

Новые 3,4-бис(индол-1-ил)малеимиды как ингибиторы протеинкиназ

Алексей А. Панов^{1*}, Сергей А. Лакатош¹, Михаэль Х. Г. Куббугат²,
Любовь Г. Деженкова³, Франк Тотцке², Кристоф Шехтеле²

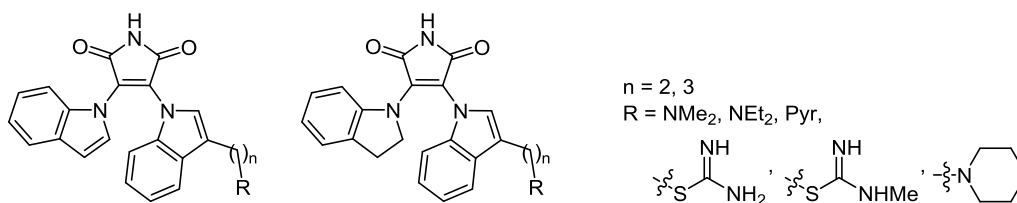
¹ Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе,
ул. Большая Пироговская, д. 11, стр. 1, Москва 119021, Россия; e-mail: 7745243@mail.ru

² Прокиназ, Фрайбургский центр биологии опухолей,
ул. Брайсахер, 117, Фрайбург 79106, Германия; e-mail: f.totzke@proqinase.com

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

Поступило 13.05.2019

Принято 17.06.2019



Синтезирована серия ранее неописанных производных 3,4-бис(индол-1-ил)малеимида, а также 3-(2,3-дигидроиндол-1-ил)-4-(индол-1-ил)малеимида – аналогов известной серии ингибиторов протеинкиназ соединений BIS I, IV, IX, основой которых является фрагмент 3,4-бис(индол-3-ил)малеимида. Для синтезированных соединений были определены активность в отношении ряда протеинкиназ человека и цитотоксичность.

Ключевые слова: индол, индолилмалеимида, ингибиторы протеинкиназ, протеинкиназы, противоопухолевые препараты.

Протеинкиназы (ПК) играют важную роль в регуляции большинства процессов, происходящих в клетке: пролиферация и клеточный цикл, внутриклеточный метаболизм, выживание клетки и апоптоз, устранение повреждений ДНК, подвижность клетки, ответ на сигналы извне и другие процессы. Поэтому эти ферменты могут рассматриваться как мишени для потенциальных новых лекарственных средств, в том числе и противоопухолевых.^{1,2} Производные бис(индол-3-ил)малеимида, например соединения **1a–c** (так называемые соединения BIS)^{3,4} и **2** (рубоксистаурин),^{5,6} являются известными селективными ингибиторами ПК-α и ПК-β соответственно (рис. 1).^{4,6} Они взаимодействуют с АТФ-связывающим доменом фермента за счет водородных связей между малеимидным фрагментом и соответствующими полярными группами в АТФ-связывающем домене, а также благодаря вандерваальсовым взаимодействиям между индольными циклами и гидрофобными фрагментами аминокислот в АТФ-связывающем домене.^{7,8} Селективность взаимодействия с той или иной киназой достигается за счет модификации гидрофобных фрагментов ингибитора

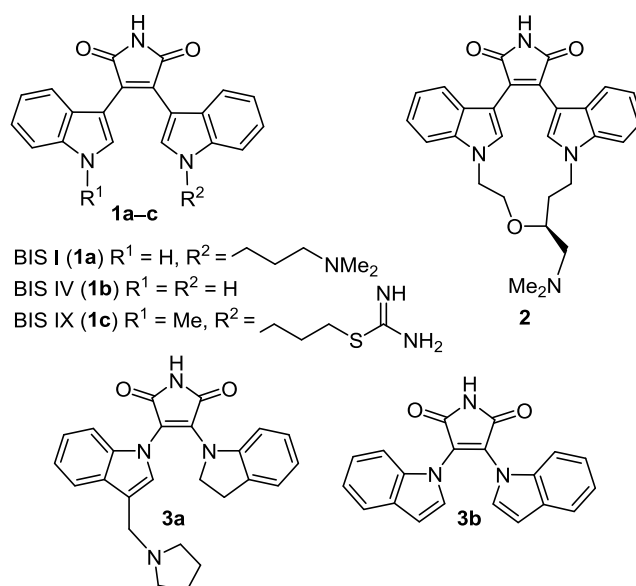
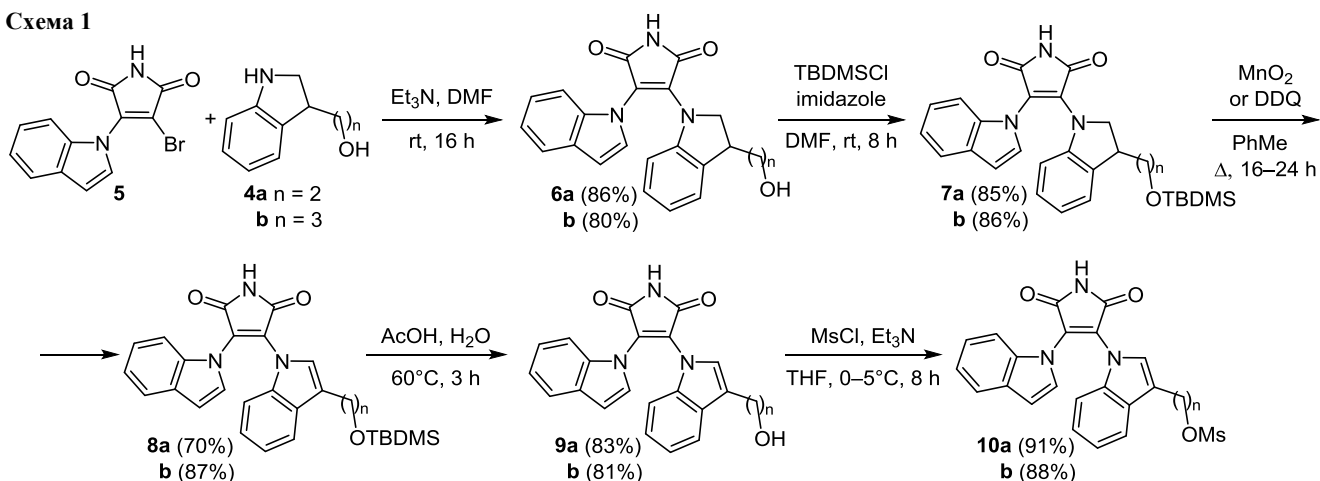


Рисунок 1. Структуры производных бис(индолил)малеимида: селективных ингибиторов ПК-α и ПК-β – соединений **1a–c** и рубоксистаурина (**2**), а также соединений **3a, b**.

Схема 1



или введения соответствующих боковых цепей, как это реализовано в случае рубоксистерина (2), соединений BIS 1a–c или других ингибиторов ПК.^{4,6,8}

Ранее нами были описана серия аналогов (индол-3-ил)малеимидов, содержащих фрагмент (индол-1-ил)малеимида, то есть индольный фрагмент в которых оказывается как бы в перевернутом положении (соединения 3a,b, рис. 1).^{9–11} Цель настоящей работы – синтезировать близкие аналоги соединений BIS, таких как соединений BIS I (1a) или BIS IX (1c), и исследовать их активность в отношении ПК-α или других ПК, имеющих значение для развития и роста опухолей, а также их антипролиферативную активность. Известно, что ингибиторы ПК-α могут предотвращать развитие лекарственной устойчивости у опухолевых клеток при их обработке цитостатическими агентами, поэтому поиск новых ингибиторов этого фермента перспективен для разработки средств комбинированной терапии опухолевых заболеваний.

Для синтеза ключевых соединений мы воспользовались методом, описанным нами ранее.¹⁰ В результате конденсации 2-(индолин-3-ил)этан-1-ола (4a) или 3-(индолин-3-ил)пропан-1-ола (4b) с 3-бром-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дионом (5) образовались соответствующие 3,4-дизамещенные производные малеимида 6a,b (схема 1). Гидроксильная группа производных 6a,b была защищена *tert*-бутилдиметилсилильной груп-

пой, что привело к образованию силильных эфиров 7a,b. После ароматизации индолинового фрагмента действием MnO₂ или 3,4-дихлор-5,6-дицианобензохинона (DDQ) в PhMe (7a,b→8a,b) защитная группа была удалена кислотным гидролизом (8a,b→9a,b), и затем гидроксильная группа в соединениях 9a,b была активирована путем превращения их в соответствующие мезилаты 10a,b. Конденсация мезилатов 10a,b с азотсодержащими нуклеофилами привела к образованию целевых аминов или карбамимидотиоатов 11a–d и 12a–f (схема 2).

Поскольку ранее было установлено, что производные 3-(2,3-дигидроиндол-1-ил)-4-(индол-1-ил)малеимида также могут обладать активностью в отношении ПК,⁹ нами была синтезирована серия аналогов соединений 12, в которых незамещенный индольный цикл был заменен на фрагмент индолина.

Конденсация 3-бром-4-{3-[3-(*tert*-бутилдиметилсилилокси)пропил]индолин-1-ил}малеимида (13)¹¹ с индолином привела к интермедиату 14 (изомерному эфиру 7b). Защитная группа TBDMS соединения 14 была удалена кислотным гидролизом, и образовавшаяся гидроксильная группа была активирована мезилированием, в результате чего образовалось соединение 15 (схема 3). В результате взаимодействия мезилата 15 с нуклеофильными реагентами (вторичными аминами, тио-мочевинной) были получены целевые соединения 16a–d.

Схема 2

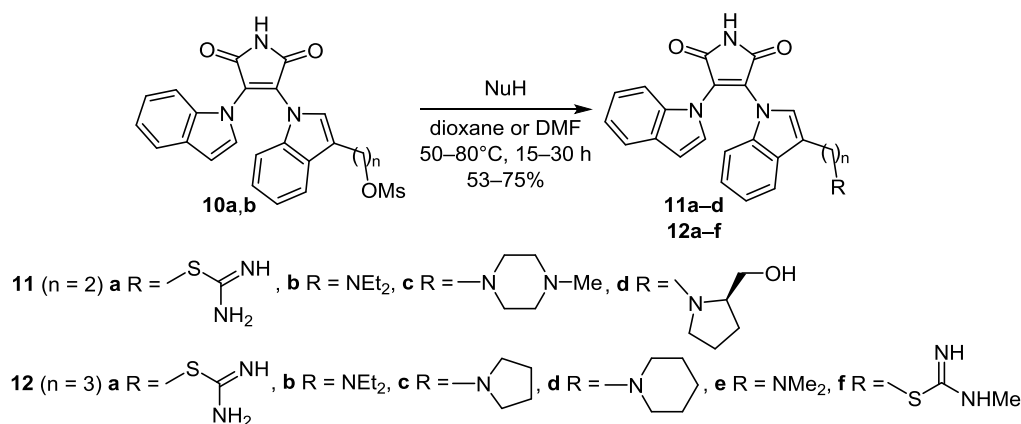
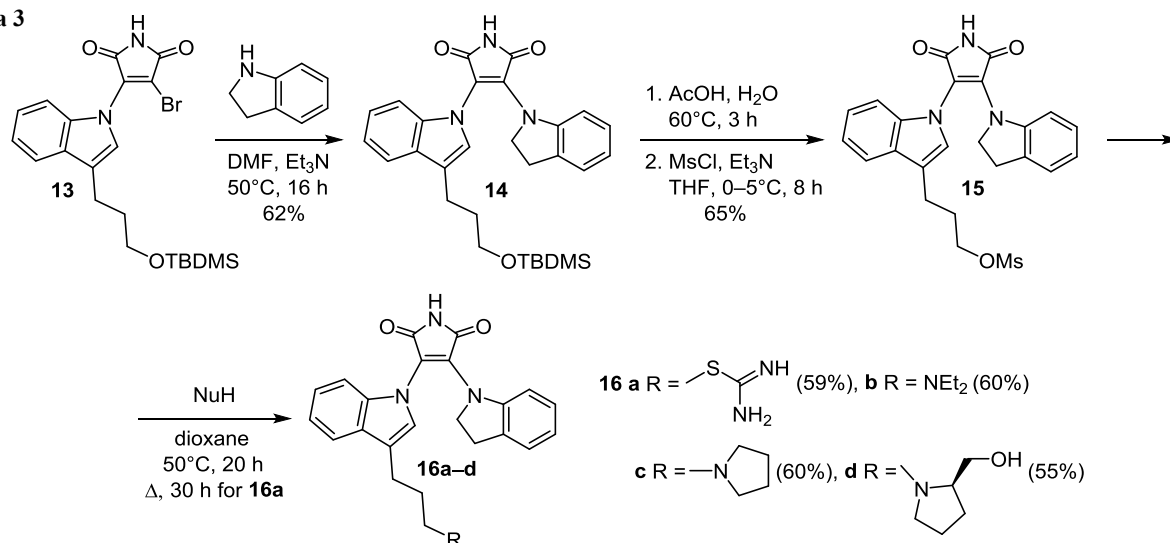


Схема 3



Была изучена активность синтезированных соединений в отношении панели 24 ПК человека (AKT1, ARK5, Aurora-A, Aurora-B, B-RAF-V600E, CDK2/СycA, CDK4/СycD1, COT, INS-R, MET, PDGFR- β , PLK1, SAK, SRC, TIE2, AXL, EGF-R, EPHB4, ERBB2, FAK, IGF1-R, VEGF-R2, VEGF-R3 и ПК- α). Большинство соединений было активно в отношении ПК- α со значениями IC_{50} на низком микромолярном или суб-микромолярном уровнях (табл. 1, приведены значения IC_{50} , не превышающие 10 μM). Эти ингибиторы содержали 3-диалкиламиноэтильные или 3-диалкиламинопропильные группы, как и в случае известного ингибитора ПК- α соединения BIS I (1a). Соединения 16b–d (структурные аналоги соединения BIS I (1a)), содержащие индолиновый фрагмент, были в целом более активны в отношении ПК- α , чем производные бис-(индол-1-ил)малеимида 12b–e. Интересно, что соединения 12a,f и 16a (аналоги соединения BIS IX (1c)), содержащие фрагмент изотиомочевины, не проявили активности в отношении этого фермента. Однако они проявили более широкий спектр активности в отношении других ПК со значениями IC_{50} на микромолярном уровне (табл. 2, приведены только данные для соединений и киназ со значениями IC_{50} менее 10 μM).

Антипролиферативную активность отобранных для этого теста соединений определяли на культурах опухолевых клеток НСТ116 (карцинома прямой кишки) и К-562 (лейкемия). После инкубации клеток с

Таблица 1. Активность соединений 11a–d, 12b–e и 16b–d в отношении ПК- α

Соединение	IC_{50}^* , μM	Соединение	IC_{50}^* , μM	Соединение	IC_{50}^* , μM
11a	1.6	12b	2.2	16b	0.72
11b	9.0	12c	1.4	16c	0.42
11c	10	12d	2.2	16d	0.95
11d	7.0	12e	0.85		

* IC_{50} – концентрация ингибитора, уменьшающая активность фермента на 50% (среднее значение трех независимых измерений).

Таблица 2. Активность соединений 12a,f и 16a в отношении ПК

Соединение	ПК	IC_{50}^* , μM	Соединение	ПК	IC_{50}^* , μM
12a	CDK2/СycA	5.9	16a	PDGFR- β	3.2
12a	CDK4/СycD1	3.3	16a	SRC	0.52
12a	SRC	8.6	16a	EGF-R	1.2
12a	TIE2	9.8	16a	TIE2	7.9
12a	IGF1-R	4.0	16a	ERBB2	8.8
12f	CDK4/СycD1	8.3	16a	FAK	3.0
16a	CDK2/СycA	1.8	16a	IGF1-R	0.54
16a	COT	1.1	16a	VEGF-R2	0.88
16a	INS-R	1.7	16a	VEGF-R3	2.4
16a	MET	1.0			

* IC_{50} – концентрация ингибитора, уменьшающая активность фермента на 50% (среднее значение трех независимых измерений).

тестируемыми соединениями в течение 72 ч рост оценивали при помощи МТТ-теста. Большинство соединений не влияло на рост опухолевых клеток выбранных линий. Умеренную активность проявили соединения 16b–d (табл. 3).

Таблица 3. Антипролиферативная активность (IC_{50}^* , μM) соединений 11b–d, 12b,c,e, 16b–d, BIS I (1a) в отношении клеток линий НСТ116 и К-562

Соединение	Линия клеток		Соединение	Линия клеток	
	НСТ116	К-562		НСТ116	К-562
11b	>50	>50	12e	>50	17.0 \pm 2.5
11c	40.0 \pm 6.0	19.5 \pm 2.3	16b	12.5 \pm 1.6	9.0 \pm 1.3
11d	>50	>50	16c	34.0 \pm 4.0	14.0 \pm 1.8
12b	>50	>50	16d	6.0 \pm 0.8	8.0 \pm 1.2
12c	>50	>50	BIS I (1a)	>50	>50

* IC_{50} – концентрация тестируемого соединения, уменьшающая рост клеток на 50% (время инкубации – 72 ч).

Таким образом, синтезированы три серии ранее неописанных производных бис(индол-1-ил)малеимида, а также 3-(2,3-дигидроиндол-1-ил)-4-(индол-1-ил)-малеимида, аналогов ингибиторов ПК- α соединений BIS I, IV, IX. Изучена их ингибиторная активность в отношении панели из 24 ПК человека. Большинство изученных соединений ингибировали ПК- α со значениями IC₅₀ на субмикромольном или микромольном уровне с селективностью по отношению к другим киназам панели. Соединения, содержащие фрагмент изотиомочевины, не проявили активности в отношении ПК- α , но при этом обладали действием в отношении других киназ. Производные бис(индол-1-ил)малеимида менее активны в отношении ПК- α , чем производные 3-(2,3-дигидроиндол-1-ил)-4-(индол-1-ил)малеимида. Некоторые соединения проявили умеренную цитотоксичность в отношении опухолевых клеток линий HCT-116 и K-562 в МТТ-тесте.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C зарегистрированы на приборе Varian VXR-400 (400 и 100 МГц соответственно) в ДМСО-*d*₆, внутренний стандарт – остаточные сигналы растворителя. Масс-спектры зарегистрированы на спектрометре SAQ 710 Finnigan (ионизация ЭУ, 70 эВ) при прямом вводе образца (температура источника ионов 150 °С). Масс-спектры высокого разрешения зарегистрированы на масс-спектрометре Bruker micrOTOF-Q II (Bruker Daltonics GmbH, Германия) с ионизацией электрораспылением. Аналитическая ВЭЖХ выполнена на колонках Kromasil 100A-C18 (размер частиц 5 мкм), регистрация пиков – на длине волны 254 нм. Для анализа использованы образцы с концентрацией 0.05–0.2 мг/мл. Температуры плавления определены на приборе Buchi SMP-20. Контроль за ходом реакций и чистотой полученных соединений осуществлен методом ТСХ на пластинах Silica Gel F254 (Merck). Для колоночной хроматографии использованы пластины Silica Gel Merck 60.

Экстракты высушены над безводным Na₂SO₄ и упарены при пониженном давлении на роторном испарителе. Растворители и реактивы приобретены из коммерческих источников и использованы без дополнительной очистки.

3-[3-(2-Гидроксиэтил)индолин-1-ил]-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (6a). К перемешиваемому раствору 2.9 г (10.0 ммоль) 3-бром-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-диона (**5**) в 20 мл ДМФА при комнатной температуре по каплям добавляют раствор 1.6 г (10.0 ммоль) 2-(индолин-3-ил)этан-1-ола (**4a**) и 1.5 мл (11.0 ммоль) Et₃N в 5 мл ДМФА. Реакционную смесь оставляют при перемешивании на 16 ч при той же температуре, затем добавляют 200 мл EtOAc и промывают 0.5 н. HCl (2 × 30 мл), 30 мл насыщенного раствора NaHCO₃, H₂O (2 × 30 мл), сушат над безводным Na₂SO₄ и упаривают при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии (элюент *n*-гептан–EtOAc, 4:1). Выход 3.2 г (86%), красное вязкое масло. Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.

(*J*, Гц): 1.70–1.85 (1H, м, CH₂); 1.92–2.00 (1H, м, CH₂); 3.37–3.45 (1H, м, 3-CH); 3.70–3.80 (2H, м, CH₂); 3.96–4.05 (1H, м, 2-CH₂); 4.35–4.45 (1H, м, 2-CH₂); 5.06 (1H, уш. с, OH); 6.00 (1H, д, *J* = 7.7, H Ar); 6.48 (1H, т, *J* = 7.8, H Ar); 6.62 (1H, д, *J* = 3.2, H Ar); 6.65 (1H, т, *J* = 8.2, H Ar); 6.91–6.96 (2H, м, H Ar); 7.05 (1H, д, *J* = 7.6, H Ar); 7.17–7.23 (1H, м, H Ar); 7.37 (1H, д, *J* = 3.2, H Ar); 7.47 (1H, д, *J* = 7.7, H Ar); 11.05 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 36.5; 38.2; 58.2; 60.9; 104.2; 108.6; 111.2; 111.8; 120.2; 120.4; 121.9; 122.4; 123.6; 126.4; 127.3; 128.4; 132.7; 135.4; 136.6; 142.1; 167.7; 168.6. Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 373 [M]⁺ (100), 330 [M–CHNO]⁺ (30). Найдено, *m/z*: 374.1507 [M+H]⁺. C₂₂H₁₉N₃O₃. Вычислено, *m/z*: 374.1499.

3-[3-(3-Гидроксипропил)индолин-1-ил]-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (6b) получают из 1.77 г (10.0 ммоль) 3-(индолин-3-ил)пропан-1-ола (**4b**) и 2.9 г (10.0 ммоль) 3-бром-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-диона (**5**) по методике получения пирролдиона **6a**. Выход 3.1 г (80%), красное твердое вещество, т. пл. 182–184 °С (*n*-гептан–EtOAc). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (*J*, Гц): 1.42–1.58 (2H, м, CH₂CH₂CH₂OH); 3.27–3.34 (1H, м, 3-CH); 3.46 (2H, т, *J* = 7.5, CH₂); 3.95 (1H, д, д, *J* = 14.0, *J* = 7.5, 2-CH₂); 4.42 (1H, д, д, *J* = 14.0, *J* = 11.0, 2-CH₂); 4.47 (1H, уш. с, OH); 5.96 (1H, д, *J* = 7.9, H Ar); 6.47 (1H, т, *J* = 7.7, H Ar); 6.62 (1H, д, *J* = 3.3, H Ar); 6.64 (1H, т, *J* = 7.3, H Ar); 6.94 (1H, т, *J* = 7.0, H Ar); 6.98 (1H, т, *J* = 7.1, H Ar); 7.02 (1H, д, *J* = 7.3, H Ar); 7.18 (1H, д, *J* = 7.9, H Ar); 7.39 (1H, д, *J* = 3.3, H Ar); 7.46 (1H, д, д, *J* = 7.0, *J* = 2.0, H Ar); 11.03 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 30.0; 30.2; 40.5; 58.0; 60.7; 104.1; 108.5; 111.3; 111.7; 120.2; 120.4; 122.0; 122.4; 123.7; 126.3; 127.4; 128.8; 132.8; 135.6; 136.6; 142.4; 167.6; 168.6. Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 387 [M]⁺ (100), 344 [M–CHNO]⁺ (43). Найдено, *m/z*: 388.1635 [M+H]⁺. C₂₃H₂₁N₃O₃. Вычислено, *m/z*: 388.1656.

3-[3-[2-(трет-Бутилдиметилсилилокси)этил]-индолин-1-ил]-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (7a). К раствору 3.7 г (10.0 ммоль) пиррол-2,5-диона **6a** и 0.7 г (11.0 ммоль) имидазола в 50 мл ДМФА при перемешивании добавляют 1.5 г (10.0 ммоль) трет-бутилдиметилсилилхлорида. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 8 ч, добавляют 200 мл EtOAc и промывают H₂O (3 × 100 мл). Органический слой сушат и упаривают, остаток хроматографируют (элюент *n*-гептан–EtOAc, 10:1). Выход 4.1 г (85%), красное масло. Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (*J*, Гц): 0.07 (6H, с, 2CH₃); 0.90 (9H, с, C(CH₃)₃); 1.68–1.80 (1H, м, OCH₂CH₂); 1.90–1.98 (1H, м, OCH₂CH₂); 3.38–3.46 (1H, м, 3-CH); 3.68–3.77 (2H, м, OCH₂); 3.99–4.07 (1H, м, 2-CH₂); 4.37–4.46 (1H, м, 2-CH₂); 5.96 (1H, д, *J* = 7.9, H Ar); 6.46 (1H, т, *J* = 7.9, H Ar); 6.60 (1H, д, *J* = 3.3, H Ar); 6.64 (1H, т, *J* = 8.3, H Ar); 6.92–6.96 (2H, м, H Ar); 7.03 (1H, д, *J* = 7.5, H Ar); 7.18 (1H, д, *J* = 7.7, H Ar); 7.39 (1H, д, *J* = 3.3, H Ar); 7.43–7.48 (1H, м, H Ar); 11.01 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: –5.4; –5.3; 17.9; 25.8 (3C); 36.5; 38.2; 58.1; 60.8; 104.1; 108.5; 111.1; 111.7; 120.2; 120.3; 121.8; 122.3; 123.6; 126.3; 127.4; 128.7; 132.6; 135.3; 136.5; 142.2; 167.5;

168.5. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 487 $[M]^+$ (70), 356 $[M-C_6H_{15}OSi]^+$ (100). Найдено, m/z : 488.2324 $[M+H]^+$. $C_{28}H_{33}N_3O_3Si$. Вычислено, m/z : 488.2364.

3-{3-[3-(трет-Бутилдиметилсилилокси)пропил]-индолин-1-ил}-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (7b) получают из 3.9 г (10.0 ммоль) пирролдиона **6b** по методике получения пиррол-2,5-диона **7a**. Выход 4.26 г (85%), красное масло. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 0.05 (6H, с, 2CH₃); 0.89 (9H, с, C(CH₃)₃); 1.48–1.59 (2H, м, CH₂CH₂CH₂O); 3.30–3.40 (3H, м, CH₂, 3-CH); 3.63 (2H, т, $J = 7.5$, OCH₂); 3.94 (1H, д, $J = 14.0$, $J = 7.5$, 2-CH₂); 4.41 (1H, д, $J = 14.0$, $J = 11.0$, 2-CH₂); 5.97 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 6.47 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 6.60 (1H, д, $J = 3.3$, H Ar); 6.64 (1H, т, $J = 7.3$, H Ar); 6.95 (1H, т, $J = 7.0$, H Ar); 6.98 (1H, т, $J = 7.1$, H Ar); 7.0 (1H, д, $J = 7.3$, H Ar) 7.18 (1H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.38 (1H, д, $J = 3.3$, H Ar); 7.45 (1H, д, $J = 7.0$, $J = 2.0$, H Ar); 11.02 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: –5.4 (2C); 17.9; 25.8 (3C); 29.7; 29.9; 40.2; 57.8; 62.3; 104.0; 108.4; 111.1; 111.6; 120.1; 120.2; 121.8; 122.2; 123.5; 126.2; 127.3; 128.6; 132.6; 135.4; 136.5; 142.2; 167.4; 168.4. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 501 $[M]^+$ (56), 370 $[M-C_6H_{15}OSi]^+$ (100). Найдено, m/z : 502.2486 $[M+H]^+$. $C_{29}H_{35}N_3O_3Si$. Вычислено, m/z : 502.2520.

3-{3-[2-(трет-Бутилдиметилсилилокси)этил]-1H-индол-1-ил}-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (8a). Метод I. К перемешиваемому раствору 2.0 г (4.1 ммоль) пиррол-2,5-диона **7a** в 150 мл PhMe добавляют 6.0 г MnO₂. Реакционную смесь кипятят в течение 24 ч, затем фильтруют горячей. Осадок промывают горячим EtOAc (3 × 150 мл). Фильтрат концентрируют при пониженном давлении и очищают методом колоночной хроматографии (элюент *n*-гептан–EtOAc, 10:1)

Метод II. К перемешиваемому раствору 4.0 г (8.2 ммоль) пиррол-2,5-диона **7a** в 250 мл PhMe порциями добавляют 2.4 г (10.7 ммоль) DDQ. Реакционную смесь нагревают до кипения и оставляют при перемешивании на 16 ч. Затем реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и фильтруют, осадок на фильтре промывают PhMe (3 × 50 мл). К фильтрату добавляют 100 мл насыщенного раствора Na₂SO₃ и встряхивают. Двухфазную смесь фильтруют. Органическую фазу отделяют и промывают насыщенным водным раствором NaHCO₃ (4 × 50 мл), сушат и упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют (элюент *n*-гептан–EtOAc, 10:1). Выход 1.4 г (70%, метод I), 2.8 г (71%, метод II), красное твердое вещество, т. пл. 102–104 °С (*n*-гептан). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 0.03 (6H, с, 2CH₃); 0.80 (9H, с, C(CH₃)₃); 2.90 (2H, т, $J = 6.6$, CH₂CH₂OSi); 3.82 (2H, т, $J = 6.6$, CH₂CH₂OSi); 6.54 (1H, д, $J = 8.3$, H Ar); 6.59 (1H, д, $J = 8.3$, H Ar); 6.70 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 6.72 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 6.74 (1H, д, $J = 3.4$, H Ar); 6.91 (2H, т, $J = 7.7$, H Ar); 7.44 (1H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.46 (1H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.47 (1H, с, H Ar); 7.60 (1H, д, $J = 3.4$, H Ar); 11.54 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: –5.3 (2C); 18.0; 25.9 (3C); 28.2; 62.8; 106.3; 110.8; 110.9; 117.1; 118.9; 120.6; 121.1; 121.3; 122.3; 122.4; 122.5; 123.6; 125.2; 128.0; 128.2; 128.5; 135.1; 135.2; 167.5;

167.6. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 485 $[M]^+$ (68), 354 $[M-C_6H_{15}OSi]^+$ (100). Найдено, m/z : 486.2155 $[M+H]^+$. $C_{28}H_{31}N_3O_3Si$. Вычислено, m/z : 486.2207.

3-{3-[3-(трет-Бутилдиметилсилилокси)пропил]-1H-индол-1-ил}-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (8b) получают из 2.0 г (4.0 ммоль) пиррол-2,5-диона **7b** по методу I синтеза соединения **8a**. Пиррол-2,5-дион **8b** также получают по методике получения соединения **8a** дегидрированием при помощи DDQ в кипящем PhMe (метод II). Выход 1.74 г (87%, метод I), 1.38 г (69%, метод II), красное твердое вещество, т. пл. 99–100 °С (*n*-гептан). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 0.04 (6H, с, 2CH₃); 0.83 (9H, с, C(CH₃)₃); 1.70–1.80 (2H, м, CH₂CH₂CH₂OSi); 2.77 (2H, т, $J = 7.0$, CH₂); 3.80–3.88 (2H, м, CH₂); 6.56 (1H, д, $J = 8.3$, H Ar); 6.59 (1H, д, $J = 8.3$, H Ar); 6.70 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 6.72 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 6.80 (1H, д, $J = 3.3$, H Ar); 6.91 (2H, т, $J = 7.7$, H Ar); 7.44 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.46 (1H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.47 (1H, с, H Ar); 7.60 (1H, д, $J = 3.4$, H Ar); 11.52 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: –5.3 (2C); 18.0; 25.9 (3C); 28.2; 61.4; 65.9; 106.4; 110.8; 110.9; 118.9; 119.6; 120.6; 121.1; 121.4; 122.4 (2C); 122.5; 123.6; 124.6; 128.0; 128.2; 128.3; 135.1; 135.4; 167.7 (2C). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 499 $[M]^+$ (58), 368 $[M-C_6H_{15}OSi]^+$ (100). Найдено, m/z : 500.2328 $[M+H]^+$. $C_{29}H_{33}N_3O_3Si$. Вычислено, m/z : 500.2364.

3-[3-(2-Гидроксиэтил)-1H-индол-1-ил]-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (9a). К раствору 1.0 г (2.1 ммоль) пиррол-2,5-диона **8a** в 40 мл AcOH при перемешивании добавляют 10 мл H₂O. Реакционную смесь перемешивают при 60 °С в течение 3 ч, затем упаривают при пониженном давлении. Остаток растворяют в 50 мл EtOAc, промывают насыщенным водным раствором NaHCO₃ (2 × 20 мл), 20 мл H₂O, сушат и упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют (элюент *n*-гептан–EtOAc, 5:1). Выход 0.65 г (83%), оранжевые кристаллы, т. пл. 156–158 °С (*n*-гептан–EtOAc). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.84 (2H, т, $J = 7.3$, CH₂CH₂OH); 3.64 (2H, т, $J = 7.3$, CH₂CH₂OH); 5.2 (1H, уш. с, OH); 6.54 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.58 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.72 (1H, т, $J = 8.1$, H Ar); 6.75 (1H, т, $J = 8.1$, H Ar); 6.76 (1H, д, $J = 2.5$, H Ar); 6.92 (1H, т, $J = 7.2$, H Ar); 6.94 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 7.44 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.54 (1H, д, $J = 7.7$, H Ar); 7.61 (1H, с, H Ar); 7.64 (1H, д, $J = 2.5$, H Ar); 11.53 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 24.5; 59.8; 106.5; 110.7; 110.8; 115.0; 119.0; 120.8; 121.3; 121.4; 122.6; 122.8; 123.0; 123.3; 126.0; 127.95; 128.0; 128.2; 135.1; 135.3; 167.7; 167.8. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 371 $[M]^+$ (100), 328 $[M-CHNO]^+$ (40). Найдено, m/z : 372.1302 $[M+H]^+$. $C_{22}H_{17}N_3O_3$. Вычислено, m/z : 372.1343.

3-[3-(3-Гидроксипропил)-1H-индол-1-ил]-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (9b) получают по методике получения пиррол-2,5-диона **9a** из 2.00 ммоль соединения **8b**. Выход 623 мг (81%), оранжевые кристаллы, т. пл. 163–165 °С (*n*-гептан–EtOAc). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.70–1.80 (2H, м, CH₂CH₂CH₂OH); 2.78 (2H, т, $J = 7.0$, CH₂(CH₂)₂OH); 3.78–3.88 (2H, м, CH₂OH); 4.86 (1H, уш. с, OH); 6.55 (1H, д, $J = 8.3$,

H Ar); 6.58 (1H, д, $J = 8.3$, H Ar); 6.71 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 6.74 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 6.81 (1H, д, $J = 3.3$, H Ar); 6.92 (2H, т, $J = 7.7$, H Ar); 7.43 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.45 (1H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.47 (1H, с, H Ar); 7.61 (1H, д, $J = 3.4$, H Ar); 11.50 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 28.3; 61.3; 66.1; 106.2; 110.7 (2C); 118.7; 119.5 120.7; 121.3; 121.5; 122.5; 122.6; 123.5; 123.6; 124.6; 128.1; 128.2; 128.3; 135.2; 135.4; 167.7 (2C). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 385 $[\text{M}]^+$ (100), 342 $[\text{M}-\text{CHNO}]^+$ (53). Найдено, m/z : 386.1477. $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$. Вычислено, m/z : 386.1499.

(2-{1-[4-(1H-Индол-1-ил)-2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-3-ил]-1H-индол-3-ил}этил)метансульфонат (10a). К перемешиваемому раствору 3.7 г (10.0 ммоль) пиррол-2,5-диона **9a** и 1.4 мл (10.0 ммоль) Et_3N в 20 мл ТГФ при температуре 0–5 °С по каплям добавляют раствор 1.2 г (10.5 ммоль) MsCl в 10 мл ТГФ. Реакционную смесь перемешивают при этой же температуре в течение 8 ч, отфильтровывают и упаривают при пониженном давлении. Остаток растворяют в 50 мл EtOAc , промывают насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2 × 20 мл), H_2O (3 × 20 мл) и упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют (элюент *n*-гептан– EtOAc , 5:1). Выход 4.1 г (91%), оранжевое твердое вещество, т. пл. 146–148 °С (*n*-гептан– EtOAc). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 3.16 (3H, с, CH_3); 3.12–3.21 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$); 4.40–4.50 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$); 6.53 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.58 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.71 (1H, т, $J = 8.1$, H Ar); 6.74 (1H, т, $J = 8.1$, H Ar); 6.76 (1H, д, $J = 2.5$, H Ar); 6.91 (1H, т, $J = 7.2$, H Ar); 6.93 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 7.45 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.52 (1H, д, $J = 7.7$, H Ar); 7.62 (1H, с, H Ar); 7.64 (1H, д, $J = 2.5$, H Ar); 11.52 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 24.5; 36.7; 59.8; 106.5; 110.9 (2C); 115.0; 119.0; 120.7; 121.3; 121.4; 122.5; 122.8; 123.0; 123.2; 126.0; 127.95; 128.0; 128.2; 135.1; 135.3; 167.6; 167.7. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 449 $[\text{M}]^+$ (75), 354 $[\text{M}-\text{CH}_3\text{O}_3\text{S}]^+$ (100), 311 $[\text{M}-\text{CHNO}-\text{CH}_3\text{O}_3\text{S}]^+$ (33). Найдено, m/z : 450.1079 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, m/z : 450.1118.

(3-{1-[4-(1H-Индол-1-ил)-2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-3-ил]-1H-индол-3-ил}пропил)метансульфонат (10b) получают из 3.85 г (10 ммоль) пиррол-2,5-диона **9b** по методике получения соединения **10a**. Выход 4.07 г (88%), оранжевое твердое вещество, т. пл. 150–153 °С (*n*-гептан– EtOAc). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.70–1.78 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$); 2.79 (2H, т, $J = 7.0$, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 3.15 (3H, с, CH_3); 3.85–3.95 (2H, м, CH_2O); 6.56 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.57 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.72 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 6.74 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 6.82 (1H, д, $J = 3.2$, H Ar); 6.92 (2H, т, $J = 7.7$, H Ar); 7.44 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.45 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.46 (1H, с, H Ar); 7.62 (1H, д, $J = 3.2$, H Ar); 11.54 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 28.3; 37.3; 61.3; 66.1; 106.2; 110.7 (2C); 118.7; 119.5 120.7; 121.3; 121.5; 122.5; 122.6; 123.5; 123.6; 124.6; 128.1; 128.2; 128.3; 135.2; 135.4; 167.3; 167.5. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 464 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (80), 368 $[\text{M}-\text{CH}_3\text{O}_3\text{S}]^+$ (100), 325 $[\text{M}-\text{CHNO}-\text{CH}_3\text{O}_3\text{S}]^+$ (23). Найдено, m/z : 464.1222 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, m/z : 464.1275.

(2-{1-[4-(1H-Индол-1-ил)-2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-3-ил]-1H-индол-3-ил}этил)карбамимидотиоат (11a). Раствор 200 мг (0.45 ммоль) соединения **10a** в 10 мл диоксана кипятят при перемешивании с 1 ммоль тиомочевини в течение 30 ч, затем охлаждают и упаривают при пониженном давлении. К остатку добавляют 30 мл EtOAc и 20 мл насыщенного водного раствора NaHCO_3 , органический слой промывают насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2 × 10 мл), сушат и упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют (элюент *i*-PrOH– EtOAc , 1:3). Выход 112 мг (59%), желтое твердое вещество, т. пл. 136–140 °С (с разл., *i*-PrOH– EtOAc). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 3.07 (2H, т, $J = 7.1$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$); 3.36 (2H, т, $J = 7.1$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$); 6.50 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.53 (1H, т, $J = 8.2$, H Ar); 6.68–6.75 (3H, м, H Ar); 6.87–6.92 (2H, м, H Ar); 7.44 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.51 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.59 (1H, с, H Ar); 7.62 (1H, д, $J = 3.4$, H Ar); 9.01 (3H, уш. с, NH, NH_2); 10.9 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 30.3; 79.2; 106.2; 110.8 (2C); 117.3; 119.0; 120.6; 121.1; 121.2; 122.5; 122.6; 123.1; 123.3; 125.6; 127.8; 128.1; 128.2; 135.1; 135.4; 169.8 (2C); 175.1. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 429 $[\text{M}]^+$ (66), 354 $[\text{M}-\text{CH}_3\text{N}_2\text{S}]^+$ (100). Найдено, m/z : 430.1263 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$. Вычислено, m/z : 430.1259.

3-{3-[2-(Диэтиламино)этил]-1H-индол-1-ил]-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (11b). К раствору 200 мг (0.5 ммоль) соединения **10a** в 5 мл диоксана добавляют 100 мг (1.3 ммоль) Et_2NH . Реакционную смесь перемешивают при 50 °С в течение 20 ч, охлаждают и упаривают при пониженном давлении. К остатку добавляют 30 мл EtOAc и 20 мл насыщенного водного раствора NaHCO_3 , органический слой промывают насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2 × 10 мл), 10 мл H_2O , сушат и упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют (элюент *i*-PrOH– EtOAc , 1:3). Выход 115 мг (60%), желтое твердое вещество, т. пл. 176–178 °С (*i*-PrOH– EtOAc). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.20–1.25 (6H, м, $2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 2.87–3.16 (6H, м, $2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3.32 (2H, т, $J = 7.3$, CH_2N); 6.54 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.58 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.69–6.77 (2H, м, H Ar); 6.92 (1H, т, $J = 7.9$, H Ar); 6.98 (1H, т, $J = 7.9$, H Ar); 7.46 (2H, д, $J = 8.1$, H Ar); 7.54 (1H, д, $J = 8.0$, H Ar); 7.57 (1H, с, H Ar); 7.64 (1H, д, $J = 3.4$, H Ar); 11.1 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 10.0 (2C); 20.5; 46.0 (2C); 51.4; 106.5; 110.9; 111.1; 116.7; 119.0; 120.7; 121.3; 121.4; 122.5; 122.8; 122.9; 123.4; 125.3; 128.1 (2C); 128.3; 135.1; 135.4; 167.7 (2C). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 427 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (70), 354 $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}]^+$ (100). Найдено, m/z : 427.2059 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2$. Вычислено, m/z : 427.2056.

3-(1H-Индол-1-ил)-4-{3-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)-этил]-1H-индол-1-ил}-1H-пиррол-2,5-дион (11c). К раствору 200 мг (0.45 ммоль) соединения **10a** в 10 мл диоксана добавляют 100 мг (1.0 ммоль) *N*-метилпиперазина. Реакционную смесь перемешивают при 80 °С в течение 15 ч, охлаждают и упаривают при пониженном давлении. К остатку добавляют 30 мл EtOAc и 20 мл насыщенного водного раствора NaHCO_3 ,

органический слой промывают насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2×10 мл), сушат и упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют (элюент $i\text{-PrOH-EtOAc}$, 1:3). Выход 112 мг (55%), желтое твердое вещество, т. пл. 156–158 °С (с разл., $i\text{-PrOH-EtOAc}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.18 (3H, с, NCH_3); 2.38 (4H, уш. с, 2CH_2); 2.49 (4H, уш. с, 2CH_2); 2.56 (2H, т, $J = 8.1$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2.84 (2H, т, $J = 8.1$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 6.53–6.57 (2H, м, H Ar); 6.72–6.74 (2H, м, H Ar); 6.75 (1H, д, $J = 3.4$, $J = 0.8$, H Ar); 6.91–6.99 (2H, м, H Ar); 7.46–7.58 (3H, м, H Ar); 7.61 (1H, д, $J = 3.4$, H Ar); 11.1 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 22.1; 45.7; 52.6 (2C); 54.8 (2C); 58.0; 106.4; 110.9; 111.0; 118.5; 118.8; 120.6; 121.1; 121.3; 122.4; 122.5; 122.6; 123.7; 124.8; 128.1; 128.2; 128.4; 135.1; 135.3; 167.7; 167.8. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 453 $[\text{M}]^+$ (68), 354 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}_2]^+$ (100). Найдено, m/z : 454.2169 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_2$. Вычислено, m/z : 454.2165.

(R)-3-(3-{2-[2-(Гидроксиметил)пирролидин-1-ил]-этил}-1H-индол-1-ил)-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (11d) получают из 200 мг (0.45 ммоль) мезилата **10a** и 101 мг (1 ммоль) L-пролинола по методике получения соединения **11c**. Выход 133 мг (65%), темно-желтые кристаллы, т.пл. 139–141 °С ($i\text{-PrOH-EtOAc}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.56–1.62 (1H, м, H пирролидин); 1.68–1.76 (2H, м, H пирролидин); 2.33–2.39 (1H, м, H пирролидин); 2.62–2.68 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2.86–2.94 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3.11–3.16 (1H, м, H пирролидин); 3.19–3.23 (1H, м, H пирролидин); 3.33 (1H, д, $J = 10.8$, $J = 6.3$, CH_2OH); 3.49 (1H, д, $J = 10.8$, $J = 4.8$, CH_2OH); 5.15 (1H, уш. с, OH); 6.55 (1H, д, $J = 8.4$, H Ar); 6.58 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.69–6.84 (2H, м, H Ar); 6.76 (1H, д, $J = 3.4$, H Ar); 6.89–6.94 (2H, м, H Ar); 7.46 (2H, д, $J = 7.7$, H Ar); 7.50 (1H, с, H Ar); 7.63 (1H, д, $J = 3.4$, H Ar); 11.45 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 22.8; 23.9; 27.9; 53.9; 54.9; 63.9; 65.6; 106.4; 110.9; 111.0; 118.3; 118.9; 120.6; 121.2; 121.3; 122.4 (2C); 122.6; 123.7; 124.8; 128.0; 128.2; 128.4; 135.1; 135.3; 167.8; 167.9. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 454 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (57), 354 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NO}]^+$ (100). Найдено, m/z : 454.2011 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_3$. Вычислено, m/z : 454.2005.

3-(1-[4-(1H-Индол-1-ил)-2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-3-ил]-1H-индол-3-ил)пропилкарбамимидотиоат (12a) получают из 200 мг (0.43 ммоль) мезилата **10b** и 76 мг (1.0 ммоль) тиомочевинины по методике получения карбамимидотиоата **11a**. Выход 97 мг (51%), красные кристаллы, т. пл. 139–142 °С (с разл., $i\text{-PrOH-EtOAc}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.69–1.79 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$); 2.75 (2H, т, $J = 7.1$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$); 2.87–2.99 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$); 6.54 (1H, д, $J = 8.1$, H Ar); 6.56 (1H, д, $J = 8.1$, H Ar); 6.69–6.73 (2H, м, H Ar); 6.86 (1H, д, $J = 3.3$, H Ar); 6.90–6.96 (2H, м, H Ar); 7.42 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.44 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.45 (1H, с, H Ar); 7.66 (1H, д, $J = 3.3$, H Ar); 9.33 (3H, уш. с, NH, NH_2); 11.53 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 28.9; 35.1; 61.4; 106.2; 110.5; 110.7; 118.7; 119.4; 120.6; 121.0; 121.1; 122.3; 122.5; 123.2; 123.4; 124.6; 128.0; 128.1; 128.3; 135.3; 135.4; 167.1; 167.2; 170.3. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 443 $[\text{M}]^+$ (47),

368 $[\text{M}-\text{CH}_3\text{N}_2\text{S}]^+$ (100). Найдено, m/z : 444.1420 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$. Вычислено, m/z : 444.1416.

3-{3-[3-(Диэтиламино)пропил]-1H-индол-1-ил}-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (12b) получают из 200 мг (0.43 ммоль) мезилата **10b** и 100 мг (1.3 ммоль) Et_2NH по методике получения соединения **11b**. Выход 132 мг (70%), красные кристаллы, т. пл. 146–149 °С (с разл., $i\text{-PrOH-EtOAc}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.20–1.27 (6H, м, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$); 1.69–1.78 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2.66 (2H, т, $J = 7.1$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2.78–2.87 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3.70–3.79 (4H, м, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$); 6.54 (1H, д, $J = 8.1$, H Ar); 6.58 (1H, д, $J = 8.1$, H Ar); 6.71–6.74 (2H, м, H Ar); 6.84 (1H, д, $J = 3.2$, H Ar); 6.94–6.96 (2H, м, H Ar); 7.44 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.46 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.48 (1H, с, H Ar); 7.65 (1H, д, $J = 3.2$, H Ar); 11.53 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 11.1 (2C); 28.4; 30.1; 42.3 (2C); 61.4; 106.4; 110.7; 110.9; 118.9; 119.5; 120.7; 121.1; 121.3; 122.4; 122.5; 123.3; 123.6; 124.7; 128.0; 128.2; 128.4; 135.3; 135.5; 167.3; 167.4. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 440 $[\text{M}]^+$ (47), 368 $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}]^+$ (100), 325 $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}-\text{CHNO}]^+$ (20). Найдено, m/z : 441.2216. $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_2$. Вычислено, m/z : 441.2212.

3-(1H-Индол-1-ил)-4-{3-[3-(пирролидин-1-ил)пропил]-1H-индол-1-ил}-1H-пиррол-2,5-дион (12c) получают из 200 мг (0.43 ммоль) мезилата **10b** и 71 мг (1 ммоль) пирролидина по методике получения соединения **11b**. Выход 131 мг (70%), красные кристаллы, т. пл. 159–161 °С (с разл., $i\text{-PrOH-EtOAc}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.71–1.80 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 1.81–1.89 (4H, м, 2CH_2 пирролидин); 2.53–2.65 (4H, м, 2CH_2 пирролидин); 2.68 (2H, т, $J = 7.0$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2.79–2.90 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 6.55 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.59 (1H, д, $J = 8.1$, H Ar); 6.71–6.73 (2H, м, H Ar); 6.85 (1H, д, $J = 3.2$, H Ar); 6.94–6.96 (2H, м, H Ar); 7.43 (1H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.45 (1H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.49 (1H, с, H Ar); 7.66 (1H, д, $J = 3.2$, H Ar); 11.51 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 24.5 (2C); 28.5; 30.1; 53.5 (2C); 61.3; 106.5; 110.6; 110.7; 118.7; 119.4; 120.5; 121.2; 121.4; 122.4; 122.6; 123.5; 123.6; 124.6; 128.1; 128.2; 128.4; 135.2; 135.3; 167.5; 167.6. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 438 $[\text{M}]^+$ (55), 368 $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8\text{N}]^+$ (100), 325 $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8\text{N}-\text{CHNO}]^+$ (22). Найдено, m/z : 439.2064. $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2$. Вычислено, m/z : 439.2056.

3-(1H-Индол-1-ил)-4-{3-[3-(пиперидин-1-ил)пропил]-1H-индол-1-ил}-1H-пиррол-2,5-дион (12d) получают из 200 мг (0.43 ммоль) мезилата **10b** и 85 мг (1 ммоль) пиперидина по методике получения соединения **11b**. Выход 128 мг (66%), красные кристаллы, т. пл. 132–135 °С (с разл., $i\text{-PrOH-EtOAc}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.34–1.42 (2H, м, CH_2 пиперидин); 1.47–1.54 (4H, м, 2CH_2 пиперидин); 1.70–1.85 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$, CH_2 пиперидин); 2.26–2.33 (4H, м, 2CH_2 пиперидин); 2.75 (2H, т, $J = 7.1$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 6.55 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.59 (1H, д, $J = 8.1$, H Ar); 6.71–6.74 (2H, м, H Ar); 6.85 (1H, д, $J = 3.2$, H Ar); 6.95–6.97 (2H, м, H Ar); 7.43 (1H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.45 (1H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.49 (1H, с, H Ar); 7.66 (1H, д, $J = 3.2$, H Ar); 11.51 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 21.9; 24.2; 25.6 (2C); 26.5; 54.0 (2C); 57.7; 105.8; 110.9; 111.0;

118.6; 119.0; 119.4; 120.7; 120.9; 121.2; 122.3; 122.5; 123.0; 124.3; 128.4; 128.5; 128.6; 135.6; 135.7; 167.5; 167.6. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 452 $[M]^+$ (47), 368 $[M-C_5H_{10}N]^+$ (100), 325 $[M-C_5H_{10}N-CHNO]^+$ (20). Найдено, m/z : 453.2219. $C_{28}H_{28}N_4O_2$. Вычислено, m/z : 453.2212.

3-{3-[3-(Диметиламино)пропил]-1H-индол-1-ил}-4-(1H-индол-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (12e). К раствору 200 мг (0.43 ммоль) мезилата **10b** в 20 мл ДМФА приливают 2 М раствор Et_2NH в ТГФ (1 мл, 2 ммоль), температуру при этом поддерживают не выше 5 °С. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 16 ч. Дальнейшую обработку реакционной смеси и очистку продукта проводят по методике выделения соединения **11b**. Выход 114 мг (64%), оранжевое твердое вещество, т. пл. 163–164 °С (с разл., *i*-PrOH–EtOAc). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.70–1.80 (2H, м, $CH_2CH_2CH_2N$); 2.67 (2H, т, $J = 7.0$, $CH_2CH_2CH_2N$); 2.78–2.89 (2H, м, $CH_2CH_2CH_2N$); 3.56 (6H, с, $N(CH_3)_2$); 6.55 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.58 (1H, д, $J = 8.2$, H Ar); 6.71–6.74 (2H, м, H Ar); 6.83 (1H, д, $J = 3.2$, H Ar); 6.94 (2H, т, $J = 7.7$, H Ar); 7.44 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.46 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.47 (1H, с, H Ar); 7.63 (1H, д, $J = 3.2$, H Ar); 11.51 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 28.3; 29.4; 47.5 (2C); 61.3; 106.3; 110.8; 110.9; 118.8; 119.4; 120.6; 121.2; 121.4; 122.5; 122.7; 123.5; 123.7; 124.6; 128.1; 128.2; 128.3; 135.3; 135.4; 167.2; 167.4. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 412 $[M]^+$ (57), 368 $[M-C_2H_6N]^+$ (100), 325 $[M-C_2H_6N-CHNO]^+$ (30). Найдено, m/z : 413.1902. $C_{25}H_{24}N_4O_2$. Вычислено, m/z : 413.1899.

3-{1-[4-(1H-Индол-1-ил)-2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-3-ил]-1H-индол-3-ил}пропил)-N-метилкарбамимидотиоат (12f) получают из 200 мг (0.43 ммоль) мезилата **10b** и 90 мг (1 ммоль) метилтиомочевины по методике получения карбамимидотиоата **11a**. Выход 104 мг (53%), красные кристаллы, т. пл. 130–132 °С (с разл., *i*-PrOH–EtOAc). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.68–1.76 (2H, м, $CH_2CH_2CH_2S$); 2.34 (3H, с, CH_3); 2.73 (2H, т, $J = 7.1$, $CH_2CH_2CH_2S$); 2.89–2.96 (2H, м, $CH_2CH_2CH_2S$); 6.52 (1H, д, $J = 8.1$, H Ar); 6.54 (1H, д, $J = 8.1$, H Ar); 6.71–6.74 (2H, м, H Ar); 6.85 (1H, д, $J = 3.3$, H Ar); 6.91–6.94 (2H, м, H Ar); 7.43 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.45 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 7.46 (1H, с, H Ar); 7.63 (1H, д, $J = 3.3$, H Ar); 9.23 (2H, уш. с, NH_2); 11.51 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 28.6; 30.6; 34.5; 60.9; 106.3; 110.6; 110.7; 118.8; 119.4; 120.4; 121.1; 121.2; 122.4; 122.5; 123.3; 123.5; 124.7; 128.1; 128.2; 128.4; 135.4; 135.5; 167.2; 167.4; 172.3. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 457 $[M]^+$ (47), 368 $[M-C_2H_5N_2S]^+$ (100). Найдено, m/z : 458.1581. $C_{25}H_{23}N_5O_2S$. Вычислено, m/z : 458.1572.

3-(3-{3-[(Трет-бутилдиметилсилил)окси]пропил}-1H-индол-1-ил)-4-(индолин-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (14). К раствору 1.5 г (3.20 ммоль) броммалеимида **13** в 20 мл ДМФА при перемешивании добавляют 0.5 г (4.20 ммоль) индолина и 0.5 мл (3.58 ммоль) Et_3N . Реакционную смесь перемешивают при 50 °С в течение 16 ч, затем добавляют 100 мл EtOAc и промывают 5% водным раствором лимонной кислоты (2 × 50 мл) и

H_2O (2 × 50 мл), сушат и упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют (элюент *n*-гептан–EtOAc, 5:1). Выход 1.3 г (62%), красное твердое вещество, т. пл. 109–111 °С (*n*-гептан–EtOAc). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 0.05 (6H, с, $2CH_3$); 0.90 (9H, с, $C(CH_3)_3$); 1.76–1.83 (2H, м, $CH_2CH_2CH_2O$); 2.72 (2H, т, $J = 7.4$, $CH_2CH_2CH_2O$); 3.06 (2H, т, $J = 8.0$, 2- CH_2); 3.64 (2H, т, $J = 6.3$, CH_2O); 4.22 (2H, т, $J = 8.1$, 3- CH_2); 6.04 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 6.48 (1H, т, $J = 7.8$, H Ar); 6.62 (1H, т, $J = 7.4$, H Ar); 6.92–6.96 (2H, м, H Ar); 7.03 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 7.14 (1H, д, $J = 7.7$, H Ar); 7.23 (1H, с, H Ar); 7.45 (1H, д, $J = 7.1$, H Ar); 10.85 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: –5.3 (2C); 18.2; 25.8 (3C); 28.7; 35.6; 53.5; 70.8; 109.7; 112.2; 112.7; 117.3; 119.7; 120.8; 123.1; 123.2; 125.5; 126.8; 127.1; 128.2; 132.8; 133.7; 138.1; 143.8; 168.8; 169.4. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 501 $[M]^+$ (100), 370 $[M-C_6H_{15}OSi]^+$ (54).

3-{1-[4-(Индолин-1-ил)-2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-3-ил]-1H-индол-3-ил}пропил)метансульфонат (15) получают из 1 г (2 ммоль) соединения **14** по методике получения соединения **9a**. Промежуточный продукт очищают флеш-хроматографией (элюент *n*-гептан–EtOAc, 3:1) и переводят в мезилат по методике получения мезилата **10a**. Выход 600 мг (65%), красное твердое вещество, т. пл. 135–138 °С (*n*-гептан–EtOAc). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.94–2.05 (2H, м, $CH_2CH_2CH_2O$); 2.78 (2H, т, $J = 7.3$, $CH_2CH_2CH_2O$); 3.08 (2H, т, $J = 7.9$, 2- CH_2); 3.20 (3H, с, CH_3); 4.20–4.26 (4H, м, 3- CH_2 , $CH_2CH_2CH_2O$); 6.02 (1H, д, $J = 7.9$, H Ar); 6.47 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 6.62 (1H, т, $J = 7.4$, H Ar); 6.93–6.98 (2H, м, H Ar); 7.01 (1H, т, $J = 7.7$, H Ar); 7.13 (1H, д, $J = 7.7$, H Ar); 7.23 (1H, с, H Ar); 7.45 (1H, д, $J = 7.1$, H Ar); 11.00 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 21.3; 30.0; 30.1; 53.5; 70.8; 109.9; 112.1; 112.8; 117.2; 119.6; 120.9; 123.2; 123.3; 125.4; 126.8; 127.0; 128.1; 132.9; 133.6; 138.0; 143.7; 168.7; 169.5. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 465 $[M]^+$ (64), 370 $[M-CH_3O_3S]^+$ (100).

3-{1-[4-(Индолин-1-ил)-2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-3-ил]-1H-индол-3-ил}пропил)карбамимидотиоат (16a) получают из 200 мг (0.43 ммоль) мезилата **15** и 76 мг (1.0 ммоль) тиомочевины по методике получения соединения **11a**. Выход 113 мг (59%), красные кристаллы, т. пл. 152–154 °С (с разл., *i*-PrOH–EtOAc). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.80–1.89 (2H, м, $CH_2CH_2CH_2S$); 2.63–2.75 (4H, м, $CH_2CH_2CH_2S$, $CH_2CH_2CH_2S$); 3.09 (2H, т, $J = 8.1$, 2- CH_2); 4.20 (2H, т, $J = 8.1$, 3- CH_2); 6.06 (1H, д, $J = 7.8$, H Ar); 6.50 (1H, т, $J = 7.8$, H Ar); 6.63 (1H, т, $J = 7.8$, H Ar); 6.92–7.02 (3H, м, H Ar); 7.14 (1H, д, $J = 7.7$, H Ar); 7.22 (1H, с, H Ar); 7.45 (1H, д, $J = 7.7$, H Ar); 9.54 (3H, уш. с, NH, NH_2); 11.1 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 21.3; 30.0; 30.1; 53.5; 61.4; 109.6; 112.2; 112.8; 117.4; 119.7; 121.2; 123.3; 123.4; 125.5; 126.6; 127.1; 128.0; 133.1; 133.6; 138.1; 143.8; 168.8; 169.7; 170.3. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 445 $[M]^+$ (76), 370 $[M-CH_3N_2S]^+$ (100). Найдено, m/z : 446.1580. $C_{24}H_{23}N_5O_2S$. Вычислено, m/z : 446.1572.

3-{3-[3-(Диэтиламино)пропил]-1H-индол-1-ил}-4-(индолин-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (16b) получают

из 200 мг (0.43 ммоль) мезилата **15** и 73 мг (1 ммоль) Et₃NH по методике получения соединения **11b**. Выход 114 мг (60%), красные кристаллы, т. пл. 142–144 °С (*i*-PrOH–EtOAc). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 1.21–1.28 (6H, м, N(CH₂CH₃)₂); 1.90–1.99 (2H, м, CH₂CH₂CH₂N); 2.63–2.74 (4H, м, CH₂CH₂CH₂N, CH₂CH₂CH₂N); 3.08 (2H, т, *J* = 7.9, 2-CH₂); 3.70–3.81 (4H, м, N(CH₂CH₃)₂); 4.22 (2H, т, *J* = 7.4, 3-CH₂); 6.02 (1H, д, *J* = 7.9, H Ar); 6.47 (1H, т, *J* = 7.7, H Ar); 6.62 (1H, т, *J* = 7.4, H Ar); 6.93–6.98 (2H, м, H Ar); 7.01 (1H, т, *J* = 7.7, H Ar); 7.13 (1H, д, *J* = 7.7, H Ar); 7.23 (1H, с, H Ar); 7.45 (1H, д, *J* = 7.1, H Ar); 11.00 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 13.2 (2C); 21.3; 30.0; 30.1; 42.5 (2C); 53.5; 109.6; 112.3; 112.8; 117.1; 119.6; 121.1; 123.2; 123.3; 125.6; 126.7; 127.2; 128.3; 132.8; 133.8; 138.4; 143.8; 168.4; 169.2. Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 442 [M]⁺ (100), 370 [M–C₄H₁₀N]⁺ (46), 327 [M–C₄H₁₀N–CHNO]⁺ (20). Найдено, *m/z*: 443.2376. C₂₇H₃₀N₄O₂. Вычислено, *m/z*: 443.2369.

3-(Индолин-1-ил)-4-{3-[3-(пирролидин-1-ил)пропил]-1H-индол-1-ил}-1H-пиррол-2,5-дион (16c) получают из 200 мг (0.43 ммоль) мезилата **15** и 71 мг (1 ммоль) пирролидина по методике получения соединения **11b**. Выход 113 мг (60%), красные кристаллы, т. пл. 147–149 °С (*i*-PrOH–EtOAc). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 1.05 (4H, т, *J* = 7.2, CH₂ пирролидин); 1.78–1.88 (2H, м, CH₂CH₂CH₂N); 2.63–2.75 (8H, м, CH₂CH₂CH₂N, H пирролидин); 3.07 (2H, т, *J* = 8.1, 2-CH₂); 4.21 (2H, т, *J* = 8.1, 3-CH₂); 6.05 (1H, д, *J* = 7.9, H Ar); 6.49 (1H, т, *J* = 7.7, H Ar); 6.62 (1H, т, *J* = 7.7, H Ar); 6.93–7.03 (3H, м, H Ar); 7.12 (1H, д, *J* = 7.7, H Ar); 7.21 (1H, с, H Ar); 7.46 (1H, д, *J* = 7.7, H Ar); 11.0 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 21.8; 25.6 (2C); 28.8; 40.4; 46.2; 51.1; 52.4 (2C); 109.1; 111.0; 111.8; 117.1; 118.6; 119.7; 122.0; 122.1; 124.3; 125.5; 126.0; 131.8; 132.4; 136.9; 142.7; 167.6; 168.5. Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 440 [M]⁺ (100), 370 [M–C₄H₈N]⁺ (45), 327 [M–C₄H₈N–CHNO]⁺ (26). Найдено, *m/z*: 441.2220. C₂₇H₂₈N₄O₂. Вычислено, *m/z*: 441.2212.

(R)-3-(3-{3-[2-(Гидроксиметил)пирролидин-1-ил]-пропил}-1H-индол-1-ил)-4-(индолин-1-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (16d) получают из 200 мг (0.43 ммоль) мезилата **15** и 101 мг (1 ммоль) L-пролинола по методике получения соединения **11b**. Выход 111 мг (55%), красные кристаллы, т. пл. 162–164 °С (*i*-PrOH–EtOAc). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 1.56–1.62 (1H, м, CH пирролидин); 1.68–1.76 (2H, м, CH₂CH₂CH₂N); 1.82–1.89 (3H, м, H пирролидин); 2.33–2.39 (1H, м, H пирролидин); 2.63–2.75 (4H, м, H пирролидин); 2.86–2.94 (2H, м, CH₂CH₂CH₂N); 3.09 (2H, т, *J* = 8.1, 2-CH₂); 3.11–3.16 (1H, м, CH₂OH); 3.19–3.23 (1H, м, CH₂OH); 4.20 (2H, т, *J* = 8.1, 3-CH₂); 5.15 (1H, уш. с, OH); 6.02 (1H, д, *J* = 7.9, H Ar); 6.47 (1H, т, *J* = 7.7, H Ar); 6.62 (1H, т, *J* = 7.4, H Ar); 6.93–6.98 (2H, м, H Ar); 7.01 (1H, т, *J* = 7.7, H Ar); 7.13 (1H, д, *J* = 7.7, H Ar); 7.23 (1H, с, H Ar); 7.45 (1H, д, *J* = 7.1, H Ar); 11.01 (1H, с, NH имид). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 22.8; 23.9; 24.2; 26.5; 28.7; 53.9; 54.9; 57.7; 63.9; 65.6; 109.3; 111.5; 111.9; 117.7; 118.9; 119.9; 121.5; 121.8; 124.4; 125.6; 126.4;

131.9; 132.5; 136.8; 142.9; 167.8; 168.9. Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 470 [M]⁺ (100), 370 [M–C₅H₁₀NO]⁺ (45). Найдено, *m/z*: 471.2325. C₂₈H₃₀N₄O₃. Вычислено, *m/z*: 471.2318.

Определение активности синтезированных соединений как ингибиторов ПК *in vitro*. Для определения активности киназ в присутствии синтезированных соединений использован радиометрический метод. Киназы AKT1 (100 нг), ARK5 (100 нг), Aurora-A (50 нг), Aurora-B (100 нг), B-RAF-V600E (20 нг), CDK2/CycA (100 нг), CDK4/CycD1 (100 нг), COT (400 нг), INS-R (25 нг), MET (100 нг), PDGFR-β (50 нг), PLK1 (50 нг), SAK (100 нг), SRC (10 нг), TIE2 (200 нг), AXL (100 нг), EGF-R (25 нг), ERBB4 (10 нг), ERBB2 (100 нг), FAK (200 нг), IGF1-R (20 нг), VEGF-R2 (25 нг), VEGF-R3 (100 нг) и ПК-α (50 нг). Числа в скобках – количество рекомбинантной киназы в конечном объеме раствора (50 мкл). Смесь содержит 60 mM HEPES-NaOH, pH 7.5, 3 mM MgCl₂, 3 mM MnCl₂, 3 μM Na₃VO₄, 1.2 mM дитиотритиола, 50 мкг/мл PEG-20000 and 1 μM [γ-³³P]-ATP, что приблизительно эквивалентно 5 × 10⁵ разрядов счетчика в минуту на ячейку. Реакционная смесь для ПК-α содержит также 1 mM CaCl₂, 4 mM натриевой соли ЭДТА, 5 мкг/мл фосфатидилсерина и 1 мкг/мл 1,2-диолеилглицерина. Измеряют включение радиоактивного фосфата вследствие киназной реакции (фосфорилирования) в следующие субстраты (в скобках указаны соответствующие субстрату киназы): GSK3 (14-27) (AKT1), RBER-CHKtide (ARK5, COT, PLK1), тетра(LRRWSLG) (Aurora-A, Aurora-B), MEK1-KM (B-RAF-V600E), гистон H1 (CDK2/CycA, ПК-α), RB-CTF (CDK4/CycD1), Poly(Ala,Glu,Lys,Tyr) 6:2:5:1 (INS-R, MET, PDGFR-β), p38-β-KRKR (SAK) и поли(Glu,Tyr) 4:1 (для всех остальных киназ). Реакцию проводят при 30 °С в течение 80 мин и останавливают, добавляя 50 мкл 2% (объемный процент) H₃PO₄. После промывания определяют количество радиоактивного ³³P_i, содержащегося в субстрате, при помощи сцинтилляционного счетчика (Microbeta Trilux, Wallac).

Определение антипролиферативной активности. Линии клеток карциномы прямой кишки человека HCT116 (Американская коллекция типовых культур, ATCC) и лейкемии человека K-562 (ATCC) культивируют в среде Дульбекко или среде RPMI-1640 с добавлением 5% сыворотки эмбриона телянка (HyClone, США), 2 mM L-глутамин, 100 мкг/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина при температуре 37 °С в увлажненной атмосфере с концентрацией CO₂ 5%. Во всех экспериментах используют клетки в логарифмической фазе роста. Исходные растворы тестируемых соединений в ДМСО с концентрацией 10 mM разбавляют H₂O до требуемой концентрации непосредственно перед экспериментом. Антипролиферативную активность определяют по конверсии формазана (МТТ-тест). Клетки (5 × 10³ в 190 мкл культуры) помещают на 96-луночный планшет (Becton Dickinson, США) и обрабатывают 0.1% ДМСО (контроль) или раствором тестируемого соединения в соответствующей концентрации и инкубируют 72 ч. После этого в каждую лунку

добавляют 50 мкг бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия и инкубируют еще 2 ч. Формазан растворяют в ДМСО и измеряют поглощение при длине волны 540 нм. Процент выживших клеток определяют как процент поглощения обработанной реакционной смеси по отношению к контролю (100%), величина IC_{50} – концентрация вещества, приводящая к гибели 50% клеток.

Список литературы

1. Goekjian, P. G.; Jirousek, M. R. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2001**, 10, 2117.
2. Fabbro, D.; Ruetz, S.; Buchdunger, E.; Cowan-Jacob, S. W.; Fendrich, G.; Liebetanz, J.; Mestan, J.; O'Reilly, T.; Traxler, P.; Chaudhuri, B.; Fretz, H.; Zimmermann, J.; Meyer, T.; Caravatti, G.; Furet, P.; Manley, P. W. *Pharmacol. Ther.* **2002**, 93, 79.
3. Davis, P. D.; Elliott, L. H.; Harris, W.; Hill, C. H.; Hurst, S. A.; Keech, E.; Kumar, M. K. H.; Lawton, G.; Nixon, J. S.; Wilkinson, S. E. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 994.
4. Davis, P. D.; Hill, C. H.; Lawton, G.; Nixon, J. S.; Wilkinson, S. E.; Hurst, S. A.; Keech, E.; Turner, S. E. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 177.
5. Jirousek, M. R.; Gillig, J. R.; Neel, D. A.; Rito, C. J.; O'bannon, D.; Heath, W. F.; McDonald III, J. H.; Faul, M. M.; Winneroski, L. L.; Melikian-Badalian, A.; Baevsky, M.; Ballas, L. M.; Hall, S. E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, 5, 2093.
6. Jirousek, M. R.; Gillig, J. R.; Gonzalez, C. M.; Heath, W. F.; McDonald III, J. H.; Neel, D. A.; Rito, C. J.; Singh, U.; Stramm, L. E.; Melikian-Badalian, A.; Baevsky, M.; Ballas, L. M.; Hall, S. E.; Winneroski, L. L.; Faul, M. M. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 2664.
7. Bartlett, S.; Beddard, G. S.; Jackson, R. M.; Kayser, V.; Kilner, C.; Leach, A.; Nelson, A.; Oledzki, P. R.; Parker, P.; Reid, G. D.; Warriner, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 11699.
8. Grodsky, N.; Li, Y.; Bouzida, D.; Love, R.; Jensen, J.; Nodes, B.; Nonomiya, J.; Grant, S. *Biochemistry* **2006**, 45, 13970.
9. Simonov, A. Yu.; Lakatosh, S. A.; Luzikov, Yu. N.; Reznikova, M. I.; Susova, O. Yu.; Shtil', A. A.; Elizarov, S. M.; Danilenko, V. N.; Preobrazhenskaya, M. N. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **2008**, 57, 2011. [*Изв. АН, Сер. хим.* **2008**, 1977.]
10. Lakatosh, S. A.; Luzikov, Yu. N.; Preobrazhenskaya, M. N. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 826.
11. Simonov, A. Yu.; Bykov, E. E.; Lakatosh, S. A.; Luzikov, Yu. N.; Korolev, A. M.; Reznikova, M. I.; Preobrazhenskaya, M. N. *Tetrahedron* **2014**, 70, 625.