

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
НОВОСИБИРСКИЙ ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ИМ. Н.Н. ВОРОЖЦОВА
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

На правах рукописи



Цыпышев Дмитрий Олегович

**Монотерпен-кумариновые конъюгаты, соединенные гетероциклическим
линкером, перспективные биологически активные соединения**

1.4.3. Органическая химия (химические науки)

1.4.16. Медицинская химия (химические науки)

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор РАН

Волчо Константин Петрович

Новосибирск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|----|
| СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ | 4 |
| ВВЕДЕНИЕ | 6 |
| ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР | 13 |
| ПРЕНИЛИРОВАННЫЕ КУМАРИНЫ. ПРИРОДНЫЕ ИСТОЧНИКИ, СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ | 13 |
| 1.1 Кумарины. Пренилированные кумарины..... | 13 |
| 1.2 Природные источники кумаринов | 14 |
| 1.3 Биологическая активность пренилированных кумаринов | 18 |
| 1.3.1 Противоопухолевая активность | 18 |
| 1.3.2 Противовоспалительная активность..... | 21 |
| 1.3.3 Антимикробная активность (антибактериальная и противогрибковая) | 23 |
| 1.3.4 Противовирусная активность | 26 |
| 1.3.5 Противопаразитарная активность | 28 |
| 1.3.6 Антикоагулянтная активность производных кумарина | 29 |
| 1.3.7 Гипогликемическая активность производных кумарина | 31 |
| 1.4 Методы синтеза пренилированных кумаринов | 32 |
| 1.5 Заключение к литературному обзору | 35 |
| ГЛАВА 2. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ | 37 |
| Синтез монотерпен-кумариновых конъюгатов, соединенных гетероциклическим линкером | 37 |
| 2.1 Синтез триазол-содержащих производных 7-гидроксикумаринов и модифицированных терпенов | 39 |
| 2.2 Синтез конъюгатов кумаринов и монотерпеноидов, соединенных триазольным линкером | 42 |
| 2.3 Синтез конъюгатов кумаринов и монотерпеноидов с изоксазольным линкером..... | 45 |

| | |
|---|-----|
| ГЛАВА 3. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОНОТЕРПЕН-КУМАРИНОВЫХ КОНЬЮГАТОВ..... | 53 |
| 3.1 Противовирусные свойства «кумарин-терпеновых» конъюгатов в отношении PCB <i>in vitro</i> и <i>in silico</i> | 53 |
| 3.1.1 <i>In vitro</i> оценка противовирусных свойств производных 93-112 | 54 |
| 3.1.2 <i>In silico</i> оценка анти-PCB активности синтезированных триазол-связанных кумарин-терпеновых конъюгатов 93-112 | 59 |
| 3.1.3 Противовирусная активность дополнительной библиотеки соединений.. | 66 |
| 3.1.4 Анализ взаимосвязи «структура – анти-PCB активность» в ряду триазол- связанных кумарин-терпеновых конъюгатов 93-112, 121-124, 126-130, 136-147, и 149-152 | 73 |
| 3.2 Ингибирующая активность кумарин-терпеновых конъюгатов, связанных гетероциклическим линкером, в отношении фермента TDP1 | 76 |
| 3.2.1 Ингибирование фермента TDP1 <i>in vitro</i> | 77 |
| 3.2.2 Сравнительный анализ TDP1 ингибирующей способности новых конъюгатов и аналогов, синтезированных ранее | 85 |
| 3.2.3 Оценка липофильности монотерпен-кумариновых конъюгатов | 90 |
| ГЛАВА 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ..... | 93 |
| 4.1 Методики синтезов исходных соединений | 94 |
| 4.2 Общая методика синтеза триазолов 93-112, 121-130 | 99 |
| 4.3 Общая методика синтеза изоксазолов 136–147 | 118 |
| 4.4 Общая методика синтеза изоксазолов 149–152 | 123 |
| 4.5 Программы и методы..... | 126 |
| 4.5.1 Подготовка структур лигандов..... | 126 |
| 4.5.2 Подготовка протеинов | 126 |
| 4.5.3 Режим докинга лигандов..... | 126 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ..... | 128 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | 129 |

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

BHQ1 — Black Hole Quencher 1

COSY (Correlation spectroscopy) – Корреляционная спектроскопия

CuAAC (Copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition) – Медь-катализируемое азид-алкиновое циклоприсоединение

DBU — 1,8-диаза-бицикло[5.4.0]ундек-7-ен

DMF, ДМФА — N,N-диметилформамид

DMSO, ДМСО — диметилсульфоксид

DPP-IV — дипептидилпептидаза-4

EC₅₀ — полумаксимальная эффективная концентрация

FAM — 6-карбоксифлуоресцеин

HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) – Гетероядерная многосвязная корреляционная спектроскопия

HSQC (Heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy) – Гетероядерная одноквантовая корреляционная спектроскопия

IC₅₀ (полумаксимальная ингибирующая концентрация) — Концентрация исследуемого вещества, приводящая к 50%-ному снижению активности фермента

IPA — изопропанол

LD₅₀ — средняя полусмертельная доза

MIC — минимальная ингибирующая концентрация

MRSA — метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus*

mTOR — мишень рапамицина у млекопитающих

NBS — N-бромсукцинимид

NCS — N-хлорсукцинимид

NOESY (Nuclear Overhauser effect spectroscopy) – Ядерная спектроскопия с эффектом Оверхаузера

PARP1 — поли(АДФ-рибоза)полимераза 1

PCC — хлорохромат пиридиния

PDE4 — фосфодиэстераза 4

rt — комнатная температура

SI — индекс селективности

TI — терапевтический индекс

TDP1 — тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1

THF — тетрагидрофуран

TOP1 — топоизомераза 1

VKORC1 — субъединица 1 комплекса эпоксидредуктазы витамина К

ВИЧ — вирус иммунодефицита человека

ГТТ — глюкозотолерантный тест

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота

ЛПС — липополисахарид

МТТ-тест — колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток

РНК — рибонуклеиновая кислота

РСВ — респираторно-синцитиальный вирус

ТГФ — тетрагидрофуран

ЯМР — ядерный магнитный резонанс

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования. Природные соединения растительного происхождения традиционно применяются в народной медицине в виде экстрактов, а также входят в состав многих лекарственных средств [1]. Кумарины и монотерпены, получаемые из растительного сырья и других источников, являются важными исходными соединениями для разработки новых фармакологических агентов с широким спектром активности [2]. Терапевтическое действие природных и синтетических кумаринов определяется их строением и периферийным дизайном: они обладают антикоагулянтной, противоопухолевой, противовоспалительной, противомикробной, противовирусной и противопаразитарной активностями, способны регулировать процессы метаболических патологий, а также функционирование центральной нервной и сердечно-сосудистой систем [2]. Исследования зависимости биологической активности кумаринов и их синтетических производных от их строения в настоящее время активно развиваются. Пренилированные кумарины, в том числе сочетающие кумариновый и монотерпеновый фрагменты, проявляют противоопухолевую активность, а также обладают противовирусной активностью в отношении ВИЧ-1, РСВ типа А и В, вируса гриппа А H1N1 [2-9]. Ранее в НИОХ СО РАН было продемонстрировано, что монотерпен-кумариновые конъюгаты являются эффективными ингибиторами фермента тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 (TDP1) [3-5], важной мишени для противоопухолевой терапии, и способны блокировать репродукцию респираторно-синцитиального вируса (РСВ) [6-8].

Согласно статистическим данным, смертность от онкологических заболеваний занимает второе место после болезней сердечно-сосудистой системы, а число пациентов с онкологическими диагнозами ежегодно растёт, что обуславливает неутешительный прогноз по заболеваемости раком, как в России, так и в мире [10]. Несмотря на широкий перечень противоопухолевых средств, включая препараты, повреждающие ДНК раковых клеток, проблема их эффективности до сих пор остаётся нерешённой, в том числе из-за развития резистентности, например, вследствие повышенной активности систем репарации ДНК [11]. Так, активность таких препаратов, как топотекан и иринотекан (ингибиторы топоизомеразы I),

снижается из-за действия фермента TDP1, устраняющего эти повреждения, что снижает эффективность терапии [13].

В то же время острые респираторные вирусные инфекции являются основным жизнеугрожающим фактором для уязвимых пациентов – пожилых, детей и онкологических больных с пониженным иммунным статусом [13]. У детей младше двух лет основной причиной тяжёлых ОРВИ с госпитализацией, особенно в сезон эпидемий, является инфекция дыхательных путей, вызванная РСВ [13]. Эффективных методов лечения инфекции РСВ, а также этиотропных препаратов, не существует. Основные стратегии ограничиваются иммунизацией и симптоматической терапией [13]. Препарат рибавирин с широким спектром противовирусной активности активен и против РСВ, но не рекомендован к широкой клинической практике из-за недостаточной эффективности и высокого уровня токсичности [14]. Принимая во внимание остроту описанных ситуаций, включая необходимость введения в клиническую практику эффективных (и одновременно лишенных перечисленных выше недостатков) противоопухолевых и противовирусных лекарственных средств, поиск и разработка новых фармакологических агентов – ингибиторов TDP1 и ингибиторов репродукции РСВ, в том числе, и на основе природных соединений, приобретают особую значимость.

Учитывая установленные ранее ингибирующие свойства в отношении TDP1 монотерпен-кумариновых конъюгатов, их противовирусную активность в отношении РСВ, а также обнаруженные ограничения перспектив их использования, связанные, в том числе, с их высокой липофильностью и низкой селективностью действия, разработка методов синтеза монотерпен-кумариновых конъюгатов нового типа, соединенных гетероциклическими линкерами (1,2,3-триазольным или изоксазольным), изучение их активности в отношении РСВ и способности ингибировать фермент TDP1, а также влияния природы гетероциклического линкера и строения монотерпенового и кумаринового фрагментов на биологическую активность, представляют актуальные и практически важные задачи.

Соответствие паспорту специальности. Тема и содержание диссертационной работы соответствуют паспорту специальности **1.4.3. Органическая химия**, а именно – пунктам **1** «Выделение и очистка новых соединений», **3** «Развитие

рациональных путей синтеза сложных молекул», 7 «Выявление закономерностей типа «структура – свойство». Паспорту специальности **1.4.16. Медицинская химия**, а именно – пункту **1** «Поиск, структурный дизайн и синтез соединений-лидеров – потенциальных физиологически активных (лекарственных) веществ, на основе а) знания структурных параметров биомишени или особенностей патогенеза; б) анализа и модификации структур известных активных соединений; в) синтеза и биологического тестирования широкого разнообразия химических соединений».

Цель исследования: синтез новых потенциальных ингибиторов репродукции респираторно-синцитиального вируса (РСВ) и фермента репарации ДНК (TDP1) на основе кумаринов и функционализированных монотерпенов, соединенных посредством гетероциклического линкера.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

1. синтез стартовых 7-гидроксикумариновых блоков и их пропаргиловых эфиров;
2. синтез азидов и оксимов терпенового ряда – исходных соединений для диполярного [3+2] - циклоприсоединения азидов и нитрилоксидов к алкинам;
3. синтез конъюгатов пропаргиловых эфиров кумаринов с терпенами, связанных посредством 1,2,3-триазольного линкера;
4. синтез конъюгатов пропаргиловых эфиров кумаринов с терпенами, связанных посредством изоксазольного линкера;
5. выявление взаимосвязей «структура синтезированного соединения – противовирусная/ ингибирующая в отношении TDP1 активность».

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость. Впервые синтезированы монотерпен-кумариновые конъюгаты, соединённые 1,2,3-триазольными и изоксазольными гетероциклическими линкерами. Показано, что синтез изоксазол-связанных конъюгатов посредством [3+2]-диполярного циклоприсоединения с приемлемыми выходами возможен в случае оксимов бициклических или ароматических монотерпенов, а для оксимов ациклических терпенов реализован альтернативный маршрут синтеза, включающий стадию получения 5-хлорметилизоксазольных производных ациклических терпенов с последующим их присоединением к модифицированным 7-гидроксикумарином.

В ходе биологических исследований выявлено, что синтезированные монотерпен-кумариновые конъюгаты с триазольными линкерами проявляют выраженную противовирусную активность *in vitro* в отношении РСВ, демонстрируя высокие индексы селективности (SI, отношение цитотоксичной концентрации к активной) и действуя на ранней стадии заражения. Среди синтезированных производных найдены наиболее перспективные – триазол-связанные конъюгаты 3-гидрокси-7,8,9,10-тетрагидро-6*H*-бензо[*c*]хромен-6-она и 7-гидрокси-2,3-дигидроциклопента[*c*]хромен-4(1*H*)-она с 3,7-диметилוקта-2,6-диенильным и 3,7-диметилноктильным фрагментами, (индексы селективности 605 (РСВ А) и 1147 (РСВ В), соответственно). Методом молекулярного моделирования показано, что снижение значений IC₅₀ (от 4 до 57 раз) в случае с 7-гидрокси-3,7-диметилноктильными конъюгатами может быть обусловлено образованием дополнительных водородных связей с аминокислотой Ser398 активного сайта белка F РСВ.

Установлено, что изоксазол-связанные кумарин-монотерпеновые конъюгаты ингибируют активность фермента TDP1 в субмикромольном и нижнем микромольном диапазоне концентраций. Показано, что три соединения – триазол-связанные конъюгаты 7-гидрокси-2,3-дигидроциклопента[*c*]хромен-4(1*H*)-она с 3,7-диметилукта-2,6-диенильным и 7-гидрокси-4-(4-метоксифенил)-2*H*-хроменона с 3,7-диметилноктильным фрагментами, а также изоксазол-связанный конъюгат 7-гидрокси-4-фенил-2*H*-хроменона с 6,6-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-еновым (пиненовым) фрагментом увеличивают эффективность топотекана в отношении опухолевых клеток HeLa, усиливая его цитотоксический эффект, что подтверждает потенциал синтезированных соединений в качестве компонентов комбинированной противоопухолевой терапии. Анализ взаимосвязи «структура-активность» выявил, что природа линкера и монотерпенового остатка существенно влияют на биологические свойства соединений: конъюгаты с триазольным линкером проявляют выраженные анти-РСВ свойства, а с изоксазольным – TDP1 ингибирующую активность.

Методология и методы исследования. Методология исследования построена в соответствии с классическими принципами органической и медицинской химии и включает выбор исходных субстратов для химической модификации, получение

ряда структурно близких соединений с варьированием различных структурных параметров, нахождение взаимосвязи структуры исследуемых веществ с проявляемой ими активностью. В работе использовались физико-химические методы установления структуры и чистоты химических соединений: спектроскопия ядерного магнитного резонанса на ядрах ^1H , ^{13}C , в том числе с привлечением гетероядерных ^1H - ^{13}C и гомоядерных ^1H - ^1H корреляций, и масс-спектрометрия, включая масс-спектрометрию высокого разрешения. Также для полученных соединений определялись удельное вращение и температура плавления.

Положения, выносимые на защиту:

синтез библиотек кумарин-терпеновых конъюгатов, связанных 1,2,3-триазольным линкером;

синтез библиотек кумарин-терпеновых конъюгатов, связанных изоксазольным линкером;

взаимосвязь «структура-противовирусная активность» в ряду кумарин-терпеновых конъюгатов;

взаимосвязь «структура-ингибирующая активность относительно фермента TDP1» в ряду кумарин-терпеновых конъюгатов.

Степень достоверности обеспечена тщательностью проведения эксперимента и применением современных физико-химических методов установления строения полученных соединений. Структура соединений подтверждена данными ^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопии, в том числе с применением двумерных корреляционных спектров, масс-спектрометрии высокого разрешения, данными рентгеноструктурного анализа для некоторых соединений, чистота подтверждена данными ВЭЖХ. Достоверность результатов подтверждается независимой экспертизой опубликованных материалов в рецензируемых научных изданиях и апробацией на российских и международных конференциях.

Апробация работы. По материалам диссертации опубликованы 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ и индексируемых Web of Science и Scopus, получен 1 патент, опубликованы тезисы 7 докладов на конференциях. Результаты работы представлены на Всероссийской научной конференции с международным участием «Современные проблемы органической химии», Новосибирск, 12-14

сентября 2022 г; Марковниковских чтениях, Сочи, 16-21 сентября 2022 г; XXIV Международной конференции «Химия и химическая технология в XXI веке», Новосибирск, 15-19 мая 2023 г; Всероссийской научной конференции с международным участием «Современные проблемы органической химии», Новосибирск, 26-30 июня 2023 г; Российской конференции «МедХим-Россия 2024», г. Нижний Новгород, 01-04 июля 2024 г; Международной научно-практической конференции «Химия и химическая технология в XXI веке», г. Томск, 20-24 мая 2024 г; Всероссийской конференции «VI Всероссийская конференция по органической химии», Москва, 23-27 сент. 2024 г.

Личный вклад соискателя. Результаты, представленные в работе, получены автором или при его непосредственном участии. Личный вклад автора состоит в проведении экспериментов по синтезу стартовых кумаринов, производных монотерпеноидов, синтезе конъюгатов «кумарин-монотерпен», связанных 1,2,3-триазольными и изоксазольными линкерами, молекулярном моделировании взаимодействия части синтезированных соединений с активными сайтами белка FPCB и фермента TDP1, обработке экспериментальных результатов, анализе и интерпретации полученных данных, а также в подготовке научных статей к публикации, тезисов к докладам на конференциях (апробация работы) и в написании диссертационной работы. Работа выполнена в рамках государственного задания НИОХ СО РАН: (FWUE-2022-0007) и поддержана РФФ, проекты № 24-13-00134 (с 2024 по 2026) и № 21-13-00026 (с 2021 по 2023).

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность и признательность руководителю Отдела медицинской химии НИОХ СО РАН члену-корреспонденту РАН, д-ру хим. наук, проф. Салахутдинову Н.Ф. и главному научному сотруднику Лаборатории физиологически активных веществ д-ру хим. наук, проф. РАН Волчо К.П. за предоставленную возможность профессиональной реализации в области медицинской химии и необходимые в процессе выполнения диссертационного исследования консультации.

Автор благодарит всех сотрудников центра спектральных исследований НИОХ СО РАН за регистрацию и предоставление физико-химических экспериментальных данных. Также особую признательность автор выражает коллективу лаборатории биоорганической химии ферментов (заведующая лабораторией – Лаврик О.И.,

академик РАН, профессор, д-р. хим. наук) Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН и канд. хим. наук Захаренко А.Л., за проведение скрининга противоопухолевой активности синтезированных соединений, коллективу лаборатории химиотерапии вирусных инфекций НИИ гриппа им. Смородинцева под руководством канд. биол. наук Штро А.А. за оценку противовирусной активности синтезированных соединений, ведущему научному сотруднику лаборатории химической физики УФИХ УФИЦ РАН д-ру. хим. наук Борисевич С.С. за проведение *in silico* исследований части синтезированных соединений и помощь в их интерпретации, канд. хим. наук Хоменко Т.М. за помощь в постановке экспериментов, вед. инженера Комаровой Н.И. за проведение анализа синтезированных соединений методом ВЭЖХ, а также всему коллективу Лаборатории физиологически активных веществ за постоянную помощь и поддержку.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

ПРЕНИЛИРОВАННЫЕ КУМАРИНЫ. ПРИРОДНЫЕ ИСТОЧНИКИ, СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

1.1 Кумарины. Пренилированные кумарины

Кумарины представляют собой гетероциклические соединения, принадлежащие к классу бензопиранов, чаще всего, выделяемых из растительного сырья. Спектр биологической активности кумаринов очень широк: и сами кумарины и многочисленные их производные способны проявлять антикоагулянтные, антибактериальные, противовоспалительные, антиоксидантные, противоопухолевые, противовирусные и другие биологические свойства.

Кумарины разделяют на четыре структурных типа: простые кумарины, фуранокумарины, пиранокумарины и пиронзамещенные кумарины. К простым кумаринам относят их гидроксильные, алкоксильные и пренилированные производные. [15] На Рисунке 1 показаны некоторые представители простых кумаринов, включая собственно кумарин – соединение 1.

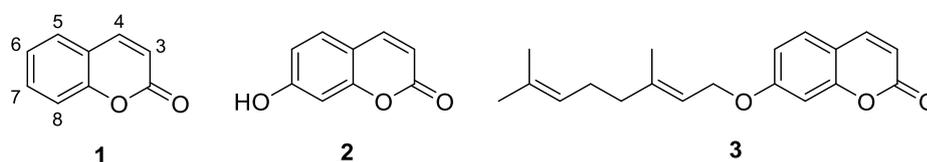


Рисунок 1 – Кумарин 1, умбеллиферон 2, и аураптен 3

Пренилированные кумарины, в общем случае – это кумарины, модифицированные по какому-либо положению остова изопреновым или монотерпеновым фрагментом (которые, в свою очередь, тоже могут быть модифицированы или соединены с кумариновым остовом через линкер).

Например, умбеллиферон 2 (7-гидроксикумарин, Рисунок 1) – кумарин доступный из растительного сырья, обладающий противовоспалительной, нейрофармакологической, противомикробной и противораковой активностью [16], легко может быть синтезирован посредством конденсации Пехмана. Умбеллиферон 2 является наиболее распространенным синтоном для синтеза других биологически

активных кумаринов. Аураптен **3** (Рисунок 1) – еще один природный биологически активный монотерпен-кумариновый эфир, типичный представитель пренилированных кумаринов; он проявляет противовоспалительные, антиоксидантные, антидиабетические, антигипертензивные, противораковые и нейропротекторные свойства. Кроме того, аураптен **3** способен модулировать внутриклеточные сигнальные пути, которые контролируют воспаление, рост клеток и апоптоз. [17]

1.2 Природные источники кумаринов

Упомянутый в разделе 1.1 аураптен **3** известен еще с первой половины XX века, впервые он был выделен из померанца (*Citrus aurantium*) в 1930 году [18]. Производные аураптена – пренилированные кумарины **4-6** (Рисунок 2) и их модифицированные аналоги, в том числе, по седьмому положению стартовой молекулы, были выделены из таких природных источников, как цветы ферулы Совича (*Ferula szowitziana*), листья гмелины древовидной (*Gmelina arborea*) и белой плесени (*Mucor polymorphosporus*), [19-21].

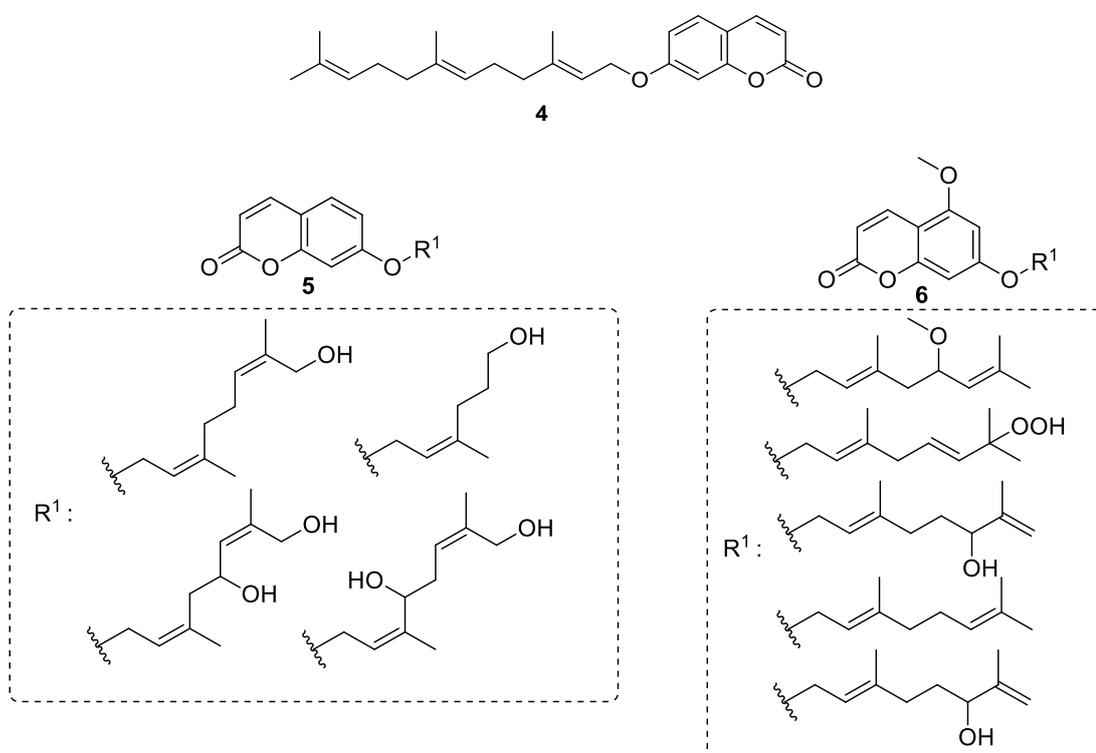


Рисунок 2 – *O*-Пренилированные кумарины, модифицированные по седьмому положению

Значительная часть известных природных кумаринов относится к структурной группе, которая содержит заместители в третьем или шестом положениях углеродного остова (соединения 7-9, Рисунок 3). Их основными продуцентами являются растения видов *Ferulago angulate* (ферульник), *Artocarpus heterophyllus* (индийское хлебное дерево), *Manilkara zapota* (саподилла, мыльное яблоко) [22-24].

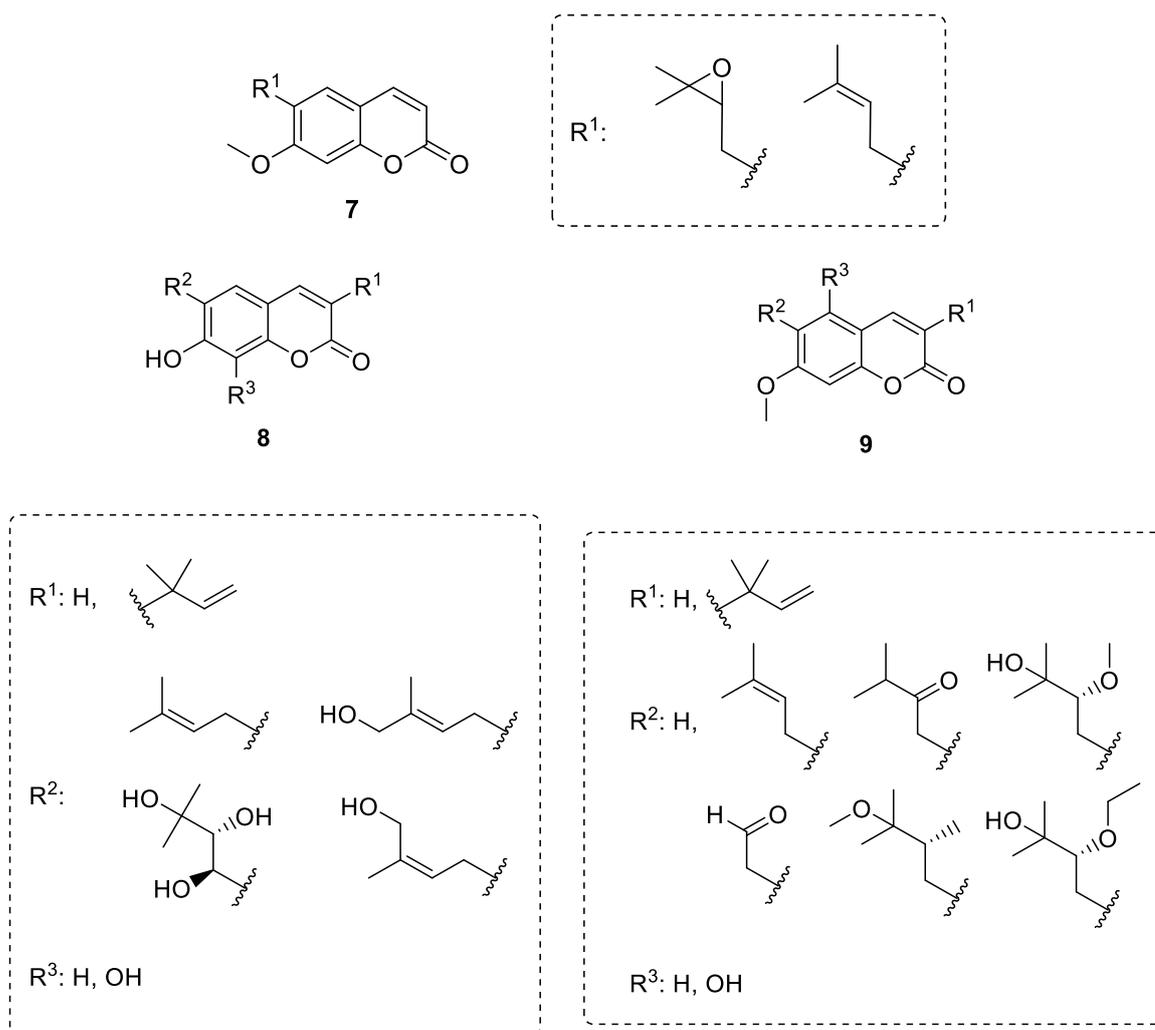


Рисунок 3 – Пренилированные кумарины, модифицированные по третьему и шестому положению

Из *Gmelina arborea* и *Prangos hulusii* (травянистое растение семейства зонтичных) выделены пренилированные кумарины 10-11, модифицированные по восьмому положению (Рисунок 4) [21,25-27].

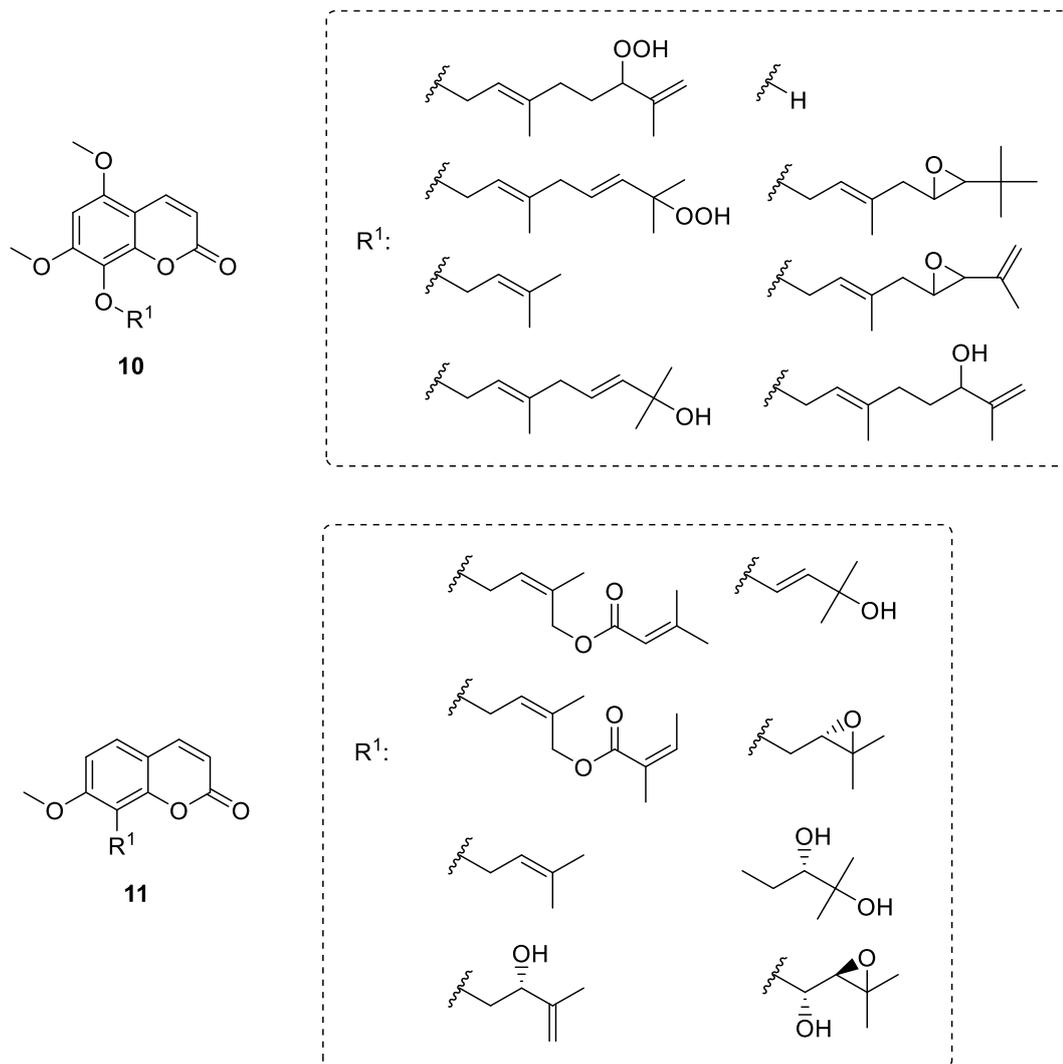


Рисунок 4 – Пренилированные кумарины, модифицированные по восьмому положению

Кумарины, содержащие заместители в четвертом или пятом положениях, в природе встречаются редко. Модификации этих положений, чаще всего, связаны с образованием новых циклов, как в случае с некоторыми пирано- и фуранокумаринами; редко в пятом положении кумаринового остова может встречаться гидроксильная или метоксильная группы (примером могут служить соединения 12-14, Рисунок 5).

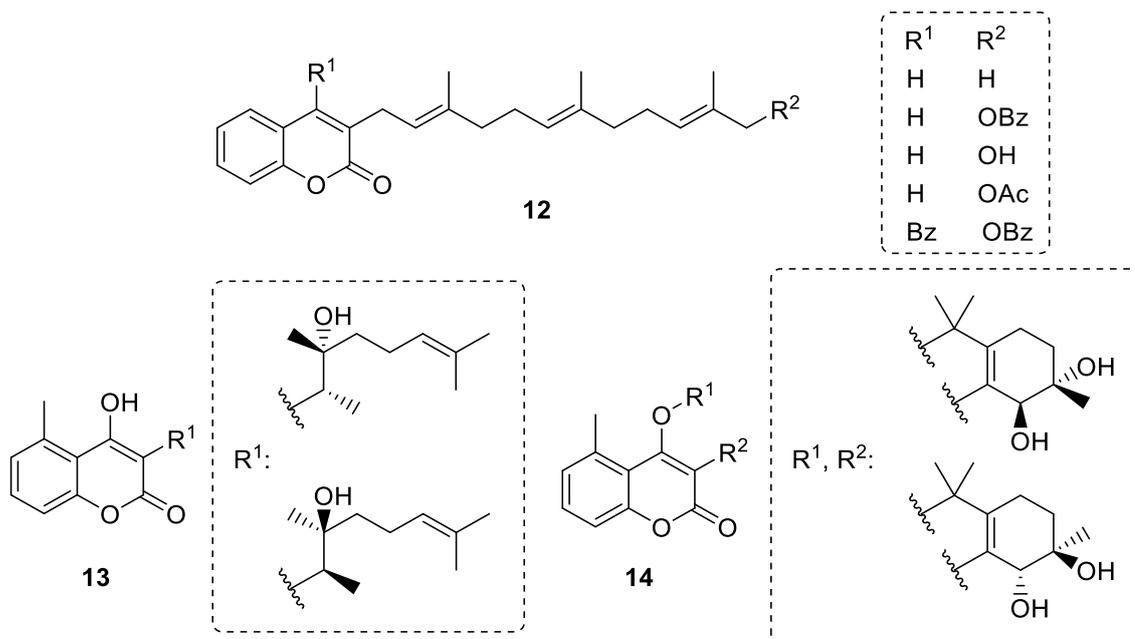


Рисунок 5 – Пренилированные кумарины, не являющиеся производными умбеллиферона

Однако, стоит отметить некоторые исключения – это кумарины, выделяемые из занзибарского абрикоса *Mammea neurophylla* и клаузены точечной *Clausena lansium* [28] (соединения **15-16**, Рисунок 6)

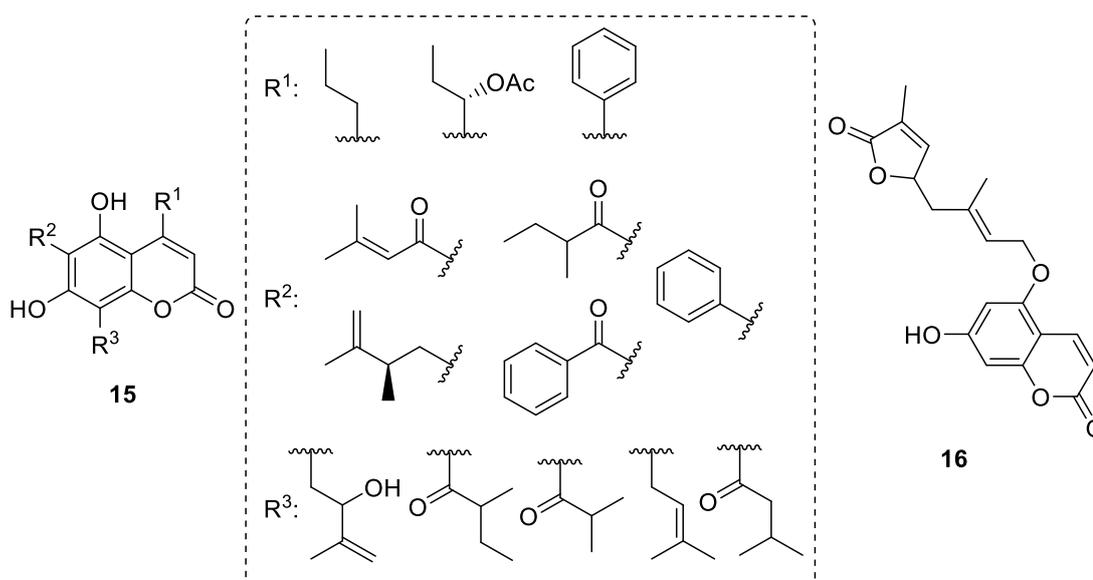


Рисунок 6 – Пренилированные кумарины с заместителями в четвертом и/или пятом положении

Пиранокумарины и фуранокумарины также разнообразны по своей структуре и проявляют широкий спектр биологической активности, что, безусловно, представляет отдельный интерес. Однако, подробный обзор свойств этих групп соединений выходит за рамки данного обзора, и производные пиранокумаринов и фуранокумаринов в нем рассматриваться не будут.

1.3 Биологическая активность пренилированных кумаринов

Биологическая активность пренилированных кумаринов (кумаринов, несущих изопреноидные боковые цепи) исключительно разнообразна, что связано с вариабельностью положения пренильного фрагмента и/или его структурными особенностями. Среди пренилированных кумаринов найдены соединения с противоопухолевыми, противовоспалительными, антибактериальными, противовирусными, противопаразитарными, антикоагулянтными и гипогликемическими свойствами.

1.3.1 Противоопухолевая активность

Представители структурной группы пренилированных кумаринов (Рисунки 7 и 8) проявляют, как химиопрофилактическую, так и прямую цитотоксическую активность. Так, *in vivo* в модели рака кожи у мышей [29] умбеллипренин **4** (0.0025% раствор в воде) значительно задерживал образование опухоли и снижал опухолевую нагрузку, действуя сопоставимо с куркумином (препарат сравнения). К 20-й неделе у группы мышей, получавших умбеллипренин **4**, образование папиллом было снижено на 45% по сравнению с контрольной группой.

Аураптен **3**, структурный аналог умбеллипренина, также обладает широким спектром противоопухолевой активности; согласно данным [30] он ингибировал рост клеток рака молочной железы MDA-MB-231 и MCF-7 (с IC_{50} 4.2 μ г/мл). Также, его применение тормозило рост клеток HT-29 (рак толстой кишки) и HT-116 (колоректальная карцинома), демонстрируя $\geq 50\%$ ингибирования при концентрациях ниже 10 μ м, что в случаях колоректального рака указывает на его перспективность в качестве противоопухолевого агента. Кроме того, аураптен **3** индуцировал апоптоз в клетках MGC-803 (рак желудка) с IC_{50} от 0.8 до 10.8 μ м за счет ингибирования серин-треониновой протеинкиназы mTOR.

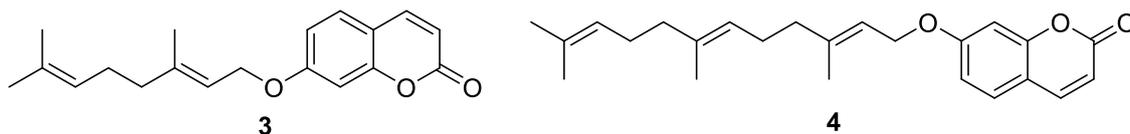


Рисунок 7 – Аураптен **3** и умбеллипренин **4**, проявляющие противоопухолевую активность

Также показано [19], что умбеллипренин **4** активирует протеазы апоптотического каскада, а именно – внутренние (CASP9, каспаза-9) и внешние (CASP8, каспаза-8) в клетках линии Jurkat (Т-клеточный лейкоз). В концентрации 50 μM (в 0.5% ДМСО) умбеллипренин способствует апоптозу 36% опухолевых клеток.

В то же время, гибридные соединения, сочетающие кумарины с терпеноидными фрагментами, активны в качестве хемосенсибилизаторов: конъюгаты 4-арилкумарина с монотерпенами оказались эффективным ингибиторами TDP1 (тирозил–ДНК фосфодиэстеразы I) со значениями медианных ингибирующих концентраций IC_{50} в субмикромольном диапазоне. Кроме того, они значительно повышали эффективность топотекана в отношении Top1 *in vivo* [3]. Примером может служить *O*-замещенный кумарин **17** с монотерпеноидным заместителем в 7 положении и ароматическим фрагментом в 4 положении (Рисунок 8), который эффективно ингибирова фермента TDP1 с $IC_{50} = 0.6 \mu\text{M}$, одновременно усиливая противоопухолевый эффект топотекана.

Способностью ингибировать фермент TDP1 [4] обладают и 7-*O*-замещенные гидроксикумарины, аннелированные по 3 и 4 положению с карбоциклами или содержащие в 4 положении метильную группу (Рисунок 8). В этой группе соединений лидируют конъюгаты с пиненовым фрагментом в седьмом положении, которые характеризуются самыми низкими ингибирующими концентрациями. Необходимо отметить, что конъюгаты с ароматическими заместителями в положении 7 оказались менее эффективными. Самое активное соединение – производное **18** (Рисунок 8) ингибирует фермент TDP1 с IC_{50} менее 0.7 μM . Кроме того, производные с пиненовым фрагментом заметно снижали токсическую концентрацию топотекана в клетках рака молочной железы MCF-7, одновременно

увеличивая его эффективность. 5-*O*-Терпенсодержащие кумарины с ароматическими заместителями в 3 положении и метильной группой в 4 положении также обладают активностью в отношении TDP1, ингибируя этот белок [5]. Так, в случае конъюгата **19** (Рисунок 8), содержащего фрагмент гераниола в пятом положении, значение IC₅₀ составляет 0.1 мМ. Также **19** усиливает цитотоксический эффект топотекана в клетках рака шейки матки (HeLa), не обладая токсичностью в отношении условно нормальных эмбриональных клеток почки человека HEK293A. Самые низкие ингибирующие концентрации были выявлены у конъюгатов с ациклическим заместителем в седьмом положении [5], что позволяет предположить, что конъюгация кумаринового остова с объемными гидрофобными фрагментами (по положениям С-3, С-4, С-5 или С-7) приводит к получению производных, склонных к синергетическому действию за счет ингибирования ферментов репарации ДНК и стимулирования гибели клеток, вызванной химиотерапией. Авторы [5] отмечают, что наличие терпенового ациклического или терпеноидного заместителя в молекуле ассоциируется с более высокой активностью конъюгатов; в то же время, конъюгаты с бициклическими терпенами в 7 положении не менее активны. Кроме того, введение *n*-фтор-фенильного фрагмента в третье или четвертое положение также приводит к уменьшению ингибирующей концентрации.

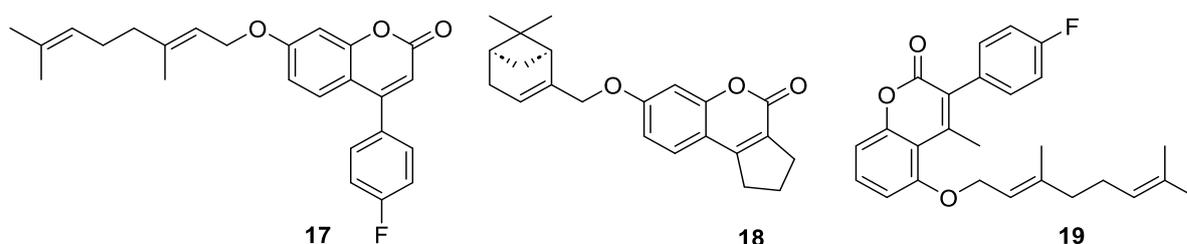


Рисунок 8 – Производные кумарина с монотерпеноидным заместителем, проявляющие противоопухолевую активность

Считается, что *O*-пренилирование кумаринов по С-7 приводит к усилению противоопухолевой активности – так, простые пренилированные по положению 7 кумарины, такие как аураптен и его 7-*O*-модифицированные аналоги с заместителями в 3 и 4 положении, являются согласно [3] эффективными противоопухолевыми агентами, а сесквитерпен-кумарины способны напрямую

запускать апоптоз (считается, что более длинные пренилированные фрагменты (C₁₀₋₁₅) усиливают противоопухолевые эффекты [3]).

1.3.2 Противовоспалительная активность

Одним из важных механизмов противовоспалительной активности является ингибирование фермента фосфодиэстеразы-4 (PDE4), которое повышает уровень клеточного цАМФ (циклического аденозинмонофосфата) и подавляет воспаление. Природные пренилированные кумарины (Рисунок 9), проявляющие активность в качестве ингибиторов PDE4, демонстрируют четкую зависимость «структура-активность» (SAR): так называемые «угловые» пиранокумарины с дополнительным кольцом (трициклические кумарины) и с немодифицированной пренильной боковой цепью оказались мощными ингибиторами PDE4 [31]. Например, толдакумалон **20**, содержащий два кумариновых звена и свободную пренильную группу, ингибирует PDE4D с IC₅₀ 0.1 мкМ. Из трициклических кумаринов наиболее активным было соединение **21** (значение его IC₅₀ составило 1.0 мкМ), в то время как соединения **22** и **23** проявили умеренную активность (значения их IC₅₀ превышали 10 мкМ). Наличие угловой трициклической системы согласно [32] является важным для ингибирования фосфодиэстеразы-4.

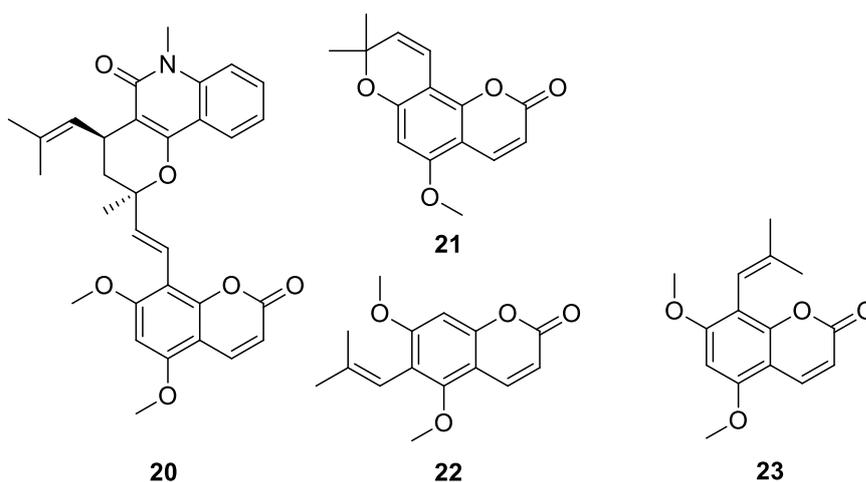


Рисунок 9 – Пренилированные аналоги кумарина с противовоспалительной активностью

Для некоторых пренилированных кумаринов установлена способность модулировать воспалительные клеточные реакции [25]: например,

пренилированные кумарины, выделенные из плодов мыльного яблока (*Manilkara zapota*), заметно ингибировали выработку оксида азота (NO) в липосахарид-активированных макрофагах [24]. Наиболее активное соединение (манизапотин А, **24**, Рисунок 10) подавляло выработку NO с IC₅₀ 0.7 мкМ, превосходя по своей активности препарат сравнения гидрокортизон (значение IC₅₀ препарата сравнения было почти в шесть раз выше и составляло 4.1 мкМ).

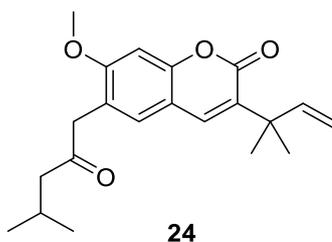


Рисунок 10 – Манизапотин А, обладающий способностью ингибировать продукцию оксида азота

Необходимо отметить, что в параллельном эксперименте кумарины *Manilkara zapota* не проявили цитотоксичности в установленных для ингибирования NO эффективных дозах, что указывает на прямой противовоспалительный эффект, а не на общую токсичность в рамках поставленного эксперимента. Согласно данным авторов [25] можно предположить, что противовоспалительная активность выделенных производных кумаринов связана с наличием специфических заместителей в кумариновом остове, например, с окисленной изопентенильной группой у С-6 и изопентенильной группой у С-3. Другими словами, кислородсодержащий пренильный заместитель у С-6 в сочетании с гидрофобными заместителями у С-3, могут считаться желательным сочетанием факторов, для проявления противовоспалительных свойств. Таким образом, «угловые» трициклические системы на основе кумаринов эффективны в отношении PDE4 [18], а кумарины с несколькими пренильными фрагментами (одно из которых может быть полярным или окисленным) представляются перспективными ингибиторами NO [31].

1.3.3 Антимикробная активность (антибактериальная и противогрибковая)

Для многих пренилированные кумарины выявлена высокая антимикробная активность, включая микобактерии, ответственные за туберкулез и родственные инфекции, и некоторых грамположительных бактерий.

Антимикобактериальная (противотуберкулезная) активность. Так, пренилированный 4-гидроксикумарин феруленол **25** (Рисунок 11), выделенный из *Ferula communis*, оказался эффективным противотуберкулезным средством [26]. Он ингибировал рост быстрорастущих микобактерий со значениями МИС 0.5 мкг/мл для *M. smegmatis* и 2 мкг/мл для *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. aurum*. Эти значения МИС сопоставимы, а в некоторых случаях превышают показатели противотуберкулезных препаратов сравнения, таких как этамбутол и изониазид.

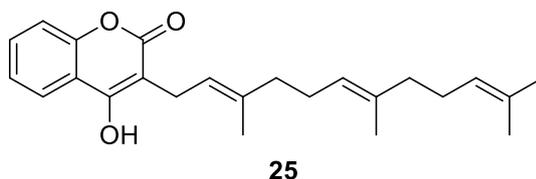
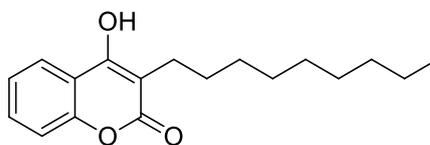


Рисунок 11 – Феруленол, проявляющий антимикобактериальную активность

Для аналогов феруленола было показано, что липофильный характер концевой пренильной цепи имеет решающее значение для его активности [25]: когда пренильный заместитель в феруленоле был модифицирован объемным бензоильным фрагментом, то новое производное сохранило значительную активность (его значения МИС составляли 2-16 мкг/мл для всех видов микобактерий, а против *M. phlei* – 2 мкг/мл). Предполагается, что объемная гидрофобная группа в конце изопреноидной цепи является желательной, возможно, способствуя проникновению молекулы в клетку, или связыванию с мишенью. Напротив, появление полярных групп в пренильном фрагменте заметно снижает антимикобактериальную эффективность: ω -гидрокси- и ω -ацетокси- производные были менее активны (их значения МИС составляли 8-64 мкг/мл). Интересно отметить, что насыщенный аналог – 3-нонил-4-гидроксикумарин **26** (Рисунок 12), проявляет умеренную активность с МИС 3.5 мкг/мл в отношении *M. Fortuitum*, что позволяет предположить, что природа

гидрофобной цепи (наличие/отсутствие двойных связей и/или разветвлений) менее важна, чем общая липофильность молекулы [25].



26

Рисунок 12 – 3-Нонил-4-гидроксикумарин, обладающий антимикобактериальной активностью

Таким образом, в соответствии с данными авторов [25] для антимикобактериального действия пренилированных кумаринов длинная неполярная цепь у С-3 является обязательным фактором, тогда как гидрофильные модификации в этой цепи могут снизить активность производного в целом. Также необходимо отметить, что сам феруленол – с его оптимальным балансом длины изопренового фрагмента и гидрофобности, не только эффективен в отношении микобактерий, но и обладает низкой острой токсичностью (его LD₅₀ составляет 2.1 г/кг, мыши, пероральное введение), что подчеркивает его перспективность в качестве эффективного антитуберкулезного средства, при условии контроля его антикоагулирующего действия.

Другие типы антибактериальной активности. Пренилированные кумарины, выделяемые из зонтичных растений рода *Prangos* продемонстрировали широкий спектр противомикробного действия согласно [25]. 4'-Сенециоилоксиостол **27** (Рисунок 13), кумарин, выделенный из *Prangos hulusii*, подавлял рост *Bacillus subtilis* с MIC 5 мкг/мл. Для сравнения, остол **28** был менее активен (его MIC 16 мкг/мл против MRSA и 125 мкг/мл против *B. subtilis*). Предположительно, модификация прениловой цепи в восьмом положении (в данном примере - этерификация) приводит к повышению противомикробной активности в отношении грамположительных бактерий. Другой кумарин, изоимператорин **29**, показал специфическую эффективность против MRSA [25] с MIC 16 мкг/мл, аналогично остолу **28** (рисунок 13). Предполагается [26], что важную роль в наличии

активности играет положение гидрофобной пренильной цепи относительно горизонтального сечения молекулы, а не абсолютного положения (дело в том, что 5 и 8 положение накладываются друг на друга при повороте молекулы вокруг данной оси).

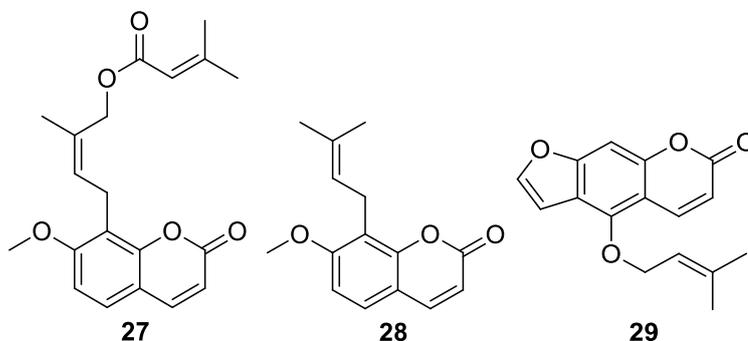


Рисунок 13 – Пренилированные производные кумарина с антибактериальной активностью

Между тем, мурраол **30** и аураптенол **31** (Рисунок 14) показали умеренную активность (значени их MIC ~ 63 мкг/мл) в отношении *B. Subtilis*, и не были активны в отношении MRSA.

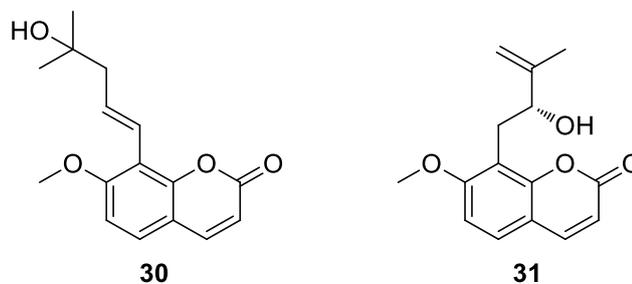


Рисунок 14 – Мурраол и аураптенол, активные в отношении *B. Subtilis*.

Несмотря на отсутствие строгих доказательств, можно допустить, что положение пренильного фрагмента в кумарин-терпеновых конъюгатах (пренилированные по 8 положению кумарины проявляют более выраженные антибактериальные свойства, чем 5-замещенные), как и его функционализация, являются факторами, способными модулировать их активность (как в сторону

увеличения, так и в сторону уменьшения) в отношении перечисленных штаммов микроорганизмов.

1.3.4 Противовирусная активность

Часть природных пренилированных кумаринов обладают выраженными противовирусными свойствами. Так, упомянутые ранее кумарины мыльного яблока *Manilkara zapota* проявляли не только противовоспалительные свойства, но и ингибировали обратную транскриптазу ВИЧ-1 (соединения **32-38**, Рисунок 15) [31].

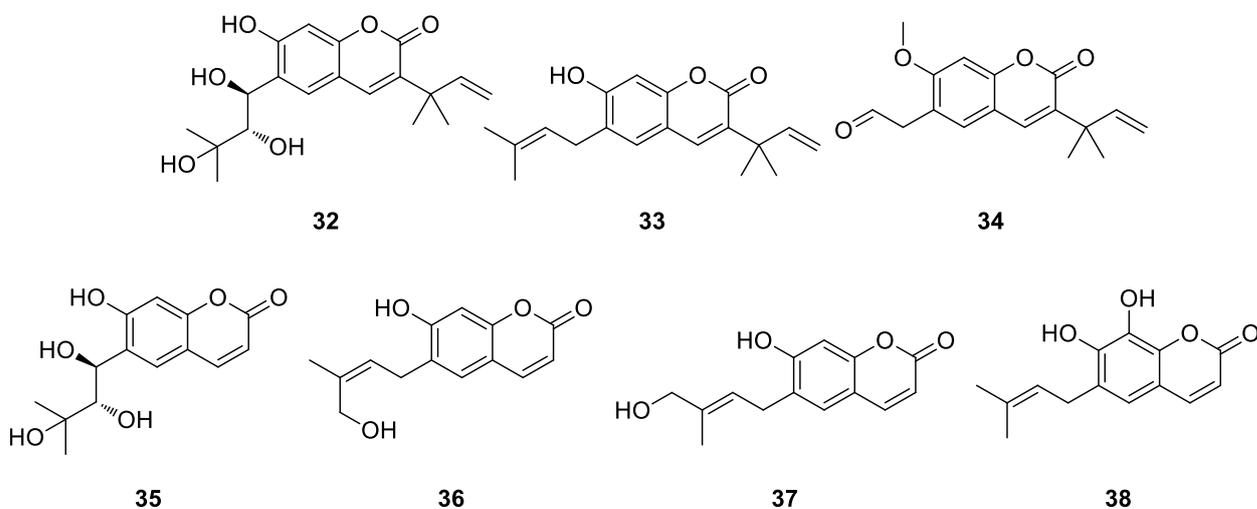


Рисунок 15 – Кумарины с анти-ВИЧ активностью

Значение EC_{50} наиболее активного соединения **32** составило $0.12 \mu\text{M}$ в отношении обратной транскриптазы (RT) ВИЧ-1; терапевтический индекс **32** очень высок ($TI > 1660$). Несколько других пренилированных кумаринов из этой серии проявляли анти-ВИЧ активность с EC_{50} до $8.7 \mu\text{M}$. Критически важным для проявления субмикромольной анти-ВИЧ активности оказалось наличие пренильного фрагмента в 3 положении (например, в соединениях **32-34**), так как в его отсутствие активность падала на порядок – соединения **35-38** обладают меньшей активностью [6].

Репродукцию респираторно-синцитиального вируса (РСВ) эффективно ингибируют *O*-7-монотерпензамещенные кумарины, аннелированные по 3 и 4 положению с циклогексановым фрагментом [7]. Соединение **39** (Рисунок 16)

ингибировало РСВ подтипа А с IC_{50} равным $0.57 \mu\text{M}$, его индекс селективности (SI) составил 90; в отношении РСВ подтипа В IC_{50} для **39** равнялся $0.6 \mu\text{M}$, а $SI = 85.2$. В то же время, конъюгат **18** ингибировал РСВ А с $IC_{50} = 4.1 \mu\text{M}$ ($SI = 100$) и РСВ В с $IC_{50} = 5.1$ ($SI = 81.6$). Для соединения **40** значение IC_{50} составило $5.1 \mu\text{M}$ против РСВ А ($SI = 77$), активность **40** против РСВ В характеризовалась $IC_{50} = 4.9$ ($SI = 78.2$).

Среди производных кумаринов, несущих фенильный фрагмент в положении 4, и *O*-монотерпеновый остаток, наибольшую активность проявили конъюгаты с пиненовым фрагментом с различными линкерами [8] (Рисунок 16). Для соединения-лидера **41** значение EC_{50} составило $7.5 \mu\text{M}$, а индекс селективности был равен 200. Согласно литературным данным [7], наиболее вероятной мишенью для соединений этого ряда является белок слияния F РСВ, что подтверждается результатами *in silico* исследований и биологических экспериментов.

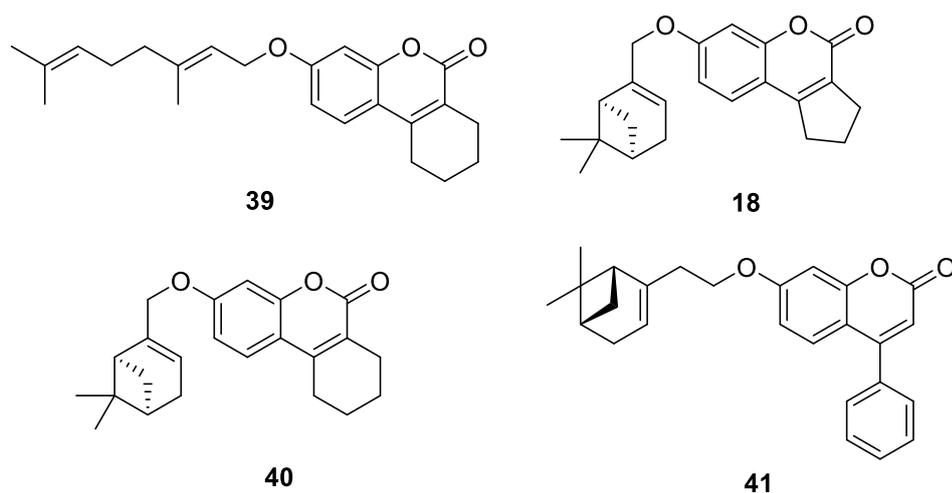


Рисунок 16 – *O*-Связанные с монотерпен-кумарины, проявляющие анти-РСВ активность

Так, для монотерпеновых эфиров (Рисунок 16) *in vitro* было показано («time-of-addition» эксперимент), что все они проявляют активность в начальной стадии жизненного цикла РСВ, скорее всего, препятствуя или связыванию вируса с клеткой, или предотвращая его проникновение в клетку. Анализ с использованием конфокальной микроскопии показал, что соединение **40** существенно снижает интенсивность проникновения вируса в клетку-хозяина, практически не влияя на уровень связывания, а также подавляет образование синцитиев – многоядерных

клеток, возникающих в результате слияния инфицированных клеток. Дополнительное моделирование предоставило данные о взаимодействии соединения **40** с F-белком вируса РСВ, что, в совокупности, указало на реализацию противовирусного механизма действия **40** путем нарушения процесса проникновения вируса за счет связывания с оболочечным F-белком.

Противогриппозная активность. *O*-Замещенные монотерпен-кумарины также проявили заметную противовирусную активность [9]. Производные кумарина, содержащие миртенол и нопол в 7-ом положении (Рисунок 17) ингибировали репродукцию вируса гриппа А H1N1 с индексами селективности, достигающими 40, и с ингибирующими концентрациями в среднем в микромолярном диапазоне. Для соединения-лидера **42**, представляющего собой конъюгат с (-)-миртенолом, была рассчитана ингибирующая концентрация, равная 21 мкМ; его индекс селективности был равен 41. Производное **43** (Рисунок 17) было наиболее эффективно в течении первых 2 часов после заражения клеток вирусом, что позволяет предположить, что возможной мишенью для него является вирусный белок гемагглютинин, выполняющий свою функцию в фазах жизненного цикла, соответствующих слиянию мембран клетки и вируса и внедрению вируса в клетку. Это предположение согласуется с результатами молекулярного докинга, представленными в [9].

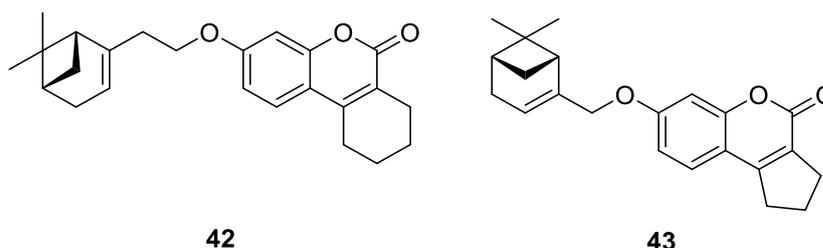


Рисунок 17 – *O*-Замещенные монотерпен-кумарины, обладающие противовирусной активностью

1.3.5 Противопаразитарная активность

Ряд пренилированных кумаринов проявил выраженную противопаразитарную активность, в частности, против *Leishmania* и гельминтов.

Яркий пример – противоположные свойства природных кумаринов *Ferulago* и *Prangos* [22] (Рисунок 18). Для остола **28** было установлено эффективное лейшманицидное действие в отношении *Leishmania major*; значение IC_{50} остола составило ≈ 10.8 $\mu\text{г}/\text{мл}$ (интервал действия 48 часов). Интересно, что его изомер суберозин **44** (Рисунок 18) не оказывал заметного эффекта в аналогичных концентрациях. Кумарины **28** и **44** различаются только положением пренильного фрагмента, но изомер С-8 оказался более активным. Авторы проведенного исследования [22] предполагают, что наличие пренильного заместителя в восьмом положении кумаринового скелета является критически важным для высокой противоположной активности.

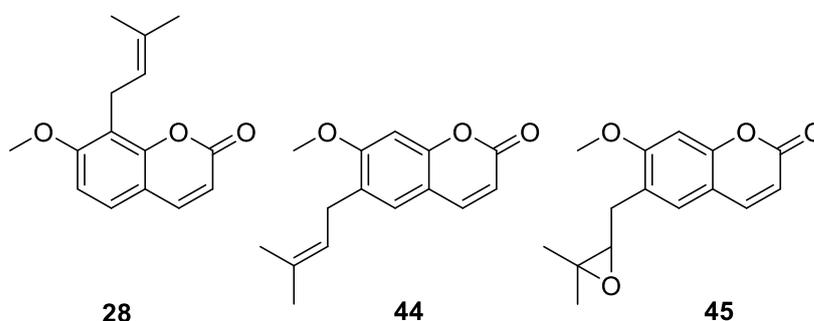


Рисунок 18 – Кумарины с антилейшманиальной активностью

Кроме того, эпоксид суберозина **45** был менее активным в отношении *Leishmania major*, его $IC_{50} = 54$ $\mu\text{г}/\text{мл}$, в то время как сам исходный суберозин был неактивен [22]. Таким образом, введение в молекулу суберозина эпоксипренильного фрагмента привело к небольшому увеличению активности, которая, к сожалению, не была сравнимой с эффективностью остола **28**, что позволяет надеяться на расширение ряда производных суберозина и остола с атипаразитарными свойствами за счет введения в их структуру различных пренильных фрагментов, варьируя топологию и химические модификации последних.

1.3.6 Антикоагулянтная активность производных кумарина

Антикоагулянтная активность феруленола **25** (Рисунок 19) давно и хорошо известна [32]. Так, при добавлении феруленола в концентрации 0.1–5 $\mu\text{м}$

протромбиновое время в объединённой плазме человека оставалось неизменным (8.0 с против 7.5 с в контроле), что исключает прямое влияние феруленола на свертывание. Оценка цитотоксичности феруленола показала, что клетки линии HepG2 (клетки печени) теряли 50% жизнеспособности при добавлении 10 нм феруленола, а в клетках HEK293 и ВНК (клетки почки человека) первые признаки цитотоксичности наблюдалось лишь при концентрации, близкой к 100 нм.

Для сравнения, варфарин в концентрации до 10 мкм не вызывал цитотоксичности ни в одной из исследованных клеточных линий. В клетках ВНК с постоянной экспрессией фактора X 10 нм феруленола снизили содержание антигена фактора X с 3.5 мкг/мл до 2.0 мкг/мл (примерно на 40 %), а его активность – до 67 % от контроля. Для сравнения - при обработке варфарином (5 мкм) антиген фактора X составил 2.7 мкг/мл, а активность – 59 %.

Кроме того, феруленол **25** в суб-наномолярных и наномолярных концентрациях подавлял печёночный синтез витамин К-зависимых факторов свертывания – примерно в тысячу раз более эффективно, чем варфарин; при том, что при более высоких дозах он оказывает цитотоксическое действие на гепатоциты. Такая двойная активность лежит в основе геморрагического диатеза после употребления фенхеля гигантского (*Ferula communis*).

Однако, ω-гидрокси- и ω-ацетокси-производные феруленола (тестируемые при десятикратно более высоких концентрациях) практически не демонстрировали цитотоксичности и не влияли на секрецию фактора X [32].

Авторами исследования [33] показано, что два 4-оксигенированных производных кумарина – феруленол **25** и ферпренин **46** (Рисунок 19), также обнаруженные в фенхеле гигантском *Ferula communis*, ингибируют активность микросомального VKORC1 (фермент, участвующий в метаболизме витамина К, вовлечённого в активацию факторов свертывания II, VII, IX и X) печени млекопитающих [33].

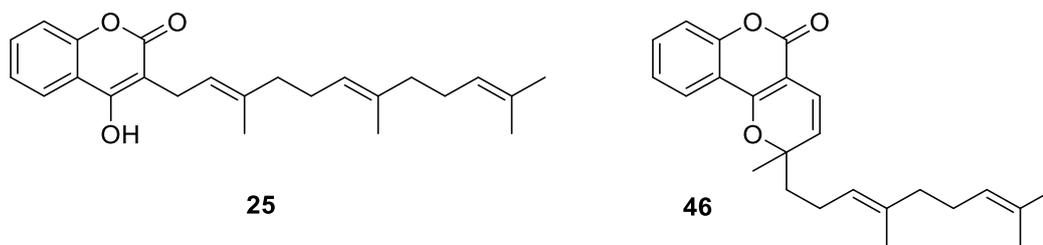


Рисунок 19 – Феруленол **25** и ферпренин **46**, кумарины, обладающие антикоагулянтной активностью

Феруленол подавляет VKORC1 неконкурентным образом с K_i 0.08 μM в микросомах телячьей печени, что делает его очень мощным ингибитором (он в 100 раз более активным, чем ферпренин). При тех же условиях для варфарина была определена K_i 0.51 μM . Ферпренин также действует неконкурентно, однако его K_i в микросомах телячьей печени составляет уже 8.2 μM , что свидетельствует о гораздо более слабом ингибировании. Микросомы коровьей печени оказались более устойчивыми к воздействию феруленола **25** (его в этом случае $K_i = 0.13 \mu\text{M}$) по сравнению с микросомами других видов, таких как козы ($K_i = 0.04 \mu\text{M}$) и крысы ($K_i = 0.03 \mu\text{M}$). Именно эти соединения связывают с развитием геморрагического синдрома (ферулёза) у животных, потребляющих *F. communis*.

1.3.7 Гипогликемическая активность производных кумарина

При исследовании гипогликемической активности 7-терпенилкумаринов (Рисунок 20) было показано [34], что производное **47** *in vivo* (мыши C57BL/6) вызывало снижение уровня глюкозы в крови на 12.8% в глюкозо-толерантном тесте (ГТТ) (доза: 10 мг/кг), одновременно ингибируя активность фермента DPP-IV с $IC_{50} = 115 \mu\text{M}$.

Соединение **48** (Рисунок 20) в аналогичном эксперименте снижало уровень глюкозы на 10,8% (доза: 15 мг/кг), и ингибировало DPP-IV с $IC_{50} = 127,5 \mu\text{M}$.

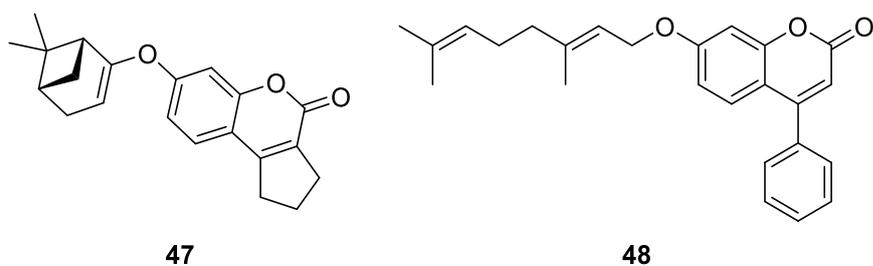


Рисунок 20. – 7-Терпенилкумарины, обладающие гипогликемической активностью

1.4 Методы синтеза пренилированных кумаринов

Пренилированные кумарины, помимо выделения из природного сырья, можно получать и синтетическими методами. Внедрение изопрен- или терпен(терпеноид)-содержащего фрагмента в кумариновый остов можно осуществить путем (наиболее очевидного) алкилирования соответствующего гидроксильного производного (например, *O*-алкилированием производных умбеллиферона) [4,7].

На Схеме 1 изображено *O*-пренилирование серии замещенных 7-гидроксикумаринов **49** двумя различными способами, с широким диапазоном выходов конъюгатов общей структурной формулы **50**.

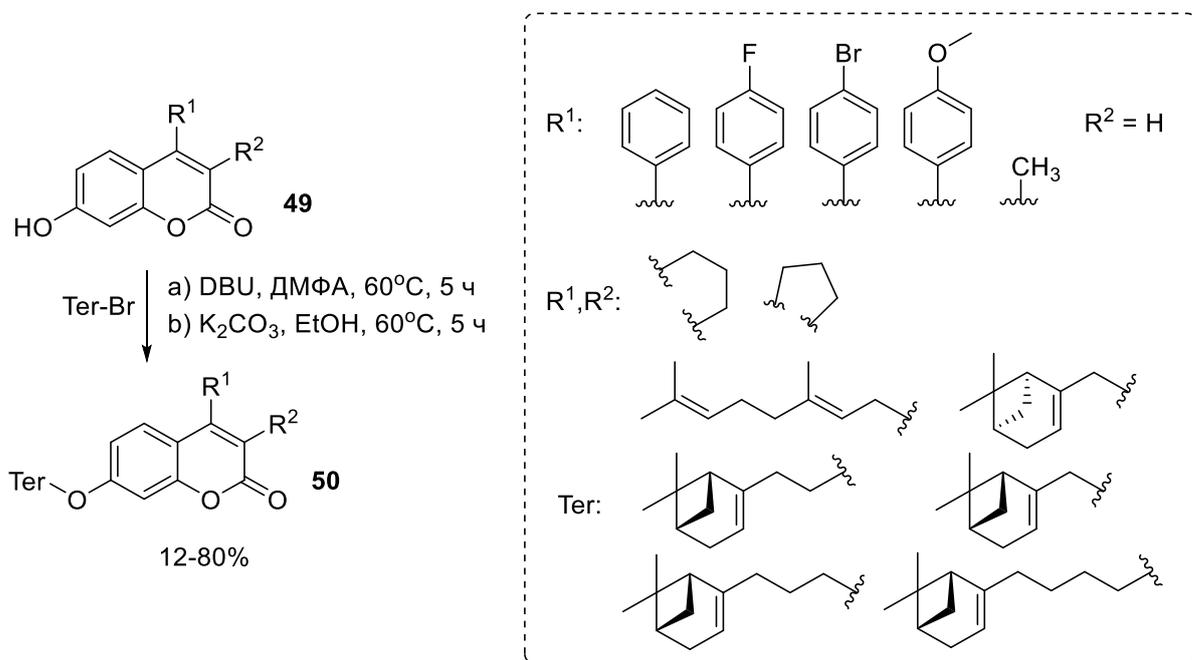


Схема 1 – Получение пренилированных кумаринов *O*-алкилированием седьмого положения производных умбеллиферона

Аналогичный подход, представленный на Схеме 2, был использован для получения широкого круга производных 6-*O*-пренилированного кумарина **53** и 7-*O*-пренилированных кумаринов **54**, показанных на схеме 2. Отметим, что выходы реакций *O*-пренилирования в работах [35,36] варьируются от удовлетворительных до хороших. В литературе описан аналогичный синтетический маршрут для замещенных 5-гидроксикумаринов **56** (Схема 3) с выходами от приемлемых до отличных [5].

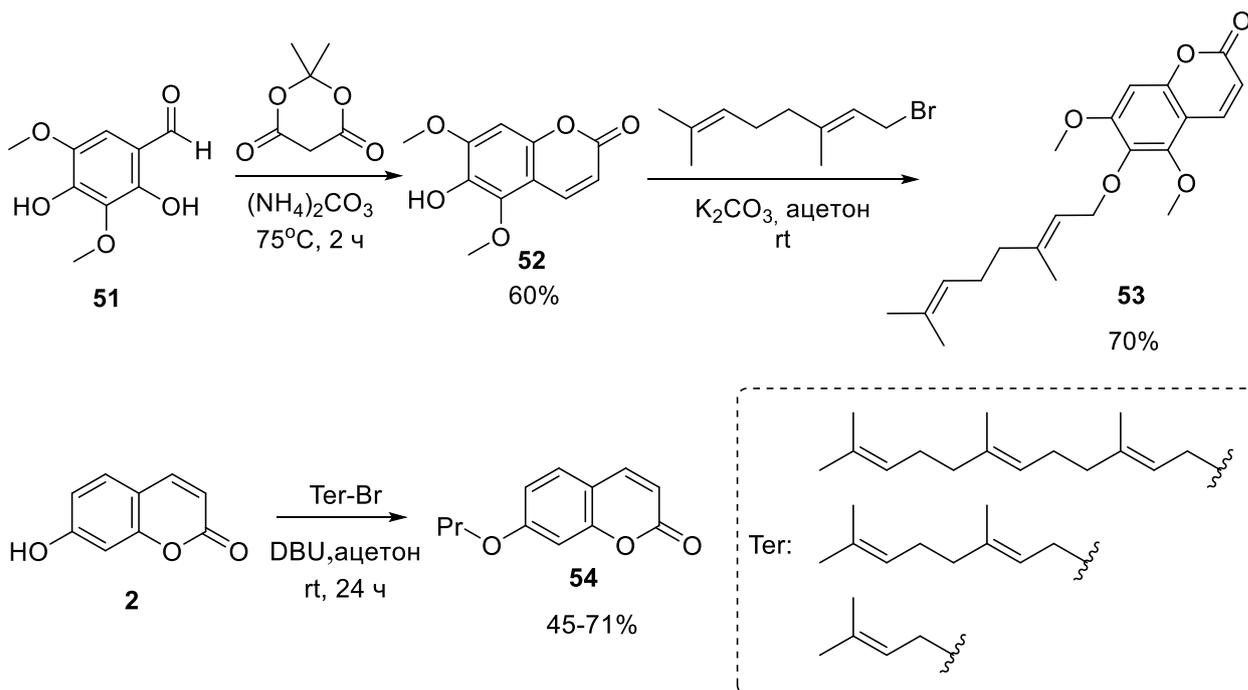


Схема 2 – Получение пренилированных производных кумаринов *O*-алкилированием по седьмому положению производных умбеллиферона

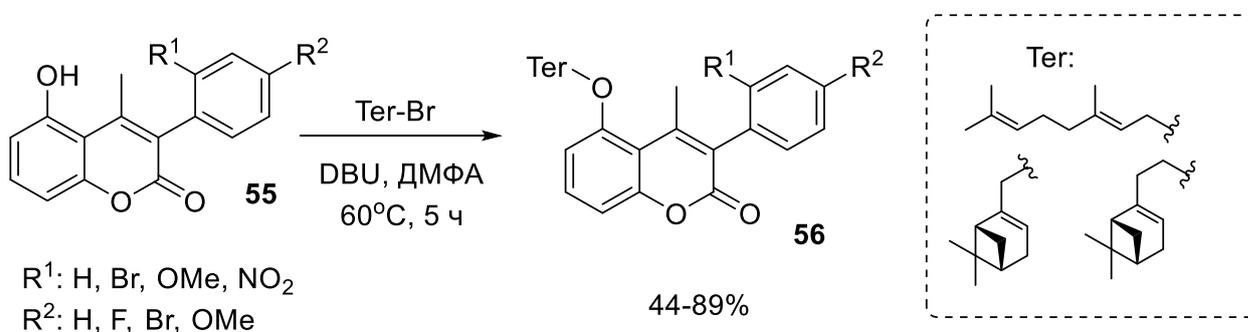


Схема 3 – Получение пренилированных кумаринов *O*-алкилированием по пятому положению производных умбеллиферона

Прямое введение пренильного фрагмента в третье положение кумаринового остова может быть реализовано в варианте *C*-алкилирования [37] с получением конъюгатов типа **58**, однако выходы реакции в этом случае далеки от удовлетворительных (Схема 4).

Значительное влияние оказывает замещение: если в бензольном кольце присутствуют алкильные заместители или галогены, то реакция не идёт.

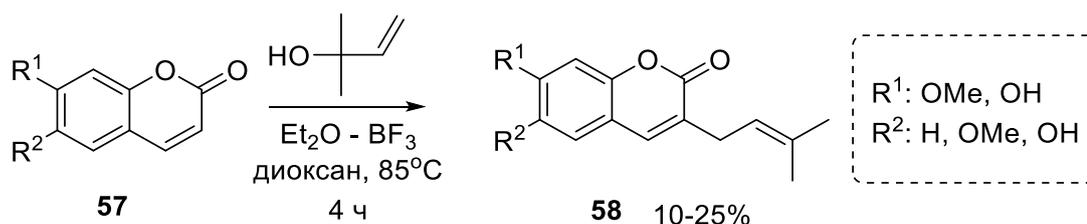


Схема 4 – *C*-Пренилирование замещенных кумаринов по третьему положению

В литературе представлен пример *C*-пренилирования умбеллиферона **2** по восьмому положению с получением соединения; однако выход соединения **59** недостаточно высок [38] (Схема 5).

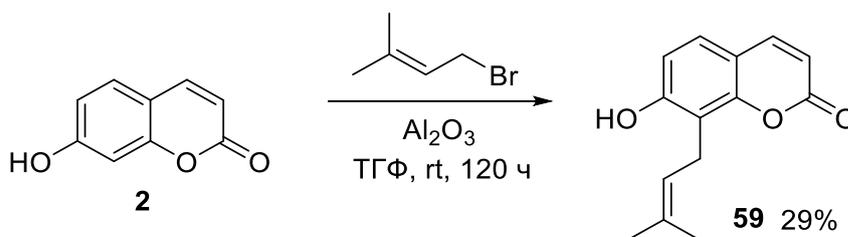


Схема 5 – *C*-Пренилирование замещенного кумарина по восьмому положению

Наконец, была описана сборка кумаринов **61** с применением конденсации Пехмана из фенолов **60**, уже содержащих заместители терпеновой природы [39] (Схема 6), характеризующаяся высокими выходами целевых продуктов.

Сравнение приведенных примеров синтеза пренилированных кумаринов показывает, что метод, основанный на *C*-пренилировании, как правило, характеризуется низкими выходами желаемых производных, а синтетический

подход, основанный на *O*-пренилировании кумаринового каркаса, с заложенной стартовой топологией гидроксильных групп, является наиболее предпочтительным с точки зрения эффективности.

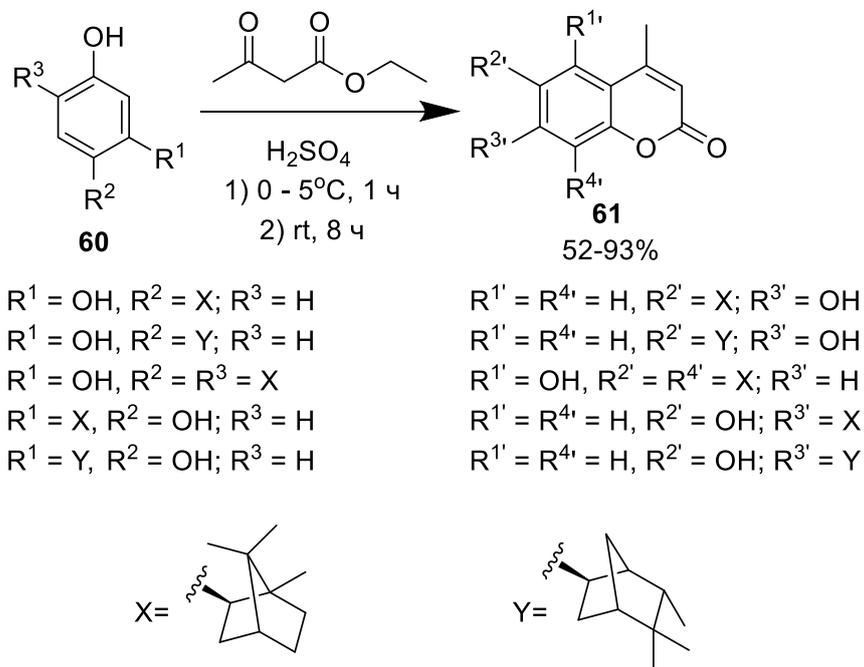


Схема 6 – Сборка пренилированных кумаринов конденсацией Пехмана

1.5 Заключение к литературному обзору

Пренилированные кумарины широко распространены в природе, и могут быть выделены из растений более чем 12 семейств. В то же время пренилированные кумарины могут быть получены синтетически – как сборкой кумаринового остова из замещенных фрагментов, так и прямым пренилированием циклической системы, а также *O*-модификацией кумарина. В большинстве случаев синтетический подход к получению пренилированных кумаринов является более эффективным.

Пренилированные кумарины обладают широким спектром биологической активности – противоопухолевой, противовоспалительной, противомикробной, противовирусной и противопаразитарной, они способны регулировать процессы возникновения и развития патологий обмена веществ, работы центральной нервной и сердечно-сосудистой систем.

Потенциал противоопухолевого действия пренилированных кумаринов более, чем высок – производные этой структурной группы замедляют рост злокачественных опухолей, проявляют активность против клеток, ассоциированных с раком кожи, раком груди, колоректальным раком и раком желудка; некоторые терпен-содержащие кумарины проявляют активность как сенсibilизаторы, увеличивающие активность известных противоопухолевых препаратов, например, топотекана.

Противовирусная активность пренилированных производных кумарина высока, спектр ее широк – они подавляют репродукцию таких патогенов, как ВИЧ-1, вирус гриппа А H1N1, а также РСВ типа А и В, что особенно важно для пациентов с иммунодефицитами, в том числе вызванными противоопухолевой химио- и радиотерапией.

Учитывая доступность в природе, наличие разработанных синтетических подходов, широкий спектр биологической активности и, в ряде случаев, низкую токсичность, пренилированные кумарины являются перспективными потенциальными терапевтическими агентами, которые возможно применить в решении широкого круга задач медицинской химии и фармакологии.

ГЛАВА 2. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Синтез монотерпен-кумариновых конъюгатов, соединенных гетероциклическим линкером

Учитывая актуальность и практическую важность разработки новых эффективных фармакологических агентов – ингибиторов TDP1 и ингибиторов репродукции РСВ, среди производных природных кумаринов и терпенов, обладающих широким спектром биологической активности и, в частности, среди производных пренилированных кумаринов **18**, **39-41**, **43** и **48** (проявляющих и противоопухолевые, и противовирусные свойства [3-9], Рисунок 21 и 22), синтез монотерпен-кумариновых конъюгатов нового типа, в которых две фармакофорные субъединицы связаны между собой 1,2,3-триазольным или изоксазольным линкерами с параллельной *in vitro* и *in silico* оценкой их активности в отношении РСВ и способности ингибировать фермент репарации ДНК – TDP1, включая влияние природы гетероциклического линкера и строения монотерпенового и кумаринового фрагментов, на биологическую активность, представляют собой вариант решения задачи по созданию новых средств терапии социально-значимых вирусных и онкологических заболеваний.

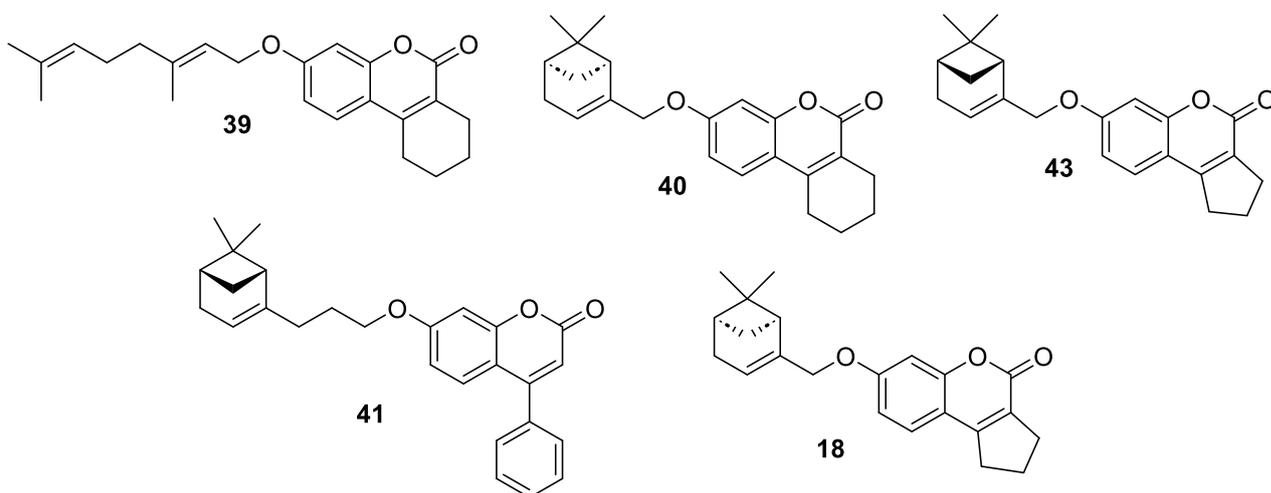


Рисунок 21 – Некоторые пренилированные кумарины, ингибирующие репродукцию РСВ

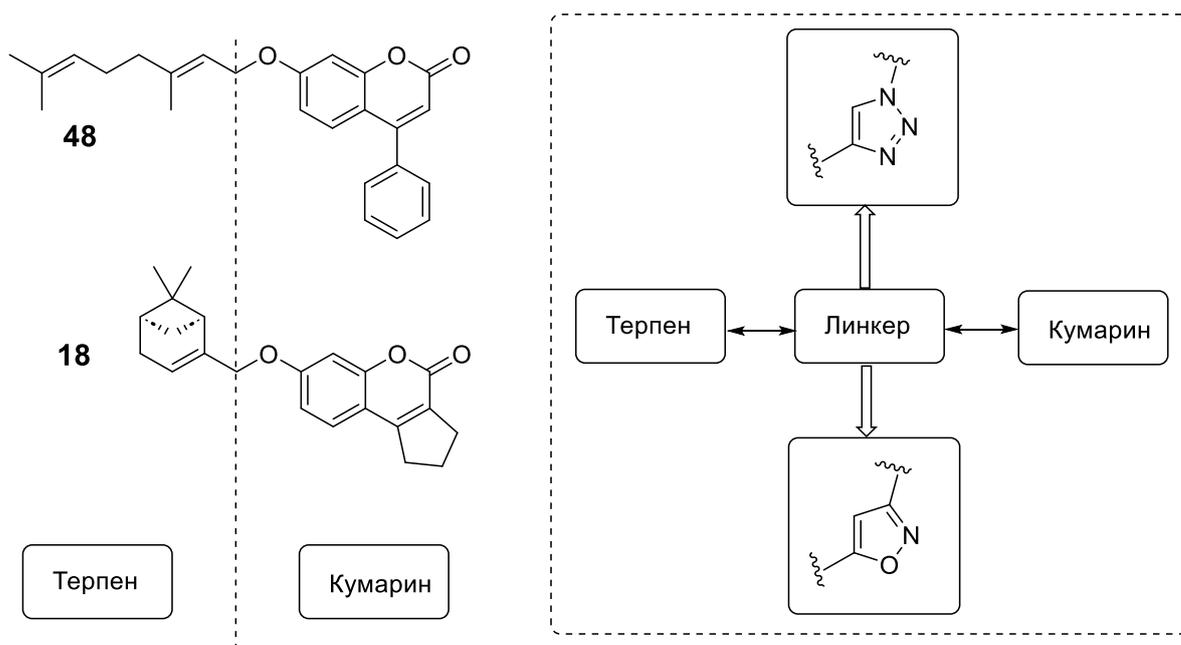


Рисунок 22 – Некоторые пренилированные кумарины – ингибиторы TDP1; дизайн новых кумарин-терпеновых конъюгатов

Данное исследование представляет собой развитие продолжающейся непрерывной плодотворной работы Отдела медицинской химии Новосибирского института органической химии СО РАН, связанной с химическими трансформациями природных соединений в направлении к новым биологически активным объектам.

Для достижения поставленной цели, а именно – синтеза новых потенциальных ингибиторов репродукции респираторно-синцитиального вируса (РСВ А, В) и фермента репарации ДНК (TDP1) на основе кумаринов и функционализированных терпенов, соединенных посредством гетероциклического линкера, необходима реализация следующих исследовательских этапов: это получение стартовых 7-гидроксикумариновых блоков и их *O*-пропаргильных эфиров, а также азидов и оксимов терпенового ряда – реактантов для диполярного [3+2]-циклоприсоединения азидов и нитрилоксидов к алкинам; далее, собственно синтез конъюгатов *O*-пропаргильных эфиров кумаринов с терпенами, связанных посредством 1,2,3-триазольного или изоксазольного линкеров; параллельная оценка биологических свойств синтезированных производных и выявление взаимосвязей «структура синтезированного соединения – противовирусная/противоопухолевая активность».

Необходимо отметить, что выбор природы линкера, содержащего гетероциклический фрагмент (1,2,3-триазольный и изоксазольный), обусловлен возможностью их взаимодействия с аминокислотами активных центров установленных для ингибиторов TDP1 и PCV молекулярных мишеней, их метаболической устойчивостью и «незаметным» влиянием на общую цитотоксичность синтезируемого целевого конъюгата [40,41].

2.1 Синтез триазол-содержащих производных 7-гидроксикумаринов и модифицированных терпенов

Биологически активные производные кумаринов, несущие в своей структуре гетероциклические фрагменты, хорошо известны. В литературе представлены примеры синтеза производных кумаринов с триазольными фрагментами, обладающих противогрибковой, антибактериальной, противоопухолевой, противодиабетической и противовирусной активностью [42-48]. Эти данные лежат в основе предположения, что введение аналогичного триазольного фрагмента в качестве линкера в монотерпен-кумариновые конъюгаты, осуществленное на основе диполярного [3+2]-циклоприсоединения азидов к алкинам, может повлиять на спектр их фармакологических свойств.

Синтез стартовых 7-гидроксикумаринов был осуществлен конденсацией Пехмана, взаимодействием β -кетозэфиров - этил 2-оксоциклогексан-1-карбоксилата и этил 3-оксобутаноата (ацетоуксусного эфира) **71** с резорцином в спирте в присутствии серной кислоты [49] (Схема 7). Соответствующие 7-гидроксикумарины **63, 66, 69, 72** получены с выходами от 70% до 81%.

Далее, синтезированные 7-гидроксикумарины **63, 66, 69, 72** были введены во взаимодействие с пропаргиллом бромистым [50] кипячением в этаноле в присутствии карбоната натрия в течении 5 часов.

Выходы *O*-модифицированных 7-гидроксикумаринов **64, 67, 70, 73** – ключевых исходных соединений для синтеза кумарин-терпеновых конъюгатов, находятся в интервале от 85% до 97%.

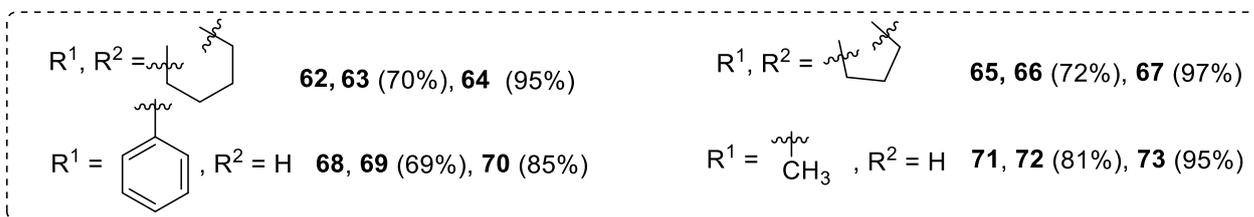
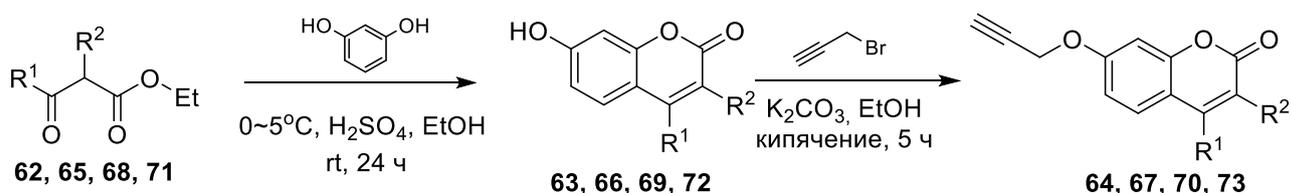


Схема 7 – Синтез пропаргиловых эфиров 7-гидроxicумаринов **64, 67, 70** и **73**

Следующий этап предполагал получение целевых терпен-содержащих азидов, которые планировалось ввести в реакцию [3+2]-циклоприсоединения к эфирам **64, 67, 70** и **73**. В качестве исходных использовались коммерчески доступные (+)- α -пинен **74**, (-)-миртеналь **79**, куминовый альдегид **83**, гераниол **87** и дигидроцитронеллол (тетрагидрогераниол) **90**.

Синтетические маршруты превращений терпенов **74, 79, 83, 87** и **90** в терминальные азиды, представлены на Схеме 8, где ключевой стадией является реакция бромидов **77, 81, 85, 88** и **91** с азидом натрия в диметилформамиде при комнатной температуре. Перечисленные бромиды были получены из соответствующих спиртов **76, 80, 84, 87, 90** реакцией с бромидом фосфора (III) в диэтиловом эфире (выходы 64-96%). Спирты **76, 80, 84, 87, 90**, в тех случаях, когда это было необходимо, были синтезированы путем восстановления соответствующих альдегидов.

Так, (+)-миртеналь **75** был получен из (+)- α -пинена **74** окислением SeO_2 в присутствии избытка *трет*-бутилгидропероксида (ГПТБ) согласно [51], выход 70% (Схема 8). Далее, кумиловый альдегид **83** и изомеры миртеналья **75** и **79** были восстановлены боргидридом натрия в метаноле, с выходами от 55% до 90% по методике [52]. Бромирование спиртов **76, 80, 84, 87, 90** действием бромиды фосфора (III) в диэтиловом эфире [53] привело к соответствующие бромиды **77, 81, 85, 88, 91** с выходами от 64% до 96%.

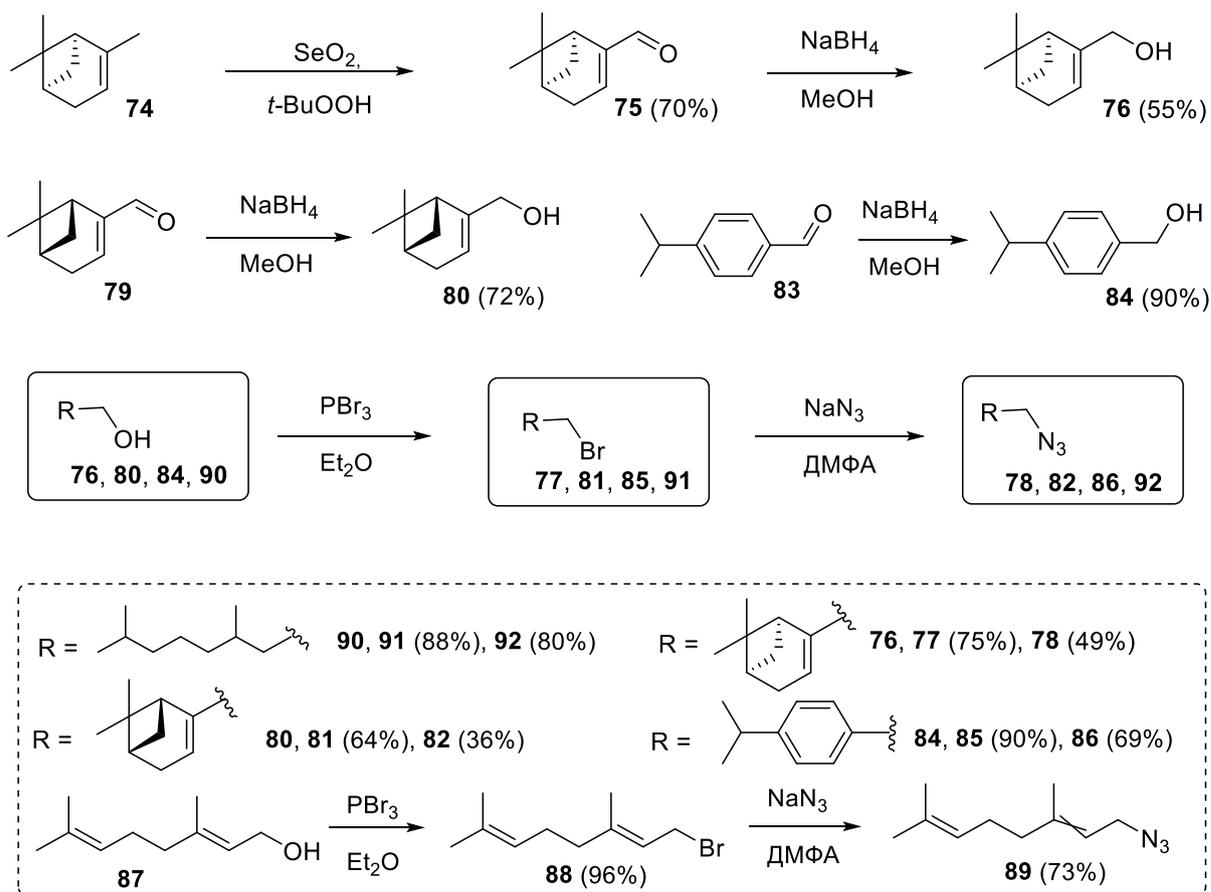


Схема 8 – Синтез терминальных азидов **78, 82, 86, 89** и **92**

Наконец, терминальные бромиды взаимодействием с азидом натрия были превращены в терминальные азиды, необходимые для следующего этапа синтеза [54]. Соединения **78, 82, 86, 89, 92** были получены с выходом от 36% до 80%. Примечателен факт, что азид **89** при хранении претерпевает перегруппировку Винштейна (Схема 9) [55], что, с одной стороны, может затруднить выделение целевых соединений, с другой – позволяет получить каждый из *E*- и *Z*-изомеров методом колоночной хроматографии.

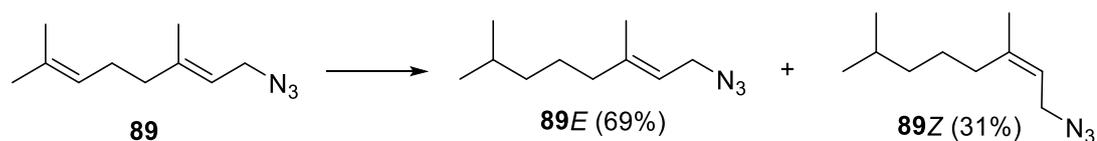


Схема 9 – Изомеризация азида гераниола при хранении

2.2 Синтез конъюгатов кумаринов и монотерпеноидов, соединенных триазольным линкером

Триазол-содержащие конъюгаты модифицированных пропаргильных эфиров 7-гидроксикумаринов **93-112** были синтезированы из соответствующих азидов и пропаргильных эфиров кумаринов по известной методике [3+2]-азид-алкинового циклоприсоединения [56] (Схема 10).

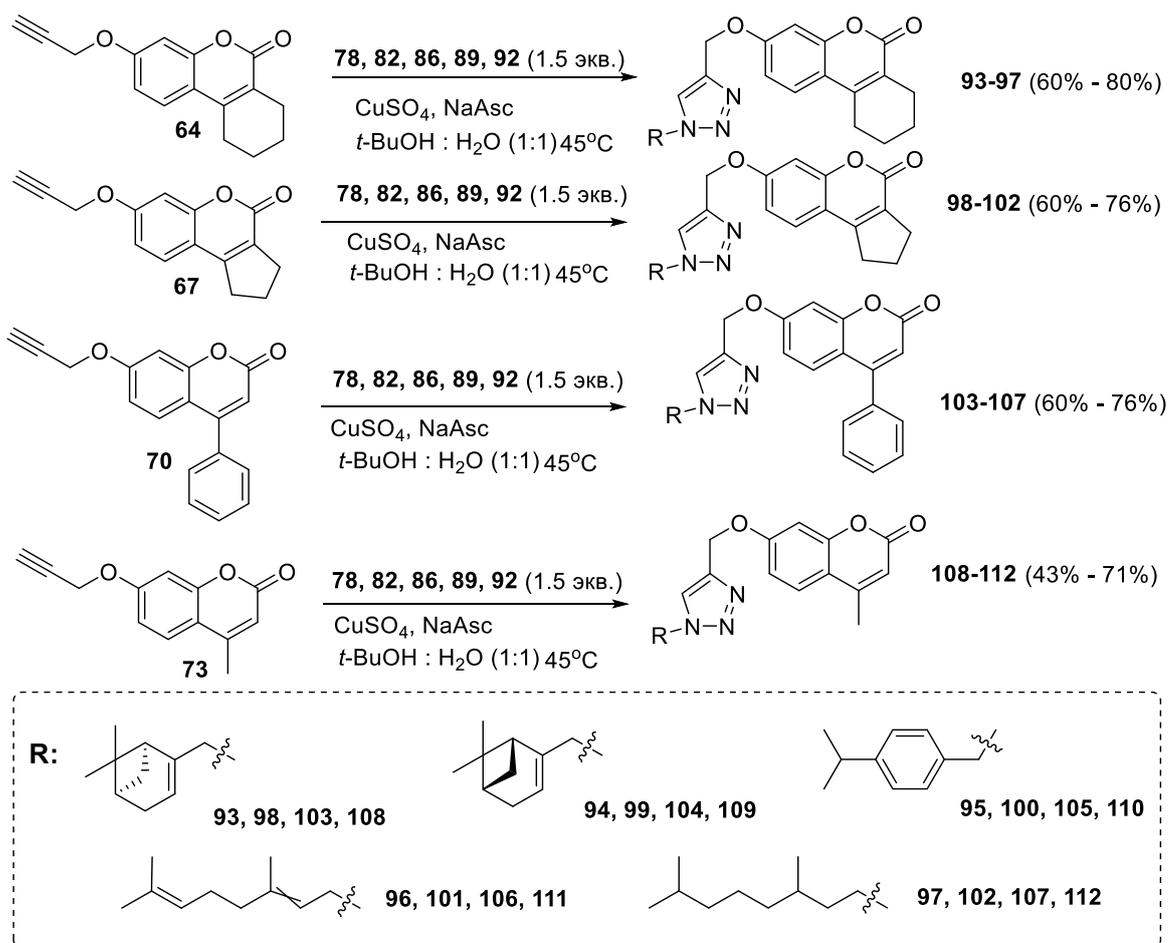


Схема 10 – Синтез триазол-содержащих конъюгатов **93-112**

Так, кумарины **64**, **67**, **70**, **73** в смеси *tert*-бутанола и воды в присутствии сульфата меди (II) и аскорбата натрия (восстановление до одновалентной меди, образующей комплекс с алкиновым фрагментом) взаимодействовали с азидами **78**, **82**, **86**, **89**, **92**, приводя к соответствующим триазолам **93-112** с выходами от удовлетворительных до хороших (Схема 10).

С целью расширения библиотеки триазол-содержащих «кумарин-терпеновых» конъюгатов, содержащих в кумариновой и терпеновой части молекул

метоксильные или гидроксильные группы, предпринят синтез пропаргилового эфира **116**, содержащего в кумариновом остове *n*-метокси-фенильную группу (Схема 11).

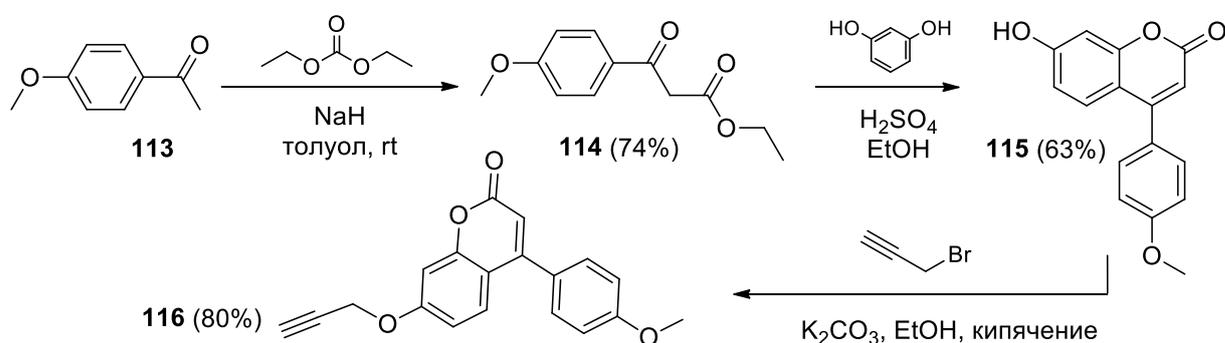


Схема 11 – Синтез 4-метоксифенил-7-пропаргилоксикумарина **116**

β -Кетозэфир, необходимый для реализации выбранной стратегии синтеза, был получен согласно [57] взаимодействием 4-метоксиацетофенона **113** с диэтилкарбонатом и гидридом натрия кипячением в толуоле, что привело к промежуточному продукту **114** с выходом 74% (Схема 11). Этил 3-(4-метоксифенил)-3-оксoproпаноат **114** далее вводился в конденсацию с резорцином по Пехману, приводя к 7-гидроксикумарину **115** с выходом 63%, который алкилировали пропаргил бромидом. Целевой эфир **116** был получен с выходом 80%.

Для получения 7-гидрокси-2-7-диметилоктаназида-1 **120** в качестве исходного соединения был выбран гидроксцитронеллаль **117** (Схема 12), который восстанавливали боргидридом натрия в метаноле до спирта **118** с выходом 92%.

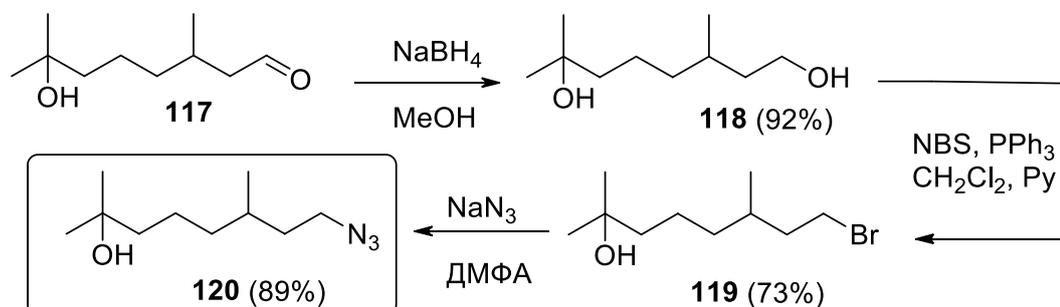


Схема 12 – Синтез 7-гидрокси-2-7-диметилоктаназида-1

Далее спирт **118** селективно бромировали *N*-бромсукцинимидом в присутствии трифенилфосфина и пиридина в хлористом метилена согласно [58] до бромида **119** (выход 73%), который был превращен в азид **120** с выходом 89% (Схема 12).

Триазол-содержащие производные **121-126** были получены из соединения **116** (Схема 13) по методике азид-алкинового циклоприсоединения, адаптированной нами ранее для аналогичных случаев (см. Схему 9). Отметим, что первоначально выходы полученных конъюгатов **121-126** были неудовлетворительны, в том числе и за счет невысокой растворимости **116** в смеси «вода:*трет*-бутиловый спирт». Частично проблема повышения выхода была решена добавлением в систему хлористого метилена как соразстворителя; конъюгаты **121-126** получены с выходом от 33 до 73% (Схема 13). В большинстве случаев, смесь растворителей имела состав 4:2:1 в расчете на хлористый метилен, *трет*-бутиловый спирт, и воду. Примечательно, что для проведения реакции с азидом **120** в реакционную смесь добавляли избыток хлористого метилена для полного растворения исходных соединений.

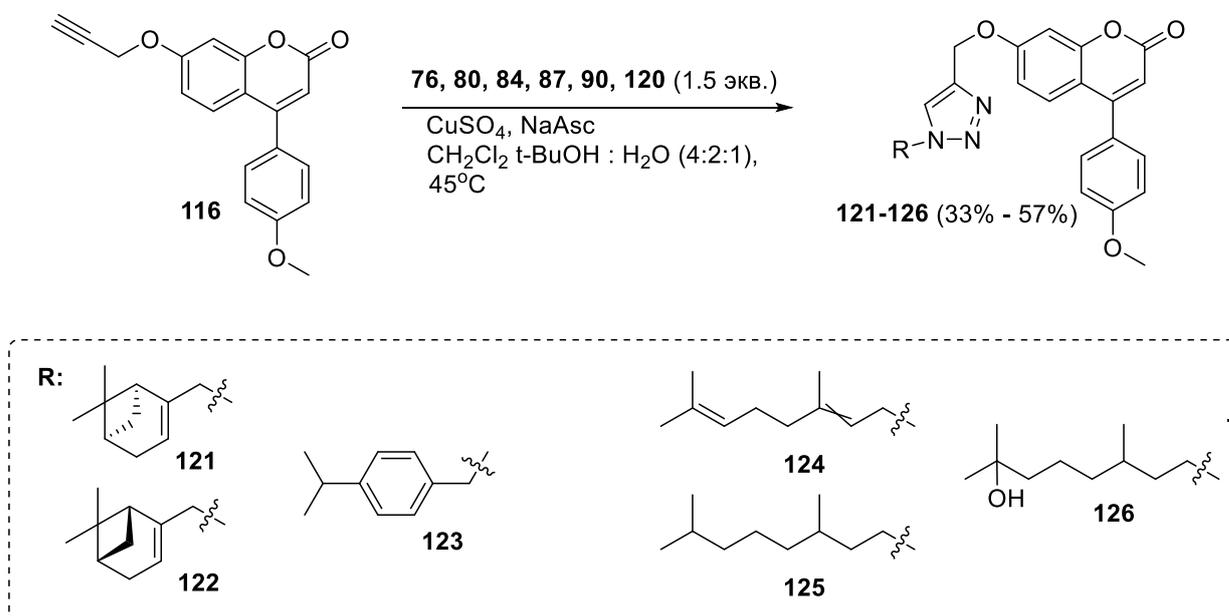


Схема 13 – Синтез соединений **121-126**

Аналогичным образом из азида **120** и пропаргиловых эфиров кумаринов **64**, **67**, **70** и **73** были получены триазол-содержащие конъюгаты **127-130** (Схема 14).

Выходы триазол-связанных конъюгатов **127-130** находились в диапазоне от 31 до 74%.

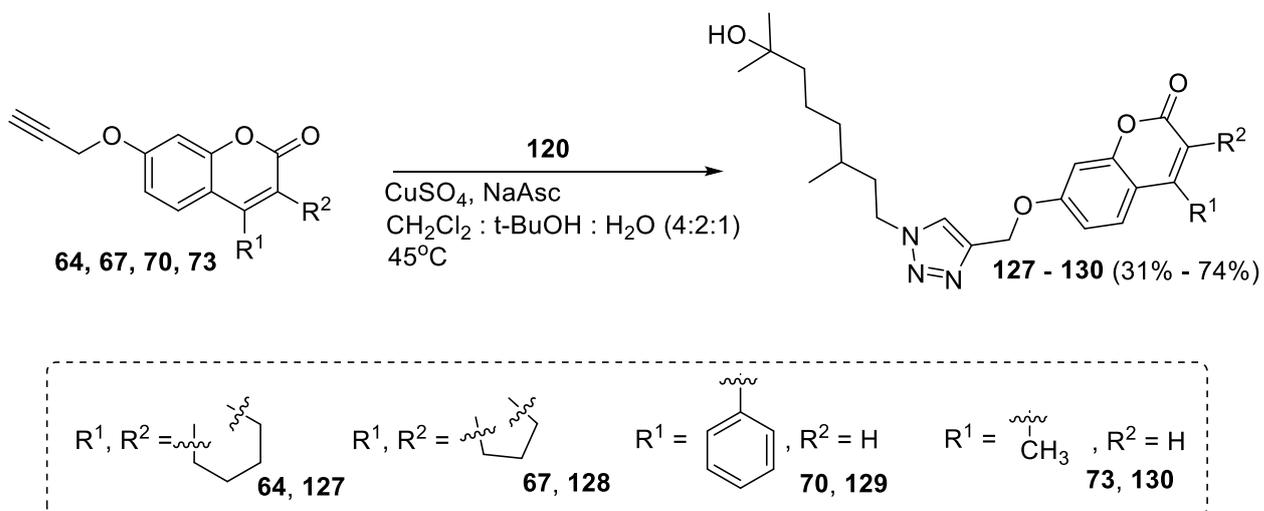


Схема 14 – Синтез соединений **127-130**, содержащих 3,7-диметилоктановый фрагмент

Таким образом, показано, что подход, основанный на катализируемой солями меди реакции 1,3-дипольного циклоприсоединения азидов к алкинам (CuAAC) является эффективным в случае с пропаргильовыми эфирами 7-гидрокумаринов и азидами терпенового ряда; на основе данного подхода осуществлен синтез библиотеки терпен-кумариновых конъюгатов, связанных триазольным линкером [59,60].

2.3 Синтез конъюгатов кумаринов и монотерпеноидов с изоксазольным линкером

В качестве основного подхода для синтеза библиотеки кумарин-терпеновых конъюгатов, связанных изоксазольным линкером, была выбрана реакция [3+2]-циклоприсоединение нитрилоксидов к алкинам [61], где источником 1,3-диполя (собственно, нитрилоксида) являются соответствующие альдоксимы.

Для синтеза стартовых реагентов – оксимов терпенового ряда в качестве исходных соединений были использованы соответствующие альдегиды, которые вводили в реакцию с гидрохлоридом гидросиламина по классической методике

(Схема 15). В качестве исходных соединений использовали (-)-миртеналь **79**, куминовый альдегид **83**, (+)-миртеналь **75** (получен окислением (+)- α -пинена **74** SeO_2) и 3,7-диметилоктаналь **134** (синтезирован окислением 3,7-диметилоктанола-1 **90** хлорхроматом пиридиния (PCC) [62]). Далее, альдегиды **75**, **79**, **83**, **134** были введены в реакцию с гидрохлоридом гидроксиламина, что привело к *E/Z* – смесям оксимов **131**, **132**, **133**, **135** с выходами от 59% до 74% (Схема 15).

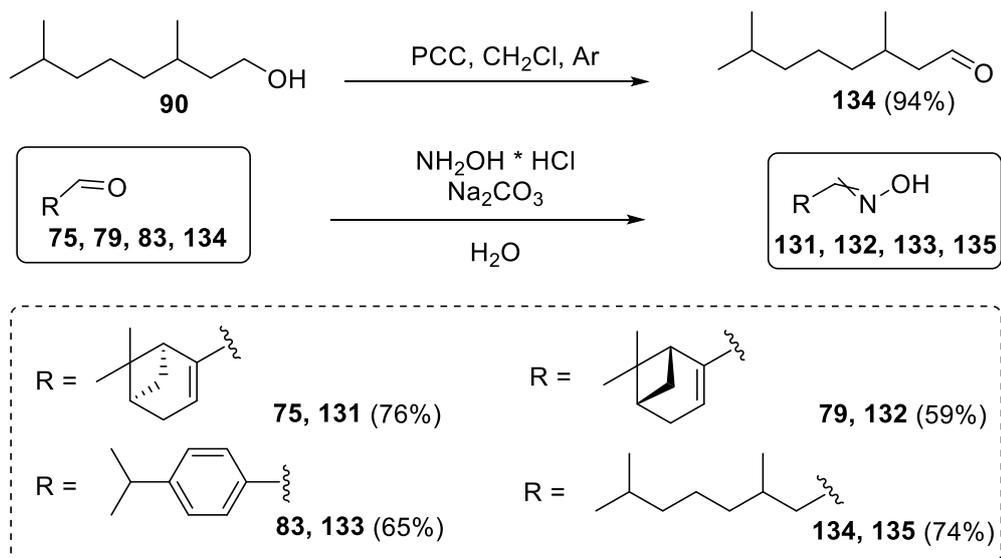


Схема 15 – Синтез терминальных оксимов монотерпеноидов.

Необходимо отметить, что *E/Z* – смеси оксимов, в нашем случае, не нуждаются в разделении, так как для генерации нитрилоксидов, вступающих в реакцию [3+2]-циклоприсоединения допустимо использовать их смеси (Схема 16).

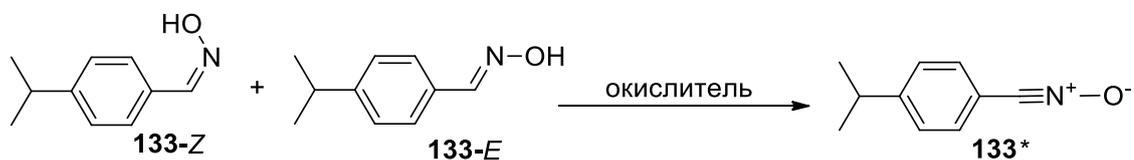


Схема 16 – *In situ* генерация нитрилоксида из смеси *E/Z* оксимов

В то же время, нитрилоксиды, как правило, в условиях проведения реакции [3+2]-циклоприсоединения часто взаимодействуют «сами с собой», образуя продукты кратного присоединения, например – фуроксаны [63]. Этот процесс

протекает быстро, и является конкурирующей реакцией относительно образования целевого продукта (Схема 17).

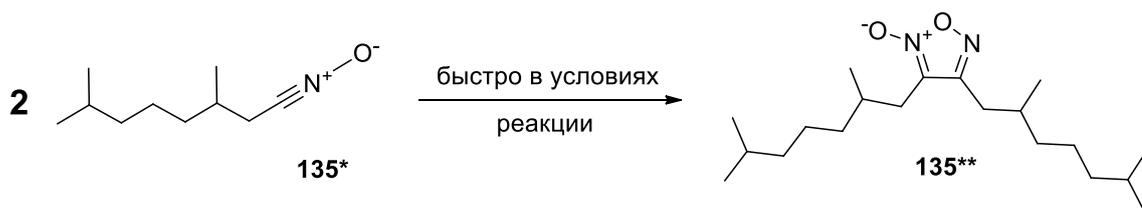


Схема 17 – Превращение нитрилоксидов в 1,2,5-оксадиазол-2-оксиды на примере производного **135**

Учитывая вышесказанное, в качестве основного способа синтеза терпен-кумариновых конъюгатов, связанных изоксазольным линкером, была выбрана методика, предполагающая использование в качестве окислителя [бис(трифторацетокси)йодо]бензол (PIFA) [64]. Изоксазол-связанные конъюгаты были синтезированы из пропаргиловых эфиров **64**, **67**, **70**, **73** и оксимов **131**, **132**, **133**, согласно Схеме 18.

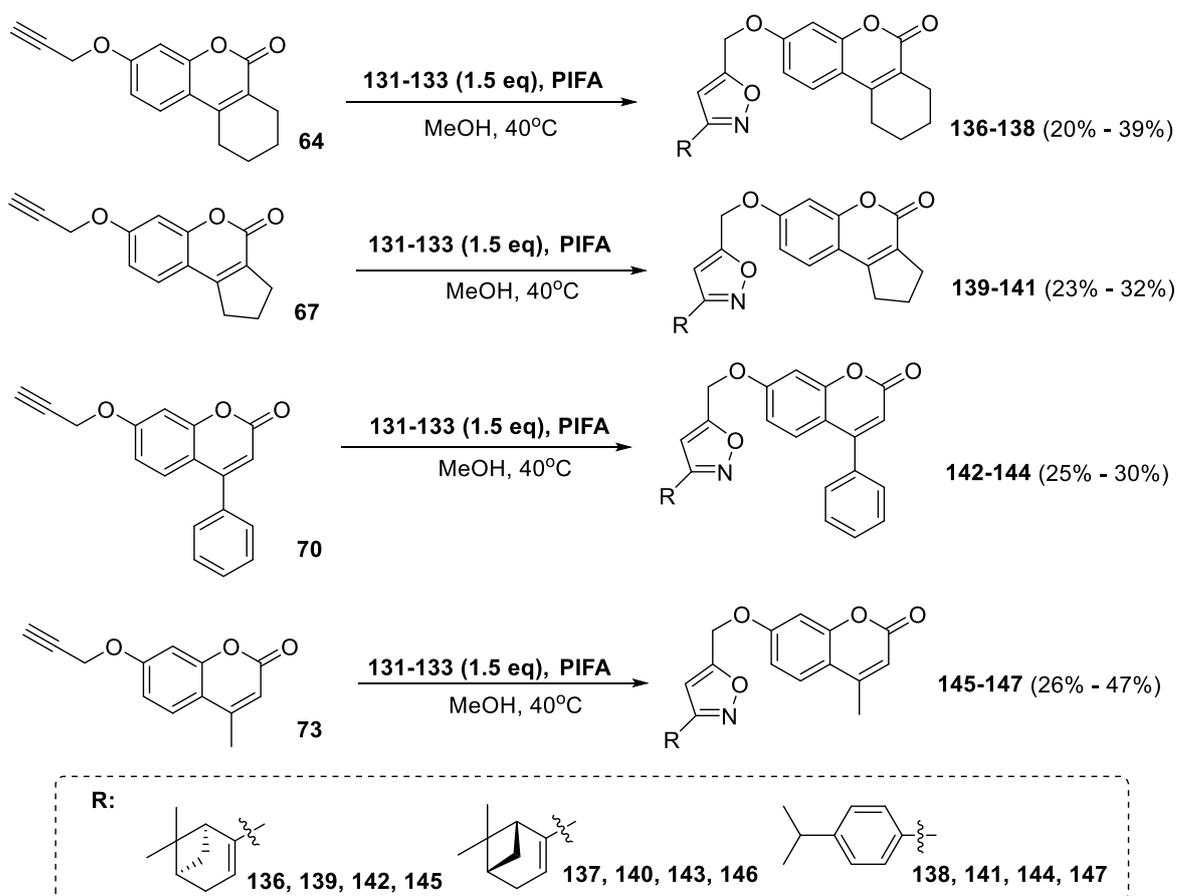


Схема 18 – Синтез изоксазол-связанных терпен-кумариновых конъюгатов **136-147**

Выходы синтезированных конъюгатов оказались невысоки – от 21 до 47 %. Примечательно, что в случае оксима 3,7-диметилоктанала **135** получить соответствующие изоксазолы напрямую не удалось. Поэтому для синтеза целевых изоксазол-связанных конъюгатов этого ряда был предложен альтернативный подход.

Известно, что изоксазолы, содержащие хлорметильную группу, являются удобными строительными блоками для направленного введения изоксазолилметильного фрагмента в молекулы многих биологически активных соединений [65,66]. Наиболее эффективным методом получения 5-(хлорметил)изоксазолов является недавно разработанная *one-pot* процедура, основанная на реакции нитрилоксидов с избытком 2,3-дихлорпропена, который одновременно выполняет функции и реагента, синтетического аналога пропаргилхлорида, и растворителя [67,68]. Этот вариант введения изоксазольного фрагмента позволяет избежать побочных реакций и заметно повышает выход целевых продуктов, особенно в случае нестабильных алифатических нитрилоксидов [69]. Полученные изоксазолы с активными хлорметильными фрагментами могут быть использованы для синтеза разнообразных конъюгатов, в том числе, и в реакциях с фенолами (в нашем случае 7-гидроксикумарины **63**, **66**, **69**, **72**). Учитывая минимальную конверсию пропаргилового эфира **64** в изоксазол в ходе реакции с оксимом **135**, было принято решение осуществить альтернативную «сборку» изоксазол-связанных терпен-кумариновых конъюгатов как по методике [70], так и с использованием хлорметильного производного изоксазола (Схема 19).

Сначала оксим **135** вводился в реакцию циклоприсоединения с 2,3-дихлорпропеном, применявшимся в качестве реагента и растворителя, в присутствии *N*-хлорсукцинимида, пиридина и триэтиламина; 5-хлорметилизоксазольная субъединица **148** была получена с выходом 97%. Введение 5-хлорметилизоксазола **148** в реакцию с 7-гидроксикумарином по методу, представленному ранее на Схеме 7 (пропаргилирование 7-гидроксикумаринов), не увенчалось успехом (исходные вещества не вступали в реакцию). Достичь успеха удалось при проведении реакции в закрытом реакторе *Anton Paar Monowave 50*, позволяющем увеличить и давление, и температуру процесса. Так, полученный гетероциклический конъюгат **148** реагировал с 7-гидроксикумарины **63**, **66**, **69**, **72**

в ацетоне в присутствии карбоната калия, температура реакционной смеси поднималась до 125°C, давление в реакторе составляло 6 атмосфер. Выходы конъюгатов **149-152** с 3-(2,6-диметилгептил)изоксазольным фрагментом находились в диапазоне от 32% до 45% (Схема 19).

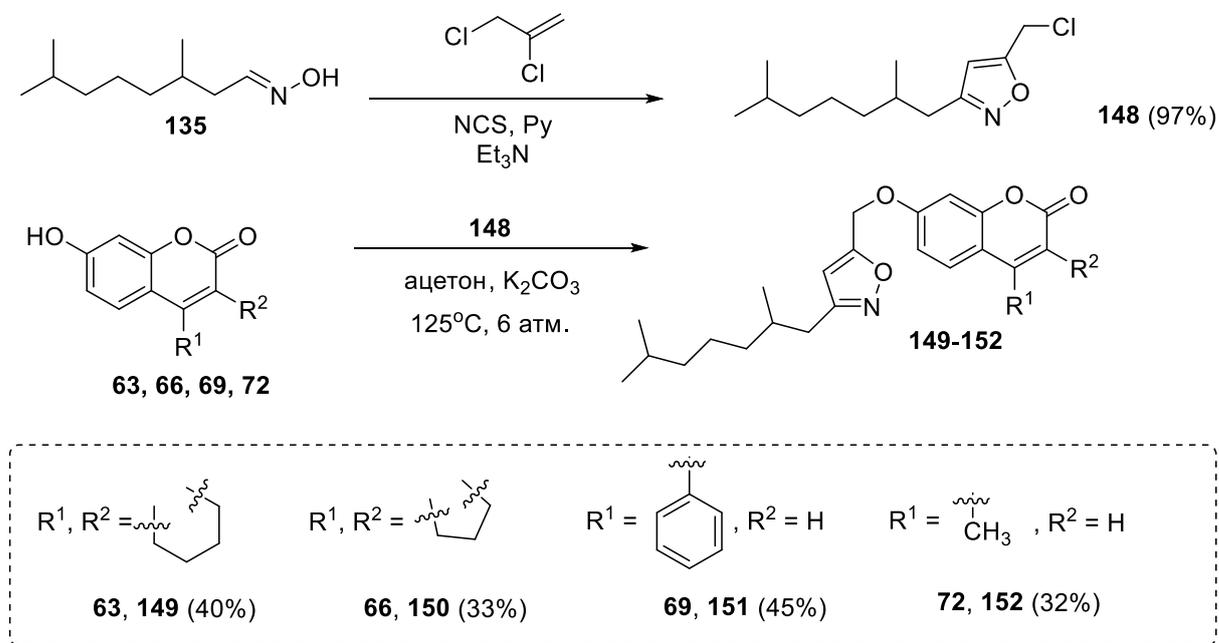


Схема 19 – Синтез изоксазол-содержащих конъюгатов 2,6-диметилгептана и 7-гидроксикумаринов в закрытом реакторе *Anton Paar Monowave 50*

Попытка получения изоксазол-связанного конъюгата, исходя из оксима гераниала **153**, не увенчалась успехом. На Схеме 20 показан синтез его оксима **154** и попытка синтеза производного **155**, не приводящая к целевому продукту.

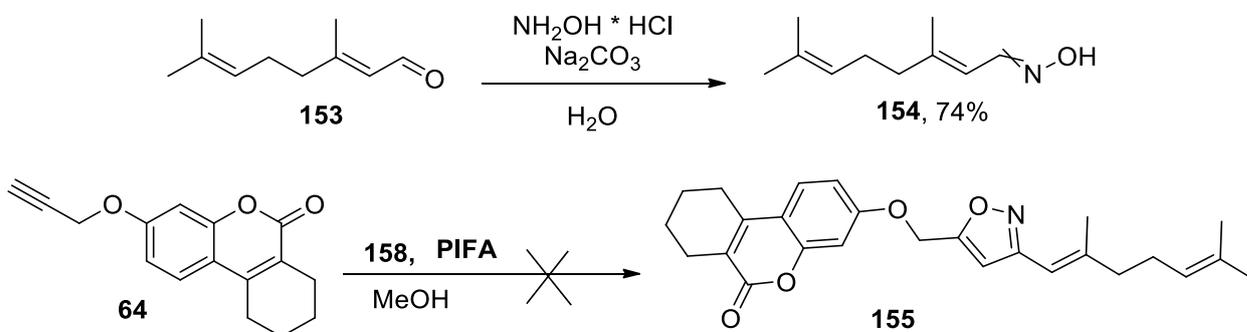


Схема 20 – Синтез оксима гераниала **154** и попытка синтеза изоксазола **155**

С целью получения производного **155** было протестировано несколько методик; первая предполагала использование хлороксима **156** и пропаргилового эфира **64** (Схемы 21, 22) согласно [71]. В данной работе описан способ синтеза изоксазолов из хлороксимов в среде, насыщенной парами триэтиламина, которые медленно диффундируют в реакционную смесь, превращая хлороксим в нитрилоксид, который, в свою очередь, вступает в реакцию циклоприсоединения. Диффузия триэтиламина в [70] применялась с целью минимизации концентрации нитрилоксида в единицу времени, и подавления, таким образом, параллельных побочных процессов. К сожалению, и при реализации данного подхода желаемый продукт **155** в реакционной смеси обнаружен не был (Схема 21).

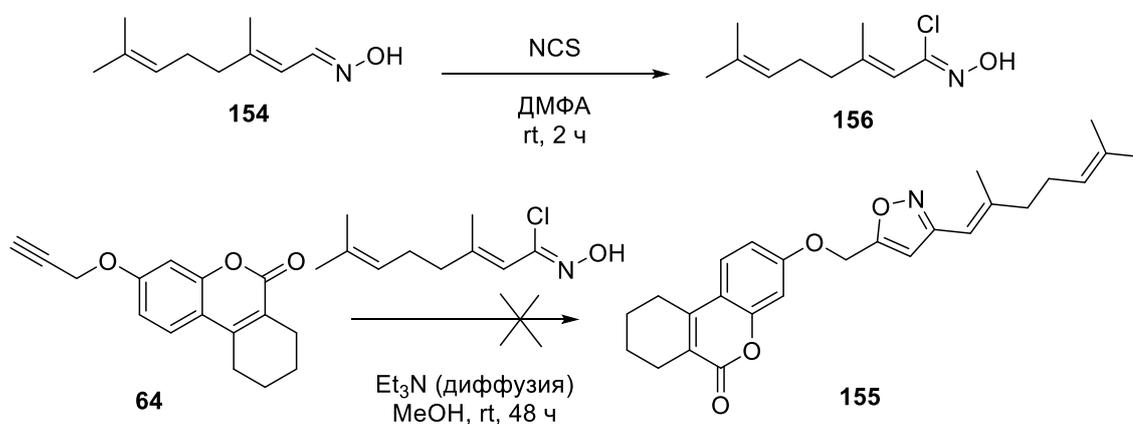


Схема 21 – Попытка синтеза продукта **155** из хлороксима **156**

Следующим протестированным подходом к производному **155** была замена PIFA на хлорамин Т для генерации нитрилоксидов по литературной методике [72]. В результате реакции, проведенной в смеси *трет*-бутилового спирта и воды с применением этого окислителя (Схема 22), целевой продукт также не был получен.

Синтез продукта **155** в ионной жидкости (смесь мочевины и хлорида холина (2:1)), что согласно литературным данным, стабилизирует заряженные частицы нитрилоксида [73]), с применением в качестве окислителя PIFA и при нагреве до 50 °С (Схема 22), также не привела к желаемому результату.

Описанный в литературе катализ процесса синтеза изоксазолов путем [3+2]-циклоприсоединения солями одновалентной меди, аналогично схеме, примененной ранее для генерации триазолов [56] также оказался безуспешным (Схема 22).

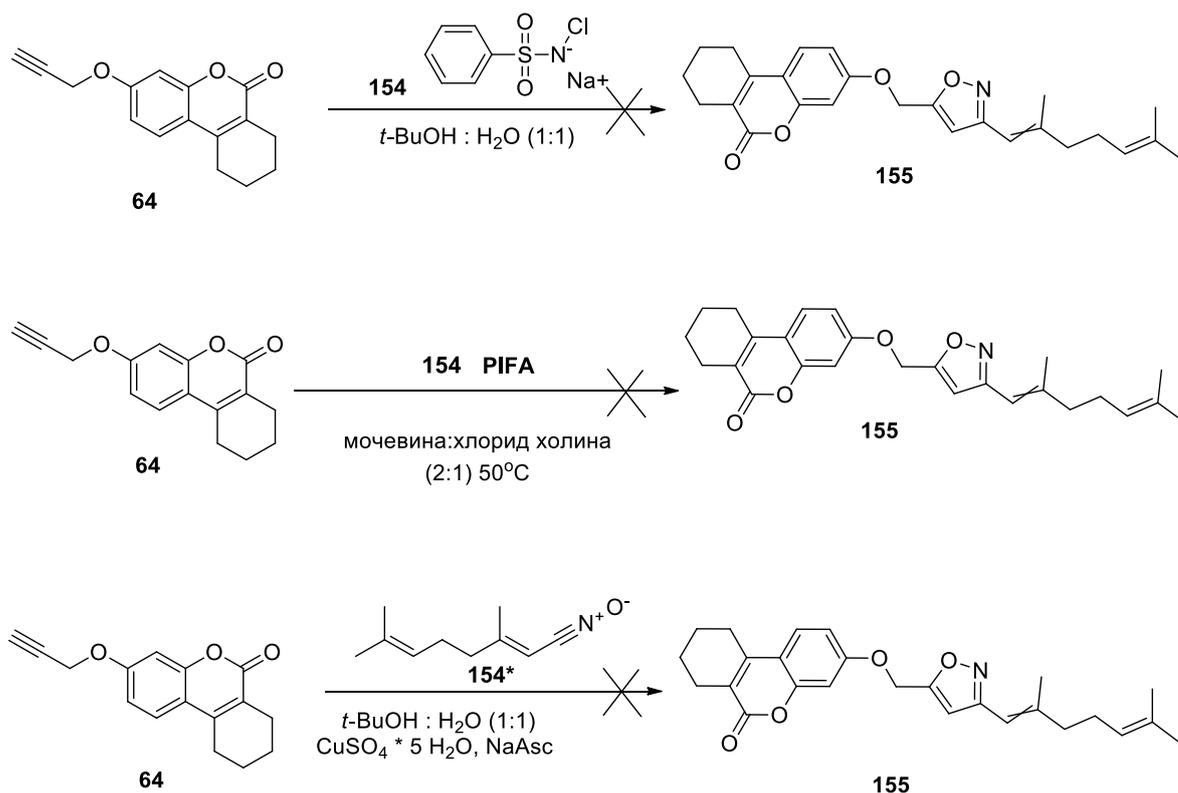


Схема 22 – Выбор методики синтеза соединения **155**

Еще один синтетический маршрут, включающий получение производного, содержащего оксимную группу при тройной связи, с последующей стадией внутримолекулярной циклизации в изоксазол [74,75], представлен на Схеме 23. Этот подход предполагал стадии образования хлорангидрида гераниевой кислоты **157** (ее взаимодействием с оксалил хлоридом), затем вовлечение хлорангидрида **158** в реакцию Соногаширы с пропаргиловым эфиром **64** в присутствии каталитических количеств дихлоробис(трифенилфосфин)палладия, PPh_3 , CuI , и триэтиламина согласно [76]. В результате неустойчивый инон **159** был получен с выходом 37%. Однако, заключительная реакция **159** с гидрохлоридом гидроксиламина, которая должна была привести к соответствующему оксиму **160** дала к сложную смесь продуктов, в которой целевой оксим обнаружен не был (Схема 23).

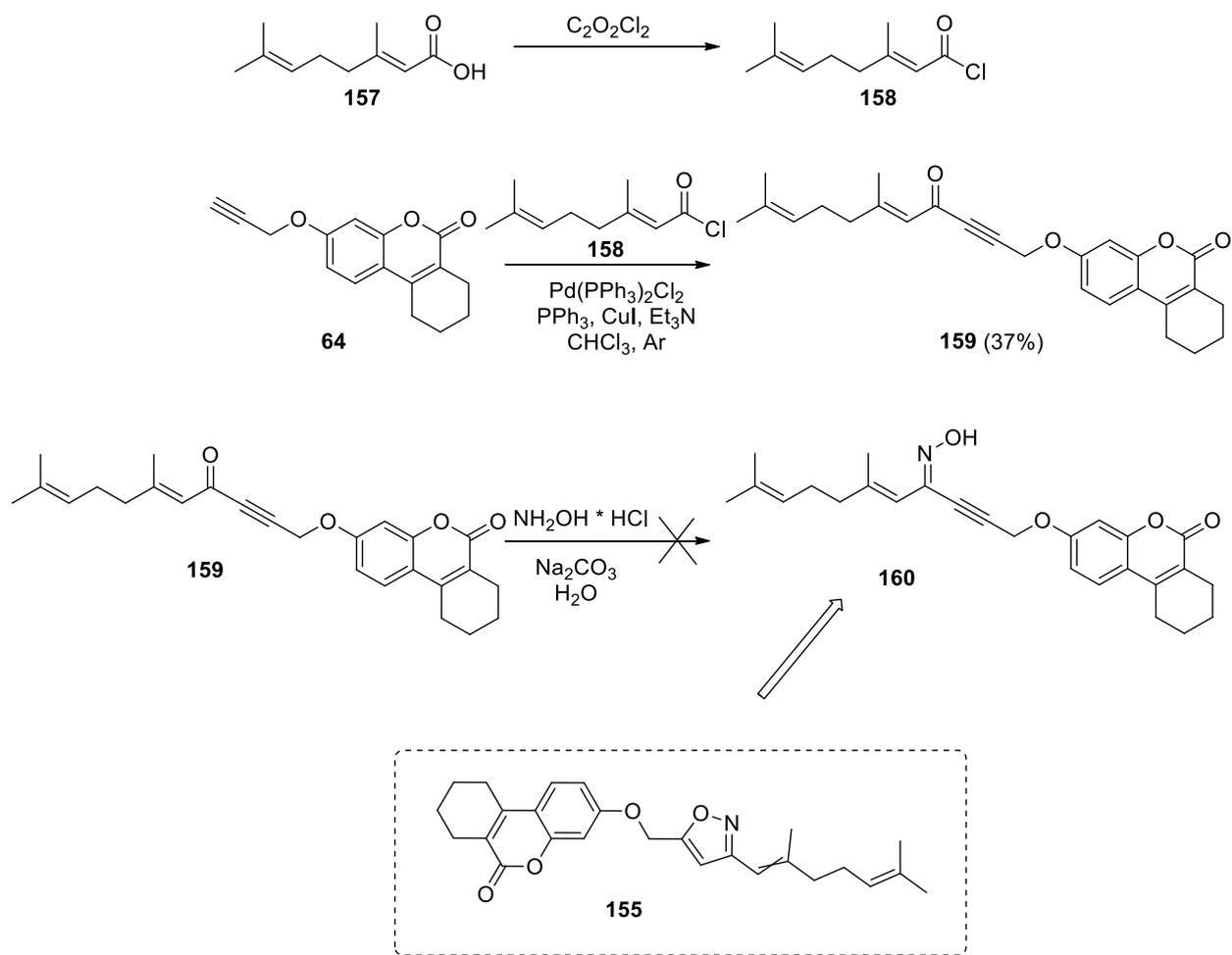


Схема 23 – Альтернативный подход к синтезу соединения **155**

Таким образом, продемонстрировано, что для получения конъюгатов терпенов и функционализированных кумаринов, связанных изоксазольным линкером, 1,3-диполярное циклоприсоединение нитрилоксидов к стартовым пропаргиловым эфирам 7-гидроксикумаринов является подходящим методом лишь в случае оксимов циклических терпеноидов. Альтернативным подходом для получения изоксазол-связанных конъюгатов с терпенами ациклического ряда (например, содержащих 2,6-диметилгептановый фрагмент), может быть взаимодействие 7-гидроксикумаринов с соответствующими 5-хлорметилизоксазольными производными [77].

ГЛАВА 3. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОНОТЕРПЕН- КУМАРИНОВЫХ КОНЪЮГАТОВ

3.1 Противовирусные свойства «кумарин-терпеновых» конъюгатов в отношении РСВ *in vitro* и *in silico*

Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ) — РНК-вирус, относящийся к семейству *Pneumoviridae*, вызывает острые инфекции дыхательных путей, в частности бронхиты и пневмонию, особенно опасные для младенцев и детей дошкольного возраста [78]. РСВ является основной причиной тяжелых инфекций нижних дыхательных путей у детей до пяти лет во всем мире, ежегодно вызывая около 33 млн случаев заболевания и более 3 млн госпитализаций [78]. Ежегодно от инфекций РСВ погибает более 100 тысяч детей раннего возраста, преимущественно в развивающихся странах [78]. Этот вирус также представляет серьезную угрозу для пожилых и лиц с ослабленным иммунитетом - среди взрослых старше 60 лет вирус приводит к частоте госпитализаций и смертности, сопоставимой с сезонным гриппом [78,79]. РСВ крайне заразен, и сезонные вспышки заболеваемости усиливают социальную нагрузку, в первую очередь, в отношении систем здравоохранения. Важно отметить, что перенесенная инфекция не формирует длительного иммунитета, позволяя вирусу многократно инфицировать человека на протяжении жизни [80]. Ввиду отсутствия одобренных терапевтических средств, за исключением рибавирина (в случае с РСВ, препарата с сомнительной клинической эффективностью и угрожающим уровнем токсичности), значительные усилия направлены на разработку низкомолекулярных противовирусных соединений с анти-РСВ активностью [78,6,7]. Совокупность перечисленных факторов делает разработку новых низкомолекулярных противовирусных препаратов против РСВ стратегически важной задачей в области медицинской химии.

В течение последнего десятилетия глубокое понимание структуры РСВ и механизмов его репликации – например, префузионной конформации поверхностного гликопротеина слияния F-белка, который вызывает слияние инфицированных клеток в гигантские многоядерные клетки (образование синцитиев), повреждая эпителий дыхательных путей, позволило использовать структурно-ориентированный подход к разработке лекарств в совокупности с

высокопроизводительным скринингом для поиска мощных ингибиторов репродукции РСВ [81].

3.1.1 *In vitro* оценка противовирусных свойств производных 93-112

Исследования анти-РСВ свойств синтезированных соединений, включая эксперимент «time-of-addition», были проведены в лаборатории химиотерапии вирусных инфекций НИИ гриппа им. Смородинцева под руководством канд. биол. наук Штро А.А. Цитотоксичность синтезированных конъюгатов **93-112** (величины CC_{50}) была оценена в отношении клеток Hep2 стандартным методом (МТТ-тест) [82]. Противовирусная активность **93-112** (величины IC_{50}) оценивалась по способности ингибировать репродукцию респираторного синцитиального вируса подтипов А и В (клетки и вирусы из коллекции лаборатории химиотерапии вирусных инфекций Института гриппа им. Смородинцева (С. Петербург)). Для каждого из соединений рассчитывали индекс селективности (SI), как отношение CC_{50}/IC_{50} . В качестве препарата сравнения использовали Рибавирин. Результаты скрининга анти-РСВ активности **93-112** представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Активность конъюгатов **93-112** в отношении РСВ А и В

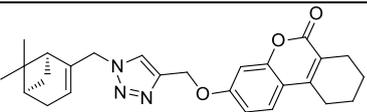
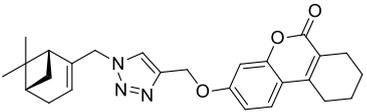
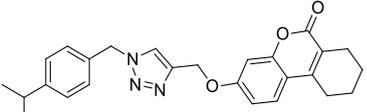
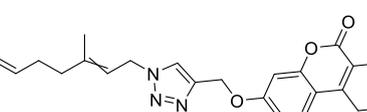
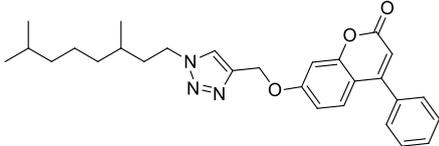
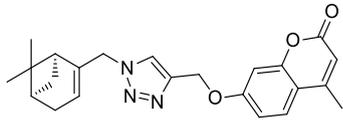
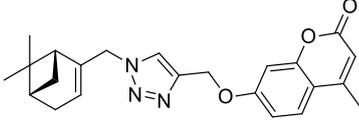
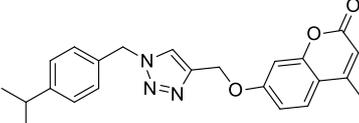
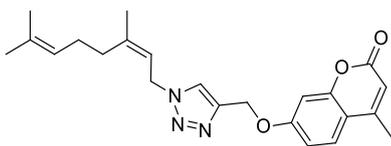
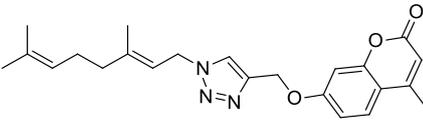
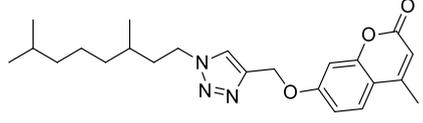
| Соединение | CC_{50} , μM | РСВ А | | РСВ В | |
|---|---------------------------|---------------------------|-----|---------------------------|-----|
| | | IC_{50} , μM | SI | IC_{50} , μM | SI |
| 93  | 25.5±1.2 | 4.1±0.3 | 6 | 3.5±0.9 | 7 |
| 94  | 30.12±2.6 | 0.6±0.1 | 50 | 1.3±0.1 | 23 |
| 95  | 37.7±9.8 | 22.1±4.7 | 2 | 23.5±5.1 | 1 |
| 96  | 279.09±22.6 | 0.46±0.1 | 605 | 1.2±0.1 | 233 |

Таблица 1 (продолжение)

| | | | | | | |
|-----|--|-------------|------------|-----|-----------|------|
| 97 | | 22.2±0.8 | 3.7±0.5 | 6 | 4.5±0.3 | 5 |
| 98 | | 52.7±4.4 | 6.9±0.8 | 8 | 7.2±2.0 | 7 |
| 99 | | 277.8±11.7 | 629.2±39.4 | 0.4 | 256.5±23 | 1 |
| 100 | | 38.5±2.5 | 21.7±1.7 | 2 | 25.6±1.9 | 2 |
| 101 | | 19.1±2.1 | 5.7±0.9 | 3 | 6.5±1.2 | 3 |
| 102 | | 264.43±20.5 | 1.65±0.2 | 160 | 0.23±0.03 | 1147 |
| 103 | | 43.44±2.65 | 4.19±0.7 | 10 | 6.3±1.0 | 7 |
| 104 | | 13.67±1.76 | <0.15 | >88 | 1.6±0.4 | 9 |
| 105 | | 85.71±9.08 | 4.87±0.7 | 17 | 6.6±2.5 | 13 |
| 106 | | 12.29±1.1 | 0.33±0.1 | 37 | 11.3±1.1 | 1 |

Таблица 1 (продолжение)

| | | | | | | |
|------------------|---|------------|------------|------------|----------|-----------|
| 107 |  | 14.6±1.8 | 4.1±0.6 | 4 | 5.2±0.9 | 3 |
| 108 |  | 22.2±3.1 | 6.6±0.2 | 3 | 7.6±2.1 | 3 |
| 109 |  | 14.3±2.9 | 6.4±0.4 | 2 | 7.0±1.6 | 2 |
| 110 |  | 20.0±3.7 | 2.2±0.1 | 9 | 3.2±0.8 | 6 |
| 111-Z |  | 14.74±2.29 | <0.2 | >96 | 1.1±0.2 | 13 |
| 111-E |  | 15.0±1.3 | 6.1±1.0 | 3 | 8.2±2.1 | 2 |
| 112 |  | 16.1±0.7 | 4.3±0.4 | 4 | 3.9±0.7 | 4 |
| Рибавирин | | >4095 | 31.1 ± 6.7 | 132 | 54.5±5.9 | 76 |

Согласно результатам скрининга соединения с аннелированным циклогексановым кольцом в среднем характеризуются низкой цитотоксичностью и умеренной активностью. Сочетание этих двух параметров обеспечивает этой группе соединений наибольшие средние значения селективности среди аналогов, как в отношении РСВ А, так и РСВ В. В эту группу входят соединение-хит **94** и соединение-лидер **96** (Таблица 1). Соединения с аннелированным циклопентановым фрагментом демонстрируют, наименьшую среднюю цитотоксичность, однако, и наименьшую среднюю ингибирующую активность среди всех исследованных соединений. В эту группу входит соединение-лидер **102**

(Таблица 1). Фенилзамещённые производные проявляют более выраженную ингибирующую активность, что выражается на примере соединений **103-106**, которые обладают $SI > 10$, однако, все они, в среднем, более цитотоксичны. Также для этой группы соединений наблюдается заметное различие в значениях ингибирующей концентрации между подтипами РСВ А и В. Метилзамещённые соединения **108-112** обладают наивысшими показателями токсичности и умеренно высокой ингибирующей активностью, за исключением активного *Z*-изомера соединения **111**.

Отметим, что конъюгаты с (+)- α -пиненом **93, 98, 103, 108** характеризуются умеренно высокой цитотоксичностью и умеренно низкими значениями ингибирующей концентрации. Соединения с (-)- α -пиненом **94, 99, 104, 109** обладают высокой средней токсичностью и наименьшей средней ингибирующей концентрацией, что, тем не менее, приводит к низким средним значениям индекса селективности. В эту группу также входит значимое соединение **94**. Конъюгаты, **95, 100, 105, 108**, содержащие фрагмент кумилового типа обладают умеренной токсичностью и наименьшей ингибирующей активностью, что обуславливает их самые низкие средние значения селективности. Конъюгаты **96, 101, 106, 111** с фрагментами типа цитраля демонстрируют низкую цитотоксичность и высокую ингибирующую активность, особенно в отношении РСВ А. Средний индекс селективности 3,5-триазолов, конъюгированных с цитралем, превышает таковой у любых соединений, содержащих циклические терпеноиды. Эта группа включает лидирующее соединение **96**. Конъюгаты **97, 102, 107, 112** с фрагментами типа 3,7-диметиллоктана, в среднем, демонстрируют наименьшую токсичность и высокую активность, однако эти параметры обусловлены, в первую очередь, эффективностью лидирующего соединения **102**. В результате, средняя селективность этой группы соединений также является высокой.

Таким образом, наиболее перспективными для дальнейшего исследования являются группы соединений, содержащие терпеноидные фрагменты ациклического строения, карбоцикл-аннелированные кумарины, а также 4-фенилзамещённые кумарины.

Соединения **94, 96** и **102** были выделены как наиболее активные в отношении обоих подтипов РСВ; для них был выполнен дополнительный цикл исследований

- «time of addition» эксперимент, позволяющий определить стадию жизненного цикла вируса, на которой соединения-лидеры **94**, **96** и **102** проявляют наибольшую активность.

Эксперимент «time of addition» («время прибавления»). С целью определения стадии жизненного цикла вируса, на которой соединения-лидеры **94**, **96** и **102** проявляют наибольшую активность, соединения добавляли в различные моменты времени относительно инфицирования клеток вирусом. Результаты эксперимента представлены на Рисунке 23, на котором CV — вирусный контроль, без добавления соединения; CC — контроль клеток; DC — контроль соединения, без инфицирования, аналогичный клеточному контролю. (соединение добавлялось в момент времени -2). Эксперимент проводили в условиях, отличающихся по времени прибавления компонентов, и соответственно обозначенными:

- -2:24 — соединение находилось в контакте с клетками за два часа до инфицирования, и в течении всего времени эксперимента;
- -2:-1 — соединение добавлялось в клетки и смывалось до введения вируса;
- -1:0 — соединение вносилось в предварительно охлаждённые до 5 °С клетки одновременно с вирусом и удалялось вместе с несвязанными вирусными частицами в момент времени 0;
- 0:24 — соединение добавлялось сразу после удаления несвязанных вирусных частиц;
- 2:24 — соединение вносилось через два часа после удаления несвязанных вирусных частиц;
- 4:24 — соединение добавлялось через 4 часа;
- 6:24 — соединение добавлялось через 6 часов;
- 8:24 — соединение добавлялось через 8 часов.
- 23:24 — соединение добавлялось через 23 часа.

На основании полученных данных установлено, что соединения проявляют активность на ранних и средних стадиях жизненного цикла вируса, что соответствует этапам связывания и начала репликации, в регуляции которых участвует F-белок РСВ [83] и белки репликационного комплекса вируса. В тоже время, соединение **96** не проявило антивирусной активности в интервале $-1 \div 0$, и также, как остальные соединения продемонстрировали слабую активность в

интервалах $-2 \div -1$ и $-1 \div 0$. Данный экспериментально установленный факт, с большой долей вероятности исключает клеточные рецепторы и G-белок РСВ как потенциальные мишени для данной группы соединений.

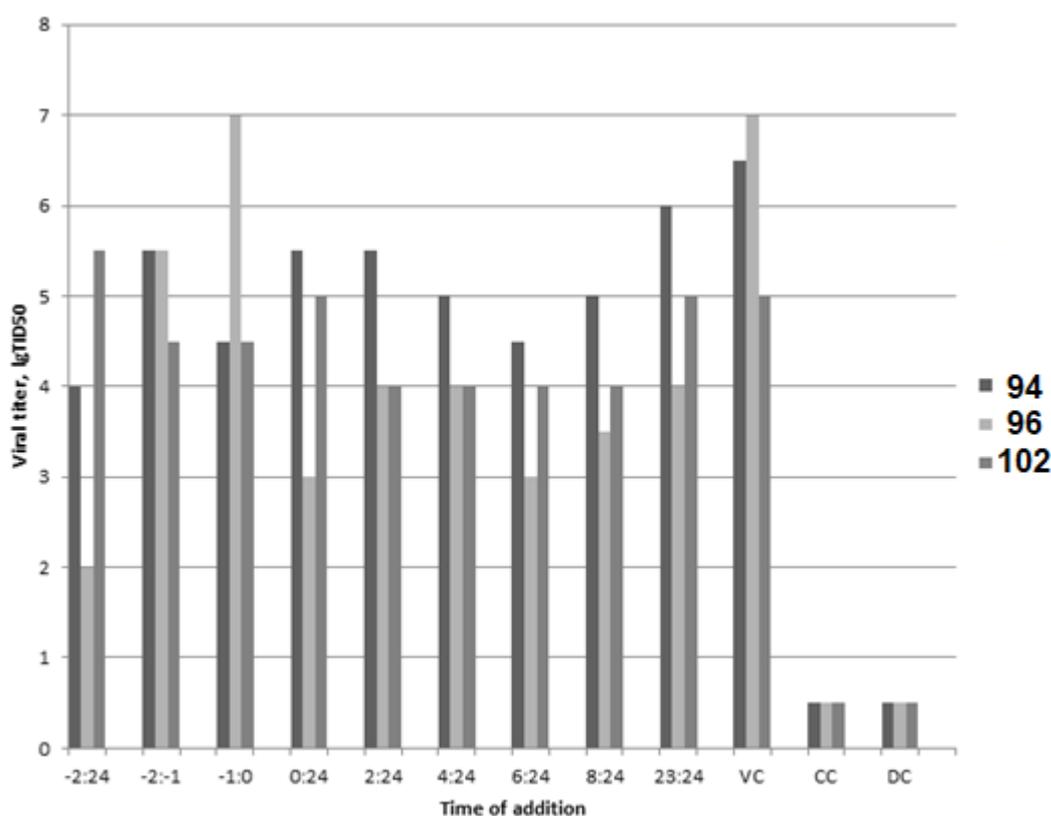


Рисунок 23 – Результаты «time of addition» эксперимента для соединений-хитов 94, 96 и 102

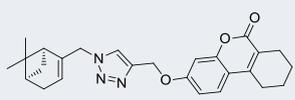
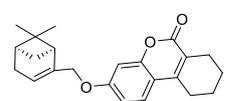
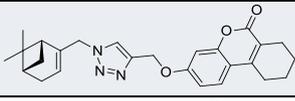
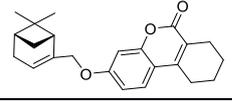
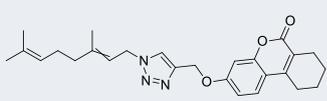
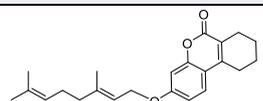
3.1.2 *In silico* оценка анти-РСВ активности синтезированных триазол-связанных кумарин-терпеновых конъюгатов 93-112

In silico исследования и анализ зависимости «структура-активность» для соединений 93-112 и соответствующих им кумаринов, модифицированных терпеновыми остатками 18, 39, 40, 42, 43, 101-А, 108-А, 109-А и 111-А, были проведены совместно с д-ром хим. наук Борисевич С.С. (УФИХ УФИЦ РАН) в рамках совместной работы. Процедура молекулярного докинга проведена в активный сайт фузогенного белка F РСВ – наиболее вероятной согласно результатам «time of addition» эксперимента, молекулярной мишени для лидирующих по своей анти-РСВ активности соединений. Геометрические параметры полноразмерного F-белка (PDB-код 7LVW [83]) RSV А человека были

загружены из некоммерческой базы данных Protein Data Bank [84]. Полость, расположенная в центральной области F-белка, была идентифицирована как потенциальный сайт связывания, которая содержит несколько аминокислот с ароматическими и гидрофобными свойствами, которые соответствуют петлям слияния (FP) и гептапептидным повторам (HR). К ключевым АК относятся фенилаланин (Phe) в положениях 140 и 488, лейцин (Leu) в положении 141 и аспарагиновая кислота (Asp) в положениях 486 и 487. Ранее было показано [6,7], что производные фенилкумарина связываются именно с этим сайтом связывания, влияя на вторичную структуру белков.

Для каждого из соединений, представленных в Таблице 2, были рассчитаны энергии связывания ΔG_{bind} (ккал/моль) и определены основные типы взаимодействия с аминокислотами активного сайта белка F. Результаты расчетов представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Сравнительные результаты молекулярного докинга в активный сайт белка F РСВ некоторых триазол-связанных кумарин-терпеновых конъюгатов и терпен-модифицированными кумаринов

| Соединение | ΔG_{bind} , ккал/моль | Взаимодействия с АК (цепи А, В, D) | |
|--|---|------------------------------------|---|
| | | Н-связи | π - π стэкинг-взаимодействие |
| 93  | -64.00 | - | D: F488 (Phe488) D: F488 (Phe488), F140 (Phe140), B: F488(Phe488) |
| 40  | -62.53 | - | A: F488 (Phe488); B: F148 (Phe148); F488 (Phe488) |
| 94  | -85.54 | A: F488 (Phe488) | D: F488 (Phe488) F140 (Phe140) |
| 42  | -51.76 | A: D486(Asp486) | - |
| 96  | -85.28 (<i>E</i>) | | A: F488 (Phe488) |
| | -71.11 (<i>Z</i>) | A: F488 (Phe488) | A: F140 (Phe140) D: F488 (Phe488) |
| 39  | -80.12 | - | A: F488 (Phe488) B: F140 (Phe140) |

| Таблица 2 (продолжение) | | | | |
|-------------------------|--|---------------------|---|--|
| 98 | | -70.5 | A: F488 (Phe488) | A: F488 (Phe488) B: F488 (Phe488) D: F488 (Phe488) |
| 18 | | -72.80 | - | A: F488 (Phe488) B: F140 (Phe140) |
| 99 | | -61.40 | A: Q494 (Gly494) | A: F488 (Phe488) D: F488 (Phe488) |
| 43 | | -52.93 | A: F488 (Phe488) | - |
| 101 | | -80.83 (<i>E</i>) | - | D: F137 (Phe137) A: F488 (Phe488), B: F140 (Phe140) |
| | | -73.68 (<i>Z</i>) | A: F488 (Phe488), D489(Asp489) | D: F488 (Phe488) |
| 161 | | -66.09 | - | A: F488 (Phe488) B: F140 (Phe140), F488 (Phe488) |
| 108 | | -72.86 | A: F488 (Phe488) | A: F488 (Phe488) B: F140 (Phe140), F488 (Phe488) D: F488 (Phe488) |
| 162 | | -69.35 | - | A: F488 (Phe488) D: F488 (Phe488) |
| 109 | | -65.56 | A: D489 (Asp489), F488 (Phe488) | A: F488 (Phe488) B: F488 (Phe488), F140 (Phe140) D: F488 (Phe488) |
| 163 | | -51.11 | - | D: F488 (Phe488) |
| 111- <i>E</i> | | -72.91 (<i>E</i>) | - | D: F488 (Phe488) |
| 111- <i>Z</i> | | -82.99 (<i>Z</i>) | - | D: F488 (Phe488) |
| 164 | | -67.02 | - | B: F140 (Phe140), F488(Phe488) |

Взаимодействия с аминокислотами активного сайта, обусловленные наличием в молекулах лигандов триазольного фрагмента, выделены жирным шрифтом.

Отметим, что соединения **96**, **101** и **111** могут существовать в двух изомерных формах – *Z* и *E*. Квантово-химические расчёты (B3LYP-D3/6-31G(d,p)) показали (Рисунок 24), показали, что полная энергия их *E*-стереоизомеров ниже, чем у соответствующих *Z*-изомеров.

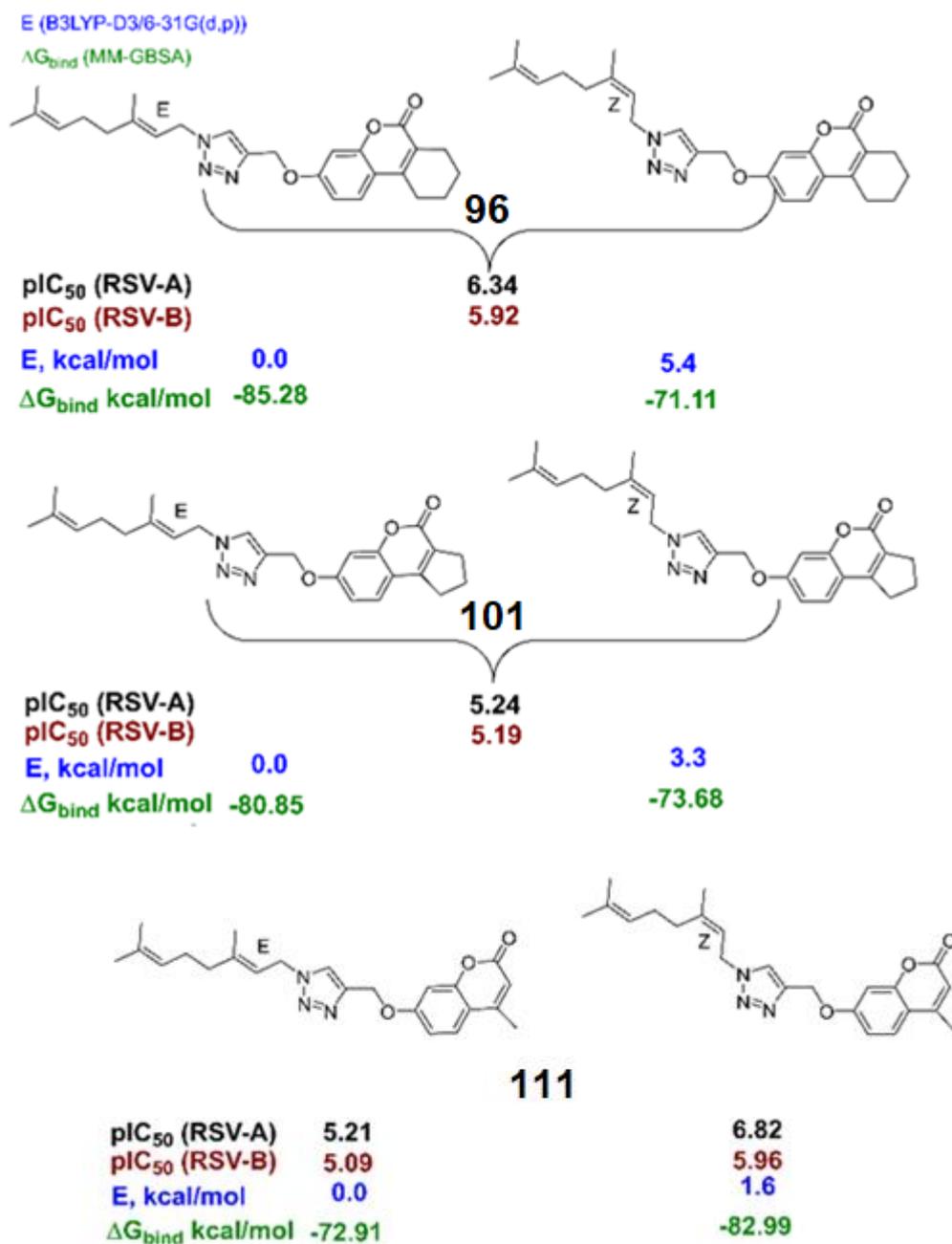


Рисунок 24 – Значения E и ΔG_{bind} для *Z*-*E*-изомеров соединений **96**, **101** и **111**, характеризующие их активность в отношении РСВ-А и РСВ-В

В то же время, значение энергии с ΔG_{bind} связывания в случае **Z-111** оказалось заметно ниже, чем у **E-111**, что, сопоставимо с расчетными характеристиками для **E-96** и **E-101** (все значения лежат в интервале $-80.85 \div -85.28$ ккал/моль) и соответствует сравнительной активности **Z-111** и **E-111** в отношении РСВ А и РСВ В ($IC_{50} < 0.2$ и 6.1 ± 1.01 μM , а также 1.1 ± 0.2 и 8.2 ± 2.1 μM , соответственно, Таблица 1), которые были определены отдельно.

Что касается соединений **97**, **107**, **102** и **112** молекулярное моделирование было выполнено для каждого из возможных *R* и *S* энантиомеров (Рисунки 23 и 24). Согласно полученным результатам, *R*-стереоизомеры соединений **97**, **107**, **102** и **112** характеризуются более высокой аффинностью к активному сайту белка F (их значения их ΔG_{bind} ниже) по сравнению с соответствующими *S*-стереоизомерами на 15–25 ккал/моль, чем у *S*-форм, в зависимости от соединения (Рисунок 25), что, безусловно, необходимо учитывать, в последующих этапах разработки новых ингибиторов репродукции РСВ в ряду триазол-связанных кумарин-терпеновых конъюгатов.

Взаимодействия лидирующего соединения **102** (характеризуется низкой цитотоксичностью и эффективно ингибирует репликацию вируса при низких концентрациях (Таблица 1)) с аминокислотной последовательностью активного сайта белка F для каждого из его энантиомеров представлены на Рисунке 26.

Оба стереоизомера **102** локализуются в полости связывания таким образом, что гидрофобные алифатические фрагменты молекулы располагаются между гидрофобными фенилаланинами фузогенного пептида. Их триазольные фрагменты располагаются между F140 (Phe140) и F488 (Phe488) всех протомеров.

Благодаря высокой конформационной гибкости молекула способна формировать π - π стекинг-взаимодействия с аминокислотами связывающего центра (Рисунок 26). Кумариновые фрагменты ориентированы ближе к гептадным повторам и склонны к образованию водородных связей, например, с остатком T335, как в случае *R*-стереоизомера.

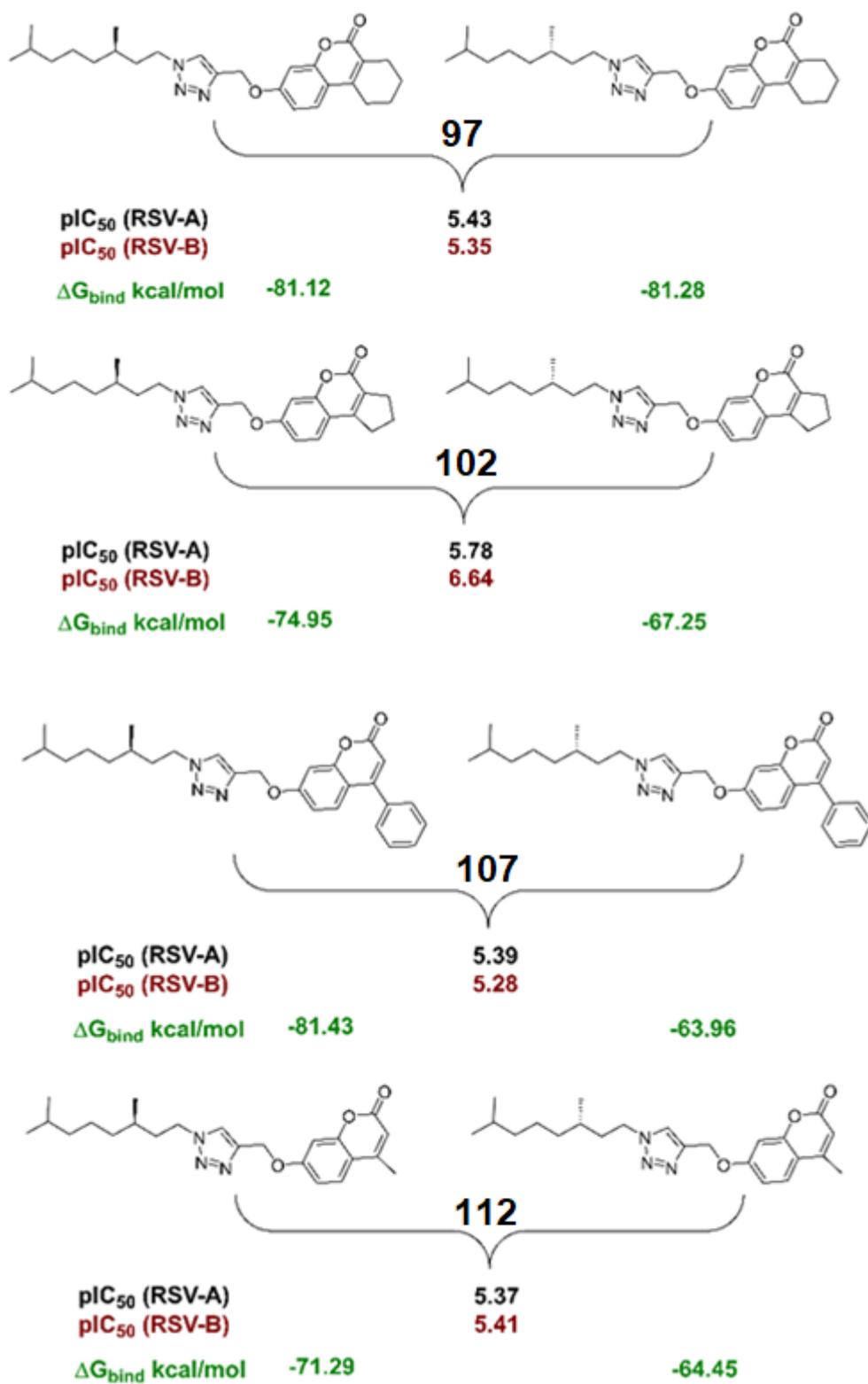


Рисунок 25 – Значения E и ΔG_{bind} для соединений **97**, **102**, **107** и **112** в активном сайте белка F РСВ

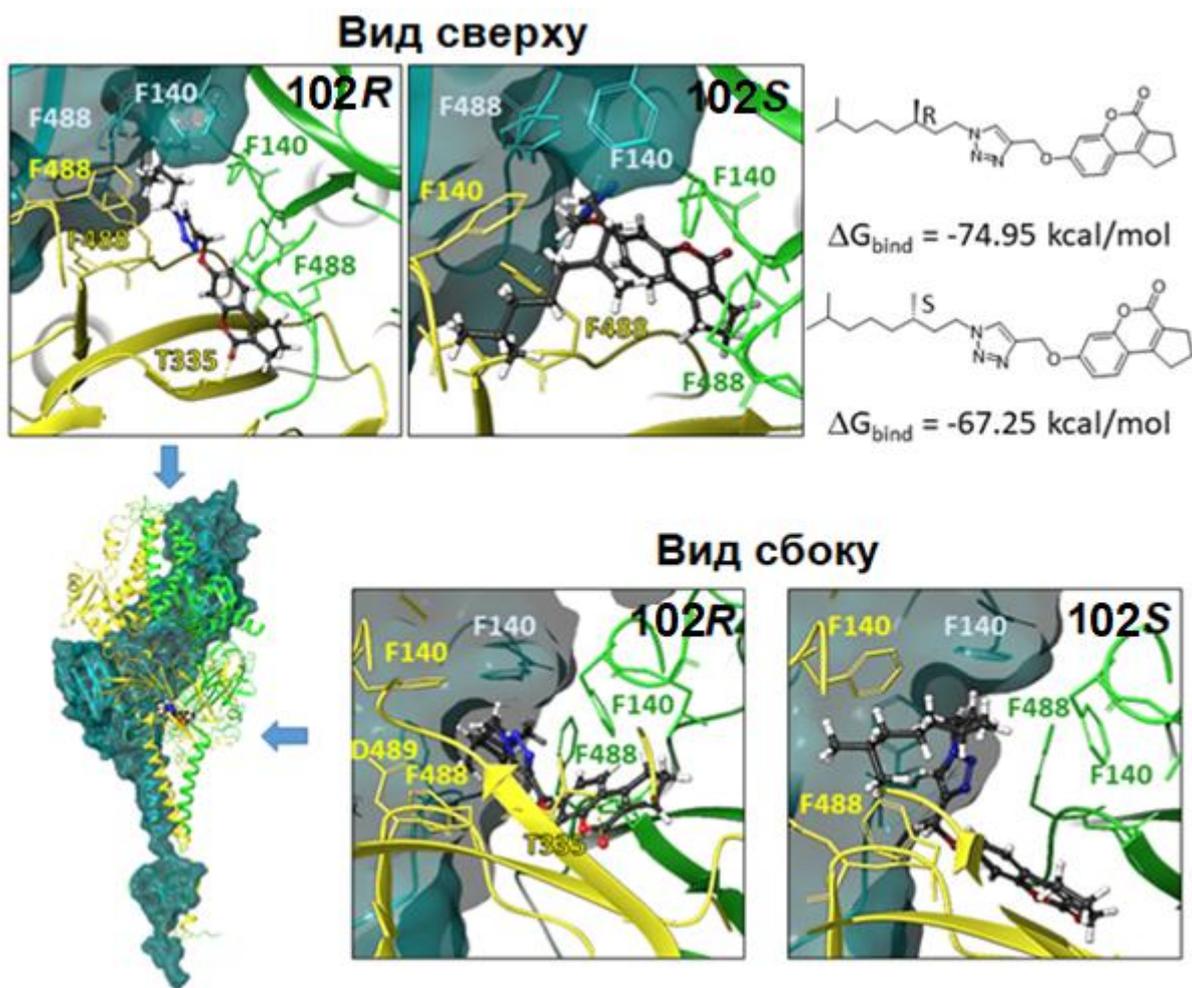


Рисунок 26 – Докинг-позы *R* и *S* стереоизомеров лидирующего соединения **102** в связывающей полости F-белка

Обобщая данные, представленные в Таблицах 1,2 и на Рисунках 22-24, можно предположить, что поскольку введение триазольного линкера приводит к увеличению размеров молекулы, то при локализации лигандов **93–112** в связывающей полости белка F триазольный фрагмент участвует в формировании дополнительных водородных связей с остатками F488 (Phe488) и D489 (Asp489), а также π - π стекинг-взаимодействий с остатками F488 (Phe488), F140 (Phe140) и F137 (Phe137), что, согласно литературным данным [85] стабилизируют F-белок, предотвращая преждевременные конформационные переходы. Предполагается, что присутствие лиганда внутри тримера F-белка может нарушать энергетическую стабильность структуры и вызывать преждевременные конформационные

изменения до момента прикрепления к клетке-хозяину, что в свою очередь приводит к потере фузогенной функции белка.

В тоже время, сравнивая анти-PCV активность библиотеки соединений **93-112**, определенную *in vitro*, с литературными данными, полученными ранее для производных кумаринов, модифицированных терпеновыми фрагментами [6,7] можно сделать выводы о том, что почти во всех случаях (и для PCV А, и для PCV В) введение триазольного фрагмента повышает общую цитотоксичность молекул (их значения CC_{50} превышают таковые, установленные для «простых» кумарин-терпеновых конъюгатов), ингибирующая активность же, как правило, сопоставима, а иногда значительно выше – среди новых триазол-связанных конъюгатов найдены соединения, ингибирующие репродукцию PCV обоих подтипов в субмикромольном интервале концентраций IC_{50} , с индексами селективности ($SI = CC_{50}/IC_{50}$ от 37 до 1147 (Таблица 1) [59,60].

3.1.3 Противовирусная активность дополнительной библиотеки соединений

Поскольку данные, полученные в ходе анализа взаимосвязи «структура-активность» и исследований *in silico* первой библиотеки триазол-связанных терпен-кумариновых конъюгатов **93-112** (Таблица 2 и Рисунки 24-26), указывают на то, что введение в молекулу дополнительных фрагментов, способных к дополнительным взаимодействиям с аминокислотами активного сайта белка F (водородные связи и/или π - π стекинговые взаимодействия), может благоприятно сказаться на ингибирующих свойствах конъюгатов, было принято решение о расширении библиотеки кумарин-терпеновых конъюгатов за счет производных, содержащих *n*-метоксифенильный фрагмент в 4 положении кумаринового остова и гидроксицитронеллаль в качестве терпеновой субъединицы, а также за счет изоксазол-связанных производных [86,87].

Противовирусная активность в отношении PCV подтипа А дополнительно синтезированных конъюгатов **121-130**, полученных из пропаргилового эфира 7-гидрокси-4-(4-метоксифенил)-2*H*-хроменон-2-она **116** и азидов терпенов **76, 80, 84, 87, 90** и **120**, а также конъюгатов кумаринов **64, 67, 70** и **73** с азидом гидроксицитонеллала **120** и изоксазол-содержащих конъюгатов **136-147** и **149-152** представлена в Таблице 3.

Таблица 3 (продолжение)

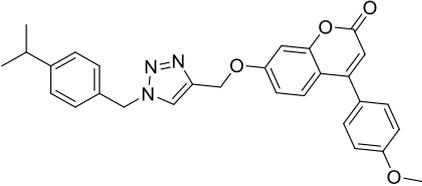
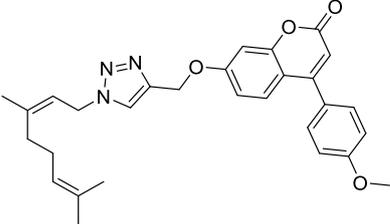
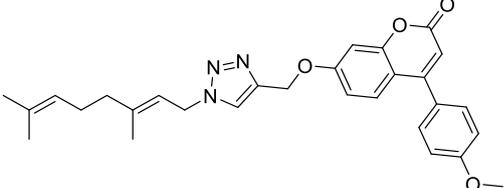
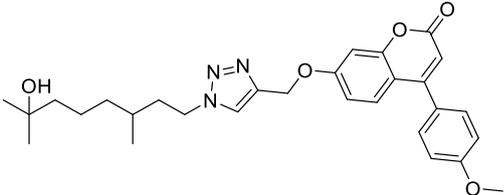
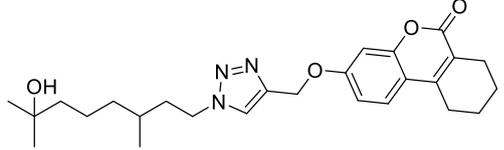
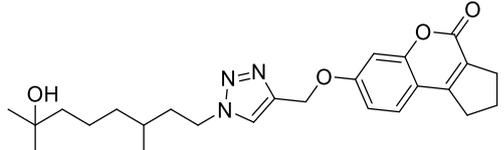
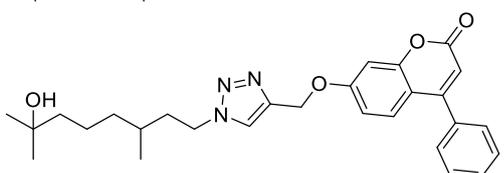
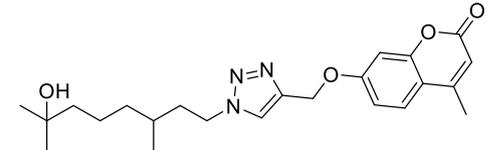
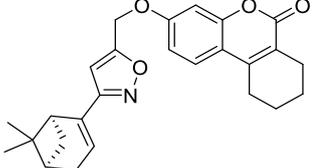
| | | | | |
|-------|---|----------|------------|-----|
| 123 |  | 320±42.3 | 37±0.3 | 8.6 |
| 124-Z |  | 2.3±0.7 | 2.7±0.3 | 0.9 |
| 124-E |  | 2.8±0.2 | 1.5±0.1 | 1.9 |
| 126 |  | 5.9±0.8 | 0.21±0.09 | 28 |
| 127 |  | 6.2±0.9 | 0.85±0.1 | 7.2 |
| 128 |  | 5.7±0.8 | 0.034±0.03 | 167 |
| 129 |  | 5.7±1.2 | 0.15±0.02 | 38 |
| 130 |  | 6±0.4 | 0.14±0.01 | 43 |
| 136 |  | 8.5±2.3 | <0.1 | 85 |

Таблица 3 (продолжение)

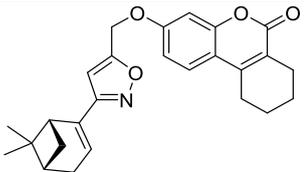
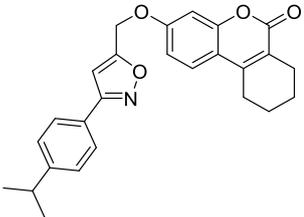
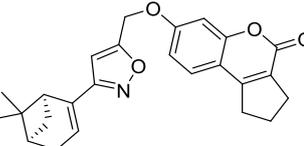
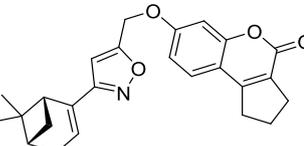
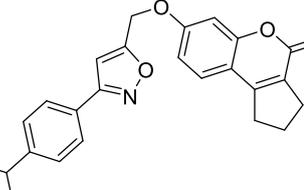
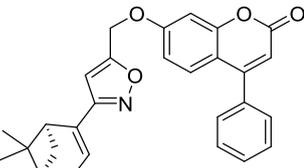
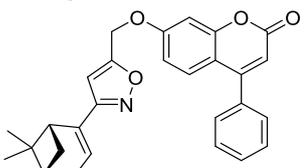
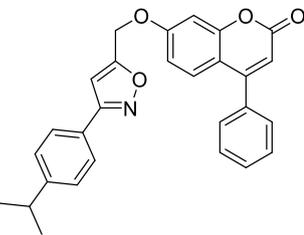
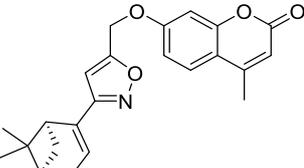
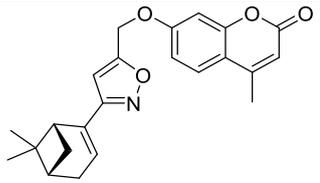
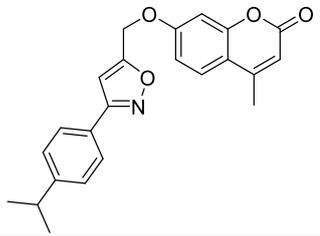
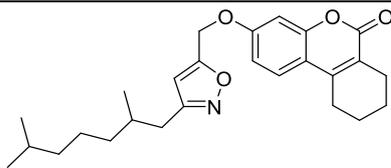
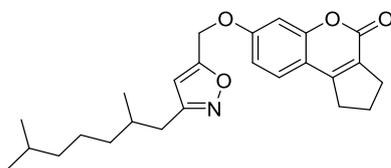
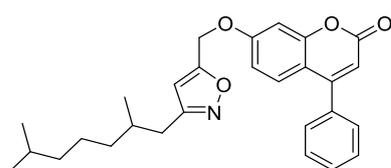
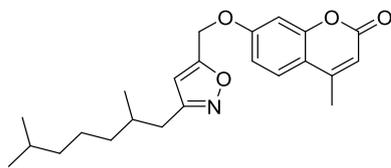
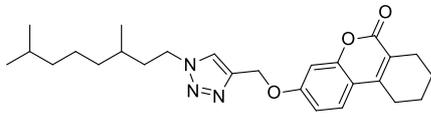
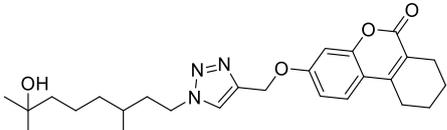
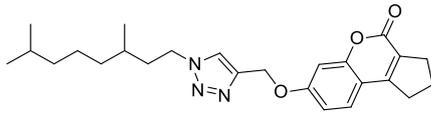
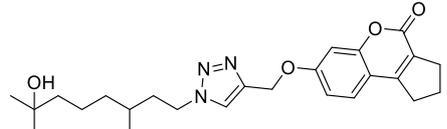
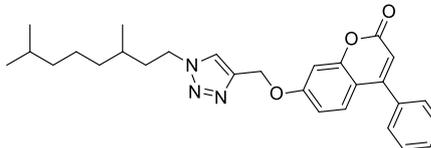
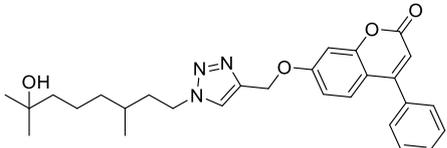
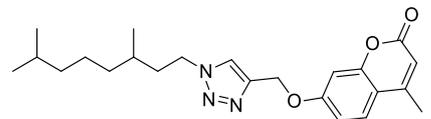
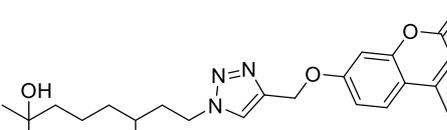
| | | | | |
|-----|---|----------|---------|-----|
| 137 |  | 26±4.5 | 9.2±1.0 | 2.8 |
| 138 |  | 7.9±1.2 | <0.09 | 88 |
| 139 |  | 0.4±0.3 | >0.4 | <1 |
| 140 |  | <7.8 | 2.6±0.4 | 3 |
| 141 |  | 52.8±8.9 | >50 | 1.1 |
| 142 |  | 10.4±1.6 | >10± | 1 |
| 143 |  | 4.9±0.1 | >5 | 1 |
| 144 |  | 22.7±0.3 | >20 | 1 |
| 145 |  | 15.4±3.2 | 6±0.3 | 2.6 |

Таблица 3 (продолжение)

| | | | | |
|------------------|---|------------|-----------|------------|
| 146 |  | 5.0±0.1 | 1.6±0.1 | 3.1 |
| 147 |  | 8.0±0.8 | >8 | 1 |
| 149 |  | 4.8±0.9 | 1.33±0.3 | 3.6 |
| 150 |  | 151.1±20.5 | 36.6±23.1 | 4.1 |
| 151 |  | 27.3±1.5 | 7.9±1.5 | 3.5 |
| 152 |  | 3.4±0.9 | 1.7±0.9 | 2 |
| Рибавирин | | 4095 | 31.1 | 131 |

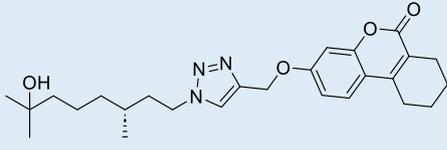
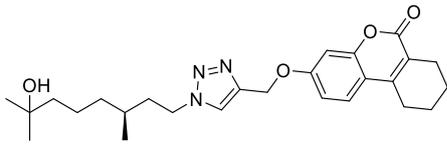
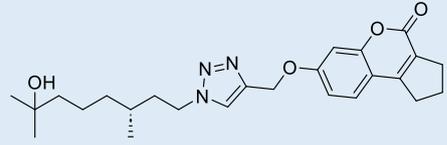
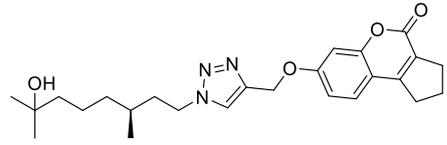
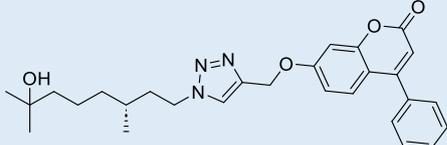
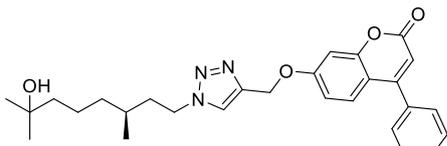
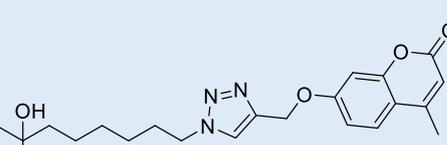
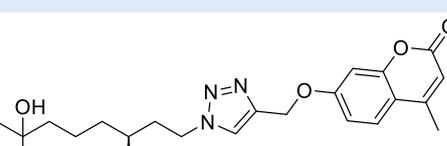
Необходимо отметить, что наличие гидроксильной группы в ациклическом терпеноидном фрагменте приводит к резкому повышению противовирусной активности синтезированных триазол-содержащих конъюгатов **127-130** – уменьшение ингибирующей концентрации (соответствует увеличению активности в отношении РСВ А) наблюдается в диапазоне от 4.1 раза до 56.7 раз (Таблица 4).

Таблица 4 – Влияние гидроксильной группы соединений **127-130** на ингибирующую активность в отношении РСВ А

| Соединение | IC ₅₀ | Соединение | IC ₅₀ | Отношение |
|---|------------------|--|------------------|-----------|
|  97 | 3.7 |  127 | 0.9 | 4.1 |
|  102 | 1.7 |  128 | 0.03 | 56.7 |
|  107 | 4.1 |  129 | 0.2 | 20.5 |
|  112 | 4.3 |  130 | 0.1 | 43 |

Результаты молекулярного моделирования взаимодействия каждого из *R* и *S* стереоизомеров соединений **127-130** с белком F РСВ (выполненные по аналогии с моделированием взаимодействия соединений **93-112**) позволяют предположить, что гидроксильные фрагменты ациклической терпеновой части способствуют увеличению аффинности благодаря образованию дополнительных водородных связей с аминокислотами белка F РСВ (Таблица 5). Отметим, что значения энергии связывания соответствующих *R* энантиомеров заметно ниже, чем у *S*, что согласуется с данными, представленными на Рисунке 25. Докинг-поза соединения-лидера **128** (для его *R*-энантиомера) представлена на Рисунке 27.

Таблица 5 – Образование дополнительных водородных связей гидроксильной группой соединений **127-130**

| | Соединение | ΔG_{bind} , ккал/моль | Водородные связи гидроксигруппы с АК |
|--------------|---|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 127R |  | -86.35 | C: SER398 |
| 127S |  | -71.90 | C: SER398 |
| 128R |  | -76.50 | C: SER398 C: THR400 |
| 128S |  | -80.47 | C: ARG339 E: PHE140 |
| 129R |  | -100.50 | C: SER398 C: THR400 |
| 129S |  | -97.70 | C: THR400 |
| 130R |  | -82.53 | F: SER398 |
| 130 S |  | -81.52 | E: GLU487 E: PHE488 E: ASP489 |

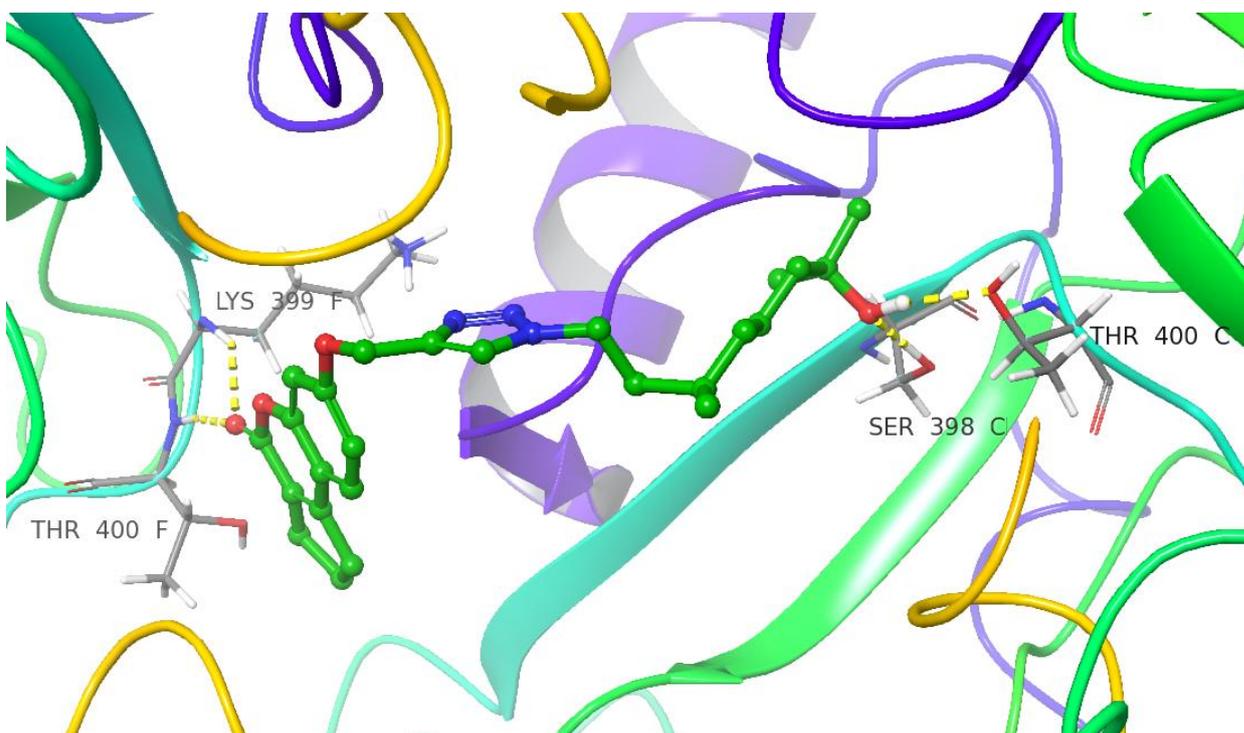


Рисунок 27 – Докинг-поза конъюгата **128R** в 7LVW активном сайте белка F PCB.

Водородные связи обозначены желтыми пунктирными линиями

Таким образом, увеличение ингибирующей активности репродукции РСВ триазол-связанными терпен-кумариновыми конъюгатами, содержащими гидроксильные группы, может быть связано с образованием дополнительных водородных связей с аминокислотами активного сайта белка F PCB (в первую очередь, с SER398 цепи C, а также с THR400, ARG339, PHE140, GLU487, PHE488 и ASP489, Таблица 5), что согласуется с результатами *in vitro* скрининга их анти-PCB активности.

3.1.4 Анализ взаимосвязи «структура – анти-PCB активность» в ряду триазол-связанных кумарин-терпеновых конъюгатов 93-112, 121-124, 126-130, 136-147, и 149-152

Проведённый анализ взаимосвязи структуры и противовирусной активности синтезированных монотерпен-кумариновых конъюгатов позволил выявить ряд закономерностей, которые иллюстрируются «тепловыми картами» (Таблицы 6, 7 и 8), где ячейки пересечений окрашены в оттенки зеленого, желтого и красного цвета в зависимости от значения IC_{50} (μM) соответствующего конъюгата: зелёный цвет

соответствует низким значениям IC_{50} (большей активности), красный цвет соответствует высоким значениям IC_{50} (низкой активности) в ряду соединений.

Таблица 6 – Взаимосвязь «структура – IC_{50} (PCB A)» монотерпен-кумариновых конъюгатов, связанных триазольным линкером

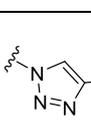
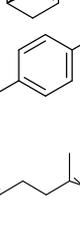
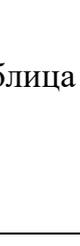
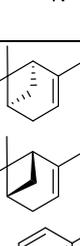
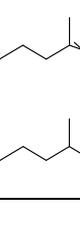
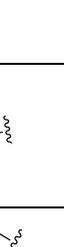
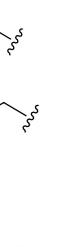
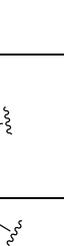
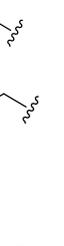
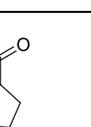
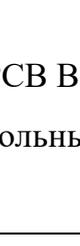
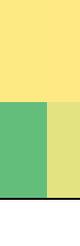
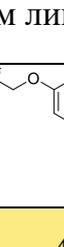
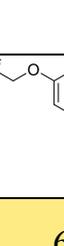
|  |  |  |  |  |
|---|---|---|---|---|
|  | 4.1 | 6.9 | 4.2 | 6.6 |
|  | 0.6 | 629.2 | 0.2 | 6.4 |
|  | 22.1 | 21.7 | 4.9 | 2.2 |
|  | 0.5 | 5.7 | 0.3 | 6.1 |
|  | 3.7 | 1.7 | 4.1 | 4.3 |

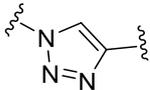
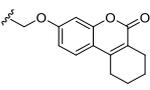
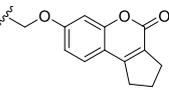
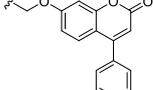
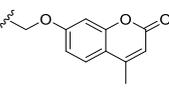
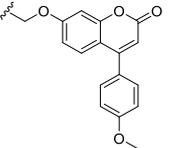
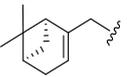
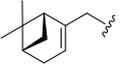
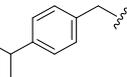
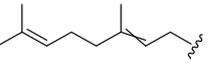
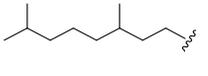
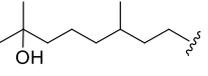
Таблица 7 – Взаимосвязь «структура – IC_{50} (PCB B)» монотерпен-кумариновых конъюгатов, связанных триазольным линкером

|  |  |  |  |  |
|---|--|--|--|--|
|  | 3.5 | 7.2 | 6.3 | 7.6 |
|  | 1.3 | 256.5 | 1.6 | 7.0 |
|  | 23.5 | 25.6 | 6.6 | 3.2 |
|  | 1.2 | 6.2 | 11.3 | 8.2 |
|  | 4.5 | 0.2 | 5.2 | 3.9 |

Так, наибольшей ингибирующей активностью в отношении РСВ А и В обладают триазол-связанные конъюгаты, содержащие аннелированное циклогексановое кольцо в структуре кумарина (5 соединений из 10 по данным двух таблиц попадают в «зеленую зону», к группе с меньшей активностью можно отнести производные 4-фенил-замещенного кумарина – в зеленую зону попадают 3 из 10 соединений).

Существенное влияние на активность триазол-связанных кумарин-терпеновых конъюгатов оказывает и природа терпенового фрагмента: наилучшие показатели продемонстрировали конъюгаты с ациклическими (цитраль-) и гидроксильными ациклическими (гидрокицитронеллаль-) терпеновыми остатками (Таблица 8) – 3 и 5 соединений с указанными заместителя попадают в «зеленую зону», соответственно.

Таблица 8 – Взаимосвязь «структура – IC₅₀ (РСВ А)» расширенной библиотеки конъюгатов, связанных триазольным линкером

|  |  |  |  |  |  |
|---|---|---|--|---|---|
|  | 4.1 | 6.9 | 4.2 | 6.6 | 2.5 |
|  | 0.6 | 629.2 | 0.2 | 6.4 | 20.3 |
|  | 22.1 | 21.7 | 4.9 | 2.2 | 37.0 |
|  | 0.5 | 5.7 | 0.3 | 6.1 | 1.5 |
|  | 3.7 | 1.7 | 4.1 | 4.3 | --- |
|  | 0.9 | 0.03 | 0.2 | 0.1 | 0.2 |

В целом, природа гетероциклического линкера в кумарин-терпеновых конъюгатах в случае с анти-РСВ активностью имеет критическое значение: соединения, содержащие 1,2,3-триазольный линкер, существенно превосходят по

активности изоксазолные аналоги. Наиболее перспективные соединения **96**, **102** и **128** существенно превосходят препарат сравнения рибавирин и по активности, и по индексу селективности (Таблицы 1 и 3).

3.2 Ингибирующая активность кумарин-терпеновых конъюгатов, связанных гетероциклическим линкером, в отношении фермента TOP1

Топоизомераза 1 (TOP1) играет важную роль в репликации, транскрипции и поддержании геномной стабильности [88]. Ингибиторы TOP1 способны стабилизировать комплекс расщепления TOP1-ДНК (TOP1cc), вызывая повреждение ДНК [89]. В свою очередь, повреждения ДНК активируют каскад репаративных путей для поддержания ее геномной стабильности и целостности. Одним из участвующих в репарации ферментов является TDP1 [90]. Фермент TDP1 специфически гидролизует 3'-фосфотирозильную связь в TOP1cc [91], образуя фрагменты ДНК с 5'-гидроксильными и 3'-фосфатными концами [92]. В дальнейшем, с целью восстановления сломанной ДНК, вовлекаются пути репарации через ген XRCC-1, опосредованного поли(АДФ-рибоза)-полимеразой-1 (PARP-1), вовлекает активность полинуклеотидкиназы-фосфатазы (PNKP), ДНК-полимераз и ДНК-лигазы III (LIG3) [93]. Таким образом, гидролиз 3'-фосфотирозильной связи TDP1 является ключевым этапом устранения повреждений ДНК, вызванных TOP1cc [94,95].

Фундаментальные клеточные процессы зависят от репликации и транскрипции ДНК, которые требуют разделения двойной спирали с образованием матрицы-шаблона [94]. TOP1 разрезает одноцепочечную ДНК на её 3'-конце, образуя обратимую тирозил-ДНК-фосфодиэфирную связь между Tyr723 TOP1 и фосфатной группой сайта разрыва, формируя TOP1cc [96]. В нормальных условиях скорость воссоединения ДНК превосходит скорость разрезания, предотвращая накопление повреждений [97]. Однако при действии внешних факторов (например, ингибиторов TOP1, алкилирующих агентов, интеркалирующих веществ, ионизирующего излучения, окислительного повреждения) комплексы TOP1cc стабилизируются, вызывая повреждение одноцепочечной ДНК, что приводит к двухцепочечным разрывам и клеточной гибели.

Удаление TOP1ss происходит по трем основным механизмам: 1) совместное действие TDP1 и PARP1 [98]; 2) действие эндонуклеаз (XPF/ERCC1, Mre11/Rad50, CtIP/APE2) через механизм «3'-лепестка» [99]; 3) репарация гомологичной рекомбинацией при участии белков BRCA1 и BRCA2. TDP1 расщепляет тирозил-ДНК-фосфодиэфирную связь в TOP1ss, локализованную как в ядерной, так и в митохондриальной ДНК, освобождая пептиды TOP1. Фермент активен в отношении одно- и двуцепочечных ДНК-субстратов с длиной не менее четырех нуклеотидов, включая промежутки и концы ДНК [100].

Повышенная экспрессия TDP1 снижает чувствительность к камптотецину [101], а дезактивирующие мутации или отсутствие TDP1 усиливают чувствительность к камптотецину [102]. Комбинация ингибиторов TDP1 и TOP1 обладает синергическим эффектом [3,4,103-114]. Группа академика РАН Лаврик О.И. (Институт химической биологии и фундаментальной медицины) впервые показала такой эффект на животных при комбинированном применении ингибитора TDP1 и топотекана [108]. Таким образом, TDP1 является перспективной терапевтической мишенью в противоопухолевой терапии.

3.2.1 Ингибирование фермента TDP1 *in vitro*

Оценка способности синтезированных соединений ингибировать фермент TDP1 была проведена в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, в лаборатории биоорганической химии ферментов (заведующая лабораторией академик РАН Лаврик Ольга Ивановна) под руководством канд. хим. наук Захаренко Александры Леонидовны, методом, описанным ранее [115] и [116]. Результаты проведенных исследований представлены в Таблице 6.

Согласно полученным данным конъюгаты с гидроксильной группой в 7 положении 3,7-диметилотан-содержащих триазолов **126-130** не проявляют ингибирующей активности, также, как и соединение **108** ($IC_{50} > 50 \mu M$). В то же время, соединения **136-152**, содержащие изоксазольный фрагмент, связываются с ферментом TDP1 лучше (интервал значений IC_{50} от 0.78 до 3.2 μM), чем соответствующие триазолы **93-112** и **121-130** (их значения IC_{50} лежат в интервале 1.1 ÷ 23.3 μM).

Лидирующих по TDP1 ингибирующей активности (с $IC_{50} < 1.0 \mu M$) соединений среди изоксазол-связанных кумарин-терпеновых конъюгатов четыре – это соединения **139**, **142**, **143**, **149**; а среди триазолов – ни одного. Единственные триазолы, для которых была проявлена приемлемая ингибирующая активность – конъюгаты кумилового ряда **103-107** (IC_{50} от 1.1 до 3.2 μM) и производные 3,7-диметилоктанового ряда **97**, **102**, **107**, **112**, **125** (IC_{50} от 1.5 до 5 μM , см. Таблицу 9) [77].

Таблица 9 – Ингибирующая активность полученных соединений в отношении фермента TDP1. Цветом выделены соединения, IC_{50} которых меньше 1 μM

| Соединение | $IC_{50}, \mu M$ |
|------------|------------------|
| 93 | 13±1 |
| 94 | 4.9±0.7 |
| 95 | 2.7±0.4 |
| 96 | 5.1±0.2 |
| 97 | 1.8±0.1 |
| 98 | 14.3±0.2 |
| 99 | 4.7±0.5 |
| 100 | 4.5±0.2 |
| 101 | 3.2±0.4 |
| 102 | 1.7±0.1 |

Таблица 9 (продолжение)

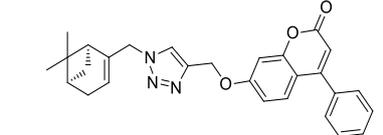
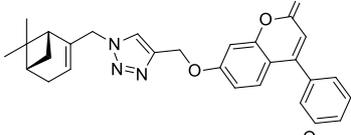
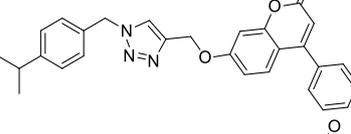
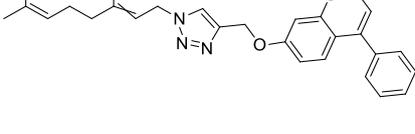
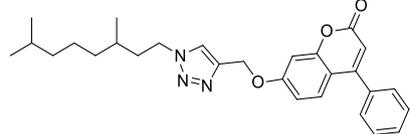
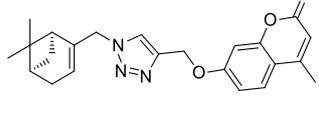
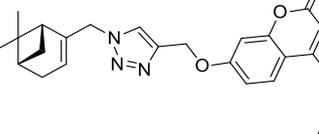
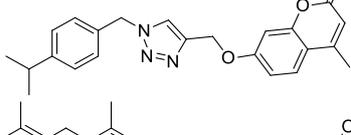
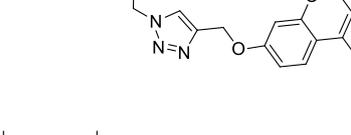
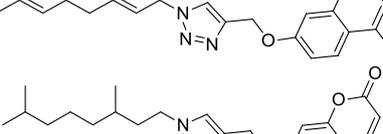
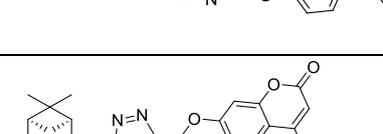
| | | |
|-------|---|----------|
| 103 |  | 2.0±0.2 |
| 104 |  | 3.2±0.4 |
| 105 |  | 1.1±0.3 |
| 106 |  | 2.8±0.4 |
| 107 |  | 1.5±0.4 |
| 108 |  | >50 |
| 109 |  | 23.3±0.4 |
| 110 |  | 12.0±0.3 |
| 111-Z |  | 15.9±0.8 |
| 111-E |  | 13.5±0.4 |
| 112 |  | 5±1 |
| 121 |  | 2.7±0.3 |

Таблица 9 (продолжение)

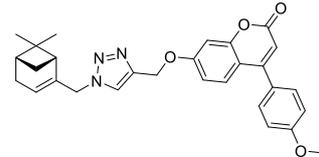
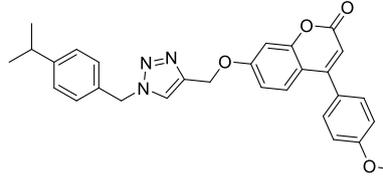
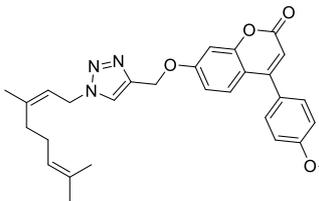
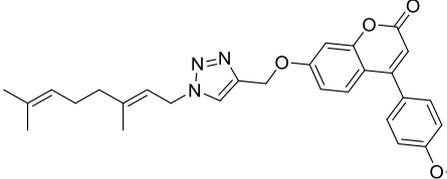
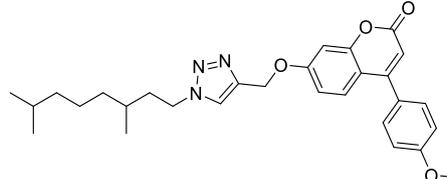
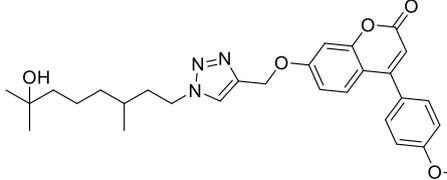
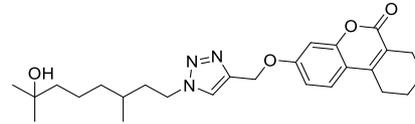
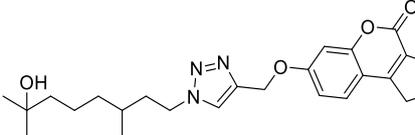
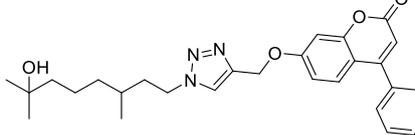
| | | |
|-------|--|---------|
| 122 |  | 2.2±0.2 |
| 123 |  | 1.9±0.2 |
| 124-Z |  | 2.2±0.3 |
| 124-E |  | 2.0±0.2 |
| 125 |  | 1.7±0.4 |
| <hr/> | | |
| 126 |  | >50 |
| <hr/> | | |
| 127 |  | >50 |
| 128 |  | >50 |
| 129 |  | >50 |

Таблица 9(продолжение)

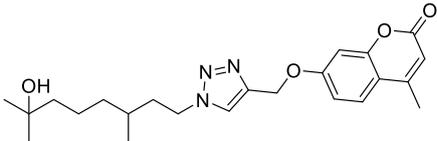
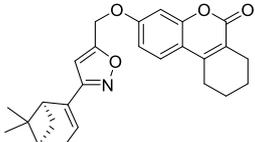
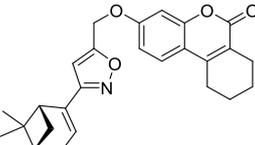
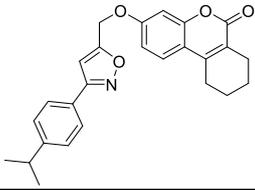
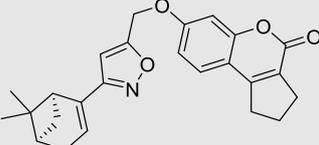
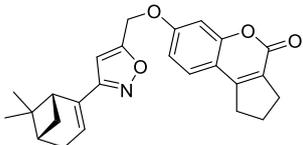
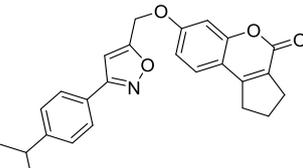
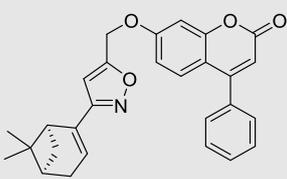
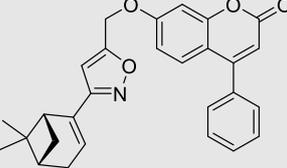
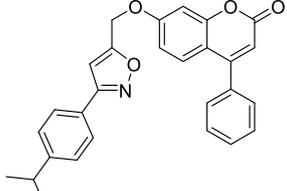
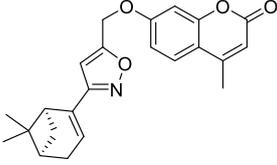
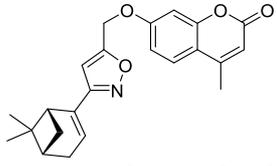
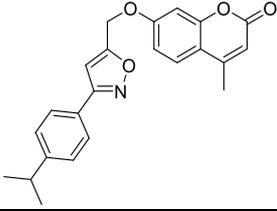
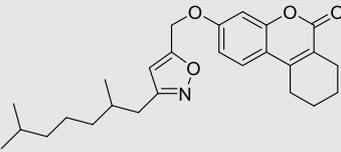
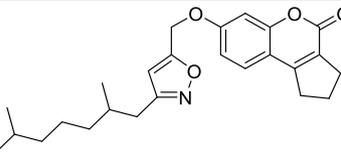
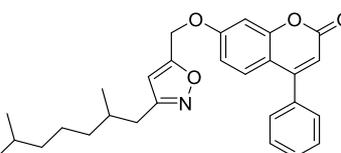
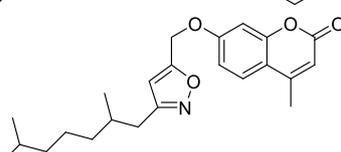
| | | |
|-----|---|-----------|
| 130 |  | >50 |
| 136 |  | 1.6±0.4 |
| 137 |  | 1.1±0.4 |
| 138 |  | 1.5±0.2 |
| 139 |  | 0.9±0.2 |
| 140 |  | 1.2±0.2 |
| 141 |  | 9±2 |
| 142 |  | 0.89±0.47 |
| 143 |  | 0.78±0.01 |
| 144 |  | 1.2±0.3 |

Таблица 9 (продолжение)

| | | |
|-------------------|---|----------------|
| 145 |  | 2.7±0.5 |
| 146 |  | 2.3±0.6 |
| 147 |  | 3.2±1.0 |
| 149 |  | 0.8±0.5 |
| 150 |  | 1.6±0.4 |
| 151 |  | 2.1±0.2 |
| 152 |  | 3.1±0.7 |
| Фураминдин | | 1.2±0.3 |

Для удобства оценки взаимосвязи «структура синтезированных соединений - TDP1 ингибирующая активность» результаты биологических испытаний сведены в «тепловые карты» - Таблицы 10 и 11, в которых значения ингибирующей концентрации IC₅₀ находятся на пересечении осей данных, содержащих типы фрагментов соединения.

Так, согласно данным таблицы 10, наиболее активными триазол-связанными конъюгатами (в микромолярном диапазоне концентраций IC₅₀) являются производные 4-фенилзамещенного кумарина: почти все соединения (кроме конъюгата с гидроксильной группой в ациклическом терпеновом фрагменте)

падают в «зеленую зону активности»; близко к этой группе по активности в отношении TDP1 находятся и *p*-метоксифенильные производные (5 соединений из 6 в «зеленой зоне»).

Таблица 10 – Взаимосвязь «структура – анти-TDP1 активность» конъюгатов, связанных триазольным линкером

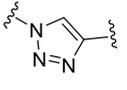
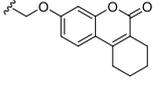
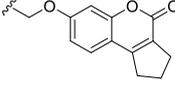
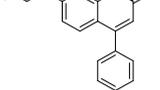
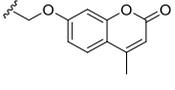
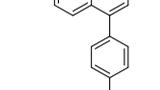
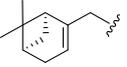
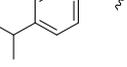
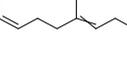
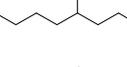
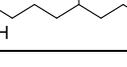
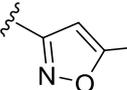
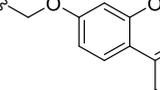
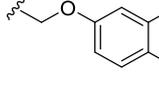
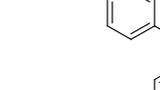
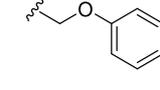
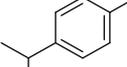
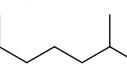
|  |  |  |  |  |  |
|---|---|---|--|---|---|
|  | 13 | 14.3 | 2 | 50 | 2.7 |
|  | 4.9 | 4.7 | 3.2 | 23.3 | 2.2 |
|  | 2.7 | 4.5 | 1.1 | 12 | 1.9 |
|  | 5.1 | 3.2 | 2.8 | 13.5 | 2 |
|  | 1.8 | 1.7 | 1.5 | 5 | 1.7 |
|  | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |

Таблица 11 – Взаимосвязь «структура – анти-TDP1 активность» конъюгатов, связанных изоксазольным линкером

|  |  |  |  |  |
|---|---|---|--|---|
|  | 1.6 | 0.9 | 0.9 | 2.7 |
|  | 1.1 | 1.2 | 0.8 | 2.3 |
|  | 1.5 | 9 | 1.2 | 3.2 |
|  | 0.8 | 1.6 | 2.1 | 3.1 |

Активность изоксазол-связанных конъюгатов заметно выше (4 из 16 демонстрируют $IC_{50} < 1 \mu M$): это конъюгаты кумаринов, аннелированных с циклогексановым и цикlopentanовым кольцами, и 4-фенилзамещенного кумарина

(все они находятся в «зеленой зоне» активности. Надо отметить, что наиболее предпочтительной выглядят их комбинации с циклическими терпенами и насыщенным 2,6-диметилгептильным фрагментом. Отметим, что наиболее перспективные соединения по своей активности превосходят препарат сравнения фуросемид (Таблица 9).

Исходя из полученной информации, наиболее перспективными соединениями для дальнейшей направленной разработки новых эффективных ингибиторов TDP1 являются конъюгаты, несущие в кумариновом остове ароматические фрагменты, связанные изоксазольным линкером с липофильными фрагментами терпеновой части молекулы.

Важно, что в дополнительных исследованиях соединения **101**, **125** и **143** в концентрации 10 μM не обладали выраженной собственной цитотоксичностью в отношении клеток линии HeLa, однако усиливали цитотоксический эффект топотекана, подтверждая их перспективность в качестве потенциальных сенситизаторов в комплексной противоопухолевой терапии (Рисунок 28).

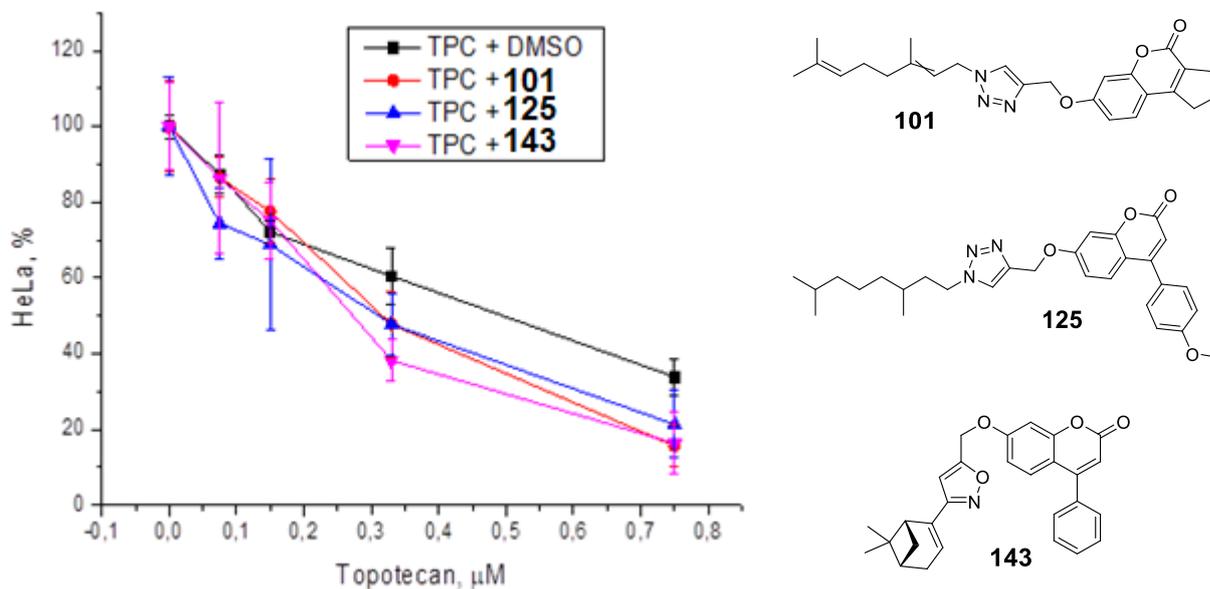


Рисунок 28 – График зависимости доли выживших клеток ряда HeLa от концентрации топотекана, или смеси «топотекан + монотерпен-кумариновый конъюгат»

3.2.2 Сравнительный анализ TDP1 ингибирующей способности новых конъюгатов и аналогов, синтезированных ранее

С целью уточнения эффектов, оказываемых гетероциклическим линкером на способность монотерпен-кумариновых конъюгатов ингибировать активность фермента TDP1, проведено сравнение экспериментально зарегистрированных величин IC_{50} в ряду «конъюгат без линкера» – «конъюгат с триазольным линкером» – «конъюгат с изоксазольным линкером». Данные биологических испытаний соединений, не содержащих гетероциклический линкер, были взяты из предыдущих работ исследовательской группы лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН [3,4]. Сравнительная Таблица 12 содержит структуры соединений и их ингибирующие концентрации IC_{50} , выраженные в μM .

Таблица 12 – Ингибирующая концентрация соединений с варьирующимся линкером в отношении фермента TDP1

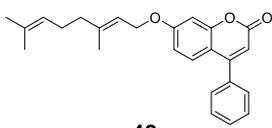
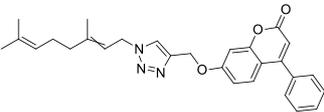
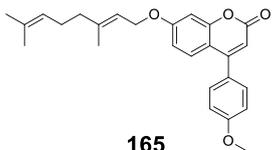
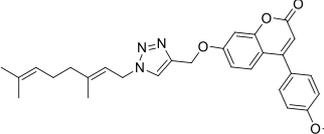
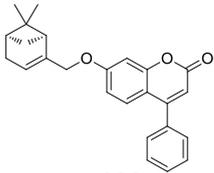
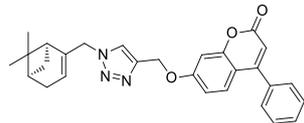
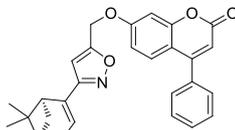
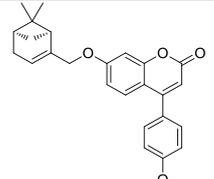
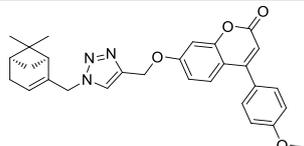
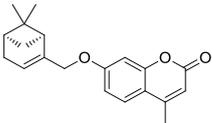
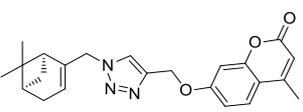
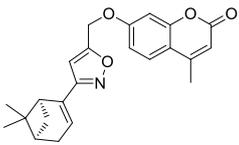
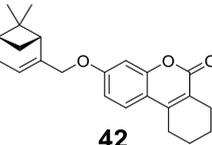
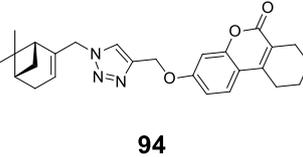
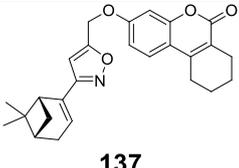
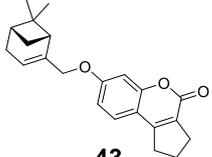
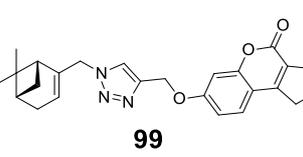
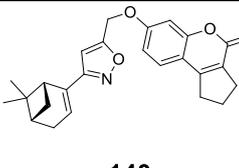
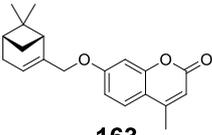
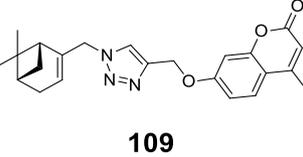
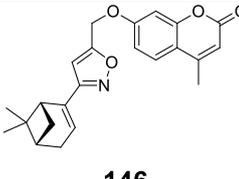
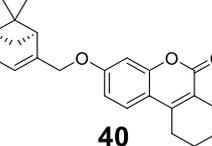
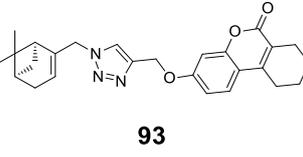
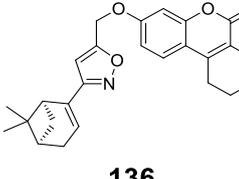
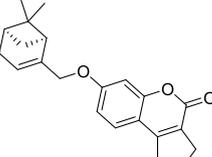
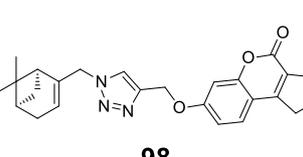
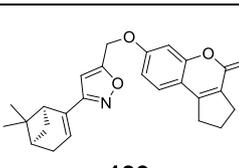
| Соединение | IC_{50} , μM | Соединение | IC_{50} , μM | Соединение | IC_{50} , μM |
|---|---------------------|---|---------------------|---|---------------------|
|  48 | 0.49 |  106 | 2.8 | --- | --- |
|  165 | 0.46 |  124-E | 2.0 | --- | --- |
|  166 | 0.52 |  103 | 2.0 |  142 | 0.89 |
|  167 | 0.59 |  121 | 2.7 | --- | --- |

Таблица 12 (продолжение)

| | | | | | |
|--|------|--|------|---|-----|
|  162 | 4.31 |  108 | >50 |  145 | 2.7 |
|  42 | 1.23 |  94 | 4.9 |  137 | 1.1 |
|  43 | 1.37 |  99 | 4.7 |  140 | 1.2 |
|  163 | 1.56 |  109 | 23.3 |  146 | 2.3 |
|  40 | 1.20 |  93 | 13 |  136 | 1.6 |
|  18 | 0.68 |  98 | 4.7 |  139 | 0.9 |

Согласно данным Таблицы 12, введение триазольного линкера в молекулы конъюгатов заметно снижает их способность ингибировать активность фермента TDP1 (столбцы 3 и 4), в то время как изоксазол-связанные конъюгаты по своей активности (столбцы 5 и 6) сравнимы с группой «простых» кумарин-терпеновых конъюгатов (столбцы 1 и 2), все они ингибируют TDP1 с IC₅₀ в интервале значений от 0.46 до 4.31 мМ.

Результаты молекулярного моделирования взаимодействия трех групп производных кумаринов (первая – кумарин-терпеновые конъюгаты **18**, **40**, **42**, **43**,

162, 163 и 166, вторая – триазол-связанные кумарин терпеновые конъюгаты 93, 94, 98, 99, 103, 108, 109, третья – изоксазол-связанные конъюгаты 136, 138, 139, 140, 142, 145, 146) с 1NOP активным сайтом TDP1 [117], представлены в Таблице 13.

Таблица 13 – Сравнительные результаты молекулярного докинга производных 18, 40, 42, 43, 162, 163, 166; 93, 94, 98, 99, 103, 108, 109; и 136, 137, 139, 140, 142, 145, 146 в 1NOP активный сайт TDP1

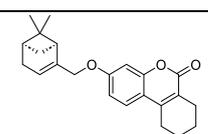
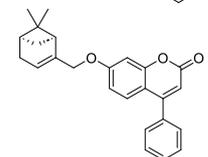
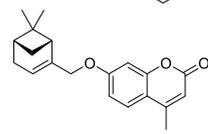
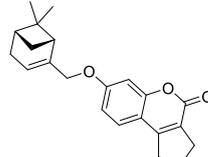
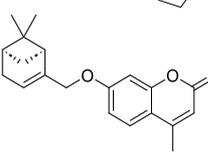
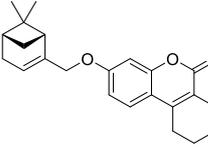
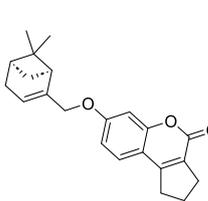
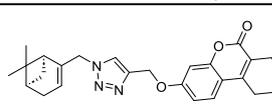
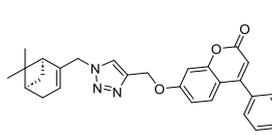
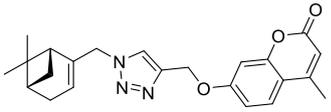
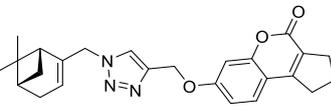
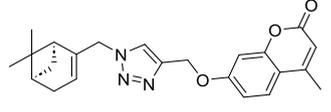
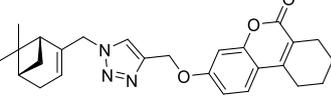
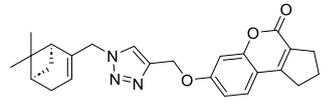
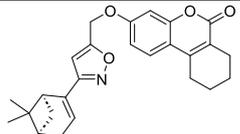
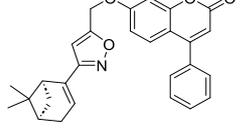
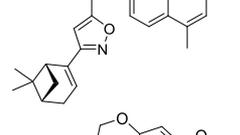
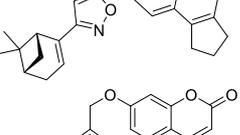
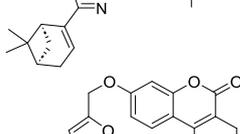
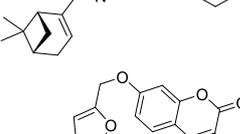
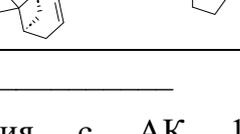
| Соединение | ΔG_{bind} , ккал/моль | Взаимодействия |
|------------|--|--|
| 40 |  -30.40 | Н-связи: LYS265 Другие: |
| 166 |  -42.50 | Н-связи: LYS265 Другие: |
| 163 |  -35.33 | Н-связи: LYS265 Другие: |
| 43 |  -36.14 | Н-связи: LYS265 Другие: |
| 162 |  -34.00 | Н-связи: LYS265 Другие: |
| 42 |  -34.00 | Н-связи: Другие: |
| 18 |  -38.71 | Н-связи: LYS265 Другие: |
| 93 |  -40.86 | Н-связи: --- Другие: π - π : TYR204 π -Cat: LYS265 |
| 103 |  -58.98 | Н-связи: TYR204 Другие: π - π : TYR204 π -Cat: HIE493 |

Таблица 13 (продолжение)

| | | | |
|-----|---|--------|---|
| 109 |  | -46.87 | Н-связи: --- Другие: π - π : TYR204 π -Cat: LYS265 |
| 99 |  | -54.50 | Н-связи: LYS495 Другие: π - π : TYR204 π -Cat: LYS265 |
| 108 |  | -46.55 | Н-связи: HIP263 LYS265 Другие: π -Cat: LYS265 |
| 94 |  | -44.31 | Н-связи: --- Другие: π - π : TYR204 HIP263 |
| 98 |  | -39.31 | Н-связи: LYS265 Другие: π -Cat: LYS495 |
| 136 |  | -46.13 | Н-связи: THR281 Другие: π - π : HIE493 |
| 142 |  | -47.85 | Н-связи: ASN516 Другие: π - π : TYR204 |
| 146 |  | -48.55 | Н-связи: LYS265 Другие: π - π : HIP263 π -Cat: LYS265 |
| 140 |  | -46.72 | Н-связи: LYS495 ASN516 Другие: π -Cat: LYS265 |
| 145 |  | -34.38 | Н-связи: LYS265 Другие: π -Cat: LYS265) |
| 137 |  | -39.38 | Н-связи: LYS265 Другие: π - π : TYR204 π -Cat: LYS495 |
| 139 |  | -28.64 | Н-связи: HIP263 LYS265 SER514 Другие: π - π : TYR204 HIP263 |

Взаимодействия с АК 1NOP активного сайта TDP1, обусловленные гетероциклическим линкером, выделены жирным шрифтом.

Согласно результатам докинга, группа «простых» пренилированных кумаринов координируется в 1NOP актином сайте TDP1 преимущественно, за счет образования водородной связи с LYS265, интервал значений ΔG_{bind} для соединений **18, 40, 42, 43, 162** от -42.5 до -30.4 ккал/моль. Введение гетероциклического линкера в молекулы конъюгатов заметно повышает сродство к данной мишени: для триазол-связанных конъюгатов **93, 94, 98, 99, 103, 108** и **109** показана возможность образования дополнительных водородных связей с TYR204, LYS495, HIP263, а также π - π -стэкинговых и π -катионных взаимодействий с тем же набором аминокислот; интервал значений ΔG_{bind} для этих конъюгатов от -58.98 до -39.31 ккал/моль, что несколько ниже, чем у предыдущей группы (Таблица 13). Изоксазол-связанные конъюгаты **136, 137, 139, 140, 142, 145** и **146** связываются с аминокислотной последовательностью 1NOP активного сайта TDP1 несколько иначе. Так, они образуют водородные связи с THR281, ASN516, LYS265, HIE493, HIP263 и SER514, а типичными π - π -стэкинговыми и π -катионными взаимодействиями для них являются связи с HIE493, TYR204, HIP263, LYS265 и LYS495. Диапазон рассчитанных значений ΔG_{bind} для **136, 137, 139, 140, 142, 145** и **146** достаточно широк – от -48.55 до -28.64 ккал/моль (Таблица 13).

Докинг-позы, иллюстрирующие типы взаимодействий с АК 1NOP активного сайта TDP1 на примере соединений **18, 98** и **139**, представлены на Рисунках 29-31.

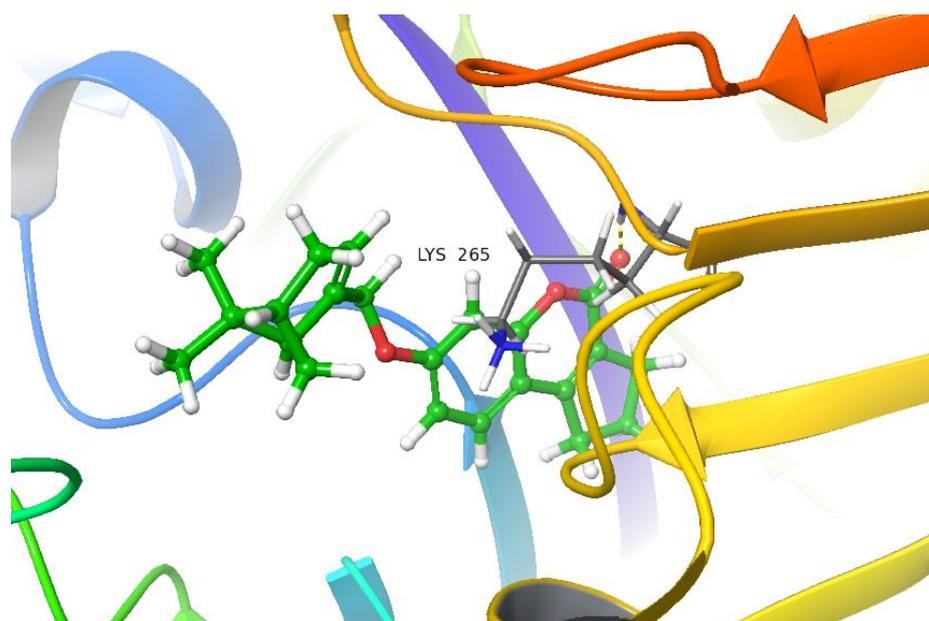


Рисунок 29 – Докинг-поза соединения **18** в 1NOP активном сайте TDP1

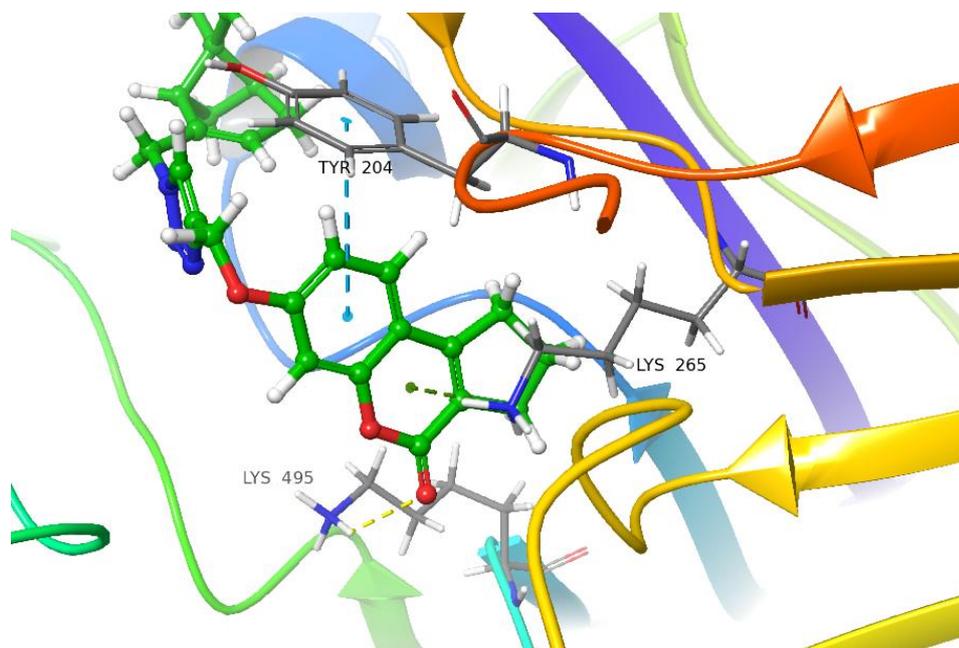


Рисунок 30 – Докинг-поза соединения **98** в 1NOP активном сайте TDP1

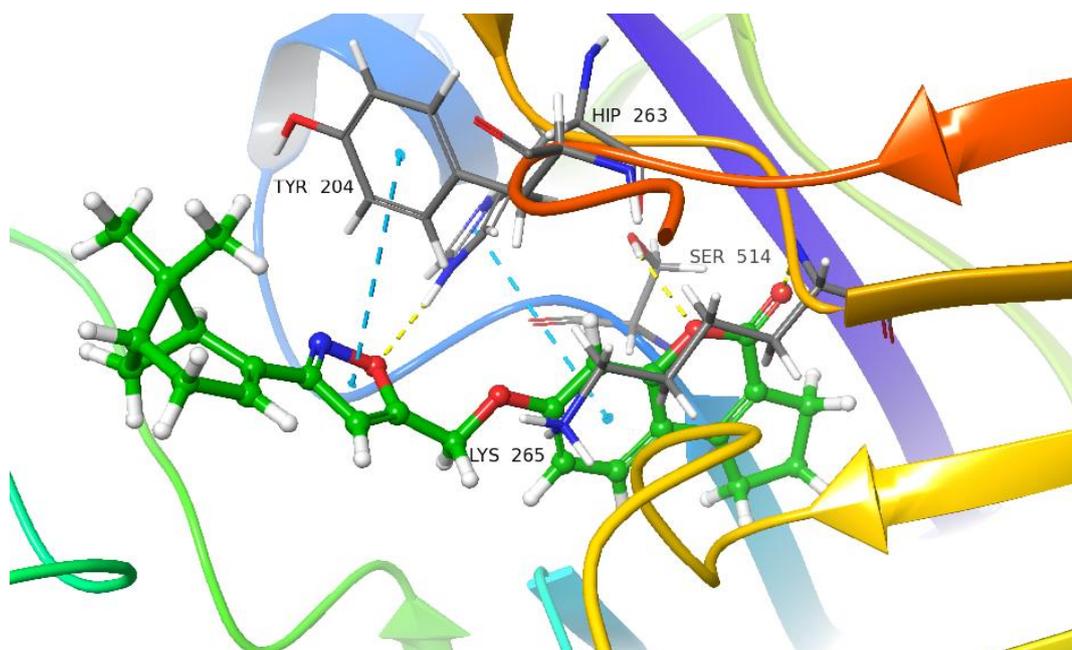


Рисунок 31 – Докинг-поза соединения **139** в 1NOP активном сайте TDP1

3.2.3 Оценка липофильности монотерпен-кумариновых конъюгатов

Одним из недостатков синтезированных ранее монотерпен-кумариновых конъюгатов, затрудняющих их практическое применение, является высокая липофильность [118]. Для оценки влияния введенных гетероциклических линкеров на эту характеристику были определены времена удерживания (Рисунок 32) групп соединений **94**, **137** и **43**, **109**, **146** и **163**, а также **98**, **139** и **18** методом ВЭЖХ

(ProntoSIL-120-5-C18, колонка C18 AQ, сорбентом которой является силикагель, модифицированный углеводными фрагментами C-18). Исходя из особенностей обращенно-фазовой хроматографии, гидрофильные соединения появляются на хроматограмме раньше (их время удерживания меньше), чем липофильные.

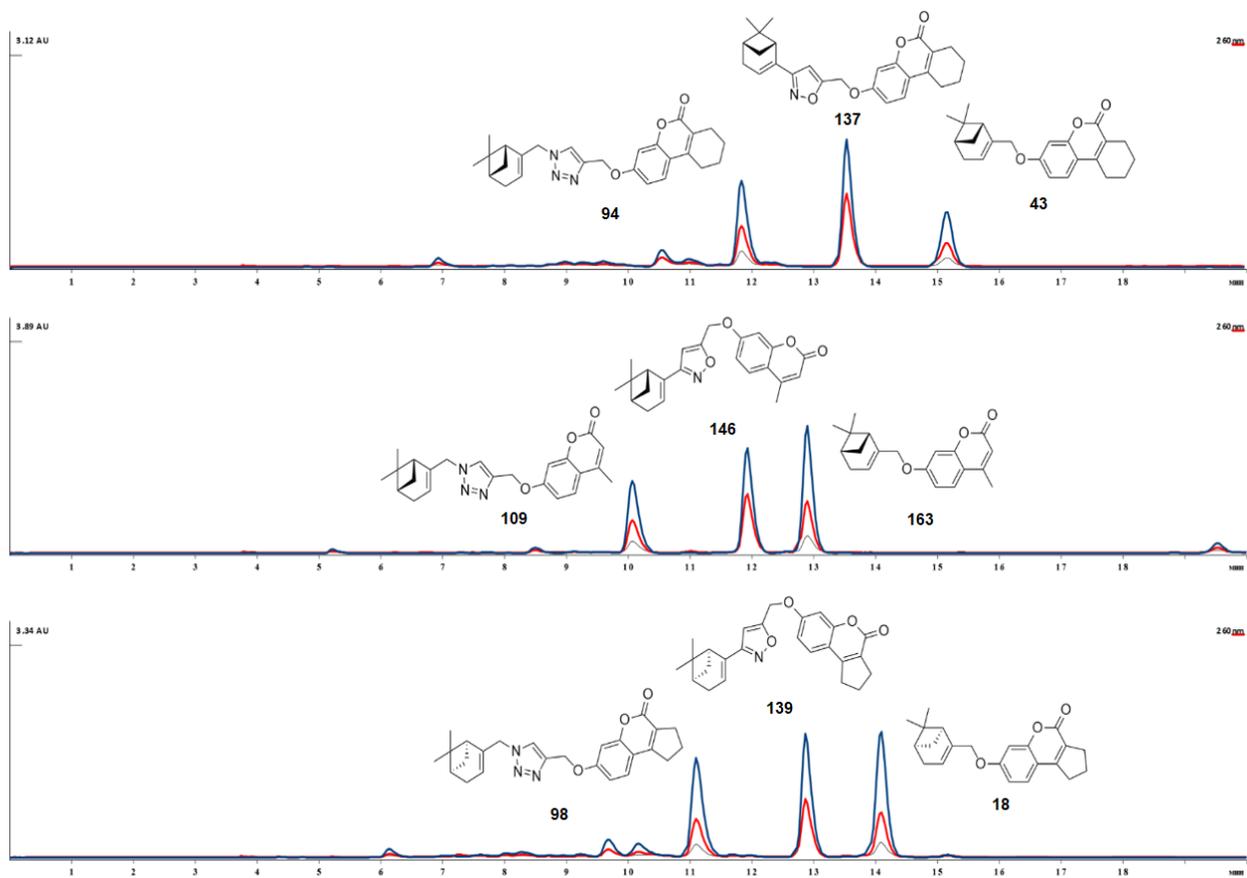


Рисунок 32 – Хроматограммы ВЭЖХ соединений **94**, **137** и **43**, **109**, **146** и **163**, а также **98**, **139** и **18**. Условия хроматографирования: элюент - MeOH:MeCN=1:1, градиент. по 500 μ л от [30% MeCN до 100 % MeCN] – 0.1% TFA, 20 мин.

Действительно, времена удерживания соединений **94**, **109** и **98**, содержащих триазольный линкер, меньше, чем у изоксазол-содержащих конъюгатов **137**, **139** и **146**, и, тем более, чем у родственных соединений **18**, **43** и **163**, не содержащих гетероциклический линкер, что позволяет сделать вывод о снижении липофильности соединений вследствие внедрения гетероциклических линкеров, наиболее выраженном в случае триазол-связанных кумарин-терпеновых конъюгатов.

Таким образом, установлено, что введение триазольного линкера в молекулы кумарин-терпеновых конъюгатов приводит к уменьшению их ингибирующей активности в отношении TDP1 по сравнению с соединениями, не содержащими такого линкера. В то время, как изоксазол-связанные конъюгаты, характеризующиеся меньшей по сравнению с пренилированными кумаринами липофильностью, сохраняют высокую ингибирующую активность в отношении TDP1 [77], в том числе и за счет образования дополнительных водородных связей, π - π -стэкинговых и π -катионных взаимодействий с АК активного сайта TDP1. Для наиболее активных монотерпен-кумариновые конъюгатов, связанных гетероциклическим линкером, показана их способность увеличивать цитотоксичность противоопухолевого препарата топотекана в отношении клеток рака шейки матки HeLa, что указывает на их перспективность в качестве потенциальных сенсбилизаторов в комплексной противоопухолевой химиотерапии.

ГЛАВА 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектральные и аналитические исследования проводились в Химическом сервисном центре коллективного пользования НИОХ СО РАН. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C полученных соединений регистрировали на спектрометре AV-400, DRX-500, AV-300, AV-600 в растворе CDCl_3 или DMCO-d_6 . В качестве внутреннего стандарта использовали сигналы растворителя. Строение устанавливали на основе анализа спектров ЯМР ^1H и ^{13}C с использованием в некоторых случаях двумерных спектров гомоядерной корреляции (^1H - ^1H COSY, ^1H - ^1H NOESY) с привлечением двумерной гетероядерной корреляционной спектроскопии ^{13}C - ^1H на прямых и дальних константах спин-спинового взаимодействия (^{13}C - ^1H HSQC, ^{13}C - ^1H HMBC). В качестве внутреннего стандарта использовались сигналы хлороформа (δH 7.26 м.д. δC 76.16) или ДМСО (δH 2.50 м.д. δC 39.52). Нумерация атомов соединений приведена для отнесения сигналов ЯМР-спектров и не совпадает с номенклатурной.

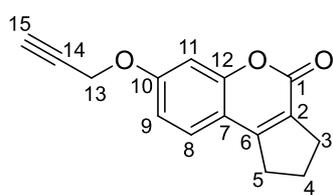
Трансформации в условиях повышенного давления проводили в реакторе *Anton Paar Monowave 50*. Контроль за протеканием реакций осуществляли методом ТСХ (Merck Silica gel 50 F254 в двухфазной системе гексан-этилацетат или хлороформ-метанол в различных соотношениях).

Выделение продуктов реакций проводили методом колоночной хроматографии с использованием силикагеля (Merck, 60-200 mesh Masherey-Nagel GmbH & Co. KG) или методом препаративной ТСХ (гипсосодержащий Merck Silica gel 60 PF254), элюенты – гексан-этилацетат, хлороформ-метанол. Растворители, используемые в работе, перед использованием были очищены по стандартным методикам. Точные значения масс молекулярных ионов определяли методом масс-спектрометрии высокого разрешения с двойной фокусировкой «DFS» (Double Focusing Sector Mass Spectrometer, DFS High Resolution GC/MS) Thermo Scientific в режиме полного сканирования (15-500 m/z, ионизация электронным ударом 70 эВ, прямое введение образца). Величины удельного вращения $[\alpha]_D$ определяли на спектрометре PolAAR 3005, в качестве растворителя применяли метанол или хлороформ. Температуру плавления определяли на приборе METTLER TOLEDO FP900.

4.1 Методики синтезов исходных соединений

Общая методика синтеза кумаринов 63, 66, 69, 72. Синтез осуществляли согласно методике, описанной в [3], с использованием резорцина и β -кетозэфиров (62, 65, 68, 71). Концентрированную серную кислоту (5 мл, 94 ммоль) добавляли капельно к охлаждённому (0–5 °С) раствору резорцина (47.5 ммоль) и β -кетозэфира (47.5 ммоль) в сухом этаноле (12.5 мл) при постоянном перемешивании. Реакционную смесь перемешивали до загустения, затем оставляли при комнатной температуре на ночь. После этого смесь выливали в ледяную воду (150 мл). Образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали и перекристаллизовывали из этанол–водного раствора (75%). Выходы кумаринов 63, 66, 69, 72 составили 70%, 72%, 69% и 75% соответственно; спектральные характеристики соответствовали литературным данным [119-121].

Синтез пропаргиловых эфиров кумаринов. Пропаргиловые эфиры получали из гидроксикумаринов (63, 66, 69, 72) и пропаргилбромида. В круглодонную колбу с 20 мл этанола добавляли гидроксикумарин (6 ммоль), пропаргилбромид (12 ммоль) и карбонат калия (12 ммоль), затем смесь кипятили под обратным холодильником в течение 5 часов. После удаления растворителя реакционную массу охлаждали и приливали к ней холодную воду со льдом. Осадок отфильтровывали и собирали. Выходы соединений 64, 67, 70 и 73 составили 85%, 97%, 95% и 63% соответственно. Полученные соединения соответствовали литературным данным [122-124].



7-(Проп-2-ин-1-илокси)-2,3-дигидроциклопента[с]хромен-4(1H)-он (67).

Светло-коричневое твердое вещество, т. пл. 143.9 °С. Найдено $m/z = 240.0783$ $[M]^+$, вычислено: 240.0781 ($C_{15}H_{12}O_3$)⁺. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 2.16 (п, $J = 7.6$ Гц, 2H, H-4), 2.54 (т, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-15), 2.85 (т, $J = 7.6$ Гц, 2H, H-3), 3.00 (т, $J = 7.6$ Гц, 2H, H-5), 4.71 (д, $J = 2.5$ Гц, 2H, H-13), 6.87 (дд, $J = 2.5, 8.7$ Гц, 1H, H-9), 6.92 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-11), 7.31 (д, $J = 8.6$ Гц, 1H, H-8).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 22.40 (C-4), 30.25 (C-3), 31.91 (C-5), 56.02 (C-13), 76.25 (C-15), 77.40 (C-14), 101.93 (C-11), 112.50 (C-7), 112.97 (C-9), 124.91 (C-2), 125.53 (C-8), 155.38 (C-12), 156.05 (C-6), 159.56 (C-10), 160.24 (C-1).

Синтез (+)-миртеналя (75). Водный раствор трет-бутилгидропероксида 50 мл (70%) экстрагировали дихлорметаном. К 50 мл экстракта трет-бутилгидропероксида в DCM добавляли диоксид селена (7 ммоль) и (+)- α -пинен **74** (88 ммоль). Смесь перемешивали при кипячении под обратным холодильником в течение 12 часов. Затем реакционную смесь медленно нейтрализовали 10% раствором гидроксида натрия и сушили над сульфатом натрия. После фильтрации осушителя растворитель удаляли, а остаток очищали методом колонной хроматографии (SiO_2 , элюент: смесь гексан–хлороформ с постепенным увеличением содержания хлороформа от 10 до 100%). Выход соединения **75** составил 70%. Физико-химические свойства соответствовали данным литературы [125].

Синтез спиртов 76, 80, 84. К охлаждённому (0–5 °С) и перемешиваемому раствору соответствующего альдегида (**75, 79, 83**) в 100 мл метанола порционно добавляли борогидрид натрия (61,6 ммоль). Перемешивание продолжали в течение 3 часов, затем медленно добавляли 5% раствор соляной кислоты до достижения pH 4–5. Метанол удаляли упариванием, реакционную смесь экстрагировали диэтиловым эфиром, органическую фазу сушили над сульфатом натрия. После фильтрации осушителя эфир удаляли. Выходы соединений **76, 80** и **84** составили 55%, 72% и 90% соответственно. Физико-химические свойства соответствовали данным литературы [126-128].

Синтез бромидов 77, 81, 85, 88, 91. К охлаждённому (0–5 °С) и перемешиваемому раствору соответствующего спирта (**76, 80, 84, 87, 90**) (27,7 ммоль) в 30 мл сухого диэтилового эфира по каплям добавляли трибромид фосфора (8,9 ммоль). Перемешивание проводили 1 час при пониженной температуре, затем продолжали ещё 2 часа при комнатной температуре. После завершения реакции в смесь добавляли водный раствор гидрокарбоната натрия до полной нейтрализации остаточного PBr_3 . Органическую фазу отделяли, промывали насыщенным раствором поваренной соли и упаривали. Выходы соединений **77, 81, 85, 88, 91** составили 75%, 64%, 90%, 96% и 88% соответственно. Физико-химические свойства соответствовали данным литературы [129-132].

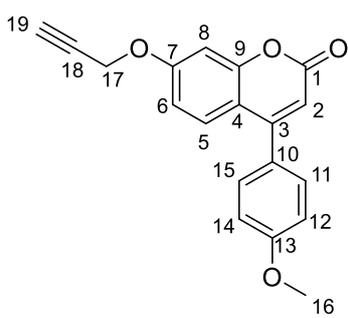
Синтез азидов 78, 82, 86, 89, 92. Азиды синтезировали из соответствующих бромидов (**77, 81, 85, 88, 91**). Каждый бромид (4,7 ммоль) растворяли в 10 мл ДМФ, после чего добавляли азид натрия (6.5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали

при комнатной температуре в течении ночи, затем разбавляли 100 мл воды. Водный слой экстрагировали этиловым эфиром трижды. Объединённые органические фазы промывали насыщенным водным раствором NaCl, сушили над сульфатом натрия и упаривали. Остаток пропускали через слой силикагеля с использованием гексана в качестве элюента, затем растворитель удаляли. Выходы соединений **78**, **82**, **86**, **89** и **92** составили 49%, 36%, 69%, 73% и 80% соответственно. Физико-химические свойства соответствовали данным литературы [133-136].

Синтез β -кетозфира 114. К смеси гидроксида натрия (99.87 ммоль) под аргоном, промытом толуолом 3 раза, и диэтил карбоната (133.16 ммоль), в 50 мл толуола, по каплям прибавлялся соответствующий ацетофенон (33.29 ммоль). РС кипятилась 4 часа, после чего перелита в ледяную воду, закислена 5 мл ледяной уксусной кислоты, и экстрагирована этилацетатом трижды. Отобранная ОФ промыта насыщенным раствором бикарбоната натрия, насыщенного раствора соли, и воды, затем высушена над безводным Na₂SO₄, и отогнана на роторном испарителе. РМ очищена колоночной хроматографией хлористым метиленом. Выход целевого соединения составил 74%. Спектральные данные соответствуют литературным данным [137].

Синтез 7-гидроксикумарина 115. К 5.5г (24.75 ммоль) этил-3-(4-метоксифенил)-3-оксопропаноата в 12.5мл этанола прибавляют 5.24г (24.75 ммоль) резорцина при перемешивании и охлаждении до 0~5°C. После растворения резорцина добавляют 5мл H₂SO₄(конц.). Реакционная смесь оставлена перемешиваться на ночь. После того, как раствор загустел, прибавили 100 мл холодной воды и отфильтровали. Перекристаллизовывали из этанола. Выход целевого соединения составил 63%. Спектральные данные соответствуют литературным данным [138].

Синтез пропаргилового эфира 7-гидроксикумарина 116. В круглодонную колбу, снабженную обратным холодильником, было добавлено 2.5 ммоль гидроксикумарина, 5 ммоль пропаргилбромида, 5 ммоль K₂CO₃. Смесь была растворена в 20 мл этанола, и перемешивалась над песчаной баней при температуре бани 85°C. Через 5 часов колбу снимают с нагрева, растворитель выпаривают, в колбу добавляют ледяную воду, после чего смесь фильтруют, а нерастворенный осадок собирают. Выход целевого соединения составил 80%.



4-(4-Метоксифенил)-7-(проп-2-ин-1-илокси)-2H-хромен-2-он. (116) Светло-коричневое твердое вещество, т. пл. 186.0°C. Найдено $m/z = 306.0886 [M]^+$, вычислено: 306.0887 ($C_{19}H_{14}O_4$)⁺. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ) 2.56 (т, $J = 2.5$ Гц, 1H-19), 3.86 (с, 3H, H-16), 4.75 (д, $J = 2.5$ Гц, 2H, H-17), 6.19 (с, 1H, H-2), 6.85 (дд, $J = 2.5, 8.9$ Гц, 1H, H-6), 6.98 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-8), 7.01 (д, $J = 8.5$ Гц, 2H, H-14, 12), 7.37 (д, $J = 8.5$ Гц, 2H, H-15, 11), 7.46 (д, $J = 8.9$ Гц, 1H, H-5).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ) 55.32 (C-16), 56.04 (C-17), 76.42 (C-18), 77.24 (C-19), 102.20 (C-8), 111.67 (C-2), 112.55 (C-6), 113.20 (C-4), 114.16 (C-5), 127.53 (C-13), 127.98 (C-14, 12), 129.75 (C-15, 11), 155.25 (C-10), 155.63 (C-3), 160.23 (C-9), 160.65 (C-1), 161.14 (C-7)

Синтез гидроксицитронеллола 118. Гидроксицитронеллол **118** получался из гидроксицитронеллала **117** по методике, аналогичной для соединений **76, 80, 84**. Выход целевого соединения составил 92%. Спектральные данные соответствуют литературным данным [139].

Синтез бромида гидроксицитронеллола 119. В сухом хлористом метиле в атмосфере аргона, в колбе, помещенной в ледяную баню, растворяется трифенилфосфин (8.61 ммоль). Затем, в РМ прибавляется NBS (8.61 ммоль) небольшими порциями в течении 5 минут. РМ перемешивается полчаса, затем в нее прибавляется 0.5 мл пиридина. Смесь чернеет. Спустя 10 минут в РМ прибавляется спирт **118** (4.30 ммоль), и РМ оставляется перемешиваться на ночь. К реакционной массе прибавляется гексан, и смесь фильтруется через фильтр Шотта с силикагелем без вакуума. Колба промывается смесью этилацетат:гексан 1:1 и так же фильтруется. Фильтрат выпаривается на ротонном испарителе, давая целевое вещество. Выход соединения составил 73%. Спектральные данные соответствуют литературным данным [140].

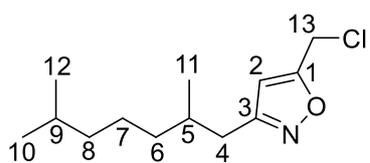
Синтез азидата гидроксицитронеллола 120. 1.58 г (7.3 ммоль) бромида гидроксицитронеллола **119** было растворено в 15 мл ДМФА, после чего в реакционную смесь было добавлено 680 мг (10.47 ммоль) азидата натрия. Реакционная смесь перемешивалась при комнатной температуре в течении ночи. В реакционную смесь было добавлено 100 мл воды, после чего водяной слой был отобран, и была

проведена его экстракция EtOAc (3x75 мл). Отобранная органическая фаза была промыта 75 мл насыщенного раствора NaCl, высушена над безводным Na₂SO₄ и выпарена под вакуумом. Полученная сконцентрированная ОФ промывается на малом объеме силикагеля при помощи гексана. Выход соединения составил 89%.

Синтез 3,7-диметилоктаная (134). К суспензии хлорохромата пиридиния (15 ммоль) в 40 мл сухого дихлорметана при 20 °С в атмосфере аргона при перемешивании добавляли раствор спирта **90** (10 ммоль) в 10 мл сухого CH₂Cl₂. Перемешивание продолжали в течение 2 часов. После этого реакцию смесь разбавляли 100 мл диэтилового эфира и фильтровали через слой силикагеля. Осадок на фильтре промывали 100 мл эфира, а фильтрат упаривали досуха. Выход соединения **134** составил 94%. Спектральные данные соответствуют литературным данным [141].

Синтез оксимов 131-133, 135. К интенсивно перемешиваемому раствору гидрохлорида гидроксилamina (20 ммоль) в 10 мл воды, содержащему соответствующий альдегид (**75, 59, 83, 134**) (16 ммоль), прибавляли раствор гидрокарбоната натрия (20 ммоль) в 15 мл воды. Смесь перемешивали и нагревали в течение 5 часов. Образовавшийся органический слой отделяли, а водную фазу дополнительно экстрагировали эфиром. Органические фазы объединяли, сушили над сульфатом натрия и упаривали. Выходы соединений **131-133, 135** составили 76%, 59%, 65% и 74% соответственно. Спектральные данные соответствуют литературным данным [142-144]

Синтез 5-хлорметилизоксазола (148). К раствору или суспензии оксима **135** (6.89 ммоль) в 5 мл 2,3-дихлорпропана при перемешивании добавляли каплю пиридина, а затем N-хлорсукцинимид (7.58 ммоль). После растворения NCS и осаждения сукцинимида смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут, затем нагревали при 40 °С в течение 12 часов. Затем при интенсивном перемешивании добавляли раствор триэтиламина (15.5 ммоль) в 1 мл 2,3-дихлорпропана. Смесь вновь нагревали, наблюдая образование осадка. После 1 часа перемешивания растворитель отгоняли *in vacuo*, а целевое соединение выделяли из остатка методом колоночной хроматографии с использованием хлороформа в качестве элюента. Выход соединения **148** составил 97%.



5-(Хлорометил)-3-(2,6-диметилгептил)изоксазол (148)

Выход: 97%. Желтая жидкость Найдено $m/z=228.1154$

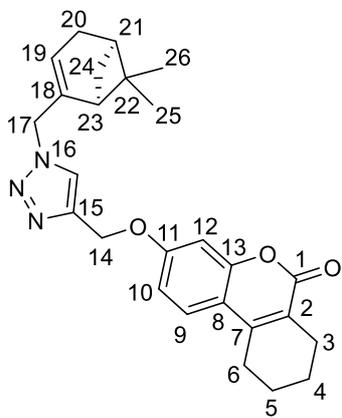
$[M-CH_3]^+$, вычислено: 228.1150 ($C_{12}H_{19}O_1N_1^{35}Cl_1$)⁺.

Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.83 (дд, $J = 0.7, 6.6$ Гц, 6Н, Н-10,12), 0.88 (д, $J = 6.7$ Гц, 3Н, Н-11), 1.09 - 1.33 (м, 6Н, Н-6,7,8), 1.49 (д, $J = 6.6$ Гц, 1Н, Н-9), 1.77 (ттд, $J = 4.4, 6.7, 7.8$ Гц, 1Н, Н-5), 2.44 (дд, $J = 8.1, 7.8$ Гц, 1Н, Н-4а), 2.61 (дд, $J = 6.0, 7.8$ Гц, 1Н, Н-4б), 4.55 (с, 2Н, Н-13), 6.12 (с, 1Н, Н-2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 19.34 (C-11), 22.41 (C-10), 22.52 (C-12), 24.54 (C-7), 27.77 (C-9), 32.47 (C-5), 33.14 (C-4), 34.43 (C-13), 36.68 (C-8), 38.89 (C-6), 103.65 (C-2), 163.32 (C-3), 166.84 (C-1).

4.2 Общая методика синтеза триазолов 93-112, 121-130

К раствору кумаринового эфира (**64**, **66**, **70**, **73**, **116**) (0.72 ммоль) в смеси трет-бутанола и воды (1:1, 15 мл) последовательно добавляли сульфат меди (II) пентагидрат (0.18 ммоль) и аскорбат натрия (0,18 ммоль). Смесь перемешивали 15 минут до появления ярко-жёлтой окраски. Затем добавляли соответствующий азид (**78**, **82**, **86**, **89**, **92**, **120**) (1.08 ммоль), и смесь нагревали до 45 °С, продолжая перемешивание до полного расходования исходного эфира (контроль по обесцвечиванию раствора и ТСХ). После завершения реакции смесь экстрагировали этиловым эфиром, органическую фазу промывали водой, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали. Продукт очищали методом колонной хроматографии на SiO_2 , используя градиент гексан–этиловый эфир с постепенным увеличением содержания $EtOAc$ от 0% до 50%.



3-[1-{[(1C,5R)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]метил}-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-7,8,9,10-

тетрагидро-6H-бензо[с]хромен-6-он (93). Выход: 62%.

Твердое вещество, т. пл. 108.9°С, $[\alpha]_{589}^{25,7} = +9.57$ (с=0.46, $CHCl_3$). Найдено $m/z=430.2123$ $[M-1H]^+$, вычислено:

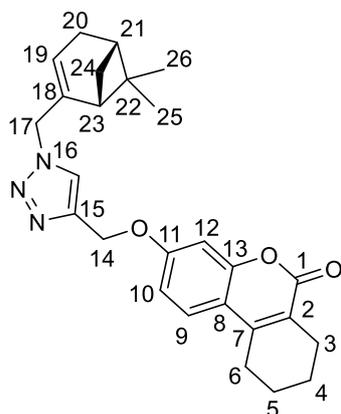
431.2203 ($C_{26}H_{28}O_3N_3$)⁺. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$,

δ) 0.66 (с, 3Н, Н-25), 1.07 (д, $J = 8.8$ Гц, 1Н, Н-24а), 1.15 (с,

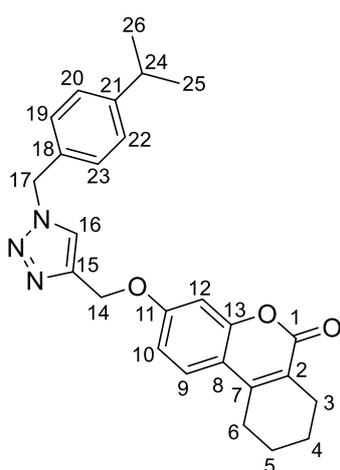
3Н, Н-26), 1.69–1.86 (м, 4Н, Н-4,5), 1.97 (ттд, $J = 2.4, 5.6$ Гц, 1Н, Н-23), 2.06 (ттд, $J =$

1.7, 3.0, 5.6 Гц, 1H, H-21), 2.27 (квтт, J = 1.7, 3.0, 8.8 Гц, 2H, H-20), 2.34 (дт, J = 5.6, 8.8 Гц, 1H, H-24b), 2.51 (тт, J = 2.0, 5.9 Гц, 2H, H-3), 2.70 (тт, J = 2.5, 5.9 Гц, 2H, H-6), 4.83 (дд, J = 1.7, 2.4 Гц, 2H, H-17), 5.21 (с, 2H, H-14), 5.57 (тт, J = 1.7, 3.1 Гц, 1H, H-19), 6.84 (д, J = 2.5 Гц, 1H, H-12), 6.87 (дд, J = 2.5, 8.8 Гц, 1H, H-10), 7.41 (д, J = 8.8 Гц, 1H, H-9), 7.56 (с, 1H, H-16).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ) 20.71 (кв, C-25), 21.2 (т, C-4), 21.5 (т, C-5), 23.68 (т, C-3), 25.04 (т, C-6), 25.65 (кв, C-26), 31.07 (т, C-20), 31.45 (т, C-24), 37.79 (с, C-22), 40.19 (д, C-21), 43.19 (д, C-23), 55.22 (т, C-17), 62.14 (т, C-14), 101.78 (д, C-12), 111.96 (д, C-10), 114.04 (с, C-8), 120.67 (с, C-2), 122.53 (д, C-16), 123.07 (д, C-19), 124.07 (д, C-9), 141.73 (с, C-18), 143.17 (с, C-15), 147.02 (с, C-7), 153.16 (с, C-13), 161.88 (с, C-1), 159.72 (с, C-11).



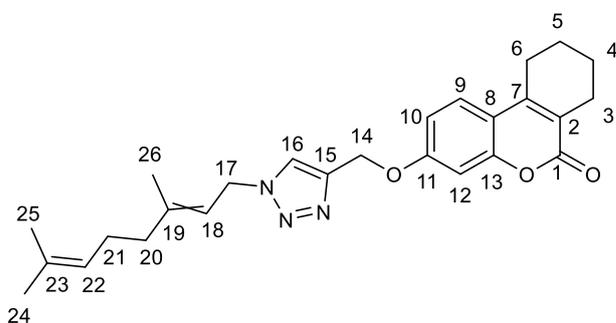
3-[1-{[(1R,5R)-6,6-Диметилбicyclo[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]метил}-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-7,8,9,10-тетрагидро-6H-бензо[с]хромен-6-он (**94**). Выход: 80%. Твердое вещество, Т. пл. 75.8 °С, $[\alpha]_{589}^{25,5} = -17.30$ (с=0.55, CHCl_3). Найдено $m/z=430.2122$ $[\text{M}-\text{H}]^+$, вычислено. 431.2203 ($\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{N}_3$)⁺. ^1H и ^{13}C спектры идентичны **93**.



3-[1-(4-Изопропилбензил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-7,8,9,10-тетрагидро-6H-бензо[с]хромен-6-он (**95**). Выход: 79%. Твердое вещество, Т. пл. 155.4°С. Найдено $m/z = 429.2047$ $[\text{M}]^+$, вычислено: 429.2045 ($\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{N}_3$)⁺. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ) 1.21 (д, J = 6.9 Гц, 6H, H-25, 26), 1.68–1.89 (м, 4H, H-4, 5), 2.52 (тт, J = 2.0, 6.0 Гц, 1H, H-3), 2.7 (тт, J = 2.5, 6.0 Гц, 2H, H-6), 2.88 (гепт, J = 6.9 Гц, 1H, H-24), 5.17 (с, 2H, H-14), 5.48 (с, 2H, H-17), 6.82 (д, J = 2.5 Гц, 1H, H-12), 6.87 (дд, J = 2.5, 8.8 Гц, 1H, H-10), 7.2 (с, 4H, H-19, 20, 22, 23), 7.41 (д, J = 8.8 Гц, 1H, H-9), 7.58 (с, 1H, H-16).

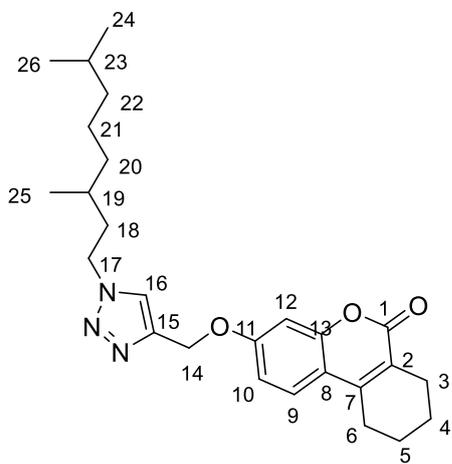
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ) 20.89 (C-4), 21.19 (C-5), 23.39 (C-25, 26), 23.43 (C-3), 24.74 (C-6), 33.39 (C-24), 53.63 (C-17), 61.77 (C-14), 101.33 (C-12), 111.65 (C-10), 113.74 (C-8), 120.35 (C-2), 122.47 (C-16), 123.8 (C-9), 126.77 (C-19, 23), 127.82 (C-20, 22), 131.24 (C-18), 142.98 (C-15), 146.76 (C-7), 149.27 (C-21), 152.85 (C-13), 159.45 (C-11), 161.57 (C-1).

3-[1-(3,7-Диметилокта-2,6-диен-1-ил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-7,8,9,10-тетрагидро-6H-бензо[с]хромен-6-он (**96**). Выход: 60%. После очистки колоночной хроматографией, отношение *Z* и *E* изомеров было равно 1:20. Твердое вещество, Т. пл. 59.1°C, Найдено $m/z=433.2356$ $[\text{M}]^+$, вычислено: 433.2360 ($\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{O}_3\text{N}_3$) $^+$.



96(E): Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, CDCl_3 , δ) 1.55 (с, 3H, H-26), 1.63 (с, 3H, H-25), 1.75 (с, 3H, H-24), 1.69–1.88 (м, 4H, H-4,5), 2.01–2.14 (м, 4H, H-20,21), 2.45–2.54 (м, 2H, H-3), 2.64–2.74 (м, 2H, H-6), 4.95 (д, $J = 7.3$ Гц, 2H, H-17), 4.95–5.03 (м, 1H, H-22), 5.19 (с, 2H, H-14), 5.40 (т, $J = 7.3$ Гц, 1H, H-18), 6.85 (д, $J = 2.4$ Гц, 1H, H-10), 6.89 (дд, $J = 8.8, 2.4$ Гц, 1H, H-12), 7.42 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, H-9), 7.58 (с, 1H, H-16).

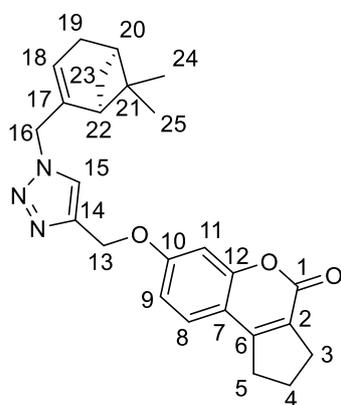
Спектр ЯМР ^{13}C (75 МГц, CDCl_3 , δ) 16.31 (C-20), 17.56 (C-25), 21.18 (C-5), 21.48 (C-4), 23.67 (C-3), 25.04 (C-6), 25.54 (C-26), 25.88 (C-24), 39.2 (C-21), 47.87 (C-17), 62.1 (C-14), 101.67 (C-12), 111.92 (C-8), 114.05 (C-10), 116.54 (C-18), 120.66 (C-2), 122.15 (C-16), 123.23 (C-22), 124.11 (C-9), 132.04 (C-23), 142.9 (C-15), 143.53 (C-19), 147.09 (C-7), 153.16 (C-13), 159.79 (C-11), 161.93 (C-1).



3-[1-(3,7-Диметилоктил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-7,8,9,10-тетрагидро-6H-бензо[с]хромен-6-он (**97**). Выход: 61%. Твердое вещество, т. пл. 66.0°C. Найдено $m/z=437.2673$ $[\text{M}]^+$, вычислено: 437.2669 ($\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{O}_3\text{N}_3$) $^+$. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ) 0.82 (д, $J = 6.6$ Гц, 6H, H-24,26), 0.92 (д, $J = 6.6$ Гц, 3H, H-25), 1.05–

1.30 (м, 6H, H-20,21,22), 1.37–1.55 (м, 2H, H-19,23), 1.62–1.73 (м, 1H, H-18a), 1.74–1.85 (м, 4H, H-4,5), 1.86–1.98 (м, 1H, H-18b), 2.52 (тт, J = 2.0, 6.0 Гц, 2H, H-3), 2.71 (тт, J = 2.5, 6.0 Гц, 2H, H-6), 4.29–4.44 (м, 2H, H-17), 5.21 (с, 2H, H-14), 6.86 (д, J = 2.5 Гц, 1H, H-12), 6.90 (дд, J = 2.5, 8.7 Гц, 1H, H-10), 7.43 (д, J = 8.7 Гц, 1H, H-9), 7.62 (с, 1H, H-16).

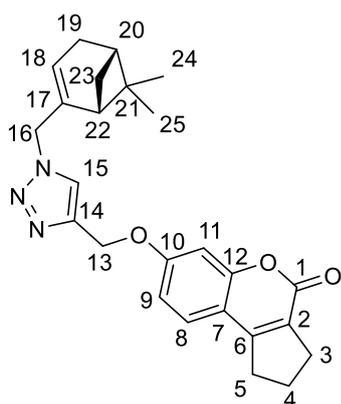
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ) 19.10 (C-25), 21.18 (C-4), 21.49 (C-5), 22.41 (C-24), 22.50 (C-26), 23.68 (C-3), 24.34 (C-21), 25.05 (C-6), 27.73 (C-23), 30.15 (C-19), 36.67 (C-22), 37.16 (C-20), 38.92 (C-18), 48.58 (C-17), 62.08 (C-14), 101.65 (C-12), 111.94 (C-10), 114.04 (C-8), 120.66 (C-2), 122.50 (C-16), 124.11 (C-9), 142.93 (C-15), 147.08 (C-7), 153.15 (C-13), 159.75 (C-11), 161.92 (C-1).



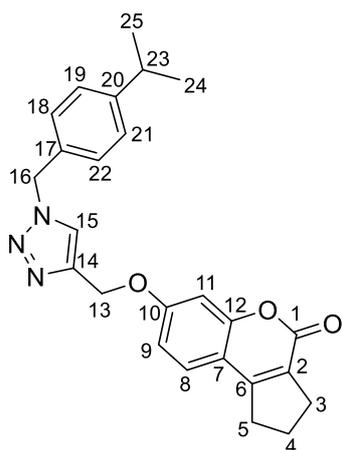
7-[1-{(1*C*,5*R*)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]метил}-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-2,3-дигидроциклопента[с]хромен-4(1*H*)-он (98).

Выход: 64%. Твердое вещество, т. пл. 130.3°C, $[\alpha]_{589}^{23,6} = +17,22$ (с=0.36, CHCl_3). Найдено 416.1968, $m/z=417.2047$ $[\text{M}-\text{H}]^+$ ($\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{N}_3$) $^+$. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ) 0.67 (с, 3H, H-24), 1.08 (д, J = 8.8 Гц, 1H, H-23a), 1.15 (с, 3H, H-25), 1.97 (тд, J = 1.5, 5.9 Гц, 1H, H-22), 2.06 (ттд, J = 1.3, 2.9, 5.9 Гц, 1H, H-20), 2.16 (тт, J = 7.6, 8.2 Гц, 2H, H-4), 2.28 (квтт, J = 1.7, 2.9, 8.8 Гц, 2H, H-19), 2.34 (дт, J = 5.9, 8.8 Гц, 1H, H-23b), 2.85 (тт, J = 1.8, 7.6 Гц, 2H, H-3), 3.00 (тт, J = 1.8, 8.2 Гц, 2H, H-5), 4.84 (дд, J = 1.7, 1.5 Гц, 2H, H-16), 5.22 (с, 2H, H-13), 5.58 (тт, J = 1.7, 3.1 Гц, 1H, H-18), 6.83–6.93 (м, 2H, H-9,11), 7.31 (д, J = 8.3 Гц, 1H, H-8), 7.57 (с, 1H, H-15).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ) 20.73 (C-24), 22.40 (C-4), 25.66 (C-25), 30.23 (C-3), 31.09 (C-19), 31.47 (C-23), 31.90 (C-5), 37.81 (C-21), 40.21 (C-20), 43.21 (C-22), 55.26 (C-16), 62.19 (C-13), 101.96 (C-11), 112.21 (C-7), 112.72 (C-9), 122.55 (C-15), 123.12 (C-18), 124.69 (C-2), 125.56 (C-8), 141.74 (C-17), 143.11 (C-14), 155.44 (C-12), 156.07 (C-6), 160.25 (C-10), 160.31 (C-1).



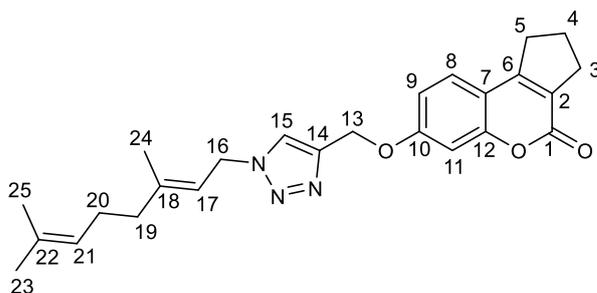
7-[1-{{(1*R*,5*S*)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил}метил}-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-2,3-дигидроциклопента[с]хромен-4(1*H*)-он (**99**). Выход: 60%. Твердое вещество, т. пл. 131.1°C, $[\alpha]_{589}^{23,2} = -14,85$ (с=0.498, CHCl₃). Найдено $m/z=417.2047$ [M-1H]⁺, вычислено: 416.1968 (C₂₅H₂₆O₃N₃)⁺. ¹H и ¹³C спектры идентичны **98**.



7-[1-(4-Изопропилбензил)-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-2,3-дигидроциклопента[с]хромен-4(1*H*)-он (**100**). Выход: 76%. Твердое вещество, т. пл. 156.1°C. Найдено $m/z=415.1890$ [M]⁺, вычислено: 415.1894 (C₂₅H₂₅O₃N₃)⁺. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ) 1.19, 1.21 (д, J = 6.9 Гц, 6H, H-24,25), 2.13 (р, J = 7.6 Гц, 2H, H-4), 2.82 (тт, J = 1.7, 7.6 Гц, 2H, H-3), 2.86 (гепт, J = 6.9 Гц, 1H, H-23), 2.97 (тт, J = 1.7, 7.6 Гц, 2H, H-5), 5.15 (с, 2H, H-13), 5.47 (с, 2H, H-16), 6.86 (дд, J = 2.5, 8.3 Гц, 2H, H-9,11), 7.19 (с, 4H, H-18,19,21,22), 7.27 (д, J = 8.3 Гц, 1H, H-8), 7.58 (с, 1H, H-15).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ) 22.27 (C-4), 23.66 (C-24,25), 30.12 (C-3), 31.8 (C-5), 33.6 (C-23), 53.85 (C-16), 61.97 (C-13), 101.62 (C-11), 112.08 (C-7), 112.56 (C-9), 122.77 (C-15), 124.5 (C-2), 125.51 (C-8), 126.98 (C-18,22), 128.04 (C-19,21), 131.45 (C-17), 143.08 (C-14), 149.48 (C-20), 155.27 (C-12), 156.06 (C-6), 160.16 (C-10), 160.22 (C-1).

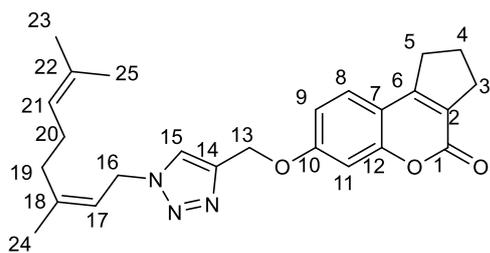
7-[1-(3,7-Диметилокта-2,6-диен-1-ил)-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-2,3-дигидроциклопента[с]хромен-4(1*H*)-он (**101**). Выход: 61%. После очистки колоночной хроматографией, отношение *Z* и *E* изомеров было равно 1:2. Смесь изомеров - твердое вещество, т. пл. 53.8°C. Найдено $m/z=419.2203$ [M]⁺, вычислено: 419.2205 (C₂₅H₂₉O₃N₃)⁺



101(E): Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ) 1.54 (с, 3Н, Н-25), 1.62 (с, 3Н, Н-23), 1.74 (с, 3Н, Н-24), 2.02–2.20 (м, 2Н, Н-4), 2.02–2.20 (м, 4Н, Н-19,20), 2.83 (т, $J = 7.5$ Гц, 2Н, Н-3), 2.98 (т, $J = 7.5$ Гц, 2Н, Н-5), 4.94 (д, $J = 7.2$

Гц, 2Н, Н-16), 4.98–5.08 (м, 1Н, Н-21), 5.18 (с, 2Н, Н-13), 5.39 (т, $J = 7.2$ Гц, 1Н, Н-17), 6.88 (д, $J = 6.4$ Гц, 1Н, Н-9), 6.89 (с, 1Н, Н-11), 7.29 (д, $J = 6.4$ Гц, 1Н, Н-8), 7.59 (с, 1Н, Н-15).

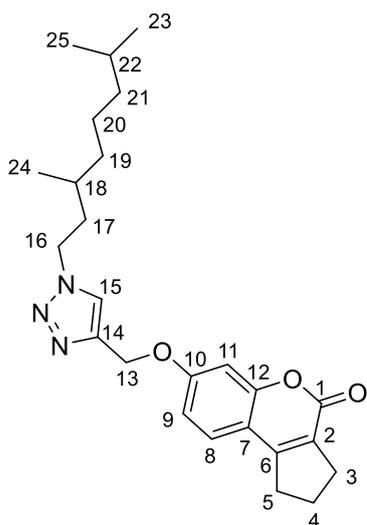
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ) 16.27 (C-24), 17.51 (C-23), 22.32 (C-4), 25.52 (C-25), 25.84 (C-20), 30.16 (C-3), 31.87 (C-5), 39.16 (C-19), 47.81 (C-16), 62.12 (C-13), 101.75 (C-11), 112.07 (C-7), 112.62 (C-9), 116.54 (C-17), 122.15 (C-15), 123.2 (C-21), 124.57 (C-2), 125.52 (C-8), 131.97 (C-22), 142.76 (C-14), 143.43 (C-18), 155.36 (C-12), 156.04 (C-6), 160.18 (C-10), 160.32 (C-1).



101(Z): Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ) 1.55 (с, 3Н, Н-23), 1.62 (с, 3Н, Н-25), 1.76 (с, 3Н, Н-24), 2.11–2.20 (м, 6Н, Н-19,20,4), 2.83 (т, $J = 7.5$ Гц, 2Н, Н-3), 2.98 (т, $J = 7.6$ Гц, 2Н, Н-5), 4.92 (д, $J = 6.6$ Гц, 2Н, Н-16), 4.98–5.08

(м, 1Н, Н-21), 5.18 (с, 2Н, Н-13), 5.39 (т, $J = 6.6$ Гц, 1Н, Н-17), 6.88 (д, $J = 7.2$ Гц, 1Н, Н-9), 6.89 (с, 1Н, Н-11), 7.29 (д, $J = 7.2$ Гц, 1Н, Н-8), 7.59 (с, 1Н, Н-15).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ) 17.51 (C-24), 22.32 (C-4), 23.20 (C-20), 25.49 (C-25), 26.02 (C-23), 30.16 (C-3), 31.83 (C-19), 31.87 (C-5), 47.66 (C-16), 62.12 (C-13), 101.75 (C-11), 112.07 (C-7), 112.62 (C-9), 117.37 (C-17), 122.15 (C-15), 122.91 (C-21), 124.57 (C-2), 125.52 (C-8), 132.52 (C-22), 142.80 (C-14), 143.23 (C-18), 155.36 (C-12), 156.04 (C-6), 160.18 (C-10, C-1).



7-[1-(3,7-Диметилоктил)-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-2,3-дигидроциклопента[с]хромен-

4(1*H*)-он (**102**). Выход: 60%. Твердое вещество, т. пл.

80.9°C. Найдено $m/z=423.2516$ $[M]^+$, вычислено:

423.2519 ($C_{25}H_{33}O_3N_3$)⁺. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц,

$CDCl_3$, δ) 0.81 (д, $J = 6.6$ Гц, 6H, H-23, 25), 0.91 (д, J

$= 6.6$ Гц, 3H, H-24), 1.02 - 1.32 (м, 6H, H-19, 20, 21),

1.35 - 1.54 (м, 2H, H-18, 22), 1.61 - 1.77 (м, 1H, H-17a),

1.83 - 1.98 (м, 1H, H-17b), 2.15 (р, $J = 7.6$ Гц, 2H, H-

4), 2.84 (тт, $J = 1.8, 7.6$ Гц, 2H, H-3), 2.99 (тт, $J = 1.8, 7.6$ Гц, 2H, H-5), 4.36 (ддд,

$J = 3.2, 6.7, 8.3$ Гц, 2H, H-16), 5.2 (с, 2H, H-13), 6.89 (д, $J = 7.2$ Гц, 1H, H-9), 6.91

(с, 1H, H-11), 7.27 - 7.33 (м, 1H, H-8), 7.63 (с, 1H, H-15).

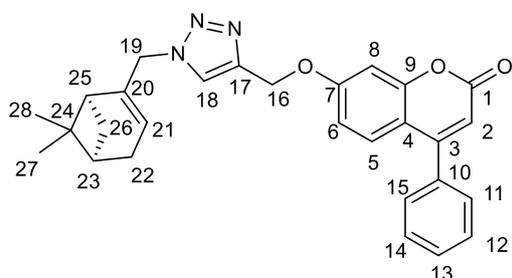
Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 19.08 (C-24), 22.34 (C-4), 22.39 (C-

23), 22.48 (C-25), 24.32 (C-20), 27.71 (C-22), 30.14 (C-18), 30.19 (C-3), 31.86 (C-

5), 36.65 (C-21), 37.14 (C-19), 38.9 (C-17), 48.56 (C-16), 62.12 (C-13), 101.78 (C-

11), 112.13 (C-7), 112.65 (C-9), 122.52 (C-15), 124.61 (C-2), 125.56 (C-8), 142.84

(C-14), 155.39 (C-12), 156.07 (C-6), 160.22 (C-10), 160.32 (C-1).



7-[1-{[(1*C*,5*R*)-6,6-

Диметилбцикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-

ил]метил}-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-

4-фенил-2*H*-хромен-2-он (**103**). Выход: 64%.

Аморфное вещество, $[\alpha]_{589}^{25.5} = +10.98$

($c=0.46$, $CHCl_3$). Найдено $m/z=452.1962$ $[M-$

1H]⁺, вычислено: 453.2047 ($C_{28}H_{26}O_3N_3$)⁺. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, $CDCl_3$, δ)

0.77 (с, 3H, H-27), 1.08 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, H-26a), 1.16 (с, 3H, H-28), 1.98 (тд, J

$= 1.6, 5.6$ Гц, 1H, H-25), 2.08 (ттд, $J = 3.2, 5.0, 6.6$ Гц, 1H, H-23), 2.18–2.39 (м,

3H, H-22, 26b), 4.85 (дд, $J = 1.5, 1.6$ Гц, 2H, H-19), 5.25 (с, 2H, H-16), 5.59 (тт, J

$= 1.5, 3.0$ Гц, 1H, H-21), 6.20 (с, 1H, H-2), 6.85 (дд, $J = 2.5, 8.9$ Гц, 1H, H-6), 6.96

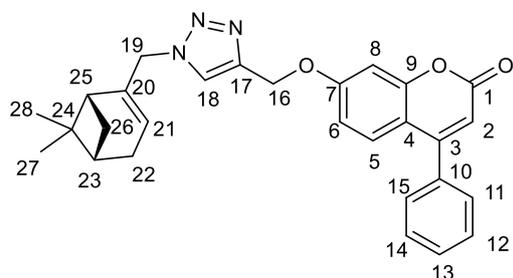
(д, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-8), 7.37 (д, $J = 8.9$ Гц, 1H, H-5), 7.38–7.42 (м, 1H, H-12),

7.45–7.52 (м, 4H, H-11, 13, 14, 15), 7.58 (с, 1H, H-18).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 20.71 (C-27), 25.64 (C-28), 31.07 (C-

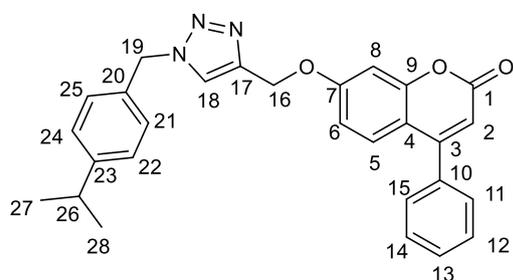
22), 31.44 (C-26), 37.78 (C-24), 40.15 (C-23), 43.15 (C-25), 55.25 (C-19), 62.18

(C-16), 102.23 (C-8), 111.94 (C-2), 112.35 (C-4), 112.76 (C-5), 122.61 (C-18), 123.15 (C-21), 127.96 (C-6), 128.18 (C-11, 15), 128.68 (C-12, 14), 129.48 (C-13), 135.26 (C-10), 141.67 (C-20), 142.9 (C-17), 155.58 (C-7), 155.61 (C-3), 160.97 (C-1), 161.06 (C-9).



7-[1-{{(1R,5S)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил}метил}-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-фенил-2H-хромен-2-он (**104**). Выход: 60%. Аморфное вещество. $[\alpha]_{589}^{25} = -10.22$ (с=0.45, CHCl₃). Найдено $m/z=452.1970$ [M-1H]⁺,

вычислено: 453.2047 (C₂₈H₂₆O₃N₃)⁺. ¹H и ¹³C спектры идентичны **103**.

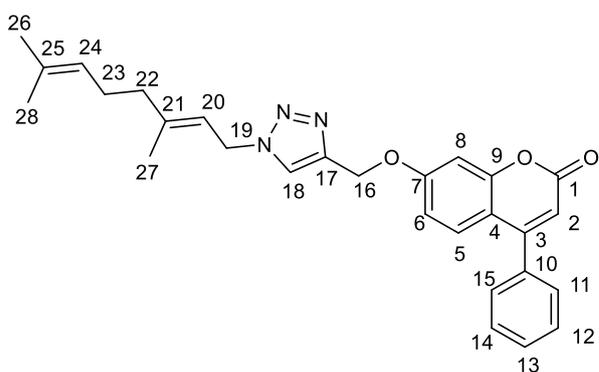


7-[1-(4-Изопропилбензил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-фенил-2H-хромен-2-он (**105**). Выход: 76%. Твердое вещество, Т. пл. 144.6 °С. Найдено $m/z=451.1890$ [M]⁺, вычислено: 451.1887 (C₂₈H₂₅O₃N₃)⁺. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ) 1.21 (д, J = 6.9

Гц, 6H, H-27, 28), 2.88 (гепт, J = 6.9 Гц, 1H, H-26), 5.21 (с, 2H, H-16), 5.49 (с, 2H, H-19), 6.20 (с, 1H, H-2), 6.84 (дд, J = 2.5, 9.0 Гц, 1H, H-6), 6.95 (д, J = 2.5 Гц, 1H, H-8), 7.16 – 7.26 (м, 4H, H-21, 22, 24, 25), 7.37 (д, J = 8.9 Гц, 1H, H-5), 7.39 – 7.44 (м, 2H, H-12, 14), 7.45 – 7.53 (м, 3H, H-11, 13, 15), 7.56 (с, 1H, H-18).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ) 23.75 (C-27, 28), 33.71 (C-26), 53.99 (C-19), 62.16 (C-16), 102.12 (C-8), 112 (C-2), 112.32 (C-4), 112.81 (C-5), 122.75 (C-18), 127.11 (C-21, 25), 128 (C-22, 24), 128.14 (C-6), 128.22 (C-11, 15), 128.7 (C-12, 14), 129.49 (C-13), 131.44 (C-20), 135.29 (C-10), 143.05 (C-17), 149.66 (C-23), 155.58 (C-7), 155.65 (C-3), 160.99 (C-1), 161.11 (C-9).

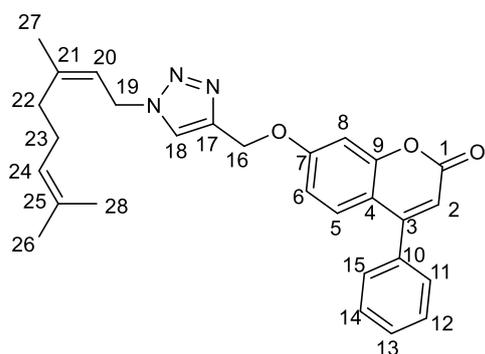
7-[1-(3,7-Диметилокта-2,6-диен-1-ил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-фенил-2H-хромен-2-он (**106**). Выход: 66%. После очистки колоночной хроматографией, отношение Z и E изомеров было равно 1:2. Смесь изомеров - аморфное вещество. Найдено $m/z=455.2203$ [M]⁺, вычислено: 455.2205 (C₂₈H₂₉O₃N₃)⁺.



106(E): Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, CDCl_3 , δ) 1.56 (с, 3Н, Н-28), 1.65 (с, 3Н, Н-26), 1.76 (с, 3Н, Н-27), 2.06–2.14 (м, 4Н, Н-22, 23), 4.97 (д, $J = 7.3$ Гц, 2Н, Н-19), 4.97 (д, $J = 7.3$ Гц, 1Н, Н-24), 5.23 (с, 2Н, Н-16), 5.42 (т, $J = 7.3$ Гц, 1Н, Н-20), 6.20 (с, 1Н, Н-2), 6.87 (дд, $J = 2.5$,

8.8 Гц, 1Н, Н-6), 6.98 (д, $J = 2.5$ Гц, 1Н, Н-8), 7.38 (д, $J = 8.8$ Гц, 1Н, Н-5), 7.39–7.43 (м, 2Н, Н-11, 15), 7.45–7.53 (м, 3Н, Н-12, 13, 14), 7.59 (с, 1Н, Н-18).

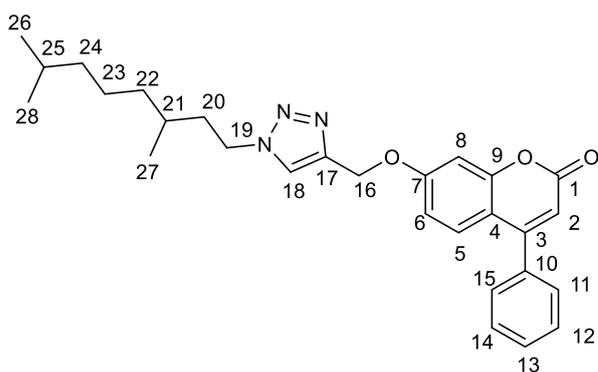
Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, CDCl_3 , δ) 16.34 (C-26), 17.59 (C-27), 25.57 (C-28), 25.9 (C-22), 39.23 (C-23), 47.9 (C-19), 62.25 (C-16), 102.19 (C-8), 112.01 (C-2), 112.31 (C-4), 112.83 (C-6), 116.54 (C-20), 122.19 (C-18), 123.26 (C-24), 128.01 (C-5), 128.23 (C-11, 15), 128.71 (C-12, 14), 129.5 (C-13), 132.08 (C-25), 135.32 (C-10), 142.68 (C-17), 143.61 (C-21), 155.61 (C-9), 155.68 (C-3), 161.02 (C-1), 161.19 (C-7).



106(Z): Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, CDCl_3 , δ) 1.58 (с, 3Н, Н-26), 1.65 (с, 3Н, Н-28), 1.79 (с, 3Н, Н-27), 2.06–2.18 (м, 4Н, Н-22,23), 4.94 (д, $J = 7.3$ Гц, 2Н, Н-19), 5.00–5.09 (м, 1Н, Н-24), 5.23 (с, 2Н, Н-16), 5.42 (т, $J = 7.4$ Гц, 1Н, Н-20), 6.20 (с, 1Н, Н-2), 6.87 (дд, $J = 2.5$, 8.8 Гц,

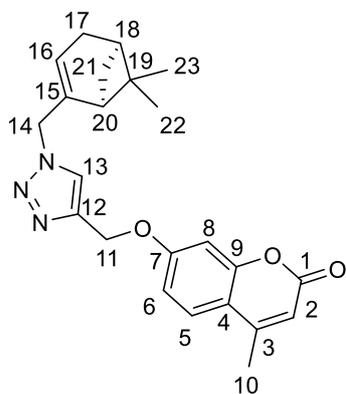
1Н, Н-6), 6.98 (д, $J = 2.3$ Гц, 1Н, Н-8), 7.38 (д, $J = 8.9$ Гц, 1Н, Н-5), 7.39–7.43 (м, 2Н, Н-12,15), 7.45–7.53 (м, 3Н, Н-11,13,14), 7.61 (с, 1Н, Н-18).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, CDCl_3 , δ) 17.59 (C-27), 23.28 (C-23), 25.60 (C-28), 26.09 (C-26), 31.95 (C-22), 47.76 (C-19), 62.25 (C-16), 102.19 (C-9), 112.01 (C-2), 112.31 (C-4), 112.83 (C-5), 117.38 (C-20), 122.19 (C-18), 122.95 (C-24), 128.01 (C-6), 128.23 (C-11, C-15), 128.71 (C-12, C-14), 129.50 (C-13), 132.64 (C-25), 135.32 (C-10), 142.68 (C-17), 143.40 (C-21), 155.61 (C-9), 155.68 (C-3), 161.02 (C-1), 161.19 (C-7).



7-[1-(3,7-Диметилоктил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-фенил-2Н-хромен-2-он (**107**). Выход: 63%. Вязкая оранжевая жидкость. Найдено $m/z=459.2516$ $[M]^+$, вычислено: 459.2518 ($C_{28}H_{33}O_3N_3$)⁺. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.83 (д, $J = 6.6$ Гц, 6H, H-26, 28), 0.93 (д, $J = 6.6$ Гц, 3H, H-27), 1.06 - 1.32 (м, 6H, H-22, 23, 24), 1.38 - 1.54 (м, 2H, H-21, 25), 1.65 - 1.77 (м, 1H, H-20a), 1.87 - 1.99 (м, 1H, H-20b), 4.29 - 4.44 (м, 2H, H-19), 5.24 (с, 2H, H-16), 6.19 (с, 1H, H-2), 6.86 (дд, $J = 2.5, 9.0$ Гц, 1H, H-6), 6.97 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-8), 7.36 (д, $J = 9.0$ Гц, 1H, H-5), 7.34 - 7.43 (м, 2H, H-11, 15), 7.44 - 7.52 (м, 3H, H-12, 13, 14), 7.62 (с, 1H, H-18).

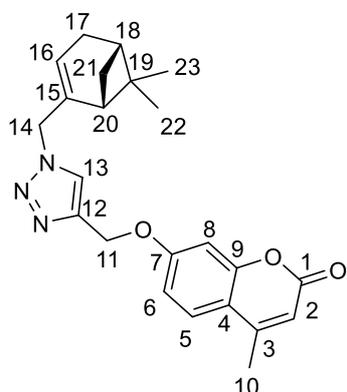
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 19.13 (C-27), 22.41 (C-26), 22.5 (C-28), 24.35 (C-23), 27.75 (C-25), 30.22 (C-21), 36.71 (C-24), 37.18 (C-22), 38.96 (C-20), 48.62 (C-19), 62.29 (C-16), 102.25 (C-8), 112.04 (C-2), 112.32 (C-6), 112.86 (C-4), 122.5 (C-18), 128 (C-5), 128.22 (C-11, 15), 128.7 (C-12, 14), 129.48 (C-13), 135.35 (C-10), 142.77 (C-17), 155.57 (C-3), 155.71 (C-9), 160.91 (C-1), 161.21 (C-7).



7-[1-{[(1R,5R)-6,6-Диметилбicyclo[3.1.1]гептан-2-ил]метил}-1Н-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-метил-2Н-хромен-2-он (**108**). Выход: 57%. Твердое вещество, т. пл. 90.1°C, $[\alpha]_{589}^{23,2} = +17,62$ (с=0.42, $CHCl_3$). Найдено $m/z=390.1810$ $[M-1H]^+$, вычислено: 391.1890 ($C_{23}H_{24}O_3N_3$)⁺. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.66 (с, 3H, H-22), 1.08 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, H-21a), 1.15 (с, 3H, H-23), 1.97 (т, $J = 5.7$ Гц, 1H, H-20), 2.07 (ттд, $J = 1.4, 3.2, 5.7$ Гц, 1H, H-18), 2.30 (квт, $J = 3.2, 8.8$ Гц, 2H, H-17), 2.92 (дт, $J = 5.7, 8.8$ Гц, 1H, H-21b), 2.35 (с, 3H, H-10), 4.84 (с, 2H, H-14), 5.23 (с, 2H, H-11), 5.57 (с, 1H, H-16), 6.1 (с, 1H, H-2), 6.87 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-8), 6.91 (дд, $J = 2.5, 8.8$ Гц, 1H, H-6), 7.46 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, H-5), 7.56 (с, 1H, H-13).

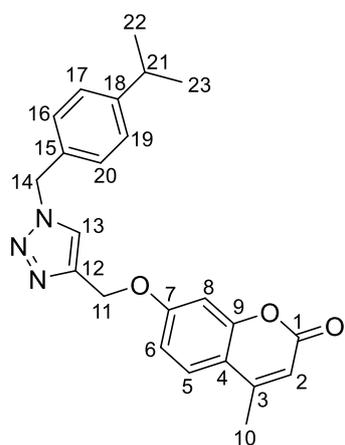
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 18.47 (C-10), 20.71 (C-22), 25.67 (C-23), 31.1 (C-17), 31.46 (C-21), 37.8 (C-19), 40.25 (C-18), 43.28 (C-20), 55.24 (C-

14), 62.24 (C-11), 102.11 (C-8), 112.1 (C-2), 112.29 (C-6), 113.87 (C-4), 122.56 (C-13), 123.1 (C-16), 125.5 (C-5), 141.77 (C-15), 143.01 (C-12), 152.24 (C-3), 154.97 (C-9), 160.94 (C-1), 160.99 (C-7).



7-[1-{{[(1C,5S)-6,6-Диметилбцикло[3.1.1]гептан-2-ил]метил}}-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-метил-2H-хромен-2-он (**109**). Выход: 61%. Твердое вещество, т. пл. 139.6°C с последующим разложением, $[\alpha]_{589}^{23,6} = -14,51$ (с=0.51, CHCl₃). Найдено $m/z = 390.1807$ [M-1H]⁺, вычислено: 391.1890 (C₂₃H₂₄O₃N₃)⁺. ¹H и ¹³C спектры идентичны

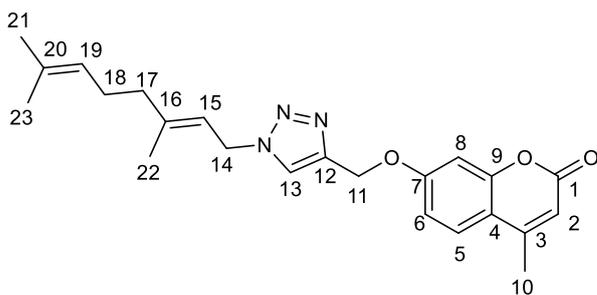
108.



7-[1-(4-Изопропилбензил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-метил-2H-хромен-2-он (**110**). Выход: 71%. Твердое вещество, Т. пл. 130.2°C. Найдено $m/z = 389.1734$ [M]⁺, вычислено: 389.1731 (C₂₃H₂₃O₃N₃)⁺. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ) 1.19 (д, J = 6.9 Гц, 6H, H-22, 23), 2.34 (д, J = 1.3 Гц, 3H, H-10), 2.86 (гепт, J = 6.9 Гц, 1H, H-21), 5.16 (с, 2H, H-11), 5.47 (с, 2H, H-14), 6.08 (кв, J = 1.3 Гц, 1H, H-2), 6.83 (д, J = 2.5 Гц, 1H, H-8), 6.88 (дд, J = 2.5, 8.8 Гц, 1H, H-6), 7.19 (шир. с, 4H, H-16, 17, 19, 20), 7.45 (д, J = 8.8 Гц, 1H, H-5), 7.58 (с, 1H, H-13).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ) 18.49 (C-10), 23.67 (C-22, 23), 33.62 (C-21), 53.87 (C-14), 61.99 (C-11), 101.72 (C-8), 111.93 (C-2), 112.19 (C-6), 113.74 (C-4), 122.8 (C-13), 125.49 (C-5), 127.01 (C-16, 20), 128.06 (C-17, 19), 131.42 (C-15), 142.97 (C-12), 149.52 (C-18), 152.36 (C-3), 154.8 (C-9), 160.87 (C-1), 160.98 (C-7).

7-[1-(4-Изопропилбензил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-метил-2H-хромен-2-он (**111**). Выход: 43%. После очистки колоночной хроматографией, отношение Z и E изомеров было равно 1:2.



111(E) Твердое вещество, т. пл.

57.0°C с последующим разложением.

Найдено $m/z=393.2047$ $[M]^+$,

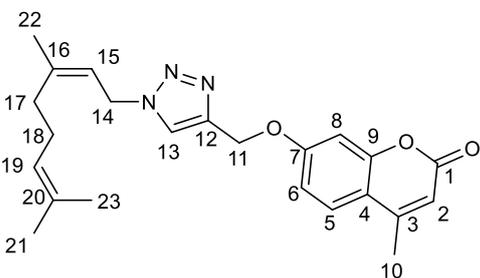
вычислено: 393.2049 ($C_{23}H_{27}O_3N_3$)⁺.

Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ)

1.52 (с, 3H, H-23), 1.60 (с, 3H, H-21),

1.72 (с, 3H, H-22), 1.99–2.10 (м, 4H, H-17,18), 2.32 (д, $J = 1.0$ Гц, 3H, H-10), 4.93 (д, $J = 7.3$ Гц, 2H, H-14), 4.95–5.03 (м, 1H, H-19), 5.16 (с, 2H, H-11), 5.37 (т, $J = 7.3$ Гц, 1H, H-15), 6.05 (кв, $J = 1.0$ Гц, 1H, H-2), 6.82 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-8), 6.88 (дд, $J = 2.5, 8.8$ Гц, 1H, H-6), 7.43 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, H-5), 7.60 (с, 1H, H-13).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 16.20 (C-17), 17.45 (C-22), 18.41 (C-10), 25.43 (C-23), 25.76 (C-21), 39.08 (C-18), 47.74 (C-14), 62.03 (C-11), 101.72 (C-8), 111.84 (C-2), 112.11 (C-4), 113.67 (C-6), 116.48 (C-15), 122.21 (C-13), 123.15 (C-19), 125.45 (C-5), 131.86 (C-20), 142.54 (C-12), 143.35 (C-16), 152.30 (C-9), 154.76 (C-3), 160.88 (C-1,7).



111(Z) Твердое вещество, т. пл. 86.6°C.

Найдено $m/z=393.2047$ $[M]^+$, вычислено:

393.2052 ($C_{23}H_{27}O_3N_3$)⁺ Спектр ЯМР 1H (400

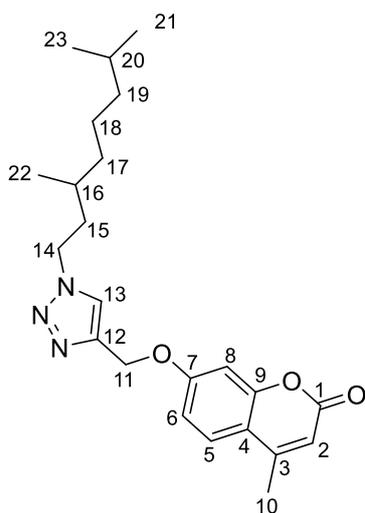
МГц, $CDCl_3$, δ) 1.55 (с, 3H, H-21), 1.63 (с, 3H,

H-23), 1.77 (с, 3H, H-22), 2.08 (кв, $J = 7.3$ Гц,

2H, H-18), 2.17 (т, $J = 7.3$ Гц, 2H, H-17), 2.35

(с, 3H, H-10), 4.92 (д, $J = 7.4$ Гц, 2H, H-14), 5.03 (т, $J = 7.3$ Гц, 1H, H-19), 5.19 (с, 2H, H-11), 5.39 (т, $J = 7.4$ Гц, 1H, H-15), 6.08 (кв, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-2), 6.85 (д, $J = 2.8$ Гц, 1H, H-8), 6.90 (дт, $J = 2.4, 8.7$ Гц, 1H, H-6), 7.46 (дд, $J = 2.1, 8.8$ Гц, 1H, H-5), 7.60 (с, 1H, H-13).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 17.50 (C-22), 18.47 (C-10), 23.20 (C-18), 25.52 (C-23), 26.01 (C-21), 31.86 (C-17), 47.67 (C-14), 62.11 (C-11), 101.83 (C-8), 111.95 (C-2), 112.17 (C-4), 113.76 (C-6), 117.33 (C-15), 122.21 (C-13), 122.90 (C-19), 125.50 (C-5), 132.52 (C-20), 142.66 (C-12), 143.26 (C-16), 152.33 (C-9), 154.85 (C-3), 160.96 (C-1,7).

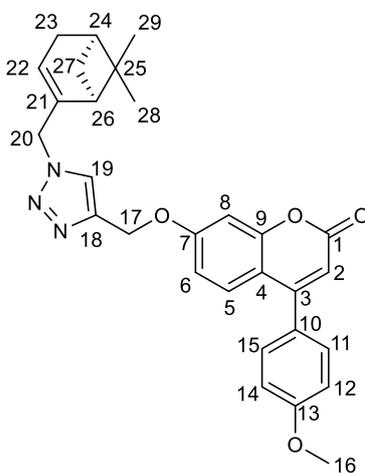


7-[1-(3,7-Диметилоктил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-метил-2Н-хромен-2-он (**112**). Выход: 62%.

Твердое вещество, т. пл. 115.9°C. Найдено $m/z=397.2360$ $[M]^+$, вычислено: 397.2359 ($C_{23}H_{31}O_3N_3$)⁺. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.82 (д, $J = 6.6$ Гц, 6H, H-21,23), 0.92 (д, $J = 6.6$ Гц, 3H, H-22), 1.05–1.31 (м, 6H, H-17,18,19), 1.39–1.53 (м, 2H, H-16,20), 1.65–1.76 (м, 1H, H-15a), 1.87–1.96 (м, 1H, H-15b), 2.35 (д, $J = 1.3$ Гц, 3H, H-10), 4.29–4.41 (м, 2H, H-14), 5.22 (с, 2H, H-11), 6.10 (д, $J = 1.3$ Гц, 1H, H-

2), 6.88 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-8), 6.92 (дд, $J = 2.5, 8.8$ Гц, 1H, H-6), 7.47 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, H-5), 7.62 (с, 1H, H-13).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 18.46 (C-10), 19.11 (C-22), 22.39 (C-23), 22.48 (C-21), 24.33 (C-18), 27.74 (C-20), 30.20 (C-16), 36.69 (C-19), 37.16 (C-17), 38.94 (C-15), 48.59 (C-14), 62.23 (C-11), 102.01 (C-8), 112.10 (C-2), 112.25 (C-6), 113.88 (C-4), 122.50 (C-13), 125.52 (C-5), 142.80 (C-12), 152.25 (C-3), 154.98 (C-9), 160.94 (C-1), 161.05 (C-7).



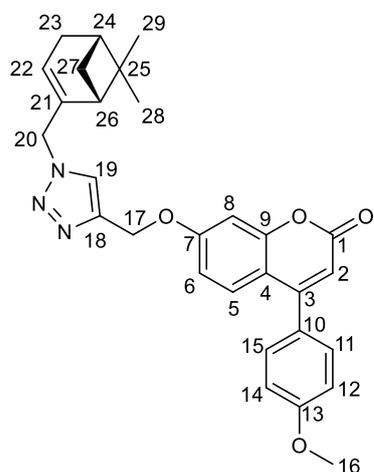
7-[1-{{(1S,5R)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил}метил}-1Н-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-(4-метоксифенил)-2Н-хромен-2-он (**121**). Выход: 57%.

Аморфное бледно-желтое вещество. $[\alpha]_{589}^{23,4} = +9,00$ ($c=1.00$, $CHCl_3$). Найдено $m/z=483.2147$ $[M]^+$, вычислено: 483.2153 ($C_{29}H_{29}O_4N_3$)⁺. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.66 (с, 3H, H-28), 1.07 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, H-27a), 1.15 (с, 3H, H-29), 1.97 (тд, $J = 1.5, 5.6$ Гц, 1H, H-26), 2.06 (спт, $J = 1.6, 2.9$ Гц, 1H, H-24), 2.24 (квспт, $J = 1.5, 8.8$ Гц, 2H, H-

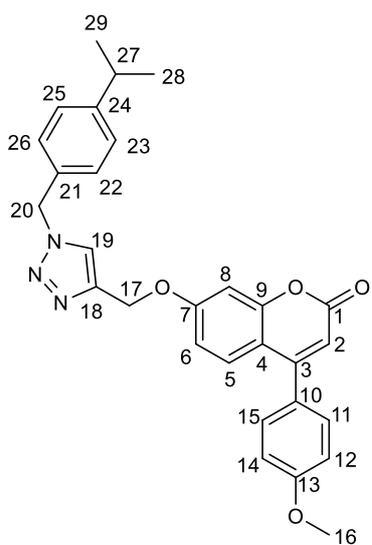
23), 2.32 (дт, $J = 5.6, 8.8$ Гц, 1H, H-27b), 3.85 (с, 3H, H-16), 4.84 (кв, $J = 1.5$ Гц, 2H, H-20), 5.24 (с, 2H, H-17), 5.58 (гепт, $J = 1.5$ Гц, 1H, H-22), 6.15 (с, 1H, H-2), 6.84 (дд, $J = 2.5, 8.9$ Гц, 1H, H-6), 6.93 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-8), 6.98 (дт, $J = 9.0, 3.0$ Гц, 2H, H-14,12), 7.34 (дт, $J = 8.8, 3.0$ Гц, 2H, H-15,11), 7.42 (д, $J = 8.9$ Гц, 1H, H-5), 7.58 (с, 1H, H-19).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 20.70 (C-28), 25.65 (C-29), 31.07 (C-23), 31.44 (C-27), 37.78 (C-25), 40.19 (C-24), 43.20 (C-26), 55.23 (C-20), 55.27 (C-16), 62.21

(C-17), 102.26 (C-8), 111.42 (C-2), 112.24 (C-6), 112.90 (C-4), 114.13 (C-5), 122.59 (C-19), 123.10 (C-22), 127.52 (C-10), 127.97 (C-14,12), 129.68 (C-15,11), 141.72 (C-21), 142.94 (C-18), 155.21 (C-13), 155.66 (C-3), 160.62 (C-9), 160.98 (C-1), 161.07 (C-7).



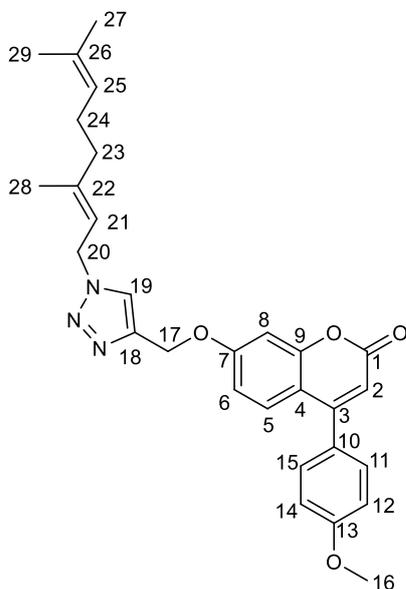
7-[1-{[(1*R*,5*S*)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]метил}-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-(4-метоксифенил)-2*H*-хромен-2-он (**122**). Выход: 33%. Аморфное бледно-желтое вещество. $[\alpha]_{589}^{23,4} = -9,00$ ($c=1.00$, CHCl_3). Найдено $m/z=483.2147 [M]^+$, вычислено: 483.2153 ($\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{O}_4\text{N}_3$)⁺. ¹H и ¹³C спектры идентичны **121**.



7-[1-(4-Изопропилбензил)-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-(4-метоксифенил)-2*H*-хромен-2-он (**123**). Выход: 56%. Твердое вещество, т. пл.: 49.6°C. Найдено $m/z=481.2001 [M]^+$, вычислено: 481.1996 ($\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{O}_4\text{N}_3$)⁺. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl_3 , δ) 1.21 (д, $J = 6.9$ Гц, 6H, H-28,29), 2.88 (п, $J = 6.9$ Гц, 1H, H-27), 3.86 (с, 3H, H-16), 5.20 (с, 2H, H-17), 5.48 (с, 2H, H-20), 6.16 (с, 1H, H-2), 6.84 (дд, $J = 2.6, 8.8$ Гц, 1H, H-6), 6.94 (д, $J = 2.6$ Гц, 1H, H-8), 6.97–7.02 (м, 2H, H-12,14), 7.18–7.23 (м, 4H, H-22,23,25,26), 7.33–7.38 (м, 2H, H-15,11), 7.42 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, H-5), 7.55 (с, 1H, H-19).

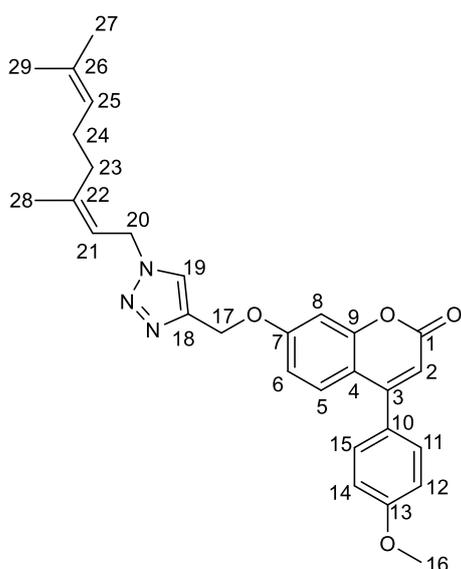
Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl_3 , δ) 23.79 (C-28,29), 33.77 (C-27), 54.05 (C-20), 55.35 (C-16), 62.26 (C-17), 102.25 (C-8), 111.55 (C-2), 112.29 (C-6), 113.04 (C-4), 114.22 (C-5), 122.79 (C-19), 127.17 (C-22,26), 127.63 (C-13), 128.07 (C-14,12), 128.19 (C-23,25), 129.78 (C-15,11), 131.54 (C-21), 143.17 (C-18), 149.73 (C-24), 155.31 (C-10), 155.76 (C-3), 160.72 (C-9), 161.11 (C-1), 161.18 (C-7).

7-[1-(3,7-Диметилокта-2,6-диен-1-ил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-(4-метоксифенил)-2Н-хромен-2-он (**124**). Выход: 51%. После очистки колоночной хроматографией, отношение *Z* и *E* изомеров было равно 1:2.



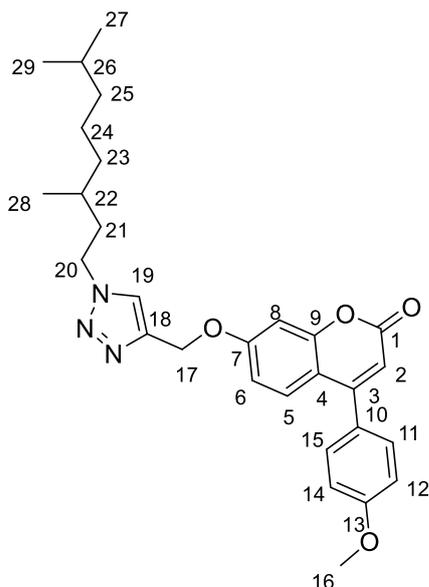
124(E): Аморфное бледно-желтое вещество. Найдено $m/z=485.2309$ $[M]^+$, вычислено: 485.2307 ($C_{29}H_{31}O_4N_3$)⁺. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 1.58 (с, 3Н, Н-27), 1.65 (с, 3Н, Н-29), 1.79 (с, 3Н, Н-28), 2.11 (кв, $J = 7.3$ Гц, 2Н, Н-24), 2.18 (т, $J = 7.3$ Гц, 2Н, Н-23), 3.86 (с, 3Н, Н-16), 4.94 (д, $J = 7.4$ Гц, 2Н, Н-20), 5.05 (т, $J = 7.3$ Гц, 1Н, Н-25), 5.23 (с, 2Н, Н-17), 5.42 (т, $J = 7.4$ Гц, 1Н, Н-21), 6.17 (с, 1Н, Н-2), 6.87 (д, $J = 8.9$ Гц, 1Н, Н-6), 6.97 (с, 1Н, Н-8), 7.00 (д, $J = 8.4$ Гц, 2Н, Н-14,12), 7.36 (д, $J = 8.4$ Гц, 2Н, Н-15,11), 7.44 (д, $J = 8.9$ Гц, 1Н, Н-5), 7.60 (с, 1Н, Н-19).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 17.58 (C-27), 23.28 (C-28), 25.60 (C-29), 26.09 (C-24), 31.95 (C-23), 47.75 (C-20), 55.30 (C-16), 62.25 (C-17), 102.20 (C-8), 111.48 (C-2), 112.20 (C-6), 112.96 (C-4), 114.15 (C-5), 117.40 (C-21), 122.18 (C-19), 122.96 (C-25), 127.57 (C-10), 128.03 (C-14,12), 129.74 (C-15,11), 132.64 (C-26), 142.75 (C-18), 143.38 (C-22), 155.26 (C-13), 155.71 (C-3), 160.64 (C-9), 161.09 (C-1), 161.16 (C-7).



124(Z): Аморфное бледно-желтое вещество. Найдено $m/z=485.2309$ $[M]^+$, вычислено: 485.2307 ($C_{29}H_{31}O_4N_3$)⁺. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 1.56 (с, 3Н, Н-29), 1.64 (с, 3Н, Н-28), 1.76 (с, 3Н, Н-27), 2.09 (с, 4Н, Н-23,24), 3.86 (с, 3Н, Н-16), 4.96 (д, $J = 7.3$ Гц, 2Н, Н-20), 5.00–5.05 (м, 1Н, Н-25), 5.22 (с, 2Н, Н-17), 5.41 (т, $J = 7.4$ Гц, 1Н, Н-21), 6.17 (с, 1Н, Н-2), 6.87 (д, $J = 9.0$ Гц, 1Н, Н-6), 6.96 (с, 1Н, Н-8), 7.00 (д, $J = 8.8$ Гц, 2Н, Н-14,12), 7.36 (д, $J = 8.8$ Гц, 2Н, Н-15,11), 7.44 (д, $J = 9.0$ Гц, 1Н, Н-5), 7.59 (с, 1Н, Н-19).

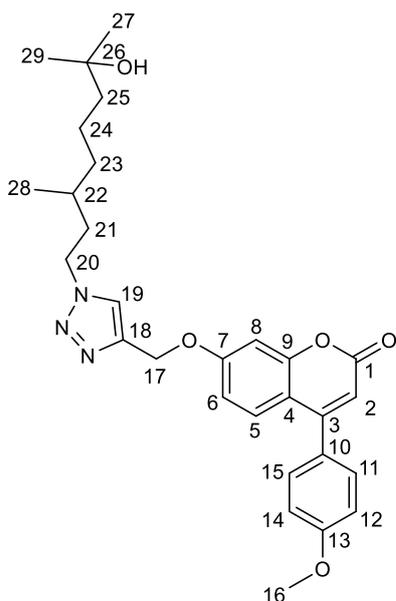
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ) 16.33 (C-28), 17.58 (C-27), 25.55 (C-29), 25.89 (C-24), 39.22 (C-23), 47.88 (C-20), 55.29 (C-16), 62.23 (C-17), 102.17 (C-8), 111.46 (C-2), 112.19 (C-6), 112.94 (C-4), 114.13 (C-5), 116.55 (C-21), 122.17 (C-19), 123.25 (C-25), 127.55 (C-10), 128.01 (C-14,12), 129.72 (C-15,11), 132.06 (C-26), 142.70 (C-18), 143.56 (C-22), 155.24 (C-13), 155.70 (C-3), 160.62 (C-9), 161.07 (C-1), 161.13 (C-7).



7-[1-(3,7-Диметилоктил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-(4-метоксифенил)-2Н-хромен-2-он (125). Выход: 73%. Оранжевая жидкость. Найдено $m/z=489.2625$ $[\text{M}]^+$, вычислено: 489.2622 ($\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{O}_4\text{N}_3$) $^+$. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ) 0.82 (д, $J = 6.6$ Гц, 6H, H-27,29), 0.93 (д, $J = 6.6$ Гц, 3H, H-28), 1.05–1.31 (м, 6H, H-23,24,25), 1.39–1.53 (м, 2H, H-22,26), 1.64–1.76 (м, 1H, H-21a), 1.86–1.98 (м, 1H, H-21b), 3.86 (с, 3H, H-16), 4.30–4.45 (м, 2H, H-20), 5.24 (с, 2H, H-17), 6.17 (с, 1H, H-2), 6.86 (дд, $J = 2.5, 8.9$ Гц, 1H, H-6), 6.96 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-8), 7.00 (дт, $J = 2.1,$

8.8 Гц, 2H, H-14,12), 7.36 (дт, $J = 2.1, 8.8$ Гц, 2H, H-15,11), 7.44 (д, $J = 8.9$ Гц, 1H, H-5), 7.63 (с, 1H, H-19).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ) 19.12 (C-28), 22.41 (C-27), 22.50 (C-29), 24.35 (C-24), 27.75 (C-26), 30.19 (C-22), 36.69 (C-25), 37.17 (C-23), 38.93 (C-21), 48.61 (C-20), 55.29 (C-16), 62.21 (C-17), 102.17 (C-8), 111.46 (C-2), 112.22 (C-6), 112.95 (C-4), 114.14 (C-5), 122.52 (C-19), 127.54 (C-10), 128.02 (C-14,12), 129.72 (C-15,11), 142.75 (C-18), 155.25 (C-13), 155.70 (C-3), 160.63 (C-9), 161.05 (C-1), 161.14 (C-7).

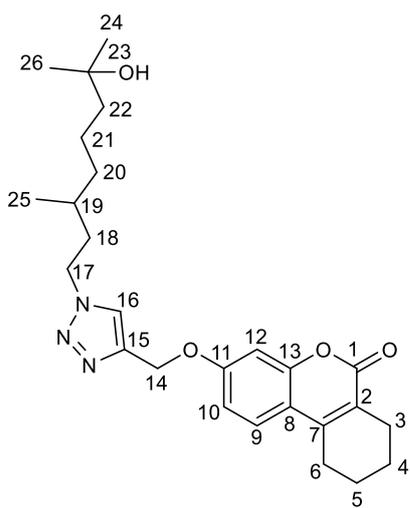


7-[1-(7-Гидрокси-3,7-диметиллоктил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-(4-метоксифенил)-2Н-хромен-2-он (**126**). Выход: 55%. Аморфное вещество.

Найдено $m/z=505.2567$ $[M]^+$, вычислено: 505.2571 ($C_{29}H_{35}O_5N_3$)⁺. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.94 (д, $J = 6.7$ Гц, 3Н, Н-28), 1.17 (с, 6Н, Н-27,29), 1.27–1.40 (м, 6Н, Н-23,24,25), 1.42–1.48 (м, 1Н, Н-22), 1.66–1.74 (м, 1Н, Н-21а), 1.89–1.98 (м, 1Н, Н-21б), 3.85 (с, 3Н, Н-16), 4.31–4.43 (м, 2Н, Н-20), 5.23 (с, 2Н, Н-17), 6.16 (с, 1Н, Н-2), 6.86 (дд, $J = 2.5, 8.9$ Гц, 1Н, Н-6), 6.95 (д, $J = 2.5$ Гц, 1Н, Н-8), 7.00 (дт, $J = 2.8, 8.8$ Гц, 2Н, Н-14,12),

7.35 (дт, $J = 2.8, 8.8$ Гц, 2Н, Н-15,11), 7.43 (д, $J = 8.9$ Гц, 1Н, Н-5), 7.64 (с, 1Н, Н-19).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 19.07 (C-28), 21.30 (C-24), 29.07 (C-29), 29.19 (C-27), 30.12 (C-22), 36.90 (C-25), 37.07 (C-23), 43.71 (C-21), 48.55 (C-20), 55.27 (C-16), 62.18 (C-17), 70.72 (C-26), 102.15 (C-8), 111.42 (C-2), 112.26 (C-6), 112.94 (C-4), 114.13 (C-5), 122.57 (C-19), 127.51 (C-10), 128.01 (C-14,12), 129.70 (C-15,11), 142.75 (C-18), 155.27 (C-13), 155.67 (C-3), 160.62 (C-9), 161.03 (C-1), 161.15 (C-7).

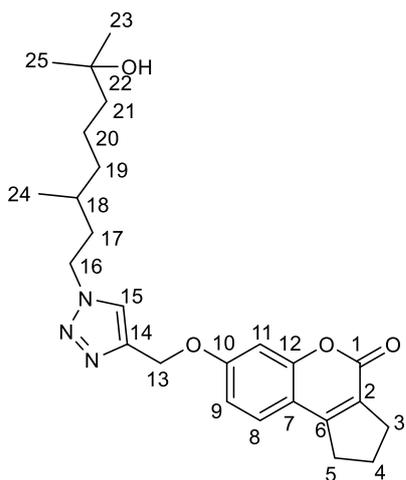


3-[1-(7-Гидрокси-3,7-диметиллоктил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-7,8,9,10-тетрагидро-6Н-бензо[с]хромен-6-он (**127**). Выход: 63%. Аморфное вещество.

Найдено $m/z=453.2622$ $[M]^+$, вычислено: 453.2619 ($C_{26}H_{35}O_4N_3$)⁺. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.98 (д, $J = 6.6$ Гц, 3Н, Н-25), 1.22 (с, 6Н, Н-24,26), 1.29–1.45 (м, 1Н, Н-19), 1.29–1.45 (м, 6Н, Н-20,21,22), 1.46–1.57 (м, 2Н, Н-18), 1.69–1.77 (м, 1Н, Н-17а), 1.93–2.05 (м, 1Н, Н-17б), 1.78–1.89 (м, 4Н, Н-4,5),

2.57 (т, $J = 5.9$ Гц, 2Н, Н-3), 2.76 (т, $J = 5.9$ Гц, 2Н, Н-6), 4.35–4.51 (шир. с., 1Н, С-ОН), 5.26 (с, 2Н, Н-14), 6.91 (д, $J = 2.5$ Гц, 1Н, Н-12), 6.95 (дд, $J = 2.5, 8.7$ Гц, 1Н, Н-10), 7.48 (д, $J = 8.7$ Гц, 1Н, Н-9), 7.67 (с, 1Н, Н-16).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ) 19.09 (C-25), 21.21 (C-4), 21.33 (C-21), 21.51 (C-5), 25.08 (C-6), 29.10 (C-26), 29.22 (C-24), 30.14 (C-19), 36.93 (C-22), 37.10 (C-20), 43.74 (C-18), 48.55 (C-17), 62.14 (C-14), 70.77 (C-23), 101.71 (C-12), 112.00 (C-10), 114.10 (C-8), 120.73 (C-2), 122.51 (C-16), 124.14 (C-9), 143.01 (C-15), 147.09 (C-7), 153.20 (C-3,13), 159.78 (C-11), 161.95 (C-1).



7-[1-(7-Гидрокси-3,7-диметилоктил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-2,3-

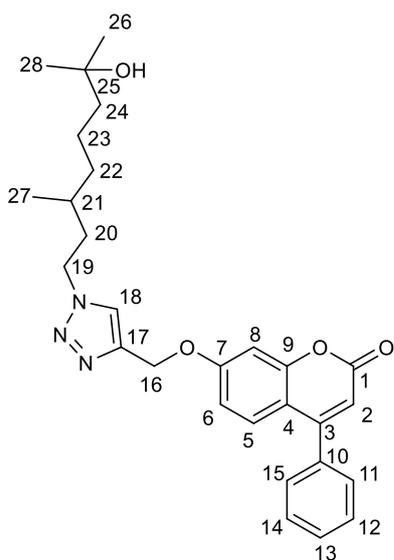
дигидроциклопента[с]хромен-4(1H)-он (**128**). Выход:

74%. Твердое вещество, т. пл. 114.9°C. Найдено $m/z=439.2465$ $[\text{M}]^+$, вычислено: 439.2466 ($\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{O}_4\text{N}_3$) $^+$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ) 0.93 (д, $J = 6.5$ Гц, 3H, H-24), 1.17 (с, 6H, H-23,25), 1.23–1.41 (м, 6H, H-19,20,21), 1.36–1.52 (м, 1H, H-18), 1.63–1.77 (м, 1H, H-17a), 1.86–2.00 (м, 1H, H-17b), 2.16 (п, $J = 7.6$ Гц, 2H, H-

4), 2.85 (тт, $J = 1.8, 7.6$ Гц, 2H, H-3), 3.01 (тт, $J = 1.8, 7.6$ Гц, 2H, H-5), 4.28–4.45 (м, 2H, H-16), 5.21 (с, 2H, H-13), 6.91 (дд, $J = 2.4, 8.6$ Гц, 1H, H-9), 6.92 (с, 1H, H-11), 7.31 (д, $J = 8.6$ Гц, 1H, H-8), 7.63 (с, 1H, H-15).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ) 19.08 (C-24), 21.32 (C-20), 22.39 (C-4), 29.10 (C-25), 29.22 (C-23), 30.13 (C-18), 30.23 (C-3), 31.90 (C-5), 36.92 (C-21), 37.10 (C-19), 43.74 (C-17), 48.54 (C-16), 62.17 (C-13), 70.73 (C-22), 101.84 (C-11), 112.21 (C-9), 112.72 (C-7), 122.53 (C-15), 124.69 (C-2), 125.60 (C-8), 142.91 (C-14), 155.44 (C-12), 156.11 (C-6), 160.28 (C-10), 160.34 (C-1).



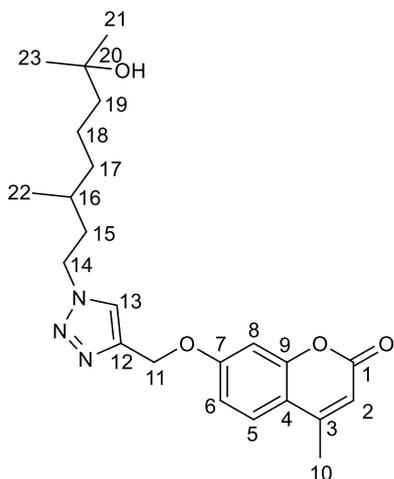
7-[1-(7-Гидрокси-3,7-диметилоктил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-фенил-2Н-хромен-2-он (**129**).

Выход: 59%. Аморфное вещество. Найдено $m/z=475.2468 [M]^+$, вычислено: 475.2466 ($C_{28}H_{33}O_4N_3$)⁺.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ) 0.94 (д, J = 6.6 Гц, 3Н, Н-27), 1.18 (с, 6Н, Н-26,28), 1.26–1.43 (м, 6Н, Н-22,23,24), 1.42–1.52 (м, 1Н, Н-21), 1.62–1.80 (м, 1Н, Н-20а), 1.86–2.02 (м, 1Н, Н-20б), 4.27–4.43 (м, 2Н, Н-19), 5.25 (с, 2Н, Н-16), 6.20 (с, 1Н, Н-2), 6.86 (дд, J = 2.5, 8.9 Гц, 1Н, Н-6), 6.98 (д, J = 2.5 Гц, 1Н, Н-8), 7.37 (д, J = 8.9

Гц, 1Н, Н-5), 7.39–7.44 (м, 2Н, Н-11,15), 7.45–7.51 (м, 3Н, Н-12,13,14), 7.63 (с, 1Н, Н-18).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ) 19.12 (C-27), 21.35 (C-23), 29.14 (C-28), 29.26 (C-26), 30.19 (C-21), 36.96 (C-24), 37.13 (C-22), 43.77 (C-20), 48.59 (C-19), 62.29 (C-16), 70.77 (C-25), 102.24 (C-8), 112.06 (C-2), 112.38 (C-6), 112.89 (C-4), 122.55 (C-18), 128.04 (C-5), 128.24 (C-11,15), 128.72 (C-12,14), 129.51 (C-13), 135.35 (C-10), 142.81 (C-17), 155.62 (C-3), 155.72 (C-9), 160.99 (C-1), 161.20 (C-7).



7-[1-(7-Гидрокси-3,7-диметилоктил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил]метокси-4-метил-2Н-хромен-2-он (**130**).

Выход: 31%. Аморфное вещество. Найдено $m/z=413.2314 [M]^+$, вычислено: 413.2309 ($C_{23}H_{31}O_4N_3$)⁺.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ) 0.94 (д, J = 6.6 Гц, 3Н, Н-22), 1.18 (с, 6Н, Н-21,23), 1.21–1.41 (м, 6Н, Н-17,18,19), 1.42–1.51 (м, 1Н, Н-16), 1.66–1.76 (м, 1Н, Н-15а), 1.86–2.03 (м, 1Н, Н-15б), 2.37 (д, J = 1.2 Гц, 3Н, Н-10), 4.27–4.48 (м, 2Н, Н-14), 5.23 (с, 2Н, Н-11), 6.11 (д, J

= 1.2 Гц, 1Н, Н-2), 6.89 (д, J = 2.5 Гц, 1Н, Н-8), 6.93 (дд, J = 2.5, 8.8 Гц, 1Н, Н-6), 7.48 (д, J = 8.8 Гц, 1Н, Н-5), 7.62 (с, 1Н, Н-13).

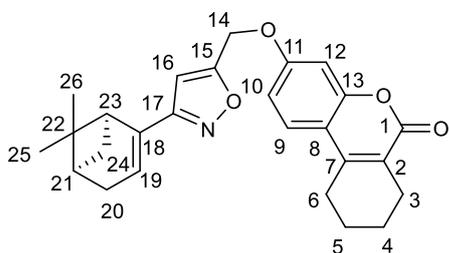
Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ) 18.52 (C-10), 19.11 (C-22), 21.35 (C-18), 29.14 (C-23), 29.25 (C-21), 30.18 (C-16), 36.96 (C-19), 37.12 (C-17), 43.77 (C-15), 48.58 (C-14), 62.25 (C-11), 70.76 (C-20), 102.04 (C-8), 112.15 (C-2), 112.33 (C-6), 113.93 (C-

4), 122.53 (C-13), 125.57 (C-5), 142.86 (C-12), 152.32 (C-3), 155.01 (C-9), 161.04 (C-1,7).

4.3 Общая методика синтеза изоксазолов 136–147

К раствору окислителя PIFA (0.86 ммоль) в 10 мл метанола при мягком нагревании (40 °С) добавляли кумариновый эфир (0.59 ммоль). Через 10 минут начинали капельное добавление раствора соответствующего оксима (0.86 ммоль) в 5 мл метанола, продолжая его в течение 3 часов. После завершения добавления смесь перемешивали при том же нагреве ещё 1 час, затем оставляли на ночь.

Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом, органическую фазу промывали водой, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали. Полученный продукт очищали методом колонной хроматографии на SiO₂ с использованием смеси гексан–хлороформ–этилацетат, где концентрации гексана и хлороформа были равными, а содержание EtOAc постепенно увеличивали от 0% до 5%.



3-[3-[(1S,5R)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]изоксазол-5-ил]метокси-7,8,9,10-тетрагидро-6H-бензо[с]хромен-6-он (136)

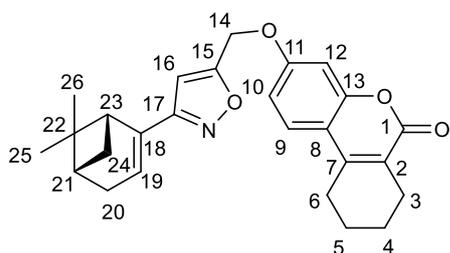
Белое твердое вещество. $T_{пл}$ 133.1 °С.

$[\alpha]_{589}^{23,4} = +29.0$ (с=1.00, CHCl₃). Найдено $m/z =$

417.1932 [M]⁺, Вычислено: 417.1935 (C₂₆H₂₇O₄N₁)⁺. Выход 21%. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ) 0.82 (с, 3H, H-25), 1.22 (д, J = 8.7 Гц, 1H, H-24a), 1.33 (с, 3H, H-26), 1.71–1.87 (м, 4H, H-4,5), 2.16 (дкв, J = 3.0, 8.7 Гц, 1H, H-21), 2.43 (квт, J = 3.2, 8.7 Гц, 2H, H-20), 2.46–2.50 (м, 1H, H-24b), 2.53 (т, J = 6.5 Гц, 2H, H-3), 2.71 (т, J = 6.5 Гц, 2H, H-6), 2.95 (т, J = 5.7 Гц, 1H, H-23), 5.13 (с, 2H, H-14), 6.14–6.20 (м, 1H, H-19), 6.42 (с, 1H, H-16), 6.83 (д, J = 2.6 Гц, 1H, H-12), 6.87 (дд, J = 2.6, 9.0 Гц, 1H, H-10), 7.45 (д, J = 9.0 Гц, 1H, H-9).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ) 20.77 (C-25), 21.20 (C-4), 21.49 (C-5), 23.72 (C-3), 25.08 (C-6), 25.84 (C-26), 31.09 (C-20), 32.05 (C-24), 37.71 (C-22), 40.35 (C-21), 42.35 (C-23), 61.24 (C-14), 100.52 (C-12), 101.63 (C-16), 111.94 (C-10), 114.52

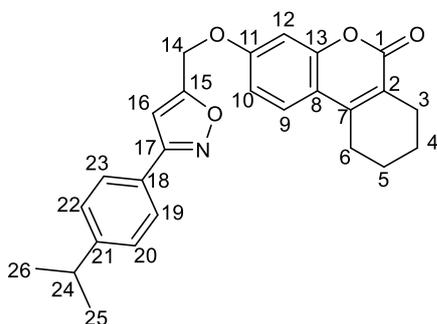
(C-8), 121.08 (C-2), 124.29 (C-19), 127.03 (C-9), 137.44 (C-18), 146.93 (C-7), 153.18 (C-13), 159.22 (C-11), 161.77 (C-1), 162.36 (C-17), 166.04 (C-15).



3-[3-[(1*R*,5*S*)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]изоксазол-5-ил]метокси-7,8,9,10-тетрагидро-6*H*-бензо[*c*]хромен-6-он (**137**)

Белое твердое вещество. $T_{пл}$ 133.0 °C. $[\alpha]_{589}^{23,4} = -28.0$ ($c=1.00$, $CHCl_3$). Найдено $m/z = 417.1937$ $[M]^+$,

Вычислено: 417.1935 ($C_{26}H_{27}O_4N_1$)⁺. Выход 20%. Спектральные данные идентичны таковым для соединения **136**.

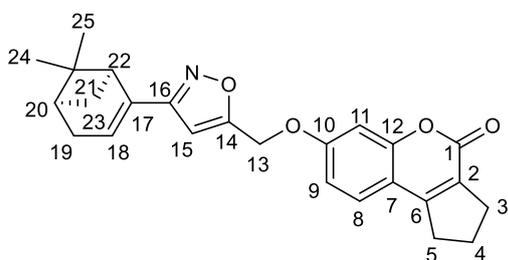


3-[3-(4-изопропилфенил)изоксазол-5-ил]метокси-7,8,9,10-тетрагидро-6*H*-бензо[*c*]хромен-6-он (**138**)

Желтое твердое вещество. $T_{пл}$ 176.2 °C. Найдено $m/z = 415.1782$ $[M]^+$, Вычислено: 415.1778 ($C_{26}H_{25}O_4N_1$)⁺. Выход 39%. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 1.24 (д, $J = 6.9$ Гц, 6*H*, *H*-25,26), 1.70–

1.88 (м, 4*H*, *H*-4,5), 2.52 (тт, $J = 2.0, 6.1$ Гц, 2*H*, *H*-3), 2.71 (тт, $J = 2.0, 6.1$ Гц, 2*H*, *H*-6), 2.92 (гепт, $J = 6.9$ Гц, 1*H*, *H*-24), 5.21 (с, 2*H*, *H*-14), 6.63 (с, 1*H*, *H*-16), 6.86 (д, $J = 2.4$ Гц, 1*H*, *H*-12), 6.89 (дд, $J = 2.4, 8.6$ Гц, 1*H*, *H*-10), 7.28 (дт, $J = 1.7, 8.2$ Гц, 2*H*, *H*-20,22), 7.45 (д, $J = 8.6$ Гц, 1*H*, *H*-9), 7.70 (дт, $J = 1.7, 8.2$ Гц, 2*H*, *H*-19,23).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 21.19 (C-4), 21.47 (C-5), 23.65 (C-25,26), 23.72 (C-3), 25.06 (C-6), 33.90 (C-24), 61.32 (C-14), 101.69 (C-12), 101.73 (C-16), 111.93 (C-10), 114.59 (C-8), 121.13 (C-2), 124.30 (C-9), 125.93 (C-21), 126.71 (C-19,23), 126.90 (C-20,22), 146.89 (C-7), 151.15 (C-18), 153.18 (C-13), 159.19 (C-11), 161.72 (C-1), 162.37 (C-17), 167.02 (C-15).



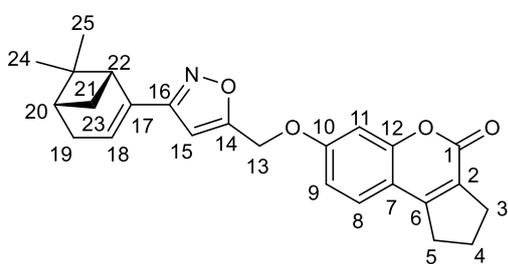
7-[3-[(1*S*,5*R*)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]изоксазол-5-ил]метокси-2,3-дигидроциклопента[*c*]хромен-4(1*H*)-он (**139**)

Белое твердое вещество. $T_{пл}$ 125.1 °C. $[\alpha]_{589}^{23,4} = +37.0$ ($c=1.00$, $CHCl_3$). Найдено

$m/z = 403.1774$ $[M]^+$, Вычислено: 403.1778 ($C_{25}H_{25}O_4N_1$)⁺. Выход 25%. Спектр ЯМР 1H (300 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.82 (с, 3*H*, *H*-24), 1.19–1.26 (м, 1*H*, *H*-23а), 1.33 (с, 3*H*, *H*-25), 2.11–2.21 (м, 3*H*, *H*-4,20), 2.44 (дт, $J = 3.2, 8.9$ Гц, 2*H*, *H*-19), 2.49 (дт, $J = 5.7, 8.9$ Гц,

1H, H-23b), 2.80–2.90 (м, 2H, H-3), 2.95 (тд, J = 1.6, 5.7 Гц, 1H, H-22), 3.02 (тт, J = 1.9, 8.3 Гц, 2H, H-5), 5.14 (с, 2H, H-13), 6.17 (тт, J = 1.6, 3.2 Гц, 1H, H-18), 6.43 (с, 1H, H-15), 6.87 (д, J = 2.5 Гц, 1H, H-9), 6.88–6.91 (м, 1H, H-11), 7.34 (д, J = 8.3 Гц, 1H, H-8).

Спектр ЯМР ¹³C (75 МГц, CDCl₃, δ) 20.77 (C-24), 22.38 (C-4), 25.83 (C-25), 30.26 (C-3), 31.08 (C-19), 31.92 (C-23), 32.04 (C-5), 37.70 (C-21), 40.32 (C-20), 42.30 (C-22), 61.24 (C-13), 100.56 (C-11), 101.74 (C-15), 112.16 (C-9), 113.14 (C-7), 125.07 (C-2), 125.75 (C-18), 127.09 (C-8), 137.41 (C-17), 155.40 (C-12), 155.98 (C-6), 159.76 (C-10), 160.14 (C-1), 162.36 (C-16), 165.93 (C-14).

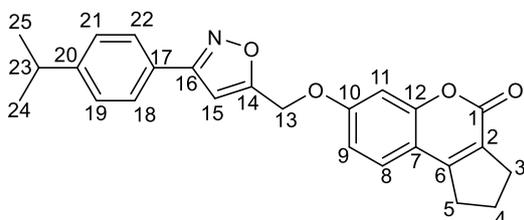


7-[3-[(1*R*,5*S*)-6,6-Диметилбicyclo[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]изоксазол-5-ил]метокси-2,3-дигидроциклопента[с]хромен-4(1*H*)-он (**140**)

Белое твердое вещество. T_{пл} 123.9 °С.

[α]₅₈₉^{23,4} = -26.6 (с=1.00, CHCl₃). Найдено

m/z=403.1776 [M]⁺, Вычислено: 403.1778 (C₂₅H₂₅O₄N₁)⁺. Выход 23% Спектральные данные идентичны таковым для соединения **139**.



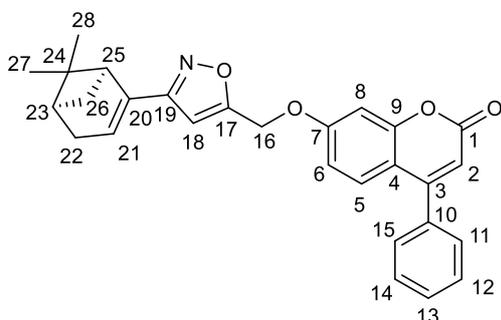
7-[3-(4-Изопропилфенил)изоксазол-5-ил]метокси-2,3-дигидроциклопента[с]хромен-4(1*H*)-он (**141**)

Белое твердое вещество. T_{пл} 129.0 °С.

Найдено m/z=401.1620 [M]⁺, Вычислено: 401.1622 (C₂₅H₂₃O₄N₁)⁺. Выход 32%. Спектр ЯМР ¹H (300 МГц, CDCl₃, δ) 1.33 (д, J = 6.9 Гц, 6H, H-24,25), 2.17 (п, J = 7.6 Гц, 2H, H-4), 2.80–2.90 (тт, J = 2.3, 7.6 Гц, 2H, H-3), 2.95 (спт, J = 6.9 Гц, 1H, H-23), 3.02 (тт, J = 2.3, 7.6 Гц, 2H, H-5), 5.14 (с, 2H, H-13), 6.43 (с, 1H, H-15), 6.87 (дд, J = 2.5, 8.7 Гц, 1H, H-9), 6.90 (д, J = 2.5 Гц, 1H, H-11), 7.29 (д, J = 8.3 Гц, 2H, H-19,21), 7.34 (д, J = 8.7 Гц, 1H, H-8), 7.71 (д, J = 8.3 Гц, 2H, H-18,22).

Спектр ЯМР ¹³C (75 МГц, CDCl₃, δ) 22.37 (C-4), 23.67 (C-24,25), 30.28 (C-3), 31.91 (C-5), 33.92 (C-23), 61.34 (C-13), 101.74 (C-11), 101.86 (C-15), 112.16 (C-9), 113.23 (C-7), 125.15 (C-2), 125.78 (C-8), 125.90 (C-20), 126.72 (C-18,22), 126.92 (C-

19,21), 151.18 (C-17), 155.42 (C-12), 155.94 (C-6), 159.73 (C-10), 160.10 (C-1), 162.39 (C-16), 166.91 (C-14).

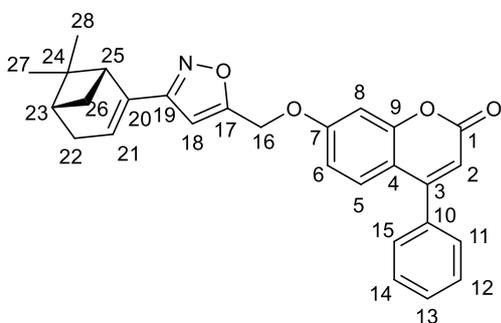


7-[3-[(1*S*,5*R*)-6,6-Диметилбicyclo[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]изоксазол-5-ил]метокси-4-фенил-2*H*-хромен-2-он (**142**)

Желтое аморфное вещество. $[\alpha]_{589}^{23,4} = +21.8$ ($c=1.00$, CHCl_3). Найдено $m/z=439.1779$ $[\text{M}]^+$, Вычислено: 439.1778 ($\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{O}_4\text{N}_1$)⁺. Выход 25%.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, CDCl_3 , δ) 0.83 (с, 3H, H-27), 1.22 (д, $J = 9.01$ Гц, 1H, H-26a), 1.33 (с, 3H, H-28), 2.16 (тт, $J = 2.93, 3.05$ Гц, 1H, H-23), 2.36–2.49 (м, 2H, H-22), 2.50 (д, $J = 5.6$ Гц, 1H, H-26b), 2.91–3.01 (м, 1H, H-25), 5.17 (с, 2H, H-16), 6.16–6.19 (м, 1H, H-21), 6.23 (с, 1H, H-2), 6.45 (с, 1H, H-18), 6.83 (дд, $J = 2.6, 8.9$ Гц, 1H, H-6), 6.92 (д, $J = 2.6$ Гц, 1H, H-8), 7.39–7.42 (м, 3H, H-5,11,15), 7.48–7.51 (м, 3H, H-12,13,14).

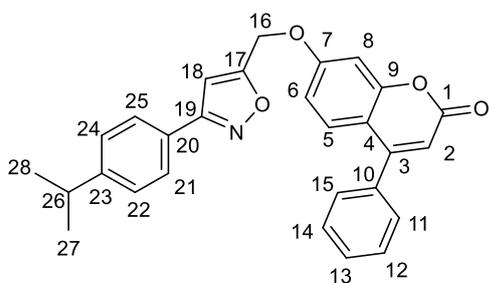
Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, CDCl_3 , δ) 20.73 (C-27), 25.78 (C-28), 31.03 (C-22), 32.00 (C-26), 37.66 (C-24), 40.26 (C-23), 42.24 (C-25), 61.20 (C-16), 100.60 (C-8), 101.99 (C-18), 112.24 (C-2), 112.26 (C-6), 113.19 (C-4), 125.46 (C-21), 127.12 (C-5), 128.14 (C-11), 128.18 (C-15), 128.70 (C-12,14), 129.52 (C-13), 135.13 (C-10), 137.33 (C-20), 155.47 (C-3), 155.58 (C-9), 160.50 (C-1), 160.83 (C-7), 162.33 (C-19), 165.69 (C-17).



7-[3-[(1*R*,5*S*)-6,6-Диметилбicyclo[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]изоксазол-5-ил]метокси-4-фенил-2*H*-хромен-2-он (**143**)

Желтое аморфное вещество. $[\alpha]_{589}^{23,4} = -22.0$ ($c=1.00$, CHCl_3). Найдено $m/z=439.1772$ $[\text{M}]^+$, Вычислено: 439.1778 ($\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{O}_4\text{N}_1$)⁺. Выход 25%.

Спектральные данные идентичны таковым для соединения **142**.



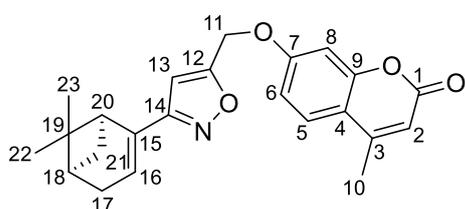
7-[3-(4-Изопропилфенил)изоксазол-5-

ил]метокси-4-фенил-2H-хромен-2-он (**144**)

Желтое твердое вещество. $T_{пл}$ 115.4 °С. Найдено $m/z=437.1625$ $[M]^+$, Вычислено: 437.1622 ($C_{28}H_{23}O_4N_1$)⁺. Выход 30%. Спектр ЯМР

1H (500 МГц, $CDCl_3$, δ) 1.25 (д, $J = 6.7$ Гц, 6H, H-27,28), 2.93 (гепт, $J = 6.7$ Гц, 1H, H-26), 5.25 (с, 2H, H-16), 6.23 (с, 1H, H-2), 6.66 (с, 1H, H-18), 6.86 (дд, $J = 2.5, 9.0$ Гц, 1H, H-6), 6.98 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-8), 7.30 (д, $J = 7.9$ Гц, 2H, H-22,24), 7.39–7.44 (м, 3H, H-5,11,15), 7.47–7.53 (м, 3H, H-12,13,14), 7.71 (д, $J = 7.9$ Гц, 2H, H-21,25).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, $CDCl_3$, δ) 20.73 (C-27), 25.78 (C-28), 32.00 (C-26), 61.20 (C-16), 100.60 (C-8), 101.99 (C-18), 112.24 (C-2), 112.26 (C-6), 113.19 (C-4), 125.46 (C-21), 126.71 (C-25), 126.93 (C-22,24), 127.12 (C-5), 128.14 (C-11), 128.18 (C-15), 128.70 (C-12,14), 129.52 (C-13), 135.13 (C-10), 137.33 (C-20), 151.20 (C-23), 155.47 (C-3), 155.58 (C-9), 160.50 (C-1), 160.83 (C-7), 162.33 (C-19), 165.69 (C-17).



7-[3-[(1S,5R)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-

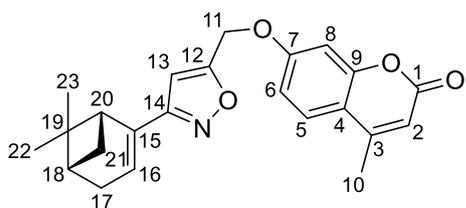
ен-2-ил]изоксазол-5-ил]метокси-4-метил-2H-

хромен-2-он (**145**)

Белое твердое вещество. $T_{пл}$ 109.7 °С.

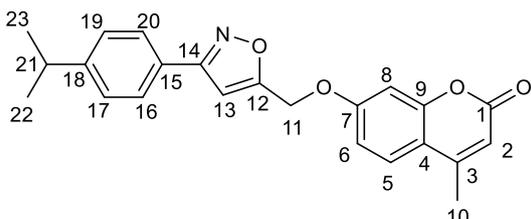
$[\alpha]_{589}^{23,4} = +28.0$ ($c=1.00$, $CHCl_3$) Найдено $m/z=377.1623$ $[M]^+$. Вычислено: 377.1622. ($C_{23}H_{23}O_4N$)⁺. Выход 26%. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.83 (с, 3H, H-22), 1.23 (д, $J = 9.0$ Гц, 1H, H-21a), 1.34 (с, 3H, H-23), 2.16 (тт, $J = 2.8, 3.4$ Гц, 1H, H-18), 2.37 (с, 3H, H-10), 2.37–2.49 (м, 2H, H-17), 2.49 (дт, $J = 5.7, 9.0$ Гц, 1H, H-21b), 2.95 (тд, $J = 1.5, 5.7$ Гц, 1H, H-20), 5.16 (с, 2H, H-11), 6.14 (с, 1H, H-16), 6.18 (с, 1H, H-2), 6.43 (с, 1H, H-13), 6.87 (д, $J = 2.6$ Гц, 1H, H-8), 6.90 (дд, $J = 2.6, 8.8$ Гц, 1H, H-6), 7.50 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, H-5).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 18.51 (C-10), 20.79 (C-22), 25.87 (C-23), 31.11 (C-17), 32.07 (C-21), 37.73 (C-19), 40.42 (C-18), 42.45 (C-20), 61.32 (C-11), 100.60 (C-8), 101.94 (C-13), 112.25 (C-2), 112.47 (C-6), 114.35 (C-4), 125.71 (C-16), 127.05 (C-5), 137.48 (C-15), 152.15 (C-3), 154.99 (C-9), 160.48 (C-1), 160.82 (C-7), 162.40 (C-14), 165.85 (C-12).



7-[3-[(1R,5S)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]изоксазол-5-ил]метокси-4-метил-2H-хромен-2-он (**146**)

Белое твердое вещество. $T_{пл}$ 110.1 °С. $[\alpha]_{589}^{23,4} = -22.2$ ($c=1.00$, $CHCl_3$). Найдено $m/z=377.1620$ $[M]^+$. Вычислено: 377.1622. $(C_{23}H_{23}O_4N)^+$. Выход 47%. Спектральные данные идентичны таковым для соединения **145**.



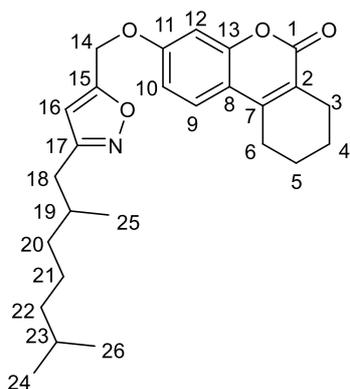
7-[3-(4-Изопропилфенил)изоксазол-5-ил]метокси-4-метил-2H-хромен-2-он (**147**)

Белое твердое вещество. $T_{пл}$ 154.8 °С. Найдено $m/z=375.1463$ $[M]^+$. Вычислено: 375.1465. $(C_{23}H_{21}O_4N)^+$. Выход 30%. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 1.30 (д, $J = 6.9$ Гц, 6H, H-22,23), 2.43 (д, $J = 1.3$ Гц, 3H, H-10), 2.98 (гепт, $J = 6.9$ Гц, 1H, H-21), 5.29 (с, 2H, H-11), 6.20 (д, $J = 1.3$ Гц, 1H, H-2), 6.71 (с, 1H, H-13), 6.95 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, H-8), 6.98 (дд, $J = 2.5, 8.8$ Гц, 1H, H-6), 7.35 (д, $J = 8.3$ Гц, 2H, H-17,19), 7.57 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, H-5), 7.76 (д, $J = 8.3$ Гц, 2H, H-16,20).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 18.58 (C-10), 23.68 (C-22,23), 33.91 (C-21), 61.28 (C-11), 101.80 (C-8), 101.87 (C-13), 112.22 (C-2), 112.44 (C-6), 114.34 (C-4), 125.75 (C-5), 125.82 (C-18), 126.70 (C-16,20), 126.93 (C-17,19), 151.19 (C-15), 152.26 (C-3), 154.89 (C-9), 160.33 (C-1), 160.89 (C-7), 162.38 (C-14), 166.74 (C-12).

4.4 Общая методика синтеза изоксазолов 149–152

В реактор загружали 5 мл ацетона, 0.62 ммоль 5-хлорметилизоксазола **148**, 0.41 ммоль соответствующего гидроксикумарина и 1 ммоль карбоната калия. Смесь нагревали в микроволновом реакторе Anton Paar Monowave 50 при 125 °С в течении 3.5 часов (давление 6 атм). После реакции органическую фазу промывали водой, водную фазу дополнительно экстрагировали этилацетатом. Объединённые органические слои сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали. Продукт очищали методом колонной хроматографии на SiO_2 , используя смесь гексан–этилацетат с постепенным увеличением содержания EtOAc от 0% до 15%.

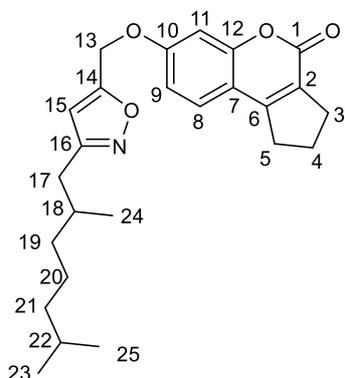


3-[3-(2,6-Диметилгептил)изоксазол-5-ил]метокси-7,8,9,10-тетрагидро-6Н-бензо[с]хромен-6-он (149)

Белое твердое вещество. $T_{пл}$ 86.4 °С. Найдено $m/z=423.2412$ $[M]^+$, Вычислено: 423.2404 ($C_{26}H_{33}O_4N_1$)⁺. Выход 40%. Спектр ЯМР 1H (600 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.80 (дд, $J = 1.4$, 6.6 Гц, 6Н, Н-24,26), 0.86 (д, $J = 6.7$ Гц, 3Н, Н-25), 1.04–1.32 (м, 6Н, Н-20,21,22), 1.45 (дп, $J = 6.7$, 14.3 Гц, 1Н, Н-19),

1.69–1.82 (м, 5Н, Н-23,4,5), 2.43 (дд, $J = 8.2$, 14.3 Гц, 1Н, Н-18а), 2.48 (т, $J = 5.9$ Гц, 2Н, Н-3), 2.60 (дд, $J = 6.0$, 14.3 Гц, 1Н, Н-18b), 2.67 (т, $J = 5.9$ Гц, 2Н, Н-6), 5.11 (с, 2Н, Н-14), 6.17 (с, 1Н, Н-16), 6.78 (д, $J = 2.6$ Гц, 1Н, Н-12), 6.83 (дд, $J = 2.6$, 8.8 Гц, 1Н, Н-10), 7.41 (д, $J = 8.8$ Гц, 1Н, Н-9).

Спектр ЯМР ^{13}C (151 МГц, $CDCl_3$, δ) 19.30 (C-25), 21.11 (C-4), 21.40 (C-5), 22.33 (C-24), 22.44 (C-26), 23.64 (C-3), 24.46 (C-21), 24.98 (C-6), 27.69 (C-23), 32.40 (C-19), 33.05 (C-18), 36.63 (C-22), 38.84 (C-20), 61.25 (C-14), 101.52 (C-12), 103.68 (C-16), 111.85 (C-10), 114.39 (C-8), 120.94 (C-2), 124.17 (C-9), 146.82 (C-7), 153.07 (C-13), 159.17 (C-11), 161.60 (C-1), 163.08 (C-17), 166.12 (C-15).

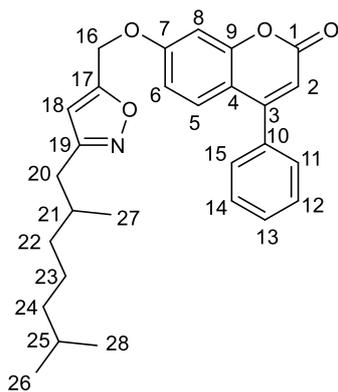


7-[3-(2,6-Диметилгептил)изоксазол-5-ил]метокси-2,3-дигидроциклопента[с]хромен-4(1Н)-он (150)

Белое твердое вещество. $T_{пл}$ 70.2 °С. Найдено $m/z=409.2246$ $[M]^+$, Вычислено: 409.2248 ($C_{25}H_{31}O_4N_1$)⁺. Выход 33%. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.82 (дд, $J = 0.9$, 6.6 Гц, 6Н, Н-23,25), 0.87 (д, $J = 6.7$ Гц, 3Н, Н-24), 1.03–1.34 (м, 6Н, Н-19,20,21), 1.47 (дп, $J = 6.7$, 14.3 Гц, 1Н,

Н-18), 1.71–1.82 (м, 1Н, Н-22), 2.16 (п, $J = 7.5$ Гц, 2Н, Н-4), 2.45 (дд, $J = 8.1$, 14.3 Гц, 1Н, Н-17а), 2.62 (дд, $J = 6.0$, 14.3 Гц, 1Н, Н-17b), 2.85 (тт, $J = 1.9$, 7.5 Гц, 2Н, Н-3), 3.00 (тт, $J = 1.9$, 7.5 Гц, 2Н, Н-5), 5.11–5.17 (м, 2Н, Н-13), 6.18 (с, 1Н, Н-15), 6.85–6.88 (м, 2Н, Н-9,11), 7.29–7.35 (м, 1Н, Н-8).

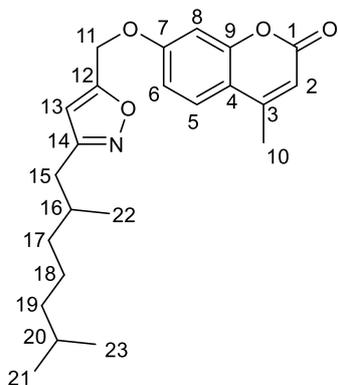
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ) 19.33 (C-24), 22.34 (C-4), 22.38 (C-23), 22.49 (C-25), 24.52 (C-20), 27.74 (C-22), 30.23 (C-3), 31.88 (C-5), 32.46 (C-18), 33.09 (C-17), 36.67 (C-21), 38.87 (C-19), 61.32 (C-13), 101.71 (C-11), 103.75 (C-15), 112.13 (C-9), 113.09 (C-7), 125.03 (C-2), 125.69 (C-8), 155.36 (C-12), 155.92 (C-6), 159.76 (C-10), 160.06 (C-1), 163.17 (C-16), 166.06 (C-14).



7-[3-(2,6-Диметилгептил)изоксазол-5-ил]метокси-4-фенил-2H-хромен-2-он (**151**)

Желтое аморфное вещество. Найдено $m/z=445.2250$ $[M]^+$, Вычислено: 445.2248 ($C_{28}H_{31}O_4N_1$)⁺. Выход 45%. Спектр ЯМР 1H (500 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.82 (д, $J = 6.6$ Гц, 6H, H-26,28), 0.88 (д, $J = 6.6$ Гц, 3H, H-27), 1.06–1.34 (м, 6H, H-22,23,24), 1.42–1.53 (м, 1H, H-21), 1.78 (гепт, $J = 6.6$ Гц, 1H, H-25), 2.46 (дд, $J = 8.1, 14.3$ Гц, 1H, H-20a), 2.63 (дд, $J = 6.0, 14.3$ Гц, 1H, H-20b), 5.17 (с, 2H, H-16), 6.20 (с, 1H, H-18), 6.22 (с, 1H, H-2), 6.83 (дд, $J = 2.6, 8.9$ Гц, 1H, H-6), 6.93 (д, $J = 2.6$ Гц, 1H, H-8), 7.37–7.43 (м, 3H, H-5,11,15), 7.46–7.52 (м, 3H, H-12,13,14).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, $CDCl_3$, δ) 19.35 (C-27), 22.41 (C-26), 22.52 (C-28), 24.54 (C-23), 27.76 (C-25), 32.48 (C-21), 33.11 (C-20), 36.68 (C-24), 38.88 (C-22), 61.33 (C-16), 102.00 (C-8), 103.85 (C-18), 112.26 (C-2), 112.30 (C-6), 113.19 (C-4), 128.14 (C-5), 128.20 (C-11,15), 128.73 (C-12,14), 129.55 (C-13), 135.15 (C-10), 155.46 (C-3), 155.60 (C-9), 160.55 (C-1), 160.81 (C-7), 163.22 (C-19), 165.86 (C-17).



7-[3-(2,6-Диметилгептил)изоксазол-5-ил]метокси-4-метил-2H-хромен-2-он (**152**)

Белое твердое вещество, $T_{пл.}$ 40.5°C. с посл. разл. Найдено $m/z=383.2085$ $[M]^+$, Вычислено: 383.2091 ($C_{23}H_{29}O_4N_1$)⁺. Выход 32%. Спектр ЯМР 1H (500 МГц, $CDCl_3$, δ) 0.82 (д, $J = 6.7$ Гц, 6H, H-22,23), 0.88 (д, $J = 6.7$ Гц, 3H, H-21), 1.08–1.34 (м, 6H, H-17,18,19), 1.47 (дп, $J = 6.7, 13.3$ Гц, 1H, H-16), 1.78 (дкв, $J = 6.7, 13.3$ Гц, 1H, H-20), 2.36 (с, 3H, H-10), 2.45 (дд, $J = 8.1, 14.3$ Гц, 1H, H-15a), 2.62 (дд, $J = 6.0, 14.3$ Гц, 1H, H-15b), 5.15 (с, 2H, H-11), 6.11 (с, 1H, H-2), 6.18 (с, 1H, H-13), 6.84 (д, $J = 2.6$ Гц, 1H, H-8), 6.89 (дд, $J = 2.6, 8.8$ Гц, 1H, H-6), 7.49 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, H-5).

Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, $CDCl_3$, δ) 18.42 (C-10), 19.30 (C-22), 22.33 (C-21), 22.43 (C-23), 24.46 (C-18), 27.69 (C-20), 32.41 (C-16), 33.06 (C-15), 36.64 (C-19), 38.84 (C-17), 61.31 (C-11), 101.81 (C-8), 103.74 (C-13), 112.16 (C-2), 112.35 (C-6), 114.23 (C-

4), 125.62 (C-5), 152.10 (C-3), 154.88 (C-9), 160.40 (C-1), 160.70 (C-7), 163.12 (C-14), 165.91 (C-12).

4.5 Программы и методы

Для всех расчетов использовались данные Protein Data Bank [84] и модули программного комплекса Schrödinger Release 2025-3 [145], если не указано иного.

4.5.1 Подготовка структур лигандов

Структуры лигандов с учетом их стереохимии были построены, сохранены, и загружены в Schrödinger Release 2025-2 [145] для дальнейшей обработки с помощью модуля ‘LigPrep’, геометрическая оптимизация OPLS3e [146]. Поиск возможных таутомерных состояний был выполнен при помощи ‘Erik’ [147].

4.5.2 Подготовка протеинов

Подбор структур белков выполнялся согласно литературным данным: для белка F PCB использовали PDB код 7LVW [83], загруженный из некоммерческой базы данных Protein Data Bank [84], для оценки ингибирующей способности в отношении фермента TDP1 - 1NOP [117].

Все кристаллические структуры были обработаны модулем ‘Protein Preparation Wizard’ [148]: боковые и дополнительные цепи восстановлены при помощи утилиты ‘Prime’ [149,150]. После этих модификаций был проведен повторный поиск и определение водородных связей, и затем была выполнена ограниченная минимизация геометрической структуры комплексов. Молекулы воды и прочие нерелевантные молекулы были удалены из структуры.

4.5.3 Режим докинга лигандов

Полученные структуры лигандов были вовлечены в процедуру докинга в режиме ‘Glide’ по протоколу ‘Extra Precision’ [151-153]. Для проведения докинга ‘Glide’ были подготовлены рецепторные решетки при помощи модуля ‘Receptor Grid Generation’; решетки создавались подходящими для докинга лигандов с длиной, меньше или равной 20Å, а координаты центра определялись по координатам

центроида координат атомов референсного лиганда, или аминокислот активного центра. Лучшие из полученных поз докинга были применены для расчетов 'Induced Fit Docking', в ходе которого модулем 'Prime' оптимизировались аминокислоты (АК) на расстоянии 5 Å от полученных поз лигандов включительно, и последующий редокинг 'Glide' проходил с точностью ХР.

Далее, полученные позы лигандов были подвергнуты оценке ММ-GBSA ('Prime') с целью получения значений ΔG_{bind} . При данной оценке применялась модель сольватации VSGB, силовое поле OPLS3e, в качестве «гибких» обрабатывались все АК остатки в радиусе 3 Å от лигандов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Синтезирована библиотека кумарин-монотерпеновых конъюгатов, связанных триазольным линкером. Показано, что для их получения эффективным является подход на основе катализируемой солями меди реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азидов терпенового ряда к 7-пропаргиловым эфирам кумаринов.
2. Синтезирована библиотека кумарин-монотерпеновых конъюгатов, связанных изоксазольным линкером, путем 1,3-диполярного циклоприсоединения нитрилоксидов, генерируемых *in situ* из оксимов циклических терпеноидов, к 7-пропаргиловым эфирам кумаринов. Получение конъюгатов этого ряда, содержащих 2,7-диметилгептановый фрагмент, реализовано на основе альтернативного подхода – взаимодействием с соответствующим 5-хлорметилизоксазольным производным.
3. Изучение противовирусной активности полученных соединений в отношении РСВ показало, что монотерпен-кумариновые конъюгаты, связанные триазольным линкером, являются эффективными противовирусными агентами в отношении РСВ, проявляя высокие индексы селективности. На основании биологических экспериментов и молекулярного моделирования предположено, что их мишенью является белок F.
4. Установлено, что введение триазольного линкера приводит к уменьшению ингибирующей активности в отношении TDP1 по сравнению с соединениями, не содержащими такого линкера. В случае с изоксазол-связанными кумарин-терпеновыми конъюгатами высокая ингибирующая активность в отношении TDP1 сохраняется.
5. Среди синтезированных монотерпен-кумариновых конъюгатов, связанных гетероциклическим линкером, выявлены три соединения, способных увеличивать цитотоксичность противоопухолевого препарата топотекана в отношении клеток рака шейки матки HeLa.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nasim N., Sandeep I. S., Mohanty S. Plant-derived natural products for drug discovery: current approaches and prospects // *Nucleus*. – 2022. – Vol. 65, № 3. – P. 399–411. DOI: 10.1007/s13237-022-00405-3.
2. Stefanachi A., Leonetti F., Pisani L., Catto M., Carotti A. Coumarin: A natural, privileged and versatile scaffold for bioactive compounds // *Molecules*. – 2018. – Vol. 23, № 2. – P. 250. DOI: 10.3390/molecules23020250.
3. Khomenko T. M., Zakharenko A. L., Chepanova A. A., Ilina E. S., Zakharova O. D., Kaledin V. I., Nikolin V. P., Popova N. A., Korchagina D. V., Reynisson J., Chand R., Ayine-Tora D. M., Patel J., Leung I. K. H., Volcho K. P., Salakhutdinov N. F., Lavrik O. I. Promising new inhibitors of tyrosyl-DNA phosphodiesterase I combining 4-arylcoumarin and monoterpenoid moieties as components of complex antitumor therapy // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 1. DOI: 10.3390/ijms21010126.
4. Khomenko T. M., Zakharenko A. L., Odarchenko T., Arabshahi H. J., Sannikova V., Zakharova O., Korchagina D., Reynisson J., Volcho K., Salakhutdinov N., Lavrik O. New inhibitors of tyrosyl-DNA phosphodiesterase I (Tdp1) combining 7-hydroxycoumarin and monoterpenoid moieties // *Bioorg. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 24, № 21. – P. 5573–5581. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.09.016.
5. Khomenko T. M., Zakharenko A. L., Kornienko T. E., Chepanova A. A., Dyrkheeva N. S., Artemova A. O., Korchagina D. V., Achara C., Curtis A., Reynisson J. et al. New 5-hydroxycoumarin-based tyrosyl-DNA phosphodiesterase I inhibitors sensitize tumor cell line to topotecan // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24, № 11. DOI: 10.3390/ijms24119155.
6. Khomenko T. M., Shtro A. A., Galochkina A. V., Nikolaeva Y. V., Petukhova G. D., Borisevich S. S., Korchagina D. V., Volcho K. P., Salakhutdinov N. F. Monoterpene-containing substituted coumarins as inhibitors of respiratory syncytial virus (RSV) replication // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, № 24. DOI: 10.3390/molecules26247493.
7. Khomenko T. M., Shtro A. A., Galochkina A. V., Nikolaeva Y. V., Garshinina A. V., Borisevich S. S., Korchagina D. V., Volcho K. P., Salakhutdinov N. F. New inhibitors of respiratory syncytial virus (RSV) replication based on monoterpene-substituted arylcoumarins // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28, № 6. DOI: 10.3390/molecules28062673.

8. Shtro A. A., Klabukov A. M., Garshinina A. V., Galochkina A. V., Nikolaeva Y. V., Khomenko T. M., Bobkov D. E., Lozhkov A. A., Sivak K. V., Yakovlev K. S. et al. Identification and study of the action mechanism of small compound that inhibits replication of respiratory syncytial virus // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24. – P. 12933. DOI: 10.3390/ijms241612933.
9. Khomenko T. M., Zarubaev V. V., Orshanskaya I. R., Kadyrova R. A., Sannikova V. A., Korchagina D. V., Volcho K. P., Salakhutdinov N. F. Anti-influenza activity of monoterpene-containing substituted coumarins // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2017. – Vol. 27, № 13. – P. 2920–2925. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.04.091.
10. Злокачественные новообразования в России в 2022 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна [и др.]. – М. : МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2023. – 275 с. ISBN 978-5-85502-290-2.
11. Gottesman M. M., Robey R. W., Ambudkar S. V. New mechanisms of multidrug resistance: an introduction to the Cancer Drug Resistance special collection // *Cancer Drug Resist.* – 2023. – Vol. 6, № 3. – P. 590–595. DOI: 10.20517/cdr.2023.86.
12. Meisenberg C. TDP1/TOP1 ratio as a promising indicator for the response of small cell lung cancer to topotecan // *J. Cancer Sci. Ther.* – 2014. – Vol. 6, № 7. DOI: 10.4172/1948-5956.1000280.
13. Gatt D., Martin I., AlFouzan R., Moraes T. J. Prevention and treatment strategies for respiratory syncytial virus (RSV) // *Pathogens.* – 2023. – Vol. 12, № 2. – P. 154. DOI: 10.3390/pathogens12020154.
14. Hoover J., Eades S., Lam W. M. Pediatric antiviral stewardship: defining the potential role of ribavirin in respiratory syncytial virus-associated lower respiratory illness // *J. Pediatr. Pharmacol. Ther.* – 2018. – Vol. 23, № 5. – P. 372–378. DOI: 10.5863/1551-6776-23.5.372.
15. Garg S. S., Gupta J., Sharma S., Sahu D. An insight into the therapeutic applications of coumarin compounds and their mechanisms of action // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2020. – Vol. 152. DOI: 10.1016/j.ejps.2020.105424.
16. Mazimba O. Umbelliferone: sources, chemistry and bioactivities review // *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.* – 2017. – Vol. 55, № 2. – P. 223–232. DOI: 10.1016/j.bfopcu.2017.05.001..

17. Bibak B., Shakeri F., Barreto G. E., Keshavarzi Z., Sathyapalan T., Sahebkar A. A review of the pharmacological and therapeutic effects of auraptene // *BioFactors*. – 2019. – Vol. 45, № 6. – P. 867–879. DOI: 10.1002/biof.1550.
18. Curini M., Cravotto G., Epifano F., Giannone G. Chemistry and biological activity of natural and synthetic prenyloxycoumarins // *Curr. Med. Chem.* – 2006. – Vol. 13, № 2. – P. 199–222. DOI: 10.2174/092986706775197890.
19. Gholami O., Jeddi-Tehrani M., Iranshahi M., Zarnani A. H., Ziai S. A. Umbelliprenin from *Ferula szowitsiana* activates both intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis in Jurkat T-CLL cell line // *Iran. J. Pharm. Res.* – 2013. – Vol. 12, № 3. – P. 371–376. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24250644>.
20. Li G., Wang J., Li X., Xu J., Zhang Z., Si J. A new terpene coumarin microbial transformed by *Mucor polymorphosporus* induces apoptosis of human gastric cancer cell line MGC-803 // *Arch. Pharm. Res.* – 2018. – Vol. 41, № 6. – P. 646–654. DOI: 10.1007/s12272-018-1028-0.
21. Kubo M., Irimajiri R., Kawata M., Takahashi Y., Hayashi K., Matsuno M., Harada K., Ikui N., Mizukami H., Kawahara N., Fukuyama Y. Prenylated-coumarins from *Gmelina arborea* and evaluation for neurotrophic activity // *Phytochemistry*. – 2023. – Vol. 213. DOI: 10.1016/j.phytochem.2023.113721.
22. Sajjadi S., Eskandarian A.-A., Shokoohinia Y., Yousefi H.-A., Mansourian M., Asgarian-Nasab H., Mohseni N. Antileishmanial activity of prenylated coumarins isolated from *Ferulago angulata* and *Prangos asperula* // *Res. Pharm. Sci.* – 2016. – Vol. 11, № 4. – P. 324. DOI: 10.4103/1735-5362.189314.
23. Tao L., Zhuo Y.-T., Qiao Z.-H., Li J., Tang H.-X., Yu Q.-M., Liu Y.-Y., Liu Y.-P. Prenylated coumarins from the fruits of *Artocarpus heterophyllus* with their potential anti-inflammatory and anti-HIV activities // *Nat. Prod. Res.* – 2022. – Vol. 36, № 10. – P. 2526–2533. DOI: 10.1080/14786419.2021.1913590.
24. Liu Y.-P., Yan G., Guo J.-M., Liu Y.-Y., Li Y.-J., Zhao Y.-Y., Qiang L., Fu Y.-H. Prenylated coumarins from the fruits of *Manilkara zapota* with potential anti-inflammatory effects and anti-HIV activities // *J. Agric. Food Chem.* – 2019. – Vol. 67, № 43. – P. 11942–11947. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b04326.

25. Tan N., Yazıcı-Tütüniş S., Bilgin M., Tan E., Miski M. Antibacterial activities of pyrenylated coumarins from the roots of *Prangos hulusii* // *Molecules*. – 2017. – Vol. 22, № 7. – P. 1098. DOI: 10.3390/molecules22071098.
26. Appendino G., Mercalli E., Fuzzati N., Arnoldi L., Stavri M., Gibbons S., Ballero M., Maxia A. Antimycobacterial coumarins from the Sardinian giant fennel (*Ferula communis*) // *J. Nat. Prod.* – 2004. – Vol. 67, № 12. – P. 2108–2110. DOI: 10.1021/np049706n.
27. Lei L., Xue Y., Liu Z., Peng S., He Y., Zhang Y., Fang R., Wang J., Luo Z., Yao G., Zhang J., Zhang G., Song H., Zhang Y. Coumarin derivatives from *Ainsliaea fragrans* and their anticoagulant activity // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol. 5, № 1. – P. 13544. DOI: 10.1038/srep13544.
28. Sarker S. D., Nahar L. Progress in the chemistry of naturally occurring coumarins. // *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* – 2017. – P. 241–304. DOI: 10.1007/978-3-319-59542-9_3.
29. Iranshahi M., Sahebkar A., Takasaki M., Konoshima T., Tokuda H. Cancer chemopreventive activity of the prenylated coumarin, umbelliprenin, in vivo // *Eur. J. Cancer Prev.* – 2009. – Vol. 18, № 5. – P. 412–415. DOI: 10.1097/CEJ.0b013e32832c389e.
30. Tayarani-Najaran Z., Tayarani-Najaran N., Eghbali S. A review of auraptene as an anticancer agent // *Front. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. DOI: 10.3389/fphar.2021.698352.
31. Lin T. T., Huang Y. Y., Tang G. H., Cheng Z. bin, Liu X., Luo H. bin, Yin S. Prenylated coumarins: natural phosphodiesterase-4 inhibitors from *Toddalia asiatica* // *J. Nat. Prod.* – 2014. – Vol. 77, № 4. – P. 955–962. DOI: 10.1021/np401040d.
32. Monti M., Pinotti M., Appendino G., Dallochio F., Bellini T., Antognoni F., Poli F., Bernardi F. Characterization of anti-coagulant properties of prenylated coumarin ferulenol // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2007. – Vol. 1770, № 10. – P. 1437–1440. DOI: 10.1016/j.bbagen.2007.06.013.
33. Louvet M. S., Gault G., Lefebvre S., Popowycz F., Boulven M., Besse S., Benoit E., Lattard V., Grancher D. Comparative inhibitory effect of prenylated coumarins, ferulenol and ferprenin, contained in the “poisonous chemotype” of *Ferula communis* on mammal liver microsomal VKORC1 activity // *Phytochemistry*. – 2015. – Vol. 118. – P. 124–130. DOI: 10.1016/j.phytochem.2015.08.012.
34. Kuranov S., Marenina M., Ivankin D., Blokhin M., Borisov S., Khomenko T., Luzina O., Khvostov M., Volcho K., Tolstikova T., Salakhutdinov N. The study of hypoglycemic

- activity of 7-terpenylcoumarins // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27, № 24. – P. 8663. DOI: 10.3390/molecules27248663.
35. Silva A. C., de Moraes D. C., do Carmo D. C., Gomes G. C. C., Ganesan A., Lopes R. S. C., Ferreira-Pereira A., Lopes C. C. Synthesis of altissimacoumarin D and other prenylated coumarins and their ability to reverse the multidrug resistance phenotype in *Candida albicans* // *J. Fungi*. – 2023. – Vol. 9, № 7. – P. 758. DOI: 10.3390/jof9070758.
36. Askari M., Sahebkar A., Iranshahi M., Askari M. Synthesis and purification of 7-prenyloxycoumarins and herniarin as bioactive natural coumarins // *Iran. J. Basic Med. Sci.* – 2009. – Vol. 12, № 2.
37. Ramachandra M. S., Subbaraju G. V. Short synthesis of 3-prenylcoumarins by an unusual prenylation // *Synth. Commun.* – 2006. – Vol. 36, № 24. – P. 3723–3727. DOI: 10.1080/10916460600946154.
38. Gluesenkamp K. H., Buechi G. C-prenylation of phenols promoted by aluminum oxide surfaces // *J. Org. Chem.* – 1986. – Vol. 51, № 23. – P. 4481–4483. DOI: 10.1021/jo00373a030.
39. Popova S. A., Shevchenko O. G., Chukicheva I. Y., Kutchin A. V. Synthesis and biological evaluation of novel coumarins with tert-butyl and terpene substituents // *Chem. Biodivers.* – 2019. – Vol. 16, № 3. DOI: 10.1002/cbdv.201800317.
40. de Carvalho da Silva F., Cardoso M. F. d. C., Ferreira P. G., Ferreira V. F. Biological properties of 1H-1,2,3- and 2H-1,2,3-triazoles // In: Dehaen W., Bakulev V. (eds) *Chemistry of 1,2,3-triazoles. Topics in Heterocyclic Chemistry*, vol. 40. – Cham : Springer, 2014. – DOI: 10.1007/7081_2014_124.
41. Gujjarappa R. et al. An overview on biological activities of oxazole, isoxazoles and 1,2,4-oxadiazoles derivatives // In: Swain B. P. (ed.) *Nanostructured Biomaterials. Materials Horizons: From Nature to Nanomaterials*. – Singapore : Springer, 2022. – DOI: 10.1007/978-981-16-8399-2_10.
42. Borges A. A., de Carvalho Y. P. V. et al. Exploring the synthesis and bioactive properties of coumarin-1,2,3-triazole conjugates // *J. Braz. Chem. Soc.* – 2025. – Online first, 21 May. – DOI: 10.21577/0103-5053.20250085.
43. Upadhyay H. C. Coumarin-1,2,3-triazole hybrid molecules: an emerging scaffold for combating drug resistance // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2021. – Vol. 21, № 8. – P. 737–752. DOI: 10.2174/1568026621666210303145759.

44. Mishra K. N., Upadhyay H. C. Coumarin-1,2,3-triazole hybrids as leading-edge anticancer agents // *Front. Drug Discov.* – 2022. – Vol. 2. DOI: 10.3389/fddsv.2022.1072448.
45. Khouzani M. A., Mogharabi M., Faramarzi M. A., Mojtavavi S., Azizian H., Mahdavi M., Hashemi S. M. Development of coumarin tagged 1,2,3-triazole derivatives targeting α -glucosidase inhibition: synthetic modification, biological evaluation, kinetic and in silico studies // *J. Mol. Struct.* – 2023. – Vol. 1282. – Article ID 135194. DOI: 10.1016/j.molstruc.2023.135194.
46. Miriyala V. P., Thommandru P. R., Kashanna J., Govinda V., Ravi G., Kishore R. Design, synthesis and cytotoxicity of new coumarin-1,2,3-triazole derivatives: evaluation of anticancer activity and molecular docking studies // *Chem. Biodivers.* – 2023. – Vol. 20, № 7. DOI: 10.1002/cbdv.202300269.
47. Zhou L., Amer A., Korn M., Burda R., Balzarini J., De Clercq E., Kern E. R., Torrence P. F. Synthesis and antiviral activities of 1,2,3-triazole functionalized thymidines: 1,3-dipolar cycloaddition for efficient regioselective diversity generation // *Antivir. Chem. Chemother.* – 2005. – Vol. 16, № 6. – P. 375–383. DOI: 10.1177/095632020501600604.
48. Agouram N. 1,2,3-triazole derivatives as antiviral agents // *Med. Chem. Res.* – 2023. – Vol. 32, № 12. – P. 2458–2472. DOI: 10.1007/s00044-023-03154-3.
49. Garazd Ya. L., Panteleimonova T. N., Garazd M. M., Khilya V. P. Modified coumarins. 11. Synthesis and biological activity of Mannich bases of substituted 1,3-dihydrocyclopenta[c]chromen-4-ones // *Chem. Nat. Compd.* – 2003. – Vol. 39, № 4. – P. 330–336. DOI: 10.1023/B:CONC.0000003410.74701.dc.
50. Gnerre C., Catto M., Leonetti F., Weber P., Carrupt P.-A., Altomare C., Carotti A., Testa B. Inhibition of monoamine oxidases by functionalized coumarin derivatives: biological activities, QSARs, and 3D-QSARs // *J. Med. Chem.* – 2000. – Vol. 43, № 25. – P. 4747–4758. DOI: 10.1021/jm001028o.
51. Fujita K. Irinotecan, a key chemotherapeutic drug for metastatic colorectal cancer // *World J. Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 21, № 43. – P. 12234. DOI: 10.3748/wjg.v21.i43.12234.
52. Kiesgen de Richter R., Bonato M., Follet M., Kamenka J. The (+)- and (–)-[2-(1,3-dithianyl)]myrtanylborane: solid and stable monoalkylboranes for asymmetric hydroboration // *J. Org. Chem.* – 1990. – Vol. 55. – P. 2855–2860.

53. Araki S., Shimizu T., Johar P. S., Jin S. J., Butsugan Y. Preparation and some reactions of allylic indium reagents // *J. Org. Chem.* – 1991. – Vol. 56, № 7. – P. 2538–2542. DOI: 10.1021/jo00007a050.
54. Tanimoto H., Kakiuchi K. Recent applications and developments of organic azides in total synthesis of natural products // *Nat. Prod. Commun.* – 2013. – Vol. 8, № 7. – P. 1021–1034. DOI: 10.1177/1934578x1300800730.
55. Carlson A. S., Topczewski J. J. Allylic azides: synthesis, reactivity, and the Winstein rearrangement // *Org. Biomol. Chem.* – 2019. – Vol. 17, № 18. – P. 4406–4429. DOI: 10.1039/c8ob03178a.
56. Himo F., Lovell T., Hilgraf R., Rostovtsev V. V., Noodleman L., Sharpless K. B., Fokin V. V. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles: DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates // *J. Am. Chem. Soc.* – 2004. – Vol. 127, № 1. – P. 210–216. DOI: 10.1021/ja0471525.
57. Renner G., Boie I., Scheben Q. Aliphatic β -keto esters: U.S. Patent 4031130. Publ. 21 Jun 1977; filed 11 Mar 1975. – 15 p. Assignee: Agfa Gevaert AG.
58. Ponpipom M. M., Hanessian S. A method for the selective bromination of primary alcohol groups // *Carbohydr. Res.* – 1971. – Vol. 18, № 2. – P. 342–344. DOI: 10.1016/S0008-6215(00)80362-6.
59. Tsypyshev D. O., Klabukov A. M., Razgulaeva D. N., Galochkina A. V., Shtro A. A., Borisevich S. S., Khomenko T. M., Volcho K. P., Komarova N. I., Salakhutdinov N. F. Design, synthesis and antiviral evaluation of triazole-linked 7-hydroxycoumarin–monoterpene conjugates as inhibitors of RSV replication // *RSC Med. Chem* – 2025. – Vol. 16, № 3. – P. 1151–1171. DOI: 10.1039/d4md00728j.
60. Патент РФ 2826 560. Цыпышев Д. О., Хоменко Т. М., Волчо К. П., Салахутдинов Н. Ф., Штро А. А., Галочкина А. В., Клабуков А. М., Разгуляева Д. Н. Производные 7-гидроксикумарина, соединенные с остатками монотерпенов через триазольный линкер, как ингибиторы репродукции респираторно-синцитиального вируса (РСВ). – Бюл. № 26. – Оpubл. 12.09.2024.
61. Baskaran S., Baskaran C., Trivedi G. K. Intermolecular diastereoselective nitrile oxide addition with propargylic ethers // *J. Chem. Res., Synop.* – 1997. – P. 394–395. DOI: 10.1039/A703166A.

62. Odinokov V. N., Ishmuratov G. Yu., Kharisov R. Ya., Lomakina S. I., Tolstikov G. A. Synthesis of ethyl 3,7,11-trimethyl-2,4-dodecadienoate (hydroprene) from 4-methyltetrahydropyran // *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.* – 1989. – № 8. – P. 1923–1925.
63. Nikonov G., Bobrov S. 1,2,5-Oxadiazoles // In: Katritzky A. R., Ramsden C. A., Scriven E. F. V., Taylor R. J. K. (eds.) *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III.* – Vol. 5. – Amsterdam : Elsevier, 2008. – P. 315–395. ISBN 978-0-08-044992-0. DOI: 10.1016/B978-008044992-0.00505-8.
64. Jawalekar A. M., Reubsat E., Rutjes F. P. J. T., van Delft F. L. Synthesis of isoxazoles by hypervalent iodine-induced cycloaddition of nitrile oxides to alkynes // *Chem. Commun.* – 2011. – Vol. 47, № 11. – P. 3198. DOI: 10.1039/c0cc04646a.
65. Kondrashov E. V., Belovezhets L. A., Shatokhina N. S. et al. Design of novel water-soluble isoxazole-based antimicrobial agents and evaluation of their cytotoxicity and acute toxicity // *Bioorg. Chem.* – 2023. – Vol. 138. – Article 106644. DOI: 10.1016/j.bioorg.2023.106644.
66. Adamovich S. N., Kondrashov E. V., Ushakov I. A. et al. Isoxazole derivatives of silatrane: synthesis, characterization, in silico ADME profile, prediction of potential pharmacological activity and evaluation of antimicrobial action // *Appl. Organomet. Chem.* – 2020. – Vol. 34, № 12. – Article e5976. DOI: 10.1002/aoc.5976.
67. Kondrashov E. V., Shatokhina N. S. Simple one-pot synthesis of 5-(chloromethyl)isoxazoles from aldoximes and 2,3-dichloro-1-propene // *Chem. Heterocycl. Compd.* – 2019. – Vol. 55, № 12. – P. 1228–1232. DOI: 10.1007/s10593-019-02606-2.
68. Shilova A. N., Shatokhina N. S., Kondrashov E. V. Improved synthesis of 5-(chloromethyl)isoxazoles from aldoximes and 2,3-dichloropropene // *Russ. J. Org. Chem.* – 2022. – Vol. 58, № 10. – P. 1554–1558. DOI: 10.1134/S1070428022100268.
69. Grundmann C., Datta S. K., Simonini B. Nitrile oxides. XII. Cycloaliphatic and aliphatic stable nitrile oxides // *J. Org. Chem.* – 1969. – Vol. 34, № 6. – P. 2016–2018. DOI: 10.1021/jo01258a125.
70. Shatokhina N. S. Functionalized isoxazoles based on chloralkenes and nitriloxides: synthesis and antimicrobial activity. – Irkutsk, 2022. – Doctoral dissertation, A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry.

71. Shybanov D. E., Filkina M. E., Kukushkin M. E., Grishin Y. K., Roznyatovsky V. A., Zyk N. V., Beloglazkina E. K. Diffusion mixing with a volatile tertiary amine as a very efficient technique for 1,3-dipolar cycloaddition reactions proceeding via dehydrohalogenation of stable precursors of reactive dipoles // *New J. Chem.* – 2022. – Vol. 46, № 38. – P. 18575–18586. DOI: 10.1039/d2nj03756d.
72. Christov P. P., Hawkins E. K., Kett N. R., Rizzo C. J. Simplified synthesis of individual stereoisomers of the 4-hydroxynonenal adducts of deoxyguanosine // *Tetrahedron Lett.* – 2013. – Vol. 54, № 32. – P. 4289–4291. DOI: 10.1016/j.tetlet.2013.06.004.
73. Pérez J. M., Ramón D. J. Synthesis of 3,5-disubstituted isoxazoles and isoxazolines in deep eutectic solvents // *ACS Sustain. Chem. Eng.* – 2015. – Vol. 3, № 9. – P. 2343–2349. DOI: 10.1021/acssuschemeng.5b00689.
74. Perumal P., Praveen C., Kalyanasundaram A. Gold(III)-catalyzed synthesis of isoxazoles by cycloisomerization of α,β -acetylenic oximes // *Synlett.* – 2010. – Vol. 2010, № 5. – P. 777–781. DOI: 10.1055/s-0029-1219342.
75. Liu X., Hong D., She Z., Hersh W. H., Yoo B., Chen Y. Complementary regioselective synthesis of 3,5-disubstituted isoxazoles from ynones // *Tetrahedron.* – 2018. – Vol. 74, № 45. – P. 6593–6606. DOI: 10.1016/j.tet.2018.09.043.
76. Chinchilla R., Nájera C. The Sonogashira reaction: a booming methodology in synthetic organic chemistry // *Chem. Rev.* – 2007. – Vol. 107, № 3. – P. 874–922. DOI: 10.1021/cr050992x.
77. Tsypyshev D. O., Zakharenko A. L., Podurina M. V., Khomenko T. M., Kondrashov E. V., Lavrik O. I., Volcho K. P., Salakhutdinov N. F. Isoxazole-linked 7-hydroxycoumarin–2,6-dimethylheptane conjugates as inhibitors of TDP1 enzyme // *Mendeleev Commun.* – 2025. – Vol. 35, № 4. – P. 444–446. DOI: 10.71267/mencom.7704.
78. Yang Q., Xue B., Liu F., Lu Y., Tang J., Yan M., Wu Q., Chen R., Zhou A., Liu L., Liu J., Qu C., Wu Q., Fu M., Zhong J., Dong J., Chen S., Wang F., Zhou Y., Chen X. Farnesyltransferase inhibitor lonafarnib suppresses respiratory syncytial virus infection by blocking conformational change of fusion glycoprotein // *Signal Transduct. Target. Ther.* – 2024. – Vol. 9, № 1. DOI: 10.1038/s41392-024-01858-5.
79. Langedijk A. C., Bont L. J. Respiratory syncytial virus infection and novel interventions // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2023. – Vol. 21, № 11. – P. 734–749. DOI: 10.1038/s41579-023-00919-w.

80. Feng Z., Xie Z., Xu L. Current antiviral therapies and promising drug candidates against respiratory syncytial virus infection // *Virol. Sin.* – 2025. – Vol. 40, № 2. – P. 147–156. DOI: 10.1016/j.virs.2025.01.003.
81. Zou G., Cao S., Gao Z., Yie J., Wu J. Z. Current state and challenges in respiratory syncytial virus drug discovery and development // *Antivir. Res.* – 2024. – Vol. 221. – Article 105791. DOI: 10.1016/j.antiviral.2023.105791.
82. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays // *J. Immunol. Methods.* – 1983. – Vol. 65. – P. 55–63. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
83. Rossey I., Hsieh C.-L., Sedeyn K., Ballegeer M., Schepens B., McLellan J. S., Saelens X. A vulnerable, membrane-proximal site in human respiratory syncytial virus F revealed by a prefusion-specific single-domain antibody // *J. Virol.* – 2021. – Vol. 95, № 11. DOI: 10.1128/JVI.02279-20.
84. Berman H. M. The Protein Data Bank // *Nucleic Acids Res.* – 2000. – Vol. 28, № 1. – P. 235–242. DOI: 10.1093/nar/28.1.235.
85. Human respiratory syncytial virus / eds. R. A. Tripp, P. A. Jorquera. – New York : Springer, 2016. – (Methods in Molecular Biology). DOI: 10.1007/978-1-4939-3687-8.
86. Athina G., Tratratt C., Petrou A., Fesatidou M., Haroun M., Venugopala K., Sreeharsha N., Chemali J. 5-Membered heterocyclic compounds as antiviral agents // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2023. – Vol. 23, № 7. – P. 520–538. DOI: 10.2174/1568026623666230325153927.
87. Shinde Y., Khairnar B., Bangale S. Exploring the diverse biological frontiers of isoxazole: a comprehensive review of its pharmacological significance // *ChemistrySelect.* – 2024. – Vol. 9, № 32. DOI: 10.1002/slct.202401423.
88. Pommier Y., Nussenzweig A., Takeda S., Austin C. Human topoisomerases and their roles in genome stability and organization // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2022. – Vol. 23, № 6. – P. 407–427. DOI: 10.1038/s41580-022-00452-3.
89. Thomas A., Pommier Y. Targeting topoisomerase I in the era of precision medicine // *Clin. Cancer Res.* – 2019. – Vol. 25, № 22. – P. 6581–6589. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1089.
90. Comeaux E. Q., van Waardenburg R. C. A. M. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase I resolves both naturally and chemically induced DNA adducts and its potential as a

- therapeutic target // *Drug Metab. Rev.* – 2014. – Vol. 46, № 4. – P. 494–507. DOI: 10.3109/03602532.2014.971957.
91. Yang S. W., Burgin A. B. Jr, Huizenga B. N., Robertson C. A., Yao K. C., Nash H. A. A eukaryotic enzyme that can disjoin dead-end covalent complexes between DNA and type I topoisomerases // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 1996. – Vol. 93, № 21. – P. 11534–11539. DOI: 10.1073/pnas.93.21.11534.
92. Pouliot J. J., Robertson C. A., Nash H. A. Pathways for repair of topoisomerase I covalent complexes in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genes Cells.* – 2001. – Vol. 6, № 8. – P. 677–687. DOI: 10.1046/j.1365-2443.2001.00452.x.
93. Saha L. K., Wakasugi M., Akter S., Prasad R., Wilson S. H., Shimizu N., Sasanuma H., Huang S. N., Agama K., Pommier Y., Matsunaga T., Hirota K., Iwai S., Nakazawa Y., Ogi T., Takeda S. Topoisomerase I-driven repair of UV-induced damage in NER-deficient cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2020. – Vol. 117, № 25. – P. 14412–14420. DOI: 10.1073/pnas.1920165117.
94. Interthal H., Chen H. J., Champoux J. J. Human Tdp1 cleaves a broad spectrum of substrates, including phosphoamide linkages // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280, № 43. – P. 36518–36528. DOI: 10.1074/jbc.m508898200.
95. Zhang M., Wang Z., Su Y., Yan W., Ouyang Y., Fan Y., Huang Y., Yang H. TDP1 represents a promising therapeutic target for overcoming tumor resistance to chemotherapeutic agents: progress and potential // *Bioorg. Chem.* – 2025. – Vol. 154. – Article 108072. DOI: 10.1016/j.bioorg.2024.108072.
96. Tesauro C., Simonsen A. K., Andersen M. B., Petersen K. W., Kristoffersen E. L., Algreen L., Hansen N. Y., Andersen A. B., Jakobsen A. K., Stougaard M., Gromov P., Knudsen B. R., Gromova I. Topoisomerase I activity and sensitivity to camptothecin in breast cancer-derived cells: a comparative study // *BMC Cancer.* – 2019. – Vol. 19, № 1. – Article 6371. DOI: 10.1186/s12885-019-6371-0.
97. Pommier Y., Huang S. N., Gao R., Das B. B., Murai J., Marchand C. Tyrosyl-DNA-phosphodiesterases (TDP1 and TDP2) // *DNA Repair.* – 2014. – Vol. 19. – P. 114–129. DOI: 10.1016/j.dnarep.2014.03.020.
98. Ashour M. E., Atteya R., El-Khamisy S. F. Topoisomerase-mediated chromosomal break repair: an emerging player in many games // *Nat. Rev. Cancer.* – 2015. – Vol. 15, № 3. – P. 137–151. DOI: 10.1038/nrc3892.

99. Raymond A. C., Staker B. L., Burgin A. B. Jr. Substrate specificity of tyrosyl-DNA phosphodiesterase I (Tdp1) // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280, № 23. – P. 22029–22035. DOI: 10.1074/jbc.m502148200.
100. Kawale A. S., Akopiants K., Valerie K., Ruis B., Hendrickson E. A., Huang S. N., Pommier Y., Povirk L. F. TDP1 suppresses mis-joining of radiomimetic DNA double-strand breaks and cooperates with Artemis to promote optimal nonhomologous end joining // *Nucleic Acids Res.* – 2018. – Vol. 46, № 17. – P. 8926–8939. DOI: 10.1093/nar/gky694.
101. Barthelmes H. U., Habermeyer M., Christensen M. O., Mielke C., Interthal H., Pouliot J. J., Boege F., Marko D. TDP1 overexpression in human cells counteracts DNA damage mediated by topoisomerases I and II // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, № 53. – P. 55618–55625. DOI: 10.1074/jbc.m405042200.
102. Interthal H., Chen H. J., Kehl-Fie T. E., Zotzmann J., Leppard J. B., Champoux J. J. SCAN1 mutant Tdp1 accumulates the enzyme–DNA intermediate and causes camptothecin hypersensitivity // *The EMBO Journal.* – 2005. – Vol. 24, № 12. – P. 2224–2233. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600694.
103. Leung E., Patel J., Hollywood J. A., Zafar A., Tomek P., Barker D., Pilkington L. I., van Rensburg M., Langley R. J., Helsby N. A., Squire C. J., Baguley B. C., Denny W. A., Reynisson J., Leung I. K. H. Validating TDP1 as an inhibition target for the development of chemosensitizers for camptothecin-based chemotherapy drugs // *Oncol. Ther.* – 2021. – Vol. 9, № 2. – P. 541–556. DOI: 10.1007/s40487-021-00158-0.
104. Zakharenko A., Luzina O., Koval O., Nilov D., Gushchina I., Dyrkheeva N., Švedas V., Salakhutdinov N., Lavrik O. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors: usnic acid enamines enhance the cytotoxic effect of camptothecin // *J. Nat. Prod.* – 2016. – Vol. 79, № 11. – P. 2961–2967. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b00979.
105. Ponomarev K. Yu., Suslov E. V., Zakharenko A. L., Zakharova O. D., Rogachev A. D., Korchagina D. V., Zafar A., Reynisson J., Nefedov A. A., Volcho K. P., Salakhutdinov N. F., Lavrik O. I. Aminoadamantanes containing monoterpene-derived fragments as potent tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors // *Bioorg. Chem.* – 2018. – Vol. 76. – P. 392–399. DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.12.005.
106. Zhang X.-R., Wang H.-W., Tang W.-L., Zhang Y., Yang H., Hu D.-X., Ravji A., Marchand C., Kiselev E., Ofori-Atta K., Agama K., Pommier Y., An L.-K. Discovery, synthesis, and evaluation of oxynitidine derivatives as dual inhibitors of DNA

topoisomerase IB (TOP1) and tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 (TDP1), and potential antitumor agents // *J. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 61, № 22. – P. 9908–9930. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b00639.

107. Zakharova O., Luzina O., Zakharenko A., Sokolov D., Filimonov A., Dyrkheeva N., Chepanova A., Ilyina E., Ilyina A., Klabenkova K., Chelobanov B., Stetsenko D., Zafar A., Eurtivong C., Reynisson J., Volcho K., Salakhutdinov N., Lavrik O. Synthesis and evaluation of aryliden- and hetarylidenfuranone derivatives of usnic acid as highly potent Tdp1 inhibitors // *Bioorg. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 26, № 15. – P. 4470–4480. DOI: 10.1016/j.bmc.2018.07.039.

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

109. Komarova A. O., Drenichev M. S., Dyrkheeva N. S., Kulikova I. V., Oslovsky V. E., Zakharova O. D., Zakharenko A. L., Mikhailov S. N., Lavrik O. I. Novel group of tyrosyl-DNA-phosphodiesterase 1 inhibitors based on disaccharide nucleosides as drug prototypes for anti-cancer therapy // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 33, № 1. – P. 1415–1429. DOI: 10.1080/14756366.2018.1509210.

110. Xiao L.-G., Zhang Y., Zhang H.-L., Li D., Gu Q., Tang G.-H., Yu Q., An L.-K. Spiroconyone A, a new phytosterol with a spiro[5,6] ring system from *Conyza japonica* // *Org. Biomol. Chem.* – 2020. – Vol. 18, № 27. – P. 5130–5136. DOI: 10.1039/d0ob00666a.

111. Zhang H.-L., Zhang Y., Yan X.-L., Xiao L.-G., Hu D.-X., Yu Q., An L.-K. Secondary metabolites from *Isodon ternifolius* (D. Don) Kudo and their anticancer activity as DNA topoisomerase IB and tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors // *Bioorg. Med. Chem.* – 2020. – Vol. 28, № 11. – Article 115527. DOI: 10.1016/j.bmc.2020.115527.

112. Dyrkheeva N. S., Filimonov A. S., Luzina O. A., Orlova K. A., Chernyshova I. A., Kornienko T. E., Malakhova A. A., Medvedev S. P., Zakharenko A. L., Ilyina E. S. et al. New hybrid compounds combining fragments of usnic acid and thioether are inhibitors of human enzymes TDP1, TDP2 and PARP1 // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 21. – Article 11336. DOI: 10.3390/ijms222111336.

113. Munkuev A. A., Mozhaitsev E. S., Chepanova A. A., Suslov E. V., Korchagina D. V., Zakharova O. D., Ilina E. S., Dyrkheeva N. S., Zakharenko A. L., Reynisson J. et al. Novel Tdp1 inhibitors based on adamantane connected with monoterpene moieties via heterocyclic fragments // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, № 11. – Article 3128. DOI: 10.3390/molecules26113128.
114. Salomatina O. V., Dyrkheeva N. S., Popadyuk I. I., Zakharenko A. L., Ilina E. S., Komarova N. I., Reynisson J., Salakhutdinov N. F., Lavrik O. I., Volcho K. P. New deoxycholic acid derived tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors also inhibit tyrosyl-DNA phosphodiesterase 2 // *Molecules*. – 2021. – Vol. 27, № 1. – Article 72. DOI: 10.3390/molecules27010072.
115. Zakharenko A., Khomenko T., Zhukova S. et al. Synthesis and biological evaluation of novel tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors with a benzopentathiepine moiety // *Bioorg. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 23, № 9. – P. 2044–2052. DOI: 10.1016/j.bmc.2015.03.020.
116. Jensen P. W., Falconi M., Kristoffersen E. L. et al. Real-time detection of TDP1 activity using a fluorophore–quencher coupled DNA-biosensor // *Biosens. Bioelectron.* – 2013. – Vol. 48. – P. 230–237. DOI: 10.1016/j.bios.2013.04.019.
117. Davies D. R., Interthal H., Champoux J. J., Hol W. G. Crystal structure of a transition state mimic for Tdp1 assembled from vanadate, DNA, and a topoisomerase I-derived peptide // *Chem. Biol.* – 2003. – Vol. 10, № 2. – P. 139–147. DOI: 10.1016/S1074-5521(03)00021-8.
118. Salomatina O. V., Kornienko T. E., Zakharenko A. L., Komarova N. I., Achara C., Reynisson J., Salakhutdinov N. F., Lavrik O. I., Volcho K. P. New dual inhibitors of tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 and 2 based on deoxycholic acid: design, synthesis, cytotoxicity, and molecular modeling // *Molecules*. – 2024. – Vol. 29, № 3. – Article 581. DOI: 10.3390/molecules29030581.
119. Garazd M. M., Garazd Ya. L., Shilin S. V., Khilya V. P. *Chem. Nat. Compd.* – 2002. – Vol. 38, № 5. – P. 416–423. DOI: 10.1023/a:1022151407961.
120. Garazd M. M., Garazd Y. L., Shilin S. V., Panteleimonova T. N., Khilya V. P. Modified coumarins. 4. Synthesis of 7-(aminoacylmethyl)-5-phenylchromen-6-ones // *Chem. Nat. Compd.* – 2002. – Vol. 38. – P. 296–302.

121. Iinuma M., Tanaka T., Hamada K., Mizuno M., Asai F. Flavonoids syntheses. VI. Synthesis and spectral properties of 4-arylcoumarins (neoflavones) // *Chem. Pharm. Bull.* – 1987. – Vol. 35, № 9. – P. 3909–3913. DOI: 10.1248/cpb.35.3909.
122. Kovacs D., Lu X., Mészáros L. S., Ott M., Andres J., Borbas K. E. Photophysics of coumarin and carbostyryl-sensitized luminescent lanthanide complexes: implications for complex design in multiplex detection // *J. Am. Chem. Soc.* – 2017. – Vol. 139, № 16. – P. 5756–5767. DOI: 10.1021/jacs.6b11274.
123. Rodighiero P., Manzini P., Pastorini G., Bordin F., Guiotto A. Synthesis of methyl derivatives of 8-desmethylxanthyletine and 8-desmethylneseline, potential antiproliferative agents // *J. Heterocycl. Chem.* – 1987. – Vol. 24, № 2. – P. 485–488. DOI: 10.1002/jhet.5570240234.
124. Liu J., Pham P. T., Skripnikova E. V., Zheng S., Lovings L. J., Wang Y., Goyal N., Bellow S. M., Mensah L. M., Chatters A. J. et al. A ligand-based drug design. Discovery of 4-trifluoromethyl-7,8-pyranocoumarin as a selective inhibitor of human cytochrome P450 1A2 // *J. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 58, № 16. – P. 6481–6493. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00494.
125. Kaplan F., Schulz C. O., Weisleder D., Klopfenstein C. E. Geometry of myrtenal. Detailed analysis of the nuclear magnetic resonance spectrum of a bicyclo[3.1.1]hept-2-ene system // *J. Org. Chem.* – 1968. – Vol. 33, № 5. – P. 1728–1730. DOI: 10.1021/jo01269a005.
126. Lee S. α -Pinene and myrtenol: complete Спектр ЯМР ^1H assignment // *Magn. Reson. Chem.* – 2002. – Vol. 40, № 4. – P. 311–312. DOI: 10.1002/mrc.972.
127. Giraud F., Loge C., Pagniez F., Crepin D., Barres S., Picot C., Le Pape P., Le Borgne M. Design, synthesis and evaluation of 3-(imidazol-1-ylmethyl)indoles as antileishmanial agents. Part II // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 24, № 5. – P. 1067–1075. DOI: 10.1080/14756360802610795.
128. Bohlmann F., Zeisberg R., Klein E. ^{13}C -NMR-Spektren von Monoterpenen // *Org. Magn. Reson.* – 1975. – Vol. 7, № 9. – P. 426–432. DOI: 10.1002/mrc.1270070907.
129. Liu H.-X., Tan H.-B., He M.-T., Li L., Wang Y.-H., Long C.-L. Isolation and synthesis of two hydroxychavicol heterodimers from *Piper nudibaccatum* // *Tetrahedron.* – 2015. – Vol. 71, № 16. – P. 2369–2375. DOI: 10.1016/j.tet.2015.03.005.

130. Wayner D. D. M., Arnold D. R. Substituent effects on benzylic radical hydrogen hyperfine coupling constants. Part 4. The effect of branching of the alkyl substituent // *Can. J. Chem.* – 1985. – Vol. 63, № 9. – P. 2378–2383. DOI: 10.1139/v85-394.
131. Dixit V. M., Laskovics F. M., Noall W. I., Poulter C. D. Tris(tetrabutylammonium) hydrogen pyrophosphate. A new reagent for the preparation of allylic pyrophosphate esters // *J. Org. Chem.* – 1981. – Vol. 46, № 9. – P. 1967–1969. DOI: 10.1021/jo00322a060.
132. Fujiki M., Koe J. R., Motonaga M., Nakashima H., Terao K., Teramoto A. Computing handedness: quantized and superposed switch and dynamic memory of helical polysilylene // *J. Am. Chem. Soc.* – 2001. – Vol. 123, № 26. – P. 6253–6261. DOI: 10.1021/ja0026509.
133. Concepción O., Belmar J., de la Torre F., Muñoz M., Pertino M. W., Alarcón B., Ormazabal V., Nova-Lamperti E., Zúñiga F. A., Jiménez C. A. Synthesis and cytotoxic analysis of novel myrtenyl grafted pseudo-peptides revealed potential candidates for anticancer therapy // *Molecules.* – 2020. – Vol. 25, № 8. – Art. 1911. DOI: 10.3390/molecules25081911.
134. Luo C.-Z., Gandeepan P., Wu Y.-C., Chen W.-C., Cheng C.-H. Copper promoted synthesis of substituted quinolines from benzylic azides and alkynes // *RSC Adv.* – 2015. – Vol. 5, № 128. – P. 106012–106018. DOI: 10.1039/c5r23065.
135. Giovani S., Singh R., Fasan R. Efficient conversion of primary azides to aldehydes catalyzed by active site variants of myoglobin // *Chem. Sci.* – 2016. – Vol. 7, № 1. – P. 234–239. DOI: 10.1039/c5sc02857d.
136. Suthagar K., Watson A. J. A., Wilkinson B. L., Fairbanks A. J. Synthesis of arabinose glycosyl sulfamides as potential inhibitors of mycobacterial cell wall biosynthesis // *Eur. J. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 102. – P. 153–166. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.07.050.
137. Wierenga W., Skulnick H. I. General, efficient, one-step synthesis of β -keto esters // *J. Org. Chem.* – 1979. – Vol. 44, № 2. – P. 310–311. DOI: 10.1021/jo01316a039.
138. Garazd M. M., Garazd Ya. L., Ogorodniichuk A. S., Khilya V. P. 7-Hydroxy modified coumarins. 8. Synthesis of substituted 5-(4-methoxyphenyl)-7H-furo[3,2-g]chromen-7-ones // *Chem. Nat. Compd.* – 2002. – Vol. 38, № 6. – P. 539–548..
139. Wang D., Shuler W. G., Pierce C. J., Hilinski M. K. An iminium salt organocatalyst for selective aliphatic C–H hydroxylation // *Org. Lett.* – 2016. – Vol. 18, № 15. – P. 3826–3829. DOI: 10.1021/acs.orglett.6b01832.

140. Gómez L., Garcia-Bosch I., Company A., Benet-Buchholz J., Polo A., Sala X., Ribas X., Costas M. Stereospecific C–H oxidation with H₂O₂ catalyzed by a chemically robust site-isolated iron catalyst // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2009. – Vol. 48, № 31. – P. 5720–5723. DOI: 10.1002/anie.200901865.
141. Schmalz H.-G., Ratsch F. An atom-economic and stereospecific access to trisubstituted olefins through enyne cross metathesis followed by 1,4-hydrogenation // *Synlett.* – 2018. – Vol. 29, № 06. – P. 785–792. DOI: 10.1055/s-0036-1591528.
142. Betke T., Rommelmann P., Oike K., Asano Y., Gröger H. Cyanide-free and broadly applicable enantioselective synthetic platform for chiral nitriles through a biocatalytic approach // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2017. – Vol. 56, № 40. – P. 12361–12366. DOI: 10.1002/anie.201702952.
143. Yu J., Cao X., Lu M. A novel and efficient catalytic system including TEMPO/acetaldoxime/InCl₃ for aerobic oxidation of primary amines to oximes // *Tetrahedron Lett.* – 2014. – Vol. 55, № 42. – P. 5751–5755. DOI: 10.1016/j.tetlet.2014.08.083.
144. Fontana M., Chanzy H., Caseri W. R., Smith P., Schenning A. P. H. J., Meijer E. W., Gröhn F. A soluble equivalent of the supramolecular, quasi-one-dimensional, semiconducting Magnus' Green Salt // *Chem. Mater.* – 2002. – Vol. 14, № 4. – P. 1730–1735. DOI: 10.1021/cm0109793.
145. Schrödinger Release 2025-3: Maestro, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2025.
146. Harder E., Damm W., Maple J., Wu C., Reboul M., Xiang J. Y., Wang L., Lupyan D., Dahlgren M. K., Knight J. L., Kaus J. W., Cerutti D., Krilov G., Jorgensen W. L., Abel R., Friesner R. A. OPLS3: a force field providing broad coverage of drug-like small molecules and proteins // *J. Chem. Theory Comput.* – 2016. – Vol. 12. – P. 281–296. DOI: 10.1021/acs.jctc.5b00864.
147. Greenwood J. R., Calkins D., Sullivan A. P., Shelley J. C. Towards the comprehensive, rapid, and accurate prediction of the favorable tautomeric states of drug-like molecules in aqueous solution // *J. Comput.-Aided Mol. Des.* – 2010. – Vol. 24. – P. 591–606. DOI: 10.1007/s10822-010-9354-6.
148. Sastry G. M., Adzhigirey M., Day T., Annabhimoju R., Sherman W. Protein and ligand preparation: Parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments

// J. Comput.-Aided Mol. Des. – 2013. – Vol. 27, № 3. – P. 221–234. DOI: 10.1007/s10822-013-9644-8.

149. Jacobson M. P., Pincus D. L., Rapp C. S., Day T. J. F., Honig B., Shaw D. E., Friesner R. A. A hierarchical approach to all-atom protein loop prediction // Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics. – 2004. – Vol. 55. – P. 351–367. DOI: 10.1002/prot.10613.

150. Jacobson M. P., Friesner R. A., Xiang Z., Honig B. On the role of crystal packing forces in determining protein sidechain conformations // J. Mol. Biol. – 2002. – Vol. 320. – P. 597–608. DOI: 10.1016/S0022-2836(02)00470-9.

151. Friesner R. A., Murphy R. B., Repasky M. P., Frye L. L., Greenwood J. R., Halgren T. A., Sanschagrin P. C., Mainz D. T. Extra precision Glide: docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein–ligand complexes // J. Med. Chem. – 2006. – Vol. 49. – P. 6177–6196. DOI: 10.1021/jm051256o.

152. Halgren T. A., Murphy R. B., Friesner R. A., Beard H. S., Frye L. L., Pollard W. T., Banks J. L. Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 2. Enrichment factors in database screening // J. Med. Chem. – 2004. – Vol. 47. – P. 1750–1759. DOI: 10.1021/jm030644s.

153. Friesner R. A., Banks J. L., Murphy R. B., Halgren T. A., Klicic J. J., Mainz D. T., Repasky M. P., Knoll E. H., Shaw D. E., Shelley M., Perry J. K., Francis P., Shenkin P. S. Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy // J. Med. Chem. – 2004. – Vol. 47. – P. 1739–1749. DOI: 10.1021/jm0306430.