

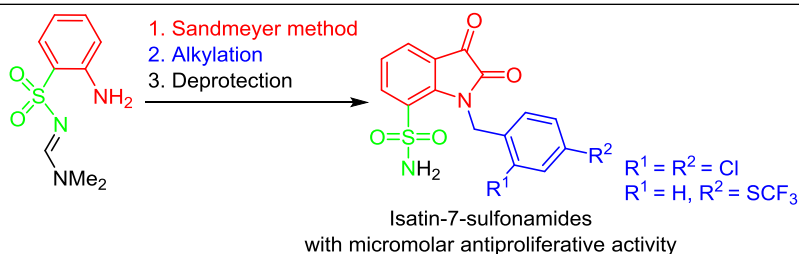
## Синтез и антипролиферативная активность изатин-7-сульфонамидов

Степан К. Крымов<sup>1\*</sup>, Диана И. Сальникова<sup>2</sup>, Любовь Г. Деженкова<sup>1</sup>, Федор Б. Богданов<sup>2</sup>, Александр М. Щербаков<sup>1,2</sup>, Андрей Е. Щекотихин<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, ул. Большая Пироговская, 11, Москва 119021, Россия  
e-mail: krymov.s.k@gmail.com, shchekotikhin@gause-inst.ru

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина Минздрава России, отдел экспериментальной биологии опухолей, Каширское ш., 24, Москва 115522, Россия  
e-mail: dianasalnikova08@ya.ru, dezhenkova@g.com, f.bogdanov.f@ya.ru, alex.scherbakov.2010@ya.ru

Поступило 21.08.2024  
Принято после доработки 30.10.2024



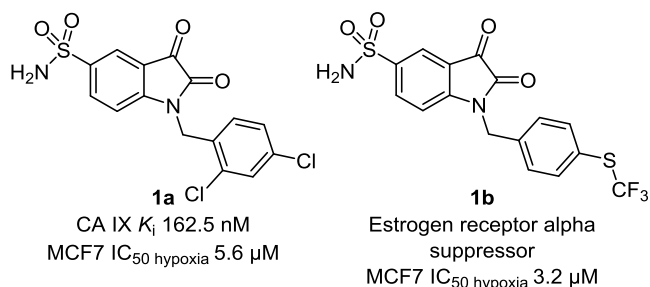
Варьирование положения фармакофорной группы в гетероциклическом цикле может оказывать значительное влияние на биологическую активность соединений. С применением формамидиновой защитной группы и метода Зандмейера была разработана схема синтеза ранее неописанных изатин-7-сульфонамидов. Синтезированные 1-замещенные изатин-7-сульфонамиды в низких микромолярных концентрациях ингибировали рост клеток гематологических и солидных опухолей. Полученные данные указывают на перспективность дальнейшего исследования 1-замещенных изатин-7-сульфонамидов в качестве нового фармакофора для разработки соединений с противоопухолевой активностью.

**Ключевые слова:** изатин, сульфонамиды, формамидиновая защитная группа, антипролиферативная активность, метод Зандмейера.

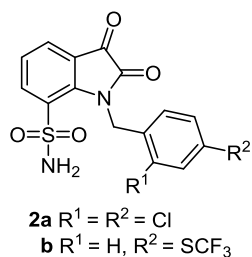
Разработка методологии синтеза и моделирование биологической активности производных изатина являются актуальными направлениями исследований в органической и медицинской химии.<sup>1–3</sup> Изатин-сульфонамиды, несмотря на широкий набор методов синтеза изатинов и высокий фармакофорный потенциал сульфонамидной группы, – малоизученный класс соединений.<sup>4–8</sup> На сегодняшний день разработана методика синтеза и изучена биологическая активность производных изатин-5-сульфонамидов,<sup>9–12</sup> в то время как сведения о получении и свойствах производных других изомеров изатинсульфонамидов практически отсутствуют.<sup>13</sup> Высокая биологическая активность индолов и индолинов с сульфонамидной группой в положениях 6 и 7<sup>14,15</sup> свидетельствует о перспективности синтеза и изучения свойств аналогичных сульфонамидов изатина.

Ранее было обнаружено, что 1-замещенные изатин-5-сульфонамиды **1a, b** в микромолярных концентрациях подавляют пролиферацию опухолевых клеток в условиях нормоксии и гипоксии и ингибируют карбоангидразу (КА), включая опухоль-ассоциированные изоформы КА IX и КА XII, а также блокируют экспрессию эстрогенового рецептора (ER- $\alpha$ ) в клетках рака молочной железы (рис. 1).<sup>16</sup> Обнаруженная антипролиферативная активность и действие на мишени опухолевых клеток изатинсульфонамидов подтверждают перспективность дальнейшего исследования этого класса соединений.

Известно, что перемещение заместителей в гетероцикле может значительно влиять на биологические свойства соединений.<sup>17–19</sup> Для оценки влияния положения сульфонамидной группы в изатине на антипролиферативную активность был разработан оригинальный



**Рисунок 1.** Биологически активные 1-замещенные изатин-5-сульфонамиды **1a,b**.



**Рисунок 2.** 1-Замещенные изатин-7-сульфонамиды **2a,b**.

нальный подход к синтезу 1-замещенных изатин-7-сульфонамидов **2a,b** (рис. 2).

Синтез Зандмейера ранее был успешно адаптирован для получения изатин-5-сульфонамидов **1a,b**.<sup>16</sup> Поэтому была изучена возможность применения данного метода для синтеза 1-замещенных изатин-7-сульфонамидов **2** и родственных соединений. Так, в качестве исходного соединения был выбран 2-нитробензолсульфонил-хлорид (**3**), который на первой стадии действием водного раствора аммиака в ТГФ был превращен в сульфонамид **4** (схема 1).

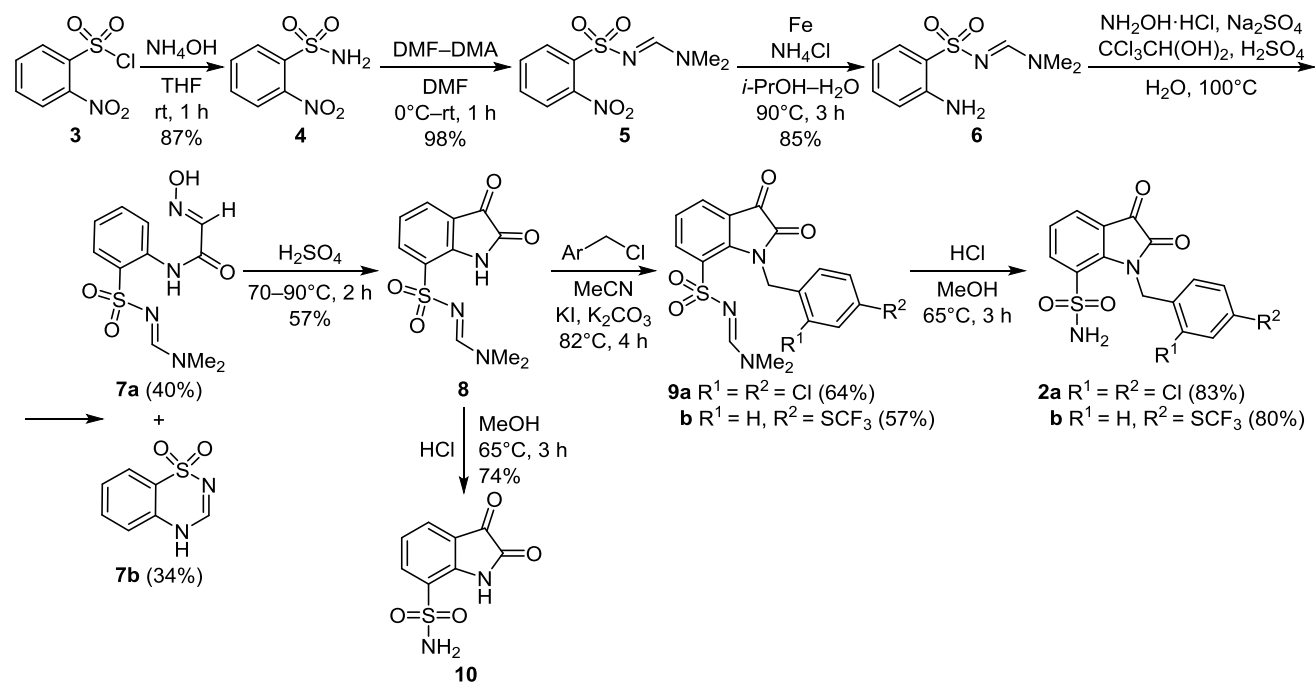
Анализируя опыт, полученный при реализации схем синтеза изатин-5-сульфонамида,<sup>16</sup> был сделан вывод о

целесообразности защиты сульфонамидной группы для повышения выхода на стадиях циклизации нитрозо-ацетанилида и селективного бензилирования изатин-сульфонамида по положению 1. На основе экспериментальных и литературных данных было найдено, что *N*-формамидиновая защита сульфонамидов достаточно стабильна в концентрированной  $H_2SO_4$  и гидролизуется лишь при длительном кипячении с концентрированной  $HCl$  в  $MeOH$ .<sup>20</sup>

Установку формамидиновой защитной группы на 2-нитрофенилсульфонамид (**4**) проводили действием диметилацетата диметилформамида в ДМФА при  $0^\circ C$  с получением формамидина **5**. Восстановление нитро-группы производного **5** железом в присутствии  $NH_4Cl$  в смеси *i*-PrOH– $H_2O$  привело к ключевому защищенному анилину **6** с высоким выходом. Конденсацией анилина **6** с хлоральгидратом при кипячении с гидроксиламином и  $Na_2SO_4$  в присутствии  $H_2SO_4$  получен изонитрозо-ацетанилид **7a** с умеренным выходом. Примечательно, что побочным продуктом данной реакции является циклический 4*H*-1,2,4-бензотиадазин-1,1-диоксид (**7b**).

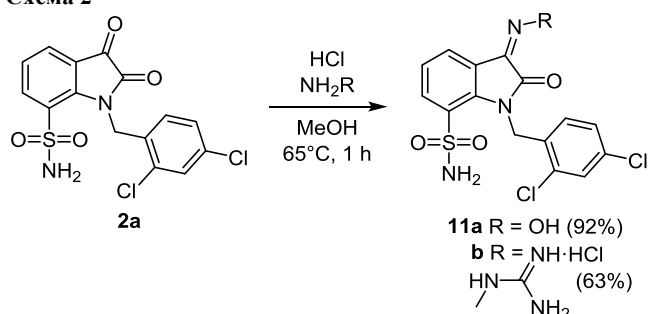
Последующая внутримолекулярная циклизация при нагревании аддукта **7a** в  $H_2SO_4$  привела к целевому формамидину изатин-7-сульфонамида **8** с приемлемым выходом. В результате алкилирования бензилхлоридами изатина **8** в присутствии  $K_2CO_3$  и каталитических количеств  $KI$  в  $MeCN$  при нагревании образовались 1-замещенные изатины **9a,b**. Гидролиз защитной формамидиновой группы соединений **9a,b** в кислой среде позволил получить с высокими выходами целевые 1-замещенные изатин-7-сульфонамиды **2a,b**. Аналогично *N*-бензилзамещенным производным **2a,b** гидролизом формамидина **8** при нагревании с концентрированной  $HCl$  в  $MeOH$  был получен изатин-7-сульфонамид (**10**) с хорошим выходом.

#### Схема 1



Согласно литературным данным, сочетание в структуре соединений как гидрофобных, так и гидрофильных заместителей может значительно увеличивать ингибирующую активность сульфонамидов к различным мишеням опухолевых клеток, в том числе к КА IX.<sup>21,22</sup> Для дальнейшей модификации структуры синтезированного изатин-7-сульфонамида **2a** и поиска взаимосвязей структура–активность в ряду изатина синтезированы производные изатин-7-сульфонамида **2a**, модифицированные по положению 3 гетероцикла. Так, 1-(2,4-дихлорбензил)изатин-7-сульфонамид (**2a**) легко вступает в реакцию с гидрохлоридом гидроксилamina или карбонатом аминогуанидина при кипячении в MeOH, образуя целевые производные **11a,b**. Действием раствора HCl в MeOH на аминогуанидин **11b** был получен его водорастворимый гидрохлорид (схема 2).

Схема 2



Оценка антипролиферативной активности новых производных изатинсульфонамидов была проведена на клетках гормонозависимого рака молочной железы линии MCF7 в условиях нормоксии (21% O<sub>2</sub>) и гипоксии (1% O<sub>2</sub>) методом МТТ-теста. Результаты скрининга (табл. 1) показывают, что среди синтезированных изатин-7-сульфонамидов наиболее активными производными являлись 1-бензилизатин-7-сульфонамиды **2a,b**. Они в низких микромолярных концентрациях подавляют деление клеток MCF7 (IC<sub>50</sub> 6.0, 11.7 мкМ соответственно), не утрачивая своей активности в условиях гипоксии (IC<sub>50</sub> 7.7, 12.3 мкМ соответственно). Изатин-7-сульфонамид (**10**) не влияет на рост опухолевых клеток, а его производные **11a,b**, модифициро-

**Таблица 1.** Антипролиферативная активность (IC<sub>50</sub>,\* мкМ) изатинсульфонамидов на клетках рака молочной железы MCF7 в условиях нормоксии и гипоксии

Соединение	Нормоксия	Гипоксия	ИГС**
<b>2a</b>	6.0 ± 0.55	7.7 ± 0.74	0.8
<b>2b</b>	11.7 ± 1.0	12.3 ± 1.2	1
<b>10</b>	>50	>50	–
<b>11a</b>	25.2 ± 2.3	22.5 ± 2.1	1.1
<b>11b</b>	>50	>50	–
<b>1a</b>	7.8 ± 0.7	5.6 ± 0.5	1.4
Доксорубицин	0.3 ± 0.04	0.4 ± 0.04	0.7

\* Значения IC<sub>50</sub> представлены как средние значения по трем независимым экспериментам.

\*\* Индекс гипоксической селективности ИГС = (IC<sub>50</sub> нормоксия) / (IC<sub>50</sub> гипоксия). Нормоксия – 21% O<sub>2</sub>, гипоксия – 1% O<sub>2</sub>.

ванные по положению 3 гетероцикла, подавляли пролиферацию клеток MCF7 в высоких микромолярных концентрациях. Таким образом, введение гидрофильных фрагментов в структуру изатин-7-сульфонамидов приводит к снижению их антипролиферативных свойств.

По результатам предварительного скрининга, изатинсульфонамиды **2a,b** были отобраны для исследования спектра антипролиферативной активности на широкой панели опухолевых клеток различного гистогенеза: рака кожи (A431), молочной железы (HCC1954), яичников (SKOV3), толстой кишки (HCT116), в том числе резистентной линии с делецией гена p53 (HCT116 p53(–/–)), лимфом (Raji, Granta-519, Daudi), лейкозов (RPMI-8866, HL60). Для оценки цитотоксичности соединений проводился МТТ-тест на линиях неопухолевых клеток hFB-hTERT, ТНР-1<sup>23</sup> и НЕК-293.<sup>24</sup>

Полученные значения IC<sub>50</sub> для синтезированных изатин-7-сульфонамидов **2a,b** (табл. 2) показали, что они в диапазоне низких и средних микромолярных концентраций ингибируют рост клеток большинства линий. При этом несколько большую антипролиферативную активность в отношении линий A431, Raji, Granta-519 и SKOV3 показало соединение **2a** (IC<sub>50</sub> 2.4–18.0 мкМ). Стоит отметить, что среди всех протестированных линий изатин **2a** был наиболее активен в отношении линии Granta-519 (IC<sub>50</sub> 2.4 мкМ), тогда как производное **2b** полностью утратило активность в отношении данной линии. Схожая зависимость структура–активность была обнаружена и в отношении линии Raji.

Дополнительно стоит отметить, что клетки лимфомы Daudi оказались наименее восприимчивы к действию

**Таблица 2.** Антипролиферативная активность (IC<sub>50</sub>,\* мкМ) изатин-7-сульфонамидов **2a,b** в отношении ряда злокачественных и псевдонормальных клеток

Линия клеток	Соединение		
	<b>2a</b>	<b>2b</b>	Доксорубицин
<i>Опухолевые клетки</i>			
A431	3.1 ± 0.4	6.6 ± 0.8	0.074 ± 0.007
HCC 1954	12.8 ± 1.4	28.4 ± 3.1	0.18 ± 0.04
Raji	6.4 ± 0.9	>50	0.91 ± 0.1
RPMI-8866	>50	44.3 ± 4.9	0.024 ± 0.002
Granta-519	2.4 ± 0.4	>50	0.046 ± 0.05
Daudi	43.4 ± 4.1	29.1 ± 3.1	1.4 ± 0.1
HCT116	15.8 ± 2.1	16.5 ± 2.0	0.25 ± 0.03
HCT116 p53 (–/–)	16.0 ± 1.9	16.0 ± 2.1	0.8 ± 0.1
HL60	11.0 ± 1.5	10.5 ± 1.3	0.55 ± 0.06
SKOV3	18.0 ± 2.5	25.0 ± 3.0	0.125 ± 0.01
<i>Псевдонормальные клетки</i>			
НЕК-293	19.2 ± 2.7	17.0 ± 2.2	0.20 ± 0.03
hFB-hTERT	8.3 ± 0.9	13.2 ± 1.7	0.35 ± 0.04
ТНР-1	>50	7.7 ± 0.9	0.045 ± 0.05

\* Значения IC<sub>50</sub> представлены как средние значения по трем независимым экспериментам.

отобранных соединений. Клетки лейкоза линии RPMI-8866 оказались малочувствительны к действию отобранных соединений ( $IC_{50} \geq 44.3$  мкМ), в то время как линия HL60 оказалась чувствительна к действию обоих изатин-7-сульфонамидов **2a,b** ( $IC_{50}$  11.0 и 10.5 мкМ соответственно). В отношении линии карциномы толстой кишки HCT116 соединения **2a,b**, демонстрировали близкие значения  $IC_{50}$  (15.8 и 16.5 мкМ) и не утрачивали своей активности в отношении резистентной линии HCT116 p53(–/–) ( $IC_{50}$  16.0 мкМ). В отношении клеток рака молочной железы HCC1954 соединение **2a** ( $IC_{50}$  12.8 мкМ) было более чем в два раза активнее соединения **2b** ( $IC_{50}$  28.4 мкМ). Оценка цитотоксичности на линии ТНР-1 выявила, что 2,4-дихлорбензильное производное **2a** не вызывает гибели 50% клеток при концентрации 50 мкМ, тогда как производное **2b** достигает показателя  $IC_{50}$  уже при 7.7 мкМ.

По результатам анализа структура–активность среди 1-бензилизатин-7-сульфонамидов **2a,b** можно сделать заключение, что 2,4-дихлорпроизводное **2a** превосходит по антипролиферативной активности соединение **2b** с трифторметилсульфанильным заместителем в бензильном фрагменте.

Обнаруженная антипролиферативная активность соединения-лидера **2a** на опухолевых клетках различного гистогенеза и его умеренная цитотоксичность указывают на перспективность дальнейшей оптимизации структуры изатин-7-сульфонамидов и углубленного исследования противоопухолевых свойств соединений этого ряда.

Таким образом, разработана схема получения ранее неопианного изатин-7-сульфонамида и проведена его модификация по положениям 1 и 3 гетероцикла. Изучена способность полученных сульфенамидов ингибировать рост опухолевых клеток. Анализ результатов показал, что бензильный фрагмент в структуре изатин-7-сульфонамидов приводит к существенному усилению антипролиферативных свойств.

#### Экспериментальная часть

Спектры ЯМР  $^1H$  и  $^{13}C$  зарегистрированы на спектрометре Varian Mercury 400 Plus (400 и 100 МГц соответственно) в ДМСО- $d_6$ , внутренний стандарт ТМС. Масс-спектры высокого разрешения зарегистрированы на спектрометре micrOTOF-Q II Bruker Daltonics GmbH, ионизация электрораспылением (для обработки использован программный пакет OMNIC-7.0). Температуры плавления определены на столике Кофлера. Контроль за ходом реакций и чистотой полученных соединений осуществлен методом ТСХ на пластинках Silufol и Silica Gel 60 F<sub>254</sub> (Merck). Препаративная хроматография соединений проведена на силикагеле марки Merck 60 (SiO<sub>2</sub>). Анализ чистоты соединений методом ВЭЖХ проведен на хроматографе Shimadzu LC-20 AD, колонка Kromasil-100-5-мкм C-18 (4.6 × 250 мм), LW 260 нм.

**2-Нитрофенилсульфонамид (4).** К раствору 3.5 г (16 ммоль) 2-нитробензолсульфонилхлорида (**3**) в ТГФ при комнатной температуре добавляют 4.0 мл (18%, 40 ммоль) водного раствора аммиака, смесь перемешивают

в течение 1 ч. По окончании реакции смесь концентрируют при пониженном давлении и разбавляют 30 мл H<sub>2</sub>O. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают холодной H<sub>2</sub>O и сушат при пониженном давлении. Выход 2.8 г (87%), желтый порошок, т. пл. 190–192°C (т. пл. 190–192°C<sup>25</sup>).

**N-[(Диметиламино)метилен]-2-нитрофенилсульфонамид (5).** К раствору 2.7 г (13 ммоль) 2-нитрофенилсульфонамида (**4**) в 15 мл ДМФА из капельной воронки добавляют 2.4 мл (17 ммоль) DMF–DMA при 0°C, убирают охлаждающую баню и перемешивают реакционную смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. По окончании реакции смесь выливают в 80 мл H<sub>2</sub>O. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают холодной H<sub>2</sub>O и сушат при пониженном давлении. Выход 3.4 г (98%), желтый порошок, т. пл. 135–136°C. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д.: 8.11 (1H, с, CH); 8.07–8.00 (1H, м, H Ar); 7.90–7.84 (1H, м, H Ar); 7.81–7.76 (2H, м, H Ar); 3.18 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.93 (3H, с, CH<sub>3</sub>). Спектр ЯМР  $^{13}C$ ,  $\delta$ , м. д.: 160.7; 147.6; 134.9; 134.0; 132.8; 129.8; 124.5; 41.6; 35.7. Найдено,  $m/z$ : 258.0548 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено,  $m/z$ : 258.0543.

**2-Амино-N-[(диметиламино)метилен]фенилсульфонамид (6).** К раствору 3.0 г (12 ммоль) формамидина **5** в 50.0 мл смеси EtOH–H<sub>2</sub>O, 1:1 при перемешивании механической мешалкой добавляют 6.8 г (120 ммоль) железной стружки и 0.3 г (5.0 ммоль) NH<sub>4</sub>Cl и кипятят в течение 3 ч. По окончании реакции стружку отфильтровывают, раствор концентрируют при пониженном давлении, разбавляют 30 мл H<sub>2</sub>O, добавляют 10% водный раствор NaHCO<sub>3</sub> до pH 8–9. Выпавший осадок отфильтровывают и очищают методом флеш-хроматографии (элюент гексан–EtOAc, 1:3). Выход 2.6 г (85%), желтые кристаллы, т. пл. 173–175°C. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 8.20 (1H, с, CH); 7.49 (1H, д,  $J$  = 7.8, H Ar); 7.19 (1H, т,  $J$  = 7.8, H Ar); 6.74 (1H, д,  $J$  = 7.8, H Ar); 6.57 (1H, т,  $J$  = 7.8, H Ar); 5.79 (2H, с, NH<sub>2</sub>); 3.09 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.86 (3H, с, CH<sub>3</sub>). Спектр ЯМР  $^{13}C$ ,  $\delta$ , м. д.: 159.6; 146.2; 133.3; 128.0; 123.6; 117.1; 115.6; 41.2; 35.4. Найдено,  $m/z$ : 228.0795 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S. Вычислено,  $m/z$ : 228.0801.

**N-(2-[(Диметиламино)метилен]сульфамоил)-фенил-2-(гидроксимино)этанамид (7a) и 4H-1,2,4-бензотиадиазин-1,1-диоксид (7b).** К смеси 8.0 г (116 ммоль) гидрохлорида гидросиламина, 32.7 г (230 ммоль) безводного Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и 8.6 г (53 ммоль) хлоральгидрата в 125 мл H<sub>2</sub>O при 40°C и перемешивании добавляют раствор 2.6 г (35 ммоль) анилина **6** и 10.0 мл (180 ммоль) концентрированной H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в 20 мл H<sub>2</sub>O. Реакционную смесь нагревают при перемешивании до температуры кипения и затем охлаждают до комнатной температуры. Осадок отфильтровывают, промывают холодной H<sub>2</sub>O, сушат при пониженном давлении и очищают методом колоночной хроматографии (элюент CHCl<sub>3</sub>–MeOH, 10:1). Выход 1.3 г (40%), бесцветный порошок, т. пл. 190–192°C. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 12.62 (1H, с, OH); 10.30 (1H, с, NH); 8.34 (1H, д,  $J$  = 8.2, H Ar); 8.18 (1H, с, CH); 7.82 (1H, д,  $J$  = 7.8, H Ar); 7.63–7.57 (2H, м, H Ar, CH); 7.24 (1H, т,  $J$  = 7.8, H Ar); 3.10

(3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.90 (3H, с, CH<sub>3</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 160.8; 159.7; 143.9; 135.0; 133.4; 131.6; 127.4; 124.2; 122.3; 41.5; 35.7. Найдено, *m/z*: 299.0763 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, *m/z*: 299.0809.

**4*N*-1,2,4-Бензотиадиазин-1,1-диоксид (7b)**. Выход 0.7 г (34%), бесцветный порошок, т. пл. 241–243°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 12.27 (1H, уш. с, NH); 7.97 (1H, с, H Ar); 7.80 (1H, д, *J* = 7.8, H Ar); 7.66 (1H, т, *J* = 7.4, H Ar); 7.44 (1H, т, *J* = 7.8, H Ar); 7.30 (1H, д, *J* = 8.2, H Ar). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 148.1; 135.1; 133.6; 127.1; 124.1; 122.9; 118.0. Найдено, *m/z*: 183.0248 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S. Вычислено, *m/z*: 183.0223.

***N*-[(Диметиламино)метилен]-2,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-индол-7-сульфонамид (8)**. К 8 мл концентрированной H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> при 70°C и перемешивании порционно добавляют 1.0 г (8 ммоль) анилида **7a**. Смесь нагревают до 90°C и перемешивают в течение 2 ч, после чего охлаждают до комнатной температуры и выливают в 100 г льда. Раствор фильтруют и экстрагируют продукт EtOAc (5 × 20 мл). Объединенные органические фракции промывают раствором NaHCO<sub>3</sub> и H<sub>2</sub>O, сушат над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрируют при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии (элюент PhMe–EtOAc, 1:3→1:6). Выход 0.5 г (57%), желтый порошок, т. пл. 234–236°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 10.44 (1H, с, NH); 8.41 (1H, с, CH); 7.87 (1H, д, *J* = 7.8, *J* = 1.2, H Ar); 7.67 (1H, д, *J* = 7.8, H Ar); 7.17 (1H, т, *J* = 7.8, H Ar); 3.14 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.91 (3H, с, CH<sub>3</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 182.7; 160.5; 159.5; 146.8; 135.3; 128.2; 126.2; 123.0; 119.9; 41.5; 35.6. Найдено, *m/z*: 282.0573 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, *m/z*: 282.0543.

**1-(2,4-Дихлорбензил)-*N*-[(диметиламино)метилен]-2,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-индол-7-сульфонамид (9a)**. К смеси 100 мг (0.35 ммоль) 1*H*-индол-7-сульфонамида **8**, 147 мг (1.0 ммоль) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и 7 мг (0.04 ммоль) KI в 5 мл MeCN при комнатной температуре при перемешивании добавляют 90 мг (0.5 ммоль) 2,4-дихлорбензилхлорида. Смесь кипят в течение 4 ч, охлаждают, добавляют 30 мл холодной H<sub>2</sub>O, водный раствор 5% HCl до pH 5–6 и экстрагируют продукт EtOAc (3 × 15 мл). Объединенный органический экстракт промывают H<sub>2</sub>O, сушат над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрируют при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии (элюент гексан–EtOAc, 1:3). Выход 101 мг (64%), желтый порошок, т. пл. >250°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 8.09 (1H, с, CH); 8.06 (1H, д, *J* = 8.2, H Ar); 7.80 (1H, д, *J* = 8.2, H Ar); 7.58 (1H, д, *J* = 1.9, H Ar); 7.45 (1H, д, *J* = 8.2, H Ar); 7.30–7.22 (2H, м, H Ar); 5.60 (2H, с, CH<sub>2</sub>); 3.08 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.72 (3H, с, CH<sub>3</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 181.4; 160.7; 159.7; 147.6; 136.5; 135.0; 131.9; 129.4; 128.5; 128.2; 127.9; 127.2; 123.4; 121.9; 45.7; 41.4; 35.3. Найдено, *m/z*: 440.0203 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, *m/z*: 440.0233.

***N*-[(Диметиламино)метилен]-2,3-диоксо-1-{4-(трифторметил)сульфанил}бензил}-2,3-дигидро-1*H*-индол-7-сульфонамид (9b)** получают из формамида **8** и 4-(трифторметилсульфанил)бензилхлорида аналогично методике получения соединения **9a**. Выход 89 мг (57%),

желтый порошок, т. пл. 213–215°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 8.10–8.06 (2H, м, CH, H Ar); 7.80 (1H, д, *J* = 7.9, H Ar); 7.60 (2H, д, *J* = 7.8, H Ar); 7.45 (2H, д, *J* = 7.8, H Ar); 7.27 (1H, т, *J* = 7.9, H Ar); 5.70 (2H, с, CH<sub>2</sub>); 3.04 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.53 (3H, с, CH<sub>3</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д. (*J*, Гц): 181.2; 160.1; 159.5; 147.4; 142.1; 136.5; 136.0 (2C); 129.7 (к, *J* = 307.8, CF<sub>3</sub>); 128.0; 127.7 (2C); 127.6; 123.0; 121.2; 120.4 (к, *J* = 1.5); 46.5; 41.0; 34.7. Найдено, *m/z*: 472.0598 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>. Вычислено, *m/z*: 472.0607.

**1-(2,4-Дихлорбензил)-2,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-индол-7-сульфонамид (2a)**. К раствору 80 мг (0.2 ммоль) *N,N*-диметилформимидамида **9a** в 5 мл MeOH добавляют 1 мл концентрированной HCl и кипятят при перемешивании в течение 3 ч. Смесь охлаждают, разбавляют H<sub>2</sub>O, продукт экстрагируют EtOAc (2 × 30 мл). Органический экстракт промывают 10% водным раствором NaHCO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрируют при пониженном давлении. Остаток очищают методом флеш-хроматографии (элюент гексан–EtOAc, 1:1). Выход 58 мг (83%), желтый порошок, т. пл. >250°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 8.03 (1H, д, *J* = 7.6, H Ar); 7.97 (2H, с, NH<sub>2</sub>); 7.81 (1H, д, *J* = 7.6, H Ar); 7.57 (1H, д, *J* = 2.0, H Ar); 7.47 (1H, д, *J* = 8.2, H Ar); 7.31 (1H, т, *J* = 7.6, H Ar); 7.24 (1H, д, *J* = 8.2, <sup>2</sup>*J* = 2.0, H Ar); 5.30 (2H, с, CH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 181.4; 160.6; 147.3; 135.8; 134.5; 132.0; 131.9; 129.7; 129.3; 128.4; 127.9; 127.0; 123.3; 121.9; 46.1. Найдено, *m/z*: 382.9705 [M–H]<sup>+</sup>. C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, *m/z*: 382.9666. ВЭЖХ: элюент А – COONH<sub>4</sub> (0.2%) pH 4.5, элюент В – MeCN; градиент В 30/80%, 30 мин, *t*<sub>R</sub> 18.8 мин, чистота 97%.

**2,3-Диоксо-1-{4-(трифторметил)сульфанил}бензил}-2,3-дигидро-1*H*-индол-7-сульфонамид (2b)** получают из *N,N*-диметилформимидамида **9b** аналогично методике получения соединения **2a**. Выход 56 мг (80%), желтый порошок, т. пл. 216–218°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 8.06 (1H, д, *J* = 8.2, H Ar); 8.00 (2H, с, NH<sub>2</sub>); 7.80 (1H, д, *J* = 7.4, H Ar); 7.58 (2H, д, *J* = 7.8, H Ar); 7.46 (2H, д, *J* = 7.8, H Ar); 7.31 (1H, т, *J* = 7.4, H Ar); 5.43 (2H, с, CH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д. (*J*, Гц): 181.5; 160.6; 147.5; 141.9; 136.1 (3C); 129.9 (к, *J* = 307.5, CF<sub>3</sub>); 129.3; 128.4 (2C); 128.0; 123.3; 121.7; 120.8; 47.5. Найдено, *m/z*: 414.9974 [M–H]<sup>+</sup>. C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>. Вычислено, *m/z*: 415.0040. ВЭЖХ: элюент А – COONH<sub>4</sub> (0.2%) pH 4.5, элюент В – MeCN; градиент В 30/80%, 30 мин, *t*<sub>R</sub> 19.9 мин, чистота 99%.

**2,3-Диоксо-2,3-дигидро-1*H*-индол-7-сульфонамид (10)** получают из *N,N*-диметилформимидамида **8** аналогично методике получения соединения **2a**. Выход 93 мг (74%), желтый порошок, т. пл. 244–246°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 10.51 (1H, с, NH); 7.89 (1H, д, *J* = 7.2, H Ar); 7.71 (1H, д, *J* = 7.2, H Ar); 7.64 (2H, с, NH<sub>2</sub>); 7.21 (1H, т, *J* = 7.2, H Ar). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 182.6; 159.5; 146.5; 135.0; 128.2; 127.4; 123.0; 120.0. Найдено, *m/z*: 224.9972 [M–H]<sup>+</sup>. C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, *m/z*: 224.9666. ВЭЖХ: элюент А – H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (0.01 M) pH 2.6, элюент В – MeCN; градиент В 10/50%, 30 мин, *t*<sub>R</sub> 9.9 мин, чистота 99%.

**(3Z)-3-(Гидроксимино)-1-(2,4-дихлорбензил)-2-оксо-2,3-дигидро-1*H*-индол-7-сульфонамид (11a).** К раствору 100 мг (0.3 ммоль) 1-замещенного изатин-7-сульфонамида **2a** в 5.0 мл MeOH добавляют 5.0 мкл концентрированной HCl и 23 мг (0.4 ммоль) гидрохлорида гидроксилamina. Смесь кипятят в течение 1 ч, концентрируют при пониженном давлении, разбавляют 10 мл H<sub>2</sub>O и экстрагируют продукт EtOAc (2 × 10 мл). Объединенный органический экстракт промывают H<sub>2</sub>O, сушат над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрируют при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии (элюент гексан–EtOAc, 1:2). Выход 113 мг (92%), желтоватый порошок, т. пл. >250°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 14.05 (1H, уш. с, OH); 8.37 (1H, д, *J* = 7.4, H Ar); 7.90 (2H, с, NH<sub>2</sub>); 7.87 (1H, д, *J* = 8.2, H Ar); 7.59 (1H, с, H Ar); 7.30 (1H, т, *J* = 7.8, H Ar); 7.23 (1H, д, *J* = 8.2, H Ar); 6.91 (1H, д, *J* = 8.2, H Ar); 5.42 (2H, с, CH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 164.8; 141.6; 139.9; 134.8; 132.3; 131.9; 130.7; 130.5; 128.7; 128.4; 128.3; 127.4; 123.0; 118.6; 45.1. Найдено, *m/z*: 397.9722 [M–H]<sup>+</sup>. C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, *m/z*: 397.9775. ВЭЖХ: элюент А – COONH<sub>4</sub> (0.2%) pH 4.5, элюент В – MeCN; градиент В 30/80%, 30 мин; *t*<sub>R</sub> 16.4 мин, чистота 98%.

**2-[1-(2,4-Дихлорбензил)-2-оксо-7-сульфамоил-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-илиден]гидразинкарбоксимид-амида гидрохлорид (11b).** К раствору 100 мг (0.26 ммоль) 1-замещенного изатин-7-сульфонамида **2a** в 5.0 мл MeOH добавляют 5.0 мкл концентрированной HCl и 46 мг (0.33 ммоль) бикарбоната аминокуанидина. Смесь кипятят в течение 1 ч, концентрируют при пониженном давлении, разбавляют 10 мл H<sub>2</sub>O, добавляют 10% водный раствор NaHCO<sub>3</sub> до pH 8–9 и экстрагируют продукт EtOAc (2 × 10 мл). Объединенные органические фракции промывают H<sub>2</sub>O, сушат над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрируют при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии (элюент CHCl<sub>3</sub>–MeOH–NH<sub>4</sub>OH, 70:20:3). К раствору полученного аминокуанидина в 3 мл MeOH добавляют раствор 10% HCl в 50 мкл MeOH и перемешивают в течение 20 мин. Раствор концентрируют при пониженном давлении, осаждают продукт добавлением 10 мл Et<sub>2</sub>O, выпавший осадок отфильтровывают и сушат при пониженном давлении. Выход 73 мг (63%), желтоватый порошок, т. пл. 243–245 (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 12.42 (1H, с, H<sup>+</sup>); 8.78 (2H, уш. с, 2NH); 8.65 (2H, уш. с, NH<sub>2</sub>); 8.33 (1H, д, *J* = 1.6, H Ar); 7.86 (1H, д, *J* = 8.2, <sup>2</sup>*J* = 1.6, H Ar); 7.69 (1H, с, H Ar); 7.42–7.29 (4H, м, H Ar, NH<sub>2</sub>); 7.14 (1H, д, *J* = 8.2, H Ar); 5.04 (2H, с, CH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 160.9; 156.5; 145.5; 139.7; 135.9; 135.4; 133.6; 133.5; 131.9; 130.4; 130.1; 129.6; 128.1; 120.0; 119.8; 110.8; 41.3. Найдено, *m/z*: 441.0290 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>S. Вычислено, *m/z*: 441.0298. ВЭЖХ: элюент А – H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (0.01 M) pH 2.6, элюент В – MeCN; градиент В 20/80%, 30 мин; *t*<sub>R</sub> 13.2 мин, чистота 96%.

**Исследование антипролиферативной активности полученных соединений 1a, 2a,b, 10, 11a,b** проводили на линиях клеток дикого типа (MCF7, A431, HCC1954,

Raji, Daudi, HCT116, HL60, SKOV3, THP-1, HEK-293), приобретенных в Американской коллекции типовых культур (ATCC), линии RPMI-8866 из Европейской коллекции охарактеризованных клеточных культур (ECACC), линии Granta-519 из коллекции DSMZ и на клетках линии HCT116 p53(–/–), полученных в лаборатории профессора Б. Фогелстайна в Университете Джона Хопкинса (США) и предоставленных профессором Б. Копниным (Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина Минздрава России). Фибробласты hFB-hTERT любезно предоставлены Э. Дашинимеевым и В. Татарским.<sup>26</sup>

Клетки линий Raji, RPMI-8866, THP-1, Granta-519, Daudi, HL60, HCT116 и HCT116 p53(–/–) культивируют в среде RPMI-1640 (ПанЭко, Россия), клетки A431, HCC1954, hFB-hTERT, SKOV3, HEK-293 и K562 – в модифицированной по Дульбекко среде Игла (DMEM, ПанЭко, Россия), клетки MCF7 – в среде Игла (Gibco, США) с добавлением 0.01 мг/мл инсулина (Thermo Fisher Scientific). В среды добавляют 10% эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone), 2 mM L-глутамина (ПанЭко), 0.11 мг/мл натрия пирувата, 100 ед/мл пенициллина (ПанЭко) и 100 мкг/мл стрептомицина (ПанЭко). Культивирование клеточных культур выполняют при 37°C и 5% CO<sub>2</sub> в увлажненной атмосфере (80–90%) в инкубаторе Binder (Германия). В экспериментах используют культуры в логарифмической фазе роста.

Клетки рассеивают в 96-луночные планшеты (Nunc, США) (MCF7, A431, HCC1954, hFB-hTERT, HCT116, HCT116 p53(–/–), HL60, SKOV3, HEK293, K562 – в количестве 5·10<sup>3</sup> клеток в 190 мкл соответствующей культуральной среды; Raji, RPMI-8866, Granta-519 – 5.6·10<sup>3</sup> клеток; THP-1, Daudi – 6.2·10<sup>3</sup> клеток), инкубируют в течение 24 ч. Затем вносят по 10 мкл растворов исследуемых соединений в культуральной среде, приготовленных серийными разведениями из исходного раствора в 10 mM ДМСО, до конечных концентраций 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6, 12, 25 и 50 мкМ. Контролем служат клетки, обработанные соответствующим объемом растворителя (ДМСО). В качестве препарата сравнения используют доксорубин, конечные концентрации составляют 0.012, 0.047, 0.1875, 0.75 и 3 мкМ. Содержание растворителя в среде не превышает 0.5%.

Клетки инкубируют в течение 72 ч и после окончания инкубации в лунки вносят для развития окраски по 20 мкл раствора 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ, Россия, 5 мг/мл в фосфатно-солевом буфере, ПанЭко), в случае культур Raji, RPMI-8866, THP-1, Granta-519, Daudi – по 33 мкл. О жизнеспособности клеток судят по цветной реакции, развивающейся при восстановлении тетразолия дегидрогеназами митохондрий до нерастворимого в культуральной среде формазана.

После окончания инкубации планшеты с суспензионными линиями клеток K562, Raji, RPMI-8866, THP-1, Granta-519, Daudi перед удалением среды предварительно центрифугируют при 400 g в течение 10 мин на центрифуге Rotina 380 (Hettich). Далее из всех планшетов отбирают культуральную среду, и клетки суспен-

дируют в 100 мкл ДМСО (AppliChem). Легким встряхиванием планшетов добиваются растворения фиолетовых кристаллов формазана и измеряют оптическую плотность растворов на автоматическом фотометре для микропланшетов ELx800 (BioTek, США) при длине волны 570 нм, длина волны 630 нм используется как референсная.

Процент клеток, выживших при действии каждой концентрации исследуемого соединения, подсчитывают как частное от деления значения средней оптической плотности в лунках после инкубации с данной концентрацией соединения на значение средней оптической плотности контрольных лунок (значения последних приняты за 100%). Антипролиферативная активность при каждой концентрации указывается как среднее значение трех независимых измерений. Значения IC<sub>50</sub> рассчитывают как концентрацию соединения, снижающую поглощающую способность раствора на 50% по сравнению с контрольным образцом. Расчеты выполняют с использованием программы GraphPad 8.0.

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

*Исследование частично поддержано РНФ, проект № 20-13-00402-П, <https://rscf.ru/project/23-13-45035/>.*

*Авторы выражают благодарность Альвине Хамидуллиной и Центру высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины Института биологии гена Российской академии наук за предоставление оборудования (микропланшетный спектрофотометр).*

### Список литературы

- Arif, M. N.; Sarwar, S.; Firdous, F.; Saleem, R. S. Z.; Nadeem, H.; Alamro, A. A.; Alghamdi, A. A.; Alshammari, A. H.; Farooq, O.; Khan, R. A.; Faisal, A. *Front. Chem.* **2024**, 12, 1424637.
- Chechani, B.; Kumar, M.; Yadav, D. K.; Sharma, S.; Kumari, N. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2024**, 60, 280.
- Izmest'ev, A. N.; Isakov, S. S.; Kravchenko, A. N.; Gazieva, G. A. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2024**, 60, 196.
- Ding, Z.; Zhou, M.; Zeng, C. *Arch. Pharm.* **2020**, 353, 1900367.
- Marques, C. S.; González-Bakker, A.; Padrón, J. M. *Beilstein J. Org. Chem.* **2024**, 20, 1213.
- Ghomashi, R.; Ghomashi, S.; Aghaei, H.; Massah, A. R. *Curr. Med. Chem.* **2023**, 30, 407.
- Krymov, S. K.; Salnikova, D. I.; Dezhenkova, L. G.; Bogdanov, F. B.; Korlyukov, A. A.; Scherbakov, A. M.; Shchekotikhin, A. E. *Pharmaceuticals* **2024**, 17, 32.
- Binjawhar, D. N.; Katouah, H. A.; Alshaye, N. A.; Alharthi, J.; Alsharif, G.; Elsaid, F. G.; Fayad, E.; Almaaty, A. H. A. *RSC Adv.* **2024**, 14, 20120.
- Limpachayaporn, P.; Wagner, S.; Kopka, K.; Schober, O.; Schäfers, M.; Haufe, G. *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 9383.
- Jiang, Y.; Hansen, T. V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 1626.
- Ivachtchenko, A. V.; Il'yin, A. P.; Kobak, V. V.; Zolotarev, D. A.; Boksha, L. V.; Trifilenkov, A. S.; Ugoleva, D. M. *J. Comb. Chem.* **2002**, 4, 419.
- Ezz Eldin, R. R.; Saleh, M. A.; Alwarsh, S. A.; Rushdi, A.; Althoqapy, A. A.; El Saeed, H. S.; Elmaaty, A. A. *Pharmaceuticals* **2023**, 16, 1247.
- Langenbeck, W.; Heuchel, D. *Monatsh. Chem.* **1967**, 98, 535.
- Borror, A. L.; Chinoporos, E.; Filosa, M. P.; Herchen, S. R.; Petersen, C. P.; Stern, C. A.; Onan, K. D. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2047.
- Muanprasat, C.; Kaewmokul, S.; Chatsudthipong, V. *Biol. Pharm. Bull.* **2007**, 30, 502.
- Krymov, S. K.; Scherbakov, A. M.; Salnikova, D. I.; Sorokin, D. V.; Dezhenkova, L. G.; Ivanov, I. V.; Vullo, D.; De Luca, V.; Capasso, C.; Supuran, C. T.; Shchekotikhin, A. E. *Eur. J. Med. Chem.* **2022**, 228, 113997.
- Marciniec, K.; Pawelczak, B.; Latocha, M.; Sułkowski, L.; Maślankiewicz, A.; Maciążek-Jurczyk, M.; Boryczka, S. *Spectrosc. Lett.* **2017**, 50, 532.
- Volodina, Y. L.; Dezhenkova, L. G.; Tikhomirov, A. S.; Tatarskiy, V. V.; Kaluzhny, D. N.; Moisenovich, A. M.; Moisenovich, M. M.; Isagulieva, A. K.; Shtil, A. A.; Tsvetkov, V. B.; Shchekotikhin, A. E. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 165, 31.
- Güzel-Akdemir, Ö.; Akdemir, A.; Karali, N.; Supuran, C. T. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13, 6493.
- Nocentini, A.; Trallori, E.; Singh, S.; Lomelino, C. L.; Bartolucci, G.; Di Cesare Mannelli, L.; Ghelardini, C.; McKenna, R.; Gratteri, P.; Supuran, C. T. *J. Med. Chem.* **2018**, 61, 10860.
- Tawfik, H. O.; Petreni, A.; Supuran, C. T.; El-Hamamsy, M. H. *Eur. J. Med. Chem.* **2022**, 232, 114190.
- Abdel-Mohsen, H. T.; El Kerdawy, A. M.; Omar, M. A.; Petreni, A.; Allam, R. M.; El Diwani, H. I.; Supuran, C. T. *Eur. J. Med. Chem.* **2022**, 228, 114004.
- Vahermo, M.; Krogerus, S.; Nasereddin, A.; Kaiser, M.; Brun, R.; Jaffe, C. L.; Yli-Kauhaluoma J.; Moreira, V. M. *MedChemComm* **2016**, 7, 457.
- Liu, X.; Shan, K.; Shao, X.; Shi, X.; He, Y.; Liu, Z.; Jacob, J. A.; Deng, L. *Int. J. Nanomed.* **2021**, 753.
- Garner, S. A.; Krische, M. J. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 5843.
- Yegorov, Y. E.; Moldaver, M. V.; Vishnyakova, K. S.; Terekhov, S. M.; Dashinimaev, E. B.; Cheglakov, I. B.; Toropygin I. Y.; Yarygin, K. N.; Chumakov, P. M.; Korochnik, L. I.; Antonova, G. A.; Rybalkina, E. Y.; Saburina, I. N.; Burnaevskii, N. S.; Zelenin, A. V. *Russ. J. Dev. Biol.* **2007**, 38, 76.