

Пиразолы, изоксазолы и 1,2,3-триазолы как аналоги природного цитостатика комбретастина А-4: эффективные пути синтеза, ингибирование тубулина и цитотоксичность

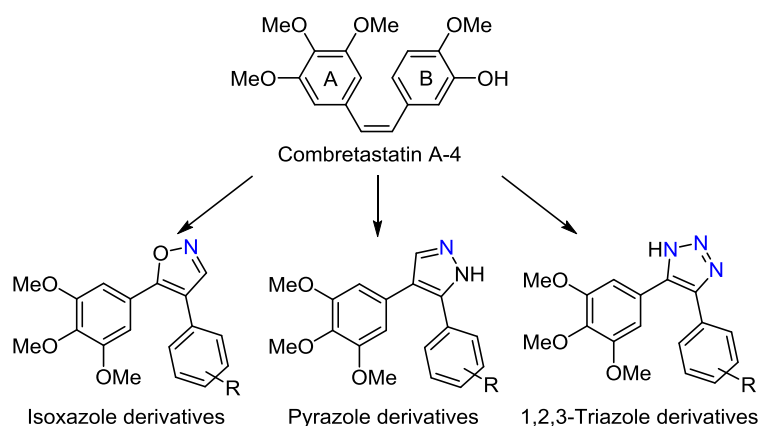
Роман К. Костин^{1*}, Александр С. Маршавин²

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, Москва 119991, Россия; e-mail: rkostin2000@mail.ru

² Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, Москва 119991, Россия

Поступило 22.07.2021

Принято после доработки 13.10.2021



В обзоре рассмотрены преимущества и недостатки комбретастина А-4, приведены наиболее эффективные методы синтеза его аналогов: 1,2,3-триазолов, пиразолов, изоксазолов. Также представлены структурные формулы наиболее активных в отношении раковых клеток структурных аналогов комбретастина А-4 с показателями цитотоксичности.

Ключевые слова: аналоги комбретастина, гетероциклы, 3,5-диарилизоксазол, комбретастин А-4, пиразол, пиразолин, 1,2,3-триазол, тубулин, тубулинсвязывающие агенты, цитотоксичность.

В 1982 г. были выделены производные стильбена с высоким содержанием кислорода из коры южно-африканской ивы *Combretum caffrum*.¹ Комбретастин А-4 (КА-4) (рис. 1) был впервые выделен в 1989 г., а в 1998 г. было случайно обнаружено, что это вещество способно ингибировать полимеризацию тубулина, взаимодействуя с последним в колхицинсвязывающем сайте (структурные формулы КА-4 и колхицина сходные (рис. 1)).²

Комбретастины являются мощными ингибиторами ангиогенеза. Они заметно подавляют пролиферацию клеток и вызывают апоптоз.³ Более того, комбретастины эффективны в отношении клеточных линий с множественной лекарственной устойчивостью, что делает производные КА-4 привлекательными для даль-

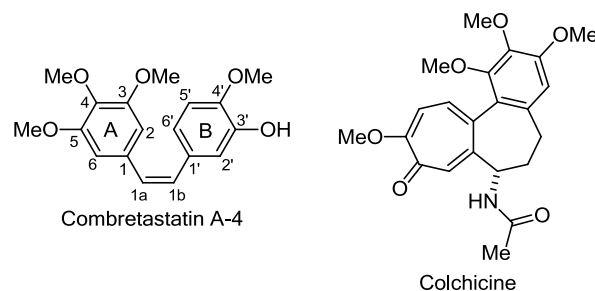


Рисунок 1. Структуры комбретастина А-4 и колхицина.

нейшей разработки и применения, когда возможности противоопухолевой химиотерапии исчерпаны или ограничены.⁴

Анализ зависимости структура–активность КА-4 показал, что фармакофорными элементами, участвующими в ингибировании полимеризации тубулина и в антипролиферативной активности, являются 3,4,5-триметоксигруппы в цикле А, 4'-метоксигруппа в цикле В и двухуглеродный линкер между циклами А и В, включающий двойную связь *цис*-конфигурации (оба бензольных цикла наклонены относительно друг друга на 50–60°).^{2,5–7} Цикл А обладает высоким сродством связывания с тубулином.⁸ Цикл В с различными группами заместителей, обычно находящимися в положениях С-3' и С-4', отвечает за различные стерические, электронные и липофильные свойства.⁵

Также анализ зависимости структура–активность показал, что добавление аминогруппы в *орто*-положение цикла В увеличивает цитотоксичность, а гидроксильные и *N*-метилированные группы снижают активность соединения.⁹ Замена цикла В другими ароматическими или гетероароматическими системами, а также изменение взаимоположений цикла А и цикла В относительно линкерной части – очень эффективные стратегии для создания аналогов КА-4.¹⁰

Хорошо известно, что *цис*-изомеры комбретастинов химически нестабильны и легко изомеризуются под действием света, тепла или в кислой среде в более стабильные *транс*-изомеры, антитубулиновая и цитотоксическая активность которых примерно в 100 раз меньше таковой *цис*-изомеров.^{10,11} *Цис*-изомер термодинамически более стабильно связывается с сайтом связывания тубулина, чем *транс*-изомер.³

Мономер тубулина имеет изогнутую конформацию, но в димеризованном состоянии принимает прямую конформацию, что и лежит в основе функционирования микротрубочек.¹³ *Цис*-изомер КА-4 может ингибировать полимеризацию тубулина, так как его прочное связывание (в отличие от *транс*-изомера) с аминокислотами колхицинсвязывающего сайта ингибирует переход тубулина от изогнутой к прямой конформации. Более того, находясь в *цис*-конформации, цикл А обладает лучшим доступом в колхицинсвязывающий сайт по сравнению с *транс*-конформацией. Следовательно, более низкие значения аффинности *транс*-изомера, возникающие из-за структурных искажений, а также лучшая способность *цис*-изомера к проникновению к сайту связывания могут лежать в основе различий в биоактивности *цис*- и *транс*-изомеров.³

Аналоги комбретастина А-4

Существуют три основные проблемы, связанные с природными комбретастинами: 1) их изомеризация *in vivo*, 2) низкая растворимость в воде и 3) низкая цитотоксичность *in vivo* в отношении опухолевых клеток даже при максимально переносимой дозе.¹⁴

Именно поэтому актуален поиск более стабильных аналогов КА-4 с модифицированной двойной связью (что позволило бы решить конформационную проблему), с низким профилем цитотоксичности по отношению к здоровым клеткам, а также с высокими показателями растворимости в воде.

Были представлены новые соединения, обладающие цитотоксической активностью, в которых вместо олефиновой связи были внедрены кремний,¹⁵ фрагменты бутадиена,¹⁶ циклопропанкарбоксамид,¹⁷ циклопропана¹⁸ и бензола.¹⁹ Также биоактивные соединения были получены путем включения олефиновой связи в диарилзамещенные ароматические гетероциклы: хиральные лактамы,²⁰ фуран,²¹ фуразан(1,2,5-оксадиазол),²² имидазол,²³ тиофен,^{21,24,25} 1,2,4-триазол,^{26,27} тетразол,²⁷ тиазол,^{28,29} [1,2,4]триазоло[4,3-*b*]пиридазин,³⁰ пиразол, изоксазол,¹⁹ оксазол,^{31,32} 1,2,3-тиадиазол,³³ диоксолан,³⁴ 3-арилселенилиндолы и 3-арилтиоиндолы.¹² Такие изменения структуры линкера позволили сохранить необходимую для взаимодействия с колхицинсвязывающим сайтом геометрическую ориентацию циклов КА-4.³⁶

Анализ различных баз данных научной литературы показал, что за последние 5 лет было опубликовано менее 20 обзорных статей, в которых упоминались КА-4 и его аналоги. Некоторые из обзоров посвящены механизму действия и молекулярной конфигурации КА-4 и его аналогов,^{3,6,37} соединениям на основе КА-4 с различными терапевтическими характеристиками,¹⁴ главным образом противоопухолевыми,^{38–40} разнообразным модификациям олефиновой связи КА-4,⁴¹ анализу опыта клинических испытаний фосфата КА-4,⁴² аналогам КА-4, действующим на микротрубочки⁴³ или другие терапевтические мишени.⁴⁴ Тем не менее ни одна из опубликованных обзорных работ не содержит информации о существующих способах получения гетероциклических аналогов КА-4.

Данный обзор посвящен рассмотрению как различных путей синтеза, так и биологической активности трех классов аналогов КА-4, содержащих в качестве линкера циклов А и В 1) изоксазол, 2) пиразол и 3) 1,2,3-триазол. Эти гетероциклы как структурные элементы активно используются в дизайне противоопухолевых препаратов на основе КА-4, поскольку их введение позволяет устранить ряд недостатков, характерных для природных комбретастинов. Достоинствами данных классов соединений также является простота и доступность их синтеза. Существующие методики получения гетероциклических аналогов КА-4, а также известные к настоящему времени данные о связи структура–активность аналогов КА-4 будут рассмотрены в настоящем обзоре.

Изоксазольный цикл является важным гетероциклическим каркасом для органического синтеза и медицинской химии. FDA одобрило почти два десятка фармацевтических препаратов, содержащих в своей структуре 3- или 5-метилизоксазол, а многие другие препараты достигли различных фаз клинических исследований (например, β-лактамы антибиотики, сульфонамидные антибактериальные препараты, антидепрессанты, противоревматические препараты, противовоспалительные, противовирусные, гипогликемические средства, фунгициды и др.).⁴⁵

Одним из основных структурных фрагментов, наиболее часто встречающихся в биологически активных соеди-

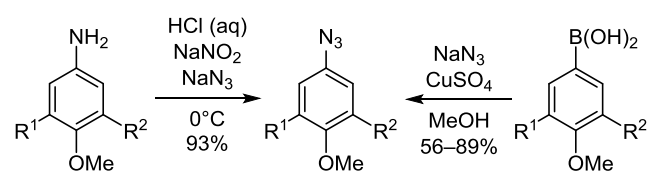
нениях, является 1,2,3-триазол. Это пятичленное гетероциклическое соединение с тремя атомами азота довольно легко синтезировать реакциями азид-алкинового циклоприсоединения, катализируемыми Cu или Ru. 1,2,3-Триазолы могут быть использованы в качестве линкерных соединений, что широко применяется в синтезе различных биологически активных веществ. Производные 1,2,3-триазолов используются как противоопухолевые, противомикробные, противотуберкулезные, противовирусные, противодиабетические, противовоспалительные, противомаларийные, против лейшманиозные и нейропротекторные средства.⁴⁶

Производные пиразола активно используются в медицине в качестве антикоагулянтов для лечения тромбозов и в агропромышленности в качестве фунгицидов для борьбы с болезнями злаковых. Также ведутся разработки лекарств, основанных на производных пиразола, для лечения нейродегенеративных заболеваний.⁴⁷ Более того, производные пиразолов могут стать перспективными противоопухолевыми и противовоспалительными средствами (гибриды комбретастина с линкером пиразолом).⁴⁸

Методы получения аналогов комбретастина А-4 на основе 1,2,3-триазолов

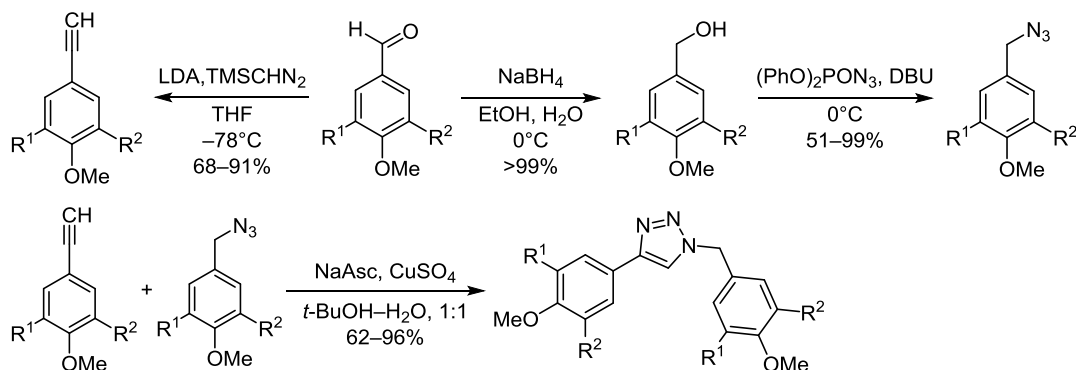
Одним из подходов к созданию 1,2,3-триазольных аналогов КА-4 является катализируемая Cu(I) реакция арилацетиленов с азидами – циклоприсоединение по Хьюзгену. В работе Одло и сотр.⁴⁹ в качестве исходных соединений использовались 3,4,5-тризамещенные анилины, из которых в дальнейшем при помощи реакции диазотирования получали 3,4,5-тризамещенные фенилазиды. Кроме того, ароматические азиды также получали из арилборных кислот и NaN₃ при катализе Cu(II) в среде MeOH (схема 1).

Схема 1



R¹ = H, OMe; R² = H, Br, OMe, NO₂

Схема 2

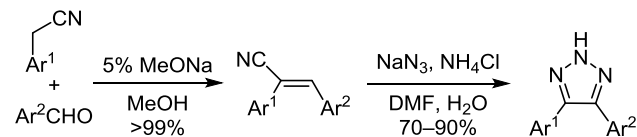


R¹ = H, OMe; R² = H, Br, OMe, NO₂

Терминальные арилацетилены были получены переэтерификацией Колвина из бензальдегидов. Бензальдегиды также использовались для получения арилазидов. Исходные бензальдегиды сначала восстанавливали боргидридом натрия до спиртов, после чего с помощью реакции нуклеофильного замещения были получены арилазиды. Последняя стадия – реакция циклоприсоединения по Хьюзгену с использованием системы CuSO₄–аскорбат натрия (NaAsc) (схема 2).

Также интересный подход использовался в работе Мадади и сотр.⁵⁰ В качестве исходных реагентов авторы предложили арилацетонитрил и производные бензальдегида. На первой стадии были получены диарилацетонитрилы путем нуклеофильного присоединения аниона бензилнитрила к альдегидной группе бензальдегидов. На второй стадии в результате 1,3-диполярного циклоприсоединения азид-аниона с элиминированием цианогруппы образовались соответствующие диарилтриазолы – аналоги КА-4 – с хорошими выходами (схема 3).

Схема 3



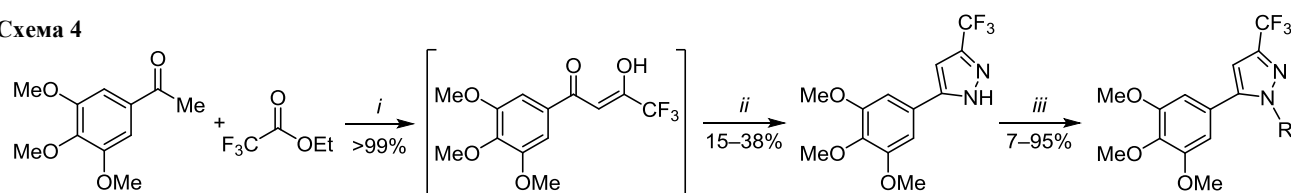
Ar¹ = 3,4,5-(MeO)₃C₆H₂, O₂NC₆H₄, MeOC₆H₄
Ar² = 3,4,5-(MeO)₃C₆H₂, 3,5-(MeO)₂C₆H₃, quinolin-2-yl

Аналоги комбретастина А-4 на основе пиразолов и пиразолинов

Классическим подходом для создания пиразольного цикла является реакция конденсации 1,3-дикарбонильных соединений с гидразином. Данный подход для синтеза пиразольных аналогов КА-4 был предложен Хурой и сотр.⁵¹ Первая стадия – реакция конденсации между этиловым эфиром трифторуксусной кислоты и 3,4,5-триметоксифенилметилкетонном. Полученное 1,3-дикарбонильное соединение вступает в реакцию циклизации с гидразином. Затем для введения второго арильного фрагмента используется катализируемая Cu(I) реакция кросс-сочетания (схема 4).

Хороший метод синтеза пиразольных производных КА-4 предложили Лай с сотр.⁵² За основу создания

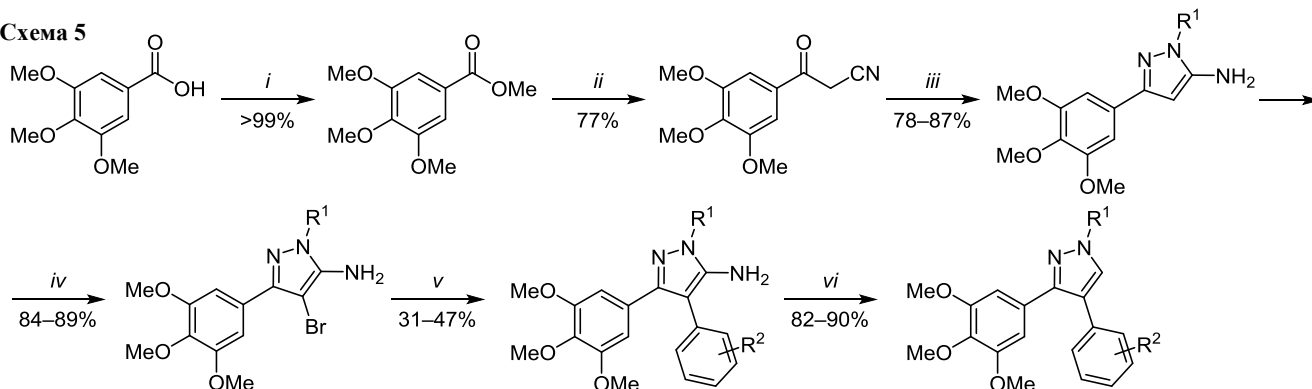
Схема 4



R = 4-FC₆H₄, 4-MeOC(O)C₆H₄, 3,5-(MeO)₂C₆H₃

i: NaH, THF, 0°C; ii: N₂H₄·H₂O, EtOH; iii: RBr, CuI, DMEDA, dioxane, 110°C

Схема 5



R¹ = Me, 4-MeOC₆H₄, 4-FC₆H₄; R² = 4-OMe, 4-SMe, 4-OEt

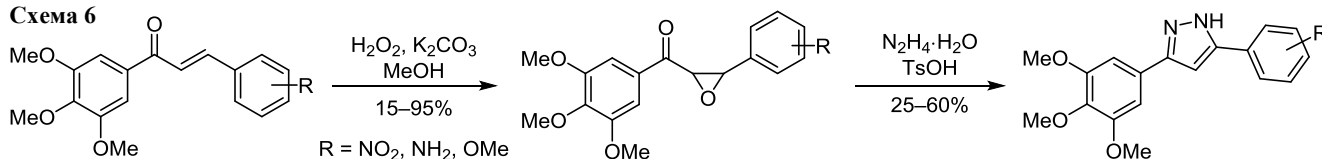
i: H₂SO₄ (98%), MeOH, 65°C; ii: MeCN-THF, 1:1, NaH, 80°C; iii: R¹NHNH₂, AcOH-EtOH, 1:1, 100°C; iv: NBS, DMF, 0°C;

v: R²C₆H₄B(OH)₂, PdCl₂(PPh₃)₂, Cs₂CO₃, DME, 80°C; vi: *n*-BuNO₂, THF, 65°C

пиразольного цикла была взята реакция между арилпроизводными нитрилов β-кетокислот и алкилгидразинами. Первая стадия – получение метилового эфира 3,4,5-триметоксibenзойной кислоты. Затем в результате конденсации полученного эфира с MeCN образуется нитрил β-арилкетокислоты. Последующая конденсация с замещенными гидразинами приводит к образованию 5-аминопроизводного арилпиразола, бромирование которого позволяет ввести второй арильный фрагмент с помощью реакции Сузуки.⁵³ Удаление аминогруппы осуществляется путем реакции с *n*-бутилнитритом при температуре 65°C (схема 5).

В более ранней работе в качестве исходных соединений для синтеза пиразольных производных КА-4 предложены замещенные халконы. На первой стадии происходило эпексидирование кратной связи, на второй – раскрытие эпексидного цикла действием гидразина в кислой среде.⁵⁴ Окисление халконов проводили обработкой H₂O₂ в присутствии K₂CO₃ в MeOH. Полученные эпексиды выделяли в виде чистых твердых веществ с выходами 15–95%. Функционализированные пиразолы получали реакцией эпексидов с гидратом гидразина в присутствии *para*-толуолсульфокислоты в ксилоле. В ходе реакции гидразин нуклеофильно атакует эпексид по механизму S_N1, затем происходит образование пиразольного цикла в результате внутримолекулярной атаки карбонильного атома углерода гидразином (схема 6).

Схема 6



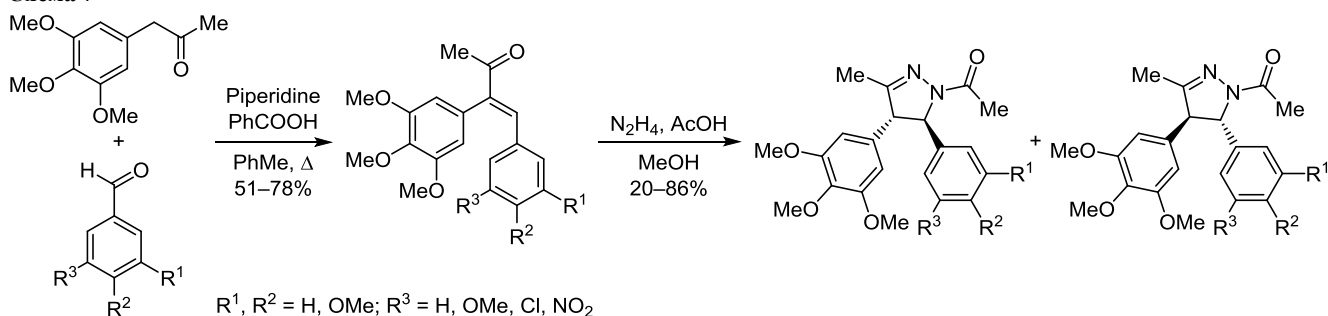
R = NO₂, NH₂, OMe

Стоит отметить, что в данном методе синтеза отсутствуют сложные процедуры выделения и хроматографической очистки, конечные продукты реакции при удалении растворителя выпадают в осадок в виде чистых индивидуальных веществ с высокой чистотой. Кроме того, метод применим для целого ряда замещенных халконов с заместителями различной природы, что в совокупности говорит о его высоком практическом потенциале.

Как отмечается в работе Ли и сотр.,⁵⁵ пиразольные аналоги КА-4 зачастую обнаруживают низкие показатели цитотоксичности в клетках L1210 (клеточная линия лимфоцитарного лейкоза мыши) в сравнении с аналогами КА-4, содержащими пиразолиновый линкер. Сравнительный анализ рентгеновских структур пиразольных и пиразолиновых аналогов КА-4 показал, что низкие параметры ингибирования пиразольных аналогов могут быть связаны с тем, что пиразольный фрагмент плоский, в отличие от пиразолинового, который может принимать "закрученную" геометрию, похожую на конформацию КА-4. Было установлено, что *транс*-4,5-диарил-*N*-ацетилпиразолины обладают высокой противоопухолевой активностью. Дальнейшая модификация заключалась в введении дополнительной метильной группы в положение 3 с целью повышения цитотоксичности.⁵⁶

Метилированные аналоги КА-4 с пиразолиновым линкером были синтезированы в две стадии. На первой

Схема 7

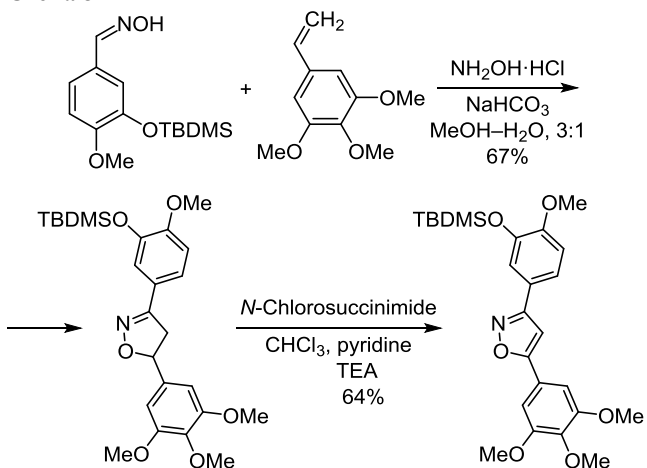


стадии альдольной конденсации бензальдегида с метил (3,4,5-триметоксибензил)кетонем в присутствии пиперидина и бензойной кислоты в кипящем PhMe были получены ацетильные аналоги КА-4. Целевые соединения были получены обработкой ацетилкомбретастинов гидразином в присутствии уксусной кислоты (схема 7).⁵⁶

Аналоги комбретастина А-4 на основе изоксазолов

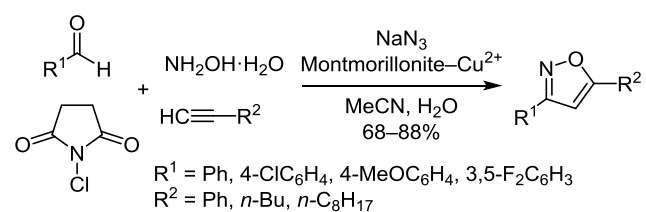
Основным способом получения изоксазольных аналогов КА-4 является реакция [3+2]-циклоприсоединения между бензальдоксимами и олефинами. Примером может служить синтез, представленный на схеме 8.¹⁹ Исходный оксим был получен из соответствующего бензальдегида по реакции нуклеофильного присоединения к карбонильной группе гидросиламина. Соответствующий олефин был получен из 3,4,5-триметоксифенилбензальдегида по реакции Виттига. На первой стадии происходит региоселективное [3+2]-циклоприсоединение арилоксима к олефину, в результате образуется изоксазолин. На последней стадии изоксазолиновый цикла окисляется в изоксазольный (схема 8).

Схема 8



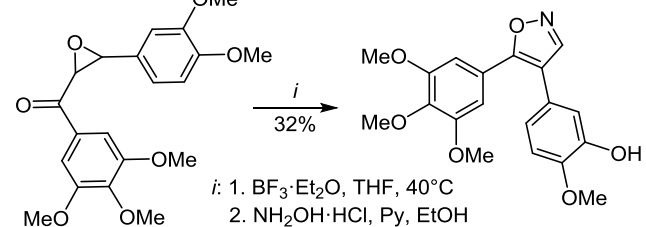
Также полезной альтернативой оказывается катализируемое металлами циклоприсоединение. Так предложен простой экономичный метод, который позволяет региоселективно и с высокими выходами получать 3,5-дизамещенные изоксазолы с использованием рециклизуемой каталитической системы монтмориллонит- Cu^{2+} в водной среде (схема 9).⁵⁷

Схема 9



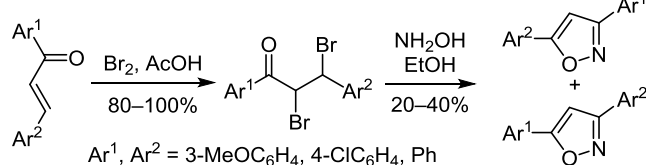
Окись халкона в качестве субстрата оказалась пригодна для создания не только пиразольных аналогов КА-4, но и для синтеза оксазолиновых аналогов. Сначала окись халкона подвергается пинакол-пинаколиновой перегруппировке, катализируемой $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, затем взаимодействие образующегося *in situ* β -кетоальдегида и гидрохлорида гидросиламина приводит к целевому продукту с выходом 32% (схема 10).⁵⁸

Схема 10



В одной из самых универсальных модификаций синтеза 3,5-диарилноизоксазолов применяют трехстадийный подход с использованием дибромхалконов (схема 11), один из атомов брома которых служит хорошей уходящей группой и обеспечивает гетероциклизацию, а второй – ароматизацию изоксазолина в изоксазол.⁵⁶ Недостатком данного подхода является отсутствие региоселективности в ряде случаев при синтезе соединений с разными арильными заместителями, а также невысокие (<40%) выходы изоксазолов. Тем не менее этот метод до сих пор широко используется в синтетической практике вследствие простоты процесса и доступности исходных соединений.

Схема 11

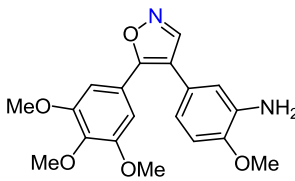
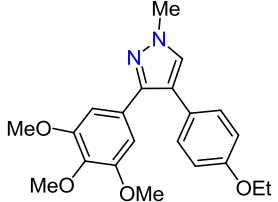
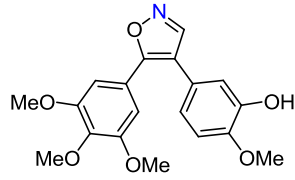
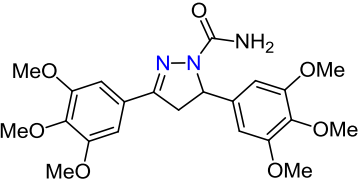
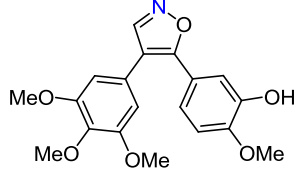
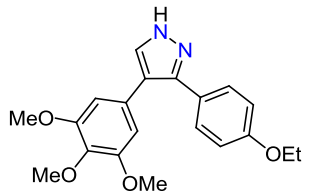
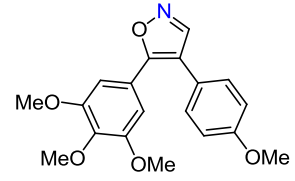
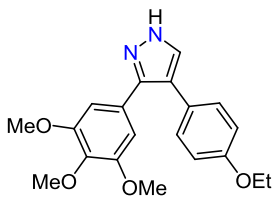
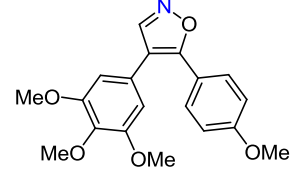
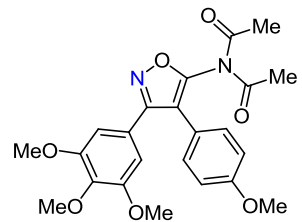
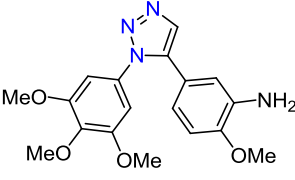


Ингибирование аналогами комбретастина А-4 тубулина, а также их цитотоксическая активность

Замена олефиновой связи на пятичленный гетероцикл позволяет сохранить правильную геометрическую ориентацию двух фенильных циклов для эффективного

взаимодействия с колхицинсвязывающим доменом на тубулине.³⁶ В качестве примеров ниже мы представляем многочисленные модификации наиболее эффективных аналогов КА-4, синтезированных за последние годы: с 2009-го по 2021-й (табл. 1, 2).

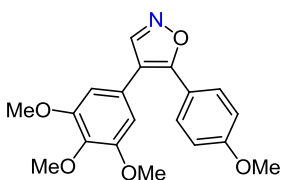
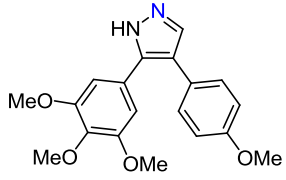
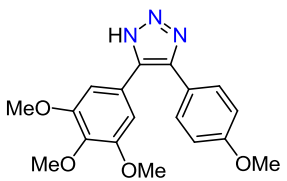
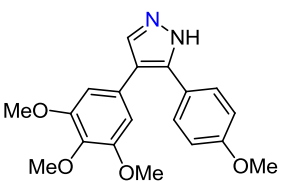
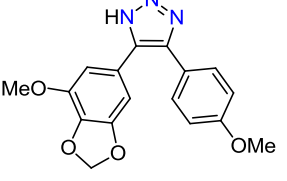
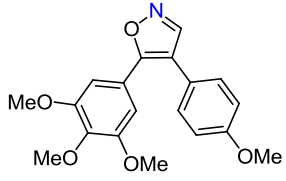
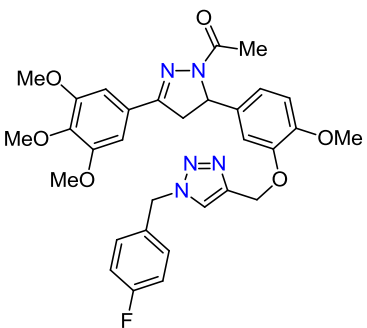
Таблица 1. Наиболее эффективные аналоги КА-4 на основе пиразола, изоксазола и 1,2,3-триазола согласно показателю IC₅₀* на разных клеточных линиях**

Соединение	Клеточная линия: IC ₅₀ , μМ	Соединение	Клеточная линия: IC ₅₀ , μМ
КА-4	K-562: 0.046 ECA-109: 4.50 A-549: 0.42 SMMC-7721: 3.22 PC-3: 5.40 ⁵⁹		HeLa: 0.000022 HepG2: 0.000065 OVCAR-3: 0.000135 ⁶²
	SKOV-3: 0.017 ± 0.003 MDA-MB-231: 0.031 ± 0.002 HeLa: 0.0328 ± 0.0029 A-549: 0.067 ± 0.0008 CT-26: 0.058 ± 0.0024 MCF-7: 0.0354 ± 0.0056 ⁵¹		HeLa: 0.0009 HepG2: 0.0014 OVCAR-3: 0.0005 ⁶²
	MCF-7: 8.08 HCT-116: 8.0860 ⁶⁰		HeLa: 0.0294 HepG2: 0.0339 OVCAR-3: 0.0148 ⁶²
	HeLa: 0.00007 HT-29: 0.00006 MCF-7: 0.00021 ± 0.00007 MDA-MB-231: 0.0007 ± 0.0001 HL-60: 0.00025 ± 0.00003 SEM: 0.00006 ⁶¹		HeLa: 0.00469 HepG2: 0.0044 OVCAR-3: 0.0103 ⁶²
	HeLa: 0.00005 HT-29: 0.0003 ± 0.0001 MCF-7: 0.0015 ± 0.0006 MDA-MB-231: 0.0045 ± 0.0009 HL-60: 0.0032 ± 0.0004 SEM: 0.0002 ± 0.00005 ⁶¹		HeLa: 0.299 HepG2: 0.396 OVCAR-3: 0.223 ⁶²
	K-562: 0.068 ECA-109: 0.39 A-549: 0.43 SMMC-7721: 1.36 PC-3: 0.36 ⁵⁹		MDA-MB-231: >0.01 SK-BR-3: 0.004 SKOV: 0.0049 OVCAR-3: 0.0047 WM-35: 0.0039 WM-239: 0.0051 K-562: 0.011 ⁴⁹

* Полумаксимальная ингибирующая концентрация.

** SKOV-3 – линия клеток рака яичников, MDA-MB-231 – линия клеток рака молочной железы, HeLa – линия клеток рака шейки матки, A-549 – линия клеток карциномы легких, CT-26 – линия мышечных клеток карциномы толстой кишки, MCF-7 – клеточная линия аденокарциномы молочной железы, HCT-116 – линия клеток карциномы толстой кишки, HT-29 – линия клеток аденокарциномы толстой кишки, HL-60 – линия клеток промиелоцитарного лейкоза, K-562 – линия клеток миелогенного лейкоза, ECA-109 – линия клеток карциномы пищевода, SMMC-7721 – линия клеток карциномы печени, PC-3 – клеточная линия аденокарциномы простаты, HepG2 – линия клеток карциномы печени, SK-BR-3 – линия клеток аденокарциномы молочной железы, SKOV – линия клеток аденокарциномы яичника, OVCAR-3 – линия клеток аденокарциномы яичника, WM-35 – клеточная линия меланомы, WM-239 – клеточная линия меланомы.

Таблица 2. Наиболее эффективные аналоги КА-4 на основе пиразола, изоксазола, 1,2,3-триазола согласно показателю GI₅₀* на разных клеточных линиях**

Соединение	Клеточная линия: GI ₅₀ , μМ	Соединение	Клеточная линия: GI ₅₀ , μМ
КА-4	К-562: 0.001-0.0025 HCT-116: 0.001-0.0032 HT-29: 0.1-1.6 PC-3: 0.001 MCF-7: 0.005 ⁶³		NCI-60: 0.055 ⁶³
	NCI-60: 0.033 ⁶³		NCI-60: 0.013 ⁶³
	NCI-60: 0.012 ⁶³		NCI-60: 0.034 ⁶³
	NCI-60: <0.01 ⁶³		A-549: 10 ± 0.22 HeLa: 9.9 ± 0.31 DU-145: 9.9 ± 0.15 HepG2: 6.7 ± 0.26 ⁶⁴

* Концентрация вещества, необходимая для ингибирования роста 50% клеток.

** NCI-60 – линии опухолевых клеток человека, используемые Национальным институтом онкологии (США), DU-145 – клеточная линия рака простаты.

Тем не менее сравнение активности соединений и/или общей взаимосвязи структура–активность для различных классов аналогов КА-4 – сложная задача, так как существуют многочисленные расхождения данных, связанные с их цитотоксичностью и ингибированием *in vitro* полимеризации очищенного тубулина, как сообщалось несколькими авторами.⁶³ Данные сложности могут быть связаны с:

- 1) недостаточной чистотой культуры клеток, используемой в экспериментах,⁶³
- 2) наличием примеси в синтезированных веществах,⁶⁵
- 3) неточным определением структуры молекулы,⁶⁵
- 4) недостаточной растворимостью исследуемых веществ,⁶³
- 5) расхождением методик используемых протоколов теми или иными исследователями.⁶⁶

Далее мы приведем наиболее эффективные способы модификации аналогов КА-4 для получения соединений-лидеров в ряду пиразолов, изоксазолов и 1,2,3-триазолов согласно различным исследованиям.

Данные об антипролиферативной активности серии гетероциклических аналогов КА-4 были получены при тестировании их активности в отношении опухолевых клеточных линий, а данные об антитубулиновой активности были получены в экспериментах *in vivo* на эмбрионах морского ежа.

Получение молекулы-лидера в ряду пиразольных аналогов КА-4

В структурах аналогов КА-4 варьированию подвергались степень замещенности и природа заместителей в фенильных циклах, а также характер их соединения с гетероциклом и заместители в самом гетероцикле. Оказалось, что принципиально необходимо наличие трехзамещенного цикла А. Соединения с различными заместителями в этом цикле проявляли сравнимый антимиотический эффект (рис. 2), поэтому важным параметром является степень замещенности цикла А: так, диарилпиразолы, содержащие 3'-гидрокси- и 4'-метоксигруппы в цикле В, связанном с атомом С-5 гетероцикла, и три- или тетразамещенный цикл А,

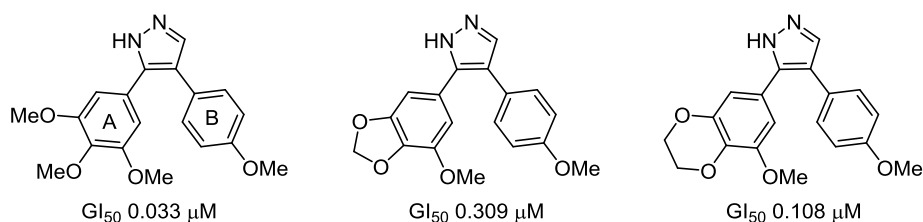


Рисунок 2. Тривалентные соединения по циклу А, проявляющие сравнимый друг с другом антимитотический эффект.⁶³

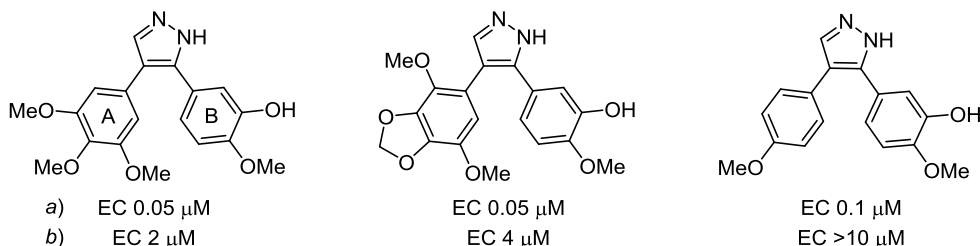


Рисунок 3. Соединения с три- или тетравалентным циклом А проявляют более сильный антитубулиновый эффект по сравнению с моновалентным по циклу А аналогом. Активность соединения на эмбрионе морского ежа выражена как эффективная пороговая концентрация (ЕС): а) изменение расщепления, б) вращение эмбриона.⁶³

проявляли более сильный антитубулиновый эффект по сравнению с моновалентным по циклу А аналогом (рис. 3).

Положение 3,4,5-триметоксифенильного цикла А на атомах С-3 или С-4 пиразола мало влияет на антипролиферативную активность.⁶¹ Данное явление не наблюдается для пар региоизомеров гетероциклических аналогов КА-4, например для таких, как оксазол,⁶² тиадиазол³³ и имидазол.⁶⁷

Было показано, что замена гидроксигруппы в положении 3' цикла В КА-4 на аминогруппу позволяла получить молекулы с более высокой антипролиферативной активностью, чем у исходного соеди-

нения.^{46,55,68} 3'-Амино-4'-метоксизамещенные по циклу В пиразольные аналоги КА-4 также обладали более высокой антипролиферативной активностью по сравнению с 3'-гидроксифенильными аналогами, но оказались менее активными, чем соответствующие 4'-монометоксизамещенные производные.⁶³ 3'-Нитро-4'-метоксизамещенные по циклу В производные были менее эффективны, чем их 3'-аминосодержащие аналоги. Кроме того, удаление гидроксигруппы из положения 3' цикла В позволило получить более активные соединения (рис. 4).⁶³ Тем не менее несколько другая картина проявилась при сравнении соединений по GI₅₀ на клеточной линии NCI-60 (рис. 5), что говорит о

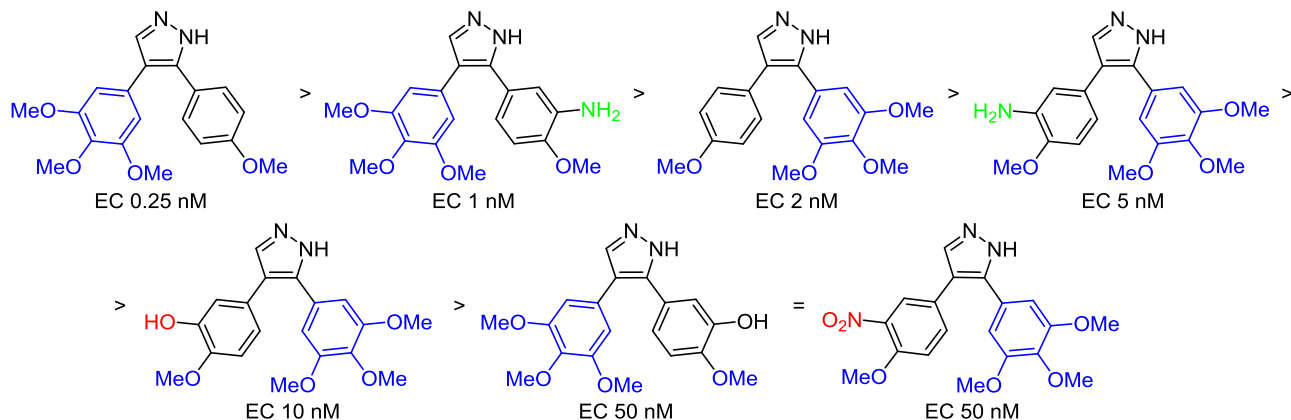


Рисунок 4. Изменение антитубулиновой активности соединений (ЕС) в ряду пиразольных аналогов КА-4.⁶³ Синим цветом отмечены группы, обязательные для проявления активности, зеленым – повышающие активность, красным – снижающие активность.

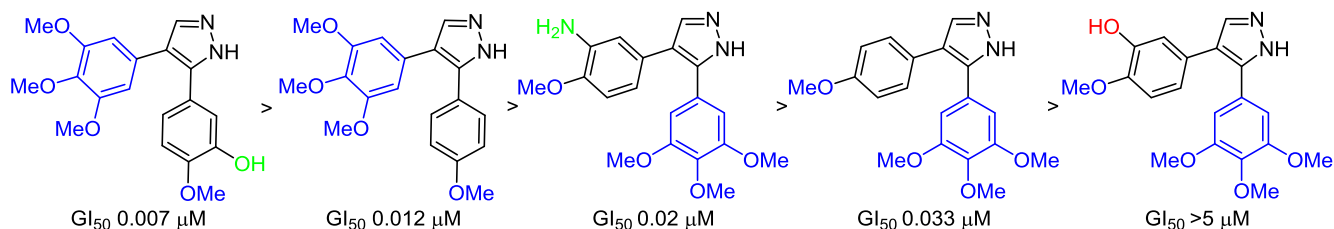


Рисунок 5. Изменение антимитотической активности соединений в ряду пиразольных аналогов КА-4 на клеточных линиях NCI-60.⁶³ Синим цветом отмечены группы, обязательные для проявления активности, зеленым – повышающие, красным – снижающие активность.

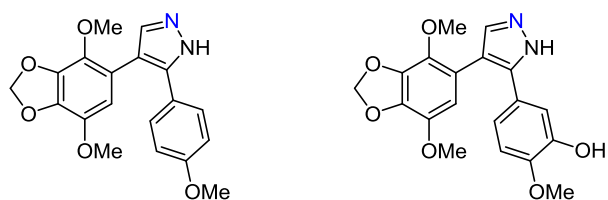


Рисунок 6. Влияние 3'-гидроксигруппы на антимитотическую активность пиразольных аналогов КА-4 с тетразамещенным циклом А (активность соединения слева на эмбрионе морского ежа согласно эффективной пороговой концентрации: изменение расщепления 0.1 μM , вращение эмбриона >5 μM ; соединения справа: изменение расщепления 0.05 μM , вращение эмбриона 4 μM).⁶³

необходимости дальнейшего исследования активности данных соединений на различных клеточных линиях.

В целом группа 3'-ОН в цикле В не оказывала критического влияния на антимитотическую активность пиразольных аналогов КА-4.³⁶ Однако для менее активных соединений, содержащих тетразамещенный цикл А (рис. 6), отсутствие этой гидроксигруппы приводило к заметному снижению активности.⁶³

Замена группы 4'-Ме в цикле В, находящейся в положении 4 по отношению к пиразолу, на более электроноакцепторный трифторметильный фрагмент приводила к снижению антипролиферативной активности в несколько раз.⁶¹ Удлинение цепочки углерода заместителя в этом же положении 4' цикла В (например, в случае этилового и *n*-пропилового заместителей) приводило к снижению антипролиферативной активности соединений,⁶¹ что говорит о возникновении стерических препятствий, мешающих связыванию с тубулином. Как правило, два или три заместителя в цикле В также приводили к снижению антипролиферативной активности, опять, вероятно, из-за стерических факторов.⁶¹

Замена группы 4'-Ме в цикле В обоих региоизомеров (триметоксифенильный цикл А в положении С-3 или С-4) на более сильный донор электронов – метоксигруппу – привела к усилению антипролиферативной активности, а замена группы 4'-Ме в цикла В обоих региоизомеров на более слабый донор – метилсульфанил – или сильный акцептор – трифторметоксигруппу – привела к резкому снижению активности.⁶¹

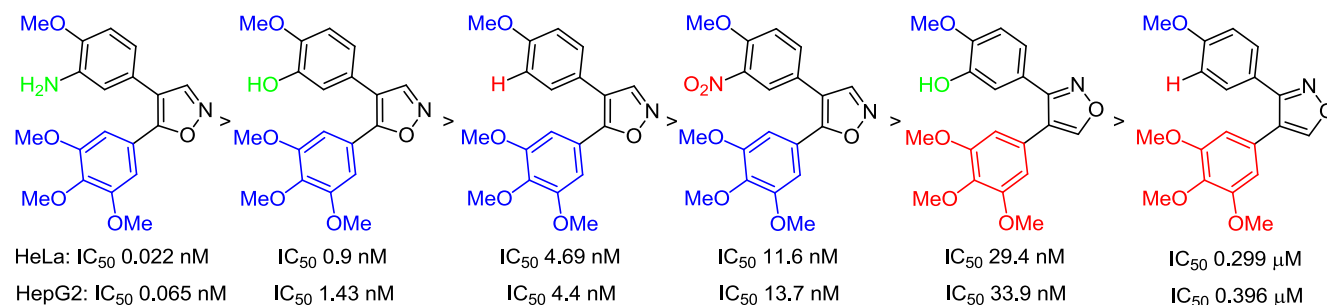


Рисунок 7. Изменение активности соединений в ряду изоксазольных аналогов КА-4 на клеточных линиях HeLa и HepG2.⁶² Синим цветом отмечены группы, обязательные для проявления активности, зеленым – повышающие активность, красным – снижающие активность.

Получение молекулы-лидера в ряду изоксазольных аналогов КА-4

В ряду диарилизоксазолов наиболее активные антимитотические соединения включают 3,4,5-тризамещенную фенильную группу (цикл А) в положении 5 изоксазольного цикла.^{62,63} 4,5-Диарилизоксазолы (то есть триметоксифенильный цикл в 5 положении и фенильная группа – в 4) оказались более активны, чем их 3,4-аналоги (триметоксифенильный цикл в положении 4, фенильный заместитель – в положении 3) (рис. 7). 3,4,5-Триметоксифенильная группа, расположенная рядом с атомом кислорода изоксазольного цикла (то есть в положении 5), имеет важное значение для высокой цитотоксичности (табл. 2).^{62,63}

Наличие 3'-гидрокси-4'-метоксизамещенного цикла В значительно повышало эффективность соединения по сравнению с наличием 3',4'-этилендиоксифенильного цикла В (согласно раннему расщеплению (ЕС) на модели эмбриона морского ежа) и 4'-метоксифенильного цикла (на клеточных линиях HeLa, HepG2, OVCAR-3, табл. 1).⁶² Эти данные согласуются с рядом других работ.^{68,69,70} Введение группы NH₂ в положение 3' цикла В 4,5-дизамещенного изоксазола значительно увеличивало эффективность соединения (на целых три порядка) по сравнению с введением группы ОН или отсутствием заместителя в этом же положении⁶² (табл. 1 и рис. 7). Это было подтверждено также результатами некоторых других исследований.^{22,71–73}

Введение аминогруппы в положение 3 гетероцикла 4,5-диарилизоксазолов приводило к снижению антимитотической активности, тогда как введение аминогруппы в положение 5 гетероцикла 3,4-диарилизоксазолов улучшало антимитотический эффект (рис. 8).⁶³

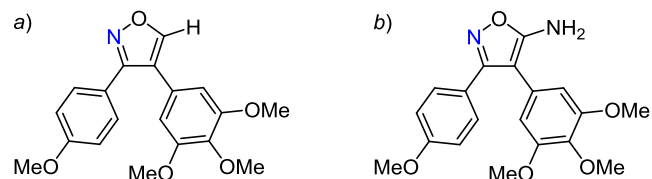


Рисунок 8. 3,4-Диарилизоксазол с а) водородом в положении 5 (активность соединения на эмбрионе морского ежа: изменение расщепления ЕС 0.01 μM , вращение эмбриона ЕС 1 μM) и б) с аминогруппой в положении 5 (активность соединения на эмбрионе морского ежа: изменение расщепления ЕС 0.002 μM , вращение эмбриона ЕС 0.1 μM).⁶³

Получение молекулы-лидера в ряду 1,2,3-триазольных аналогов КА-4

В ряду производных диарил-1,2,3-триазола наиболее активные молекулы содержали 3,4,5-триметоксифенил или 3-метокси-4,5-метилendioксифенил в качестве цикла А и 4'-метоксифенильную группу в качестве цикла В (согласно GI₅₀ на линии клеток NCI-60). Соединения с тетраметоксизамещенным циклом А проявляли слабый антипролиферативный эффект. Введение группы NH₂ в положение 4 триазольного цикла заметно снижало активность соединений (согласно раннему расщеплению (EC) на модели эмбриона морского ежа). 4,5-Диарил-1,2,3-триазолы оказались значительно более активными (триметоксифенильный цикл А в положении 5: взаимодействие С–С), чем 1,5-диарил-1,2,3-триазолы (триметоксифенильный цикл А в положении 1: взаимодействие N–С) (рис. 9).⁶³

В работе Одло и др. наиболее активными соединениями были 1,5-диарилтриазолы с триметоксифенильным циклом в положении 1.⁴⁹ Внедрение группы NH₂ в *мета*-положение цикла В заметно

увеличивало активность соединения, в то время как внедрение группы OH – снижало. 1,5-Региоизомеры с циклом А в положении 5 были значительно менее активными, так же как и 1,4-региоизомеры с циклом А в положении 1 (рис. 10).⁴⁹

В случае пиразолин-триазоловых конъюгатов соединения с группой NO₂ в *para*-положении оказались более активными, чем их аналоги с группой NO₂ в *meta*-положении, в то же время амино-заместитель в *meta*-положении более предпочтителен, чем в *para*-положении. Кроме того, электроноакцепторный заместитель, такой как трифторметилгруппа в *para*-положении, повышал активность соединений. Включение электронодонорных заместителей, таких как метокси-группа, в *para*-положение приводило к потере активности на клеточных линиях A549, HeLa и HepG2, но не в отношении клеточной линии DU-145.⁶⁴ Тем не менее пиразолин-триазоловые конъюгаты проявляли активность на несколько порядков меньше, чем КА-4 и его триазольные, изоксазольные и пиразольные аналоги (табл. 2). Поэтому, возможно, стоит прекратить поиск эффективных противоопухолевых соединений среди

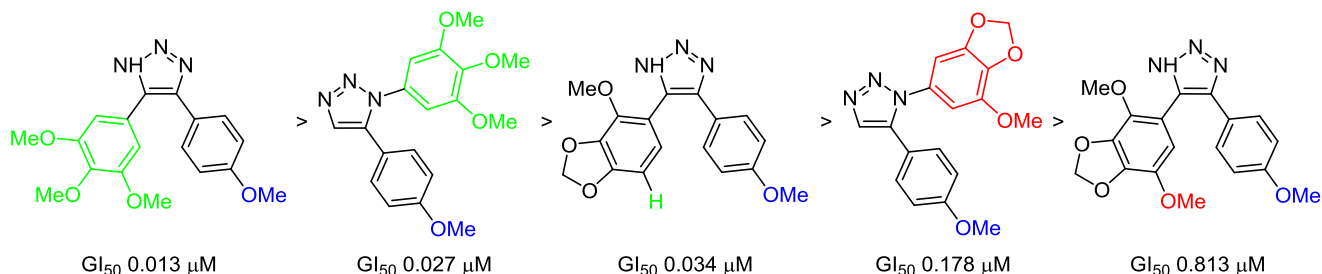


Рисунок 9. Изменение антипролиферативной активности соединений в ряду триазоловых аналогов КА-4 по воздействию на клеточную линию NCI-60.⁶³ Синим цветом отмечены группы, обязательные для проявления активности, зеленым – повышающие активность, красным – снижающие активность.

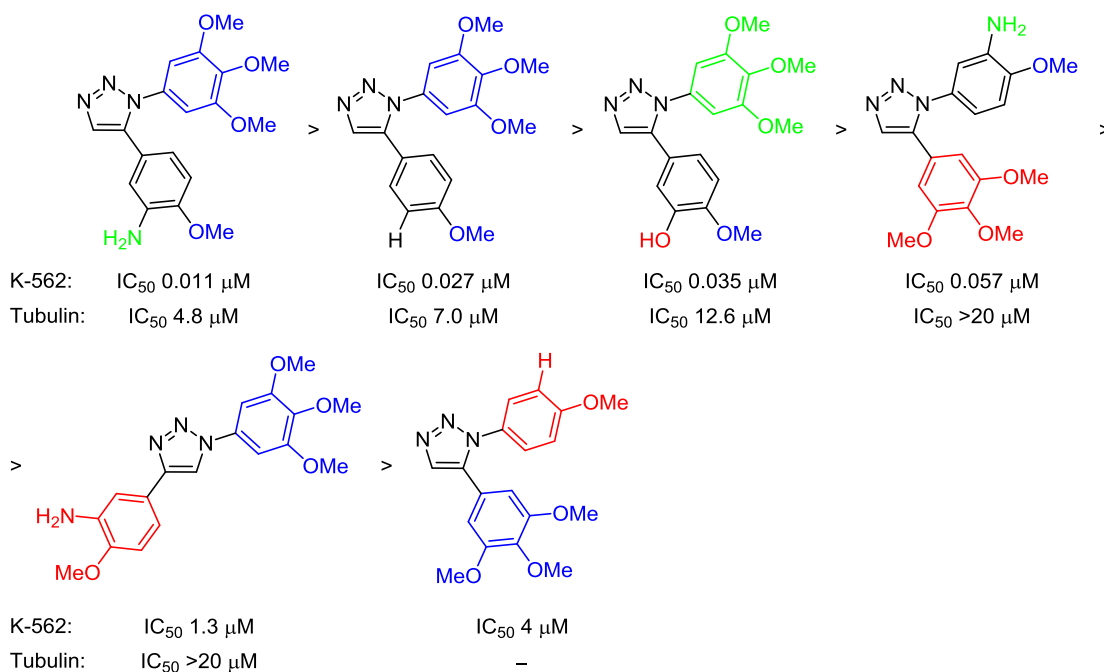


Рисунок 10. Изменение активности соединений в ряду триазоловых аналогов КА-4 по воздействию на клеточную линию K-562 и по ингибированию полимеризации тубулина.⁴⁹ Синим цветом отмечены группы, обязательные для проявления активности, зеленым – повышающие активность, красным – снижающие активность.

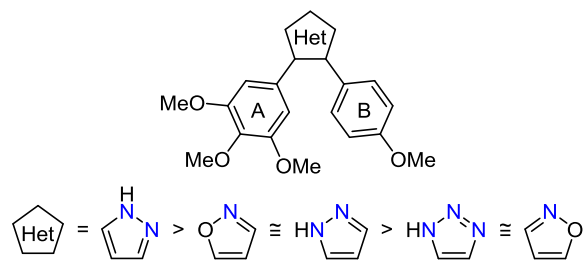


Рисунок 11. Сравнительный ряд активности диарилзамещенных пиразолов, изоксазолов и 1,2,3-триазолов с 3,4,5-триметоксифенилом в качестве цикла А и 4-метоксифенилом в качестве цикла В.⁶³

пиразолин-триазоловых молекул, либо изменить тактику модификации молекул, используя другие заместители.

Сравнивая различные варианты присоединения фенильных циклов к пиразолу (в качестве цикла А оптимальным вариантом был 3,4,5-триметоксифенил, а в качестве цикла В – 4-метоксифенил), 1,2,3-триазолу и изоксазолу, Семенова и соотр.⁶³ сделали вывод, что самыми активными соединениями являются аналоги КА-4 с 4,5-диарилпиразолом в качестве линкера, затем в порядке уменьшения активности с 4,5-диарил-изоксазолом и 4,5-диарилпиразолом, с 4,5-диарил-1,2,3-триазолом и 4,5-диарил-изоксазолом (рис. 11).⁶³ Однако следует учитывать, что данные были получены на одной животной модели и на ограниченном числе клеточных линий опухолей, в связи с этим требуется проведение дальнейших исследований активности и безопасности веществ с воспроизводимыми результатами.

Получение и исследование свойств аналогов КА-4 является одним из перспективных и активно изучаемых направлений медицинской химии. Ряд гетероциклических аналогов КА-4 являются более стабильными, чем природные комбретастины, а их активность равна или превосходит исходную активность природных стильбеноидов, что говорит о высоком потенциале дальнейшего исследования данного класса соединений в рамках разработки новых лекарственных противоопухолевых препаратов.

В данном обзоре представлены наиболее перспективные пути синтеза аналогов КА-4 на основе пиразольного, изоксазольного и 1,2,3-триазольного циклов, а также соединения-лидеры по цитотоксической и цитостатической активности. Ключевыми элементами строения наиболее активных аналогов КА-4 является наличие трех заместителей в цикле А и метоксигруппы в положении 4 цикла В. Введение аминогруппы в триазольный фрагмент и, в меньшей степени, в изоксазольный цикл 4,5-диарил-изоксазолов неизбежно снижает общий антимитотический эффект образующихся соединений. Следует учитывать, что незначительные изменения в химической структуре гетероцикла и его относительной ориентации по отношению к двум фенильным циклам могут сильно влиять на свойства связывания тубулина.

Для того чтобы существенно упростить поиск молекул-лидеров актуально активное внедрение инновационных методов – молекулярного докинга, фармакофорного моделирования, а также автоматизированного проектирования и тестирования лекарственных средств с помощью искусственного интеллекта. В перспективе автоматизированное проектирование позволит снизить стоимость исследований и улучшить понимание физико-химических взаимодействий, а фармакофорное моделирование и молекулярный докинг, активно применяемые на данный момент, – усилить противоопухолевый потенциал соединений.

Список литературы

- Pettit, G. R.; Cragg, G. M.; Herald, D. L.; Schmidt, J. M.; Lohavanijaya, P. *Can. J. Chem.* **1982**, *60*, 1374.
- Song, M.-Y.; He, Q.-R.; Wang, Y.-L.; Wang, H.-R.; Jiang, T.-C.; Tang, J.-J.; Gao, J.-M. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 1817.
- Sherbet, G. V. *J. Cell. Biochem.* **2020**, *121*, 2127.
- Ibrahim, T. S.; Hawwas, M. M.; Malebari, A. M.; Taher, E. S.; Omar, A. M.; O'Boyle, N. M.; McLoughlin, E.; Abdel-Samii, Z. K.; Elshaiar, Y. A. M. *Pharmaceuticals* **2020**, *13*, 393.
- Gaspari, R.; Prota, A. E.; Bargsten, K.; Cavalli, A.; Steinmetz, M. O. *Chem* **2017**, *2*, 102.
- Karatoprak, G. Ş.; Küpeli Akkol, E.; Genç, Y.; Bardakcı, H.; Yücel, Ç.; Sobarzo-Sánchez, E. *Molecules* **2020**, *25*, 2560.
- Chaudhary, V.; Venghateri, J. B.; Dhaked, H. P. S.; Bhoyar, A. S.; Guchhait, S. K.; Panda, D. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 3439.
- Bhattacharyya, B.; Panda, D.; Gupta, S.; Banerjee, M. *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 155.
- Cirla, A.; Mann, J. *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 558.
- Wen, Z.; Li, X.; Zuo, D. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 23986.
- Tarade, D.; Ma, D.; Pignatelli, C.; Mansour, F.; Simard, D.; van den Berg, S.; Gauld, J.; McNulty, J.; Pandey, S. *PLoS One* **2017**, *12*, e0171806.
- Nam, N.-H. *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*, 1697.
- Alushin, G. M.; Lander, G. C.; Kellogg, E. H.; Zhang, R.; Baker, D.; Nogales, E. *Cell* **2014**, *157*, 1117.
- Nainwal, L. M.; Alam, M. M.; Shaquiquzzaman, M.; Marella, A.; Kamal, A. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2019**, *29*, 703.
- Nakamura, M.; Kajita, D.; Matsumoto, Y.; Hashimoto, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 7381.
- Pang, Y.; Yan, J.; An, B.; Huang, L.; Li, X. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 3059.
- Chen, H.; Li, Y.; Sheng, C.; Lv, Z.; Dong, G.; Wang, T.; Liu, J.; Zhang, M.; Li, L.; Geng, D.; Niu, C.; Li, K. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 685.
- Ty, N.; Pontikis, R.; Chabot, G. G.; Devillers, E.; Quentin, L.; Bourg, S.; Florent, J.-C. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 1357.
- Simoni, D.; Grisolia, G.; Giannini, G.; Roberti, M.; Rondanin, R.; Piccagli, L.; Baruchello, R.; Rossi, M.; Romagnoli, R.; Invidiata, F. P.; Grimaudo, S.; Jung, M. K.; Hamel, E.; Gebbia, N.; Crosta, L.; Abbadessa, V.; Di Cristina, A.; Dusonchet, L.; Meli, M.; Tolomeo, M. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 723.
- Zhou, P.; Liu, Y.; Zhou, L.; Zhu, K.; Feng, K.; Zhang, H.; Liang, Y.; Jiang, H.; Luo, C.; Liu, M.; Wang, Y. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 10329.
- Theeramunkong, S.; Caldarelli, A.; Massarotti, A.; Aprile, S.; Caprioglio, D.; Zaninetti, A.; Teruggi, A.; Pirali, T.; Grosa, G.; Tron, G. C.; Genazzani, A. A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4977.
- Tron, G. C.; Pagliai, F.; Del Grosso, E.; Genazzani, A. A.; Sorba, G. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3260.

23. Assadieskandar, A.; Amini, M.; Ostad, S. N.; Riazi, G. H.; Cheraghi-Shavi, T.; Shafiei, B.; Shafiee, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 2703.
24. Wang, Z.; Yang, Q.; Bai, Z. *Med. Chem. Comm.* **2015**, 6, 971.
25. Qiao, F.; Zuo, D.; Shen, X.; Qi, H.; Zhanf, W.; Wu, Y. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2012**, 70, 259.
26. Li, Y.-H.; Zhang, B.; Yang, H.-K.; Li, Q.; Diao, P.-C.; You, W.-W.; Zhao, P.-L. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 125, 1098.
27. Subba Rao, A. V.; Swapna, K.; Shaik, S. P.; Nayak, V. L.; Reddy, T. S.; Sunkari, S.; Shaik, T. B.; Bagul, C.; Kamal, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, 25, 977.
28. Salehi, M.; Amini, M.; Ostad, S. N.; Riazi, G. H.; Assadieskandar, A.; Shafiei, B.; Shafiee, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 7648.
29. Wang, F.; Yang, Z.; Liu, Y.; Ma, L.; Wu, Y.; He, L.; Shao, M.; Yu, K.; Wu, W.; Pu, Y.; Nie, C.; Chen, L. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, 23, 3337.
30. Xu, Q.; Wang, Y.; Xu, J.; Sun, M.; Tian, H.; Zuo, D.; Guan, Q.; Bao, K.; Wu, Y.; Zhang, W. *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, 7, 1202.
31. Wang, L.; Woods, K. W.; Li, Q.; Barr, K. J.; McCroskey, R. W.; Hannick, S. M.; Gherke, L.; Credo, R. B.; Hui, Y.-H.; Marsh, K.; Warner, R.; Lee, J. Y.; Zielinski-Mozng, N.; Frost, D.; Rosenberg, S. H.; Sham, H. L. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 1697.
32. Schobert, R.; Biersack, B.; Dietrich, A.; Effenberger, K.; Knauer, S.; Mueller, T. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 6595.
33. Wu, M.; Sun, Q.; Yang, C.; Chen, D.; Ding, J.; Chen, Y.; Lin, L.; Xie, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 869.
34. Shirai, R.; Takayama, H.; Nishikawa, A.; Koiso, Y.; Hashimoto, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 1997.
35. Chaudhary, A.; Pandeya, S. N.; Kumar, P.; Sharma, P. P.; Gupta, S.; Soni, N.; Verma, K. K.; Bhardwaj, G. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2007**, 7, 1186.
36. Mikstacka, R.; Stefański, T.; Rózański, J. *Cell. Mol. Biol. Lett.* **2013**, 18, 368.
37. Jaroch, K.; Karolak, M.; Górski, P.; Jaroch, A.; Krajewski, A.; Ilnicka, A.; Sloderbach, A.; Stefański, T.; Sobiak, S. *Pharmacol. Rep.* **2016**, 68, 1275.
38. Hamze, A.; Alami, M.; Provot, O. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, 190, 112110.
39. Piekus-Slomka, N.; Mikstacka, R.; Ronowicz, J.; Sobiak, S. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20, 1300.
40. Seddigi, Z. S.; Malik, M. S.; Saraswati, A. P.; Ahmed, S. A.; Bablghith, A. O.; Lamfon, H. A.; Kamal, A. *Med. Chem. Comm.* **2017**, 8, 1592.
41. Bukhari, S. N. A.; Kumar, G. B.; Revankar, H. M.; Qin, H.-L. *Bioorg. Chem.* **2017**, 72, 130.
42. Grisham, R.; Ky, B.; Tewari, K. S.; Chaplin, D. J.; Walker, J. *Gynecol. Oncol. Res. Pract.* **2018**, 5, 1.
43. Cao, Y.-N.; Zheng, L.-L.; Wang, D.; Liang, X.-X.; Gao, F.; Zhou, X.-L. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 143, 806.
44. Tarade, D.; Pandey, S.; McNulty, J. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2017**, 17, 1507.
45. Chalyk, B. A.; Hrebeniuk, K. V.; Fil, Y. V.; Gavrilenko, K. S.; Rozhenko, A. B.; Vashchenko, B. V.; Borysov, O. V.; Bitseva, A. V.; Lebed, P. S.; Bakanovych, I.; Moroz, Y. S.; Grygorenko, O. O. *J. Org. Chem.* **2019**, 84, 15877.
46. Bozorov, K.; Zhao, J.; Aisa, H. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, 27, 3511.
47. Li, X.; Yu, Y.; Tu, Z. *Molecules* **2021**, 26, 1202.
48. Ngo, Q. A.; Thi, T. H. N.; Pham, M. Q.; Delfino, D.; Do, T. T. *Mol. Diversity.* **2020**, 25, 2307.
49. Odlo, K.; Fournier-Dit-Chabert, J.; Ducki, S.; Gani, O. A. B. S. M.; Sylte, I.; Hansen, T. V. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 6874.
50. Madadi, N. R.; Penthala, N. R.; Howk, K.; Ketkar, A.; Eoff, R. L.; Borrelli, M. J.; Crooks, P. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 103, 123.
51. Hura, N.; Naaz, A.; Prassanawar, S. S.; Guchhait, S. K.; Panda, D. *ACS Omega* **2018**, 3, 1955.
52. Lai, Q.; Wang, Y.; Wang, R.; Lai, W.; Tang, L.; Tao, Y.; Liu, Y.; Zhang, R.; Huang, L.; Xiang, H.; Zeng, S.; Gou, L.; Chen, H.; Yao, Y.; Yang, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 156, 162.
53. Panov, A. A.; Simonov, A. Yu.; Lavrenov, S. N.; Lakatosh, S. A.; Trenin, A. S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2018**, 54, 103. [Химия гетероцикл. соединений **2018**, 54, 103.]
54. LeBlanc, R.; Dickson, J.; Brown, T.; Stewart, M.; Pati, H. N.; VanDerveer, D.; Arman, H.; Harris, J.; Pennington, W.; Holt, H. L., Jr.; Lee, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 6025.
55. Lee, M.; Brockway, O.; Dandavati, A.; Tzou, S.; Sjöholm, R.; Satam, V.; Westbrook, C.; Mooberry, S. L.; Zeller, M.; Babu, B.; Lee, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 3099.
56. Stephens, C. E.; Arafat, R. K. *J. Chem. Educ.* **2006**, 83, 1336.
57. Bharate, S. B.; Padala, A. K.; Dar, B. A.; Yadav, R. R.; Singh, B.; Vishwakarma, R. A. *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 3558.
58. Kaffy, J.; Pontikis, R.; Carrez, D.; Croisy, A.; Monneret, C.; Florent, J. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 4067.
59. Liu, T.; Dong, X.; Xue, N.; Wu, R.; He, Q.; Yang, B.; Hu, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17, 6279.
60. Elmeligie, S.; Khalil, N. A.; Ahmed, E. M.; Emam, S. H.; Zaitone, S. A.-B. *Biol. Pharm. Bull.* **2016**, 39, 1611.
61. Romagnoli, R.; Oliva, P.; Salvador, M. K.; Camacho, M. E.; Padroni, C.; Brancale, A.; Ferla, S.; Hamel, E.; Ronca, R.; Grillo, E.; Bortolozzi, R.; Rruqa, F.; Mariotto, E.; Viola, G. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 181, 111577.
62. Sun, C.-M.; Lin, L.-G.; Yu, H.-J.; Cheng, C.-Y.; Tsai, Y.-C.; Chu, C.-W.; Din, Y.-H.; Chau, Y.-P.; Don, M.-J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 1078.
63. Semenova, M. N.; Demchuk, D. V.; Tsyganov, D. V.; Chernysheva, N. B.; Samet, A. V.; Silyanova, E. A.; Kislyi, V. P.; Maksimenko, A. S.; Varakutin, A. E.; Konyushkin, L. D.; Raihstat, M. M.; Kiselyov, A. S.; Semenov, V. V. *ACS Comb. Sci.* **2018**, 20, 700.
64. Hussaini, S. M. A.; Yedla, P.; Babu, K. S.; Shaik, T. B.; Chitlaj, G. K.; Kamal, A. *Chem. Biol. Drug Des.* **2016**, 88, 97.
65. Chernysheva, N. B.; Maksimenko, A. S.; Andreyanov, F. A.; Kislyi, V. P.; Strelenko, Y. A.; Khrustalev, V. N.; Semenova, M. N.; Semenov, V. V. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 146, 511.
66. Pettit, G. R.; Anderson, C. R.; Herald, D. L.; Jung, M. K.; Lee, D. J.; Hamel, E.; Pettit, R. K. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 525.
67. Bellina, F.; Cauteruccio, S.; Monti, S.; Rossi, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 5757.
68. Ohsumi, K.; Hatanaka, T.; Fujita, K.; Nakagawa, R.; Fukuda, Y.; Nihei, Y.; Suga, Y.; Morinaga, Y.; Akiyama, Y.; Tsuji, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 3153.
69. Nam, N.-H.; Kim, Y.; You, Y.-J.; Hong, D.-H.; Kim, H.-M.; Ahn, B.-Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 1955.
70. Shirai, R.; Takayama, H.; Nishikawa, A.; Koiso, Y.; Hashimoto, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 1997.
71. Kim, Y.; Nam, N.-H.; You, Y.-J.; Ahn, B.-Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 719.
72. Nam, N.-H.; Kim, Y.; You, Y.-J.; Hong, D.-H.; Kim, H.-M.; Ahn, B.-Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 3073.
73. Pinney, K. G.; Mejia, M. P.; Villalobos, V. M.; Rosenquist, B. E.; Pettit, G. R.; Verdier-Pinard, P.; Hamel, E. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, 2417.