

Синтез и антипролиферативная активность салицилиденгидразонов на основе индол-2(3)-карбоновых кислот

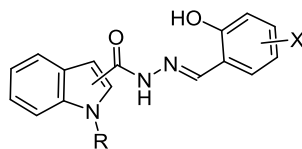
Андрей Г. Васин^{1,2*}, Любовь Г. Деженкова¹, Иван В. Иванов¹,
Александр М. Щербаков³, Андрей Е. Щекотихин¹

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

² Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева,
Миусская пл., 9, Москва 125190, Россия

³ Национальный медицинский исследовательский
центр онкологии им. Н. Н. Блохина Минздрава России,
Каширское шоссе, 24, Москва 115422, Россия

Поступило 27.02.2020
Принято после доработки 11.05.2020



For R = H, X = 4-NEt₂
IC₅₀ 0.3–1.0 μM
(K562, MCF7, HCT116, HCT116p53KO)

С целью первичного скрининга биологических свойств и выявления роли альдегидного фрагмента и гетероцикла в способности соединений ингибировать опухолевый рост синтезирована серия гидразонов индол-2(3)-карбоновых кислот и изучена их антипролиферативная активность в отношении линий клеток лейкоза K562, аденокарциномы молочной железы MCF7, карциномы толстой кишки HCT116 и ее резистентной сублинии HCT116p53KO. Идентифицирован ряд производных, ингибирующих рост опухолевых клеток в субмикромольных концентрациях, перспективных для дальнейшей оптимизации и углубленного исследования противоопухолевых свойств.

Ключевые слова: гидразоны, индол-2(3)-карбоновые кислоты, салициловый альдегид, антипролиферативная активность.

Создание новых противоопухолевых препаратов на сегодняшний день остается одной из ключевых задач медицинской химии. Ацилгидразоны, обладающие широким спектром биологических свойств, перспективны для поиска среди них новых противоопухолевых соединений.^{1–3} Кроме того, гидразоны широко применяются в качестве линкеров для конъюгации противоопухолевых препаратов, позволяющих обеспечить высвобождение активной молекулы в физиологических условиях.⁴

По данным литературы, высоким противоопухолевым потенциалом обладают гидразоны гидроксibenзальдегидов, особенно с гидроксигруппой в орто-положении. Это объясняется увеличением дентантности молекул гидразонов и увеличением их аффинности к ионам двухвалентных металлов (железа, меди, цинка и др.), играющих важную роль в процессе

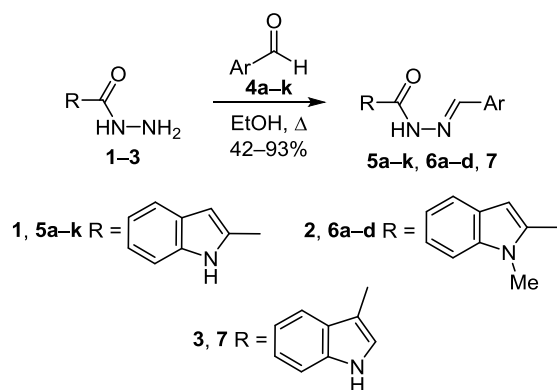
деления клеток.^{5–7} Также сообщается и о других механизмах противоопухолевой активности ацилгидразонов: блокировании полимеризации тубулина, ингибировании некоторых протеинкиназ (например, Р1М и сфингозинкиназа), а также онкогена *cMyc*.^{8–10} Обнаружено, что высокой противоопухолевой активностью обладают гетероциклические производные ацилгидразонов, особенно содержащие атом азота в α-положении к карбогидразидному фрагменту.¹¹ Очевидно, что одним из подходящих гетероциклов для поиска противоопухолевых ацилгидразонов является индол и его производные. Индол традиционно рассматривается как привилегированный скаффолд в медицинской химии,¹² а производные индолкарбоновых кислот особенно перспективны для поиска новых биологически активных соединений.^{13–15} На сегодняшний день описан ряд производных индолкарбоновых кислот, а также их

гидразонов, обладающих высокой противоопухолевой,^{15–19} антиангиогенной,²⁰ антиоксидантной,²¹ антидепрессантной²² и антикоагулянтной активностью.²³

Следует отметить, что некоторые соединения этого ряда способны ингибировать рост опухолевых клеток в микромолярных концентрациях, в то время как на неопухолевые клетки они не действуют, что подчеркивает перспективность дальнейшего исследования индолилкарбонилгидразонов.¹⁹ Несмотря на имеющиеся данные, закономерности структура – антипролиферативная активность для гидразонов на основе индолкарбонновых кислот практически не исследовались. Подтверждения роли структурных фрагментов необходимы для дальнейшей оптимизации производных этого класса и выявления их внутриклеточных мишеней.

Для анализа влияния заместителей в альдегидном фрагменте и расположения ацильного фрагмента в индольном цикле на антипролиферативные свойства соединений синтезирована серия гидразонов **5a–k**, **6a–d**, **7** на основе 1*H*-индол-2-карбогидразида (**1**), его 1-метильного аналога **2**, а также изомерного 1*H*-индол-3-карбогидразида (**3**) и серии гидроксibenзальдегидов **4a–k**. Исходные гидразиды индолкарбонновых кислот **1–3** были получены из соответствующих эфиров и гидразина по ранее описанным методикам.^{24,25} Конденсация гидразидов **1–3** с альдегидами **4a–k** эффективно протекает при кипячении в EtOH с высокими выходами (схема 1). Структуры использованных гидроксibenзальдегидов представлены в табл. 1.

Схема 1. Синтез индол-2(3)-карбогидразонов **5a–k**, **6a–d**, **7**



Антипролиферативная активность полученных соединений исследована на трех линиях опухолевых клеток: миелоидного лейкоза K562, карциномы толстой кишки HCT116 и аденокарциномы молочной железы MCF7. Кроме того, в скрининговую панель была включена сублиния HCT116p53KO с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), обусловленной делецией гена *p53* (*p53*^{-/-}). Потеря клетками функционирующего супрессора *p53* является одним из клинически значимых механизмов МЛУ опухолей к химио- и радиотерапии.²⁶ Поэтому параллельный скрининг антипролиферативной активности на линии HCT116 и ее изогенной сублинии HCT116p53KO

позволяет вести отбор перспективных противоопухолевых агентов, способных действовать на клетки с активированными механизмами МЛУ.^{27–30} В качестве препарата сравнения использовался доксорубин.

Результаты скрининга, представленные в табл. 1, показывают, что индолилгидразоны способны эффективно ингибировать пролиферацию клеток тестируемых опухолевых линий. Клетки аденокарциномы молочной железы MCF7 оказались заметно более чувствительны к действию полученных соединений. Так, большинство гидразонов (за исключением соединений **5b,d,h** и **6a,b**) ингибируют рост клеток аденокарциномы MCF7 в субмикромолярных концентрациях. Клетки миелоидного лейкоза K562 и рака толстой кишки HCT116 оказались менее чувствительны к салицилгидразонам, однако для 11 из 16 синтезированных производных IC₅₀ находится в микромолярных и субмикромолярных концентрациях.

Сравнение IC₅₀ соединений **5a,b** показывает, что производное салицилового альдегида значительно превосходит *para*-изомер по способности ингибировать опухолевый рост. Наиболее активными в отношении всех линий опухолевых клеток оказались соединения, содержащие в положении 4 салицилового альдегида электронодонорные заместители, среди которых самым активным было 4-метоксипроизводное **5g**. Меньшей активностью обладают производные **5c,e,f**, содержащие заместитель в положении 3 альдегида. При этом алкоксипроизводные были более активны по сравнению с гидроксипроизводными, а увеличение размера алкоксигруппы практически не влияет на антипролиферативные свойства производных **5e,f**. Соединения **5h** и **6b**, содержащие заместители в положении 5 альдегида, не оказывали значимого влияния на рост опухолевых клеток. К такому же результату приводит и введение третей гидроксильной группы в структуры производных **5d** и **6a**.


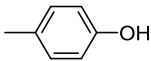
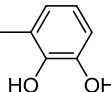
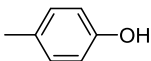
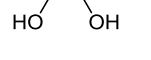
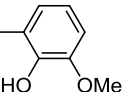
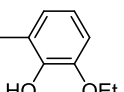
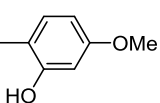
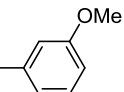
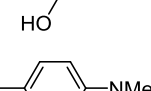
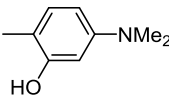
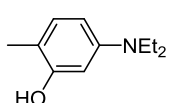
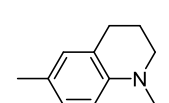
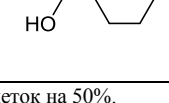

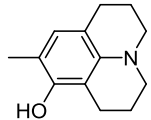
Гидразоны 4-аминосалицилового альдегида **5i,j,k**, **6c,d** и **7** обладают высокой антипролиферативной активностью, причем увеличение размера алкильного заместителя диалкиламиногрупп приводит к изменениям в спектре антипролиферативной активности соединений. Замена диметиламиногруппы в производных **5i** и **6c** на диэтиламиногруппу вызывает заметное увеличение активности гомологов **5j** и **6d** в отношении клеток HCT116. Примечательно, что модификация диэтиламиногруппы соединения **5j** в юлолидиновый фрагмент практически не влияет на антипролиферативные свойства гидразона **5k**.

Производные индол-2-карбогидразонов **5a–k** оказались более активными, чем их аналоги индол-3-карбогидразоны **6a–d**. Метилирование индольного цикла индол-2-карбогидразона привело к снижению антипролиферативных свойств у соединения **7**. В противоположность доксорубину, большинство гидразонов **5–7** проявляли близкую активность в отношении клеток линии HCT116 и ее сублинии HCT116p53KO. Следовательно, ингибирование опухолевого роста этими соединениями реализуется по

p53-независимому механизму, что позволяет им преодолевать МЛУ, связанную с дисфункцией опухолевого супрессора p53. Кроме того, выявлена высокая чувствительность клеток рака молочной железы MCF7 к действию индолилкарбонилгидразонов. Так, соединение-лидер **5i** достоверно в 2 раза более активно в отношении клеток аденокарциномы MCF7, чем препарат сравнения доксорубин, в то время как в

отношении других протестированных линий опухолевых клеток его активность в 4–10 раз ниже. Этот факт свидетельствует о перспективности дальнейшего изучения действия этих соединений на опухоли молочной железы и может способствовать выявлению их специфических молекулярных мишеней. Идентифицированные соединения-лидеры **5g,i** по значениям большинства молекулярных дескрипторов соответствуют правилу

Таблица 1. Структуры индол-2(3)-карбогидразонов **5a–k**, **6a–d**, **7** и их антипролиферативная активность (IC₅₀^{*}, μM)

Соединение	R	Соединение	Ar	Продукт	Линии опухолевых клеток			
					K562	HCT116	HCT116p53KO	MCF7
1	Индол-2-ил	4a		5a	1.8 ± 0.2	2.5 ± 0.3	3.0 ± 0.5	0.65 ± 0.08
1	Индол-2-ил	4b		5b	42.0 ± 5.5	52.0 ± 6.5	>50	>50
1	Индол-2-ил	4c		5c	4.7 ± 0.6	15.3 ± 2.1	14.5 ± 1.7	0.46 ± 0.04
1	Индол-2-ил	4d		5d	47.0 ± 6.6	>50	>50	47.4 ± 2.8
3	Индол-3-ил	6a		6a	>50	>50	>50	>50
1	Индол-2-ил	4e		5e	2.3 ± 0.3	4.5 ± 0.6	4.0 ± 0.5	0.56 ± 0.04
1	Индол-2-ил	4f		5f	2.7 ± 0.4	4.4 ± 0.5	4.0 ± 0.6	0.39 ± 0.03
1	Индол-2-ил	4g		5g	0.49 ± 0.07	0.40 ± 0.03	0.51 ± 0.06	0.21 ± 0.02
1	Индол-2-ил	4h		5h	>50	>50	>50	1.5 ± 0.2
3	Индол-3-ил	6b		6b	>50	>50	>50	12.8 ± 0.9
1	Индол-2-ил	4i		5i	0.50 ± 0.06	2.1 ± 0.3	2.2 ± 0.3	0.15 ± 0.02
1	Индол-3-ил	6c		6c	4.3 ± 0.5	13.5 ± 1.9	14.2 ± 1.80	0.57 ± 0.07
1	Индол-2-ил	4j		5j	1.02 ± 0.12	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.29 ± 0.03
2	1-Метилиндол-2-ил	4j		7	2.3 ± 0.3	4.5 ± 0.5	3.9 ± 0.6	0.44 ± 0.04
3	Индол-3-ил	6d		6d	0.73 ± 0.08	1.0 ± 0.1	1.05 ± 0.14	0.41 ± 0.04
1	Индол-2-ил	4k		5k	0.72 ± 0.08	1.05 ± 0.12	1.6 ± 0.2	0.31 ± 0.05
Доксорубин					0.13 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.62 ± 0.09	0.32 ± 0.02

* IC₅₀ – концентрация, ингибирующая рост клеток на 50%.

трех (Rule of Three, RO3¹), что в совокупности с их высокой антипролиферативной активностью для опухолевых клеток различного гистогенеза указывает на перспективность дальнейшей оптимизации их структуры и углубленного исследования противоопухолевых свойств соединений этого ряда.

Таким образом, получена серия индолилкарбонилгидразонов и проведено предварительное исследование их способности ингибировать рост опухолевых клеток. Анализ результатов показал, что введение электронодонорных групп в положение 4 альдегидного фрагмента (таких как метокси- или диалкиламиногрупп) приводит к существенному росту антипролиферативных свойств.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C зарегистрированы на спектрометре Varian Mercury-400 (400 и 100 МГц соответственно) в ДМСО-*d*₆, внутренний стандарт ТМС. Отнесение сигналов в спектрах ЯМР ¹³C проведено с помощью метода АРТ (Attached Proton Test). Масс-спектры высокого разрешения с ионизацией электропылением зарегистрированы на спектрометре micrOTOF-Q II (Bruker Daltonics GmbH) с точностью измерений 0.25–0.38 м. д. в интервале масс 118.086255–2721.894829, с прямым вводом растворов образцов (0.1 мг/мл) в смеси MeCN–HCO₂H (2000:1) в источник. Регистрация положительно заряженных ионов осуществлена в следующих условиях: напряжение на капилляре 4 кВ, давление азота в небулайзере 0.4 Бар, скорость потока осушающего газа 4 л/мин и температура источника 180 °С. Температуры плавления определены на приборе Stuart SMP30. Контроль за ходом реакций осуществлен методом ТСХ на пластинах Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck). Препаративная хроматография проведена на силикагеле (Silica gel 60, Merck).

Индоилкарбогидразиды **1–3** получены по описанным методикам.^{24,25}

Синтез карбогидразонов 5а–к, 6а–д, 7 (общая методика). В 10 мл горячего EtOH растворяют 100 мг (0.57 моль) карбогидразиды **1–3** и 0.57 моль соответствующего гидроксibenзальдегида **4а–к**. Раствор кипятят при интенсивном перемешивании до полной конверсии исходных соединений (контроль методом ТСХ). Реакционную смесь охлаждают, полученный осадок отфильтровывают, промывают холодным EtOH (3 × 10 мл) и сушат на воздухе.

N'-[(2-Гидроксифенил)метилен]-1H-индол-2-карбогидразид (5а). Выход 134 мг (84%), белый порошок, т. пл. >250 °С (т. пл. 270–272 °С³²). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 12.18 (1H, с, NH); 11.86 (1H, с, NH); 11.23 (1H, с, OH); 8.67 (1H, с, C=NH); 7.71 (1H, д, J = 8.2, H-4); 7.59 (1H, д, J = 7.0, H-6'); 7.50 (1H, д, J = 8.2, H-7); 7.36 (1H, с, H-3); 7.30 (1H, т, J = 7.6, H-3'); 7.24 (1H, т, J = 7.6, H-5); 7.08 (1H, т, J = 7.4, H-6); 6.97–6.91 (2H, м, H-4',5'). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 157.5; 157.4; 147.3; 137.0; 131.4; 129.7; 129.3; 127.0; 124.0; 121.9; 120.1; 119.4; 118.9; 116.4; 112.5; 103.9.

Найдено, *m/z*: 280.1101 [M+H]⁺. C₁₆H₁₄N₃O₂. Вычислено, *m/z*: 280.1081.

N'-[(4-Гидроксифенил)метилен]-1H-индол-2-карбогидразид (5b). Выход 147 мг (93%), белый порошок, т. пл. >250 °С (т. пл. 270–271 °С³²). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 11.81–11.77 (2H, м, 2NH); 10.02 (1H, с, OH); 8.38 (1H, с, C=NH); 7.67–7.61 (3H, м, H-4,2',6'); 7.48 (1H, с, H-7); 7.31 (1H, с, H-3); 7.22 (1H, д, J = 7.0, H-5); 7.07 (1H, д, J = 7.0, H-6); 6.87 (2H, с, H-3',5'). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 159.5; 157.6; 147.6; 136.9; 130.4; 129.0; 127.1; 125.4; 123.9; 121.8; 120.1; 115.9; 112.5; 103.4. Найдено, *m/z*: 280.1105 [M+H]⁺. C₁₆H₁₄N₃O₂. Вычислено, *m/z*: 280.1081.

N'-[(2,3-Дигидроксифенил)метилен]-1H-индол-2-карбогидразид (5с). Выход 71 мг (42%), кремовый порошок, т. пл. 235 °С (с разл.) (т. пл. 238–240 °С²³). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 12.20 (1H, с, NH); 11.89 (1H, с, NH); 11.08 (1H, с, OH); 9.29 (1H, с, OH); 8.62 (1H, с, C=NH); 7.69 (1H, д, J = 8.2, H-4); 7.48 (1H, д, J = 8.2, H-7); 7.34 (1H, с, H-3); 7.24 (1H, т, J = 7.6, H-5); 7.08 (1H, т, J = 7.4, H-6); 7.02 (1H, д, J = 7.4, H-6); 6.87 (1H, д, J = 7.8, H-4'); 6.76 (1H, т, J = 7.8, H-5'). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 157.5; 148.1; 146.0; 145.7; 137.0; 129.7; 127.0; 124.1; 121.9; 120.1; 119.9; 119.3; 119.0; 117.4; 112.5; 103.9. Найдено, *m/z*: 296.1068 [M+H]⁺. C₁₆H₁₄N₃O₃. Вычислено, *m/z*: 296.1029.

N'-[(2,3,4-Тригидроксифенил)метилен]-1H-индол-2-карбогидразид (5d). Выход 90 мг (51%), кремовый порошок, т. пл. >250 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 12.04 (1H, с, NH); 11.85 (1H, с, NH); 11.49 (1H, с, OH); 9.50 (1H, с, OH); 8.49 (2H, с, OH, C=NH); 7.68 (1H, д, J = 8.2, H-4); 7.48 (1H, д, J = 7.8, H-7); 7.30 (1H, с, H-3); 7.23 (1H, т, J = 7.6, H-5); 7.07 (1H, т, J = 7.4, H-6); 6.84 (1H, д, J = 8.6, H-6'); 6.43 (1H, д, J = 8.2, H-5'). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 157.2; 149.4; 148.8; 147.5; 136.9; 132.8; 129.8; 127.1; 123.9; 121.8; 121.1; 120.1; 112.5; 111.0; 107.8; 103.6. Найдено, *m/z*: 312.0999 [M+H]⁺. C₁₆H₁₄N₃O₄. Вычислено, *m/z*: 312.0979.

N'-[(2-Гидрокси-3-метоксифенил)метилен]-1H-индол-2-карбогидразид (5е). Выход 138 мг (78%), желтый порошок, т. пл. 252–256 °С (с разл.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 12.14 (1H, с, NH); 11.85 (1H, с, NH); 10.88 (1H, с, OH); 8.68 (1H, с, C=NH); 7.69 (1H, д, J = 7.8, H-4); 7.49 (1H, д, J = 7.8, H-7); 7.35 (1H, с, H-3); 7.26–7.19 (2H, м, H-5,6'); 7.08 (1H, т, J = 7.4, H-6); 7.03 (1H, д, J = 7.8, H-4'); 6.87 (1H, т, J = 7.8, H-5'); 3.82 (3H, с, OCH₃). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 157.4; 148.0; 147.2; 147.0; 137.0; 129.7; 127.0; 124.0; 121.9; 120.5; 120.1; 119.2; 119.1; 113.7; 112.5; 103.9; 55.9. Найдено, *m/z*: 310.1189 [M+H]⁺. C₁₇H₁₆N₃O₃. Вычислено, *m/z*: 310.1186.

N'-[(2-Гидрокси-3-этоксифенил)метилен]-1H-индол-2-карбогидразид (5f). Выход 144 мг (78%), желтый порошок, т. пл. 222–224 °С (т. пл. 214–216 °С²¹). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 12.15 (1H, с, NH); 11.87 (1H, с, NH); 10.90 (1H, с, OH); 8.67 (1H, с, C=NH); 7.69 (1H, д, J = 7.8, H-4); 7.49 (1H, д, J = 7.8, H-7); 7.35 (1H, с, H-3); 7.24 (1H, т, J = 7.6, H-5); 7.18 (1H, д, J = 7.4, H-6'); 7.08 (1H, т, J = 7.4, H-6); 7.00 (1H, д, J = 7.8, H-4'); 6.85 (1H, т, J = 7.8, H-5'); 4.06 (2H, к, J = 6.6, OCH₂);

1.35 (3H, т, $J = 7.3$, CH₃). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 157.4; 147.4; 147.1; 137.0; 129.7; 127.0; 124.0; 121.9; 120.8; 120.1; 119.2; 119.1; 115.1; 112.4; 103.9; 85.1; 64.2; 14.8. Найдено, m/z : 324.1331 [M+H]⁺. C₁₈H₁₈N₃O₃. Вычислено, m/z : 324.1343.

N'-[(2-Гидрокси-4-метоксифенил)метилен]-1H-индол-2-карбогидразид (5g). Выход 130 мг (74%), белый порошок, т. пл. 246–250 °С (с разл.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J , Гц): 12.07 (1H, с, NH); 11.83 (1H, с, NH); 11.55 (1H, с, OH); 8.58 (1H, с, C=NH); 7.69 (1H, д, $J = 8.2$, H-4); 7.50–7.46 (2H, м, H-7,6'); 7.32 (1H, с, H-3); 7.23 (1H, т, $J = 7.6$, H-5); 7.08 (1H, т, $J = 7.4$, H-6); 6.55–6.52 (2H, м, H-3',5'); 3.78 (3H, с, OCH₃). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 162.1; 159.3; 157.3; 147.9; 136.9; 130.9; 129.8; 127.0; 123.9; 121.8; 120.1; 112.5; 112.0; 106.5; 103.7; 101.2; 55.3. Найдено, m/z : 310.1212 [M+H]⁺. C₁₇H₁₆N₃O₃. Вычислено, m/z : 310.1186.

N'-[(2-Гидрокси-5-метоксифенил)метилен]-1H-индол-2-карбогидразид (5h). Выход 142 мг (81%), желтый порошок, т. пл. >250 °С (т. пл. 276–278 °С³³). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J , Гц): 12.15 (1H, с, NH); 11.83 (1H, с, NH); 10.64 (1H, с, OH); 8.67 (1H, с, C=NH); 7.69 (1H, д, $J = 7.8$, H-4); 7.50 (1H, д, $J = 7.8$, H-7); 7.36 (1H, с, H-3); 7.24 (1H, т, $J = 7.4$, H-5); 7.18 (1H, с, H-6'); 7.08 (1H, т, $J = 7.4$, H-6); 6.93–6.87 (2H, м, H-4',5'); 3.74 (3H, с, OCH₃). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 157.5; 152.2; 151.4; 146.7; 137.0; 129.7; 127.0; 124.0; 121.9; 120.1; 119.2; 118.2; 117.3; 112.5; 112.0; 103.9; 55.5. Найдено, m/z : 310.1195 [M+H]⁺. C₁₇H₁₆N₃O₃. Вычислено, m/z : 310.1186.

N'-[2-Гидрокси-4-(диметиламино)фенил]метилен}-1H-индол-2-карбогидразид (5i). Выход 140 мг (76%), желтый порошок, т. пл. 244–249 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J , Гц): 11.89 (1H, с, NH); 11.77 (1H, с, NH); 11.43 (1H, с, OH); 8.47 (1H, с, C=NH); 7.68 (1H, д, $J = 7.8$, H-4); 7.49 (1H, д, $J = 8.2$, H-7); 7.28–7.20 (3H, м, H-3,5,6'); 7.07 (1H, т, $J = 7.2$, H-6); 6.32 (1H, д, $J = 7.8$, H-5'); 6.19 (1H, с, H-3'); 2.95 (6H, с, 2CH₃). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 159.2; 157.0; 152.7; 149.2; 136.8; 131.1; 130.0; 127.1; 123.8; 121.7; 120.0; 112.4; 107.3; 104.3; 103.3; 98.4; 39.7. Найдено, m/z : 323.1494 [M+H]⁺. C₁₈H₁₉N₄O₂. Вычислено, m/z : 323.1502.

N'-[2-Гидрокси-4-(диэтиламино)фенил]метилен}-1H-индол-2-карбогидразид (5j). Выход 169 мг (85%), желтый порошок, т. пл. 219–224 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J , Гц): 11.83 (1H, с, NH); 11.74 (1H, с, NH); 11.38 (1H, с, OH); 8.45 (1H, с, C=NH); 7.67 (1H, д, $J = 8.2$, H-4); 7.49 (1H, д, $J = 8.2$, H-7); 7.28 (1H, с, H-3); 7.24–7.20 (2H, м, H-5,6'); 7.07 (1H, т, $J = 7.4$, H-6); 6.27 (1H, д, $J = 7.4$, H-5'); 6.15 (1H, с, H-3'); 3.36–3.32 (4H, м, 2CH₂); 1.10 (6H, т, $J = 7.0$, 2CH₃). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 159.6; 156.9; 150.1; 149.2; 136.8; 131.4; 130.0; 127.0; 123.7; 121.6; 119.9; 112.4; 106.6; 103.7; 103.2; 97.5; 43.8; 12.5. Найдено, m/z : 351.1807 [M+H]⁺. C₂₀H₂₃N₄O₂. Вычислено, m/z : 351.1816.

N'-[(8-Гидрокси-2,3,6,7-тетрагидро-1H,5H-пиридо[3,2,1-ij]хинолин-9-ил)метилен]-1H-индол-2-карбогидразид (5k). Выход 118 мг (91%), желтый порошок, т. пл. 220–224 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J , Гц): 11.90 (1H, с, NH); 11.80 (1H, с, NH); 11.77 (1H, с, OH); 8.32

(1H, с, C=NH); 7.67 (1H, д, $J = 8.2$, H-4); 7.48 (1H, д, $J = 8.6$, H-7); 7.26 (1H, с, H-3); 7.22 (1H, т, $J = 7.6$, H-5); 7.07 (1H, т, $J = 7.6$, H-6); 6.74 (1H, с, H-6'); 3.17–3.13 (4H, м, 2CH₂); 2.61 (4H, с, 2CH₂); 1.86–1.82 (4H, м, 2CH₂). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 156.8; 154.6; 150.4; 145.3; 136.9; 130.0; 128.3; 127.1; 123.8; 121.7; 120.0; 112.5; 112.4; 106.4; 105.9; 103.3; 49.4; 48.9; 26.6; 21.6; 20.8; 20.3. Найдено, m/z : 375.1822 [M+H]⁺. C₂₂H₂₃N₄O₂. Вычислено, m/z : 375.1128.

N'-[(2,3,4-Тригидроксифенил)метилен]-1H-индол-3-карбогидразид (6a). Выход 129 мг (73%), кремовый порошок, т. пл. >250 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J , Гц): 11.78 (2H, с) и 11.58 (1H, с, 2NH, OH); 9.44 (1H, с, OH); 8.50 (1H, с, OH); 8.38 (1H, с, C=NH); 8.21–8.19 (2H, м, H-2,4); 7.49 (1H, д, $J = 7.8$, H-7); 7.22–7.15 (2H, м, H-5,6); 6.78 (1H, д, $J = 8.2$, H-4'); 6.41 (1H, д, $J = 8.6$, H-5'). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 160.6; 148.4; 147.6; 147.3; 136.2; 132.8; 128.6; 126.4; 122.4; 121.1; 120.9; 112.2; 111.3; 108.4; 107.6. Найдено, m/z : 312.1074 [M+H]⁺. C₁₆H₁₄N₃O₄. Вычислено, m/z : 312.0978.

N'-[(2-Гидрокси-5-метоксифенил)метилен]-1H-индол-3-карбогидразид (6b). Выход 143 мг (81%), белый порошок, т. пл. >250 °С (т. пл. 263–266 °С³³). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J , Гц): 11.83 (1H, с, NH); 11.75 (1H, с, NH); 10.90 (1H, с, OH); 8.53 (1H, с, C=NH); 8.25–8.21 (2H, м, H-2,4); 7.50 (1H, д, $J = 7.8$, H-7); 7.23–7.13 (3H, м, H-5,6,6'); 6.88 (2H, с, H-3',4'); 3.72 (3H, с, OCH₃). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 152.2; 151.3; 145.0; 136.2; 128.8; 126.6; 122.5; 121.1; 121.0; 119.4; 117.5; 117.2; 112.5; 112.2; 108.3; 85.2; 55.5. Найдено, m/z : 310.1210 [M+H]⁺. C₁₇H₁₆N₃O₃. Вычислено, m/z : 310.1186.

N'-[2-Гидрокси-4-(диметиламино)фенил]метилен}-1H-индол-3-карбогидразид (6c). Выход 134 мг (73%), кремовый порошок, т. пл. 258–259 °С (с разл.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J , Гц): 11.76 (1H, с, NH); 11.69 (1H, с, NH); 11.47 (1H, с, OH); 8.37 (1H, с, C=NH); 8.20–8.18 (2H, м, H-4,6'); 7.49 (1H, д, $J = 6.6$, H-5'); 7.20–7.16 (3H, м, H-5,6,7); 6.30 (1H, д, $J = 8.2$, H-5'); 6.19 (1H, с, H-3'); 2.94 (6H, с, 2CH₃). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 160.4; 159.1; 152.4; 147.5; 136.2; 131.0; 128.3; 126.4; 122.3; 121.0; 120.8; 112.1; 108.5; 107.5; 104.1; 98.5; 39.8. Найдено, m/z : 323.1534 [M+H]⁺. C₁₈H₁₉N₄O₂. Вычислено, m/z : 323.1503.

N'-[2-Гидрокси-4-(диэтиламино)фенил]метилен}-1H-индол-3-карбогидразид (6d). Выход 190 мг (95%), кремовый порошок, т. пл. 212 °С (с разл.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J , Гц): 11.74 (1H, с, NH); 11.62 (1H, с, NH); 11.42 (1H, с, OH); 8.33 (1H, с, C=NH); 8.19–8.15 (2H, м, H-4,6'); 7.48 (1H, д, $J = 7.8$, H-5'); 7.21–7.13 (3H, м, H-5,6,7); 6.25 (1H, д, $J = 10.5$, H-5'); 6.14 (1H, с, H-3'); 3.34 (4H, м, $J = 6.9$, 2CH₂); 1.10 (6H, т, $J = 6.8$, 2CH₃). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 160.4; 159.5; 149.8; 147.6; 136.2; 131.4; 128.3; 126.4; 122.3; 121.1; 120.8; 112.1; 108.6; 106.9; 103.6; 97.7; 43.9; 12.6. Найдено, m/z : 351.1817 [M+H]⁺. C₂₀H₂₃N₄O₂. Вычислено, m/z : 351.1816.

N'-[2-Гидрокси-4-(диэтиламино)фенил]метилен}-1-метил-1H-индол-2-карбогидразид (7). Выход 140 мг (73%), желтый порошок, т. пл. 199–201 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J , Гц): 11.92 (1H, с, NH); 11.48 (1H, с,

ОН); 8.43 (1H, с, C=NH); 7.70 (1H, д, $J = 7.0$, H-4); 7.56 (1H, д, $J = 7.8$, H-7); 7.31 (1H, т, $J = 7.0$, H-5); 7.23–7.20 (2H, м, H-3,6'); 7.14 (1H, т, $J = 6.4$, H-6); 6.27 (1H, д, $J = 7.8$, H-5'); 6.15 (1H, с, H-3'); 4.02 (3H, с, CH₃); 3.35–3.34 (4H, м, 2CH₂); 1.10 (6H, с, 2CH₃). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 159.7; 157.5; 150.1; 149.6; 138.7; 131.6; 130.5; 125.6; 123.9; 121.7; 120.4; 110.6; 106.5; 105.1; 103.7; 97.5; 43.8; 31.4; 12.6. Найдено, m/z : 365.1954 [M+H]⁺. C₂₁H₂₅N₄O₂. Вычислено, m/z : 365.1972.

Тестирование антипролиферативной активности полученных соединений 5a–k, 6a–d, 7 проводят на линиях клеток дикого типа (K562, HCT116, MCF7), приобретенных в Американской коллекции типовых культур (ATCC), и на клетках линии HCT116p53KO, полученных в лаборатории профессора Б. Фогелстайна в Университете Джона Хопкинса (США)²⁶ и предоставленных профессором Б. П. Копниным (Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина).

Клетки линий HCT116 и HCT116p53KO культивируют в среде RPMI-1640 (ПанЭко, Россия), клетки K562 – в модифицированной по Дальбекко среде Игла (DMEM, ПанЭко, Россия), клетки MCF7 – в среде Игла (Gibco, США) с добавлением 0.01 мг/мл инсулина (Thermo Fisher Scientific). В среды добавляют 10% эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone), 2 мМ L-глутамин (ПанЭко), 100 Ед/мл пенициллина (ПанЭко) и 100 мкг/мл стрептомицина (ПанЭко). Культивирование клеточных культур выполняют при 37 °С и 5% CO₂ в увлажненной атмосфере в инкубаторе Binder (Германия). В экспериментах используют культуры в логарифмической фазе роста.

Клетки рассеивают в 96-луночные планшеты (Nunc, США) (5·10³ клеток в 190 μл соответствующей культуральной среды), инкубируют в течение 24 ч. Затем вносят по 10 μл растворов исследуемых соединений в культуральной среде, приготовленных серийными разведениями из исходного раствора в ДМСО (10 мМ), до конечных концентраций 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6, 12, 25 и 50 μМ. Контролем служат клетки без добавления тестируемых соединений. Клетки инкубируют в течение 72 ч и после окончания инкубации в лунки вносят по 20 μл водного раствора 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ, ПанЭко, Россия, 5 мг/мл) для развития окраски. О жизнеспособности клеток судят по цветной реакции, развивающейся при восстановлении тетразолия формазан-дегидрогеназами митохондрий до нерастворимого в культуральной среде формазана. После окончания инкубации планшеты с суспензионной линией клеток K562 центрифугируют при 400 g в течение 10 мин. Далее из всех планшетов отбирают культуральную среду и клетки суспендируют в 100 μл ДМСО (AppliChem). Легким встряхиванием планшетов добиваются растворения фиолетовых кристаллов формазана и измеряют оптическую плотность растворов на автоматическом фотометре для микропланшетов ELx800 (BioТек, США) при длине волны 570 нм. Процент клеток, выживших при действии каждой

концентрации исследуемого соединения, подсчитывают как частное от деления средней оптической плотности в лунках после инкубации с данной концентрацией соединения к средней оптической плотности контрольных лунок (значения последних приняты за 100%). Антипролиферативная активность при каждой концентрации указывается как среднее значение трех независимых измерений.

Файл сопроводительной информации, содержащий спектры ЯМР ¹H и ¹³C всех синтезированных соединений, доступен на сайте журнала <http://hgs.osi.lv>.

Авторы выражают благодарность Д. И. Сальниковой (Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина) за помощь в проведении биологических исследований.

Список литературы

- Rollas, S.; Küçüküzgel, S. G. *Molecules* **2007**, *12*, 1910.
- Tian, F.-F.; Jiang, F.-L.; Han, X.-L.; Xiang, C.; Ge, Y.-S.; Li, J.-H.; Zhang, Y.; Li, R.; Ding, X.-L.; Liu, Y. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 14842.
- Verma, G.; Marella, A.; Shaquiquzaman, M.; Akhtar, M.; Ali, M. R.; Alam, M. M. *J. Pharm. BioAllied Sci.* **2014**, *6*, 69.
- Wahbeh, J.; Milkowski, S. *SLAS Technol.* **2019**, *24*, 161.
- Richardson, D. R. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2002**, *42*, 267.
- Saletta, F.; Rahmanto, Y. S.; Noulsri, E.; Richardson, D. R. *Mol. Pharmacol.* **2010**, *77*, 443.
- Song, S.; Christova, T.; Perusini, S.; Alizadeh, S.; Bao, R.-Y.; Miller, B.W.; Hurren, R.; Jitkova, Y.; Gronda, M.; Isaac, M.; Joseph, B.; Subramaniam, R.; Aman, A.; Chau, A.; Hogge, D. E.; Weir, S. J.; Kasper, J.; Schimmer, A. D.; Al-awar, R.; Wrana, J. L.; Attisano, L. *Cancer Res.* **2011**, *71*, 7628.
- Gudkov, A.; Nikiforov, M.; Burkhart, C.; Haber, M.; Norris, M. US Patent 9387213.
- Chang, M.; Kanwar, N.; Feng, E.; Siu, A.; Liu, X.; Ma, D.; Jongstra, J. *Mol. Cancer Ther.* **2010**, *9*, 2478.
- Sharma, A. K.; Sk, U. H.; Gimbor, M. A.; Hengst, J. A.; Wang, X.; Yun, J.; Amin, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4149.
- Savini, L.; Chiasserini, L.; Travagli, V.; Pellerano, C.; Novellino, E.; Cosentino, S.; Pisano, M. B. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 113.
- Dadashpour, S.; Emami, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *150*, 9.
- Litvinova, V. A.; Tikhomirov, A. S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2018**, *54*, 923. [Химия гетероцикл. соединений **2018**, *54*, 923.]
- Shols, D.; Ruchko, E. A.; Lavrenov, S. N.; Kachala, V. V.; Nawrozki, M. B.; Babushkin, A. S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2015**, *51*, 978. [Химия гетероцикл. соединений **2015**, *51*, 978.]
- Tikhomirov, A. S.; Litvinova, V. A.; Luzikov, Yu. N.; Korolev, A. M.; Sinkevich, Yu. B.; Shehekotikhin, A. E. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2017**, *53*, 1072. [Химия гетероцикл. соединений **2017**, *53*, 1072.]
- Kumar, D.; Kumar, N. M. Ghosh, S.; Shah, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 212.
- Zhang, H.-Z.; Drewe, J.; Tseng, B.; Kasibhatla, S.; Cai, S. X. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3649.
- Hu, H.; Wu, J.; Ao, M.; Wang, H.; Zhou, T.; Xue, Y.; Qiu, Y.; Fang, M.; Wu, Z. *Chem. Biol. Drug Des.* **2016**, *88*, 766.
- Zhang, J.; Liu, T.; Chen, M.; Liu, F.; Liu, X. Zhang, J.; Lin, J.; Jin, Y. *ChemMedChem* **2018**, *13*, 1181.

20. BaMaung, N. Y.; Craig, R. A.; Kawai, M.; Wang, J. US Patent 6323228B1.
21. Demurtas, M.; Baldisserotto, A.; Lampronti, I.; Moi, D.; Balboni, G.; Pacifico, S.; Vertuani, S.; Manfredini, S.; Onnis, V. *Bioorg. Chem.* **2019**, 85, 568.
22. Ergenç, N.; Günay, N. S.; Dermirdamar, R. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, 33, 143.
23. Mirfazli, S. S.; Kobarfard, F.; Firoozpour L.; Asadipour, A.; Esfahanizadeh, M.; Tabib, K.; Shafiee, A.; Foroumadi, A. *Daru, J. Pharm. Sci.* **2014**, 22, 65.
24. Fugard, A. J.; Thompson, B. K.; Slawin, A. M. Z.; Taylor, J. E.; Smith, A. D. *Org. Lett.* **2015**, 17, 5824.
25. Wang, X.; Liu, Y.; Xu, J.; Jiang, F.; Kang, C. *J. Chem. Res.* **2016**, 40, 588.
26. Bunz, F.; Dutriaux, A.; Lengauer, C.; Waldman, T.; Zhou, S.; Brown, J. P.; Sedivy, J. M.; Kinzler, K. W.; Vogelstein, B. *Science* **1998**, 282, 1497.
27. Volodina, Y. L.; Dezhenkova, L. G.; Tikhomirov, A. S.; Tatarskiy, V. V.; Kaluzhny, D. N.; Moisenovich, A. M.; Moisenovich, M. M.; Isagulieva, A. K.; Shtil, A. A.; Tsvetkov, V. B.; Shchekotikhin, A. E. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 165, 31.
28. Scherbakov, A. M.; Borunov, A. M.; Buravchenko, G. I.; Andreeva, O. E.; Kudryavtsev, I. A.; Dezhenkova, L. G.; Shchekotikhin, A. E. *Cancer Invest.* **2018**, 36, 199.
29. Nadysev, G. Y.; Tikhomirov, A. S.; Lin, M.-H.; Yang, Y.-T.; Dezhenkova, L. G.; Chen, H.-Y.; Kaluzhny, D. N.; Schols, D.; Shtil, A. A.; Shchekotikhin, A. E.; Chueh, P. J. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 143, 1553.
30. Shchekotikhin, A. E.; Dezhenkova, L. G.; Susova, O. Yu.; Glazunova, V. A.; Luzikov, Y. N.; Sinkevich, Y. B.; Buyanov, V. N.; Shtil, A. A.; Preobrazhenskaya, M. N. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 2651.
31. Zuegg, J.; Cooper, M. A. *Curr. Top. Med. Chem.* **2012**, 12, 1500.
32. Taha, M.; Ismail, N. H.; Javaid, K.; Imran, S.; Anouar, E. H.; Wadood, A.; Wahab, A.-t.; Ali, M.; Khan, K. M.; Saad, S. M.; Rahim, F.; Choudhary, M. I. *Bioorg. Chem.* **2015**, 63, 24.
33. Mirfazli, S. S.; Khoshneviszadeh, M.; Jeiroudi, M.; Foroumadi, A.; Kobarfard, F.; Shafiee, A. *Med. Chem. Res.* **2016**, 25, 1.