической активности показало, что кроме самого короткоцепочечного конъюгата **352**, остальные не активны на всех протестированных линиях. Конъюгат **352** в свою очередь имеет большую аффинность к ЭР и проявляет небольшую избирательность действия между ЭР положительной MCF7 и ЭР отрицательной MDA-MB-231 линиями РМЖ, хотя и его активность в 10 раз меньше, чем у DOX. С аналогичной целью, придать сродство молекуле к клеткам со сверхэкспрессией рецепторов гормонов, был получен конъюгат DOX **356** с фрагментом андрогена [190].

Ацильные производные с разными малыми молекулами

Описаны амидные конъюгаты антрациклинов с другими видами низкомолекулярных карбоновых кислот (Рис.21, 22). Конъюгат DAU с изоникотиновой кислотой **357**, аналогично конъюгатам с липофильными хвостами [161] показывает потерю ингибирующего действия на ДНК-полимеразы и снижение цитотоксической активности, хотя и не такое большое. Конъюгат DOX (Рис.9) с адамантан-1-карбоновой кислотой **358** был синтезирован как лиганд для образования водорастворимого комплекса гость-хозяин с β -циклодекстрином [62]. Высокая аффинность остатка адамантана к полости β -циклодекстрина гарантирует самосборку такого комплекса. Однако, комплекс именно с амидным конъюгатом **358** оказался нерастворим в воде, кроме того, он обладал пониженной в 1.5-3 цитотоксичностью как в чистом виде, так и в виде комплекса включения на линиях MDA-MB-231, MCF7 и MCF10A. Один из наиболее ранних низкомолекулярных конъюгатов DAU **359** [191](Рис.10) с бромуксусной кислотой был синтезирован еще в 1971 году в целях установления пространственной структуры DAU. Сам антибиотик и другие его производные не позволяли на тот момент получить стабильные кристаллы для рентгеноструктурного анализа.

Другое раннее ацильное производное антрациклинов представляет собой *N*-гуанидин-ацетил-даунорубин (**360**) [192] [193]. По-видимому, введение такой группы в DAU почти лишает молекулу возможности встраиваться в ДНК и ведет к утрате активности *in vitro* и *in vivo* в тестах с вирус-индуцированными опухолями у мышей и куриц. Среди других конъюгатов с небольшими по массе кислотами стоит назвать *N*-ацильные DAU с ацетилсалициловой **361** [162], молочной **362** [163], пировиноградной **363** [194], *N*-ацетил-аспарагиновой **364** кислотами [194], *N*-бензоил-фенил-изосерином **365** [152], пироглутаминовой **366** кислотами. А также их DOX аналоги **367-372** с аналогичными кислотами. Все эти варианты продуктов ацилирования антрациклинов не проявляли никаких особенных свойств, и их цитотоксическая активность была примерно в 10-200 раз ниже по сравнению с DOX. Однако при этом активность на клеточных культурах восприимчивых (SNU-16, MCF7) и с повышенной резистентностью к DOX (SNU-16/Adr, MCF7/Adr) для этих групп конъюгатов значимо не различалась [194] [152] [162]. Как промежуточные вещества для синтеза конъюгатов DOX с тамоксифеном **342-344** были также

получены ацильные конъюгаты DOX с янтарной **373**, себаценовой **374** и тетрадекандиовой **375** кислотами. Их цитотоксическая активность была высокой и сравнима с активностью чистого DOX, хотя и не проявлялось различия между ЭР-положительной и негативной клеточными линиями [185].

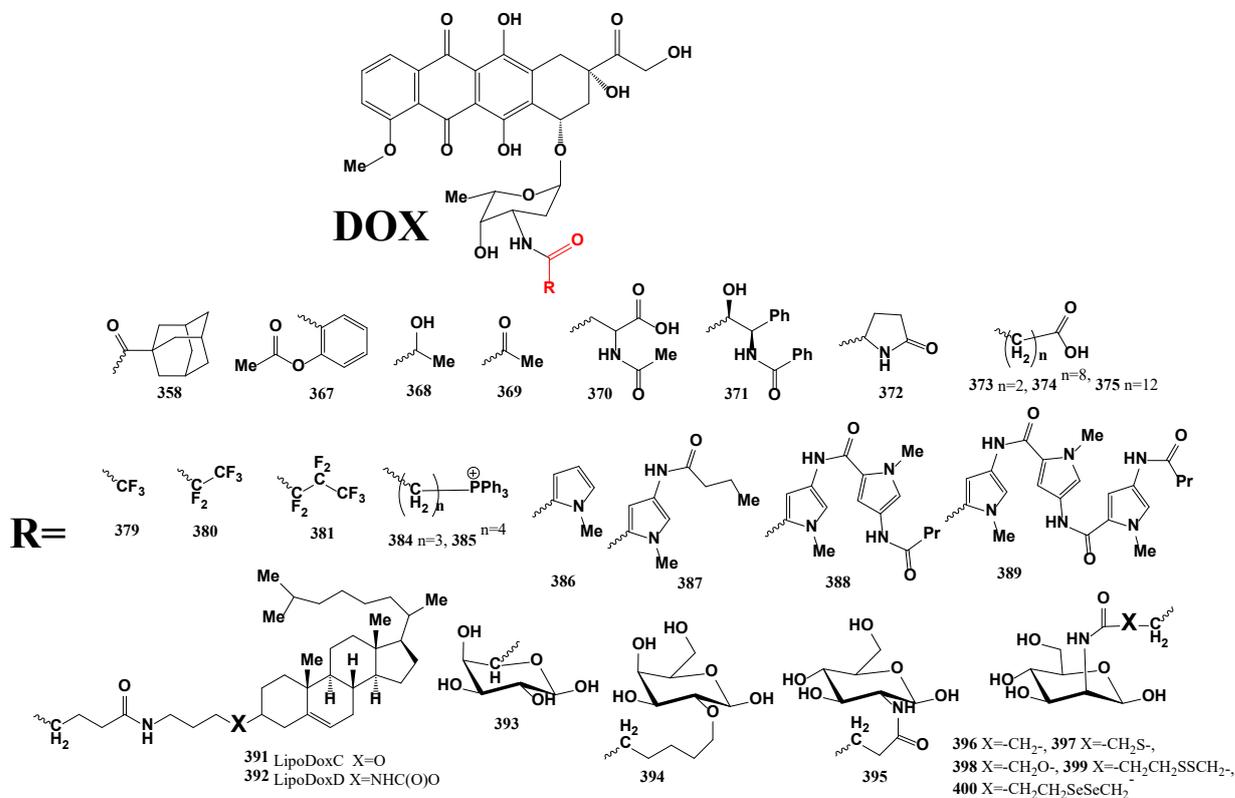


Рисунок 21 Ацильные производные DOX с остатками разных малых карбоновых кислот

Важная группа ацильных конъюгатов антрациклинов – производные с перфторированными кислотами. Как правило эта модификация даунозамина используются для синтеза более сложных производных антрациклинов, а также как удобная для последующего снятия защиты с аминогруппы. С первой целью изначально был получен [41] конъюгат DAU с трифторуксусной кислотой **20**, который был использован для синтеза из DAU доксорубина и его C-14 эфиров. Выбор этой кислоты объясняется удобством снятия защитной группы с амина в условиях гидролиза в относительно мягкой основной среде. Хорошие противоопухолевые свойства вальрубина (AD32, **92**) побудили исследователей к получению и самостоятельных перфтор-ацетильных конъюгатов DAU с перфтор-пропионой **376** и перфтор-масляной **378** кислотами [78], а также аналогичных конъюгатов DOX с трифторуксусной **379**, перфтор-пропионой **380** и перфтор-масляной **381** кислотами. Хотя ожидаемо цитотоксическая активность *in vitro* этих конъюгатов была ниже, чем у исходных антрациклинов, конъюгаты DOX **380** и, особенно, **379** показали себя более активными *in vivo* на мышах с привитой опухолью P3888 (увеличение продолжительности жизни в оптимальной дозе для **379** составила 481% против 132% для DOX). Также были получены соответствующие конъюгаты доксорубин-14-

O-валерата с перфтор-пропионовой **382** и перфтор-масляной **383** кислотами, однако они не показали противоопухолевого действия, что связано с их нерастворимостью из-за слишком высокой липофильности соединений.

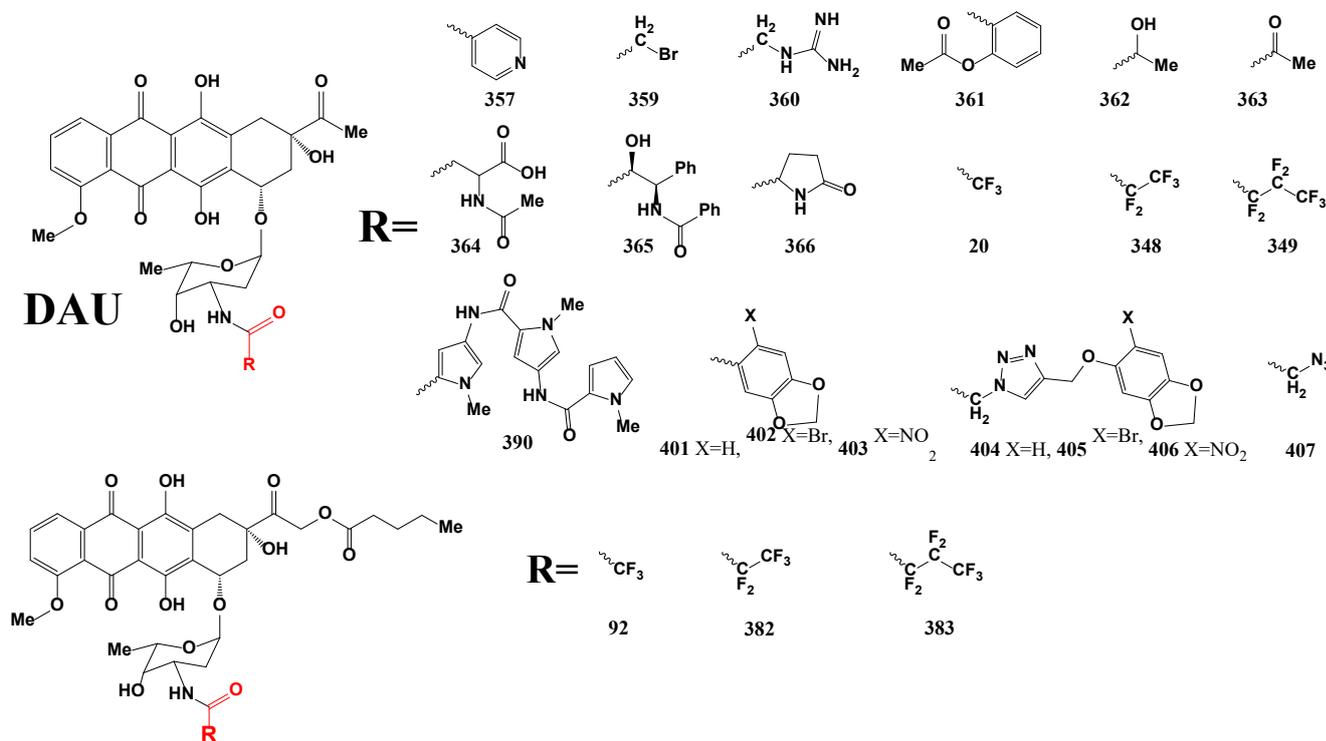


Рисунок 22 Ацильные производные DAU с остатками разных малых карбоновых кислот

В целях создания формы DOX для направленного транспорта в митохондрии было получено два похожих *N*-ацильных конъюгатов **384** [195] и **385** [111] с ионом трифенилфосфония на конце цепи и отличающихся длиной линкера. Методом конфокальной микроскопии было показано, что аналогично прочим ионам Скулачева соединения DOX с ионом трифенилфосфония **384** и **385** избирательно накапливаются в митохондриях и не проникают в ядро. Кроме того, конъюгат **384** за счет большей липофильности легче проходит через клеточную мембрану [195]. В двух вариантах клеточной линии чувствительной MDA-MB-435/WT к DOX и устойчивой - MDA-MB-435/DOX, наблюдается разный характер внутриклеточного распределения свободного DOX: в MDA-MB-435/WT клетках происходит накопление в ядре, а в MDA-MB-435/DOX преимущественно в цитозоле. Конъюгат **384** во всех случаях локализуется в митохондриях цитозоля. Механизм его цитотоксичности связан с более активным образованием АФК и повреждением митохондриального генома, что ведет к апоптозу через расщепление каспазы-3 и PARP. Аналогичный конъюгат **385** на клеточных линиях MCF7 и MCF7/ADR чувствительной и устойчивой к DOX дает даже более сильно сниженную цитотоксичность как на моделях *in vitro* с классическими монослоями клеток, так и на сфероидах [111].

Один из подходов к уменьшению побочных эффектов от использования антрациклинов состоит в повышении сродства модифицированного антрациклина к ДНК и ядру клетки. Он,

например реализуется в синтезе конъюгатов с лигандами малой бороздки ДНК, что должно приводить к образованию более прочных комплексов с ДНК. Было получено несколько ацильных конъюгатов DOX **386-389** [196] и DAU (**390**, WP1277) [197] с олигоамидами-аналогами антибиотика дистамицина, природного лиганда малой бороздки. Однако, эти соединения оказались малоактивными и проявляли в 10-117 раз меньшую цитотоксичность по сравнению с исходными антрациклинами, хотя их *N*-алкильные аналоги напротив чрезвычайно активны [197] что говорит о важности аминогруппы для связывания с ДНК.

Для получения липофильных форм антрациклинов, способных надежно встраиваться в липидную стенку липосом, чтобы в дальнейшем использовать их как системы доставки, были синтезированы *N*-ацильные производные DOX **391** и **392** с остатком холестерина в ацильном фрагменте [198](Рис.21). Однако присоединение холестерина через ацилирование аминогруппы привело к полной утрате цитотоксических свойств, в отличие от аналогичной модификации С-14 гидроксильной группы. Среди конъюгатов с малыми молекулами сообщалось [199] о синтезе DOX ацилированного галактуроновой кислотой **393**. Галактоза в этом случае выступает как низкомолекулярный вектор для избирательной доставки конъюгата к тем опухолевым клеткам, что сверхэксперессируют рецептор асиало-гликопротеинов (ASGPR). Показано *in vitro*, что соединение **393** активно против опухолевых клеточных линий HepG2, MCF-7 и A549, но нормальные клетки L02, с низким уровнем экспрессии ASGPR1, к нему менее восприимчивы. На моделях *in vivo* у мышей амид **393** не вызывал гистологических изменений миокарда характерных для DOX и показывал торможение роста привитой опухоли. Для нацеливания в клетки со сверхэкспрессией ASGPR был синтезирован также конъюгат DOX с галактозой (**394**) через короткий алкильный линкер [200]. Полученный конъюгат накапливался в ASGPR-положительных клетках, но был гораздо слабее DOX. Ацильный конъюгат DOX с остатком глюкозамина (**395**) был получен как способ направить конъюгат антрациклина на мембранные транспортеры глюкозы GLUT1 для большего накопления в опухоли. Цитотоксичность полученного конъюгата приближалась к активности DOX, при некотором снижении токсичности для органов в *in vivo* тестах [201]. Соединения еще одной серии (**396-400**) ацильных конъюгатов DOX содержали остаток маннозамина и различались строением линкера [202]. Предполагалось, что такие конъюгаты будут накапливаться в клетках экспрессирующие маннозный рецептор. Однако в целом такие ацильные конъюгаты были менее активны чем DOX.

Несколько амидных конъюгатов DAU получено с замещенными бензойными кислотами [203]. Получены конъюгаты DAU с пиперониловой (метилен-3,4-диоксибензойной) кислотой (**401**), с 2-бром-пиперониловой кислотой (**402**) и 2-нитро-пиперониловой кислотой (**403**). Также получены аналогичные конъюгаты **404-406** в которых ароматический пиперонильный фрагмент соединен с амидной связью через триазольный линкер. Последние были синтезированы из *N*-

азидоацетил-DAU (**407**) по реакции азид-алкинового циклоприсоединения. Перечисленные ацильные конъюгаты – малоактивные или неактивные соединения, в отличие от их алкильных аналогов с пиперонильным заместителем. При использовании системы ацилирования, основанной на ферментативном катализе с использованием фермента субтилизина, из DOX была получена смесь его ацильных производных с остатком масляной кислоты [165]. Эти ацильные производные уступали по активности DOX против линии MCF7 на вариантах как чувствительной, так и устойчивой к антрациклинам линии клеток.

Ацильные производные, специально созданные как пролекарства DOX

Часть конъюгатов-амидов заранее конструировались для использования в виде пролекарств антрациклинов (Рис.23). Ферментативная активация пролекарств – привлекательная идея для достижения избирательной токсичности цитотоксических препаратов по отношению к ткани опухоли. Некоторые ранние пролекарства антрациклинов для технологии ферментативной активации ADEPT имели *N*-ацильную природу [204]. С этой целью были синтезированы пролекарства-амиды DAU **408-412** с различным строением линкера несущие остаток глюкуроновой кислоты, что делает их субстратом для расщепления глюкуронидазой. Предполагается, что это приведет к появлению в ацильном остатке маскированной до этого аминогруппы, что со временем приведет к “самосгоранию” линкера через его самопроизвольную реакцию лактамизации и высвобождению активного DAU. В дальнейшем фокус в создании ферментативно-активируемых пролекарств сдвинулся в сторону использования *N*-уретанов антрациклинов вместо амидов как более легко разлагающихся соединений. Другими авторами [205] предложено использовать конъюгат DOX с фенилуксусной кислотой **413** как активируемое пенициллин-G амидазой пролекарство DOX. Пенициллин-G амидаза – это недорогой коммерчески доступный фермент *E.coli* со способностью отщеплять остаток фенилуксусной кислоты от широкого круга субстратов. В отсутствие в среде пенициллин-G амидазы конъюгат **413** умеренно активен ($IC_{50}=2,0$ мкМ), но при добавлении фермента его активность возрастает до активности чистого DOX. С целью повысить стабильность конъюгата было получено еще два близких соединения **414** и **415**. Без добавления фермента они полностью неактивны ($IC_{50}>1000$ мкМ), но активны при добавлении пенициллин-G амидазы. Для активации соединения **415** также желательна наличие в среде еще одного дополнительного фермента – щелочной фосфатазы. Тот же принцип лежит в основе активации близкого по строению конъюгата DOX с *p*-гидроксифенокси-уксусной кислотой **416**. В этом случае для активации пролекарства исследователи использовали систему ADEPT с другим типом амидаз – пенициллин-V амидазы из *Fusarium oxysporum* которую конъюгировали либо с антителами против опухолевых клеточных линий [206], либо с фолатом [207], естественным лигандом сверхэкспрессированных на поверхности опухолевых клеток фолатных рецепторов.

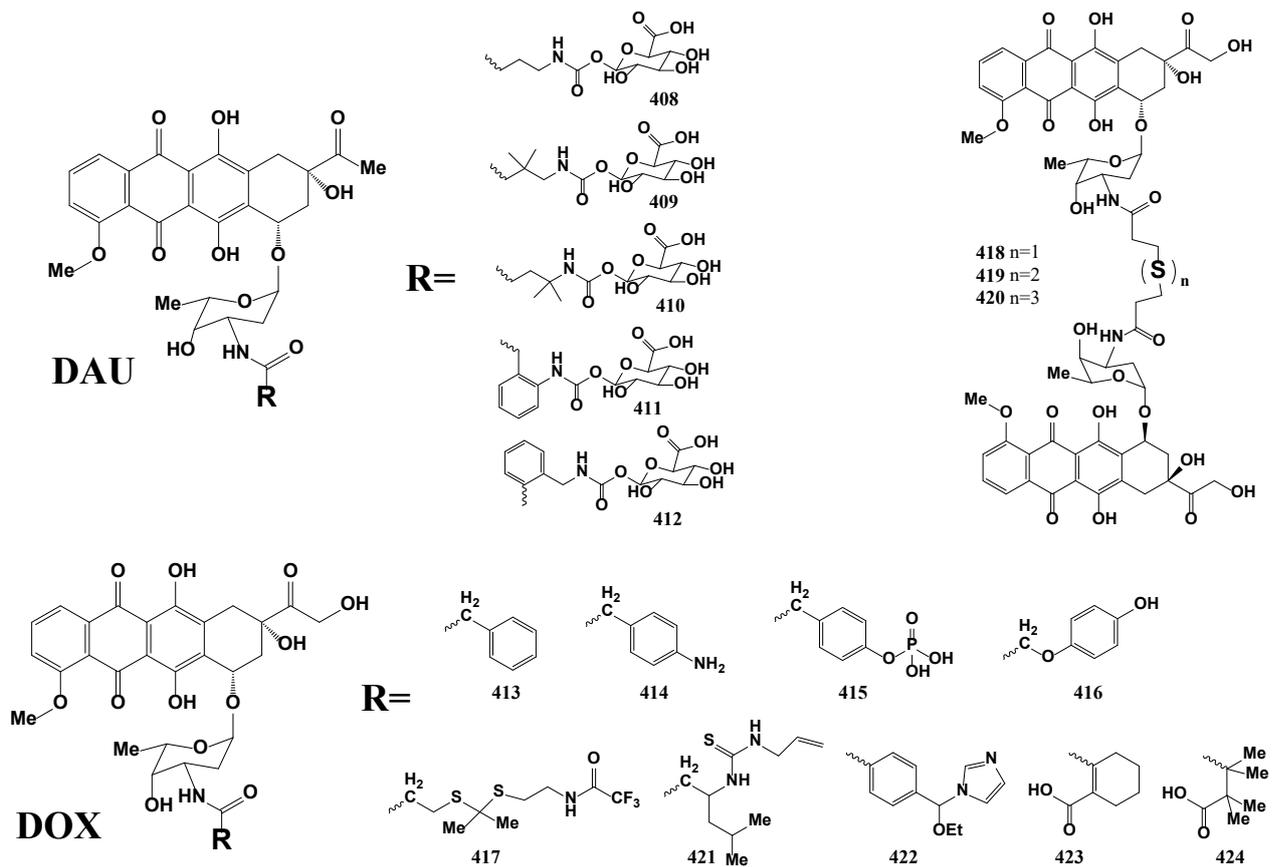


Рисунок 23 Ацильные производные антрациклинов предполагающие метаболическую активацию

Кроме ферментативно активируемых пролекарств антрациклинов было использовано несколько подходов, которые привели к пролекарствам-амидам с неферментативными способами активации в организме. Серусодержащий конъюгат DOX **417** имеет в своем составе маскированный фрагмент ацетона в виде его дитиокетала. При действии АФК, например от разложения пероксида водорода ионами меди, дитиокетальная связь в конъюгате **417** окисляется и распадается [208]. Противоположный по смыслу способ редокс-активации состоит в активации при повышенном содержании восстановительных агентов в клетке, главным образом глутатиона. Было получено [209] три бис-антрациклина **418-420** связанных ликером по аминогруппе аминсахара и различающихся наличием в линкере сульфидной в **418**, либо дисульфидной в **419**, либо трисульфидной в **420** группы. Они способны к самосборке с образованием мицелл в водной среде либо сами по себе, либо совместно с ПЭГ, причем в обоих случаях наиболее стабильные формы получены из **420**. При попадании в опухолевые клетки с высокой концентрацией восстановленного глутатиона происходит восстановление конъюгатов **418-420** до активной формы, за счет чего достигается большая избирательность по отношению к опухолевым клеточным линиям по сравнению с нормальными в тестах *in vitro* и *in vivo*. Наиболее удачным для систем доставки с такой активацией опять же оказался конъюгат DOX **420** с трисульфидной связью.

Недавно сообщено о синтезе нового рН-чувствительного *N*-ацильного конъюгата DOX **421** [156] с остатком тиомочевины в ацильном фрагменте. Известно, что вещества, имеющие в своем составе ацетамид, связанный с остатком тиомочевины в β -положении способны самопроизвольно циклизоваться с образованием тиогидантоина и амина как продуктов реакции в кислой среде. Описанный конъюгат DOX **421** выступает как пролекарство и распадается аналогичным образом с высвобождением незамещенного DOX. Боковые заместители в ацильном фрагменте подобраны так, чтобы тиогидантоином-продуктом реакции стал Альбутоин - противосудорожный препарат, для которого уже известно отсутствие побочных токсичных эффектов. Цитотоксичность пролекарства **421** мало зависит от рН среды (IC_{50} 0,74 мкМ при рН 7,6 и 0,63 при рН 6,6), в то время как цитотоксичность исходного DOX намного выше в слабоосновной среде (IC_{50} 0,018 при рН 6,6), характерной для окружения нормальной ткани, и сопоставима в слабокислой среде характерной для опухолевой ткани (IC_{50} 0,43 при рН 7,6). Такой подход позволяет избежать применения высоких доз антибиотика и поражения нормальных тканей. Другой подход [210] к созданию рН-чувствительных пролекарств DOX основан на использовании маскированной альдегидной группы в виде *N*-,*O*-ацеталя, где *N*-компонент представлен имидазолом. Ацильный конъюгат DOX с *N*-этоксibenзилимидазолом **422** несет именно такую кислот-чувствительную группу. Он характеризуется разной кинетикой распада при разных рН водного буфера: при значении рН 5,5 распад идет гораздо быстрее, чем при рН 7,4. Также к соединениям с этим типом активации можно отнести конъюгаты DOX с тетрагидрофталевой **423** и тетраметил-янтарной **424** кислотами которые были синтезированы [148] как попытка создать пролекарства антрациклинов со сниженной кардиотоксичностью. Наличие дополнительной карбоксильной группы в β -положении позволяет таким амидам самопроизвольно циклизоваться с распадом и с высвобождением амина-DOX в кислой, но не в нейтральной среде. В тестах на выделенных кардиомиоцитах показано, что конъюгаты **423** и **424** ведут к такому угнетению расслабления кардиомиоцитов как в случае действия DOX, ведут к снижению образованию АФК и гибели кардиомиоцитов.

1.7 Уретаны по атому азота аминсахара

Модификация аминогруппы углеводной части антрациклинов с образованием уретанов, по сути, близка к реакции ацилирования аминогруппы. Для синтеза уретанов антрациклинов может применяться непосредственная реакция конденсации аминогруппы с хлороформатами или смешанными ангидридами, так и реакция с использованием конденсирующих агентов таких как NHS-эфиры [211], BOP [212], через активацию 4-нитрофенил-карбонатом [213] и других. Обычно дизайн молекулы уретановых производных антрациклинов создается с учетом возможности распада до нестабильной *N*-замещенной карбаминовой кислоты. Последняя самопроизвольно распадается до углекислого газа и активного исходного антрациклина.

Частным случаем уретанов является Fmoc защитная группа аминов. Известно несколько случаев применения *N*-Fmoc защищенного DOX [214]. Сам по себе *N*-Fmoc защищенный DOX (**425**) (Рис. 24), хотя и сохраняет цитотоксичность, не особенно интересен сам по себе, вместо этого он используется для синтеза описанных ранее С-14 ацильных производных DOX.

Один из подходов к получению пролекарств антрациклинов состоит в использовании таких их конъюгатов-уретанов, которые содержат в себе дисульфидную связь [215]. При реакции с внутриклеточными тиолами дисульфидная группа восстанавливается до тиола, последний в физиологических условиях способствует циклизации по уретановой группе и высвобождению активного антрациклина в виде амина. Конъюгат-уретан DAU **426** имеет в своем составе дисульфидную группу и активируется в клетке подобным образом (Рис.24). В молекулу конъюгата **426** через связку из цистеина включен остаток фолиевой кислоты, которая служит в качестве низкомолекулярного вектора для более избирательной доставки конъюгата **426** в клетки опухоли. Сам конъюгат с фолиевой кислотой **426** получен из уретана **427** с фрагментом пиридин-2-тиола в составе, способным легко вступать в реакции обмена его на другие тиолы [215].

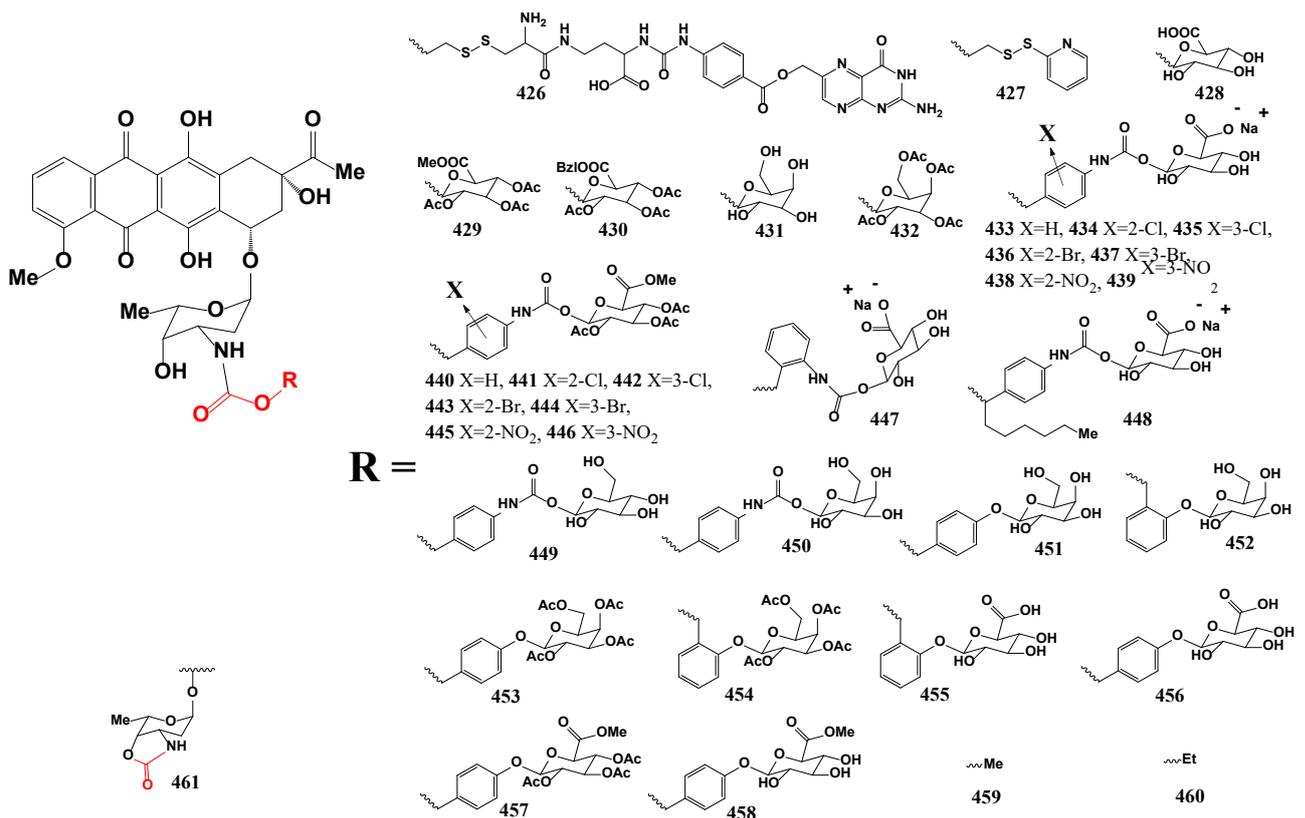


Рисунок 24 *N*-Уретановые производные даунорубицина

Уретаны антрациклинов с фрагментами моносахаридов в составе могут выступать как субстраты для ферментов расщепляющих гликозидную связь. Это позволяет использовать такие уретаны как пролекарства в системах ADEPT. Введение остатка глюкуроновой кислоты в молекулу конъюгата делает его субстратом для расщепления глюкуронидазой. В простом случае

остаток глюкуроновой кислоты напрямую связан через уретановую группу в молекуле конъюгата DAU **428** [211]. Конъюгат **428** получен через снятие защитных групп из аналогичных конъюгатов DAU с ацильной защитой гидроксильных групп и метильной (**429**) [211] [212] или бензильной (**430**) [211] защитой карбоксильной группы в остатке глюкуроновой кислоты. Кроме того, было обнаружено, что β -глюкуронидаза присутствует в повышенных концентрациях некротических опухолевых очагах, что делает возможным использование пролекарств антрациклинов с остатком глюкуроновой кислоты также и в монотерапии.

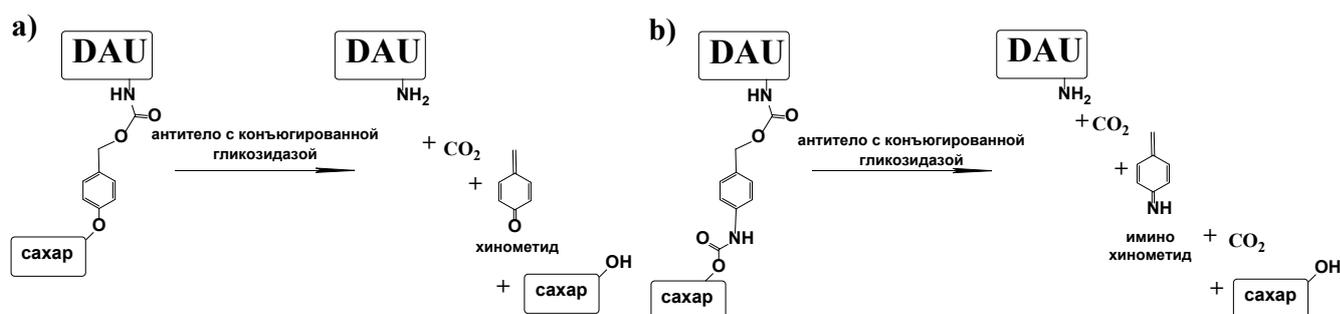


Рисунок 25 Активация *N*-уретанового пролекарства даунорубицина с самосгорающим линкером

Использование в качестве моносахарида в уретановом фрагменте глюкозы вместо глюкуроновой кислоты делает конъюгат-уретан DAU **431** субстратом для расщепления гликозидазой. Как и конъюгат **428**, конъюгат **431** получают путем снятия защитных групп из его аналога **432** с ацилированными гидроксильными группами остатка глюкозы [211]. Конъюгаты DAU с остатками глюкуроновой кислоты (**428**) и глюкозы (**431**) практически не активны без добавления нужного фермента. Без фермента их цитотоксическая активность снижена почти в 2000 раз на всех протестированных клеточных линиях [211]. Однако, скорость расщепления прямых глюкуронидного (**428**) и глюкозного (**431**) конъюгатов-уретанов очень мала даже в присутствии соответствующих ферментов (период полураспада до DAU $t_{1/2} > 10$ суток), что не подходит для селективной терапии с системой активации ADEPT. Поэтому в дальнейшем как теми же [216] [217], так и другими [218] авторами практика создания ADEPT активируемых пролекарств антрациклинов, и DAU в частности, была сдвинута в сторону синтеза более легкогидролизуемых ферментами конъюгатов. Это достигается за счет введения между уретановой группой и моносахаридным остатком дополнительного спейсера в виде *n*-гидрокси-бензилового спирта (Рис. 25а) или *n*-амино-бензилового спирта (Рис. 25б). После ферментативного специфического отщепления моносахарида оставшийся на аминогруппе DAU уретановый фрагмент самопроизвольно разрушается с образованием углекислого газа и хинометида (Рис. 25а) или иминохинометида (Рис. 25б). Предварительные работы [217] показали, что конъюгат DAU и глюкуроновой кислоты (**433**) с использованием даже

незамещенного линкера типа **b** уже показывает приемлемую кинетику распада пролекарства при инкубации с глюкуронидазой.

Именно с использованием этого подхода была синтезирована серия других конъюгатов-уретанов DAU, способных к ускоренной активации глюкуронидазой (**433-439**) [216]. Для этого в конъюгаты **433-439** между остатком DAU и фрагментом глюкуроновой кислоты введен спейсер из замещенного *n*-амино-бензилового спирта. Время активации конъюгатов **433-439** при действии глюкуронидазы меньше, чем для прямого конъюгата DAU с глюкуроновой кислотой (**428**) и зависит от типа заместителей в спейсере. Конъюгаты **433-439** были синтезированы из аналогичных конъюгатов (**440-446**) с защитными группами на остатке глюкуроновой кислоты. После ферментативного отщепления сахара спейсер из *n*-амино-бензилового спирта и две уретановые группы далее распадаются самопроизвольным образом с образованием двух молекул углекислого газа и иминохинометида (рис 15b). Замена линкера с *n*-амино-бензилового спирта на *o*-амино-бензиловый спирт в уретане **447** не ведет особым изменениям кинетики распада. А введение в уретан **448** дополнительного *n*-гексильного радикала должно снизить гидрофильность и клиренс конъюгата, но при этом приводит к замедленной кинетике распада глюкуронидного пролекарства. С аналогичным спейсером получены конъюгаты DAU с остатком глюкозы (**449**) и галактозы (**450**) для ферментативной активации под действием соответственно глюкозидазы и галактозидазы. Как и в случае конъюгатов с глюкуроновой кислотой **433-439** время активации под действие ферментов умеренное и подходит для применения в системах ADEPT.

Описанные выше ADEPT активируемые пролекарства DAU включали в свой состав линкер из остатка *n*-амино-бензилового спирта, но также описано применение похожего линкера в виде остатка *n*-гидрокси-бензилового спирта (гастродигенина). Сообщалось о синтезе пролекарства DAU с данным линкером **451**, в составе которого имеется остаток галактозы, лабильный к действию галактозидазы [218]. Этими же авторами синтезировано близкое по строению пролекарство DAU **452** с использованием *o*-гидрокси-бензилового спирта вместо пара-аналога. В ходе их синтеза, в качестве промежуточных соединений, получены также их пер-ацетилированные по галактозе аналоги **453** и **454**. Эти два пролекарства **451** и **452** обладают сильно уменьшенной цитотоксичностью на модели мышинной лейкемии L1210 по сравнению с исходным DAU. С аналогичным типом линкера в виде остатков орто- (**455**) или *n*-гидрокси-бензилового спирта (**456**) также получены уретановые конъюгаты DAU с глюкуроновой кислотой [219]. Для синтеза конъюгата **456** сначала был получен уретановый конъюгат **457** с ацетильной защитой гидроксигрупп и метильной защитой карбоксильной группы глюкуроновой кислоты, который после мягкого гидролиза дал уретан с метиловым эфиром глюкуроновой кислоты **458** и далее целевой уретан **456**. Однако оба полученных уретана DAU не имеют особых

преимуществ поскольку после отщепления остатка глюкуроновой кислоты для них не свойственен быстрый самораспад до DAU.

Среди уретановых производных антрациклинов известны и соединения из природных источников. В частности, установлено, что антрациклины рубомицин Н (**459**) рубомицин F (**460**) представляют собой соответственно метильное и этильное уретановое производное DAU. Для доказательства их структуры они были получены также встречным синтезом из DAU и алкилхлороформата [220]. В тестах *in vivo* метильное производное **459** практически не проявляет активности [126]. При избытке хлороформата [211] или при реакции DAU с фосгеном [126] с малым выходом образуется также циклический уретан **461** в результате реакции с соседней спиртовой группой в аминсахаре. По этой же причине нет возможности получать уретаны из антрациклинов через конверсию аминогруппы в изоцианат [212].

Аналогично описанным выше пролекарствам DAU для активации в системах ADEPT или ферментами опухоли, были созданы и конъюгаты DOX (Рис.26). Для системы с активацией глюкуронидазой была синтезирована серия уретановых конъюгатов DOX с линкером из замещенных орто- (**462-464**) или пара-гидроксibenзилового спиртов (**465-467**) [219]. Электроноакцепторные заместители (Cl-, F-, NO₂-) в линкере облегчают распад до DOX после отщепления остатка глюкуроновой кислоты ферментом. По совокупности характеристик [221] соединение **467**, также известное как HMR-1826, является лидером в этой серии и испытывается как перспективное лекарство в монотерапии ряда опухолей. Другими исследователями [222] получен уретан DOX **468** со схожим линкером с заменой сахара на остаток галактозы. Аналогично, предполагается использовать такой конъюгат в системах ADEPT с активацией под действием β-галактозидазы. Так же получен уретановый конъюгат DOX **469** с галактозой без наличия между ними самоуничтожающегося линкера, однако ферментативное отщепление галактозы от него происходит медленнее чем от **468**. С заменой самоуничтожающегося линкера на другой тип – остаток *n*-амино-бензилового спирта – был получен уретановый конъюгат-пролекарство DOX **470** для системы ADEPT с остатком глюкуроновой кислоты [216].

Недавно сообщено об использовании глюкуронидного конъюгата **470** в системе активации с другим подходом, названным UDEPT [223]. В данном случае предлагается разрушать направленным пучком ультразвука опухолевый очаг, что затем ведет к формированию некротической области и высвобождению из умерших клеток фермента глюкуронидазы. Последняя способна эффективно активировать пролекарство **470**. Модификацией этого подхода к созданию пролекарств является конъюгат **471** с использованием усложненного самоуничтожающегося линкера, содержащего разветвитель для сшивки сразу двух молекул DOX вместо одной [224]. Конъюгат **471** активируются после ферментативного отщепления единственного остатка глюкуроновой кислоты и вполне ожидаемо, что при наличии в среде

глюкуронидазы его IC_{50} примерно в два раза ниже, чем у DOX. Еще один тип самоуничтожающегося линкера – замещенный малоновый диальдегид [225]. С включением такого линкера были получены уретановые конъюгаты DOX с остатком глюкуроновой кислоты (472) или ее метилового эфира (473). Конъюгат 472 распадается до DOX при наличии в среде глюкуронидазы, а для распада 473 до DOX также требуется наличие в среде эстеразы свиной печени.

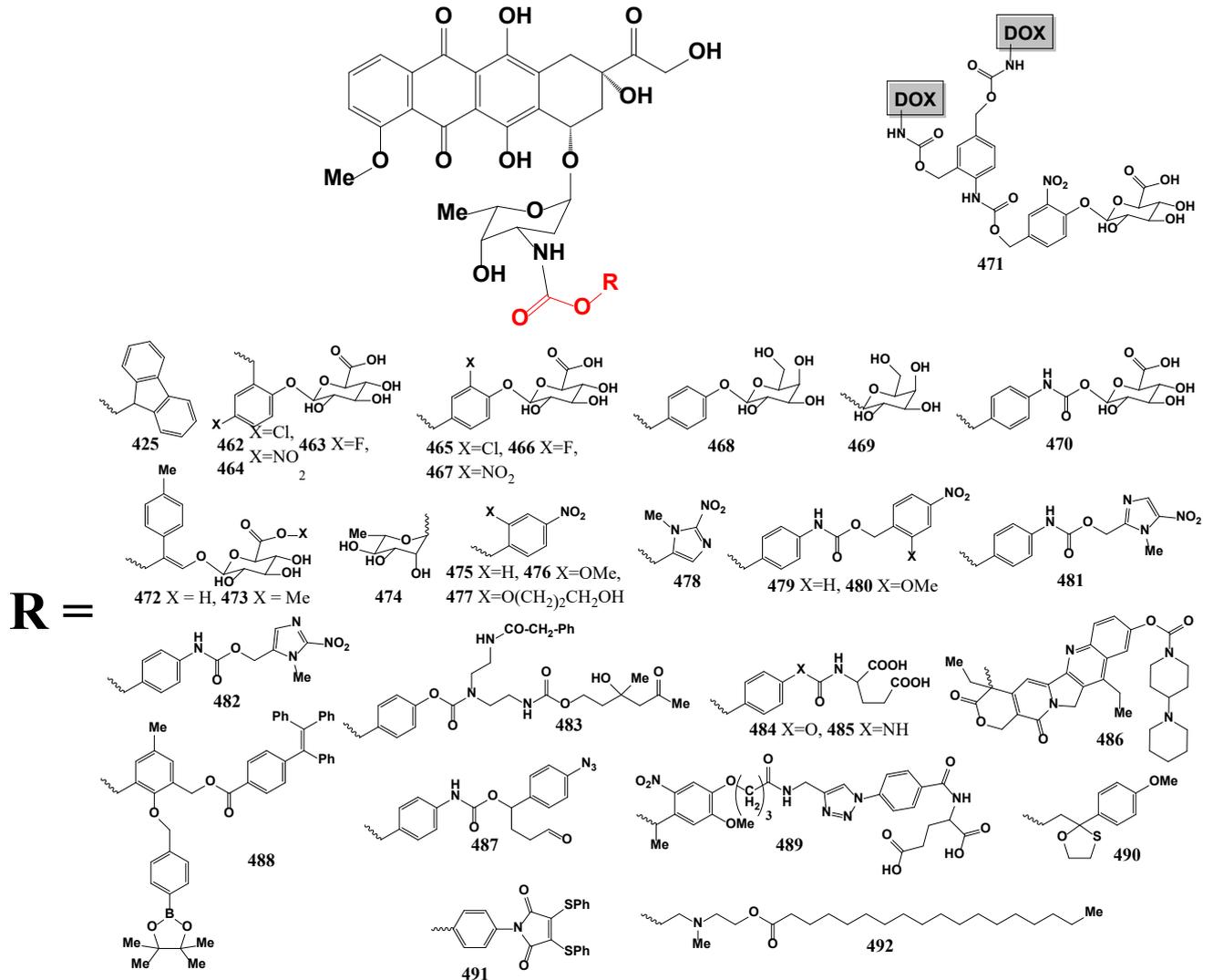


Рисунок 26 N-Уретановые производные доксорубина

Была предложена система активации пролекарства DOX основанная на наличии маннозил-связывающих лектинов на поверхности клеток печени [226] близкая к ADEPT. Она состоит в получении двух компонентов: конъюгата DOX с маннозой (474) и фермента с маннозидазной активностью также конъюгированного с векторной молекулой галактозы. В качестве такого фермента была использована нарингиназа из *Penicillium decumbens*. После накопления обеих компонентов в лектин-богатых клетках печени происходит расщепление пролекарства и образование активного DOX. Другая система создания пролекарств сходная с ADEPT – GDEPT – заключается в привнесении в ткань активирующих пролекарства ферментов

через трансфекцию в клетки опухоли генной кассеты с генами нужных ферментов. Для DOX было предложено [227] использовать уретановые конъюгаты **475-482** как пролекарства в системе GDEPT с ферментативной активацией нитроредуктазой. Действие этого фермента на вещества **475-482** приводит к восстановлению нитрогрупп до аминокгрупп, что приводит к появлению незащищенного самоуничтожающегося линкера, как это было в случае с гликозидными пролекарствами DOX и DAU. Дальнейший распад активированных **475-482** ведет к активному DOX. Показано, что культуры клеток экспрессирующие и не экспрессирующие нитроредуктазу отличаются по чувствительности к пролекарствам **475-482**, причем наиболее явное отличие наблюдается для конъюгатов **479** и **480**. Недостатком такого рода соединений является недостаточная стабильность в плазме. Еще одно пролекарство-уретан DOX **483** построено на двоичной логике “ИЛИ” [228]. Оно активируется и высвобождает активный DOX при наличии в среде фермента пенициллин G амидазы или абзима 38C2. В присутствии любого из активаторов цитотоксичность конъюгата **483** мало отличается от таковой для DOX. Еще один вариант пролекарств DOX предназначенных для использования в системах GDEPT предполагает доставку в клетки гена бактериальной карбоксипептидазы G2 [229]. Уретаны DOX **484-485** содержат остаток двуосновной глутаминовой кислоты, которые после отщепления кислоты ферментом распадаются до DOX и остатки от линкера.

Кроме ферментативной активации известны и другие уретаны-пролекарства DOX, активирующиеся по другим принципам. Самым очевидным является использование низких pH для расщепления уретановой связи. По такому принципу работает конъюгат DOX с иринотеканом **486** [230]. Конъюгат **486** пригоден без дополнительных компонентов к самосборке в наноразмерные мицеллы в водной среде. В таком виде он захватывается клетками путем эндоцитоза и гидролизуется до активных компонентов в лизосомах при низких pH. Это позволяет осуществлять транспорт пролекарства DOX **486** в обход Pgp транспортеров у клеток MCF7/ADR с устойчивостью к DOX. Пролекарства DOX с маскированным самоуничтожающимся линкером могут использоваться и вне систем ADEPT. Активация пролекарства при этом идет по другим принципам. Такой возможностью получить маскированный самоуничтожающийся линкер является замена в нем аминокгруппы на азид, как в конъюгате DOX **487** [231]. Азидная группа является биоортогональной и может быть восстановлена до аминокгруппы добавленным извне органическим фосфином через восстановление по Штаудингеру. Дизайн конъюгата **487** сделан таким образом, чтобы использовать его для получения конъюгатов с олигонуклеотидами по свободной альдегидной группе. Вместе со вторым олигонуклеотидом, к которому пришит органический фосфин, данная пара образует высокоспецифичную систему активации пролекарства DOX **487** при наличии в клетке комплементарной им короткой РНК. Другая возможность создания маскированного самоуничтожающегося линкера – использование

боронового эфира, как в конъюгате **488** [232]. Конъюгат **488** создан как агент для тераностики и избирательно активируется при действии перекиси водорода. При одновременной обработке клеток фторбол миристатином, стимулятором образования перекиси водорода, и конъюгатом **488**, внутри клеток происходит активация и самораспад **488** с образованием активного DOX и флуоресцентного красителя. Без индуктора образования перекиси водорода конъюгат **488** не активен. Существует [233] также необычная система активации пролекарства DOX светом. Для этого создан уретан конъюгат DOX **489** с остатком нитровератрила (замещенного нитробензила) который при облучении ультрафиолетовым светом распадается с высвобождением DOX. Поскольку ультрафиолет не подходит для фотодинамической терапии, авторы предлагают использовать пролекарство **489** совместно с лантанидными наночастицами, которые при облучении ближним инфракрасным светом 980 нм действуют как мультифотонные сумматоры и передают УФ свет 380 нм сорбированным на них молекулам. Для сорбции на поверхности наночастиц в конъюгат **489** дополнительно введены две карбоксильные группы. Об активности **489** ничего не сообщалось. Другое пролекарство-уретан DOX **490** предназначенное для активации светом содержит в своем составе *O,S*-кеталь (1,3-оксатиолан) [234]. Эта группа распадается до кетона при действии синглетного кислорода, образующегося при облучении в присутствии фотосенсибилизаторов. Затем в плазме пролекарство **490** распадается до DOX по реакции ретро-Михаэля.

Имеются сообщения о синтезе уретанов DOX предназначенных для включения в более крупные частицы. Конъюгат DOX **491** содержит остаток малеимида к которому прикреплено два остатка тиофенола [235]. Конъюгат такого строения способен к реакциям обмена с другими источниками тиолов, в частности он способен реагировать с дисульфидной группой в белках. Затем белковый конъюгат DOX может медленно (>72 ч) гидролизироваться с высвобождением DOX. Конъюгат **491** был использован для ковалентной сшивки с терапевтическим антителом Трастузумаб. Липофильный уретановый конъюгат DOX **492** содержит остаток стеариновой кислоты и был синтезирован с целью закоривания в липидной оболочке вокруг твердых наночастиц с неорганическим ядром [236].

1.8 Алкильные производные по азоту сахара

Вторая, значительная после *N*-ацильных производных, наиболее значительная группа веществ, представляющие собой антрациклины с модифицированной аминсахарной частью – это их *N*-алкильные аналоги. В отличие от реакции ацилировании аминогруппы, при введении алкильных заместителей не происходит потеря основного аминного центра молекулы. Введение алкильных заместителей в аминогруппу обычно не снижает резко цитотоксичность антрациклинов. Хотя наличие аминной группы не принципиально для проявления биологической активности антрациклиновых антибиотиков, обычно любые модификации по *C*-

3' атому сильно влияют на нее. Существует по крайней мере три подхода к получению *N*-алкил замещенных антрациклинов: во-первых, прямое алкилирование аминогруппы аминсахара [237] [238] при действии галоген-алканов по реакции нуклеофильного замещения или алкилирование путем присоединения электрондефицитных алкенов в реакции аза-Михаэля; во-вторых, часто удобно получать *N*-алкил антрациклины в два этапа через реакцию восстановительного аминирования, сначала взаимодействием аминогруппы с кетонами или альдегидами с образованием имина, который далее восстанавливают боргидридами до амина; в-третьих, через реакцию агликона антрациклина с заранее синтезированным аминсахаром.

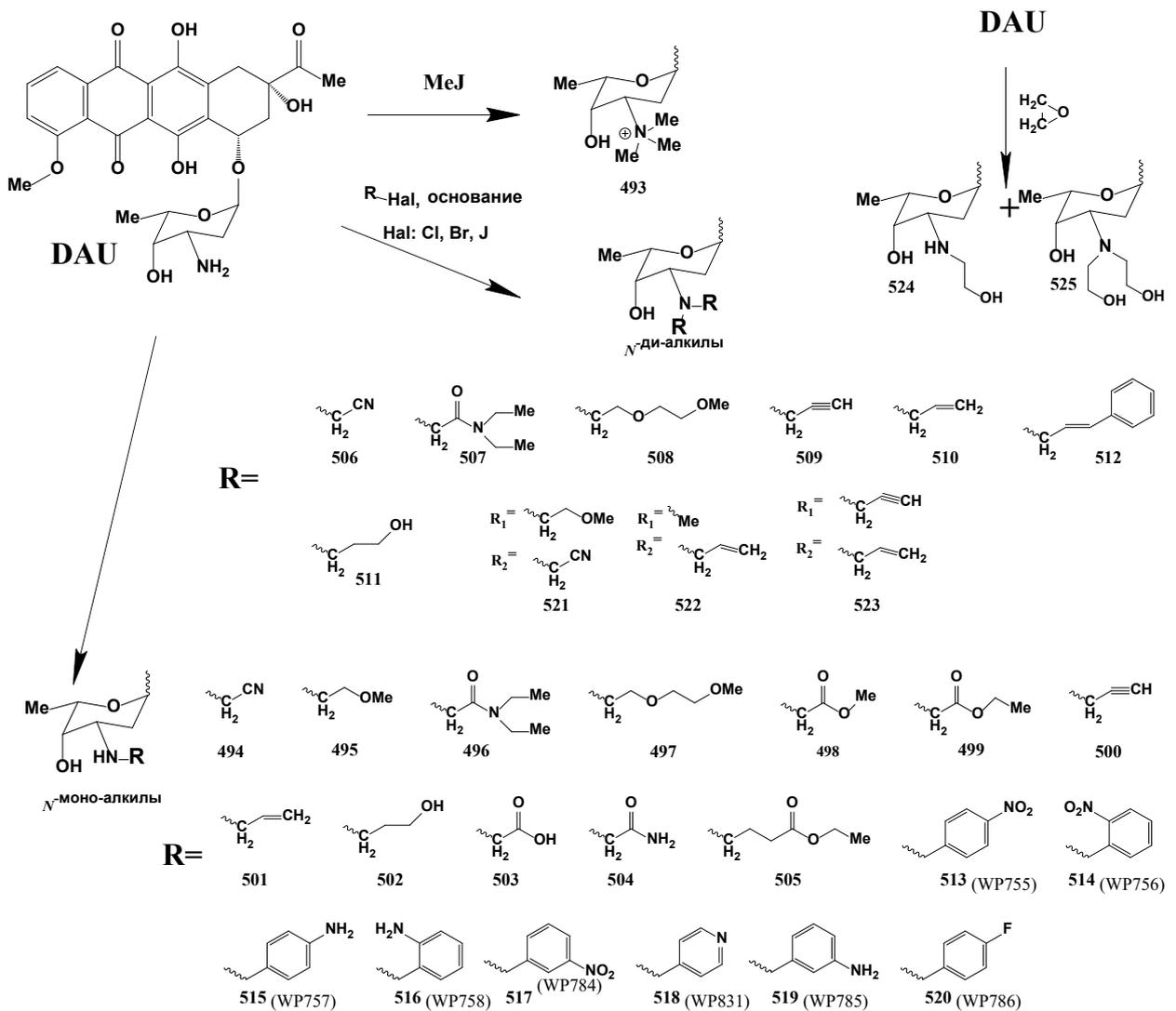


Рисунок 27 Реакции прямого алкилирования даунорубицина галогеналканами

Наиболее очевидный подхода к получению *N*-алкильных производных основывается на прямом алкилировании аминогруппы, однако при этом реакция часто не останавливается на образовании моно-*N*-алкила и идет далее, давая в качестве побочного или даже в виде основного продукта *N,N*-диалкильные производные. Более, того при этом также могут алкилироваться спиртовые группы антрациклина, как сахарного фрагмента, так и агликона. Поэтому этот тип реакций применяют как правило для модификации DAU не имеющего C-14 гидроксильной

группы как в DOX. Реакция часто требует присутствия основания как конденсирующего агента, как например этоксида калия, карбоната калия [239] или триэтиламина [240]. Действие метилйодида, как наиболее простого алкилирующего агента, на DAU ведет к избыточному метилированию и образованию четвертичной аммониевой соли **493** [241] (Рис.27). Хотя у такого соединения остается способность связываться с ДНК, оно не проявляет активность *in vivo*, по-видимому, вследствие неспособности преодолевать плазмалемму клетки из-за постоянного положительного заряда молекулы.

С ростом молекулярной массы и стерических затруднений алкилирующего агента появляется возможность получения моно-*N*-алкильных производных DAU. Алкилирование DAU низкомолекулярными бром- и йодалканами, как например йодацетонитрилом [242] привело к серии *N*-алкил-DAU с радикалами цианометил **494**, метоксиэтил **495**, диэтил-карбомоилметил **496**, метоксиэтоксипропил **497**, метоксикарбометил **498** [242], этоксикарбометил **499** [239] [243], пропаргил **500**, винил **501** [239], 3-гидроксипропил **502** [244], карбоксиметил **503**, карбомоилметил **504**, этоксикарбопропил **505** [243]. При этом также были получены соответствующие *N,N*-диалкильные производные DAU с радикалами цианометил **506**, диэтил-карбомоилметил **507**, метоксиэтоксипропил **508** [242], пропаргил **509**, винил **510** [239] и 3-гидроксипропил **511** [244] (Рис.27). Диалкильное производное DAU с 3-фенилвинильными заместителями **512** было получено только как продукт двойного присоединения [239]. Соединения **494-512** обычно показывали себя менее активными *in vitro* на клеточных линиях, кроме моно-конъюгата с йодацетонитрилом **494** [242] и винилбромидом **501** [239] показавшим себя в 10 раз более активными чем исходный DAU на линиях L1210 и HEK293 соответственно. Схожим образом получена серия аналогов *N*-бензил-даунорубицина с радикалами 4-нитробензил **513** (WP755) [197] [238], 2-нитробензил **514** (WP756), 4-аминобензил **515** (WP757) [197] [238], 2-аминобензил **516** (WP758), 3-нитробензил **517** (WP784), 4-пиколил **518** (WP831), 3-аминобензил **519** (WP785), 4-фторбензил **520** (WP786) [238]. Соединения с аминогруппами здесь получали через восстановление соответствующих нитросоединений, а не напрямую. Данные соединения проявляли в целом схожую с DOX цитотоксичность на линии KB, однако сохраняли ее неизменной на варианте линии KB с устойчивостью к DOX. Конъюгаты DAU **499**, **503-505** менее активно связываются с ДНК и неактивны *in vivo* [243].

В свою очередь полученные моно-*N*-алкильные производные DAU могут быть субстратами для дальнейшего алкилирования галогеналканами. Таким образом были получены *N,N*-гетеро-диалкильные производные DAU: одновременно с заместителями цианометил и метоксиэтил **521** [242], с заместителями метил и винил **522** [240], с заместителями винил и пропаргил **523** [239]. Другой алкилирующий агент, использованный для получения *N*-алкильных производных DAU была окись этилена [244]. При этом происходит раскрытие оксиранового

цикла с образованием сразу дополнительной гидроксильной группы, в зависимости от времени реакции получают как основной продукт либо *N*-гидроксиэтил-DAU **524**, либо *N,N*-бис(гидроксиэтил)-DAU **525**.

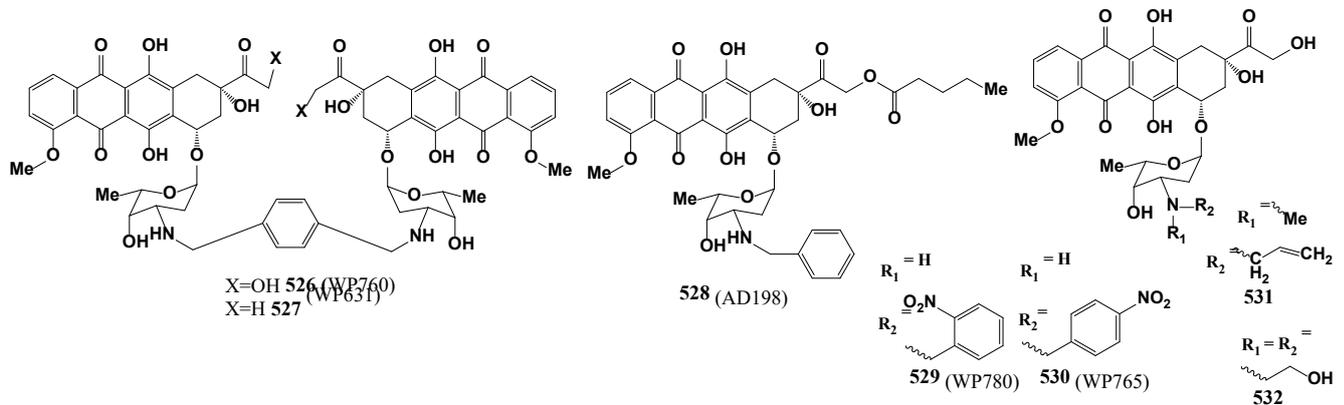


Рисунок 28 *N*-алкильные производные доксорубицина и других антрациклинов полученные прямым взаимодействием с галогеналканами

Случаев использования галогеналканов для прямого синтеза *N*-алкильных производных на основе DOX меньше (Рис.28). Известно о получении бис-конъюгата DOX **526** (WP760) в котором два фрагмента DOX связаны линкером в виде остатка *n*-силола [245]. Это вещество проявляет себя *in vitro* как селективный агент против линий клеток меланомы MeWo и A375, другие клеточные линии требуют в 10-100 раз большей дозы **526** для проявления тех же эффектов. Возможно, кроме непосредственного угнетения синтеза ДНК и ареста клеток в G2/M фазе, **526**, локализуясь в митохондриях также угнетает деятельность критичной для выживания меланомы NO-синтазы. Аналогичное производное **527** (WP631) с тем же линкером было синтезировано и для DAU [246]. Линкер в бис-антрациклинах **526** и **527** ложится в малую бороздку ДНК как и аминокислотные остатки антрациклинов и еще больше повышает, возможно чрезмерно, стабильность комплекса ДНК-антрациклин. К этой же группе можно отнести синтез *N*-ацильного производного DOX **528** (AD198) из его 14-*O*-валероил производного [247]. Соединение **528** в отличие от DOX ведет к более медленному достижению максимальной фракции клеток в G2/M фазе, но на длительных временах (24-96 ч) этот эффект не спадал так быстро. Через использование промежуточной процедуры TMS защиты C-14 спиртовой группы были синтезированы *N*-алкильные производные DOX с остатками *o*-нитро-бензила **529** (WP780) и *p*-нитро-бензила **530** (WP765) [238]. Через прямое алкилирование *N*-метил-DOX был получен конъюгат DOX **531** с одновременно метильным и винильным заместителями при азоте аминокислота [240]. Доксорубин, аналогично DAU, также поддается алкилированию при действии окиси этилена, при этом получается единственный продукт *N,N*-дигидроксиэтил-DOX **532** [244].

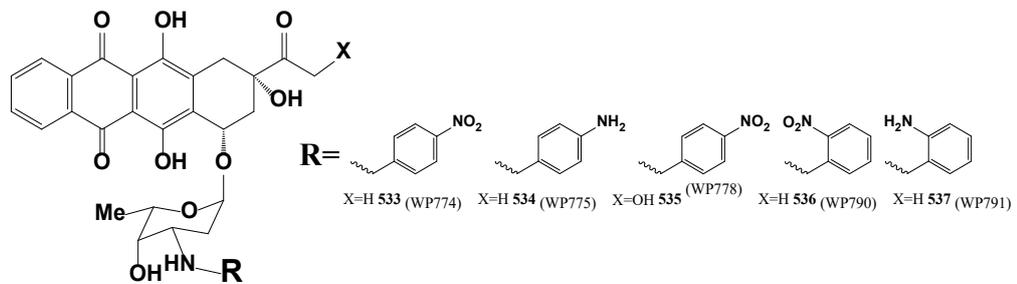


Рисунок 29 Моноалкильные производные идарубицина

Путем прямого взаимодействия с галогеналканами было получено несколько *N*-алкильных производных IDA **533-537** [238]. Все они равны или уступают по активности DOX против линии клеток KB, но при этом активность сохраняется против варианта линии KB устойчивой к антрациклинам (Рис.29).

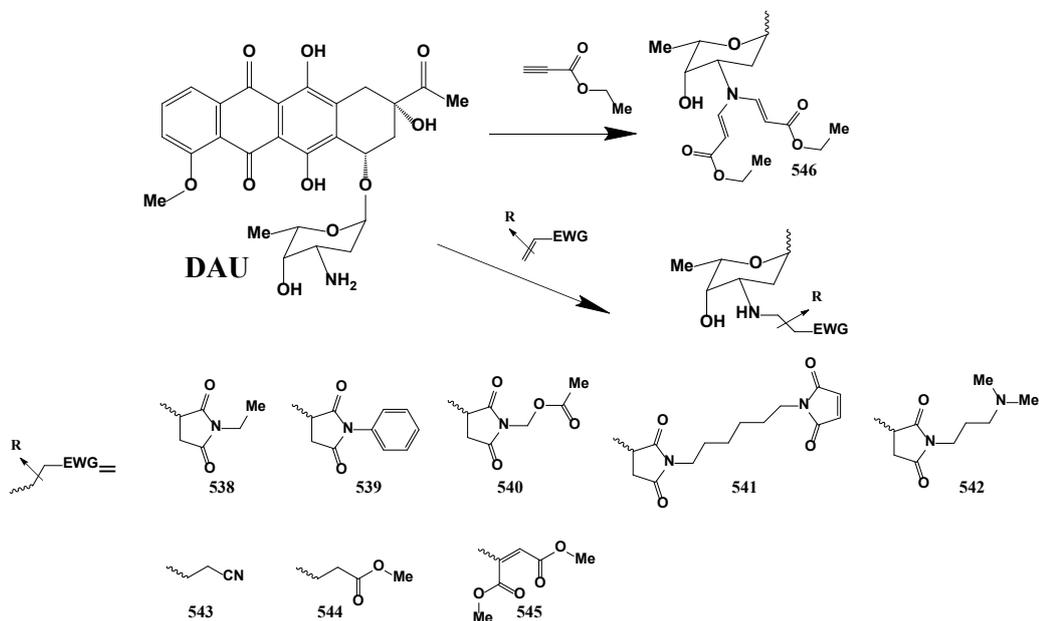


Рисунок 30 *N*-Алкилирование даунорубицина по реакции аза-Михаэля

Алкилирующими агентами для прямого получения *N*-алкил антрациклинов могут быть не только галогеналканы, но и вещества-акцепторы в реакции Михаэля (Рис.30). Известно о нескольких конъюгатах (**538-542**) DAU по аминогруппе сахарного остатка с *N*-алкил малеимидами отличающихся строением заместителя в малеимиде. Для реакции подходит солянокислая соль DAU, но требуется основной катализ триэтиламин. Конъюгаты DAU с малеимидами обычно обладают резко сниженной цитотоксичностью по сравнению с DAU [248]. Известно о проведении реакции аза-Михаэля с еще несколькими низкомолекулярными акцепторами Михаэля [239]. При этом были получены конъюгаты Михаэля DAU с цианакрилатом **543**, метил метакрилатом **544**, диметилловым эфиром бутиндиовой кислоты **545**. Реакция DAU с этиловым эфиром пропиоловой кислоты дала сразу *N,N*-дизамещенный продукт

546. Полученные конъюгаты **543-546** также обладали сниженной цитотоксической активностью в тестах на трех опухолевых линиях.

Второй, чаще используемый, подход к синтезу *N*-алкильных производных антрациклинов основан на способности аминогруппы давать основания Шиффа при реакции с альдегидами с последующим восстановлением. Поскольку даже такие относительно мягкие восстановительные агенты как боргидрид натрия или дитионит натрия восстанавливают антрациклиновый хромофор до лейко-формы, а также восстанавливают кетогруппу в С-13 положении, для реакции восстановительного аминирования применяют цианборгидрид натрия с еще более ослабленной восстанавливающей силой как селективный реагент для восстановления иминов. Кроме того, использование цианборгидрида в качестве восстанавливающего агента не ведет к распаду антрациклинов по гликозидной связи как в случае с немодифицированным боргидридом натрия [249].

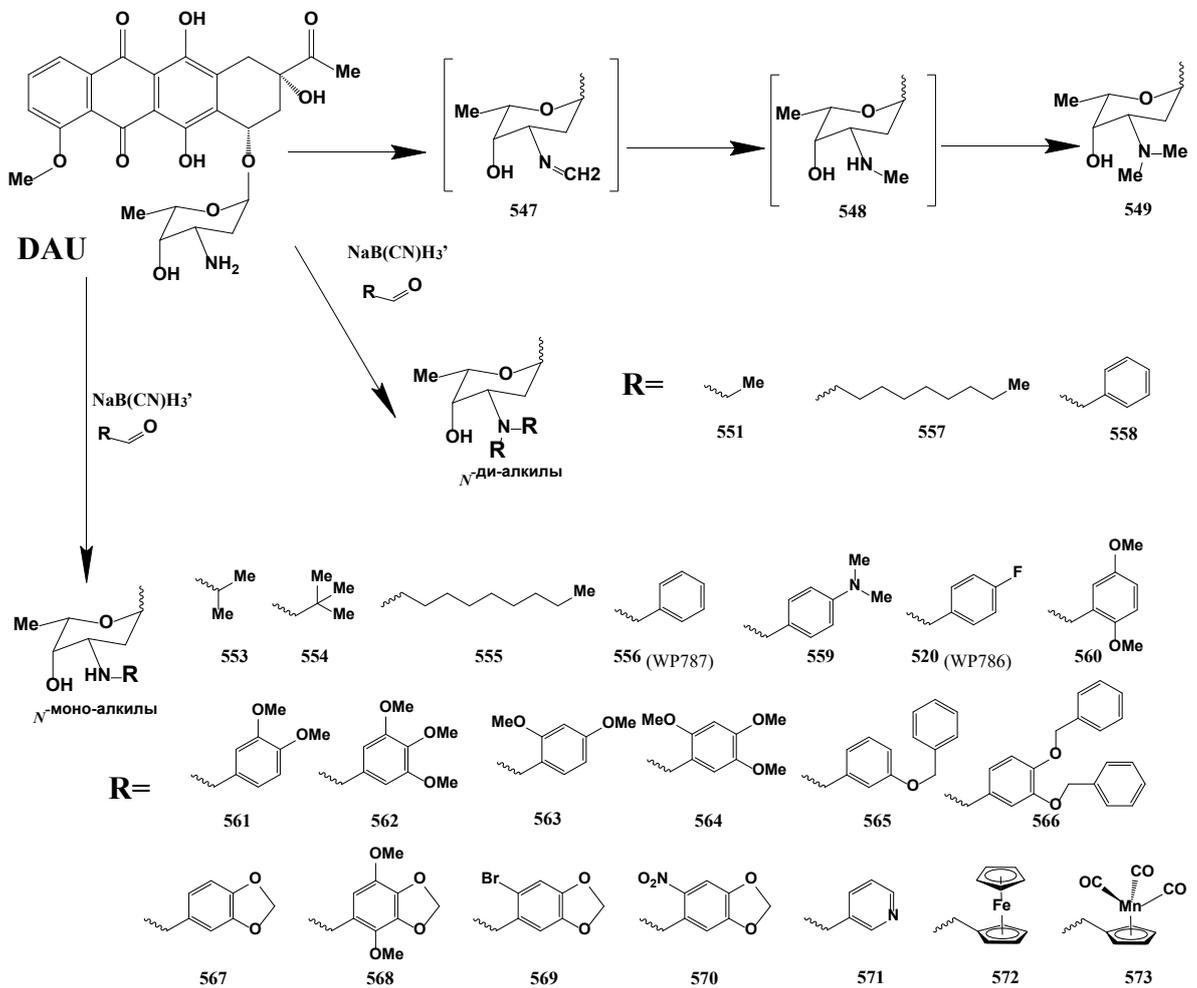


Рисунок 31 *N*-Алкильные производные даунорубицина полученные по реакции восстановительного аминирования

Реакция восстановительного аминирования DAU (Рис. 31) с формальдегидом, как наиболее простым альдегидом, ведет, через образование имина **547**, к моно-*N*-метил-DAU (**548**), который, однако, тут же опять вступает в реакцию с формальдегидом, давая в качестве

единственного продукта реакции дизамещенный *N,N*-диметил даунорубицин **549** [250]. DOX реагирует с формальдегидом похожим образом, давая дизамещенный *N,N*-диметил доксорубицин **550** (AD280, diMe-Doxo) но, со сниженным выходом. Взаимодействие с ацетальдегидом также ведет исключительно к диэтильным производным DAU **551** и DOX **552**. В прочих случаях, при реакции с более тяжелыми альдегидами, более характерно образование моно-*N*-алкил производных, и только при длительном времени реакции в течение нескольких суток образуются *N,N*-диалкил производные антрациклинов. Таким образом, реакцией DAU с карбонильными соединениями были получены его моно-*N*-алкильные производные с использованием ацетона **553**, *трет*-пентанала **554**, деканала-1 **555** и бензальдегида **556** [250] [251]. При более длительной инкубации образуются также дизамещенные аналоги при реакции DAU с деканалем-1 **557** и бензальдегидом **558** [250] [251]. Эти *N*-алкильные производные показали сравнимую или чуть лучшую чем DAU и DOX противоопухолевую активность *in vitro* и *in vivo* в тестах на ингибирование синтеза ДНК и РНК, в тестах на связывание с ДНК и на мышинных моделях с перевитыми опухолями [250] [252]. Исключением стали соединения сразу с двумя объемными заместителями при аминогруппе **557** и **558**, которые были неактивны ввиду потери способности эффективно связываться с ДНК. Из положительных эффектов также стоит отметить сниженную мутагенность и токсичность *N*-алкильных конъюгатов DAU в бактериальных тестах при сохранении целевой активности.

Введение двух метильных групп в *N,N*-диметил-DOX (**550**, AD280) улучшает его биологические качества как ценного для медицинского применения антрациклина (Рис.35). Для предотвращения формирования фиброза глаза после операций хирургических операций по лечению глаукомы и удаления хрусталика может применяться DAU. Однако он может обладать побочными эффектами такими как некроз конъюнктивы и канцерогенный эффект. В свою очередь *N,N*-диметил-DOX (**550**) лишен этих недостатков и так же как и DAU способен подавлять размножение фибробластов и формирование фиброза глаза [253]. Даже при многократном введении *N,N*-диметил-DOX (**550**) в тестах *in vivo* не ведет развитию к развитию поражений сердца характерных для DOX, таких как тромбоз в ушке предсердия сопровождающийся воспалением и фиброзом, отложения коллагена, падение сердечного выброса [6]. Эти различия в токсичности для сердца не связаны с различным биораспределением препаратов или генерацией АФК, которые было сопоставимы для DOX и **550**. По-видимому, ключевое значение играет характер действия *N,N*-диметил-DOX (**550**) на ДНК – его цитотоксическая активность почти целиком определяется способностью вызывать вытеснение гистонов (*histone eviction*), а способность ингибировать топоизомеразу II и вызывать двунитивые разрывы отсутствует. Также *N,N*-диметил-DOX (**550**) значительно меньше угнетает миелогенез и сперматогенез у самцов крыс в отличие от DOX.

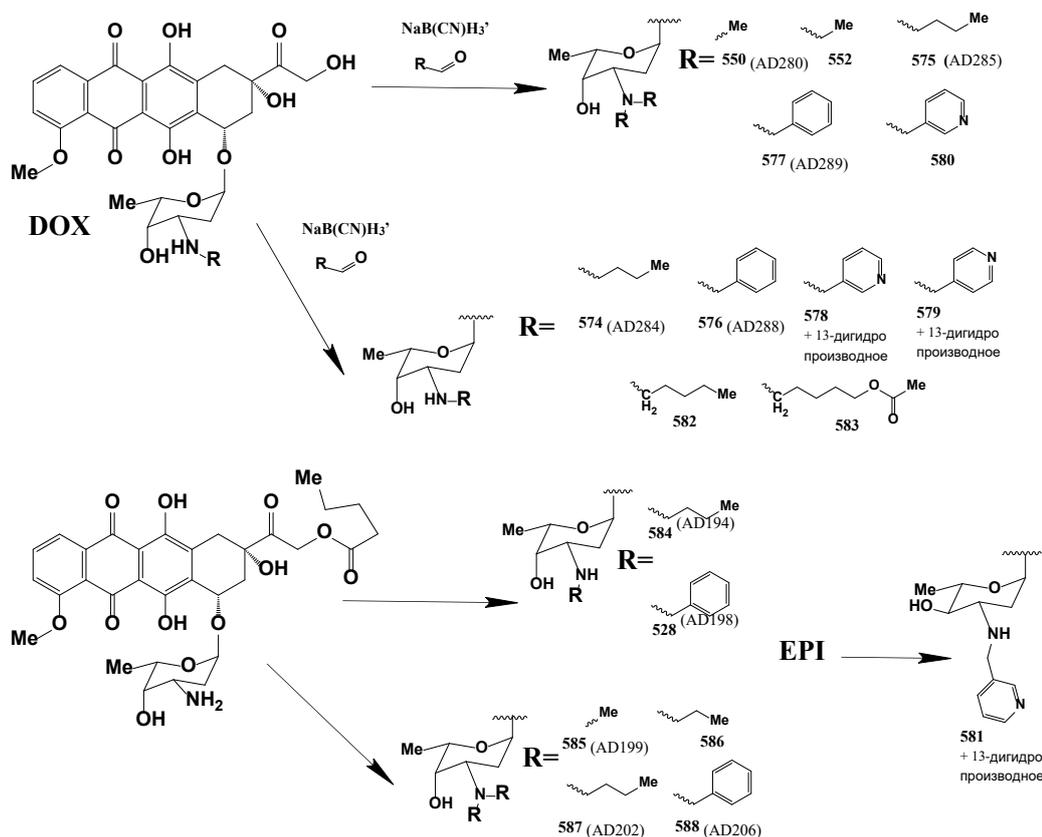


Рисунок 32 *N*-Алкильные производные доксорубина полученные по реакции восстановительного аминирования

В последующем различными исследователями реакцией восстановительного аминирования был синтезирован ряд аналогов *N*-бензил-DAU **556** с введением различных заместителей в бензольное кольцо при реакции с 4-диметиламин-бензальдегидом **559** [250], 4-фтор-бензальдегидом **520**, 2-,5-диметокси-бензальдегидом **560**, 3-,4-диметокси-бензальдегидом **561**, 3-,4-,5-триметокси-бензальдегидом **562** [254], 2-,4-диметокси-бензальдегидом **563**, 2-,4-,5-триметокси-бензальдегидом **564** [255], 3-бензилокси-бензальдегидом **565** и 3-,4-дихлорокси-бензальдегидом **566** [74]. Продукты присоединения DAU **563** и **564** отличались повышенной цитотоксической активностью *in vitro*, причем на линии клеток A549 немелкоклеточного рака легкого их цитотоксичность IC₅₀ достигала 0,001 мМ при активности DAU 0,3 мМ. При этом вещества **563** и **564** одновременно показывали значительно сниженную токсичность при внутривенном введении на мышах [255]. Также было описано получение *N*-моноалкильных производных DAU с другими ароматическими аналогами бензальдегида – с пипероналем **567** и замещенными по бензильному кольцу пипероналями **568-570** [203] [256], альдегидами с фрагментом пиридина **571** [254], с фрагментом металлоорганических ферроцена **572** и трикарбонил-циклопентадиенил-марганца **573** [257]. Пиперонильные производные **567-570** показали на четырех опухолевых линиях сравнимую или умеренно меньшую токсичность по сравнению с исходным антрациклином.

Кроме упомянутых алкильных DOX также методом восстановительного аминирования были получены и другие его конъюгаты (Рис.32). Из DOX и бутанала были получены моно- (**574**, AD284) и ди- (**575**, AD285) *N*-бутильные производные DOX [76]. Они показывали противоречивую активность – высокую активность в тестах *in vitro* на линии CCRF-CEM человеческой лимфобластной лейкемии, но сниженную на линии L1210 мышинной лейкемии. Взаимодействие DOX с бензальдегидом аналогично вело к получению моно- (**576**, AD288) и ди- (**577**, AD289) *N*-бензильных производных DOX [250] [76] [252] [251]. Моно-алкильное бензильное производное **576** в многочисленных тестах *in vitro* и *in vivo* показывало сравнимую с DOX или меньшую активность, способно к эффективной интеркаляции в ДНК, показывало меньшую кардиотоксичность. В то же время ди-бензильное производное **577** теряло способность связываться с ДНК и было практически неактивно. Также заявлено [258] о получении аза-аналогов *N*-бензил-DOX при реакции с 3-никотиновым альдегидом **578** и 4-никотиновым альдегидом **579**, дизамещенного производного при реакции с 3-никотиновым альдегидом **580**, а также *N*-3-пиколил-эпирубицина **581** при реакции с EPI. Поскольку никотиновая кислота снижает токсичность некоторых лекарств, ожидалось, что по аналогии введение пиридинового цикла в молекулу приведет к более эффективным лекарствам. Пиридин-содержащие производные DOX **578**, **580** и EPI **581** на линиях лейкемий U937 и CCRF-CEM показывали себя в несколько раз менее цитотоксичными чем исходные антибиотики, однако при переходе на резистентную к действию антрациклинов линию CEM/VLB100 они не показывали настолько сильного снижения цитотоксичности [259]. Линейные *N*-алкилы DOX с радикалами пентила **582** и 5-ацетокси-пентила **583** были получены в рамках работы по поиску новых пролекарств морфолиновых и близких к ним антрациклинов [260] как отрицательный контроль. Ожидаемо, что их цитотоксическая активность мало отличалась от DOX, однако при переходе на аналогичную резистентную линию CHO/DOX она падала меньше - в 7,3 раз и 4,2 раза, в то время как для DOX она падала в 100 раз.

Лучших результатов удалось достичь при использовании в качестве субстрата для восстановительного аминирования *C*-14-валерата DOX (Рис.32). Были получены его моно- *n*-бутил **584** (AD194) и бензил **528** (AD198) *N*-алкильные производные, а также метил **585** (AD199), пропил **586**, бутил **587** (AD202) и бензил **588** (AD206) *N,N*-диалкильные производные [261] [76]. Эти соединения являются пролекарствами соответствующих производных DOX без остатка валериановой кислоты, в то же время ощутимо превосходят их по биологической активности. Так соединения с заместителями бутила **584** и дибутила **587** при аминогруппе в тестах на мышах с перевитой опухолью P3888 ведут к увеличению времени выживания ILS в оптимальной дозе на более чем 475% и 770%, а в группе мышей обработанных *N*-бензильным конъюгатом **528** вовсе не было смертей.

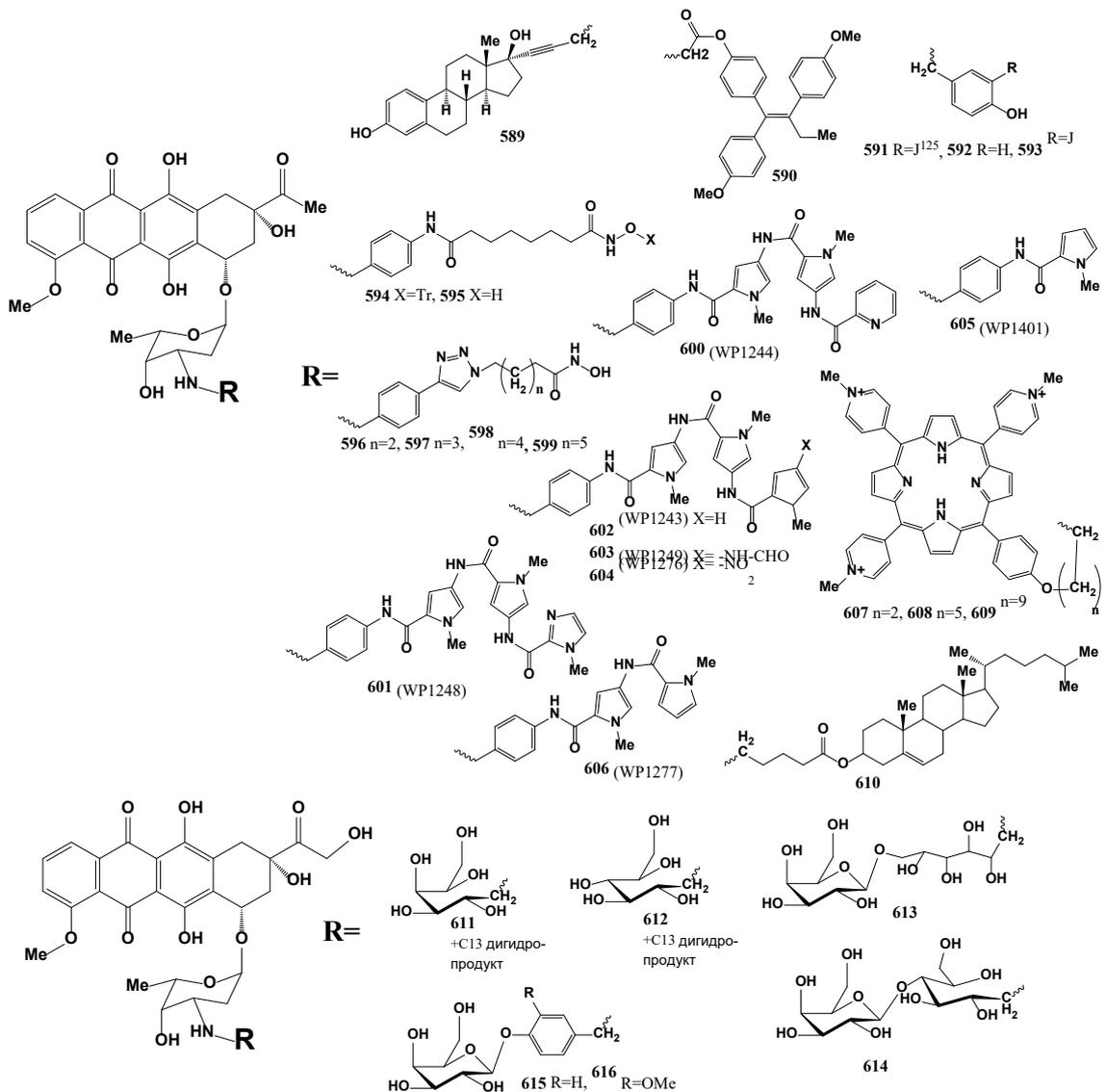


Рисунок 33 Бинарные *N*-алкильные конъюгаты даунорубицина и доксорубицина

Алкильный заместитель при аминогруппе может иметь и более сложное строение какой-либо дополнительный фрагмент от другого лекарства (Рис.33). Например, получены *N*-алкильные производные DAU сшитые с дополнительными фрагментами лигандов эстрогеновых рецепторов (ЭР) – с остатком эстрадиола **589** и с остатком нестероидного лиганда ЭР тамоксифеном **590** [237] – с целью повышения накопления конъюгата в богатых ЭР тканях опухолей. Однако, конъюгаты **589** и **590** показывали лишь незначительное сродство к ЭР и сильно сниженную цитотоксичность: для соединения **589** концентрация IC_{50} была выше в 1,4-350 раз в зависимости от клеточной линии по сравнению с DAU, а для соединения **590** – в 7,2-430 раз выше. Другой двойной терапевтический агент **591** на основе *N*-алкильного производного DAU несет в себе атом радиоактивного изотопа йода-125 [262] [263] в алкильном заместителе. Радиоактивный конъюгат **591** спроектирован авторами как способ повысить эффективность радиотерапии опухолей и может быть получен из *N*-алкил DAU **592** как прекурсора перед применением. Для терапии предлагается использовать для направленной доставки в опухоли

липосомы, нагруженные **591**, после поглощения их клетками опухоли конъюгат **591** непосредственно связывается с ДНК, после чего вступает в действие изотоп йода-125, который при распаде выделяет высокоэнергичные электроны Оже с большой способностью вызывать разрывы ДНК но действующие на небольшом расстоянии. В этом случае антрациклиновый фрагмент выполняет больше роль заякоривания конъюгата в непосредственной близости от ДНК. Нерадиоактивный аналог **593** со стабильным изотопом йода также был получен.

Субероил анилид-гидроксамоновая к-та (вориностат, SAHA) – это ингибитор гистон-ацетилазы (HDAC), который применяется в терапии некоторых типов онкологических заболеваний. Недавно была предпринята попытка соединить в одной молекуле два терапевтических агента: ингибитор топоизомеразы *N*-бензил-DAU и ингибитора HDAC вориностат [264] через бензольное кольцо как общий структурный фрагмент обоих веществ. В результате реакции восстановительного аминирования DAU был получен *N*-алкильный конъюгат **594**, который после снятия защитной группы дал целевое гибридное вещество **595**. Кроме того, был получен его аналог **596** с изостерной заменой амидной группы на триазольный цикл и его гомологи **597**, **598**, **599**. Все полученные гибридные вещества сохраняли как способность к ингибированию топоизомеразы, так и способность ингибировать HDAC. Однако только **595** проявлял сравнимую с DAU цитотоксичность на культурах протестированных клеток, остальные были менее активны. По-видимому, большое значение здесь также играет разная клеточная локализация полученных гибридных веществ.

Серия *N*-алкильных конъюгатов **600-606** [197] DAU с лигандами малой бороздки ДНК в целом аналогична упомянутым ранее [196] *N*-ацильным конъюгатам с теми же лигандами, однако высокоактивны в отличие от них. Предлагается использовать эти конъюгаты для лечения глиобластомы. Конъюгаты **600-606** состоят из двух функциональных частей – антрахинонового ядра DAU, интеркалирующего между основаниями ДНК, и протяженного хвоста по структуре родственного антибиотика дистамицину, эффективному лиганду малой бороздки ДНК. Сочетание этих двух частей позволяет конъюгатам образовывать стабильные комплексы с ДНК что ведет к высокой цитотоксической активности в наномолярном и субнаномолярном диапазоне, причем для конъюгата **600** (WP1244) IC_{50} на линии глиобластомы U87 0,2 нМ (для DAU IC_{50} 142 нМ). Серия алкильных конъюгатов даунорубицина с положительно заряженным порфирином была синтезирована [265] с исследовательскими целями в качестве флуоресцентных зондов для встраивания в ДНК-квадруплексы теломер с разными мотивами укладки (G4 ДНК и i-мотив ДНК). Конъюгаты **607-609** отличались между собой длиной линкера-алкана. Алкильный конъюгат DAU с холестерином **610** был синтезирован [74] как попытка создать липофильную форму DAU, пригодную для инкорпорирования в липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) как

системы доставки альтернативной липосомам, чего впрочем для соединения **610** сделать не получилось.

Несколько *N*-алкильных производных антрациклинов имеют в своем составе дополнительные остатки сахаров. Моносахариды могут сами выступать как источники альдегидов. При реакции DOX с галактозой или глюкозой в условиях восстановительного аминирования образуются конъюгаты **611** и **612** с линейной формой этих моносахаридов [266] (Рис.33). Однако их выход очень невелик, основным продуктом реакции являются C-13 восстановленные антрациклины. Также получены *N*-алкильные конъюгаты DOX от реакции с дисахаридами мелбиозой (**613**) и лактозой (**614**), которые аналогично выступают здесь источником альдегидной группы. В итоге в соединениях **613** и **614** остаток галактозы оказывается связан с DOX гидрофильным линкером. Кроме того, получены *N*-алкильные конъюгаты, в которых остаток галактозы связан с антрациклином гидрофобным линкером в виде бензильной (**615**) или 3-метокси-бензильной вставки (**616**). Перечисленные соединения ощутимо менее цитотоксичны по сравнению с DOX, однако их токсичность тоже снижается. В больших дозах в тестах *in vivo* они показывают умеренную эффективность против опухолей сравнимую с DOX.

1.9 Прочие производные по аминогруппе

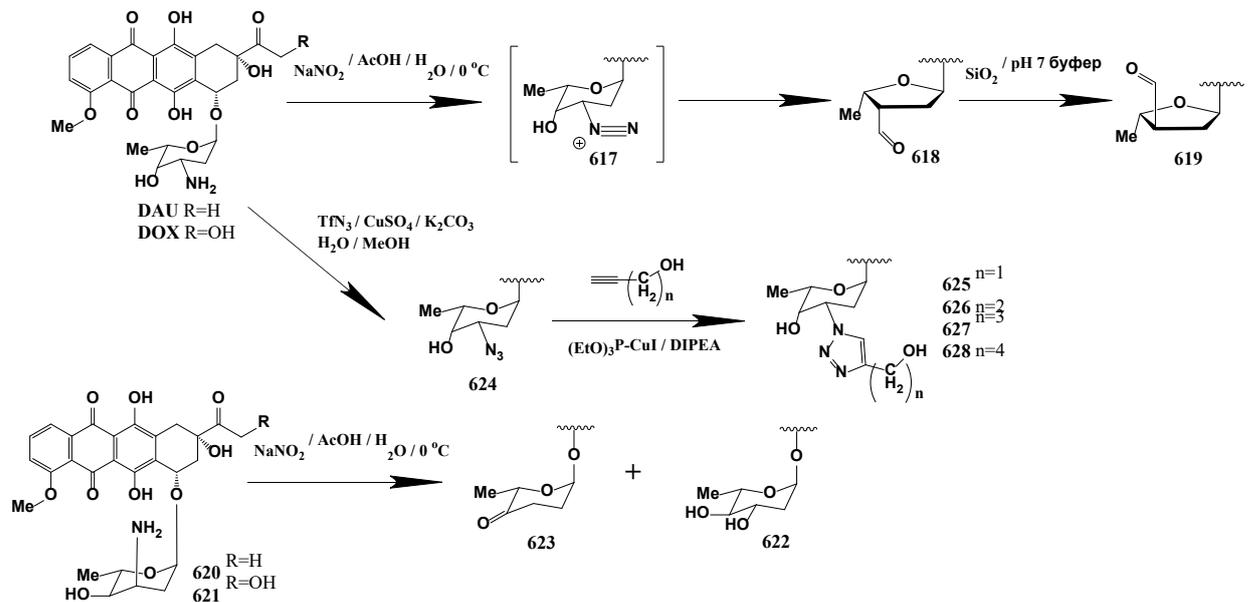


Рисунок 34 Прочие реакции по аминогруппе

Аминогруппа в аminosахаре антрациклинов при действии нитрита натрия в кислой среде дает нестабильную соль диазония **617** (Рис.34). Продукты, получающиеся при ее распаде, зависят от оптической конфигурации соседних атомов. Для DAU и DOX при этом происходит скелетная перегруппировка аminosахара с сокращением цикла до пентозы **618**. Формильная группа в пентозе **618** легко подвергается енолизации и охотно переходит в эпимер **619** при пропускании через колонку силикагеля. Реакция 3',4'-диэпи-даунорубицина (**620**) и 3',4'-диэпи-

доксорибуцина (**621**) в тех же условиях ведет к сохранению пиранозного цикла, при этом образуется смесь антрациклинов либо с остатком сахара с двумя спиртовыми группами (**622**), либо только к одной кето-группой (**623**) [267] [268]. Для DAU показано, что он может быть непосредственно превращен в азидо-аналог **624** действие трифлат-азиды без предварительного гидролиза по гликозидной связи [269] [270]. Азидо-аналог DAU **624** использовали для синтеза производных DAU **625-628**, в которых аминогруппа в сахаре заменена на 1,2,3-триазол. Азидный аналог DAU **624** не выбрасывается настолько активно из клетки Р-гр насосом как DAU и лучше себя проявляет на ксенографе мышинной модели с устойчивой к антрациклинам линией K562/Dox.

Производные антрациклинов содержащие остатки мочевины или тиомочевины

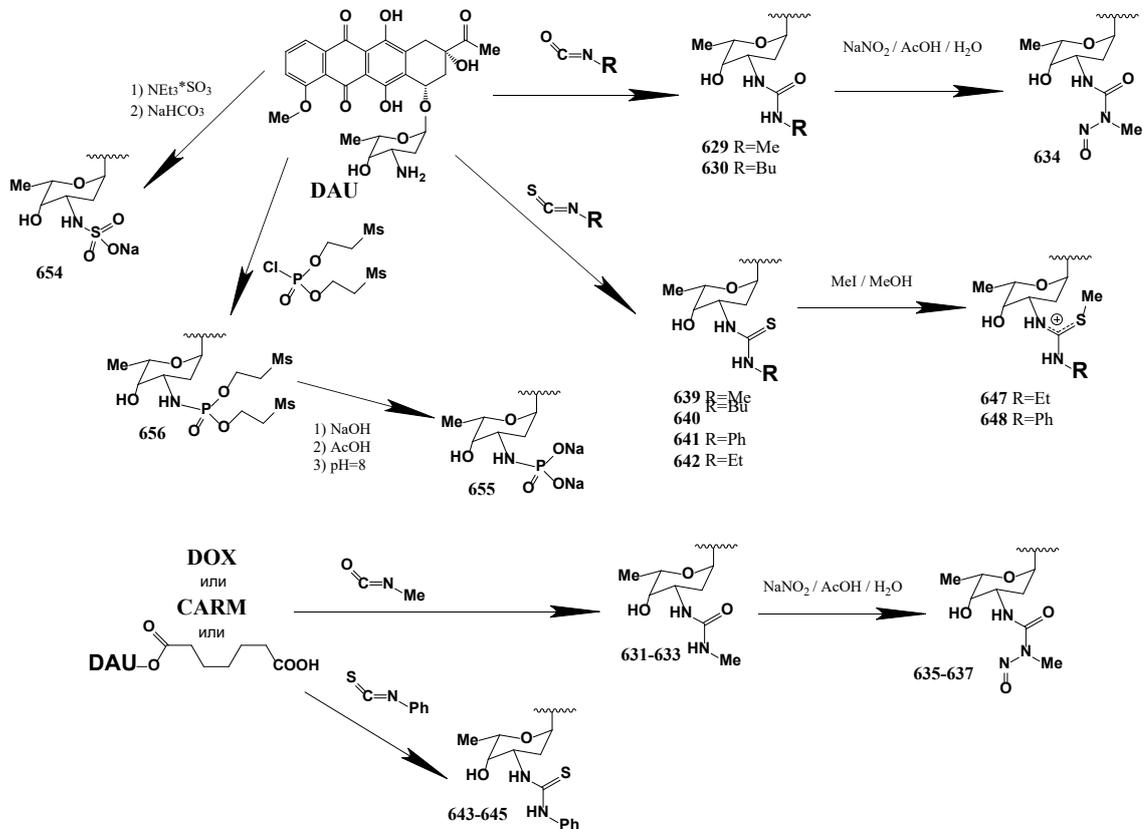


Рисунок 35 Псевдо-ацилы антрациклиновых антибиотиков по аминогруппе

Обработка антрациклинов в форме свободных аминов органическими изоцианатами в среде пиридина ведет к образованию мочевины (Рис.35 и 36). Таким образом, из DAU были синтезированы мочевины с разными заместителями: с метильной (**629**) [126] [271] [272] и бутильной группой (**630**) [126]. Аналогично *N*-метил мочевины синтезированы также из DOX (**631**), CARM (**632**), 14-адипиноил-DAU (**633**). За исключением последней все мочевины из антрациклинов показали себя как малоактивные или неактивные агенты в тестах на цитотоксичность по отношению к опухолевым и бактериальным клеткам [271] [272], или *in vivo* на выживаемость мышей с перевитой опухолью [126]. Взаимодействие *N*-метил-мочевины из антрациклинов (**629**, **631-633**) с нитритом натрия в кислой среде приводит к образованию

соответствующих *N*-нитрозо производных мочевины (**634-637**). Ожидалось, что введение нитрозогруппы приведет к повышению противоопухолевой активности за счет способности *N*-нитрозо-мочевин к распаду в организме с образованием химически активных продуктов карбоимилирующих белки и ДНК клетки. Однако, эти соединения также обладали сниженной активностью, не достигая активности исходных антибиотиков, что по видимому связано с их плохой растворимостью, а также к тенденции их активированных в организме форм к внутримолекулярной циклизации с соседней спиртовой группой вместо сшивки с нулеофильными макромолекулами клетки [271] [272]. Известно только об одном случае [273] использования связи в виде мочевины по аминсахару для построения пролекарств антрациклинов. Продукт взаимодействия DOX и изоцианата с дополнительной триэтоксисилановой группой (**638**) способен к самопроизвольному гидролизу и полимеризации с образованием кремниевых наночастиц.

Схожим образом, при обработке антрациклинов органическими изотиоцианатами, могут быть получены тиомочевинны антрациклинов. Исходя из DAU синтезированы тиомочевинны с дополнительным метильным (**639**), бутильным (**640**) [126], фенильным (**641**) и этильным (**642**) [272] заместителями. Взаимодействием с фенил-изотиоцианатом в сухом пиридине были получены соответствующие тиомочевинны из DOX (**643**), CARM (**644**), 14-адипиноил-DAU (**645**), и для DOX, аналогично, взаимодействием с этил-изотиоцианатом, было получено соответствующее производное **646** [272]. Однако, и в этом случае эти соединения показывали резко сниженную активность по сравнению с исходными антибиотиками. Взаимодействие тиомочевин DAU **641** и **642** с метилйодидом ведет к образованию полярных солей изотиоурония **647** и **648** о биологических свойствах которых не сообщалось.

По аминогруппе антрациклинов описано получение нескольких других “псевдо-ацильных” производных (Рис.53). 2-Иминотиолан, также известный как реагент Траута, при взаимодействии с аминами раскрывается с образованием амидина и новой сульфгидрильной группы. Взаимодействие DOX с реагентом Траута ведет к амидину **649**. Последний нашел применение как агент для модификации поверхности наночастиц золота [274], дендримерных наночастиц импрегнированных золотом [275] или для конверсии в активированный дисульфид **650**, способный к обменной реакции с цистеин-содержащими пептидами [276]. Модифицированный вариант использования реагента Траута предполагает использовать его в качестве линкера между DOX, как амина, и дексаметазоном как акцептора Михаэля [277]. В этом случае не происходит стадии выделения амидина **649**, вместо этого происходит сразу выделение продукта его присоединения к дексаметазону **651**. Конъюгат **651** в отличие от DOX быстрее проникает внутрь клеток, в том числе и с МЛУ, однако не приводит к выраженному аресту клеточного цикла. Сульфохлориды взаимодействуют с аминами с образованием сульфамидов.

Предложено [278] использовать сульфамиды DOX с электронакцепторными заместителями **652** и **653** как пролекарства DOX, активирующиеся глутатионом в клетках с гиперэкспрессией глутатион трансфераз MGST1 и GSTP.

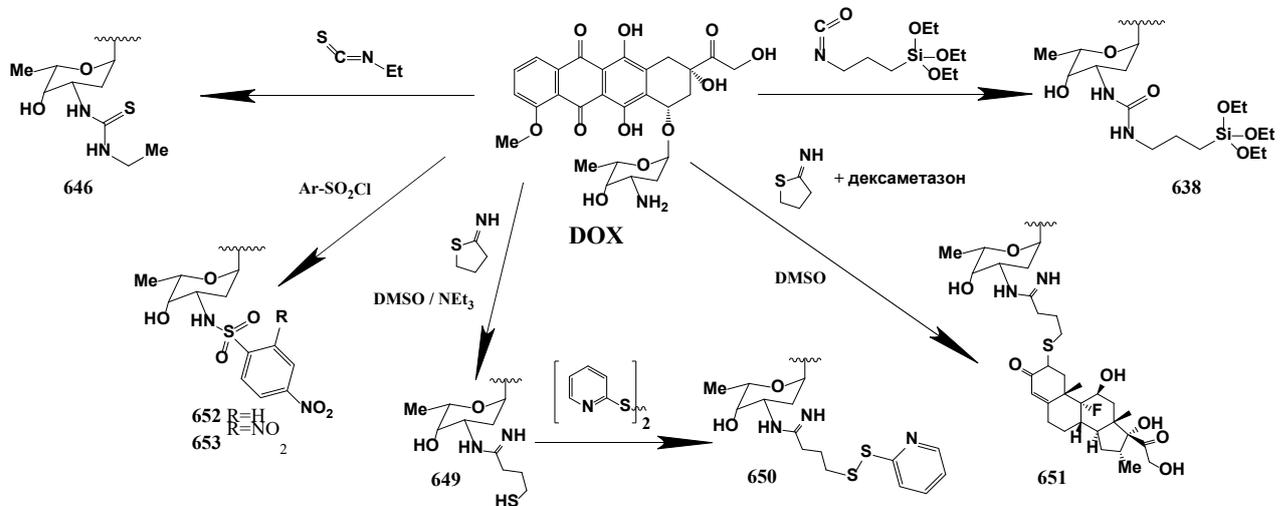


Рисунок 36 Псевдо-ацилы доксорубицина по аминогруппе

Ранние попытки создания пролекарств DAU предполагали модификацию аминогруппы остатками кислот [211]. *N*-Сульфамат даунорубицина **654** может быть получен действием на DAU комплекса триоксида серы с триэтиламин. Предполагалось, что нетоксичный сульфамат **654** будет подходящим субстратом для активации арил-сульфатазой в системах ADEPT, однако он не активировался этим ферментом. Также с целью создания пролекарств был синтезирован конъюгат DAU по аминогруппе с фосфорной кислотой **655** через обработку DAU фосфорохлоридатом и гидролизом образовавшегося фосфоамидата даунорубицина **656**. Однако фосфатное пролекарство **655** обладало лишь слегка уменьшенной цитотоксичностью и не годилось к использованию как нетоксичное пролекарство для системы ADEPT.

1.10 Модификации по кольцу С

Одним из возможных вариантов модификации по хиноновому кольцу антрациклинов является реакция замещения одного из атомов кислорода на иминогруппу (Рис.37). Изначально, как было замечено, при аммонолизе эфира-продукта деградации DAU **201** в жидком аммиаке происходило помимо основной реакции также образование двух побочных продуктов **657** и **658** с необычной фиолетовой окраской. При реакции в насыщенном аммиаке холодном метаноле продукты с измененным хромофором **657** и **658** были основными, эта же реакция легко проходит и с DAU [279]. Хромофор образующегося 5-иминодаунорубицина (5-ID) отличается от исходного, что придает соединению фиолетовую окраску (в форме гидрохлорида), в то время как антрациклины обычно окрашены в красный или оранжевый цвет. 5-Иминодаунорубицин 5-ID имеет схожую цитотоксичность по сравнению с не модифицированным DAU или DOX [279], [280]. Однако, в отличие от них, доза необходимая для развития кардиотоксичности у крыс в 4,5

раза выше, чем для DAU и в 6 раз выше, чем для DOX. Также 5-ID не обладает мутагенными свойствами в тесте Эймса на мутагенность на *Salmonella typhimurium* [279].

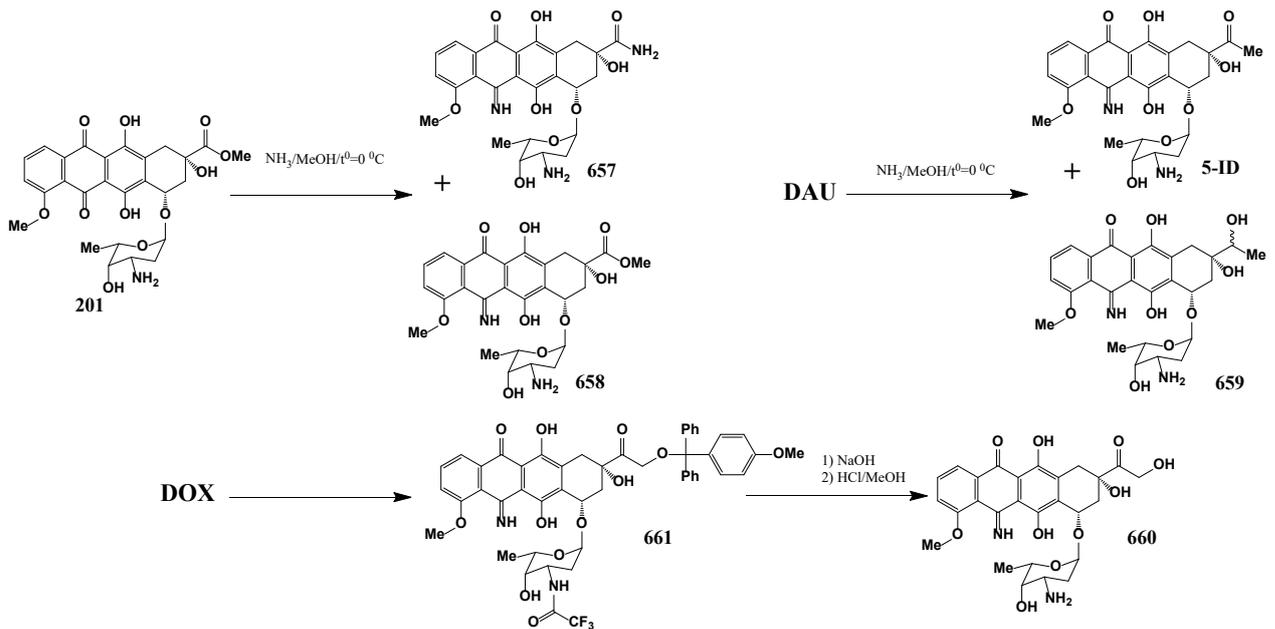


Рисунок 37 Получение 5-имино-антрациклинов

Низкая кардиотоксичность 5-иминодаунорубицина 5-ID обусловлена его неспособностью вступать в окислительно-восстановительный цикл с образованием радикала семихинона и супероксид-аниона [281]. 5-Иминодаунорубицин 5-ID вызывает больше, чем DAU одонитевых разрывов ДНК, которые, впрочем, быстро устраняются системой репарации ДНК. Фармакокинетика 5-ID отличается от DOX: он быстрее захватывается клетками, но и быстрее выводится. Второе отличие состоит в том, что в клетке не остается продукта восстановления С-13 спирта 5-иминодаунорубицина (659) после действия лекарства [280]. Впрочем, при действии перекиси и фермента пероксидазы, 5-ID в клетке может постепенно переходить в DAU [282]. Смещение поглощения хромофора 5-ID в красную область кроме изменения цвета приводит также к появлению выраженных фототоксичных свойств. Хотя способность выступать фотосенсибилизаторами есть и у других антрациклинов, они поглощают свет в синей области. Цитотоксичность 5-иминодаунорубицина сильно возрастает при инкубации в его среде клеток с одновременным облучением красным светом (595 нм), причем эффект значителен даже в очень низких(50 нг/мл) концентрациях 5-ID [283].

Аналогичный имино-аналог (660) был синтезирован и из DOX. В отличие от DAU, 5-иминодоксорубицин (660) нельзя синтезировать в одну стадию действием аммиака на DOX, что связано с способностью α -гидроксикетона DOX давать реакционноспособный таутомер α -гидроксиальдегид. Для этого DOX предварительно модифицируют по гидроксильной группе на С-14 атоме введением метокси-триметилной защиты и ацилированием аминогруппы сахарного остатка. Из производного DOX получают 5-имино аналог 661 действием аммиака, и далее, после

снятия защитных групп, получают 5-иминодоксорубин (**660**). Полученное соединение **660**, аналогично 5-иминодаунорубину, но в больших дозах, повышает выживаемость на мышиной модели с перевиваемой лейкемией P-388 эффективнее чем DOX или DAU. Кроме того, вещество **660** в отличие от DOX и DAU почти не приводит к поглощению кислорода в тесте с микросомальной фракцией печени, что означает отсутствие значимого образования АФК при его действии [284]. Похожим образом, через защиту С-14 гидроксильной группы и реакцию с аммиаком, синтезированы 5-имино аналоги морфолинового (**662**) и цианоморфолинового (**663**) производных DOX [285] (Рис.38).

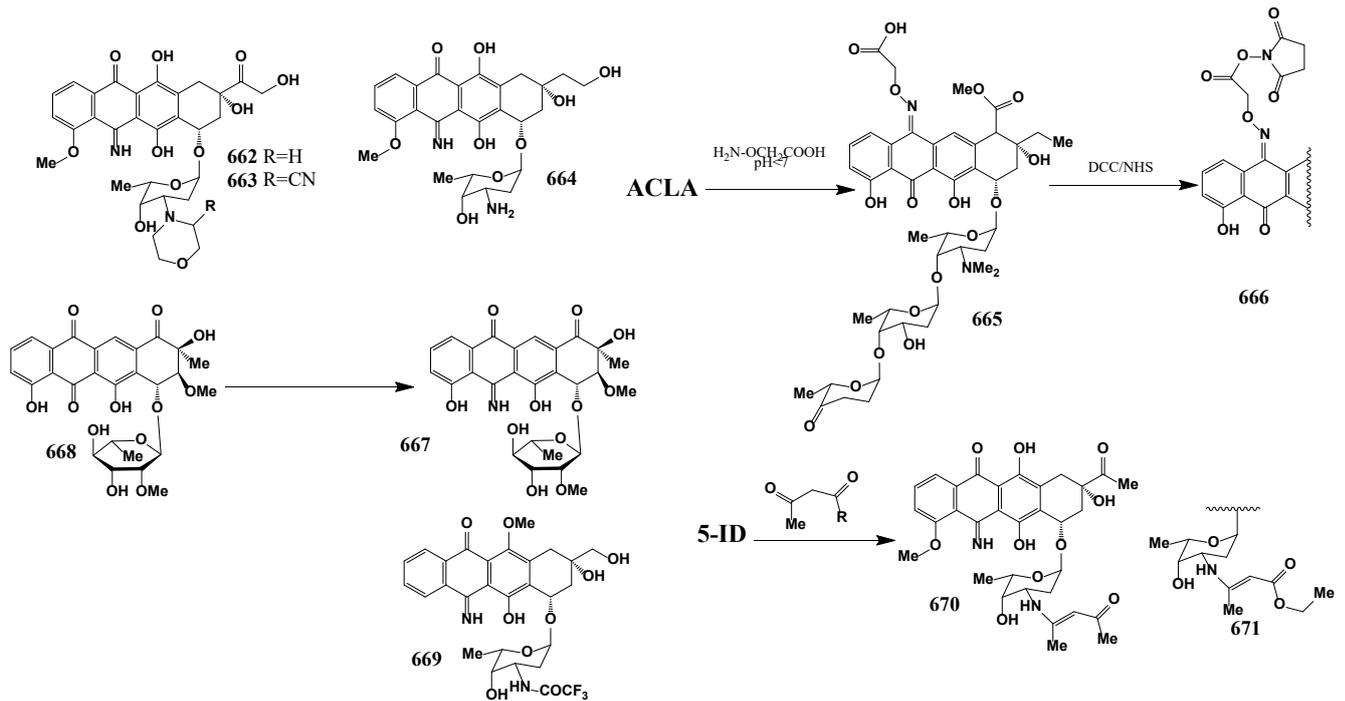


Рисунок 38 Другие антрациклины с иминоквином в С-кольце

Компанией Gem Pharmaceuticals был синтезирован другой аналог DOX с шифром GPX-150 (**664**), отличающийся кроме наличия иминогруппы в С-кольце также восстановленной до алкана С-13 карбонила. Предклинические испытания вещества GPX-150 (**664**) на кроликах [286] показали, что по сравнению с DOX, GPX-150 (**664**) не вызывал патологических изменений в сердечном выбросе и сократимости миокарда, хотя аналогично DOX и приводил к угнетению кроветворения. Также *in vitro* продемонстрировано, что **664** селективно ингибирует топоизомеразу II α , но не топоизомеразу II β . По результатам I фазы клинических испытаний на людях различными видами уже метастазирующих солидных опухолей [287] была установлена приемлемая по побочным эффектам переносимая доза. Даже в самой высокой дозе GPX-150 (**664**) у пациентов не развивалась острая или отложенная кардиотоксичность, прочие побочные эффекты, главным образом нейтропения и тошнота, вполне приемлемы. Фаза 2 клинических испытаний GPX-150 (**664**) проводилась на пациентах с неоперабельными мягкоткаными саркомами [288]. Иминоантрациклин **664** применялся совместно с Г-КСФ для минимизации

возможной нейтропении. Показана клиническая эффективность **664** при малой вероятности развития побочных эффектов и отсутствии кардиотоксичности.

Акларубицин (ACLA), кардиотоксичный антрациклин 3 поколения, аналогично прочим антрациклинам несет хиноновую группу в С-кольце, которая может быть модифицирована аминами с образованием иминогруппы. Имеется сообщение [289] китайских авторов о реакции акларубицина с *O*-замещенным гидроксиламином, что ведет к образованию имино-конъюгата акларубицина (**665**). Далее из имино-конъюгата акларубицина (**665**) получали ацилирующий агент **666** для синтеза наночастиц на основе сывороточного альбумина человека. Единственный пример [290] существования природного имино-антрациклина описан для имино-аналога антрациклина аранциамицина **667** из культуры микроорганизма, выделенного из морской губки. Неактивный в противоопухолевом отношении, имино-аналог **667** также был получен и синтетически при реакции метанольного аммиака с аранциамицином **668**, другим антибиотиком этого штамма. Реакцией с раствором аммиака в метаноле также получен имино-аналог антрациклина с метокси-группой в В-кольце **669** [291]. Как и его неактивный предшественник, имино-аналог **669** также оказался неактивным. *N*-Енаминовые производные **670** и **671** были получены непосредственно из 5-ID его реакцией с β -карбонилами ацетоацетоном и этил ацетоацетатом соответственно [292]. Оба производных иминодаунорубицина **670** и **671** (DR-27) менее активны чем их не-имино аналоги. Енаминовое производное **671** вдобавок при более подробном изучении токсичности показало способность вызывать нежелательные гистологические изменения в сердце и почках [293].

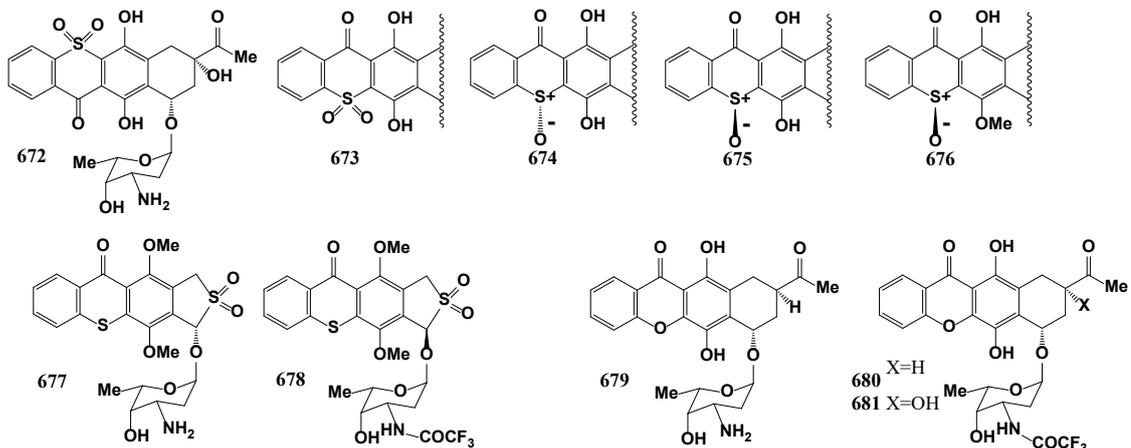


Рисунок 39 Синтетические антрациклины с заменой С-кольца

Второй вариант получения антрациклинов с измененным С-кольцом – использование синтетических агликонов (Рис.39). Из синтезированных [294] аналогов агликонов антрациклинов с заменой одной из карбонильных групп хинонового кольца на сульфон или сульфоксид были затем получены 12-сульфо- **672** и 5-сульфо- **673** антрациклины, а также 5-сульфо-антрациклины **674** и **675** в виде двух стереоизомеров [295]. Кроме того, для последнего сульфона

получен его 6-*O*-метильный аналог **676**. Предполагается что сульфо- и сульфоновые аналоги антрациклинов **672-676** будут обладать малой кардиотоксичностью из-за невозможности одноэлектронного восстановления хромофора [294] при повышенной активности *in vivo* в меньших оптимальных дозах [295]. Антрациклины с синтетическим агликоном **677** и **678** несут большое количество модификаций в том числе и замену одного из карбониллов хинона на сульфидную группу [296]. Известно также о синтезе антрациклинов **679-681** с заменой в С-кольце 5-карбоксогруппы на кислородный мостик [297]. Хотя они и обладают сниженной цитотоксической активностью на линии лейкемии L1210 ($ID_{50} \approx 10$ мкг/мл), ожидается, что в итоге они будут полезны как полностью некардиотоксичные вещества. Ненулевая активность **679-681** говорит о том, что хиноновая структура в агликоне не принципиальна для проявления цитотоксичности.

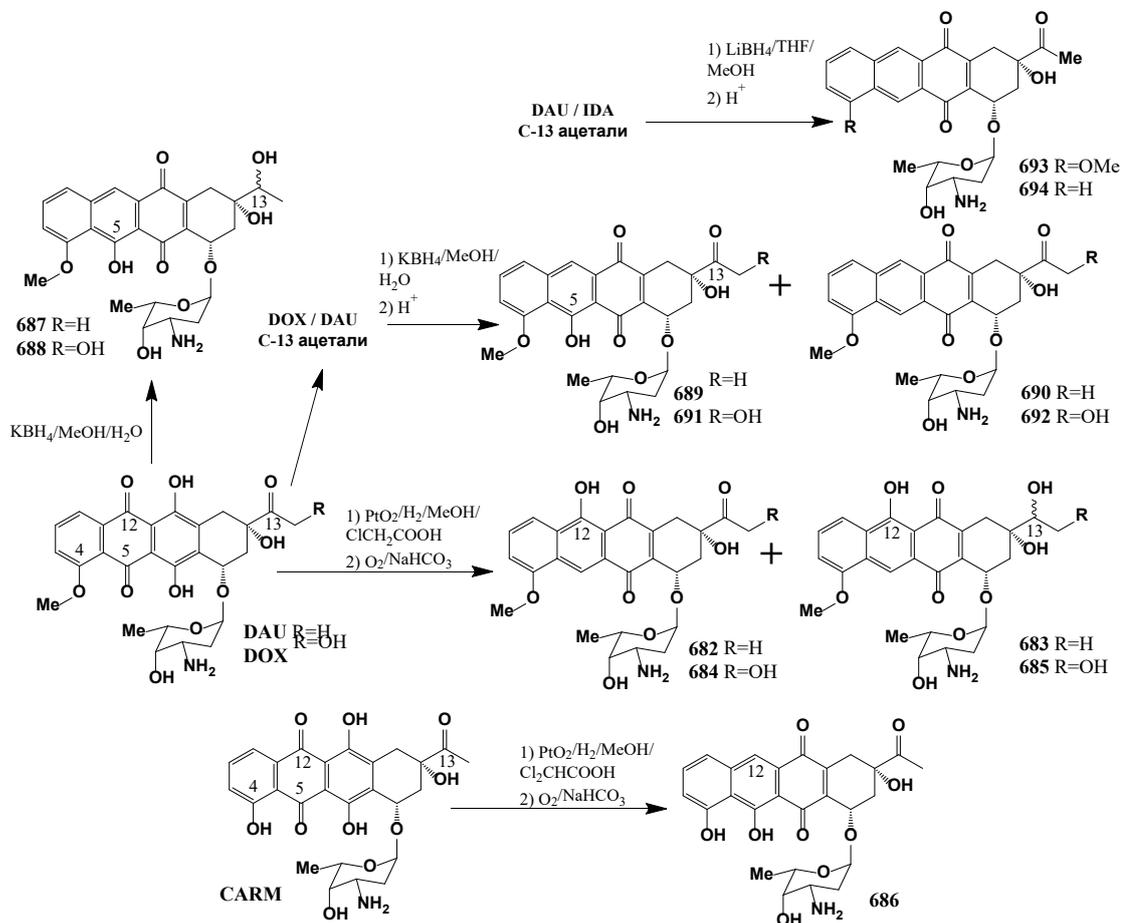


Рисунок 40 Реакции восстановления антрациклинов ведущие к изменениям в С-кольце

Возможным вариантом модификации хинонового С-кольца являются и реакции его дезоксигенирования (Рис.40). Антрахиноновый хромофор охотно вступает в реакции гидрирования, например на палладии [298] или оксиде платины, однако, такие реакции, как правило, ведут к утрате гликозидной связи. Но, найдены некоторые условия, в которых хиноновое кольцо подвергается восстановлению при сохранении гликозидной связи с аминсахаром. Гидрирование даунорубицина над PtO_2 в среде метанола и монохлоруксусной

кислоты с последующим реокислением на воздухе при действии $O_2/NaHCO_3$ дает смесь продуктов **682** и **683** с измененным хромофором [299] [298], причем хинон С-кольцо восстанавливается до фенола. Аналогичные продукты **684** и **685** получаются и при гидрировании доксорубицина. Карминомицин при С-4 атоме имеет гидроксильную фенольную группу в отличие от даунорубицина с метокси-группой при С-4 атоме, и при гидрировании-окислении в сходных условиях В-хиноновое кольцо карминомицина восстанавливается до фенола **686**, но с спиртовой группой в С-5 положении (DAU и DOX дают С-12 фенол) [300] [298]. Аналогичные С-5 фенолы **687** и **688** из DAU и DOX могут быть получены с высоким выходом действием KBH_4 в метанол-содержащем водном буфере (рН 7). При этом в **687** и **688** происходит восстановление и С-13 кетогруппы. Для сохранения С-13 кето-группы в неизменном состоянии для этой реакции используется ацеталь DAU по С-13 атому, после снятия защиты с С-13 кетона восстановленного ацетала получают 12-дезоксодаунорубицин **689** и, как минорный продукт, 5,12-бисдезоксодаунорубицин **690**. Аналогичные продукты **691** и **692** восстановления получают и при реакции диметилацетала 14-метил-доксорубицина с KBH_4 в среде водного метанола. Желтое 5,12-бисдезоксипроизводное даунорубицина **693** при восстановлении KBH_4 образуется как минорный продукт, однако при использовании в качестве восстанавливающего агента $LiBH_4$ в среде ТГФ/метанол реакция идет по пути образования **693** как основного продукта. Аналогично, при использовании предварительно защищенного идарубицина вместо DAU при восстановлении $LiBH_4$ в среде ТГФ/метанол происходит образование 5,12-Бисдезоксипроизводного аналога идарубицина **694**. Такие моно- и бисдезоксипроизводные **682-694** антрациклинов хотя и не несут антрахиноновой группы, тем не менее показывают высокую противоопухолевую активность на модели мышинной опухоли P388 *in vivo* [300], линиях L1210 лимфоидной лейкемии и B16 меланомы на мышах *in vivo* [298]. Однако 5-дезоксидоксорубицин **684** не показывает активности на линии P388 устойчивой к доксорубину, при этом в долгосрочном действии обладает повышенной кардиотоксичностью.

1.11 Модификации по кольцу D

Модификации по кольцу D в основном подразумевают использование синтетически заранее полученных хромофоров, что объясняется малодоступностью для химической трансформации бензольного кольца в мягких условиях. Исключения составляют методы химической трансформации, направленные на снятие метильной группы в кольце D или полному избавлению от метоксигруппы. Гетероантрациклины (Рис.41), аналоги антрациклинов с заменой атомов углерода в агликоне на гетероатомы или с заменой углеродных циклов на гетероциклы, были получены конденсацией синтетических агликонов и аминоксахара, как правило даунозамина. В частности, описан [301] синтез гетероантрациклинов **695** и **696** с заменой всего D-кольца на тиофен. Соединения **695** и **696** отличаются возможным способом сопряжения циклов

тиофена и остального агликона. Активность **695** и **696** сравнима с DAU и DOX на клеточной линии L1210. Схожим образом, из синтетического аликона и аминсахара, были синтезированы азот-содержащие гетероантрациклины с заменой D-кольца на пиридин **697** [302], пиразол **698** [303] и индол **699** [304] [305]. Гетероантрациклины **697-699** имеют схожую активность с DOX на клеточной линии L1210.

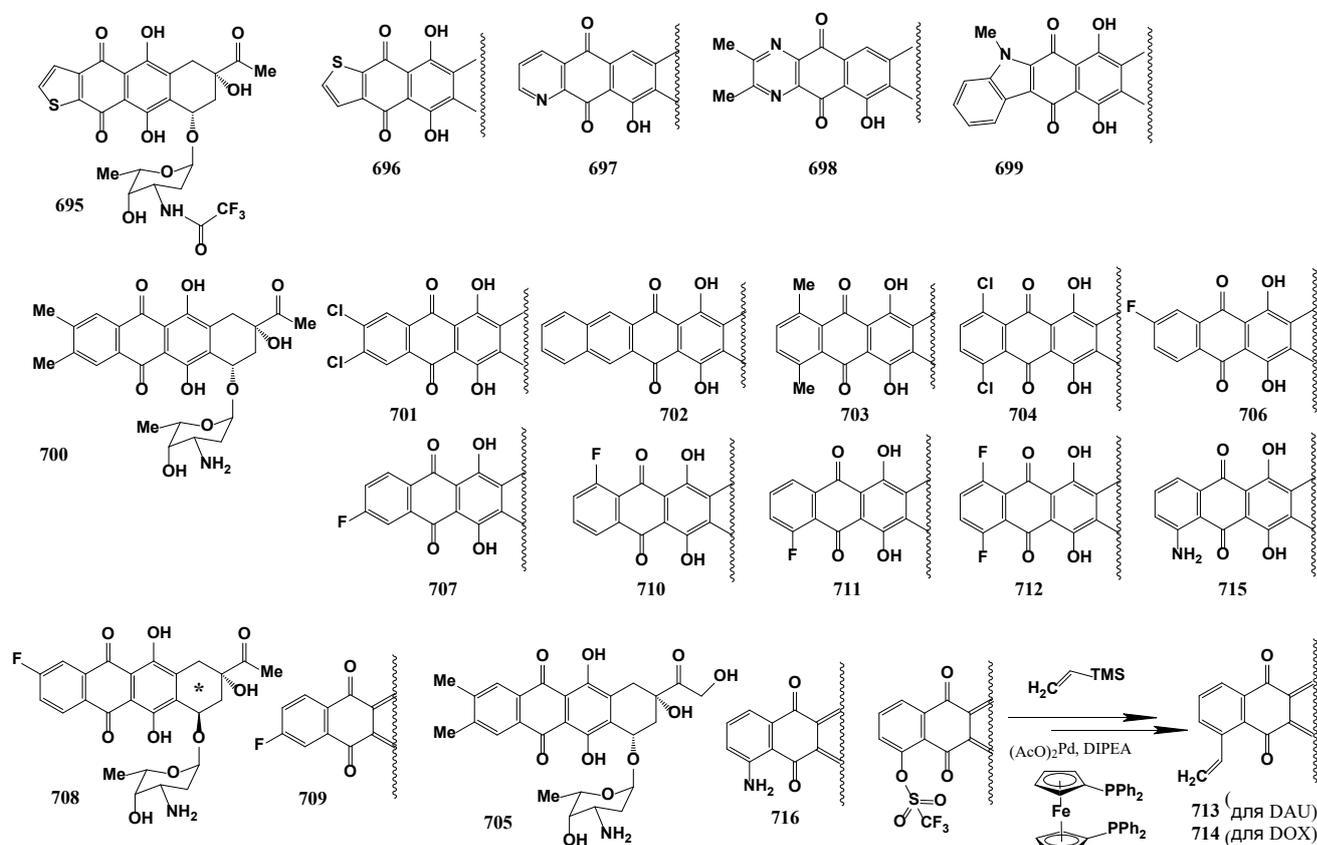


Рисунок 41 Синтетические антрациклины с модифицированным D-кольцом

Замещенные по D-кольцу антрациклины были получены еще на старте [306] изучения химии антрациклинов для установления зависимостей структура-активность. Незадолго до этого было найдено, что 4-деметокси даунорубицин, сейчас также известный как идарубицин, требует значительно меньшую дозу для достижения той же биологической активности. Было синтезировано несколько новых аналогов IDA, а именно 2-,3-диметил- **700**, 2-,3-дихлор- **701**, с введением дополнительного бензольного кольца **702**, 1-,4-диметил **703**, 1-,4-дихлор- **704** замещенные IDA, а также 2-,3-диметил-4-деметокси-доксорубицин **705**. Оказалось, что ни один из них не превосходит IDA в тестах *in vivo* на привитых опухолях L1210, P388 и Gross лейкемии. Причем лучше всего себя проявил диметил антрациклин **700**, проявляя ту же активность что и DAU в меньших дозах, а введение хлора в антрациклины **701**, **704** или дополнительного бензольного кольца снижало биологическую активность. При пероральном введении 2-,3-диметил антрациклин **700** также показал себя лучше DAU, хотя и не достигал активности IDA. Позже [307] был описан синтез 2-фтор- **706**, и 3-фтор- **707** замещенных идарубицинов из

синтетических агликонов. Полученные вещества обладали малой растворимостью в воде в форме гидрохлоридов и предлагались к использованию для установления предпочтительных сайтов связывания антрациклинов с ДНК методами ^{19}F -ЯМР. В чистом виде получены также их эписмеры по С-7 атому **708** и **709**. Еще три фторпроизводных DAU **710-712** по D-кольцу были получены из синтетических хромофоров и даунозамина [308]. 1-Фтор- **710** и 4-фтор- **711** аналоги DAU обладают похожей эффективностью что и DAU, но в 5-8 раз меньших дозах *in vivo* на линии P388, а 1-,4-дифтор- аналог DAU **712** менее активен.

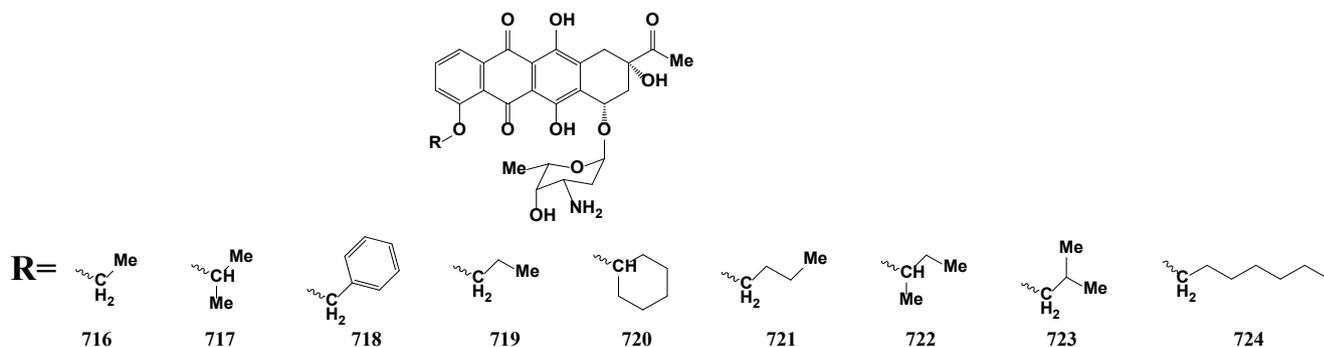


Рисунок 42 Аналоги даунорубицина с заменой метоксигруппы D-кольца на другие алкокси-группы

Часть модификаций по D-кольцу антрациклинов направлена на замену 4-метокси группы в DAU или DOX на какую-либо другую группу (Рис.42). Практическое значение имеет синтез IDA из DAU через 4-деметоксилирование чистого агликона DAU и конъюгацию с даунозамином. Описан [309] способ модификации антрациклинов с заменой метоксигруппы в кольце на углеводородный радикал. Этим способом были получены 4-винильные аналоги DAU **713** и DOX **714**. Из подготовленного синтетически агликона получены аминоканалог DAU **715** и DOX **716** с заменой 4-метоксигруппы на 4-аминогруппу [310]. Аминоканалог DAU **715** высокоактивное вещество, *in vitro* на культуре клеток рака толстой кишки LoVo он в 71 раз более активен чем DAU, а на культуре с устойчивостью к антрациклинам LoVo/DX в 19 раз более активен. На линии Gross лейкемии *in vivo* аминоканалог DAU **715** активен примерно в 10 раз меньших дозах при той же эффективности. Другие аналоги DAU вместо 4-метоксигруппы несут другие 4-алкокси заместители. Из агликона DAU через 4-O-деметиляцию и замену метильной группы на другой радикал были получены синтетические агликоны из которых далее получали с этил- **716**, изопропил- **717**, бензил- **718**, *n*-пропил- **719**, циклогексил- **720**, *n*-бутил- **721**, *в*-бутил- **722** и изобутил- **723** 4-O-алкил аналоги DAU [311]. 4-O-Алкил аналоги DAU **716-723** в тестах *in vivo* не достигали эффективности DAU и требовали больших доз для проявления активности. С особой целью был получен 4-O-(6-йод-гексил) аналог DAU **724** [312] для образования конъюгатов с олигонуклеотидами которые в дальнейшем использовались для образования триплекс-комплексов олигонуклеотид/ДНК и высокоизбирательного подавления клеток с амплификацией гена *c-myc*.

Стеффимицин В (**725**) представитель другой подгруппы антрациклиновых антибиотиков имеющий только едва детектируемую активность против лейкемии P3888. Неожиданной находкой стала его повышенная способность к реакциям электрофильного замещения по 3-положению D-кольца [313]. При реакции **725** с формальдегидом образуется 3-гидроксиметильное производное стеффимицина **726**, его окисление пиридин хлорохроматом дает соответствующий альдегид **727** (Рис. 43). Из последнего реакцией с аминами получены основания Шиффа **728-730**. Также получены производные стеффимицина по реакции Манниха с формальдегидом и одним из вторичных аминов, что привело к продуктам Манниха **731-735**. Далее получены галоген-аналоги стеффимицина с 3-фтор **736**, 3-хлор **737**, 3-бром **738** и 3-йод **739** заместителями. Из них лучшую, но все же умеренную, активность показали продукты Манниха **731-735**, приводя к ILS 130-160% в меньших дозах по сравнению с исходным антибиотиком.

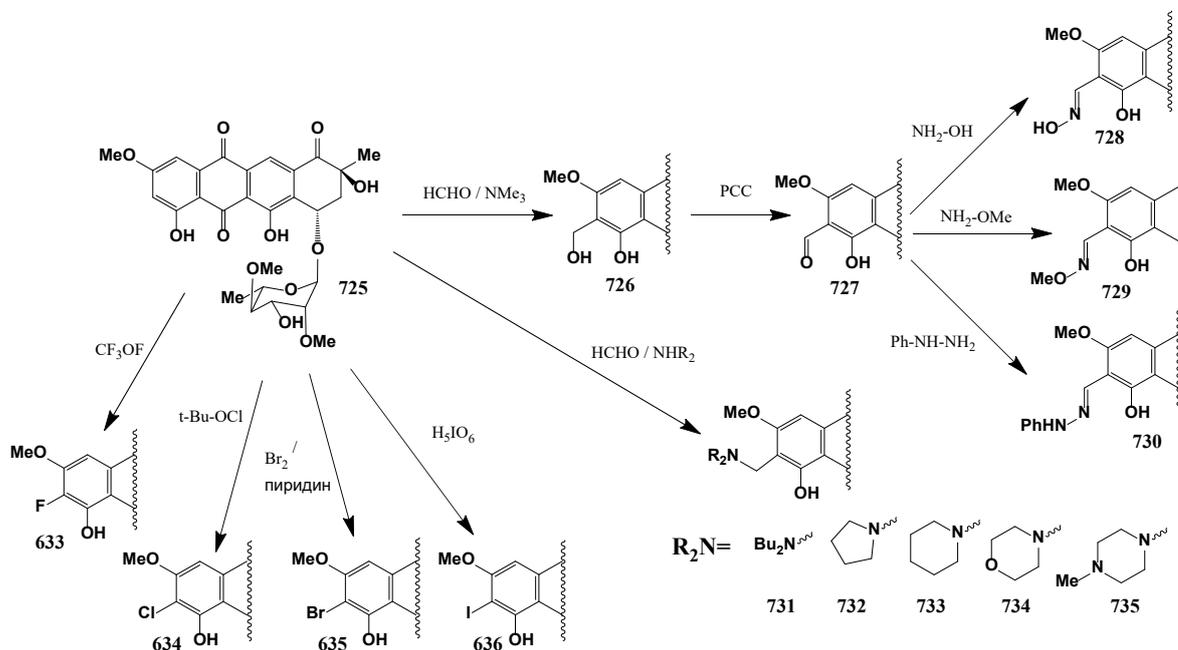


Рисунок 43 Реакции по D-кольцу стеффимицина В и арранциамицина

2. Результаты и обсуждение

Исходя из приведенного литературного обзора видно, что в модификациях антрациклиновых антибиотиков по аминогруппе аминсахара прослеживается общая закономерность. А именно, реакции, сопровождающиеся утратой амина как функциональной группы через конверсию ее в амиды, уретаны и мочевины как правило ведут к исходно неактивным соединениям, которые, однако, могут проявлять активность если выступают в качестве пролекарств и способны к распаду до исходного антрациклина в организме. Напротив, *N*-алкилирование аминсахара обычно не ведет к резкому падению активности, но может вести к появлению некоторых потенциально полезных свойств: повышение проникновения антрациклина через мембрану клетки, обход действия MDR-транспортёров, снижение степени угнетения энергетического метаболизма и образования АФК, возможность снижения кардиотоксического действия. Важными поворотными точками в истории химии антрациклиновых антибиотиков стали работы, в которых обнаружено что существует возможность разделения целевой противоопухолевой активности от побочных эффектов. Перед этим считалось, что побочные эффекты антрациклинов являются непосредственным продолжением их активности, связанной с подавлением синтеза нуклеиновых кислот в клетке и образованием АФК. Затем, как раз на примере первых *N*-алкильных производных антрациклинов была показана возможность разделения кардиотоксических эффектов от цитотоксичности [250]. Позже было показано, что можно отделить в антрациклинах и другие виды активностей такие как способность выступать субстратами MDR-насосов, способность ингибировать топоизомеразы II α/β что ведет к разрывам ДНК или способность к повреждению хроматина.

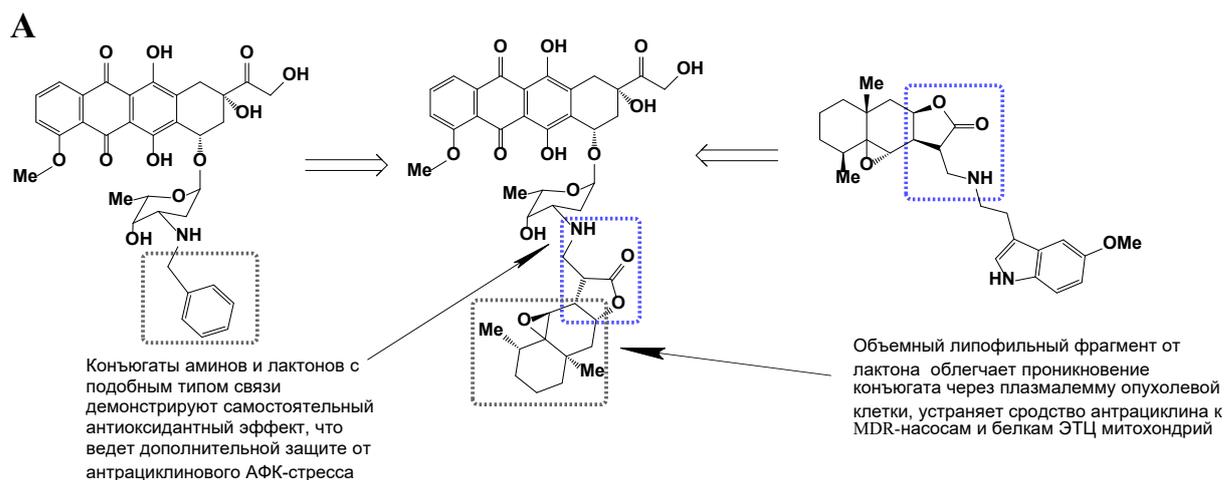


Рисунок 44 План строения *N*-алкильных конъюгатов лактонов и антрациклинов

Предшествующие исследователи получали *N*-алкильные производные действием галогеналканов или по реакции восстановительного аминирования при использовании комбинации альдегида и NaBCNH_3 . В настоящей работе рассматривается использование другого типа алкилирующих агентов для синтеза *N*-моноалкильных производных антрациклинов в виде

сесквитерпеновых лактонов (СЛ) способных к реакциям присоединения по Михаэлю (Рис.44). К такой реакции пригодны те СЛ, которые несут в своем составе экзометиленовую группу в α -положении лактонного цикла, что позволяет им выступать как акцепторы Михаэля. Такая структурная особенность часто встречается среди природных СЛ. Общий план работы состоит в синтезе конъюгатов *N*-алкильной природы из антрациклинов и СЛ, но концептуально он делится на три части соответствующих частях диссертации. Первая часть работы посвящена выделению из природных источников и созданию библиотеки лактонов. СЛ не являются коммерчески доступными реагентами, поэтому значительная часть работы состоит в получении исходных СЛ, которые затем могут быть использованы для синтеза опираясь на описанные до этого случаи выделения лактонов. Вторая часть состоит в расширении имеющейся библиотеки СЛ путем химической модификации имеющихся лактонов. Поскольку из доступных растительных источников можно получить только ограниченное количество СЛ в препаративных масштабах, то количество и химическое разнообразие использованных строительных блоков в реакции аза-Михаэля можно расширить через химическую модификацию выделенных до этого СЛ. Третья часть работы посвящена непосредственно синтезу конъюгатов антрациклинов с СЛ. Ранее было описано наблюдение, что конъюгаты Михаэля СЛ и аминов часто *in vitro* проявляют антиоксидантные свойства в то время как исходные реагенты, исходный лактон и амин, такими свойствами не обладают [314]. Можно предположить, что введение подобного типа группы в виде сшивки “лактон-амин” в молекулу антрациклина также будет снижать поражающее действие АФК и от таких производных можно ожидать меньшей АФК-индуцированной кардиотоксичности. Оставшаяся липофильная часть молекулы СЛ может имитировать *N*-бензильный остаток, который присутствует в тех *N*-алкильных производных антрациклинов, где известны случаи сниженной кардиотоксичности.

2.1 Часть I. Получение стартовых лактонов

Несмотря на то, что к настоящему моменту описано несколько тысяч выделенных из растений сесквитерпеновых лактонов [315] [316], многие из которых были проверены на ту или иную физиологическую активность, лишь небольшой их объем накапливается в количествах, достаточных для какого-либо практического использования. Большая же часть описанных лактонов содержится в растениях в очень незначительных концентрациях и в дальнейшем представляет больше теоретический интерес, поскольку для получения даже миллиграммовых количеств подчас требуется переработать десятки килограммов сухого растительного сырья. Другой подход заключается в полном органическом синтезе редких сесквитерпеновых лактонов вместо их выделения из природных источников. Задача осуществления синтеза сесквитерпеновых лактонов со сложными углеродными скелетами и обилием оптически активных центров неоднократно служила вызовом для химиков-органиков. Описанные в

литературе синтеза лактонов, как правило, отличаются многостадийностью и крайней трудоемкостью при малых итоговых выходах целевых продуктов. Лишь в отдельных случаях [317] [318] разработанные методы синтеза сесквитерпеновых лактонов могут иметь практическое значение для органической химии и использования их затем как основы для синтеза БАВ.

Вместо этих двух крайностей оптимальным решением для получения разнообразных соединений этого класса видится химическая модификация тех лактонов, которые накапливаются в растениях в значительных концентрациях и могут быть выделены в препаративных количествах. Поэтому мы опирались на те растительные источники с высоким содержанием СЛ в сухом сырье, которые либо доступны коммерчески (корни девясила высокого *Inula helenium* L., корни горькуши лопуховидной *Saussurea lappa* Decne. в сухом виде или в виде CO₂ сверхкритического экстракта), либо были выращены собственными силами (соцветия пижмы девичьей *Tanacetum parthenium* L., листья василька крупноголовчатого *Centaurea macrocephala* Muss.-Puschk. ex Willd. и другие).

2.1.1 Выделение лактонов из корней девясила

Корневища девясила высокого содержат два вещества из класса сесквитерпеновых лактонов в довольно больших количествах - алантолактон (**1**) и изоалантолактон (**2**) (Рис.2). Каждый содержится в концентрации порядка 2% от сухой массы корневищ. Это, учитывая коммерческую доступность и невысокую цену, делает корни девясила многообещающим кандидатом для выделения этих двух лактонов. Они могут использоваться для создания на их основе лекарственных препаратов как индивидуальные вещества, так и как субстрат для синтеза новых биологически активных веществ.

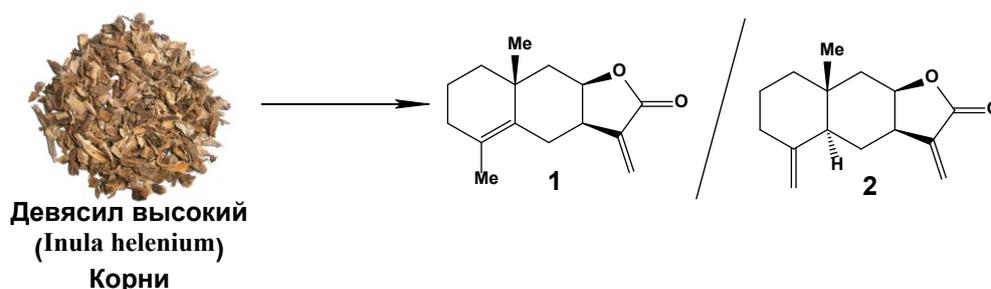


Рисунок 45 Выделенные лактоны из корней девясила

Однако, на практике у исследователей при попытке препаративного выделения индивидуальных лактонов девясила возникают значительные затруднения. Это связано в первую очередь с тем, что оба основных лактона **1** и **2** девясила имеют почти идентичные свойства, что сильно затрудняет их разделение. Обычно эти лактоны девясила будучи взаимными изомерами кристаллизуются только совместно из органических растворителей и их смесей, обладают практически идентичной подвижностью при разделении колоночной хроматографией на разных типах сорбентов, перегоняются в вакууме в виде смеси. Поэтому в ходе работы найдено

несколько непрямых методов препаративного выделения лактонов из корней девясила высокого. Задачу выделения индивидуальных лактонов девясила можно разбить на три этапа: 1) экстракция из корней девясила; 2) выделение из экстракта смеси алантолактона **1** и изоалантолактона **2** в виде обогащенной лактонной фракции; 3) непосредственно выделение из лактонной фракции сесквитерпеновых лактонов в виде индивидуальных соединений.

Для получения алантолактона и изоалантолактона нами были использованы корни девясила производства «Фитофарм». Корневища девясила высокого из этого источника не является рекордсменом по содержанию сесквитерпеновых лактонов в процентах от сухой массы, однако он практически не содержит других лактонов помимо аланто- и изоалантолактона, что облегчает их выделение. Корни девясила производства «Фитофарм» использовались без дополнительного измельчения, поскольку сильное измельчение значительно не повышает выход лактонов в экстракте, но создает затруднения при фильтрации с осадка. Для экстракции был использован хлороформ, как оптимальный для этой цели. Во-первых, в малополярных петролейном эфире или гексане алантолактон и изоалантолактон при комнатной температуре слабо растворимы, а в более полярных этилацетате или этаноле экстрагируется дополнительно также значительное количество балластных веществ. Во-вторых, хлороформ один из наиболее дешевых для лабораторного применения растворителей.

Перед непосредственным разделением алантолактона (**1**) и изоалантолактона (**2**) стояла задача получить лактонную фракцию из экстракта корней девясила, которая не содержит других лактонов или содержит их в минимальном количестве. Этого можно достичь, например хроматографией цельного экстракта на силикагеле, однако полноценная предварительная хроматография занимает много времени и приводит к большому расходу сорбента и растворителей. Кроме того, в препаративном варианте такую очистку затрудняют два обстоятельства: эфирное мало в экстракте действует как полярный растворитель и ведет к ускоренному движению веществ по колонке, также часть веществ в экстракте при контакте с петролейным эфиром выпадает внутри колонки в твердом виде, что вынуждает вести элюирование сразу более полярными растворителями. Поэтому предложено следующее решение: сперва следует избавиться от летучего эфирного масла тщательным вакуумированием. Затем – от более полярных веществ путем предварительного фильтрования экстракта через слой силикагеля. Использование в качестве элюента чистого бензола позволяет отделить липофильные аланто- и изоалантолактон от сорбированных на силикагеле полярных примесей. Итоговая лактонная фракция экстракта корней девясила пригодна для получения индивидуальных лактонов без дополнительной очистки.

На основе известного из литературных источников [319] [320] способа хроматографического разделения лактонов девясила высокого был получен чистый

алантолактон. Данный метод основан на использовании для хроматографии колонки, наполненной силикагелем с импрегнированным нитратом серебра – сорбентом, позволяющим осуществлять разделение изомеров по положению двойной связи. Однако, он имеет ряд недостатков. А именно: для полного разделения требуется большое соотношение сорбент/вещество; сорбент не поддается регенерации и эффективно может использоваться только один раз, что ведет к большому расходу соли серебра. Как следствие, такой метод плохо поддается масштабированию для получения алантолактона и изоалантолактона в препаративных количествах. Описанный в литературе [321] [322] способ отделения алантолактона путем вакуумной перегонки при проверке нами признан нерабочим, так как не дает в итоге достаточно чистого вещества. К тому же при таком способе значительная часть лактонов теряется из-за осмоления при высокой температуре. Также не рабочим оказался и другой литературный способ [323] отделения алантолактона – перегонка с водяным паром. Хотя изначально алантолактон и изоалантолактон были описаны как горькие начала корня девясила, ни тот ни другой в чистом виде не обладают горьким вкусом. По-видимому, сильный горький вкус корню девясила придает летучее желтое эфирное масло.

На практике оказалось, что удобнее не использовать для разделения лактонов девясила хроматографию на силикагеле с импрегнированным нитратом серебра, а получать из экстракта по отдельности либо алантолактон, либо изоалантолактон. В зависимости от того какой из них требуется, следует использовать различные методики. Сравнение полученных выходов аланто- и изоалантолактона при использовании различных методик приведено в Таблице 2. Так, изоалантолактон в чистом может быть получен из лактонной фракции кристаллизацией из полярных растворителей. Из исследованных нами полярных растворителей лучшим показал себя 75% водный метанол. Для получения изоалантолактона без примеси алантолактона следует провести 4-5 кратную кристаллизацию, причем на последних кристаллизациях следует использовать соотношение растворитель/смесь лактонов равное 13,75/1. При меньших соотношениях растворитель/смесь лактонов требуется гораздо большее количество кристаллизаций. Такой способ не позволяет выделить весь имеющийся изоалантолактон, но он подходит в нескольких случаях: 1) потенциальном получении изоалантолактона в больших масштабах; 2) частичном избавлении от изоалантолактона из смеси перед выделением алантолактона; 3) конечной перекристаллизации для получения изоалантолактона в виде крупных кристаллов. Для выделения чистого изоалантолактона возможна также многократная кристаллизация из абсолютного этанола [324] или ацетонитрила, но она не имеет практического преимущества. Описанные ранее способы получения алантолактонов кристаллизацией из смеси бензол:петролейный эфир [325] или из петролейного эфира [326] не работают и не подходят для выделения отдельных лактонов девясила в чистом виде.

Кристаллизация изоалантолактона из водного метанола является простым способом его получения, однако такой метод требует большого количества времени (сутки на каждую кристаллизацию) и затрат растворителей. Два более быстрых способа получения чистого изоалантолактона – его выделение через образование промежуточных аминоконъюгатов (3, 4) (Рис.46). Нами было проведено выделение изоалантолактона из лактонной фракции через образование промежуточного аддукта по типу реакции аза-Михаэля с двумя доступными аминами — диметиламином (3) и морфолином (4). Оптимальным растворителем для кристаллизации образующихся аддуктов оказался метанол, поскольку ранее нами было замечено, что конъюгаты сесквитерпеновых лактонов с аминами как правило обладают низкой растворимостью в метаноле и выпадают в осадок, в то время как исходные лактоны и амины хорошо растворимы. Разделение в этих двух методах основано на факте меньшей растворимости в спирте аддуктов изоалантолактона с диметиламином (3) или морфолином (4) чем аналогичных аддуктов алантолактона. Далее изоалантолактон (2) количественно регенерируется из откristаллизованного аддукта путем конверсии в четвертичную соль аммония через реакцию с метилйодидом и ее разложения в основной среде. Выход регенерированного лактона зависит от времени разложения образовавшейся четвертичной соли в основной среде. Он ощутимо снижается при перемешивании в течение суток, как рекомендуют в литературе [327], для полной конверсии требуется перемешивание с раствором Na_2CO_3 в течение нескольких дней. Не было обнаружено особой разницы в количестве кристаллизующихся аминоконъюгатов при использовании диметиламина и морфолина, но в последнем случае не развивалась со временем интенсивная темная окраска раствора.

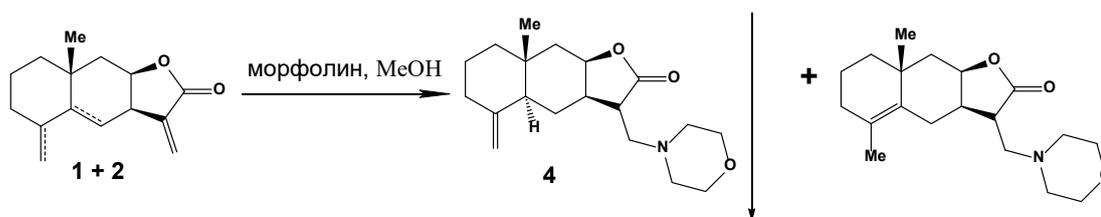


Рисунок 46 Принцип разделения лактонов девясила через селективное осаждение аминоконъюгатов

Селективное окисление изоалантолактона диоксидом селена [328] в более полярный лактон со спиртовой группой — удобный метод, позволяющий выделить из лактонной фракции практически весь имеющийся алантолактон (Рис.47). Процедуру проводят с использованием каталитических количеств диоксида селена с избытком *т*-бутил гидропероксида. В этих условиях изоалантолактон (2) быстро окисляется в другой сесквитерпеновый лактон изотелекин (5), в качестве примеси образуется его изомер по положению спиртовой группы — лактон телекин (6). Алантолактон как более неполярный компонент смеси легко отделяется хроматографически. В качестве соокислителя можно использовать и более доступную 30% перекись водорода. В этом

случае ее следует добавлять маленькими порциями, поскольку ее избыток ведет к образованию надселенистой кислоты из селенистой которая, аналогично надкислотам из карбоновых кислот, обладает эпоксилирующими свойствами. Последнее ведет к конверсии части алантолактона в эпоксиалантолактон (7), при большом избытке перекиси водорода происходит полное эпоксилирование алантолактона и затем и изотелекина (5) в эпокси-изотелекин (8). В литературе описан способ окисления изоалантолактона с применением диоксида селена и гидроперита в качестве соокислителя [329]. Однако, такой способ малопригоден в данном случае, поскольку в предлагаемой авторами системе растворителей происходит еще более значительное эпоксилирование всех продуктов реакции чем в случае с аккуратным прибавлением перекиси водорода в качестве соокислителя в паре с SeO_2 .

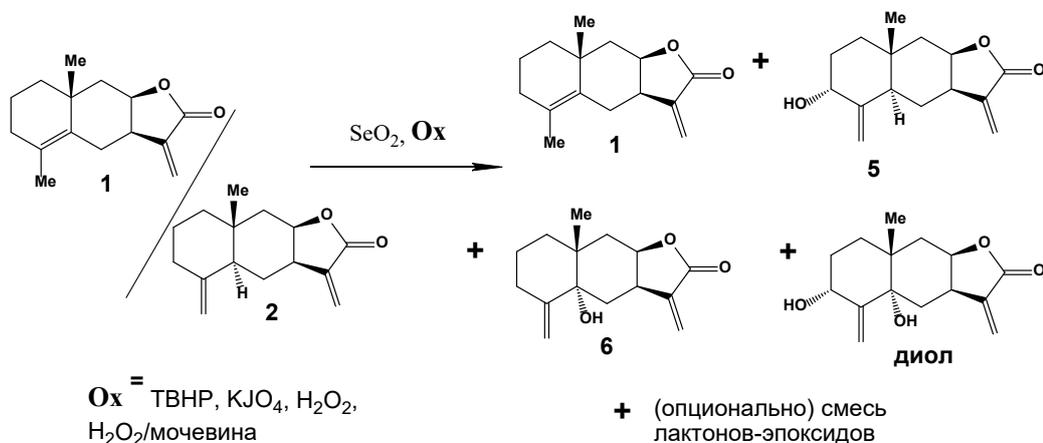


Рисунок 47 Схема разделения лактонов девясила через селективное окисление одного из них

Еще один предложенный нами вариант селективного удаления изоалантолактона из его смеси с алантолактоном состоит в его окислении при использовании диоксида селена совместно с нетрадиционным для него соокислителем периодатом натрия. Последний обычно используется как реагент для расщепления связи у виц-диолов, в то время как сам по себе он не обладает способностью к окислению одиночных спиртовых групп. Диоксид селена совместно с ним также реагирует с изоалантолактоном, давая смесь изотелекина (5) и телекина (6) как основных продуктов. Для проведения реакции таким способом следует использовать систему растворителей диоксан/вода, способную растворять как лактоны девясила, так и периодат калия. В данном случае реакция проходит медленнее чем в случае использования в качестве соокислителя перекиси водорода или т-бутил гидропероксида, что связано с низкой растворимостью периодата калия в реакционной среде. Так, спустя неделю реакции при комнатной температуре, происходит конверсия лишь половины (по ^1H -ЯМР) имеющегося изоалантолактона (2). Поэтому для полной конверсии изоалантолактона (2) в изотелекин (5) реакцию следует проводить при легком нагревании (45 °C). С другой стороны такой метод окисления более чистый и дает меньше побочных продуктов по сравнению с предыдущими окислителями.

Таблица 1 Сравнение выходов лактонов девясила в зависимости от метода

Метод	Выход лактонов (% от сухой массы корней)	
	Алантолактон	Изоалантолактон
А. Кристаллизация из водного метанола	-	0,77
Б. Хроматография на силикагеле с импрегнированным нитратом серебра	1,66	-
В. Кристаллизация аддуктов с диметиламином	-	1,31
Г. Кристаллизация аддуктов с морфолином	-	1,38
Д. Окисление смеси лактонов диоксидом селена и перекисью водорода	1,13	-
Е. Окисление смеси лактонов диоксидом селена и т-бутил гидропероксидом	1,70	-
Ж. Окисление смеси лактонов диоксидом селена и периодатом калия	1,71	-

2.1.2 Выделение лактонов из корней костуса

Сесквитерпеновые лактоны дегидрокостус-лактон (9) и костунолид (10) довольно распространённый метаболит растений по сравнению с другими сесквитерпеновыми лактонами. Однако, часто они либо содержатся в растениях в очень небольших концентрациях, либо само растительное сырьё малодоступно для препаративного получения этих лактонов по причине эндемичности произрастания или ввиду малой массы и редкости самих растений. Из относительно доступного сырья для выделения костунолида (10) и дегидрокостус-лактона(9) в препаративных масштабах стоит выделить листья лавра (*Laurus nobilis L.*) [330] [331], кору магнолии (*Magnolia grandiflora L.*) [332] и корни костуса (горькуша лопуховидная, *Saussurea lappa (Decne.) C.B. Clarke*). Последний использовался в данной работе.

Вначале, мелкомасштабная экстракция бензолом из 100 г навесок корней костуса двух разных производителей была проведена для выяснения пригодности их использования для выделения костунолида (10) и дегидрокостус-лактона (9). Данные ЯМР и сравнительной ТСХ показали присутствие в обоих образцах требуемых сесквитерпеновых лактонов. Колоночная хроматография экстрактов на силикагеле дала выходы фракции содержащей смесь костунолида (10) и дегидрокостус-лактона (9) с выходами 3.22% и 1.99% от сухой массы. Эти СЛ в виде индивидуальных веществ были выделены очисткой на силикагеле импрегнированным AgNO_3 , другие методы очистки оказались не столь эффективны. Сесквитерпеновые лактоны сантамарин (11) и рейнозин (12) были получены из выделенного костунолида (10) аналогично известной

методике [332] через эпексидирование *m*-CPBA с самопроизвольной циклизацией очищенного моно-эпоксикустонолида.

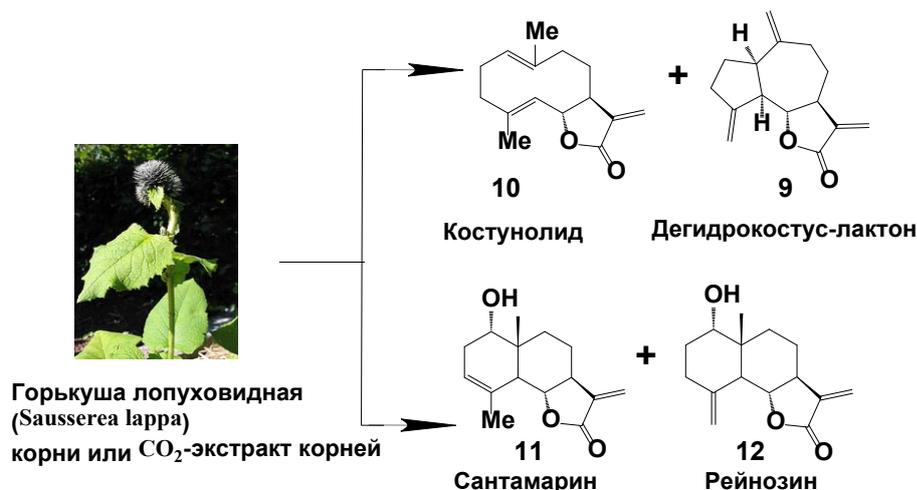


Рисунок 48 Строение лактонов выделенных из корней костуса

Для препаративного выделения СЛ костуса был выбран второй источник с содержанием лактонной фракции 1.99%, что связано с большей доступностью сырья при сопоставимых концентрациях СЛ. Для этого осуществлена экстракция 2 кг измельченных корней костуса хлороформом. Ранее [333] нами был подобран удобный способ препаративного отделения неполярной фракции лактонов девясила **1** и **2** включающий этап фильтрации на сухой колонке (dry column vacuum chromatography) с элюированием чистым бензолом. Аналогично, основные неполярные лактоны костуса **9** и **10** отделяли фильтрацией на сухой колонке через элюирование бензолом, последующее элюирование ацетоном дает фракцию с более полярными лактонами костуса рейнозином (**12**) и сантамаринном (**11**). И бензольная и ацетоновая части дополнительно очищались путем предварительной хроматографии на силикагеле для дальнейшего разделения на колонке с импрегнированным AgNO₃. Довольно неожиданным было получить в результате предварительной хроматографии бензольной фракции костуса чистого дегидрокостус лактона (**9**) вместо смеси **9** с **10**, причем дальнейшее элюирование дало смесь известных лактонов **11** и **12**. По-видимому, длительное, в течение более недели, нахождение на колонке силикагеля костунолида **10** ведет к возможности его реакции с медленно диффундирующим кислородом воздуха по типу псевдо [4+2] циклоприсоединения с последующим распадом до лактонов **11** и **12**. Как видно, образование лактонов **11** и **12** из костунолида **10** может происходить даже при полном отсутствии эпоксилирующих агентов, требуется лишь длительное нахождение в смеси с силикагелем, возможно аналогичный процесс конверсии костунолида **10** при действии слабых кислот (полифенолы, карбоновые кислоты) происходит и самих корнях костуса. Ввиду длительности процесса сложно рекомендовать его как метод получения чистого дегидрокостус-лактона (**9**). На такой характер автоокисления гермакранового лактона костунолида (**10**)

кислородом воздуха через формирование эндоперекиси может указывать и более ранее наблюдение факта автоокисления соединения близкого к нему по строению – бициклогермакрена [334].

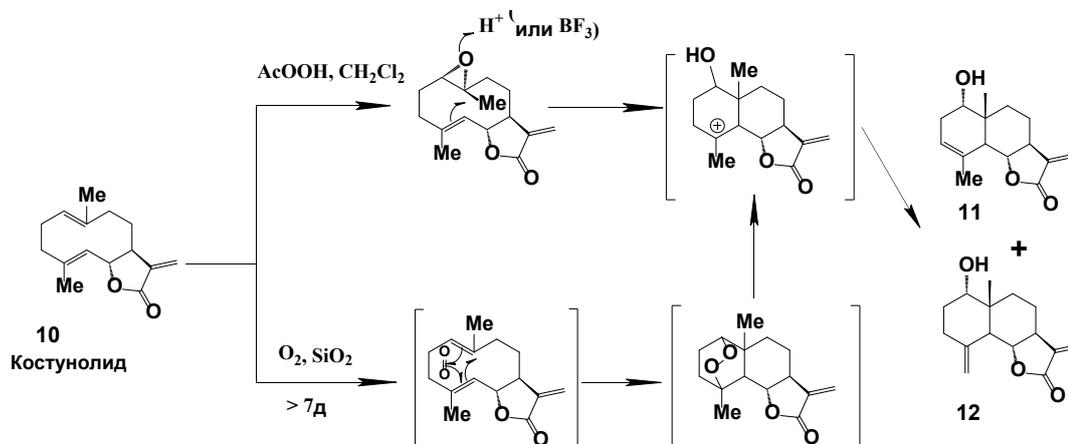


Рисунок 49 Предположительная схема процесса автоокисления костунолида на силикагеле

Смесь лактонов рейнозина (12) и сантамарина (11), как полученная очисткой ацетоновой части экстракта костуса, так и полученных от самопроизвольной конверсии костунолида, очищали до индивидуальных соединений колоночной хроматографией с импрегнированным AgNO₃. Стоит отметить, что при этом эти лактоны-спирты не являются настолько же стабильными в присутствии ионов серебра как лактоны более простого строения. Часть лактонов безвозвратно теряется при таком виде хроматографии из-за окисления до более полярных соединений. Но все же хроматография на колонке с AgNO₃ остается надежным воспроизводимым методом получения чистых лактонов с различающимся положением двойной связи. В качестве альтернативы для разделения сантамарина и рейнозина был опробован и другой сорбент – силикагель импрегнированный раствором CuCl. Аналогично солям одновалентного серебра, соли одновалентной меди также образуют π-комплексы с алкенами и также могут быть использованы для хроматографического разделения алкенов с разным положением двойной связи [335]. Оказалось, что разделение на колонке силикагеля с CuCl также является работоспособным методом для разделения сантамарина от рейнозина, однако при этом проявляется тот же недостаток что и для колонки с серебром – часть лактонов теряется из-за разложения. Несмотря на указание в литературе [336] [332] возможности более простого метода разделения рейнозина (12) от сантамарина (11) кристаллизацией из бензола или ХФ, попытки воспроизведения этих методов не привели к желаемому результату. Более щадящий способ препаративного разделения рейнозина (12) от сантамарина (11) предполагает хроматографию на силикагеле в градиенте гексан/ЭА [337], что позволяет в итоге разделить граммовые смеси этих лактонов без потерь, но никогда не проходит к полностью с первого раза и требует нескольких повторений процесса.

Тем не менее, для выделения в препаративном масштабе костунолида (**10**) был использован другой источник – сверхкритический CO₂-экстракт корней костуса. Данный коммерческий экстракт примерно на 75% состоял из триглицеридов и на 25% из смеси лактонов костуса, в основном **9** и **10**. В общем случае такую задачу выделения лактонной фракции можно решить с помощью предварительной колоночной хроматографии. Но разделение подобной смеси в масштабах нескольких сотен граммов делает хроматографию уже не таким удобным методом с задачей выделения лактонной фракции из-за очень больших расходов сорбента и растворителей. В процессе поиска метода, позволяющего полностью избавиться от жиров и примесей в экстракте, были испытаны разные подходы: перегонка с паром, фракционная перегонка в вакууме, удаление липидов через образование клатратов с мочевиной, кристаллизация при комнатной температуре или при -20 °С, -30°С чистого масла, или растворов в органических растворителях, осаждение триглицеридов через растворение смеси в кипящем ацетонитриле/10% воды, затем кипящий ацетонитрил/20% воды [338], реакцией лактон-содержащего экстракта с морфолином [339] с последующей кислотно-основной водной экстракцией аддуктов-аминов из лактонов и регенерацией лактонов через образование четвертичной соли аммония при реакции с метилйодидом и расщепление по Гофману, экстракцией в системах из несмешивающихся растворителей. Как правило эти методы не были рабочими по разным причинам. Однако найдено, что неполярные лактоны могут быть эффективно отделяли путем растворения в ацетонитриле и экстракцией в воронке жиров гексаном или петролевым эфиром [340]. Даже наименее полярные лактоны, как костунолид (**10**), в этой системе не переходят в гексановый слой. После этого ацетонитрильную часть использовали для выделения костунолида как описано в экспериментальной части.

Другой растительный источник, схожий с костусом по видам СЛ содержащихся в нем, оказался лавр доступный коммерчески в виде листьев лавра. Изначально лавр был использован как альтернативный источник костунолида (**10**) и дегидрокостус-лактона (**9**). В отличие от корней костуса содержание лактонов **9** и **10** в листьях лавра было меньше, но оставалось достаточным для препаративного получения этих лактонов. Другими выделенными лактонами листьев лавра оказались сантамарин и рейнозин также типичные и для костуса. Однако, в экстракте листьев лавра суммарное содержание лактонов **11** и **12** как правило примерно равно концентрации лактонов костунолида (**10**) и дегидрокостус-лактона (**9**), тогда как в костусе лактоны **11** и **12** являются только побочными. Поскольку затем был получен доступ к нескольким источникам костуса который проще по химическому составу и концентрация лактонов в котором выше, далее для препаративного выделения стартовых лактонов -костунолида и дегидрокостус лактона - использовали в основном его.

2.1.3 Выделение эстафиатина из тысячелистника благородного

Корни девясила и костуса использовались в работе для получения СЛ как сырье доступное коммерчески в килограммовых масштабах. Остальные растительные источники были получены самостоятельным культивированием растений или собраны из природной среды. Изначально работа по синтезу конъюгатов антрациклинов и СЛ состояла только в использовании для реакции лактонов из девясила, но затем было решено использовать для синтеза СЛ и из других источников чтобы расширить количество задействованных СЛ с разными типами углеродного скелета и функциональных групп. Первым растительным источником, который использовался нами для получения СЛ помимо лактонов девясила стал тысячелиственник благородный (*Achillea nobilis*) поскольку уже имелись запасы его сухой травы и из литературных источников известно, что может служить источником СЛ. С помощью экстракции и несколькократной очистки на колоночной хроматографии из побегов *A. nobilis* был выделен лактон эстафиатин (**13**) с гваяновым скелетом (Рис.3). Изначально он описан как метаболит растения *Artemisia mexicana* [341], но позже найден и в других растениях. Выход эстафиатина оказался невелик – всего 270 мг чистого вещества из 500 г сухого сырья. Этого оказалось достаточно для синтеза конъюгата с даунорубицином, но поэтому далее *A. nobilis* не использовался нами как источник лактонов. Низкий выход лактона во многом связан и с тем, что для экстракции была использована надземная часть сухого растения целиком, где почти вся масса представлена деревянистыми стеблями и ветвями бедными экстрактивными веществами. Кроме того, использованная трава *A. nobilis* не была свежей и хранилась до этого несколько десятилетий. Хотя *A. nobilis* довольно распространенное растение в средней полосе, оно не образует зарослей и масса отдельных растений невелика. А попытки культивирования не привели к успеху поскольку в собранной ранее траве семена не дозревали при сушке и не имели всхожести. Другие СЛ *A. nobilis* помимо эстафиатина (**13**), для которых в литературе указана возможность выделения такие как анобин, ханфиллин [342], а также минорные СЛ анолид [343], канин и хризартемин А [344] нами не были обнаружены. Это опять же может быть связано с слишком долгим периодом хранения сырья.

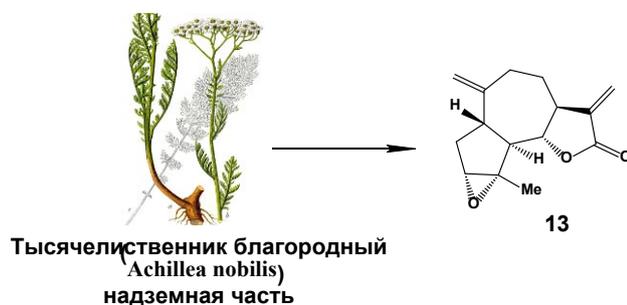


Рисунок 50 Лактон эстафиатин полученный из A.nobilis

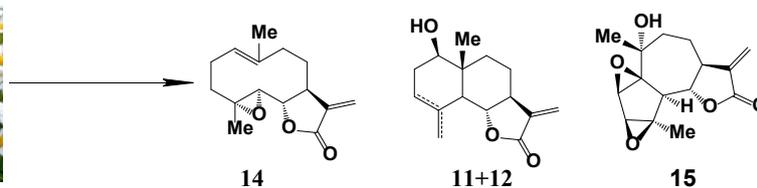
2.1.4 Выделение лактонов соцветий пижмы девичьей

Среди растений, которые легко поддаются культивированию относительно высокое содержание СЛ как известно наблюдается в пижме девичьей (*Tanacetum parthenium*, ранее также

известной как *Chrysanthemum parthenium* или *Pyrethrum parthenium*). Основным терпеновым метаболитом пижмы девичьей является лактон с гермакрановым скелетом партенолид (14). Партенолид (14) содержится в тех или иных количествах во всех частях растения, однако наибольшая его концентрация наблюдается в цветочных корзинках в период цветения [345] [346] по сравнению с листьями и стеблями, где она составляет около 1 % от сухой массы. Поэтому в качестве сырья для выделения лактона партенолида (14) были использованы только цветочные корзинки (соцветия) *T. parthenium*. Соцветия могут быть собраны по несколько раз за один сезон, примерно с периодичностью две недели-месяц. Сама пижма девичья хорошо поддается выращиванию из семян, как через рассаду, так и высеванием прямо в грунт в начале мая, вегетативное размножение нецелесообразно. Хотя формально пижма девичья является многолетником, значительная часть кустов вымерзает зимой и для продолжения культивирования в формате многолетней культуры требовалось подсаживание весной новых растений.



Пижма девичья
(*Tanacetum parthenium*),
соцветия



Партенолид

Рисунок 51 Лактоны выделенные из соцветий пижмы девичьей

Обычный обобщенный метод выделения СЛ из растительного сырья предполагает обработку экстракта смесью спирта и воды, что должно осаждать липофильные вещества [347]. Вода при этом часто заменяется на раствор ацетата свинца, который эффективно осаждает из раствора органические кислоты и фенолы (часто выступающих пигментами в составе экстракта). Часть лактонов слишком липофильной природы может быть утеряна при таком методе из-за большой концентрации воды. Для этого на основе известных методик нами был найден оптимальный способ получения лактонной фракции. Он состоит в следующем: высушенные измельченные части растения экстрагировали хлороформом, упаривали, растворяли в горячем метаноле и небольшими порциями при взбалтывании добавляли насыщенный раствор ацетата свинца (20% по объему), оставляли остывать в течение ночи. Жидкую часть декантировали с осадка флавоноидов, пигментов, кислот и полифенольных соединений, промывали петролейным эфиром от высоколипофильных примесей, отгоняли метанол из водно-метанольной части при пониженном давлении, разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом. Из обогащенной лактонной фракции индивидуальные лактоны выделяли препаративной колоночной хроматографией. Таким способом из соцветий пижмы девичьей был выделен гермакрановый СЛ

партенолид (**14**) с выходом 0,78%. Близкие выходы лактона получались при повторном выделении. При этом кроме партенолида из соцветий *T. parthenium* были выделены несколько более полярных СЛ. Среди них были идентифицированы артеканин (**15**), который был известен как метаболит *T. parthenium* до этого [346], а также сантамарин (**11**) и рейнозин (**12**). Тем не менее для синтеза конъюгатов с даунорубицином использовался только партенолид (**14**), а конъюгаты с лактонами **11** и **12** были получены до этого при выделении **11** и **12** из прошлого источника. Также предпринимались попытки выделить партенолид (**14**) из пижмы обыкновенной (*T. vulgare*), опираясь на случаи его обнаружения описанных в нескольких источниках. Однако была обнаружена только сложная смесь других сесквитерпеновых лактонов, причем никакой из которых не накапливается в достаточных концентрациях.

2.1.5 Выделение книсицина и родственных лактонов

Доступным источником другого лактона с гермакрановым скелетом может служить кникус благословенный (*Cnicus benedictus*, ранее *Carduus benedictus*, *Centaurea benedicta*), также известный кникус/чертополох бенедектинский или волчец кудрявый. Кникус в надземной части накапливает в значительных количествах СК названный книсицином, который является горьким началом кникуса и ответственен за интенсивный горький вкус зеленой части. Книсицин (**16**) изначально был выделен из цветущих верхушек кникуса [348], но позже обнаружен как горькое начало и в других растениях сем. Asteracea [349]. В лечебных целях трава кникуса широко использовалась в Средневековье и Новое время. В настоящее время кникус не используется широко и малодоступен как готовое сырье в больших количествах. Поэтому нами предприняты попытки выращивания его из семян. Кникус хорошо показал себя при выращивании через рассаду посевом в конце марта-апреле, но был чувствителен к составу почвы и не переносил застоя воды поэтому в таком способе грунт для рассады следует разбавлять песком. Затем, после того как был накоплен запас семян, кникус выращивали посевом в открытый грунт в мае и выращивали как однолетник. Для дальнейшей экстракции собирали только листья кникуса во время цветения. При аккуратном отделении их от стеблей можно в течение одного сезона провести сбор несколько раз и одновременно получить вызревшие семена.

В литературе описано выделение чистого СЛ книсицина (**16**) прямой хроматографией экстракта кникуса и очисткой рехроматографией с последующей кристаллизацией [350]. Нами был использован метод выделения лактонной фракции с осаждением части балластных веществ ацетатом свинца. Стоит отметить, что книсицин нерастворим в чистом хлороформе, поэтому для экстракции следует применять его смесь с более полярным растворителем или чистый этилацетат. Выход книсицина (**16**) составил 1,14 % от массы сухих листьев. Из экстракта выращенного кникуса других СЛ помимо книсицина обнаружить не удалось несмотря на указание возможности выделения также СЛ салонитенолида (**17**) [351]. Таким образом книсицин может быть получен

сразу как чистый лактон и не требует сложной процедуры разделения как в случае изомерных лактонов девясила или костуса.

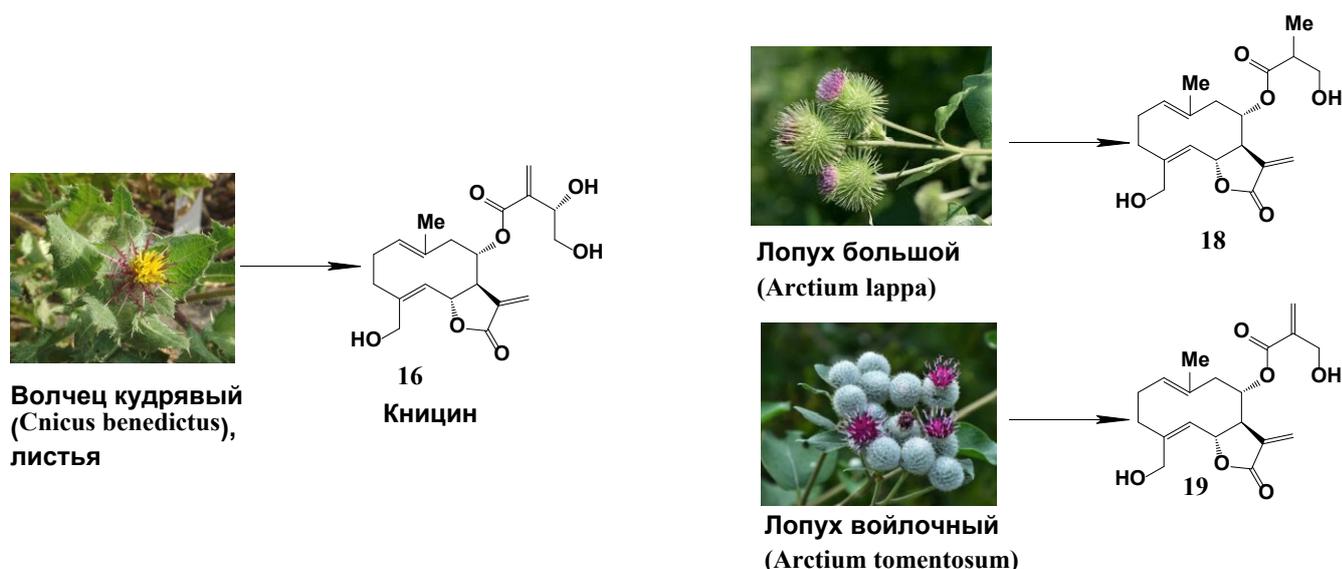


Рисунок 52 Гермакрановые лактоны выделенные из других источников

Среди представителей рода *Arctium* [352] более изучена химия лопуха большого (*A. lappa* L.), из которого выделены вещества из классов лигнанов, флавоноидов, полиацетиленов а также сесквитерпенов, в том числе и СЛ арктиопикрин (18) [353] и онопордопикрин (19) [354] [355]. Последний идентифицирован как токсичное начало листьев лопуха большого. Основываясь на литературных данных, была предпринята попытка повторения методики выделения СЛ из сока, отжатого из листьев лопуха большого. В итоге через хроматографическую очистку был выделен известный лактон арктиопикрин (18), но с небольшим выходом. По строению арктиопикрин (18) близок к кницину (16) и отличается от него только строением бокового ацильного заместителя. Про химию лопуха войлочного (*A. tomentosum* L.), хотя он и является распространенным и довольно массовым растением, известно меньше. О единственном случае выделения представителей СЛ из *A. tomentosum* сообщено в [356]. Принимая во внимание распространенность *A. tomentosum*, большую зеленую массу растения, легкость сбора, он может стать перспективным источником СЛ в случае достаточно высокой концентрации лактонов в сырье. Для выяснения его пригодности как источника лактонов в препаративных количествах нами были собраны листья *A. tomentosum* и произведено извлечение из экстракта из сока, отжатого из листьев. Вместо ожидаемого арктиопикрина (18) [356], из экстракта сока *A. tomentosum* был выделен другой СЛ как основной продукт с выходом 0,0504 % от массы свежих листьев или 0,0935% в расчете от сока листьев. В его ^1H -ЯМР спектре кроме характерных сигналов протонов при С-13 лактона в слабой области присутствовали дополнительные сигналы другого электрон-дефицитного экзометилена δ 6,33 и δ 5,76. Путем сравнения спектра ^1H -ЯМР с литературными данными [357] [358] [359] он был идентифицирован как онопордопикрин (19)

(Схема 1). Таким образом хотя лактон **19** ранее был выделен из других видов рода *Arctium*, из лопуха войлочного он выделен впервые. Лактон **19** является достаточно липофильным веществом и для проверки содержания СЛ в жмыхе была дополнительно проведена его экстракция и хроматография экстракта жмыха. Она показала, что практически все СЛ при отжиме переходят в сок и проведение любых дополнительных манипуляций со жмыхом нецелесообразно. Онопордопикрин (**19**) может быть выделен в граммовых количествах, что также позволяет использовать его как субстрат для синтеза лактонов-производных и конъюгатов с нуклеофилами. Минусом этого СЛ, по-видимому, является склонность к полимеризации при хранении при комнатной температуре в течение нескольких лет.

2.1.6 Выделение цинаропикрина и гроссгемина



Рисунок 53 Выделение прочих гваяновых лактонов

Гроссгемин (**20**) – это сесквитерпеновый лактон с гваяновым скелетом, который накапливается в листьях василька крупноголовчатого, он же гроссгемия крупноголовчатая (*Grosshemia macrocephala* Muss.-Puschk.). Это растение нами было предложено использовать в качестве растительного сырья для получения гроссгемина. В качестве его источников другие исследователи используют *Chartolepis intermedia*, культивируемый в Средней Азии [360], или листья артишока колючего. Хотя и некоторые подвиды артишока являются рекордсменами [361] по содержанию гваянолидов в том числе гроссгемина, василек крупноголовчатый как сырье для выделения **20** обладает рядом важных преимуществ: василек крупноголовчатый легко культивируется в условиях средней полосы, он является хорошо зимующим многолетником, василек крупноголовчатый имеет крупные не рассечённые листья, что позволяет собирать с него большую массу растительного материала за раз, его листья после сбора быстро отрастают, что позволяет осуществлять сбор много раз за сезон, содержание гроссгемина в его листьях по прежнему велико. Другой установленный компонент листьев гроссгемии – СЛ цинаропикрин (**21**) также относящийся к терпеноидам типа гваяна. Нами было проведено выращивание, сбор и экстракция листьев василька крупноголовчатого для выделения этих двух СЛ. От балластных веществ аналогично избавлялись через процедуру осаждения ацетатом свинца. Полученный обогащенный экстракт состоял в основном из этих двух лактонов. Гроссгемин (**1**) и цинаропикрин (**21**) обладают разной полярностью и хорошо отделяются друг от друга простой

хроматографией на силикагеле. Таким образом их получение в целом оказывается проще чем получение индивидуальных лактонов костуса. В итоге получены гваянолиды гроссгемин (**20**) с выходом 0.63% и цинаропикрин (**21**) с выходом 1.18%. Других лактонов в экстракте не обнаружено, все остальные соединения поглощающие в слабой области $^1\text{H-NMR}$ имели природу флавонов.

В ходе работы по получению дополнительного количества гроссгемина (**20**) для синтетических целей предприняты попытки выделения его из другого сырья. В траве артишока (*Cynara cardunculus*), как сообщали до этого [362] [361], содержится значительное количество тех же лактонов, что и в листьях гроссгемии. Однако, проведенная нами экстракция листьев артишока взятых из двух источников показала, что в них полностью отсутствовал нужный СЛ гроссгемин (**20**), но при этом присутствовал цинаропикрин (**21**). Поэтому как второй источник СЛ цинаропикрина были использованы сухие листья артишока. Выделение лактона **21** проводили простой экстракцией ХФ и разделением на колонке без дополнительной стадии осаждения примесей ацетатом свинца. Другими исследователями как альтернативные источники цинаропикрина (**21**) в препаративных количествах предложено рассматривать такие растения как горькуша иволистная произрастающая в Сибири [363] горькуша горькая [364], и трава левзеи сафлоровидной [365], хотя последняя чаще встречается в виде ее высушенных корней.

2.2 Часть II. Модификации сесквитерпеновых лактонов

2.2.1 Миграция двойных связей в сесквитерпеновых лактонах

Расширить количество синтетически доступных СЛ из лактонов девясила можно если в качестве использовать их изомеры по положению двойной связи, известные как минорные метаболиты, изоаллоалантолактон (**22**) [366] и аллоалантолактон (**23**). Согласно литературным данным, и тот и другой могут быть получены изомеризацией изоалантолактона (**2**) при действии сильных кислот или микроволнового излучения. Проверка их показала, что аллоалантолактон (**23**) действительно может быть получен из **2** избирательно и с практически количественным выходом. Изоаллоалантолактон (**22**) напротив труднодостижим. Поэтому имеет смысл найти способ конверсии изоалантолактона (**2**) в изомер **22** с наибольшим выходом и пригодный для получения **22** в граммовых масштабах.

Соотношение изомеров **22** и **23** в продуктах изомеризации изоалантолактона (**2**) сильно зависит от способа изомеризации. Трифторуксусная кислота в дихлорметане как известно ранее [320] использовалась для получения аллоалантолактона **23**. Повтор этого метода показал быструю конверсию изоалантолактона (**1**) (Табл. 1, №1), причем продукт реакции представлял собой практически чистый изомер и **23** с $\approx 4\%$ примесью изомера **22**. Хотя описанный ранее метод [320] конверсии давал выход 81%, повтор этого метода дал конверсию изоалантолактона с количественным выходом (при условии использовании чистого перекристаллизованного [333])

изоалантолактона), что подтверждено также неоднократной постановкой этого опыта в разных масштабах. Также, несмотря на указание там же нестабильности полученного аллоалантолактона (**23**) из-за возможности полимеризации, полученный нами продукт оставался неизменным даже спустя длительное время. Таким образом, использование этого метода подходит для избирательной конверсии изоалантолактона (**2**) в более термодинамически предпочтительный изомер **23**, который может использоваться для дальнейшего синтеза без дополнительной очистки. Избыточное количество трифторуксусной кислоты может быть уменьшено в два [367] или даже в четыре (Табл.1, №2) раза без потери степени конверсии, однако при этом и не увеличивается количество образования второго, менее термодинамически предпочтительного, изомера **22**.

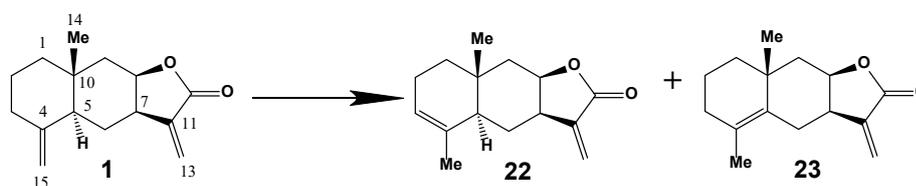


Таблица 2. Влияние условий реакции изомеризации изоалантолактона на выход соединения **2**

№	Условия реакции	Выход 22	Выход 23
1	F ₃ C-COOH, хлористый метилен	4 %	96 %
2	0,25x F ₃ C-COOH	0 %	99 %
3	2 сорбированный на SiO ₂ , MW, бытовая микроволновая печь, 6x1 мин	0 %	0 %
4 а)	так же, 10 мин без перерывов	-	следы
5 а)	SiO ₂ , MW, микроволновой инициатор, 10 мин	-	следы
6 а)	так же, предварительно просушенный SiO ₂	-	следы
7	“Florisil”, MW, микроволновой инициатор, 6x1 мин	0%	4%
8	“Silpearl” SiO ₂ , MW, микроволновой инициатор, 6x1 мин	22%	59%
9	MgO, MW	0%	0%
10	MgO, ДМФ, кипячение	0%	0%
11	HCOOH, CHCl ₃ , 2 сут	0%	12%
12	HCOOH, 7 сут	10%	75%
13	HCOOH, кипячение	41%	37%
14	Щавелевая кислота, эфир, 3 сут	0%	2%
15	H ₂ SO ₄ , ТГФ, 2 сут	3%	27%
16 б)	HClO ₄ , Ac ₂ O, 1 ч	7%	19%
17	HClO ₄ , CHCl ₃ , 3 сут	0%	12%
18	HClO ₄ , ТГФ, 3 сут	0%	14%
19	TsOH, CHCl ₃ /MeOH	0%	0%
20	BF ₃ ·Et ₂ O, 4x	23%	68%
21	Йод, бензол, кипячение, 16 ч	46%	48%
22	Йод 300 мг, бензол, кипячение, 16 ч	42%	39%
23	CuSO ₄ /аскорбат, MW	0%	0%

а) Осмоление; б) 2 -2%, остаток - R/S продукт ацилирования

Поскольку ввиду низкого выхода возможно, но не имеет смысла, выделять изомер **22** в реакциях **2** с трифторуксусной кислотой, были предприняты поиски других способов изомеризации изоалантолактона (**2**). В литературе сообщается [368] [369], что облучение микроволновым излучением веществ сорбированных на силикагеле ведет к миграции двойной связи в эндо-положение, причем в случае изоалантолактона (**2**) реакция идет с образованием изоалло-алантолактона (**22**) как единственного продукта. Несмотря на привлекательность этого простого в осуществлении метода изомеризации **2**, попытки его реализации не привели к заявленным результатам, выход целевого изомера **22** гораздо ниже ожидаемого или вовсе отсутствует, при этом изомер **22** не образуется как единственный продукт реакции. При облучении изоалантолактона **2** предварительно сорбированного на силикагеле в бытовой микроволновке с паузами между нагреванием для избежания излишнего нагрева (Табл.1, №3) не происходило вовсе никакой конверсии, как продукт выделялся без изменений исходный изоалантолактон **2**. Непрерывное микроволновое нагревание сорбированного изоалантолактона **2** в течение 10 мин (Табл.1, №4) вело к интенсивному термическому разложению лактона с образованием сложной смеси веществ ароматической природы и полярных продуктов. Хроматографическое фракционирование и ЯМР показали наличие лишь следов продукта изомеризации **23**. Замена источника микроволнового излучения на лабораторный микроволновой инициатор (Табл.1, №5) привела только к еще больше большому осмолению реакционной смеси, что скорее всего связано с меньшим соотношением силикагель/изоалантолактон и увеличением эффективности микроволнового нагрева. В процессе нагрева значительно возросло давление в виае, что вынуждало вести нагрев с паузами. Поскольку это скорее всего связано с поверхностной водой, сорбированной на силикагеле, был поставлен еще один аналогичный эксперимент с предварительно просушенным силикагелем (Табл.1, №6). К тому же вода при высокой температуре могла быть участником процесса осмоления изоалантолактона. Однако и в этом случае реакция с сухим силикагелем не привела к положительному результату. Другой возможный фактор, направляющий реакцию по пути осмоления вместо изомеризации – силикагель, сам по себе являющийся умеренной кислотой. Флорисил, смешанный оксид кремния и магния, сорбент близкий к силикагелю, но характеризующийся нейтральной рН поверхности. Аналогичный эксперимент с микроволновым облучением лактона **2**, сорбированного на флорисиле (Табл.1, №7) показал, что в этом случае не происходит осмоления лактона несмотря на интенсивный нагрев, хотя и степень конверсии крайне незначительна. Это говорит о том, что для прохождения реакции изомеризации все же требуется наличие кислотных групп на поверхности сорбента. Возможно, оригинальная методика [368] и может быть работоспособной, но для ее осуществления критичен сорт использованного силикагеля. Эта же реакция была проведена с еще несколькими разновидностями силикагеля, полученных из разных источников.

В итоге силикагель под маркой Silpearl показал приемлемые результаты, при этом выход изоаллоалантолактона **22** составил 22%, хотя основным продуктом изомеризации оставался все же **23** (Табл.1, №8). Поскольку известно о возможности применения MgO как гетерогенного катализатора для изомеризации двойной связи для бутена-1 [370] и некоторых терпенов [371], был поставлен аналогичный опыт и с оксидом магния как носителя (Табл.1, №9). Однако в этих условиях не наблюдалось никакой конверсии изоалантолактона (**2**), в то же время оксид магния полностью защищал лактон от термического разложения. Другой вариант этого эксперимента с кипячением над MgO в среде ДМФ (Табл.1, №10) также вовсе не дал продуктов изомеризации лактона.

Сильные кислоты как давно известно [372] способствуют миграции терминальных алкенов в эндо-положение, поэтому далее было решено вести поиск среди них. Трифторуксусная кислота является слишком активной в этой реакции, поэтому была испытана ее замена на более слабую муравьиную (Табл.1, №11). Появления в продуктах изомера **22** удалось достичь только при увеличении времени реакции с чистой муравьиной кислотой до недели (Табл.1, №12). При кипячении с муравьиной кислотой соотношение продуктов меняется, преобладающим становится изомер **22** с 41% выходом (Табл.1, №13). Щавелевая кислота сильнее муравьиной, однако она оказалась практически неактивна в реакции изомеризации алкена (Табл.1, №14) (эфир использовался как растворитель поскольку щавелевая кислота нерастворима в других неполярных растворителях). Серная кислота в ТГФ показала среднюю способность к изомеризации терминального алкена изоалантолактона (**2**), причем почти полностью в аллоалантолактон (**23**) (Табл.1, №15). Поскольку серная кислота показала недостаточную способность к миграции двойной связи, далее она была заменена на хлорную кислоту [372] как более активную кислоту Брэнстеда (Табл.1, №16). Для связывания воды, более активного акцептора протонов чем алкен, в 70% HClO₄ в качестве среды использовали уксусный ангидрид [373] [374]. Однако такие условия реакции оказались чрезмерными. Хотя изоалантолактон (**2**) в таких условиях быстро претерпевал практически полную конверсию (остаток **2** 2%), выходы целевых продуктов **22** и **23** составляли только 7 и 19% что связано с нарушением условия нейтральности растворителя в реакции. Большая часть изоалантолактона (**2**) была конвертирована, по-видимому, в побочный продукт изомеризации и ацилирования 3-ацетокси-аллоалантолактон в виде смеси двух изомеров. При замене растворителя на CHCl₃ или ТГФ (Табл.1, №17 и 18) выход изомера **23** оказывался даже меньше, чем для серной кислоты, а целевой изомер **22** не получался вовсе. Тозиловая кислота не проявила способности к изомеризации **2** (Табл.1, №19), что может быть связано с неудачным выбором растворителя [375].

Кислоты Льюиса также способны вызывать миграцию экзо-метилена в эндо-положение. Эфират трехфтористого бора ранее использовался для изомеризации терминальных алкенов в

ундецене[13] и в СЛ эреманине [376]. Его действие его на изоалантолактон (**2**) уже менее чем через сутки ведет к полной конверсии с образованием основных продуктов в виде смеси изомеров **2** и **3** в соотношении 1:3 (Табл.1, №20). Для молекулярного йода ранее показано, что он в каталитических количествах может вести к миграции изолированных двойных связей [377], в том числе и в сесквитерпеновом дегидрокостус-лактоне (**9**) [378]. Аналогичная реакция с изоалантолактоном показала, что молекулярный йод эффективно ведет к конверсии лактона в смесь изомеров **22** и **23** в примерно равном соотношении 1:1 (Табл.1, №21). Этот метод изомеризации изоалантолактона **2** был многократно повторен с различными масштабами загрузки субстрата. При этом всегда наблюдалась полная конверсия исходного лактона **2** при постоянном соотношении выходов продуктов. Варьирование условий реакции, как увеличение количества йода (Табл.1, №22), или увеличение времени реакции не ведет к заметному изменению этого соотношения. Дополнительные эксперименты с уменьшением времени реакции до 1-2 часов также не дают повышения выхода, так как при этом остается неизрасходованный изоалантолактон (**2**). Другой мягкой кислотой с большим сродством к алкенам являются ионы одновалентной меди, показано, что они, наряду с солями серебра могут использоваться для случайной миграции двойных связей в ненасыщенных жирных кислотах [379]. По этой аналогии проведен также эксперимент с миграцией алкена в лактоне **2** в присутствии одновалентной меди, образуемой *in situ* из соли меди (II) и аскорбата, однако он не привел даже с незначительной детектируемой конверсии изоалантолактона (Табл.1, №22).

Наиболее оптимальным агентом для препаративного синтеза изоалло-алантолактона (**22**) является йод в кипящем бензоле ввиду воспроизводимости метода и отсутствия посторонних продуктов реакции. Высокий выход изоалло-алантолактона (**22**) может быть получен и при непродолжительном кипячении в среде муравьиной кислоты (Табл.1, №13), однако такой метод не дает таких стабильных выходов и при увеличении времени реакции соотношение изомеров сдвигается в сторону алло-алантолактона (**23**), чего не происходит при использовании йода. Кроме максимального выхода **2**, метод изомеризации с йодом также предпочтителен из-за использования йода в каталитических (0,036 X) количествах, что делает этот метод достаточно дешевым и пригодным для масштабирования. Регенерация йода как катализатора при этом нецелесообразна. Для синтетических целей был поставлен синтез с этими условиями в препаративном масштабе с 6 г субстрата в результате чего были получены чистые как изоалло- (**22**) так и аллоалантолактон (**23**). Получение его в больших количествах ограничено в основном необходимостью очистки реакционной смеси, содержащей близкие по хроматографической подвижности изомеры **22** и **23**, на силикагеле импрегнированным нитратом серебра.

Дегидрокостус-лактон (**9**) – другой доступный СЛ с *экзо*-метиленовой группой вне лактонного цикла. Двойная связь Δ^{4-14} дегидрокостус-лактона (**9**) легче поддается миграции в

эндо-положение чем Δ^{10-15} . Ранее было сообщено о методе изомеризации более лабильного в эндо-положение действием микроволнового излучения на сорбированный на силикагеле лактон **9** с образованием изодегидрокостус-лактона (**24**) [380] [368], кипячением с йодом [378] или кипячением с соляной кислотой [381]. По аналогии с изомеризацией изоалантолактона (**1**) под действием трифторуксусной кислоты эта же реакция была проведена с дегидрокостус-лактоном, однако вместо количественного выхода **24** реакция привела к сложноделимой смеси продуктов лишь к едва уловимому по ^1H -ЯМР уровню изодегидрокостус-лактона (**24**) (Табл.2, №1). Изомеризация дегидрокостус-лактона (**9**) действием йода привела к выходу изодегидрокостус-лактона (**24**) только 22% (Табл.2, №2), который был идентифицирован сравнением с его описанными ЯМР-спектрами [382] [383]. При этом в сходных количествах образовывался еще один лактон, в спектре ЯМР которого наблюдалось сразу две $-\text{CH}_3$ группы. Теоретически могло образоваться четыре изомера дегидрокостус-лактона с различным положением двойных связей, и, сравнением спектра полученного вещества с литературными данными [384], он был идентифицирован как кауниолид (**25**). До этого момента не было описано случаев прямой кислотной изомеризации дегидрокостус-лактона сразу по двум имеющимся экзометиленовым группам. Реакция изомеризации дегидрокостус-лактона (**9**) с эфиром трехфтористого бора не привела к получению его изомеров **24** и **25** (Табл.2, №3). Вместо этого, как и в случае с трифторуксусной кислотой реакционная смесь сразу приобретала интенсивную красную окраску и основными продуктами реакции была смесь полярных веществ.

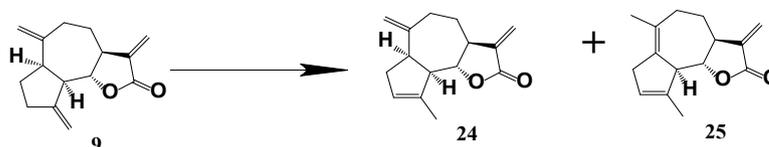


Таблица 3. Влияние условий реакции изомеризации на выход продуктов **24** и **25**

№	Условия реакции	Выход 5	Выход 6	Примечания
1	$\text{F}_3\text{C}-\text{COOH}$, 3 д	Следы	-	Темная окраска
2	Йод, бензол, кипячение 2 ч	22%	26%	Выход по ЯМР
3	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, бензол	-	-	Темная (красная) окраска

Образование интенсивной окраски, по-видимому, связано с образованием позитивно заряженных димеров гваянолидов **7** по типу описанных [385] и [386] с хромофорами с ядром фульвена (Схема 1). Эти цветные реакции реакции СЛ под действием сильных кислот характерны для большинства гваянолидов и лактонов, циклизующихся в гваянолиды при действии сильных кислот. Это означает что ни сильные кислоты Бренстеда, ни сильные кислоты Льюиса не подходят для получения изомеров дегидрокостус-лактона (**9**). Подбор условий изомеризации гваянолидов сильными кислотами в таком случае балансирует между малыми выходами и потерей субстрата. Поэтому йод как изомерирующий агент для такого чувствительного к

Попытки варьирования условий окисления селеном с целью сместить выход в сторону телекина (**6**) не привели к кардинально отличным результатам. Так, хотя в литературе [329] и указывается возможность получения телекина (**6**) с высоким выходом при замене соокислителя на гидроперит (стабильный комплекс перекиси водорода и мочевины), этот метод оказался еще хуже из-за протекания побочной реакции эпоксидирования продуктов из-за образования надселенистой кислоты. В итоге это вело к возникновению в реакционной среде эпоксидов изотелекина и телекина **27** и **28**. Другая модификация предложенная [329] для процесса окисления изоалантолактона – замена растворителя на ПЭГ. Однако попытки проведения реакции окисления изоалантолактона в ПЭГ не привели к сколь-нибудь значимому сдвигу продуктов в сторону телекина (**6**) (Табл.1). В итоге ПЭГ создавал слишком вязкую среду в реакции, замедлял ее прохождение и обладал плохой растворимостью, что требовало вводить дополнительно ДХМ для растворения компонентов. Попытка замена ПЭГ на другой вязкий растворитель – глицерин – привела к тому, что окисление не шло вовсе и изоалантолактон (**2**) был выделен без изменений (по задумке глицерин должен активировать SeO₂ через образование циклического диэфира). А проведение реакции в среде глицерин/диглим (1:1) также не привело к сдвигу продуктов в сторону телекина (**6**), но дополнительно приводило к нежелательным побочным продуктам в виде полярных конъюгатов оксо-Михаэля СЛ с ОН-группами глицерина.

Таблица 4 Окисление изотелекина в среде ПЭГ

Окислитель	Соокислитель	ПЭГ, мл	ДХМ, мл	Изотелекин	Телекин
SeO ₂ (cat), 2 д	Гидроперит	5	12,5	29,1%	-
SeO ₂ (cat), 2 д	<i>t</i> -BuOOH, 2X	5	12,5	44,2%	6,4%
SeO ₂ (cat), 2 д	<i>t</i> -BuOOH, 4X	10	3	48,3%	7,8%
SeO ₂ , 3 д	<i>t</i> -BuOOH, 1X	10	10	56,1%	8,4%

Хотя алантолактон (**1**) и не реагирует с диоксидом селена, есть упоминание [369] что другой изомер алантолактона – изоаллоалантолактон (**22**) вступает в реакцию с диоксидом селена аналогично изоалантолактону (**2**) давая продукт в виде изомера телекина (**6**, 5 α -гидрокси-3,11(13)-эвдесмандиен-12,8 β -олид). Поскольку смесь изомеров изоалантолактона **22** и **23** можно получить с количественным выходом, а при окислении диоксидом селена они должны давать продукты которые можно хорошо отделить хроматографически, аналогично телекину и изотелекину, то решено было использовать для окисления селеном их в виде смеси, пропуская трудоемкий этап разделения их до индивидуальных веществ на колонке с AgNO₃. В отличии от реакции окисления с изоалантолактоном, которая полностью проходит за 1,5 ч, его изомеры с эндо-положением двойной связи **22** и **23** реагируют очень неохотно. Несмотря на то что в литературе [369] сообщалось о прохождении реакции окисления изоаллоалантолактона (**7**) за 8 ч, в реальности спустя это время появляются лишь небольшие следы продукта, а для достижения удовлетворительной конверсии субстратов потребовалось 4 или даже 7 суток. Продукты реакции

29-32 – изомеры телекина, изотелекина и 3-эпи-изотелекина по положению двойной связи, смещенной в эндо-положение (Рис.55). Теоретически могли образоваться и продукты окисления по другим аллильным положениям около двойных связей, но их наличие не наблюдалось. Эндо-аналог 3-эпи-изотелекина (**30**) достаточно лабилен к дополнительному окислению и при длительном времени реакции частично превращается в четвертый продукт с кето-группой на месте спирта (**32**, 3-оксо-4,11(13)-эвдесмадиен-12,8β-олид). Та же реакция автоокисления с образованием **32** может проходить самопроизвольно в ЯМР -ампуле при длительном нахождении в среде $CDCl_3$.

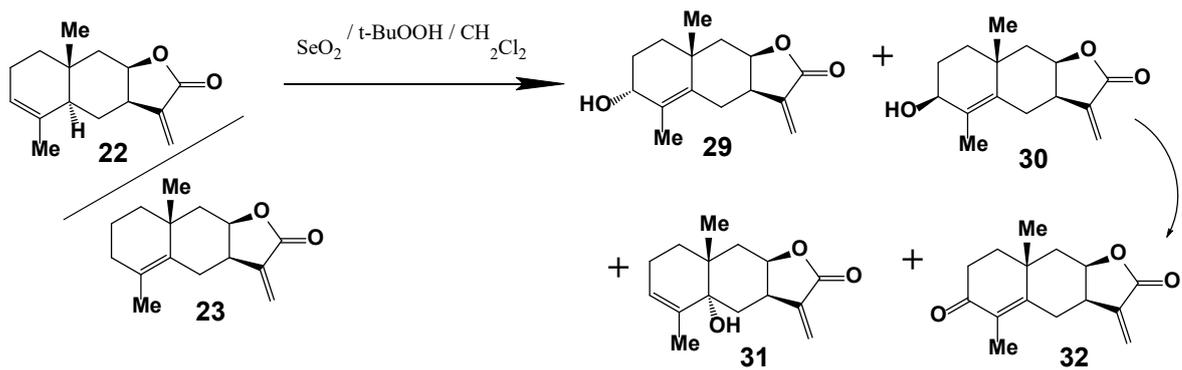


Рисунок 55 Окисление смеси изомеров алантолактона диоксидом селена

Для СЛ дегидрокостус-лактона **9** из корней горькуши лопуховидной также описана [391] [392] возможность окисления диоксидом селена. Данный лактон имеет сразу две дополнительных экзо-метиленовых группы и способен реагировать по обеим. Состав продуктов реакции чувствителен к общему времени реакции, способу добавления *t*-BuOOH и скорости разделки реакции и скорости фильтрации через колонку силикагеля, поскольку дегидрокостус лактон имеет склонность давать продукты сверхокисления в присутствии следов селена. Основной продукт окисления – продукт моногидроксилирования по С-3 положению изозаллузанин-С (**33**) и диол **34** (Рис.56). Также в меньших количествах образуются продукт моногидроксилирования по С-5 положению **35** и триол **36** которые плохо отделяются от примесей и далее не использовались. Таким образом СЛ с дополнительной двойной связью в экзо-положении легко вступают в реакцию с диоксидом селена, в то время как СЛ дополнительной двойной связью, но уже в эндо-положении, гораздо менее активны в реакции окисления селеном или вовсе не активны.

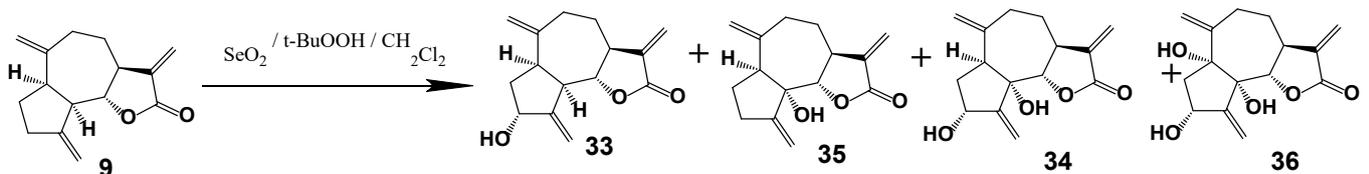


Рисунок 56 Продукты окисления дегидрокостус-лактона диоксидом селена

2.2.3 Галогенлактонизация

Алантолактон имеет одну структурную особенность, которую можно использовать для целой группы синтетических превращений. При гидролизе в щелочных условиях алантолактон при нагревании гидролизуется [321] [323] с размыканием лактонного цикла до алантовой кислоты (**37**, нем. “Alantsaure”). Она содержит двойную связь в γ -положении от карбоксильной группы и, следовательно, от него можно ожидать, что он будет вступать в реакции галогенлактонизации с образованием нового пятичленного лактонного цикла.

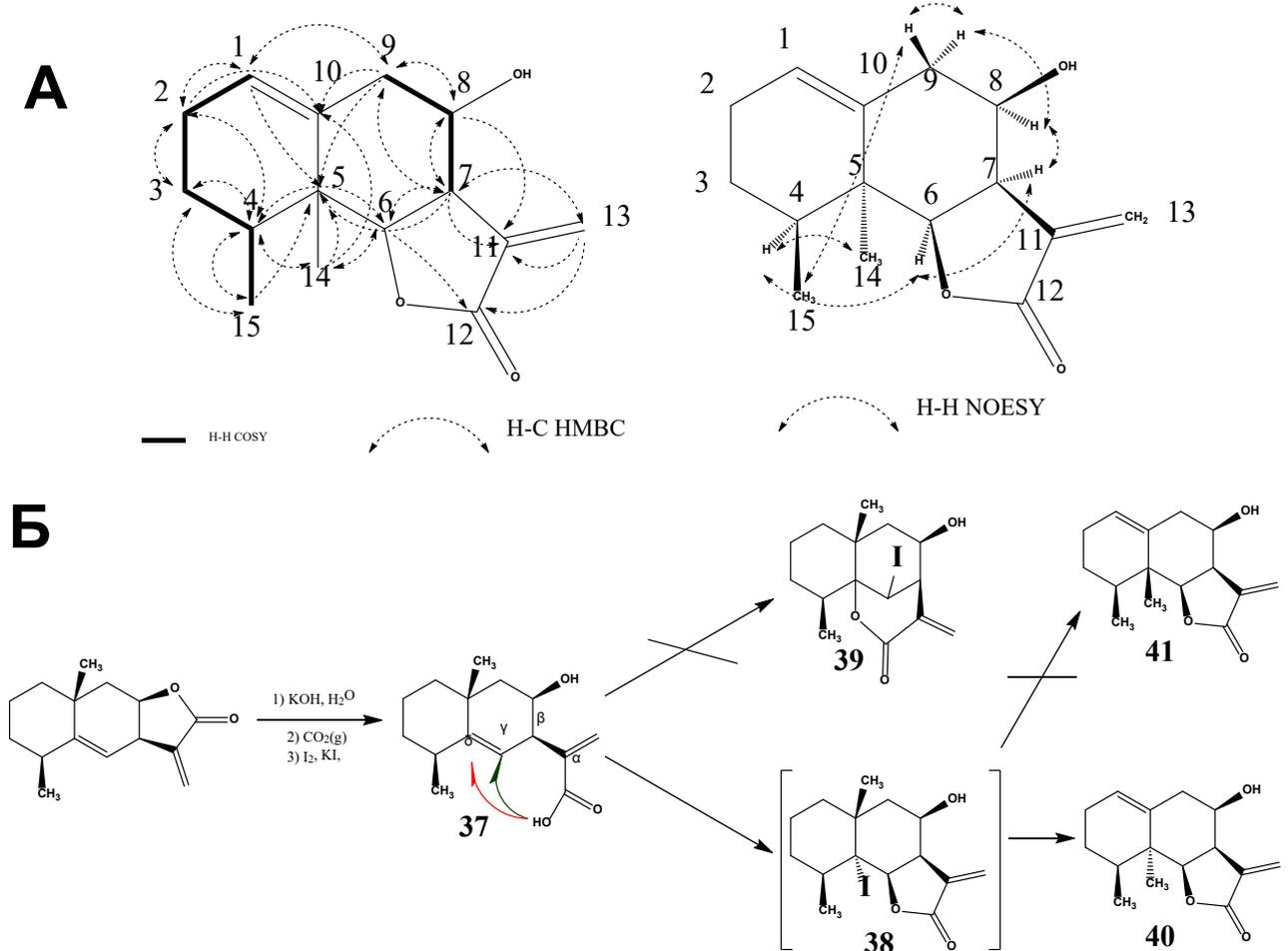


Рисунок 57 А. 2D-ЯМР корреляции продукта йодлактонизации; Б. схема реакции йодлактонизации алантовой кислоты

Сначала была проведена реакция галоген-лактонизации алантовой кислоты (**37**) с элементарным йодом в водной среде. Для большей растворимости йода использовали добавку йодида калия, то есть итоговый конденсирующий агент здесь был трийодид калия. Реакция проходит в две стадии: на первой к двойной связи присоединяется электрофильный молекулярный йод (как аналог йодоний-катиона), на второй в анти-положение к образовавшемуся катиону присоединяется карбоксильная группа с образованием лактонного цикла в новом положении. Теоретически возможны два случая образования нового лактонного цикла по γ -положению (продукт **38**) и по δ -положению (продукт **39**), но в последнем случае это

запрещено правилами Болдуина. Однако, при попытке провести йодлактонизацию вместо ожидаемого соединения **38**, сохраняющего эвдесмановый скелет, как основной продукт реакции был выделен эремофиланолид строения **40** (Рис.57). Ранее сообщалось о похожей перегруппировке эпоксиалантолактона под действием муравьиной [393] или щавелевой кислот [320]. Однако перегруппировка в эремофиланы не из эпоксидов описана впервые.

Для установления структуры получившегося лактона использовали методы 2D-ЯМР. Возможно два способа присоединения кислорода у нового С-6 центра в лактонном цикле: *цис*- и *транс*-. Поскольку в прошлом на основе сопоставлений структуры большого количества природных СЛ и их протонных спектров выявлено [394] эмпирическое правило что если J-константа равна 8 Гц или меньше, то это соответствует *цис*-присоединению лактонного цикла. Поскольку в продукте **40** $J^{6,7} = 8.1$ Гц, а также исходя из 2D-NOESY, он имеет *цис*-присоединенный лактон. Мигрировавшая С¹⁴-метильная группа по данным NOESY находится в α -положении, что, неожиданно учитывая предполагаемый механизм реакции в виде перегруппировки Вагнера-Меервейна. Если бы реакция протекала по этому механизму, то образовывался бы эпимер **41** и наблюдалось бы сохранение положения С¹⁴-метила в β -положении как в исходном алантолактоне (**1**).

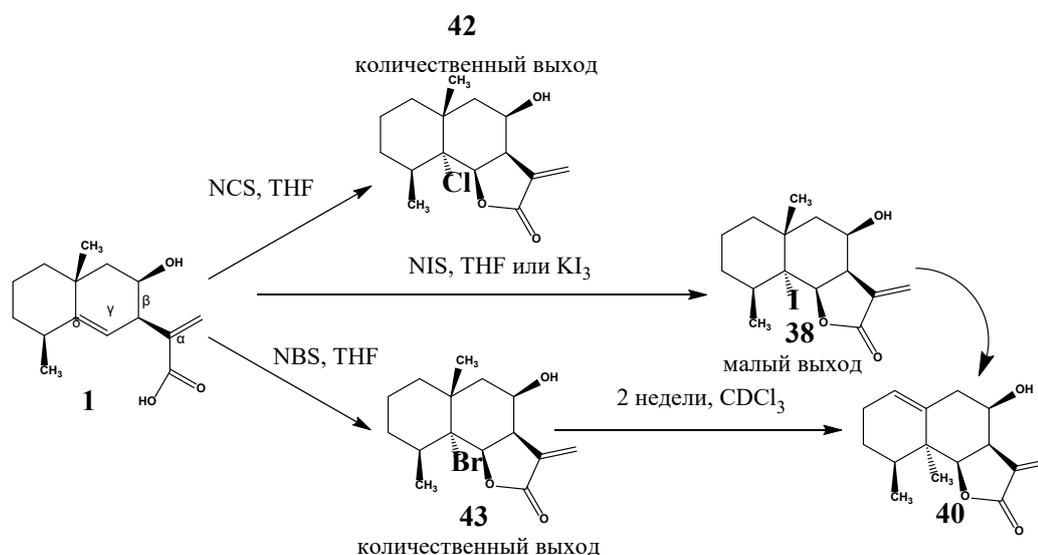


Рисунок 58 Продукты галогенлактонизации алантовой кислоты

Другие формы галоген-лактонизации алантовой кислоты **37** дали более предсказуемый вариант. Хлор-лактонизация проводилась при действии NCS (*N*-хлор-сукцинимид) как источника хлороний-иона. Лучше всего себя показали условия проведения хлорлактонизации в среде ТГФ с небольшой добавкой уксусной кислоты и разделкой реакции промыванием раствором NaHCO₃ [395]. В таком варианте продукт хлорлактон **42** получался с количественным выходом. Бромлактонизацию проводили в аналогичных условиях с применением NBS (*N*-бром-сукцинимид). Прочие условия бромлактонизации (с использованием жидкого брома, генерацией брома *in situ* из бромидов, NBS в других растворителях) приводили к сложной смеси

продуктов реакции и низким выходом бромлактона **43**. При длительном хранении на воздухе или в среде дейтерированного хлороформа бромлактон **43** частично самопроизвольно разлагается с образованием **40**, того же вещества что получается при лактонизации под действием йода. Поэтому далее, из-за недостаточной стабильности, для синтеза конъюгатов с даунорубицином его не использовали. Хлорлактон **42** более стабилен. Аналогичный йод-лактон **38** получался при действии NIS (получен по обменной реакции из NBS и йода [396]) или при медленном добавлении KI₃. Но он получался со слишком низкими выходами и также был недостаточно стабилен.

2.2.4 Эпоксидирование

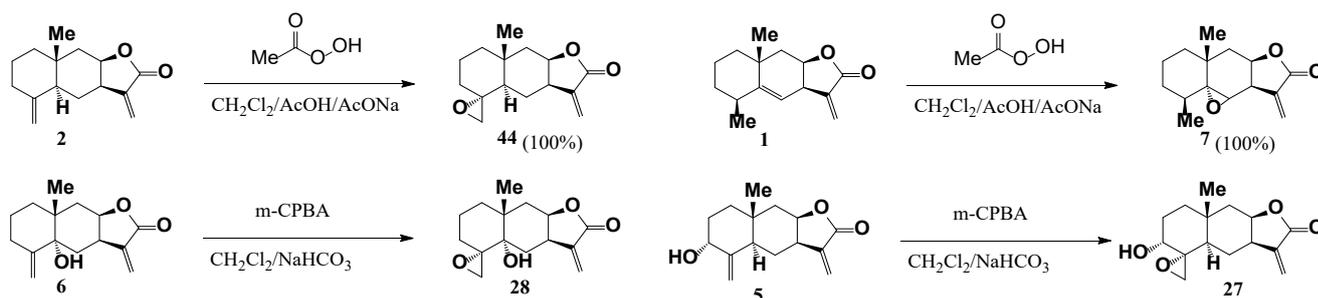


Рисунок 59 Эпоксидирование эвдесманолоидов полученных их девясила

Алантолактон (**1**), а также его изомеры изоалантолактон (**2**) и аллоалантолактон (**23**), были эпоксидированы надуксусной кислотой с ацетатным буфером по описанной ранее [320] методике (Рис.1). Реакция в таком варианте проходит с количественным выходом, замена эпоксидирующего агента на *m*-CPBA приводила к меньшим выходам эпоксилактонов. При этом из алантолактона был получен 5-эпоксид-алантолактона (**7**) в виде единственного изомера, а из изоалантолактона – 4-эпоксид-изоалантолактона (**44**) так же в виде единственного изомера.

Продукты окисления изоалантолактона диоксидом селена – аллильные спирты телекин (**6**) и изотелекенин (**5**) можно рассматривать как варианты изоалантолактона (**2**) но с дополнительными стерическими затруднениями. Поэтому неудивительно, что при эпоксидировании этих СЛ надкислотой *m*-CPBA образовывались эпоксида только с α -ориентацией нового эпоксидного цикла. Соответственно из телекина (**6**) получен только 3,15- α -эпоксид-телекина (**28**), а из изотелекина (**5**) получен только 3,15- α -эпоксид-изотелекина (**27**) (Рис.1). Эти вещества эпоксидированные СЛ как метаболиты растения *Inula racemosa* из которого одновременно выделены и β -изомеры обоих эпоксидов [397].

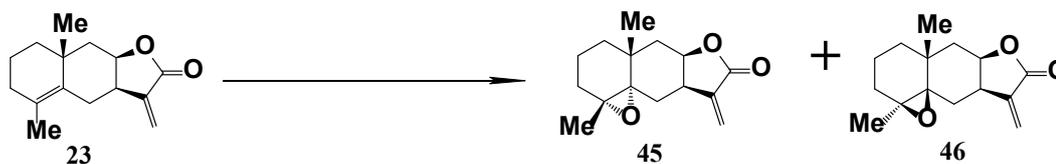


Рисунок 60 Возможные продукты эпоксидирования аллоалантолактона

Иная картина наблюдается при эпексидировании аллоалантолактона (**23**), получаемого как продукт миграции алкена из изоалантолактона (**2**). При эпексидировании в этих условиях он давал и эпексид-аллоалантолактона в виде неделимой смеси α - (**45**) и β -изомеров (**46**) по ориентации эпексидного цикла. Оба продукта **45** и **46** обладают идентичной хроматографической подвижностью и их невозможно отделить друг от друга, между тем они отчетливо различаются на ^1H -ЯМР спектре. Попытки выделить чистый изомер ба путем многократной кристаллизации, как было предложено более ранними исследователями [398], не привели к нужному результату. Поэтому была проведена реакция эпексидирования аллоалантолактона (**23**) при альтернативных условиях для поиска таких, в которых бы селективно образовывался только один из изомеров (Табл.5).

Таблица 5 Условия эпексидировани аллоалантолактона

Условия	Выход продуктов по ^1H -ЯМР	
	45 (α -изомер)	46 (β -изомер)
AcOOH, r.t.	68	32
AcOOH, -10 °C	69	32
m-CPBA, r.t.	69	31
SeO ₂ , t-BuOH, H ₂ O ₂	62	38
DMDO, NaHCO ₃ , AcOEt/H ₂ O	31	69
DMDO, фосфатный буфер, CH ₂ Cl ₂ /H ₂ O	38	62
Ши-кетон + Oxone, NaHCO ₃ , AcOEt/H ₂ O	12	16
Ши-кетон + Oxone, NaHCO ₃ , диоксан/H ₂ O	71	29
Циклогексанон + Oxone, NaHCO ₃ , AcOEt/H ₂ O	15	32
Циклогексанон + Oxone, NaHCO ₃ , диоксан/H ₂ O	39	29
(R,S)-Камфора + Oxone, NaHCO ₃ , диоксан/H ₂ O	54	29
(R)-Камфора + Oxone, NaHCO ₃ , диоксан/H ₂ O	73	23
(S)-Камфора + Oxone, NaHCO ₃ , диоксан/H ₂ O	74	26
Na ₂ WO ₄ , H ₂ O ₂ , AcOH, AcOEt/H ₂ O	47	20
[C ₁₆ NMe ₃] ⁺ ₃ {PO ₄ [W(O)(O ₂) ₂] ³⁻ ₄ , ДХЭ/H ₂ O ₂ , 70 °C	39	17
Fe(acac) ₂ , H ₂ O ₂ , MeCN, 40 °C	43	51

В исходных условиях, при эпексидировании надуксусной кислотой, предпочтительно образовывался изомер **45**. Замена надкислоты на m-CPBA или проведение реакции при охлаждении не повлияли на результат, соотношение продуктов с было воспроизведено с большой точностью. Также эпексидирование надселенистой кислотой, аналогом надкарбоновых кислот, привело к тому же соотношению. Напротив, эпексидирование диоксираном приводило к инверсии соотношения продуктов – в большей степени образовывался изомер **46**. Хотя и здесь не удалось достичь образования исключительно только одного изомера. Использование стерически более затруднённых диоксиранов, как диоксираны получаемые из циклогексанона, камфоры и Ши-кетона (синтезирован из фруктозы при действии ZnCl₂ [399] или из фруктозы и 2,2-диметоксипропана [400] с последующим окислением PCC/молекулярные сита) осложнялось тем, что они не имели такую амфифильную природу как ацетон и не мигрировали так же легко

между органическим и водным слоями. Замена органической фазы на диоксан позволила достичь приемлемых выходов, но соотношение продуктов при этом смещалось обратно к изомеру **45**.

Методы эпоксицирования с использованием катализаторов на основе металлов, таких как пероксировольфрамат [401], пероксировольфрамат-фосфатного комплекса (приготовлен из Na_2WO_4 , HCl , H_3PO_4 и детергента СТАВ) [402] и ацетилацетоната железа [403], также оказались довольно эффективными. Однако они также не приводили к селективному образованию одного изомера. Поэтому из-за сложностей с разделением изомеров эпоксида аллоалантолактона **45/46** далее в реакции сочетания с антрациклинами использовали в виде смеси изомеров.

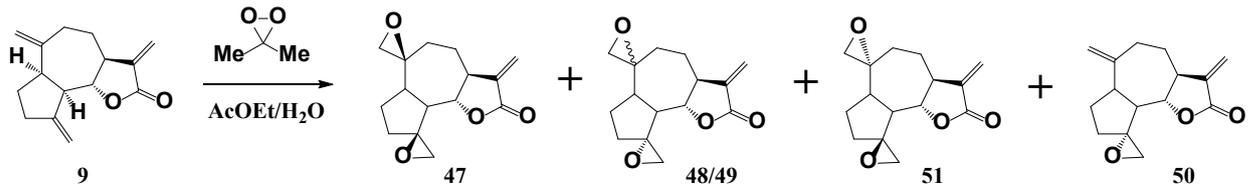


Рисунок 61 Эпоксицирование дегидрокостус лактона

Дегидрокостус-лактон (**9**), полученный из корней костуса, имеет помимо лактонной экзометиленовой группы неактивной в реакциях эпоксицирования две дополнительные алкеновые группы. Каждая из них может при эпоксицировании давать α- или β-изомер эпоксида, соответственно теоретически среди продуктов реакции можно получить четыре продукта моноэпоксицирования и четыре продукта диэпоксицирования. В качестве эпоксицирующего агента сначала был выбран m-CPBA для окисления небольших количеств дегидрокостус-лактона аналогично литературному источнику [404]. В итоге после очистки получили 4β,10β-диэпоксид (**47**) с выходом 22% и неделимую смесь 4α,10β- и 4α,10α-диэпоксидов (**48/49**) с выходом 75%. Однако при повторе реакций в этих условиях, особенно при увеличении времени реакции, выход целевых эпоксидов снижался, по-видимому, из-за образования m-хлорбензойной кислоты и кислотного раскрытия эпоксидов. Поэтому проведено эпоксицирование дегидрокостус-лактона диметил-диоксираном (DMDO) в более щадящих условиях, не предполагающих образование кислот в ходе реакции. DMDO получали *in situ* из ацетона действием пероксисульфата калия в двухфазных условиях. При таком более мягком варианте эпоксицирования выход целевых эпоксидов был выше. Однако разделение оптических изомеров, продуктов эпоксицирования, требовала усилий, поскольку при хроматографии они отделяются только частично. Основным продуктом реакции, неделимая смесь диэпоксидов **48/49**, может быть получен с большими выходами, но может обладать недостаточной стабильностью при длительном хранении из-за склонности к полимеризации. Поэтому оптимальнее получать его как субстрат в реакциях перед непосредственным применением. При методе окисления дегидрокостус-лактона (**9**) с DMDO как сопутствующие продукты реакции были выделены также продукт моноэпоксицирования (**50**) по двойной связи в Δ⁴⁽¹⁵⁾ положении и минорный 4β,10α-диэпоксид дегидрокостус лактона (**51**).

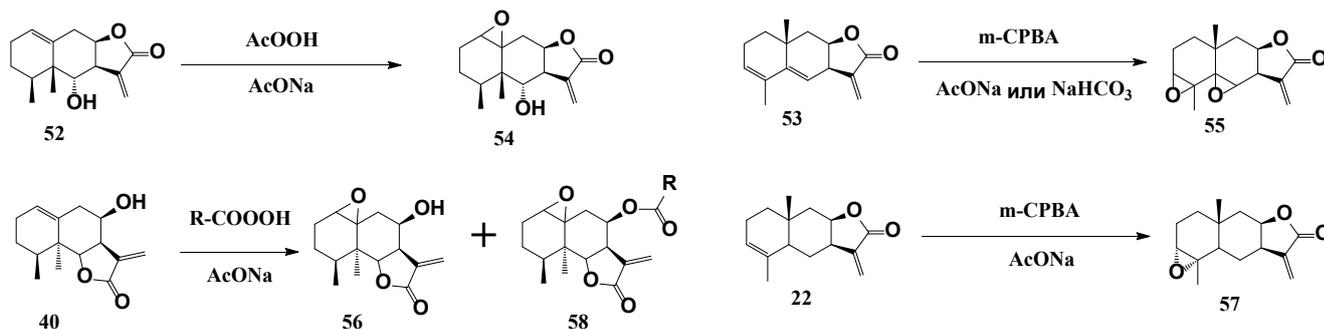


Рисунок 62 Эпокси́дирование других сесквитерпеновых лактонов

Реакция эпокси́дирования остальных СЛ, несущих алкеновую группу, проходила более однозначным образом и сопровождалась образованием только одного изомера (Рис.62). Продукты кислотного разложения 5-эпоксида-алантолактона (7) – эремофилановый лактон **52** и эвдесмановый СЛ алантодиен (**53**) содержат соответственно одну и две нелактонных свободных алкеновых групп. При их эпокси́дировании получают моноэпоксид **54** из эремофиланолида **52** и диэпоксид **55** из эвдесманолида **53**. Обычные условия использования m-CPBA как реагента для эпокси́дирования предполагают введение в реакцию дополнительно вещества нейтрализующего m-хлорбензойную кислоты, образующуюся в ходе реакции. Обычно это NaHCO₃. Однако замечено, что хотя использование m-CPBA всегда приводит к ожидаемому продукту, выход может очень отличаться от эксперимента к эксперименту, варьируясь от умеренного до полностью количественного. С другой стороны, условия, которые были применены для эпокси́дирования лактонов девясила самостоятельно приготовленной надуксусной кислотой, всегда приводили к количественному выходу продуктов. Поэтому далее для реакции эпокси́дирования проводили с заменой нейтрализующего кислоты агента на ацетат натрия. В таких условиях были эпокси́дированы СЛ-продукт от йодлактонизации **40** с образованием эпоксида **56**, а также изоаллоалантолактон **22** с образованием эпоксилактона **57**. В случае с лактоном **40** выход целевого эпоксида **56** снижался частично из-за побочной реакции образования его O-ацилированных продуктов **58**. Эта побочная реакция происходила как в случае использования m-CPBA, так и надуксусной кислоты.

2.2.5 Ацилирование

Изотелекин обладает спиртовой группой и его можно подвергнуть ацилированию. В стандартных условиях реакции ацилирования, при использовании ацетилхлорида в среде пиридина, изотелекин (**5**) конвертируется в O-ацетил-изотелекин (**59**). Попытки провести ту же реакцию с его изомером, лактоном телекином (**6**), не привели к нужному результату из-за полного отсутствия прохождения реакции. Варьирование условий ацилирования, как например использование активаторов DMAPT, DBU, NaN, также сопровождалось выходом 0 % для нужного лактона. По-видимому, телекин (**6**) как третичный спирт испытывает слишком большие

стерические затруднения и его невозможно подвергнуть ацилированию. С другой стороны, невозможность ацилирования затрудненной третичной гидроксигруппы открывает доступ к лактонам, которые несут сразу гидроксигруппу и ацетоксигруппу если использовать в качестве субстратов диолы с разным расположением гидроксигрупп. Например, такими диолами являются диол изоалантолактона **26** и диол дегидрокостус-лактона **34**, оба продукта от окисления СЛ диоксидом селена. Из диола **34** по такой схеме был получен в одну стадию 3 α -ацетокси-5 α -гидрокси-дегидрокостус-лактон (**60**). В тех же условиях из лактона-продукта йодлактонизации **40** было получено его *O*-ацетильное производное **61**.

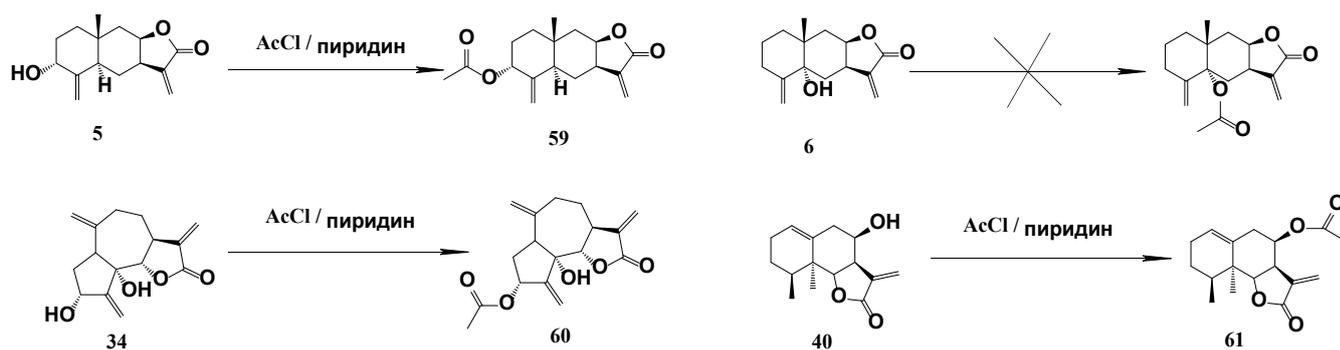


Рисунок 63 Ацилирование лактонов-спиртов

2.2.6 Модификации других лактонов

Структуру лактона кнущина (**16**) можно разделить на два фрагмента: ядро с сесквитерпеновым гермакрановым скелетом и боковой ацильный заместитель в составе которого имеется сопряженная экзометиленовая группа также активная в реакциях присоединения по Михаэлю. Вторая активная группа может быть нежелательной при присоединении лактона к антрацилинам из-за возможности конкурирующей реакции с аминогруппами молекул DAU. Предприняты попытки ее удаления щелочным гидролизом. Кнущин является очень чувствительным к условиям гидролиза и может давать разные продукты, так описана возможность получения лактона артемизиафолина (**62**) при гидролизе KOH которая сопровождается реакцией перелактонизации на вновь образовавшуюся спиртовую группу [405]. Более щадящие условия гидролиза карбонатом в среде диоксан/вода должны вести к лактону салонитенолиду (**17**) сохраняющему строение гермакрановой части молекулы [406]. Попытка гидролиза кнущина даже в мягких условиях не привела к ожидаемым продуктам, вместо этого наблюдался распад кнущина с утратой экзометилена лактонного цикла. Тем не менее, эти более мягкие условия оказались подходящими для гидролиза лактона цинаропикрина (**21**) в составе которого также имеется боковой ацильный заместитель с активной экзометиленовой группой. В итоге этим образом был получен лактон дезацил-цинаропикрин (**63**). В иных условиях, при гидролизе цинаропикрина раствором щелочи, о чем сообщалось другими авторами ранее [407], выход дезацил-цинаропикрина (**63**) существенно ниже.

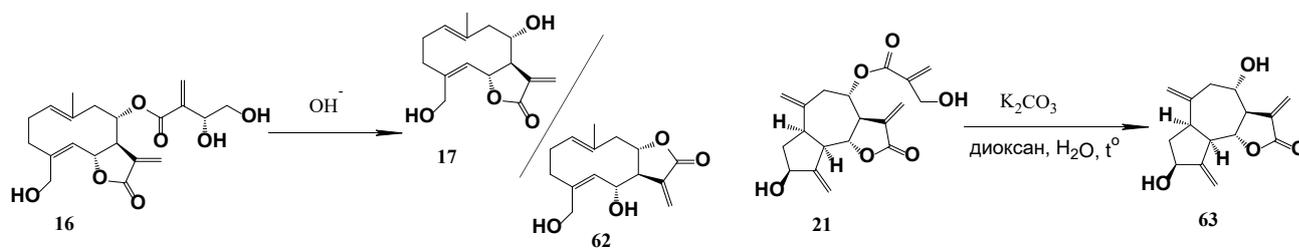


Рисунок 64 Реакции дезацилирования сесквитерпеновых лактонов

Гроссгемин (**20**), второй лактон листьев гроссгемии, по структуре близок к полученному дезацил-цинаропикрину (**63**) и несет в С(3) положении кетогруппу. Ее восстановление приводит к лактону отличающемуся от лактона **63** заменой Δ^{4-15} экзометиленовой группы на метильную. Однако такой обычный восстановитель для карбонильных групп как натрий боргидрид также в СЛ легко восстанавливает электрондефицитную экзометиленовую группу лактонного цикла, что делает продукты восстановления неактивными в реакциях аза-Михаэля и малоинтересными в рамках данной работы. Обычные возможности повышения селективности натрий боргидрида предполагают получение его более слабых форм, как NaBCNH_3 и $\text{NaB}(\text{OAc})_3\text{H}$, которые утрачивают способность восстанавливать кетоны. Однако, именно на примере лактона гроссгемина (**20**) описана возможность [408] применения модифицированного боргидрида в форме боргидрида цинка, который утрачивает способность восстанавливать экзометилен при лактонном цикле, но сохраняет способность восстанавливать кетоны. С применением такого подхода из гроссгемина (**20**) был синтезирован лактон гроссгейминол (**64**), минорный компонент *Grossheimia macrocephala* [408].

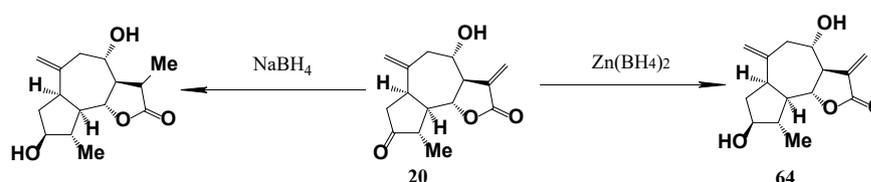


Рисунок 65 Селективное восстановление кетогруппы в гроссгемине

2.3 Часть III. Синтез конъюгатов лактонов с антрациклинами

Получение *N*-алкильных конъюгатов антрациклиновых антибиотиков с СЛ основано на реакции аза-Михаэля, то есть реакции присоединения аминов к электрондефицитным алкенам. В качестве таких аминов (доноров) выступали антрациклиновые антибиотики, в качестве акцепторов Михаэля – СЛ. Перед проведением аза-реакции Михаэля гидрохлорид даунорубицина превращали в основание. Полученный амин более реакционноспособен и легко выделяется в чистом виде путем экстракции хлороформом с добавкой спирта из водного раствора. Доксорубицин характеризуется еще большей гидрофильностью, и его основание не экстрагируется из водной среды органическими растворителями. В этом случае для проведения аза-реакции Михаэля с СЛ доксорубицин использовали в виде гидрохлорида, а процесс

проводили в присутствии основания (триэтиламина), под действием которого в

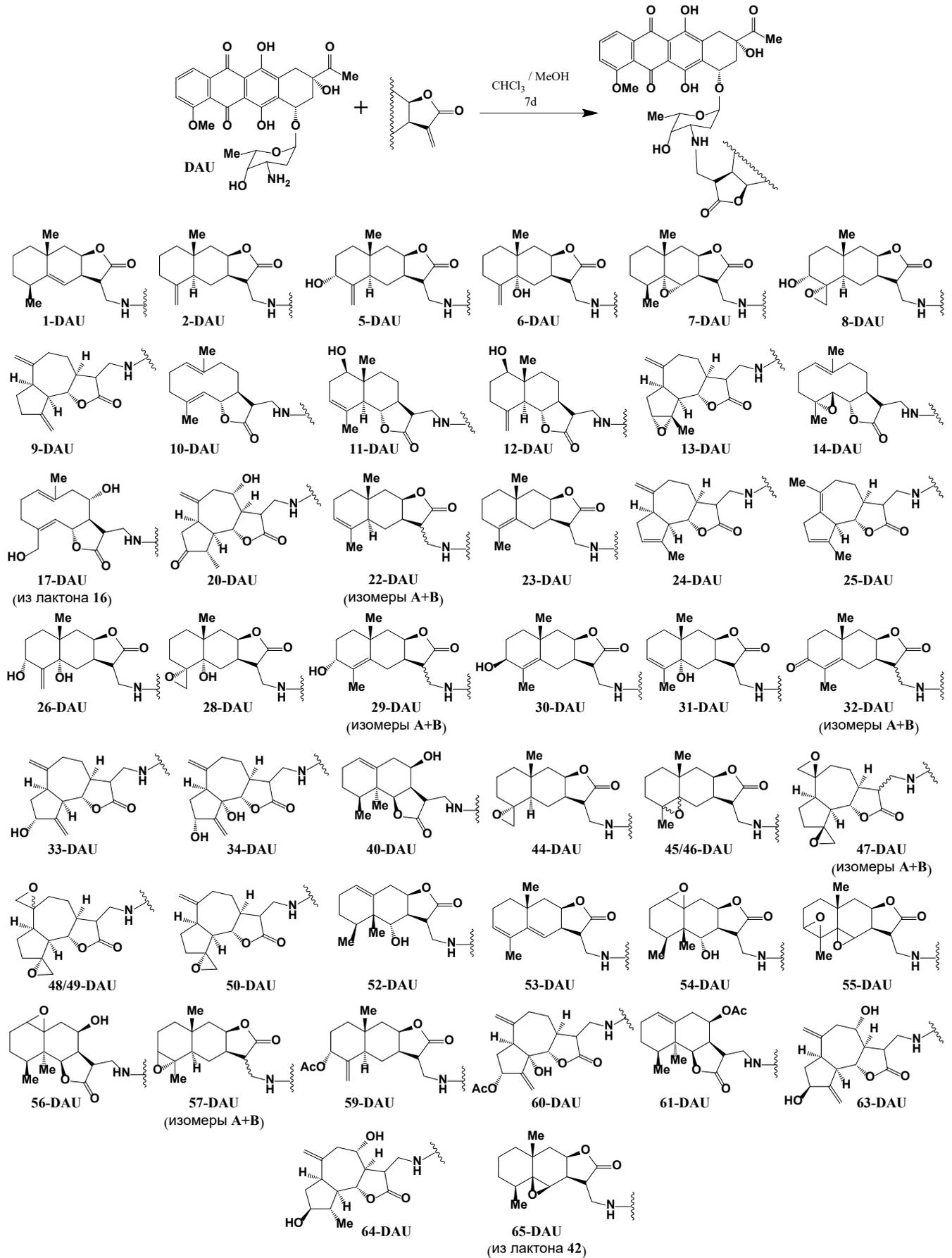


Рисунок 66 Полученные конъюгаты даунорубицина и СЛ

проводили в присутствии основания (триэтиламина), под действием которого в реакционной среде доксорубин высвобождался в виде свободного амина и непосредственно реагировал с лактоном.

СЛ как с DAU, так и с DOX реагируют в мягких условиях. Первоначально в качестве условий было предложено использовать простое инкубирование раствора смеси антибиотика и лактона в среде метанола и, после некоторого времени ожидается, что нужный конъюгат должен выпадать в осадок. Этот вариант основан на ранее использованном подходе к получению конъюгатов СЛ с аминами более простого строения при котором исходные амин и СЛ могут быть растворимы в метаноле, но их конъюгат выпадает в осадок как готовый продукт без дополнительной очистки [409] [314]. При синтезе первых конъюгатов СЛ с DAU действительно наблюдалась такая ситуация, когда готовый продукт самопроизвольно выпадал из метанола, но при этом он захватывал в осадок некоторое количество исходного DAU и это вело к снижению выходов. Тем не менее после нахождения условий очистки продукта через колоночную хроматографию для большинства конъюгатов DAU очистка продуктов не представляла больших трудностей. Поэтому далее реакцию Михаэля всегда проводили в смеси метанол/ХФ в которой продукт остается растворимым. Таким образом была синтезирована серия конъюгатов Михаэля (1-DAU – 65-DAU) DAU с полученными на предыдущем этапе сесквитерпеновыми лактонами (Рис.66). Другая часть реакций DAU и СЛ сопровождалась образованием смеси продуктов и требовала многоступенчатой очистки.

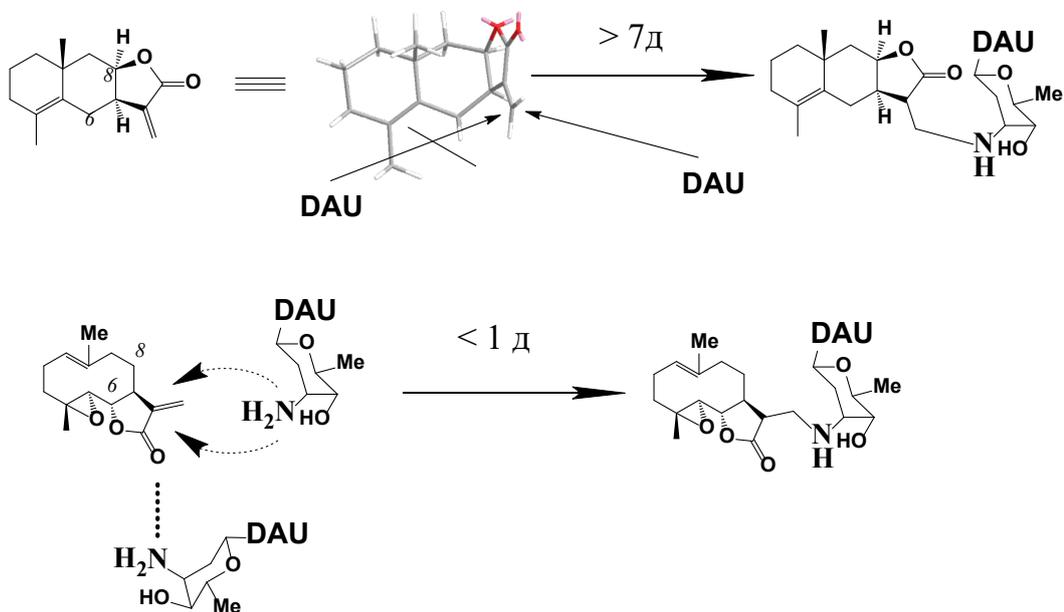


Рисунок 67 Влияние типа сопряжения лактонного цикла на скорость реакции аза-Михаэля

Скорость реакции присоединения антрациклинов к СЛ резко снижена по сравнению с аминами более простого строения. В случае аза-реакции Михаэля с участием СЛ и простых по структуре алифатических аминов реакция обычно протекает с количественными выходами и на

ее полное прохождение требуется от пары часов до суток в зависимости от природы амина и условий реакции. В данном случае, при присоединении к антрациклинам, требовалось длительное время реакции, обычно около 7 суток. При использовании антрациклинов как аминов выходы продуктов не были количественными и составляли обычно около 50% от теоретического, но отдельных случаях падали до низких значений. Скорее всего, это связано с особенностями строения антрациклина: в данном случае в качестве конкурирующих реакций возможно образование иминной связи между карбонильной и свободной аминогруппой молекулы в антрациклине, а также внутренней соли амина и гидрохинона антрациклинового хромофора, обладающего кислотными свойствами.

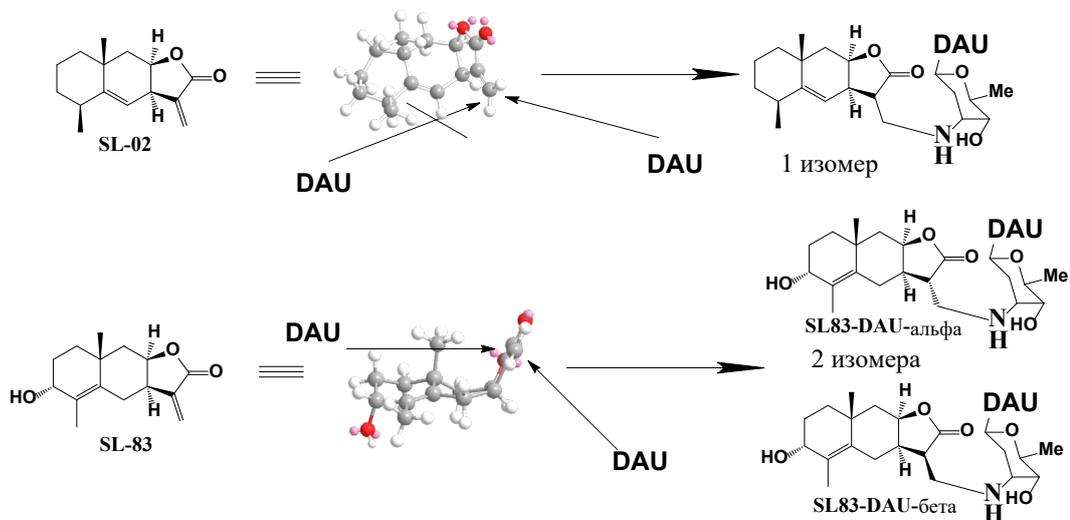


Рисунок 68 Принцип образования двух изомеров при присоединении СЛ к антрациклину

Другое объяснение очень низкой скорости реакции присоединения Михаэля в случае антрациклинов состоит в том, что реакция присоединения Михаэля протекает через образование третичного комплекса, состоящего из лактона, нуклеофила (амина) и катализатора (амин) которое координирует переходный комплекс. Поскольку в реакции аминогруппа также участвует как катализатор, последние два компонента представляют молекулы антрациклина. Это снижает вероятность сборки тройного комплекса в нужном взаимном расположении из-за стерических затруднений, создаваемых другими группами в аминсахаре, а также наличием остальной, не входящей в лактонный цикл, части молекулы в СЛ, которая затрудняет подход второй объемной молекулы антрациклинового антибиотика. На это может указывать очень разная скорость реакции разных СЛ с DAU. Часть СЛ, как например партенолид (**14**) и дегидрокостус лактон (**9**), дают продукты присоединения к DAU в целом довольно быстро, уже спустя 1 д реакция проходит почти полностью. Другие СЛ, как например изоаллоалантолактон (**22**), напротив даже спустя >7 д дают только незначительные выходы при использовании того же самого амина (DAU). Если попытаться указать какие структурные особенности СЛ позволяют им реагировать быстрее других, то скорее всего стоит назвать тип сопряжения лактонного цикла. Лактоны с 12,8-типом

сопряжения лактонного цикла вступают в присоединение аза-Михаэля с DAU медленнее, чем все лактоны с 12,6-типом сопряжения, даже если в первых нет дополнительных функциональных групп в составе (Рис.67). По-видимому, последний тип дает больше пространства которое может использовать молекула DAU для атаки.

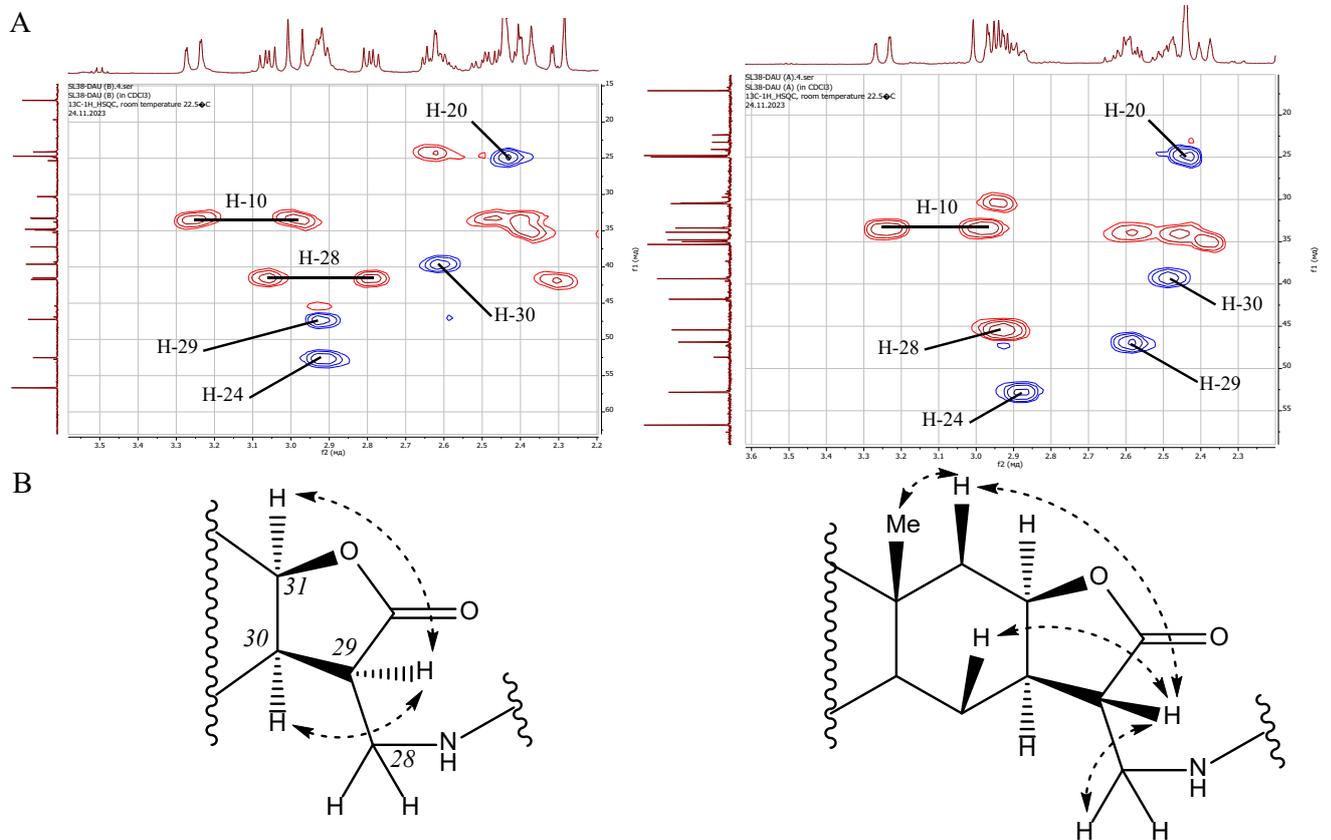


Рисунок 69 А. Фрагмент HSQC спектров изомерных конъюгатов 32-DAU; В. ключевые NOESY корреляции в тех же изомерах

Конфигурация всех асимметрических центров исходных молекул в ходе реакции сохраняется; кроме того, в конъюгатах формируется новый хиральный центр в α -положении лактонного цикла с определенной конфигурацией. Как правило, в продуктах реакции присоединений аза-Михаэля лактона к аминогруппе антрацилина почти полностью преобладал только один оптический изомер. Образование второй возможного изомера можно было детектировать по ТСХ (оба изомера имеют близкие значения Rf при этом отчетливо отделяются), но он присутствовал в минорных количествах и выделение его было нецелесообразно, при хроматографической очистке фракции с ним отбрасывались. Но в случае некоторых лактонов два возможных изомера образовывались в сопоставимых количествах, тогда очистке подвергали оба изомера. В основном такие пары изомеров получались в случае эвдесманолидов (22-DAU, 29-DAU, 32-DAU, 55-DAU, 57-DAU). По-видимому, их образованию способствует плоское строение декалинового фрагмента открывающего аминогруппе атаку лактонного цикла с обеих полусфер, а также сниженная скорость реакции (Рис.68).

Обычно в конъюгатах СЛ с DAU в спектрах 1D- и 2D-ЯМР наблюдаются схожие паттерны распределения пиков соответствующих атомам района новой образованной связи при условии, что в реакцию вступают СЛ со схожим типом углеродного скелета, типа сопряжения лактонного цикла, соседства экзометиленовых протонов и гидроксильной группы. В случае образования пары изомеров в реакции эта область ЯМР спектров отличается больше, чем ожидалось (Рис.69А). По спектрам HSQC для α и β изомеров конъюгата лактона **32** с DAU можно заметить, что в α (слева) изомере Н-28 протоны разнесены по оси спектра, что говорит о жесткости конструкции и отсутствию свободного вращения С-N и С(28)-С(29) связей. В его β (справа) изомере Н-28 сливаются в один пик, что скорее всего говорит о большей способности к вращению связей. Помимо этого, сильно оказывается сдвинут в область сильного поля сами эпимерные Н-29 протоны, что соответствует их ориентации внутрь или наружу молекулы. По спектрам 2D-NOESY можно соотнести обе картины с α или β ориентацией Н-29 протонов (Рис.69В). Эта же картина на HSQC и NOESY спектрах повторяется для других пар изомеров, полученных из эвдесманолоидов.

Таблица 6 Цитотоксичность конъюгатов СЛ с даунорубицином в отношении адгезионных клеточных линий

Соединения	IC ₅₀ (мкМ/л)									
	A549	HCT116	HeLa	HEp-2	HepG2	MCF7	OKP-GS	PANC-1	RD	SH-SY5Y
	<i>рак легкого</i>	<i>рак толстой кишки</i>	<i>Карцинома шейки матки</i>	<i>Карцинома гортани</i>	<i>гепатоцеллюлярная карцинома</i>	<i>Аденокарцинома молочной железы</i>	<i>карциномы почки</i>	<i>рак поджелудочной железы</i>	<i>рабдомиосаркома</i>	<i>нейробластома</i>
DAU	0,40±0,02	0,16±0,00	1,00±0,05	0,58±0,04	0,76±0,03	1,80±0,17	0,82±0,01	1,15±0,08	0,68±0,02	0,14±0,00
1-DAU	0,66±0,04	0,93±0,02	1,01±0,04	1,08±0,05	1,42±0,08	3,07±0,02	1,02±0,04	0,47±0,04	0,71±0,01	0,21±0,01
2-DAU	1,76±0,07	1,10±0,08	2,17±0,38	1,66±0,07	3,03±0,17	3,95±0,03	2,82±0,36	2,21±0,19	0,96±0,02	0,51±0,02
5-DAU	0,80±0,14	0,67±0,02	2,84±0,78	1,94±0,05	1,95±0,06	0,62±0,03	1,75±0,17	0,28±0,04	1,49±0,03	0,55±0,02
6-DAU	1,72±0,40	1,25±0,07	0,99±0,06	0,55±0,05	2,63±0,37	0,58±0,01	1,15±0,02	0,59±0,04	1,19±0,05	0,44±0,04
7-DAU	1,33±0,19	1,46±0,03	2,06±0,41	1,62±0,04	3,00±0,24	2,90±0,09	2,29±0,09	0,98±0,04	0,80±0,00	0,34±0,03
9-DAU	1,04±0,04	0,82±0,02	1,14±0,04	1,03±0,11	1,34±0,04	0,72±0,02	0,80±0,11	0,70±0,02	0,29±0,02	0,23±0,01
10-DAU	0,93±0,09	1,02±0,36	1,75±0,15	0,58±0,02	2,31±0,06	0,63±0,01	1,06±0,06	0,51±0,04	0,62±0,01	0,28±0,04
11-DAU	0,94±0,03	0,21±0,01	3,32±0,22	0,92±0,03	3,66±0,12	0,42±0,01	1,77±0,04	0,95±0,04	0,20±0,00	0,58±0,02
12-DAU	1,22±0,05	0,29±0,04	1,12±0,04	2,16±0,03	2,25±0,06	0,55±0,02	1,96±0,04	0,73±0,09	0,25±0,02	0,58±0,00
23-DAU	1,69±0,13	1,02±0,04	0,89±0,27	1,34±0,06	1,69±0,27	1,34±0,18	1,39±0,20	0,37±0,03	0,59±0,05	0,27±0,01
44-DAU	0,22±0,01	0,02±0,00	1,34±0,19	2,13±0,19	2,82±0,41	1,99±0,27	1,25±0,10	0,34±0,02	0,63±0,02	0,65±0,04
45/46-DAU	0,72±0,01	0,67±0,02	1,46±0,29	0,95±0,02	1,13±0,16	1,47±0,04	1,32±0,04	0,22±0,01	0,41±0,02	0,18±0,00

Уже первые пробные эксперименты по синтезу аминоконъюгатов DAU с двумя лактонами девяссила (алантолактоном и изоалантолактоном) и проверке их цитотоксической активности показали, что активность конъюгатов на нескольких опухолевых линиях довольно высока и близка к активности исходного DAU или превосходит его [410] [411]. Далее, прежде всего для ограниченной серии конъюгатов DAU, полученных при реакции с СЛ девяссила и их эпоксидами, было проведено тестирование на предмет цитотоксической активности на расширенной панели адгезивных (Табл.8) и суспензионных (Табл.9) опухолевых линий человека. Кроме того, для них проверена активность в отношении нескольких нормальных клеточных линий (см. далее и Табл.10). По результатам оценки цитотоксичности этих соединений на панели клеточных линий можно выделить несколько наиболее отличительных особенностей для конъюгатов по отдельности: **2-DAU** в 2,3 раза менее токсичен по отношению к нормальным клеткам MDCK-M, по сравнению с исходным DAU; **1-DAU** оказался часто активнее исходного DAU, а также почти в 2 раза менее токсичным для нормальных клеток MDCK-M; **23-DAU** проявил большую токсичность на клетках рабдомиосаркомы RD, чем исходный антрациклиновый антибиотик, а также был более токсичным на нормальных клетках HEK-293, не на MDCK-M; **SL4-DAU** в 1,7 раза активнее исходного DAU на клетках A549, в 8 раз для HCT116 и почти в 1,5 раза менее токсичен на нормальных клетках HEK-293; **7-DAU** проявил меньшую токсичность на нормальных клетках HEK-293 (в 1,5 раза), чем исходный антрациклин; **45/46-DAU** активнее исходного DAU по отношению к линиям MCF-7 и RD, но в 3 раза токсичнее для HEK-293.

Таблица 2 Цитотоксичность конъюгатов СЛ с даунорубицином в отношении суспензионных клеточных линий

Соединения	IC ₅₀ (мкМ/л)		
	HL-60 <i>(лейкемия человека)</i>	Jurkat <i>(Т-лимфобластная лейкемия)</i>	K-562 <i>(миелогенный лейкоз человека)</i>
DAU	0,27±0,01	0,68±0,03	0,84±0,05
1-DAU	0,89±0,06	0,30±0,00	3,19±0,12
2-DAU	1,16±0,04	0,57±0,02	7,49±0,18
5-DAU	0,40±0,02	0,30±0,02	6,37±0,26
6-DAU	0,72±0,01	0,18±0,01	4,82±0,20
7-DAU	0,83±0,05	0,28±0,04	6,71±0,61
9-DAU	1,04±0,06	0,39±0,02	2,91±0,16
10-DAU	0,17±0,01	0,16±0,01	3,05±0,15
11-DAU	0,48±0,02	0,89±0,04	3,25±0,16
12-DAU	0,74±0,03	0,21±0,01	5,43±0,61
23-DAU	0,60±0,02	0,29±0,02	3,51±0,23
44-DAU	0,71±0,02	0,66±0,06	2,66±0,13
45/46-DAU	0,59±0,04	0,27±0,02	4,22±0,13

Результаты, полученные при исследовании конъюгатов с даунорубицином, оказались более интересными чем для аналогичных конъюгатов с DOX. Так же, как и в опытах с DOX, наиболее чувствительными к действию конъюгатов оказались культуры HeLa и PANC-1. Однако, кроме того, конъюгаты лактонов с DAU прекрасно показали себя в отношении линии MCF7, а особенно RD и Jurkat, в отношении которых практически все соединения были такими же цитотоксичными, как препарат сравнения даунорубицин. Остаток лактона не стоит рассматривать просто как объемный гидрофобный заместитель поскольку конъюгаты DAU даже с близким строением остатка от лактона могут обладать отличающейся в разы цитотоксичностью [412] [413]. В следствии в целом бóльшей активности производных DAU было принято решение синтезировать конъюгаты с лактонами телекинового ряда и ряда костунолида, используя только даунорубицин в качестве исходного антрациклинового антибиотика для синтеза.

Таблица 3 Цитотоксическая активность серии конъюгатов DAU и СЛ против нормальных клеток

Соединение	IC ₅₀ (мкМ/л)				k=norm/tum
	FLECH-T (эмбриональные фибробласты легкого человека)	HEK-293 (псевдонормальная почка человека)	MDCK-M (псевдонормальная почка собаки)	NIH/3T3 (эмбриональные фибробласты мышь)	
DAU	9,95±0,31	3,60±0,34	0,33±0,13 b	1,15±0,03	4,4
1-DAU	1,24±0,21	3,45±0,21	1,05±0,02	1,12±0,27	1,9
2-DAU	2,78±0,30	2,32±0,04	1,47±0,07	4,47±0,42	1,1
5-DAU	8,11±0,51	1,09±0,10	0,38±0,02	0,31±0,02	1,6
6-DAU	1,59±0,07	1,30±0,05	1,09±0,12	1,53±0,04	1,3
7-DAU	3,35±0,10	9,52±0,10	1,10±0,02	4,14±0,35	2,7
9-DAU	9,55±0,42	0,27±0,05	0,55±0,07	1,79±0,04	3,0
10-DAU	1,48±0,05	0,51±0,00	1,58±0,05	2,19±0,05	1,4
11-DAU	2,86±0,11	0,88±0,08	1,66±0,03	4,42±0,03	2,3
12-DAU	5,74±0,18	3,37±0,04	0,57±0,01	3,13±0,20	2,1
23-DAU	1,32±0,06	6,37±0,24	1,00±0,07	1,61±0,24	2,7
44-DAU	1,61±0,13	11,41±0,53	0,89±0,03	0,46±0,01	3,0
45/46-DAU	2,52±0,05	2,05±0,09	0,61±0,03	0,60±0,02	1,4

По результатам оценки цитотоксичности новых конъюгатов сделаны следующие выводы: **5-DAU** активнее исходного DAU в 2 раза для HCT116 и почти в 3 раза для MCF7 (однако токсичнее на нормальных HEK-293); **6-DAU** в 3 раза активнее DAU для MCF7 (в 3.5 раза токсичнее на нормальных HEK-293); **12-DAU** в 3 раза активнее DAU для MCF7 и RD (в 2.4 раза токсичнее на HEK-293); **11-DAU** почти в 2 раза активнее исходного DAU для A549, в 4,3 раза для MCF7 и в 3,4 раза для RD (но значительно токсичнее на HEK-293); **10-DAU** в 3 раза активнее DAU для MCF7 и значительно токсичнее на HEK-293; **9-DAU** в 2,5 раза активнее DAU для MCF7 и RD MCF7 и значительно токсичнее на HEK-293. На основании полученных данных можно

выделить в качестве наиболее активного конъюгат даунорубидина с сантамарином **11-DAU**. По результатам всего эксперимента установили, что пять конъюгатов лактонов с DAU проявили цитотоксичность, сравнимую или превышающую цитотоксичность даунорубидина в отношении большинства использованных опухолевых клеточных культур. Это соединения **1-DAU** (алантолактон-даунорубидин), **44-DAU** (эпоксизоалантолактон-даунорубидин), **45/46-DAU** (эпоксиаллоалантолактон-даунорубидин), **9-DAU** (дегидрокостуслактон-даунорубидин) и **10-DAU** (костунолид-даунорубидин).

Таблица 4 Цитотоксическая активность второй серии конъюгатов DAU с СЛ

Соединение	IC ₅₀ (мкМ/л)				
	A549 (карцинома легкого)	RD (рабдомио- саркома)	MCF7 (аденокарцинома молочной железы)	HCT116 (карцинома толстого кишечника)	HEK293 (эмбриональный почечный эпителий)
DAU	0,51±0,01	2,45±0,07	1,44±0,31	0,21±0,00	11,17±0,19
8-DAU	0,12±0,01	- ^a	3,72±0,07	0,27±0,01	0,04±0,00
13-DAU	0,51±0,04	0,62±0,07	0,81±0,04	0,94±0,10	0,29±0,06
20-DAU	2,01±0,38	1,37±0,04	0,42±0,02	0,86±0,02	0,56±0,02
	0,17±0,00	0,26±0,03		0,16±0,01	0,27±0,01
22-DAU	2,23±0,10	- ^a	4,32±0,28	2,46±0,1	1,83±0,08
26-DAU	0,58±0,03	- ^a	7,51±0,22	0,22±0,02	0,09±0,00
28-DAU	0,35±0,02	- ^a	0,41±0,02	0,24±0,02	0,05±0,00
29-DAU (А-изомер)	0,18±0,01	- ^a	10,56±0,59	0,91±0,01	0,15±0,01
29-DAU (В-изомер)	0,16±0,03	- ^a	9,86±0,92	0,90±0,04	0,12±0,01
30-DAU	0,20±0,04	- ^a	2,74±0,04	0,69±0,07	0,09±0,00
31-DAU	0,16±0,02	- ^a	4,29±0,89	1,17±0,06	0,17±0,01
32-DAU (А-изомер)	0,79±0,04	- ^a	9,36±0,93	2,18±0,08	0,30±0,01
32-DAU (В-изомер)	0,29±0,01	- ^a	7,48±0,68	0,59±0,08	0,13±0,00
40-DAU	1,08±0,06	- ^a	1,72±0,18	0,25±0,02	0,09±0,01
42-DAU	3,07±0,24	- ^a	5,21±0,21	0,98±0,08	0,20±0,00
52-DAU	5,43 ±0,16	4,22 ±0,10	6,03 ±0,11	0,92 ±0,00	10,49±0,88
53-DAU	1,87±0,07	1,03 ±0,02	2,34 ±0,01	0,43 ±0,02	16,42 ±1,07
54-DAU	0,51±0,08	- ^a	5,89±0,11	2,41±0,05	0,28±0,04
56-DAU	0,15±0,03	- ^a	3,60±0,12	0,87±0,05	0,23±0,02
59-DAU	0,51±0,05	- ^a	2,05±0,03	0,77±0,03	0,07±0,00
63-DAU	0,77±0,03	0,73±0,05	0,54±0,10	0,60±0,00	0,27±0,01

Для прогнозирования токсичности все соединения были протестированы в отношении нормальных клеточных линий млекопитающих FLECH-T, НЕК-293, МДСК-М и НИН/3Т3. Цитотоксичность была определена *in vitro* в МТТ-тесте. Данные по цитотоксичности приведены в табл. 10. В последнем столбце для производных даунорубицина приведен коэффициент избирательности, равный отношению средней IC50 для всех нормальных клеточных линий к средней IC50 для всех опухолевых клеточных линий, некий аналог широты терапевтического действия в опытах *in vivo*. Большая часть конъюгатов не обладает селективной токсичностью по отношению к опухолевым клеточным линиям. Те соединения, которые оказывают высокую цитотоксичность в отношении опухолевых клеток (**1-DAU**, **45/46-DAU**, **10-DAU**), проявляют высокую цитотоксичность и по отношению к нормальным линиям клеток. Стоит выделить только два конъюгата **44-DAU** и **9-DAU**, которые при цитотоксичности, равной цитотоксичности даунорубицина в отношении большинства опухолевых культур, продемонстрировали меньшую цитотоксичность по отношению к нормальным клеточным линиям, приближенную к даунорубицину. Эти два соединения были признаны нами соединениями-хитами и подвергнуты далее испытаниям на острую токсичность в опытах *in vivo*.

Вторая серия конъюгатов DAU с расширенным набором СЛ была испытана на предмет цитотоксической активности на более ограниченной панели клеточных опухолевых линий (табл.11). Здесь для оценки селективности конъюгатов к опухолевым клеткам в качестве нормальной линии клеток человека была выбрана псевдонормальная линия клеток эмбрионального почечного эпителия человека НЕК293. В дополнении к протестированным ранее, многие новые конъюгаты DAU показали высокую цитотоксичность иногда на порядок превосходя DAU по активности. Среди протестированных соединений этой серии стоит выделить конъюгат DAU с гроссгеминном (**20-DAU**) который оказался высокоактивным против всех четырех опухолевых линий, но для него также возрастала активность и против псевдонормальной линии НЕК293.

Более наглядно результаты испытаний цитотоксичности конъюгатов даунорубицина можно представить если изобразить их на графике, где данные IC50 отложены по оси ординат, а по оси абсцисс одновременно отложены значения IC50 для псевдонормальной линии (НЕК293). Для тех соединений, для которых есть одновременно установленные значения IC50 для пар из одной из опухолевой линий и для НЕК293, такой график приведен ниже (рис.70). График составлен в логарифмической шкале, т.е. $pIC_{50}=6$ соответствует 1 мкМ, $pIC_{50}=7$ соответствует 0,1 мкМ и так далее. Синяя диагональная линия показывает расположение точек с равной IC50 как для опухолевой, так и для нормальной клеточной линии. Соответственно, все что выше соответствует соединениям более токсичными для опухолевых клеток, что ниже – соединения более токсичными для нормальной линии НЕК293. Во-первых, можно сравнивать соединения

между собой только по активности в отношении отдельной опухолевой линии. В этом случае чем выше по оси ординат, тем соединение активнее в абсолютных величинах. Во-вторых, можно наоборот предпочесть те соединения, где есть наибольшее отношение $IC_{50}[\text{опухолевая линия}]/IC_{50}[\text{HEK293}]$, то есть наиболее далеко отстоящие от диагональной линии при этом не обязательно самые активные. В первом случае тогда стоит выбрать **8-DAU** (SL18-DAU) для линии A549, **11-DAU** (SL72-DAU) для линий RD и MCF7, **44-DAU** (SL4-DAU) для линии HCT116. Во втором случае предпочтение стоит отдать **44-DAU** (SL4-DAU) для линий A549 и HCT116, **7-DAU** (SL05-DAU) для линий MCF7 и RD, веществу не очень активному, но максимально нетоксичному для псевдонормальной линии. По совокупности характеристик на графике стоит также выделить конъюгаты с рейнозином (**12-DAU**, SL73-DAU), гроссгеминном (**20-DAU**, SL69-DAU) и алантолактоном (**1-DAU**, SL2-DAU).

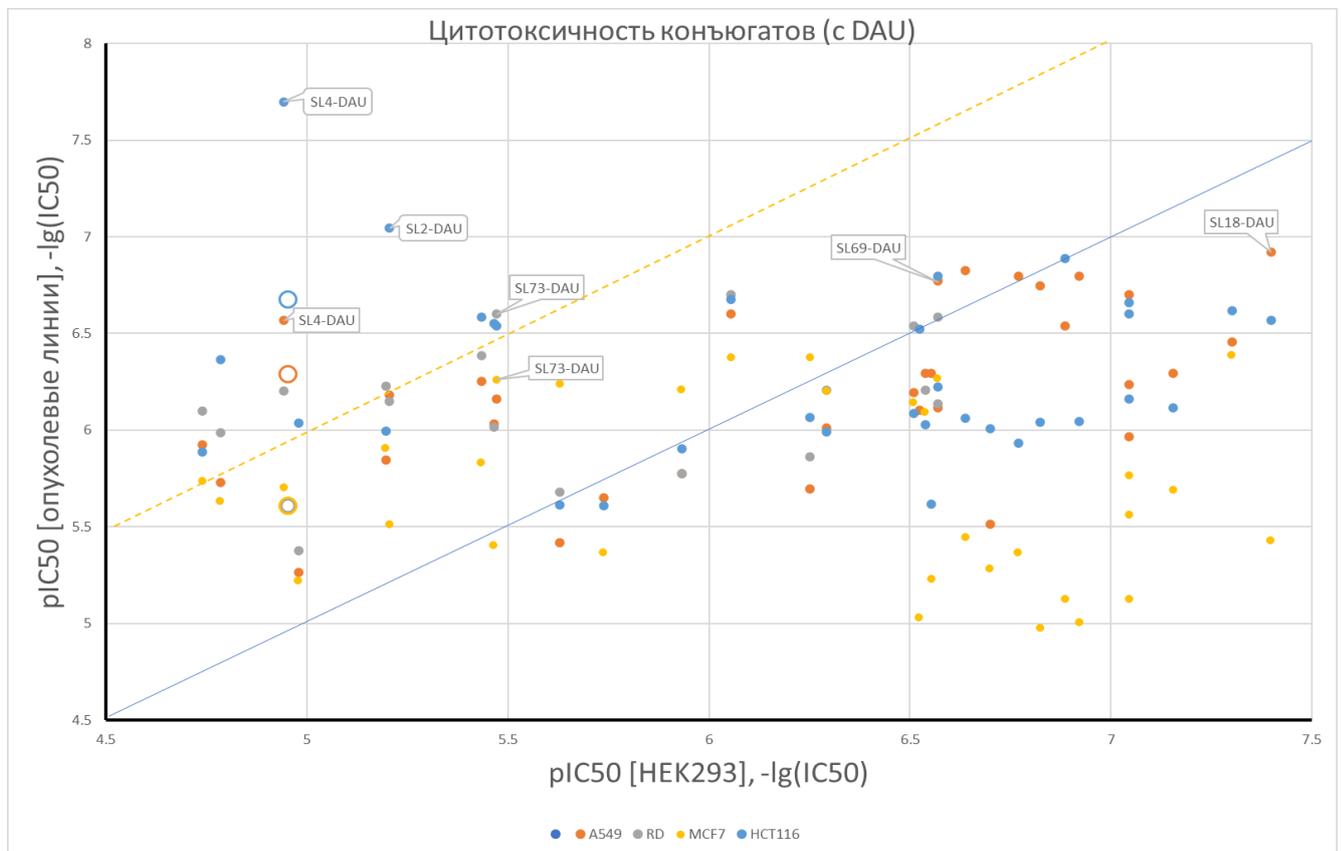


Рисунок 70 Диаграмма сравнения цитотоксичности конъюгатов DAU с сесквитерпеновыми лактонами. Полыми кружками обозначены значения для исходного DAU.

Для проверки возможности конъюгатов DAU к сохранению основного механизма действия исходного антибиотика вызывать подавление синтеза ДНК и затем гибель опухолевых клеток было проведено исследование по оценке их влияния на клеточный цикл и на активацию клеточной гибели по пути апоптоза в дозах, сопоставимых с IC_{50} [416]. Возможность ареста клеточного цикла в опухолевых линиях (HL60, Jurkat, A549 и K562) при действии конъюгатов

DAU определяли также с помощью проточной цитофлуориметрии путем оценки содержания ДНК для определения соотношения клеточных популяций.

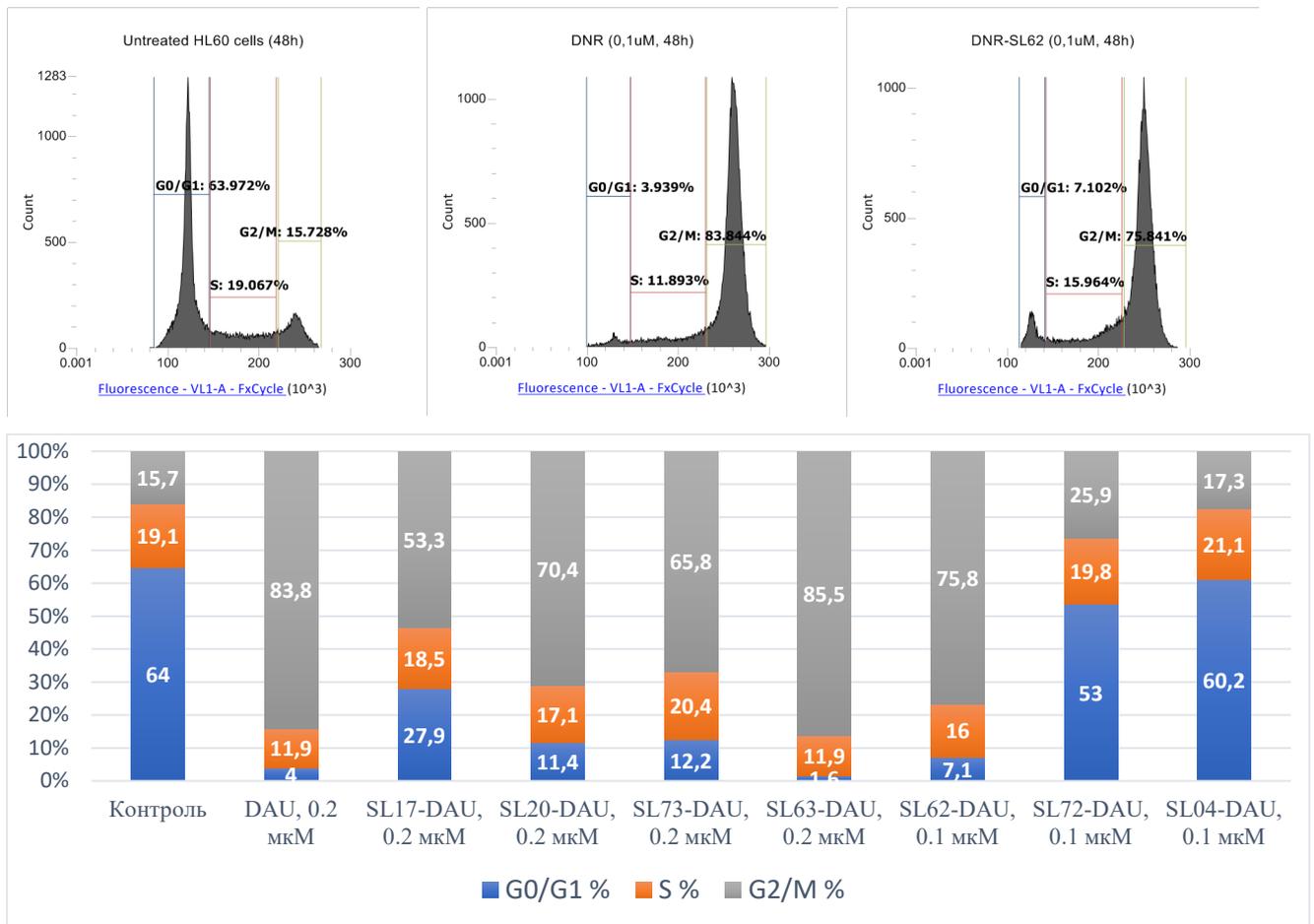


Рисунок 71 А. Гистограммы содержания ДНК в клетках HL-60 по данным проточной цитофлуориметрии после 48 ч в тесте FxCycle™ для необработанных (слева), обработанных DAU (в центре) и обработанных одним из конъюгатов 92-DAU (справа); **В.** Распределение клеток HL-60 по фазам клеточного цикла при обработке конъюгатами DAU и СЛ спустя 48 ч

Обычно считается, что DAU преимущественно влияет на S-фазу клеточного цикла, но проведенные эксперименты свидетельствуют, что немодифицированный DAU для всех протестированных опухолевых линий эффективно вызывал арест клеточного цикла в G2/M фазе (Рис.71А), что видно по накоплению клеток с тетраплоидным набором хромосом. Конъюгаты DAU и СЛ сохраняют сходное с DAU влияние, вызывая накопление клеток в фазе G2/M клеточного цикла. Однако выраженность этих эффектов варьировалась в зависимости от клеточной линии, а также от времени инкубации с соединениями из-за разной скорости пролиферации у разных линий клеток. Для линии суспензионных клеток HL-60 (клетки лейкемии) наиболее выраженный эффект действия DAU достигал спустя 48 ч инкубирования (83,8% клеток в G2/M фазе). Действие протестированных конъюгатов DAU и СЛ на клетки HL-60 также было наиболее выражено спустя 48 ч и приводило к тому, что большая часть клеток

остается в G2/M фазе (53,3-85,5 %) (Рис.71В). Исключение составили конъюгаты с DAU с сантамарином (**11-DAU**) и эпоксиизоалантолактоном (**44-DAU**), где эффект был меньше. Наиболее активны в отношении клеток линии HL60 были соединения **9-DNR** и **10-DNR**. Эффект при инкубировании в течение 24 ч был менее выраженным для всех конъюгатов.

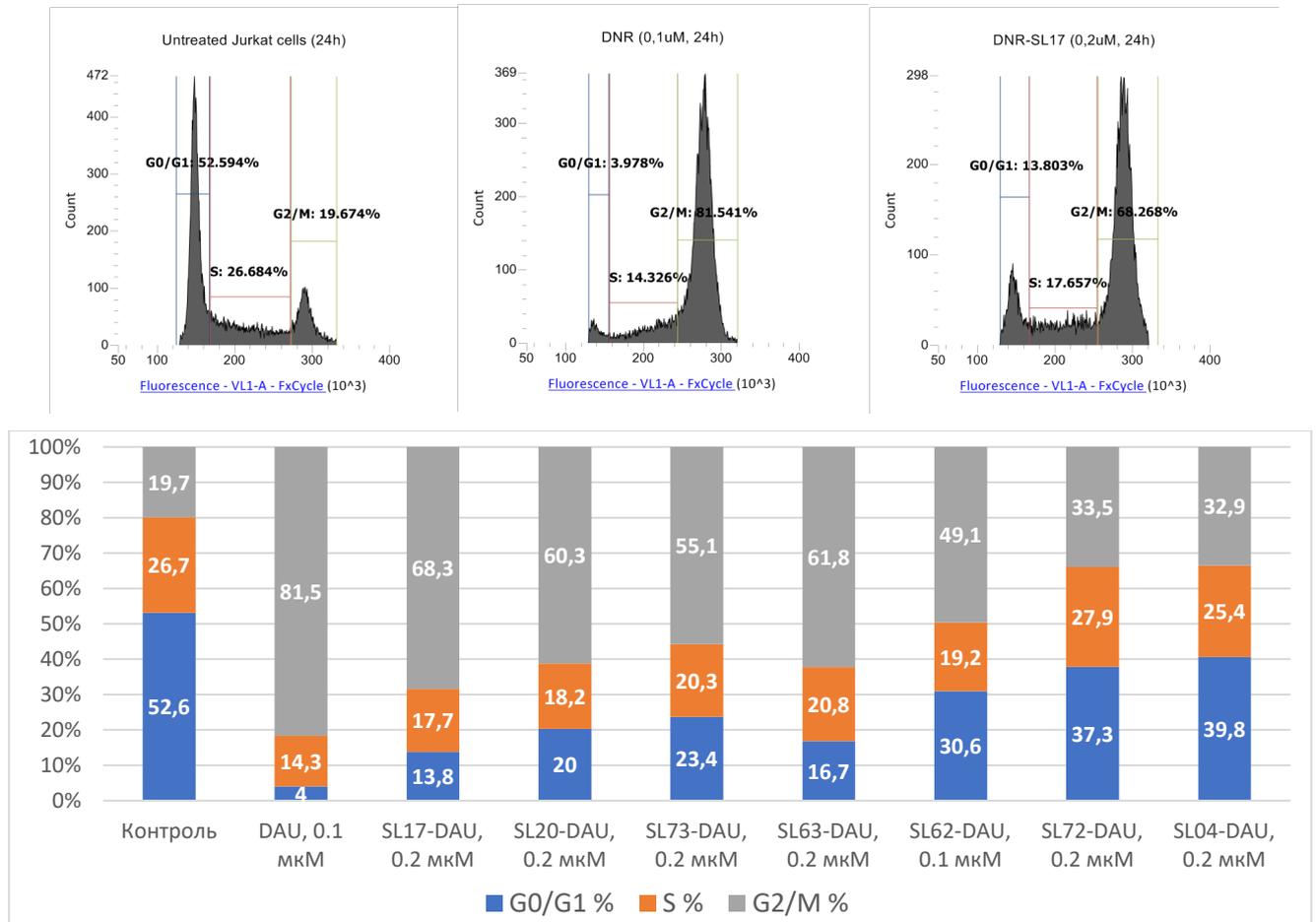


Рисунок 72 А. Гистограммы содержания ДНК в клетках Jurkat по данным проточной цитофлуориметрии после 24 ч в тесте FxCycle™ для необработанных (слева), обработанных DAU (в центре) и обработанных одним из конъюгатов **5-DAU** (справа); **В.** Распределение клеток Jurkat по фазам клеточного цикла при обработке конъюгатами DAU и СЛ спустя 24 ч

Для линии суспензионных клеток Jurkat (клетки Т-клеточной лейкемии) для достижения наиболее выраженного эффекта DAU было достаточно 24 ч инкубирования в дозе 0,1 мкМ (81,5% клеток в G2/M фазе) (Рис.72В). При увеличении дозы DAU или времени инкубирования начинало преобладать накопление клеток в S-фазе. Все из протестированных соединений на клеточной линии Jurkat показали способность подавлять прохождение клеточного цикла в меньшей степени чем DAU при инкубировании также в течение 24 ч, но в разной степени. Только производные с изотелекином (**5-DAU**) и костунолидом (**10-DAU**) сохраняли наиболее близкий к исходному антрациклиновому антибиотику эффект (68.3 % и 61.8 % клеток в G2/M фазе). Также проверена возможность ареста клеточного цикла конъюгатов DAU еще на двух клеточных линий A549 и

K562, где чистый DАU не оказывал настолько полного истощения клеток в G1/G0 фазе. На линии клеток A549 эффект сохраняли конъюгаты с телекином (**6-DAU**), дегидрокостуслактоном (**9-DAU**), костунолидом (**10-DAU**) и рейнозином (**12-DAU**). На клетках линии K562 только **9-DAU** проявлял аналогичную активность в отношении ареста клеток в G2/M фазе клеточного цикла. Итого, наиболее активным из испытанных конъюгатов является соединение **9-DAU**, которое было эффективно на трех линиях клеток (A549, HL60 и K562) и вызывало клеточную остановку, сопоставимую с DАU. Вероятно, модификация лактонами затрудняет доступ и связывание с биомишенями.

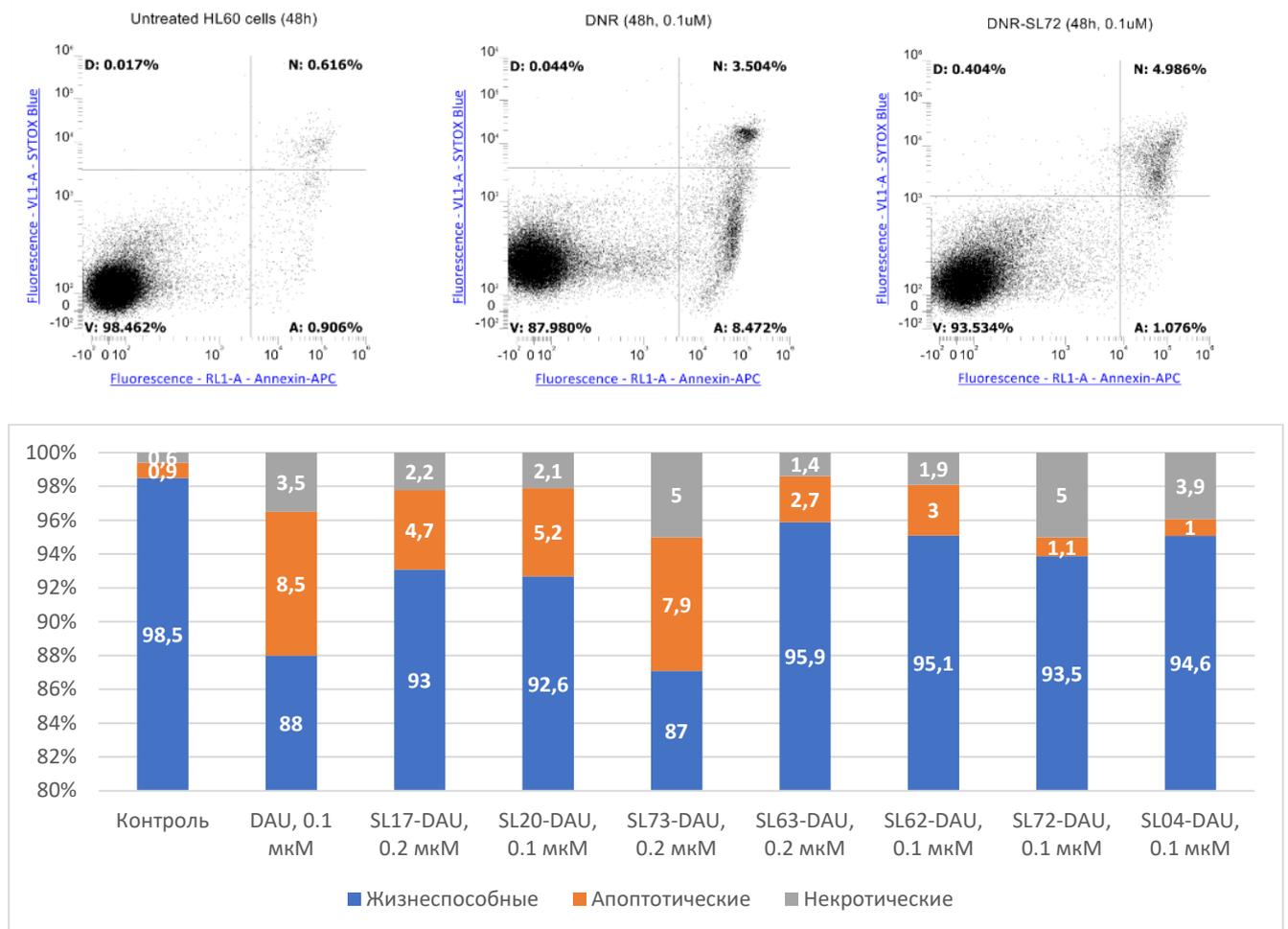


Рисунок 73 А. Дотограммы клетках HL-60 по данным проточной цитофлуориметрии после 24 ч в тесте на индукцию апоптоза для необработанных (слева), обработанных DАU (в центре) и обработанных одним из конъюгатов **11-DAU** (справа); **В.** Распределение клеток HL-60 по популяциям жизнеспособности при обработке конъюгатами DАU и СЛ спустя 48 ч

Оценку влияния на запуск апоптоза определяли по уровню экстернализации фосфатидилсерина и активации каспаз с помощью метода проточной цитофлуориметрии на линиях клеток HL60 и Jurkat, которые наиболее чувствительны к действию конъюгатов. Активность прохождения этих двух процессов была определена в тестах с аллофикоцианин-

меченным Annexin V и SytoxBlue™, типичную картину результата анализа клеток можно увидеть на дотограммах распределения клеток по популяциям (Рис.73А), где: А-апоптотические клетки, V-жизнеспособные, N-некротические, D-поврежденные клетки. Анализ клеток линии HL-60 обработанных немодифицированным DAU в дозе 0,1 мкМ показал, что спустя 24 доля апоптотических и некротических клеток (1,4% и 1,1%) еще очень слабо отличалась от контроля в виде необработанных клеток. И только спустя 48 ч инкубации картина распределения клеток по апоптотической и некротической популяциям становилась достоверно отличной (8,5% и 3,5%). При обработке клеток HL60 прочими соединениями в дозах, близких к IC50 наблюдалась та же картина – спустя 24 ч инкубации картина мало отличалась от необработанных клеток в контроле и только при инкубации в течение 48 часов, содержание апоптотической и некротической популяций статистически значимо отличается от контроля практически у всех соединений (Рис.73В). Наиболее сходным с DAU по действию является конъюгат с реинозином (**12-DAU**).

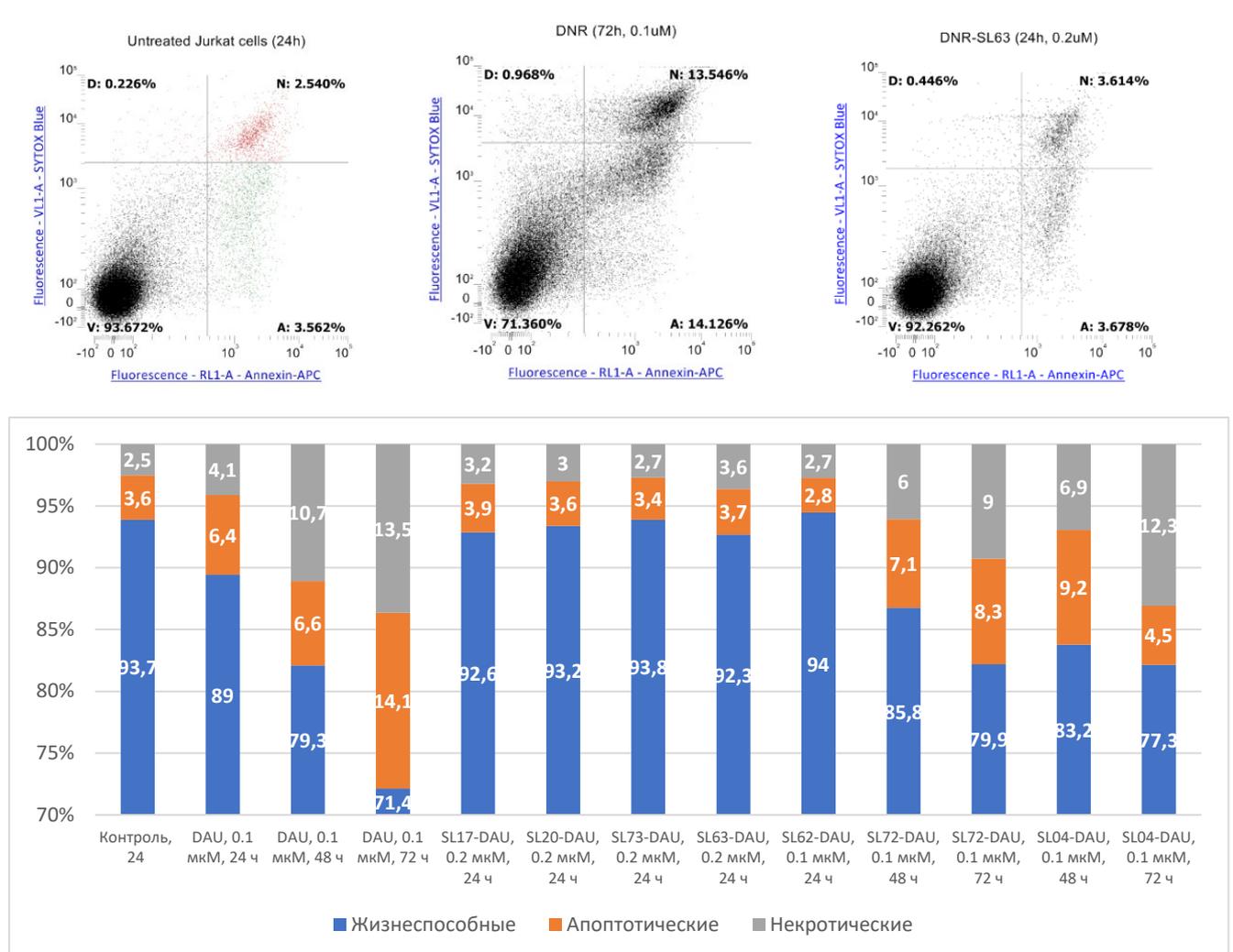


Рисунок 74 А. Дотограммы клетках Jurkat по данным проточной цитофлуорометрии после 24 ч в тесте на индукцию апоптоза для необработанных (слева), обработанных DAU (в центре) и обработанных одним из конъюгатов **10-DAU** (справа); **В.** Распределение клеток Jurkat по популяциям жизнеспособности при обработке конъюгатами DAU и СЛ

Клеткам линии Jurkat требуется меньше времени для проявления эффектов немодифицированного DAU. Так, спустя 6 ч инкубации с антибиотиком картина распределения популяций апоптических и некротических клеток еще не отличается от контроля, однако уже спустя 24 ч появляются видимые изменения. Спустя 48 ч и 72 ч эффект от DAU увеличивается с нарастанием (Рис. 74). При тестировании конъюгатов DAU на линии Jurkat спустя 24 ч количество мертвых клеток было меньше в отличие от немодифицированного DAU и было близко к контролю, наибольший эффект среди них показало производное с костунолидом (**10-DAU**). Большого эффекта в индукции апоптоза удалось достичь при более длительном инкубировании клеток с конъюгатами спустя 48 ч и 72 ч (Рис. 74В, для соединений **44-DAU** и **11-DAU**), но и в этих случаях они несколько уступали по активности DAU. Вероятно, инициация апоптотической гибели клеток является результатом ареста клеточного цикла в фазе G2/M и проявляется только спустя время после достижения накопления клеток в этой фазе.

Острую токсичность DAU и соединений-хитов **44-DAU**, **9-DAU** определяли по экспресс-методике Прозоровского В.Б. [414] на мышях самцах CD1 WT при внутрибрюшинном способе введения. Было установлено, что ЛД₅₀ даунорубина составляет 44,7 (37÷53) мг/кг и относится к группе умеренно токсичных веществ (3 класс токсичности), а ЛД₅₀ соединений **44-DAU** и **9-DAU** превышает 100 мг/кг, что позволяет отнести их к малотоксичным веществам (4 класс токсичности) по классификации Сидорова К.К. [415].

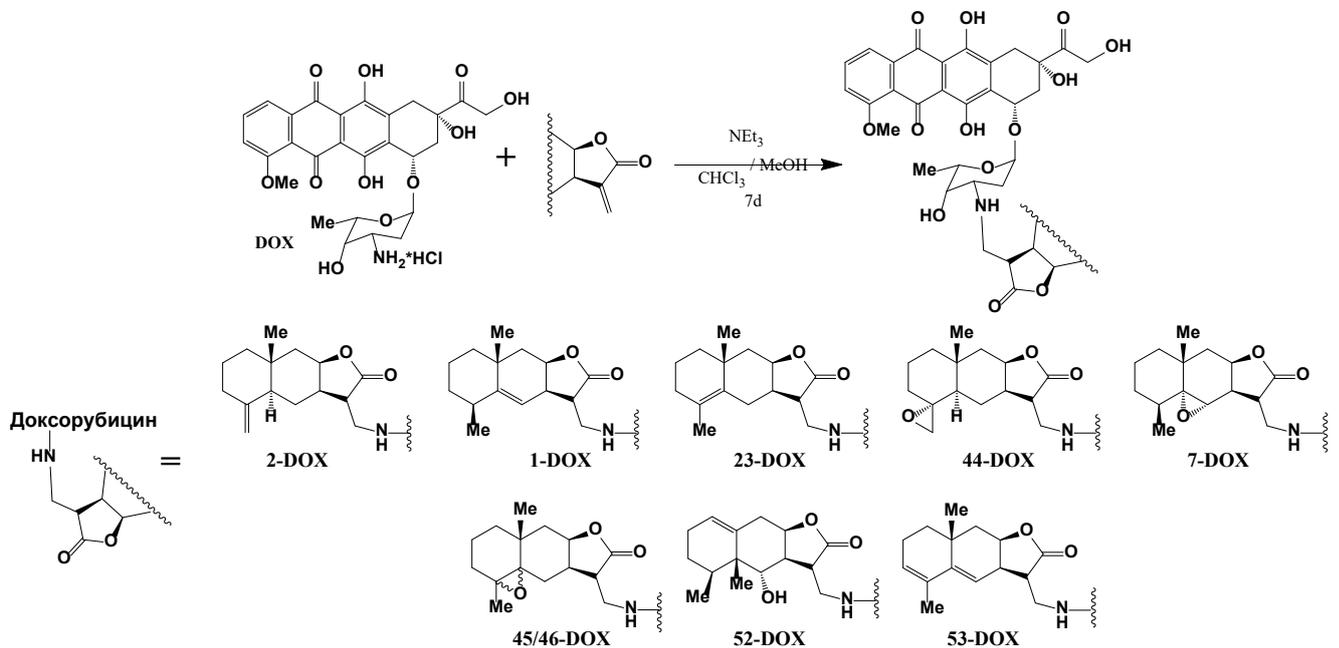


Рисунок 75 Синтез конъюгатов DOX и СЛ по реакции присоединения Михаэля

Другая серия конъюгатов СЛ по реакции аза-Михаэля была получена исходя из другого антрациклинового антибиотика – доксорубина (Рис. 75). Обычно доксорубин считается более клинически значимым противоопухолевым антибиотиком поскольку он эффективен

против многих солидных опухолей, в то время как даунорубин применяется меньше, в основном для лечения лейкозов. Полученные конъюгаты DOX со СЛ были также протестированы на предмет цитотоксической активности на панели опухолевых клеточных линий. Данные приведены в Табл.12.

Таблица 5 Цитотоксическая активность конъюгатов DOX и сесквитерпеновых лактонов

Соединение	IC ₅₀ (мкМ/л)						
	A549	RD	MCF7	HCT116	HeLa	PANC-1	HEK293
DOX	0.38±0.02	0.29±0.02	0.46±0.03	0.14±0.01	2.92±0.62	2.18±0.06	6.78±0.76
1-DOX	3.29±0.11	2.67±0.1	26.76±0.65	4.55±0.03	3.26±0.25	0.81±0.07	29.83±0.18
2-DOX	2.21±0.06	2.41±0.03	11.11±0.17	2.81±0.05	8.24±0.25	2.25±0.24	19.82±0.42
7-DOX	4.52±0.57	2.47±0.07	3.03±0.07	2.52±0.02	1.76±0.03	4.48±0.17	4.50±0.32
23-DOX	3.18±0.09	2.98±0.06	8.41±0.02	1.26±0.05	12.20±0.37	1.50±0.06	11.00±0.11
44-DOX	1.86±0.12	2.76±0.02	5.65±0.22	1.07±0.01	1.98±0.45	1.91±0.06	11.73±0.10
45/46-DOX	0.88±0.11	1.18±0.01	2.94±0.02	0.25±0.04	2.11±0.70	0.91±0.05	0.98±0.23
52-DOX	2.01±0.09	1.95±0.01	1.90±0.07	0.20±0.01	- ^a	- ^a	6.42±0.21
53-DOX	1.87±0.07	1.03±0.02	2.34±0.01	0.43±0.02	- ^a	- ^a	16.42±1.07

Из положительных моментов можно отметить сниженную токсичность нескольких конъюгатов DOX в отношении псевдонормальной линии HEK293. Так **2-DOX** менее токсичен для HEK-293 по сравнению с соответствующим антибиотиком, почти в 3 раза, а **1-DOX** - в 5 раз. Однако, в целом конъюгаты DOX также и обладают меньшей активностью чем аналогичные конъюгаты DAU и СЛ. Также они в основном уступают по силе действия и самому DOX. Среди конъюгатов с DOX можно отметить только соединение **45/46-DOX** (производное эпоксиаллоантолактона), которое в отношении большинства опухолевых культур проявило цитотоксичность близкую с цитотоксичностью препарата сравнения. Стоит отметить, что наиболее чувствительными к действию исследуемых соединений оказались культуры HeLa и PANC-1. Хотя в последующем исследовании конъюгаты DOX продемонстрировали меньшую склонность к вмешательству в процессы энергетического метаболизма по сравнению с исходным антибиотиком и показывали меньшую степень перекисного окисления липидов [417], что потенциально должно снижать их токсичность для организма.

Предполагается, что ранее полученные конъюгаты DAU и DOX способствуют уменьшению негативного влияния АФК на клетки за счет антиоксидантных свойств новообразованной связи сесквитерпеновый лактон-азот в составе молекул конъюгата. Еще более снизить повреждающее действие АФК на клетки, в том числе и кардиомиоциты, способна такая модификация молекулы, которая препятствует самому факту образования АФК. Примером такой модификации служит конверсия хинонового ядра хромофора DAU в форму иминохинона. Преимущество данной модификации состоит в том, что антрациклиновый антибиотик при этом

не утрачивает цитотоксических свойств. Методы прямой модификации хромофора DAU, обычно как трудоемки, так и не имеют большого смысла ввиду нарушения эффективного ингибирования топоизомеразы II продуктами синтеза. Однако, при несложной реакции DAU с аммиаком в метаноле удастся получить версию даунорубицина с измененным хромофором – 5-имино-даунорубицин (5-ID). При этом у антибиотика появляются новые свойства: изменение окраски с красной на сине-пурпурную, отсутствие нежелательного эффекта образования АФК *in vivo* и резкое снижение кардиотоксичности [279] (см. литературный обзор).

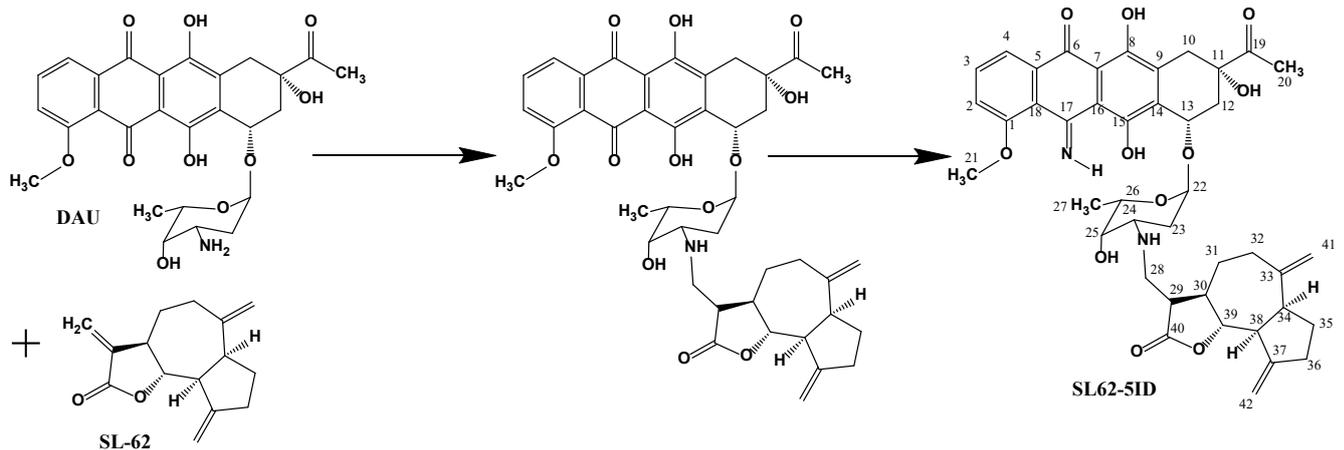


Рисунок 76 Синтез конъюгатов 5-ID

Эту же реакцию удалось повторить и для нескольких конъюгатов DAU с неполярными сесквитерпеновыми лактонами **1**, **2** и **9**. Действием на конъюгаты DAU метанольного раствора аммиака были синтезированы соответствующие 5-имино аналоги этих конъюгатов. В частности, получены N-алкильные конъюгаты 5-иминодаунорубицина с изоалантолактоном (**2-5ID**), алантолактоном (**1-5ID**) и дегидрокостус-лактоном (**9-5ID**). Сам 5-ID также был получен по этой методике. Полученные конъюгаты **1-5ID** и **2-5ID** оказались более активными *in vitro* на линиях клеток HeLa и MCF7 чем чистый 5-имино-даунорубицин, в то же время конъюгат с дегидрокостус-лактоном (**9-5ID**) наоборот еще сильнее терял в активности. Таким образом, замена антрациклина в конъюгатах с DAU на 5-ID позволяет объединить в одной молекуле сразу три подхода к уменьшению антрациклиновой кардиотоксичности: 1) введение небольшого N-алкильного фрагмента липофильной природы; 2) антиоксидантное влияние связи “лактон-амин”; 3) снижение образования АФК самим антрациклином за счет использования агликона антрациклина в имино-форме. У конъюгата такого рода в отличие от незамещенного 5-ID должны появиться некоторые полезные свойства. А именно: наличие липофильного фрагмента в виде остатка СЛ должно облегчать проникновение молекул конъюгата 5-ID через клеточную мембрану; есть основания считать, что модификация этим же остатком по аминсахару лишает антрациклин возможности быть субстратом для Р-gp мембранного транспортера; аналогичные конъюгаты DAU с СЛ зачастую обладают более высокой цитотоксичностью чем исходный

антибиотик по отношению к опухолевым клеткам, этого же можно ожидать и от аналогичных конъюгатов с 5-имино-даунорубицином, а значит для достижения терапевтического эффекта можно использовать меньшую их концентрацию в плазме крови.

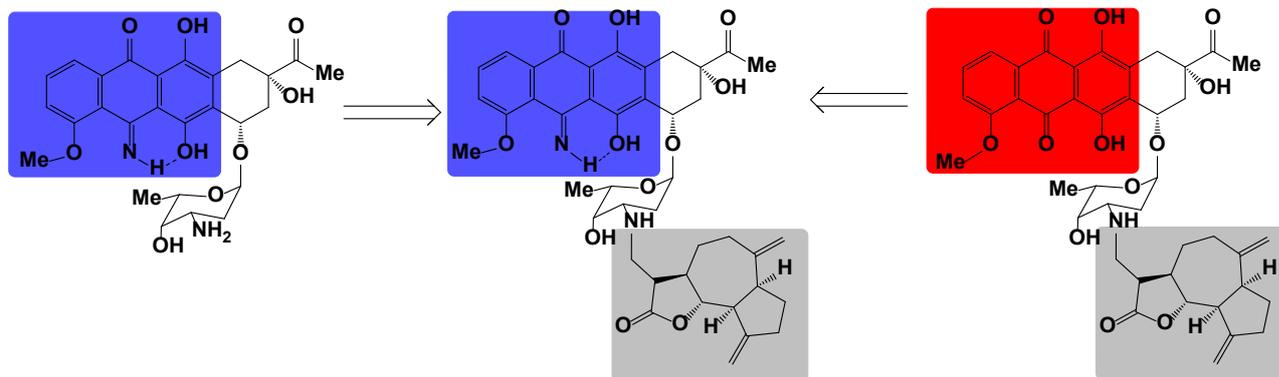


Рисунок 77 Принцип объединения в одной молекуле фрагмента из 5-иминодаунорубицина и N-алкильных фрагментов

Поскольку при применении антрациклиновых антибиотиков важной проблемой является снижение активности вследствие развития резистентности опухолевых клеток, нами было проведено исследование цитотоксичности одного из перспективных конъюгатов (**44-DAU**) в отношении резистентной к DAU линии клеток. Развитие резистентности связывают со взаимодействием между препаратами и транспортными MDR-белками. В случае с DAU и DOX их транспортер Р-гликопротеин присоединяется через атом N3' глюкозамина. Введение заместителя в DAU в виде остатка от сесквитерпенового лактона в положение N-3', позволяет предположить, что такие конъюгаты будут проявлять отсутствие или снижение развития резистентности.

Таблица 6 Цитотоксическая активность 5-имино-даунорубицина и его конъюгатов с СЛ

Соединение	Формула исходного лактона	IC ₅₀ (мкМ/л)				
		HeLa (карцинома шейки матки)	A549 (карцинома легкого)	MCF7 (аденокарцинома молочной железы)	HCT116 (карцинома толстого кишечника)	HEK293 (эмбриональный почечный эпителий)
DAU	---	0.26±0.02	0.53±0.05	2.44±0.07	0.29±0.01	0.03±0.00
5-ID		5.39±0.60	1.84±0.06	2.91±0.11	0.08±0.00	0.06±0.00
1-5ID		2.56±0.47	1.34±0.04	0.97±0.05	2.96±0.05	1.74±0.05
2-5ID		2.77±0.32	3.73±0.24	4.06±0.52	3.83±0.09	0.56±0.04
9-5ID		9.39±0.66	23.29±0.86	52.44±2.33	21.36±3.13	9.97±0.29

В нашей лаборатории из линии клеток K562 путем продолжительного культивирования под воздействием увеличивающихся доз даунорубицина была получена резистентная к даунорубицину линия клеток K562/DNR. Обе линии – родительскую K562 и резистентную K562/DNR параллельно подвергали воздействию DAU и **44-DAU** в диапазоне доз от 100 до 0,1 мкМ в течение 24, 48 и 72 часов, после чего определили цитотоксичность в тесте с ресазурином с вычислением IC₅₀. Результаты представлены в Табл. 14.

Таблица 7 Сравнение цитотоксичности DAU и SL04-DAU по отношению к резистентной к даунорубицину (K562/DNR) и родительской линии клеток (K562) в тесте с ресазурином

Культура	Соединение	IC ₅₀ , μМ		
		24 часа	48 часов	72 часа
K562	DAU	23,48±0,02	0,74±0,03	0,42±0,04
	44-DAU	7,83±0,25*	2,48±0,07*	0,69±0,00*
K562/DNR	DAU	64,82±0,68	68,26±0,37	80,73±0,89
	44-DAU	20,26±0,19*	12,19±0,18*	17,84±0,74*

* p≤0,05 по отношению к клеткам, подвергнутым воздействию DAU.

Согласно данным, приведенным в таблице, цитотоксичность соединений по отношению к линии K562 в течение 3 суток развивается по нарастающей. Если через одни сутки 50%-ная ингибирующая концентрация даунорубицина в 3 раза больше, чем **44-DAU**, то к 72 часам инкубации даунорубицин становится токсичнее **44-DAU**. Совершенно иная картина открывается при исследовании цитотоксичности в отношении резистентной линии клеток K562/DNR. Даунорубицин становится менее токсичным на всем протяжении опыта: его IC₅₀ приблизительно в 3, 100 и 200 раз выше, чем в отношении родительской K562 через 24, 48 и 72 часа воздействия соответственно. Конъюгат **44-DAU** демонстрирует меньшее снижение цитотоксичности – в 3, 5 и 25 раз через 24, 48 и 72 часа соответственно, на всем протяжении опыта оставаясь достоверно более активным соединением, чем даунорубицин.

Наконец, стоит остановиться на нескольких случаях, когда синтез аддуктов Михаэля из антрациклинов и СЛ сопровождался побочными реакциями и не приводил к первоначально ожидаемому продукту. Гермакрановый лактон кницин (**16**) имеет в составе сразу две активных экзометиленовых группы и соответственно сразу два сайта присоединения амина. Ожидалось что реакция взаимодействия кницина с амином-даунорубицином даже в случае прохождения по обеим группам в итоге приведет к продукту моно-присоединения (**16-DAU**) по лактонному циклу. Однако как основной окрашенный продукт реакции был выделен аддукт DAU и лактона утратившего ацильный заместитель. При этом было возможно три варианта: 1) лактонная часть представляет собой салонитенолид; 2) лактонная часть – артемизиафолин, продукт перелактонизации предыдущего лактона; 3) лактонная часть – продукт циклизации гермакранового кольца. Сравнением с литературными спектрами ЯМР лактонов установлено,

что основной продукт от реакции кнущина и DAU – это конъюгат DAU с салонитенолидом (**17-DAU**) (Рис.78В). Прочие продукты образовывались видимо соответствовали множеству возможных комбинаций присоединения молекул амина и электрофильными группами кнущина, первоначально проявляясь на ТСХ в виде густой лестницы полос. Из реакционной смеси DAU с другим гермакрановым лактоном, онопордиоопикрином (**19**), также удалось установить строение только одного из продуктов с аналогичной структурой – конъюгата DAU с салонитенолидом (**17-DAU**).

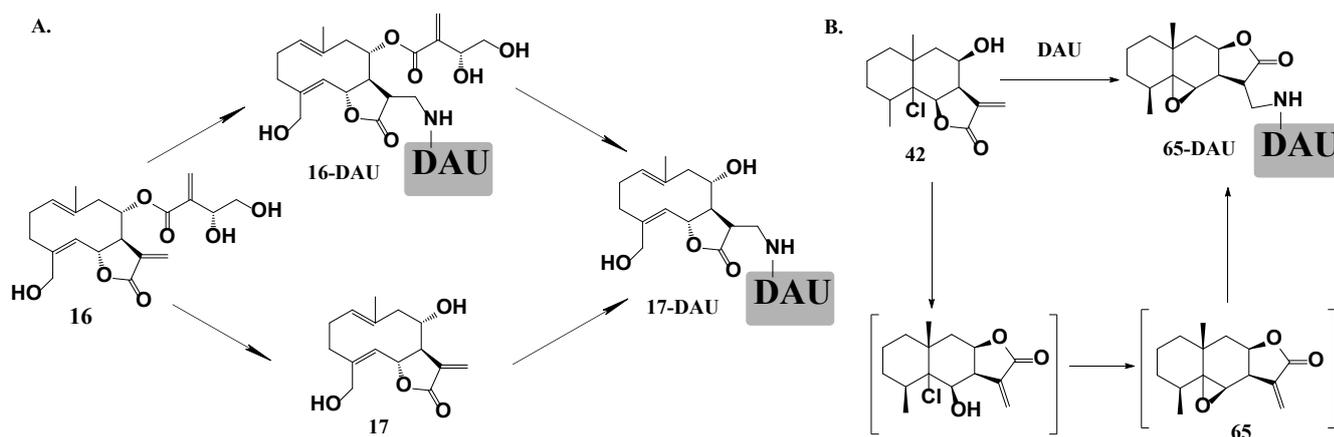


Рисунок 78 Побочные реакции при ацилировании даунорубицина сесквитерпеновыми лактонами

Другой неожиданный продукт был обнаружен при реакции присоединения DAU к лактону **42**, полученному по реакции хлорлактонизации алантовой кислоты. Выделенный продукт реакции не мог быть описан по ЯМР как аддукт лактона **42** и DAU вместо этого он должен был отвечать структуре лактона, претерпевшего обратную перелактонизацию и имеющего эпоксидный цикл. Примерно такому же строению отвечает уже известный лактон – эпоксиалантолактон (**7**), который, однако, имеет схожий, но отличный спектр. По-видимому, новому продукту присоединения соответствует конъюгат DAU и 5-эпи-эпоксиалантолактона (**65-DAU**) (Рис.78В).

Из-за побочных реакций не удалось получить нужный конъюгат DAU и артемизинина, лактона с эндопероксидным мостиком. Артемизинин является коммерчески доступным СЛ, однако он не имеет экзометиленовой группы при лактонном цикле и не способен вступать в реакции присоединения аза-Михаэля. Его аналог с экзометиленовой группой при лактонном цикле, СЛ артемизитен (**66**), синтезирован из дигидроартемизинина (ДНА, **67**), полученного при восстановлении артемизинина боргидридом натрия. Методика синтеза артемизитена (**66**) заключается в дегидрировании ДНА с образованием ангидродигидроартемизинина (**68**), который далее при действии синглетного кислорода дает гидропероксид (Рис.79А). Последний на третьем этапе при действии уксусного ангидрида в пиридине образует нужный лактон **66**. В ходе выполнения настоящей диссертации была проведена отдельная большая работа по оптимизации

этапа синтеза с синглетным кислородом который является узким в получении **66**. В итоге были найдены условия пригодные для синтеза артемизитена в многограммовых масштабах. Однако, все попытки осуществить реакцию присоединения DAU и лактона артемизитена (**66**) не привели к ожидаемому продукту. Реакции DAU и **66** сопровождалась образованием сразу нескольких продуктов сложных для выделения как индивидуальные вещества. Тем не менее, каждый раз в реакционной смеси всегда наблюдалось образование трех продуктов в разных соотношениях, один из не был растворим в хлороформе и не подходил на роль конъюгата **66-DAU** (Рис.79Б). После очистки двух других анализ 2D-ЯМР спектров позволил установить, что ни один из них не соответствует ожидаемому продукту. Этим веществам не получилось приписать какого-то определенного строения. Масс-спектры (Q-MS) продуктов показывали, что им соответствуют массы 820,500 Да и 776,583 Да (в H^+ форме). Сложно предположить какие модификации могли бы привести к веществам с такими массами. По ЯМР спектрам всем их сопутствовала не только деградация структуры лактона, но также и деградация аминосахарного кольца даунорубидина сопровождающаяся утратой характерных кросс-пиков. По-видимому, это связано с повышенной реакционной способностью эндопероксидного цикла в остатке артемизинина.

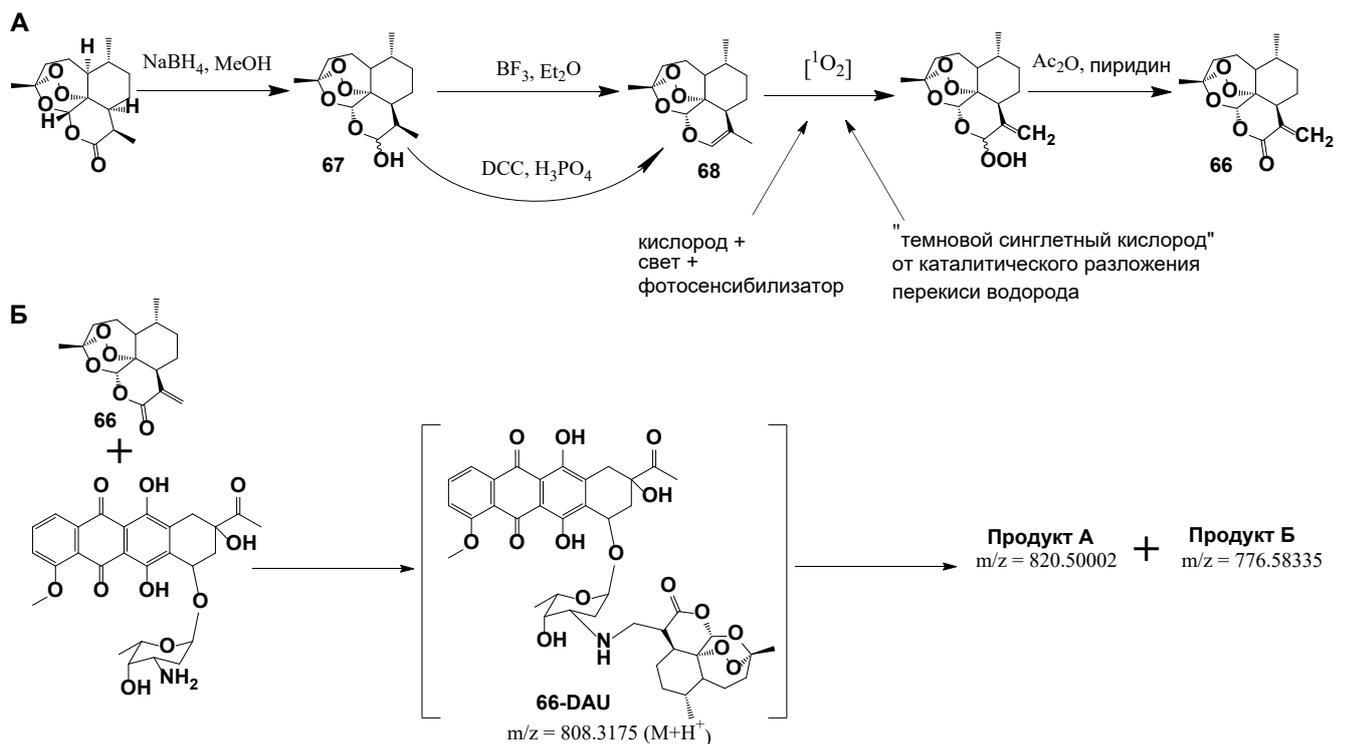


Рисунок 79 А. Синтез лактона артемизитена; **Б.** Реакция артемизитена с даунорубидином

Также есть несколько примеров, когда лактоны вовсе не вступали в реакцию присоединения по типу аза-Михаэля. Алкалоид секуринин (Рис.80А) не является сесквитерпеноидом, однако в ходе работы он также рассматривался как акцептор Михаэля для синтеза конъюгатов с антрациклинами. В отличие от СЛ, где присоединение происходит по 1,4-механизму, секуринин

(69) вступает в реакции присоединения по 1,6-механизму. Этим объясняется его низкая реакционная способность. В мягких условиях при комнатной температуре секуринин (69) вовсе не реагировал с DAU в форме амина ни в каких растворителях. Попытки проведения реакции в жестких условиях при длительном микроволновом нагреве (10-60 мин) в ДМСО или ДМФА привели только к сложной смеси продуктов, среди которых были и окрашенные производные DAU, но при детальном анализе они представляли собой полимеры и продукты деградации, а не продукты с правильным типом 1,6-присоединения амина к секуринину. Метилвый эфир 70 сесквитерпеновой шеллоликовой кислоты и дилактон 71 шеллоликовой кислоты (Рис.80) были получены из смолы шеллака [418] [419]. Несмотря на то, что эфиры шеллоликовой кислоты в структуре имеют электрондефицитную двойную связь, оказалось, что они вовсе неспособны к присоединению по Михаэлю, как с аминогруппой DAU, так и с аминами простого строения.

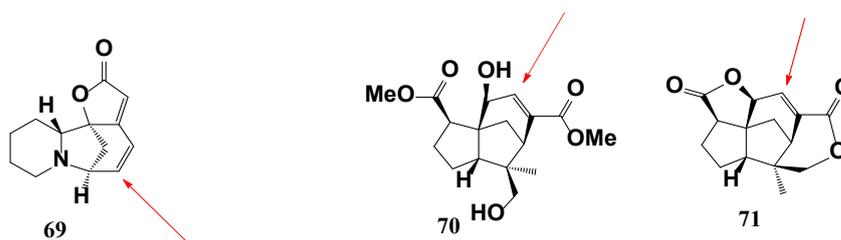


Рисунок 80 Лактоны-акцепторы Михаэля не вступающие в реакцию присоединения Михаэля с даунорубицином

3. Экспериментальная часть

3.1 Материалы общие

Спектры ЯМР (δ , м.д.; J , Гц) были получены в CDCl_3 (где не указано особо) на приборе Spectrospin (200 МГц для ^1H и 50 МГц для ^{13}C) (Bruker, США) или на приборе Bruker AVANCE III (500.13 и 125.78 МГц), с использованием остаточного сигнала растворителя CHCl_3 ($\delta = 7.27$) в качестве внутреннего стандарта, в расшифровке спектра символы “a” и “b” обозначают неэквивалентные протоны при одном атоме углерода. Отнесения сигналов ЯМР осуществляли сравнением с данными 1D- и 2D-спектров ЯМР лактонов, полученных нами ранее, и со спектрами ЯМР лактонов из литературных источников. Нумерация атомов в спектрах – как на рисунках. Названия и нумерация атомов в природных СЛ и в синтетически полученных СЛ как в номенклатуре IUPAC (Синяя книга) для природных соединений [420]. Для описания спектров конъюгатов антрациклинов использована сплошная нумерация атомов углерода вместо систематической. В описаниях спектров значения химических сдвигов углерода округлялись до десятых долей, протонов – до сотых долей. Для точного отнесения определения структуры сложных мультиплетов в протонных спектрах усиливали разрешение аподизацией FID через домножение на TRAF-функцию. Для некоторых слабо интенсивных спектров ^{13}C для повышения отношения сигнал-шум применяли Convolution difference.

Корни девясила – производства ПКФ “Фитофарм” (Анапа, Россия). ТСХ выполняли на пластинках Silicagel 60 F₂₅₄ (Merck, Германия), Alugram Xtra SIL D/UV₂₅₄ (Machinery Nagel, Германия) или Silufol F254 (Чехословакия). Для обнаружения положения веществ на проявленных ТСХ пластинках использовали йодную камеру, обработку фосфомолибденовой кислотой и реагентом с анисальдегидом. Для обнаружения сразу всех классов веществ на пластинки выливали раствор 4%-ной фосформолибденовой кислоты в этаноле, после чего пластинки сразу нагревали феном с температурой 250°C до проявления темных пятен на светло-желтом фоне. Также для обнаружения пятен веществ на ТСХ использовали опрыскивание высушенной пластинки раствором анисальдегида (75 мл этанола, 1 мл уксусной кислоты, 2.5 мл серной кислоты, 2 мл анисальдегида) и нагревали феном (250°C) до проявления разноцветных пятен. Температуры плавления измерены в капилляре на приборе Kruss M3000. Абсолютную R/S-конфигурацию атомов в сложных соединениях уточняли в ChemBioDraw. Используются растворители производства “База№1” (Старая Купавна, Россия). Даунорубицин и доксорубицин – производства ОНОПБ (Омутнинск, Россия) приобретен непосредственно у производителя. Дейтерированные растворители для ЯМР – Solvex (Москва, Россия).

3.2 Методы выделения лактонов

Получение смеси алантолактона и изоалантолактона из девясила высокого. Корни девясила высокого 2 кг («Фитофарм», Анапа, степень измельчения 7 мм) экстрагируют 2 раза по 8 л хлороформа в течение 3 дней при комнатной температуре. После отгона растворителя

получают бурое вязкое масло с сильным запахом. Вакуумируют при 0,2 мм Hg, получают 101,4 г экстракта в виде влажных кристаллов. Растворяют в небольшом количестве бензола и фильтруют насухо через слой силикагеля 10 см при пониженном давлении в широкой воронке Шотта. Смывают бензолом до бесцветных смывов. После отгонки бензола получают желтое прозрачное масло. Вакуумируют в 2 л колбе (вначале возможно образование пены) при 0,2 мм Hg. При этом следует периодически отсоединять вакуумный насос и перемешивать палочкой содержимое колбы. Проводят вакуумирование до получения сухого белого остатка, масса 79,7 г (выход 3,99 %), который представляет собой почти чистую смесь алантолактона и изоалантолактона.

Методы выделения лактонов девясила в индивидуальном виде. *Метод А. Выделение изоалантолактона путем кристаллизации из разбавленного метанола.* Профильтрованный через силикагель хлороформный экстракт корней девясила массой 78,3 г помещают в 2 л колбу и прибавляют 538 мл 75% (v/v) метанола, нагревают при энергичном перемешивании на водяной бане 80 °С до кипения метанола, аккуратно декантируют с не растворившегося желтого масла на дне, метанольный раствор снова доводят до кипения на водяной бане и дают медленно охлаждаться вместе с нагретой водяной баней до комнатной температуры в течение ночи. Выпавшие длинные кристаллы отфильтровывают и сушат на воздухе. Процедуру повторяют до получения чистого по ЯМР изоалантолактона. Для первых кристаллизаций следует использовать соотношение растворитель/вещество равное 6,8/1, для последующих – использовать соотношение 13,75/1 (Табл. 1).

Таблица 8 Кристаллизация изоалантолактона из водного метанола

Перекристаллизация	Масса исходная	Объем растворителя	Конечное содержание изоалантолактона
1	78,3 г	540 мл 75% MeOH	57% изоалантолактон
2	47,8 г	330 мл 75 % MeOH	67% изоалантолактон
3	40,5 г	280 мл 75 % MeOH	75% изоалантолактон
4	31,5 г	440 мл 75 % MeOH	94% изоалантолактон
5	17,1 г	235 мл 75 % MeOH	100% изоалантолактон

Конечный выход чистого изоалантолактона (2) 15,4 г. Длинные белые кристаллы, т.пл. = 111-112 °С, со слабым приятным запахом, полностью без вкуса. В качестве растворителя для перекристаллизации может использоваться отогнанный при пониженном давлении маточник, однако требуется в этом случае каждый раз проверять концентрацию метанола по ареометру (плотность раствора должна быть 0,875 г/мл), при необходимости добавляя воду или метанол. Изоалантолактон 2: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., J/Гц): 0.82 (3H, с, H-14), 1.24 (1H,

м, , Н-1а), 1.38 (1Н, дт, $J = 13.9/12.3$, Н-6а), 1.50 (1Н, дд, $J = 15.7/4.8$, Н-9а), 1.55 (1Н, дд, $J = 13.6/3.5$, Н-1б), 1.58-1.61 (2Н, м, Н-2), 1.73 (1Н, ддд, $J = 14.0/7.1/2.7$, Н-6б), 1.84 (1Н, дд, $J = 12.7/1.2$, Н-5), 2.00 (1Н, тд, $J = 12.9/5.9$, Н-3а), 2.19 (1Н, дд, $J = 15.6/1.7$, Н-9б), 2.33 (1Н, ддт, $J = 13.1/4.2/2.3$, Н-3б), 2.97 (1Н, дт, $J = 12.1/6.8/5.4$, Н-7), 4.44 (1Н, д, $J = 1.6$, Н-15а), 4.50 (1Н, тд, $J = 4.9/1.7$, Н-8), 4.77 (1Н, д, $J = 1.7$, Н-15б), 5.58 (1Н, с, Н-13а), 6.12 (1Н, с, Н-13б); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 17.8 (С-14), 22.8 (С-2), 27.6 (С-6), 34.4 (С-10), 36.9 (С-3), 40.7 (С-7), 41.5 (С-9), 42.3 (С-1), 45.4 (С-5), 77.0 (С-8), 106.8 (С-15), 120.2 (С-13), 142.4 (С-11), 149.4 (С-4), 170.8 (С-12).

Метод Б. Выделение алантолактона методом очистки на силикагеле с импрегнированным нитратом серебра. Силикагель 200 г смешивают с раствором 10 г AgNO_3 в 350 мл воды. Полученную смесь в темноте перемешивают вращением колбы на роторном испарителе без вакуума, затем отгоняют воду при пониженном давлении при температуре водяной бани 70 °С до тех пор, пока не прекратится испарение воды в виде фонтанов, затем температуру поднимают до 90 °С и мешают вращением на роторном испарителе еще 2 часа. Полученный сорбент используют по возможности в тот же день. Заполненную колонку оборачивают фольгой для защиты от прямого света. Часть смеси лактонов 19,9 г, из которой был частично откristаллизован изоалантолактон (Метод А), растворяют в минимальном количестве бензола и наносят на колонку. Элюируют в системе петролейный эфир:бензол=1:1, затем чистым бензолом, бензол:этилацетат=9:1, бензол:этилацетат=1:1. Состав фракций контролируют по ^1H -ЯМР. Первым элюируется чистый алантолактон (1) 10,5 г, далее его смесь с изоалантолактоном и изоалантолактон (2). Раствор полученного алантолактона (1) затем, для избавления от примеси соли серебра, следует профильтровать через небольшой слой оксида алюминия. Алантолактон 1: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.09 (3Н, д, $J = 7.6$, Н-15), 1.14 (1Н, дд, $J = 13.4/3.8$, Н-1а), 1.19 (3Н, с, Н-14), 1.43 (1Н, дддд, $J = 13.9/7.1/3.9/2.9$, Н-2а), 1.52-1.57 (3Н, м, Н-9б + Н-3), 1.59 (1Н, м, Н-1б), 1.81 (1Н, кв.дд, $J = 13.9/13.0/4.2/3.2$, Н-2б), 2.11 (1Н, дд, $J = 14.9/2.8$, Н-9б), 2.45 (1Н, кв.дд, $J = 7.6/5.5/2.0$, Н-4), 3.58 (1Н, ддд, $J = 8.6/3.8/1.8$, Н-7), 4.82 (1Н, дддд, $J = 6.9/3.5/2.7/0.7$, Н-8), 5.15 (1Н, д, $J = 4.1$, Н-6), 5.62 (1Н, д, $J = 1.7$, Н-13а), 6.20 (1Н, д, $J = 1.9$, Н-13б); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 16.9 (С-2), 22.7 (С-15), 28.7 (С-14), 32.8 (С-10), 32.9 (С-3), 37.8 (С-4), 39.7 (С-7), 41.9 (С-1), 42.8 (С-9), 76.6 (С-8), 118.9 (С-6), 121.8 (С-13), 140.0 (С-5), 149.3 (С-11), 170.6 (С-12).

Метод В. Выделение изоалантолактона через аддукт с диметиламином. Смесь лактонов 76 г от экстракции 2 кг корней девясила растворяют в 250 мл 96% этанола, прибавляют 45 мл 33% водного диметиламина, дают кристаллизаться в течение ночи при комнатной температуре. На следующий день отфильтровывают 24,5 г кристаллов, жидкий остаток упаривают, растворяют его в 100 мл метанола и снова кристаллизуют, получая еще 7,07 г кристаллов конъюгата

изоалантолактона с диметиламином (3). Жидкий остаток снова упаривают, растворяют в 80 мл метанола и дают кристаллизаться при +4 °С, получая третью порцию продукта - 4,75 г. Объединенные порции 36,3 г в 1 л колбе смешивают с 150 мл этилацетата и добавляют CH_2Cl_2 до полного растворения. К раствору прибавляют 16,5 мл метилйодида, смесь быстро мутнеет, давая осадок по всему объему. Перемешивают 2 часа, после чего прибавляют 500 мл насыщенного раствора NaHCO_3 и перемешивают ночь. Органический слой сушат над безводным Na_2SO_4 . Отгоняют растворитель и получают 26,1 г изоалантолактона (2) в виде белого твердого вещества.

Метод Г. Выделение изоалантолактона через аддукт с морфолином. В колбу помещают 78,5 г смеси лактонов, растворяют в 320 мл метанола при легком нагревании, добавляют 50 мл морфолина и оставляют на ночь. На следующий день отфильтровывают выпавшие светло-желтые кристаллы, промывают на фильтре 40 мл метанола, сушат, получают 31,0 г конъюгата изоалантолактона с морфолином (4). Маточный раствор упаривают, остаток растворяют в 135 мл метанола и оставляют на сутки при +4 °С. Выпавшие кристаллы отфильтровывают и 2 раза промывают по 10 мл холодного метанола, получают еще 7,14 г вещества. Дальнейшая кристаллизация остатка дает смесь продуктов реакции. Обе части кристаллов объединяют, получая 38,14 г чистого по ЯМР конъюгата изоалантолактона с морфолином (4). Полученное вещество смешивают с 100 мл этилацетата и 100 мл CH_2Cl_2 , после полного растворения прибавляют 15 мл метилйодида, перемешивают 6 часов, после чего к реакционной смеси добавляют 800 мл насыщенного раствора Na_2CO_3 и перемешивают в течение суток. К выпавшему осадку добавляют хлороформ и перемешивают до полного растворения, что может занять несколько суток. В воронке отделяют прозрачный органический слой и сушат над безводным Na_2SO_4 . Отгоняют растворитель и получают 27,5 г изоалантолактона (2) в виде слегка желтого твердого вещества. Вещество может быть перекристаллизовано из 378 мл 70% метанола для получения в виде крупных бесцветных кристаллов. Аналогично через реакцию с метилйодидом регенерируются лактоны 1 и 2 в виде смеси из маточника.

Метод Д. Выделение алантолактона через окисление с диоксидом селена и перекисью водорода. В колбе в 300 мл *m*-бутанола при 45 °С на водяной бане и магнитной мешалке растворяют 79,7 г смеси лактонов, вносят 1 г диоксида селена, маленькими порциями прибавляют 55 мл 33% H_2O_2 на протяжении 6 часов, после чего охлаждают и оставляют на ночь при 4 °С. Отгоняют досуха растворитель при пониженном давлении (без сильного нагрева), вакуумируют. Растворяют в небольшом количестве бензола и наносят на колонку на 840 мл силикагеля. Элюируют сначала бензолом, затем смесью бензол:ЭА=9:1, бензол:ЭА=8:2, CHCl_3 :ацетон=8:2, CHCl_3 :изопропанол=1:1. Состав фракций контролируют по ТСХ в системе бензол:ЭА=9:1, R_f (алантолактон, 1)=0,71, R_f (эпоксиалантолактон, 7)=0,43, R_f (телекин, 6)=0,32, R_f (изотелекин,

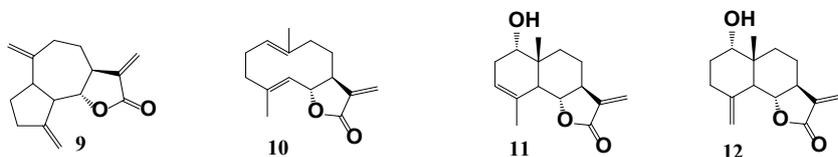
5)=0,16 или в системе бензол:ЭА=5:1, R_f (телекин, **6**)=0,46, R_f (изотелекин, **5**)=0,21. Смешанные фракции рехроматографируют. Получают алантолактон (**1**) 22,50 г в виде белого твердого вещества, эпоксиалантолактон (**6**) 12,65 г белое твердое вещество, телекин (**4**) - 5,87 г кристаллизующееся вязкое масло, изотелекин (**5**) - 39,02 г в виде желтого твердого вещества, остальное – продукты сверхокисления и нелактонные вещества. Изотелекин **5**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.81 (3H, с, Н-14), 1.33 (1H, дд, $J = 12.6/3.3$, Н-1a), 1.36 (1H, дт, $J = 13.8/12.3$, 1H-6a), 1.57 (1H, дд, $J = 15.5/4.6$, Н-9a), 1.67-1.81 (4H, м, Н-1b+Н-2a+Н-2b+Н-6b), 2.20 (1H, дд, $J = 15.6/1.8$, Н-9b), 2.42 (1H, дд, $J = 12.7/2.2$, Н-5), 3.00 (1H, ддд, $J = 12.0/6.9/5.2$, Н-7), 4.33 (1H, т, $J = 2.9$, Н-3), 4.51 (1H, тд, $J = 4.9/1.7$, Н-8), 4.59 (1H, дд, $J = 1.9/1.2$, Н-15a), 4.99 (1H, т, $J = 1.4$, Н-15b), 5.59 (1H, д, $J = 1.1$, Н-13a), 6.13 (1H, д, $J = 1.2$, Н-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 17.1 (C-14), 27.2 (C-6), 29.2 (C-2), 34.3 (C-10), 35.9 (C-1), 40.4 (C-5), 40.6 (C-7), 41.2 (C-9), 73.5 (C-3), 76.9 (C-8), 110.0 (C-15), 120.3 (C-13), 142.3 (C-11), 150.3 (C-4), 170.7 (C-12). Телекин **6**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.96 (3H, с, Н-14), 1.18 (1H, уш.д, $J = 13.1$, Н-1a), 1.50-1.63 (2H, м, Н-2a+Н-2b), 1,70-1,82 (3H, м, Н-1b-Н-6a+Н-6b), 1.88 (1H, дд, $J = 15.5/1.9$, Н-9a), 2.02 (1H, дд, $J = 14.9/5.0$, Н-9b), 2.16 (1H, уш.д, $J = 14.1$, Н-3a), 2.54 (1H, дддт, $J = 13.2/11.1/7.9/1.9$, Н-3b), 3.35 (1H, тд, $J = 9.6/5.4$, Н-7), 4.55 (1H, тд, $J = 5.1/1.8$, Н-8), 4.68 (1H, т, $J = 1.5$, Н-15a), 4.85 (1H, т, $J = 1.6$, Н-15b), 5.58 (1H, д, $J = 1.2$, Н-13a), 6.13 (1H, д, $J = 1.3$, Н-13b). Диол **26**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.94 (3H, с, Н-14), 1.15 (1H, ддд, $J = 13.4/4.4/2.4$, Н-2a), 1.63 (1H, дд, $J = 13.8/11.9$, Н-6a), 1.79-1.84 (1H, м, Н-1a) + 1.86 (1H, дд, $J = 13.8/7.0$, Н-6b), 1.89-1.94 (2H, м, Н-1b + Н-9a), 2.02 (1H, тд, $J = 13.7/4.6$, Н-2b), 2.10 (1H, дд, $J = 15.5/5.1$, Н-9b), 3.36 (1H, ддд, $J = 12.1/7.0/5.5$, Н-7), 4.47 (1H, т, $J = 2.9$, Н-3), 4.57 (1H, тд, $J = 5.2/1.5$, Н-8), 4.92 (1H, с, Н-15a), 5.11 (1H, с, Н-15b), 5.61 (1H, д, $J = 1.1$, Н-13a), 6.15 (1H, д, $J = 1.4$, Н-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 21.8 (C-14), 28.9 (C-1), 30.4 (C-2), 33.2 (C-6), 35.6 (C-9), 37.1 (C-10), 37.2 (C-7), 73.3 (C-3), 75.5 (C-5), 77.1 (C-8), 113.4 (C-15), 120.6 (C-13), 142.2 (C-11), 148.0 (C-4), 170.9 (C-12); протонный спектр аналогичен описанному [388].

Метод Е. Выделение алантолактона через окисление с диоксидом селена и *t*-бутил гидропероксидом. В колбе растворяют в 350 мл не перегнанного CH_2Cl_2 при перемешивании 78,9 г смеси лактонов, вносят 2 г диоксида селена и 40 мл 70% *t*-BuOOH. Перемешивают 5 ч при комнатной температуре и оставляют на ночь при 4 °С. Отгоняют растворитель при пониженном давлении, вакуумируют до отсутствия запаха *t*-BuOOH. Очищают колоночной хроматографией на силикагеле, Элюируют сначала бензолом, затем бензол:ЭА=19:1, бензол:ЭА=9:1, бензол:ЭА=8:2, бензол:ацетон=8:2, бензол:изопропанол=1:1. Получают алантолактон (**1**) 33,9 г желтое масло быстро застывающее в белое твердое вещество, телекин (**6**) 7,4 г, изотелекин (**5**) 31,6 г, остальное продукты сверхокисления и нелактонные вещества.

Метод Ж. Выделение алантолактона через окисление с диоксидом селена и периодатом калия.

В колбе растворяют в 400 мл диоксана и 200 мл воды при интенсивном перемешивании 82,5 г смеси лактонов, вносят 2 г диоксида селена и 83,5 г сухого КЮ₄. Смесь нагревают на водяной бане до 45 °С и интенсивно перемешивают в течение 7 дней. После чего отфильтровывают непрореагировавший КЮ₄, отгоняют основную часть диоксана при пониженном давлении, к остатку прибавляют СН₂Сl₂ и промывают в воронке сначала водой, затем слабым раствором NaHCO₃, рассолом и отгоняют растворитель при пониженном давлении. Очищают колоночной хроматографией на силикагеле, элюируя сначала бензолом, затем смесью бензол:ЭА = 9:1, бензол:ацетон = 9:1, бензол:ацетон = 8:2, бензол:изопропанол = 1:1. Получают алантолактон (1) - 34,2 г, телекин (6) - 8,1 г, изотелекин (5) - 34,4 г.

Выделение сесквитерпеновых лактонов из костуса (9 и 10) в малых масштабах.



Метод А. Навеску сухих измельченных корней костуса *S. lappa* производства “Hemani”

(Пакистан) массой 100 г экстрагировали дважды 400 мл бензола в течение нескольких дней при комнатной температуре. Бензольные извлечение упаривали при пониженном давлении, получали экстракт 5,082 г в виде бурого вязкого масла с сильным запахом. Полученный экстракт фракционировали на колонке с силикагелем, элюировали последовательно С₆Н₆ до выхода первой фракции желтого цвета, затем С₆Н₆+5% Et₂O, С₆Н₆+10% Et₂O, С₆Н₆+10% ацетон, С₆Н₆+10% MeOH. Фракции объединяли по похожим паттернам на ТСХ в системе С₆Н₆:Et₂O = 9 : 1 (ТСХ пластинки Силуфол) и анализировали на ¹H-ЯМР. Фракции с f.3 по f.6 с общей массой 3,216 г содержали смесь лактонов костунолида (10) и дегидрокостус-лактона (9). Эти фракции далее очищали до чистых соединений колоночной хроматографией на свежеприготовленном силикагеле импрегнированным 5% (по массе) AgNO₃. Состав значимых фракций анализируют по ТСХ в той же системе. Фракции с f.3-2 по f.3-7 массой 1,747 г представляют собой чистый дегидрокостус-лактон (9), бесцветные призмы, фракции с f.3-8 по f.3-10 дают 0.947 г костунолида (10), постепенно кристаллизующееся масло.

Метод Б. Аналогичным образом экстрагируют 100 г измельченных корней костуса *S. lappa* купленных в местном интернет-магазине производства “Gauri Spices & Food Products” (Индия). Получили 3,817 г бензольного экстракта в виде вязкого масла. Экстракт фракционировали на колонке с силикагелем как описано ранее, собирали фракции f.5 – f.8 содержащие смесь лактонов массой 1.991 г с соотношением 33% костунолида (10) и 67% дегидрокостус-лактона (9). Смесь очищали до индивидуальных лактонов на колонке SiO₂/5% AgNO₃ аналогично. Дегидрокостус-лактон 9: спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 500 МГц, δ, м. д., J/Гц): 1.42 (1H, дддд, J = 12.5/11.2/10.3/5.6, H-8a), 1.84-1.98 (2H, м, H-2), 2.16 (1H, ддд, J = 12.8/10.2/5.8, H-9a), 2.24 (1H, ддт, J = 13.4/5.6/4.0, H-

8b), 2.47-2.56 (3H, м, C-3 + C-9b), 2.84-2.94 (3H, м, H-1 + H-5 + H-7), 3.97 (1H, т, $J = 9.3$, H-6), 4.81 (1H, с, H-14a), 4.90 (1H, с, H-14b), 5.07 (1H, д, $J = 1.5$, H-15a), 5.27 (1H, д, $J = 1.7$, H-15b), 5.49 (1H, д, $J = 3.1$, H-13a), 6.22 (1H, д, $J = 3.5$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 30.4 (C-2), 31.1 (C-8), 32.7 (C-3), 36.4 (C-9), 45.3 (C-7), 47.8 (C-1), 52.2 (C-5), 85.4 (C-6), 109.8 (C-15), 112.8 (C-14), 120.4 (C-13), 139.9 (C-10), 149.4 (C-4), 151.4 (C-11), 170.4 (C-12). Костунолид **10**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.25 (1H, м, H-8a), 1.42 (3H, с, H-14) 1.69 (3H, с, H-15) + 1.67 (1H, м, H-8b), 1.95-2.61 (7H, м, H-2 + H-3 + H-9 + H-7), 4.56 (1H, дд, $J = 9.9/8.5$, H-6), 4.74 (1H, д, $J = 9.9$, H-5), 4.84 (1H, дд, $J = 10.9/4.8$, H-1), 5.52 (1H, д, $J = 3.2$, H-13a), 6.26 (1H, д, $J = 3.6$, H-13b).

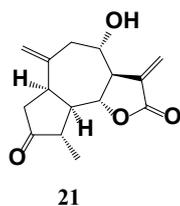
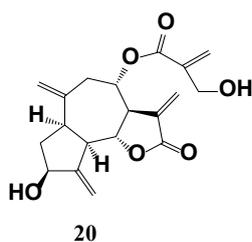
Препаративное выделение лактонов костуса (**9**, **10**, **11** и **12**).

Метод А. В 10 л колбе экстрагируют 2 кг измельченных корней костуса *S. lappa* производства Индия без указания на конкретного производителя трижды 8 л хлороформа при перемешивании и комнатной температуре. Отфильтровывают органические экстракты на воронке Бюхнера, отгоняют растворитель при пониженном давлении, вакуумируют, получают бурое масло. Полученное масло растворяют в бензоле и фильтруют при пониженном давлении в широкой воронке через сухой слой 15 см крупного силикагеля 250 мкм, элюируют чистым бензолом до полностью бесцветных смывов. Все бензольные смывы упаривают, получившееся бурое масло растворяют в бензоле, промывают водным раствором Na_2CO_3 , сушат над Na_2SO_4 , упаривают, вакуумируют, растворяют в ацетонитриле, дважды промывают в воронке петролейным эфиром для удаления липидов, ацетонитрильную часть упаривают. Полученный обогащенный экстракт в основном состоит из дегидрокостус-лактона (**9**) и костунолида (**10**) и не содержит других сесквитерпеновых лактонов. Ацетонитрильный экстракт сорбируют на кизельгуре и хроматографируют на колонке силикагеля в возрастающем градиенте ПЭ:ЭА. Экстракт оставался на колонке в сорбированном виде в течение двух недель, что привело к полному разложению всего костунолида (**10**), в итоге хроматография дала фракции с чистым дегидрокостус-лактоном (**9**) не нуждающимся в дальнейшей очистке, выход 32,13 г. Дальнейшее элюирование градиентом ХФ:ЭА дало фракции состоящие, как было установлено по данным ЯМР, из чистой смеси сантамарина (**11**) и рейнозина (**12**), масса 9,19 г. Эту смесь очищают до индивидуальных веществ хроматографией на колонке силикагеля импрегнированным 10% AgNO_3 , состав фракций анализируют по ТСХ на пластинах с импрегнированным AgNO_3 в системе бензол:ЭА=2:1 и по данным ^1H -ЯМР. Полученные лактоны сразу фильтруют через слой 10 см окиси алюминия, элюируют также смесью бензол:ЭА. Получают сначала 2,357 г сантамарина (**11**), затем 2,237 г рейнозина (**12**), остальные более полярные фракции – продукты окисления этих двух лактонов на колонке при действии серебра.

Оставшийся после смыва бензолом на воронке с силикагелем экстракт элюируют ацетоном, что дало после отгонки растворителя 32,57 г бурой пены. Ацетоновая часть экстракта сначала фракционировалась на колонке с силикагелем, а затем фракции, содержащие по данным ТСХ смесь сантамарина (**11**) и (**12**), дополнительно очищали хроматографией на окиси алюминия, в итоге получили 5,075 г их смеси. Эту смесь очищали до индивидуальных лактонов аналогично на колонке SiO₂/10% AgNO₃, получили дополнительно 0,882 г сантамарина (**SL-72**) и 0,964 г рейнозина (**12**), остальные продукты их окисления. Спектры ¹H-ЯМР лактонов сантамарина **11** и рейнозина **12**, соответствуют описанным ранее [337].

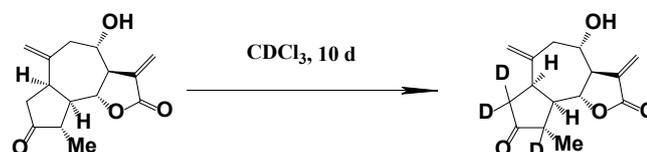
Метод Б. Костунолид в препаративных количествах получали другим способом. Сверхкритический CO₂-экстракт корней костуса *S. lappa* из коммерческого источника ("Guangzhou Endless Biotech Co.", Китай) делили в воронке между слоями ацетонитрила и петролейного эфира. Ацетонитрильную часть экстракта еще 2 раза промывали небольшим количеством ПЭ, и экстракт, освобожденный от липидов, хроматографировали на колонке с силикагелем, элюировали сначала чистым C₆H₆, затем C₆H₆:ЭА=9:1, C₆H₆:ацетон=9:1, анализ фракций проводили на ТСХ в системе ПЭ:Et₂O=15:5. Собирали фракции содержащие смесь дегидрокостус-лактона и костунолида, отогнали растворитель при пониженном давлении, упарили вместе с ПЭ, после вакуумирования получили 55,29 г оранжевого масла. Никакие условия кристаллизации не дали чистого костунолида. Все полученное масло очищали хроматографией на колонке с 600 г силикагеля и 30 г AgNO₃ (5%). Элюировали C₆H₆, затем C₆H₆:ЭА=4:1, C₆H₆:ЭА=3:2, C₆H₆:ацетон=3:2. Контроль фракций проводили на ТСХ в системе пластинки SiO₂ пропитанные MeCN раствором AgNO₃ и прогретые на 250 °С, элюент C₆H₆:ЭА=20:5, обнаружение анисальдегид (Rf **9**=0,58, Rf **10**=0,12). Объединенные по общему составу фракции в тот же день упаривали, растворяли в хлороформе и промывали насыщенным рассолом, затем водой, сушили над Na₂SO₄, упарили, растворили в C₆H₆, фильтровали через короткий слой окиси алюминия. В итоге собрали значимые фракции f.1-f.6 дегидрокостус лактон (**9**) – 26,29 г, бесцветные палочки; фракции f.7-f.9 дегидрокостус лактон с примесью костунолида – 9,855 г; фракции f.10-f.21 костунолид (**10**) – 15,23 г, короткие иглы или белое твердое вещество.

Выделение лактонов гроссгемина (20**) и цинаропикрина (**21**) из листьев василька крупноголовчатого.**



Василек крупноголовчатый (гроссгемия крупноголовчатая, *Centaurea macrocephala* (Muss.-Puschk. ex Willd.)) был посеян и выращен на территории д. Останкино, Борский р-н, Нижегородская область. Сбор и сушку листьев производили в течение лета 2017 г., начиная с начала периода цветения. Высушенные листья (442,5 г) измельчали вручную и

экстрагировали 2×5 л хлороформа в течение нескольких суток. Хлороформные вытяжки упаривали при пониженном давлении и получали экстракт массой 24,0 г. Экстракт растворяли в 200 мл метанола и на водяной бане (70°C) постепенно, при покачивании колбы, добавляли 50 мл насыщенного раствора ацетата свинца и давали медленно остывать до комнатной температуры. Спустя ночь декантировали с осадка, промывали в воронке 3×50 мл петролейным эфиром, водно-метанольную часть упаривали при пониженном давлении до удаления легколетучего метанола, остаток разбавляли 150 мл воды и 2×150 мл этилацетата, органические слои упаривали и вакуумировали, получили 9,31 г вещества в виде пены. Экстракт хроматографировали на колонке с силикагелем в системе ХФ/ЭА 9:1, затем ХФ/ацетон 9:1, ХФ/ацетон 4:1, ХФ/ацетон 7:3, ХФ/МеОН 9:1, смешанные фракции рехроматографировали. Состав фракций контролировали в системе ХФ/ацетон 2:1 на пластинках Силуфол. Получили в сумме 2.768 г гроссгемина (**20**) в виде крупных, почти кубических кристаллов и 5.243 г цинаропикрина (**21**) в виде аморфной светлой твердой пены (когда свежевывсушенная из эфира), со временем приобретает темно-зеленую окраску. Разлагается на темное зеленое вещество при быстром нагреве феном. Цинаропикрин **21**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.71 (1H, ддд, $J = 13.0/11.3/8.3$, H-2a), 2.18 (1H, дт, $J = 12.6/7.2$, H-2b), 2.36 (1H, дд, $J = 14.6/3.7$, H-9a), 2.71 (1H, дд, $J = 14.5/5.2$, H-9b), 2.81 (1H, дд, $J = 10.7/8.8$, H-5), 2.95 (1H, ддд, $J = 11.4/8.8/7.1$, H-1), 3.17 (1H, тт, $J = 9.4/3.3$, H-7), 4.25 (1H, дд, $J = 10.3/9.0$, H-6), 4.35 (2H, с, $\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\underline{\text{CH}_2\text{OH}})\text{-CO-O-9}$), 4.53 (1H, тт, $J = 7.5/2.0$, H-3), 4.91 (1H, д, $J = 1.5$, H-14a), 5.04-5.16 (1H, м, H-8), 5.12 (1H, д, $J = 1.7$, H-14b), 5.34 (1H, с, H-15a), 5.45 (1H, с, H-15b), 5.59 (1H, д, $J = 3.0$, H-13a), 5.94 (1H, д, $J = 1.6$, $\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})\text{-CO-O-9a}$), 6.17 (1H, д, $J = 3.4$, H-13b), 6.30 (1H, д, $J = 1.3$, $\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})\text{-CO-O-9b}$); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц, δ , м. д.): 36.5 (C-9), 38.5 (C-2), 44.5 (C-1), 46.8 (C-7), 50.4 (C-5), 60.5 ($\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\underline{\text{CH}_2\text{OH}})\text{-CO-O-9}$), 72.6 (C-3), 73.6 (C-8), 78.1 (C-6), 11.8 (C-15), 117.2 (C-14), 121.7 (C-13), 125.1 ($\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})\text{-CO-O-9}$), 137.2 (C-11), 139.5 ($\text{H}_2\text{C}=\underline{\text{C}}(\text{CH}_2\text{OH})\text{-CO-O-9}$), 152.2 (C-4), 164.7 ($\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})\text{-CO-O-9}$), 168.7 (C-12), спектр аналогичен описанному [421]. ТСХ $R_f=0.39$ в системе Силуфол, ХФ:ацетон = 15:8, обнаружением в виде зеленых пятен, самопроизвольно возникающих при нагреве или фиолетовые при обработке анисальдегидом. Гроссгемин **20**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.13 (3H, д, $J = 6.8$, H-15), 2.10-2.26 (3H, м, H-4 + H-5 + H-9a), 2.40-2.45 (2H, м, H-2), 2.72 (1H, дд, $J = 12.9/5.8$, H-9), 2.98 (1H, тт, $J = 9.7/3.1$, H-7), 3.07 (1H, м, H-1), 3.68 (1H, ддд, $J = 10.0/9.0/5.8$, H-8), 3.82-3.97 (1H, м, H-6), 4.65 (1H, с, H-14a), 4.95 (1H, с, H-14b), 6.23 (2H, м, H-13).

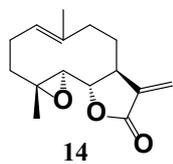


После нахождения пробы гроссгемина в виде раствора в среде дейтерированного растворителя, дейтерохлороформе, происходит процесс обмена α -атомов водорода на дейтерий у кетогруппы в С-2 и С-4 положениях. Процесс протекает самопроизвольно без добавки кислоты или основания. Итоговые спектры ЯМР записанные спустя несколько дней нахождения в ЯМР-ампуле отражают наличие только тридейтерированного аналога гроссгемина и отсутствие исходного гроссгемина. Гроссгемин **20(D₃)**: спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 500 МГц, δ , м. д., J/Гц): 1.19 (3H, с, Н-14), 2.23 (1H, дд, $J = 13.1/9.0$, Н-9a), 2.26 (1H, т, $J = 9.1$ Hz, Н-5), 2.78 (1H, дд, $J = 12.9/5.8$, Н-9b), 3.03 (1H, тт, $J = 9.7/2.9$, Н-7), 3.11 (1H, д, $J = 7.8$, Н-1), 3.77 (1H, тд, $J = 9.3/5.8$, Н-8), 3.94 (1H, т, $J = 9.4$, Н-6), 4.73 (1H, с, Н-14a), 5.02 (1H, с, Н-14b), 6.29 (2H, д, $J = 3.2$, Н-13a + Н-13b); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 126 МГц δ , м. д.): 14.7 (С-15), 39.9 (С-1), 42.8 (широкий мультиплет, С-2), 46.7 (широкий триплет, С-4), 48.0 (С-9), 49.2 (С-7), 51.0 (С-5), 72.8 (С-8), 82.8 (С-6), 115.3 (С-14), 125.8 (С-13), 136.6 (С-11), 143.7 (С-10), 170.5 (С-12), 220.1 (С-3). О возможности образования дейтерированной формы гроссгемина и ее ЯМР было указано в литературе ранее [422].

Выделение цинаропикрина (21) из листьев артишока колючего.

Листья артишока колючего (*Cynara cardunculus* L.) были приобретены в местном интернет-магазине. Сухие листья (121,17 г) без дополнительного измельчения экстрагировали трижды по 2,5 л хлороформа в течение суток. Отфильтровывали на воронке Бюхнера, темный зеленый фильтрат упаривали при пониженном давлении, получили 3,66 г темного остатка. Без дополнительных манипуляций остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, состав фракций контролировали по ТСХ в системе MN-SiO₂, толуол/ацетон 2:1, Rf (**21**) = 0,42. Сначала элюировали темные фракции с растительными пигментами, затем собирали f.7-f.13 содержащие цинаропикрин (**21**), получили 2,647 г смолистого вещества. Дополнительно очищали на колонке с силикагелем, собрали 1,831 г цинаропикрина, желто-бурая смола.

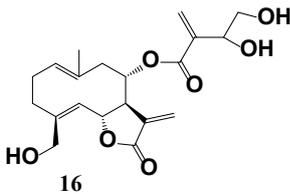
Выделение партенолида (14).



Несортовая форма пижмы девичьей (*Tanacetum parthenium* L.) была посеяна и выращена территории ИФАВ РАН (г. Черноголовка, Московская область), в течение июля–августа 2018 г. происходил сбор соцветий с интервалом в 2 недели. Высушенные соцветия пижмы девичьей массой 356,5 г измельчали на лабораторной мельнице и экстрагировали дважды смесью 5 л бензола с этилацетатом при комнатной температуре. После отгонки растворителя экстракт массой 36,03 г разбавляли 450 мл метанола, добавляли 50 мл насыщенного водного раствора ацетата свинца при нагревании на водяной бане (50°C), после чего водяную баню оставляли постепенно остывать. Спустя ночь водно-метанольную часть декантировали, промывали в воронке гексаном. Гексановая часть массой 2,6 г содержала камфору и жиры. Из водно-метанольной оставшейся части при пониженном давлении отгоняли метанол, к остатку прибавляли хлороформ и воду,

хлороформную часть массой 16,56 г отделяли и промывали раствором NaHCO_3 и насыщенным раствором NaCl , сушили над Na_2SO_4 , обогащенный экстракт хроматографировали на колонке с силикагелем в бензоле с возрастающим градиентом ЭА. Фракции, содержащие партенолид (**14**) ($R_f = 0,24$ в системе бензол/ЭА 9:1 на ТСХ-пластинках Merck, $R_f = 0,49$ – на пластинках Силуфол), собирали, отгоняли растворитель и вакуумировали, дополнительно кристаллизовали из холодного эфира. Выход 2,77 г, бесцветный, слегка желтый порошок. Спектр ЯМР партенолида (**14**) аналогичен описанному ранее [332].

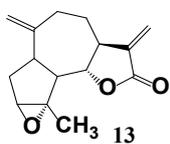
Выделение кницина (**16**) из листьев кникуса.



Кникус бенедектинский (волчец кудрявый, *Cnicus benedictus*) был посеян и выращен на территории ИФАВ РАН (г. Черноголовка, Московская область), сбор листьев происходил в течение лета 2017 г. Сухие листья кникуса массой 75,0 г измельчали и дважды экстрагировали по 1000 мл смеси ХФ:метанол=9:1. После отгонки растворителя получили 6,5 г сухого экстракта, растворили его в 100 мл метанола и на водяной бане 70 °С по каплям при перемешивании добавляли 20 мл насыщенного водного раствора $\text{Pb}(\text{AcO})_2$. Оставляли смесь остывать в течение ночи до комнатной температуры, после чего фильтровали под вакуумом через бумажный фильтр, кек еще раз промыли смесью метанол-вода, оставшийся осадок массой 1,667 г не содержал никаких СЛ. Надосадочную жидкость дважды по 30 мл промывали петролейным эфиром, при этом ПЭ фаза окрашивается в зеленый цвет, в водно-метанольная фаза в желто-бурый. После сушки и упаривания, масса липидной (ПЭ) фракции составила 424 мг. Из водно-метанольного остатка при пониженном давлении отгоняли метанол до образования водной суспензии и делили в воронке после добавления этилацетата и воды. Этилацетатный слой сушили над сульфатом натрия, после отгонки растворителя получили 2,431 г обогащенного экстракта. Хроматографировали полученную ЭА часть на колонке силикагеля в смеси хлороформ:ацетон=10:1 затем в возрастающем градиенте хлороформ:метанол. Получили чистого 880 мг (1,14% от массы сухого сырья) кницина – **16** в виде белых длинных полосок, растворим в спиртах, почти нерастворим в хлороформе. Спектр ЯМР ^1H аналогичен описанному ранее [350].

Повтор методики с другой порцией 308,7 г сухих листьев кникуса дал 18,1 г общего экстракта и затем 2,317 г кницина (**16**, 0,75% от массы сухого сырья).

Выделение эстафиатина (**13**) из тысячелиственника благородного.

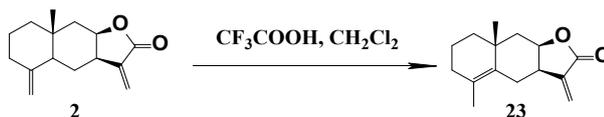


В экстрактор без дополнительного измельчения поместили 500 г сухой травы (надземная часть) тысячелиственника благородного (собран в 90х годах) без дополнительного измельчения и без дополнительного отделения деревянистых стеблей, экстрагировали 5 л хлороформа с добавкой ЭА. После фильтрации и отгонки

растворителей при пониженном давлении использовали отгоны для повторной экстракции, получили 49,5 г бурого вязкого экстракта. Экстракт растворяли в 300 мл EtOH, слегка нагревали феном до растворения, к горячему раствору прибавляли по каплям 8г $Pb(AcO)_2$ в 50 мл воды, оставили на ночь, после чего фильтровали взвесь, отгоняли от фильтрата часть спирта при пониженном давлении. Густую жидкость разбавили водой и ЭА, отделяли воронке и промывали еще раз, после чего органические слои промыли раствором NaCl, сушили над Na_2SO_4 , упарили и получили 18,5 г остатка. В нем, судя по протонным спектрам, имеются характерные пики сесквитерпеновых лактонов $\delta=6.51$, $\delta=6.20$, $\delta=5.83$, $\delta=5.56$ и другие. Экстракт фильтровали через слой силикагеля в несколько см и кизельгура в воронке Шотта, смывая смесью бензол:ЭА до бесцветных смывов. После отгонки растворителя получили 11,5 г обогащенного экстракта с теми же лактонами. Его фракционировали на колонке с силикагелем в возрастающем градиенте бензол:ЭА, собрали 23 фракции. По похожим паттернам на ТСХ фракции объединяли и проверяли на 1H -ЯМР. Идущие рядом фракции, где присутствует пик эстафиатина $\delta=6.20$ объединяли и получили $m=2667$ мг темной массы. Эти объединённые фракции хроматографировали на оксиде алюминия, в итоге собрав 838 мг подфракций содержащих нужный лактон. Их хроматографировали на силикагеле в градиенте бензол:Et₂O, в итоге получили 149 мг чистого эстафиатина (**13**). Дополнительно еще 121 мг эстафиатина было выделено от хроматографии на силикагеле более полярных фракций, содержащих лактон $\delta=6.20$, от первой хроматографии экстракта и смешанных фракций. Эстафиатин **13**: спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 500 МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 1.52 (1H, ддт, $J = 17.3/8.9/3.1$, H-9a), 1.60 (3H, с, H-15), 1.80 (1H, ддд, $J = 14.1/10.8/1.4$, H-2a), 2.06 (1H, дд, $J = 14.0/7.5$, H-2b), 2.15-2.28 (3H, м, H-8a+H-8b+H-9b), 2.30 (1H, дд, $J = 11.0/8.3$, H-5), 2.86 (1H, дддд, $J = 14.8/8.7/5.5/3.4$, H-7), 2.97 (1H, дт, $J = 10.7/7.9$, H-1), 3.37 (1H, с, H-3), 4.07 (1H, дд, $J = 11.0/8.8$, H-6), 4.85 (1H, д, $J = 1.8$, H-14a), 4.94 (1H, уш.с, H-14b), 5.48 (1H, д, $J = 3.2$, H-13a), 6.20 (1H, д, $J = 3.6$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, 126 МГц δ , м. д.): 18.7 (C-15), 28.8 (C-8), 29.4 (C-9), 33.1 (C-2), 44.3 (C-7), 45.0 (C-1), 51.0 (C-5), 63.4 (C-3), 66.0 (C-4), 80.7 (C-6), 115.4 (C-14), 120.3 (C-13), 139.7 (C-11), 146.3 (C-10), 169.9 (C-12); спектр соответствует литературным данным [423] [424].

3.3 Модификации лактонов

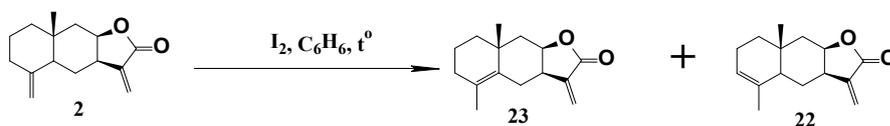
Миграция при действии трифторуксусной кислоты



В 80 мл сухого дихлорметана растворили 4 г чистого изоалантолактона (**2**) и добавили 18 мл трифторуксусной кислоты. Закрыли пробкой, перемешали и оставили в темноте при комнатной температуре. Спустя ночь вылили смесь порциями в водный раствор $NaHCO_3$, перемешивали до окончания выделения газа, отделяли нижний слой в воронке и экстрагировали

трижды водный слой дихлорметаном. Органические слои упаривали при пониженном давлении, разбавляли бензолом и фильтровали через короткую (10 см) сухую колонку оксида алюминия, многократно элюируя чистым бензолом. После отгонки растворителя получили бесцветное масло с количественным выходом в расчете на чистый исходный изоалантолактон. Растворитель в реакции может быть заменен на хлороформ, в том числе и коммерческий хлороформ с добавкой метанола, без ущерба для выхода. Для получения кристаллического аллоалантолактона (**23**) продукт хроматографируют на колонке силикагель/5% AgNO₃ от примеси изомера и с усилием растирают стенку колбы или растирают с кристаллом-затравкой. Взятый в реакцию избыток ТФУ может быть уменьшен в 2 или 4 раза без потери выхода продукта. Аллоалантолактон **23**: спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 500 МГц, δ, м. д., J/Гц): 1.07 (3H, с, Н-14), 1.46 (2H, дд, J = 8.5/3.6, Н-1a+Н-1b), 1.57-1.63 (1H, м, Н-2a), 1.65 (3H, с, Н-15), 1.68 (1H, дд, J = 15.0/7.6, Н-2b), 1.73 (2H, д, J = 7.3, Н-9a+Н-9b), 1.93 (1H, д, J = 13.1, Н-6a), 1.94-1.98 (2H, м, Н-3a+Н-3b), 2.80 (1H, дд, J = 13.6/7.5, Н-6b), 3.05 (1H, дтт, J = 9.8/7.3/2.4, Н-7), 4.49 (1H, дт, J = 6.9/7.1, Н-8), 5.60 (1H, д, J = 2.3, Н-13a), 6.23 (1H, д, J = 2.7, Н-13b); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 126 МГц δ, м. д.): 18.9 (С-2), 19.3 (С-15), 26.9 (С-14), 27.8 (С-6), 32.0 (С-3), 33.6 (С-10), 37.2 (С-1), 41.2 (С-7), 42.6 (С-9), 76.6 (С-8), 121.6 (С-13), 127.3 (С-4), 131.4 (С-5), 140.5 (С-11), 171.0 (С-12).

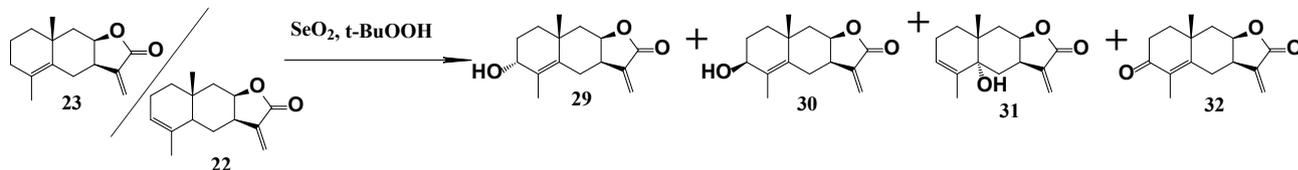
Миграция двойной связи в изоалантолактоне (**2**) при действии йода.



В 250 мл колбе на силиконовой масляной бане растворяют в 100 мл бензола 6,0 г изоалантолактона (**2**, 25,82 ммоль), 500 мг кристаллического йода (1,97 ммоль) и кипятят с обратным холодильником в сумме 10 ч (сначала 6 ч, затем еще 4 ч). Контролируют прохождение реакции по ТСХ на пластинках SiO₂ пропитанных раствором AgNO₃ в системе ПЭ:эфир=20:6. Реакционную смесь в воронке промыли раствором Na₂S₂O₃ до исчезновения темной окраски, затем водой и экстрагируют еще раз водные слои бензолом. Органические слои упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют на колонке со свежеприготовленным силикагелем с 5% по массе импрегнированным AgNO₃ в возрастающем градиенте ПЭ:эфир, затем смесью бензол:ЭА=10:1. Контролируя состав фракций по ТСХ на пластинках импрегнированными AgNO₃ (для **23** Rf=0,50, для **22** Rf=0,38 в системе ПЭ:эфир=20:6). Смешанные фракции рехроматографируют также в SiO₂/5% AgNO₃. Получили 2,613 г изоаллоалантолактона (**22**) в виде бесцветного масла и крупных трапециевидных призм, 981 мг смеси лактонов **23/22** и 1,928 г аллоалантолактона (**23**) в виде бесцветного сложно кристаллизующегося масла. Аллоалантолактон **22**: спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 500 МГц, δ, м. д., J/Гц): 0.93 (3H, с, Н-14), 1.20 (1H, ддд, J = 12.8/5.8/3.4, Н-1a), 1.45 (1H, дд, J = 14.4/8.1, Н-9a), 1.50-1.56 (2H, м, Н-1b + Н-5), 1.66 (3H, д, J = 1.5, Н-15), 1.69 (1H, м, Н-6a), 1.78 (1H, дд, J = 14.5/4.9,

H-9b), 1.99 (2H, м, H-2ab), 2.04 (1H, дт, $J = 14.5/3.7$, H-6b), 3.14 (1H, ддт, $J = 9.3/7.0/3.7/2.9$, H-7), 4.74 (1H, тд, $J = 7.8/5.0$, H-8), 5.35 (1H, уш.с, H-3), 5.60 (1H, д, $J = 2.7$, H-13a), 6.31 (1H, д, $J = 3.0$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 22.5 (д, C-2 + C-15), 27.2 (C-14), 29.4 (C-6), 29.5 (C-1), 31.9 (C-10), 38.7 (C-7), 40.9 (C-5), 41.2 (C-9), 76.8 (C-8), 121.1 (д, C-3 + C-13), 135.1 (C-4), 139.4 (C-11), 171.0 (C-12).

Окисление смеси аллоалантолактона (23) и изоаллоалантолактона (22) диоксидом селена.



Метод А. Окисление лактонов SL-3/SL30 диоксидом селена. В колбе с магнитной мешалкой смесь лактонов **23** и **22** регенерированных из морфолиновых аддуктов массой 5,934 г (25,58 ммоль), полученных на предыдущем этапе растворяют в 90 мл хлороформа, добавляют 500 мг диоксида селена (4,5 ммоль), прибавляют 1 мл 70% *t*-бутил-гидропероксида, с интервалом в 30 мин добавляют еще 3 мл 70% *t*-бутил-гидропероксида порциями по 1 мл, реакционную смесь оставляют перемешиваться еще 4 суток. Контроль прохождения реакции по ТСХ на силикагеле в системе бензол:ЭА=20:2, обнаружение анисальдегидом. Реакционную смесь упаривают, вакуумируют до исчезновения запаха *m*-бутил-гидропероксида, остаток хроматографируют на SiO_2 колонке в возрастающем градиенте бензол-ЭА. Получили: fr.5 m=81 мг, бесцветное масло; fr.6–fr.7 m=2,049 г, смесь исходных лактонов **23** и **22**, желтоватое прозрачное масло; fr.8–fr.9 m=346 мг, смесь веществ; fr.10–fr.13 m=1.470 г (5,92 ммоль, выход 23%), лактон **31**, ТСХ в системе бензол:ЭА=20:5 $R_f=0.47$, ТСХ в системе ХФ:ЭА=20:2 $R_f=0,26$; fr.14–fr.18 m=1,008 г (4,06 ммоль, выход 16%), лактон **30**, аморфная желтоватая пена с небольшим запахом селена, ТСХ бензол:ЭА=20:5 $R_f=0.27$, ТСХ ХФ:ЭА=10:10 $R_f=0.61$; fr.19–fr.23 m=1.183 г (4.76 ммоль, выход 19%), лактон **29**, аморфное желтоватое вещество с небольшим запахом селена, ТСХ ХФ:ЭА=10:10 $R_f=0.46$. Полученные лактоны дополнительно фильтровали через слой силикагеля для очистки от следов окиси селена. Лактон **30**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.15 (3H, с, H-14), 1.24 (1H, м, H-1a), 1.50-1.56 (2H, м, H-1b + H-2a), 1.70-1.82 (3H, м, H-6a + H-9a + H-9b), 1.78 (3H, с, H-15), 1.98 (1H, уш.т, $J = 12.1$, H-2b), 2.76 (1H, дд, $J = 13.7/7.4$, H-6b), 3.02-3.08 (1H, м, H-7), 4.05 (1H, т, $J = 7.2$, H-3), 4.49 (1H, тд, $J = 7.5/5.0$, H-8), 5.63 (1H, д, $J = 2.3$, H-13a), 6.25 (1H, д, $J = 2.5$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 15.5 (C-15), 27.0 (C-14), 28.3 (C-6), 29.1 (C-2), 29.9 (C-1), 34.2 (C-10), 41.1 (C-7), 42.2 (C-9), 71.0 (C-3), 76.2 (C-8), 121.8 (C-13), 129.6 (C-4), 136.0 (C-5), 140.3 (C-11), 170.0 (C-12). Лактон **32**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.23 (3H, с, H-14), 1.75 (1H, ддд, $J = 13.1/5.7/2.4$, H-1a), 1.79 (1H, д, $J = 13.9$, H-9a), 1.82 (3H, д, $J = 1.1$, H-15), 1.93 (1H, дд, $J = 13.8/4.6$, H-9b), 2.04 (1H, тд, $J = 13.6/5.2$, H-1b), 2.22 (1H, ддд, $J = 12.8/11.2/1.3$, H-6a), 2.47 (1H, ддд, $J = 18.1/5.3/2.3$, H-2a), 2.62 (1H, ддд, $J =$

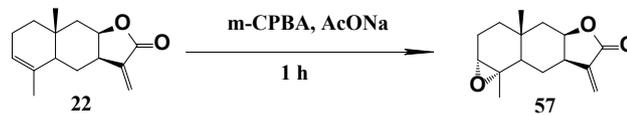
18.0/14.1/5.6, H-2b), 3.05 (1H, дд, $J = 13.1/7.3$, H-6b), 3.22 (1H, дтт, $J = 10.9/8.0/2.9$, H-7), 4.61 (1H, ддд, $J = 11.1/8.4/4.7$, H-8), 5.71 (1H, д, $J = 2.7$, H-13a), 6.36 (1H, д, $J = 3.1$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 11.3 (C-15), 25.2 (C-14), 29.8 (C-6), 34.1 (C-2), 34.8 (C-1), 35.4 (C-10), 39.7 (C-7), 42.7 (C-9), 74.8 (C-8), 123.3 (C-13), 130.2 (C-4), 138.7 (C-11), 158.9 (C-5), 170.0 (C-12), 198.0 (C-3). Лактон **29**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.06 (3H, с, H-14), 1.38 (1H, дт, $J = 12.9/4.0/3.2$, H-1a), 1.69 (1H, дд, $J = 10.1/3.7$, H-1b), 1.73-1.78 (1H, м, H-2a) + 1.75 (1H, дд, $J = 14.4/4.5$, H-9a), 1.80 (3H, с, H-15), 1.83 (1H, дд, $J = 14.4/7.9$, H-9b), 1.89 (1H, дт, $J = 14.0/4.3/3.6$, H-2b), 1.97 (1H, тд, $J = 13.1/11.8/2.0$, H-6a), 2.77 (1H, дд, $J = 13.7/7.4$, H-6b), 3.08 (1H, дтт, $J = 11.7/7.2/2.3$, H-7), 3.93 (1H, дт, $J = 4.3/2.0$, H-3), 4.51 (1H, тд, $J = 7.7/4.7$, H-8), 5.62 (1H, д, $J = 2.2$, H-13a), 6.23 (1H, д, $J = 2.5$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 17.0 (C-15), 25.5 (C-14), 27.8 (C-6), 28.1 (C-2), 32.1 (C-1), 34.1 (C-10), 40.9 (C-7), 42.5 (C-9), 68.9 (C-3), 76.2 (C-8), 121.7 (C-13), 128.5 (C-4), 136.4 (C-5), 140.4 (C-11), 170.8 (C-12). Лактон **31**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.03 (3H, с, H-14), 1.47 (1H, дт, $J = 12.1/7.5/6.5$, H-1a), 1.59 (1H, дт, $J = 14.2/7.3$, H-1b), 1.70-1.79 (2H, м, H-9a+H-9b) + 1.79 (3H, с, H-15), 1.84 (1H, дд, $J = 14.9/5.3$, H-6a), 1.97 (1H, д, $J = 7.8$, H-6b), 2.00-2.06 (2H, м, H-2a+H-2b), 2.95 (1H, ддт, $J = 14.2/8.3/2.1$, H-7), 4.57 (1H, дт, $J = 11.6/5.8$, H-8), 5.48 (1H, тд, $J = 3.7/1.6$, H-3), 5.61 (1H, д, $J = 2.0$, H-13a), 6.18 (1H, д, $J = 2.3$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 18.6 (C-15), 22.4 (C-2), 23.1 (C-14), 31.2 (C-1), 33.4 (C-6), 36.3 (C-9+C-10), 38.8 (C-7), 72.8 (C-5), 76.4 (C-8), 120.8 (C-13), 125.4 (C-3), 136.2 (C-4), 140.3 (C-11), 177.7 (C-12).

Метод Б. Конверсия изоалантолактона в смесь SL-3/SL30. В 250 мл колбе на масляной бане растворяют в 100 мл бензола 6,0 г изоалантолактона (**2**, 25,82 ммоль), 500 мг кристаллического йода (1,97 ммоль), доводят до легкого кипения и оставляют в таком состоянии с обратным холодильником на 18 ч. После чего останавливают нагрев, смесь промывают в воронке раствором $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ до исчезновения темной окраски и экстрагируют еще раз бензолом. Органические слои упаривают при пониженном давлении, фильтруют через короткую колонку бензолом, состав фракций контролируют на ТСХ в системе бензол:ЭА=10:1. Получили 6,151 г масла, которое использовали далее без дополнительной очистки.

Окисление лактонов SL-3/SL30 диоксидом селена. В колбе с магнитной мешалкой всю смесь лактонов **23** и **22** (расчетная масса 6 г, 25,82 ммоль), полученных на предыдущем этапе растворяют в 90 мл хлороформа, добавляют 500 мг диоксида селена (4,5 ммоль), прибавляют 4 мл 70% *m*-бутил-гидропероксида и оставляют перемешиваться в течение 7 суток. Реакцию разделяют аналогично прошлому способу. По схожим паттернам на ТСХ собрали фракции: fr.4-fr.7 $m=1,962$ г, смесь лактонов: fr.8 – в основном лактон SL-38; fr.9-fr.12 **31**, ТСХ в системе бензол:ЭА=20:5 $R_f=0,34$; fr.13-fr.17 **30**, ТСХ в системе бензол:ЭА=20:5 $R_f=0,21$, ТСХ ХФ:ЭА=10:10 $R_f=0,59$; fr.18-fr.21 **29**, ТСХ ХФ:ЭА=10:10 $R_f=0,40$. Смешанные фракции

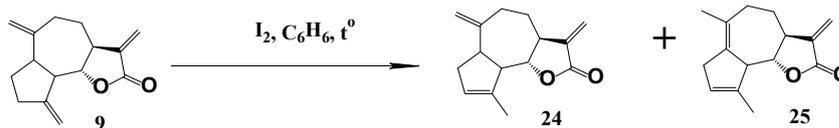
рехроматографируют в градиенте бензол:ЭА. Фракции, содержащие лактон **32** фракции рехроматографируют в ПЭ:Et₂O=1:1, затем в чистом эфире и в бензол:ЭА=20:2, получают его при кристаллизации из эфира в виде беспорядочных длинных игл. Выход лактонов **31** *m*=1,499 г (6,04 ммоль, 23%), **30** *m*=1,285 г (5,18 ммоль, 20%), **29** *m*=1.539 г (6,20 ммоль, 24%).

Эпоксидование аллоалантолактона (**22**)



В первой колбе растворяют 2,19 г (2X избыток) 70% *m*-CPBA в 20 мл диоксана и 4 мл воды, затем прибавляют 800 мг ацетата натрия. В второй колбе растворяют 1000 мг алло-изоалантолактона (**22**, 4,31 ммоль) в 20 мл ЭА, после чего прибавляют к приготовленному раствору *m*-CPBA и перемешивают в течение 1 ч. После этого разбавляют реакционную смесь ЭА и дважды промывают раствором Na₂S₂O₃, сушат Na₂SO₄ и упаривают. Остаток тут же хроматографируют на силикагеле в возрастающем градиенте бензол:ЭА. Получили 994 мг (4,01 ммоль, 93%) эпоксида в виде бесцветного масла, R_f=0,26 в системе бензол:ЭА=10:1. Эпоксид аллоизоалантолактона **57**: спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 200 МГц, δ, м. д., J/Гц): 0.88 (3H, с, H-14), 1.14 (3H, с, H-15), 2.93 (1H, с, H-3), 3.19 (1H, уш.с, H-7), 4.63 (1H, дт, J = 7.8/5.1, H-8), 5.59 (1H, д, J = 2.3, H-13a), 6.25 (1H, д, J = 2.6, H-13b); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 50 МГц δ, м. д.): 21.2 (C-14), 23.9 (C-15), 27.2 (C-2), 27.6 (C-6), 28.3 (C-1), 30.1 (C-10), 37.6 (C-7), 38.6 (C-5), 39.6 (C-9), 58.4 (C-4), 59.8 (C-3), 76.9 (C-8), 122.5 (C-13), 140.3 (C-11), 170.9 (C-12).

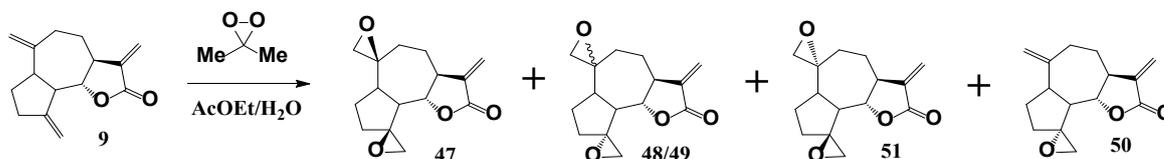
Миграция двойных связей в дегидрокостус-лактоне (SL-62) при действии йода.



В 100 мл бензола растворяют 5 г (21,7 ммоль, **9**) дегидрокостус-лактона, добавляют 200 мг кристаллического йода и кипятят с обратным холодильником 2 ч на масляной бане. Исчезновение субстрата контролируют по ТСХ на пластинках силикагеля импергнированным AgNO₃. После окончания реакции отгнют растворитель и остаток хроматографируют на колонке силикагеля, элюируя бензол:ЭА=10:1 (R_f продуктов 0,52 и 0,64), из fr.6-fr.9 получают 2,41 г чистой смеси целевых лактонов **24** и **25** в соотношении 44:54. Разделение изомеров производят на колонке силикагеля с импрегнированным 5% AgNO₃ в градиенте ПЭ:эфир. Состав фракций контролируют по ТСХ на пластинках Merck с силикагелем импрегнированным AgNO₃ в чистом бензоле, для изодегидрокостус-лактона **24** R_f=0,54, для кауниоида **25** R_f=0,37. В конце фильтруют полученные лактоны через слой окиси алюминия. Изодегидрокостус-лактон **24**: спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 200 МГц, δ, м. д., J/Гц): 1.34 (1H, м, H-8a), 1.75 (3H, с, H-15), 1.95-2.45 (5H, м, H-2 + H-9 + H-8b), 2.75(2H, м, H-1 + H-5) 3.04 (1H, кв, J = 7.5, H-7), 3.94 (1H, т, J = 9.6, H-

6), 4.77 (2H, д, $J = 3.4$, H-14), 5.38 (1H, д, $J = 3.1$, H-13a), 5.44 (1H, уш.с., H-3), 6.10 (1H, д, $J = 3.5$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 16.9 (C-15), 31.4 (C-8), 35.7 (C-9), 37.4 (C-2), 46.0 (C-7), 47.6 (C-1), 56.2 (C-5), 85.4 (C-6), 113.2 (C-14), 120.1 (C-13), 126.8 (C-3), 139.9 (C-10), 140.2 (C-4), 149.4 (C-11), 170.6 (C-12). Кауниолид **25**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.33 (1H, м, H-8a), 1.71 (3H, с, H-14), 1.93 (3H, с, H-15), 2.00-2.30 (3H, м, H-8b + H-9), 2.77 (1H, м, H-7), 2.96 (2H, уш.с, H-2), 3.39 (1H, д, $J = 10.2$, H-5), 3.64 (1H, т, $J = 9.9$, H-6), 5.37 (1H, д, $J = 3.1$, H-13a), 5.52 (1H, уш.с, H-3), 6.11 (1H, д, $J = 3.4$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 18.0 (C-15), 23.4 (C-14), 26.1 (C-8), 34.1 (C-9), 38.0 (C-2), 53.4 (C-7), 56.4 (C-5), 85.6 (C-6), 117.8 (C-13), 126.3 (C-3), 131.4 (C-4), 135.7 (C-1), 140.1 (C-10), 140.8 (C-11), 170.4 (C-12).

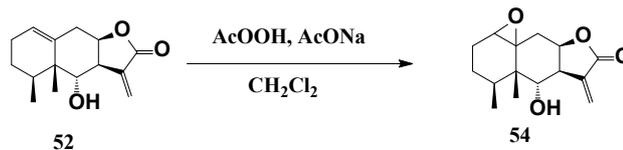
Эпоксидирование дегидрокостус-лактона (SL-62).



Метод А. С DMDO. В 1 л двугорлой колбе снабженной капельной воронкой помещают 15 г дегидрокостус-лактона (**9**, 76,7 ммоль) с примесями и растворяют 200 мл ЭА, после чего прибавляют 40 мл ацетона, 35 г NaHCO_3 в 200 мл воды. В капельную воронку помещают раствор 52 г Охопе в 200 мл воды и прибавляют каплями в реакционную смесь при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке в течение 40 мин при комнатной температуре. Затем смесь перемешивают еще 60 мин. Контролируют прохождение реакции по исчезновению **9** на ТСХ на силикагеле в системе C_6H_6 :ЭА=20:5, обнаружение анисальдегидом. В делительной воронке отделяют органический слой, промывают раствором NaCl , водные слои дополнительно экстрагируют ЭА, сумму органических слоев сушат над Na_2SO_4 . Отгоняют растворитель и хроматографируют на колонке силикагеля в возрастающем градиенте C_6H_6 :ЭА. Смешанные фракции рехроматографируют в градиенте ПЭ:ЭА. Из fr.4-fr.7 в итоге был выделен моноэпоксид **50** $m=4,105$ г, масло, ТСХ бензол:ЭА=20:5 $R_f=0,67$; из fr.8-fr.12 – диэпоксид **47**, $m=1,641$ г, выпадающие из масла кристаллы, ТСХ бензол:ЭА=20:5 $R_f=0,51$; из fr.8-fr.12 и из fr.13-fr.16 – неделимая смесь диэпоксидов **48** и **49**, $m=1.641$ г, выпадающие из масла кристаллы, ТСХ бензол:ЭА=20:5 $R_f=0.33$; и из fr.17-fr.22 – дополнительно еще 0,679 г смеси диэпоксидов **48** и **49** и 1,380 г предположительно диэпоксида **51**.

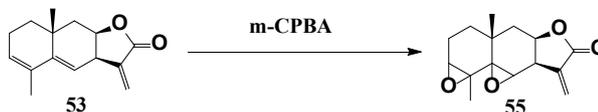
Метод Б. С m-CPBA. В колбе растворяют 500 мг (2,17 ммоль, **9**) дегидрокостус-лактона в 30 мл хлороформа, добавляют 424 мг (2X избыток) NaHCO_3 и 1,5 г 70% m-CPBA и перемешивают 2 ч. После окончания по ТСХ реакции смесь промывают в воронке 5% NaHCO_3 , водой и сушат над Na_2SO_4 . Очищают колоночной хроматографией элюируя бензол:ЭА=9:1. Из fr.4-fr.5 получили 128 мг (0,49 ммоль) диэпоксида **47** (ТСХ в системе Силуфол / бензол:ЭА=8:2 $R_f=0,42$), и из fr.6-fr.7 получили 430 мг (1,64 ммоль) диэпоксида **48/49** (ТСХ $R_f=0.30$).

Эпоксирирование эремофиланового лактона **52**.



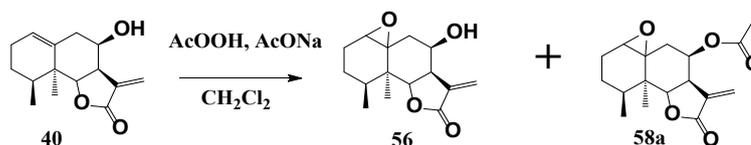
К раствору надуксусной кислоты (из 2,5 мл уксусного ангидрида и 0,5 мл 33% H_2O_2 при охлаждении водяной баней) прибавляют 0,5 г эремофианолида **52** в 4 мл дихлорметана и перемешивают 18 ч (O/N). После этого к реакционной смеси добавляют раствор NaHCO_3 и затем экстрагируют в воде и дихлорметане. Органические слои упаривают и быстро фильтруют через короткую колонку силикагеля, получают эпоксилактон **54** с количественным выходом в виде белого порошка. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.86 (3H, д, $J = 6.9$, H-15), 0.93 (3H, с, H-14), 1.21-1.33 (2H, м, H-3a+H-3b), 1.74 (1H, ддд, $J = 14.2/7.2/1.0$, H-9a), 1.90-1.94 (2H, м, H-2a+H-2b), 2.09 (1H, дд, $J = 14.3/10.2$, H-9b), 2.20 (1H, м, H-4), 2.85 (1H, д, $J = 9.1$, OH-6), 2.89 (1H, тд, $J = 2.7/0.9$, H-1), 3.71 (1H, дт, $J = 7.8/3.7$, H-7), 4.25 (1H, д, $J = 6.7$, H-6), 5.07 (1H, ддд, $J = 10.3/8.5/7.0$, H-8), 5.67 (1H, д, $J = 3.7$, H-13a), 6.40 (1H, дд, $J = 4.1/0.7$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 14.9 (C-15), 15.9 (C-14), 22.6 (C-2), 24.0 (C-3), 28.1 (C-), 35.7 (C-4), 39.9 (C-9), 47.5 (C-7), 57.5 (C-1), 63.4 (C-10), 73.5 (C-6), 74.1 (C-8), 122.5 (C-13), 136.7 (C-11), 170.0 (C-12).

Эпоксирирование алантодиена (**53**).

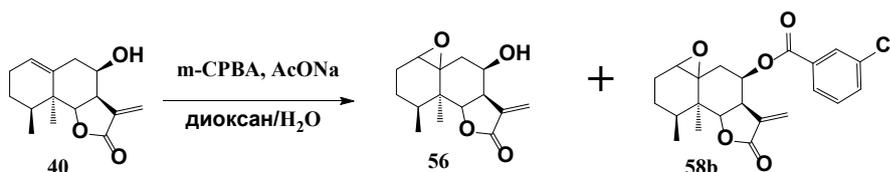


В колбе растворяют 500 мг алантодиена (2,17 ммоль, **53**) в 20 мл ДХМ, прибавляют 424 мг NaHCO_3 и 1,4 г 70% *m*-CPBA и перемешивают в течение ночи (18 ч). На следующий день образуется твердый объемный осадок, разбавляют ДХМ, промывают раствором NaHCO_3 с добавкой $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, промывают рассолом и сушат над Na_2SO_4 . Отгоняют растворитель и получают продукт эпоксирирования с количественным выходом (без дополнительной очистки). Лактон **55**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.98 (3H, с, H-14), 1.14 (1H, дд, $J = 13.7/6.0$, H-1a), 1.21 (3H, с, H-15), 1.51 (1H, тд, $J = 12.9/5.9$, H-1b), 1.68 (1H, дд, $J = 15.4/1.9$, H-9a), 1.78 (1H, ддд, $J = 15.5/4.7/0.8$, H-9b), 2.00 (1H, ддд, $J = 12.4/6.3/2.4$, H-2a), 2.09 (1H, ддт, $J = 15.8/5.9/1.6$, H-2b), 3.13 (1H, т, $J = 1.9$, H-3), 3.49 (1H, д, $J = 2.5$, H-6), 3.74 (1H, д.кв, $J = 8.6/2.6$, H-7), 4.68 (1H, ддд, $J = 8.9/4.8/1.8$, H-8), 5.84 (1H, д, $J = 2.6$, H-13a), 6.45 (1H, д, $J = 2.9$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 20.2 (C-15), 20.6 (C-2+C-14), 28.6 (C-1), 30.9 (C-10), 35.2 (C-9), 37.0 (C-7), 55.7 (C-4), 60.0 (C-6), 60.9 (C-3), 64.9 (C-5), 74.6 (C-8), 124.3 (C-13), 136.2 (C-11), 169.4 (C-12).

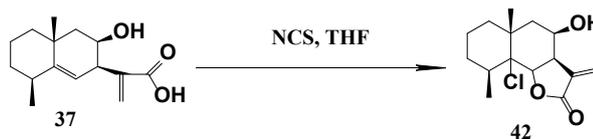
Эпоксирирование эремофиланового лактона **40**.



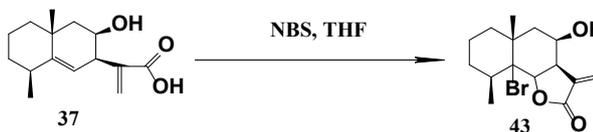
Метод А. В колбе с магнитной при охлаждении водяной баней со льдом к 5 мл уксусного ангидрида прибавляют 50 мкл серной кислоты и по каплям прибавляют 1,1 мл 33% H₂O₂, перемешивают еще 30 мин и нейтрализуют маленькими порциями ацетата натрия до нейтральной реакции. После этого к полученному раствору надуксусной кислоты прибавляют 600 мг лактона **40** в 10 мл дихлорметана. Спустя ночь выливают реакционную смесь в стакан с водой и магнитной мешалкой и порциями прибавляют насыщенный раствор NaHCO₃ до прекращения выделения газа. Отделяют нижний органический слой в воронке, еще раз экстрагируют дихлорметаном, органические слои промывают раствором NaCl, упаривают, хроматографируют на колонке с силикагелем в градиенте бензол:ЭА. Фракции fr.6-fr.8 дали побочный продукт ацилирования – лактон **58a** m=124 мг, ТСХ в системе бензол:ЭА=2:1 R_f=0.49 на пластинках Merck SiO₂; фракции fr.6-fr.8 после дополнительной очистки дали целевой продукт реакции – лактон **56** m=202 мг, ТСХ в той же системе R_f=0.30. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 500 МГц, δ, м. д., J/Гц): 0.92 (3H, д, J = 7.0, H-15), 0.99 (3H, с, H-14), 1.20-1.26 (2H, м, H-3a+H-3b), 1.34 (1H, ддд, J = 13.7/5.6/0.9, H-9a), 1.83 (1H, ддд, J = 11.6/7.0/4.7, H-4), 1.90-1.96 (2H, м, H-2a+H-2b), 2.41 (1H, дд, J = 13.6/9.7, H-9b), 2.97 (1H, д, J = 3.9, H-1), 3.62 (1H, ддт, J = 8.0/6.2/3.1, H-7), 4.43 (1H, дт, J = 9.6/5.8, H-8), 4.50 (1H, д, J = 8.0, H-6), 6.16 (1H, дд, J = 3.0/1.1, H-13a), 6.30 (1H, дд, J = 3.3/1.1, H-13b); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 126 МГц δ, м. д.): 12.1 (C-14), 16.6 (C-15), 22.0 (C-2), 24.6 (C-3), 35.0 (C-4), 35.4 (C-9), 40.6 (C-5), 45.0 (C-7), 58.6 (C-1), 64.5 (C-10), 67.2 (C-8), 83.7 (C-6), 122.8 (C-13), 136.4 (C-11), 171.3 (C-12).



Метод Б. В колбе растворяют в 5 мл диоксана и 2 мл воды 888 мг (2X избыток) 70% m-CPBA и прибавляют 400 мг ацетата натрия, при этом устанавливается pH≈7. Отдельно растворяют 450 мг лактона **40** (1,81 ммоль) в 10 мл дихлорметана и прибавляют при перемешивании к первому раствору. Перемешивают 2 ч при комнатной температуре, контролируют прохождение реакции по ТСХ. Затем разделяют реакционную смесь в воронке с раствором Na₂S₂O₃, экстрагируют из водного слоя еще раз бензолом и упаривают органические слои. Остаток хроматографируют на силикагеле в градиенте бензол:ЭА. Фракции fr.5-fr.6 дали побочный продукт ацилирования – лактон **58b** m=50 мг, ТСХ в системе бензол:ЭА=2:1 R_f=0,52; фракции fr.7-fr.10 дали продукт реакции лактон **56** m=447 мг, белый порошок; из фракции fr.11 после рехроматографии выделено еще 72 мг сесквитерпенового лактона неизвестного строения, R_f=0,19.

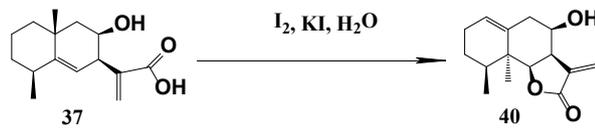
Хлорлактонизация с NCS алантовой кислоты.

В колбе растворяют 500 мг алантовой кислоты (**37**, 2,00 ммоль) в 25 мл сухого ТГФ, приливают туда же раствор 520 мг (2X избыток) *N*-хлор-сукцинимид в 25 мл ТГФ и прибавляют 276 мг K_2CO_3 . Реакционную смесь мешают в течение 24 ч, после чего выливают в воронку с насыщенным раствором $NaHCO_3$ и извлекают несколько раз эфиром, органические слои промывают рассолом и упаривают при пониженном давлении, вакуумируют и получают хлорлактон **42** с количественным выходом, белое твердое вещество с тонким приятным запахом, используется далее без дополнительной очистки. Лактон **42**: спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 500 МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 1.23 (1H, м, H-1a), 1.45 (1H, dd, $J = 12.1/7.2$, H-3a), 1.46 (3H, д, $J = 8.3$, H-15), 1.48-1.53 (1H, м, H-2a), 1.50 (3H, с, H-14), 1.56 (1H, дд, $J = 14.7/2.1$, H-9a), 1.78 (1H, тдд, $J = 13.9/3.9/1.0$, H-1b), 1.90 (1H, кв.т, $J = 13.5/4.1$, H-2b), 2.20 (1H, ддд, $J = 14.7/4.1/1.0$, H-9b), 2.39 (1H, м, H-4), 2.43 (1H, м, H-3b), 3.64 (1H, дддд, $J = 5.9/4.9/1.1/0.6$, H-7), 4.22 (1H, дддд, $J = 5.9/4.1/2.2/0.4$, H-8), 4.56 (1H, д, $J = 4.8$, H-6), 5.68 (1H, дд, $J = 1.1/0.3$, H-13a), 6.33 (1H, дд, $J = 1.2/0.3$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, 126 МГц δ , м. д.): 16.4 (C-2), 19.2 (C-15), 24.0 (C-14), 30.16 (C-3), 36.7 (C-10), 37.6 (C-1), 42.1 (C-4), 44.8 (C-9), 45.1 (C-7), 67.8 (C-8), 82.6 (C-6), 87.6 (C-5), 121.4 (C-13), 138.7 (C-11), 170.2 (C-12).

Бромлактонизация с NBS алантовой кислоты.

Аналогично, но с заменой на *N*-бром-сукцинимид. Выход количественный. Продукты реакций галогенлактонизаций следует хранить в холодильнике при низкой температуре для избежания деградации с образованием лактона **43**. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 500 МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 1.34 (1H, м, H-1a), 1.49 (3H, д, $J = 8.3$, H-15), 1.52 (1H, м, H-2a), 1.56 (3H, с, H-14), 1.58 (1H, м, H-3a), 1.72 (1H, дд, $J = 14.9/2.1$, H-9a), 1.81 (1H, м, H-1b), 1.95 (1H, кв.т, $J = 13.2/3.9/3.4$ Hz, H-2b), 2.23 (1H, ддд, $J = 14.9/4.2/1.1$, H-9b), 2.47-2.67 (2H, м, H-3b+H-4), 3.83 (1H, ддт, $J = 6.1/4.7/1.3$, H-7), 4.22 (1H, ддд, $J = 6.2/4.3/2.4$, H-8), 4.87 (1H, д, $J = 4.8$, H-6), 5.69 (1H, д, $J = 1.2$, H-13a), 6.34 (1H, д, $J = 1.1$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, 126 МГц δ , м. д.): 16.9 (C-2), 20.1 (C-15), 23.9 (C-14), 31.6 (C-3), 39.2 (C-1), 39.8 (C-10), 43.0 (C-4), 46.0 (C-7), 47.0 (C-9), 67.7 (C-8), 82.6 (C-6), 93.6 (C-5), 122.3 (C-13), 139.9 (C-11), 170.6 (C-12).

Йодлактонизация алантовой кислоты.



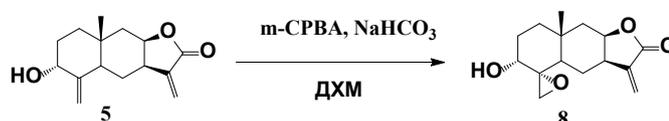
Метод А. В 10 мл воды и 360 мг КОН вносят 500 мг алантолактона (**1**, 2,15 ммоль) и при перемешивании дожидаются его полного гидролиза до калиевой соли, при этом раствор становится полностью прозрачным. Через раствор пропускают ток CO_2 до значений pH среды близких к нейтральным. К раствору прибавляют 1365 мг кристаллов йода (5,375 ммоль) и 100 мг йодида калия для улучшения растворимости. Оставляют реакцию при комнатной температуре на 3 дня, после чего в делительной воронке разбавляют водой и ХФ, добавляют маленькими порциями кристаллы гидрата тиосульфата натрия до устранения сильной бурой окраски йода. Экстрагируют дважды ХФ, органические фракции упаривают и хроматографируют на 10 г силикагеля, элюируя сначала бензолом, затем его смесью с ЭА 2:1, основная неокрашенная фракция представляет собой вещество **40** ($R_f=0,63$ в системе C_6H_6 :ЭА 4:1 на Силуфоле). После перекристаллизации из холодного ацетонитрила выход 253 мг (47,5%), желтоватые кристаллы.

Метод Б. Без выделения алантовой кислоты. В конической колбе помещают 3 г алантолактона (**1**, 12,9 ммоль), прибавляют раствор 5 г NaOH в 100 мл воды. Перемешивают при нагреве на магнитной мешалке с подогревом при установленной температуре 150 °С до полного растворения в горячем растворе алантолактона (при охлаждении выпадает осадок соли кислоты). Процесс может занять длительное время, для ускорения процесса крупные твердые куски лактона раздавливают стеклянной палочкой и держат горячий раствор на ультразвуковой бане. После завершения процесса пропускают ток CO_2 (из NaHCO_3 и H_2SO_4) в течение 30 мин. К раствору прибавляют 600 мг йодида калия и 4,572 г (1,5X) кристаллического йода и перемешивают при комнатной температуре 72 ч. После чего реакцию смесь разбавляют раствором $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ и дихлорметаном, органический слой промывают раствором $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ до исчезновения сильной окраски йода, промывают раствором NaCl, упаривают при пониженном давлении и хроматографируют на силикагеле в градиенте C_6H_6 :ЭА. После хроматографии из фракций fr.6-fr.8 получили 145 мг исходного алантолактона **1**; из фракций fr.9-fr.12 получили 1.536 г (6,2 ммоль, 48% от теории) эремофиланового лактона **40**, ТСХ $R_f=0,38$ (система C_6H_6 :ЭА 20:5); фракции fr.13-fr.15 дали смесь неизвестных лактонов. Лактон **40**: т.пл.= 165-168 °С. Найдено: m/z 271,1250 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{Na}$, вычислено: $[\text{M}+\text{Na}]^+= 271,1310$. Найдено: m/z 231,1333 $[\text{M} - \text{OH}]^+$. $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{O}_2$, вычислено: $[\text{M}-\text{OH}]^+= 231,1385$. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., J/Гц): 0.88 (3H, с, H-14), 1.05 (3H, д, $J = 6.9$, H-15), 1.36-1.44 (2H, м, H-3a+H-3b), 1.57 (1H, д.кв.д, $J = 10.7/6.9/3.3$, H-4), 1.97-2.02 (3H, м, H-2a +H-2b+OH-8), 2.19 (1H дд, $J = 12.7/4.7$, H-9a), 2.53 (1H, тд, $J = 12.6/2.5$, H-9b), 3.55 (1H, ддт, $J = 8.1/6.8/3.4$, H-7), 4.01 (1H, ддд, $J = 11.7/6.3/4.6$, H-8), 4.37 (1H, д, $J = 8.1$, H-6), 5.59 (1H, т, $J = 4.2$, H-1), 6.21 (1H, д, $J = 3.4$, 1H-13a), 6.24 (1H, д, $J = 3.7$, 1H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 15.7 (C-14), 16.9 (C-15), 25.5 (C-2), 27.0

(C-3), 37.0 (C-9), 41.7 (C-4), 43.4 (C-5), 45.6 (C-7), 70.0 (C-8), 86.0 (C-6), 122.5 (C-13), 126.6 (C-1), 135.6 (C-11), 137.1 (C-10), 171.9 (C-12).

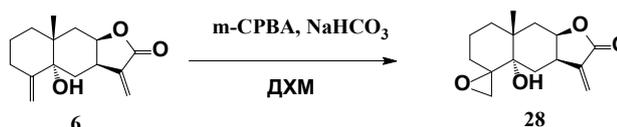
Метод В. Из алантовой кислоты. В колбу помещают 2,5 г алантовой кислоты (**37**, 9,99 ммоль), 50 мл воды, 2 г NaHCO_3 и прибавляют маленькими порциями NaOH до растворения основной части кислоты. После этого к смеси прибавляют 500 мг йодида калия и 3,81 г (1,5X) кристаллов йода. Перемешивают 48 ч при комнатной температуре, потом разбавляют раствором тиосульфата и CH_2Cl_2 , промывают еще раствором тиосульфата до просветления, слой дихлорметана промывают рассолом и упаривают. Остаток хроматографируют на силикагеле в градиенте C_6H_6 :ЭА. Из fr.3-fr.5 получили 454 мг алантолактона (**1**, 1,95 ммоль); из fr.5-fr.7 получили 248 мг неизвестного вещества; из fr.8-fr.11 получили 640 мг целевого лактона (**40**, 2,58 ммоль) в виде желтоватого твердого аморфного вещества; из fr.12-fr.14 получили 323 мг неизвестного вещества.

Эпоксицирование изотелекина (SL-17)



В 30 мл ДХМ растворяли 1,0 г изотелекина (4,03 ммоль, **5**), добавляли 424 мг (1X избыток) NaHCO_3 и 1,478 г (1,5X избыток) *m*-CPBA и перемешивали в течение ночи (18 ч). После обычной обработки получили 831 мг (3,15 ммоль, 78%) эпоксилактона **8** в виде единственного изомера реакции эпоксицирования. Лактон **8**: Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., *J*/Гц): 0.98 (1H, м, H-6a) + 0.97 (3H, с, H-14), 1.39 (1H, дт, *J* = 13.4/3.6, C-1a), 1.53 (1H, ддд, *J* = 14.0/7.0/2.5, C-6b) + 1.56 (1H, дд, *J* = 15.6/4.6, H-9a), 1.67 (1H, дт, *J* = 13.4/9.0, H-1b), 1.87 (2H, м, H-2ab), 2.19 (1H, дд, *J* = 15.7/1.8, H-9b), 2.25 (1H, дд, *J* = 13.2/2.6, H-5), 2.63 (1H, дд, *J* = 3.9/0.8, H-15a), 2.80 (1H, д, *J* = 4.1, H-15b), 2.92 (1H, ддд, *J* = 11.9/6.9/5.1, H-7), 3.41 (1H, т, *J* = 2.9, H-3), 4.48 (1H, тд, *J* = 4.9/1.7, H-8), 5.56 (1H, д, *J* = 1.1, H-13a), 6.11 (1H, д, *J* = 1.2, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 18.2 (C-14), 22.9 (C-6), 26.8 (C-2), 34.0 (C-10), 35.0 (C-1), 37.3 (C-5), 40.5 (C-7), 41.6 (C-9), 50.3 (C-15), 61.5 (C-4), 73.0 (C-3), 76.7 (C-8), 120.7 (C-13), 141.8 (C-11), 170.6 (C-12). Спектр соответствует описанному ранее α -эпокси-изотелекину [397].

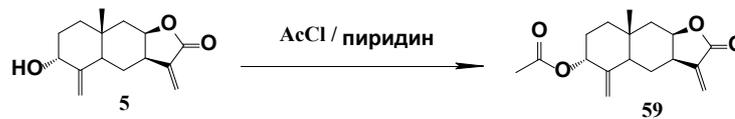
Эпоксицирование телекина (28)



В 15 мл ДХМ растворяли 0,5 г телекина (4,03 ммоль, **6**), добавляли 212 мг (1X избыток) NaHCO_3 и 0,740 г (1,5X избыток) *m*-CPBA и перемешивали до исчезновения субстрата по ТСХ на Silufol. После к реакционной смеси добавили хлороформ и промыли раствором NaHCO_3 в воронке с небольшой добавкой тиосульфата, потом еще два раза промывали рассолом. В итоге получили эпоксилактон **28** с количественным выходом. Лактон **28**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500

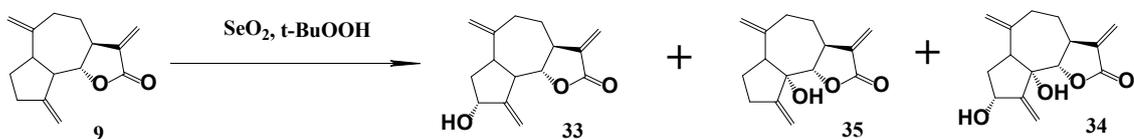
МГц, δ , м. д., J /Гц): 1.08 (3H, с, H-14), 1.12 (1H, ддд, $J = 15.0/4.9/2.9$, H-3a), 1.19 (1H, дт, $J = 15.0/4.7$, H-1a), 1.30 (1H, дд, $J = 14.3/11.7$, H-6a), 1.58 (1H, дд, $J = 14.1/7.0$, H-6b), 1.63-1.76 (2H, м, H-2a+H-2b), 1.80 (1H, тд, $J = 12.5/5.1$, H-1b), 1.89 (1H, д, $J = 15.2$, H-9a), 2.03 (1H, дд, $J = 15.0/5.6$, H-9b), 2.42 (1H, тдд, $J = 13.0/6.0/2.0$, H-3b), 2.74 (1H, д, $J = 4.2$, H-15a), 2.78 (1H, дд, $J = 4.3/2.0$, H-15b), 3.25 (1H, ддд, $J = 11.9/6.8/5.7$, H-7), 4.54 (1H, т, $J = 4.8$, H-8), 5.54 (1H, с, H-13a), 6.12 (1H, с, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 19.5 (C-2), 21.8 (C-14), 29.3 (C-6), 29.9 (C-3), 34.6 (C-1), 36.0 (C-9), 36.9 (C-10), 37.4 (C-7), 61.4 (C-4), 74.3 (C-5), 76.8 (C-8), 120.8 (C-13), 141.8 (C-11), 170.7 (C-12).

Ацилирование изотелекина (5).



В колбе растворяли 4 г изотелекина (16,1 ммоль, **5**) в 40 мл пиридина. Затем по каплям добавляли 1,77 г ацилхлорида при перемешивании, закрывали пробкой и оставляли реакцию идти в течение ночи при комнатной температуре. После этого при пониженном давлении отгоняли основную часть пиридина, добавляли к остатку воду и эфир, держали на ультразвуковой бане до растворения смолы. Водный слой трижды экстрагировали эфиром, после чего сумму органических частей промывали раствором винной кислоты и упаривали, получили 5,05 г остатка неочищенного лактона (**59**). Очищали колоночной хроматографией на силикагеле, собирая фракции с $R_f = 0,77$ на ТСХ в системе ХФ/ацетон 20:1 (подвижность изотелекина $R_f = 0,39$). Выход чистого ацилированного продукта **59** составил 3,55 г (12,2 ммоль, 76,0%). Лактон **59**: спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., J /Гц): 0.84 (3H, с, H-14), 1.36 (1H, дт, $J = 13.9/12.4$, H-6a), 1.40 (1H, дт, $J = 13.2/3.6$, H-1a), 1.55-1.61 (2H, м, H-1b+H-9a), 1.73 (1H, ддд, $J = 14.0/7.1/2.7$, H-6b), 1.78-1.86 (2H, м, H-2a+H-2b), 2.05 (3H, с, MeCO-O-3), 2.23 (1H, дд, $J = 15.5/1.7$, H-9b) + 2.24 (1H, ддт, $J = 12.6/2.5/1.7$, H-5), 3.02 (1H, ддд, $J = 12.1/7.0/5.3$, H-7), 4.52 (1H, тд, $J = 4.9/1.7$, H-8), 4.71 (1H, дд, $J = 2.0/1.0$, H-15a), 5.14 (1H, т, $J = 1.3$, H-15b), 5.36 (1H, т, $J = 2.9$, H-3), 5.60 (1H, д, $J = 1.0$, H-13a), 6.15 (1H, д, $J = 1.2$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-14), 21.7 (Me-CO-O-3), 27.1 (C-6), 27.2 (C-2), 34.0 (C-10), 36.5 (C-1), 40.6 (C-7), 41.1 (C-9), 41.6 (C-5), 75.5 (C-3), 76.8 (C-8), 112.7 (C-15), 120.5 (C-13), 142.1 (C-11), 145.7 (C-4), 170.2 (Me-CO-O-3), 170.6 (C-12).

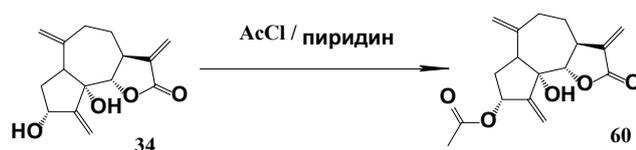
Синтез изозаллузанина-С из дегидрокостус-лактона.



Метод А. В 500-мл колбе растворяли 8,0 г дегидрокостус-лактона (**9**, 34,7 ммоль, $R_f = 0,76$ в системе бензол/ЭА 10 : 1, $R_f = 0,9$ в системе бензол/ЭА 2 : 1) в 250 мл хлороформа, добавляли 1 г диоксида селена, интенсивно перемешивали 10 мин при комнатной температуре. Затем добавляли 10 мл 70%-ного *t*-BuOOH порциями по 1 мл раз в 1 мин и перемешивали еще 2,5 ч, контролируя прохождение реакции по ТСХ. Затем к реакционной смеси добавляли безводный Na_2SO_4 , упаривали растворитель при пониженном давлении без нагрева, несколько раз промывали оставшийся Na_2SO_4 этилацетатом и также упаривали, вакуумировали и наносили на колонку с силикагелем, элюировали возрастающим градиентом бензол/ЭА, затем ацетоном. Из фракций fr.3-fr.6 получили 658 мг смеси **35** ($R_f = 0,74$ в системе бензол/ЭА 2:1, Силуфол) и лактона **9**; из фракций fr.7-fr.14 выделили лактон **33** ($R_f = 0,11$ в системе бензол/ЭА 10 : 1, $R_f = 0,43$ в системе бензол/ЭА 2:1) в количестве 4,76 г (его затем рехроматографировали для дополнительной очистки и удаления примесей окиси селена), белое твердое вещество; из фракций fr.16-fr.21 выделили 2,643 г диола неочищенного **34**, после объединения с фракциями от рехроматографий с тем же лактоном, подвергли их очистке на колонке силикагеля получив в итоге 2,71 г чистого диола **34** ($R_f = 0,14$ в системе бензол/ЭА 2:1). Спектры ^1H -ЯМР лактонов **33** и **34** соответствует описанному ранее [391].

Метод Б. Растворили в 300 мл ХФ 8,0 г дегидрокостус-лактона (**9**), добавили 1 г диоксида селена и добавляли 70% ТВНР при непрерывном перемешивании по 1 мл раз в 30 мин. Мешали до исчезновения дегидрокостус-лактона по ТСХ. Всего таким образом было добавлено 8 мл ТВНР. После этого упарили реакционную смесь при пониженном давлении, вакуумировали непродолжительное время и сразу же нанесли остаток на колонку силикагеля. Фракционировали быстро смесь через силикагель флеш-хроматографией. Фракции fr.7-fr.12 содержали изозаллузанин-С (**33**), после их дополнительной рехроматографии получили 2,802 г лактона **33**, дополнительно получили 423 мг того же лактона от очистки других фракций; из фракций fr.13-fr.16 выделили после дополнительной рехроматографии выделили 1,431 г лактона **33**, дополнительно 270 мг того же лактона получили от очистки более полярных фракций.

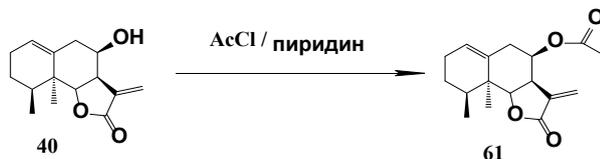
Ацилирование лактона **34**.



В колбе растворяют в 5 мл сухого пиридина 500 мг (1,91 ммоль) лактона-диола **34** и по каплям при перемешивании добавляют 250 мкл ацетил-хлорида. Реакцию оставляют перемешиваться в течение ночи, после чего выливают реакционную смесь в водный раствор винной кислоты и экстрагируют дважды этилацетатом, органические слои промывают водой и упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют на колонке силикагеле. В

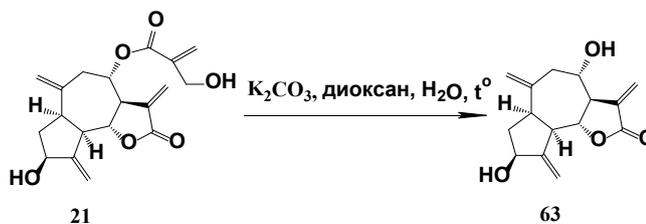
итоге, из fr.7-fr.11 было получено 489 мг (1,61 ммоль, 84%) лактона **60**, вязкое масло, ТСХ в системе бензол:ЭА = 20:5 Rf=0,34.

Ацилирование лактона **40**.



В колбе растворяют в 10 мл сухого пиридина 993 мг (4 ммоль) лактона **40**, при перемешивании по каплям добавляют 500 мкл ацетилхлорида и оставляют перемешиваться в течение ночи, после чего реакцию смесь разделяют в ЭА/растворе винной кислоты, промывают водой и отгоняют растворитель из суммы органических слоев. Очищают хроматографией на силикагеле, из fr.3-fr.5 после дополнительной рехроматографии получили 371 мг ацилированного лактона **61**, ТСХ в системе бензол:ЭА=20:2, Rf=0,44. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.90 (3H, с, H-14), 1.06 (3H, д, $J = 6.9$, H-15), 1.36-1.45 (2H, м, H-3a+H-3b), 1.60 (1H, д.кв.д, $J = 10.9/7.0/3.5$, H-4), 1.95-2.04 (2H, м, H-2a+H-2b), 2.11 (3H, с, Me-CO-O-8), 2.27 (1H, дд, $J = 13.0/5.1$, H-9a), 2.53 (1H, т.кв, $J = 12.8/2.7$ Hz, H-9b), 3.63 (1H, м, H-7), 4.42 (1H, д, $J = 8.1$, H-6), 5.00 (1H, ддд, $J = 12.1/6.4/4.8$, H-8), 5.66 (1H, т, $J = 3.2$, H-1), 5.97 (1H, д, $J = 3.3$, H-13a), 6.26 (1H, д, $J = 3.6$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 15.7 (C-14), 16.8 (C-15), 21.1 (Me-CO-O-8), 25.6 (C-2), 33.3 (C-9), 37.0 (C-3), 41.7 (C-4), 43.4 (C-7), 43.7 (C-5), 71.8 (C-8), 85.5 (C-6), 121.2 (C-13), 127.9 (C-1), 135.5 (C-11), 135.9 (C-10), 170.1 (Me-CO-O-8), 171.2 (C-12).

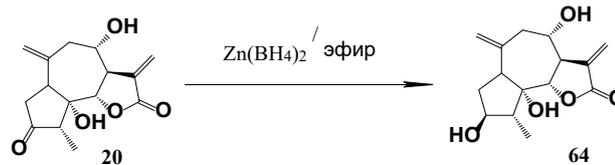
Гидролиз цинаропикрина (**21**).



В колбе растворяют 1,579 г (4,56 ммоль, **21**) цинаропикрина в 75 мл диоксана после чего добавляют раствор 4 г карбоната калия в 50 мл воды и кипятят смесь с обратным холодильником 18 ч. После охлаждения смесь выливают в раствор NaCl и хлороформ, при перемешивании к смеси добавляют концентрированную HCl по каплям до кислой реакции водного слоя по универсальному индикатору. Экстрагируют еще два раза хлороформом, промывают органические слои рассолом и сушат над Na_2SO_4 . После упаривания получают 1,709 г остатка в виде коричневого вязкого масла, анализ ^1H -ЯМР свидетельствует о прохождении реакции. Полученное темное масло очищают колоночной хроматографией на силикагеле элюируя возрастающим градиентом ХФ:ЭА, собирают фракции Rf (**63**)=0.53 в системе Силуфол/этилацетат 100% (Rf (**21**)=0,63 в той же системе). Собранные фракции упаривают,

тщательно вакуумируют после заморозки, получают 973 мг (**63**, 3,71 ммоль, 81%) целевого продукта в виде белой пены, оплавляющейся при комнатной температуре. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.72 (1H, ддд, $J = 13.2/10.9/7.7$, H-2a), 2.12-2.26 (1H, м, H-2b), 2.27 (1H, дд, $J = 14.5/3.3$, H-9a), 2.68 (1H, дд, $J = 14.0/4.8$, H-9b), 2.73-3.02 (3H, м, H-5+H-7+H-1), 3.95 (1H, дт, $J = 9.1/4.5$, H-8), 4.14 (1H, дд, $J = 10.3/9.0$, H-6), 4.54 (1H, тт, $J = 7.5/2.0$, H-3), 4.97 (1H, с, H-14a), 5.11 (1H, с, H-14b), 5.33 (1H, т, $J = 1.7$, H-15a), 5.46 (1H, т, $J = 1.8$, H-15b), 6.14 (1H, д, $J = 3.1$, H-13a), 6.24 (1H, д, $J = 3.5$, H-13b). Спектры ЯМР соответствуют литературным [425] [426].

Селективное восстановление гроссгемина



Приготовление реагента. Предварительно подготавливают безводный хлорид цинка. Для этого к имеющемуся влажному хлорид цинка прибавляют диэтиловый эфир и порцию хлористого тионила, перемешивают, отгоняют летучие вещества на роторном испарителе и затем нагревают колбу строительным феном при температуре 400 °С до постоянной массы. В колбу помещают 100 мл эфира, порциями прибавляют 10 г безводного хлорида цинка (экзотермичный процесс), суспендируют на УЗ бане и кипятят с холодильником 2 ч. После чего без фильтрации все содержимое выливают в колбу с суспензией 5,5 г NaBH_4 в 250 мл эфира, закрывают пробкой и перемешивают 3 д при комнатной температуре. Дают осесть осадку и надосадочную жидкость используют как реагент без дополнительных манипуляций.

Реакция. В колбе суспендируют 1 г гроссгемина (**20**, 3,81 ммоль) в 50 мл эфира на УЗ бане при комнатной температуре, соскребают осевший на стенках слой гроссгемина. Прибавляют 50 мл раствора $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$ в эфире приготовленного на предыдущей стадии, перемешивают и затем добавляют 50 мл ХФ для растворения осадков. Контроль прохождения реакции по ТСХ в системе MN-SiO_2 , элюент толуол:ацетон = 2:1, $R_f(\text{продукт})=0,36$, синее пятно при обнаружении анисальдегидом, $R_f(\mathbf{20})=0,52$, желтое пятно при обнаружении анисальдегидом. Спустя 1 ч восстановления выливают реакционную смесь в стакан с водой и добавкой уксусной кислоты, прибавляют ЭА, перемешивают до конца выделения газа и разделяют слои в воронке. Органический слой промывают рассолом, сушат 15 мин над Na_2SO_4 и отгоняют растворитель при пониженном давлении. Остаток дополнительно очищают колоночной хроматографией на силикагеле в градиенте бензол:ЭА, затем бензол:ацетон, собирают фракции содержащие гроссгеминол и упаривают. Выход **64** 567 мг (2,15 ммоль, 56%), слегка желтое очень вязкое масло. Выход отличается от количественного из-за нерастворимой примеси полимера от длительного хранения субстрата, а также из небольшого количества оставшегося невосстановленного гроссгемина после реакции. Гроссгеминол **64**: ЯМР ^1H (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.

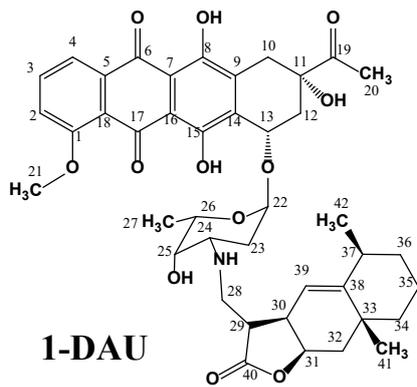
д., $J/\text{Гц}$): 1.09 (3H, д, $J = 6.2$, H-15), 1.62 (1H, тд, $J = 11.9/8.9$, H-2a), 1.79-1.91 (2H, м, H-4 + H-5) 2.03 (1H, ддд, $J = 18.2/11.4/5.5$, H-2b) + 2.09 (1H, дд, $J = 13.1/7.7$, H-9a), 2.59-2.67 (2H, м, H-7 + H-9b), 2.79 (1H, м, H-1), 3.68 (1H, тд, $J = 7.8/5.9$, H-3), 3.76 (1H, тд, $J = 8.3/4.7$, H-8), 3.97 (1H, т, $J = 9.7$, H-6), 4.89 (1H, с, H-14a), 4.95 (1H, с, H-14b), 6.08 (1H, д, $J = 3.1$, H-13a), 6.15 (1H, д, $J = 3.4$, H-13b); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 100 МГц δ , м. д.): 18.5 (C-15), 38.9 (C-2), 43.5 (C-4), 45.2 (C-9), 47.1 (C-7), 52.0 (C-5), 53.3 (C-1), 73.2 (C-8), 78.7 (C-3), 81.1 (C-6), 116.0 (C-14), 123.4 (C-13), 138.2 (C-11), 143.0 (C-10), 170.2 (C-12).

3.4 Синтез конъюгатов с антрациклинами

Получение даунорубицина в виде основания. В делительной воронке растворяли 1 г даунорубицина гидрохлорида в 200 мл воды, прибавляли 100 мл хлороформа и добавляли NaHCO_3 до перехода основной части окрашенного антрациклина в органический слой. Нижний слой сливали и упаривали, экстрагировали оставшийся даунорубицин из водной фазы еще 3 раза по 50 мл хлороформа. Сумму хлороформных вытяжек упаривали, получая порошок сухого основания даунорубицина. Для этой цели подходит продажный хлороформ, стабилизированный небольшой добавкой спирта. При использовании чистого перегнанного хлороформа к нему следует добавить несколько миллилитров метанола.

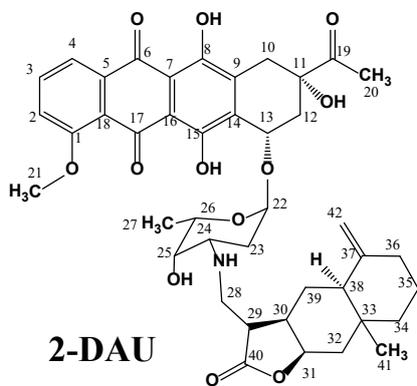
Получение конъюгатов сесквитерпеновых лактонов с даунорубицином – общая методика. В виале растворяли 250 мг (0,474 ммоль) даунорубицина в виде свободного амина в смеси 2 мл метанола и 2 мл хлороформа, туда же вносили 0.431 ммоль соответствующего лактона и 50 мкл воды. Закрывали и оставляли реакционную смесь при температуре 40 °С на 7 суток или оставляли при комнатной температуре. Ход реакции контролировали ТСХ в системе CHCl_3 : $\text{MeOH} = 9:1$. Реакционную смесь упаривали при пониженном давлении, очищали колоночной хроматографией на силикагеле, промывая сначала CHCl_3 :ацетон = 10:1, затем CHCl_3 : $\text{MeOH} = 20:1$ и CHCl_3 : $\text{MeOH} = 10:1$, при этом окрашенный продукт элюировался с колонки узкой зоной (непрореагировавший даунорубицин оставался на старте). В случае неполярных лактонов для хроматографии вместо метанола использовали изопропанол. Также хлороформ для целей хроматографии может быть заменен на смесь C_6H_6 :ацетон = 4:1.

(7S,9S)-7-[[3-((4S,7S,10R)-5-эвдесмен-12,8 β -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (1-DAU). Продукт получен с выходом 157 мг, красные пластинчатые кристаллы; т.пл. 152–158 °С, ТСХ $R_f = 0,49$ (бензол: $\text{MeOH} = 4:1$, Силуфол). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500.13 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.07 (3H, д, $J = 8.4$, H-42), 1.10 (1H, м, H-34a), 1.19 (3H, с, H-41), 1.36 (3H, д, $J = 6.6$, H-27), 1.41 (1H, м, H-35a), 1.46 (1H, уш.с, H-32a), 1.49 (2H, уш.т, H-36), 1.57 (1H, д, $J = 11.7$, H-34b), 1.74 (3H, м, H-23+H-35b), 2.09 (2H, тд, $J = 14.4/3.7$, H-32b+H-12a), 2.37 (1H, дт, $J = 14.8/1.8$, H-12b), 2.42 (4H, м, H-20+H-37), 2.77 (1H, м, H-28a), 2.90 (3H, м,



H-24+H-28b+H-29), 2.94 (1H, д, $J = 18.8$, H-10a), 3.08 (1H, ддд, $J = 8.2/5.6/3.1$, H-30), 3.21 (1H, дд, $J = 18.8/1.8$, H-10b), 3.65 (1H, уш.с, H-25), 4.07 (4H, м, H-21+H-26), 4.70 (1H, дт, $J = 5.6/2.5$, H-31), 5.04 (1H, д, $J = 3.1$, H-39), 5.28 (1H, дд, $J = 3.7/1.8$, H-13), 5.51 (1H, д, $J = 3.2$, H-22), 7.38 (1H, д, $J = 8.1$, H-2), 7.77 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 8.01 (1H, д, $J = 8.1$, H-4) 13.23 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.95 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 16.8 (C-35), 17.1 (C-27), 22.9(C-42), 24.8 (C-20), 28.6 (C-41), 30.3 (C-23), 32.8 (C-36), 33.0 (C-10), 33.3 (C-33), 34.9 (C-12), 37.8(C-30), 38.5 (C-37), 42.3 (C-34+C-28), 42.7 (C-32), 45.8 (C-29), 52.3 (C-24), 56.7 (C-21), 66.8 (C-26), 67.1 (C-25), 69.9 (C-13), 76.9 (C-31), 101.1 (C-22), 114.5 (C-39), 118.4 (C-2), 119.8 (C-4), 121.0 (C-18), 135.7 (C-3), 151.5 (C-38), 155.9 (C-8), 156.5 (C-15), 161.1 (C-1), 177.7 (C-40), 187.0 (C-17), 186.7 (C-6), 211.8 (C-19); масс-спектр HRMS (ESI) – найдено: m/z 760.3290 $[M + H]^+$, вычислено для $\text{C}_{42}\text{H}_{49}\text{NO}_{12}$: $[M + H]^+ = 760.3328$.

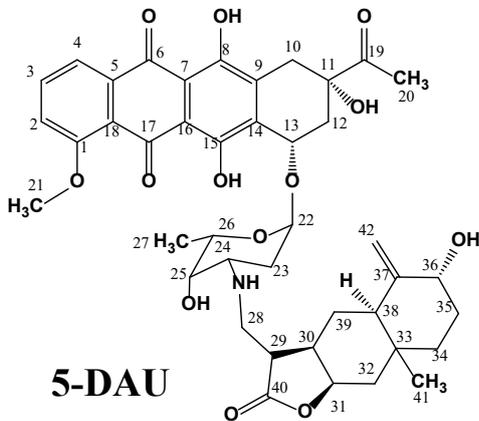
(7S,9S)-7-{{3-((5S,7S,10R)-4(14)-эвдесмен-12,8 β -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (2-DAU). Продукт получен с выходом 222 мг, красные



пластинчатые кристаллы; т.пл. 152–160 °С; ТСХ $R_f = 0,75$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 4:1$, Силуфол). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500.13 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.77 (3H, с, H-41), 1.13–1.25 (2H, м, H-34a+H-39a), 1.36 (3H, д, $J = 6.6$, H-27), 1.41–1.53 (3H, м, H-34b+H-39b+H-32a), 1.53–1.59 (2H, м, H-35), 1.68–1.78 (3H, м, H-23+H-38), 1.94 (1H, тд, $J = 12.8/6.6$, H-36a), 2.10 (1H, дд, $J = 14.7/4.1$, H-12a), 2.13 (1H, дд, $J = 15.7/1.7$, H-32b), 2.28 (1H, дт, $J = 11.9/3.4$, H-36b), 2.37 (1H, дт, $J = 14.7/1.8$, H-12b), 2.42 (3H, с, H-20), 2.41–2.48 (1H, м, H-30), 2.74 (1H, дд, $J = 11.9/6.9$, H-28a), 2.81 (1H, кв, $J = 6.6$, H-29), 2.88 (1H, ддд, $J = 6.8/4.6/2.7$, H-24), 2.96 (1H, д, $J = 18.9$, H-10a), 3.00 (1H, дд, $J = 12.4/6.9$, H-28b), 3.22 (1H, дд, $J = 18.9/1.8$, H-10b), 3.66 (1H, уш.с, H-25), 4.07 (3H, с, H-21), 4.01–4.10 (1H, м, H-26), 4.41 (1H, уш.с, H-42a), 4.45 (1H, тд, $J = 4.0/1.5$, H-31), 4.72 (1H, уш.с, H-42b), 5.29 (1H, дд, $J = 4.1/1.8$, H-13), 5.51 (1H, д, $J = 3.1$, H-22), 7.38 (1H, д, $J = 8.1$, H-2), 7.77 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 8.02 (1H, д, $J = 8.1$, H-4), 13.22 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.94 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 17.1 (C-27), 17.8 (C-41), 21.1 (C-39), 22.6 (C-35), 24.8 (C-20), 30.3 (C-23), 33.3 (C-10), 35.0 (C-12), 36.7 (C-36), 39.1 (C-30), 41.2 (C-28), 41.4 (C-32), 42.2 (C-34), 46.5 (C-38), 47.5 (C-29), 52.4 (C-24), 56.7 (C-21), 66.8 (C-26), 67.2 (C-25), 69.9 (C-13), 76.9 (C-11), 78.3 (C-31), 101.1 (C-22), 106.7 (C-42), 118.4 (C-4), 119.8 (C-2), 134.3 (C-5), 135.6 (C-3), 135.7 (C-9+C-14), 155.9 (C-8), 156.5 (C-

15), 161.1 (C-1), 177.9 (C-40), 186.8 (C-6), 187.1(C-17); масс-спектр HRMS (ESI) – найдено: m/z 760.3237 $[M + H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{49}NO_{12}$: $[M + H]^+ = 760.3328$.

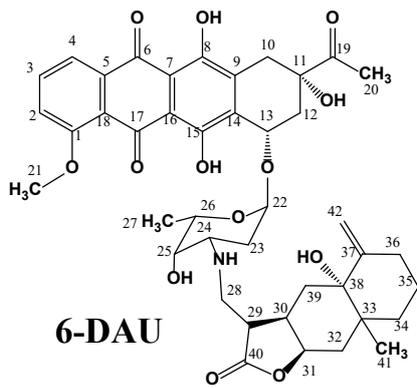
(7S,9S)-7-{{3-((3R,5R,7R,10R)-3-гидрокси-4(14)-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (5-DAU). Выход 287 мг, красное твердое вещество; ТСХ



Rf = 0,48 ($CHCl_3$:MeOH = 10:1, MN-силикагель). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 500.13 МГц, δ , м. д., J /Гц): 0.75 (3H, с, Н-41), 1.14 (1H, кв, $J = 12.7$, Н-39a), 1.23-1.27 (1H, м, Н-35a), 1.29 (1H, уш.д, $J = 12.9$, Н-34a), 1.36 (3H, д, $J = 6.6$, Н-27), 1.43 (1H, ддд, $J = 13.7/5.7/2.4$, Н-39b), 1.51 (1H, дд, 1H, $J = 15.7/4.5$, Н-32a), 1.66 (1H, тд, $J = 12.5/4.8$, Н-34b), 1.70-1.81 (3H, м, Н-23a+Н-23b+Н-35b), 2.10 (1H, дд, $J = 14.9/4.2$, Н-12a), 2.14 (1H, дд, $J = 15.4/2.0$, Н-32b), 2.31 (1H, д, $J = 1.7$, Н-38), 2.36 (1H, дт, $J = 14.8/2.1$, Н-12b), 2.42 (3H, с, Н-20), 2.51

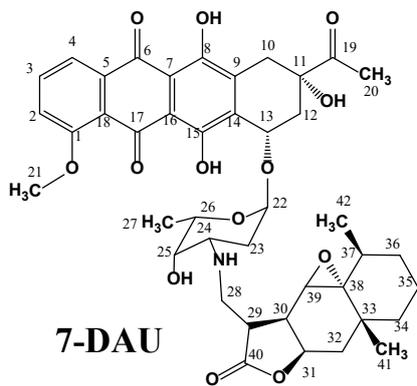
(1H, дтд, $J = 12.0/5.9/4.2$, Н-30), 2.77 (1H, дд, $J = 11.9/6.9$, Н-28a), 2.88 (1H, кв, $J = 6.7$, Н-29), 2.92 (1H, м, Н-24), 2.95 (1H, д, $J = 18.8$, Н-10a), 3.02 (1H, дд, $J = 12.0/7.1$, Н-28b), 3.21 (1H, дд, $J = 18.8/1.9$, Н-10b), 3.69 (1H, уш.с, Н-25), 4.00-4.11 (1H, м, Н-26), 4.07 (3H, с, Н-21), 4.27 (1H, т, $J = 2.7$, Н-36), 4.48 (td, 1H, $J=4.0/1.8$ Hz, Н-31), 4.55 (s, 1H, Н-42a), 4.93 (s, 1H, Н-42b), 5.27 (dd, 1H, $J=4.1/2.1$ Hz, Н-13), 5.51 (1H, д, $J = 3.6$, Н-22), 7.38 (1H, дд, $J = 8.7/1.1$, Н-2), 7.78 (1H, дд, $J = 8.5/7.7$, Н-3), 8.02 (1H, дд, $J = 7.7/1.1$, Н-4), 13.27 (уш.с, $H_{hydroquinone}$), 13.96 (уш.с, $H_{hydroquinone}$); спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, 126 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27 and C-41), 20.8 (C-39), 24.9 (C-20), 29.2 (C-23), 30.3 (C-35), 33.5 (C-10), 34.8 (C-33), 35.1 (C-12), 35.9 (C-34), 39.2 (C-30), 40.6 (C-38), 41.2 (C-32), 41.4 (C-28), 47.4 (C-29), 52.8 (C-24), 56.8 (C-21), 66.9 (C-26), 67.2 (C-25), 70.1 (C-13), 73.3 (C-36), 77.0 (C-11), 78.4 (C-31), 101.1 (C-22), 110.0 (C-42), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 118.6 (C-2), 119.9 (C-4), 121.1 (C-18), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.7 (C-5), 135.9 (C-3), 150.4 (C-37), 156.0 (C-8), 156.6 (C-15), 161.2 (C-1), 178.0 (C-40), 186.9 (C-6), 187.2 (C-17), 211.8 (C-19).

(7S,9S)-7-{{3-((5R,7S,10R)-5-гидрокси-4(14)-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (6-DAU). Выход 205 мг, красное твердое вещество; ТСХ Rf = 0.81 ($CHCl_3$: MeOH = 10 : 1, MN-силикагель). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 500.13 МГц, δ , м. д., J /Гц): 0.89 (3H, с, Н-41), 1.10 (1H, уш.д, $J = 12.8$, Н-34a), 1.28 (2H, уш.с, Н-32a+Н-32b), 1.37 (3H, д, $J = 6.6$, Н-27), 1.49-1.59 (2H, м, Н-35a+Н-35b), 1.72-1.83 (3H, м, Н-34b+Н-23a+Н-23b), 1.83 (1H, дд, $J = 15.3/1.7$, Н-39a), 1.94 (1H, дд, $J = 15.6/4.5$, Н-39b), 2.05 (1H, м, Н-36a), 2.10 (1H, дд, $J = 14.8/4.2$, Н-12a), 2.36 (1H, дт, $J = 14.7/2.2$, Н-12b), 2.42 (3H, с, Н-20), 2.50 (1H, тд, $J = 12.3/6.4$, Н-36b), 2.74 (1H, дд, $J = 12.5/7.2$, Н-28a), 2.85 (1H, д, $J = 6.9$, Н-29), 2.87-2.93 (2H, м, Н-24+Н-30),



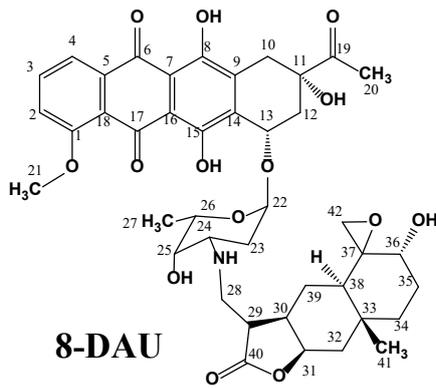
2.96 (1H, д, $J = 18.8$, H-10a), 3.04 (1H, дд, $J = 12.4/6.4$, H-28b), 3.21 (1H, дд, $J = 18.8/2.0$, H-10b), 3.68 (1H, уш.с, H-25), 4.06-4.12 (1H, м, H-26), 4.07 (3H, с, H-21), 4.50 (1H, т, $J = 3.7$, H-31), 4.63 (1H, с, H-42a), 4.79 (1H, с, H-42b), 5.27 (1H, дд, $J = 4.1/2.1$, H-13), 5.51 (1H, д, $J = 3.0$, H-22), 7.38 (1H, дд, $J = 8.6/1.1$, H-2), 7.78 (1H, дд, $J = 8.4/7.7$, H-3), 8.01 (1H, дд, $J = 7.7/1.0$, H-4), 13.26 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.96 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 21.6 (C-35), 21.7 (C-41), 24.9 (C-20), 29.8 (C-32), 30.4 (C-23), 31.8 (C-36), 33.44 (C-10), 35.1 (C-12), 35.3 (C-34), 35.8 (C-39), 36.0 (C-30), 37.0 (C-33), 41.1 (C-28), 47.4 (C-29), 52.5 (C-24), 56.8 (C-21), 67.0 (C-26), 67.1 (C-25), 70.1 (C-13), 74.2 (C-38), 77.4 (C-11), 78.6 (C-31), 101.2 (C-22), 108.9 (C-42), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 118.6 (C-2), 120.0 (C-4), 121.1 (C-18), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.7 (C-5), 135.9 (C-3), 150.7 (C-37), 156.0 (C-8), 156.6 (C-15), 161.2 (C-1), 178.0 (C-40), 186.8 (C-6), 187.2 (C-17), 211.7 (C-19).

(7S,9S)-7-[[3-((4S,5R,7R,10R)-5,6-эпокси-эвдесман-12,8 β -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (7-DAU). Продукт получен как красное твердое



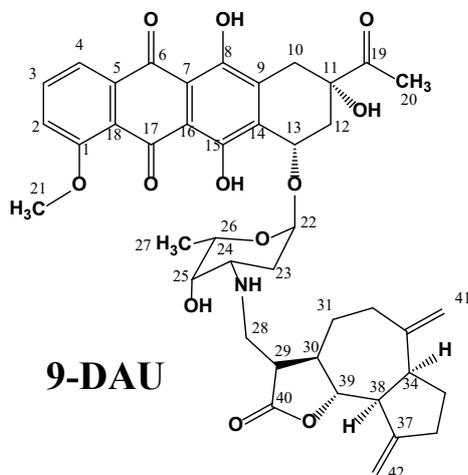
вещество с выходом 180 мг; ТСХ Rf = 0,49 (бензол:MeOH = 4:1, Силуфол). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500.13 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.06 (3H, д, $J = 7.9$, H-42), 1.14 (3H, с, H-41), 1.35 (3H, д, $J = 6.4$, H-27), 1.45–1.52 (3H, м, H-32a+H-34), 1.58 (1H, дд, $J = 15.0/2.0$, H-32b), 1.70–1.84 (3H, м, H-23+H-37), 2.11 (1H, дд, $J = 14.8/4.1$, H-12a), 2.36 (1H, дт, $J = 15.0/1.9$, H-12b), 2.41 (3H, с, H-20), 2.60 (1H, уш.д, $J = 5.8$, H-29), 2.80 (1H, уш.с, H-24), 2.87 (1H, м, H-30), 2.89–2.93 (1H, д, $J = 18.8$, H-10a), 2.91 (1H, д, $J = 2.7$, H-39), 2.94 (1H, м, H-28a), 2.99 (1H, м, H-28b), 3.23 (1H, дд, $J = 18.9/1.8$, H-10b), 3.6 (1H, уш.с, H-25), 4.04–4.10 (1H, м, H-26), 4.08 (3H, с, H-21), 4.58 (1H, дд, $J = 9.3/4.1$, H-31), 5.29 (1H, уш.с, H-13), 5.51 (1H, д, $J = 3.2$, H-22), 7.39 (1H, д, $J = 8.5$, H-4), 7.78 (1H, дд, $J = 7.7/8.5$, H-3), 8.03 (1H, дд, $J = 7.7/1.0$, H-2), 13.23 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.95 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 17.0 (C-27), 18.1 (C-42), 23.9 (C-41), 24.8 (C-20), 30.4 (C-23), 35.0 (C-12), 37.0 (C-30), 37.3 (C-37), 39.5 (C-39), 45.5 (C-29), 47.4 (C-28), 53.1 (C-39), 56.7 (C-21), 60.3 (C-24), 66.9 (C-26), 67.3 (C-25), 70.0 (C-13), 75.1 (C-38), 76.2 (C-31), 76.9 (C-11), 101.0 (C-22), 118.4 (C-4), 119.8 (C-2), 135.7 (C-3), 161.1 (C-1), 177.3 (C-40), 211.8 (C-19).

(7S,9S)-7-[[3-((3R,4R,5R,7R,10R)-3-гидрокси-4,14-эпокси-эвдесман-12,8 β -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (8-DAU). Выход 189 мг. Спектр ЯМР ^1H



(CDCl₃, 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.90 (3H, с, H-41), 1.22 (3H, д, $J = 7.2$, H-27), 2.41 (3H, с, H-20), 2.59-2.96 (7H, м, H-42a+H-42b+H-30+H-29+H-28a+H-10a+H-24), 3.20 (1H, д, $J = 18.9$, H-10b), 3.35 (1H, с, H-36), 3.65 (1H, с, H-25), 3.94-4.15 (1H, м, H-26) + 4.06 (3H, с, H-21), 4.44 (1H, с, H-31), 5.25 (1H, с, H-13), 5.50 (1H, с, H-22), 7.37 (1H, д, $J = 8.8$, H-2), 7.76 (1H, т, $J = 8.3$, H-3), 7.99 (1H, д, $J = 7.6$, H-4), 13.98 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 50 МГц δ , м. д.): 16.5 (C-41), 17.2 (C-27), 18.2 (C-39), 25.0 (C-20), 26.9 (C-35), 30.3 (C-23), 33.4 (C-10), 34.5 (C-38), 35.1 (C-12), 37.5 (C-33), 39.1 (C-34), 41.4 (C-32), 41.6 (C-28), 47.5 (C-30), 50.2 (C-29), 52.7 (C-24), 56.8 (C-21), 61.6 (C-42), 66.0 (C-37), 66.9 (C-26), 67.2 (C-25), 70.0 (C-13), 72.9 (C-36), 77.4 (C-11), 78.1 (C-31), 101.1 (C-22), 111.3 (C-7), 111.5 (C-16), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 134.4 (C-9+C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 155.9 (C-8), 156.6 (C-15), 161.1 (C-1), 178.0 (C-40), 186.8 (C-6), 187.1 (C-17), 212.0 (C-19).

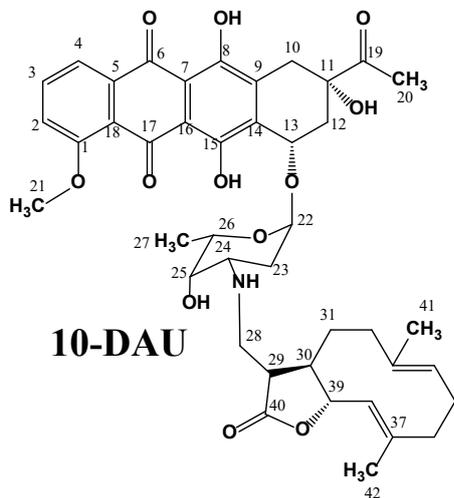
(7S,9S)-7-[[3-((1R,5R,7S)-4(15),10(14)-гвайянодиен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (9-DAU). Выход 305 мг (68,4% от теоретического),



красное твердое вещество; ТСХ Rf = 0,55 (CHCl₃:MeOH = 10:1, MN-силикагель). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.29 (1H, дд, $J = 12.1/5.1$, H-31a), 1.35 (3H, д, $J = 6.6$, H-27), 1.69 (1H, дд, $J = 13.1/5.2$, H-23b), 1.73 (1H, дд, $J = 12.1/3.8$, H-23a), 1.78-1.85 (1H, м, H-35a), 1.86-1.93 (1H, м, H-35b), 1.98 (1H, дд, $J = 12.2/4.8$, H-36a), 2.00 – 2.06 (2H, м, H-32a+H-31b), 2.09 (1H, дд, $J = 14.8/4.2$, H-12a), 2.22 (1H, ддд, $J = 12.2/9.5/2.8$, H-34), 2.28-2.32 (1H, м, H-30), 2.35 (1H, дт, $J = 14.7/2.2$, H-12b), 2.41 (3H, с, H-20), 2.42-2.51 (2H, м, H-36b+H-32b), 2.71 – 2.79 (2H, м, H-28a+H-38), 2.81-2.87 (2H, м, H-24+H-29), 2.88 (1H, д, $J = 18.8$, H-10a), 2.90 (1H, дд, $J = 12.2/4.1$, H-28b), 3.17 (1H, дд, $J = 18.8/2.0$, H-10b), 3.59 (1H, уш.с, H-25), 3.90 (1H, т, $J = 9.4$, H-39), 4.03-4.07 (1H, м, H-26), 4.06 (3H, с, H-21), 4.73 (1H, с, H-41a), 4.82 (1H, с, H-41b), 4.99 (1H, д, $J = 2.0$, H-42a), 5.12 (1H, д, $J = 1.9$, H-42b), 5.24 (1H, дд, $J = 4.2/2.1$, H-13), 5.48 (1H, д, $J = 3.7$, H-22), 7.37 (1H, дд, $J = 8.6/1.1$, H-2), 7.75 (1H, дд, $J = 8.5/7.7$, H-3), 7.98 (1H, дд, $J = 7.8/1.1$, H-4), 13.21 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.91 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 126 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 24.9 (C-20), 30.3 (C-23 and C-35), 32.6 (C-31 and C-32), 33.6 (C-10), 35.0 (C-12), 37.6 (C-36), 43.4 (C-28), 45.1 (C-34), 47.1 (C-29), 47.4 (C-30), 51.9 (C-38), 52.6 (C-24), 56.8 (C-21), 66.8 (C-26), 67.1 (C-25), 70.1 (C-13), 77.0 (C-11),

85.8 (C-39), 101.1 (C-22), 109.3 (C-42), 111.3 (C-7), 111.5 (C-16), 112.1 (C-41), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 134.3 (C-9), 134.4 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 149.8 (C-33), 151.7 (C-37), 155.9 (C-8), 156.5 (C-15), 161.1 (C-1), 177.5 (C-40), 186.7 (C-6), 187.0 (C-17), 211.9 (C-19).

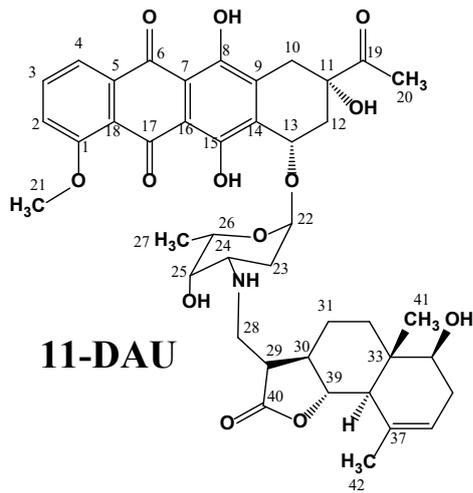
(7S,9S)-7-[[3-((4E,10E,7S)-4,10-гермакрадиен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (10-DAU). Выход 158 мг (48,5% от теоретического) и



225 мг (68,8% от теоретического), красное твердое вещество; ТСХ Rf = 0,69 (CHCl₃:i-PrOH = 10:1, MN-силикагель). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 500 МГц, δ , м. д., J/Гц): 1.37 (3H, д, J = 6.6, H-27), 1.38 (3H, с, H-41), 1.63 (1H, уш.дд, J = 12.5/2.5, H-31a), 1.66 (3H, д, J = 1.2, H-42), 1.75 (1H, дд, J = 12.5/4.0, H-23a), 1.68 (1H, дд, J = 13.7/5.3, H-23b), 1.77-1.82 (1H, м, H-31b), 1.92-2.02 (3H, м, H-32a+H-36a+H-30), 2.11 (1H, дд, J = 14.8/4.1, H-12a), 2.14-2.17 (1H, м, H-35a), 2.20-2.30 (2H, м, H-35b+H-36b), 2.32-2.37 (2H, м, H-32b+H-29), 2.37 (1H, дт, J = 14.8/2.1, H-12b), 2.42 (3H, с, H-20), 2.74 (1H, дд, J = 12.4/6.4,

H-28a), 2.87 (1H, ддд, J = 12.3/5.0/2.7, H-24), 2.96 (1H, дд, J = 12.4/3.7, H-28b), 2.98 (1H, д, J = 18.7, H-10a), 3.24 (1H, дд, J = 18.9/2.0, H-10b), 3.60 (1H, уш.с, H-25), 4.04-4.09 (1H, м, H-26), 4.08 (3H, с, H-21), 4.56 (1H, т, J = 9.4, H-39), 4.62 (1H, д, J = 9.7, H-38), 4.79 (1H, дд, J = 11.6/3.9, H-34), 5.30 (1H, дд, J = 3.9/2.0, H-13), 5.52 (1H, д, 1H, J = 3.8, H-22), 7.39 (1H, дд, J = 8.6/1.1, H-2), 7.78 (1H, дд, J = 8.5/7.7, H-3), 8.03 (1H, дд, J = 7.8/1.1, H-4), 13.30 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.97 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 126 МГц δ , м. д.): 16.2 (C-41), 17.3 (C-27), 17.4 (C-42), 24.9 (C-20), 26.2 (C-35), 28.7 (C-31), 30.3 (C-23), 33.5 (C-10), 35.1 (C-12), 39.6 (C-36), 41.2 (C-32), 43.1 (C-28), 47.6 (C-29), 49.6 (C-30), 52.5 (C-24), 56.8 (C-21), 66.8 (C-26), 67.0 (C-25), 70.1 (C-13), 77.1 (C-11), 82.0 (C-39), 101.1 (C-22), 111.5 (C-7), 111.6 (C-16), 118.6 (C-2), 119.9 (C-4), 121.2 (C-18), 127.1 (C-38), 127.3 (C-34), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.7 (C-5), 135.8 (C-3), 136.9 (C-33), 141.0 (C-37), 156.1 (C-8), 156.6 (C-15), 161.2 (C-1), 177.6 (C-40), 186.9 (C-6), 187.2 (C-17), 211.9 (C-19).

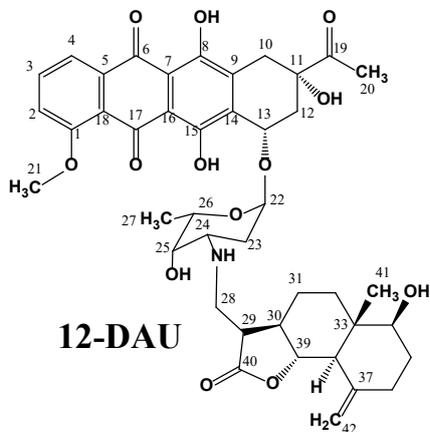
(7S,9S)-7-[[3-((1R,5S,7S,10R)-1-гидрокси-3-эвдесмен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (11-DAU). Выход 160 мг (47,8% от теоретического) и 176 мг (52,6% от теоретического), красное твердое вещество; ТСХ Rf = 0.49 (CHCl₃:MeOH = 10:1, MN-силикагель). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 500 МГц, δ , м. д., J/Гц): 0.85 (3H, с, H-41), 1.21 (1H, м, H-32a), 1.36 (3H, д, J = 6.5, H-27), 1.51-1.59 (1H, м, H-31a), 1.66-1.76 (2H, м, H-23a+H-23b), 1.78 (3H, с, H-42), 1.85 (1H, уш.д, J = 10.8, H-29), 1.89-1.98 (3H, м, H-32b+H-35a+H-31b), 2.10 (1H, дд, J = 14.8/4.1, H-12a), 2.19 (1H, д, J = 11.5, H-38), 2.32-2.40 (3H, м, H-30+H-12b+H-35b), 2.42 (3H, с,



H-20), 2.80 (1H, дд, $J = 12.4/5.9$, H-28a), 2.86 (1H, ддд, $J = 11.8/4.6/1.9$, H-24), 2.90 (1H, дд, $J = 12.3/4.6$, H-28b), 2.95 (1H, д, $J = 18.8$, H-10a), 3.22 (1H, дд, $J = 18.9/2.0$, H-10b), 3.58-3.62 (2H, м, H-25+H-34), 3.94 (1H, дд, $J = 11.4/10.0$, H-39), 4.04-4.12 (1H, м, H-26), 4.08 (3H, с, H-21), 5.28 (1H, дд, $J = 4.3/2.1$, H-13), 5.30 (1H, уш.с, H-36), 5.50 (1H, д, $J = 3.7$, H-22), 7.38 (1H, дд, $J = 8.6/1.1$, H-2), 7.77 (1H, дд, $J = 8.6/7.8$, H-3), 8.02 (1H, дд, $J = 7.7/1.1$, H-4), 13.27 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.95 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 11.2 (C-41), 17.3 (C-27), 23.4 (C-31), 24.9 (C-20), 30.4 (C-

23), 32.9 (C-35), 33.5 (C-10), 34.6 (C-32), 35.1 (C-12), 40.8 (C-33), 43.1 (C-28), 46.2 (C-30), 49.4 (C-29), 50.7 (C-38), 52.6 (C-24), 56.8 (C-21), 66.8 (C-26), 67.1 (C-25), 70.1 (C-13), 75.3 (C-34), 77.0 (C-11), 81.6 (C-39), 101.1 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 118.4 (C-2), 119.9 (C-4), 121.1 (C-18), 121.4 (C-36), 133.5 (C-37), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.7 (C-5), 135.8 (C-3), 156.0 (C-8), 156.6 (C-15), 161.2 (C-1), 178.1 (C-40), 186.9 (C-6), 187.2 (C-17), 211.9 (C-19).

(7S,9S)-7-{{3-((1R,5S,7S,10R)-1-гидрокси-4(14)-эвдесмен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (12-DAU). Выход 151 мг, красное твердое вещество;

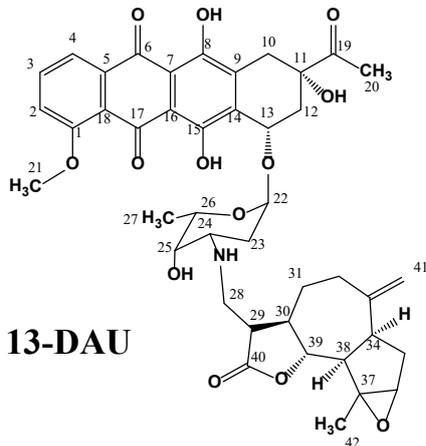


ТСХ $R_f = 0,46$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 10:1$, MN-силикагель). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.78 (3H, с, H-41), 1.25 (1H, м, H-32a), 1.36 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.57 – 1.45 (2H, м, H-31a+H-36a), 1.76 – 1.65 (2H, м, H-23a+H23b), 1.94 – 1.77 (3H, м, H-29+H-31b+H-36b), 2.00 (1H, дт, $J = 14.0/3.2$, H-32b), 2.03 (1H, уш.д, $J = 10.7$, H-37), 2.04-2.10 (1H, м, H-35a), 2.10 (1H, дд, $J = 14.8/4.3$, H-12a), 2.29 (1H, ддд, $J = 13.8/5.1/2.1$, H-35b), 2.36 (1H, дт, $J = 14.7/2.2$, H-12b), 2.41 (3H, с, H-20), 2.46 (1H, дт, $J = 11.2/5.3$, H-30), 2.82 (1H, дд, $J = 12.2/5.9$, H-28a), 2.85-2.92 (2H,

м, H-28b+H-24), 2.93 (1H, д, $J = 18.7$, H-10a), 3.20 (1H, дд, $J = 18.9/2.0$, H-10b), 3.46 (1H, дд, $J = 11.5/4.6$, H-34), 3.60 (1H, уш.с, H-25), 4.01-4.07 (2H, м, H-26+H-39), 4.07 (3H, с, H-21), 4.74 (1H, с, H-42a), 4.93 (1H, с, H-42b), 5.26 (1H, дд, $J = 4.2/2.1$, H-13), 5.50 (1H, д, $J = 3.2$, H-22), 7.38 (1H, дд, $J = 8.6/1.1$, H-2), 7.76 (1H, дд, $J = 8.4/7.8$, H-3), 8.00 (1H, дд, $J = 7.7/1.1$, H-4), 13.25 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.94 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 11.7 (C-41), 17.2 (C-27), 23.3 (C-31), 24.9 (C-20), 30.5 (C-23), 31.4 (C-36), 33.4 (C-10), 33.6 (C-35), 35.1 (C-12), 36.0 (C-32), 42.8 (C-33), 43.3 (C-28), 46.6 (C-30), 48.2 (C-29), 52.6 (C-38), 52.7 (C-24), 56.8 (C-21), 66.8 (C-26), 67.1 (C-25), 70.1 (C-13), 77.0 (C-11), 78.2 (C-34), 79.7 (C-39), 101.1 (C-22), 110.4 (C-42),

111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 142.8 (C-37), 156.0 (C-8), 156.5 (C-15), 161.2 (C-1), 177.9 (C-40), 186.8 (C-6), 187.1 (C-17), 211.9 (C-19).

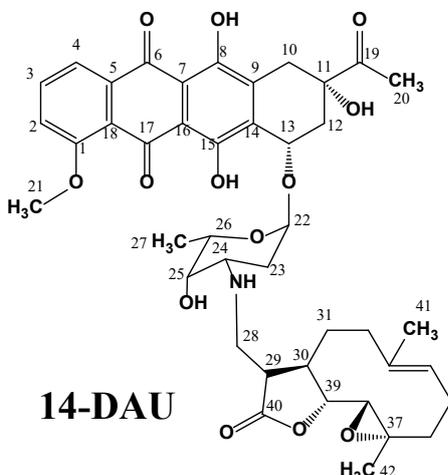
(7S,9S)-7-[[3-((1R,5S,7S)-3,4-эпокси-10(14)-гвайен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (13-DAU). Выход 340 мг (из 300 мг DAU). Спектр ЯМР



^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.25 (3H, с, Н-42), 1.36 (3H, д, $J = 6.5$, Н-27), 1.65-1/82 (5H, м, Н-23a+Н-23b+Н-35a+Н-35b+Н-31b), 2.03-2.35 (8H, м, Н-12a+Н-12b+Н-30+h-36+Н-38+Н-32a+Н-32b+Н-34), 2.41 (3H, с, Н-20), 2.76-2.86 (4H, м, Н-24+Н-28a+Н-28b+Н-29), 2.95 (1H, д, $J = 19.1$, Н-10a), 3.23 (1H, д, $J = 19.0$, Н-10b), 3.59 (1H, с, Н-25), 3.93-4.12 (1H, м, Н-26), 4.08 (3H, с, Н-21), 4.69 (1H, с, Н-39), 4.80 (1H, с, Н-41a), 4.86 (1H, с, Н-41b), 5.29 (1H, уш.с, Н-13), 5.51 (1H, уш.с, Н-22), 7.39 (1H, дд, $J = 8.6/1.1$, Н-2), 7.78 (1H, т, $J = 8.1$, Н-3), 8.03 (1H, дд,

$J = 7.7/1.1$, Н-4), 13.29 (1H, уш.с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$), 13.97 (1H, с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 18.8 (C-42), 24.9 (C-20), 30.3 (C-23), 30.8 (C-35), 31.0 (C-31), 32.8 (C-32), 33.5 (C-10), 35.1 (C-12), 43.7 (C-28), 45.2 (C-30), 47.2 (C-29), 50.4 (C-38), 52.7 (C-24), 56.8 (C-21), 63.3 (C-36), 66.0 (C-37), 66.9 (C-26), 67.1 (C-25), 70.1 (C-13), 81.2 (C-39), 101.1 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 114.6 (C-41), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.1 (C-18), 134.5 (C-9+C-14), 135.7 (C-5), 135.9 (C-3), 147.0 (C-33), 156.0 (C-8), 156.6 (C-15), 161.2 (C-1), 177.3 (C-40), 186.9 (C-6), 187.2 (C-17), 211.9 (C-19).

(7S,9S)-7-[[3-((4R,10E,7S)-4,5-эпокси-10-гермакрен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (14-DAU). Выход 311 мг, красное твердое вещество.

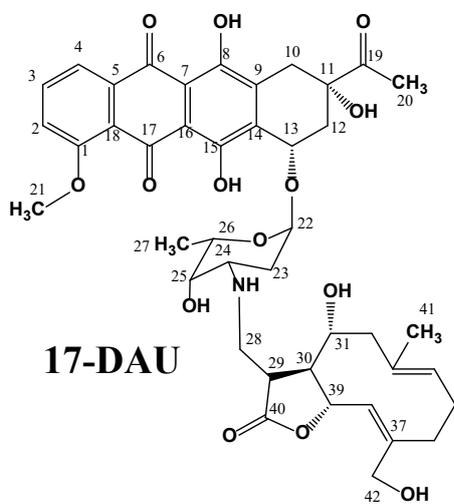


Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.27 (3H, с, Н-42), 1.37 (3H, д, $J = 6.5$, Н-27), 1.55-1.81 (7H, м, Н-41+Н-36a+Н-23+Н-31b), 2.01-2.34 (7H, м, Н-12+Н-30+Н-32+Н-35), 2.42 (3H, с, Н-20), 2.70 (1H, д, $J = 8.8$, Н-38), 2.77-2.98 (4H, м, Н-28+Н-29+Н-24), 2.96 (1H, д, $J = 19.1$, Н-10a), 3.24 (1H, д, $J = 18.8$, Н-10b), 3.59 (1H, уш.с, Н-25), 3.83 (1H, т, $J = 9.0$, Н-39), 4.01-4.13 (1H, м, Н-26), 4.08 (3H, с, Н-21), 4.71 (1H, с, Н-39), 5.16 (1H, уш.д, $J = 10.8$, Н-34), 5.30 (1H, с, Н-13), 5.52 (1H, с, Н-22), 7.39 (1H, д, $J = 8.6$, Н-2), 7.78 (т, $J = 8.0$, Н-3), 8.03

(1H, д, $J = 7.6$, Н-4), 13.29 (1H, уш.с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$), 13.98 (1H, с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 ,

50 МГц δ , м. д.): 17.0 (C-41), 17.2 (C-27), 17.3 (C-42), 24.2 (C-35), 24.9 (C-20), 30.1 (C-31), 30.3 (C-23), 33.5 (C-10), 35.1 (C-12), 36.7 (C-36), 41.2 (C-32), 42.9 (C-28), 46.6 (C-30), 48.0 (C-29), 52.6 (C-24), 56.8 (C-21), 61.7 (C-37), 66.4 (C-38), 66.8 (C-26), 67.0 (C-25), 70.1 (C-13), 82.7 (C-39), 101.1 (C-22), 111.5 (C-7), 111.6 (C-16), 118.6 (C-2), 119.9 (C-9), 121.1 (C-18), 125.4 (C-34), 134.4 (C-9+C-14+C-33), 135.7 (C-5), 135.9 (C-3), 153.0 (C-8), 156.6 (C-15), 161.2 (C-1), 176.4 (C-40), 186.9 (C-6), 187.2 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 776.5834 $[M + H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{50}NO_{13}$: $[M + H]^+ = 776.3277$.

(7S,9S)-7-[[3-((4Z,10E,7R,8S)-8,15-дигидрокси-4,10-гермакрадиен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (17-DAU) получен из 16). Выход 237 мг.

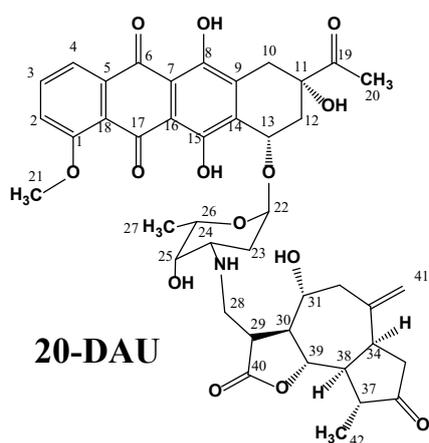


17-DAU

Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3+CD_3OD$, 500 МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 1.26 (3H, с, H-41), 1.28 (3H, д, $J = 6.8$, H-27), 1.80 (2H, м, H-23a + H-36a), 1.86 (1H, уш.д, $J = 10.8$, H-23b), 1.97 (1H, дд, $J = 12.1/4.4$, H-35a), 2.08 (3H, м, H-35b + H-12a + H-30), 2.18 (1H, т, $J = 11.7$, H-32a), 2.30 (1H, д, $J = 14.6$, H-12b), 2.39 (3H, с, H-20), 2.45 (1H, д, $J = 10.9$, H-36b), 2.53 (1H, д, $J = 13.0$, H-32b), 2.67 (1H, уш.т, $J = 10.6$, H-28a), 2.88 (1H, д, $J = 18.6$, H-10a) + 2.91 (1H, м, H-29), 2.96 (1H, уш.д, $J = 11.2$, H-24), 3.15 (1H, д, $J = 18.7$, H-10b), 3.42 (1H, д, $J = 15.0$, H-28b), 3.73 (1H, с, H-25), 3.82 (1H, т, $J = 9.2$, H-31), 3.92 (1H, д, $J = 14.0$, H-42a),

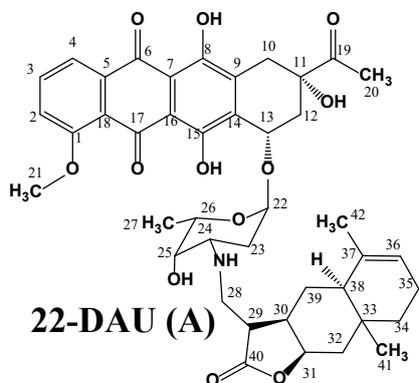
4.02-4.10 (1H, м, H-26) + 4.03 (3H, с, H-21), 4.15 (1H, д, $J = 14.0$, H-42b), 4.57 (1H, д, $J = 9.7$, H-38), 4.78 (1H, уш.д, $J = 7.9$, H-34), 4.97 (1H, т, $J = 9.4$, H-39), 5.18 (1H, с, H-13), 5.47 (1H, с, H-22), 7.34 (1H, д, $J = 8.5$, H-2), 7.73 (1H, т, $J = 8.0$, H-3), 7.94 (1H, д, $J = 7.7$, H-4), 13.19 (1H, уш.с, $H_{hydroquinone}$), 13.91 (1H, с, $H_{hydroquinone}$); спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3+CD_3OD$, 126 МГц δ , м. д.): 16.9 (д, C-27 + C-41), 24.9 (C-20), 26.2 (C-35), 29.3 (C-23), 33.2 (C-10), 35.1 (C-12), 35.2 (C-36), 46.0 (C-29), 46.5 (C-28), 52.0 (C-32), 53.2 (C-24), 56.7 (C-21), 59.3 (C-30), 61.2 (C-42), 66.9 (C-25), 67.2 (C-26), 70.1 (C-13), 70.6 (C-31), 76.7 (C-39), 77.4 (C-11), 100.8 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 118.6 (C-2), 119.8 (C-4), 120.9 (C-18), 128.3 (C-34), 128.4 (C-38), 134.2 (C-9), 134.3 (C-14), 134.9 (C-33), 135.5 (C-5), 135.8 (C-3), 143.2 (C-37), 155.6 (C-8), 156.4 (C-15), 161.1 (C-1), 176.5 (C-40), 186.7 (C-6), 187.0 (C-17), 212.0 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 792.6667 $[M + H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{50}NO_{14}$: $[M + H]^+ = 792.3226$.

(7S,9S)-7-[[3-((1R,4S,5R,7R,8S)-8-гидрокси-3-оксо-10(14)-гвайен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (20-DAU). Выход 316 мг. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 200 МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 1.19 (3H, д, $J = 6.6$, H-42), 1.30 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.67 (1H, дд,



$J = 12.8/3.8$, H-23a), 1.81 (1H, дд, $J = 14.7/4.2$, H-23b), 2.07-2.54 (9H, м, H-34+H-37+H-35a+H-35b+H-38+H-32a+H-32b+H-12a+H-12b), 2.41 (3H, с, H-20), 2.75-2.85 (2H, м, H-30+H-24), 2.93 (1H, д, $J = 19.1$, H-10a), 3.11 (1H, м, H-29), 3.24 (1H, д, $J = 19.0$, H-10b), 3.42-3.66 (2H, м, H-28a+H-28b), 3.59 (1H, с, H-25), 3.73 (1H, с, H-31), 3.92-4.15 (2H, м, H-26+H-39) + 4.08 (3H, с, H-21), 4.53 (1H, уш.с, -OH), 4.73 (1H, с, H-41a), 5.03 (1H, с, H-41b), 5.27 (1H, с, H-13), 5.50 (1H, с, H-22), 7.39 (1H, д, $J = 8.4$, H-2), 7.78 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 8.03 (1H, д, $J = 7.6$, H-4), 13.30 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.98 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 14.8 (C-42), 17.0 (C-27), 24.9 (C-20), 30.2 (C-23), 33.5 (C-10), 35.0 (C-12), 39.9 (C-37), 43.4 (C-32), 46.4 (C-38), 47.3 (C-34+C-35), 47.9 (C-29), 51.1 (C-28), 53.0 (C-24), 55.7 (C-30), 56.9 (C-21), 67.2 (C-26), 67.8 (C-25), 70.2 (C-13), 73.6 (C-31), 82.4 (C-39), 100.9 (C-22), 111.5 (C-7), 111.7 (C-16), 114.8 (C-41), 118.6 (C-2), 119.9 (C-4), 121.1 (C-18), 135.6 (C-5), 135.9 (C-3), 144.2 (C-33), 155.9 (C-8), 156.5 (C-15), 161.2 (C-1), 175.0 (C-40), 186.9 (C-9), 187.2 (C-17), 211.7 (C-19), 219.0 (C-36).

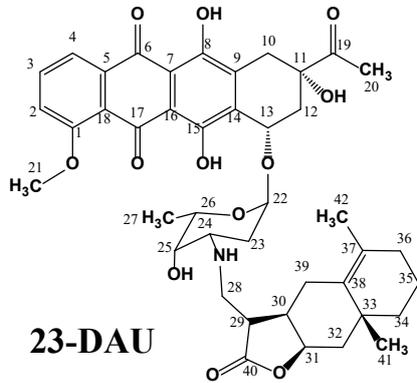
(7S,9S)-7-[[3-((5R,7S,10R)-3-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (22-DAU A). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$):



0.91 (3H, с, H-41), 1.10 (1H, м, H-34a), 1.31 (1H, дд, $J = 14.0/10.5$, H-32a), 1.37 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.49-1.66 (3H, м, H-38+H-39a+H-34b), 1.63 (3H, д, $J = 1.8$, H-42), 1.70 (1H, дд, $J = 13.2/4.7$, H-23a), 1.78 (1H, дд, $J = 12.6/4.2$, H-23b), 1.88 (1H, дд, $J = 14.0/5.9$, H-32b), 1.93 (1H, дт, $J = 14.3/3.4$, H-39b), 2.00 (2H, м, H-35a+H-35b), 2.10 (1H, дд, $J = 14.8/4.1$, H-12a), 2.37 (1H, уш.д, $J = 14.7$, H-12b), 2.42 (3H, с, H-20) + 2.37-2.43 (1H, м, H-30), 2.61 (1H, м, H-29), 2.72 (1H, дд, $J = 11.7/7.7$, H-28a), 2.85 (1H, ддд, $J = 12.0/4.6/2.6$, H-24), 2.92 (1H, дд, $J = 11.7/4.7$, H-28b), 2.98 (1H, д, $J = 18.9$, H-10a), 3.24 (1H, дд, $J = 18.9/2.0$, H-10b), 3.67 (1H, с, H-25), 4.08 (3H, с, H-21) + 4.06-4.12 (1H, м, H-26), 4.61 (1H, дт, $J = 10.5/6.7$, H-31), 4.72 (1H, с, OH-11), 5.26 (1H, с, H-3), 5.31 (1H, дд, $J = 4.0/2.1$, H-13), 5.52 (1H, д, $J = 3.8$, H-22), 7.39 (1H, дд, $J = 6.0$, H-2), 7.78 (1H, дд, $J = 8.4/7.7$, H-3), 8.04 (1H, дд, $J = 7.7/1.1$, H-4), 13.30 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.98 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 17.3 (C-27), 22.8 (C-25+C-42), 24.9 (C-20), 27.0 (C-41), 27.3 (C-34), 28.4 (C-39), 30.4 (C-23), 32.7 (C-33), 33.5 (C-10), 35.1 (C-12), 37.8 (C-30), 40.9 (C-38), 41.3 (C-32), 42.3 (C-29), 45.0 (C-28), 53.1 (C-24), 56.9 (C-21), 66.8 (C-26), 67.0 (C-25), 70.0 (C-13), 76.6 (C-31), 77.1 (C-11), 101.1 (C-22), 111.5 (C-7), 111.7 (C-16), 118.6 (C-2), 119.9 (C-4), 120.2 (C-36), 121.2 (C-18), 134.4 (C-9), 134.5 (C-

14), 135.7 (C-5+C-37), 135.8 (C-3), 156.1 (C-8), 156.6 (C-15), 161.2 (C-1), 178.7 (C-40), 186.9 (C-6), 187.3 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 760.5000 $[M + H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{49}NO_{12}$: $[M + H]^+ = 760.3328$.

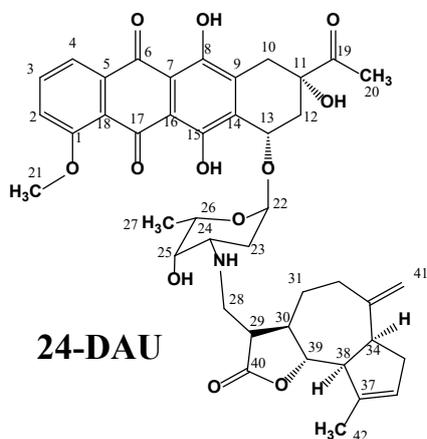
(7S,9S)-7-{{3-((7S,10R)-4-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (23-DAU). Продукт получен с выходом 178 мг, красные



пластинки; т.пл. 134–140 °С. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 200 МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 1.05 (3H, с, H-41), 1.36 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.44–1.51 (2H, м, H-34a+H-34b), 1.51–1.65 (2H, м, H-35a+H-35b) + 1.55 (3H, с, H-42), 1.65–1.82 (4H, м, H-23a+H-23b+H-32a+H-32b), 1.82–1.95 (3H, м, H-36a+H-36b + H39a), 2.06 (1H, дд, $J = 15.0/3.1$, H-12a), 2.36 (1H, уш.д, $J = 15.3$, H-12b) + 2.42 (3H, s, H-20), 2.90 (1H, д, $J = 18.6$, H-10a) + 2.65–3.05 (6H, м, H28a+H-28b+H-24+H-29+H-30+H-39b), 3.19 (1H, д, $J = 19.0$, H-10b), 3.67 (1H, с, H-25),

4.07 (3H, с, H-21) + 3.96–4.13 (1H, м, H-26), 4.44 (1H, с, H-31), 5.26 (1H, с, H-13), 5.52 (1H, с, H-22), 7.38 (1H, дд, $J = 8.3/0.7$, H-2), 7.77 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 8.00 (1H, дд, $J = 7.8/1.0$, H-4), 13.24 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.94 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, 50 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 18.7 (C-35), 19.6 (C-41), 24.9 (C-20), 27.0 (C-42), 30.3 (C-23), 33.0 (C-36), 33.4 (C-10), 33.6 (C-33), 35.0 (C-12), 40.1 (C-34), 40.4 (C-30), 41.4 (C-28), 42.1 (C-32), 52.5 (C-24), 56.8 (C-21), 66.9 (C-26), 67.3 (C-25), 70.0 (C-13), 77.4 (C-11), 78.9 (C-31), 101.1 (C-22), 111.3 (C-7), 111.5 (C-5), 118.5 (C-4), 119.9 (C-2), 121.0 (C-18), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 156.5 (C-15), 161.1 (C-1), 178.4 (C-40), 186.8 (C-6), 187.1 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр HRMS (ESI) – найдено: m/z 760.3240 $[M + H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{49}NO_{12}$ $[M + H]^+ = 760.3328$.

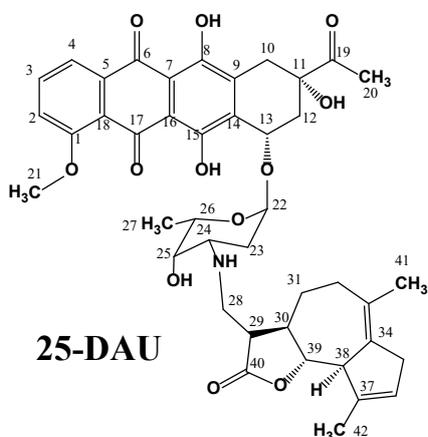
(7S,9S)-7-{{3-((1R,5R,7S)-3,10(14)-гвайаноиден-12,6α-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (24-DAU). Выход 152 мг. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 200



МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 1.18 (1H, т, $J=7.0$, H-31a), 1.25 (1H, уш.с, H-31b), 1.36 (3H, д, $J=6.5$, H-27), 1.70-1.85 (3H, м, H-23+H-30), 1.76 (3H, с, H-42), 1.96-2.17 (4H, м, H-12a+H-32+H-35a), 2.41 (3H, с, H-20), 2.33-2.49 (3H, м, H-12b+H-34+H-35b), 2.63-2.95 (5H, м, H-28a+H-10a+H-38+H-29+H-24), 3.06 (1H, д, $J=7.4$, H-28b), 3.20 (1H, д, $J = 19.0$, H-10b), 3.60 (1H, с, H-25), 3.93-4.10 (1H, м, H-26), 4.07 (3H, с, H-21), 4.68 (1H, с, H-39), 4.81 (2H, д, $J=7.9$, H-41a+H-41b), 5.26 (1H, с, H-13), 5.50 (2H, с, H-22+H36), 7.38 (1H, д, $J = 9.2$, H-2), 7.77 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 8.00 (1H, д, $J = 7.7$, H-4), 13.25 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}),

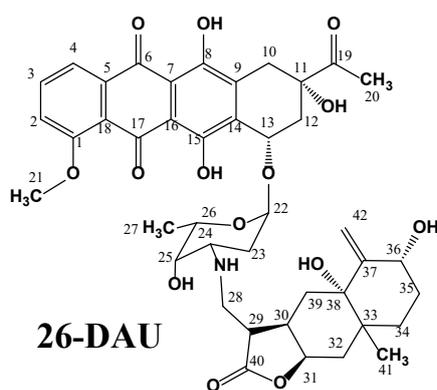
13.93 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 50 МГц δ, м. д.): 17.0 (C-42), 17.2 (C-27), 24.9 (C-20), 30.3 (C-23), 33.0 (C-31), 33.4 (C-10), 35.0 (C-12), 36.7 (C-35), 37.0 (C-32), 43.4 (C-28), 46.3 (C-29), 47.2 (C-30+C-34), 52.6 (C-24), 55.7 (C-38), 56.8 (C-21), 66.0 (C-11), 66.8 (C-26), 67.0 (C-25), 70.1 (C-13), 85.4 (C-39), 101.1 (C-22), 111.4 (C-7), 111.5 (C-16), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 126.7 (C-34), 128.5 (C-41), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 140.0 (C-37), 149.8 (C-33), 155.9 (C-8), 156.5 (C-15), 161.1 (C-1), 177.65 (C-40), 186.8 (C-6), 187.1 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 758.5000 $[M + H]^+$, вычислено для C₄₂H₄₈NO₁₂: $[M + H]^+ = 758.3171$.

(7S,9S)-7-{{3-((5S,7S)-3,10-гвайанодиен-12,6α-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил}окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (25-DAU). Выход 179 мг. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 200 МГц, δ, м. д., J/Гц): 1.17-1.30 (1H, м, H-31a), 1.36 (3H, J = 6.4, H-27), 1.66 (3H, с, H-41), 1.72-1.79 (3H, м, H-23+H-31b), 1.85 (3H, с, H-42), 2.04-2.17 (4H, м, H-32+H-12a+H-30), 2.32 (1H, уш.с, H-12b), 2.41 (3H, с, H-20), 2.70-2.96 (7H, м, H-35+H-28+H-29+H-24+H-10a), 3.20 (1H, д, J = 17.9, H-10b), 3.29 (1H, с, H-38), 3.63 (1H, уш.с, H-25), 3.97-4.11 (1H, м, H-26), 4.07 (3H, с, H-21), 4.69 (1H, с, H-39), 5.26 (1H, с, H-13), 5.49 (2H, уш.с, H-22+H-36), 7.37 (1H, д, J = 8.5, H-2), 7.76 (1H, т, J = 8.1, H-3), 8.00 (1H, д, J = 7.7, H-4), 13.24 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.94 (1H, уш.с, H_{hydroquinone});



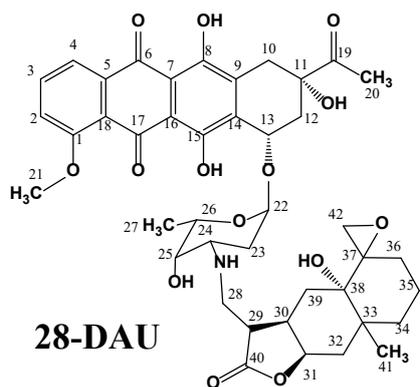
спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 50 МГц δ, м. д.): 17.2 (C-27), 17.9 (C-42), 23.1 (C-41), 24.9 (C-20), 27.6 (C-31), 30.2 (C-23), 33.4 (C-10), 34.3 (C-32), 35.1 (C-12), 37.8 (C-35), 42.4 (C-28), 46.7 (C-29), 51.8 (C-30), 52.7 (C-24), 55.8 (C-38), 56.8 (C-21), 66.9 (C-25+C-26), 70.1 (C-13), 85.6 (C-39), 101.1 (C-22), 111.4 (C-7), 111.5 (C-16), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 126.3 (C-36), 128.5 (C-37), 131.7 (C-34), 134.4 (C-9), 135.4 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 140.8 (C-33), 156.0 (C-8), 156.5 (C-15), 161.2 (C-1), 177.5 (C-40), 186.8 (C-6), 187.1 (C-17), 212.0 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 758.5000 $[M + H]^+$, вычислено для C₄₂H₄₈NO₁₂: $[M + H]^+ = 758.3171$.

(7S,9S)-7-{{3-((3R,5S,7R,10R)-3,5-дигидрокси-4(14)-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил}окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (26-DAU). Выход 216 мг. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 200 МГц, δ, м. д., J/Гц): 0.81 (3H, с, H-41), 1.07-1.24 (2H, м, H-34a+H-34b), 1.34 (3H, д, J = 6.3, H-27), 1.51-2.16 (10H, м, H-23+H-30+H-12a+H-35+H-32+H-39), 2.41 (3H, с, H-20), 2.24-3.05 (6H, м, H-12b+H-28+H-10a+H-29+H-24), 3.13 (1H, д, J = 18.5, H-10b), 3.68 (1H, с, H-25), 3.98-4.14 (1H, м, H-26), 4.04 (3H, с, H-21), 4.30 (1H, с, H-36), 4.48 (1H, уш.с, H-31), 4.76 (1H, с, H-42a), 4.93 (1H, с, H-42b), 5.20 (1H, с, H-13), 5.47 (1H, с, H-22), 7.34 (1H, д, J = 8.6, H-2), 7.73 (1H, т, J = 7.1, H-3), 7.93



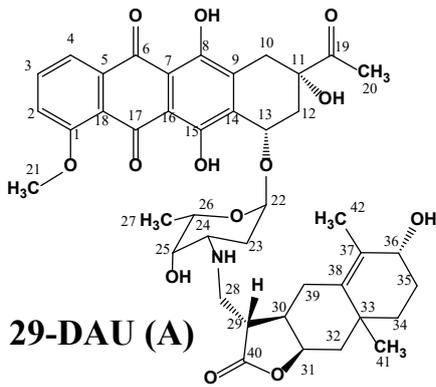
(1H, д, $J = 7.8$, H-4), 13.19 (1H, уш.с, $H_{\text{hydroquinone}}$), 13.90 (1H, с, $H_{\text{hydroquinone}}$); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 21.6 (C-41), 24.9 (C-20), 26.6 (C-34), 28.8 (C-35), 29.4 (C-34), 30.4 (C-23), 33.3 (C-10), 35.0 (C-12), 35.1 (C-32), 35.7 (C-39), 37.4 (C-30), 41.3 (C-28), 46.8 (C-29), 52.7 (C-24), 56.7 (C-21), 67.1 (C-26+C-25), 70.1 (C-13), 74.9 (C-36), 75.4 (C-38), 78.6 (C-31), 101.2 (C-22), 111.2 (C-7), 111.4 (C-16), 112.6 (C-42), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 120.8 (C-18), 134.4 (C-9+C-14), 135.4 (C-5), 135.8 (C-3), 148.4 (C-37), 155.8 (C-8), 156.5 (C-15), 161.0 (C-1), 178.4 (C-40), 186.6 (C-6), 186.9 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 792.6667 [$M + H$] $^+$, вычислено для $\text{C}_{42}\text{H}_{50}\text{NO}_{14}$: [$M + H$] $^+ = 792.3226$.

(7S,9S)-7-[[3-((4S,5S,7R,10R)-5-гидрокси-4,14-эпокси-эвдесман-12,8 β -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (28-DAU). Выход 171 мг. Спектр ЯМР ^1H



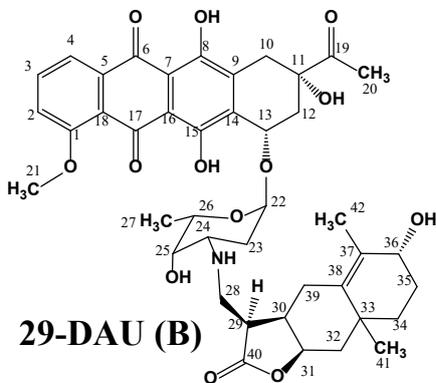
(CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.99 (3H, с, H-41), 1.34 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.62-2.30 (11H, м, H-34b+H35a+H-35b+H-36a+H-36b+H-39a+H-39b+H-23a+H-23b+H-12a+H-12b) 2.42 (3H, с, H-20), 2.63-2.73 (2H, м, H-30+H-28a), 2.78-2.98 (3H, м, H-29+H-28b+H-24), 2.90 (1H, д, $J = 19.4$, H-10a), 3.19 (1H, д, $J = 18.9$, H-10b), 3.68 (1H, с, H-25), 3.94-4.10 (1H, м, H-26), 4.05 (3H, с, H-21), 4.48 (1H, с, H-31), 5.23 (1H, с, H-13), 5.49 (1H, с, H-22), 7.37 (1H, д, $J = 6.0$, H-2), 7.75 (1H, т, $J = 8.0$, H-3), 7.97 (1H, д, $J = 7.5$, H-4), 13.23 (1H, уш.с, $H_{\text{hydroquinone}}$), 13.95 (1H, с, $H_{\text{hydroquinone}}$); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 19.5 (C-41), 21.6 (C-35), 22.5 (C-36), 25.0 (C-20), 29.7 (C-32), 30.1 (C-23), 33.4 (C-10), 34.4 (C-34), 35.1 (C-12), 35.7 (C-39), 36.1 (C-30), 37.4 (C-33), 41.2 (C-28), 46.9 (C-29), 52.8 (C-24), 54.2 (C-42), 56.8 (C-21), 61.6 (C-37), 67.0 (C-26), 67.2 (C-25), 70.0 (C-13), 73.9 (C-38), 78.4 (C-31), 101.1 (C-22), 111.3 (C-27), 111.5 (C-16), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 134.4 (C-9+C14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 155.9 (C-8), 156.5 (C-15), 161.1 (C-1), 177.9 (C-40), 186.7 (C-6), 187.1 (C-17), 211.9 (C-19).

(7S,9S)-7-[[3-((3R,7R,10R)-3-гидрокси-4-эвдесмен-12,8 β -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (29-DAU A). Выход 143 мг (A-изомер). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.05 (3H, с, H-41), 1.36 (3H, д, $J = 6.5$, H-27) + 1.34 (1H, м, H=34a), 1.73 (3H, с, H-42) + 1.63-1.80 (6H, м, H-23a+H-23b+H-32a+H-34b+H-35), 1.82-1.90 (2H, м, H-32b+H-39a), 2.10 (1H, дд, $J = 14.8/4.1$, H-12a), 2.30 (1H, м, H-30), 2.35 (1H, уш.д, $J = 14.8$, H-12b),



2.41 (3H, с, Н-20), 2.46 (1H, кв, $J = 6.5$, Н-29), 2.65 (1H, дд, $J = 13.7/7.0$, Н-39b), 2.82-2.89 (3H, м, Н-28a+Н-28b+Н-24), 2.94 (1H, д, $J = 18.8$, Н-10a), 3.20 (1H, дд, $J = 18.8/2.1$, Н-10b), 3.67 (1H, с, Н-25), 3.87 (1H, уш.с, Н-36), 4.07 (3H, с Н-21) + 4.04-4.09 (1H, м, Н-26), 4.47 (1H, тд, $J = 7.7/4.6$, Н-31), 4.69 (с, -ОН-11), 5.28 (1H, дд, $J = 4.2/2.1$, Н-13), 5.50 (1H, д, $J = 3.9$, Н-22) + 5.52 (уш.с., -NH), 7.38 (1H, дд, $J = 8.6/0.9$, Н-2), 7.77 (1H, дд, $J = 8.4/7.7$ Hz, Н-3), 7.98 (1H, дд, $J = 7.7/1.2$, Н-4), 13.26 (1H, уш.с, Н_{hydroquinone}), 13.95 (1H, с, Н_{hydroquinone}); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 126 МГц δ, м. д.): 17.0 (C-42), 17.2 (C-27), 24.9 (C-20), 25.5 (C-41), 28.0 (C-39), 28.1 (C-35), 30.5 (C-10), 34.1 (C-33), 35.1 (C-12), 40.2 (C-30), 41.9 (C-32), 45.3 (C-28), 48.3 (C-29), 53.0 (C-24), 56.8 (C-21), 66.8 (C-26), 67.0 (C-25), 68.9 (C-36), 70.0 (C-11), 77.3 (C-31), 101.1 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 118.6 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 128.4 (C-37), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 136.7 (C-38), 155.9 (C-8), 156.5 (C-15), 161.2 (C-1), 178.4 (C-40), 186.8 (C-6), 187.1 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 776.5000 $[M + H]^+$, вычислено для C₄₂H₅₀NO₁₃: $[M + H]^+ = 776.3277$.

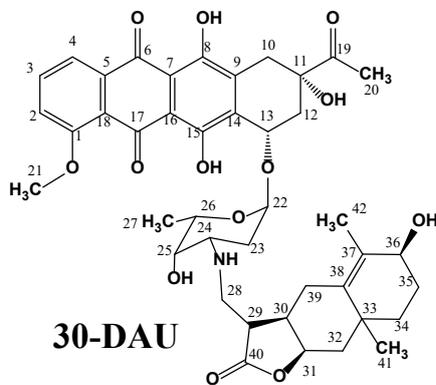
(7S,9S)-7-[[3-((3R,7R,10R)-3-гидрокси-4-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (29-DAU B). Выход 159 мг (B-изомер). Спектр ЯМР ¹H



(CDCl₃, 500 МГц, δ, м. д., J/Γ): 1.05 (3H, с, Н-41), 1.36 (3H, д, $J = 6.4$, Н-27), 1.44 (1H, дт, $J = 13.7/3.7$, Н-34a), 1.50-1.56 (2H, м, Н-34b+Н-32a), 1.63 (1H, уш.д, $J = 12.3$, Н-35a), 1.72 (3H, с, Н-42) + 1.72-1.78 (3H, м, Н-23a+Н-23b+Н-35b+Н-39a), 2.11 (1H, дд, $J = 14.7/4.1$, Н-12a), 2.22 (1H, дд, $J = 15.6/2.0$, Н-32b), 2.35 (1H, уш.д, $J = 14.0$, Н-12b), 2.41 (3H, с, Н-20) + 2.39-2.45 (2H, м, Н-30+Н-39b), 2.75 (1H, дд, $J = 12.0/6.6$, Н-28a), 2.85 (1H, кв, $J = 6.5$, Н-29), 2.91 (1H, м, Н-24), 2.95 (1H, д, $J = 19.0$, Н-10a), 3.00 (1H, дд, $J = 11.8/7.5$, Н-28b), 3.22 (1H, дд, $J = 18.7/1.6$, Н-10b), 3.68 (1H, с, Н-25), 3.89 (1H, с, Н-36), 4.08 (3H, с Н-21) + 4.06-4.10 (1H, м, Н-26), 4.44 (1H, с, Н-31), 4.71 (уш.с, -ОН-11), 5.28 (1H, с, Н-13), 5.53 (1H, д, $J = 2.8$, Н-22), 7.39 (1H, дд, $J = 8.6/0.5$, Н-2), 7.78 (1H, т, $J = 8.1$ Hz, Н-3), 8.02 (1H, дд, $J = 7.7/0.8$, Н-4), 13.27 (1H, уш.с, Н_{hydroquinone}), 13.97 (1H, с, Н_{hydroquinone}); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 126 МГц δ, м. д.): 17.1 (C-27), 17.2 (C-42), 22.2 (C-39), 24.9 (C-20), 25.4 (C-41), 27.5 (C-35), 30.3 (C-23), 33.5 (C-10), 34.0 (C-33), 34.7 (C-34), 35.1 (C-12), 39.9 (C-30), 41.5 (C-28), 42.3 (C-32), 47.5 (C-29), 52.6 (C-24), 56.8 (C-21), 67.0 (C-26), 67.4 (C-25), 69.5 (C-36), 70.0 (C-13), 77.0 (C-11), 78.2 (C-31), 101.1 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 118.6 (C-2), 119.9 (C-4), 121.1 (C-18), 129.0 (C-37), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.6 (C-5), 135.7 (C-3), 135.9 (C-38), 156.0 (C-8), 156.6 (C-15),

161.2 (C-1), 178.1 (C-40), 186.9 (C-6), 187.2 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 776.5000 $[M + H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{50}NO_{13}$: $[M + H]^+ = 776.3277$.

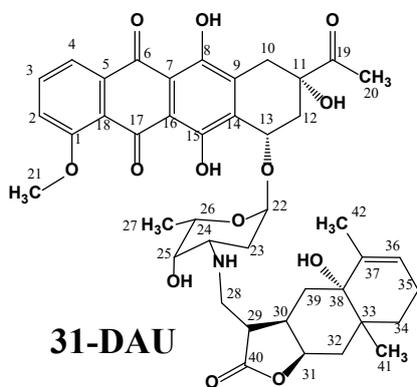
(7S,9S)-7-{{3-((3S,7R,10R)-3-гидрокси-4-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (30-DAU). Выход 159 мг. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 200



МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 1.12 (3H, с, H-41), 1.25 (1H, м, H-32a), 1.37 (3H, д, $J = 6.4$, H-27), 1.51-1.85 (7H, м, H-23+H-32b+H-39a+H-34+H-35a), 1.70 (3H, с, H-42), 2.01-2.38 (5H, м, H-12a+H-12b+H-35b+H-39b+H-30), 2.42 (3H, с, H-20), 2.71-3.02 (3H, м, H-28+H-29), 2.94 (1H, д, $J = 19.1$, H-10a), 3.22 (1H, д, $J = 19.1$, H-10b), 3.67 (1H, с, H-25), 3.95-4.10 (1H, м, H-26), 4.08 (3H, с, H-21), 4.45 (1H, с, H-36), 4.71 (1H, с, H-31), 5.29 (1H, с, H-13), 5.53 (1H, с, H-22), 7.39 (1H, д, $J = 8.5$, H-2), 7.78 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 8.02

(1H, д, $J = 7.7$, H-4), 13.28 (1H, уш.с, $H_{hydroquinone}$), 13.97 (1H, с, $H_{hydroquinone}$); спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, 50 МГц δ , м. д.): 16.1 (C-42), 17.2 (C-27), 22.5 (C-39), 24.9 (C-20), 27.2 (C-41), 28.2 (C-35), 30.4 (C-23), 33.5 (C-10), 34.2 (C-34), 35.0 (C-12), 35.5 (C-33), 40.4 (C-32), 41.0 (C-30), 41.5 (C-28), 47.4 (C-29), 52.5 (C-24), 56.8 (C-21), 67.0 (C-26), 67.4 (C-25), 70.0 (C-13), 70.7 (C-36), 77.4 (C-31), 101.1 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 129.6 (C-37), 134.4 (C-38), 134.5 (C-9), 135.5 (C-14), 135.6 (C-5), 135.9 (C-3), 156.0 (C-8), 156.6 (C-15), 161.2 (C-1), 178.1 (C-40), 186.8 (C-6), 187.2 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 776.5834 $[M + H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{50}NO_{13}$: $[M + H]^+ = 776.3277$.

(7S,9S)-7-{{3-((5S,7R,10R)-5-гидрокси-3-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (31-DAU). Выход 106 мг. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 200

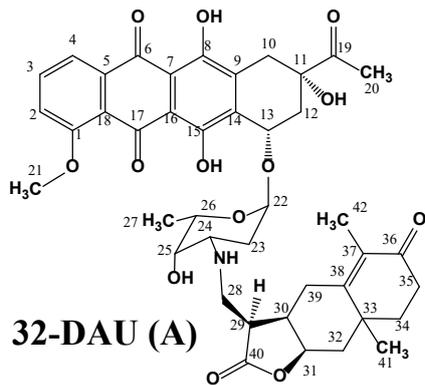


МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 0.94 (3H, с, H-41), 1.36 (3H, д, $J = 6.6$, H-27), 1.68 (3H, с, H-42) + 1.57-1.90 (8H, м, H-34a+H-34b+H-32a+H-32b+H-23a+H-23b+H-39a+H-39b), 1.96-2.16 (3H, м, H-35a+H-35b+H-12a), 2.35 (1H, д, $J = 16.2$, H-12b) + 2.41 (3H, с, H-20), 2.67-2.96 (3H, м, H-28a+H-28b+H-30) + 2.88 (1H, д, $J = 19.2$, H-10a), 3.18 (1H, д, $J = 19.0$, H-10b), 3.66 (1H, с, H-25), 3.93-4.09 (1H, м, H-26) + 4.06 (3H, с, H-21), 4.42 (1H, м, H-31), 5.24 (1H, с, H-13), 5.41 (1H, м, H-36), 5.50 (1H, с, H-22), 7.36 (1H, д, $J = 8.4$, H-2),

7.75 (1H, т, $J = 8.1$ Hz, H-3), 7.98 (1H, д, $J = 7.7$, H-4), 13.23 (1H, уш.с, $H_{hydroquinone}$), 13.92 (1H, с, $H_{hydroquinone}$); спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, 50 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 18.9 (C-42), 21.4 (C-41), 22.0 (C-35), 24.9 (C-20), 30.3 (C-23), 31.0 (C-34), 33.4 (C-10), 34.9 (C-12), 35.5 (C-39), 35.8 (C-30), 37.5 (C-

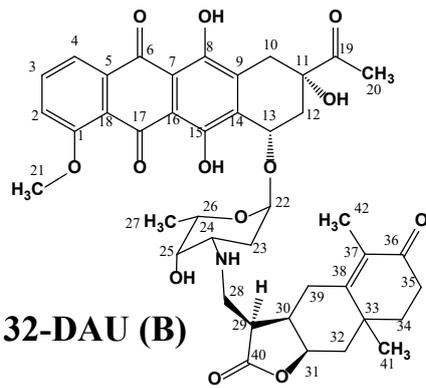
33), 40.4 (C-32), 41.3 (C-28), 46.6 (C-29), 52.5 (C-24), 56.7 (C-21), 67.0 (C-26), 67.2 (C-25), 69.9 (C-13), 72.2 (C-38), 77.0 (C-11), 78.7 (C-31), 101.1 (C-22), 111.3 (C-7), 111.4 (C-16), 118.5 (C-2), 119.8 (C-4), 120.8 (C-18), 125.77 (C-36), 134.4 (C-9+C-14), 135.5 (C-5), 135.8 (C-3), 136.4 (C-37), 155.8 (C-8), 156.5 (C-15), 161.01 (C-1), 178.5 (C-40), 186.6 (C-6), 186.9 (C-17), 211.9 (C-19).

(7S,9S)-7-{{3-((7R,10R)-3-оксо-4-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (32-DAU A). Выход 94 мг (А-изомер). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃,



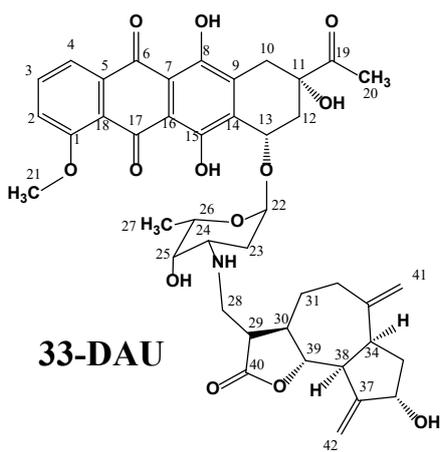
500 МГц, δ, м. д., J/Гц): 1.23 (3H, с, H-41), 1.36 (3H, д, J = 6.5, H-27), 1.76 (3H, с, H-42)+1.69-1.78 (3H, м, H-23a+H-23b+H-34a), 1.85 (2H, м, H-34a+H-34b), 2.00 (1H, тд, J = 13.6/5.3, H-34a), 2.09-2.13 (2H, м, H-12a+H-34b), 2.36 (1H, уш.д, J = 14.7, H-12b), 2.41 (3H, с, H-20), 2.43-2.50 (2H, м, H-30+H-35a), 2.53-2.63 (2H, м, H-29+H-35b), 2.75 (1H, дд, J = 12.0/6.6, H-28a), 2.85 (1H, ддд, J = 11.8/5.0/2.6, H-24) + 2.87-2.95 (2H, м, H-28a+H-28b) + 2.92 (1H, дд, J = 12.9/6.8, H-39b), 2.96 (1H, д, J = 18.9, H-10a), 3.22 (1H, дд, J = 18.8/2.0, H-10b), 3.68 (1H, с, H-25), 4.08 (3H, с H-21) + 4.05-4.09 (1H, м, H-26), 4.48 (1H, тд, J = 8.6/6.6, H-31), 4.66 (1H, с, -OH-11), 5.29 (1H, дд, J = 4.2/2.1, H-13), 5.51 (1H, д, J = 3.7, H-22) + 5.52 (уш.с., -NH), 7.39 (1H, дд, J = 8.6/1.1, H-2), 7.79 (1H, дд, J = 8.5/7.7 Hz, H-3), 8.03 (1H, дд, J = 7.8/1.1, H-4), 13.29 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.98 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 126 МГц δ, м. д.): 11.4 (C-42), 17.2 (C-27), 24.9 (C-20), 25.1 (C-41), 30.5 (C-23), 30.6 (C-39), 33.5 (C-10), 34.0 (C-35), 34.9 (C-34), 35.1 (C-33), 35.4 (C-12), 39.5 (C-30), 41.9 (C-34), 45.6 (C-28), 47.0 (C-29), 52.9 (C-24), 56.8 (C-21), 66.9 (C-26), 67.1 (C-25), 70.1 (C-13), 75.8 (C-31), 77.0 (C-11), 101.1 (C-22), 111.44 (C-7), 111.6 (C-16), 118.6 (C-2), 119.9 (C-4), 121.1 (C-18), 130.2 (C-37), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.7 (C-5), 135.9 (C-3), 156.0 (C-8), 156.6 (C-15), 159.1 (C-38), 161.2 (C-1), 177.7 (C-40), 186.9 (C-6), 187.2 (C-17), 197.9 (C-36), 211.8 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 774.5836 [M + H]⁺, вычислено для C₄₂H₄₈NO₁₃: [M + H]⁺ = 774.3120.

(7S,9S)-7-{{3-((7R,10R)-3-оксо-4-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (32-DAU B). Выход 122 мг (В-изомер). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 500 МГц, δ, м. д., J/Гц): 1.26 (3H, с, H-41), 1.36 (3H, д, J = 6.6, H-27), 1.68 (1H, дд, J = 15.5/4.4, H-32a), 1.74 (3H, с, H-42)+1.73-1.78 (3H, м, H-34a+H-23a+H-23b), 1.82 (1H, дт, J = 13.6/5.0, H-34b), 1.98 (1H, уш.т, J = 14.7, H-39a), 2.12 (1H, dd, J = 14.8/4.1, H-12a), 2.28 (1H, дд, J = 15.6/2.4, H-32b), 2.36 (1H, д, J = 16.8, H-12b)+2.36 (1H, м, H-35a), 2.42 (3H, с, H-20), 2.47 (1H, ддд, J = 16.9/13.1/5.3, H-35b), 2.56-2.63 (2H, м, H-30+H-39b), 2.76 (1H, дд, J = 12.0/7.0, H-28a), 2.88-2.92 (2H, м, H-24+H-29), 2.96 (1H, д, J = 18.7, H-10a), 3.04 (1H, дд, J = 12.0/7.4, H-28b), 3.23 (1H, дд, J = 18.8/2.1, H-



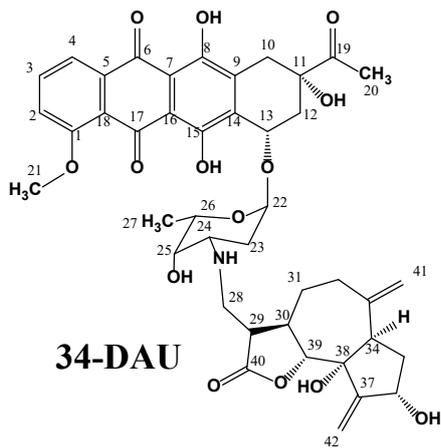
10b), 3.66 (1H, с, H-25), 4.08 (3H, с H-21) + 4.06-4.11 (1H, м, H-26), 4.51 (1H, м, H-31), 4.68 (1H, с, -OH-11), 5.29 (1H, дд, $J = 4.2/1.8$, H-13), 5.53 (1H, с, H-22), 7.40 (1H, дд, $J = 8.5/0.9$, H-2), 7.79 (1H, дд, $J = 8.4/7.7$ Hz, H-3), 8.03 (1H, дд, $J = 7.7/1.1$, H-4), 13.29 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.98 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 11.5 (C-42), 17.2 (C-27), 24.3 (C-39), 24.9 (C-20), 24.9 (C-41), 30.5 (C-23), 33.4 (C-35), 33.5 (C-10), 35.0 (C-12), 35.1 (C-33), 37.4 (C-34), 39.8 (C-30), 41.7 (C-28), 41.9 (C-32), 47.4 (C-29), 52.7 (C-24), 56.8 (C-21), 67.0 (C-26), 67.7 (C-25), 70.1 (C-13), 77.0 (C-11), 77.4 (C-31), 101.2 (C-22), 111.5 (C-7), 111.6 (C-16), 118.6 (C-2), 120.0 (C-4), 121.1 (C-18), 130.7 (C-37), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.7 (C-5), 135.9 (C-3), 156.0 (C-8), 156.6 (C-15), 157.0 (C-38), 161.2 (C-1), 177.5 (C-40), 186.9 (C-6), 187.3 (C-17), 198.3 (C-36), 211.8 (C-19).

(7S,9S)-7-[[3-((1R,3R,5R,7S)-3-гидрокси-4(15),10(14)-гвайанодиен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (33-DAU). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц,



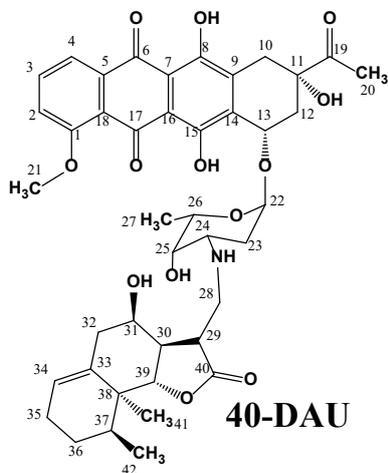
δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.25 (1H, м, H-31a), 1.36 (3H, д, $J = 6.6$, H-27), 1.69-1.77 (2H, м, H-23a+H-23b), 2.00-2.35 (8H, м, H-31b+H-32a+H-34+H-12a+H-12b+H-35a+H-35b+H-30), 2.41 (3H, с, H-20), 2.50 (1H, м, H-32b), 2.71-3.03 (5H, м, H-28a+H-28b+H-24+H-29+H-38) + 2.88 (1H, д, $J = 19.0$, H-10a), 3.18 (1H, д, $J = 18.3$, H-10b), 3.60 (1H, с, H-25), 3.96-4.17 (2H, м, H-26+H-39) + 4.06 (3H, с, H-21), 4.60-4.74 (1H, м, H-36) + 4.71 (1H, с, H-41a), 4.86 (1H, с, H-41b), 5.25 (1H, с, H-13), 5.29 (1H, с, H-42a), 5.36 (1H, с, H-42b), 5.49 (1H, с, H-22), 7.37 (1H, дд, $J = 8.6/1.0$, H-2), 7.76 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 7.99 (1H, дд, $J = 7.7/1.1$, H-4), 13.30 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.98 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 24.9 (C-20), 30.2 (C-23), 32.7 (C-31), 33.3 (C-10), 35.0 (C-12), 37.9 (C-35), 39.8 (C-32), 43.4 (C-28), 43.8 (C-38), 45.5 (C-34), 47.3 (C-29), 49.4 (C-30), 52.7 (C-24), 56.8 (C-21), 66.9 (C-26), 67.2 (C-25), 70.1 (C-13), 74.5 (C-36), 76.9 (C-11), 85.4 (C-39), 101.1 (C-22), 111.3 (C-7), 111.5 (C-16), 112.7 (C-41), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 120.9 (C-18), 125.4 (C-42), 134.3 (C-9), 134.4 (C-14), 135.3 (C-5), 135.8 (C-3), 149.1 (C-33), 154.5 (C-37), 155.9 (C-8), 156.5 (C-15), 161.1 (C-1), 177.3 (C-40), 186.7 (C-6), 187.0 (C-17), 211.9 (C-19).

(7S,9S)-7-[[3-((1S,3R,5S,7S)-3,5-дигидрокси-4(15),10(14)-гвайанодиен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (34-DAU). Выход 121 мг. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.28 (1H, м, H-31a), 1.35 (3H, д, $J = 6.3$, H-27), 1.75 (2H, уш.д, $J =$



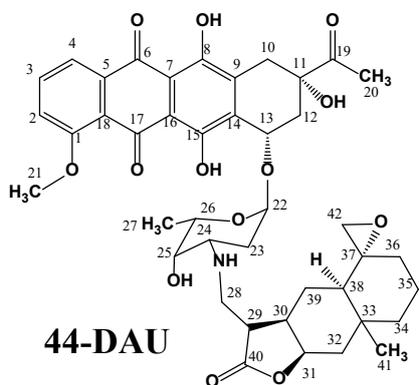
12.3, H-23a+ H-23b), 2.00-2.35 (9H, м, H-31b+H-32+H-12+H-35+H-34+H-30), 2.42 (3H, с, H-20), 2.73-3.06 (5H, м, H-28+H-10a+H-24+H-29), 3.21 (1H, д, $J = 18.8$, H-10b), 3.64 (1H, уш.с, H-25), 3.99-4.21 (2H, м, H-26+H-39), 4.08 (3H, с, H-21), 4.65-4.76 (1H, м, H-36), 4.69 (1H, с, H-41a), 4.88 (1H, с, H-41b), 5.27 (1H, уш.с, H-13), 5.40 (1H, с, H-42a), 5.50 (1H, уш.с, H-22), 5.56 (1H, с, H-42b), 7.38 (1H, дд, $J = 6.3/1.1$, H-2), 7.77 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 8.01 (1H, дд, $J = 7.8/1.1$, H-4), 13.29 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.95 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 24.9 (C-20), 30.3 (C-23), 33.0 (C-31), 33.4 (C-10), 35.1 (C-12), 38.9 (C-35), 39.4 (C-32), 43.5 (C-28), 47.0 (C-30+C29), 52.5 (C-24), 53.9 (C-34), 56.8 (C-21), 67.0, 67.2 (C-25+C-26), 69.8 (C-13), 74.9 (C-36), 80.5 (C-38), 86.4 (C-39), 101.1 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 113.7 (C-41), 114.3 (C-42), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 134.5 (C-9+C-14), 135.6 (C-5), 135.9 (C-3), 147.8 (C-33), 156.0 (C-8), 156.6 (C-15), 156.9 (C-37), 161.2 (C-1), 177.6 (C-40), 186.8 (C-6), 187.2 (C-17), 212.0 (C-19).

(7S,9S)-7-[[3-((4S,5S,7R,8R)-8-гидрокси-эремофила-10-ен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (40-DAU). Выход 269 мг. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$):



0.87 (3H, с, H-41), 0.98 (3H, д, $J = 6.4$, H-42), 1.26-1.51 (3H, м, H-36a+H-36b+H-37), 1.30 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.70-1.82 (2H, м, H-23a+H-23b), 1.96 (2H, уш.с, H-35a+H-35b), 2.05-2.34 (4H, м, H-12a+H-12b+H-32a+H-32b), 2.40 (3H, с, H-20), 2.79 (3H, м, H-24+H-30+H-29), 2.86 (1H, д, $J = 18.7$, H-10a), 3.19 (1H, д, $J = 18.8$, H-10b), 3.42-3.64 (2H, м, H-28a+H-28b), 3.72 (1H, с, H-25), 4.06-4.12 (1H, м, H-26), 4.07 (3H, с, H-21), 4.31 (1H, д, $J = 6.1$, H-39), 4.54 (1H, с, H-31), 5.24 (1H, с, H-13), 5.48 (1H, с, H-22), 5.57 (1H, с, H-34), 7.37 (1H, д, $J = 8.6$, H-2), 7.75 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 7.97 (1H, д, $J = 7.7$, H-4), 13.20 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.84 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 15.7 (C-41), 16.8 (C-42), 17.1 (C-27), 24.9 (C-20), 25.6 (C-35), 27.0 (C-36), 30.3 (C-23), 33.4 (C-10), 35.0 (C-12), 37.9 (C-32), 42.2 (C-37+C-30), 42.6 (C-38), 47.7 (C-29), 50.7 (C-28), 53.2 (C-24), 56.8 (C-21), 67.3 (C-26), 67.6 (C-25), 70.1 (C-13), 76.9 (C-31), 87.0 (C-39), 100.9 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 118.6 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 126.6 (C-34), 134.1 (C-9), 134.2 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 137.2 (C-33), 155.9 (C-8), 156.4 (C-15), 161.1 (C-1), 177.2 (C-40), 186.8 (C-6), 187.0 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 776.4169 [$M + H$]⁺, вычислено для $\text{C}_{42}\text{H}_{50}\text{NO}_{13}$: [$M + H$]⁺ = 776.3277.

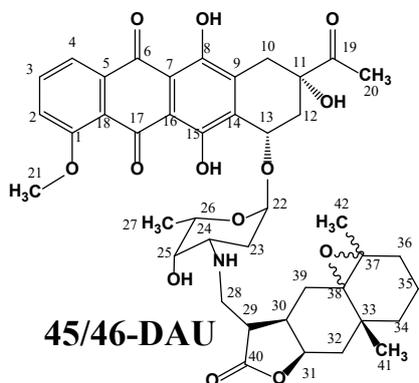
(7S,9S)-7-{{3-((4R,5R,7R,10R)-4,14-эпокси-эвдесман-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (44-DAU). Продукт получен с выходом 186 мг, красное



твердое вещество. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.91 (3H, с, Н-41), 0.87–0.94 (1H, м, Н-39a), 1.36 (3H, д, $J = 6.5$, Н-27), 1.49–1.91 (10H, м, Н-23+Н-32a+Н-34+Н-35+Н-36+Н-38), 2.05 (1H, м, Н-12a), 2.19 (1H, дд, $J = 15.6/1.7$, Н-32b), 2.35 (1H, дт, $J = 14.7/2.5$, Н-12b), 2.43 (3H, с, Н-20), 2.40–2.44 (1H, м, Н-30), 2.51 (1H, д, $J = 4.3$, Н-42a), 2.64 (1H, дд, $J = 5.1/2.4$, Н-42b), 2.74–2.95 (4H, м, Н-24+Н-28+Н-29), 2.96 (1H, д, $J = 19.2$, Н-10a), 3.25 (1H, дд, $J = 19.0/1.7$, Н-10b), 3.64 (1H, с, Н-25), 4.00–

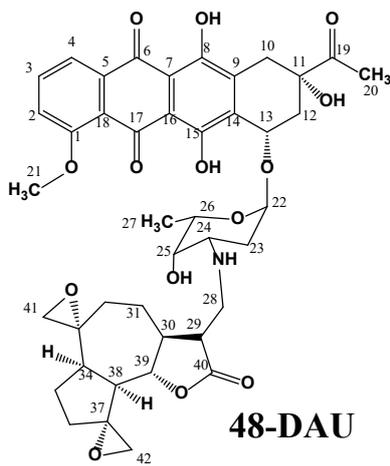
4.13 (1H, м, Н-26), 4.08 (3H, с, Н-21), 4.44 (1H, м, Н-31), 5.30 (1H, с, Н-13), 5.52 (1H, с, Н-22), 7.39 (1H, д, $J = 8.1$, Н-4), 7.78 (1H, т, $J = 8.1$, Н-3), 8.03 (1H, д, $J = 7.4$, Н-2), 13.26 (1H, уш.с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$), 13.94 (1H, с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$).

(7S,9S)-7-{{3-((7R,10R)-4,5-эпокси-эвдесман-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (45/46-DAU). Продукт реакции выделен с выходом 191



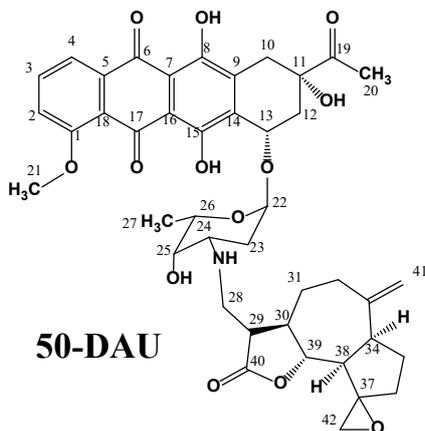
мг, красное твердое вещество; ТСХ $R_f = 0,41$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 9:1$, Силуфол). Продукт реакции представляет собой неделимую смесь изомеров полученных из α- и β-изомеров эпокси-аллоалантолактона, с подавляющим преобладанием β-изомера. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.10 (3H, с, Н-41 {β-изомер}) + 1.22 (3H, с, Н-42 {β-изомер}) + 1.34 (3H, д, $J = 6.4$, Н-27) + 1.00–1.41 (4H, м, Н-34a+Н-35a+Н-39a+Н-36a), 1.59–1.94 (5H, м, Н-34b+Н-35b+Н-36b+Н-39b+Н-32a), 2.07 (1H, дд, $J = 14.7/3.9$, Н-12a) + 2.03 (1H, д, $J = 15.7$, Н-32b {β-изомер}), 2.33 (1H, д, $J = 14.9$, Н-12b), 2.40 (3H, с, Н-20), 2.68 (1H, д, $J = 5.6$, Н-30) + 2.62–2.97 (4H, м, Н-10a+Н-28a+Н-28b+Н-24), 3.16 (1H, д, $J = 19.1$, Н-10b), 3.67 (1H, с, Н-25), 4.05 (4H, с, Н-21+Н-26), 4.66 (1H, с, Н-31), 5.23 (1H, с, Н-13), 5.48 (1H, с, Н-22), 7.36 (1H, д, $J = 8.3$, Н-4), 7.75 (1H, т, $J = 8.1$, Н-3), 7.97 (1H, д, $J = 7.6$, Н-2), 13.21 (1H, уш.с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$), 13.91 (1H, с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$).

(7S,9S)-7-{{3-((1R,3R,5R,7S)-4,15-эпокси-10,14-эпокси-гвайан-12,6α-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (48/49-DAU). Выход 94 мг (А-изомер, соответствует продукту из лактона 48). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.35 (3H, д, $J = 6.6$, Н-27), 1.40 (1H, м, Н-31a), 1.58–1.64 (2H, м, Н-32a+Н-35a),



1.66-1.74 (3H, м, H-23a+H-23b+H-36a), 1.85 (1H, дт, $J = 14.5/6.2$, H-36b), 1.95 (1H, м, H-35b), 2.03-2.11 (4H, м, H-12a+H-31b+H-32b+H-38), 2.25 (1H, м, H-34), 2.32-2.36 (2H, м, H-30+H-12b), 2.41 (3H, с, H-20), 2.53 (1H, м, H-29), 2.56 (1H, д, $J = 4.7$, H-41a), 2.64 (1H, д, $J = 4.7$, H-41b), 2.77 (1H, дд, $J = 12.4/6.2$, H-28a), 2.80 (1H, д, $J = 4.6$, H-42a)+2.81 (1H, м, H-24), 2.88 (1H, дд, $J = 12.6/4.5$, H-28b), 2.91 (1H, д, $J = 19.0$, H-10a), 3.19 (1H, дд, $J = 18.9/2.0$, H-10b), 3.23 (1H, д, $J = 4.5$, H-42b), 3.59 (1H, с, H-25), 4.07 (3H, с H-21) + 4.03-4.11 (2H, м, H-26+H-39), 4.66 (1H, уш.с, -OH-11), 5.26 (1H, уш.с, H-13), 5.49 (1H, с, H-22), 7.37 (1H, дд, $J = 8.3$, H-2), 7.76 (1H, дд, $J = 8.0$, H-3), 8.00 (1H, дд, $J = 7.6$, H-4), 13.23 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.93 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl₃, 126 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 24.8 (C-35), 24.9 (C-20), 27.2 (C-31), 30.4 (C-23), 31.0 (C-32), 32.1 (C-36), 33.4 (C-10), 35.1 (C-12), 43.9 (C-28), 45.1 (C-34), 45.4 (C-29), 47.7 (C-30), 50.3 (C-42), 51.7 (C-38), 52.8 (C-41), 52.8 (C-24), 56.8 (C-21), 58.2 (C-33), 66.5 (C-37), 67.0 (C-26), 67.3 (C-25), 70.1 (C-13), 77.0 (C-11), 82.0 (C-39), 101.2 (C-22), 111.4 (C-7), 111.5 (C-16), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 156.0 (C-8), 156.5 (C-15), 161.2 (C-1), 176.9 (C-40), 186.8 (C-6), 187.1 (C-17), 211.9 (C-19).

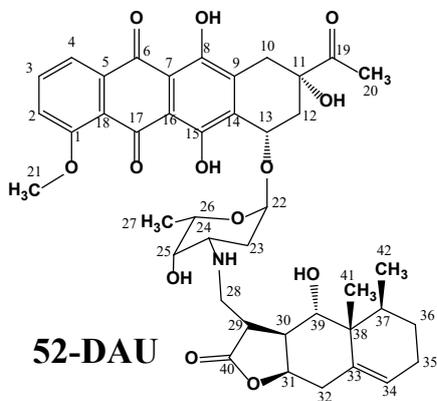
(7S,9S)-7-[[3-((1R,5S,7S)-4,15-эпокси-10(14)-гвайен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (50-DAU). Выход 80 мг (A-изомер). Спектр ЯМР ^1H



(CDCl₃, 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.16-1.24 (1H, м, H-31a), 1.34 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.68-1.72 (3H, м, H-23+H-36a), 1.88-2.17 (7H, м, H-12a+H-30+31b+H-32b+H-38+H-35), 2.24-2.45 (3H, м, H-12b+H-32b+H-36b), 2.40 (3H, с, H-20), 2.73-2.93 (6H, м, H-28+H-29+H-24+H-10a+H-42a), 3.13 (2H, м, H-10b+H-34), 3.25 (1H, д, $J = 4.7$, H-42b), 3.57 (1H, уш.с, H-25), 3.90-4.09 (1H, м, H-26), 4.06 (3H, с, H-21), 4.67 (1H, с, H-39), 4.90 (2H, с, H-41), 5.24 (1H, с, H-13), 5.48 (1H, с, H-22), 7.37 (1H, д, $J = 8.8$, H-2), 7.76 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 7.98 (1H, д, $J = 7.7$, H-4), 13.20 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.91 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl₃, 50 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 24.9 (C-20), 28.6 (C-31), 30.3 (C-23), 31.7 (C-36), 31.9 (C-35), 33.3 (C-10), 35.0 (C-12), 35.3 (C-32), 43.4 (C-28), 46.3 (C-34), 46.6 (C-30), 47.4 (C-29), 50.4 (C-38), 52.6 (C-24), 56.8 (C-21), 66.8 (C-25+C-26), 67.2 (C-37), 70.1 (C-13), 82.6 (C-39), 101.1 (C-22), 111.3 (C-7), 111.46 (C-16), 113.6 (C-41), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 120.9 (C-18), 134.4 (C-9+C-14), 135.5 (C-5), 135.8 (C-3), 149.2 (C-33), 155.9

(C-8), 156.5 (C-15), 161.1 (C-1), 177.1 (C-40), 186.7 (C-6), 187.0 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 774.4167 $[M + H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{48}NO_{13}$: $[M + H]^+ = 774.3120$.

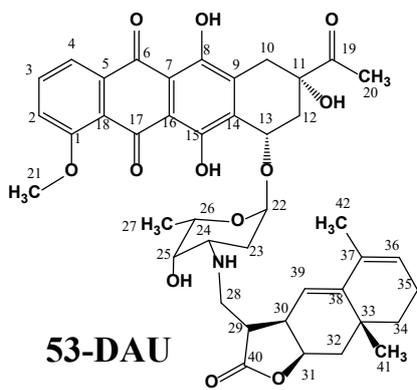
(7S,9S)-7-{{3-((4S,5R,6S,7S)-6-гидрокси-эремофила-10-ен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил}окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (52-DAU). Выход 183 мг, красное твердое вещество;



т.пл. 155–162 °С; ТСХ $R_f = 0,78$ ($CHCl_3:MeOH = 10:1$, MN-силикагель). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 500.13 МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 0.86 (3H, д, $J = 6.8$, H-42), 0.98 (3H, с, H-41), 1.36 (3H, д, $J = 6.6$, H-27), 1.29–1.42 (2H, м, H-36a+H-36b), 1.69–1.77 (2H, м, H-23a+H-23b), 1.90–1.99 (2H, м, H-35a+H-35b), 1.93 (1H, м, H-37), 2.06–2.12 (1H, м, H-12a), 2.10 (1H, дд, $J = 14.8/4.1$, H-32a), 2.23–2.32 (1H, м, H-32b), 2.35 (1H, уш.д, $J = 15.0$, H-12b), 2.42 (3H, с, H-20), 2.53 (1H, м, H-29), 2.66 (1H, м, H-28a), 2.86

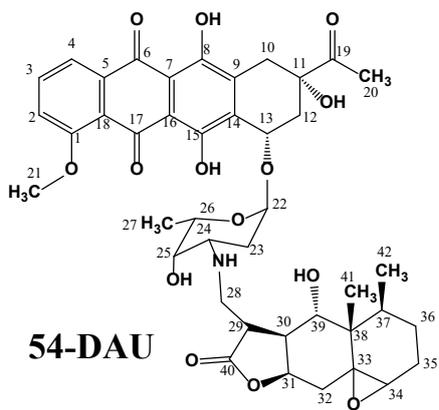
(1H, м, H-30), 2.91 (1H, м, H-28b), 2.96 (1H, д, $J = 18.6$, H-10a), 3.22 (1H, дт, $J = 18.7/2.4$, H-10b), 3.65 (1H, уш.д, $J = 6.8$, H-25), 3.83 (1H, д, $J = 6.8$, H-39), 4.03–4.10 (1H, м, H-26), 4.08 (3H, с, H-21), 4.60 (1H, дт, $J = 10.8/7.3$, H-31), 5.29 (1H, дд, $J = 3.9/2.1$, H-13), 5.50 (1H, уш.д, $J = 3.5$, H-22), 5.62 (1H, дт, $J = 3.9/1.8$, H-34), 7.38 (1H, дд, $J = 8.6/0.9$, H-2), 7.78 (1H, дд, $J = 7.8/8.4$, H-3), 8.02 (1H, дд, $J = 7.7/1.1$, H-4), 13.27 (1H, уш.с, $H_{hydroquinone}$), 13.96 (1H, с, $H_{hydroquinone}$); спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, 126 МГц δ , м. д.): 16.4 (C-42), 17.2 (C-27), 19.4 (C-41), 24.9 (C-20), 25.6 (C-35), 26.9 (C-36), 30.4 (C-23), 32.7 (C-32), 33.5 (C-10), 35.0 (C-37), 35.3 (C-12), 42.0 (C-30), 42.9 (C-38), 45.7 (C-28), 45.8 (C-29), 52.8 (C-24), 56.8 (C-21), 67.1 (C-26), 67.3 (C-25), 69.8 (C-13), 74.4 (C-39), 77.0 (C-31), 77.1 (C-11), 100.9 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.1 (C-18), 128.0 (C-34), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.0 (C-33), 135.7 (C-5), 135.9 (C-3), 156.0 (C-8), 156.5 (C-15), 161.2 (C-1), 178.0 (C-40), 186.9 (C-6), 187.2 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр HRMS (ESI) – найдено: m/z 776.3291 $[M + H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{49}NO_{13}$ $[M + H]^+ = 776.3277$.

(7S,9S)-7-{{3-((7R,10R)-3,5-эвдесмадиен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил}окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (53-DAU). Выход 191 мг, красное твердое вещество; т.пл. 152–158 °С; ТСХ $R_f = 0,81$ ($CHCl_3:MeOH = 10:1$, MN-силикагель). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 500.13 МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 1.03 (3H, с, H-41), 1.36 (3H, д, $J = 6.6$, H-27), 1.32 (1H, м, H-34a), 1.50 (2H, д, $J = 18.3$, H-34b + уш.д, $J = 11.8$, H-32a), 1.71 (3H, уш.с, H-42), 1.75 (2H, м, H-23a+H-23b), 2.00 (1H, дт, $J = 18.7/5.2$, H-35a), 2.10 (1H, дд, $J = 14.8/4.1$, H-12a), 2.18 (1H, дд, $J = 14.6/3.1$, H-32b), 2.25 (1H, уш.д, $J = 15.7$, H-35b), 2.35 (1H, дт, $J = 14.9/2.7$, H-12b), 2.41 (3H, с, H-20), 2.82 (1H, м, H-28a), 2.89 (1H, м, H-24), 2.94 (1H, м, H-29), 2.93 (1H, д, $J = 19.0$, H-10a), 2.97 (1H, м, H-28b), 3.20 (1H, дд, $J = 18.8/2.0$, H-10b), 3.24 (1H, м, H-30), 3.64 (1H, д, $J = 1.5$, H-25), 4.05–4.10 (1H, м, H-26)



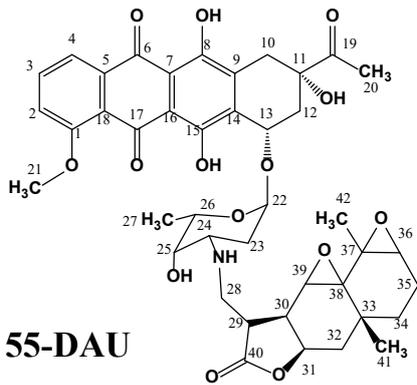
+ 4.07 (3H, с, H-21), 4.75 (1H, дт, $J = 5.6/2.7$, H-31), 5.20 (1H, д, $J = 3.2$, H-39), 5.28 (1H, дд, $J = 3.8/2.0$, H-13), 5.52 (1H, т, $J = 2.5$, H-22), 5.57 (1H, д, $J = 4.0$, H-36), 7.38 (1H, дд, $J = 8.5/0.8$, H-2), 7.77 (1H, дд, $J = 8.4/7.8$, H-3), 8.01 (1H, дд, $J = 7.7/0.8$, H-4), 13.26 (1H, уш.с, $H_{\text{hydroquinone}}$), 13.94 (1H, уш.с, $H_{\text{hydroquinone}}$); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 20.3 (C-42), 22.3 (C-35), 24.8 (C-41), 24.9 (C-20), 30.5 (C-33), 30.9 (C-23), 33.5 (C-10), 35.0 (C-12), 37.3 (C-34), 38.4 (C-30), 39.6 (C-32), 42.5 (C-28), 45.9 (C-29), 52.4 (C-24), 56.8 (C-21), 67.0 (C-26), 67.5 (C-25), 70.0 (C-13), 77.0 (C-11), 77.3 (C-31), 101.2 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 113.0 (C-39), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.1 (C-18), 126.8 (C-36), 130.5 (C-37), 134.4 (C-9), 134.5 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 144.9 (C-38), 156.0 (C-8), 156.5 (C-15), 161.2 (C-1), 177.8 (C-40), 186.8 (C-6), 187.1 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр HRMS (ESI) – найдено: m/z 758.3197 $[\text{M} + \text{H}]^+$, вычислено для $\text{C}_{42}\text{H}_{47}\text{NO}_{12}$ $[\text{M} + \text{H}]^+ = 758.3171$.

(7S,9S)-7-[[3-((4S,5S,6S,7S)-6-гидрокси-1,10-эпокси-эремофилян-12,8 β -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (54-DAU). Выход 125 мг. Спектр ЯМР ^1H



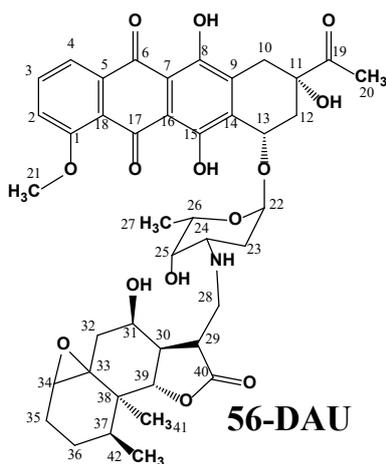
(CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.68 (3H, д, $J = 6.8$, H-42), 0.99 (3H, с, H-41), 1.16-1.38 (2H, м, H-36a+H-36b), 1.36 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.64-2.38 (7H, м, H-35a+H-35b+H-37+H-32a+H-32b+H-23a+H-23b), 2.41 (3H, с, H-20), 2.62-2.96 (5H, м, H-30+H-28a+H-28b+H-34+H-29), 2.92 (1H, д, $J = 18.3$, H-10a), 3.21 (1H, д, $J = 18.7$, H-10b), 3.68 (1H, с, H-25), 3.93-4.10 (1H, м, H-26), 4.06 (3H, с, H-21), 4.69 (1H, уш.с, H-39), 4.92 (1H, уш.с, H-31), 5.27 (1H, с, H-13), 5.50 (1H, с, H-22), 7.37 (1H, д, $J = 8.4$, H-2), 7.76 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 7.99 (1H, д, $J = 8.1$, H-4), 13.26 (1H, уш.с, $H_{\text{hydroquinone}}$), 13.94 (1H, с, $H_{\text{hydroquinone}}$); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 14.8 (C-42), 16.0 (C-41), 17.2 (C-27), 22.3 (C-35), 23.6 (C-36), 25.0 (C-20), 28.3 (C-37), 30.3 (C-23), 33.4 (C-10), 34.2 (C-32), 35.1 (C-12), 39.3 (C-38), 42.3 (C-30), 45.5 (C-28), 47.2 (C-29), 52.7 (C-24), 56.8 (C-21), 57.6 (C-34), 63.1 (C-33), 67.1 (C-26+C-25), 70.0 (C-13), 72.7 (C-39), 74.5 (C-31), 101.1 (C-22), 111.4 (C-7+C-16), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18), 134.4 (C-9+C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 155.9 (C-8), 156.5 (C-16), 161.1 (C-1), 177.7 (C-40), 186.7 (C-6), 187.0 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 792.5000 $[\text{M} + \text{H}]^+$, вычислено для $\text{C}_{42}\text{H}_{50}\text{NO}_{14}$: $[\text{M} + \text{H}]^+ = 792.3226$.

(7S,9S)-7-[[3-((7R,10R)-3,4-эпокси-5,6-эпокси-эвдесман-12,8 β -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (55-DAU В-изомер). Выход 108 мг, при повторе 131 мг.



Красное твердое вещество. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.99 (3H, с, Н-41), 1.10 (1H, дд, $J = 13.3/5.7$, Н-34а), 1.18 (3H, с, Н-42), 1.35 (3H, д, $J = 6.5$, Н-27), 1.47 (1H, тд, $J = 12.9/6.1$, Н-34b), 1.59 (1H, д, $J = 15.3$, Н-32а), 1.68 (1H, дд, $J = 15.8/4.8$, Н-32b), 1.71-1.80 (2H, м, Н-23а+Н-23b), 1.95 (1H, м, Н-35а), 2.03 (1H, дд, $J = 14.9/7.0$, Н-35b), 2.11 (1H, дд, $J = 15.2/4.5$, Н-12а), 2.36 (1H, уш.д, $J = 16.8$, Н-12b), 2.42 (3H, с, Н-20), 2.62 (1H, т, $J = 5.4$, Н-29), 2.82 (1H, уш.д, $J = 8.2$, Н-24), 2.91 (1H, дд, $J = 11.8/6.1$, Н-28а), 2.98 (1H, д, $J = 18.5$, Н-10а) + 2.96 (1H, м, Н-30), 3.03 (1H, дд, $J = 12.0/6.0$, Н-28b), 3.10 (1H, с, Н-39), 3.22 (1H, дд, $J = 18.9/2.0$, Н-10b), 3.38 (1H, т, $J = 7.2$, Н-36), 3.64 (1H, уш.с., Н-25), 4.08 (3H, с, Н-21) + 4.03-4.10 (1H, м, Н-26), 4.58 (1H, ддд, $J = 8.8/4.3/1.4$, Н-31), 4.64 (1H, с, ОН-11), 5.28 (1H, уш.с, Н-13), 5.50 (1H, уш.с, Н-22), 7.78 (1H, д, $J = 8.1$, Н-2), 7.78 (1H, дд, $J = 8.2/7.9$, Н-3), 8.01 (1H, дд, $J = 7.7/1.1$, Н-4), 13.28 (1H, уш.с, Н_{hydroquinone}), 13.97 (1H, с, Н_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 100 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 20.3 (C-42), 20.41 (C-41), 24.9 (C-20), 28.8 (C-34), 30.6 (C-23+C-33), 33.5 (C-10), 35.0 (C-12), 35.1 (C-32), 37.1 (C-30), 45.5 (C-25), 47.5 (C-28), 53.3 (C-24), 55.7 (C-37), 56.8 (C-21), 59.2 (C-39), 60.8 (C-36), 64.7 (C-38), 67.1 (C-26), 67.6 (C-25), 70.1 (C-13), 75.7 (C-31), 77.0 (C-11), 101.1 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-6), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4+C-18), 134.3 (C-9), 134.5 (C-14), 135.6 (C-5), 135.9 (C-3), 156.0 (C-8), 156.5 (C-15), 161.2 (C-1), 177.3 (C-40), 186.9 (C-6), 187.3 (C-17), 211.9 (C-19).

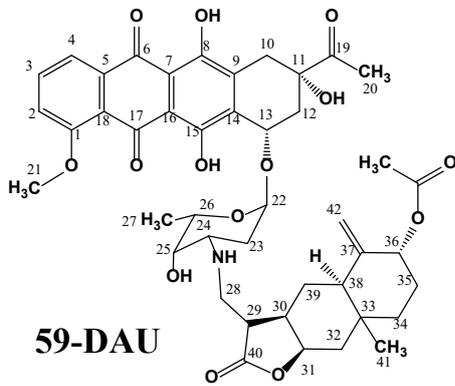
(7S,9S)-7-[[3-((4S,5R,7R,8R)-8-гидрокси-1,10-эпокси-эремофилан-12,6а-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (56-DAU). Выход 214 мг. Спектр ЯМР ^1H



(CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.84 (3H, д, $J = 6.9$, Н-42), 0.91 (3H, с, Н-41), 1.19-1.36 (4H, м, Н-37+Н-36а+Н-36b+Н-32а), 1.30 (3H, д, $J = 6.5$, Н-27), 1.70-1.76 (2H, м, Н-23а+Н-23b), 1.84-2.17 (4H, м, Н-35а+Н-35b+Н-37+Н-32b), 2.10 (1H, д, $J = 14.0$, Н-12а), 2.32 (1H, д, $J = 14.4$, Н-12b), 2.41 (3H, с, Н-20), 2.76-2.95 (5H, м, Н-28а+Н-30+Н-29+Н-24+Н-34), 2.93 (1H, д, $J = 19.6$, Н-10а), 3.24 (1H, д, $J = 18.6$, Н-10b), 3.55 (1H, д, $J = 12.4$, Н-28b), 3.73 (1H, с, Н-25), 4.04-4.22 (1H, м, Н-26), 4.08 (3H, с, Н-21), 4.50 (1H, д, $J = 8.4$, Н-39), 4.53 (1H, с, Н-31), 5.26 (1H, с, Н-13), 5.49 (1H, д, $J = 3.0$, Н-22), 7.38 (1H, д, $J = 9.6$, Н-2), 7.78 (1H, т, $J = 8.1$, Н-3), 8.03 (1H, д, $J = 7.6$, Н-4), 13.30 (1H, уш.с, Н_{hydroquinone}), 13.98 (1H, уш.с, Н_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 12.8 (C-41), 16.7 (C-42), 17.0 (C-27), 21.6 (C-35), 24.6 (C-36), 24.9 (C-20), 30.2 (C-23), 33.5 (C-10), 34.7 (C-32), 35.1 (C-12), 35.2 (C-37), 40.6 (C-38), 42.7 (C-30), 48.1 (C-29), 50.0 (C-28), 53.4 (C-24), 56.8 (C-21), 58.6 (C-34),

64.4 (C-31), 67.2 (C-26), 67.6 (C-25), 70.1 (C-13), 84.2 (C-39), 100.9 (C-22), 111.5 (C-7), 111.7 (C-16), 118.6 (C-2), 119.9 (C-4), 121.1 (C-18), 134.1 (C-9), 134.3 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 155.9 (C-8), 156.4 (C-16), 161.2 (C-1), 176.8 (C-40), 186.9 (C-6), 187.2 (C-17), 211.9 (C-19).

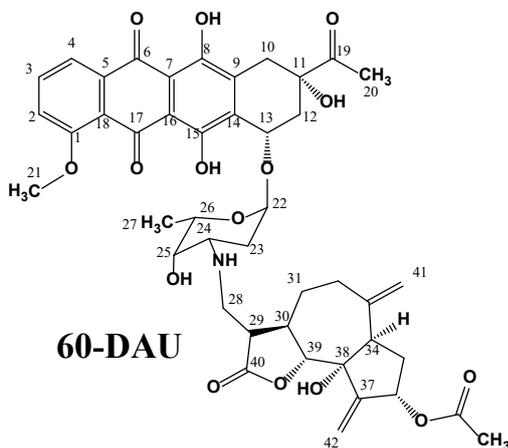
(7S,9S)-7-{{3-((3R,5R,7R,10R)-3-ацетилокси-4(14)-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (59-DAU). Выход 220 мг. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 200



МГц, δ, м. д., J/Гц): 0.77 (3H, м, H-41), 1.09-1.54 (6H, м, H-32a+H-34a+H-34b+H-35a+H-35b+H39a+H-39b), 1.36 (3H, д, J = 6.6, H-27), 1.75 (2H, уш.с, H-23a+H-23b), 2.00 (3H, с, MeCO-36), 2.04-2.20 (2H, м, H-32+H-12a), 2.32-2.51 (3H, м, H-12b+H-38+H-30), 2.40 (3H, с, H-20), 2.70-3.04 (4H, м, H-28a+H-28b+H-29+H-24), 2.90 (1H, д, J = 19.4, H-10a), 3.20 (1H, д, J = 19.0, H-10b), 3.66 (1H, с, H-25), 3.95-4.10 (1H, м, H-26), 4.06 (3H, с, H-21), 4.48 (1H, уш.с, H-31), 4.68 (1H, с, H-42a), 5.08

(1H, с, H-42b), 5.25 (1H, с, H-13), 5.30 (1H, с, H-36), 5.50 (1H, с, H-22), 7.37 (1H, д, J = 8.7, H-2), 7.76 (1H, т, J = 8.0, H-3), 8.00 (1H, д, J = 7.8, H-4), 13.22 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.94 (1H, с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 50 МГц δ, м. д.): 17.2 (C-27), 17.3 (C-41), 20.7 (C-39), 21.6 (MeCO-35), 24.9 (C-20), 27.1 (C-35), 30.4 (C-23), 33.4 (C-10), 34.4 (C-33), 35.0 (C-12), 36.5 (C-34), 39.1 (C-30), 41.1 (C-32), 41.4 (C-28), 47.8 (C-29), 52.6 (C-24), 56.8 (C-21), 66.9 (C-26), 67.3 (C-25), 70.1 (C-13), 75.3 (C-35), 78.2 (C-31), 101.2 (C-22), 111.3 (C-7), 111.5 (C-16), 112.7 (C-42), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 120.9 (C-18), 134.3 (C-9), 134.4 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 145.8 (C-37), 155.9 (C-8), 156.5 (C-15), 161.1 (C-1), 170.2 (MeCO-35), 177.9 (C-40), 186.7 (C-6), 187.1 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 818.5000 [M + H]⁺, вычислено для C₄₄H₅₂NO₁₄: [M + H]⁺ = 818.3382.

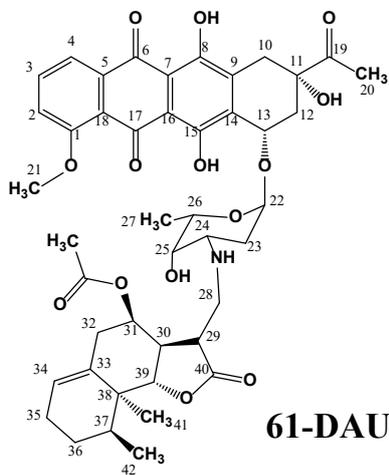
(7S,9S)-7-{{3-((1S,3R,5S,7S)-3-ацетилокси-5-гидрокси-4(15),10(14)-гвайянодиен-12,6α-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-



тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (60-DAU). Выход 251 мг. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 200 МГц, δ, м. д., J/Гц): 1.24-1.29 (1H, м, H-31a), 1.35 (3H, д, J = 6.5, H-27), 1.68-1.75 (2H, м, H-23a+H-23b), 2.16 (3H, с, AcO-36), 2.00-2.47 (9H, м, H-12+H-30+H-31b+H-32+H-35+H-34), 2.40 (3H, с, H-20), 2.70-3.01 (5H, м, H-28+H-29+H-24+H-10a), 3.18 (1H, д, J = 19.0, H-10b), 3.61 (1H, с, H-25), 4.00-4.15 (2H, м, H-26+H-39), 4.06 (3H, с, H-21), 4.76 (1H, с, H-41a), 4.91 (1H, с, H-41b), 5.26 (1H,

с, H-13), 5.40 (1H, с, H-42a), 5.48 (1H, с, H-22), 5.65 (1H, с, H-42b), 5.71 (1H, с, H-36), 7.36 (1H, дд, $J = 7.9/1.0$, H-2), 7.75 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 7.98 (1H, дд, $J = 7.7/1.1$, H-4), 13.22 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.91 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 17.2 (C-27), 21.4 (CH_3CO -36), 24.9 (C-20), 30.3 (C-23), 32.9 (C-31), 33.3 (C-10), 35.0 (C-12), 35.7 (C-35), 38.3 (C-32), 39.5 (C-34), 43.7 (C-28), 47.0 (C-29), 52.5 (C-24), 53.2 (C-30), 56.8 (C-21), 66.9 (C-26), 67.1 (C-26), 69.9 (C-13), 75.5 (C-36), 80.3 (C-38), 86.5 (C-39), 101.1 (C-22), 111.3 (C-7), 111.5 (C-16), 114.1 (C-41), 116.6 (C-42), 118.5 (C-2), 119.8 (C-4), 120.9 (C-18), 134.4 (C-9+C-14), 135.5 (C-5), 135.8 (C-3), 147.4 (C-33), 153.1 (C-37), 155.9 (C-8), 156.5 (C-15), 161.1 (C-1), 171.1 (CH_3CO -36), 177.4 (C-40), 186.7 (C-6), 187.0 (C-17), 211.9 (C-19).

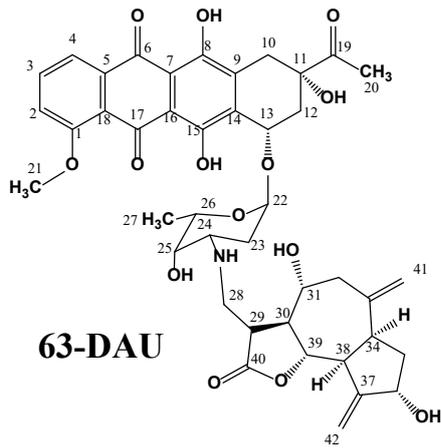
(7S,9S)-7-[[3-((4S,5S,7R,8R)-8-ацетилокси-эремофила-10-ен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (61-DAU). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$):



0.87 (3H, с, H-41), 0.97 (3H, д, $J = 6.6$, H-42), 1.25-1.44 (3H, м, H-36a+H-36b+H-37), 1.33 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.68-1.81 (2H, м, H-23a+H-23b), 1.97-2.34 (6H, м, H-35a+H-35b+H-12a+H-12b+H-32a+H-32b), 2.00 (3H, с, AcO -31), 2.40 (3H, с, H-20), 2.72-2.89 (4H, м, H-30+H-24+H-29+H-28a), 2.87 (1H, д, $J = 18.9$, H-10a), 3.02-3.09 (1H, м, H-28b), 3.17 (1H, д, $J = 19.2$, H-10b), 3.54 (1H, уш.с, H-25), 4.00-4.12 (1H, м, H-26), 4.07 (3H, с, H-21), 4.31 (1H, д, $J = 8.1$, H-39), 4.85-5.02 (1H, м, H-31), 5.24 (1H, с, H-13), 5.47 (1H, с, H-22), 5.63 (1H, с, H-34), 7.37 (1H, д, $J = 8.4$, H-2), 7.75 (1H, т, $J = 8.0$, H-

3), 7.98 (1H, д, $J = 7.6$, H-4), 13.16 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.90 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 15.7 (C-41), 16.6 (C-42), 17.2 (C-27), 21.1 (Me-CO -31), 24.9 (C-20), 22.5 (C-35), 26.9 (C-36), 30.5 (C-23), 32.9 (C-32), 33.4 (C-10), 35.0 (C-12), 40.6 (C-30), 41.5 (C-29), 42.1 (C-37), 42.6 (C-38), 43.4 (C-28), 52.8 (C-24), 56.7 (C-21), 66.9 (C-26), 67.3 (C-25), 70.0 (C-13), 76.9 (C-31), 86.1 (C-39), 101.1 (C-22), 111.3 (C-7), 111.4 (C-16), 118.5 (C-2), 119.8 (C-4), 120.9 (C-18), 128.1 (C-34), 134.3 (C-9), 134.4 (C-14), 135.3 (C-33), 135.5 (C-5), 135.8 (C-3), 155.8 (C-8), 156.4 (C-15), 161.1 (C-1), 170.0 (Me-CO -31), 178.6 (C-40), 186.7 (C-6), 186.9 (C-17), 211.9 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 818.5000 [$M + H$]⁺, вычислено для $\text{C}_{44}\text{H}_{52}\text{NO}_{14}$: [$M + H$]⁺ = 818.3382.

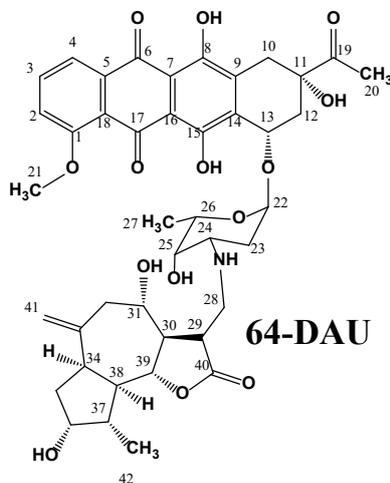
(7S,9S)-7-[[3-((1R,3R,5R,7R,8S)-3,8-дигидрокси-4(15),10(14)-гвайаноиден-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (63-DAU). Выход 217 мг. Ограниченно растворимо в хлороформе. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.35 (3H, д, $J = 6.3$, H-27), 1.66-1.85 (3H, м, H-23a+H-23b+H-35a), 2.02-2.35 (4H, м, H-32a+H-35b+H-



12a+H-12b), 2.41 (3H, с, H-20), 2.71 (1H, дд, $J = 15.3/3.9$, H-32b), 2.76-3.00 (4H, м, H-24+H-30+H-34+H-38) + 2.94 (1H, д, $J = 18.7$, H-10a), 3.10-3.29 (2H, м, H-10b+H-29), 3.52-3.64 (3H, м, H-25+H-28a+H-28b), 4.73 (1H, с, H-31), 4.08 (3H, с, H-21) + 4.00-4.17 (1H, м, H-26), 4.45-4.57 (2H, м, H-36+H-39), 4.97 (1H, с, H-41a), 5.01 (1H, с, H-41b), 5.26 (1H, уш.с, H-13), 5.29 (1H, с, H-42a), 5.34 (1H, с, H-42b), 5.49 (1H, уш.д, $J = 3.5$, H-22), 7.39 (1H, д, $J = 8.3$, H-2), 7.78 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 8.03 (1H, дд, $J = 7.7$, H-4), 13.30 (1H, уш.с, $H_{\text{hydroquinone}}$), 13.97 (1H, с, $H_{\text{hydroquinone}}$);

спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 17.0 (C-27), 24.9 (C-20), 30.3 (C-23), 33.4 (C-10), 35.1 (C-12), 38.8 (C-35), 44.2 (C-34), 46.4 (C-32), 48.3 (C-28), 50.1 (C-38), 52.7 (C-24), 56.8 (C-21), 58.0 (C-30), 67.2 (C-26), 67.7 (C-25), 70.2 (C-13), 73.0 (C-31), 73.9 (C-36), 76.3 (C-11), 84.9 (C-39), 100.9 (C-22), 111.5 (C-7), 111.8 (C-16), 113.0 (C-42), 116.2 (C-41), 118.6 (C-2), 120.0 (C-4), 134.1 (C-9), 134.3 (C-14), 134.7 (C-5), 135.8 (C-3), 143.4 (C-33), 152.8 (C-37), 155.9 (C-8), 156.5 (C-15), 161.2 (C-1), 175.3 (C-40), 186.9 (C-6), 187.2 (C-17), 211.8 (C-19).

(7S,9S)-7-[[3-((1R,3R,4S,5R,7R,8S)-3,8-дигидрокси-гвайан-10(14)-ен-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (64-DAU). Выход 283 мг (83%). Красный

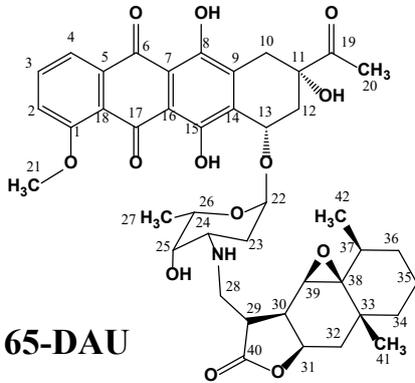


порошок. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.12 (3H, д, $J = 6.4$, H-42), 1.30 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.60-1.72 (2H, м, H-23a+H-35a), 1.78-1.95 (5H, м, H-23b+H-32a+H-37+H-30+H-38), 2.05 (1H, м, H-35b), 2.09 (1H, д, $J = 14.1$, H-12a), 2.29 (1H, д, $J = 14.9$, H-12b), 2.40 (5H, уш.с, H-20+H-28a+H-29), 2.69 (1H, дд, $J = 12.9/4.0$, H-32b), 2.75 (2H, м, H-24+H-34), 2.84 (1H, д, $J = 18.8$, H-10a), 3.17 (1H, $J = 18.8$, H-10b), 3.45 (1H, тд, $J = 10.0/4.1$, H-31), 3.52 (1H, д, $J = 10.0$, H-28b), 3.66 (1H, тд, $J = 9.3/5.6$, H-36), 3.71 (1H, с, H-25), 3.93 (1H, т, $J = 10.2$, H-39), 4.06 (3H, с, H-21) + 4.03-4.14 (1H, м, H-26), 4.51 (1H, с, -OH), 4.91 (1H, с, H-41a), 4.93 (1H,

с, H-41b), 5.23 (1H, с, H-13), 5.48 (1H, с, H-22), 7.39 (1H, д, $J = 8.5$, H-2), 7.76 (1H, т, $J = 8.0$, H-3), 7.99 (1H, д, $J = 7.6$, H-4), 13.22 (1H, уш.с, $H_{\text{hydroquinone}}$), 13.92 (1H, с, $H_{\text{hydroquinone}}$); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 100 МГц δ , м. д.): 17.0 (C-27), 18.6 (C-42), 25.0 (C-20), 30.3 (C-23), 33.4 (C-10), 35.0 (C-12), 38.2 (C-35), 42.3 (C-34), 44.8 (C-32), 46.2 (C-28), 47.2 (C-29), 48.3 (C-37), 50.3 (C-30), 52.6 (C-24), 56.8 (C-21), 60.2 (C-38), 67.3 (C-26), 67.7 (C-25), 70.3 (C-13), 73.6 (C-31), 76.9 (C-11), 78.1 (C-36), 101.0 (C-22), 111.4 (C-7), 111.6 (C-16), 114.6 (C-41), 118.6 (C-2), 119.9 (C-4), 121.0 (C-18),

134.1 (C-9), 134.2 (C-14), 135.5 (C-5), 135.8 (C-3), 143.6 (C-33), 155.8 (C-8), 156.4 (C-15), 161.1 (C-1), 175.4 (C-40), 186.8 (C-6), 187.0 (C-17), 211.9 (C-19).

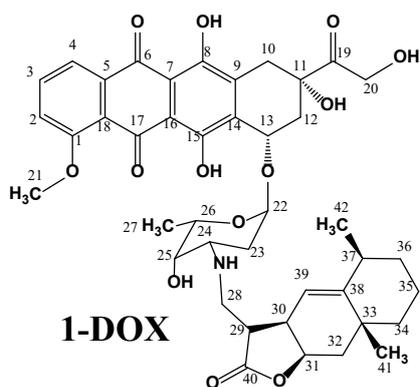
(7S,9S)-7-[[3-((4S,7R,8R,10R)-8-гидрокси-5-хлоро-эвдесман-12,6 α -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (65-DAU получен из 42). Выход 116 мг. Спектр ЯМР ^1H



(CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.09 (3H, д, $J = 7.3$, H-42), 1.13 (3H, с, H-41), 1.36 (3H, д, $J = 6.4$, H-27) + 1.35-1.39 (1H, м, H-34a), 1.42 (1H, д, $J = 12.7$, H-34b), 1.45-1.52 (4H, м, H-35a+H-37+H-32ab), 1.56 (1H, м, H-36a), 1.63 (1H, уш.д, $J = 12.7$, H-36b), 1.69 (1H, дд, $J = 13.3/4.9$, H-23a), 1.76 (1H, дд, $J = 13.2/4.4$, H-23b) + 1.78 (1H, м, H-35b), 2.10 (1H, дд, $J = 14.8/4.2$, H-12a), 2.35 (1H, дт, $J = 14.7/2.1$, H-12b), 2.42 (3H, с, H-20), 2.82 (1H, м, H-30), 2.86-2.95 (5H, м, H-28ab+H-39+H-24+H-29), 2.95 (1H, д, $J = 17.9$, H-10a), 3.21 (1H, дд, $J = 18.8/2.0$, H-10b), 3.66 (1H, уш.с, H-25), 4.08 (3H, с, H-21) + 4.05-4.09 (1H, м, H-26), 4.52 (1H, ддд, $J = 12.8/8.4/5.6$, H-31), 4.70 (1H, с, OH-11), 5.29 (1H, дд, $J = 4.2/2.1$, H-13), 5.51 (1H, д, $J = 3.9$, H-22), 7.39 (1H, дд, $J = 8.6/1.1$, H-2), 7.77 (1H, дд, $J = 8.5/7.8$, H-3), 8.02 (1H, дд, $J = 7.7/1.1$, H-4), 13.27 (1H, уш.с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$), 13.96 (1H, с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 16.7 (C-41), 16.9 (C-35), 17.2 (C-27), 24.9 (C-20), 25.3 (C-41), 30.4 (C-23), 31.6 (C-36), 33.5 (C-10), 35.2 (C-12), 36.1 (C-34), 37.4 (C-30), 37.8 (C-37), 39.0 (C-32), 40.79(29), 44.8 (C-28), 53.0 (C-24), 56.8 (C-21), 62.5 (C-39), 66.9 (C-25 + C-26), 68.4 (C-38), 69.8 (C-13), 73.0 (C-31), 77.0 (C-11), 100.9 (C-22), 111.4 (C-1), 118.5 (C-2), 119.9 (C-4), 121.1 (C-18), 134.4 (C-9), 134.6 (C-14), 135.6 (C-5), 135.8 (C-3), 156.0 (C-8), 156.6 (C-15), 161.2 (C-1), 177.5 (C-40), 186.8 (C-6), 187.2 (C-17), 212.1 (C-19).

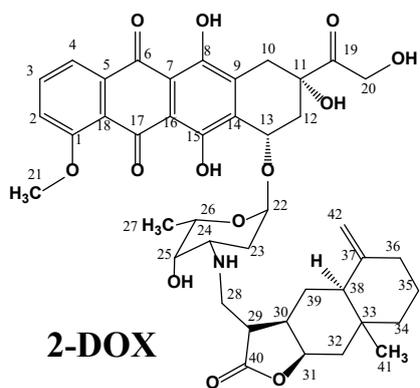
Общая методика получения конъюгатов доксорубина. В смеси 1,5 мл метанола и 1,5 мл хлороформа растворяли 0,431 ммоль соответствующего лактона, затем добавляли 250 мг гидрохлорида доксорубина и 120 мкл (2 экв.) триэтиламина. Оставляли при комнатной температуре на 7 суток. Ход реакции контролировали на ТСХ на пластинках Силуфол в системе $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 9:1$ (для продукта $R_f \approx 0,5$). Реакционную смесь упаривали при пониженном давлении, очищали колоночной хроматографией на силикагеле, промывая сначала CHCl_3 , затем смесью с добавлением 20% MeOH, при этом продукт элюировался с колонки узкой зоной.

(7S,9S)-7-[[3-((4S,7S,10R)-5-эвдесмен-12,8 β -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-(2-гидроксиацетил)-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (1-DOX). Выход 144 мг (43% от теоретического), красное твердое вещество; т.пл. = 214-220 °С; ТСХ $R_f = 0.77$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 4:1$, Силуфол). Спектр ЯМР ^1H ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 500.13 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.90 (3H, д, $J = 7.4$, H-42) + 0.85-0.93 (1H, м, H-



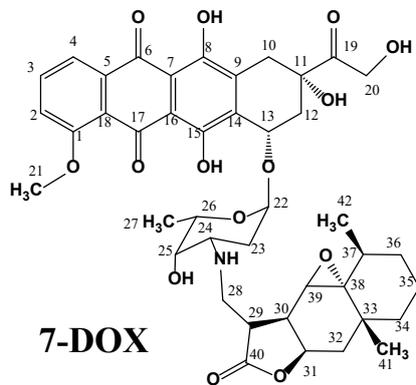
34a), 1.00 (3H, c, H-41), 1.15 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.21 (1H, м, H-35Ф), 1.28-1.35 (3H, м, H-32a + H-36ab), 1.40 (1H, д, $J = 13.0$, H-34b), 1.57-1.64 (3H, м, H-23ab + H-35b), 1.89 (1H, дд, $J = 14.8/2.9$, H-32b), 1.98 (1H, дд, $J = 14.9/4.2$, H-12a), 2.20 (1H, д, $J = 14.8$, H-12b), 2.24 (1H, м, H-37), 2.54 (1H, дд, $J = 10.8/5.5$, H-28a), 2.69 (1H, м, H-24), 2.76-2.82 (2H, м, H-28b + H-29) + 2.79 (1H, д, $J = 18.2$, H-10a), 2.96 (1H, м, H-30), 3.02 (1H, д, $J = 18.6$, H-10b), 3.52 (1H, c, H-25), 3.89 (3H, c, H-21) + 3.87-3.92 (1H, м, H-26), 4.59 (3H, c, H-20 + H-31), 4.89 (1H, д, $J = 3.2$, H-39), 5.07 (1H, c, H-13), 5.32 (1H, c, H-22), 7.26 (1H, м, H-2 + CHCl₃), 7.62 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 7.80 (1H, д, $J = 7.8$, H-4); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃+CD₃OD, 126 МГц δ, м. д.): 16.5 (C-35), 16.6 (C-27), 22.6 (C-42), 28.3 (C-41), 30.0 (C-23), 32.6 (C-36), 32.8 (C-33), 33.4 (C-10), 35.4 (C-12), 37.5 (C-30), 38.3 (C-37), 42.0 (C-34), 42.1 (C-28), 42.4 (C-32), 45.7 (C-29), 52.7 (C-24), 56.4 (C-21), 64.9 (C-20), 66.8 (C-25), 67.3 (C-26), 69.5 (C-13), 77.3 (C-31), 100.9 (C-22), 111.2 (C-7), 111.4 (C-16), 114.4 (C-39), 118.6 (C-2), 119.6 (C-4), 120.5 (C-18), 135.2 (C-5), 135.8 (C-3), 151.31 (C-38), 155.0 (C-8), 155.8 (C-15), 160.9 (C-1), 178.5 (C-40), 186.6 (C-6), 186.9 (C-17), 213.2 (C-19); масс-спектр: найдено m/z 776.3244 [$M + H$]⁺, вычислено для C₄₂H₄₉NO₁₃ [$M + H$]⁺ = 776.3277.

(7S,9S)-7-{{3-((5S,7S,10R)-4(14)-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-(2-гидроксиацетил)-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (2-DOX). Выход 172 мг (53% от теоретического),



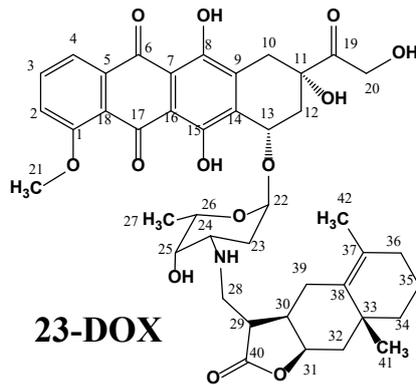
красное твердое вещество. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, 200 МГц, δ, м. д., J /Гц): 0.82 (3H, c, H-41), 1.11–1.29 (2H, м, H-34a+H-39a), 1.36 (3H, д, $J = 6.4$, H-27), 1.30–1.65 (5H, м, H-32a+H-34b+H-35+H-39b), 1.68–1.87 (3H, м, H-23+H-38), 1.98–2.40 (4H, м, H-12a+H-32b+H-36), 2.19 (1H, д, $J = 14.3$, H-12b), 2.47 (1H, м, H-30), 2.75–3.05 (5H, м, H-10a+H-24+H-28+H-29), 3.21 (1H, д, $J = 19.0$, H-10b), 3.72 (1H, уш.с, H-25), 3.98–4.05 (1H, м, H-26), 4.05 (3H, c, H-21), 4.37 (1H, c, H-42a), 4.44 (2H, уш.с, H-20), 4.49 (1H, уш.д, $J = 5.0$, H-31), 4.76 (1H, c, H-42b), 5.25 (1H, c, H-13), 5.50 (1H, c, H-22), 7.36 (1H, д, $J = 8.6$, H-4), 7.75 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 7.96 (1H, д, $J = 7.7$, H-2), 13.13 (1H, уш.с, H_{hydroquinone}), 13.90 (1H, c, H_{hydroquinone}); спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, 50 МГц δ, м. д.): 17.1 (C-27), 17.7 (C-41), 22.8 (C-35), 35.5 (C-12), 36.8 (C-36), 39.0 (C-30), 41.4 (C-28+C-32), 42.2 (C-34), 46.2 (C-38), 46.4 (C-29), 52.9 (C-24), 56.6 (C-21), 65.5 (C-20), 66.8 (C-25+C-26), 69.6 (C-13), 76.8 (C-11), 78.4 (C-31), 100.9 (C-22), 106.6 (C-42), 118.4 (C-4), 119.8 (C-2), 120.0 (C-18), 135.3 (C-5), 135.7 (C-3), 148.9 (C-37), 155.5 (C-8), 156.1 (C-15), 177.9 (C-40), 186.5 (C-6), 186.8 (C-17).

(7S,9S)-7-{{3-((4S,5R,7R,10R)-5,6-эпокси-эвдесман-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-(2-гидроксиацетил)-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (7-DOX). Выход 120 мг (36% от



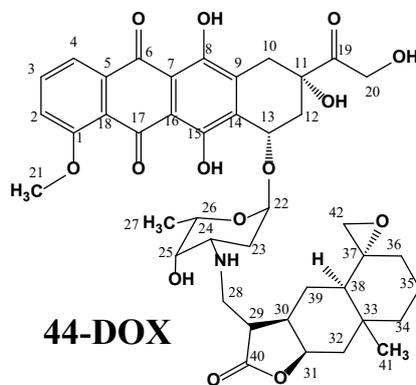
теоретического), красное твердое вещество. Спектр ЯМР ^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.05 (3H, д, $J = 7.9$, H-42), 1.12 (3H, с, H-41) + 1.15 (3H, д, $J = 5.0$, H-27), 2.68 (1H, уш.д, $J = 5.1$, H-30), 2.91 (1H, д, $J = 2.6$, H-39), 3.48 (1H, м, H-25), 4.06 (4H, м, H-21 + H-26), 4.56–4.73 (3H, м, H-31 + H-20), 5.02 (1H, м, H-13), 5.49 (1H, уш.д, $J = 3.0$, H-22), 7.35 (1H, м, H-4), 7.76 (1H, м, H-3), 7.99 (1H, м, H-2), 13.25 (1H, уш.с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$), 13.96 (1H, уш.с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$).

(7S,9S)-7-{{3-((7S,10R)-4-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-(2-гидроксиацетил)-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (23-DOX). Выход 179 мг (55% от теоретического, 0,236 ммоль),



красное твердое вещество. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.99 (3H, с, H-41), 1.20–1.64 (4H, м, H-34 + H-35), 1.31 (3H, уш.дд, $J = 5.9$, H-27), 1.6–2.0 (8H, м, H-23 + H-32 + H-36 + H-39), 1.0 (3H, с, H-42), 2.05 (1H, уш.д, $J = 11.2$, H-12α), 2.29 (1H, уш.д, $J = 11.5$, H-12b), 2.61–3.13 (6H, м, H-10a + H-24 + H-28 + H-29 + H-30), 3.33 (1H, дд, $J = 19.9/2.8$, H-10β), 3.60 (1H, уш.д, $J = 10.5$, H-25), 4.01 (3H, с, H-21), 4.09 (1H, м, H-26), 4.39 (2H, уш.с, H-20), 4.71 (1H, уш.с, H-31), 5.19 (1H, уш.с, H-13), 5.46 (1H, уш.с, H-22), 7.34 (1H, д, $J = 7.8$, H-4), 7.72 (1H, т, $J = 7.8$, H-3), 8.04 (1H, д, $J = 8.5$, H-2).

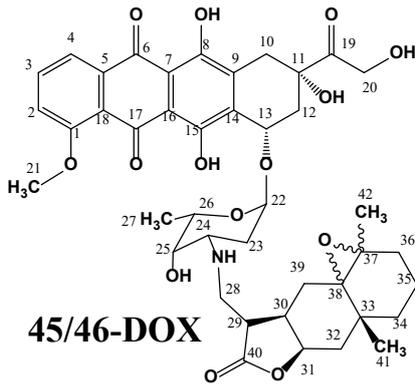
(7S,9S)-7-{{3-((4R,5R,7R,10R)-4,14-эпокси-эвдесман-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-(2-гидроксиацетил)-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (44-DOX). Выход 182 мг (54% от теоретического, 0,235 ммоль),



красное твердое вещество. Спектр ЯМР ^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{CN}$, 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.65 (3H, с, H-41), 0.71 (3H, д, $J = 5.9$, H-27), 1.90 (1H, дд, $J = 15.7/1.8$, H-32b), 2.28 (3H, д, $J = 4.4$, H-42a), 3.80 (3H, с, H-21), 4.26 (1H, дт, $J = 4.9/1.8$, H-31), 4.50 (2H, с, H-20), 4.96 (1H, уш.с, H-13), 5.22 (1H, уш.с, H-22), 7.21 (1H, д, $J = 7.6$, H-4), 7.55 (1H, т, $J = 8.1$, H-3), 7.69 (1H, д, $J = 7.4$, H-2).

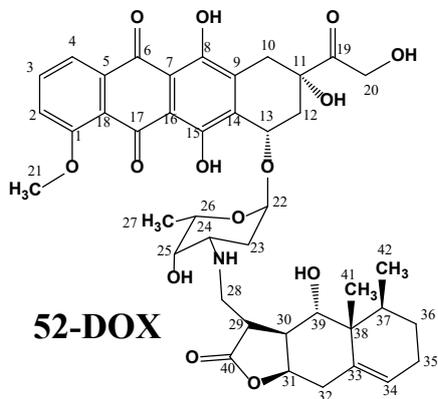
(7S,9S)-7-{{3-((7R,10R)-4,5-эпокси-эвдесман-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-(2-гидроксиацетил)-6,9,11-тригидрокси-4-

метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (45/46-DOX). Выход 272 мг (82% от



теоретического), красное твердое вещество. Продукт реакции представляет собой неделимую смесь изомеров полученных из α - и β -изомеров эпокси-аллоалантолактона, с подавляющим преобладанием β -изомера. Спектр ЯМР ^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.10 (3H, с, Н-41 { β -изомер}) + 1.22 (3H, с, Н-42 { β -изомер}) + 1.34 (3H, д, $J = 6.4$, Н-27) + 1.00–1.41 (4H, м, Н-34a+Н-35a+Н-39a+Н-36a), 1.59–1.94 (5H, м, Н-34b+Н-35b+Н-36b+Н-39b+Н-32a), 2.07 (1H, дд, $J = 14.7/3.9$, Н-12a) + 2.03 (1H, д, $J = 15.7$, Н-32b { β -изомер}), 2.33 (1H, д, $J = 14.9$, Н-12b), 2.40 (3H, с, Н-20), 2.68 (1H, д, $J = 5.6$, Н-30) + 2.62–2.97 (4H, м, Н-10a+Н-28a+Н-28b+Н-24), 3.16 (1H, д, $J = 19.1$, Н-10b), 3.67 (1H, с, Н-25), 4.05 (4H, с, Н-21+Н-26), 4.66 (1H, с, Н-31), 5.23 (1H, с, Н-13), 5.48 (1H, с, Н-22), 7.36 (1H, д, $J = 8.3$, Н-4), 7.75 (1H, т, $J = 8.1$, Н-3), 7.97 (1H, д, $J = 7.6$, Н-2), 13.21 (1H, уш.с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$), 13.91 (1H, с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$).

(7S,9S)-7-[[3-((4S,5R,6S,7S)-6-гидрокси-эремофила-10-ен-12,8 β -олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-(2-гидроксиацетил)-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (52-DOX). Выход 127 мг

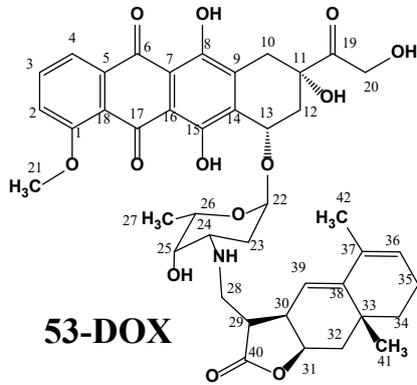


(37,2% от теоретического), красное твердое вещество; т.пл. = 170–175°C; ТСХ $R_f = 0.39$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 10:1$, MN-силикагель). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500.13 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.86 (3H, д, $J = 6.8$, Н-42), 0.99 (3H, с, Н-41), 1.29–1.40 (2H, м, Н-36a+Н-36b), 1.36 (3H, д, $J = 6.6$, Н-27), 1.69–1.87 (2H, м, Н-23a+Н-23b), 1.93 (1H, м, Н-37), 1.93–2.00 (2H, м, Н-35a+Н-35b), 2.14–2.19 (1H, м, Н-12a), 2.16 (1H, дд, $J = 15.6/4.2$, Н-32a), 2.22–2.33 (1H, м, Н-32b), 2.37 (1H, уш.д, $J = 14.6$, Н-12b), 2.55 (1H, м, Н-29), 2.62 (1H, д, $J = 7.0$, Н-28a), 2.81–2.96 (3H, м, Н-28b+Н-24+Н-30), 3.03 (1H, дд, $J = 18.6/3.1$, Н-10a), 3.26 (1H, д, $J = 18.8$, Н-10b), 3.65 (1H, уш.с, Н-25), 3.84 (1H, д, $J = 5.0$, Н-39), 4.00–4.12 (1H, м, Н-26), 4.08 (3H, с, Н-21), 4.60 (1H, дт, $J = 11.0/7.5$, Н-31), 4.76 (2H, с, Н-20), 5.32 (1H, уш.с, Н-13), 5.52 (1H, д, $J = 3.1$, Н-22), 5.62 (1H, уш.с, Н-34), 7.39 (1H, д, $J = 8.2$, Н-2), 7.78 (1H, дд, $J = 7.5/8.2$, Н-3), 8.02 (1H, д, $J = 7.5$, Н-4), 13.24 (1H, уш.с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$), 13.95 (1H, уш.с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц, δ , м. д.): 16.4 (C-42), 17.3 (C-27), 19.4 (C-41), 25.7 (C-35), 26.9 (C-36), 30.3 (C-23), 32.7 (C-37), 34.1 (C-10), 35.3 (C-12), 35.6 (C-32), 42.0 (C-38), 42.9 (C-30), 45.8 (C-28), 52.8 (C-24), 56.8 (C-21), 65.6 (C-20), 66.0 (C-11), 67.2 (C-25, C-26), 69.6 (C-13), 74.4 (H-39), 77.4 (C-31), 101.0 (C-22), 111.6 (C-7), 111.8 (C-16), 118.6 (C-2), 120.0 (C-4), 121.0 (C-18), 128.1 (C-34), 135.0 (C-33), 135.6 (C-5), 135.9 (C-3), 155.8 (C-8), 156.3 (C-15), 161.2 (C-1), 178.0 (C-40), 186.9

с, $\text{H}_{\text{hydroquinone}}$).

(C-6), 187.2 (C-17), 213.8 (C-19); масс-спектр HRMS (ESI): найдено m/z 792.3252 $[M+H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{49}NO_{14}$ m/z $[M+H]^+ = 792.3226$.

(7S,9S)-7-[[3-((7R,10R)-3,5-эвдесмадиен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-(2-гидроксиацетил)-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-5,12-дион (53-DOX). Выход 77 мг (23,1% от теоретического),

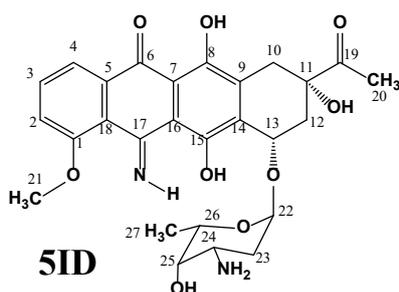


красное твердое вещество; т.пл. = 166-170°C; ТСХ $R_f = 0.54$ ($CHCl_3:MeOH = 10:1$, MN-силикагель). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, 500.13 МГц, δ , м. д., $J/Гц$): 1.03 (3H, с, H-41), 1.32 (1H, м, H-34a), 1.37 (3H, д, $J = 6.6$, H-27), 1.50 (1H, дд, $J = 9.1/2.4$, H-32a), 1.51 (1H, д, $J = 18.4$, H-34b), 1.71 (3H, уш.с, H-42), 1.76 (2H, м, H-23a+H-23b), 2.01 (1H, дт, $J = 18.8/5.6$, H-35a), 2.16 (1H, дд, $J = 13.1/3.8$, H-12a), 2.18 (1H, дд, $J = 14.8/3.2$ Hz, H-32b), 2.25 (1H, уш.д, $J = 15.7$, H-35b), 2.37 (1H, дт, $J = 14.4/2.2$ Hz, H-12b), 2.82

(1H, дд, $J = 11.0/5.9$, H-28a), 2.87 (1H, ддд, $J = 11.7/5.7/2.6$, H-24), 2.95 (1H, м, H-29), 2.98 (1H, м, H-28b), 3.00 (1H, д, $J = 18.9$, H-10a), 3.24 (1H, м, H-30), 3.25 (1H, дд, $J = 18.6/1.8$, H-10b), 3.65 (1H, уш.с, H-25), 4.0–4.09 (1H, м, H-26), 4.07 (3H, с, H-21), 4.75 (2H, с, H-20), 4.77 (1H, м, H-31), 5.21 (1H, д, $J = 3.5$, H-39), 5.31 (1H, дд, $J = 3.7/2.2$, H-13), 5.52 (1H, уш.д, $J = 2.6$, H-22), 5.58 (1H, уш.д, $J = 3.4$, H-36), 7.39 (1H, дд, $J = 8.6/1.1$, H-2), 7.77 (1H, дд, $J = 7.8/8.4$ Hz, H-3), 8.01 (1H, дд, $J = 7.8/1.0$, H-4), 13.22 (1H, уш.с, $H_{hydroquinone}$), 13.24 (1H, уш.с, $H_{hydroquinone}$); спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, 126 МГц δ , м. д.): 17.3 (C-27), 20.3 (C-42), 22.3 (C-35), 24.8 (C-41), 30.6 (C-33), 30.9 (C-23), 34.1 (C-10), 35.6 (C-12), 37.3 (C-34), 38.3 (C-30), 39.6 (C-32), 42.6 (C-28), 45.8 (C-29), 52.4 (C-24), 56.8 (C-21), 65.6 (C-20), 67.2 (C-26), 67.4 (C-25), 69.7 (C-13), 76.8 (C-11), 77.4 (C-31), 101.2 (C-22), 111.6 (C-7), 111.7 (C-16), 113.0 (C-39), 118.6 (C-2), 120.0 (C-4), 121.0 (C-18), 126.9 (C-36), 130.4 (C-37), 133.6 (C-9), 134.0 (C-14), 135.6 (C-5), 135.9 (C-3), 145.0 (C-38), 155.8 (C-8), 156.3 (C-15), 161.2 (C-1), 177.8 (C-40), 186.9 (C-6), 187.2 (C-17), 213.8 (C-19); масс-спектр HRMS (ESI): найдено m/z 774.3148 $[M+H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{47}NO_{13}$ m/z $[M+H]^+ = 774.3120$.

Синтез 5-имино аналогов конъюгатов даунорубицина

(7S,9S)-7-[[3-амино-2,3,6-тридезокси-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси}-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-5-имино-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-12-он (5ID). В 100 мл колбе на



бане со льдом (-20 °C) помещали 70 мл метанола и пропускали через него ток газообразного аммиака (от термического разложения сульфата аммония и щёлочи). В другой колбе на льду суспендировали 3 г (5,32 ммоль) даунорубицина-гидрохлорида в 50 мл холодного метанола и прибавляли к нему полученный насыщенный раствор аммиака в метаноле (в бане со льдом). Это

вело к растворению даунорубицина и изменению окраски раствора с красной на интенсивный фиолетовый цвет. Перемешивали на ледяной бане 1 ч, по ТСХ видно видна конверсия части даунорубицина в новый более полярный продукт, закрыли пробкой и оставили на 3 суток в холодильнике при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. После этого отогнали растворитель, нанесли остаток в смеси ХФ:МеОН = 10:1 на колонку с силикагелем, элюировали смесью ХФ:МеОН = 10:1, затем 4:1, затем ХФ:МеОН:Н₂О = 40:10:1, затем 10:5:1. Сначала элюируются окрашенные агликоны, затем даунорубицин-амин ($R_f=0,38$ в системе ХФ:МеОН:Н₂О = 20:5:0,5 на пластинках Merck, красные пятна), затем 5-имино-даунорубицин ($R_f=0,27$, пурпурные пятна) в виде смеси с DAU. Состав фракций контролировали по ТСХ. После дополнительной очистки хроматографией получили 978 мг чистых фракций 5-ID и 2,23 г даунорубицина (в сумме чистые фракции DAU и фракции его смеси с 5-ID), который пустили на повторную реакцию. Для этого все остатки DAU растворили в 30 мл метанола, охладили на бане со льдом добавили еще 120 мл метанола и пропускали ток аммиака (от постепенного прибавления 25% водного аммиака из капельной воронки к 25 г сухого NaOH в конической колбе). Пурпурный продукт реакции также выделяли хроматографией, смешанные фракции рехроматографировали, получили дополнительно 635 мг 5-ID от первой хроматографии, 582 мг от повторной. В сумме получили 2192 мг (4,167 ммоль, 78%) 5-имино-даунорубицина в виде фиолетового порошка, нерастворимого в хлороформе, растворимого в метаноле. Спектр ЯМР ¹H (DMSO-d₆, 200 МГц, δ , м. д., J/Гц): 1.15 (3H, д, J = 6.4, H-27), 1.60 (1H, д, J = 10.2, H-23a), 1.81 (1H, д, J = 12.9, H-23b), 2.06 (2H, м, H-12a+H-12b), 2.28 (3H, с, H-20), 2.82 (2H, с, H-10a+H-10b), 3.60 (1H, с, H-25), 4.09 (3H, с, H-21) + 3.96-4.19 (1H, м, H-26), 4.92 (1H, с, H-13), 5.46 (1H, с, H-22), 7.57 (1H, д, J = 8.2, H-2), 7.79 (1H, т, J = 8.2, H-3), 7.97 (1H, д, J = 8.0, H-4), 9.54 (1H, уш.с, NH-17), 13.58 (1H, уш.с, OH-15); спектр ЯМР ¹³C (DMSO-d₆, 50 МГц δ , м. д.): 16.8 (C-27), 24.3 (C-20), 28.22 (C-23), 31.3 (C-10), 35.9 (C-12), 46.4 (C-24), 57.0 (C-21), 66.1 (д, C-25 + C-26), 69.8 (C-13), 75.3 (C-11), 99.1 (C-22), 108.9 (C-7), 116.8 (уш, C-16 + C-18), 117.2 (C-2), 119.1 (C-4), 132.5 (C-5), 133.4 (C-3), 135.7 (C-9), 143.2 (C-14), 159.9 (C-15), 174.5 (C-6), 174.8 (C-17), 212.2 (C-19).

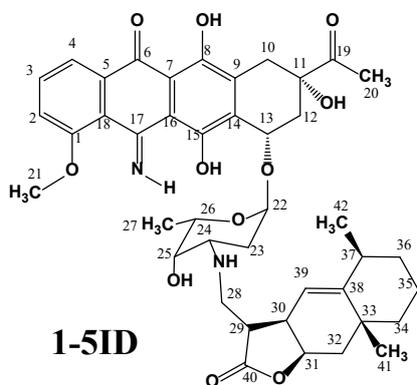
Синтез конъюгатов СЛ с 5-имино-даунорубицином, типичная схема.

В виалу вносят 250 мг (0,48 ммоль) даунорубицина-основания, 100 мг (0,44 ммоль, **SL-62**) дегидрокостус-лактона и растворяют в смеси 1,5 мл метанола и 1,5 мл ХФ и оставляют при комнатной температуре. Спустя 10 дней реакции реакцию смесь упаривают и без дополнительных этапов хроматографируют на колонке с силикагелем, элюируя в возрастающем градиенте ХФ:ИПС, собирают фракции с продуктом реакции по ТСХ на пластинках Merck в системе С₆Н₆:ацетон:МеОН=15:5:2 с $R_f=0,56$. Упаривают собранные фракции, упаривают вместе с эфиром, получают 318 мг(0,42 ммоль) конъюгата, красный порошок. Весь полученный очищенный конъюгат **SL62-DAU** растворяли в метаноле, охлаждали в емкости со льдом и, при

охлаждении, пропускали ток аммиака (полученного прикапыванием 25% водного аммиака к сухому гидроксиду натрия) в течение 30 мин, при этом раствор в колбе меняет окраску с красной на глубокую пурпурную. После этого закрывали колбу и давали инкубироваться еще 3 суток при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, отгоняли растворитель и хроматографировали на колонке силикагеля элюируя сначала ХФ:ИПС=10:1, затем градиентом ХФ:МеОН. Собирают фракции с $R_f=0,36$ по ТСХ хорошо отличимые по синей окраске без дополнительной обработки. Смешанные фракции рехроматографируют. Продукт промывают эфиром. С оставшимся неизрасходованным в реакции лактоном и со смешанными фракциями проводят повторную реакцию с метанольным аммиаком, продукты также отделяют колоночной хроматографией. Общий выход конъюгата **SL62-5ID** после повторной реакции $m=285$ мг (0,38 ммоль, 86% в расчете от **SL-62**), темно-синее твердое вещество.

Аналогично, для SL2 из 500 мг DAU и 200 мг SL-2 получено 510 мг SL2-DAU и затем 145 мг SL2-5ID; для SL1 из 250 мг DAU и 100 мг SL-1 получено 334 мг SL1-DAU и затем 310 мг SL2-5ID.

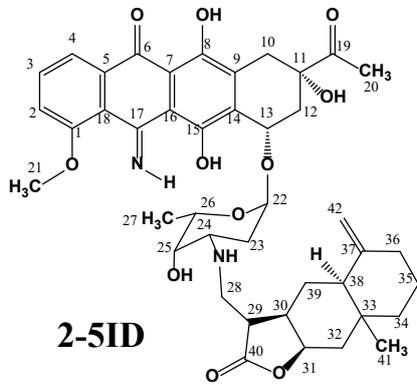
(7S,9S)-7-[[3-((4S,7S,10R)-5-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-5-имино-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-12-он (1-5ID). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 500 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.97 (3H, д,



$J = 7.5$, H-42), 1.04 (1H, тд, $J = 13.6/4.1$, H-34a), 1.16 (3H, с, H-41), 1.35 (1H, м, H-35a), 1.38 (3H, д, $J = 6.5$, H-27), 1.42 (2H, уш.с, H-36a + H-36b), 1.45 (1H, дд, $J = 14.9/2.7$, H-32a), 1.54 (1H, уш.д, $J = 13.1$, H-34b), 1.75 (1H, м, H-35b), 1.80 (1H, дд, $J = 13.0/4.1$, H-23a), 1.89 (1H, дд, $J = 12.8/3.6$, H-23b), 2.02 (1H, дд, $J = 13.8/3.2$, H-12a) + 2.05 (1H, дд, $J = 13.2/3.2$, H-32b), 2.29 (1H, уш.с, H-37), 2.34 (1H, дт, $J = 14.7/1.8$, H-12b), 2.42 (3H, с, H-20), 2.81 (1H, дд, $J = 10.6/5.8$, H-28a), 2.90 (1H, д, $J = 18.9$, H-10a) + 2.89-2.97 (3H, м, H-28b + H-24 + H-29), 3.08 (1H, ддд, $J = 8.3/5.8/3.5$, H-30), 3.13 (1H, дд, $J = 18.6/1.5$, H-10b), 3.66 (1H, с, H-25), 4.11 (3H, с, H-21) + 4.08-4.12 (1H, м, H-26), 4.69 (1H, дт, $J = 5.9/2.9$, H-31), 4.89 (1H, уш.с, -OH), 5.01 (1H, д, $J = 3.1$, H-39), 5.32 (1H, с, H-13), 5.65 (1H, д, $J = 3.8$, H-22), 7.26 (1H, д, $J = 8.5$, H-2), 7.65 (1H, т, $J = 8.0$, H-3), 8.06 (1H, д, $J = 7.9$, H-4), 9.08 (1H, д, $J = 6.3$, NH-17), 13.51 (1H, д, $J = 6.3$, OH-15), 15.59 (1H, уш.с, OH-8); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 126 МГц δ , м. д.): 16.9 (C-35), 17.3 (C-27), 22.9 (C-42), 25.0 (C-20), 28.7 (C-41), 30.3 (C-23), 32.9 (C-36), 33.1 (C-33), 33.2 (C-10), 35.2 (C-12), 37.9 (C-30), 38.6 (C-37), 42.3 (C-34), 42.6 (C-28), 42.7 (C-32), 45.8 (C-29), 52.6 (C-24), 56.9 (C-21), 66.9 (C-26), 67.4 (C-25), 70.0 (C-13), 77.3 (C-11), 77.5 (C-31), 100.8 (C-22), 103.8 (C-16), 109.6 (C-7), 114.7 (C-39), 115.3 (C-2), 118.4 (C-18), 120.3 (C-4), 132.7 (C-3), 133.6 (C-5), 136.2

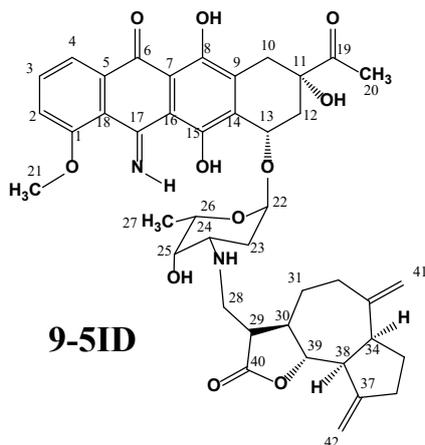
(C-9), 141.8 (C-14), 151.5 (C-38), 154.3 (C-8), 159.8 (C-1), 167.4 (C-15), 175.0 (C-17), 176.2 (C-6), 177.9 (C-40), 211.3 (C-19).

(7S,9S)-7-[[3-((5S,7S,10R)-4(14)-эвдесмен-12,8β-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-5-имино-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-12-он (2-5ID). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 0.73 (3H, с, Н-41), 1.37 (3H, д, $J = 6.3$, Н-27) + 1.17-1.54 (7H, м, Н-34ab + Н-39ab + Н-35ab + Н-32a), 1.67-1.84 (м, Н-23ab + Н-38), 2.03 (1H, д, $J = 14.9$, Н-12a), 2.15-2.23 (3H, м, Н-36ab + Н-32b), 2.37 (1H, д, $J = 13.7$, Н-12b) + 2.42 (3H, с, Н-20), 2.66 (1H, с, Н-30), 2.73-3.06 (5H, м, Н-28ab + Н-10a + Н-24 + Н-29), 3.15 (1H, д, $J = 18.8$, Н-10b), 3.67 (1H, с, Н-25), 4.12 (4H, с, Н-21 + Н-26), 4.34 (1H, с, Н-42a), 4.44 (1H, с, Н-31), 4.65 (1H, с, Н-42b), 5.33 (1H, с, Н-13), 5.64 (1H, с, Н-22), 7.28 (1H, д, $J = 7.7$, Н-2), 7.68 (1H, т, $J = 8.1$,



Н-3), 8.11 (1H, д, $J = 7.8$, Н-4), 9.14 (1H, уш.с, NH-17), 13.58 (1H, д, $J = 6.3$, OH-15); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 17.3 (C-27), 17.8 (C-41), 21.1 (C-39), 22.7 (C-35), 25.0 (C-20), 30.3 (C-23), 33.2 (C-10), 34.8 (C-33), 35.2 (C-12), 36.7 (C-36), 39.2 (C-30), 41.4 (д, C-28 + C-32), 42.2 (C-34), 46.5 (C-38), 47.5 (C-29), 52.7 (C-24), 56.8 (C-21), 66.9 (C-26), 67.3 (C-25), 70.0 (C-13), 77.3 (C-11), 78.4 (C-31), 100.9 (C-22), 103.8 (C-16), 106.6 (C-42), 109.5 (C-7), 115.3 (C-2), 118.3 (C-18), 120.2 (C-4), 132.7 (C-3), 133.5 (C-5), 136.1 (C-9), 141.7 (C-14), 149.1 (C-37), 154.3 (C-8), 159.8 (C-1), 167.1 (C-15), 174.9 (C-17), 176.3 (C-6), 178.1 (C-40), 212.3 (C-19).

(7S,9S)-7-[[3-((1R,5R,7S)-4(15),10(14)-гвайаноиден-12,6α-олид-13-ил)амино-2,3,6-тридезоксид-α-L-ликсо-гексопиранозил]окси]-9-ацетил-6,9,11-тригидрокси-4-метокси-5-имино-7,8,9,10-тетрагидротетрацен-12-он (9-5ID). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , 200 МГц, δ , м. д., $J/\text{Гц}$): 1.25 (1H, м, Н-31a), 1.37 (3H, д, $J = 6.3$, Н-27), 1.72-1.77 (2H, м, Н-23ab), 1.86-2.17 (7H, м, Н-35ab + Н-36a + Н-32a + Н-31b + Н-12a + Н-34), 2.34 (1H, д, $J = 14.6$, Н-12b), 2.42 (3H, с, Н-20) + 2.26-2.46 (3H, м, Н-30 + 36b + Н-32b), 2.72-2.95 (6H, м, Н-10a + Н-28ab + Н-38 + Н-29 + 24), 3.15 (1H, д, $J = 18.8$, Н-10b), 3.60 (1H, с, Н-26), 3.90 (1H, т, $J = 9.0$, Н-39), 4.12 (3H, с, Н-21) + 4.06-4.22 (1H, м, Н-26), 4.73 (1H, с, Н-41a), 4.82 (1H, с, Н-41b), 5.00 (1H, с, Н-42a), 5.12 (1H, с, Н-42b), 5.35 (1H, с, Н-13), 5.65 (1H, с, Н-22), 7.28 (1H, д, $J = 8.2$, Н-2), 7.68 (1H, т, $J = 8.2$, Н-3),



8.13 (1H, д, $J = 7.8$, Н-4), 9.17 (1H, д, $J = 5.9$, NH-17), 13.59 (1H, д, $J = 5.4$, OH-15); спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 50 МГц δ , м. д.): 17.3 (C-27), 25.0 (C-20), 30.3 (C-23), 30.4 (C-35), 32.6 (C-31 + C-32), 33.3 (C-10), 35.2 (C-12), 37.6 (C-36), 43.3 (C-28), 45.0 (C-34), 47.1 (C-29), 47.3 (C-30), 51.9 (C-38),

52.7 (C-24), 56.9 (C-21), 66.8 (C-26), 67.1 (C-25), 69.8 (C-13), 77.3 (C-11), 85.8 (C-39), 100.6 (C-22), 103.9 (C-16), 109.3 (C-42), 109.6 (C-7), 112.1 (C-41), 115.3 (C-2), 118.4 (C-18), 120.3 (C-4), 132.7 (C-3), 133.7 (C-5), 136.2 (C-9), 141.9 (C-14), 149.8 (C-33), 151.7 (C-37), 154.3 (C-8), 159.9 (C-1), 167.5 (C-15), 175.0 (C-17), 176.2 (C-6), 177.5 (C-40), 212.3 (C-19); масс-спектр ESI-Q-MS – найдено: m/z 757.5000 $[M + H]^+$, вычислено для $C_{42}H_{49}N_2O_{11}$: $[M + H]^+ = 757.3331$.

3.5 Методы биологические

Культуры клеток. Культуры клеток человека RD (рабдомиосаркома, ATCC® CCL-136™), HCT116 (карцинома кишечника, ATCC® CCL-247™), HeLa (аденокарцинома шейки матки, ATCC® CCL-2™), A549 (карцинома легкого, ATCC® CCL-185™) и HEK293(ATCC® CCL-1573™) выращивали в среде DMEM (для A549, HCT116 и RD) и EMEM (для HeLa) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 mM L-глутамина и 1% гентамицина в качестве антибиотика при 37°C и 5% CO₂ во влажной атмосфере. Исходные культуры клеток получены из коллекции Института цитологии РАН (Санкт-Петербург, Россия).

Цитотоксичность *in vitro*. Цитотоксичность синтезированных соединений в отношении адгезионных культур определяли с помощью МТТ-теста. Клетки сеяли в концентрации $1 \cdot 10^4$ клеток на 200 мкл в 96-луночный планшет и культивировали при 37°C во влажной атмосфере с 5% CO₂. После 24 ч инкубации к культурам клеток добавляли различные концентрации тестируемых соединений (100–1.56 мкМ), далее клетки культивировали в тех же условиях в течение 72 ч. Эксперимент проводили в трех повторностях для каждой концентрации. Все вещества растворяли в ДМСО, конечная концентрация ДМСО в лунке не превышала 0.1% и не была токсична для клеток. Контрольными выступали лунки, в которые добавляли растворитель в конечной концентрации не более 0.1%. После инкубации в каждую лунку добавляли 20 мкл МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид, 5 мг/мл), планшеты инкубировали еще 2 ч. Далее из планшетов удаляли среду и в каждую лунку добавляли 100 мкл ДМСО для растворения образовавшихся кристаллов формазана. С помощью планшетного анализатора (Victor³, PerkinElmer, США) определяли оптическую плотность при 530 нм за вычетом измеренного фонового поглощения при 620 нм. Значение концентрации, вызывающее 50%-ное ингибирование роста популяции клеток (IC₅₀), определяли на основе дозозависимых кривых с помощью программного обеспечения OriginPro 9.0 (PerkinElmer, США).

Цитотоксичность *in vitro* в тесте с ресазурином. Жизнеспособность клеток суспензионных линий K562, HL60 и Jurkat была определена с использованием прижизненного красителя ресазурина. Клетки опухолевых линий сеяли в 96-луночный планшет в количестве $5 \cdot 10^4$ клеток/200 мкл полной питательной среды и затем были добавлены различные концентрации тестируемых соединений (от 10 до 0,156 мкМ), и далее клетки культивировали в тех же условиях 72 часа. Для каждой концентрации эксперимент включал три повторности в

двух-трех независимых экспериментах. Все вещества растворяли в ДМСО, конечное содержание ДМСО в лунке не превышало 1% и не оказывало токсичного действия на клетки. В контрольные лунки был добавлен растворитель в объеме 1%. После инкубации с соединениями в каждую лунку было добавлено 20 мкл ресазурина (7-гидрокси-3Н-феноксазин-3-он-10-оксида натриевой соли) с конечной концентрацией 50 мкМ. Планшеты инкубировали в течение 2 часов. Флуоресценцию восстановленного красителя определяли с помощью планшетного анализатора Cytation3 (BioTek Instruments, Inc) (возбуждение при 530 нм, эмиссия при 590 нм). Значение концентрации, вызывающее 50%-ное ингибирование роста популяции клеток (IC₅₀, мкМ), было определено на основе дозозависимых кривых с помощью программного обеспечения OriginPro 9.0.

Заключение

Основные результаты и выводы

1. Оптимизированы условия получения трудноделимых лактонов девясила высокого, алантолактона и изоалантолактона, для масштабов в десятки граммов чистых продуктов. Удобнее получать алантолактон если избавиться от имеющегося в экстракте изоалантолактона окислением диоксидом селена. Для изоалантолактона – подобраны условия кристаллизации и регенерации его из аминоконъюгатов, или без превращения в аминоконъюгат.

2. Осуществлено выделение СЛ в препаративных масштабах из горькуши лопуховидной (костуса), также богатого источника СЛ. Найден способ быстрого отделения липофильных лактонов от липидов.

3. Предложен и осуществлен синтез продуктов галогенлактонизации кислоты от гидролиза алантолактона. Реакция с NCS и NBS дает эвдесмановые галогенлактоны с высоким выходом, в то время как реакция с йодом ведет к перегруппировке алантолактона в эремофилановый лактон.

4. Подобраны условия реакции с синглетным кислородом на примере синтеза лактона артемизитена. Лучше всего показала себя “темновая” система с каталитическим разложением перекиси молибдатом натрия в среде диоксана.

5. Получена серия новых конъюгатов даунорубицина через реакцию прямого присоединения СЛ по аминогруппе, изучено цитотоксическое действие полученных конъюгатов. Конъюгаты СЛ с DAU как правило сохраняют активность исходного антибиотика или превосходят его, иногда на порядок. Выявлены соединения-хиты для дальнейшего изучения их биологической активности.

6. Получены конъюгаты СЛ с другими антрациклинами – чаще используемым в клинике доксорубицином и потенциально некардиотоксичным 5-имино-даунорубицином. Они также не теряют цитотоксических свойств при такой модификации что позволяет рассматривать их как основу для разработки новых антинеопластов.

Рекомендации и перспективы разработки темы

В ходе выполнения данной работы были получены три серии конъюгатов антрациклиновых антибиотиков с сесквитерпеновыми лактонами. Из двух серий конъюгатов, на основе DAU и DOX, для дальнейшего поиска модифицированных антрациклиновых антибиотиков с улучшенными показателями биологической активности предпочтение стоит отдать конъюгатам DAU с СЛ. Внутри самой серии конъюгатов DAU с СЛ лактонная часть не может рассматриваться как просто липофильный фрагмент, в котором один лактон может быть заменен на другой без потери активности. В настоящий момент, на основе тестов цитотоксической активности, как перспективные соединения для более детального изучения

биологической активности можно отметить конъюгаты DAU с дегидрокостус-лактоном, гроссгеминном, рейнозином и эпокси-телекином. Данные соединения активны сразу на многих клеточных опухолевых линиях с различными типами исходного происхождения. Имеет смысл далее провести исследование способности полученных конъюгатов DAU к встраиванию в ДНК и способность к ингибированию топоизомеразной активности, а также сравнить полученные конъюгаты между собой по фармакокинетическим параметрам таким как распределение модифицированного антрациклина по органам в тестах *in vivo* и распределение по компартментам клетки и скорости входа в клетку в тестах *in vitro*. На основе соединений-хитов отобранных по совокупным данным этих тестов появится возможность провести следующий шаг – использовать отобранные модифицированные антрациклины в составе различных систем направленной доставки. Хорошим вариантом системы доставки антрациклинов может стать олигомерный сывороточный альбумин. Тогда как в физиологических условиях антрациклины переносятся в кровотоке виде комплекса с альбумином, использование модифицированных антрациклинов с дополнительным гидрофобным заместителем в виде остатка СЛ позволит получать более крепкие комплексы активного антрациклина с альбумином нековалентной природы. Альтернативой для направленной доставки соединений-хитов могут служить наночастицы, например в форме наноразмерных мицелл содержащих дополнительные терапевтические агенты такие как агенты для фотодинамической терапии. Другой возможностью повышения эффективности для найденных соединений-хитов может стать их химическая модификация как со стороны уменьшения кардиотоксичности, например замена агликоновой части молекулы с DAU на 5-ID, так и со стороны повышения активности, например введение дополнительной формалиновой сшивки как в высокоактивных, но нестойких соединениях доксоформ/дауноформ. Комбинация нескольких подходов в итоге позволит препараты объединяющие в себе такие важные качества как водорастворимость, улучшенная проницаемость активного агента через мембраны, активность против широкого спектра опухолей и сниженная токсичность для миокарда и почек.

Список сокращений

5-ID – 5-имино-даунорубицин

ACLA – акларубицин

ADEPT – Antibody-directed enzyme prodrug therapy

CARM – карминомицин

DAU – даунорубицин

DOX – доксорубицин

EPI – эпирубицин

GDEPT – Gene Directed Enzyme Prodrug Therapy

IC₅₀ – концентрация ингибирующая активность на 50%

IDA – идарубицин

ILS – увеличение продолжительности выживания

MDR – multiple drug resistance

m-CPBA – мета-хлор-перокси-бензойная кислота

NCS – N-хлор-сукцинимид

NBS – N-бром-сукцинимид

TBAF – Tetrabutylammonium fluoride

АФК – активные формы кислорода

ДМСО – диметилсульфоксид

ДХМ - дихлорметан

ПЭ – петролейный эфир

ПЭГ – полиэтиленгликоль

СЛ – сесквитерпеновый лактон

СР – саркоплазматический ретикулум

ТСХ – тонкослойная хроматография

ХФ – хлороформ

ЭА – этилацетат

ЭР – эстрогеновый рецептор

ЭТЦ – электрон-транспортная цепь

Список литературы

1. Brockmann H. and Bauer K. Rhodomycin, ein rotes Antibioticum aus Actinomyceten // *Naturwissenschaften*. – 1950. – Т. 37. – С. 492–493.
2. Bozza W. P., Takeda K., Alterovitz W.-L., Chou C.-K., Shen R.-F. and Zhang B. Anthracycline-Induced Cardiotoxicity: Molecular Insights Obtained from Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes (hiPSC-CMs) // *The AAPS Journal*. – 2021. – Т. 23, № 2. – С. 1–12.
3. Capranico G., Isabella P., Penco S., Tinelli S. and Zunino F. Role of DNA Breakage in Cytotoxicity of Doxorubicin, 9-Deoxydoxorubicin, and 4-Demethyl-6-deoxydoxorubicin in Murine Leukemia P388 Cells // *Cancer Res*. – 1989. – Т. 49, № 8. – С. 2022–2027.
4. Capranico G., Soranzo C. and Zunino F. Single-Strand DNA Breaks Induced by Chromophore-modified Anthracyclines in P388 Leukemia Cells // *Cancer Res*. – 1986. – Т. 46, № 11. – С. 5499–5503.
5. Zhang S., Liu X., Bawa-Khalife T., Lu L.-S., Lyu Y.L., Liu L.F. and Yeh E.T.H. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity // *Nature Medicine*. – 2012. – Т. 18, № 11. – С. 1639–1642.
6. Qiao X., van der Zanden S.Y., Wander D.P.A., Borràs D.M., Song J.-Y., Li X., van Duikeren S., van Gils N., Rutten A., van Herwaarden T., van Tellingen O., Giacomelli E., Bellin M., Orlova V., Tertoolen L.G.J., Gerhardt S., Akkermans J.J., Bakker J.M., Zuur C.L., Pang B., Smits A.M., Mummery C.L., Smit L., Arens R., Li J., Overkleeft H.S. and Neefjes J. Uncoupling DNA damage from chromatin damage to detoxify doxorubicin // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2020. – Т. 117, № 26. – С. 15182-15192.
7. Pang B., Qiao X., Janssen L., Velds A., Groothuis T., Kerkhoven R., Nieuwland M., Ovaas H., Rottenberg S., van Tellingen O., Janssen J., Huijgens P., Zwart W. and Neefjes J. Drug-induced histone eviction from open chromatin contributes to the chemotherapeutic effects of doxorubicin // *Nat. Commun.* – 2013. – Т. 4. – С. 1908.
8. Renu K., Pureti L.P., Vellindiri B., and Gopalakrishnan A.V. Toxic effects and molecular mechanism of doxorubicin on different organs – an update // *Toxin Reviews*. – 2022. – Т. 41, № 2. – С. 650–674.
9. Капелько В.И., Попович М.И. *Метаболические и функциональные основы экспериментальных кардиомиопатий*. — Кишинев: Штиинца, 1990. ISBN 5-376-00752-9
10. Кулева С.А., Семиглазова Т.Ю., Звягинцева Д.А., Белогурова М.Б., Иванова С.В. и Окишева И.В. Кардиоваскулярная токсичность противоопухолевого лечения у детей // *Педиатр*. – 2017. – Т. 8, № 3. – С. 130–141.
11. Шуйкова К.В., Емелина Е.И., Гендлин Г.Е. и Сторожаков Г.И. Кардиотоксичность современных химиотерапевтических препаратов // *Атмосфера. Новости кардиологии*. – 2012. – Т. 3. – С. 9–19.
12. Jensen R.A., Acton E.M. and Peters J.H. Electrocardiographic and Transmembrane Potential Effects of 5-Iminodaunorubicin in the Rat // *Cancer Res*. – 1984. – Т. 44, № 9. – С. 4030–4039.
13. Лакомкин В.Л., Абрамов А.А., Грамович В.В., Выборов О.Н., Студнева И.М., Писаренко О.И. и Капелько В.И. Сократительная функция изолированных сердец с сохраненной и сниженной фракцией изгнания in vivo // *Кардиология*. – 2018. – Т. 58, № 4. – С. 36–44.
14. Глоба А.А., Семаков А.В., Пухов С.А., Афанасьева С.В., and Аникина Л.В. Снижение кардиотоксичности даунорубицина путем конъюгации с природными сесквитерпеновыми лактонами // *Биомедицина*. – 2024. – Т. 20, № 3. – С. 37–46.

15. Непомнящих Л.М. *Морфогенез важнейших общепатологических процессов в сердце*. — Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1991. ISBN 5-02-029245-1
16. Bray T.L., Salji M., Brombin A., Pérez-López A.M., Rubio-Ruiz B., Galbraith L.C.A., Patton E.E., Leung, H.Y. and Unciti-Broceta A. Bright insights into palladium-triggered local chemotherapy // *Chem. Sci.* – 2018. – Т. 9, № 37. – С. 7354–7361.
17. Ефремова, А.С. Роль системы поли(адф-рибозил)ирования белков в механизмах кардиотоксического действия доксорубина: дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук :03.01.04 / Ефремова Анна Сергеевна; НИИ биомед. химии РАМН. — Москва, 2016. — 164 с.
18. Berlin V. and Haseltine W.A. Reduction of adriamycin to a semiquinone-free radical by NADPH cytochrome P-450 reductase produces DNA cleavage in a reaction mediated by molecular oxygen // *J. Biol. Chem.* – 1981. – Т. 256, № 10. – С. 4747–4756.
19. Bachur N.R., Gordon S.L. and Gee M.V. A General Mechanism for Microsomal Activation of Quinone Anticancer Agents to Free Radicals // *Cancer Res.* – 1978. – Т. 38, № 6. – С. 1745–1750.
20. Sato S., Iwaizumi M., Handa K. and Tamura Y. Electron spin resonance study on the mode of generation of free radicals of daunomycin, adriamycin, and carboquinone in NAD(P)H-microsome system // *Gann.* – 1977. – Т. 68, № 5. – С. 603–608.
21. Doroshov J.H. Mechanisms of Anthracycline-Enhanced Reactive Oxygen Metabolism in Tumor Cells // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2019. – Т. 2019, С. 1–14.
22. Minotti G., Recalcati S., Mordente A., Liberi G., Calafiore A. M., Mancuso C., Preziosi P. and Cairo G. The secondary alcohol metabolite of doxorubicin irreversibly inactivates aconitase/iron regulatory protein-1 in cytosolic fractions from human myocardium // *The FASEB Journal.* – 1998. – Т. 12, № 7. – С. 541–552.
23. Альберт А. *Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии*. — Москва: Медицина, 1989. ISBN 5-225-01518-2
24. Lown J.W. The mechanism of action of quinone antibiotics // *Molecular and Cellular Biochemistry.* – 1983. – Т. 55, – С. 17–40.
25. Lown J.W., Sim S.-K., Majumdar K.C. and Chang R.-Y. Strand scission of DNA by bound adriamycin and daunorubicin in the presence of reducing agents // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* – 1977. – Т. 76, № 3. – С. 705–710.
26. Меерсон Ф.З. *Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца*. — Москва: Медицина, 1984.
27. Bellinger A.M., Mongillo M. and Marks A.R. Stressed out: the skeletal muscle ryanodine receptor as a target of stress // *J. Clin. Invest.* – 2008. – Т. 118, № 2. – С. 445–453.
28. Dridi H., Kushnir A., Zalk R., Yuan Q., Melville Z., and Marks A. R. Intracellular calcium leak in heart failure and atrial fibrillation: a unifying mechanism and therapeutic target // *Nat Rev Cardiol.* – 2020. – Т. 17, – С. 732–747.
29. Cappetta D., Esposito G., Coppini R., Piegari E., Russo R., Ciuffreda L.P., Rivellino A., Santini L., Rafaniello C., Scavone C., Rossi F., Berrino L., Urbanek K. and De Angelis A. Effects of ranolazine in a model of doxorubicin-induced left ventricle diastolic dysfunction // *Br. J. Pharmacol.* – 2017. – Т. 174, № 21. – С. 3696–3712.
30. Mattiazzi A. and Kranias E.G. The role of CaMKII regulation of phospholamban activity in heart disease // *Front. Pharmacol.* – 2014. – Т. 5, № 5.
31. Lim C.C., Zuppinger C., Guo X., Kuster G.M., Helmes M., Eppenberger H.M., Suter T.M., Liao R. and Sawyer D.B. Anthracyclines induce calpain-dependent titin proteolysis and necrosis in cardiomyocytes // *J Biol Chem.* – 2004. – Т. 279, № 9. – С. 8290–8299.

32. Iwamoto Y., Hansen I.L., Porter T.H. and Folkers K. Inhibition of coenzyme Q10-enzymes, succinoxidase and NADH-oxidase, by adriamycin and other quinones having antitumor activity // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* – 1974. – T. 58, № 3. – C. 633–638.
33. Chandran K., Aggarwal D., Migrino R.Q., Joseph J., McAllister D., Konorev E.A., Antholine W.E., Zielonka J., Srinivasan S., Avadhani N.G. and Kalyanaraman B. Doxorubicin Inactivates Myocardial Cytochrome c Oxidase in Rats: Cardioprotection by Mito-Q // *Biophys. J.* – 2009. – T. 96, № 4. – C. 1388–1398.
34. Brookes P.S., Yoon Y., Robotham J.L., Anders M.W. and Sheu S.-S. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle // *Am. J Physiol. Cell Physiol.* – 2004. – T. 287, № 4. – C. 817–833.
35. Dejos C., Gkika D. and Cantelmo A.R. The Two-Way Relationship Between Calcium and Metabolism in Cancer // *Frontiers in Cell and Dev. Biol.* – 2020. – T. 8. – C. 573747.
36. Kim Y., Ma A.-G., Kitta K., Fitch S.N., Ikeda T., Ihara Y., Simon A.R., Evans T. and Suzuki Y.J. Anthracycline-induced suppression of GATA-4 transcription factor: implication in the regulation of cardiac myocyte apoptosis // *Mol. Pharmacol.* – 2003. – T. 63, № 2. – C. 368–377.
37. Park A.-M., Nagase H., Liu L., Kumar S. V., Szwergold N., Wong C.-M. and Suzuki Y. J. Mechanism of anthracycline-mediated down-regulation of GATA4 in the heart // *Cardiovascular Res.* – 2011. – T. 90, № 1. – C. 97–104.
38. Jin Y., Yu J. and Yu Y.G. Identification of hNopp140 as a Binding Partner for Doxorubicin with a Phage Display Cloning Method // *Chemistry & Biology.* – 2002. – T. 9, № 2. – C. 157–162.
39. Avitabile D., Bailey B., Cottage C. T., Sundararaman B., Joyo A., McGregor M., Gude N., Truffa S., Zarrabi A., Konstandin M., Khan M., Mohsin S., Völkers M., Toko H., Mason M., Cheng Z., Din S., Alvarez R., Fischer K. and Sussman M.A. Nucleolar stress is an early response to myocardial damage involving nucleolar proteins nucleostemin and nucleophosmin // *Proc. Nat. Academy Sci.* – 2011. – T. 109, № 15. – C. 6145–6150.
40. Horton D., Priebe W. and Sznajdman M. Preparative procedures for conversion of daunorubicin into doxorubicin (Adriamycin) and 14-O-acetyldoxorubicin by way of 14-bromodaunorubicin // *Carbohydrate Res.* – 1988. – T. 184. – C. 231–235.
41. Патент № US 3803124 A. Process for the preparation of adriamycin and adriamycinone and adriamycin derivatives: опубли. 09.04.1974 / Arcamone F., Franceschi G. and Penco S.
42. Патент № US 5008380 A. Process for the conversion of daunorubicin into doxorubicin: опубли. 16.04.1991 / Palladino G., MacDonald P. and Bigatti, E.
43. Povarov L.S., Bychkova E.N., Tarasova V.E., Ul'yanova L.A., Shepelevtseva N.G. and Potapova N.P. Synthesis and antitumor properties of 13-dihydro-14-hydroxycarminomycin // *Pharm. Chem. J.* – 1995. – T. 29, № 2. – C. 96–99.
44. Matsumoto T., Ohsaki M., Matsuda F. and Terashima S. Efficient synthesis and antitumor activity of novel 14-fluoroanthracyclines // *TL.* – 1987. – T. 28, № 38. – C. 4419–4422.
45. Matsuda F., Matsumoto T., Ohsaki M. and Terashima S. Synthesis of 14,14-Difluoro-4-demethoxydaunorubicin // *Bull. Chem. Soc. Japan.* – 1991. – T. 64, № 10. – C. 2983–2989.
46. Berettoni M., Cipollone A., Olivieri L., Palomba D., Arcamone F., Maggi C.A. and Animati F. Synthesis of 14-fluorodoxorubicin // *TL.* – 2002. – T. 43, № 15. – C. 2867–2871.
47. Horton D. and Priebe W. New adriamycin analogs. Synthesis and antitumor activity of 14-substituted 7-O-(3,4-di-O-acetyl-2,6-dideoxy-alpha-L-lyxo-hexopyranosyl)daunomycinones // *J. Antibiot. (Tokyo).* – 1981. – T. 34, № 8. – C. 1019–1025.
48. Horton D., Priebe W. and Turner W.R. Synthesis and antitumor activity of 7-O-(3,4-di-O-acetyl-2,6-dideoxy-alpha-L-lyxo-hexopyranosyl)adriamycinone // *Carbohydr. Res.* – 1981. – T. 94, № 1. – C. 11–25.

49. Поваров Л.С., Власенкова Л.И. и Преображенская М.Н. 9-Деацетил-9-[2"-оксо-4"-тиазолинил-4"]даунорубицин // *Хим.-фарм. журн.* – 1994. – Т. 28, № 4. – С. 18–20.
50. Олсуфьева Е.Н., Александрова Л.Г., Розынов Б.В., Потапова Н.П., Рубашева Л.М. и Поваров Л.С. Новые производные карминомицина и рубомицина // *Антибиотики и химиотерапия.* – 1988. – Т. 33, № 10. – С. 729–735.
51. Олсуфьева Е.Н., Поваров Л.С., Салимова К.И. и Потапова Н.П. Получение 14-замещенных производных карминомицина и рубомицина // *Антибиотики.* – 1982. – Т. 27, № 10. – С. 732–737.
52. Israel M., Taube D., Seshadri R. and Idriss, J.M. Adriamycin analogues. Preparation and biological evaluation of some N-(trifluoroacetyl)-14-O-[N-acetylamino]acyl]adriamycin derivatives // *J. of Med. Chem.* – 1986. – Т. 29, № 7. – С. 1273–1276.
53. Arcamone F., Franceschi G., Minghetti A., Penco S., Redaelli S., DiMarco A., Casazza A.M., Dasdia T. and DiFronzo G. Synthesis and biological evaluation of some 14-O-acyl derivatives of Adriamycin // *J. Med. Chem.* – 1974. – Т. 17, № 3. – С. 335–337.
54. Rho Y.S., Park S., Kim W.-J., Kim G., Yoo D.J., Kang, H.-S. and Chung, S.-R. Synthesis of new anthracycline derivatives containing pyruvic, aspartic, or N-acetylaspartic acid molecule // *Synth. Comm.* – 2002. – Т. 32, № 13. – С. 1961–1975.
55. Патент № SU 659095 АЗ. Способ получения производных даунорубицина или их солей: опубл. 25.04.1979 / Дюсеп Ж.-Б., Фарж Д., Понсине Ж. и Рейсдорф, Д.
56. Deprez-de Campeneere D., Baurain R. and Trouet A. Pharmacokinetic, toxicologic, and chemotherapeutic properties of detorubicin in mice: a comparative study with daunorubicin and adriamycin // *Cancer Treatment Reports.* – 1979. – Т. 63, № 5. – С. 861–867.
57. Jacquillat C., Auclerc M.F., Weil M., Maral J., Degos L., Auclerc G., Tobelem G., Schaison G., and Bernard J. Clinical activity of detorubicin: a new anthracycline derivative // *Cancer Treatment Reports.* – 1979. – Т. 63, № 5. – С. 889–893.
58. Chawla S.P., Legha S.S. and Benjamin R.S. Detorubicin--an active anthracycline in untreated metastatic melanoma // *J. Clin. Oncol.* – 1985. – Т. 3, № 11. – С. 1529–1534.
59. Chhikara B.S., Mandal D. and Parang, K. Synthesis, Anticancer Activities, and Cellular Uptake Studies of Lipophilic Derivatives of Doxorubicin Succinate // *J. Med. Chem.* – 2012. – Т. 55, № 4. – С. 1500–1510.
60. Поваров Л.С., Григорян Л.Н., Исаева Н.Н. и Сускина В.И. Синтез спин-меченного рубомицина и изучение его взаимодействия с ДНК // *Антибиотики.* – 1979. – Т. 24, № 7. – С. 488–493.
61. Эмануэль Н.М., Коновалова Н.П., Дьячковская Р.Ф. и Денисова Л.К. Нитроксильные производные рубомицина // *Антибиотики.* – 1982. – Т. 27, № 11. – С. 811–815.
62. González-Méndez I., Aguayo-Ortiz R., Sorroza-Martínez K., Solano J. D., Porcu P., Rivera E. and Dominguez L. Conformational analysis by NMR and molecular dynamics of adamantane-doxorubicin prodrugs and their assemblies with β -cyclodextrin: A focus on the design of platforms for controlled drug delivery // *Bioorg. Med. Chem.* – 2020. – Т. 28. – С. 115510.
63. Chegaev K., Riganti C., Rolando B., Lazzarato L., Gazzano E., Guglielmo S., Ghigo D., Fruttero R. and Gasco A. Doxorubicin-antioxidant co-drugs // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* – 2013. – Т. 23, № 19. – С. 5307–5310.
64. Chegaev K., Riganti C., Lazzarato L., Rolando B., Guglielmo S., Campia I., Fruttero R., Bosia A. and Gasco A. Nitric Oxide Donor Doxorubicins Accumulate into Doxorubicin-Resistant Human Colon Cancer Cells Inducing Cytotoxicity // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2011. – Т. 2, № 7. – С. 494–497.

65. Chegaev K., Fraix A., Gazzano E., Abd-Ellatef G. E. F., Blangetti M., Rolando B., Conoci S., Riganti C., Fruttero R., Gasco A. and Sortino S. Light-Regulated NO Release as a Novel Strategy To Overcome Doxorubicin Multidrug Resistance // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2017. – T. 8, № 3. – C. 361–365.
66. Parisi C., Moret F., Fraix A., Menilli L., Failla M., Sodano F., Conte C., Quaglia F., Reddi E. and Sortino S. Doxorubicin–NO Releaser Molecular Hybrid Activatable by Green Light to Overcome Resistance in Breast Cancer Cells // *ACS Omega* – 2022. – T. 7, № 9. – C. 7452–7459.
67. Riganti C., Rolando B., Kopecka J., Campia I., Chegaev K., Lazzarato L., Federico A., Fruttero R. and Ghigo D. Mitochondrial-Targeting Nitrooxy-doxorubicin: A New Approach To Overcome Drug Resistance // *Mol. Pharmaceutics* – 2013. – T. 10, № 1. – C. 161–174.
68. Chegaev K., Rolando B., Cortese D., Gazzano E., Buondonno I., Lazzarato L., Fanelli M., Hattinger C. M., Serra M., Riganti C., Fruttero R., Ghigo D. and Gasco A. H₂S-Donating Doxorubicins May Overcome Cardiotoxicity and Multidrug Resistance // *J. Med. Chem.* – 2016. – T. 59, № 10. – C. 4881–4889.
69. Durante M., Frosini M., Chiaino E., Fusi F., Gamberucci A., Gorelli B., Chegaev K., Riganti C. and Saponara S. Sdox, a H₂S releasing anthracycline, with a safer profile than doxorubicin toward vasculature // *Vascular Pharmacology*. – 2022. – T. 143. – C. 106969.
70. Bigagli E., Luceri C., De Angioletti M., Chegaev K., D'Ambrosio M., Riganti C., Gazzano E., Saponara S., Longini M., Luceri F. and Cinci L. New NO- and H₂S-releasing doxorubicins as targeted therapy against chemoresistance in castration-resistant prostate cancer: in vitro and in vivo evaluations // *Invest. New Drugs*. – 2018. – T. 36, № 6. – C. 985–998.
71. Gazzano E., Buondonno I., Marengo A., Rolando B., Chegaev K., Kopecka J., Saponara S., Sorge M., Hattinger C.M., Gasco A., Fruttero R., Brancaccio M., Serra M., Stella B., Fattal E., Arpicco S. and Riganti C. Hyaluronated liposomes containing H₂S-releasing doxorubicin are effective against P-glycoprotein-positive/doxorubicin-resistant osteosarcoma cells and xenografts // *Cancer Lett.* – 2019. – T. 456. – C. 29–39.
72. Buondonno I., Gazzano E., Tavanti E., Chegaev K., Kopecka J., Fanelli M., Rolando B., Fruttero R., Gasco A., Hattinger C., Serra M. and Riganti C. Endoplasmic reticulum-targeting doxorubicin: a new tool effective against doxorubicin-resistant osteosarcoma // *Cell Mol Life Sci.* – 2019. – T. 76, № 3. – C. 609–625.
73. Maksimenko A., Dosio F., Mouglin J., Ferrero A., Wack S., Reddy L.H., Weyn A.-A., Lepeltier E., Bourgaux C., Stella B., Luigi Cattel, Cattel L. and Couvreur P. A unique squalenoylated and nonpegylated doxorubicin nanomedicine with systemic long-circulating properties and anticancer activity // *PNAS*. – 2014. – T. 111, № 2. – C. E217–226.
74. Masquelier M., Tirzitis G., Peterson C. O., Pålsson M., Amolins A., Plotniece M., Plotniece A., Makarova N. and Vitols S. G. Plasma stability and cytotoxicity of lipophilic daunorubicin derivatives incorporated into low density lipoproteins // *Eur. J. Med. Chem.* – 2000. – T. 35, № 4. – C. 429–438.
75. Israel M., Modest E.J. and Frei E. N-Trifluoroacetyl Adriamycin-14-valerate, an Analog with Greater Experimental Antitumor Activity and Less Toxicity than Adriamycin // *Cancer Res.* – 1975. – T. 35, №5. – C. 1365–1368.
76. Bodley A., Liu L.F., Israel M., Seshadri R., Koseki Y., Giuliani F.C., Kirschenbaum S., Silber R. and Potmesil M. DNA Topoisomerase II-mediated Interaction of Doxorubicin and Daunorubicin Congeners with DNA // *Cancer research*. – 1989. – T. 49. – C. 5969–5978.
77. Israel M., Potti P.G. and Seshadri R. Adriamycin analogs. Rationale, synthesis, and preliminary antitumor evaluation of highly active DNA-nonbinding N-(trifluoroacetyl)adriamycin 14-O-hemiester derivatives // *J Med Chem.* – 1985. – T. 25, № 9. – C. 1223–1228.

78. Israel M. and Potti G. Adriamycin analogs. Preparation and biological evaluation of some N-perfluoroacyl analogs of daunorubicin, adriamycin, and N-(trifluoroacetyl)adriamycin 14-valerate and their 9,10-anhydro derivatives // *J Med Chem.* – 1982. – Т. 25, № 2, – С. 187–191.
79. Патент № EP 0275431 A1. Anthracyclinderivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als Arzneimittel: опубли. 02.12.1987 / Umezawa H., Umezawa S., Tsuchiya T., Takeuchi T., Takagi Y., Yoneda, T. and Fukatsu S.
80. Omoto S., Kondo S., Fukatsu S., Takeuchi T., Umezawa K., Tsuchiya T. and Umezawa S. Biological properties of ME2303 (FAD-104), a new anthracycline // *Drugs Exp Clin Res.* – 1988. – Т. 14, № 7. – С. 435–439.
81. Lim K.-H., Kim H.-S., Yang Y.-M., Lee S.-D., Kim W.-B., Yang J. and Park J.-G. Cellular uptake and antitumor activity of the new anthracycline analog DA-125 in human cancer cell lines // *Cancer Chemother Pharmacol.* – 1997. – Т. 40, № 1. – С. 23–30.
82. Chung M.-K., Kim J.-C. and Roh J.-K. Teratogenic effects of DA-125, a new anthracycline anticancer agent, in rats // *Reproductive Toxicology.* – 1995. – Т. 9, № 2. – С. 159–164.
83. Kim J.-C., Kim K.-H., and Chung M.-K. Testicular cytotoxicity of DA-125, a new anthracycline anticancer agent, in rats // *Reproductive Toxicology.* – 1999. – Т. 13, № 5. – С. 391–397.
84. Seshadri R., Israel M. and Pegg W.J. Adriamycin analogs. Preparation and biological evaluation of some novel 14-thiaadriamycins // *J Med Chem.* – 1983. – Т. 26, № 1. – С. 11–15.
85. Seshadri R., Pegg W.J. and Israel, M. Reaction of halomethyl ketones with thiols and selenols: substitution vs. reduction // *J. Org. Chem.* – 1981. – Т. 46, № 12. – С. 2596–2598.
86. Патент № US 20040147463 A1. Anti-tumour anthracycline glycoside 14-sulfonic acid derivatives: опубли. 29.07.2004 / Arcari A. and Gigli M.
87. Поваров Л.С. и Исаева Н.Н. Синтез и свойства 14-аминопроизводных даунорубидина и карминомицина // *Антибиотики.* – 1979. – Т. 24, № 2. – С. 92–96.
88. Олсуфьева Е.Н., Поваров Л.С., Салимова Е.И., Волколупова О.П., Макухо Л.В., Гольдберг Л.Е., Шепелевцева Н.Г., Ульянова Л.А., Тарасова В.Е. и Юдина Т.И. Синтез и противоопухолевое действие некоторых 14-N-замещенных производных рубомицина и карминомицина // *Антибиот. и мед. биотехнология.* – 1987. – Т. 32, № 4. – С. 254–259.
89. Minasyan Sh.Kh., Rozovskaya T.A., Kukhanova M.K., Povarov L.S., Olsufeva E.N. and Preobrazhenskaya M.N. Influence of rubomycin, carminomycin, doxorubicin, and their semisynthetic derivatives on DNA synthesis in vitro // *Pharm Chem. J.* – 1989. – Т. 23, № 10. – С. 791–794.
90. Potti G. and Israel M. Adriamycin analogs. Preparation of 9,10-anhydrodaunorubicin, 9,10-anhydroadriamycin, and some related compounds // *J Med. Chem.* – 1982. – Т. 25, № 4. – С. 478–481.
91. Патент № SU 902667 A3. Способ получения дезоксиантрациклинов: опубли. 30.01.1982 / Пенко С., Франки Д. и Аркамоне, Ф.
92. Патент № US 4199571 A. Substituted anthracyclines, their preparation and use: опубли. 22.04.1980 / Penco S., Gozzi F., Angelucci F. and Arcamone F.
93. Ishizumi K., Ohashi N. and Tanno N. Stereospecific total synthesis of 9-aminoanthracyclines: (+)-9-amino-9-deoxydaunomycin and related compounds // *J. Org. Chem.* – 1987. – Т. 52, № 20. – С. 4477–4485.
94. Yamaoka T., Hanada M., Ichii S., Morisada S., Noguchi T., and Yanagi Y. Cytotoxicity of Amrubicin, a Novel 9-Aminoanthracycline, and Its Active Metabolite Amrubicinol on Human Tumor Cells // *Jpn. J. Cancer Res.* – 1998. – Т. 89, № 10. – С. 1067–1073.
95. Simón-Gracia L., Sidorenko V., Uustare A., Ogibalov I., Tasa A., Tshubrik O., and Teesalu T. Novel Anthracycline Utorubicin for Cancer Therapy // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2021. – Т. 60. – С. 17018–17027.

96. Патент № US 4877870 A. Process for producing 10-hydroxyanthracyclines: опубл. 31.10.1989 / Umezawa H., Tatsuta K., Kawai H. and Nakajima S.
97. Патент № US 4954438 A. Process for preparing antibiotics D788-7: опубл. 04.09.1990 / Yoshimoto A., Jodo O., Watanabe Y., Okamoto R. and Takeuchi T.
98. Yoshimoto A., Johdo O., Tone H., Okamoto R., and Takeuchi T. Photochemical production of anthracycline antibiotic oxaunomycin from precursor metabolite D788-1 // *Jpn J Antibiot* – 1991. – Т. 44, № 3. – С. 264–268.
99. Fujii S., Kubo K., Johdo O., Yoshimoto A., Ishikura T., Naganawa H., Sawa T., Takeuchi T., and Umezawa H. A new anthracycline metabolite D788-1 (10-carboxy-13-deoxocarminomycin) in daunorubicin beer // *J Antibiot (Tokyo)*. – 1986. – Т. 39, № 3. – С. 473–475.
100. Wang X., Hui R., Chen Y., Wang W., Chen Y., Gong X. and Jin J. Discovery of Novel Doxorubicin Metabolites in MCF7 Doxorubicin-Resistant Cells // *Front Pharmacol.* – 2019. – Т. 10. – С. 1434.
101. Yen S.-F., Wilson W.D., Pearce S.W. and Gabbay E.J. A new series of reductive amination derivatives of daunorubicin: Syntheses, partition coefficients, and DNA binding // *J. Pharm. Sci.* – 1984. – Т. 73, № 11. – С. 1575–1579.
102. Тарасова В.Е., Ульянова Л.А., Юдина О.И., Гольдберг Л.Е., Поваров Л.С., Олсуфьева Е.Н., Бычкова Е.Н. и Шепелевцева Н.Г. Получение и противоопухолевая активность новых несимметричных азинов на основе рубомицина // *Антибиотики и химиотерапия.* – 1990. – Т. 4, № 35. – С. 21–24.
103. Поваров, Л.С., Ульянова, Л.А., Одноралец, Е.Н., Олсуфьева, Е.Н., Тарасова, В.Е., Юдина, О.И., Шепелявцева, Н.Г., Севастьянова, Т.Ю. и Гольдберг, Л.Е., *Матер. III Всесоюз совещания "Актуальные проблемы экспериментальной химиотерапии опухолей*, Черногловка, 1987, р. 10–14.
104. Поваров Л.С., Бажанов В.С., Авербух Л.А., Гольдберг Л.Е. и Тарасова В.Е. Синтез и противоопухолевые свойства 13-циклогексалиденгидраза карминомицина // *Антибиотики и химиотерапия.* – 1982. – Т. 28, № 2. – С. 95–99.
105. Поваров Л.С., Олсуфьева Е.Н., Бажанов В.С., Филиппосьянц С.Т., Шепелевцева Н.Г., Гольдберг Л.Е. и Авербух Л.А. Синтез и изучение противоопухолевых свойств замещенных 13-гидразонов карминомицина // *Антибиотики и химиотерапия.* – 1982. – Т. 27, № 2. – С. 137–140.
106. Tonkin K.C., Brownlee R.T., Zunino F. and Phillips D.R. Fluorinated anthracyclines: synthesis and biological activity // *Invest. New Drugs.* - 1990. - Т. 8, № 1. - С. 1-6.
107. Tonkin K.C., Boston R.C., Brownlee R.T. and Phillips D.R. Fluorinated anthracyclines: interactions with DNA // *Invest. New Drugs.* – 1990. – Т. 8, № 4. – С. 355–363.
108. Патент № GB 1217135 A. Daunomycin derivatives: опубл. 31.12.1970 / Pfizer Italia SRL
109. Bachmann E., Weber E. and Zbinden G. Effects of seven anthracycline antibiotics on electrocardiogram and mitochondrial function of rat hearts // *Agents Actions.* – 1975. – Т. 5, № 4. – С. 383–393.
110. Патент № NO 123574 B. Analogifremgangsmåte for fremstilling av nye, terapeutisk virksomme naftacenderivater: опубл. 17.10.1968 / Jolles G.
111. Akasov R., Drozdova M., Zaytseva-Zotova D., Leko M., Chelushkin P., Marc A., Chevalot I., Burov S., Klyachko N., Vandamme T. and Markvicheva E. Novel Doxorubicin Derivatives: Synthesis and Cytotoxicity Study in 2D and 3D in Vitro Models // *Adv. Pharm. Bull.* – 2017. – Т. 7, № 4. – С. 593–601.

112. Cui F., Liu Q., Luo H. and Zhang G. Spectroscopic, Viscosity and Molecular Modeling Studies on the Interaction of 3'-Azido-Daunorubicin Thiosemicarbazone with DNA // *J. Fluoresc.* – 2014. – T. 24. – C. 189–195.
113. Патент № CN 102603824 A. New 3'-azido daunorubicin-13-thiosemicarbazone compound with cancer resistance and preparation method thereof: опублик. 25.07.2012 / Guisheng Z., Qingfeng L., Zhiguo Z. and Lei S.
114. Protsenko L.D., Shapiro A.B., Ovrutskii V.M., Suskina V.I., Vasil'eva L.S., Denisova L.K. and Kudryavtseva I.G. Synthesis and biological activity of some organo-phosphorus derivatives of rubidomycin with di[2-chloroethyl]amine groups // *Pharm Chem J.* – 1985. – T. 19. – C. 690–693.
115. Smith T.H., Fujiwara A.N. and Henry D.W. Adriamycin analogues. 2. Synthesis of 13-deoxyanthracyclines // *J. Med. Chem.* – 1978. – T. 21, № 3. – C. 280–283.
116. Gambliel H.A., Burke B.E., Cusack B.J., Walsh G.M., Zhang Y.L., Mushlin P.S. and Olson R.D. Doxorubicin and C-13 Deoxydoxorubicin Effects on Ryanodine Receptor Gene Expression // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* – 2002. – T. 291, № 3. – C. 433–438.
117. Патент № US8097707B2. Compositions and processes for preparing 13-deoxy-anthracyclines: опублик. 03.02.2011 / Walsh G.M. and Olson R.D.
118. Tong G., Lee W.W., Black D.R. and Henry D.W. Adriamycin Analogs. Periodate Oxidation of Adriamycin // *J. Med. Chem.* – 1976. – T. 19, № 3. – C. 395–398.
119. Smith T.H., Fujiwara A.N. and Henry D.W. Synthesis of Daunorubicin Analogues with Novel 9-Acyl Substituents // *J. Med. Chem.* – 1979. – T. 22, № 1. – C. 40–44.
120. Vishnuvajjala B.R., Kataoka T., Cazer F.D., Witiak D.T. and Malspeis L. Synthesis of 14-14C-adriamycin // *J Labelled Comp Radiopharm.* – 1978. – T. 14, № 1. – C. 77–82.
121. Matsumoto T., Ohsaki M., Suzuki M., Kimura Y. and Terashima S. Synthesis of 4-Demethoxyanthracyclines Carrying a Lipophilic Alkanoyl Group at the C9-Position // *Chem. Pharm. Bull.* – 1986. – T. 34, № 11. – C. 4605–4612.
122. Chen C.R., Fon M.T., Fujiwara A.N., Henry D.W., Leaffer M.A., Lee W.W. and Smith T.H. Synthesis of daunorubicin-14-14C and adriamycin-14-14C // *J Labelled Comp. Radiopharm.* – 1978. – T. 14, № 1. – C. 111–117.
123. Патент № US 4131649 A. Daunorubicin derivatives, their preparation and their use: опублик. 26.12.1978 / Penco S., Angelucci F. and Arcamone F.
124. Rozyn Yu.A., Buryndina E.I., Batulina R.Kh., Bobrova T.M., Krupnova L.V. and Barybin A.S. Synthesis and properties of hydrazones of the antitumor antibiotic rubomicin // *Khlmlko-farmatsevticheskiy Zhurnal.* – 1987. – T. 21, № 6. – C. 663–667.
125. Tong G.L., Cory M., Lee W.W. and Henry D.W. Antitumor anthracycline antibiotics. Structure-activity and structure-cardiotoxicity relationships of rubidazole analogs // *J. Med. Chem.* – 1978. – T. 21, № 8. – C. 732–737.
126. Yamamoto K., Acton E.M. and Henry, D.W. Antitumor activity of some derivatives of daunorubicin at the amino and methyl ketone functions // *J. Med. Chem.* – 1972. – T. 15, № 8. – C. 872–875.
127. Wang Y., Li L., Jiang W., Yang Z. and Zhang Z. Synthesis and preliminary antitumor activity evaluation of a DHA and doxorubicin conjugate // *Bioorg Med Chem Lett.* – 2006. – T. 16, № 11. – C. 2974–2977.
128. Effenberger K., Breyer S. and Schobert R. Modulation of doxorubicin activity in cancer cells by conjugation with fatty acyl and terpenyl hydrazones // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. – T. 45, № 5. – C. 1947–1954.

129. Liu F., Niko Y., Bouchaala R., Mercier L., Lefebvre O., Andreiuk B., Vandamme T., Goetz J.G., Anton N. and Klymchenko A. Drug-Sponge Lipid Nanocarrier for in Situ Cargo Loading and Release Using Dynamic Covalent Chemistry // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2021. – T. 60, № 133. – C. 6573–6580.
130. Kratz F., Warnecke A., Scheuermann K., Stockmar C., Schwab J., Lazar P., Drückes P., Esser N., Drevs J., Rognan D., Bissantz C., Hinderling C., Folkers G., Fichtner I. and Unger C. Probing the Cysteine-34 Position of Endogenous Serum Albumin with Thiol-Binding Doxorubicin Derivatives. Improved Efficacy of an Acid-Sensitive Doxorubicin Derivative with Specific Albumin-Binding Properties Compared to That of the Parent Compound // *J. Med. Chem.* – 2002. – T. 45, № 25. – C. 5523–5533.
131. Zhao Y., Fay F., Perez-Aguilar J.M., Sanchez-Gaytan B.L., Goode B., Duivenvoorden R., Lange Davies C., Bjørkøy A., Weinstein H., Fayad Z.A., Perez-Medina C. and Mulder W.J.M. Augmenting drug-carrier compatibility improves tumour nanotherapy efficacy // *Nature Comm.* – 2016. – T. 7. – C. 11221.
132. Hochdörffer K., Ajaj K.A., Schäfer-Obodozie C. and Kratz F. Development of Novel Bisphosphonate Prodrugs of Doxorubicin for Targeting Bone Metastases That Are Cleaved pH Dependently or by Cathepsin B: Synthesis, Cleavage Properties, and Binding Properties to Hydroxyapatite As Well As Bone Matrix // *J Med Chem.* – 2012. – T. 55, № 17. – C. 7502–7515.
133. Willner D., Trail P.A., Hofstead S.J., King H.D., Lasch S.J., Braslawsky G.R., Greenfield R.S., Kaneko T. and Firestone R.A. (6-Maleimidocaproyl)hydrazone of doxorubicin. A new derivative for the preparation of immunoconjugates of doxorubicin // *Biocon. Chem.* – 1993. – T. 4, № 6. – C. 521–527.
134. Liu L., Zhang C., Li Z., Wang C., Bi J., Yin S., Wang Q., Yu R., Liu Y. and Su Z. Albumin Binding Domain Fusing R/K-X-X-R/K Sequence for Enhancing Tumor Delivery of Doxorubicin // *Mol. Pharmaceutics.* – 2017. – T. 14, № 11. – C. 3739–3749.
135. Wang H., Wang Y., Chen Y., Jin Q., and Ji J. A biomimic pH-sensitive polymeric prodrug based on polycarbonate for intracellular drug delivery // 2014. – T. 5, № 3. – C. 854–861.
136. Gutierrez-Corbo C., Dominguez-Asenjo B., Vossen L.I., Pérez-Pertejo Y., Muñoz-Fenández M. A., Balaña-Fouce R., Calderón M. and Reguera R.M. PEGylated Dendritic Polyglycerol Conjugate Delivers Doxorubicin to the Parasitophorous Vacuole in *Leishmania infantum* Infections // *Macromol. Biosci.* – 2017. – T. 17, № 10. – C. 1700098.
137. Martínez-Banderas A.I., Aires A., Teran F.J., Perez J.E., Cadenas J.F., Alsharif N., Ravasi T., Cortajarena A.L. and Kosel J. Functionalized magnetic nanowires for chemical and magneto-mechanical induction of cancer cell death // *Scientific Reports.* – 2016. – T. 6. – C. 35786.
138. Kratz F., Beyer U., Schumacher P., Kruger M., Zahn H., Roth T., Fiebig H.H. and Unger C. Synthesis of new maleimide derivatives of daunorubicin and biological activity of acid labile transferrin conjugates // *Bioorg Med Chem Lett.* – 1997. – T. 7, № 5. – C. 617–622.
139. Yin H., Meng T., Shu L., Mao M., Zhou L., Chen H. and Song D. Novel reduction-sensitive micellar nanoparticles assembled from Rituximab–doxorubicin conjugates as smart and intuitive drug delivery systems for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma // *Chem Biol Drug Des.* – 2017. – T. 90, № 5. – C. 892–899.
140. Kong X., Dong B., Song X., Wang C., Zhang N. and Lin W. Dual turn-on fluorescence signal-based controlled release system for real-time monitoring of drug release dynamics in living cells and tumor tissues // *Theranostics.* – 2018. – T. 8, № 3. – C. 800–811.

141. Wong R.C.H., Ng D.K.P., Fong W.-P. and Lo P.-C. Encapsulating pH-Responsive Doxorubicin–Phthalocyanine Conjugates in Mesoporous Silica Nanoparticles for Combined Photodynamic Therapy and Controlled Chemotherapy // *Chemistry*. – 2017. – T. 23, № 65. – C. 16505–16515.
142. Frullano L., Tejerina B. and Meade T.J. Synthesis and Characterization of a Doxorubicin-Gd(III) Contrast Agent Conjugate: A New Approach toward Prodrug-Procontrast Complexes // *Inorg. Chem.* – 2006. – T. 45, № 21. – C. 8489–8491.
143. Liu Y., Li L., Li L., Zhou Z., Wang F., Xiong X., Zhou R. and Huang Y. Programmed drug delivery system based on optimized “size decrease and hydrophilicity/hydrophobicity transformation” for enhanced hepatocellular carcinoma therapy of doxorubicin // *Nanomedicine*. – 2018. – T. 14, № 4. – C. 1111–1122.
144. Duan W. and Liu Y. Targeted and synergistic therapy for hepatocellular carcinoma: monosaccharide modified lipid nanoparticles for the co-delivery of doxorubicin and sorafenib // *Drug Des. Devel. Ther.* – 2018. – T. 12, – C. 2149–2161.
145. Ye W.-L., Teng Z.-H., Liu D.-Z., Cui H., Liu M., Cheng Y., Yang T.-H., Mei Q.-B. and Zhou S.-Y. Synthesis of a new pH-sensitive folate-doxorubicin conjugate and its antitumor activity in vitro // *J. Pharm. Sci.* – 2013. – T. 102, № 2. – C. 530–540.
146. Li X., Gao C., Wu Y., Cheng C.-Y., Xia W. and Zhang Z. Combination delivery of Adjudin and Doxorubicin via integrating drug conjugation and nanocarrier approaches for the treatment of drug-resistant cancer cells // *J. Mater. Chem. B Mater. Biol. Med.* – 2015. – T. 3, № 8. – C. 1556–1564.
147. Arcamone P., Canssinelli G., Franceschi G., Orezzi P. and Monde R. The total absolute configuration of daunomycin // *TL*. – 1968. – T. 9, № 30. – C. 3353–3356.
148. Turdi S., Xu P., Li Q., Shen Y., Kerram P. and Ren J. Amidization of doxorubicin alleviates doxorubicin-induced contractile dysfunction and reduced survival in murine cardiomyocytes // *Toxicology Lett.* – 2008. – T. 178, № 3. – C. 197–201.
149. Korolev A.M., Lazhko É.I., Preobrazhenskaya M.N., Bal'zarini Ya. and De Klerk É. Amides of anthracycline antibiotics and N-carboxymethylascorbigen // *Pharm Chem J.* – 1991. – T. 25, № 11. – C. 805–808.
150. Щербаков В.М., Девиченский В.М. и Воронцов Е.А. Синтез и антипролиферативная активность нового N-ацильного производного доксорубина // *Биорг. Хим.* – 1999. – T. 25, № 3. – C. 226–229.
151. Duhem N., Danhier F., Pourcelle V., Schumers J.-M., Bertrand O., LeDuff C.S., Hoeffner S., Schubert U.S., Gohy J.-F., Marchand-Brynaert J. and Préat V. Self-Assembling Doxorubicin–Tocopherol Succinate Prodrug as a New Drug Delivery System: Synthesis, Characterization, and in Vitro and in Vivo Anticancer Activity // *Bioconjugate Chem.* – 2014. – T. 25, № 1. – C. 72–81.
152. Rho Y.S., Kim W.-J., Yoo D.J., Kang H.S. and Chung S.-R. Synthesis and Antitumor Activity of New Anthracycline Analogues // *Bull. Korean Chem. Soc.* – 2001. – T. 22, № 9. – C. 963–968.
153. Chhikara B.S., St Jean N., Mandal D., Kumar A. and Parang K. Fatty acyl amide derivatives of doxorubicin: synthesis and in vitro anticancer activities // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – T. 46, № 6. – C. 2037–2042.
154. Imstepf S., Pierroz V., Raposinho P., Bauwens M., Felber M., Fox T., Shapiro A.B., Freudenberg R., Fernandes C., Gama S., Gasser G., Motthagy F., Santos I.R. and Alberto R. Nuclear Targeting with an Auger Electron Emitter Potentiates the Action of a Widely Used Antineoplastic Drug // *Bioconjugate Chem.* – 2015. – T. 26, № 12. – C. 2397–2407.
155. Seimbille Y., Czernin J., Phelps M.E. and Silverman D.H.S. Synthesis of an ¹⁸F-fluorobenzoate idarubicin derivative as new potential PET radiotracer to predict chemotherapy resistance // *J. Label. Compd. Radiopharm.* – 2005. – T. 48, – C. 819–827.

156. Krasnovskaya O.O., Malinnikov V.M., Dashkova N.S., Gerasimov V.M., Grishina I.V., Kireev I.I., Lavrushkina S.V., Panchenko P.A., Zakharko M.A., Ignatov P.A., Fedorova O.A., Jonusauskas G., Skvortsov D.A., Kovalev S.S., Beloglazkina E.K., Zyk N.V. and Majouga A.G. Thiourea Modified Doxorubicin: A Perspective pH-Sensitive Prodrug // *Bioconjugate Chem.* – 2019. – Т. 30, № 3. – С. 741–750.
157. Skovsgaard, T. Circumvention of resistance to daunorubicin by N-acetyldaunorubicin in Ehrlich ascites tumor // *Cancer Res.* – 1980. – Т. 40, № 4. – С. 1077–1083.
158. Deutsch H.F., Tsukada Y., Sasaki T. and Hirai H. Cytotoxic Effects of Daunomycin-Fatty Acid Complexes on Rat Hepatoma Cells // *Cancer Res.* – 1983. – Т. 43, № 6. – С. 2668–2672.
159. Zunino F., Gambetta R., Di Marco A. and Zaccara, A. Interaction of daunomycin and its derivatives with DNA // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Nucleic Acids and Protein Synthesis.* – 1972. – Т. 277, № 3. – С. 489–498.
160. Arcamone F. *Doxorubicin: Anticancer Antibiotics.* – London: Academic Press, 1981. ISBN 0120592800
161. Aszalos A., Macy M.L., Sethi V.S., Luc V. and Kalita C. Biological and physio-chemical properties of some N-acyl-daunorubicin derivatives // *Biochem. Pharmacol.* – 1979. – Т. 28, № 2. – С. 335–337.
162. Rho Y.S., Kim G., Kim W.-J., Park S., Yoo D.J., Kang H.S. and Chung S.-R. Synthesis of New Anthracycline Derivatives Containing Acetylsalicylic or Palmitic Acid Moiety // *Bull. Korean Chem. Soc.* – 2001. – Т. 22, № 6. – С. 587–592.
163. Rho Y.S., Kim W.-J. and Yoo D.J. Synthesis of New Anthracycline Derivatives Containing Lactic or Stearic Acid Moiety // *Bull. Korean Chem. Soc.* – 2006. – Т. 27, № 9. – С. 1359–1363.
164. Lukawska M., Klopotoska D., Milczarek M., Wietrzyk J., Studzian K., Szmigiero L., Porebska A. and Oszczapowicz I. Oxazolinodoxorubicin – a Promising New Anthracycline // *Anticancer Res.* – 2012. – Т. 32, № 7. – С. 2959–2966.
165. Altreuter D. H., Dordick J. S., and Clark D. S. Nonaqueous Biocatalytic Synthesis of New Cytotoxic Doxorubicin Derivatives: Exploiting Unexpected Differences in the Regioselectivity of Salt-Activated and Solubilized Subtilisin // *JACS.* – 2002. – Т. 124, № 9. – С. 1871–1876.
166. Liang C., Ye W., Zhu C., Na R., Cheng Y., Cui H., Liu D., Yang Z. and Zhou S. Synthesis of Doxorubicin α -Linolenic Acid Conjugate and Evaluation of Its Antitumor Activity // *Mol. Pharmaceutics.* – 2014. – Т. 11. – С. 1378–1390.
167. Водовозова Е.Л. Никольский, П.Ю., Михалев И.И. и Молотковский Юл.Г. Липидные производные сарколизина, метокрексата и рубомицина // *Биоорганическая химия.* – 1996. – Т. 22, № 7. – С. 548–556.
168. Alekseeva A.S., Chugunov A.O., Volynsky P.E., Onishchenko N.R., Molotkovsky J.G., Efremov R.G., Boldyrev I.A. and Vodovozova E.L. Behavior of Doxorubicin Lipophilic Conjugates in Liposomal Lipid Bilayers // *Rus. J. Bioorg. Chem.* – 2018. – Т. 44, – С. 732–739.
169. Huan M., Zhou S., Teng Z., Zhang B., Liu X., Wang J. and Mei Q. Conjugation with α -linolenic acid improves cancer cell uptake and cytotoxicity of doxorubicin // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* – 2009. – Т. 19, № 9. – С. 2579–2584.
170. Mieleczarek-Putka M., Struga M. and Roszkowski P. Synthesis and anticancer effects of conjugates of doxorubicin and unsaturated fatty acids (LNA and DHA) // *Med. Chem. Res.* – 2019. – Т. 28. – С. 2153–2164.
171. Патент № CA 2276694 A1. New fatty acid derivatives: опубл. 30.07.1998 / Myhren F., Borretzen B., Dalen A. and Sandvold M.L.

172. Патент № US 20040063677 A1. Methods of treating disorders using lipophilic derivatives: опубл. 01.04.2004 / Myhren F., Borretzen, B., Dalen A. and Sandvold M.
173. Teixeira R.S., Valduga C.J., Benvenuti L.A., Schreier S. and Maranhão R.C. Delivery of daunorubicin to cancer cells with decreased toxicity by association with a lipidic nanoemulsion that binds to LDL receptors // *J. of Pharmacy and Pharmacol.* – 2008. – Т. 60, № 10. – С. 1287–1295.
174. Arsenov D.V., Dad'kov I.G., Kisel' M.A., Kuz'mitskii B.B. and Strel'chenok O.A. Synthesis of N-(all-trans-Retinoyl)doxorubicin and Study of the Antitumor Activity of Its Complex with Blood Serum Proteins // *Pharm. Chem. J.* – 2001. – Т. 35, № 4. – С. 186–189.
175. Патент № US 20050096340 A1. Tocopherol-modified therapeutic drug compounds: опубл. 05.05.2005 / Zhang Y. and Gold L.
176. Alrushaid S., Zhao Y., Sayre C.L., Maayah Z.H., Forrest M.L., Senadheera S.N., Chaboyer K., Anderson H.D., El-Kadi A.O.S. and Davies N.M. Mechanistically elucidating the in vitro safety and efficacy of a novel doxorubicin derivative // *Drug Deliv. and Transl. Res.* – 2017. – Т. 7, № 4. – С. 582–597.
177. Alamri M.A., Ates-Alagoz Z. and Adejare A. Bicycloheptylamine-Doxorubicin Conjugate: Synthesis and Anticancer Activities in $\sigma 2$ Receptor-Expressing Cell Lines // *Med. Chem.* – 2020. – Т. 16, № 2. – С. 192–201.
178. Song Y., Liu D., Cheng Y., Liu M., Ye W., Zhang B., Liu X. and Zhou Z. Dual subcellular compartment delivery of doxorubicin to overcome drug resistant and enhance antitumor activity // *Scientific Reports.* – 2015. – Т. 5. – С. 16125.
179. Karwt R., Bondar O.V., Pugachev M.V., Mohammad T., Kadyrova A.S., Pavelyev R.S., Alrhoun S., Gnezdilov O.I. and Shtyrlin Y.G. Anticancer Potential of Pyridoxine-Based Doxorubicin Derivatives: An In Vitro Study // *Life.* – 2024. – Т. 14, № 3. – С. 282.
180. Kar A.K., Braun P.D. and Wandless T.J. Synthesis and evaluation of daunorubicin-paclitaxel dimers // *Bioorg Med Chem Lett.* – 2000. – Т. 10, № 3. – С. 261–264.
181. Ma X., Özliseli E., Zhang Y., Pan G., Wang D. and Zhang H. Fabrication of redox-responsive doxorubicin and paclitaxel prodrug nanoparticles with microfluidics for selective cancer therapy // *Biomater. Sci.* – 2019. – Т. 7, № 2. – С. 634–644.
182. Ni S., Qiu L., Zhang G., Zhou H. and Han Y. Lymph cancer chemotherapy: delivery of doxorubicin–gemcitabine prodrug and vincristine by nanostructured lipid carriers // *Int. J. Nanomedicine.* – 2017. – Т. 12. – С. 1565–1576.
183. Толстикова В.В., Козлова Н.В., Ярцева И.В. и Преображенская М.Н. "Химерные антибиотики" - даунорубицин и его аналоги, N-ацилированные брунеомицином (стрептонирином) // *Биорг. хим.* – 1989. – Т. 15, № 2. – С. 277–280.
184. Krohn K., Kulikowski K. and Leclercq G. Diethylstilbestrol-linked cytotoxic agents. Synthesis and binding affinity for estrogen receptors // *J. Med. Chem.* – 1989. – Т. 32, № 7. – С. 1532–1538.
185. Патент № WO 1994029327 A1. Anticancer compounds: опубл. 22.12.1994 / Brown J.E.
186. Патент № GB 2201419 A. Anthracycline-oestrone derivatives: опубл. 01.09.1988 / Harman N.G., Angelucci F. and Suarato A.
187. Sadeghi-Aliabadi H. and Brown J.E. Synthesis, Analysis and Biological Evaluation of Novel Steroidal Estrogenic Prodrugs for the Treatment of Breast Cancer // *Pharm. Bio.* – 2004. – Т. 42, № 4-5. – С. 367–373.
188. Kurmi B.D., Paliwal R. and Paliwal S.R. Dual cancer targeting using estrogen functionalized chitosan nanoparticles loaded with doxorubicin-estrone conjugate: A quality by design approach // *Int. J. Bio. Macromol.* – 2020. – Т. 164, № 1. – С. 2881–2894.

189. Saha P., Fortin S., Leblanc V., Parent S., Asselin E. and Bérubé G. Design, synthesis, cytotoxic activity and estrogen receptor α affinity of doxorubicin conjugates at 16 α -position of estrogen for site-specific treatment of estrogen receptor positive breast cancer // *Steroids* – 2012. – T. 77, № 11. – C. 1113–1122.
190. Патент № WO 1990010638 A1. Steroidhormonrezeptor-affine antitumorwirkstoffe: опубли. 20.09.1990 / Eisenbrand G.
191. Angiuli R., Foresti E., Riva di Sanseverino L., Isaacs N. W., Kennard O., Motherwell W. D. S., Wampler D. L. and Arcamone F. Structure of Daunomycin; X-ray Analysis of N-Br-Acetyl-Daunomycin Solvate // *Nature New Biology* – 1971. – T. 234. – C. 78–80.
192. Chandra P., Zunino F., Götz A., Gericke D., Thorbeck R. and Di Marco A. Specific inhibition of DNA-polymerases from RNA tumor viruses by some new daunomycin derivatives // *FEBS Lett.* – 1972. – T. 21, № 3. – C. 264–268.
193. Di Marco A. and Arcamone F. DNA complexing antibiotics: daunomycin, adriamycin and their derivatives // *Arzneimittelforschung* – 1975. – T. 25, № 3. – C. 368–374.
194. Rho Y. S., Park S., Kim W.-J., Kim G., Yoo D. J., Kang H.-S. and Chung S.-R. Synthesis of new anthracycline derivatives containing pyruvic, aspartic, or n-acetylaspartic acid molecule // *Synth. Comm.* – 2002. – T. 32, № 13. – C. 1961–1975.
195. Han M., Vakili M.R. Abyaneh H.S., Molavi O., Lai R. and Lavasanifar A. Mitochondrial Delivery of Doxorubicin via Triphenylphosphine Modification for Overcoming Drug Resistance in MDA-MB-435/DOX Cells // *Mol. Pharmaceutics.* – 2014. – T. 11, № 8. – C. 2640–2649.
196. Wang Y., Huang L., Wright S.C. and Larrick J.W. Doxorubicin and DNA minor groove-binding oligopeptide conjugates as anticancer agents // *Gene.* – 1994. – T. 149. – C. 63–67.
197. Патент № WO 2017049091 A1. Dna binding agents with a minor groove binding tail: опубли. 23.3.2017 / Priebe W., Guo L., Kazimierski A., Fokt I., Madden T. and Conrad C.
198. Choi J.-S., Doh K.-O., Kim B.-K., and Seu Y.-B. Synthesis of cholesteryl doxorubicin and its anti-cancer activity // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* – 2017. – T. 27. – C. 723–728.
199. Ma Y., Chen H., Su S., Wang T., Zhang C., Fida G., Cui S., Zhao J. and Gu Y. Galactose as Broad Ligand for Multiple Tumor Imaging and Therapy // *J. Cancer.* – 2015. – T. 6, № 7. – C. 658–670.
200. Ye W., Tang Q., Zhou T., Zhou C., Fan C., Wang X., Wang C., Zhang K., Liao G. and Zhou W. Design, synthesis and biological evaluation of the positional isomers of the galactose conjugates able to target hepatocellular carcinoma cells via ASGPR-mediated cellular uptake and cytotoxicity // *Eur. J. Med. Chem.* – 2024. – T. 264, – C. 115988.
201. Cao J., Cui S., Li S., Du C., Tian J., Wan S., Qian Z., Gu Y., Chen W.R. and Wang G. Targeted Cancer Therapy with a 2-Deoxyglucose-Based Adriamycin Complex // *Therapeutics, Targets, and Chemical Biology.* – 2013. – T. 73, № 4. – C. 1362–1373.
202. Cui X., Du K., Yuan X., Xiao W., Tao Y., Xu D., and Hu H. A comparative study of the in vitro antitumor effect of mannose-doxorubicin conjugates with different linkers // *Drug Development Research.* – 2022. – T. 83, № 3. – C. 646–658.
203. Moiseeva A.A., Artyushin O.I., Anikina L.V. and Brel V.K. Synthesis and antitumor activity of daunorubicin conjugates with of 3,4-methylenedioxybenzaldehyde // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* – 2019. – T. 29, № 19. – C. 126617.
204. Leenders R.G.G., Gerrits K.A.A., Ruijtenbeek R., Scheeren H.W., Haisma H.J. and Boven E. β -Glucuronyl carbamate based pro-moieties designed for prodrugs in ADEPT // *TL.* – 1995. – T. 36, № 10. – C. 1701–1704.

205. Vrudhula V.M., Senter P.D., Fischer K.J. and Wallace P.M. Prodrugs of Doxorubicin and Melphalan and Their Activation by a Monoclonal Antibody-Penicillin-G Amidase Conjugate // *J. Med. Chem.* – 1993. – T. 36, № 7. – C. 919–923.
206. Kerr D.E., Senter P.D., Burnett W.V., Hirschberg D.L., Hellström I. and Hellström K.E. Antibody-penicillin-V-amidase conjugates kill antigen-positive tumor cells when combined with doxorubicin phenoxyacetamide // *Cancer Immunol Immunother.* – 1990. – T. 31, № 4. – C. 202–206.
207. Lu J.Y., Lowe D.A., Kennedy M.D. and Low P.S. Folate-Targeted Enzyme Prodrug Cancer Therapy Utilizing Penicillin-V Amidase and a Doxorubicin Prodrug // *J Drug Target.* – 1999. – T. 7, № 1. – C. 43–53.
208. Delehanty J.B., Das S., Goldberg E., Sangtani A. and Knight D.A. Synthesis of a Reactive Oxygen Species-Responsive Doxorubicin Derivative // *Molecules* – 2018. – T. 23, № 7. – C. 1809.
209. Yang Y., Sun B., Zuo S., Li X., Zhou S., Li L., Luo C., Liu H., Cheng M., Wang Y., Wang S., He Z. and Sun J. Trisulfide bond-mediated doxorubicin dimeric prodrug nanoassemblies with high drug loading, high self-assembly stability, and high tumor selectivity // *Sci. Adv.* – 2020. – T. 6, № 45. – C. 1–13.
210. Yang, J., Kong, S. D., Luong, A., and Howell, S., Patent US20110053878A1, 2011-03-3.
211. Leenders R.G.G., Scheeren H.W., Houba P.H.J., Boven E. and Haisma H.J. Synthesis and evaluation of novel daunomycin-phosphate-sulfate - β -glucuronide and - β -glucoside prodrugs for application in adept // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 1995. – T. 5, № 24. – C. 2975–2980.
212. Leenders R.G.G. and Scheeren H.W. A novel β -d-glycosyl carbamate forming reaction // *TL.* – 2000. – T. 41, № 47. – C. 9173–9175.
213. Versteegen R.M., Rossin R., ten Hoeve W., Janssen H.M. and Robillard M.S. Click to release: instantaneous doxorubicin elimination upon tetrazine ligation // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2013. – T. 52, № 52. – C. 14112–14116.
214. Rao N.V., Dinda H., Ganivada M.N., Sarma J.D. and Shunmugam R. Efficient approach to prepare multiple chemotherapeutic agent conjugated nanocarrier // *Chem. Commun.* – 2014. – T. 50, № 88. – C. 13540–13543.
215. Satyam A. Design and synthesis of releasable folate–drug conjugates using a novel heterobifunctional disulfide-containing linker // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2008. – T. 18, № 11. – C. 3196–3199.
216. Leenders R.G.G., Damen E.W.P., Bijsterveld E.J.A., Scheeren H.W., Houba P.H.J., van der Meulen-Muileman I.H., Boven E. and Haisma H.J. Novel anthracycline-spacer- β -glucuronide, - β -glucoside, and - β -galactoside prodrugs for application in selective chemotherapy // *Bioorg. Med. Chem.* – 1999. – T. 7, № 8. – C. 1597–1610.
217. Houba P.H.J., Leenders R.G.G., Boven E., Scheeren J.W., Pinedo H.M. and Haisma H.J. Characterization of novel anthracycline prodrugs activated by human β -glucuronidase for use in antibody-directed enzyme prodrug therapy // *Biochem. Pharmacol.* – 1996. – T. 52, № 3. – C. 455–463.
218. Andrianomenjanahary S., Dong X., Florent J.-C., Gaudel G., Gesson J.-P., Jacquesy J.-C., Koch M., Michel S., Mondon M., Monneret C., Petit P., Renoux B. and Tillequin F. Synthesis of novel targeted pro-prodrugs of anthracyclines potentially activated by a monoclonal antibody galactosidase conjugate (part 1) // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 1992. – T. 2, № 9. – C. 1093–1096.
219. Florent J.-C., Dong X., Gaudel G., Mitaku S., Monneret C., Gesson J.-P., Jacquesy J.-C., Mondon M., Renoux B., Andrianomenjanahary S., Michel S., Koch M., Tillequin F., Gerken M., Czech J., Straub R. and Bosslet K. Prodrugs of Anthracyclines for Use in Antibody-Directed Enzyme Prodrug Therapy // *J. Med. Chem.* – 1998. – T. 41, № 19. – C. 3572–3581.

220. Fomichova E.V., Fedorova G.B., Potapova N.P. and Katrukha G.S. Isolation and identification of new anthracycline antibiotics, rubomycins F and H // *J Antibiot (Tokyo)*. – 1992. – T. 45, № 7. – C. 1185–1186.
221. Bosslet K., Czech J. and Hoffmann D. Tumor-selective prodrug activation by fusion protein-mediated catalysis // *Cancer Res.* – 1994. – T. 54, № 8. – C. 2151–2159.
222. Devalapally H., Navath R.S., Yenamandra V., Akkinapally R.R. and Devarakonda R.K. β -galactoside prodrugs of doxorubicin for application in antibody directed enzyme prodrug therapy/prodrug monotherapy // *Archives of Pharm. Res.* – 2007. – T. 30, № 6. – C. 723–732.
223. Roemhild K., Besse H.C., Wang B., Peña Q., Sun Q., Omata D., Ozbakir B., Bos C., Scheeren H.W., Storm G., Metselaar J.M., Yu H., Knüchel-Clarke R., Kiessling F., Moonen C.T.W., Deckers R., Shi Y. and Lammers T. Ultrasound-directed enzyme-prodrug therapy (UDEPT) using self-immolative doxorubicin derivatives // *Theranostics*. – 2022. – T. 12, № 10. – C. 4791–4801.
224. Grinda M., Clarhaut J., Renoux B., Tranoy-Opalinski I. and Papot S. A self-immolative dendritic glucuronide prodrug of doxorubicin // *Med. Chem. Commun.* – 2012. – T. 3, № 1. – C. 68–70.
225. Papot S., Combaud D. and Gesson J.-P. A new spacer group derived from arylmalonaldehydes for glucuronylated prodrugs // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 1998. – T. 8, № 18. – C. 2545–2548.
226. Garnier P., Wang X.-T., Robinson M.A., van Kasteren S., Perkins A.C., Frier M., Fairbanks A.J. and Davis B.G. Lectin-directed enzyme activated prodrug therapy (LEAPT): Synthesis and evaluation of rhamnose-capped prodrugs // *J Drug Target* - 2010. – T. 18, № 10. – C. 794–802.
227. Hay M.P., Wilson W.R. and Denny W.A. Nitroarylmethylcarbamate prodrugs of doxorubicin for use with nitroreductase gene-directed enzyme prodrug therapy // *Bioorg Med Chem.* – 2005. – T. 13, № 12. – C. 4043–4055.
228. Amir R.J., Popkov M., Lerner R.A., Barbas 3rd C.F. and Shabat D. Prodrug activation gated by a molecular "OR" logic trigger // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2005. – T. 44, № 28. – C. 4378–4381.
229. Niculescu-Duvaz I., Niculescu-Duvaz D., Friedlos F., Spooner R., Martin J., Marais R. and Springer C.J. Self-Immolative Anthracycline Prodrugs for Suicide Gene Therapy // *J. Med. Chem.* – 1999. – T. 42, № 13. – C. 2485–2489.
230. Wang S., Deng H., Huang P., Sun P., Huang X., Su Y., Zhu X., Shen J. and Yan D. Real-time self-tracking of an anticancer small molecule nanodrug based on colorful fluorescence variations // *RSC Advances*. – 2016. – T. 6, № 15. – C. 12472–12478.
231. Gorska K., Manicardi A., Barluenga S. and Winssinger N. DNA-templated release of functional molecules with an azide-reduction-triggered immolative linker // *Chem. Commun.* – 2011. – T. 15, № 47. – C. 4364–4366.
232. Gao X., Song Y., Shu X., Liu J., Sun J.Z., Liu B. and Tang B.Z. A unimolecular theranostic system with H₂O₂-specific response and AIE-activity for doxorubicin releasing and real-time tracking in living cells // *RSC Adv.* – 2018. – T. 8, № 20. – C. 10975–10979.
233. Dcona M.M., Yu Q., Capobianco J.A. and Hartman M.C.T. Near infrared light mediated release of doxorubicin using upconversion nanoparticles // *Chem. Commun.* – 2015. – T. 51, № 40. – C. 8477–8479.
234. Lamb B.M. and Barbas III C.F. Selective arylthiolane deprotection by singlet oxygen: a promising tool for sensors and prodrugs // *Chem. Commun.* – 2015. – T. 51, № 15. – C. 3196–3199.
235. Castañeda L., Maruani A., Schumacher F.F., Miranda E., Chudasama V., Chester K.A., Baker J.R., Smith M.E.B. and Caddick S. Acid-cleavable thiomaleamic acid linker for homogeneous antibody–drug conjugation // *Chem Commun (Camb)*. – 2013. – T. 49, № 74. – C. 8187–8189.

236. Liu H., Xie Y., Zhang Y., Cai Y., Li B., Mao H. and Yu R. CA4-loaded doxorubicin prodrug coating Fe₃O₄ nanoparticles for tumor combination therapy // *RSC Adv.* – 2016. – Т. 6, № 115. – С. 113933–113939.
237. Kasiotis K.M., Magiatis P., Pratsinis H., Skaltsounis A.-L., Abadji V., Charalambous A., Moutsatsou P. and Haroutounian S.A. Synthesis and biological evaluation of novel daunorubicin-estrogen conjugates // *Steroids.* – 2001. – Т. 66, № 10. – С. 785–791.
238. Патент № WO 2000056267 A2. Methods and compositions for the manufacture of c-3' and c-4' anthracycline antibiotics: опубли. 28.09.2000 / Priebe W., Fokt I., Przewloka T., Krawczyk M., Skibicki P., Gryniewicz G. and Perez-Soler R.
239. Brel V.K., Moiseeva A.A., Artyushin O.I., Anikina L.V. and Klemenkova Z.S. Simple methods of modification of daunorubicin on the daunosamine nitrogen atom // *Med. Chem. Res.* – 2021. – Т. 30. – С. 564–573.
240. Патент № FI 93220 C. Process for the preparation of novel cytostatic-acting anthracycline derivatives: опубли. 30.11.1994 / Hermentin P., Kolar C., Gerken M., Kraemer H.P., Hoffmann D., Raab E. and Stache U.
241. Поваров Л.С. Полусинтетические производные противоопухолевых антибиотиков-антрациклинов // *Успехи биологической химии.* – 1982. – Т. 22. – С. 225–243.
242. Патент № EP 0226173 A1. Neue Anthracycline und diese enthaltende Arzneimittel: опубли. 24.06.1987 / Gesson J.-P., Mondon M., Jacquesy J.-C. and Dr. Kraemer, H.P
243. Acton E.M., Tong G.L., Taylor D.L., Streeter D.G., Filppi J.A. and Wolgemuth R.L. N-(Cyanomethyl)- and N-(2-methoxy-1-cyanoethyl)anthracyclines and related carboxyl derivatives // *J Med. Chem.* – 1986. – Т. 29, № 10. – С. 2074–2079.
244. Bargiotti, A., Caruso, M., Faiardi, D., Suarato, A., and Mongelli, N., Patent US5496808A, 1996-03-5.
245. Traganos F., Israel M., Silber R., Seshadri R., Kirschenbaum S., and Potmesil M. Effects of New N-Alkyl Analogues of Adriamycin on in Vitro Survival and Cell Cycle Progression of L1210 Cells // *Cancer Res.* – 1985. – Т. 45, № 12. – С. 6273–6279.
246. Chaires J.B., Leng F., Przewloka T., Fokt I., Ling Y.-H., Perez-Soler R. and Priebe W. Structure-Based Design of a New Bisintercalating Anthracycline Antibiotic // *J. Med. Chem.* – 1997. – Т. 40, № 3. – С. 261–266.
247. Zheng M., Priebe W., Walch E. T., Roth K. G., Han M., Tang C.-H., Lee S., Poindexter N. J., Fokt I., and Grimm E. A. WP760, a melanoma selective drug // *Cancer Chemother Pharmacol* – 2007. – Т. 60, – С. 625–633.
248. Czerwinski A., Konig W.A., Martelli S., Sowinski P., Bontemps-Gracz M., Mohringer C., Kolodziejczyk P. and Borowski E. Synthesis of new 7 ν -alkyl daunorubicin derivatives via michael addition to substituted maleimides // *J. Antibiotics.* – 1987. – Т. 40, № 7. – С. 1067–1070.
249. Schweitzer B.A., Egholm M. and Koch T.H. Mechanistic Studies of the Reduction of Daunomycin with Sodium Borohydride. Formation and Reaction of Borate Esters // *JACS.* – 1992. – Т. 114, № 1. – С. 242–248.
250. Tong G.L., Wu H.Y., Smith T.H. and Henry D.W. Adriamycin Analogues. 3. Synthesis of N-Alkylated Anthracyclines with Enhanced Efficacy and Reduced Cardiotoxicity // *J. Med. Chem.* – 1979. – Т. 22, № 8. – С. 912–918.
251. Патент № US 4250303 A. N-Benzyl anthracyclines: опубли. 10.02.1981 / Wu H.Y., Smith T.H. and Henry D.W.
252. Gumpert J., Dornberger K. and Smith T.H. Antimicrobial activities of daunorubicin and adriamycin derivatives on bacterial and protoplast type L-form cells of *Bacillus subtilis* 170,

- Escherichia coli B, and Proteus mirabilis VI. Structure--activity relationship // *Z. Allg. Mikrobiol.* - 1982. – Т. 22, № 10. – С. 687–692.
253. Steinhorst U.H., Chen E.P., Freedman S.F., Machemer R. and Hatchell D.L. Growth inhibition of human Tenon's capsule fibroblasts and rabbit dermal fibroblasts with non-carcinogenic N-alkylated anthracyclines // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 1994. – Т. 232, № 6. – С. 347–354.
254. Artyushin O.I., Sharova E.V., Vinogradova N.M., Genkina G.K., Moiseeva A.A., Khodak A. A. and Brel V.K. Synthesis of New Daunorubicin N-Derivatives by One-Step Reductive Amination // *Rus. J. Gen. Chem.* – 2017. – Т. 87, № 6. – С. 1323–1326.
255. Патент № RU 2704326 С1. N-метоксибензильные производные даунорубицина, обладающие антипролиферативными свойствами: опубл. 28.10.2019 / Артюшин О.И., Моисеева А.А., Брель В.К. и Аникина, Л. В.
256. Artyushina O.I., Brel V.K. and Moiseeva A.A. Synthesis of Daunorubicin Piperonal Derivatives by One-Step Reductive Amination // *Moscow University Chem. Bull.* – 2020. – Т. 75. – С. 106–109.
257. Sharova E.V., Artyushin O.I., Vinogradova N.V., Genkina G.K. and Brel V.K. Synthesis of hybrid compounds composed of daunorubicin covalently linked with Cp₂Fe and CpMn(CO)₃ // *Mendeleev Comm.* – 2017. – Т. 27. – С. 608–609.
258. Патент № JP H05170783 A. N-Pyridine derivatives of anthracycline antibiotics: опубл. 09.07.1993 / Yamabe S. and Miki T.
259. Jiang X.R., Newland A.C., Macey M.G., Jenkins G.C., Miki T., Adachi K. and Yamabe S. Evaluation of the in vitro antiproliferative properties of four novel anthracyclines YM1, 3, 4 and 6 in human leukemia cell lines // *J. Chemother.* – 1992. – Т. 4, № 5. – С. 306–311.
260. Cherif A. and Farquhar D. N-(5,5-diacetoxypent-1-yl)doxorubicin: a new intensely potent doxorubicin analog // *J. Med. Chem.* – 1992. – Т. 35, № 17. – С. 3208–3214.
261. Патент № US 4610977 A. N-alkyl and N-benzyl adriamycin derivatives: опубл. 09.09.1986 / Israel M. and Seshadri R.
262. Ghirmai S., Mume E., Tolmachev V. and Sjoberg S. Synthesis and radioiodination of some daunorubicin and doxorubicin derivatives // *Carbohydrate Res.* – 2005. – Т. 340, № 1. – С. 15–24.
263. Патент № US 20070258890 A1. Anthracycline Derivatives: опубл. 08.11.2007 / Edwards K., Sjoberg S., Carlsson J. and Gedda L.
264. Guerrant W., Patil V., Canzoneri J. C. and Oyelere A. K. Dual Targeting of Histone Deacetylase and Topoisomerase II with Novel Bifunctional Inhibitors // *J. Med. Chem.* – 2012. – Т. 55, № 4. – С. 1465–1477.
265. Zhao P., Jin S.-F., Lu J.-Z., Lv J.-L., Wu G.-Q., Chen P.-P., Tan C.-L. and Chen, D.-W. Novel porphyrin–daunomycin hybrids: Synthesis and preferential binding to G-quadruplexes over i-motif // *Spectrochimica Acta Part A: Mol. Biomol. Spectr.* – 2015. – Т. 137. – С. 227–235.
266. Olsufyeva E. N., Tevyashova A. N., Trestchalin I. D., Preobrazhenskaya M. N., Platt D., and Klyosov A. Synthesis and antitumor activity of new D-galactose-containing derivatives of doxorubicin // *Carbohydrate Res.* – 2003. – Т. 338. – С. 1359–1367.
267. Cassinelli G., Ballabio M., Arcamone F., Casazza A.M. and Podesta A. New anthracycline glycosides obtained by the nitrous acid deamination of daunorubicin, doxorubicin and their configurational analogues // *The Journal of Antibiotics.* – 1985. – Т. 38, № 7. – С. 856–867.
268. Патент № FR 2513255 A1. Anthracycline glycosides, process for their preparation and their use as a medicinal product: опубл. 25.03.1983 / Cassinelli G., Arcamone F. and Casazza A.M.
269. Fang L., Zhang G., Li C., Zheng X., Zhu L., Xiao J. J., Szakacs G., Nadas J., Chan K. K., Wang P. G., and Sun D. Discovery of a Daunorubicin Analogue That Exhibits Potent Antitumor Activity and Overcomes P-gp-Mediated Drug Resistance // *J. Med. Chem.* – 2006. – Т. 49, № 3. – С. 932–941.

270. Zhang G., Fang L., Zhu L., Zhong Y., Wang P. G. and Sun D. Syntheses and Biological Activities of 3 ϕ -Azido Disaccharide Analogues of Daunorubicin against Drug-Resistant Leukemia // *J. Med. Chem.* – 2006. – Т. 49, № 5. – С. 1792–1799.
271. Поваров Л.С., Бакина Е.В., Лажко Э.И., Орлова Г.И., Жукова О.С., Обидняк Н.А., Ярченко Н.Я., Глазкова Т.Ю. и Преображенская М.Н. Производные противоопухолевых антибиотиков ряда даунорубицина, содержащие остаток метилмочевины или нитрозометилмочевины // *Биорг. Хим.* – 1990. – Т. 16, № 4. – С. 559–567.
272. Preobrazhenskaya M.N., Bakina E.V., Povarov L.S., Lazhko E.I., Aleksandrova L.G., Balzarini J. and De Clercq E. Synthesis and cytostatic properties of daunorubicin derivatives, containing N-phenylthiourea or N-ethylthiourea moieties in the 3'-position // *J. Antibiot.* – 1991. – Т. 44, № 2. – С. 192–199.
273. Li S., Ma Y., Yue X., Cao Z. and Dai Z. One-pot construction of doxorubicin conjugated magnetic silica nanoparticles // *New J. Chem.* – 2009. – Т. 33, № 12. – С. 2414–2418.
274. Kim H.S., Yoon S., Son Y.J., Park Y., Jung Y. M. and Yoo H.S. High-yield clicking and dissociation of doxorubicin nanoclusters exhibiting differential cellular uptakes and imaging // *J. Control. Release.* – 2015. – Т. 217. – С. 64–73.
275. Wang X., Cai X., Hu J., Shao N., Wang F., Zhang Q., Xiao J. and Cheng Y. Glutathione-Triggered “Off–On” Release of Anticancer Drugs from Dendrimer-Encapsulated Gold Nanoparticles // *JACS.* – 2013. – Т. 135, № 26. – С. 9805–9810.
276. Darwish S., Sadeghiani N., Fong S., Mozaffari S., Hamidi P., Withana T., Yang S., Tiwari R.K. and Parang K. Synthesis and antiproliferative activities of doxorubicin thiol conjugates and doxorubicin-SS-cyclic peptide // *Eur. J. Med. Chem.* – 2019. – Т. 161. – С. 594–606.
277. Chaikomom K., Chattong S., Chaiya T., Tiwawech D., Sritana-Anant Y., Sereemasapun A. and Manotham K. Doxorubicin-conjugated dexamethasone induced MCF-7 apoptosis without entering the nucleus and able to overcome MDR-1-induced resistance // *Drug Design, Dev. Ther.* – 2018. – Т. 12. – С. 2361–2369.
278. Johansson K., Ito M., Schophuizen C.M.S., Thengumtharayil S.M., Heuser V.D., Zhang J., Shimoji M., Vahter M., Ang W.H., Dyson P.J., Shibata A., Shuto S., Ito Y., Abe H. and Morgenstern R. Characterization of New Potential Anticancer Drugs Designed To Overcome Glutathione Transferase Mediated Resistance // *Mol. Pharmaceutics.* – 2011. – Т. 8, № 5. – С. 1698–1708.
279. Tong G.L., Henry D.W. and Acton E.M. 5-Iminodaunorubicin. Reduced cardiotoxic properties in an antitumor anthracycline // *J. Med. Chem.* – 1979. – Т. 22, № 1. – С. 36–39.
280. Johnston J.B., Zwelling L.A., Kerrigan D., Lloyd L.S. and Glazer R. I. Comparison of dna scission and cytotoxicity produced by adriamycin and 5-iminodaunorubicin in human colon carcinoma cells // *Biochem. Pharmacol.* – 1983. – Т. 32, № 14. – С. 2255–2258.
281. Lown J.W., Chen H.-H., Plambeck J.A. and Acton E.M. Diminished superoxide anion generation by reduced 5-iminodaunorubicin relative to daunorubicin and the relationship to cardiotoxicity of the anthracycline antitumor agents // *Biochem Pharmacol.* – 1979. – Т. 28, № 17. – С. 2563–2568.
282. Kolodziejczyk P., Reszka K. and Lown J.W. Enzymatic oxidative activation of 5-iminodaunorubicin: Spectrophotometric and electron paramagnetic resonance studies // *Biochem Pharmacol.* – 1989. – Т. 38, № 5. – С. 803–809.
283. Andreoni A., Colasanti A., Malatesta V., Mastrocinque M., Roberti G. and Kisslinger A. Cell photosensitization by 5-iminodaunomycin activated with red light // *Biochim Biophys Acta.* – 1989. – Т. 1014, № 1. – С. 8–13.
284. Acton E.M. and Tong G.L. Synthesis and preliminary antitumor evaluation of 5-iminodoxorubicin // *J Med Chem.* – 1981. – Т. 24, № 6. – С. 669–673.

285. Acton E.M., Tong G.L., Mosher C.W. and Wolgemuth R.L. Intensely potent morpholinyl anthracyclines // *J Med Chem.* – 1984. – T. 27, № 5. – C. 638–645.
286. Frank N.E., Cusack B.J., Talley T.T., Walsh G.M. and Olson R.D. Comparative effects of doxorubicin and a doxorubicin analog, 13-deoxy, 5-iminodoxorubicin (GPX-150), on human topoisomerase II β activity and cardiac function in a chronic rabbit model // *Invest New Drugs.* – 2016. – T. 34, № 6. – C. 693–700.
287. Holstein S.A., Bigelow J.C., Olson R.D., Vestal R.E., Walsh G.M. and Hohl R.J. Phase I and pharmacokinetic study of the novel anthracycline derivative 5-imino-13-deoxydoxorubicin (GPX-150) in patients with advanced solid tumors // *Invest New Drugs.* – 2015. – T. 33, № 3. – C. 594–602.
288. van Tine B.A., Agulnik M., Olson R.D., Walsh G.M., Klausner A., Frank N.E., Talley T.T. and Milhem M.M. A phase II clinical study of 13-deoxy, 5-iminodoxorubicin (GPX-150) with metastatic and unresectable soft tissue sarcoma // *Cancer Medicine.* – 2019. – T. 8, № 6. – C. 2994–3003.
289. Gong G., Liu W. and Wang S. Self-assembled albumin nanoparticles as a nanocarrier for aclacinomycin A // *Nanotechnology.* – 2016. – T. 27, № 46. – C. 465602
290. Motohashi K., Takagi M. and Shin-ya K. Tetracenoquinocin and 5-Iminoaranciamycin from a Sponge-Derived Streptomyces sp. // *J. Nat. Prod.* – 2010. – T. 73, № 4. – C. 755–758.
291. Génot A., Florent J.-C. and Monneret C. Synthesis of 11-Methoxy Anthracyclines // *J. Carbohydrate Chem.* – 1991. – T. 10, № 1. – C. 91–95.
292. Stefańska B., Dzieduszycka M., Bontemps-Gracz M., Borowski E., and Martelli S. Synthesis and antileukemic activity of N-enamine derivatives of daunorubicin, 5-iminodaunorubicin, and doxorubicin // *J. Antibiot. (Tokyo)* – 1988. – T. 41, № 2. – C. 193–198.
293. Kleinrok Z., Chmielewska B., Chibowski D., Siezieniewska Z., Rajtar G. and Sawiniec Z. Comparison of pharmacological properties of rubidomycine and its newly synthesized derivatives DR-22 and DR-27 in animals // *Acta Physiol Pol.* – 1987. – T. 38, № 5. – C. 386–400.
294. Wong C.-M., Mi A.-Q., Ren J., Haque W. and Marat K. Heteroanthracyclines. III: 6,7,11-tri-O-methyl-4-demethoxy-12-sulfonodaunomycinone [6,10,11-trimethoxy-8-hydroxy-8-acetyl-7,8,9,10-tetrahydrobenzo(B)-thioxanthen-12-one-5-dioxide] // *T.* – 1984. – T. 40, № 22. – C. 4789–4793.
295. Патент № EP 0269339 A2. Суффо- и Суффо-Аналоге вон Дауномыцин и Адриамыцин: опубл. 01.06.1988 / Wong C.M.
296. Патент № US 5348946 A. Heteroanthracycline antitumor analogs: опубл. 20.09.1994 / Attardo G.G. and Belleau B.
297. Lown J.W. and Sondhi S.M. Glycosidic coupling of regiospecifically synthesized xantho[2,3-g]tetralin aglycones to afford antileukemic but redox inactive structures related to anthracyclines // *J. Org. Chem.* – 1985. – T. 50, № 9. – C. 1413–1418.
298. Cameron D.W., Feutrill G.I. and Griffiths P.G. 5-Deoxy, 12-Deoxy, 5,12-Bisdeoxy, and 4,5,12-Trisdeoxy Anthracyclines: Synthesis of New Analogues of Daunorubicin and Doxorubicin by Controlled Deoxygenation of the C-Ring // *Australian J Chem.* – 2000. – T. 53, № 1. – C. 25–40.
299. Cameron D.W., Feutrill G.I. and Griffiths P.G. 5-deoxyanthracyclines: New analogues of daunomycin and Adriamycin // *TL.* – 1988. – T. 29, № 36. – C. 4629–4630.
300. Cameron D.W. and Griffiths P.G. 12-Deoxy-, 5,12-bisdeoxy-, and 4,5,12-trisdeoxy-anthracyclines: New analogues related to daunorubicin and doxorubicin // *TL.* – 1993. – T. 34, № 29. – C. 4685–4688.
301. Tamura Y., Kirihara M., Sekihachi J., Okunaka R., Mohri S., Tsugoshi T., Akai S., Sasho M. and Kita Y. A new synthetic strategy for heteroanthracyclines: Total synthesis of D-ring thiophene analogs of daunomycin // *TL.* – 1987. – T. 28, № 34. – C. 3971–3974.

302. Kita Y., Kirihara M., Fujii Y., Okunaka R., Akai S., Maeda H. and Tamura Y. Synthetic anthracyclines: regiospecific total synthesis of a D-ring pyridine analogue of 11-deoxydaunomycin // *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* – 1990. – № 2. – С. 136–138.
303. Kita Y., Kirihara M., Fujii Y., Okunaka R., Akai S., Maeda H., Tamura Y., Shimooka K., Ohirishi H., and Ishida T. Synthetic Anthracyclines: Total Synthesis of D-Ring Pyridine and Pyrazine Analogues of 11-Deoxydaunomycin // *Chem. Pharm. Bull.* – 1991. – Т. 39, № 4. – С. 857–864.
304. Kita Y., Kirihara M., Sasho M., Fujii Y., Sekihachi J., Okunaka R., Tamura Y. and Shimooka K. Synthetic Anthracyclines : Regiospecific Total Synthesis of a D-Ring Indole Analogue of Daunomycin // *Chem. Pharm. Bull.* – 1990. – Т. 38, № 3. – С. 585–589.
305. Tamura, Y., Kirihara M., Sasho M., Akai S., Sekihachi J.-I., Okunaka R. and Kita Y. Total synthesis of a D-ring indole analogue of daunomycin // *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* – 1987. – № 19. – С. 1474–1476.
306. Di Marco A., Casazza A.M., Soranzo C. and Pratesi G. Effect of various substitutions in positions 1, 2, 3, and 4 of 4-demethoxydaunorubicin and 4-demethoxyadriamycin // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 1978. – Т. 1, № 4. – С. 249–254.
307. Irvine R.W., Kinloch S.A., McCormick A.S., Russell R.A. and Warrener R.N. Anthracyclines XVII: The synthesis of 2 - fluoro and 3 - fluoro -4-demethoxydaunomycin // *Tetrahedron.* – 1988. – Т. 44, № 14. – С. 4591–4604.
308. Morrow G. W., Swenton J. S., Filppi J. A. and Wolgemuth R. L. Synthesis of 1-fluoro-, 4-fluoro-, and 1,4-difluoro-4-demethoxydaunomycinone. Interesting D-ring analogs of adriamycin // *J. Org. Chem.* – 1987. – Т. 52, № 3. – С. 713–719.
309. Патент № US 5587495 A. 4-substituted anthracyclonones and anthracycline glycosides and the process for preparing them: опубли. 24.12.1996 / Cabri W., De Bernardinis S., Francalanci F. and Penco S.,
310. Патент № EP 0288268 B1. 4-Demethoxy-4-aminoanthracycline: опубли. 09.12 1992 / Caruso M., Suarato A., Angelucci F., Arcamone F., Caruso M., Suarato A., Angelucci F. and Arcamone F.
311. Патент № GB 1567456 A. Daunomycin derivatives: опубли. 14.05.1980 / Bernardi L., Masi P., Suarato A. and Arcamone F.
312. Патент № WO 1997033897 A1. Oligonucleotide-anthracycline and oligonucleotide-anthracyclinone conjugates: опубли. 18.09.1997 / Garbesi A.M., Bonazzi S., Zanella S., Capobianco M.L., Giannini G. and Arcamone F.
313. Wiley P.F., Elrod D.W. and Harper D.E. Chemical modification of steffimycin B // *The Journal of Antibiotics.* – 1988. – Т. 41, № 3. – С. 343–351.
314. Пухов, С.А. Новые антинеопласты на основе сесквитерпеновых лактонов девясила высокого: дис. на соиск. учен. степ. канд. хим. наук: 02.00.10 / Пухов Сергей Александрович; Ин-т. физиол. акт. веществ РАН. — Черноголовка, 2016. — 138 с.
315. Fischer, N. H., Olivier, E. J., Fischer, H. D. The Biogenesis and Chemistry of Sesquiterpene Lactones [Electronic resource] // *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* / ed. by W. Herz, H. Grisebach, G. W. Kirby. — Vol. 38. — Vienna : Springer, 1979. — P. 43–153.
316. Wu Q.-X., Shi Y.-A. and Jiaa Z.-J. Eudesmane sesquiterpenoids from the Asteraceae family // *Nat. Prod. Rep.* – 2006. – Т. 23, № 5. – С. 699–734.
317. Chu H., Smith J.M., Felding J., and Baran P.S. Scalable Synthesis of (-)-Thapsigargin // *ACS Cent. Sci.* – 2017. – Т. 3, № 1. – С. 47–51.

318. Amara Z., Bellamy J.F.B., Horvath R., Miller S.J., Beeby A., Burgard A., Rossen K., Poliakoff M. and George M.G. Applying green chemistry to the photochemical route to artemisinin // *Nature Chem.* – 2015. – Т. 7. – С. 489–495.
319. Ohta Y., Andersen N.H. and Liu C.-B. Sesquiterpene constituents of two liverworts of genus *diplophyllum*: Novel eudesmanolides and cytotoxicity studies for enantiomeric methylene lactones // *Tetrahedron.* – 1977. – Т. 33, № 6. – С. 617–628.
320. Klochkov S.G., Afanaséva S.V. and Pushin A.N. Acidic isomerization of alantolactone derivatives // *Chem. Nat. Compd.* – 2006. – Т. 42, № 4. – С. 400–406.
321. Brecht J. and Posth W. Ueber das Alantolacton (Helenin) // *Justus Liebigs Annalen der Chemie.* – 1895. – Т. 285, № 3. – С. 349–384.
322. Ruzicka L. and van Melsen J.A. Höhere Terpenverbindungen XLV. Zur Kenntnis des Alantolactons und des Iso-alantolactons // *Helvetica Chimica Acta.* – 1931. – Т. 14, № 1. – С. 397–410.
323. Kallen J. Ueber Helenin und Alantcampher // *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.* – 1876. – Т. 9, №1. – С. 154–157.
324. Kallen J. Ueber Helenin und Alantkampher // *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.* – 1873. – Т. 6, № 2. – С. 1506–1509.
325. Патент № SU 727646 А1. Способ получения алантолактона: опубл. 15.04.1980 / Плеханова Н.В., Луговская С.А. и Федорченко Г.П.
326. Патент № RU 2056856 С1. Способ получения средства, обладающего противоопухолевой активностью: опубл. 27.03.1996 / Евдошенко В.Г., Луговская С.А., Немальцев Ю.В. и Белова О.А.
327. Srivastava S.C., Paknikar S.K. and Bhattacharyya S.C. A Simple Procedure for the Regeneration of α -Methylene- γ -lactones from the Amine-adducts // *Ind. J. Chem.* – 1970. – Т. 8, № 2. – С. 201–202.
328. Ma Y.-Y., Zhao D.-G. and Gao K. Structural Investigation and Biological Activity of Sesquiterpene Lactones from the Traditional Chinese Herb *Inula racemosa* // *J. Nat. Prod.* – 2013. – Т. 76, № 4. – С. 564–570.
329. Hussain S. and Sharma M. Selective Oxygenation and Plant-Growth Regulatory Activity of Sesquiterpene Lactones // *J. Phys. Sci.* – 2010. – Т. 21, № 2. – С. 99–107.
330. De Marino S., Borbone N., Zollo F., Ianaro A., Di Meglio P. and Iorizzi M. New sesquiterpene lactones from *Laurus nobilis* leaves as inhibitors of nitric oxide production // *Planta Med.* – 2005. – Т. 71, – С. 706–710.
331. El-Feraly F.S. and Benigni D.A Sesquiterpene lactones of *Laurus nobilis* leaves // *J. Nat. Prod.* – 1980. – Т. 43, № 4. – С. 527–531.
332. El-Feraly F.S., and Chan Y.-M. Isolation and characterization of the sesquiterpene lactones costunolide, parthenolide, costunolide diepoxide, santamarine, and reynosin from *Magnolia grandiflora* L // *J. Pharm. Sci.* – 1978. – Т. 67, № 3. – С. 347–350.
333. Семаков А.В. и Клочков С.Г. Способы препаративного выделения изоалантолактона и алантолактона из корней девясила высокого // *Хим. раст. сырья.* – 2020. – № 3. – С. 145–154.
334. Toyota M., Koyama H., Mizutani M. and Asakawa Y. (–)-ent-spathulenol isolated from liverworts is an artefact // *Phytochemistry.* – 1996. – Т. 41, № 5. – С. 1347–1350.
335. Aponte J.C., Dillon J.T. and Huang Y. The unique liquid chromatographic properties of Group 11 transition metals for the separation of unsaturated organic compounds // *J. Sep. Sci.* – 2013. – Т. 36, № 16. – С. 2563–2570.
336. Yoshioka H., Renold W., Fischer N.H., Higo A. and Mabry T.J. Sesquiterpene lactones from *Ambrosia confertiflora* (Compositae) // *Phytochemistry.* – 1970. – Т. 9, № 4. – С. 823–832.

337. Coronado-Aceves E.W., Velázquez C., Robles-Zepeda R.E., Jiménez-Estrada M., Hernández-Martínez J., Gálvez-Ruiz J.C. and Garibay-Escobar A. Reynosin and santamarine: two sesquiterpene lactones from *Ambrosia confertiflora* with bactericidal activity against clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis* // *Pharmaceutical Biol.* – 2016. – Т. 54, № 11. – С. 2623–2628.
338. Semakov A.V., Anikina L.V. and Klochkov S.G. Synthesis and Cytotoxic Activity of the Products of Addition of Thiophenol to Sesquiterpene Lactones // *Russ. J. Bioogr. Chem.* – 2021. – Т. 47, № 4. – С. 906–917.
339. Lima P.D.D.B., Garcia M. and Rabi J.A. Selective Extraction of α -Methylene- γ -Lactones. Reinvestigation of *Vanillosmopsis erythropappa* // *J. Nat. Prod.* – 1985. – Т. 48, № 6. – С. 986–988.
340. Простой способ отделения липофильных сесквитерпеновых лактонов от липидов / Семаков А.В. // Химия и технология растительных веществ: Тезисы докладов XII Всероссийской научной конференции с международным участием и школой молодых ученых. — Киров, 2022. - С. 171
341. Sánchez-Viesca F. and Romo J. Estafiatin, a new sesquiterpene lactone isolated from *Artemisia mexicana* (Willd) // *Tetrahedron.* – 1963. – Т. 19, № 8. – С. 1285–1291.
342. Adekenov S.M., Mukhametzhanov M.N., Kagarlitskii A.D. and Turmukhambetov A.Zh. A chemical investigation of *Achillea nobilis* // *Chem. Nat. Comp.* – 1984. – Т. 20. – С. 568–571.
343. Trudymbekov K.M., Turmukhambetov A.Z., Adekenov S.M. and Struchkov Yu.T. Anolide — A new guaianolide from *Achillea nobilis* // *Chem. Nat. Comp.* – 1994. – Т. 30. – С. 460–463.
344. Turmukhambetov A.Zh., Buketova G.K., Gafurov N.M. and Adekenov S.M. Chrysartemin a and canin from *Achillea nobilis* // *Chem. Nat. Comp.* – 1999. – Т. 35. – С. 102.
345. Majdi M., Liu Q., Karimzadeh G., Malboobi M.A., Beekwilder J., Cankar K., de Vos R., Todorović S., Simonović A. and Bouwmeester H. Biosynthesis and localization of parthenolide in glandular trichomes of feverfew (*Tanacetum parthenium* L. Schulz Bip.) // *Phytochemistry.* – 2011. – Т. 72, № 14-15. – С. 1739–1750.
346. Bohlmann F. and Zdero C. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Tanacetum parthenium* // *Phytochemistry.* – 1982. – Т. 21, № 10. – С. 2543–2549.
347. Кагарлицкий А.Д., Адекенов С.М. и Куприянов А.Н., *Сесквитерпеновые лактоны растений Центрального Казахстана.* – Алма-Ата: Наука, 1987. – 240 с.
348. Suchý M., Benešová V., Herout V. and Šorm F. Contribution on the structure of cnicin, the bitter principle from *cnicus benedictus* L. // *TL.* – 1959. – Т. 1, № 10. – С. 5–9.
349. Nowak G., Drożdż B. and Georgiadis T. Sesquiterpene lactones. XXIX. Cnicin in species of the subgenus *Acrolophus* (Cass.) *Dobrocza* // *Acta Soc. Botan. Poloniae.* – 1984. – Т. 53, № 2. – С. 199–205.
350. Berger S. and Dieter S. *Classics in Spectroscopy: Isolation and Structure Elucidation of Natural Products.* – Weinheim: Wiley-VCH, 2009. – 645 p. ISBN 978-3-527-32516-0
351. Vanhaelen-Fastré R. and Vanhaelen M. Présence du saloniténolide dans *Cnicus benedictus* // *Planta medica.* – 1974. – Т. 26, № 8. – С. 375–379.
352. Коломиец Н.Э., Боев Р. С., Жалнина Л.В., Тихомирова В.А., Кашапов Д.Р., Бондарчук Р. А., Новожеева Т.П., Абрамец Н.Ю., Сафронов С.М. и Али А.К.Х. Химический состав и биологическая активность метаболитов видов рода *Arctium* L. // *Хим. раст. сырья.* – 2021. – № 2. – С. 29–57.
353. Савина А.А., Шейченко В.И., Стихин Ю.В., Стихин В.А., Сокольская Т.А., Анисимова О.С., Копытько Я.Ф., Гродницкая Е.И. и Черкасов О.А. Сесквитерпеновые лактоны сока из листьев лопуха большого // *Хим.-фарм. журн.* – 2006. – Т. 40, № 11. – С. 43–45.
354. Barbosa-Filho J.M., Costa M., Gomes C. and Trolin G. Isolation of Onopordopicrine, the Toxic Constituent of *Arctium Lappa* L. // *J. Brazilian Chem. Soc.* – 1993. – Т. 4, № 3. – С. 186–187.

355. Suzuki M., Iwasaki A., Suenaga K., and Kato-Noguchi H. Phytotoxic activity of crop residues from Burdock and an active substance // *J. Environmental Sci. and Health, Part B.* – 2019. – Т. 54, № 11. – С. 877–882.
356. Drożdż B., Holub M., Samek Z., Herout V. and Šorm F. On terpenes. CXCII. The constitution and absolute configuration of onopordopicrine - A sesquiterpenic lactone from *Onopordon acanthium* L. // *Collect. Czech. Chem. Commun.* – 1968. – Т. 33, № 6. – С. 1730–1737.
357. Tundis R., Statti G., Menichini F. and Monache F. D. Arctiin and onopordopicrin from *Carduus micropterus* ssp. *perspinosus* // *Fitoterapia.* – 2000. – Т. 71, № 5. – С. 600–601.
358. Lonergan G., Routsis E., Georgiadis T., Agelis G., Hondrelis J., Matsoukas J., Larsen L. K. and Caplan F.R. Isolation, Nmr Studies, and Biological Activities of Onopordopicrin from *Centaurea sonchifolia* // *J. Nat. Prod.* – 1992. – Т. 55, № 2. – С. 225–228.
359. Monjane J. A., Capusiri D., Giménez A. and Sterner O. Leishmanicidal activity of onopordopicrin isolated from the leaves of *Brachylaena discolor* // *Tropical J. Nat. Prod. Res.* – 2018. – Т. 2, № 7. – С. 328–331.
360. Адекенова, А.С. Отечественные стандартные образцы гроссгемина, цинаропикрина и гармина для контроля качества производства оригинальных лекарственных средств: дис. на соиск. учен. степ. докт. философии (PhD) / Адекенова Айгерим Сериковна; Карагандинский гос. мед. ун-т.— Караганда, 2016. — 143 с.
361. Ramos P.A.B., Guerra A.R., Guerreiro O., Freire C.S.R., Silva A.M.S., Duarte M.F. and Silvestre A.J.D. Lipophilic Extracts of *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* (DC): A Source of Valuable Bioactive Terpenic Compounds // *J. Agric. Food Chem.* – 2013. – Т. 61, № 35. – С. 8420–8429.
362. Rial C., Novaes P., Varela R.M., Molinillo J.M.G. and Macias F.A. Phytotoxicity of Cardoon (*Cynara cardunculus*) Allelochemicals on Standard Target Species and Weeds // *J. Agric. Food Chem.* – 2014. – Т. 62, № 28. – С. 6699–6706.
363. Dudko V.V. and Rybalko K.S. A sesquiterpene lactone from *Saussurea salicifolia* // *Chem. Nat. Comp.* – 1982. – Т. 18. – С. 497.
364. Погодин, И.С. Фармакогностическое изучение сосюреи горькой как источника биологически активных веществ: дис. на соиск. учен. степ. канд. фарм. наук: 14.04.02 / Погодин Илья Сергеевич; Омская гос. мед. акад. — Пермь, 2014. — 150 с.
365. Sovová H., Opletal L., Sajfrtová M., and Bártlová M. Supercritical fluid extraction of cynaropicrin and 20-hydroxyecdysone from *Leuzea carthamoides* DC // *J. Sep. Sci.* – 2008. – Т. 31, № 8. – С. 1387–1392.
366. Kaur B. and Kalsi P.S. Stereostructures of inunal and isoalloalantolactone, two biologically active sesquiterpene lactones from *Inula racemosa* // *Phytochemistry.* – 1985. – Т. 24, № 9. – С. 2007–2010.
367. Semakov A.V., Anikina L. V., Afanasyeva S.V., Pukhov S.A. and Klochkov S.G. Synthesis and Antiproliferative Activity of Conjugates of Anthracycline Antibiotics with Sesquiterpene Lactones of the Elecampane // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2018. – Т. 44, № 5. – С. 538–546.
368. Kaur D., Setia R., Chahal K. and Chhabra B.R. An Efficient Microwave Technique for exo- to endo-Double Bond Migration in Natural Products // *Ind. J. Chem.* – 2011. – Т. 50B. – С. 611–614.
369. Rekha R. // Chemical Transformations of Sesquiterpene Lactones by Conventional and Non-Conventional Methodologies and Their Evaluation as Agrochemicals // 2006, 248 pp., Ludhiana: Punjab Agricultural University // Диссертация
370. Puriwat J., Chaitree W., Suriye K., Dokjampa S., Praserttham P. and Panpranot J. Elucidation of the basicity dependence of 1-butene isomerization on MgO/Mg(OH)₂ catalysts // *Catalysis Comm.* – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 80–85.

371. Hideshi H., Kozo T., Kiyoharu H., Haruhisa S. and Takeshi M. Magnesium oxide as an effective catalyst for migration of exo-cyclic double bond // *Chem. Lett.* – 1979. – T. 9, № 2. – C. 133–134.
372. Ipatieff V.N., Pines H. and Schaad R.E. Isomerization of Normal Butenes // *JACS.* – 1934. – T. 56, № 12. – C. 2696–2698.
373. Hubert A. and Reimlinger H. The Isomerization of Olefins Part II. Thermal and Catalytic Isomerization of Olefins using Acids, Metals, Metal Complexes, or Boron Compounds as Catalysts // *Synthesis.* – 1970. – T. 1970, № 8. – C. 405–430.
374. Asinger F., Fell B. and Collin G. Über die Doppelbindungsisomerisierung bei höhermolekularen Olefinen, IV. Über den bindungsisomerisierenden Einfluß verschiedener Verbindungen auf n-Undecene // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 1963. – T. 96, № 3. – C. 716–735.
375. Kitagawa I., Shibuya H. and Fujioka H. Biogenetically Patterned Transformation of Eudesmanolide to Eremophilanolide. V. Studies on Stereochemical Factors for Favorable Conversion of 5 α , 6 α -Epoxy-eudesman-8 β , 12-olide leading to Eremophilane-type Derivatives // *Chem. Pharm. Bulletin.* – 1977. – T. 25, № 10. – C. 2718–2730.
376. Macaira L.A., Garcia M. and Rabi J.A. Chemical transformations of abundant natural products. 3. Modifications of eremanthin leading to other naturally occurring guaianolides // *J. Org. Chem.* – 1977. – T. 42, № 26. – C. 4207–4209.
377. Ikekawa N., Honma Y., Morisaki N. and Sakai K. Migration of the Double Bond in the Side Chain of Sterols with Iodine // *J. Org. Chem.* – 1970. – T. 35, № 12. – C. 4145–4148.
378. Kalsi S., Kaur G., Sharma S. and Talwar K.K. Dehydrocostuslactone and plant growth activity of derived guaianolides // *Phytochemistry.* – 1984. – T. 23, № 12. – C. 2855–2861.
379. Goößen L. J., Ohlmann D.M. and Dierker M. Silver triflate-catalysed synthesis of γ -lactones from fatty acids // *Green Chem.* – 2010. – T. 12. – C. 197–200.
380. Setia R.R., Kaur K., Mankala R. and Chhabra B.R. Chemical modifications of dehydrocostus lactone from *Saussurea lappa* and the study of structure-activity relationship // *Ind. J. Chem.* – 2007. – T. 46B, № 05. – C. 847–851.
381. Singh I.P., Talwar K.K., Arora J.K., Chhabra B.R. and Kalsi P.S. A biologically active guaianolide from *Saussurea lappa* // *Phytochemistry.* – 1992. – T. 31, № 7. – C. 2529–2531.
382. Devreese A.A., Demuynck M., De Clercq P.J. and Vandewalle M. Guaianolides. 2. total synthesis of (\pm)-compressanolide and (\pm)-estafiatin // *Tetrahedron.* – 1983. – T. 39, № 19. – C. 3049–3054.
383. Edgar M.T., Greene A.E. and Crabbe P. Stereoselective Synthesis of (-)-Estafiatin // *J. Org. Chem.* – 1979. – T. 44, № 1. – C. 159–160.
384. Bohlmann F., Kramp W., Gupta R. K., King R.M. and Robinson H. Four guaianolides and other constituents from three *kaunia* species // *Phytochemistry.* – 1981. – T. 20, № 10. – C. 2375–2378.
385. Geissman T.A. and Griffin T.S. Sesquiterpene lactones: Acid-catalysed color reactions as an aid in structure determination // *Phytochemistry.* – 1971. – T. 10, № 10. – C. 2475–2485.
386. Griffin T.S., Geissman T.A. and Winters T.E. The chemistry of a structurally diagnostic color reaction of xanthinin and related sesquiterpene lactones // *Phytochemistry.* – 1971. – T. 10, № 10. – C. 2487–2495.
387. Merkhately N., Abeuova S.B., Omarova A.T. and Balmagambetova L.T. Synthesis of guaian sesquiterpene γ -lactones from hanphilline // *Вестник Карагандинского университета.* – 2004. – T. 75, № 3. – C. 44–47.
388. Kaur, R. Chemistry of Sesquiterpenoids from *Inula racemosa* and their Evaluation as Pesticides: doctoral (PhD) thesis / Rajandeep Kaur; Punjab Agricultural University — Ludhiana, 2017. — 215 p.

389. Benešová V., Herout V. and Šorm F. On terpenes. CXXIV. Structure of telekin and isotelekin, new sesquiterpenic lactones from *Telekia speciosa* (SCHREB) BAUMG // *Coll. Czech. Chem. Comm.* – 1961. – T. 26, № 5. – C. 1350–1357.
390. Benešová V. and Herout V. On plant substances. XII. Neutral substances from *Telekia speciosa* (SCHREB) BAUMG. // *Collect. Czech. Chem. Commun.* – 1961. – T. 26, № 11. – C. 2916–2920.
391. Macias F. A., Galindo J. C. G., and Massanet G. M. Potential allelopathic activity of several sesquiterpene lactone models // *Phytochemistry*. – 1992. – T. 31, № 6. – C. 1969–1977.
392. Macias F.A., Galindo J.C.G., Castellano D. and Velasco R.F. Sesquiterpene Lactones with Potential Use as Natural Herbicide Models. 2. Guaianolides // *J. Agric. Food Chem.* – 2000. – T. 48, № 11. – C. 5288–5296.
393. Kitagawa I., Shibuya H. and Kawai M. Biogenetically Patterned Transformation of Eudesmanolide to Eremophilanolide. IV. Conversion of Alantolactone to Several Furanoeremophilane Derivatives // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. – 1977. – T. 25, № 10. – C. 2638–2643.
394. Рыбалко, К.С. *Природные сесквитерпеновые лактоны*. – М.: Медицина, 1978. ISBN отсутствует.
395. Mazur M., Gładkowski W., Podkowik M., Bania J., Nawrot J., Białońska A. and Wawrzęńczyk C. Lactones 43. New biologically active lactones: β -cyclocitral derivatives // *Pest. Manag. Sci.* – 2014. – T. 70, № 2. – C. 286–294.
396. Chaikovskii V.K., Skorokhodov V.I. and Filimonov V.D. Synthesis of N-Iodosuccinimide and Its Application in H_2SO_4 as Efficient Iodination Reagent for Deactivated Aromatic Compounds // *Russian J. Org. Chem.* – 2001. – T. 37. – C. 1503–1504.
397. Goyal R., Chhabra B.R. and Kalsi P.S. Three oxygenated alantolides from *Inula racemosa* // *Phytochem.* – 1990. – T. 29, № 7. – C. 2341–2343.
398. Klochkov S.G., Anan'ev I.V., Pukhov S.A. and Afanas'eva S.V. Molecular Structure of Epoxyalloalantolactone // *Chem. Nat. Comp.* – 2013. – T. 49. – C. 533–534.
399. Brady Jr. R.F. Cyclic acetals of ketoses : Part III. Re-investigation of the synthesis of the isomeric DI-O-isopropylidene- β -D-fructopyranoses // *Carbohydr. Res.* – 1970. – T. 15, № 1. – C. 35–40.
400. Wang Z.-X., Tu Y., Frohn M., Zhang J.-R., and Shi Y. An Efficient Catalytic Asymmetric Epoxidation Method // *JACS*. – 1997. – T. 119, № 46. – C. 11224–11235.
401. Bishopp S.D., Scott J. L. and Torrente-Murciano L. Insights into biphasic oxidations with hydrogen peroxide; towards scaling up // *Green Chem.* – 2014. – T. 16, № 6. – C. 3281–3285.
402. Venturello C., D'Aloisio R., Bart J.C.J. and Ricci M. A New peroxotungsten heteropoly anion with special oxidizing properties: synthesis and structure of tetrahexylammonium tetra(diperoxotungsto)phosphate(3-) // *J. Mol. Catalysis*. – 1985. – T. 32, № 1. – C. 107–110.
403. Tohma M., Tomita T. and Kimura M. Novel β -epoxidation of cholesterol and its analogs with ferric acetylacetonate and hydrogen peroxide // *TL*. – 1973. – T. 14, № 44. – C. 4359–4362.
404. Cantrell C.L., Nunez I.S., Castaneda-Acosta J., Foroozesh M., Fronczek F.R., Fischer N.H. and Franzblau S.G. Antimycobacterial Activities of Dehydrocostus Lactone and Its Oxidation Products // *J. Nat. Prod.* – 1998. – T. 61, № 10. – C. 1181–1186.
405. Vanhaelen-Fastré R. and Vanhaelen M. Activité antibiotique et cytotoxique de la cnicine et de ses produits d'hydrolyse // *Planta Medica*. – 1976. – T. 29, № 2. – C. 179–189.
406. Rosselli S., Maggio A.M., Raccuglia R.A., Morris-Natschke S.L., Bastow K.F., Lee K.-H. and Bruno M. Acid rearrangement of epoxy-germacranolides and absolute configuration of 1 β ,10 α -epoxy-salonitenolide // *Nat. Prod. Commun.* – 2010. – T. 5, № 5. – C. 675–680.

407. Cravotto G., Nano G.M., Binello A., Spagliardi P. and Seu G. Chemical and biological modification of cynaropicrin and grosheimin: a structure–bitterness relationship study // *J. Sci. of Food and Agriculture*. – 2005. – Т. 85, № 10. – С. 1757–1764.
408. Daniewski W., Wawrzun A., Bloszyk E., Drozd B. and Holub M. Sesquiterpenic lactones from *Grossheimia macrocephala*. Structure of grosheiminol // *Collect. Czech. Chem. Commun.* – 1982. – Т. 47, № 11. – С. 3160–3163.
409. Пухов С.А., Неганова М.Е., Аникина Л.В., Шевцова Е.Ф., Афанасьева С.В. и Клочков С.Г. Ингибирование роста клеток аденокарциномы молочной железы эпоксиалантолактоном и его производными // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – Т. 9, № 9. – С. 1988–1992.
410. Аникина Л.В., Семаков А.В., Афанасьева С.В., Пухов С.А. и Клочков С.Г. Синтез и антипролиферативная активность конъюгатов даунорубицина с сесквитерпеновыми лактонами // *Хим-фарм. журн.* – 2018. – Т. 52, № 4. – С. 23–26.
411. Modification Of Anthracycline Antibiotics With Natural Lactones / Semakov A.V., Anikina L.V., Afanasyeva S.V., Klochkov S.G. // Proceedings of international Research and Practice Conference «Achievements and prospects for the development of phytochemistry»: материалы конференции (Караганда, 10-11 апреля 2015 г). - Караганда: «Гласир», 2015. - С. 69
412. Семаков А.В., Аникина Л.В., Пухов С.А., Афанасьева С.В. и Клочков С.Г. Цитотоксичность конъюгатов даунорубицина с сесквитерпеновыми лактонам эвдесманового и гваянового типа // *Успехи молекулярной онкологии*. – 2018. – Т. 5, № 4. – С. 94.
413. Semakov A.V., Anikina L.V., Afanasyeva S.V., Pukhov S.A. и Klochkov S.G. Synthesis and Antiproliferative Activity of Conjugates of Anthracycline Antibiotics with Sesquiterpene Lactones of the Elecampane // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2018. – Т. 44. – С. 538–546.
414. Прозоровский В.Б. и Прозоровская М.П. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки // *Фармакол. и токсикол.* – 1978. – Т. 41, № 4. – С. 497–502.
415. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ: сборник статей. – 1973. – № 13. – С. 47–51.
416. Pukhov S.A., Semakov A.V., Globa A.A., Anikina L.V., Afanasyeva S.V., Yandulova E.Y., Aleksandrova Y.R., Neganova M.E. and Klochkov S.G. New Conjugates of Daunorubicin with Sesquiterpene Lactones and Their Biological Activity // *ChemistrySelect*. – 2021. – Т. 6, № 32. – С. 8446–8451.
417. Neganova M.E., Semakov A., Aleksandrova Y., Yandulova E., Pukhov S., Anikina L. and Klochkov S. N-alkylation of anthracycline antibiotics by natural sesquiterpene lactones as a way to obtain antitumor agents with reduced side effects // *Biomedicines*. – 2021. – Т. 9, № 5. – С. 547.
418. Терпеновые мономеры шеллака - нетоксичные строительные блоки для синтеза новых физиологически активных веществ / Пухов С.А. и Семаков А.В. // Химия и технология растительных веществ: Тезисы докладов XII Всероссийской научной конференции с международным участием и школой молодых ученых. — Киров, 2022. — С. 158
419. Мономеры шеллака - перспективные строительные блоки для синтеза новых физиологически активных веществ / Афанасьева С.В., Семаков С.А. и Клочков С.Г. // 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021»: материалы конференции (Волгоград, 16-20 мая 2022 г). - Волгоград: Волгоградский гос. мед. ун-т., 2022. - С. 294
420. Favre H.A. and Powell W.H. *Nomenclature of Organic Chemistry. IUPAC Recommendations and Preferred Names. 2013, IUPAC Blue book*. – Лондон: RSC Publishing, 2014. ISBN 978-0-85404-182-4

421. Sato T., Hara S., Sato M., Ogawa K., Adams M. and Usuki T. Synthesis of cynaropicrin-d4 // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* – 2015. – T. 25, № 23. – C. 5504–5507.
422. Samek Z., Holub M., Vokáč K., Droždž B., Jommi G., Gariboldi P. and Corbella A. On terpenes. CCXIX. The structure of grosheimin // *Collect. Czech. Chem. Commun.* – 1972. – T. 37, № 8. – C. 2611–2629.
423. Cho J.-Y., Jeong S.-J., Lee H. La, Park K.-H., Hwang D.Y., Park S.-Y., Lee Y.G., Moon J.-H. and Ham K.-S. Sesquiterpene lactones and scopoletins from *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. and their angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities // *Food Sci. Biotechnol.* – 2016. – T. 25, № 6. – C. 1701–1708.
424. Palacios-Espinosa J.F., Núñez-Aragón P.N., Gomez-Chang E., Linares E., Bye R. and Romero I. Anti-*Helicobacter pylori* Activity of *Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana* and Two of Its Bioactive Components, Estafiatin and Eupatilin // *Molecules.* – 2021. – T. 26, № 12. – C. 3654.
425. Rustaiyan A., Niknejad A., Zdero C. and Bohlmann F. A guaianolide from *Centaurea behen* // *Phytochemistry.* – 1981. – T. 20, № 10. – C. 2427–2429.
426. Barbetti P., Fardella G., Chiappini I., Scarcia V. and Candiani A.F. New cytotoxic selenoderivatives of guaianolides // *Eur. J. Med. Chem.* – 1989. – T. 24, № 3. – C. 299–306.