

Посвящается памяти профессора Марии Николаевны Преображенской

Синтез и изучение цитотоксической активности новых 3,3-бис(индол-3-ил)-1,3-дигидроиндол-2-онов

Сергей Н. Лавренов^{1*}, Ольга П. Бычкова¹, Любовь Г. Деженкова¹,
Артур С. Мкртчян², Виктор В. Татарский^{3,4}, Елена А. Цвигун¹,
Алексей С. Тренин¹

¹ Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, ул. Большая Пироговская, д. 11, стр. 1, Москва 119021, Россия; e-mail: lavrenov@mail.ru

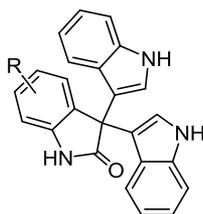
² Волгоградский государственный технический университет, пр. Ленина, 28, Волгоград 400005, Россия; e-mail: artur_mkrtyan_96@inbox.ru

³ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина, Каширское шоссе, д. 24, стр. 2, Москва 115478, Россия; e-mail: tatarskii@gmail.com

⁴ Национальный исследовательский технологический университет "МИСЦУ", Ленинский пр., 4, Москва 119049, Россия; e-mail: tatarskii@gmail.com

Поступило 13.02.2020

Принято после доработки 12.05.2020



R	IC ₅₀ , μM	
	Cancer cells (HCT116)	Human fibroblasts
7-Me	0.2	13.1
7-Cl	0.1	14.7
6-Me	1.6	9.6

Для изучения влияния положения заместителя на биологическую активность синтезирована серия 3,3-бис(индол-3-ил)-1,3-дигидроиндол-2-онов, содержащих заместители в различных положениях оксиндольного цикла. Некоторые из новых производных продемонстрировали высокую цитотоксическую активность *in vitro* (МТТ-тест) на линиях опухолевых клеток человека и более низкую (в 60 и 150 раз меньше) цитотоксичность на донорских человеческих фибробластах по сравнению с доксорубицином.

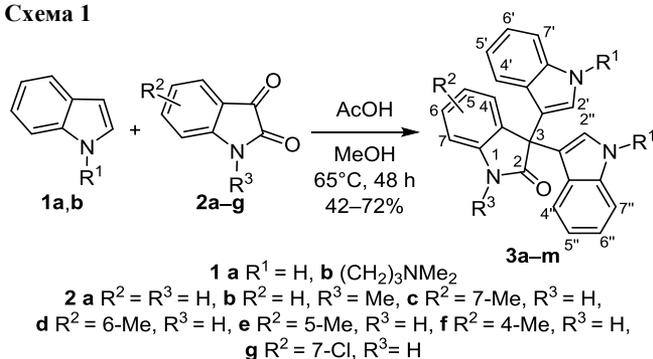
Ключевые слова: 3,3-бис(индол-3-ил)-1,3-дигидроиндол-2-оны, производные изатинов, триарилметаны, цитотоксическая активность.

В последнее время вырос интерес исследователей к соединениям, содержащим трифенилметильные или трииндолилметильные фрагменты. Это вызвано тем, что некоторые соединения такого типа проявляют полезные биологические свойства, в том числе антимикробные и антипролиферативные.^{1–6} 3,3-Бис(индол-3-ил)-1,3-дигидроиндол-2-оны, получаемые из изатинов, представляют собой соединения с дииндолилфенилметильным фрагментом. У представителей этого хемотипа была выявлена противоопухолевая активность, которая сильно зависит от наличия заместителей в индольном и оксиндольном циклах.^{7–13}

Цель настоящей работы – изучить влияние метильной группы и атома хлора в различных положениях оксиндольного цикла 3,3-бис(индол-3-ил)-1,3-дигидроиндол-2-онов на цитотоксические свойства, а также попытаться улучшить их растворимость в воде путем введения в молекулу 3-диметиламинопропильной группы.

Взаимодействием индолов **1a,b** и соответствующих изатинов **2a–g** в присутствии АсОН по описанной ранее методике¹⁴ нами были синтезированы 3,3-дииндолил-1,3-дигидроиндол-2-оны **3a–g**, (схема 1). Реакцию удобно проводить при кипячении в MeOH с добавлением небольшого количества АсОН. В этом случае продукт реакции обычно выпадает при охлаждении в виде мелких бесцветных кристаллов. Скорость реакции зависит от типа заместителя в исходном изатине и его положения. Так, 7-метилизатин взаимодействует быстрее, чем 5-метилизатин, а для получения 4-метильного производного требуется более длительное кипячение. Несмотря на то что в литературе описано большое количество способов синтеза структур такого типа,^{7,12,14} включая порой довольно экзотические,^{15–17} в целом эти методы не имеют особых преимуществ перед примененными нами условиями¹⁴ в простоте реализации и доступности реагентов, а также выходах

Схема 1



и легкости выделения конечного продукта и демонстрируют лишь многогранность методов и подходов органической химии. Некоторые способы¹⁸ позволяют получить и выделить из одной реакции продукты присоединения к изатину как одного, так и двух индолов, в то время как все прочие упомянутые выше вариации реакции Фриделя–Крафтса дают только продукты бисприсоединения.

Цитотоксические свойства полученных соединений были протестированы с помощью МТТ-теста, как описано ранее,⁵ на следующих объектах: линиях опухолевых клеток человека НСТ116 (колоректальная карцинома человека) и К562 (миелогенный лейкоз человека). Для сравнения использованы здоровые донорские (постнатальные) фибробласты человека, иммортализованные трансфекцией гена hTERT каталитического компонента теломеразы (далее FB), а в качестве препарата сравнения – противоопухолевый антибиотик доксорубин.

Некоторые производные высокоактивно ингибируют рост линий опухолевых клеток, в то время как здоровые фибробласты гораздо менее чувствительны (табл. 1). Дииндолилосиндолы, содержащие фрагмент незамещенного индола и метильную группу в положениях 1, 4, 5 или 6 оксиндольного цикла (соединения **3b,d,e,f**), обладали относительно низкой цитотоксичностью (табл. 1), в то время как 3,3-бис(1*H*-индол-3-ил)-7-метилиндолин-2-он (**3c**) проявлял субмикромольную активность на клетках НСТ116. Цитотоксичность (IC₅₀) соединения **3c** в отношении клеток НСТ116 была в 60 раз выше, чем в отношении фибробластов. Для дальнейшей оценки роли других заместителей в положении 7 оксиндольного цикла было изучено соединение **3g**, содержащее заместитель 7-Cl. Соединение **3g** проявляло даже большую активность, чем соединение **3c** на клетках НСТ116, тогда как его цитотоксичность в отношении фибробластов была в 150 раз ниже.

Поскольку у соединений **3a–g** довольно низкая растворимость в H₂O, синтезирован ряд их аналогов, содержащие фрагмент 1-[3-(диметиламино)пропил]-индола, что обеспечило их растворимость в H₂O и биологических жидкостях. Производные **3h–m** были получены взаимодействием соответствующих изатинов с 3-(1*H*-индол-1-ил)-*N,N*-диметилпропан-1-амином (**1b**). Все они продемонстрировали относительно низкую

Таблица 1. Цитотоксичность соединений **3a–m** (IC₅₀, μM)

Соединение	R ¹	R ²	R ³	НСТ116	К562	FB
3a	H	H	H	2.4 ± 0.3	7.0 ± 0.1	17.8 ± 1.9
3b	H	H	Me	9.0 ± 1.7	16.5 ± 1.3	24.1 ± 2.1
3c	H	7-Me	H	0.2 ± 0.04	15.6 ± 1.9	13.1 ± 2
3d	H	6-Me	H	1.6 ± 0.2	4.6 ± 0.9	9.6 ± 1.6
3e	H	5-Me	H	6.9 ± 1.5	18.1 ± 1.8	5.9 ± 1.3
3f	H	4-Me	H	7.0 ± 1.1	25.5 ± 2.2	18.6 ± 1.7
3g	H	7-Cl	H	0.1 ± 0.03	7.9 ± 0.6	14.7 ± 1.5
3h	(CH ₂) ₃ NMe ₂	H	H	4.1 ± 0.9	3.1 ± 0.6	7.1 ± 1.5
3i	(CH ₂) ₃ NMe ₂	H	Me	2.4 ± 0.5	4.1 ± 0.6	2.1 ± 0.6
3j	(CH ₂) ₃ NMe ₂	7-Me	H	2.3 ± 0.5	1.5 ± 0.1	2.8 ± 0.5
3k	(CH ₂) ₃ NMe ₂	6-Me	H	1.4 ± 0.6	3.6 ± 0.3	2.7 ± 0.3
3l	(CH ₂) ₃ NMe ₂	4-Me	H	6.3 ± 1.6	6.3 ± 1.4	8.8 ± 1.6
3m	(CH ₂) ₃ NMe ₂	7-Cl	H	1.8 ± 0.3	0.8 ± 0.06	2.5 ± 0.4
Доксорубин (препарат сравнения)				0.3 ± 0.04	0.4 ± 0.04	0.3 ± 0.06

цитотоксическую активность (1.4–6.3 μM, табл. 1), при этом значительной разницы между активностью этих соединений в отношении опухолевых и здоровых клеток обнаружено не было.

Ни одно из полученных соединений не проявило значительной антибактериальной и противогрибковой активности. Протестированные в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов (США)¹⁹ аналогично тому, как было выполнено в наших предыдущих работах,^{6,20} полученные соединения показали ингибирующую активность в отношении штаммов грамположительных (*Staphylococcus aureus* (ATCC 21027), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)) и грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli* (ATCC 25922)), а также в отношении грибов (*Candida albicans* (ATCC 14053) и *Aspergillus niger* (ATCC 16404)) при концентрациях (IC), которые превышали 32 μM. В то же время при исследовании в тест-системе на основе галобактерии *Halobacterium salinarum*, разработанной для скрининга ингибиторов биосинтеза стеролов и противоопухолевых антибиотиков,^{21,22} производные **3h–k** показали заметную активность, которая не была ослаблена мевалонатом (табл. 2). Эти производные вызывали 50% ингибирование роста *Halobacterium salinarum* в концентрациях IC₅₀ 0.5–1 μM (3 μM для соединения **3i**). Полное ингибирование (IC₁₀₀) наблюдалось при концентрации 8–16 μM (соединения **3g,h,j,k**) или 24 μM (соединение **3i**). Соединение **3g** проявило наиболее сильный эффект как в тест-системе *Halobacterium salinarum*, так и на опухолевых клеточных линиях. Эффективность соединений **3b–d** против *Halobacterium salinarum* была значительно слабее, и полное ингибирование (IC₁₀₀) не было достигнуто. Диапазон 50% ингибирования роста (IC₅₀) составил 16–24 μM (соединения **3b,d,f**, табл. 2).

Таблица 2. Активность соединений **3a–k** в тест-системе на основе галобактерии *Halobacterium salinarum*

Соединение	IC, μM		
	IC ₁₀₀ *	IC ₅₀ **	Лизис клетки***
3a	32	4	>32
3b	>32	16	>32
3c	>32	12	>32
3d	>32	24	>32
3e	>32	8	>32
3f	>32	24	>32
3g	16	2	>32
3h	16	1	32
3i	24	3	>32
3j	8	0.5	16
3k	8	0.5	16
Ловастатин (препарат сравнения)* ⁴	3 (>24)	0.75 (24)	24 (>24)

* IC₁₀₀ – концентрация соединения, полностью препятствующая росту исследуемой культуры.

** IC₅₀ – концентрация соединения, подавляющая рост бактериальных клеток на 50%.

*** Способность лизировать культуру клеток, μM .

*⁴ Значение IC после добавления 3 μM мевалоната.

Поскольку мевалонат не влияет на ингибирующий эффект всех полученных соединений, способ их действия, по-видимому, не зависит от биосинтеза стерола (по крайней мере, от ингибирования ранних стадий до образования мевалоната).

Осуществлена попытка выявить зависимость структура – цитотоксическая активность для 3,3-бис-(индол-3-ил)-1,3-дигидроиндол-2-онов, содержащих метильную группу в различных положениях оксиндольного цикла. Показано, что высокая антипролиферативная активность на опухолевых клетках НСТ116 при низкой цитотоксичности на неопухолевых клетках фибробластов (60-кратное различие) проявляется только при наличии метильного заместителя в положении 7 оксиндольного цикла. Введение того же заместителя в другие положения не дает такого результата. Интересно, что на клеточной линии K562 такой серьезной разницы в цитотоксичности не наблюдалось, по-видимому, в клетках НСТ116 имеется какая-то специфическая мишень для этого типа веществ. Введение атома хлора имеет еще более существенное различие в цитотоксичности (почти в 150 раз), что подтверждает выводы о важности замещения положения 7. Мы ожидаем, что введение других заместителей в это положение также может привести к подобному эффекту. Попытка улучшить растворимость соединений путем введения 3-диметиламинопропильной группы в каркас индола не имела большого успеха, а селективность действия значительно ухудшилась, что свидетельствует о наличии оптимального размера молекулы и вполне вероятно, что группы NH индольных циклов 3,3-бис(индол-3-ил)-1,3-дигидроиндол-2-онов важны для связывания с мишенями.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C зарегистрированы на приборе Varian VXR-400 (400 и 100 МГц соответственно) в ДМСО-*d*₆, внутренний стандарт ТМС. Масс-спектры высокого разрешения зарегистрированы на приборе Bruker Daltonics microOTOF-QII с ионизацией электро-распылением. Аналитическая ВЭЖХ выполнена на приборе Shimadzu LC-20AD на колонке Kromasil-100-5-C18 (Akzo-Nobel), 4.6 × 250 мм, температура 20 °С, УФ детектирование (254 нм), элюирование с использованием подвижной фазы, состоящей из двух компонентов – 0.2% HCO₂NH₄ (pH 4.5) и MeCN. Доля MeCN варьировалась для системы 1 от 20 до 60% в течение 30 мин, для системы 2 от 40 до 80% в течение 30 мин. Для всех систем скорость потока 1 мл/мин, объем инъекции 20 мкл, образец растворяют в смеси 0.01 н. H₃PO₄ (pH 2.6) – MeCN (1:1) до концентрации 0.01–0.05 мг/мл. Температуры плавления определены на аппарате Buchi SMP-20 и не исправлены. Аналитическая ТСХ проведена на силикагелевых пластинах Merck F₂₅₄. Колоночная хроматография проведена на силикагеле Merck 60, используя системы растворителей CHCl₃–MeOH, 25:1 (система А) и CHCl₃–MeOH–Et₃N, 5:1:0.01 (система Б). Все растворы высушены над Na₂SO₄ и выпарены при пониженном давлении на ротормном испарителе Buchi-R200 при температуре ниже 45 °С.

Все растворители и реагенты получены из коммерческих источников (Sigma-Aldrich, Merck) и использованы без дополнительной очистки. Изатины **2a–c** коммерчески доступны, изатины **2d–g** синтезированы из соответствующих анилинов, как описано ранее.²³

Получение соединений 3a–g (общая методика). Раствор 2 ммоль изатина **2a–g**, 4 ммоль индола **1a** и 1 мл AcOH в 50 мл MeOH кипятят в течение 48 ч. Выпаши при охлаждении кристаллы отделяют и промывают MeOH (2 × 3 мл), высушивают при пониженном давлении при комнатной температуре.

1H,1''H-3,3':3'',3'''-Териндол-2'(1'H)-он (3a).^{16,17,24} Выход 0.5 г (70%), мелкие бесцветные кристаллы, т. пл. 312–315 °С (MeOH) (т. пл. 312–314 °С²⁴), R_f 0.37 (система А). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 6.79–6.81 (2H, т, J = 8.0, H-5',5''); 6.84 (2H, д, J = 2.4, H-2',2''); 6.92–7.04 (4H, м, H-4,5,6',6''); 7.20–7.25 (4H, м, H-6,7,7',7''); 7.35 (2H, д, J = 8.0, H-4',4''); 10.64 (1H, с, 1-NH); 10.97 (2H, с, 1',1''-NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 56.4; 110.0; 112.0; 114.7; 118.6; 121.1; 121.3; 121.9; 124.6; 125.3; 126.1; 128.2; 135.0; 137.3; 141.6; 179.2. Найдено, m/z: 362.1274 [M–H][–]. C₂₄H₁₆N₃O. Вычислено, m/z: 362.1293.

1'-Метил-1H,1''H-3,3':3'',3'''-териндол-2'(1'H)-он (3b).^{15,16} Выход 0.52 г (68%), мелкие бесцветные кристаллы, т. пл. 272–275 °С (MeOH) (т. пл. 277–279 °С,¹⁵ т. пл. >330 °С¹⁶), R_f 0.65 (система А). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (J, Гц): 3.25 (3H, с, CH₃); 6.80 (2H, т, J = 8.0, H-5',5''); 6.87 (2H, д, J = 4.0, H-2',2''); 7.01–7.04 (3H, м, H-7,6',6''); 7.14–7.17 (2H, м, H-4,5); 7.29–7.36 (5H, м, H-6,4',4'',7',7''); 10.99 (2H, с, 1',1''-NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 26.3; 52.2; 108.7; 111.7; 114.1; 118.4; 120.8;

121.0; 122.3; 124.4; 124.6; 125.7; 128.1; 133.8; 137.0; 142.8; 177.0. Найдено, m/z : 376.1482 [M–H][–]. C₂₅H₁₈N₃O. Вычислено, m/z : 376.1450. ВЭЖХ: t_R 19.75 мин (система 2, λ 257 нм, чистота 97.9%).

7'-Метил-1*H*,1''*H*-3,3':3',3''-териндол-2'(1'*H*)-он (3c)¹⁶ Выход 0.52 г (72%), мелкие бесцветные кристаллы, т. пл. 258–261 °С (MeOH) (т. пл. 295–296 °С¹⁶), R_f 0.43 (система А). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (J , Гц): 2.32 (3H, с, CH₃); 6.80–6.85 (5H, м, H-5,2',5',2'',5''); 7.01–7.05 (4H, м, H-4,6,6',6''); 7.25 (2H, д, J = 8.0, H-4',4''); 7.36 (2H, д, J = 8.0, H-7,7''); 10.66 (1H, с, 1-NH); 10.96 (2H, с, 1',1''-NH) Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 16.7; 52.9; 111.7; 114.6; 118.3; 118.9; 121.0; 121.5; 122.4; 124.3; 125.6; 125.8; 129.1; 134.3; 137.0; 139.9; 179.4. Найдено, m/z : 376.1477 [M–H][–]. C₂₅H₁₈N₃O. Вычислено, m/z : 376.1450. ВЭЖХ: t_R 18.25 мин (система 2, λ 263 нм, чистота 97.2%).

6'-Метил-1*H*,1''*H*-3,3':3',3''-териндол-2'(1'*H*)-он (3d) Выход 0.52 г (68%), мелкие бесцветные кристаллы, т. пл. 305–307 °С (MeOH), R_f 0.39 (система А). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (J , Гц): 2.29 (3H, с, CH₃); 6.74 (1H, д, J = 8.0, H-5); 6.79–6.84 (3H, м, H-4,2',2''); 6.86 (2H, д, J = 4.0, H-5',5''); 7.01 (2H, т, J = 8.0, H-6',6''); 7.10 (1H, д, J = 8.0, H-7); 7.26 (2H, д, J = 8.0, H-4',4''); 7.36 (2H, д, J = 8.0, H-7,7''); 10.58 (1H, с, 1-NH); 10.96 (2H, с, 1',1''-NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 21.4; 52.5; 110.4; 111.7; 114.6; 118.3; 120.9; 121.0; 122.1; 124.4; 124.7; 125.8; 131.8; 137.0; 137.3; 141.5; 179.2. Найдено, m/z : 376.1432 [M–H][–]. C₂₅H₁₈N₃O. Вычислено, m/z : 376.1450. ВЭЖХ: t_R 18.37 мин (система 2, λ 260 нм, чистота 97.5%).

5'-Метил-1*H*,1''*H*-3,3':3',3''-териндол-2'(1'*H*)-он (3e)^{16,25} Выход 0.5 г (65%), мелкие бесцветные кристаллы, т. пл. 293–295 °С (MeOH) (т. пл. 305–307 °С²⁵), R_f 0.35 (система А). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (J , Гц): 2.18 (3H, с, CH₃); 6.77–7.03 (7H, м, H-4,6,7,5',6',5'',6''); 7.25 (2H, д, J = 8.0, H-4',4''); 7.36 (2H, д, J = 8.0, H-7,7''); 10.50 (1H, с, 1-NH); 10.95 (2H, с, 1',1''-NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 20.8; 52.4; 109.3; 111.6; 114.4; 118.2; 120.9; 124.4; 125.5; 125.7; 128.1; 130.2; 134.6; 136.9; 138.9; 178.7. Найдено, m/z : 376.1421 [M–H][–]. C₂₅H₁₈N₃O. Вычислено, m/z : 376.1450. ВЭЖХ: t_R 18.11 мин (система 2, λ 257 нм, чистота 99.7%).

4'-Метил-1*H*,1''*H*-3,3':3',3''-териндол-2'(1'*H*)-он (3f) Выход 0.42 г (55%), мелкие бесцветные кристаллы, т. пл. >360 °С (MeOH). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (J , Гц): 1.79 (3H, с, CH₃); 6.70 (1H, д, J = 8.0, H-5); 6.83–7.00 (5H, м, H-6,2',5',2'',5''); 7.07 (2H, т, J = 8.0, H-6',6''); 7.17 (1H, т, J = 8.0, H-7); 7.27 (2H, д, J = 8.0, H-4',4''); 7.38 (2H, д, J = 8.0, H-7,7''); 10.51 (1H, с, 1-NH); 10.99 (2H, с, 1',1''-NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 18.7; 53.0; 107.5; 111.8; 112.1; 118.4; 121.0; 121.1; 124.2; 125.4; 125.7; 128.2; 131.2; 135.4; 137.0; 141.8; 179.0. Найдено, m/z : 376.1432 [M–H][–]. C₂₅H₁₈N₃O. Вычислено, m/z : 376.1450. ВЭЖХ: t_R 17.26 мин (система 2, λ 260 нм, чистота 98.4%).

7'-Хлор-1*H*,1''*H*-3,3':3',3''-териндол-2'(1'*H*)-он (3g)^{16,17} Выход 0.46 г (58%), мелкие бесцветные кристаллы, т. пл. 262–265 °С (MeOH) (т. пл. 281–282 °С¹⁶), R_f 0.43 (система А). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (J , Гц): 6.82

(2H, т, J = 8.0, H-5',5''); 6.87 (2H, д, J = 4.0, H-2',2''); 6.96 (1H, т, J = 8.0, H-6); 7.03 (2H, т, J = 8.0, H-6',6''); 7.18–7.22 (3H, м, H-5,7',7''); 7.31 (1H, д, J = 8.0, H-4); 7.37 (2H, д, J = 8.0, H-4',4''); 11.02 (2H, с, 1',1''-NH); 11.05 (1H, с, 1-NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 53.3; 111.7; 113.6; 113.8; 118.4; 120.6; 121.1; 122.9; 123.6; 124.4; 125.5; 127.9; 136.3; 136.9; 139.0; 178.6. Найдено, m/z : 396.0946 [M–H][–]. C₂₄H₁₅ClN₃O. Вычислено, m/z : 396.0904. ВЭЖХ: t_R 19.54 мин (система 2, λ 254 нм, чистота 99.2%).

Получение соединений 3h–m (общая методика). Раствор 2.04 ммоль изатина **2a–d**, 0.84 г (4.49 ммоль) 3-(1*H*-индол-1-ил)-*N,N*-диметилпропан-1-амин (**1b**) и 6 мл AcOH в 50 мл MeOH кипятят в колбе с обратным холодильником в течение 48 ч. Затем реакционную смесь охлаждают и упаривают при пониженном давлении. Очищают методом колоночной хроматографии, элюент система В.

1,1''-Бис[3-(диметиламино)пропил]-1*H*,1''*H*-3,3':3',3''-териндол-2'(1'*H*)-он (3h) Выход 0.47 г (43%), бесцветные кристаллы, т. пл. 156–158 °С (MeOH), R_f 0.42 (система Б). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (J , Гц): 1.75 (4H, кв, J = 8.0, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂); 2.02–2.04 (16H, м, 2CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂); 4.08 (4H, т, J = 8.0, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂); 6.80 (2H, т, J = 8.0, H-5''); 6.85 (2H, с, H-2',2''); 6.92 (1H, т, J = 8.0, H-5); 6.99 (1H, д, J = 8.0, H-4); 7.04 (2H, т, J = 8.0, H-6',6''); 7.21–7.26 (4H, м, H-4',4'',6',7'); 7.39 (2H, д, J = 8.0, H-7,7''); 10.65 (1H, с, 1-NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 27.5; 43.2; 45.1; 52.6; 55.8; 109.9; 110.1; 113.7; 118.6; 121.3; 121.8; 125.0; 126.3; 128.1; 134.5; 136.7; 141.4; 169.5; 178.8. Найдено, m/z : 534.3220 [M+H]⁺. C₃₄H₄₀N₅O. Вычислено, m/z : 534.3233. ВЭЖХ: t_R 14.25 мин (система 1, λ 287 нм, чистота 97.7%).

1,1''-Бис[3-(диметиламино)пропил]-1'-метил-1*H*,1''*H*-3,3':3',3''-териндол-2'(1'*H*)-он (3i) Выход 0.62 г (55%), мелкие бесцветные кристаллы, т. пл. 163–165 °С (MeOH), R_f 0.47 (система Б). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (J , Гц): 1.79 (4H, кв, J = 8.0, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂); 2.07–2.16 (16H, м, 2CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂); 3.14 (3H, с, NCH₃); 4.10 (4H, т, J = 8.0, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂); 6.90 (2H, т, J = 8.0, H-5',5''); 7.02–7.11 (6H, м, H-4,7,2',6',2'',6''); 7.28–7.35 (2H, м, H-5,6); 7.39–7.41 (4H, м, H-4',7',4'',7''). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 26.1; 27.6; 43.2; 45.0; 55.8; 108.7; 109.8; 114.4; 118.8; 120.9; 121.3; 122.5; 124.4; 125.4; 127.2; 129.3; 132.7; 136.6; 143.1; 169.4; 176.6. Найдено, m/z : 548.3366 [M+H]⁺. C₃₅H₄₂N₅O. Вычислено, m/z : 548.3389. ВЭЖХ: t_R 14.25 мин (система 1, λ 287 нм, чистота 97.7%).

1,1''-Бис[3-(диметиламино)пропил]-7'-метил-1*H*,1''*H*-3,3':3',3''-териндол-2'(1'*H*)-он (3j) Выход 0.73 г (65%), бесцветные кристаллы, т. пл. 195–197 °С (MeOH), R_f 0.38 (система Б). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (J , Гц): 1.75 (4H, кв, J = 8.0, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂); 1.98–2.04 (16H, м, 2CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂); 2.29 (3H, с, 7-CH₃); 4.09 (4H, т, J = 8.0, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂); 6.80–6.84 (5H, м, H-5,2',5',2'',5''); 7.02–7.06 (4H, м, H-4,6,6',6''); 7.26 (2H, д, J = 8.0, H-4',4''); 7.39 (2H, д, J = 8.0, H-7,7''); 10.65 (1H, с, 1-NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 16.7; 27.5; 43.0; 45.0; 52.7; 55.7; 109.9; 113.8; 118.4; 119.0; 121.1; 121.6;

122.2; 126.2; 128.0; 129.2; 134.1; 136.6; 139.9; 169.4; 179.2. Найдено, m/z : 548.3351 $[M+H]^+$. $C_{35}H_{42}N_5O$. Вычислено, m/z : 548.3389. ВЭЖХ: t_R 16.09 мин (система 1, λ 287 нм, чистота 97.6%).

1,1''-Бис[3-(диметиламино)пропил]-6'-метил-1H,1''H-3,3':3',3''-териндол-2'(1'H)-он (3к). Выход 0.5 г (45%), бесцветное аморфное вещество, R_f 0.40 (система Б). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.82 (4H, кв, $J = 8.0$, $CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$); 2.18 (12H, с, $2CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$); 2.30 (7H, с, $2CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$, 6- CH_3); 4.10–4.13 (4H, м, $2CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$); 6.73 (1H, д, $J = 8.0$, H-5); 6.80–6.83 (3H, м, H-4,5',5''); 6.86 (2H, с, H-2',2''); 7.05–7.08 (3H, м, H-7,6',6''); 7.25 (2H, д, $J = 8.0$, H-4',4''); 7.41 (2H, д, $J = 8.0$, H-7',7''); 10.60 (1H, с, 1-NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 21.3; 27.0; 43.0; 44.4; 52.2; 55.3; 109.9; 110.4; 113.9; 118.4; 121.2; 122.2; 124.6; 126.2; 127.8; 131.5; 136.6; 137.4; 141.4; 169.4; 178.9. Найдено, m/z : 548.3366 $[M+H]^+$. $C_{35}H_{42}N_5O$. Вычислено, m/z : 548.3389. ВЭЖХ: t_R 16.31 мин (система 1, λ 260 нм, чистота 99.6%).

1,1''-Бис[3-(диметиламино)пропил]-4'-метил-1H,1''H-3,3':3',3''-териндол-2'(1'H)-он (3л). Выход 0.47 г (42%), бесцветное аморфное вещество, R_f 0.4 (система Б). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.75–1.82 (7H, м, $2CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$, 4- CH_3); 2.04–2.10 (16H, м, $2CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$); 4.09–4.12 (4H, м, $2CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$); 6.82–6.85 (6H, м, H-5,7,2',5',2'',5''); 7.07 (2H, д, $J = 4.0$, H-6',6''); 7.14 (1H, т, $J = 4.0$, H-6); 7.27 (2H, д, $J = 8.0$, H-4',4''); 7.41 (2H, д, $J = 8.0$, H-7',7''); 11.08 (1H, с, 1-NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 18.0; 27.8; 43.5; 45.2; 56.0; 107.8; 110.3; 111.6; 118.8; 121.5; 121.7; 124.6; 126.4; 128.6; 129.3; 131.3; 135.7; 136.9; 142.1; 179.0. Найдено, m/z : 548.3456 $[M+H]^+$. $C_{35}H_{42}N_5O$. Вычислено, m/z : 548.3389. ВЭЖХ: t_R 16.21 мин (система 1, λ 260 нм, чистота 97.7%).

1,1''-Бис[3-(диметиламино)пропил]-7'-хлор-1H,1''H-3,3':3',3''-териндол-2'(1'H)-он (3м). Выход 0.81 г (70%), бесцветные кристаллы, т. пл. 228–230 °C (Et_2O), R_f 0.3 (система Б). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.75 (4H, кв, $J = 8.0$, $2CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$); 1.98–2.02 (16H, м, $2CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$); 4.11 (4H, т, $J = 8.0$, $2CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$); 6.80–6.96 (5H, м, H-2',2'',5,5',5''); 7.04–7.30 (6H, м, H-4,4',4'',6,6',6''); 7.41 (2H, д, $J = 8.0$, H-7',7''); 11.08 (1H, с, 1-NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 27.9; 43.4; 45.4; 56.1; 110.4; 113.2; 114.3; 118.9; 121.4; 121.6; 123.3; 123.8; 126.4; 128.3; 128.5; 137.0; 139.5; 169.4; 189.2. Найдено, m/z : 568.2844 $[M+H]^+$. $C_{34}H_{39}ClN_5O$. Вычислено, m/z : 568.2843.

Исследование цитотоксичности соединений 3а–т проведено с помощью МТТ-теста, как описано ранее.⁵ Цитотоксичность была протестирована на линиях опухолевых клеток человека, а именно колоректальной карциномы НСТ116 и миелогенного лейкоза К562. Для сравнения были взяты донорские человеческие фибробласты, иммортализованные трансфекцией гена hTERT каталитического компонента теломеразы.

Исследование биологических свойств соединений 3а–к с помощью тест-системы на основе *Halobacterium salinarum* проведено, как описано ранее,^{21,22}

в круглодонных стерильных 96-луночных полистирольных пластинах (Medpolimer) при температуре 37 °C во влажной атмосфере в течение 5–22 сут. *Halobacterium salinarum* (АТСС 29341) высеивают на питательную среду, содержащую 18.0% NaCl, 0.1% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.1% K_2HPO_4 , 1.0% дрожжевого экстракта, до 100% H_2O , pH 7.0–7.2.

Объем питательной среды в каждой лунке (образце) составляет 150 μ л. После культивирования *Halobacterium salinarum* на 2% агаровой питательной среде в течение одной недели, клетки удаляют в жидкую среду и разбавляют до нужной плотности. Начальная оптическая плотность инокулята, определенная на колориметре МКМФ-1 (Россия) в кюветках объемом 1 см при 570 нм, составляет 0.005–0.015 D (единиц оптической плотности). Мевалоновую кислоту получают щелочной обработкой лактона D,L-мевалоновой кислоты (Sigma)²¹ и добавляют в конечной концентрации 3 μ M в питательную среду при иницировании культивирования. Исследуемые соединения растворяют в ДМСО при исходной концентрации 6.4 μ M и путем последовательных разведений в том же растворителе до достижения конечной концентрации 6.4–12.5 μ M в суспензии *Halobacterium salinarum*. Конечная концентрация ДМСО не должна превышать 1%. Каждое соединение тестируют по меньшей мере в трех повторах. Контрольные растворы содержат только растворитель. В качестве препарата сравнения использовался ловастатин (Merck Sharp & Dohme). Рост бактериальных клеток измеряют фотометрически с помощью вертикального сканирующего микроскопического фотометра (ИФКО-2) после перемешивания содержимого лунки. Кроме того, за ростом клеток *Halobacterium salinarum* наблюдают по плотному красному осадку на дне скважины. Ингибирующую концентрацию (IC) определяют как концентрацию препарата, полностью препятствующую росту исследуемого организма (IC₁₀₀), или как концентрацию, при которой обнаружен ослабленный рост (50% от контрольного уровня, IC₅₀).¹⁹

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 16-15-10300).

Виктор В. Татарский выражает личную благодарность за финансовую поддержку Министерству науки и высшего образования Российской Федерации в рамках программы повышения конкурентоспособности НИТУ "МИСиС" (грант 302-2017-2-1).

Список литературы

1. Dothager, R. S.; Putt, K. S.; Allen, B. J.; Leslie, B. J.; Nesterenko, V.; Hergenrother, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8686.
2. Palchadhuri, R.; Nesterenko, V.; Hergenrother, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 10274.
3. Palchadhuri, R.; Hergenrother, P. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5888.
4. Al-Qawasmeh, R. A.; Lee, Y.; Cao, M.-Y.; Gu, X.; Vassilakos, A.; Wright, J. A.; Young, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 347.

5. Lavrenov, S. N.; Luzikov, Y. N.; Bykov, E. E.; Reznikova, M. I.; Stepanova, E. V.; Glazunova, V. A.; Volodina, Y. L.; Tatarsky, V. V., Jr.; Shtil', A. A.; Preobrazhenskaya, M. N. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 6905.
6. Stepanova, E. V.; Shtil', A. A.; Lavrenov, S. N.; Bukhman, V. M.; Inshakov, A. N.; Mirchink, E. P.; Trenin, A. S.; Galatenko, O. A.; Isakova, E. B.; Glazunova, V. A.; Dezhenskova, L. G.; Solomko, E. Sh.; Bykov, E. E.; Preobrazhenskaya, M. N. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **2010**, 59, 2259. [*Изв. АН, Сер. хим.* **2010**, 59, 2203.]
7. Paira, P.; Hazra, A.; Kumar, S.; Paira, R.; Sahu, K. B.; Naskar, S.; Saha, P.; Mondal, S.; Maity, A.; Banerjee, S.; Mondal, N. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 4786.
8. Kamal, A.; Srikanth, Y. V. V.; Naseer, M.; Khan, A.; Shaik, T. B.; Ashraf, Md. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 5229.
9. Subba Reddy, B. V.; Rajeswari, N.; Sarangapani, M.; Prashanthi, Y.; Ganji, R. J.; Addlagatta, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 2460.
10. Natarajan, A.; Fan, Y.-H.; Chen, H.; Guo, Y.; Iyasere, J.; Harbinski, F.; Christ, W. J.; Aktas, H.; Halperin, J. A. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 1882.
11. Kleebblatt, D.; Christoph, A.; Cordes, C. A.; Lebreuz, P.; Hein, M.; Feist, H.; Matin, A.; Raza, R.; Iqbal, J.; Munshi, O.; Rahman, Q.; Villinger, A.; Langer, P. *RSC Adv.* **2014**, 4, 22828.
12. Praveen, C.; Ayyanar, A.; Perumal, P. T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 4072.
13. Prathima, P. S.; Pamanji Rajesh, P.; Rao, J. V.; Kailash, U. S.; Sridhar, B.; Rao, M. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 84, 155.
14. Bergman, J.; Eklund, N. *Tetrahedron* **1980**, 36, 1445.
15. Suresh, B.; Brahmeshwary, G.; Swamy, T.; Gopi, I.; Ravinder, V. *Russ. J. Gen. Chem.* **2016**, 86, 1144.
16. Gao, G.; Han, Y.; Zhang, Z.-H. *ChemistrySelect* **2017**, 2, 11561.
17. Liu, X.; Ma, S.; Toy, P. H. *Org. Lett.* **2019**, 21, 9212.
18. Etayo, P.; Escudero-Adána, E. C.; Pericàs, M. A. *Catal. Sci. Technol.* **2017**, 7, 4830.
19. (a) *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Third International Supplement*; Clinical and Laboratory Standards Institute: Pennsylvania, 2013, CLSI M27-S3. <http://medicine.kaums.ac.ir/UploadedFiles/angalshenase/M27-S3%20Third%20International%20Supplement.pdf>.
(b) *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard—Second Edition*; Clinical and Laboratory Standards Institute: Pennsylvania, 2008, CLSI M38-A2. https://clsi.org/media/1455/m38a2_sample.pdf.
20. Preobrazhenskaya, M. N.; Olsufyeva, E. N.; Tevyashova, A. N.; Printsevskaya, S. S.; Solovieva, S. E.; Reznikova, M. I.; Trenin, A. S.; Galatenko, O. A.; Treshalin, I. D.; Pereverzeva, E. R.; Mirchink, E. P.; Zotchev, S. B. *J. Antibiot.* **2010**, 63, 55.
21. Тренин, А. С. *Антибиотики и химиотерапия* **2013**, 58(5/6), 3.
22. Тренин, А. С.; Цвигун, Е. А.; Бычкова, О. П.; Лавренов, С. Н. *Антибиотики и химиотерапия* **2013**, 58(9/10), 3.
23. Sandmeyer, T. *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 234.
24. Alimohammadi, K.; Sarrafi, Y.; Tajbakhsh, M. *Monatsh. Chem.* **2008**, 139, 1037.
25. Yu, J.; Shen, T.; Lin, Y.; Zhou, Y.; Song, Q. *Synth. Commun.* **2014**, 44, 2029.