



(51) МПК

C07D 215/12 (2006.01)

C07D 215/14 (2006.01)

C07D 215/18 (2006.01)

C07D 215/20 (2006.01)

C07D 215/22 (2006.01)

C07D 215/227 (2006.01)

C07D 215/26 (2006.01)

C07D 217/16 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C07D 215/12 (2023.05); C07D 215/14 (2023.05); C07D 215/18 (2023.05); C07D 215/20 (2023.05); C07D 215/227 (2023.05); C07D 215/26 (2023.05); C07D 217/16 (2023.05); A61P 35/00 (2023.05)

(21)(22) Заявка: 2023102869, 09.02.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
09.02.2023Дата регистрации:
02.08.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 09.02.2023

(45) Опубликовано: 02.08.2023 Бюл. № 22

Адрес для переписки:

119991, Москва, Ленинский пр-т, 47, ИОХ РАН,
патентный отдел, Капустиной Г.Н.

(72) Автор(ы):

Иловайский Алексей Игоревич (RU),
Меркулова Валентина Михайловна (RU),
Чернобурова Елена Ивановна (RU),
Щетинина Марина Анатольевна (RU),
Заварзин Игорь Викторович (RU),
Терентьев Александр Олегович (RU),
Щербаков Александр Михайлович (RU),
Андреева Ольга Евгеньевна (RU),
Сальникова Диана Игоревна (RU)

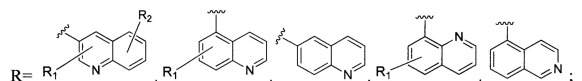
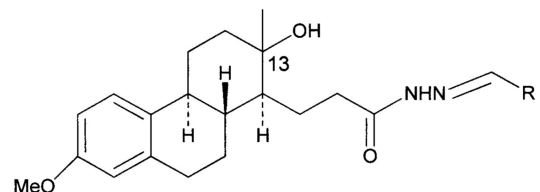
(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт органической
химии им. Н.Д. Зелинского Российской
академии наук (ИОХ РАН) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: A.I. ILOVAISKY ET AL.,
Secosteroidal hydrazides: Promising scaffolds for
anti-breast cancer agents, J. STEROID
BIOCHEM. MOL. BIOL., 2021, 214, 106000; DOI:
10.1016/j.jsbmb.2021.106000. J. SZABO ET AL.,
Synthesis and in vitro pharmacological evaluation
of N-[(1-benzyl-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]-
carboxamides on D-secoestrone scaffolds, J.
ENZYME (см. прод.)

(54) [N'-(Изо)хинолилметилден]гидразиды 3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты

(57) Реферат:

Изобретение относится к новым [N'-(изо)хинолилметилден]гидразидам 3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты указанной ниже общей формулы, которые обладают антипролиферативной активностью в отношении клеток рака молочной железы MCF-7 и могут найти применение в медицине, ветеринарии, химико-фармацевтической промышленности и биотехнологии. 1 з.п. ф-лы, 4 табл., 22 пр.



R₁ и R₂=H, Me, OMe, Cl или F

(56) (продолжение):

INHIV. MED. СHEM., 2016, 31, pp. 574-579; DOI: 10.3109/14756366.2015.1050008. С. Д. ЛОГУЗОВ И ДР., Новые производные секостероидов. Синтез 3-метокси-13-гидрокси-D-секоэстра-1,3,5(10)-триен-14β-пропан-N-арилгидразинкарботиоамидов, МАТЕРИАЛЫ ЗАОЧНЫХ ДОКЛАДОВ МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ "АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ (18-21 НОЯБРЯ 2020 ГОДА, ЕКАТЕРИНБУРГ, РОССИЯ)", Изд-во АМБ, Екатеринбург, 2020, стр. 199. RU 2601423 C1, 10.11.2016.

R U 2 8 0 1 1 6 6 C 1

R U 2 8 0 1 1 6 6 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07D 215/12 (2006.01)
C07D 215/14 (2006.01)
C07D 215/18 (2006.01)
C07D 215/20 (2006.01)
C07D 215/22 (2006.01)
C07D 215/227 (2006.01)
C07D 215/26 (2006.01)
C07D 217/16 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

C07D 215/12 (2023.05); C07D 215/14 (2023.05); C07D 215/18 (2023.05); C07D 215/20 (2023.05); C07D 215/227 (2023.05); C07D 215/26 (2023.05); C07D 217/16 (2023.05); A61P 35/00 (2023.05)

(21)(22) Application: 2023102869, 09.02.2023

(24) Effective date for property rights:
09.02.2023Registration date:
02.08.2023

Priority:

(22) Date of filing: 09.02.2023

(45) Date of publication: 02.08.2023 Bull. № 22

Mail address:

119991, Moskva, Leninskij pr-t, 47, IOKH RAN,
patentnyj otdel, Kapustinoj G.N.

(72) Inventor(s):

Ilovajskij Aleksej Igorevich (RU),
Merkulova Valentina Mikhajlovna (RU),
Chernoburova Elena Ivanovna (RU),
Shchetinina Marina Anatolevna (RU),
Zavarzin Igor Viktorovich (RU),
Terentev Aleksandr Olegovich (RU),
Shcherbakov Aleksandr Mikhajlovich (RU),
Andreeva Olga Evgenevna (RU),
Salnikova Diana Igorevna (RU)

(73) Proprietor(s):

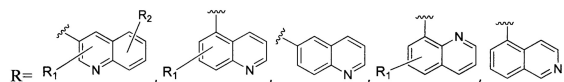
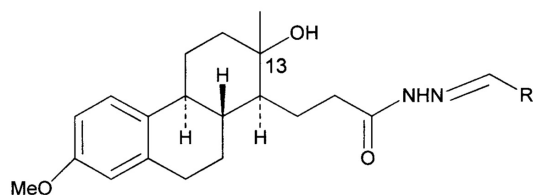
Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethoe
uchrezhdenie nauki Institut organicheskoj
khimii im. N.D. Zelinskogo Rossijskoj akademii
nauk (IOKH RAN) (RU)

(54) [N'-(ISO)QUINOLYLMETHYLENE]HYDRAZIDES OF 3-METHOXY-13,17-SECOESTRA-1,3,5(10)-TRIEN-17-OIC ACID

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

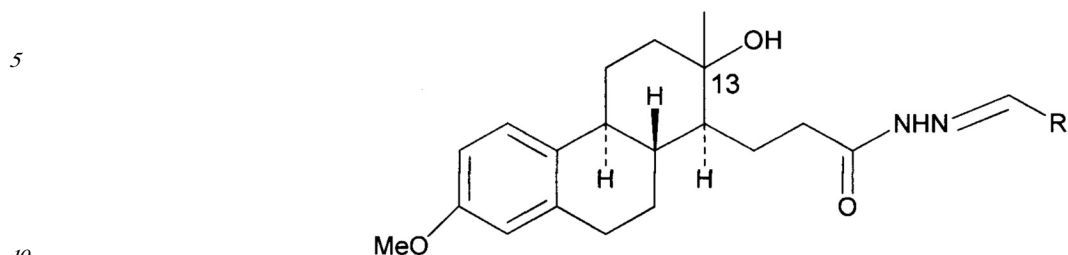
SUBSTANCE: invention relates to new [N'(iso)quinolylmethylene]hydrazides 3-methoxy-13,17-secoestra-1,3,5(10)-triene-17-oic acid of the following general formula, which have antiproliferative activity against MCF-7 breast cancer cells and can be used in medicine, veterinary medicine, chemical and pharmaceutical industry and biotechnology.

R₁ and R₂=H, Me, OMe, Cl or F

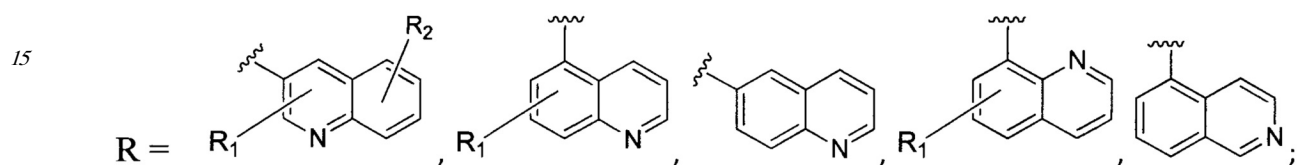
EFFECT: obtaining [n'-(iso)quinolylmethylene]hydrazides of 3-methoxy-13,17-secoestra-1,3,5(10)-triene-17-oic acid.

2 cl, 4 tbl, 22 ex

Изобретение относится к новым неописанным биологически активным соединениям, конкретно, новым [N'-(изо)хинолилметиле]гидразидам 3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5 (10)-триен-17-овой кислоты общей формулы:



(I), где

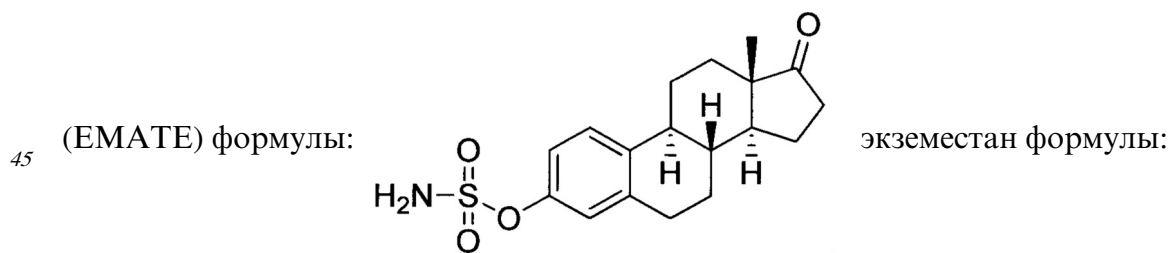
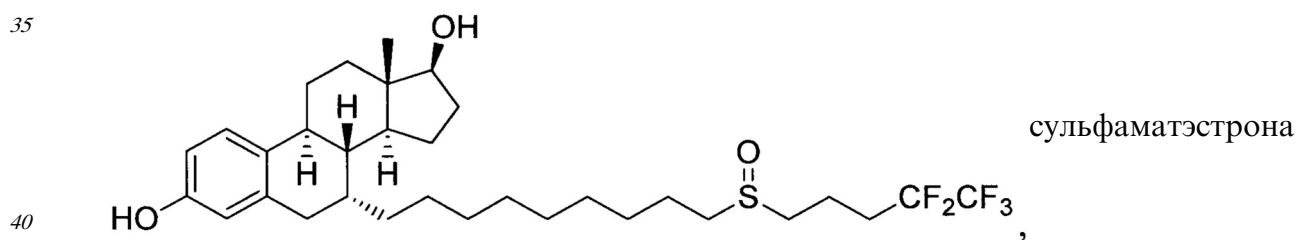


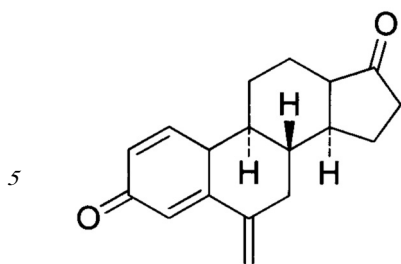
R₁ и R₂ = H, Me, OMe, Cl или F.

20 Предлагаемые соединения общей формулы I обладают антипролиферативной активностью в отношении эстрогензависимых клеток рака молочной железы MCF-7 и могут найти применение в медицине, ветеринарии, химико-фармацевтической промышленности и в биотехнологиях. Рак, неконтролируемое, быстрое и патологическое размножение аномальных клеток, является одной из основных проблем здравоохранения

25 во всем мире. По данным ВОЗ, ведущим онкологическим заболеванием у женщин является рак молочной железы. Однако применяемое в настоящее время лечение бывает не всегда эффективным [V. Wadhwa, N. Patel, D. Grover, F.S. Ali, N. Thosani, Interventional gastroenterology in oncology, CA Cancer J Clin. 2022, 1-34; R.L. Siegel, K.D. Miller, H.E. Fuchs, A. Jemal, Cancer Statistics, 2021, CA Cancer J Clin. 2021, 71, 7-33].

30 Большое значение для лечения гормонозависимых онкологических заболеваний женщин имеют химиотерапевтические препараты стероидной структуры. Они образуют уникальную группу в семействе противоопухолевых средств. В повседневной клинической практике применяют стероидные препараты, такие как фулвестрант формулы:



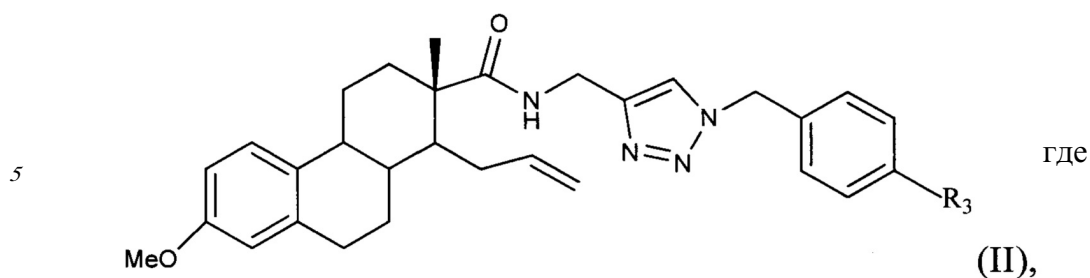


[R. Minorics, I. Zupko, Steroidal Anticancer Agents: An Overview of Estradiol-related Compounds, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* 2018, 18, 652-666; A. Belosay, A.M.H. Brodie, V.C.O. Njar, Effects of Novel Retinoic Acid Metabolism Blocking Agent (VN/14-1) on Letrozole-Insensitive Breast Cancer Cells, *Cancer Res.* 2006, 66 (23), 11485-11493].

Однако высокая токсичность доступных в настоящее время лекарств для нормальных клеток и резистентность опухолевых клеток к лекарственным средствам приводит к ограничению области их применения и низкому терапевтическому эффекту. В связи с этим актуальной задачей является расширение арсенала противоопухолевых препаратов [E. Frei, A. Elias, C. Wheeler, P. Richardson, W. Hryniuk, The relationship between high-dose treatment and combination chemotherapy: the concept of summation dose intensity, *Clin. Cancer Res.* 1998, 4, 2027-2037; M.M. Gottesman, Mechanisms of cancer drug resistance, *Annu Rev. Med.* 2002, 53, 615-627; P.A. Clarke, T. Roe, K. Swabey, S.M. Hobbs, C. McAndrew, K. Tomlin, I. Westwood, R. Burke, R. van Montfort, P. Workman, Dissecting mechanisms of resistance to targeted drug combination therapy in human colorectal cancer, *Oncogene* 2019, 38, 5076-5090]. Одним из недостатков вышеуказанных известных лекарственных средств является наличие у них неселективной активности, в частности, реализуемой за счет их взаимодействия с рядом ферментов и рецепторов в нормальных тканях пациента. Такие взаимодействия приводят к нежелательным побочным эффектам, иногда приводящим к коррекции дозы или отмене терапии выбранным препаратом. В опухолевых клетках стероидные препараты также могут активировать пути, поддерживающие пролиферацию. Например, ингибитор ароматазы экземестан может активировать в клетках рака молочной железы сигнальные пути рецептора андрогенов, что может быть одной из причин развития рецидива заболевания.

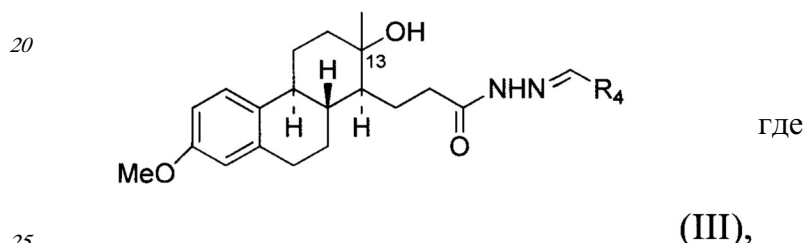
В связи с этим перспективными противоопухолевыми агентами являются производные секостероидов - полусинтетические природные стероиды, у которых отсутствует одно из четырех колец стероидного каркаса и для которых в силу их химического строения характерно отсутствие заметного гормонального (агонистического) эффекта [R. Minorics, N. Bózsity, J. Molnár, J. Wölfling, E. Mernyák, G. Schneider, I. Ocsovszki, I. Zupkó, A molecular understanding of D-homoestrone-induced G2/M cell cycle arrest in HeLa human cervical carcinoma cells, *J. Cell. Mol. Med.* 2015, 19(10), 2365-2374; E. Frank, G. Schneider, Synthesis of sex hormone-derived modified steroids possessing antiproliferative activity, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2013, 137, 301-315; J. Huber, J. Wölfling, G. Schneider, I. Ocsovszki, M. Varga, I. Zupkó, E. Mernyák, Synthesis of antiproliferative 13 α -d-homoestrones via Lewis acid-promoted one-pot Prins-Ritter reactions of d-secosteroidal δ -alkenyl-aldehydes, *Steroids*, 2015, 102, 76-84].

Ранее в литературе были описаны соединения общей формулы:



10 $R_3 = \text{H, Me, NO}_2$ близкие по структуре к заявленным соединениям общей формулы I [J. Szabó, I. Bacsa, J. Wöfling, G. Schneider, I. Zupkó, M. Varga, B.E. Herman, L. Kalmár, M. Szécsi, E. Mernyák, Synthesis and in vitro pharmacological evaluation of N-[(1-benzyl-1,2,3-triazol-4-yl) methyl]-carboxamides on d-secoestrone scaffolds, J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 2016, 31, 574-579]. Эти бензил- и п-бензилзамещенные триазолы D-секоэстроно общей структурной формулы II проявили умеренные по активности антипролиферативные свойства в отношении клеток рака молочной железы MCF-7.

15 Наиболее близкими по структуре и свойствам к заявленным соединениям общей формулы I являются [N'-(гетеро)арилметиле]нгидразиды 13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты общей структурной формулы:

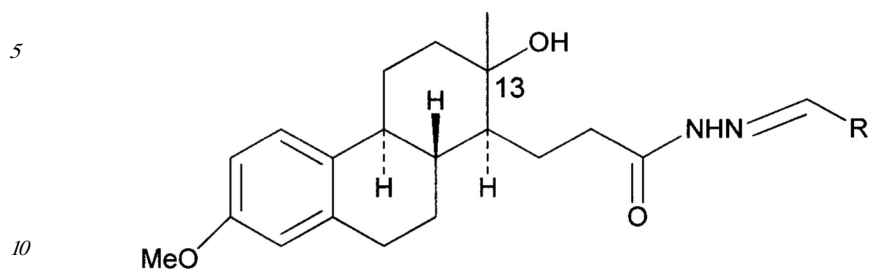


25 $R_4 = \text{арил или гетероарил}$ [A.I. Plovaisky, V.M. Merkulova, E.I. Chernoburova, M.A. Shchetinina, D.I. Salnikova, A.M. Scherbakov, I.V. Zavarzin, A.O. Terent'ev, Secosteroidal hydrazides: Promising scaffolds for anti-breast cancer agents, J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2021, 214, 106000].

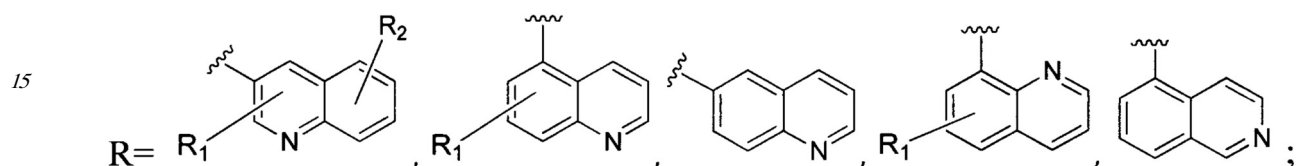
30 Известные соединения общей формулы III проявляют антипролиферативные свойства в отношении клеток рака молочной железы MCF-7. Значения IC_{50} (IC_{50} - концентрация, ингибирующая рост клеток на 50% по сравнению с контролем) в отношении клеток рака молочной железы MCF-7 для ведущих секостероидов общей формулы III, где R_4 = 4-нитрофенил (3l) составил 2.2 ± 0.2 , $R_4 = 4$ -хлорфенил (3d) составил 2.9 ± 0.3 и $R_4 = 3$ -
35 (м-толил)-1H-пиразол-4-ил (3q) составил 3 ± 0.3 мкМ, т.е. находятся в интервале 2.2-3 мкМ, при этом 50% нормальных эпителиальных клеток MCF-10A погибло при концентрациях соединений 6.7, 9.1 и 7.6 мкМ. Таким образом, индекс селективности (ИС), рассчитанный как отношение значений IC_{50} для MCF-10A к значениям IC_{50} для
40 MCF-7, для 3l составляет - 3.0, для 3d - 3.1, для 3q - 2.5, т.е. находится в интервале от 2.5 до 3.1. Общей задачей предлагаемого изобретения является создание секостероидов, которые не уступают по антипролиферативным характеристикам секостероидам формулы III и превосходят их по ИС не менее чем на 45%. Ожидается, что увеличение ИС приведет к созданию антипролиферативных средств с улучшенным
45 фармакологическим профилем.

Технической задачей предлагаемого изобретения является расширение ассортимента секостероидных соединений, обладающих высокими антипролиферативной активностью и селективностью в отношении клеток рака молочной железы MCF-7 при приемлемой

растворимости в воде. Поставленная техническая задача достигается новыми [N'-(изо)хинолилметиле]гидразидами 3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты общей формулы:



(I), где



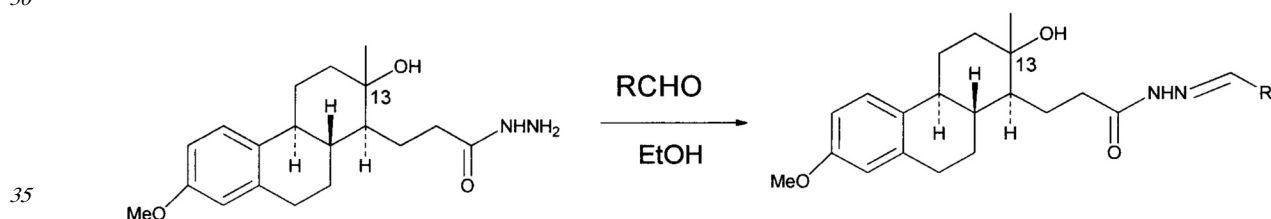
R₁ и R₂ = H, Me, OMe, Cl или F.

20 Предлагаемые соединения общей формулы I являются новыми, неописанными ранее в литературе, и отличаются от известных соединений тем, что они содержат остаток хинолина или изохинолина - бициклических гетероциклов, содержащих атом азота.

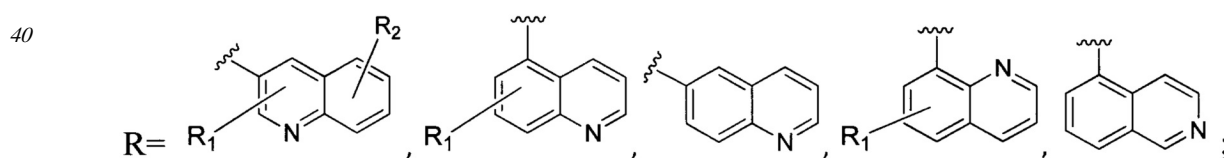
Предлагаемые соединения общей формулы I обладают высокой антипролиферативной активностью в отношении клеток рака молочной железы MCF-7.

25 Предлагаемые соединения получают путем взаимодействия гидразида 13 α - или 13 β -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты с замещенными хинолинкарбальдегидами или изохинолин-5-карбальдегидом общей структурной формулы RCHO, где R имеет вышеуказанные значения, в среде этанола при кипячении. Выход полученных соединений составляет 70-89%.

30 Процесс протекает по следующей схеме:



I, где



R₁ и R₂ = H, Me, OMe, Cl или F.

45 Расположение заместителей (метильной группы и гидроксильной группы) в 13 положении стероидного скелета может быть различным: 13 α -ОН/ β -CH₃ или 13 α -CH₃/ β -ОН.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами, не ограничивающими его

объем.

Пример 1.

К раствору гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (0.332 г, 1 ммоль) в этаноле (7 мл) прибавили хинолин-3-карбальдегид (173 мг, 1,1 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь кипятили в течение 4 часов и затем охлаждали до комнатной температуры. По окончании реакции растворитель упаривали, остаток очищали колоночной хроматографией: элюент - смесь: петролейный эфир-этилацетат (3:1). Получили 401 мг (85%) [N'-хинолин-3-илметилден]гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Ia), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 222-224°C, $[\alpha]_D^{22} + 78.2$ (с 1, ДМСО). ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 1.01 (с, 3Н, Н-18), 1.11-1.66 (м, 6Н), 1.72-1.82 (м, 1Н), 1.92-2.43 (м, 5Н), 2.67-2.87 (м, 3Н), 3.68 (с, 3Н, ОМе), 4.34 (с, 0.6Н, ОН), 4.36 (с, 0.4Н, ОН), 6.56 (д, J=2.8 Гц, 0.6Н, Н-4), 6.60 (д, J=2.8 Гц, 0.4Н, Н-4), 6.66 (дд, J=8.6, 2.8 Гц, 1Н, Н-2), 7.16 (д, J=8.6 Гц, 1Н, Н-1), 7.64 (т, J=7.6 Гц, 1Н), 7.79 (т, J=7.7 Гц, 1Н), 7.99-8.09 (м, 2Н), 8.20 (с, 0.6Н, СН=N), 8.40 (с, 0.4Н, СН=N), 8.51 (д, J=1.8 Гц, 0.6Н), 8.56 (д, J=1.8 Гц, 0.4Н), 9.25 (д, J=1.8 Гц, 0.4Н), 9.29 (д, J=1.8 Гц, 0.6Н), 11.44 (с, 0.6Н, NH), 11.63 (с, 0.4Н, NH). ^{13}C ЯМР (75 МГц, ДМСО-d₆) δ 21.04, 21.15, 23.00, 23.21, 26.99, 28.22, 28.28, 30.00, 33.99, 35.73, 42.36, 42.42, 42.79, 42.82, 43.00, 43.10, 51.59, 51.78, 54.81, 71.56, 71.60, 111.61, 112.99, 126.40, 127.25, 127.28, 127.50, 127.61, 128.42, 128.52, 128.79, 128.83, 130.12, 130.22, 131.90, 134.29, 134.39, 137.29, 140.19, 143.33, 147.60, 147.73, 148.02, 148.28, 157.03, 169.26, 175.12. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для [C₂₉H₃₄N₃O₃]⁺ [M+H]⁺: вычислено 472.2595, найдено: 472.2592. Элементный анализ; вычислено для C₂₉H₃₃N₃O₃ (%): С, 73.86; Н, 7.05. Найдено для (%): С, 73.72; Н, 7.19.

Пример 2.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 173 мг хинолин-5-карбальдегида получено 401 мг (83%) [N'-хинолин-5-илметилден]гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Ib), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 191-193°C, $[\alpha]_D^{22} + 67.5$ (с 1, EtOH). ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 1.00 (с, 1.8Н, Н-18), 1.02 (с, 1.2Н, Н-18), 1.09-1.67 (м, 6Н), 1.70-1.82 (м, 1Н), 1.93-2.45 (м, 5Н), 2.64-2.91 (м, 3Н), 3.67 (с, 3Н, ОМе), 4.38 (с, 0.6Н, ОН), 4.41-4.58 (ушир. с, 0.4Н, ОН), 6.56 (д, J=2.8 Hz, 0.6Н, Н-4), 6.60 (д, J=2.8 Hz, 0.4Н, Н-4), 6.66 (дд, J=8.7, 2.8 Hz, 1Н, Н-2), 7.16 (д, J=8.7 Hz, 1Н, Н-1), 7.62 (дд, J=8.8, 4.4 Hz, 0.6Н, Н-3'), 7.65 (дд, J=8.8, 4.4 Hz, 0.4Н, Н-3'), 7.79-7.86 (м, 1Н), 7.88-7.95 (м, 1Н), 8.07 (д, J=8.1 Hz, 1Н), 8.62 (с, 0.6Н, СН=N), 8.75 (с, 0.4Н, СН=N), 8.93-8.97 (м, 1Н, Н-2'), 9.10 (д, J=8.8 Hz, 0.6Н, Н-4'), 9.37 (д, J=8.8 Hz, 0.4Н, Н-4'), 11.35 (с, 0.6Н, NH), 11.70 (с, 0.4Н, NH). ^{13}C ЯМР (75 МГц, ДМСО-d₆) δ 21.18, 21.23, 23.00, 23.38, 27.10, 28.37, 30.07, 34.04, 35.86, 42.42, 42.50, 42.90, 43.17, 51.66, 51.87, 54.93, 71.71, 71.77, 111.74, 113.09, 122.31, 125.30, 125.36, 126.55, 127.51, 128.67, 129.15, 129.19, 130.39, 130.43, 130.92, 131.15, 132.00, 132.62, 133.33, 137.40, 137.44, 141.77, 145.42, 148.06, 150.75, 157.13, 169.42, 175.11. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для [C₂₉H₃₄N₃O₃]⁺ [M+H]⁺: вычислено 472.2595, найдено: 472.2587. Элементный анализ; вычислено для C₂₉H₃₃N₃O₃ (%): С, 73.86; Н, 7.05; N, 8.91. Найдено для (%): С, 73.64; Н, 7.27; N, 8.78..

Пример 3.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 173 мг хинолин-6-карбальдегида получено 377 мг (80%) [N'-хинолин-6-илметилен]гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-

5 триен-17-овой кислоты (Ic), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 149-151°C, $[\alpha]_D^{22} + 65.6$ (с 1, ДМСО). ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 1.01 (с, 3H, H-18), 1.12-1.66 (м, 6H), 1.71-1.81 (м, 1H), 1.90-2.43 (м, 5H), 2.64-2.89 (м, 3H), 3.68 (с, 3H, OMe), 4.35 (с, 0.6H, OH), 4.39 (с, 0.4H, OH), 6.60 (д, J=2.8 Hz, 1H, H-4), 6.66 (дд, J=8.6, 2.8 Hz, 1H, H-2), 7.18 (д, J=8.6 Hz, 1H, H-1), 7.56 (дд, J=8.3, 4.1 Hz, 1H), 8.00-8.08 (м, 1H), 8.10-8.24 (м, 2.6H), 8.36-8.46 (м, 1.4H), 8.91 (д, J=4.1 Hz, 1H), 11.38 (с, 0.6H, NH), 11.63 (с, 0.4H, NH). ^{13}C ЯМР (75 МГц, ДМСО- d_6) δ 21.05, 21.16, 23.02, 23.23, 27.01, 28.21, 28.31, 30.04, 34.14, 35.75, 42.33, 42.39, 42.80, 42.85, 43.02, 43.17, 51.59, 51.84, 54.84, 71.58, 71.62, 111.67, 113.02, 125.81, 126.27, 126.43, 127.91, 128.10, 128.16, 129.55, 131.91, 132.55, 132.69, 136.26, 136.32, 137.31, 141.92, 144.94, 148.26, 148.33, 151.03, 151.09, 157.05, 169.23, 175.03. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для $[\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_3]^+ [\text{M}+\text{H}]^+$: вычислено 472.2595, найдено: 472.2598. Элементный анализ; вычислено для $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_3$ (%): C, 73.86; H, 7.05; N, 8.91. Найдено для (%): C, 73.74; H, 7.17; N, 8.89.

20 Пример 4.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 173 мг хинолин-8-карбальдегида получено 382 мг (81%) [N'-хинолин-8-илметилен]гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-

25 триен-17-овой кислоты (Id), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 134-136°C, $[\alpha]_D^{22} + 36.9$ (с 1, EtOH). ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 1.00 (с, 1.8H, H-18), 1.02 (с, 1.2H, H-18), 1.08-1.66 (м, 6H), 1.71-1.81 (м, 1H), 1.92-2.41 (м, 5H), 2.63-2.94 (м, 3H), 3.68 (с, 3H, OMe), 4.36 (с, 1H, OH), 6.61 (д, J=2.5 Hz, 1H, H-4), 6.67 (дд, J=8.7, 2.5 Hz, 1H, H-2), 7.17 (д, J=8.7 Hz, 1H, H-1), 7.61 (дд, J=8.2, 4.2 Hz, 1H, H-3'), 7.70 (т, J=7.7 Hz, 0.4H, H-6'), 7.72 (т, J=7.7 Hz, 0.6H, H-6'), 8.06 (д, J=7.8 Hz, 1H), 8.32 (д, J=7.7 Hz, 1H), 8.44 (д, J=8.2 Hz, 1H), 8.97 (дд, J=4.2, 1.5 Hz, 1H, H-2'), 9.28 (с, 0.6H, CH=N), 9.48 (с, 0.4H, CH=N), 11.44 (с, 0.6H, NH), 11.65 (с, 0.4H, NH). ^{13}C ЯМР (75 МГц, ДМСО- d_6) δ 21.08, 21.19, 23.15, 23.40, 27.05, 28.38, 30.08, 30.14, 30.71, 34.41, 35.86, 42.43, 42.86, 42.91, 43.10, 43.26, 51.64, 51.93, 54.90, 71.63, 111.72, 113.03, 113.09, 121.91, 125.10, 125.50, 126.54, 128.04, 129.65, 129.81, 131.26, 131.36, 131.94, 136.66, 137.37, 139.80, 142.76, 145.23, 150.35, 157.08, 169.20, 175.11. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для $[\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_3]^+ [\text{M}+\text{H}]^+$: вычислено 472.2595, найдено: 472.2602. Элементный анализ; вычислено для $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_3$ (%): C, 73.86; H, 7.05; N, 8.91. Найдено для (%): C, 73.71; H, 7.19; N, 8.83.

40 Пример 5.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 188 мг 6-метилхинолин-5-карбальдегида получено 422 мг (87%), [N'-(6-метилхинолин-5-ил)метилен]гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Ie), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 157-159°C, $[\alpha]_D^{22} + 79.5$ (с 1, EtOH). ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 0.99 (с, 1.8H, H-18), 1.03 (с, 1.2H, H-18), 1.08-1.66 (м, 6H), 1.69-1.82 (м, 1H), 1.93-2.45 (м, 5H), 2.53-2.88 (м, 3H), 2.58

(с, 3H, CH₃), 3.67 (с, 1.8H, OMe), 3.68 (с, 1.2H, OMe), 4.31 (с, 0.6H, OH), 4.40 (с, 0.4H, OH), 6.50 (д, J=2.8 Hz, 0.6H, H-4), 6.61 (д, J=2.8 Hz, 0.4H, H-4), 6.62-6.71 (м, 1H, H-2), 7.14 (д, J=8.8 Hz, 0.6H, H-1), 7.17 (д, J=8.8 Hz, 0.4H, H-1), 7.53 (дд, J=8.8, 4.4 Hz, 0.6H, H-3'), 7.57 (дд, J=8.8, 4.4 Hz, 0.4H, H-3'), 7.66 (д, J=8.8 Hz, 1H, H-7'), 7.96 (д, J=8.8 Hz, 1H, H-8'), 8.66 (с, 0.6H, CH=N), 8.80 (с, 0.4H, CH=N), 8.83-8.88 (м, 1H, H-2'), 9.03 (д, J=8.8 Hz, 0.6H, H-4'), 9.31 (д, J=8.8 Hz, 0.4H, H-4'), 11.32 (с, 0.6H, NH), 11.57 (с, 0.4H, NH). ¹³C ЯМР (75 MHz, ДМСО-d₆) δ 20.03, 20.23, 21.13, 21.18, 22.75, 23.31, 26.96, 28.20, 29.79, 30.03, 33.75, 35.80, 42.41, 42.80, 43.07, 51.61, 51.76, 54.85, 71.55, 71.66, 111.60, 111.68, 112.96, 113.00, 122.01, 122.07, 125.76, 126.46, 127.62, 130.09, 130.41, 131.90, 132.81, 133.27, 133.94, 136.62, 137.08, 137.28, 137.36, 141.34, 144.60, 146.81, 149.66, 157.03, 157.07, 169.14, 174.90. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для [C₃₀H₃₆N₃O₃]⁺ [M+H]⁺: вычислено 472.2595, найдено: 472.2606. Элементный анализ; вычислено для C₃₀H₃₅N₃O₃ (%): C, 74.20; H, 7.26; N, 8.65. Найдено для (%): C, 74.04; H, 7.37; N, 8.54.

Пример 6.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13α-гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 206 мг 8-метоксилхинолин-5-карбальдегида получено 411 мг (82%) [N'-(8-метоксихинолин-5-ил)метиле]нгидразида 13α-гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (If), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 190-192°C, [α]_D²² + 77.4 (с 1, EtOH). ¹H ЯМР (300 MHz, ДМСО-d₆) δ 1.02 (с, 3H, H-18), 1.10-1.66 (м, 6H), 1.70-1.82 (м, 1H), 1.92-2.42 (м, 5H), 2.65-2.86 (м, 3H), 3.68 (с, 3H, OMe), 4.01 (с, 3H, OMe), 4.33 (с, 0.6H, OH), 4.39 (с, 0.4H, OH), 6.56 (д, J=2.8 Hz, 0.6H, H-4), 6.60 (д, J=2.8 Hz, 0.4H, H-4), 6.62-6.71 (м, 1H, H-2), 7.16 (д, J=8.7 Hz, 1H, H-1), 7.25 (д, J=8.1 Hz, 1H, H-7'), 7.59-7.70 (м, 1H, H-3'), 7.80 (д, J=8.1 Hz, 1H, H-6'), 8.46 (с, 0.6H, CH=N), 8.58 (с, 0.4H, CH=N), 8.86-8.93 (м, 1H, H-2'), 9.21 (д, J=8.8 Hz, 0.6H, H-4'), 9.47 (д, J=8.8 Hz, 0.4H, H-4'), 11.18 (с, 0.6H, NH), 11.39 (с, 0.4H, NH). ¹³C ЯМР (75 MHz, ДМСО-d₆) δ 21.14, 22.82, 23.28, 26.99, 28.26, 29.97, 33.78, 35.70, 42.35, 42.44, 42.78, 43.05, 51.59, 51.77, 54.81, 55.83, 71.56, 71.62, 107.82, 107.92, 111.57, 111.62, 113.00, 121.78, 122.67, 126.12, 126.24, 126.40, 129.52, 130.50, 131.88, 132.70, 133.34, 137.30, 139.65, 142.64, 146.13, 148.98, 156.40, 156.57, 157.02, 168.90, 174.68. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для [C₃₀H₃₆N₃O₄]⁺ [M+H]⁺: вычислено 502.2700, найдено: 502.2697. Элементный анализ; вычислено для C₃₀H₃₅N₃O₄ (%): C, 71.83; H, 7.03; N, 8.38. Найдено для (%): C, 71.64; H, 7.38; N, 8.23.

Пример 7.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13α-гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 193 мг 6-фторхинолин-3-карбальдегида получено 435 мг (89%) [N'-(6-фторхинолин-3-илметиле]нгидразида 13α-гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Ig), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 197-199°C, [α]_D²² + 75.4 (с 1, EtOH). ¹H ЯМР (300 MHz, ДМСО-d₆) δ 1.01 (с, 3H, H-18), 1.07-1.68 (м, 6H), 1.72-1.82 (м, 1H), 1.90-2.43 (м, 5H), 2.68-2.85 (м, 3H), 3.68 (с, 3H, OMe), 4.36 (с, 0.6H, OH), 4.39 (с, 0.4H, OH), 6.56 (д, J=2.8 Hz, 0.6H, H-4), 6.60 (д, J=2.8 Hz, 0.4H, H-4), 6.66 (дд, J=8.7, 2.8 Hz, 1H, H-2), 7.16 (д, J=8.7 Hz, 1H, H-1), 7.69 (ддд, J=9.0, 9.0, 2.8 Hz, 1H, H-7'), 7.81 (дд, J=9.0, 2.8 Hz, 0.6H, H-5'), 7.86 (дд, J=9.0, 2.8 Hz, 0.4H, H-5'), 8.10 (дд, J=9.0, 5.5 Hz, 1H, H-8'), 8.18 (с, 0.6H, CH=N), 8.38 (с, 0.4H, CH=N), 8.48 (д, J=2.0 Hz, 0.6H, H-4'), 8.55 (д, J=2.0 Hz, 0.4H, H-4'), 9.21 (д, J=2.0 Hz, 0.4H, H-2'), 9.25 (д, J=2.0 Hz, 0.6H, H-2'), 11.44 (с, 0.6H,

НН), 11.66 (с, 0.4Н, НН). ^{13}C ЯМР (75 МГц, ДМСО- d_6) δ 21.07, 21.17, 23.07, 23.28, 27.05, 28.29, 28.36, 30.08, 34.09, 35.81, 42.39, 42.45, 42.89, 43.07, 43.17, 51.63, 51.81, 54.85, 71.65, 111.48 (д, $^2J_{\text{CF}}=21.8$ Hz), 111.57 (д, $^2J_{\text{CF}}=21.8$ Hz), 111.67, 113.01, 120.04 (д, $^2J_{\text{CF}}=25.9$ Hz),

5 126.50, 128.15, 128.24, 128.29, 128.35, 131.70 (д, $^3J_{\text{CF}}=9.8$ Hz), 131.73 (д, $^3J_{\text{CF}}=9.8$ Hz), 131.93, 133.77, 133.84, 137.35, 139.93, 143.03, 144.82, 144.97, 147.61, 147.98, 157.09, 160.11 (д, $^1J_{\text{CF}}=245.3$ Hz), 169.42, 175.24. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для

10 $[\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{FN}_3\text{O}_3]^+$: $[\text{M}+\text{H}]^+$: вычислено 490.2500, найдено: 490.2498. Элементный анализ; вычислено для $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{FN}_3\text{O}_2$ (%): С, 71.14; Н, 6.26; N, 8.58. Найдено для (%): С, 71.02; Н, 6.65; N, 8.47.

Пример 8.

15 Аналогично из 0.332 г гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 193 мг 6-фторхинолин-8-карбальдегида получено 396 мг (81%), $[\text{N}'\text{-(6-фторхинолин-8-ил)метилен}]$ гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-

1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Ih), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 131-133°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{22} +$

20 70.4 (с 1, EtOH). ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 1.00 (с, 1.8Н, Н-18), 1.01 (с, 1.2Н, Н-18), 1.11-1.65 (м, 6Н), 1.70-1.81 (м, 1Н), 1.93-2.42 (м, 5Н), 2.65-2.90 (м, 3Н), 3.68 (с, 3Н, OMe), 4.33 (с, 0.6Н, OH), 4.35 (с, 0.4Н, OH), 6.55 (д, $J=2.8$ Hz, 0.6Н, Н-4), 6.60 (д, $J=2.8$ Hz, 0.4Н, Н-4), 6.66 (дд, $J=8.8, 2.8$ Hz, 1Н, Н-2), 7.16 (д, $J=8.8$ Hz, 1Н, Н-1), 7.64 (дд, $J=8.8, 4.2$ Hz, 1Н, Н-3'), 7.83-7.91 (м, 1Н), 8.00-8.10 (м, 1Н), 8.41 (д, $J=8.8$ Hz, 1Н, Н-4'), 8.94 (д, $J=4.2$ Hz, 1Н, Н-2'), 9.23 (с, 0.6Н, CH=N), 9.43 (с, 0.4Н, CH=N), 11.54 (с, 0.6Н, NH), 11.74 (с, 0.4Н,

25 NH). ^{13}C ЯМР (75 МГц, ДМСО- d_6) δ 21.05, 21.18, 23.19, 23.34, 27.02, 28.29, 28.35, 30.02, 34.30, 35.87, 42.43, 42.86, 43.06, 43.18, 51.61, 51.87, 54.87, 71.63, 111.67, 112.55 (д, $^2J_{\text{CF}}=22.2$ Hz), 112.75 (д, $^2J_{\text{CF}}=22.2$ Hz), 113.00, 113.90 (д, $^2J_{\text{CF}}=26.0$ Hz), 114.21 (д, $^2J_{\text{CF}}=26.0$ Hz),

30 122.78, 126.52, 129.30 (д, $^3J_{\text{CF}}=10.5$ Hz), 131.94, 134.46 (д, $^3J_{\text{CF}}=8.8$ Hz), 136.24 (д, $^4J_{\text{CF}}=4.7$ Hz), 137.33, 137.37, 138.47, 141.48, 141.53, 142.47, 142.54, 149.78, 149.80, 157.08, 159.40 (д, $^1J_{\text{CF}}=244.5$ Hz), 169.37, 175.29. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для

35 $[\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{FN}_3\text{O}_3]^+$: $[\text{M}+\text{H}]^+$: вычислено 490.2500, найдено: 490.2496. Элементный анализ; вычислено для $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{FN}_3\text{O}_3$ (%): С, 71.14; Н, 6.59; N, 8.58. Найдено для (%): С, 71.03; Н, 6.65; N, 8.39.

Пример 9.

40 Аналогично из 0.332 г гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 210 мг 2-хлорхинолин-3-карбальдегида получено 434 мг (86%) $[\text{N}'\text{-(2-хлорхинолин-3-ил)метилен}]$ гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-

1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Ii), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 160°C (разд.), $[\alpha]_{\text{D}}^{22}$

45 + 61.5 (с 1, CHCl_3). ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 1.01 (с, 3Н, Н-18), 1.09-1.65 (м, 6Н), 1.70-1.83 (м, 1Н), 1.91-2.42 (м, 5Н), 2.63-2.85 (м, 3Н), 3.66 (с, 1.8Н, OMe), 3.68 (с, 1.2Н, OMe), 4.36 (с, 0.4Н, OH), 4.39 (с, 0.6Н, OH), 6.49 (д, $J=2.6$ Hz, 0.6Н, Н-4), 6.60 (д, $J=2.6$ Hz, 0.4Н, Н-4), 6.65 (дд, $J=8.6, 2.6$ Hz, 1Н, Н-2), 7.15 (д, $J=8.6$ Hz, 1Н, Н-1), 7.68 (т, $J=7.3$ Hz, 1Н), 7.84 (т, $J=7.8$ Hz, 1Н), 7.96 (д, $J=8.1$ Hz, 1Н, Н-8'), 8.11 (д, $J=8.6$ Hz, 0.6Н, Н-5'), 8.20

(д, J=8.6 Hz, 0.4H, H-5'), 8.43 (с, 0.6H, CH=N), 8.63 (с, 0.4H, CH=N), 8.88 (с, 1H, H-3'), 11.59 (с, 0.6H, NH), 11.81 (с, 0.4H, NH). ¹³C ЯМР (75 MHz, ДМСО-d₆) δ 21.10, 21.17, 23.17, 23.31, 26.96, 27.04, 28.33, 30.06, 34.32, 35.89, 42.40, 42.46, 42.86, 43.02, 43.11, 51.61, 51.80, 54.84, 71.65, 71.68, 111.61, 111.68, 112.98, 126.24, 126.32, 126.48, 126.88, 127.61, 127.70, 127.83, 128.77, 128.96, 131.59, 131.68, 131.89, 135.32, 135.51, 137.32, 137.70, 140.80, 146.93, 147.05, 148.31, 148.41, 157.06, 169.37, 175.25. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для [C₂₉H₃₃ClN₃O₃]⁺: [M+H]⁺: вычислено 506.2205, найдено: 506.2201. Элементный анализ; вычислено для C₂₉H₃₂ClN₃O₃ (%): C, 68.83; H, 6.37; N, 8.30. Найдено для C, 68.69; H, 6.51; N, 8.19.

Пример 10.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13α-гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 226 мг 2-хлор-6-метилхинолин-3-карбальдегида получено 436 мг (84%) [N'-(2-хлор-6-метилхинолин-3-ил)метилен]гидразида 13α-гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Ij), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 168-170°C, [α]_D²² + 66.9 (с 1, EtOH). ¹H ЯМР (300 MHz, ДМСО-d₆) δ 1.01 (с, 3H, H-18), 1.11-1.64 (м, 6H), 1.72-1.84 (м, 1H), 1.89-2.42 (м, 5H), 2.48, 2.49 оба с, 3H, CH₃) 2.67-2.85 (м, 3H), 3.67 (с, 1.8H, OMe), 3.68 (с, 1.2H, OMe), 4.38 (с, 1H, OH), 6.50 (д, J=2.7 Hz, 0.6H, H-4), 6.54 (д, J=2.7 Hz, 0.4H, H-4), 6.66 (дд, J=8.7, 2.7 Hz, 1H, H-2), 7.15 (д, J=8.7 Hz, 1H, H-1), 7.68 (дд, J=8.6, 2.0 Hz, 1H, H-7'), 7.83 (с, 0.6H), 7.85 (д, J=8.6 Hz, 1H, H-8'), 7.92 (с, 0.4H), 8.42 (с, 0.6H, CH=N), 8.62 (с, 0.4H, CH=N), 8.73 (с, 0.6H), 8.75 (с, 0.4H), 11.60 (с, 0.6H, NH), 11.85 (с, 0.4H, NH). ¹³C ЯМР (75 MHz, ДМСО-d₆) δ 21.11, 21.16, 23.14, 23.32, 26.97, 27.02, 28.28, 28.37, 30.04, 30.16, 34.21, 35.90, 42.40, 42.48, 42.84, 42.91, 43.05, 43.13, 51.61, 51.82, 54.85, 54.88, 71.67, 111.70, 112.91, 113.01, 126.22, 126.49, 126.55, 126.85, 126.89, 127.28, 127.36, 127.45, 131.90, 131.93, 133.74, 133.87, 134.50, 134.77, 137.34, 137.38, 137.59, 137.87, 140.98, 145.59, 145.71, 147.46, 147.55, 157.07, 169.46, 175.26. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для [C₃₀H₃₅ClN₃O₃] [M+H]⁺: вычислено 520.2361, найдено: 520.2354. Элементный анализ; вычислено для C₃₀H₃₄ClN₃O₃ (%): C, 69.28; H, 6.59; N, 8.08. Найдено (%): C, 69.14; H, 6.63; N, 7.97.

Пример 11.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13α-гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 226 мг 2-хлор-8-метилхинолин-3-карбальдегида получено 465 мг (87%) [N'-(2-хлор-8-метилхинолин-3-ил)метилен]гидразида 13α-гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Ik), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 155-157°C, [α]_D²² + 33.1 (с 1, CHCl₃). ¹H ЯМР (300 MHz, ДМСО-d₆) δ 1.01 (с, 3H, H-18), 1.10-1.66 (м, 6H), 1.70-1.83 (м, 1H), 1.91-2.43 (м, 5H), 2.64 (с, 3H, CH₃) 2.68-2.84 (м, 3H), 3.66 (с, 1.8H, OMe), 3.68 (с, 1.2H, OMe), 4.34 (с, 0.4H, OH), 4.36 (с, 0.6H), 6.49 (д, J=2.7 Hz, 0.6H, H-4), 6.59 (д, J=2.7 Hz, 0.4H, H-4), 6.64 (дд, J=8.7, 2.7 Hz, 1H, H-2), 7.14 (д, J=8.7 Hz, 1H, H-1), 7.54 (т, J=7.4 Hz, 1H, H-6'), 7.68 (д, J=7.3 Hz, 1H, H-7'), 7.90 (д, J=7.4 Hz, 0.6H, H-5'), 7.99 (д, J=7.4 Hz, 0.4H, H-5'), 8.42 (с, 0.6H, CH=N), 8.62 (с, 0.4H, CH=N), 8.81 (с, 1H, H-4'), 11.57 (с, 0.6H, NH), 11.77 (с, 0.4H, NH). ¹³C ЯМР (75 MHz, ДМСО-d₆) δ 17.27, 21.03, 21.13, 23.11, 23.24, 26.92, 28.23, 28.27, 30.01, 34.21, 35.84, 42.48, 42.82, 42.98, 43.05, 51.58, 51.76, 54.79, 71.62, 111.56, 112.95, 125.92, 125.98, 126.40, 126.56, 126.74, 126.87, 127.49, 131.42, 131.51, 131.86, 135.38, 135.48, 135.72, 137.27, 137.71, 140.83, 145.98, 146.10, 147.35,

147.44, 157.01, 169.31, 175.20. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для $[C_{30}H_{35}ClN_3O_3]^+$: $[M+H]^+$: вычислено 520.2361, найдено: 520.2359. Элементный анализ; вычислено для $C_{30}H_{34}ClN_3O_3$ (%): С, 69.28; Н, 6.59; N, 8.08. Найдено (%): С, 69.09; Н, 6.75; N, 7.94.

Пример 12.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 243 мг 2-хлор-6-метоксихинолин-3-карбальдегида получено 460 мг (86%) $[N'-(2\text{-хлор-6-метоксихинолин-3-ил})\text{метиленил}]$ гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (II), чистота 98% (по ЯМР).

Т.пл. 148-150°C, $[\alpha]_D^{22} + 27.5$ (с 1, $CHCl_3$). 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$) δ 1.02 (с, 3H, H-18), 1.12-1.67 (м, 6H), 1.71-1.83 (м, 1H), 1.90-2.44 (м, 5H), 2.67-2.86 (м, 3H), 3.67 (с, 1.8H, OMe), 3.69 (с, 1.2H, OMe), 3.88 (с, 1.8H, OMe), 3.90 (с, 1.2H, OMe), 4.33 (с, 0.4H, OH), 4.38 (с, 0.6H, OH), 6.50 (д, $J=2.7$ Hz, 0.6H, H-4), 6.61 (д, $J=2.7$ Hz, 0.4H, H-4), 6.66 (дд, $J=8.7, 2.7$ Hz, 1H, H-2), 7.16 (д, $J=8.7$ Hz, 1H, H-1), 7.47 (д, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.49 (с, 0.6H), 7.64 (с, 0.4H), 7.86 (д, $J=9.0$ Hz, 1H), 8.42 (с, 0.6H, $CH=N$), 8.60 (с, 0.4H, $CH=N$), 8.79 (с, 1H), 11.55 (с, 0.6H, NH), 11.75 (с, 0.4H, NH). ^{13}C ЯМР (75 МГц, $DMCO-d_6$) δ 21.05, 21.13, 23.03, 23.24, 26.95, 28.21, 28.30, 29.97, 30.04, 34.28, 35.84, 42.37, 42.41, 42.79, 42.87, 42.97, 43.13, 51.58, 51.85, 54.79, 55.61, 55.68, 71.62, 106.27, 106.57, 111.64, 112.83, 112.98, 123.97, 126.23, 126.45, 128.15, 128.96, 129.10, 131.85, 133.93, 134.10, 137.29, 137.80, 140.75, 142.94, 145.65, 157.02, 158.00, 169.25, 175.10. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для $[C_{30}H_{35}ClN_3O_4]^+$:

$[M+H]^+$: вычислено 536.2311, найдено: 536.2306. Элементный анализ; вычислено для $C_{30}H_{34}ClN_3O_4$ (%): С, 67.22; Н, 6.39; N, 7.84. Найдено (%): С, 67.04; Н, 6.46; N, 7.73.

Пример 13.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 243 мг 2-хлор-7-метоксихинолин-3-карбальдегида получено 470 мг (88%) $[N'-(2\text{-хлор-7-метоксихинолин-3-ил})\text{метиленил}]$ гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Im), чистота 98% (по ЯМР).

Т.пл. 162-164°C, $[\alpha]_D^{22} + 28.8$ (с 1, $CHCl_3$). 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$) δ 1.01 (с, 3H, H-18), 1.11-1.65 (м, 6H), 1.71-1.82 (м, 1H), 1.96-2.41 (м, 5H), 2.66-2.83 (м, 3H), 3.67 (с, 1.8H, OMe), 3.68 (с, 1.2H, OMe), 3.93 (с, 3H, OMe), 4.35 (с, 0.4H, OH), 4.37 (с, 0.6H, OH), 6.50 (д, $J=2.7$ Hz, 0.6H, H-4), 6.59 (д, $J=2.7$ Hz, 0.4H, H-4), 6.65 (дд, $J=8.7, 2.7$ Hz, 1H, H-2), 7.15 (д, $J=8.7$ Hz, 1H, H-1), 7.31 (д, $J=8.8$ Hz, 1H, H-6'), 7.35 (с, 1H, H-8'), 7.99 (д, $J=8.8$ Hz, 0.6H, H-5'), 8.09 (д, $J=8.8$ Hz, 0.4H, H-5'), 8.40 (с, 0.6H, $CH=N$), 8.60 (с, 0.4H, $CH=N$), 8.77 (с, 0.6H, H-4'), 8.78 (с, 0.4H, H-4'), 11.50 (с, 0.6H, NH), 11.72 (с, 0.4H, NH). ^{13}C ЯМР (75 МГц, $DMCO-d_6$) δ 21.08, 21.15, 23.11, 23.28, 26.93, 27.00, 28.31, 30.01, 34.25, 35.84, 42.37, 42.45, 42.84, 43.00, 43.09, 51.60, 51.79, 54.81, 55.78, 71.65, 106.35, 106.41, 111.60, 112.97, 120.52, 122.04, 122.08, 123.60, 123.71, 126.43, 129.90, 130.11, 131.88, 134.93, 135.12, 137.31, 137.96, 141.09, 148.63, 148.73, 149.01, 149.15, 157.03, 161.90, 162.00, 169.22, 175.11. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для $[C_{30}H_{35}ClN_3O_4]^+$: $[M+H]^+$: вычислено 536.2311, найдено: 536.2300. Элементный анализ; вычислено для $C_{30}H_{34}ClN_3O_4$ (%): С, 67.22; Н, 6.39; N, 7.84. Найдено (%): С, 67.05; Н, 6.51; N, 7.70.

Пример 14.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-

триен-17-овой кислоты и 239 мг 2,6-диметоксихинолин-3-карбальдегида получено 382 мг (72%) [N'-(2,6-диметокси-3-ил)метиле]нгидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (In), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 172-175°C, $[\alpha]_D^{22} + 73.0$ (с 1, ДМСО). ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ d 1.02 (с, 3H, H-18), 1.11-1.66 (м, 6H), 1.71-1.82 (м, 1H), 1.94-2.40 (м, 5H), 2.68-2.86 (м, 3H), 3.67 (с, 1.8H, OMe), 3.68 (с, 1.2H, OMe), 3.83 (с, 1.8H, OMe), 3.85 (с, 1.2H, OMe), 4.02 (с, 3H, OMe), 4.33 (с, 0.4H, OH), 4.36 (с, 0.6H, OH), 6.50 (д, J=2.7 Hz, 0.6H, H-4), 6.61 (д, J=2.7 Hz, 0.4H, H-4), 6.66 (дд, J=8.7, 2.7 Hz, 1H, H-2), 7.16 (д, J=8.7 Hz, 1H, H-1), 7.33 (д, J=8.8 Hz, 1H, H-7'), 7.37 (с, 0.6H, H-5'), 7.49 (с, 0.4H, H-5'), 7.70 (д, J=8.8 Hz, 1H, H-8'), 8.31 (с, 0.6H, CH=N), 8.51 (с, 0.4H, CH=N), 8.57 (с, 0.6H, H-4'), 8.60 (с, 0.4H, H-4'), 11.39 (с, 0.6H, NH), 11.59 (с, 0.4H, NH). ^{13}C ЯМР (75 МГц, ДМСО- d_6) δ 21.05, 21.13, 23.04, 23.27, 26.95, 28.32, 29.98, 30.09, 34.24, 35.81, 42.38, 42.79, 42.87, 43.01, 43.17, 51.59, 51.86, 53.42, 54.78, 54.81, 55.35, 55.40, 71.59, 106.96, 107.27, 111.66, 112.82, 112.99, 118.64, 118.70, 122.02, 125.42, 125.50, 126.47, 127.76, 127.87, 131.86, 132.85, 133.14, 136.98, 137.04, 137.30, 141.42, 141.50, 155.97, 157.02, 157.91, 169.07, 174.99. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для $[\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}]^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: вычислено 554.2625, найдено: 554.2615. Элементный анализ; вычислено для $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5$ (%): C, 70.03; H, 7.01; N, 7.90. Найдено (%): C, 69.92; H, 7.28; N, 7.75.

Пример 15.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 239 мг 2,7-диметоксихинолин-3-карбальдегида получено 372 мг (70%) [N'-(2,7-диметоксихинолин-3-ил)метиле]нгидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Io), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 140-142°C, $[\alpha]_D^{22} + 6.4$ (с 1, CHCl_3). ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 1.01 (с, 3H, H-18), 1.11-1.64 (м, 6H), 1.71-1.81 (м, 1H), 1.94-2.37 (м, 5H), 2.67-2.84 (м, 3H), 3.67 (с, 3H, OMe), 3.90 (с, 3H, OMe), 4.04 (с, 3H, OMe), 4.35 (с, 1H, OH), 6.51 (д, J=2.7 Hz, 0.6H, H-4), 6.60 (д, J=2.7 Hz, 0.4H, H-4), 6.66 (дд, J=8.7, 2.7 Hz, 1H, H-2), 7.09 (д, J=8.8 Hz, 1H, H-6'), 7.16 (д, J=8.7 Hz, 1H, H-1), 7.18 (с, 1H, H-8'), 7.83 (д, J=8.8 Hz, 0.6H, H-5'), 7.92 (д, J=8.8 Hz, 0.4H, H-5'), 8.29 (с, 0.6H, CH=N), 8.49 (с, 0.4H, CH=N), 8.55 (с, 0.6H, H-4'), 8.57 (с, 0.4H, H-4'), 11.32 (с, 0.6H, NH), 11.52 (с, 0.4H, NH). ^{13}C ЯМР (75 МГц, ДМСО- d_6) δ 21.07, 21.14, 23.09, 23.30, 26.92, 26.98, 28.24, 28.30, 30.00, 30.05, 34.19, 35.79, 42.36, 42.44, 42.80, 42.84, 43.02, 43.12, 51.59, 51.78, 53.54, 54.81, 54.83, 55.48, 71.60, 106.14, 106.20, 111.60, 112.98, 115.81, 115.94, 116.69, 119.49, 119.55, 126.44, 129.60, 129.80, 131.90, 133.69, 133.96, 137.18, 137.31, 140.20, 147.97, 148.09, 157.03, 159.73, 159.76, 161.29, 161.39, 168.99, 174.96. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для $[\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}]^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: вычислено 554.2625, найдено: 554.2616. Элементный анализ; вычислено для $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5$ (%): C, 70.03; H, 7.01; N, 7.90. Найдено (%): C, 69.94; H, 7.23; N, 7.78.

Пример 16.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13 β -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 173 мг хинолин-3-карбальдегида получено 396 мг (84%) [N'-хинолин-3-илметиле]нгидразида 13 β -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Ip), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 162-164°C, $[\alpha]_D^{22} + 58.8$ (с 1, ДМСО). ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 0.96-1.07 (м, 1H), 1.18-1.35 (м, 1H), 1.19 (с, 1.8H,

Н-18), 1.22 (с, 1.2Н, Н-18), 1.39-1.76 (м, 5Н), 1.80-2.30 (м, 5Н), 2.57-2.73 (м, 1Н), 2.73-2.90 (м, 2Н, Н-6), 3.68 (с, 3Н, ОМе), 3.96 (с, 1Н, ОН), 6.57 (д, J=2.8 Hz, 0.6Н, Н-4), 6.60 (д, J=2.8 Hz, 0.4Н, Н-4), 6.67 (дд, J=8.6, 2.8 Hz, 1Н, Н-2), 7.18 (д, J=8.6 Hz, 1Н, Н-1), 7.64 (т, J=7.6 Hz, 1Н), 7.79 (т, J=1.1 Hz, 1Н), 7.97-8.08 (м, 2Н), 8.21 (с, 0.6Н, СН=N), 8.42 (с, 0.4Н, СН=N), 8.49 (д, J=1.8 Hz, 0.6Н), 8.56 (д, J=1.8 Hz, 0.4Н), 9.24 (д, J=1.8 Hz, 0.4Н), 9.27 (д, J=1.8 Hz, 0.6Н), 11.43 (с, 0.6Н, NH), 11.65 (с, 0.4Н, NH). ¹³С ЯМР (75 МГц, ДМСО-d₆) δ 23.40, 23.60, 25.91, 26.52, 29.03, 29.18, 30.12, 33.16, 34.59, 40.53, 42.59, 49.52, 49.73, 54.79, 69.87, 111.57, 113.00, 126.39, 127.27, 127.48, 127.63, 128.39, 128.51, 128.79, 128.83, 130.14, 130.22, 132.36, 134.31, 134.38, 137.42, 137.47, 140.22, 143.31, 147.59, 147.73, 147.91, 148.29, 156.91, 169.33, 175.14. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для [C₂₉H₃₄N₃O₃]⁺ [M+H]⁺: вычислено 472.2595, найдено: 472.2594,. Элементный анализ; вычислено для C₂₉H₃₃N₃O₃ (%): С, 73.86; Н, 7.05. Найдено (%): С, 73.73; Н, 7.18

Пример 17.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13β--гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 173 мг хинолин-6-карбальдегида получено 391 мг (83%) [N'-хинолин-6-илметилен]гидразида 13β-гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Iq), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 145-147°C, [α]_D²² + 57.4 (с 1, ДМСО). ¹Н ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 0.96-1.07 (м, 1Н), 1.19 (с, 1.8Н, Н-18), 1.22 (с, 1.2Н, Н-18), 1.24-1.39 (с, 1Н), 1.40-1.76 (с, 5Н), 1.90-2.29 (с, 5Н), 2.54-2.69 (м, 1Н), 2.73-2.90 (м, 2Н, Н-6), 3.69 (с, 3Н, ОМе), 3.96 (с, 1Н, ОН), 6.60 (д, J=2.8 Hz, 1Н, Н-4), 6.68 (дд, J=8.6, 2.8 Hz, 1Н, Н-2), 7.18 (д, J=8.6 Hz, 1Н, Н-1), 7.56 (дд, J=8.3, 4.1 Hz, 1Н), 8.04 (д, J=8.5 Hz, 1Н), 8.09-8.22 (м, 2.6Н), 8.34-8.45 (м, 1.4Н), 8.91 (д, J=4.1 Hz, 1Н), 11.36 (с, 0.6Н, NH), 11.54 (с, 0.4Н, NH). ¹³С ЯМР (75 МГц, ДМСО-d₆) δ 23.42, 23.61, 25.91, 26.48, 26.55, 29.02, 29.17, 30.13, 33.25, 34.63, 40.12, 40.54, 42.59, 49.52, 49.76, 54.81, 69.90, 111.60, 113.02, 122.03, 122.07, 125.75, 126.37, 127.87, 127.90, 128.05, 128.10, 129.50, 132.37, 132.52, 132.70, 136.21, 136.29, 137.44, 137.47, 141.88, 144.88, 148.24, 148.33, 151.03, 151.07, 156.92, 169.25, 175.06. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для [C₂₉H₃₄N₃O₃]⁺ [M+H]⁺: вычислено 472.2595, найдено: 472.2579. Элементный анализ; вычислено для for C₂₉H₃₃N₃O₃ (%): С, 73.86; Н, 7.05. Найдено (%): С, 73.75; Н, 7.19.

Пример 18.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13β--гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 206 мг 8-метоксихинолин-5-карбальдегида получено 431 мг (86%) [N'-(8-метоксихинолин-5-ил)метилен]гидразида 13β-гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Ir), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 142-144°C, [α]_D²² + 41.0 (с 1, ДМСО). ¹Н ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 0.96-1.07 (м, 1Н), 1.13-1.34 (м, 1Н), 1.19 (с, 3Н, Н-18), 1.39-1.78 (м, 5Н), 1.87-2.33 (м, 5Н), 2.57-2.97 (м, 3Н), 3.69 (с, 3Н, ОМе), 3.93 (с, 0.6Н, ОН), 3.94 (с, 0.4Н, ОН), 4.01 (с, 3Н, ОМе), 6.57 (д, J=2.8 Hz, 0.6Н, Н-4), 6.61 (д, J=2.8 Hz, 0.4Н, Н-4), 6.67 (дд, J=8.6, 2.8 Hz, 1Н, Н-2), 7.18 (д, J=8.6 Hz, 1Н, Н-1), 7.25 (д, J=8.2 Hz, 1Н, Н-7'), 7.59 (дд, J=8.4, 4.5 Hz, 0.6Н, Н-3'), 7.67 (дд, J=8.4, 4.5 Hz, 0.4Н, Н-3'), 7.79 (д, J=8.2 Hz, 1Н, Н-6'), 8.46 (с, 0.6Н, СН=N), 8.59 (с, 0.4Н, СН=N), 8.86-8.93 (м, 1Н, Н-2'), 9.22 (д, J=8.4 Hz, 0.6Н, Н-4'), 9.47 (д, J=8.4 Hz, 0.4Н, Н-4'), 11.13 (с, 0.6Н, NH), 11.35 (с, 0.4Н, NH). ¹³С ЯМР (75 МГц, ДМСО-d₆) δ 23.24, 23.50, 25.92, 26.47, 26.53, 29.15, 30.04, 30.11, 32.88, 34.61, 40.54, 42.57, 49.53, 49.73, 54.81, 55.85, 69.91, 107.85, 107.94, 111.55,

113.02, 121.77, 122.58, 122.67, 126.11, 126.24, 126.37, 129.55, 130.47, 132.41, 132.70, 133.36, 137.49, 142.65, 146.06, 148.99, 156.41, 156.56, 156.92, 168.96, 174.68. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) для $[C_{30}H_{33}N_3O_4]^+ [M+H]^+$: вычислено 502.2700. найдено: 502.2690.

Элементный анализ; вычислено для $C_{30}H_{35}N_3O_4$ (%): С, 71.83; Н, 7.03; N, 8.38. Найдено (%): С, 71.67; Н, 7.34; N, 8.25

Пример 19.

Аналогично из 0.332 г гидразида 13 β -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты и 173 мг N'-изохинолин-5-карбальдегида получено 377 мг (80%) [N'-изохинолин-5-илметилден]гидразида 13 α -гидрокси-3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты (Is), чистота 98% (по ЯМР). Т.пл. 162-165°C, $[\alpha]_D^{22} + 73.9$ (с

1, EtOH). 1H ЯМР (300 MHz, ДМСО- d_6) δ 1.01 (с, 1.8H, H-18), 1.02 (с, 1.2H, H-18), 1.08-1.67 (м, 5H), 1.72-1.82 (м, 1H), 1.94-2.45 (м, 5H), 2.65-2.92 (м, 3H), 3.67 (с, 3H, OMe), 4.35 (с, 0.6H, OH), 4.42 (с, 0.4H, OH), 6.56 (д, J=2.7 Hz, 0.6H, H-4), 6.60 (д, J=2.7 Hz, 0.4H, H-4), 6.66 (дд, J=8.7, 2.7 Hz, 1H, H-2), 7.15 (д, J=8.7 Hz, 1H, H-1), 7.75 (дд, J=8.1, 7.3 Hz, 1H), 8.05-8.13 (м, 1H), 8.18 (д, J=8.1 Hz, 1H), 8.47 (д, J=6.1 Hz, 0.6H), 8.59 (д, J=6.1 Hz, 0.6H), 8.61 (с, 0.6H, CH=N), 8.61 (д, J=6.1 Hz, 0.4H), 8.73 (с, 0.4H, CH=N), 8.74 (д, J=6.1 Hz, 0.4H), 9.37 (с, 1H), 11.36 (с, 0.6H, NH), 11.61 (с, 0.4H, NH). ^{13}C ЯМР (75 MHz, ДМСО- d_6) δ 21.13, 22.89, 23.29, 27.05, 28.27, 28.30, 30.01, 33.95, 35.79, 42.37, 42.44, 42.82, 43.08, 51.59, 51.81, 54.84, 71.59, 71.66, 111.65, 113.00, 116.85, 117.49, 126.45, 127.11, 127.16, 128.60, 128.88, 128.95, 129.61, 129.84, 130.81, 131.91, 132.32, 132.36, 137.30, 137.34, 141.26, 144.08, 144.14, 144.83, 153.14, 153.20, 157.04, 169.23, 174.98. Масс-спектр высокого разрешения (ESI)

для $[C_{29}H_{34}N_3O_3]^+ [M+H]^+$: вычислено 472.2595н. найдено: 472.2598. Элементный анализ; вычислено для $C_{29}H_{33}N_3O_3$ (%): С, 73.86; Н, 7.05; N, 8.91. Найдено (%): С, 73.72; Н, 7.18; N, 8.80. Предлагаемый новый тип гибридных соединений - секостероида и хинолина общей формулой I был подвергнут скринингу на антипролиферативную активность в отношении чувствительной к эстрогену линии клеток рака молочной железы человека MCF-7.

Пример 20. Антипролиферативная активность заявленных соединений. Изучение антипролиферативной активности заявленных соединений проводилось на культурах эстрогензависимых клеток рака молочной железы человека MCF-7. Данные об антипролиферативной активности (IC₅₀ - концентрация, ингибирующая рост клеток на 50% по сравнению с контролем) заявленных в изобретении соединений, приводятся в таблице 1, где для каждого соединения указана структура и номер примера их синтеза (описанных выше), а также приводятся данные об антипролиферативной активности для препарата сравнения - противоопухолевого препарата цисплатина. Определение IC₅₀ проводилось с помощью МТТ-теста по стандартной методике, описанной в литературе [Т. Mossman, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, J. Immunol. Methods 1983, 65, 55-63]. Соединения растворяли в ДМСО (Applichem) в концентрации 10 мкМ. Клетки рака молочной железы человека MCF-7 были получены из коллекции АТСС. Клетки MCF-7 культивировали *in vitro* в стандартной среде DMEM (Gibco). Среда содержала 10%-ную эмбриональную сыворотку телят (HyClone), пеницилин 50 ед/мл и стрептомицин 50 мкг/мл (PanEco), инкубацию проводили при 37°C, 5%-ном CO₂ и относительной влажности 80-90%. При определении количества выживших клеток был использован МТТ тест, основанный

на превращении реагента МТТ (3-[4,5-диметилтиазол-2]-2,5-дифенилтетразол бромида) в кристаллы формазана. Клетки рассеивали на 24-луночные планшеты в расчете 40 000 клеток на одну лунку. Через 24 часа добавляли анализируемые соединения; к контрольным клеткам добавляли соответствующее количество растворителя (ДМСО).

5 Концентрация соединений в среде для культивирования варьировалась от 0.5 до 50 мкМ, при этом содержание органического растворителя в среде не превышало 0.5%. Через 72 часа роста с соединениями среду удаляли и добавляли к клеткам МТТ реагент (AppliChem) на 2 ч. После окончания инкубации клетки лизировали в ДМСО и легким встряхиванием планшета растворяли накопленный клетками формазан. Оптическую
10 плотность полученных растворов анализировали на спектрофотометре MultiScan FC (ThermoFisher) при 571 нм. За 100% принимали выживаемость клеток, обработанных растворителем. Сравнение активности соединений выполняли с помощью статистики ANOVA в программе GraphPad.

15

20

25

30

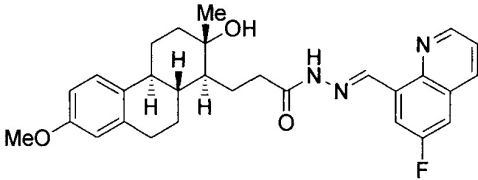
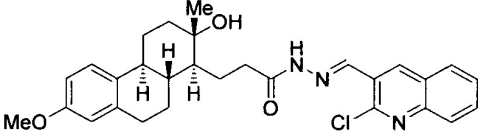
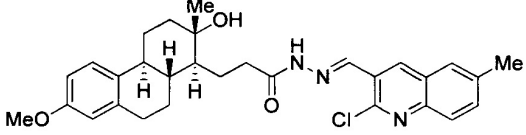
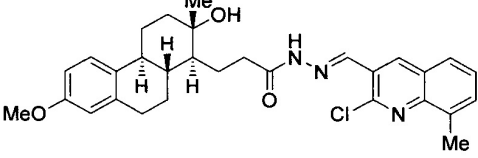
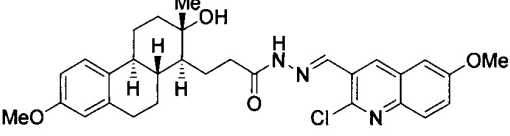
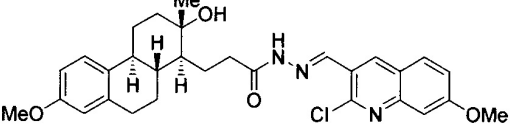
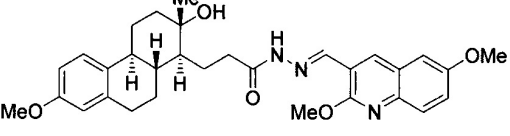
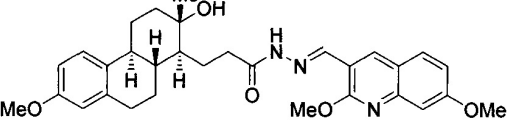
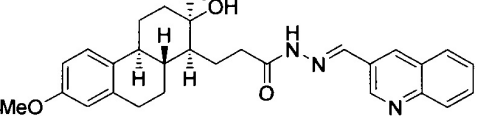
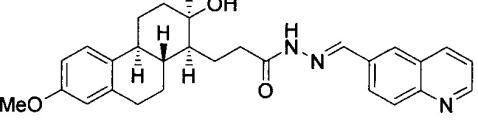
35

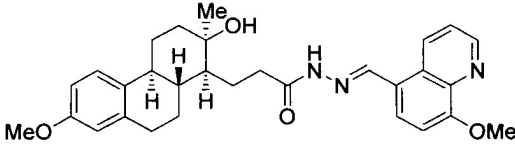
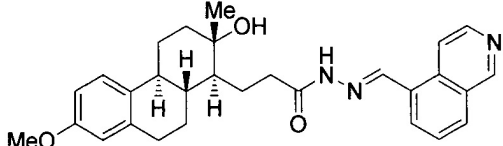
40

45

Таблица 1. Антипролиферативная активность заявленных соединений общей формулы I и эталонного соединения (цисплатин).

N	Соединение	Структура	IC ₅₀ (MCF-7), мкМ
1	Ia		1.8 ± 0.2
2	Ib		5.0 ± 0.6
3	Ic		1.7 ± 0.2
4	Id		3.1 ± 0.4
5	Ie		4.6 ± 0.5
6	If		0.8 ± 0.1
7	Ig		2.3 ± 0.3

5	8	Ih		3.5 ± 0.4
10	9	Ii		2.2 ± 0.3
15	10	Ij		8.1 ± 0.9
20	11	2k		7.9 ± 0.9
25	12	II		4.3 ± 0.5
30	13	Im		13.3 ± 1.5
35	14	In		11.9 ± 1.3
40	15	Io		12.7 ± 1.5
45	16	Ip		6.5 ± 0.7
45	17	Iq		3.2 ± 0.4

5	18	Ir		10.4 ± 1.2
10	19	Is		2.5 ± 0.3
	20	цисплатин		6.2±0.7

Как видно из представленных данных, соединения, являющиеся предметом
 настоящего изобретения и описанные в примерах, обладают антипролиферативным
 действием в микромолярных концентрациях и в большинстве случаев превосходят
 активность препарата сравнения цисплатина. Максимальной антипролиферативной
 активностью обладают соединения Ia и Ic (IC_{50} =1.7-1.8 мкМ) и соединение If (IC_{50} =0.8
 мкМ), превосходя эталонный препарат цисплатин в 3-7 раз.

Пример 21.

Антипролиферативная активность заявленных соединений в отношении
 полирезистентных опухолевых клеток.

Изучение цитотоксичности заявленных соединений Ia и Ic проводили также на
 культуре полирезистентных опухолевых клеток NCI/ADR-RES с экспрессией р-
 гликопротеина (p-gp). Известно, что экспрессия АТФ-связывающих кассетных
 транспортеров, таких как р-гликопротеин, на поверхности опухолевых клеток является
 одним из наиболее типичных механизмов резистентности, развивающихся в опухолевых
 клетках в ответ на химиотерапию [R.W. Robey, K.M. Pluchino, M.D. Hall, A.T. Fojo, S.E.
 Bates, M.M. Gottesman, Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer,
 Nat. Rev. Cancer 2018, 18, 452-464; A.A. Stavrovskaya, E.Y. Rybalkina, Recent Advances in
 the Studies of Molecular Mechanisms Regulating Multidrug Resistance in Cancer Cells,
 Biochemistry Moscow 2018, 83, 779-786; M.P. Ceballos, J.P. Rigalli, L.I. Ceré, M. Semeniuk,
 V.A. Catania, MX. Ruiz, ABC Transporters: Regulation and Association with Multidrug Resistance
 in Hepatocellular Carcinoma and Colorectal Carcinoma, Curr. Med. Chem. 2019, 26, 1224-1250].
 NCI/ADR-RES - это линия клеток, служащая общепринятой моделью для изучения
 резистентности опухолевых клеток к химиотерапии [A. Vert, J. Castro, M. Ribó, M.
 Vilanova, A. Benito, Transcriptional profiling of NCI/ADR-RES cells unveils a complex network
 of signaling pathways and molecular mechanisms of drug resistance, Onco Targets Ther. 2018,
 11, 221-237]. Определение IC_{50} (IC_{50} - концентрация, ингибирующая рост клеток на 50%
 по сравнению с контролем) заявленных в изобретении соединений Ia и Ic проводилось
 аналогично описанному выше с помощью МТТ-теста по стандартной методике,
 описанной в литературе [T. Mossman, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival:
 Application to proliferation and cytotoxicity assays, J. Immunol. Methods 1983, 65, 55-63]. В
 качестве соединения сравнения использовался противоопухолевый препарат
 доксорубицин. Стандартные значения IC_{50} для доксорубицина лежат в области 0.05-0.5
 мкМ, однако больше 50% клеток NCI/ADR-RES выживает даже при концентрации
 доксорубицина 2 мкМ, что показывает высокий уровень устойчивости клеток NCI/ADR-
 RES к доксорубицину (Таблица 2).

Таблица 2. Противоопухолевая активность доксорубина в отношении полирезистентных клеток NCI/ADR-RES.

Концентрация доксорубина, мкМ	Выживаемость клеток NCI/ADR-RES, %
0	100 ± 10.0
0.25	98 ± 9.8
0.5	93 ± 9.3
1	80 ± 8.0
2	67 ± 9.0

Соединения общей формулы I на примере заявленных соединения Ia и Ic показали высокую антипролиферативную активность в отношении полирезистентных опухолевых клеток NCI/ADR-RES со значениями $IC_{50}=1.5\pm 0.3$ мкМ для Ia и $IC_{50}=3.5\pm 0.5$ мкМ для Ic (Таблица 3), что демонстрирует возможность использования заявленных соединений формулы I для преодоления устойчивости опухолевых клеток к химиотерапии.

Таблица 3. Противоопухолевая активность заявленных соединений Ia и Ic в отношении полирезистентных клеток NCI/ADR-RES.

Концентрация соединений, мкМ	Выживаемость клеток NCI/ADR-RES, %	
	Соединение Ia	Соединение Ic
0	100 ± 10	100 ± 10
1.2	60 ± 6	88 ± 9
2.5	21 ± 5	68 ± 7
5	20 ± 5	25 ± 6
IC_{50} , мкМ	1.5 ± 0.3	3.5 ± 0.5

Пример 22.

Селективность заявленных соединений по отношению к опухолевым клеткам MCF-7 по сравнению с клетками нормального эпителия MCF-10A. Современные стандарты разработки лекарственных средств указывают на необходимость оценки токсичности соединений на самых ранних этапах разработки. Это позволяет отобрать соединения, которые эффективно блокируют рост опухолевых клеток, но не повреждают нетрансформированные (нормальные) клетки. Для оценки потенциальной токсичности ведущего стероида Ic выбрана линия MCF-10A. Определение IC_{50} (IC_{50} - концентрация, ингибирующая рост клеток на 50% по сравнению с контролем) соединения Ic в отношении нормальных клеток MCF-10A проводилось аналогично описанному выше с помощью МТТ-теста по стандартной методике, описанной в литературе [T. Mossman,

Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, J. Immunol. Methods 1983, 65, 55-63]. В таблице 4 указаны полученные значения IC_{50} для секостероида Ic в сравнении с известными ведущими секостероидами общей формулы III (3l, 3d, 3q) и эталонным соединением - противоопухолевым препаратом доксорубицином. Индекс селективности (ИС) рассчитан как отношение значений IC_{50} для MCF-10A к значениям IC_{50} для MCF-7.

Таблица 4. Антипролиферативная активность лидерного соединения Ic, известных ведущих секостероидов общей формулы III и эталонного соединения (доксорубицин) в отношении клеток рака молочной железы MCF-7 и клеток нормального эпителия MCF-10A.

Соединение	IC_{50} (MCF-7), мкМ	IC_{50} (MCF-10A), мкМ	ИС
Секостероид Ic	1.7 ± 0.2	7.8 ± 0.8	4.6
Известные секостероиды формулы III: (3l, 3d, 3q)	2.2 ± 0.2	6.7 ± 0.7	3.0
	2.9 ± 0.3	9.1 ± 1.0	3.1
	3.0 ± 0.3	7.6 ± 0.8	2.5
Доксорубицин	0.30 ± 0.03	0.06 ± 0.01	0.2

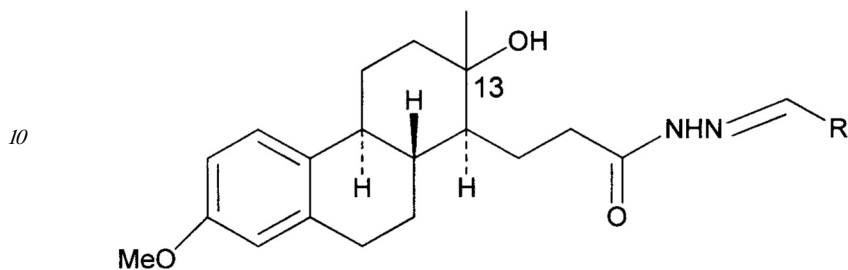
Как видно из представленных данных, доксорубицин оказывает значительное токсическое воздействие на клетки нормального эпителия и не обладает селективностью в отношении опухолевых клеток. Заявленные в изобретении секостероиды общей формулы I на примере Ic превосходят по антипролиферативной активности известные ведущие секостероиды общей формулы III (3l, 3d, 3q), при этом ИС соединения Ic превышает ИС ведущих секостероидов общей формулы III (3l, 3d, 3q) на 48%. Таким образом, секостероиды общей формулы I на примере Ic являются высокотоксичными для опухолевых клеток и низкотоксичными для нормальных клеток. Техническим результатом предлагаемого изобретения является создание новых, неописанных в литературе, соединений общей формулы I, обладающих антипролиферативной активностью в отношении клеток рака молочной железы MCF-7. Большинство полученных соединений обладают максимальной антипролиферативной активностью (IC_{50} от 2.5-5.0 мкМ) и превосходят по активности эталонный лекарственный препарат цисплатин (IC_{50} 6.2 мкМ), продемонстрировали на примере секостероида Ic очень хорошую селективность в отношении опухолевых клеток (ИС=4.6) по сравнению с эталонным соединением доксорубином (ИС=0.2) и с известными секостероидами общей формулы III (3l, 3d, 3q), у которых ИС составляет от 2.5 до 3.1, а также показали на примере соединений Ia и Ic высокую антипролиферативную активность со значениями $IC_{50}=1.5\pm 0.3$ мкМ для Ia и $IC_{50}=3.5\pm 0.5$ мкМ для Ic в отношении полирезистентных опухолевых клеток NCI/ADR-RES, что демонстрирует возможность использования заявленных соединений I для преодоления устойчивости опухолевых клеток к химиотерапии.

Полученные соединения могут рассматриваться в качестве кандидатов для разработки

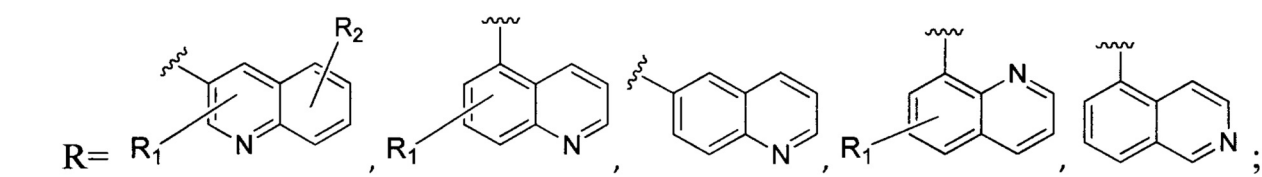
противоопухолевых препаратов, в частности, для агрессивных раковых опухолей с множественной лекарственной устойчивостью.

(57) Формула изобретения

1. [N'-(Изо)хинолилметилден]гидразиды 3-метокси-13,17-секоэстра-1,3,5(10)-триен-17-овой кислоты общей формулы



15 где



R₁ и R₂=H, Me, OMe, Cl или F.

2. Соединения по п. 1, обладающие антипролиферативной активностью в отношении клеток рака молочной железы MCF-7.

25

30

35

40

45