

На правах рукописи



КУЗЬМИНОВ ИЛЬЯ КОНСТАНТИНОВИЧ

**СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ
АКТИВНОСТЬ 2-, 3-ИНДОЛИЛАЦЕТАМИДОВ И ИХ
АНАЛОГОВ**

1.4.3. Органическая химия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Ставрополь – 2025

Работа выполнена в ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»
на кафедре органической химии

**Научный
руководитель:** доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель
науки Российской Федерации
Аксенов Александр Викторович

**Официальные
оппоненты:** Доктор химических наук, доцент
Трушков Игорь Викторович
(Федеральное государственное бюджетное учреждение
науки Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Российской академии наук, заведующий лабораторией
направленной функционализации органических молекуляр-
ных систем № 33)

Доктор химических наук, профессор
Гулевская Анна Васильевна
(Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Южный федеральный
университет», заведующий кафедрой органической химии)

**Ведущая
организация:** Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Российский университет
дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

Защита состоится «24» декабря 2025 года в 14:00 на заседании диссертацион-
ного совета 24.2.398.05 при ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный универси-
тет» по адресу: 355017, г. Ставрополь, ул. Пушкина 1, корп. 20, ауд. 312.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте СКФУ
по адресу: 355017, г. Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1:
https://ncfu.ru/upload/medialibrary/8d1/15w233qi5ma8n8s1liui7456011v5pym/Dissertatsiya_Kuzminov-I.K..pdf

С авторефератом можно ознакомиться на сайте СКФУ:
<https://ncfu.ru/nauka/dissertatsionnye-sovety/obyavleniya-o-zashchite-dissertatsiy/32898/>

Автореферат разослан « » ноября 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.2.398.05,
кандидат химических наук



Е. В. Александрова

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. Онкологические заболевания являются основной причиной естественной смертности в развитых странах и одной из основных причин в развивающихся странах. Так, в России смертность от онкологических заболеваний составляет порядка 15% всех случаев, уступая только сердечно-сосудистым заболеваниям. Поздняя диагностика, наряду с высокой агрессивностью злокачественных образований, приводит к тому, что лишь 52% пациентов переходят за пятилетний рубеж. Эта тенденция обусловлена, в первую очередь, высокой изменчивостью опухолей. Благодаря этому они способны ослаблять иммунный ответ и вырабатывать широкую устойчивость к большинству традиционных препаратов, которые зачастую имеют схожие механизмы действия. Для преодоления множественной лекарственной устойчивости необходим поиск новых фармакофорных фрагментов, активных в отношении ранее неизвестных клеточных культур. Лечение онкологических заболеваний по своей природе индивидуально и персонализировано. Подобные проблемы возникают с резистентными к антибиотикам бактериями, штаммы которых продолжают размножаться ежегодно. Решение этих сложных проблем требует разработки новых, высокоэффективных синтетических методов, которые имеют решающее значение для сборки оригинальных молекулярных структур с точными профилями биологической активности.

Ранее в нашей лаборатории был получен ряд 2-арил-2-(3-индолил)-ацетогидроксамовых кислот, проявляющих активность против широкого спектра лекарственно устойчивых культур раковых клеток. Особый интерес вызывает их способность к обратной дифференциации глиобластомы. Главным недостатком гидроксамовых кислот является их плохая фармакокинетика. Период полувыведения лучшего с точки зрения фармакокинетики вещества составлял всего 1,5 часа. Это заставило нас синтезировать ряд аналогов гидроксамовых кислот (рисунок 1).

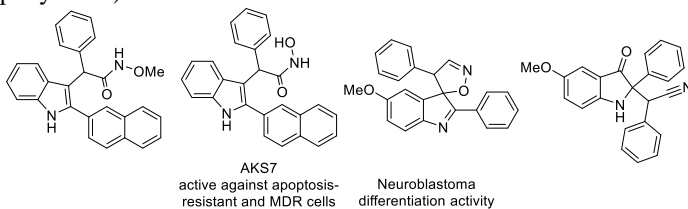


Рисунок 1 - Биологически активные молекулы, синтезированные ранее на нашей кафедре

С другой стороны, анализ публикаций показал перспективность изучения 2- и 3-индолилацетамидов, фрагменты которых широко представлены в различных биологически активных молекулах (рисунок 1). Эти соединения представляют собой аналоги гидроксамовых кислот, в которых отсутствует уязвимая к метаболизму гидроксильная группа.

Поэтому **целью этой работы** была разработка новых методов синтеза 2- и 3-индолилацетамидов и их производных, а также исследование противораковой активности полученных соединений.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие основные задачи:

1. Разработка метода синтеза 3-индолилацетамидов;
2. Разработка метода синтеза 2-((фенил)(2-(арил)-1*H*-индол-3-ил)-метил)-4,5-дигидрооксазолов;
3. Разработка метода синтеза 2-индолилацетамидов;
4. Исследование биологической активности полученных соединений;

Научная новизна и практическая значимость. Предложен эффективный атом-экономичный подход к синтезу 2-замещенных-2-(2-арил-1*H*-индол-3-ил)ацетамидов из 2-(3-оксоиндолин-2-ил)-ацетонитрилов, основанный на необычной перегруппировке в ходе их восстановления NaBH_4 в этаноле. Показано, что в этой реакции могут быть использованы синтетические предшественники 2-(3-оксоиндолин-2-ил)-ацетонитрилов-4'*H*-спиро[индол-3,5'-изоксазолы]. Показано, что в этом случае реакция включает 2 последовательных 1,2-сдвига. Разработан синтетический подход к 2-(замещенным-(2-(арил)-1*H*-индол-3-ил)метил)-4,5-дигидрооксазолам – циклическим аналогам 2-замещенных-2-(2-арил-1*H*-индол-3-ил)ацетамидов, что позволило впервые оценить их противораковую активность. Изучена реакция восстановления 2-(3-оксоиндолин-2-илиден)-2-арилацетонитрилов боргидридом натрия. Это позволило разработать метод синтеза 2-индолилацетамидов.

Исследована противораковая активность полученных соединений. Показано, что значительная их часть проявляет высокую противоопухолевую активность по отношению к различным культурам раковых клеток. Особый интерес представляют 2-замещенные-2-(2-арил-1*H*-индол-3-ил)ацетамиды, которые обладают субмикромольной активностью по отношению к нескольким линиям раковых клеток и высокой селективностью в отношении здоровых.

Методология и методы. Для проведения исследований были использованы классические методы и приемы органического синтеза. Все условия представленных превращений были тщательно оптимизированы. Для разделения реакционных смесей и очистки синтезированных соединений использовались методы колоночной хроматографии и перекристаллизации. Структуру и чистоту полученных соединений устанавливали с помощью комплекса физико-химических методов: ИК, ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и рентгеноструктурного анализа.

На защиту выносятся:

1. Неизвестная ранее восстановительная перегруппировка 2-замещенных-2-[2-(арил-2-ил)-3-оксоиндолин-2-ил]-ацетонитрилов в 2-замещенные-2-(2-арил-1*H*-индол-3-ил)ацетамиды;

2. Неизвестная ранее восстановительная перегруппировка 4'-фенил-2-(арил-2-ил)-4'*H*-спиро[индол-3,5'-изоксазолов] в 2-фенил-2-(2-арил-1*H*-индол-3-ил)ацетамиды;
3. Метод синтеза 2-(замещенных-(2-(арил)-1*H*-индол-3-ил)метил)-4,5-дигидрооксазолов;
4. Новая внутримолекулярная восстановительная перегруппировка (*E*)-2-(арил)-2-(3-оксоиндолин-2-илиден)ацетонитрилов в 2-(1*H*-Индол-2-ил)-2-(арил)ацетамиды.

Достоверность полученных результатов. Все синтезированные гетероциклы, а также промежуточные вещества были охарактеризованы с помощью ^1H , ^{13}C ЯМР- и ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и рентгеноструктурного анализа.

Личный вклад автора. Все полученные в рамках этой диссертации результаты являются оригинальными и не имеют прямых аналогов в ранее опубликованных работах – как наших собственных, так и других научных групп. Автор участвовал в определении целей, задач и направления научного исследований. Определял и разрабатывал методы их решения, участвовал в реализации экспериментов, проводил интерпретацию и описание полученных результатов, формулировал выводы.

Апробация работы. Материалы работы докладывались на научных конференциях: VI North Caucasus Organic Chemistry Symposium 2022 (NCOCS 2022) (Ставрополь, 2022), VII North Caucasus Organic Chemistry Symposium 2024 (NCOCS 2024) (Ставрополь, 2024), Всероссийском конгрессе по химии гетероциклических соединений «KOST-2025» (Владикавказ, 2025), международной конференции «New Emerging Trends in Chemistry» (NewTrendsChem-2025).

Публикации¹. Основное содержание работы нашло отражение в 3 статьях в журналах, рекомендованных ВАК РФ для опубликования основных результатов кандидатских и докторских диссертаций, 4 статьях и тезисах докладов международных и всероссийских конференций.

Поддержка. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-73-20051).

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы. Работа изложена на 171 странице, иллюстрирована 61 схемой, 7 таблицами и 24 рисунками.

В первой главе (литературный обзор) рассмотрены литературные данные по синтезу 2- и 3-индолилацетамидов и их аналогов. Литературный обзор со-

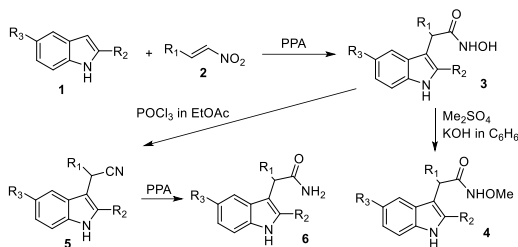
¹ Автор выражает благодарность к.х.н. Аксену Д.А. за помощь при выполнении и написании работы.

держит 57 ссылок на литературу. Вторая глава – обсуждение результатов; третья – экспериментальная часть. В конце работы представлены выводы и библиографический список, содержащий 150 литературных ссылок.

Изложенный материал и полученные в работе результаты полностью соответствуют паспорту специальности 1.4.3. Органическая химия.

Основное содержание работы

Причиной рака является ряд молекулярно-генетических изменений, которые приводят к нарушению контроля роста и клеточной дифференциации, что приводит к неконтролируемой пролиферации клеток, и, в конечном итоге, к образованию опухолей. Ежегодно регистрируется 9 миллионов новых случаев рака, и по прогнозам к 2030 году рак станет основной причиной смерти. Такой высокий уровень смертности отчасти объясняется отсутствием на рынке эффективных химиотерапевтических препаратов. Потребность в противораковых препаратах с улучшенным фармакологическим профилем стремительно растет, подпитывая масштабные синтетические исследования в этой области. Усилия нашей научной группы сосредоточены на разработке новых гетероциклических моделей с антипролиферативной активностью против различных культур раковых клеток как отправной точки их оценки в последующих более продвинутых моделях опухолей. В 2015 году нашей научной группой был описан эффективный синтез 2-арил-2-(3-индолил)-ацетогидроксамовых кислот **3** из индолов **1** и нитроалкенов **2** в полифосфорной кислоте (ПФК). Эти соединения продемонстрировали многообещающую активность *in vitro* против устойчивых к апоптозу и полирезистентных раковых клеток (Схема 1). Однако исследования на животных с использованием 2-арил-2-(3-индолил)-ацетогидроксамовых кислот **3** не продемонстрировали клинически значимого эффекта на раковые опухоли у мышей, что объяснялось плохим фармакокинетическим профилем. Это было показано *in vivo*, что фрагмент гидроксамовой кислоты является восприимчивым к глюкуронированию и последующему быстрому выведению активного препарата из плазмы крови. Эти результаты побудили нас искать более метаболически устойчивые аналоги. Соответственно, был исследован подход, включающий *O*-метилирование гидроксамовой кислоты. Однако полученные производные **4** проявили недостаточную цитотоксичность по отношению к раковым клеткам. Альтернативная структурная модификация предполагала замену гидроксамовой кислоты на первичный амид **6**. Единственный пример такого кандидата в лекарственное средство был синтезирован с помощью двухстадийной синтетической последовательности, включающей превращение гидроксамовой кислоты **3** в нитрил **5**, с последующим кислотным гидролизом нитрила **5** в ПФК (Схема 1). К сожалению, этот подход оказался слишком громоздким, чтобы использовать его для синтеза библиотеки целевых соединений.



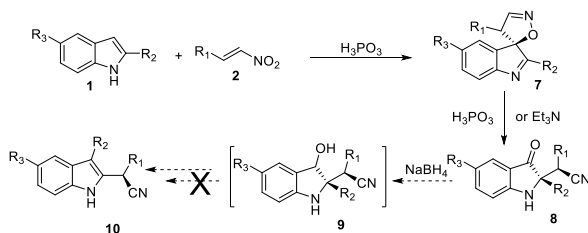
В рамках прошлых исследований, которые проводились в нашей лаборатории, была обнаружена многофункциональность и разнообразие продуктов, получаемых из 3-цианокетонов. В продолжении исследований развития химии 3-цианокетонов были предложены и реализованы реакции с различными восстановителями. Не являются исключением и такие представители 3-цианокетонов как 2-(3-оксоиндолин-2-ил)-ацетонитрилы **8**.

В ходе данной работы, нам удалось развить представленный подход, основанный на реакции скрытых форм цианокетонов с борогидридом натрия в этиловом спирте на примере 2-(3-оксоиндолин-2-ил)ацетонитрилов **8** и 2-(3-оксоиндолин-илиден)-2-арилацетонитрилов, что позволило разработать эффективные методы синтеза индолилацетамидов, перспективных с точки зрения поиска соединений с высокой биологической активностью.

1. Восстановительная перегруппировка 2-(3-оксоиндолин-2-ил)-2-арилацетонитрилов

В 2019 году нашей научной группой было обнаружено, что реакция между индолами **1** и нитростиролами **2** в присутствии фосфористой кислоты (H_3PO_3) неожиданно реализуется в непривычном по сравнению с классическим присоединением по Михаэлю направлении. Первоначально, в мягких условиях образуются с высоким выходом спиро[индол-3,5'-изоксазолы] **7**. Эти соединения далее превращаются в 2-(3-оксоиндолин-2-ил)-2-арилацетонитрилы **8** при нагревании в присутствии H_3PO_3 , или при перемешивании при комнатной температуре с третичными аминами (Схема 2).

Схема 2

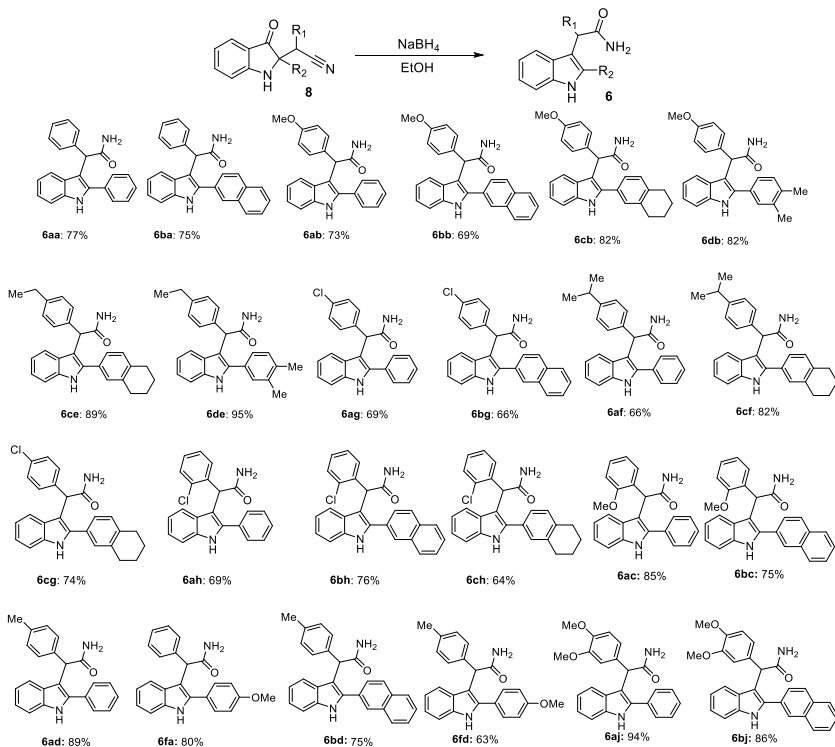


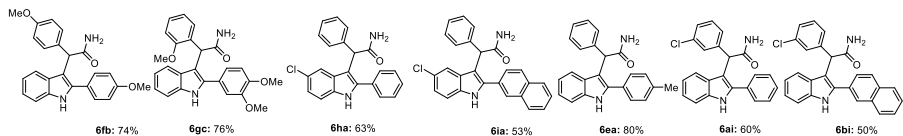
Учитывая доступность 2-(3-оксоиндолин-2-ил)-2-арилацетонитрилов **8**,

мы задавались вопросом о возможности восстановления в них карбонильной группы, что должно было привести к образованию карбинола **9**.

Мы предположили, что далее возможно образование катионного центра в положении С-3 молекулы индола, что будет приводить к 1,2-сдвигу заместителя R_2 , в результате которого образуются нитрилы **10**, которые являются хорошими исходными соединениями для получения производных изотриптамина и других интересных с позиции медицинской химии веществ (Схема 2). Чтобы проверить эту идею, мы обработали 2-(3-оксо-2-фенилиндолин-2-ил)-2-фенилацетонитрил **8aa** боргидридом натрия (4 экв.) в метаноле. Неожиданно единственным продуктом, выделенным в результате этого превращения с выходом 77% был 2-фенил-2-(2-фенил-1*H*-индол-3-ил)ацетамид **6aa**. (Схема 3).

Схема 3





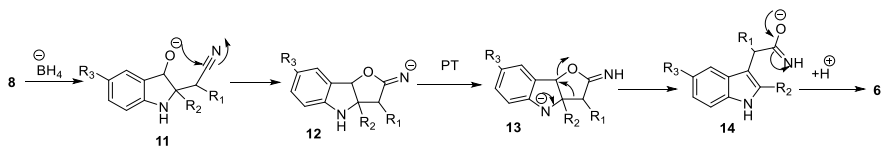
Выход, полученный в первом эксперименте, был уже достаточно высоким, мы попытались оптимизировать его далее. Эти попытки в первую очередь включали модификацию системы растворителей с целью повышения растворимости реагентов, но это не привело к увеличению выходов.

В целом, реакция восстановления других 2-(3-оксо-2-фенилиндолин-2-ил)-2-фенилацетонитрилов **8** в спирте проходила аналогичным образом с образованием амидов **6** с хорошим выходом (Схема 3).

В соответствии с ранее полученными результатами, была синтезирована первая целевая библиотека 3-индолилацетамидов **6** для оценки биологической активности. Наши предыдущие исследования выявили, что заместитель R_2 должен быть ароматической липофильной группой, изостерической к 2-нафтилу. Группа R_1 также должна быть фенильным кольцом, предпочтительно с заместителем в 4-положении и с электронно-донорным фрагментом, изостерической по отношению к этильной или изопропиловой группе. В целом, метод продемонстрировал хорошую препаративную ценность и высокую устойчивость к различным заместителям.

Реакция протекает следующим образом, очевидно, включая восстановление карбонильной группы с одновременным гидролизом цианогруппы, которое сопровождается 1,2-миграцией 2-фенилацетонитрильного фрагмента. Вероятнее всего, после восстановления первоначально образовался алкоксид **11**, участвующий в 5-экзо-дигональной циклизации с цианогруппой с получением [дигидрофуран-2(3*H*)-илиден]амида **12** (Схема 4). Последующий перенос протона от индолина к иминному фрагменту приводит к образованию промежуточного соединения **13** - 2-имино-2,3,3*a*,8*b*-тетрагидрофуру[3,2-*b*]индол-4-илному. Последний подвергается расщеплению тетрагидрофуранового кольца с 1,2- алкильным сдвигом, инициирующим образование ацетимида **14**, который впоследствии таутомеризуется в амид **6**.

Схема 4



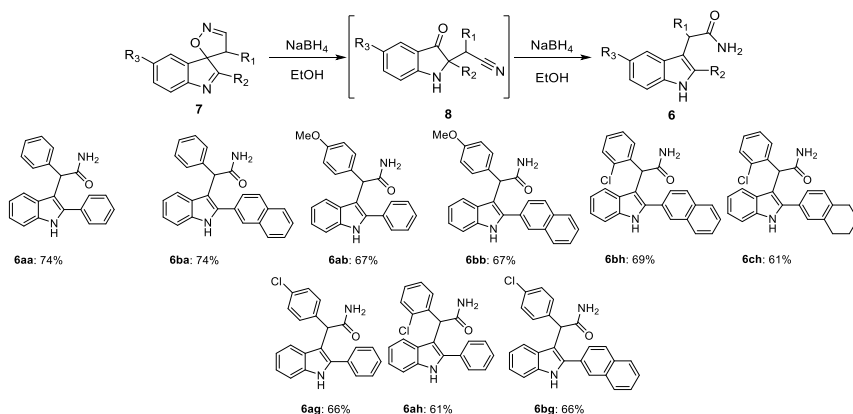
Структура индолилацетамида **6cb** была подтверждена методом рентгеноструктурного анализа.

Таким образом, в результате выполнения этой части работы, была обнаружена необычная восстановительная перегруппировка 2-(3-оксоиндолин-2-ил)ацетонитрилов **8**, что позволило разработать новый удобный метод получения 2-(1*H*-индол-3-ил)ацетамидов **6**.

2. Восстановительная перегруппировка 4'*H*-спиро[индол-3,5'-изоксазолов]

Далее, мы решили изучить реакцию восстановления 4'*H*-спиро[индол-3,5'-изоксазолов] **7** боргидридом натрия в спирте. Оказалось, что обработка этих спироциклических соединений **7** боргидридом натрия в этиловом спирте дает те же продукты – 3-индолилацетамиды **6**, что и 2-(3-оксоиндолин-2-ил)-2-арилацетонитрилы **8** с сопоставимым выходом. Очевидно, что на первой стадии боргидрид натрия выступает не в качестве восстановителя, а в качестве основания, поэтому реализуется каскадная трансформация, состоящая из перегруппировки **7** → **8**, инициируемой в основных условиях, и последующая восстановительная перегруппировка полученного ацетонитрила **8** в индолилацетамид **6**, в соответствии с механизмом, описанном выше (Схема 4). Это превращение позволяет упростить синтез 2-(1*H*-индол-3-ил)ацетамидов **6**, сократив одну синтетическую стадию (Схема 5).

Схема 5



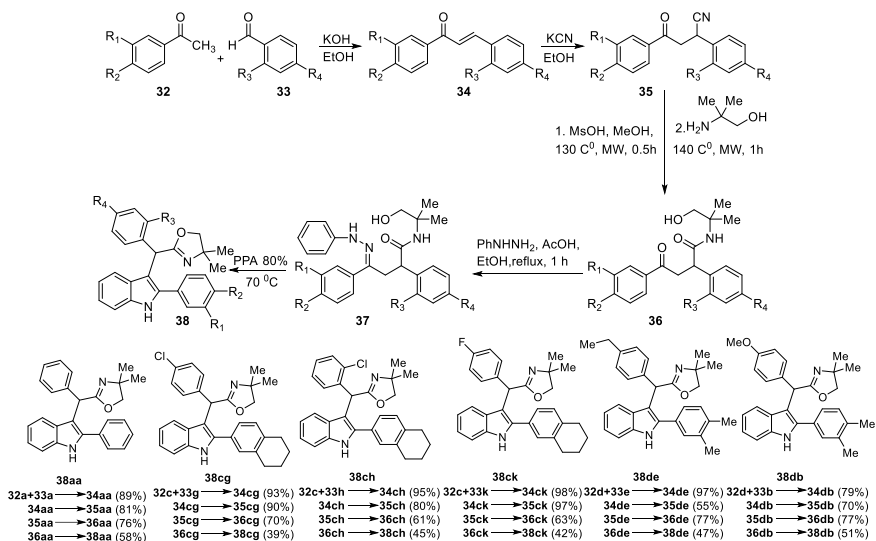
Таким образом, в результате выполнения этой части работы была показана возможность реализации восстановительной перегруппировки 4'*H*-

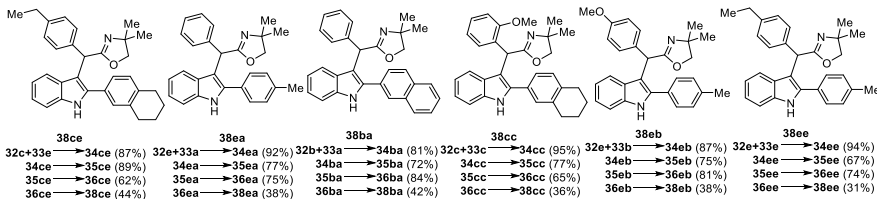
спиро[индол-3,5'-изоксазолов] **7**, что позволило разработать метод синтеза 2-(1*H*-индол-3-ил)ацетамидов **6**.

3. Синтез 2-(замещенных-(2-(арил)-1*H*-индол-3-ил)метил)-4,5-дигидро-оксазолов

Поскольку глюкуронирование амидов также является хорошо известным путем метаболизма лекарственных средств, мы задались вопросом, сможем ли мы замаскировать амидную функциональную группу в ацетамидах **6**. Было решено ввести оксазолиновый фрагмент, который может заменить нитрильную или амидную группы и при обработке водным раствором кислоты может быть легко удален. Учитывая, что индольное кольцо можно легко синтезировать по реакции Фишера, катализируемой полифосфорной кислотой (ПФК-80%), мы предположили, что в тех же условиях, при использовании ПФК можно закрыть оксазолиновое кольцо в *N*-(2-гидроксиэтил) амидном фрагменте. Было решено проверить эту идею, осуществив синтез индолов по Фишеру, исходя из гидразонов **37** с последующим или параллельным замыканием оксазолинового кольца в ПФК **38** (Схема 6).

Схема 6





Таким образом, в результате выполнения этой части диссертационной работы была разработана синтетическая последовательность для получения неизвестных ранее и весьма интересных с позиции медицинской химии 2-(замещенных-(2-(арил)-1*H*-индол-3-ил)метил)-4,5-дигидрооксазолов. Для биологических испытаний наработана небольшая библиотека аналогов амидов, позволяющих изостерически скрыть фрагмент гидроксамовой кислоты и амидную группу.

4. Биологическая активность 2-замещенных-2-(2-(арил)-1*H*-индол-3-ил)ацетамидов и 2-(замещенных-(2-(арил)-1*H*-индол-3-ил)метил)-4,5-дигидрооксазолов

Метаболизм лекарств — это сложный процесс биотрансформации, в котором лекарства преобразуются в структурно модифицированные молекулы (метаболиты) с помощью метаболических ферментов. Исследования метаболических путей, и участвующих в метаболизме лекарств, важны для оптимизации их фармакокинетических и фармакодинамических свойств, а также для разработки аналогов на основе идентификации продуктов обмена веществ. Лекарственные препараты часто содержат специфические функциональные группы, которые служат субстратами для метаболизирующих ферментов и дают начало основным метаболическим путям, известным как «soft spots». Блокирование мягких точек является важным подходом к снижению скорости выведения лекарств и увеличению периода полувыведения. Например, зилеутон **15**, (Рисунок 2), ингибитор 5-липоксигеназы, используемый при лечении астмы, имеет период полураспада 0,4 часа у яванских макаков и 2,4 часа у человека. Его основной метаболический путь — глюкуронирование *N*-гидроксигруппы мочевины с образованием метаболита **16** с последующим выделением мочой. Исследования SAR показали, что OH-гидроксигруппа важна для активности соединений (**15-18**).

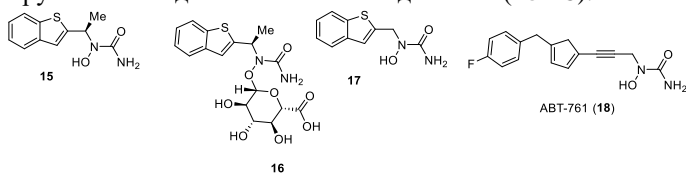


Рисунок 2 – Зилеутон и другие ингибиторы 5-липоксигеназы

Соединение **17**, в котором отсутствует метильная группа в линкере, показало 2-кратное снижение периода полувыведения и 4-кратное увеличение клиренса в плазме у яванских макак *in vivo*, **17** предполагая повышенную глюкуронизацию из-за снижения стерических препятствий. Наконец, АВТ-761 **18**, ингибитор 5-липоксигеназы второго поколения, показал более чем в 40 раз и в 29 раз более длительный период полураспада в обезьяне и человеке, чем **15**, соответственно. Благодаря лучшим фармакокинетическим свойствам АВТ-761 **18** требует введения человеку только одной дозы в день по сравнению с многократным приемом зилеутона **15**.

Ранее мы изучали индолилацетогидроксаматы **19**, **20** и **21** (Рисунок 3) как потенциальные агенты против меланомы. Соединения **19** и **20** продемонстрировали однозначную микромолярную, тогда как соединение **21** проявило субмикромолярную IC_{50} ингибирующую активность против культуры клеток меланомы. Однако *in vivo* оценка этих соединений на мышиных моделях меланомы не увенчалась успехом. Только соединение **19** показало умеренную эффективность при приеме внутрь в дозе 50 мг/кг. Фармакокинетическое исследование этих соединений показало, что все они имели короткий период полураспада и высокий уровень клиренса. Метаболическое профилирование соединения **19** выявило наличие глюкуронида, скорее всего, в гидроксиле гидроксамовой кислоты, как основного метаболита, присутствующего в плазме после внутривенного введения **19** (структура **22**, Рисунок 3). Считалось, что *N*-гидроксил важен для биологической активности этих соединений, и поэтому дальнейшие попытки их изучения были приостановлены.

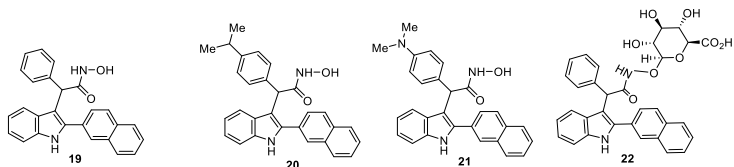


Рисунок 3 - Активные по отношению к глиобластоме ацетогидроксаматы, имеющие короткий период полувыведения из-за глюкуронирования

Недавно в нашей лаборатории был разработан препаративный синтез 2-(1-*H*-индол-3-ил)ацетамидов **6** - аналогов ацетогидроксаматов **19**, **20** и **21**, в которых отсутствует *N*-гидроксильная группа, которая, как предполагалось, была ответственна за глюкуронирование соединений **19**, **20** и **21** (Рисунок 3). Мы выборочно протестировали несколько амидов **6** на антипролиферативную активность против линии раковых клеток и действительно обнаружили, что эти соединения могут быть столь же эффективны, как ацетогидроксаматы и наличие *N*-гидроксильной группы не принципиально важно для активности, по крайней мере *in vitro*. В данном разделе описывается наше

исследование взаимосвязи структуры и активности на серии соответствующих соединений **6** и их аналогов **38**, в которых амидная функция «замаскирована» изостерным оксазолиновым фрагментом.

В ходе исследований каждое синтезированное соединение **6** и **38** было испытано на линии клеток нейробластомы BE(2)-C в концентрации 25 мкМ, и соединения, ингибирующие пролиферацию более чем на 50 %, затем были протестированы в диапазоне концентраций для получения значений IC₅₀ (таблица 1). В серии ацетамидов **6** - 7 соединений дали субмикромольные значения IC₅₀ и в шести из них (**6bb**, **6bd**, **6bg**, **6bc**, **6bj**, **6bh**), содержался нафтильный заместитель в положении С-2 индола (R₁= 2-нафтил, таблица 1). Соединения **6ag** и **6bg**, содержащие в положении С-2 фенильную и С-2 нафтильную группы в индоле, которые включали 4-Cl-фенильный заместитель на ацетамидном α-атоме углерода (R₂= 4-Cl-Ph), весьма эффективны (Таблица 1) по сравнению с неактивными соответствующими соединениями **6ai** и **6bi** содержащие хлор в *meta*-положении R₂ (Таблица 1). Алкильные группы в *para*-положении R₂ полезны, так как 3 из 4 соединений, где они встречаются, а именно (**6bd**, **6af** и **6fd**), независимо от заместителя С-2 индола, обладают хорошей активностью. Хлор в положении С-5 индола (R₃= Cl) полезен, так как он превращает неактивное соединение **6aa** со свободной позицией С-5 (R₃= H) в активный **6ha** (R₃= Cl), при условии, что С-2 заместитель индола мал (R₁ это Ph, а не 2-нафтил, как в неактивном **6ia**). Наконец, метоксигруппы встречаются в разных количествах и положениях как в активных, так и в неактивных соединениях.

Таблица 1 – Значения GI₅₀ наиболее активных соединений

Вещество	IC ₅₀ *	95% CI**	Вещество	IC ₅₀	95% CI**
2-(1H-индол-3-ил)ацетамиды (6)					
6bb	0.47	0.28-0.78	6bj	0.25	0.17-0.45
6bd	0.29	0.21-0.58	6bh	0.96	ND***
6ba	8.46	6.81-12.2	6af	24.0	ND
6ag	0.99	0.64-1.52	6fd	4.65	2.92-6.84
6bg	0.79	0.49-1.26	6fb	7.34	5.23-20.3
6bc	0.28	0.20-0.61	6ha	14.0	11.4-16.7
4,4-диметил-2-(1H-индол-3-ил)-метил-4,5-дигидрооксазолы (38)					
38cg	18.8	9.25-23.5	38cc	20.0	ND
38ch	6.1	1.81-18.3	38eb	9.40	7.28-13.9
38ck	88.0	31.9-ND	АТРА	6.70	4.22-10.92

* IC₅₀ — это концентрация соединения, которая снижает на 50 % рост клеток нейробластомы BE(2)-C (по сравнению с контрольным значением) после культивирования клеток в течение 96 часов с веществом, указанным в таблице, как определено с помощью анализа МТТ. Каждый эксперимент проводился в шести повторах. Данные получены из одного из двух независимых экспериментов, оба из которых дали схожие результаты. ** 95 % CI = 95 % доверительный

интервал. *** ND = не определено. ATRA — полностью *транс*-ретиноевая кислота использовалась в качестве контроля. Это клинически используемый препарат для лечения нейробластомы.

Таблица 2 – Наиболее селективные противоопухолевые соединения

Ве- ще- ство	SW620		KELLY		HF		Индекс се- лেকтивно- сти
	IC ₅₀ *	95 % CI**	IC ₅₀	95 % CI	IC ₅₀	95 % CI	
	μM		μM		μM		
6bd	0.37	0.26-0.51	0.93	0.74-1.17	75.7	50.1-117.7	142.8
6bc	1.41	1.10-1.82	1.33	1.02-3.48	155.1	105.2-231.6	153.6
6bj	1.71	1.04-2.89	0.23	0.11-0.65	191.8	ND***	262.7

В ряду оксазолинов тетралиновый фрагмент весьма благоприятен, поскольку 4 из 5 соединений, которые оказались очень активными (**38cg**, **38ch**, **38ck**, **38cc**) содержат эту группу в положении С-2 индола (R₁,R₂ = –CH₂CH₂CH₂CH₂-) тетрагидронафталиновый фрагмент.

Галогены и метоксигруппы благоприятны в ароматическом кольце на альфа-углеродном атоме по отношению к оксазолиновому фрагменту (R₃, R₄ = Cl, F, MeO), поскольку в неактивных соединениях нет галогенов и только одна метоксигруппа. В целом, соединения в ряду оксазолинов менее активны, чем соединения с амидной группой. Это можно оценить по тому факту, поскольку соединения с субмикромольной активностью в ряду не идентифицировали или путем прямого сравнения таких соединений, как активное **6ba** и неактивный **38ba**, где единственное различие заключается в функциональности амида и оксазолина.

Чтобы подтвердить распространяется ли антипролиферативное действие активных соединений на другие линии раковых клеток, и оценить их воздействие на нормальные клетки, были испытаны соединения (**6bd**, **6bc** и **6bj**) против человеческой колоректальной аденокарциномы SW620, человеческой нейробластомы KELLY и линию клеток фибробластов человека HF. Результаты исследований (таблица 2) показывают, что эти соединения сохраняют субмикромольную/низкую микромольную активность против клеток SW620 и KELLY. Напротив, они полностью неактивны против нормальных фибробластных клеток HF, обеспечивая чрезвычайно высокие индексы селективности (последний столбец в таблице 2).

Таким образом, при попытке устранить метаболическую уязвимость, т.е. N-гидроксильную группу в ранее изученных ацетогидроксиаматах (**19–21**), был синтезирован ряд амидов **6** и оксазолинов **38** и изучена их противораковая активность. Ключом к высокой активности в амидной серии соединений был 2-нафталиновый заместитель в положении С-2 индола, тогда как в серии оксазолина **38** тетралиновый фрагмент был эффективен в том же положении. Также данные соединения представляют интерес с медицинской

точки зрения из-за их структурного сходства с 2-алкилидениндолин-3-онами, такими как индирубин.

5. Синтез и антипролиферативная активность 2-(индол-2-ил)-2-арилацетамидов

Молекулярные фрагменты индола являются востребованными в медицине благодаря своей многообещающей биологической активности. Было описано большое количество специфических структур, где 2-(индол-2-ил)-ацетамиды, включающий такой алкалоид как арбофлорин или лекарственные средства, такие как ингибитор взаимодействия β -катенина/Tcf1 (β -катенина и Tcf1 белки, которые играют важную роль в регулировании генов в клетках.) (Рисунок 4).

Кроме того, при восстановлении амида можно получить изотриптамины, которые сами по себе являются привилегированными медицинскими скелетами. В качестве примеров таких интересных с позиции медицинской химии соединений можно указать вещество **41**, которое является ингибитором пангистондеацетилазы и селективный ингибитор сPLA2a экопладип **42**.

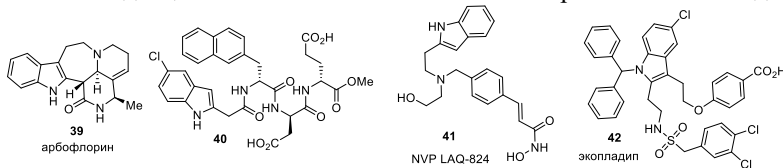
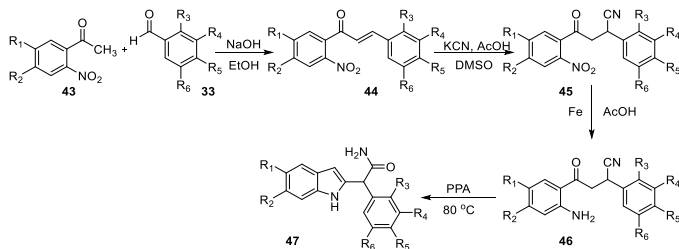


Рисунок 4 - Структуры биологически и медицински важных соединений, содержащих 2-(индол-2-ил)-ацетамид и изотриптамины

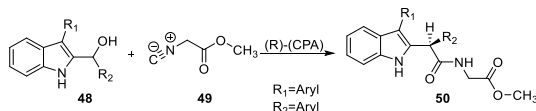
В этом отношении 2-(индол-2-ил)-2-арилацетамиды **47** не были достаточно изучены на предмет их биологической активности, а методы синтеза ограничены лишь несколькими литературными сообщениями. В частности, в исследованиях нашей научной группы были получены такие соединения посредством многостадийной синтетической последовательности, начиная с альдольной конденсации недорогих коммерчески доступных *o*-нитроацетофенонов **43** и альдегидов **33** (Схема 7). Продукты альдольной конденсации - нитрохалконы **44** реагируют с цианидом калия с образованием цианокетонов **45**, которые далее были восстановлены до цианокетонов **46**. Последующее взаимодействие с полифосфорной кислотой, приводило к замыканию цикла с получением ацетамидов **47**. Многостадийность этого синтеза, а также использование жестких условий реакции и участие ПФК являются основными недостатками этого подхода.

Схема 7



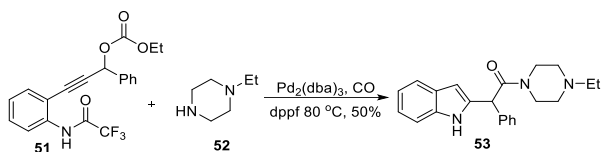
В недавней работе, была предложена катализируется хиральными фосфорными кислотами энантиоселективная реакция между бензиловыми спиртами **48** и изонитрилами **49** (Схема 8). В результате с умеренной энантиоселективностью были получены соединения **50**, которые обладают большим противораковым потенциалом, но основным ограничением метода является малая применимость и селективность, поскольку реакция требует наличия ароматического кольца в положении С-3 индола.

Схема 8



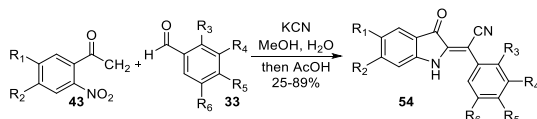
Также, ранее сообщалось, в качестве единственного примера трансформации пропаргилового карбоната **51** в 2-фенилацетамид **53** под действием палладиевого катализатора и оксида углерода (Схема 9).

Схема 9

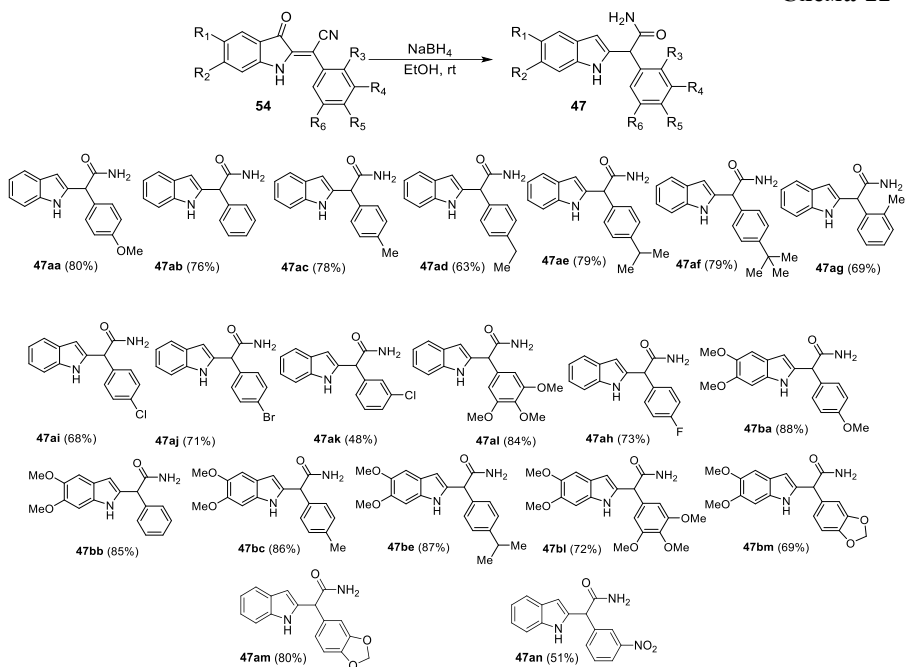


Ранее сообщалось о катализируемой цианидом калия интересной каскадной реакции *o*-нитроацетофенонов **43** с ароматическими альдегидами, приводящая к 2-(3-оксоиндолин-илиден)-2-арилацетонитрилам **54** (Схема 10).

Схема 10



Изучая реакционную способность этих соединений, мы обнаружили, что при их обработке борогидридом натрия в спирте образуются обсуждаемые 2-(индол-2-ил)-2-арилацетамиды **47** (Схема 11).



Эксперименты с различными растворителями, такими как ТГФ, 1,4-диоксан и этиловый спирт, показали, что использование этилового спирта приводит к наивысшему выходу продукта **47aa** с использованием модельного субстрата **54aa**. Увеличение количества NaBH_4 2→3→4 ммоль относительно 1 ммоль **54aa**, привело к дальнейшему увеличению выхода соответственно 61→65→80 %. Однако повышение температуры реакции от комнатной до 50 °С и кипячение с обратным холодильником, дало уменьшение выхода **47aa** 80→64→53 % соответственно.

Используя оптимизированные условия реакции, был получен ряд 2-(индол-2-ил)-2-арилацетамидов **47** (Схема 11).

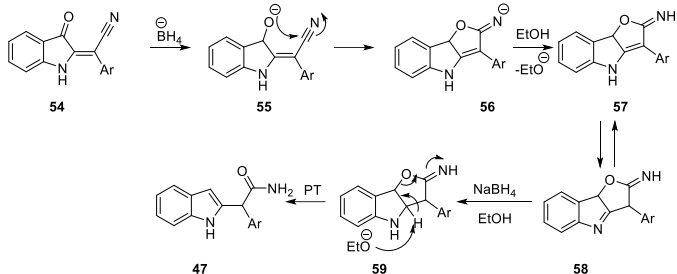
Данным методом были получены соединения с незамещенным бензольным кольцом индольного фрагмента, такие как **47aa-47an**, а также их аналоги, содержащие заместители в индольном кольце, такие как **47ba-47bm**.

Также использовались ароматические альдегиды **33** с различными заместителями в кольце в рамках этой химической реакции включая те, которые приводили к продуктам без заместителей (**47ab**, **47bb**), алкилзамещенные (**47ac**, **47ad**, **47ae**, **47af**, **47ag**, **47bc**, **47be**), галогензамещенные (**47ah**, **47ai**, **47aj**, **47ak**), алкокси-замещенные **47aa** и нитрозамещенные **47an**. Выход варьировался от 48 до 88 %, но, в основном, находились в диапазоне 70–80 %.

Предложенный механизм этого интересного превращения показан на

схеме 12. 1,2-Восстановление кетогруппы гидрид-ионом в 2-(3-оксоиндолин-илиден)-2-арилацетонитрилах **54**, вероятно, происходит из-за двойной стабилизации сопряженной системы, включающей атом азота индольного цикла и нитрильную группу. Это приводит к образованию промежуточных алкоксисоединений **55**, которые подвергаются циклизации с образованием трициклических имидатов **56**. Последние могут таутомеризоваться в имины **57**, которые при дальнейшем восстановлении с NaBH_4 могут превратиться в индолины **59** с последующим ароматическим элиминированием, приводящим к 2-(индол-2-ил)-2-арилацетонидам **47**.

Схема 12

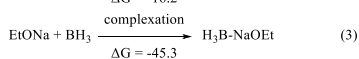
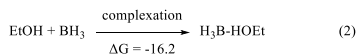


Для подтверждения или опровержения этого механизма мы провели в MeOH-d_4 реакцию синтеза амида **47aa** с мониторингом с помощью ЯМР.

В α -положении амида **47aa** наблюдается 20% дейтерообмена. Это подтверждает механистическую стадию $56 \rightarrow 57$ (Схема 12) исключая другие альтернативные пути, предполагающие возникновение атомов водорода из борогидрида натрия.

Кроме того, для определения структур переходного состояния и промежуточных продуктов предлагаемого механизма были рассчитаны относительные свободные энергии (PWPB95-D4/def2-QZVPP//SMD(EtOH)-MN15/def2-SVPSVP с конечными энергиями, вычисленными с помощью Orca 6.0.1).

Без учета комплексообразования BH_3 с этиловым спиртом или этилатом натрия, некоторые вычисленные высоты барьеров были бы слишком велики для воспроизведения в условиях реакции. Реакция (2) представляет собой комплексообразование этиловым спиртом и BH_3 . Реакция (3) представляет собой комплексообразование этилатом натрия и BH_3 . Значения ΔG выражены в ккал/моль и рассчитаны на уровне теории PWPB95-D4/def2-QZVPP//SMD(EtOH)-MN15/def2-SVP.



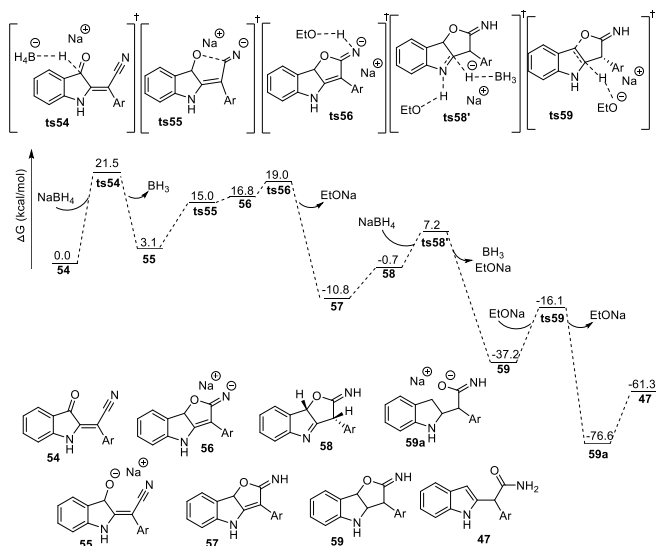


Рисунок 5 - Профиль свободной энергии реакции, рассчитанный на уровне теории PWPB95-D4/def2-QZVPP//SMD(EtOH)-MN15/def2-SVP. Все единицы измерения свободной энергии указаны в ккал/моль.

Самые высокие предсказанные барьеры активации составили ~22 ккал/моль, что указывает на то, что предлагаемый механизм с точки зрения термодинамики вполне реалистичен. Были рассчитаны альтернативные варианты, которые оказались менее удачными.

Структуры схожие на 2-индолилацетамиды **47** являются ингибиторами ферментов SIRT1 и SIRT2, которые, у млекопитающих деацетируют и тем самым деактивируют белок p53 выполняющий функцию супрессора образования злокачественных опухолей. Поэтому далее мы оценили противораковую активность 2-индолилацетамидов **47**.

Для ее оценки синтезированные соединения сначала испытывались при одной концентрации 25 мкМ против клеточной линии BE (2)-C с использованием колориметрического метода анализа МТТ.

Эта клеточная линия является общепринятой моделью *in vitro* для нейробластомы, нейроэндокринной опухоли, которая является наиболее распространенным раком у младенцев. Его лечение основано на стандартных химиотерапевтических препаратах, таких как доксорубин, винкристин, циклофосфамид и цисплатин, но из-за резистентности опухоли, данный вид рака остается одним из самых трудноизлечимых. Поэтому существует острая необходимость в открытии новых агентов на основе новых структурных каркасов, которые могли бы быть активными против этого типа рака. Результаты этой оценки показаны в таблице 3.

Таблица 3 – Процент оставшихся живых клеток после обработки соответствующими веществами.

Вещество	% выживших клеток	SE	Вещество	% выживших клеток	SE
47aa	94.89	4.18	47ak	109.23	5.57
47ab	98.35	2.25	47al	101.74	3.00
47ac	97.85	2.41	47am	92.67	3.47
47ad	100.94	5.35	47ba	90.68	1.61
47ae	88.12	4.55	47bb	94.32	2.99
47af	90.02	5.14	47bc	94.10	5.92
47ag	100.94	3.11	47be	59.34	4.79
47ah	98.77	4.80	47bl	76.16	3.72
47ai	101.70	1.07	47bm	87.12	4.31
47aj	90.65	1.26			

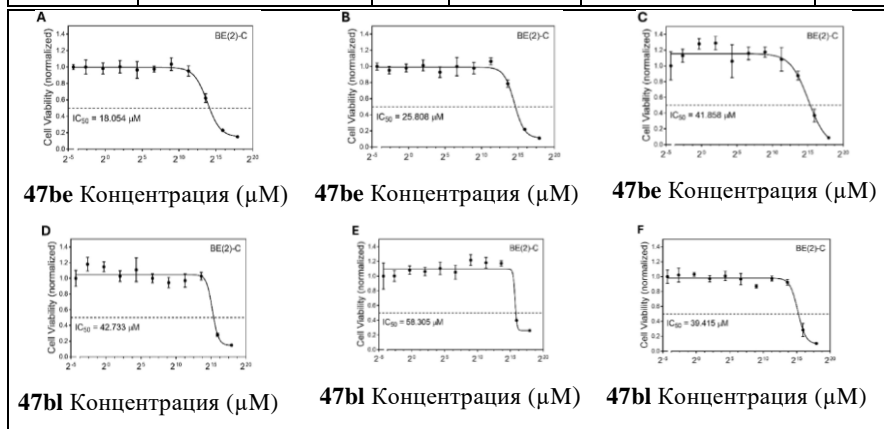


Рисунок 6 - Определение IC_{50} для соединений (**47be** и **47bl**) в трех независимых экспериментах (A-C для **47be** и D-F для **47bl**). Обработка каждым соединением проводилась в четырех повторах в течение 4 дней. Значения IC_{50} соответствуют концентрациям соединений, которые снижают жизнеспособность клеток на 50 % по сравнению с контрольным условием, носителем обработанным (ДМСО). Среднее значение IC_{50} для **47be** составило $28,73 \pm 12,14$ мкМ, тогда как для **47bl** - $46,81 \pm 10,09$ мкМ.

В то время как большинство соединений не проявили антипролиферативной активности в отношении клеток нейробластомы, три соединения с 5,6-диметоксизамещенным индольным кольцом проявили умеренную активность, а именно: (**47be**, **47bl** и **47bm**). В случае соединения **47be** при этой концентрации остаточная жизнеспособность клеток составляет около 50 % (Таблица 3). Два наиболее активных соединения (**47be** и **47bl**) были оценены в диапазоне концентраций для получения значений IC_{50} (Рисунок 6). А–С показывает кривые ингибирования роста из трех независимых экспериментов для соединения **47be**, в то время как на рисунке 23 D–E показывает аналогичные кривые для соединения **47bl**. Среднее значение IC_{50} для **47be** установленное таким образом, равно $28,73 \pm 12,14$ мкМ, тогда как среднее значение IC_{50} для **47bl** составляет $46,81 \pm 10,09$ мкМ.

Подводя итог данной части работы, следует отметить, что нами был разработан короткий двухстадийный метод синтеза 2-(индол-2-ил)-2-арилацетамидов (**47**), начиная с о-нитроацетофенонов и ароматических альдегидов. Данные соединения **47** были малодоступны и потому не оценивались на предмет биологической активности. Ряд разнообразно замещенных 2-(индол-2-ил)-2-арилацетамидов (**47**) был синтезирован и оценен на антипролиферативную активность против линии клеток нейробластомы BE(2)-C. Несколько соединений показали умеренную активность.

Заключение (выводы)

1. В ходе восстановления 2-(3-оксоиндолин-2-ил)-ацетонитрилов боргидридом натрия в спирте обнаружена необычная их трансформация в 2-замещенные-2-(2-арил-1*H*-индол-3-ил)ацетамиды, на основании чего разработан метод синтеза последних.
2. Показано, что синтез 2-замещенные-2-(2-арил-1*H*-индол-3-ил)ацетамидов можно осуществить исходя из синтетические предшественников 2-(3-оксоиндолин-2-ил)-ацетонитрилов - 4'*H*-спиро[индол-3,5'-изоксазолов], используя боргидрид натрия в спирте. В этом случае реакция включает два последовательных 1,2-сдвига.
3. Разработан новый подход к синтезу 2-(замещенных-(2-(арил)-1*H*-индол-3-ил)метил)-4,5-дигидрооксазолов – циклическим аналогам 2-замещенные-2-(2-арил-1*H*-индол-3-ил)ацетамидов, что позволило впервые оценить их противораковую активность.
4. Разработан метод синтеза 2-индолилацетамидов, основанный на реакции восстановления 2-(3-оксоиндолин-2-илиден)-2-арилацетонитрилов боргидридом натрия.

5. Показано, что значительная часть полученных соединений проявляют высокую противоопухолевую активность по отношению к различным культурам раковых клеток. Особый интерес представляют 3-индолилацетамиды, которые обладают субмикромольной активностью по отношению к нескольким линиям раковых клеток и высокой селективностью в отношении здоровых.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

Статьи в журналах перечня ВАК (Web of Science)

1. Aksenov, A.V. Reductive Cleavage of 4'*H*-Spiro[indole-3,5'-isoxazoles] En Route to 2-(1*H*-Indol-3-yl)acetamides with Anticancer Activities / A.V. Aksenov, N.K. Kirilov, N.A. Arutiunov, D.A. Aksenov, **I.K. Kuzminov**, N.A. Aksenov, D.N. Turner, S. Rogelj, A. Kornienko, M. Rubin // *J. Org. Chem.* – 2022. – V. 87. – № 21. – pp. 13955-13964.
2. Aksenov, D.A. 2-(3-Indolyl)acetamides and their oxazoline analogues: Anticancer SAR study / D.A. Aksenov, J.L. Smith, A.V. Aksenov, L.A. Prityko, N.A. Aksenov, **I.K. Kuzminov**, E.V. Aleksandrova, P. Sathish, N. Mesa-Diaz, A. Vernaza, A. Zhang, L. Du, A. Kornienko // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* – 2024. – V. 102. – Paper 129681.
3. Aksenov, D.A. Convenient synthesis and antiproliferative activity of 2-(Indol-2-yl)-2-arylacetamides / D.A. Aksenov, G.E. Fernandez, **I.K. Kuzminov**, N.A. Arutiunov, E.V. Aleksandrova, A.V. Aksenov, A. Vernaza, J. Ramirez, K. Ross, J.L. Smith, L. Du, P. Sathish, D.J. Tantillo, A. Kornienko // *Tetrahedron* – 2025. – V. 175. – Paper 134515.

Тезисы докладов и статьи в других изданиях

4. **Kuzminov I.K.** Unusual rearrangement of 2-(3-oxoindolin-2-yl)acetonitriles upon reduction with sodium borohydride. / **I.K. Kuzminov**, A.V. Aksenov, N.A. Arutiunov, N.A. Aksenov, et al. // VI Северо-Кавказский симпозиум по органической химии = VI North Caucasus Organic Chemistry Symposium (NCOCS-2022). Материалы конференции (Ставрополь, 18-22 апреля 2022 г.) – Ставрополь: СКФУ – 2022. – P.184.
5. **Kuzminov I.K.** Antiproliferative activity of 3-indolylacetamides against the most common cancer cell lines. / **I.K. Kuzminov**, A.V. Aksenov, D.A. Aksenov, N.A. Aksenov. //New emerging trends in chemistry conference (newtrendschem-2025). Book of abstracts (Yerevan, Armenia, 21-25 september 2025) – Yerevan, Armenia – 2025 – P. 212.
6. **Кузьминов И.К.** Нетривиальная восстановительная перегруппировка 3-цианокетонных предшественников, приводящая к 3-индолилацетамидам. / **И.К. Кузьминов**, А.В. Аксенов, Д.А. Аксенов, Н.А. Аксенов // Всероссийский конгресс по химии гетероциклических соединений KOST-2025. Материалы конференции (г. Владикавказ, Северная Осетия, 15-19 сентября 2025 г.) – Владикавказ, Северная Осетия – 2025. – С. 230.

7. **Кузьминов И.К.** Синтез индолилацетамидов и их аналогов. / **И.К. Кузьминов**, А.В. Аксенов, Е.В. Александрова, Н.А. Аксенов Д.А. Аксенов, // VII Северо-Кавказский симпозиум по органической химии = (NCOCS-2024). Материалы конференции (Ставрополь, 12-17 мая 2024 г.) – Ставрополь: СКФУ – 2024. – С.149.