

Диазапирены: взаимодействие с нуклеиновыми кислотами и биологическая активность

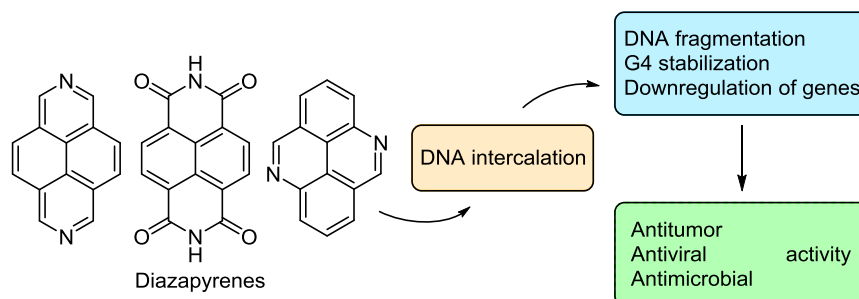
Андрей М. Жиров^{1*}, Дмитрий А. Ковалев¹, Диана В. Ульшина¹,
Сергей В. Писаренко¹, Олег П. Демидов², Иван В. Боровлев²

¹ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора,
ул. Советская, 13-15, Ставрополь 355035, Россия; email: stavnipchi@mail.ru

² Северо-Кавказский федеральный университет,
ул. Пушкина, 1а, Ставрополь 355017, Россия; email: k-biochem-gcs@stavsru

Поступило 25.10.2019

Принято 26.11.2019



В обзоре обобщены данные по прикладным аспектам взаимодействия нуклеиновых кислот с производными диазапиренов. Приведены сведения о биологической активности и проанализированы вероятные механизмы, лежащие в основе действия диазапиренов. Библиография 119 ссылок.

Ключевые слова: диазапирен, ДНК, нафталиндиимид, РНК, биологическая активность, интеркаляция, G-квадруплекс.

ДНК является фармакологической мишенью для многих лекарственных препаратов или соединений, находящихся на этапе клинических испытаний.¹ Разработка новых лекарств и усовершенствование действия существующих средств является сложной задачей, которая выходит за рамки улучшения специфичности лекарственного средства по отношению к его биологической цели. Поскольку во многих случаях лишь незначительная доля введенного лекарственного соединения достигает фармакологической цели, необходимо разрабатывать стратегии увеличения накопления лекарственного средства вблизи клеточной ДНК. Стратегия доставки лекарств должна быть направлена на увеличение времени циркуляции, усиление тканеспецифического накопления, повышение эффективности клеточного и ядерного поглощения в дополнение к высокой специфичности и сродству к ДНК. Сложность биологических систем затрудняет одновременное включение всех этих факторов в единый алгоритм разработки лекарств. Вместе с тем фокусировка на специфичности относительно проста, поскольку структура ДНК хорошо известна.²

В настоящее время существует много стратегий для использования известной структуры ДНК в специфичном связывании лекарственных соединений. Один из подходов заключается в использовании небольших молекул, которые способны распознавать нуклеиновые кислоты и связываться с конкретными областями ДНК, большой или малой бороздой, или встраиваться между основаниями ДНК в определенных последовательностях нуклеотидов.

Одними из хорошо изученных ДНК-мишеней для лекарственных соединений являются G-квадруплексы (G4).³ G4 представляют собой вторичные структуры нуклеиновых кислот, которые могут образовываться в одноцепочечных богатых гуанином последовательностях в физиологических условиях.⁴ Четыре гуанина попарно связываются посредством водородных связей с образованием G-квартетов. Эти структуры дополнительно стабилизируются в присутствии ионов металлов, например калия. Исследования их стабильности показали, что эти неканонические вторичные структуры ДНК способны дестабилизировать двойную спираль, поскольку многие структуры G4 термо-

динамически более устойчивы, чем двухцепочечная ДНК (дцДНК), а скорость их денатурации значительно ниже.⁵

Последовательности G4 у эукариот играют ключевые регуляторные функции, включающие транскрипционную регуляцию промоторов^{5b} и энхансеров генов,^{5b,6} трансляцию,^{5b,6,7} эпигенетическую регуляцию хроматина⁸ и рекомбинацию ДНК.^{5b,8} В вирусах G4 вовлечены в ключевые этапы жизненного цикла.⁹ Известно о наличии функционально значимого G4 в ВИЧ,¹⁰ связывание с которым обуславливает противовирусное действие некоторых препаратов.^{10a,b,11} G4 были также обнаружены в геномах вируса герпеса,¹² коронавируса SARS и вируса папилломы человека,¹³ вирусов Зика, Эбола и гепатита С.¹⁴ У прокариот последовательности G4 были описаны в *E. coli*,^{6,15} *D. radiodurans*,¹⁶ *Xanthomonas* и *Nostoc* sp.,¹⁷ а также в генах *E. coli*, *C. difficile* и *Bacteroides* sp., кодирующих хеликазы Pif1 и RecQ.¹⁸ Бактериальные G4 участвуют в антигенной вариабильности белка пилина клеточной стенки *Neisseria gonorrhoeae*.¹⁹

Механизм воздействия малых молекул на ДНК основан на ковалентном (например, цисплатин и производные бис-β-хлорэтиламина),²⁰ либо нековалентном связывании с образованием водородных связей, электростатических, гидрофобных и/или π-π-взаимодействий. Нековалентные связывающие подразделяют на два типа: соединения, связывающиеся с малыми бороздками (дистамицин, нетропсин и Hoechst 33258), и интеркаляторы (доксорубин, акридин оранжевый и др.).²¹ Интеркаляторы – это молекулы, содержащие плоский фрагмент, обычно состоящий из нескольких конденсированных циклов, который взаимодействует с дцДНК путем вставки плоского фрагмента между соседними парами оснований двойной спирали, а гидрофобные взаимодействия и π-стекинг стабилизируют образующийся комплекс.²²

Во многих работах было показано, что интеркалирующие соединения, обладающие антибактериальной и противоопухолевой активностью, являются ингибиторами ферментов топоизомеразы I,²³ топоизомеразы II,²⁴ топоизомеразы IV и ДНК-гиразы.²⁵ Эти ферменты способны релаксировать сверхспирализованные молекулы ДНК путем внесения одно- или двухцепочечных разрывов с последующим восстановлением. Интеркаляция в месте взаимодействия ДНК и топоизомеразы приводит к увеличению расстояния между соседними парами нуклеотидов и не позволяет ферменту провести заключительную операцию по сшиванию разрезанных концов,²⁶ а накопление разрывов в цепи ДНК, особенно двойных, запускает, в свою очередь, в клетке процесс апоптоза. Поскольку в опухолевых тканях процессы репликации идут постоянно, эти клетки являются наиболее уязвимыми для действия ингибиторов топоизомеразы.²⁷

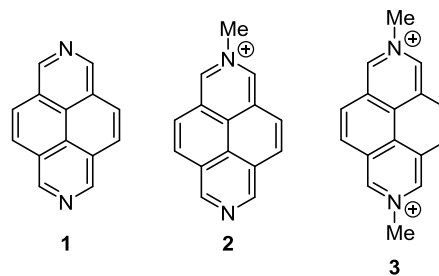
Внимание к азапиренам связано как с теоретическими аспектами, так и с результатами прикладных исследований. Полиазапирены активно используются для создания молекулярных устройств,²⁸ редокс-

сенсоров,²⁹ соединений с топологической связью,³⁰ молекул типа "хозяин–гость"³¹ и макрокомплексов с катионами переходных металлов.³² Рост интереса к подобным структурам связан, в том числе, с увеличением количества методов синтеза аза- и полиазапиренов.³³ Кроме того, производные триазапиренов, представители семейства алкалоидов ааптаминов (aaptamine), были выделены из морских губок Южно-Китайского моря.³⁴ Ааптамины проявляют широкий спектр биологической активности: противогрибковую, антибактериальную, противоопухолевую, противовирусную, в том числе антиВИЧ.³⁵ В настоящем обзоре представлены данные об образовании комплексов, в том числе интеркаляционных, диазапиренов с нуклеиновыми кислотами и проанализированы сведения об биологической активности диазапиренов главным образом в свете взаимодействия с ДНК.

1. ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДИАЗАПИРЕНОВ С НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ

Взаимодействие 2,7-диазапиренов и их четвертичных солей с ДНК было исследовано Беккером с сотр. 2,7-Диазапирен (**1**), катионы *N*-метил-2,7-диазапирения (**2**) и *N,N*-диметил-2,7-диазапирения (**3**) связываются с дцДНК путем интеркаляции с приблизительно перпендикулярной ориентацией к оси спирали ДНК. Термодинамические параметры связывания 2,7-диазапиренов с ДНК существенно отличаются. 2,7-Диазапирен (**1**) связывается с отрицательным значением изменения энтальпии ΔH и отрицательным значением изменения энтропии ΔS , тогда как связывание катиона *N,N*-диметил-2,7-диазапирения (**3**) энтропийно благоприятно, но энтальпийно невыгодно. Катион *N*-метил-2,7-диазапирения (**2**) занимает промежуточное положение³⁶ (табл. 1).

Таблица 1. Термодинамические параметры комплексов 2,7-диазапирена (**1**) и его катионов **2**, **3** с ДНК



Параметр*	Соединение/катион		
	1	2	3
ΔH , ккал·моль ⁻¹	-9	3	5.2
ΔS , кал·моль ⁻¹	-7	12	43
ΔG , ккал·моль ⁻¹	-6.9	-7.4	7.1
K_S , 10 ⁵ ·М ⁻¹	1.3	3.2	1.9

* ΔH – изменение энтальпии при образовании комплекса с ДНК, ΔS – изменение энтропии при образовании комплекса с ДНК, ΔG – изменение свободной энергии Гиббса при образовании комплекса с ДНК, K_S – константа связывания с ДНК определена методом спектрофотометрического титрования.

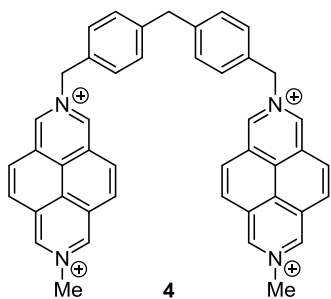


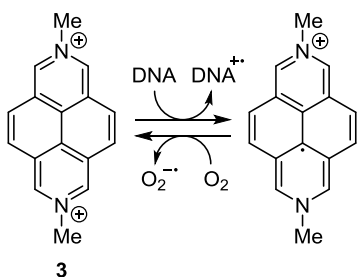
Рисунок 1. Катион бис(2,7-диазапирения) 4.

При облучении видимым светом ($\lambda > 395$ нм) комплексов сверхспирализованной ДНК с катионами 2,7-диазапирения **3** (табл. 1) и бис(2,7-диазапирения) **4** (рис. 1) наблюдаются разрывы в полинуклеотидной цепи. Интеркаляция катиона *N,N*-диметил-2,7-диазапирения (**3**) в этом случае приводит к единичным разрывам в цепи с образованием поврежденной кольцевой и линейной ДНК. Облучение же бидентантных комплексов приводит к глубокому расщеплению ДНК с образованием небольших фрагментов вследствие множественных разрезов обеих цепей.³⁷

Путем объединения в одной молекуле ДНК-олигонуклеотида и 2,7-диазапирениевого фрагмента удалось добиться селективного расщепления ДНК.³⁸ В результате было установлено, что расщепление цепи ДНК происходит на расстоянии 2–3 нуклеотидов от места присоединения 2,7-диазапирениевого цикла, преимущественно в участках G и GG.³⁹ Кроме того, функционализированные олигонуклеотиды образуют более стабильный ДНК-дуплекс с комплементарной цепью, по сравнению с немодифицированными олигонуклеотидами.

Расщепление ДНК происходит, вероятнее всего, через фотоокисление фрагмента рибозы с последующим гидролизом фосфоэфирной связи. Механизм окисления включает возбуждение катиона 2,7-диазапирения в синглетное состояние и образование ион-радикальной пары с основаниями нуклеиновой кислоты за счет реакции одноэлектронного переноса (схема 1). Далее катион-радикал 2,7-диазапирения может быть окислен в дикатион с образованием активных форм O_2 .⁴⁰

Схема 1



Легкость восстановления четвертичных солей 2,7-диазапирения связана, по всей видимости, со стабильностью соответствующего катион-радикала и низким потенциалом восстановления по сравнению с близкими по строению соединениями⁴¹ (табл. 2). Катион-радикал 2,7-диазапирения охарактеризован методами УФ

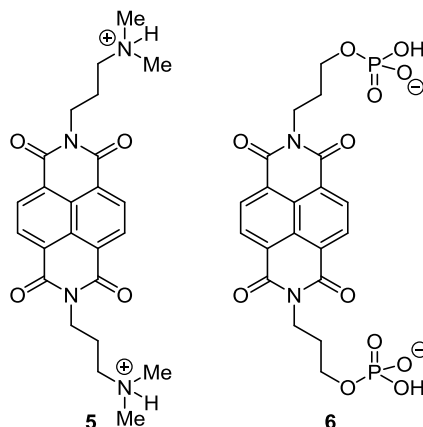
Таблица 2. Потенциал восстановления катиона *N,N*-диметил-2,7-диазапирения (**3**) и подобных дикатионов

Катион	Потенциал восстановления, V
3	–0.064
	–0.596
	–0.640

спектроскопии и спектроскопии ЭПР. Интенсивная флуоресценция солей 2,7-диазапирения, наблюдаемая в разбавленных водных растворах, тушится при интеркаляции ДНК из-за отрыва электронов от соседних нуклеотидов.^{40a,42}

Фотоокисление ДНК с образованием ион-радикальных пар происходит и при участии диимидов нафталин-1,4,5,8-тетракарбоновой кислоты (НДИ).⁴³ В случае *N,N*-(3-гидроксипропил)диимида нафталин-1,4,5,8-тетракарбоновой кислоты окислению в основном подвергаются гуанозин-5'-монофосфат и аденозин-5'-монофосфат. Окисление нуклеотидов G и A в ДНК с помощью дикатиона **5**, содержащего диметиламиногруппы, происходит через синглетное возбужденное состояние, тогда как дианион **6** с фосфатными группами (рис. 2) окисляет нуклеотиды G и A через триплетное возбужденное состояние.⁴⁴ Отмечается также, что фотоокисление тиминового димера с использованием НДИ приводит к разрыву циклобутанового цикла. Разрушение димера тимина происходит либо путем непосредственного фотоокисления, либо путем переноса заряда с помощью ДНК на расстояние 22 Å между НДИ и циклобутановым циклом.⁴⁵

Соли 4,9-диазапирения образуют комплексы с нуклеиновыми основаниями со стехиометрией 1:1 ($\lg K_s$ 1.6–2.8). Было установлено преобладание ароматического π -стекинга над электростатическим взаимодействием в стабилизации таких комплексов. Большая ароматическая система 4,9-диазапирения по сравнению с бромидом этидия (**7**) не вызывает значи-

Рисунок 2. Дикатион **5** и дианион **6** на основе НДИ, используемые для окисления нуклеотидов G и A в ДНК.

тельного увеличения константы связывания с нуклеотидами ($\lg K_s < 1-2.3$).⁴⁶ Однако бромид этидия (7) связывает одноцепочечные полинуклеотиды в 100–1000 раз менее эффективно, чем его структурный аналог 8, аффинность солей 7 и 8 (рис. 3) к дцДНК и дцРНК оказалась примерно равной (константы связывания определены методом флуориметрического титрования).⁴⁷ Присутствие заместителей в системе 4,9-диазапирения незначительно влияет на связывание с нуклеотидами, за исключением двух фенольных групп, которые снижают сродство, вероятно, из-за стерических помех.⁴⁸

Катион бис(4,9-диазапирения) 9 (рис. 3) образует с дцДНК и дцРНК моноинтеркалированные комплексы.⁴⁹ Дополнительные взаимодействия неинтеркалированной части в значительной степени зависят от вторичной структуры полинуклеотида. Катион 9 проявляет большую аффинность к ДНК, чем к РНК, в силу существенных различий в структуре спирали.⁵⁰

Производные 2,7-диазапирена и НДИ характеризуются, как правило, более высокими константами связывания с ДНК, чем соли 2,7-диазапирения. Показано, что сила связывания соединения 10 (рис. 3) с ДНК зависит от нуклеотидного состава, комплекс 2,7-диазапирена 10 с поли(G–C)₂ в 20–25 раз стабильнее, чем с поли(A–T)₂.⁵¹

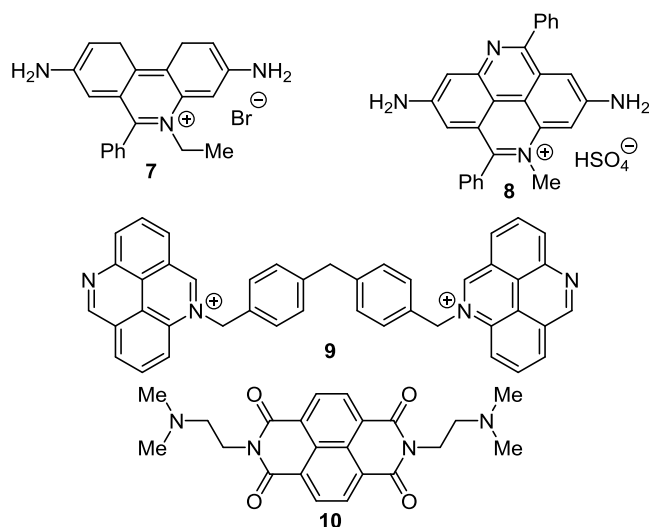


Рисунок 3. Бромид этидия (7), его структурный аналог – гидросульфат 4,9-диазапирения 8, катион бис(4,9-диазапирения) 9 и производное 2,7-диазапирена 10, образующие комплексы с нуклеиновыми основаниями.

Селективность связывания макроциклических НДИ 11–17 (рис. 4) с квадруплексной ДНК выше, чем с нециклическим производным 5а, что, по всей види-

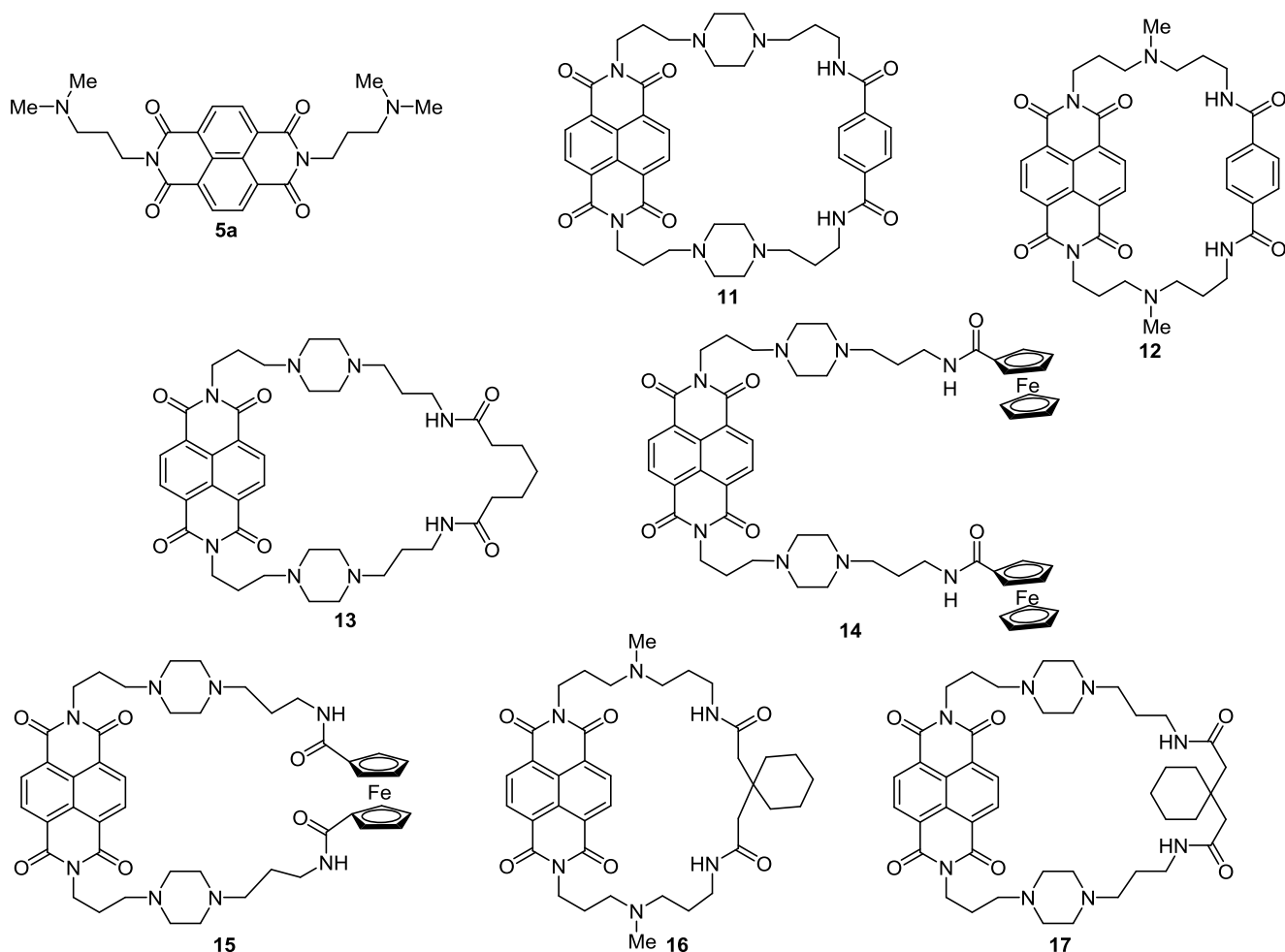


Рисунок 4. Производное НДИ 5а, содержащее диаминогруппы, и макроциклические производные НДИ 11–17.

Таблица 3. Константы связывания НДИ **5a** и **11–17** с G4 и дцДНК

Соединение	$K_S^*, 10^6 \text{ M}^{-1}$	
	G4	дцДНК
5a	1.4	1.0
11	3.7	2.6
12	0.5	0.12
13	6.3	0.007
14	2.0	1.0
15	3.4	0.075
16	8.6	0.33
17	1.5	0.3

* Определена методом спектрофотометрического титрования.

мости, связано со стерической дестабилизацией комплекса НДИ с дцДНК⁵² (табл. 3).

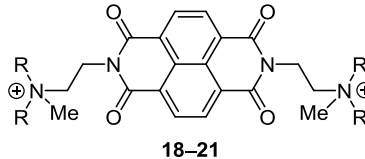
Связывание макроциклических производных **11** и **12** с двойной спиралью ДНК доказано спектроскопией кругового дихроизма и ингибированием топоизомеразы I. Термодинамические параметры (ΔG , ΔH и ΔS) показывают, что экзотермические и энтропийно-зависимые гидрофобные связывание оказывали решающее значение на взаимодействие с ДНК (табл. 4). Благодаря более длинному линкеру, соединение **11** показало более высокую селективность связывания, более энтропийно-благоприятное взаимодействие и намного более медленную диссоциацию из комплексов с дцДНК, чем соединение **12** (константы связывания определены методом спектрофотометрического титрования).⁵³

Соединение **12** проявляет высокую аффинность к связыванию с G4 ДНК ($K_S 10^6\text{--}10^7 \text{ M}^{-1}$), по сравнению с дцДНК. Константы связывания производного НДИ **12** с G4 разных типов (теломерной ДНК человека, квадруплексами в промоторном участке генов *KRAS*, *c-MYC* и тромбин-связывающем аптамере) до 270 раз больше, чем константа связывания НДИ **12** с дцДНК (константы связывания определены методом спектрофотометрического титрования).^{53b}

Электростатическое взаимодействие боковой цепи НДИ с ДНК вносит значительный вклад в устойчивость интеркаляционного комплекса. Для четвертичной соли аммония с катионом **5** $K_S 6.6 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$, отрицательно заряженная фосфатная группа дестабилизирует комплекс ($K_S < 10^2 \text{ M}^{-1}$, комплекс с катионом **6** (рис. 2)) (константы связывания определены методом

Таблица 4. Термодинамические параметры комплексов НДИ **5a**, **11** и **12** с ДНК

Параметр	Соединение		
	5a	11	12
ΔH , ккал·моль ⁻¹	-6.7 ± 0.7	7.8 ± 1.0	9.2 ± 1.0
ΔS , кал·моль ⁻¹	3.0 ± 2.0	53.0 ± 3.3	54.0 ± 3.0
ΔG , ккал·моль ⁻¹ (25 °C)	-7.6	-8.0	-7.0

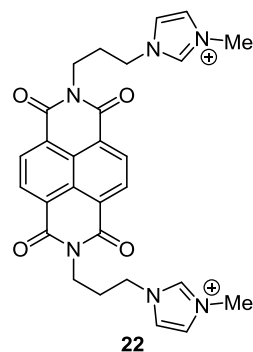
Таблица 5. Константы связывания НДИ **18–21** с дцДНК


Катион	R	$K_S^*, 10^6 \text{ M}^{-1}$
18	Me	15 ± 3
19	Et	31 ± 8
20	<i>n</i> -Pr	43 ± 9
21	<i>n</i> -Bu	78 ± 23

* Определена методом изотермической титрационной калориметрии.

спектрофотометрического титрования).⁴⁴ Кроме того, большое влияние на связывание катионов **18–21** с ДНК оказывает природа заместителей у четвертичного аммония. По мере увеличения размера заместителя соответственно растет константа связывания с дцДНК⁵⁴ (табл. 5).

Роль имидазолильной части боковой цепи НДИ в интеркаляции ДНК была исследована с использованием УФ спектроскопии, конкурентного связывания и анализа смещения флуоресцентного красителя, кругового дихроизма, изотермической калориметрии и компьютерного анализа. В результате исследований был обнаружен лиганд **22** (рис. 5), образующий комплекс с дцДНК, характеризующийся периодом полураспада в 51 мин, что было определено с помощью кинетического анализа диссоциации. Компьютерное моделирование подтвердило интеркаляцию нафталинового цикла между парами оснований и связывание имидазолильной части с бороздами в ДНК посредством электростатического взаимодействия и водородных связей. Как показали экспериментальные и расчетные данные, взаимодействие положительно заряженных фрагментов имидазолия с отрицательно заряженным фосфатным остовом ДНК способствует благоприятному изменению энтальпии. Кроме того, интеркаляция вызывала значительное замедление полосы ДНК при анализе изменения электрофоретической подвижности.⁵⁵

Рисунок 5. Лиганд **22** на основе НДИ, содержащий имидазолиевый фрагмент и образующий комплекс с дцДНК.

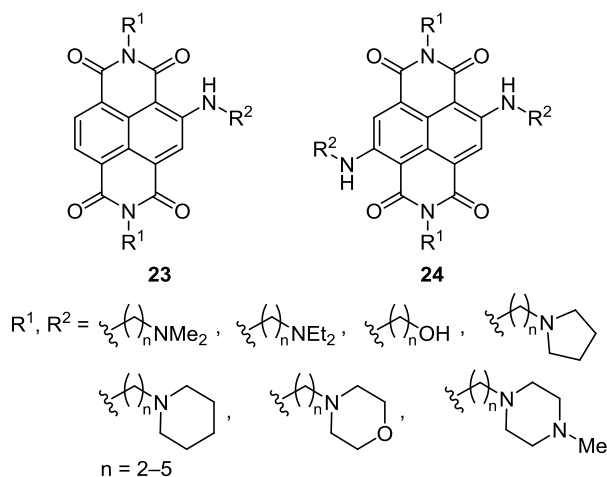


Рисунок 6. НДИ **23** и **24**, образующие комплексы с дцДНК.

Более устойчивые комплексы с дцДНК образуют 4- и 4,9-замещенные НДИ **23** и **24** (рис. 6), в отличие от *N,N'*-дизамещенных аналогов, а также показывают значительную селективность по отношению к G4.⁵⁶ Селективность связана, с одной стороны, с неблагоприятными стерическими эффектами в комплексах с дцДНК. С другой стороны, электростатические взаимодействия и образование водородных связей между фосфатными группами в ДНК и аминогруппами в боковых цепях стабилизируют G4.⁵⁷

Другой водорастворимый 4-замещенный НДИ хелатирует ион Cu^{2+} , и образовавшийся комплекс **25** (рис. 7) способен связываться с G-квадруплексной ДНК.⁵⁸ Кроме того, комплекс **25** способен в присутствии аскорбата натрия восстанавливать H_2O_2 с образованием активных форм O_2 , которые не диффундируют в растворе и расщепляют ДНК в участках G4. Селективное расщепление G4 ДНК наблюдалось также для последовательностей LTR-III6 и un2 в ДНК ВИЧ-1 и ВПГ-1 соответственно.^{12a,58} С другой стороны, Янг с сотр. показали, что диметиламиноэтильный фрагмент соединения **26** (рис. 7) участвует в неокислительном гидролизе ДНК и РНК по участкам последовательностям 5'-GG-3' и 5'-GC-3'.⁵⁹

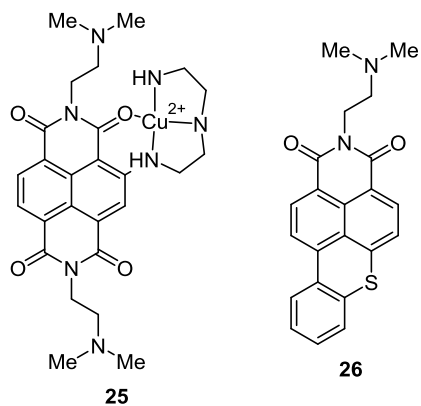


Рисунок 7. Комплекс **25** 4-замещенного НДИ с ионом Cu^{2+} , взаимодействующий с G-квадруплексной ДНК, и имид **26**, участвующий в неокислительном гидролизе ДНК и РНК.

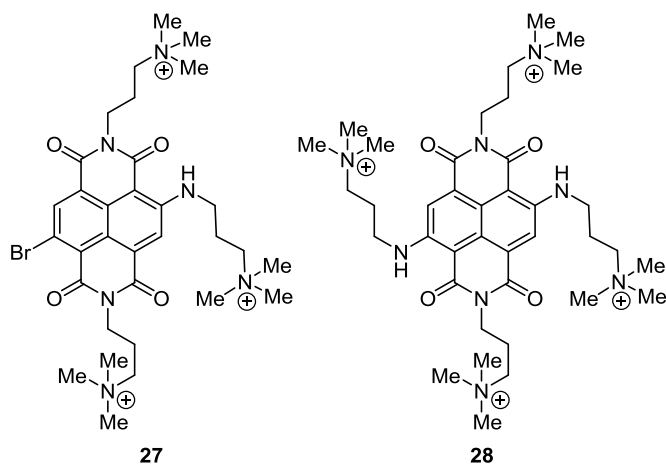


Рисунок 8. НДИ **27** и **28** – высокоэффективные фотосенсибилизаторы O_2 .

Соединения **27** и **28** (рис. 8) как высокоэффективные фотосенсибилизаторы O_2 применялись для фотоокисления 1,5-дигидроксиафталина и 3,3'-(антрацен-9,10-диил)дипропионовой кислоты синглетным кислородом ($^1\text{O}_2$).⁶⁰

Бис(гидроперокси)производное НДИ **29** (рис. 9) специфично расщепляет дцДНК в участке 5' последовательности 5'-GG-3' под действием УФ излучения. Разрыв цепи ДНК происходит под действием гидроксильных радикалов, образующихся в ходе фотолиза диимида **29**. Интересно, что при облучении производных **30** и **31** (рис. 9) расщепления ДНК не наблюдается даже в присутствии пиперидина.⁶¹

Константа связывания супрамолекулярного комплекса **32** платины и 2,7-диазапиренового лиганда (рис. 9) с

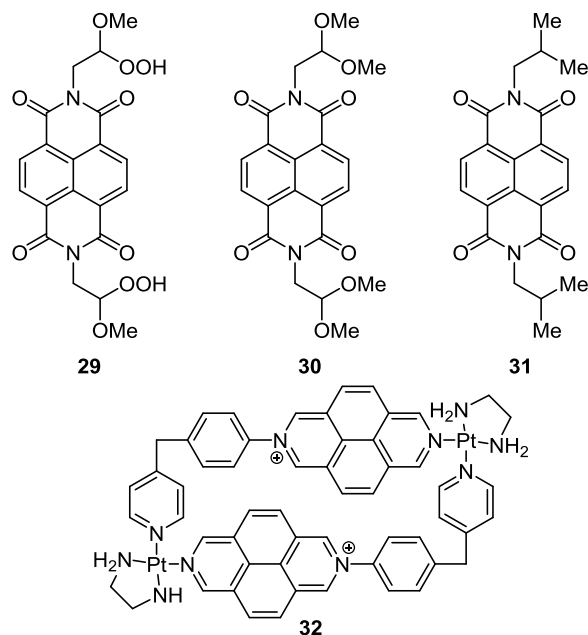


Рисунок 9. Бис(гидроперокси)производное НДИ **29** и его структурные аналоги **30** и **31**, использованные при исследовании расщепления дцДНК под действием УФ излучения, и супрамолекулярный комплекс **32** платины и 2,7-диазапиренового лиганда, связывающийся с дцДНК.

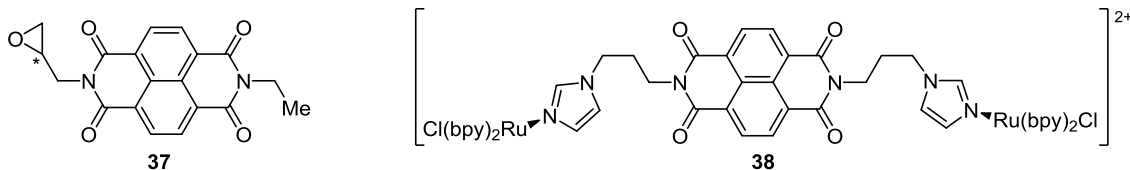


Рисунок 11. Производное НДИ **37**, селективно алкилирующее фрагмент гуанина в ДНК, и комплекс **38** *N,N*-бис[3-(1*H*-имидазол-1-ил)пропил]диимида нафталин-1,4,5,8-тетракарбоновой кислоты с рутением, на основе которого разработан ультрачувствительный биосенсор мРНК.

нуклеотидов приводит к значительному (до 30 раз) изменению скорости диссоциации.⁶⁶

Производное НДИ **37**, содержащее хиральную эпоксидную группу (рис. 11), селективно алкилирует фрагмент гуанина в ДНК, причем в последовательности 5'-GG-3' (*S*)-эпоксид алкилирует участок 5'-G, а (*R*)-эпоксид – только участок 3'-G.⁶⁷

На основе комплекса **38** *N,N*-бис[3-(1*H*-имидазол-1-ил)пропил]диимида нафталин-1,4,5,8-тетракарбоновой кислоты с рутением (рис. 11) был разработан ультрачувствительный биосенсор мРНК.⁶⁸ Аффинность производных НДИ с ферроценовым фрагментом к ДНК-дуплексам и квадруплексам использовалась в биосенсорах для определения дцДНК,⁶⁹ гетеродуплекса ДНК–РНК при определении мРНК⁷⁰ и теломеразной активности.⁷¹

Такенака с сотр. разработали электрохимический гибридационный метод анализа однонуклеотидного полиморфизма или делеции в гене липопротейназы человека. Продукты ПЦР из 350 пар оснований, содержащие последовательность дикого или мутированного типа, подвергали гибридизации с ДНК-зондом из 13 или 15 оснований, иммобилизованным на золотом электроде, и затем проводили дифференциальную импульсную вольтамперометрию до и после гибридизации в присутствии ферроценилнафталиндиимида.⁷²

Ферроценильный интеркалятор был исследован для разработки электрохимического биосенсора ДНК, использующего последовательность пептидной нуклеиновой кислоты (ПНК) в качестве зонда захвата. После гибридизации с одноцепочечной последовательностью ДНК для связывания с дуплексом ПНК–ДНК вводили интеркалятор, несущий ферроценовые фрагменты, и электрохимический сигнал молекул ферроцена использовали для контроля распознавания ДНК. Разработанный биосенсор продемонстрировал линейную зависимость пика окисления ферроценилнафталиндиимида от концентрации ДНК-мишени в диапазоне от 10^{-15} до 10^{-10} М с пределом обнаружения $11.68 \cdot 10^{-15}$ М.⁷³

2. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ДИАЗАПИРЕНОВ

2.1. Антипролиферативная и противоопухолевая активность диазапиренов

Ханнон с сотр. сообщали о антипролиферативном действии металлокомплекса **32** (рис. 9) *in vitro*. Антипролиферативная активность комплекса **32** против опухолевых клеточных линий (SISO, A-427, LCLC-103H и 5637) была выше, чем у свободного лиганда

(полумаксимальная ингибирующая концентрация (IC_{50}) $(3.1–19.2) \cdot 10^{-6}$ и $>20 \cdot 10^{-6}$ М соответственно). Металлокомплекс **32** показал антипролиферативную активность на уровне цисплатина, однако с другим спектром активности.⁶²

Антипролиферативная активность производных *N,N*-диметил-4,9-диазапирения **39–41** (рис. 12) исследовалась *in vitro* на четырех клеточных линиях: SKBr3, HeLa, CaCo2 и SW620. Эффект ингибирования роста был дозозависимым и специфичным для разных клеточных линий. Наиболее выраженный антипролиферативный эффект при концентрации 10^{-5} М наблюдался на клетках SKBr3 (91.8 и 85.3% для катионов **40** и **41** соответственно) и на клетках SW620 (65.3% для катиона **39**). IC_{50} для исследованных соединений была в диапазоне 0.29–52.2 мкг/мл. На основании специфической фрагментации ДНК, морфологических изменений (уменьшенного объема клеток, округлой формы клеток, конденсированного хроматина) и ингибирования роста обработанных опухолевых клеток человека предполагается, что протестированные соединения индуцировали апоптотическую гибель клеток.⁷⁴

Хлорид 2,7-диамино-4-метил-5,10-дифенил-4,9-диазапирения ингибирует рост опухолевых клеток с IC_{50} в микромолярном диапазоне для большинства протестированных опухолевых клеток, за исключением клеток глиомы, для которых IC_{50} находится в субмикромолярном диапазоне.⁷⁵ Кроме того, гидросульфат 2,7-диамино-4-метил-5,10-дифенил-4,9-диазапирения (**8**) (рис. 3) обладает флуоресценцией в видимом диапазоне спектра (λ 610 нм), что позволяет отслеживать распределение препарата в живой клетке с помощью флуоресцентной микроскопии. Отмечено, что основная часть 4,9-диазапирения локализуется в ядре клетки.⁷⁶

Катионы солей бис(4,9-диазапирения) **9**, **42** и **43** (рис. 13) показали сходную с мономерными производ-

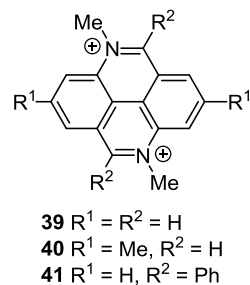


Рисунок 12. Катионы *N,N*-диметил-4,9-диазапирения **39–41**, входящие в состав соединений, протестированных на антипролиферативную активность.

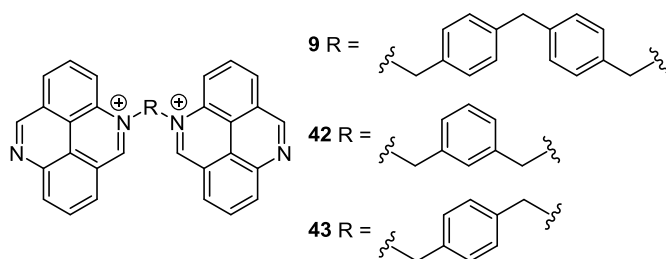


Рисунок 13. Катионы солей бис(4,9-дизапиридия) **9**, **42** и **43** с антипролиферативной активностью.

ными антипролиферативную активность. Это наблюдение вместе с описанными выше анализами связывания ДНК или РНК убедительно свидетельствует о том, что исследуемые соединения обязаны своей антипролиферативной активностью взаимодействию с ДНК и/или РНК внутри клетки.⁴⁹

Механизмы, лежащие в основе антипролиферативной активности солей 4,9-дизапиридия, все еще до конца не ясны. Показано, что хлорид 2,7-диамино-4-метил-5,10-дифенил-4,9-дизапиридия значительно снижает клоногенность клеток и блокирует пролиферацию клеток в фазе G1, а также вызывает индукцию белков p53 и p21, что свидетельствует об активации реакции на повреждение ДНК. Однако ингибирование роста не требует реализации p53-механизма, поскольку пары изогенных клеток p53^{+/-} проявляют одинаковую чувствительность.⁷⁵ Несмотря на то, что гидросульфат 2,7-диамино-4-метил-5,10-дифенил-4,9-дизапиридия (**8**) (рис. 3) интеркалирует ДНК и РНК, он не ингибирует топоизомеразу II. По всей видимости, его биологическое действие обусловлено нарушением экспрессии генов *KRAS*, *c-N-ras*, *ctos* и *каспаза-3*, что, вероятно, и запускает процесс апоптоза.⁷⁶ С другой стороны,

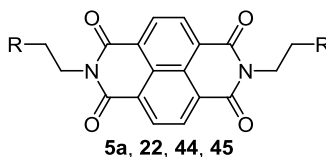
близкий по своей структуре бисгидросульфат 4,9-диметил-5,10-дифенил-4,9-дизапиридия ингибирует топоизомеразу II, что вызывает накопление разрывов в ДНК и апоптоз опухолевых клеток.⁷⁷

В свете имеющихся данных о регуляторной роли G4 последовательностей в гене *KRAS*,⁷⁸ можно предположить возможную связь между экспрессией гена *KRAS* и связыванием катиона 2,7-диамино-4-метил-5,10-дифенил-4,9-дизапиридия с G4, расположенным выше начальной области сайта транскрипции. Движущей силой стабилизации комплекса 4,9-дизапиридена с ДНК G4 может быть наличие заместителей в положениях 4, 5 и 10, как это было показано для 4,9-дизамещенных НДИ.⁵⁷ Кроме того, соли хинолиния, имеющие высокую аффинность к участкам G4, также оказывают сильное антипролиферативное действие на клетки глиомы и повышают экспрессию гена *каспаза-3*.⁷⁹

Описана серия НДИ **5a**, **22**, **44** и **45**, которые селективно связываются с гибридной формой человеческого теломерного G4 в калий-фосфатном буфере. Наиболее селективным лигандом для этого G4 является конъюгат **44** на основе маннозы против ряда других квадруплексных и дуплексных структур, однако, несмотря на это, он не показал высокой антипролиферативной активности. Показано, что лиганд **45**, содержащий метилпиперазиновый фрагмент, был более токсичным для опухолевых клеток HeLa, чем доксорубин, хотя он проявлял в три раза меньшую токсичность в отношении фибробластов легких эмбриона человека WI-38⁸⁰ (табл. 7).

Способность тетракациона **46** (рис. 14) сенсibilизировать ¹O₂ представляет интерес для его применения в фотодинамической терапии. Кроме того, интенсивная флуоресценция в красном и ближнем

Таблица 7. Стабилизация теломерного G4 F21T в калий-фосфатном буфере и антипролиферативная активность НДИ **5a**, **22**, **44** и **45** в отношении линий клеток WI-38, HeLa, MCF7, MDA-MB-231



Соединение/ катион	R	$\Delta T_{\text{макс}}, ^\circ\text{C}$	$IC_{50}, 10^{-6} \text{ M}$			
			WI-38	HeLa	MCF7	MDA-MB-231
5a		2.3 ± 0.5	0.72	0.38	0.53	8.10
22		3.7 ± 0.3	40.22	3.63	11.77	–
44		10.1 ± 0.3	>100	>100	>100	>100
45		9.8 ± 0.6	2.28	0.41	3.09	0.81

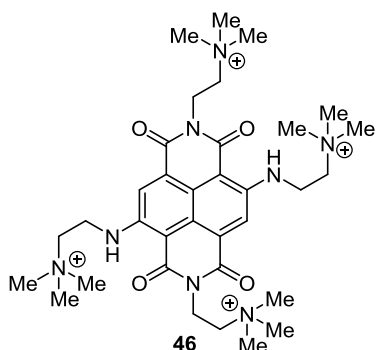


Рисунок 14. Тетракацион НДИ **46**, сенсibiliзирующий $^1\text{O}_2$ и вызывающий повреждение ДНК в определенных последовательностях.

инфракрасном диапазоне позволяет контролировать проникновение в клетки и накопление в ядрах тетракациона **46**. Тетракацион проявляет потенциальную бимодальную активность в качестве флуоресцентного зонда и фотосенсибилизатора активных форм кислорода при возбуждении светом, попадающим в так называемое терапевтическое окно фотодинамической терапии. В отсутствие света антипролиферативного действия на линиях опухолевых клеток не наблюдалось. Облучение нагруженных НДИ клеток красным светом снижает жизнеспособность клеток до 40% и вызывает значительное увеличение доли клеток, экспрессирующих фокусы γH2AX , что указывает на повреждение ДНК. Наличие отчетливых очагов повреждения ДНК внутри ядра позволяет предположить, что катион НДИ **46** способен вызывать повреждение ДНК в определенных последовательностях.⁸¹

Полиаминные производные НДИ ингибируют топоизомеразу II и *Taq*-полимеразы (IC_{50} (2.2–8.1)·10⁻⁶ и (0.25–10)·10⁻⁶ М соответственно) и могут оказывать антипролиферативное действие на опухолевые клеточные линии SR, MDA-MB-468 и MOLT-4 с субмикромольными и наномольными значениями концентрации ингибирующей рост 50% клеток (GI_{50}). Систематическое исследование связи структура–активность показало, что увеличение активности коррелирует с увеличением положительного заряда молекулы.⁸²

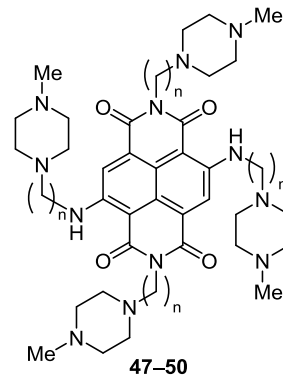
Соединения **47–50** активны против опухолевых клеток в субмикромольных концентрациях с токсичностью для нормальных клеток фибробластов WI-38 до 100 раз ниже по сравнению с опухолевыми клетками (табл. 8). Установлено, что соединения **47–50** ингибируют топоизомеразу IIIа и теломеразы в клетках MCF7.^{56,83} Ингибирование роста опухолевых клеток, вероятно, связано с подавлением экспрессии белка шаперона HSP90, регулятора активности теломеразы.⁸⁴ Промоторный регион гена *HSP90* содержит две последовательности G4, связывание с которыми приводит к подавлению экспрессии гена. Тетразамещенный НДИ **50** стабилизирует теломерные G4 и G4 в промоторной области онкогенов *KIT* и *HIF-1 α* , а также G4 в мРНК гена *BCL-2*.⁸⁵ Соединение **48** способно инициировать старение в опухолевых клетках, вероятно, в результате нарушения конформации теломеры посредством стаби-

лизации G4 и последующего повреждения ДНК, что продемонстрировано обнаружением фокусов γH2AX . Кроме того, оно способствует слиянию теломерных хромосом, что приводит к нестабильности генома и последующему апоптозу.⁸⁴ С помощью конфокальной микроскопии было обнаружено, что соединение **50** способно проникать в цитоплазму и ядрышко клетки, что вызывает увеличение теломерных ассоциаций в клетках, стимулирующих хромосомную нестабильность.⁸⁵ При парентеральном введении НДИ **48** накапливается преимущественно в опухолях и поджелудочной железе и в меньшем количестве в легких. В сердце, почках, печени и селезенке обнаружены лишь следовые количества НДИ **48**.⁸⁴

Макроциклические НДИ, содержащие спермидин- и сперминподобные боковые цепи, стабилизируют как последовательность KIT2, так и теломерные последовательности ($\Delta T_{\text{макс}}$ 33.1 и 26.8 °С соответственно), но не ингибируют теломеразу. Расчеты подтвердили, что наиболее стабилизирующая молекула является также лучшим связующим G4. На этом основании было сделано предположение об электростатическом влиянии боковых цепей в качестве движущей силы процесса связывания. Вместе с тем в клетках антипролиферативный эффект оказался не связан со стабилизацией G4 (чем выше $\Delta T_{\text{макс}}$, тем ниже антипролиферативный эффект и наоборот) и не обладает селективностью по типу клеток, что, вероятно, связано с физико-химическими свойствами молекул.^{52c}

НДИ, функционализированные аминокислотами, были синтезированы и исследованы как лиганды для G4. Одно из соединений продемонстрировало селективную стабилизацию последовательности KIT2 ($\Delta T_{\text{макс}}$ 14.6 °С) в сочетании с небольшой дестабилизацией последовательности KIT1 *in vitro*.⁸⁶

Таблица 8. Антипролиферативная активность НДИ **47–50** в отношении линий клеток MCF7, A549, WI-38



Соединение	n	IC_{50} , 10 ⁻⁶ М		
		MCF7	A549	WI-38
47	2	1.01	0.47	5.59
48	3	0.17	0.11	9.04
49	4	0.10	0.07	5.50
50	5	0.20	0.26	8.43

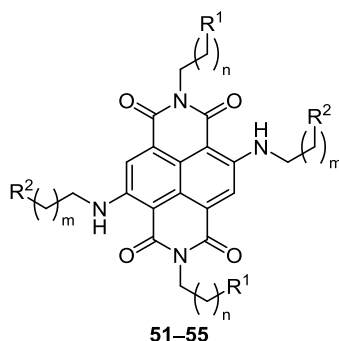
Кристаллические структуры трех комплексов с теломерными внутримолекулярными G4 человека показали, что две из четырех сильноосновных групп *N*-метилпиперазина могут быть заменены менее основными морфолиновыми группами без потери межмолекулярных взаимодействий в бороздках G4. Новые соединения сохраняют высокое сродство к теломерной квадруплексной ДНК человека, но в 10 раз более эффективны против клеточной линии рака поджелудочной железы MIA PaCa-2 со значениями IC₅₀ ~10 нМ. Соединение **51** (табл. 9) индуцирует клеточное старение, но не ингибирует теломеразу при наномолярных концентрациях, необходимых для ингибирования клеточной пролиферации. Анализ методом ПЦР в реальном времени массива генов клеток MIA PaCa-2, обработанных соединением **51**, выявил значительную дозозависимую модуляцию отдельных подгрупп генов, включая сильную индукцию генов, чувствительных к повреждению ДНК (*CDKN1A*, *DDIT3*, *GADD45A/G* и *PPM1D*), и репрессию генов, участвующих в поддержании теломер, включая *hPOT1* и *PARP1*.⁸⁷

Тетразамещенный НДИ **51** (табл. 9) обладает значительной противоопухолевой активностью *in vivo* против модельного ксенотрансплантата рака поджелудочной железы MIA PaCa-2. Внутривенное введение соединения **51** в количестве 15 мг/кг два раза в неделю в течение 40 дней вызывает снижение роста опухоли до 80% в группе животных с опухолями. На 40 день эксперимента в контрольной группе и группе,

получавшей НДИ **51** в количестве 10 мг/кг, была отмечена нулевая выживаемость, тогда как в группе с дозировкой 15 мг/кг выжило 6 животных из 8, а у 2 из них наблюдался полный регресс опухоли. Дальнейшее наблюдение за ними в течение 239 дней не показало никаких признаков возобновления опухоли при отсутствии введения препарата. Отмечено накопление препарата в опухоли с преимущественной локализацией в клеточном ядре. Уровень экспрессии гена *BCL-2* в опухолях животных под действием соединения **51** был снижен до 40%. На основе данных молекулярного моделирования авторами сделано предположение, что лиганд **51** на основе НДИ связывается с G4 гена *BCL-2* таким же образом, как ранее наблюдалось в кристаллических структурах с теломерными G4 человека. Это подтверждает концепцию, согласно которой НДИ **51** могут связываться с проморными областями, содержащими квадруплексные последовательности, и подавлять таким образом их транскрипцию.⁸⁸

Анализ данных о структурной активности тетразамещенных НДИ **51–55**, содержащих морфолиновый фрагмент, показывает, что соединения, в боковых цепях которых разное количество метиленовых звеньев между морфолиновым и *N*-метилпиперазиновым фрагментами, имеют тенденцию к увеличению антипролиферативной активности и в некоторых случаях обнаруживают превосходную способность к стабилизации G4 ДНК (табл. 9). Вместе с тем четкой корреляции между силой связывания с G4 и биологической активностью обнаружено не было.⁸⁹

Таблица 9. Антипролиферативная активность НДИ **51–55** в отношении линий клеток RCC4, 786-O, MCF7, MIA PaCa-2, A549 и WI-38



Соединение	R ¹	R ²	n	m	IC ₅₀ , 10 ⁻⁶ M					
					RCC4	786-O	MCF7	MIA PaCa-2	A549	WI-38
51			2	2	0.56 ± 0.05	0.32 ± 0.01	0.070 ± 0.007	0.01 ± 0.01	0.019 ± 0.005	0.23 ± 0.01
52			2	2	0.61 ± 0.07	0.44 ± 0.07	0.014 ± 0.001	0.050 ± 0.002	0.007 ± 0.001	0.300 ± 0.023
53			1	2	0.30 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.021 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.020 ± 0.001	0.180 ± 0.002
54			1	2	1.75 ± 0.18	0.63 ± 0.06	0.17 ± 0.01	0.04 ± 0.01	1.55 ± 0.02	0.61 ± 0.02
55			2	1	0.28 ± 0.06	–	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.023 ± 0.006	2.46 ± 0.02

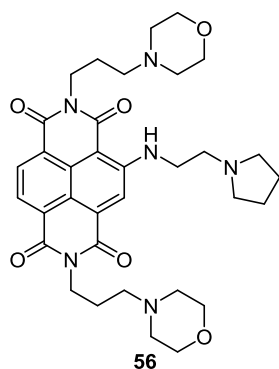


Рисунок 15. Тризамещенный НДИ **56**, оказывающий антипролиферативное действие на клеточные линии протоковой аденокарциномы поджелудочной железы человека.

В недавней работе был представлен тризамещенный НДИ **56** (рис. 15), оказывающий антипролиферативное действие на клеточные линии протоковой аденокарциномы поджелудочной железы человека.⁹⁰ Его активность была предсказана с помощью компьютерного моделирования на основе кристаллической структуры НДИ **51** в комплексе с теломерной квадруплексной ДНК.⁸⁷ Рационально разработанная молекула **56** стабилизировала G4 *in vitro*, хотя и не так сильно, как оригинальная молекула **51**, и показала значительную антипролиферативную активность (IC_{50} $(7 \pm 2) \cdot 10^{-9}$ М) на клеточных линиях PDAC. Авторы проанализировали глобальный транскрипт генома с помощью метода RNA-seq, чтобы идентифицировать все гены, на которые воздействует молекула. Подавление экспрессии наблюдалось у комплекса генов, обогащенных образованием квадруплексных последовательностей. Кроме того, обработка клеток соединением **56** приводит к увеличению очагов G4-специфичных антител BG4 и двухцепочечному повреждению ДНК.⁹⁰

Тетразамещенный НДИ **57** с пирролидиновыми фрагментами стабилизирует последовательность KIT2 и теломерную последовательность ДНК человека с аналогичными значениями $\Delta T_{\text{макс}}$ (29.0 и 28.7 °C соответственно).⁵⁶ Антипролиферативная активность соединения **57** в отношении клеточных линий GIST882, HGC-27, HT-29 и MCF7 была выше, чем у других лигандов G4, таких как BRACO-19 и TMPyP4 (рис. 16). Кроме того, НДИ **57** снижает транскрипцию гена *KIT* на 90% и полностью ингибирует экспрессию этого гена при дозировке, необходимой для получения антипролиферативного эффекта в клетках (10^{-6} М). Учитывая сильное ингибирование теломеразы, оцененное с помощью анализа TRAP-LIG, авторы выдвинули гипотезу о двойном способе действия, с ингибированием теломеразы и подавлением экспрессии гена *KIT*.⁹¹

Механизм действия тетразамещенных НДИ с пирролидиновыми фрагментами включает связывание с G4 ДНК в гене *BCL-2* и его транскрипте. Соединение **57** сильно стабилизирует ряд G4 ($\Delta T_{\text{макс}}$ 11.2–29 °C), включая ДНК из промотора *BCL-2* и G4 РНК из 5'-нетранслируемой области, и снижает выработку

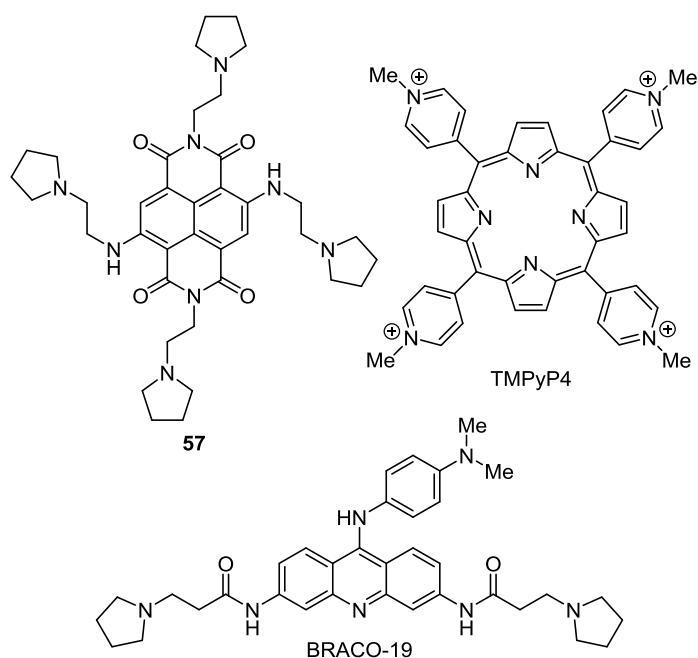


Рисунок 16. НДИ **57**, содержащий пирролидиновые фрагменты, и лиганды G4 TMPyP4 и BRACO-19.

белка Bcl-2 в устойчивых к иматинибу клетках желудочно-кишечных стромальных опухолей.⁹²

Бифункциональные соединения, содержащие НДИ и кумариновые циклы, в диапазоне концентраций от микромолярной до субмикромолярной показали активность против шести опухолевых клеточных линий.⁹³

Бисимидазольные лиганды на основе цикла НДИ ингибируют рост клеточных линий A549, HeLa и HEK 293T в микромолярном диапазоне концентраций. Соединение с метиленовым линкером между имидазольным и нафталиндиимидным циклами проявляет большую активность, чем производное с *para*-фениленовым фрагментом, что, вероятно, связано с его повышенной стабилизацией.⁹⁴ Кроме того, данные соединения ингибируют теломеразу, а также показывают меньшую антипролиферативную активность по отношению к нормальным клеткам в сравнении с опухолевыми. Биологическое значение сильнодействующих конъюгатов имидазол-НДИ определяется ингибированием топоизомеразы I и их цитотоксичностью в клетках HeLa.⁹⁵

Антипролиферативная активность соединений **58** (рис. 17) была исследована на клеточных линиях SKBR-3, CEM и HL60. Показано, что для линий SKBR-3 и CEM

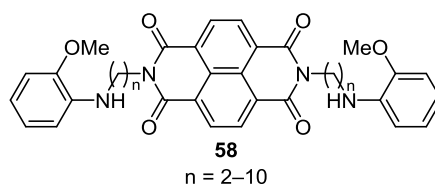


Рисунок 17. Производные НДИ **58**, протестированные на антипролиферативную активность в отношении клеточных линий SKBR-3, CEM и HL60.

антипролиферативное действие НДИ **58** не зависит от длины углеводородного линкера (IC_{50} $(0.2\text{--}1.7)\cdot 10^{-6}$ и $(0.4\text{--}2.5)\cdot 10^{-6}$ М соответственно). Однако для клеток HL60 более активными оказались соединения **58** с коротким линкером ($n = 2$ и 3 , IC_{50} $0.9\cdot 10^{-6}$ и $1.2\cdot 10^{-6}$ М соответственно). Механизм их действия связан с активацией каспазы, накоплением белка p53 и подавлением киназы АКТ.⁹⁶

Введение в структуру НДИ четвертичных солей оснований Манниха, прекурсоров орто-хинонметида, позволило получить селективные и мягкие алкилирующие агенты **59–61** (рис. 18). Процесс алкилирования соединением **59** происходит значительно эффективнее при наличии в цепи ДНК последовательностей, способных образовывать G4.⁹⁷ Введение в структуру НДИ алкиламиновых групп значительно повышает антипролиферативное действие в отношении клеточных линий HT-29, A549 и SK-MEL-5 (IC_{50} $(0.4\text{--}9)\cdot 10^{-6}$ М).⁹⁸ Алкилирование соединениями **62**, содержащими амидный фрагмент (рис. 18), теломерных G4 происходит в 100–1000 раз эффективнее, чем одно- и двухцепочечных олигонуклеотидов. Их антипролиферативная активность в отношении теломераза-положительных клеток карциномы была несколько выше, чем в отношении теломераза-отрицательных клеточных линий (полу-

максимальная эффективная концентрация (EC_{50}) $(1.4\text{--}27.5)\cdot 10^{-6}$ и $(18\text{--}40)\cdot 10^{-6}$ М соответственно).⁹⁹ Антипролиферативное действие соединения **61** связывается с ингибированием экспрессии протоонкогена *RET*. Биофизический анализ и анализ репортерного гена показали, что нарушение экспрессии гена *RET* было следствием стабилизации G4 в промоторе гена, вызванной алкилированием в области G4. Кроме того, производное НДИ **61** подавляет экспрессию гена *RET* и оказывает противоопухолевое действие *in vivo* без явных признаков общей токсичности.¹⁰⁰

Функциональные аналоги противоракового агента сульфорафана (**63**) – НДИ **64–66** с изотиоцианатными группами (рис. 19) – показали большую противоопухолевую активность, чем сульфорафан (**63**). Соединения **64–66** проявили антипролиферативное действие против клеточной линии Jurkat Т-лимфобластной лейкемии человека в субмикромольном диапазоне концентраций. Было отмечено, что НДИ **66** ингибирует клеточный цикл в фазе G1.¹⁰¹

Ряд асимметричных производных НДИ был синтезирован и оценен на противораковые свойства с помощью различных экспериментальных методов. На противораковое действие этих соединений существенное влияние оказывают их заместители. Среди проанализированных производных НДИ соединение **67** (рис. 19) оказывает более сильное ингибирующее действие на клетки гепатомы SMMC-7721 и Hep G2, чем на неопухолевые клетки QSG-7701, что свидетельствует о селективном действии НДИ **67** против клеток гепатомы. Соединение **67** индуцирует аутофагию и концентрационно-зависимо подавляет миграцию клеток гепатомы в результате генерации активных форм кислорода.¹⁰²

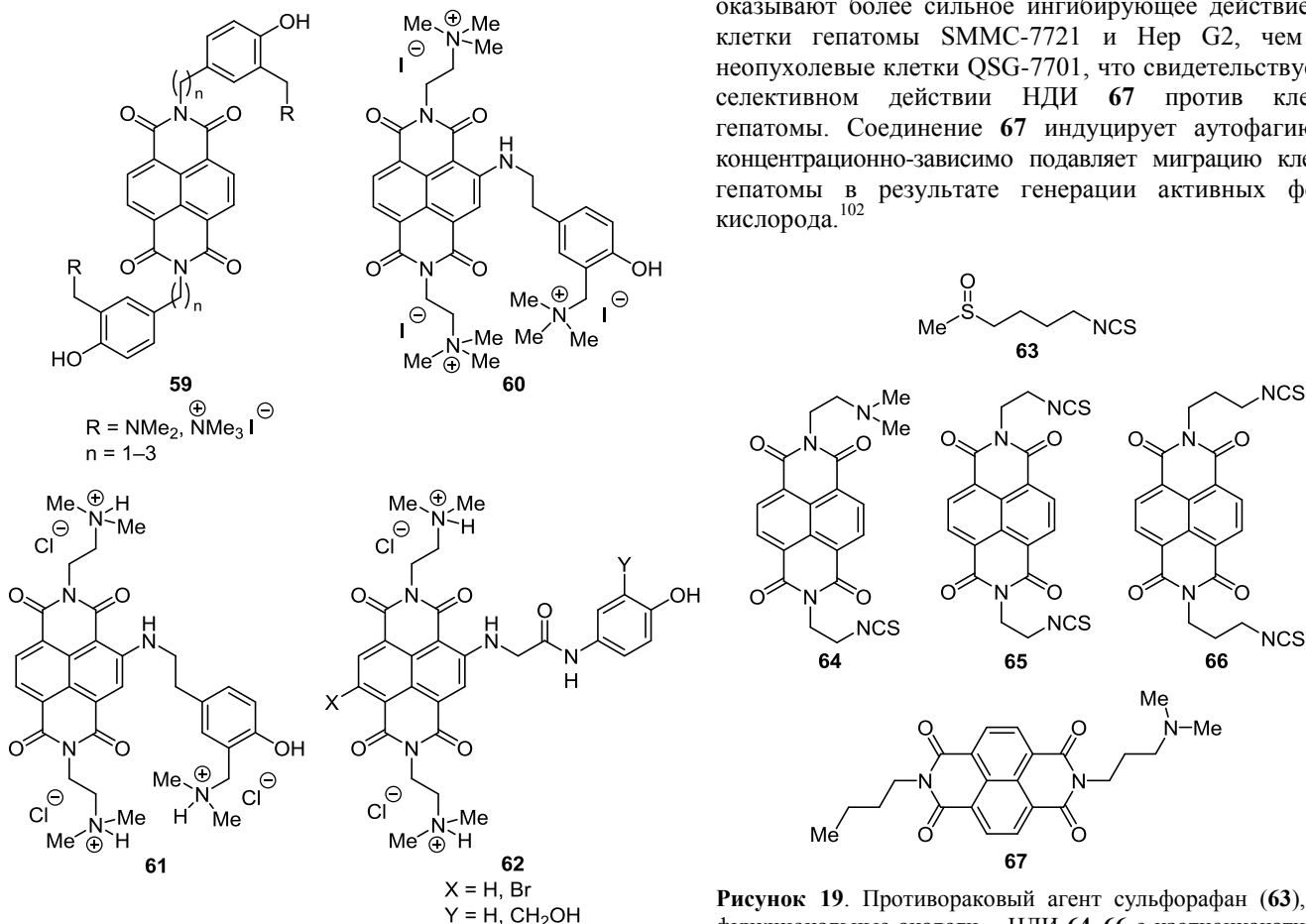


Рисунок 18. Производные НДИ **59–62** – алкилирующие агенты с антипролиферативными свойствами.

Рисунок 19. Противораковый агент сульфорафан (**63**), его функциональные аналоги – НДИ **64–66** с изотиоцианатными группами и производное НДИ **67** с селективным действием против клеток гепатомы SMMC-7721 и Hep G2.

Серия гибридных соединений была разработана Милелли с сотр. для связывания деацетилазы гистонов и G-квადруплексной ДНК путем объединения структурных элементов скриптаида (**68**) и НДИ в одной молекуле. Наиболее активное из них – соединение **69** (рис. 20) – связывает различные структуры ДНК, ингибирует деацетилазы гистонов как *in vivo*, так и *in vitro* и способно вызывать уменьшение пролиферации клеток. Более того, производное НДИ **69** проявляет свойство репрограммирования клеточного фенотипа: предотвращая эпителиально-мезенхимальный переход в опухолевых клетках, приводит к клеткам менее агрессивного и миграционного фенотипа.¹⁰³

Конъюгаты НДИ с углеводами **70–75** показали антипролиферативную активность в микромолярном диапазоне концентраций (табл. 10). Углеводный фрагмент, по-видимому, улучшает внутриклеточное поглощение активного соединения. Наблюдается корреляция между

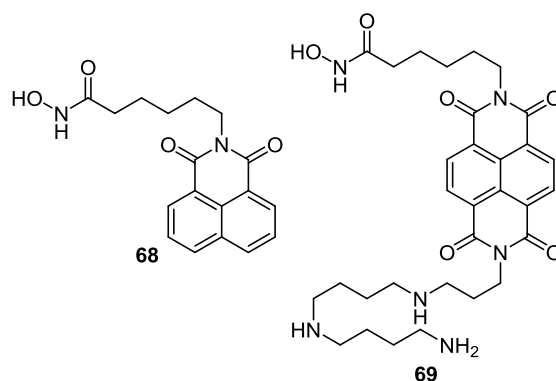


Рисунок 20. Скриптаид (**68**) и его производное НДИ **69**, ингибирующее деацетилазу гистонов.

интенсивностью поглощения гликозилированных НДИ и их высокой токсичностью по отношению к опухолевым клеточным линиям. Углеводные НДИ, по-видимому,

Таблица 10. Антипролиферативная активность НДИ **70–75** в отношении линий клеток HT-29, MCF-7, HeLa и MRC-5

Соединение	R	IC ₅₀ , 10 ⁻⁶ M			
		HT-29	MCF-7	HeLa	MRC-5
70		2.92 ± 0.48	1.19 ± 0.31	1.56 ± 0.70	1.15 ± 0.29
71		2.26 ± 1.03	1.06 ± 0.01	0.95 ± 0.76	0.51 ± 0.01
72		0.40 ± 0.08	0.69 ± 0.71	0.35 ± 0.05	0.91 ± 0.32
73		1.85 ± 0.19	1.42 ± 0.38	0.54 ± 0.34	2.04 ± 0.05
74		0.42 ± 0.05	0.15 ± 0.04	0.29 ± 0.14	0.81 ± 0.44
75		0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.07	0.29 ± 0.18	0.71 ± 0.25

в основном транслоцируются в опухолевые клетки через транспортеры глюкозы, где GLUT4 играет основную роль. Интересно, что присоединение моносахарида через короткий этиленовый линкер к циклу НДИ (соединение **74**) приводит к увеличению клеточного поглощения в 2–3 раза и антипролиферативной активности в 5.7–8 раз, по сравнению с соединением **71**, где углевод присоединен непосредственно через гликозидную связь.¹⁰⁴

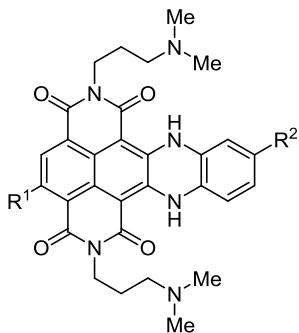
2.2. Антибактериальная, противовирусная и антипротозойная активность диазапиренов

Производные НДИ **76–79** с расширенным ароматическим циклом (рис. 21) в высокой степени связывают и стабилизируют G4, а некоторые из этих соединений продемонстрировали определенную селективность по отношению к вирусным G4, по сравнению с теломерными G4 человека. Эта особенность приводит к активности против ВИЧ-1 в наномолярном диапазоне концентраций в отношении двух штаммов вируса. Это один из первых примеров лигандов G4, которые показывают повышенную селективность по отношению к вирусным G4 и проявляют значительную противовирусную активность.^{11b}

Соединение **76** (рис. 21) было протестировано на противовирусную активность в отношении вируса герпеса ВПГ-1. Оно показало большую противовирусную активность, по сравнению с ацикловиром. Обработка клеток, инфицированных ВПГ-1 НДИ **76** при низких концентрациях (IC_{50} $(18.3 \pm 1.4) \cdot 10^{-9}$ М) вызывает значительное ингибирование вируса без выраженных признаков цитотоксичности.¹⁰⁵

Биоинформационный анализ генома *M. tuberculosis* выявил более 10000 фрагментов с потенциалом образования G4 структур. Синтетический лиганд к обнаруженному G4 на основе НДИ **76** оказывает антибактериальное действие на *M. tuberculosis* в субмикромольном диапазоне концентраций (минимальная ингибирующая концентрация для 80% исследованного штамма (MIC_{80}) $1.25 \cdot 10^{-6}$ М).¹⁰⁶

На основе 1,8-диазапиренового цикла было синтезировано тераностическое соединение, содержащее два



76 $R^1 = H, R^2 = H$
77 $R^1 = Br, R^2 = H$
78 $R^1 = H, R^2 = NO_2$
79 $R^1 = Br, R^2 = NO_2$

Рисунок 21. Конденсированные производные НДИ **76–79** с противовирусной активностью.

фрагмента ванкомицина. Препарат проявляет высокую и селективную антибактериальную активность в отношении грамположительных бактерий, включая устойчивые к ванкомицину штаммы, оказывая минимальное влияние на грамотрицательные бактерии и клетки млекопитающих. Кроме того, этот препарат может применяться для селективной двухфотонной флуоресцентной визуализации грамположительных бактерий.¹⁰⁷

Новый класс бифункциональных молекул **80–82** (рис. 22) был синтезирован путем соединения акридиновых и редокс-активных циклов НДИ, как непосредственно, так и через гибкий линкер. Аддукты с жесткой связью акридина и НДИ показали активность в диапазоне концентраций от микромолярного до субмикромольного в отношении чувствительного к хлорохину штамма возбудителя малярии человека *P. falciparum* (соединение **80**: IC_{50} $0.419 \cdot 10^{-6}$ М). Соединения с гибким линкером между ароматическими циклами проявили высокую активность как против хлорохин-чувствительных (соединения **81** и **82**: IC_{50} $4.33 \cdot 10^{-9}$ и $3.65 \cdot 10^{-9}$ М), так и против хлорохин-резистентных штаммов *P. falciparum* (соединения **81** и **82**: IC_{50} $28.53 \cdot 10^{-9}$ и $52.20 \cdot 10^{-9}$ М).¹⁰⁸

Лиганды **70–75** показали сильную противопаразитарную активность при их испытании на *T. brucei*, *L. major* и *P. falciparum*, геномы которых содержат большое число G4, способных взаимодействовать с лигандами (табл. 11). Значения IC_{50} находятся в наномолярном диапазоне с высокой селективностью против *T. brucei* по сравнению с клеткам человека MRC-5. Данные, полученные с помощью конфокальной микро-

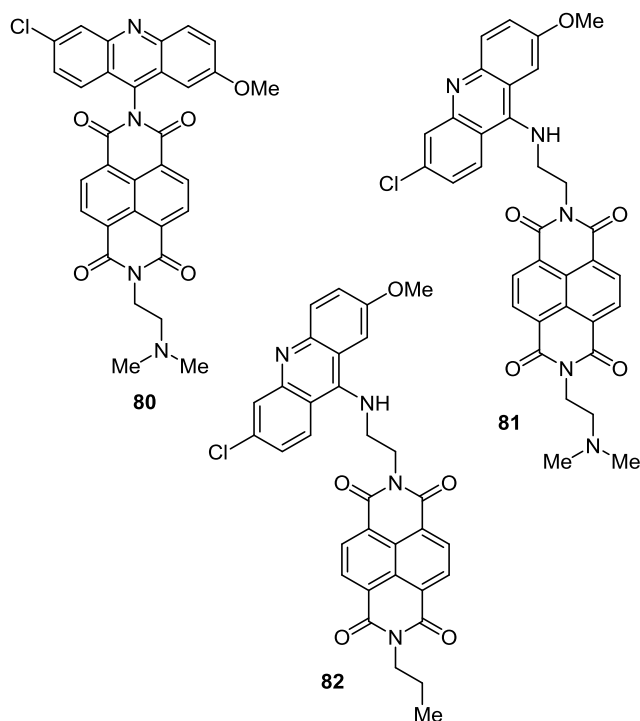


Рисунок 22. Бифункциональные аддукты акридина и НДИ **80–82** с активностью против штамма возбудителя малярии человека *P. falciparum*.

Таблица 11. Антипаразитарная (в отношении *L. major*, *T. brucei* и *P. falciparum*) и антипролиферативная активность (в отношении диплоидных клеток человека MRC-5) НДИ **70–75**

Соединение	IC ₅₀ , 10 ⁻⁶ М			
	<i>L. major</i>	<i>T. brucei</i>	<i>P. falciparum</i>	MRC-5
70	0.244 ± 0.007	0.024 ± 0.001	1.350 ± 0.636	1.15 ± 0.29
71	1.041 ± 0.027	0.089 ± 0.007	0.360 ± 0.071	0.51 ± 0.01
72	0.184 ± 0.009	0.017 ± 0.007	0.225 ± 0.120	0.91 ± 0.32
73	0.921 ± 0.051	0.099 ± 0.010	0.370 ± 0.085	2.04 ± 0.05
74	0.306 ± 0.019	0.021 ± 0.003	0.180 ± 0.099	0.81 ± 0.44
75	0.537 ± 0.030	0.017 ± 0.009	0.275 ± 0.191	0.71 ± 0.25

скопии, указывают на локализацию лиганда в ядре и кинетопласте *T. brucei*. Исследования цитотоксичности и токсичности на рыбах данио-рерио показали, что конъюгация углевода значительно снижает токсичность соединений.¹⁰⁹

Бифункциональные соединения **83** (рис. 23), содержащие НДИ и кумариновые циклы, показали выраженное антибактериальное действие (на уровне ципрофлоксацина, MIC 18.75–37.5 мкг/мл) против грамположительных (*S. aureus*, *S. epidermidis*) и грамотрицательных бактерий (*E. coli*, *P. aeruginosa*).⁹³

Хроническая инфекция *H. pylori* является основным фактором риска развития рака желудка. Более того, заражение опухолевых клеток бактерией *H. pylori* делает их более устойчивыми к апоптозу, вызванному химиотерапией. Соединение **84** (рис. 23) показало ингибирование роста *H. pylori* при субмикромольной концентрации (MIC 0.5·10⁻⁶ М), 50% ингибирование роста наблюдалось при концентрации 0.1·10⁻⁶ М. НДИ **84** ингибирует рост бактерий в концентрациях ниже его IC₅₀ в клетках рака желудка, предоставляя таким образом возможность использовать его как антибактериальный и противораковый агент одновременно.¹¹⁰

НДИ **85** (рис. 23) продемонстрировал умеренную антимикробную активность в отношении грамположительной *S. aureus* в питательном агаре (MIC 118 мкг/мл).

Высокая активность НДИ **85** против *S. aureus* была отмечена в среде LB (MIC 29.4 мкг/мл). Рост *E. coli* соединение **85** ингибирует начиная с концентрации 500 мкг/мл. Это указывает на то, что НДИ **85** специфично ингибирует рост грамположительных бактерий. Кроме того, НДИ **85** не лизирует эритроциты даже при концентрации 2.5 мг/мл и показывает большую селективность действия по отношению к бактериальным клеткам, чем к клетками млекопитающих (для клеток HeLa IC₅₀ 1.1 мг/мл).¹¹¹

Антимикробная активность конъюгатов НДИ с пептидами зависит в первую очередь от значения положительного заряда молекулы. Так, лучшую антимикробную активность против *E. coli* и *B. subtilis* показали соединения, содержащие одну единицу НДИ и, по крайней мере, семь фрагментов лизина. Кроме того, исследованные производные НДИ неактивны в отношении клеточных линий млекопитающих, что делает их перспективными противомикробными препаратами. Результаты исследования показали, что сочетание положительного заряда с ароматическими и/или гидрофобными элементами может быть перспективным подходом к синтезу новых антимикробных агентов.¹¹²

Нековалентное связывание с нуклеиновыми кислотами характерно для всех представителей группы диазапиренов. В первую очередь это связано с особенностями геометрии пиренового цикла, а также высокой π-кислотностью ароматической системы. Значительное влияние на селективность связывания и стабильность комплекса оказывают заместители в диазапиреновом цикле за счет электростатического и стерического взаимодействия с цепью ДНК. Кроме того, некоторые представители диазапиренов способны фотосенсибилизировать кислород и вносить разрывы в цепи ДНК в присутствии света.

Биологическая активность производных диазапиренов определяется главным образом взаимодействием с нуклеиновыми кислотами. Связывание с ДНК нарушает работу ферментов, таких как ДНК-полимераза, теломераза и топоизомераза, а стабилизация G4

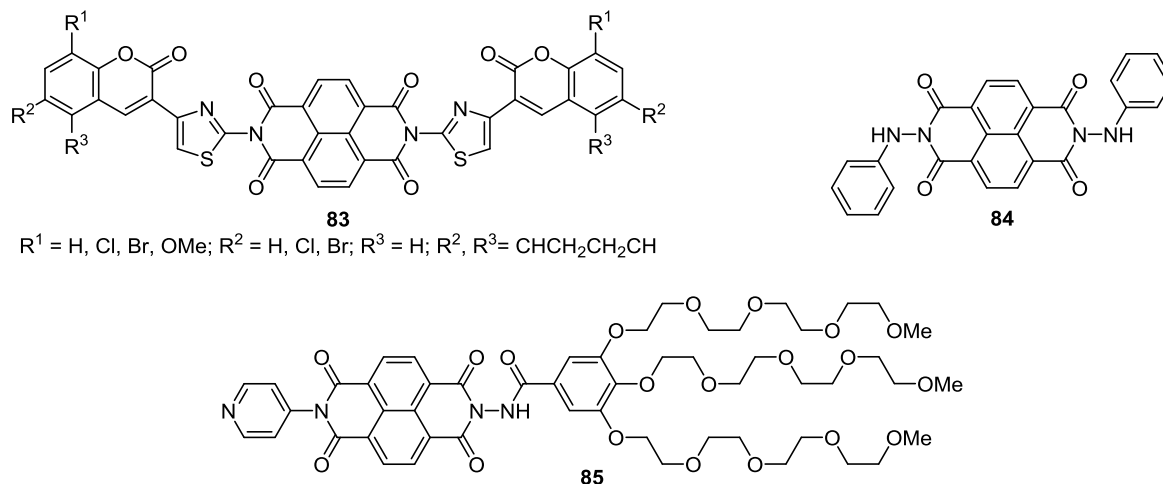


Рисунок 23. Соединения **83–85** на основе НДИ, обладающие антибактериальными свойствами.

в промоторных областях генов приводит к подавлению их экспрессии. Принимая во внимание, что во многих онкогенах G4 локализованы в промоторной области, многие лиганды G4 проявляют противоопухолевую активность. Однако четкой корреляции между противоопухолевой активностью и силой связывания с квадруплексной ДНК не обнаружено. Кроме того, важным фактором, определяющим биологическое действие производных диазапиренов, является способность вносить разрывы в цепь ДНК. Расщепление нуклеотидной цепи может быть как следствием прямого фотоокисления, так и результатом фотосенсибилизации молекулярного O₂.

Дополнительно механизм реализации биологической активности производных диазапиренов может включать действие на липидные мембраны. Так, хлорид *N,N'*-диметил-2,7-диазапирения оказывает дестабилизирующее действие на липидный бислой. Механизм действия *N,N'*-диметил-2,7-диазапирения, по-видимому, отличается от механизма действия классических дестабилизирующих агентов, таких как неионогенные поверхностно-активные соединения. Моделирование молекулярной динамики показывает, что дестабилизация липосомальной мембраны хлоридом *N,N'*-диметил-2,7-диазапирения связана с его способностью окружать себя молекулами H₂O даже в сильно гидрофобных средах, таких как липосомный бислой, что, по-видимому, способствует образованию переходных пор в липидном бислое.¹¹³ Олиго(*пара*-фенилен)нафталиндиимид способствует транспорту анионов через липидный бислой с редкой VI галогеновой селективностью (Cl⁻ > F⁻ > Br⁻ > I⁻).¹¹⁴ Трансмембранный переход иона происходит по механизму "ионного скольжения" без необходимости образования "поры" в классическом смысле.¹¹⁵ Показано, что соединения, нарушающие трансмембранный транспорт хлорид-ионов вызывают гибель клеток, стимулируя каспаза-опосредованный апоптоз.¹¹⁶

Спектр биологической активности и механизм действия НДИ определяется главным образом структурой заместителей в диазапиреновом цикле. Сложность функционализации диазапиренов является основным ограничивающим фактором при получении большого количества соединений для скрининга и при рациональном модифицировании структуры. Интенсивное исследование биологической активности НДИ, в отличие от других диазапиренов, во многом связано с простотой синтеза и наличием большого числа методов их функционализации.¹¹⁷ Большим потенциалом обладают гибридные соединения, содержащие НДИ и фармакофорные группы соединений с изученным биологическим действием, такие как сульфорафан,¹⁰¹ скриптаид¹⁰³ и амонафид.¹¹⁸ В настоящее время ряд производных 1,8-нафталинимида показали значительную биологическую активность,¹¹⁹ отдельные 1,8-нафталинимида проходят клинические испытания. Принимая во внимание, что биологическая активность нафталиндиимидных аналогов 1,8-нафталинимида в ряде случаев была выше оригинальных соединений,^{96,103,118} а их токсичность менее выражена,¹¹⁸ можно предположить перс-

пективность поиска среди них эффективных и безопасных биологически активных соединений.

Сочетание высокой биологической активности, селективности связывания с ДНК и многофакторности действия делает производные диазапиренов перспективным классом для разработки химиотерапевтических агентов и диктует необходимость всестороннего изучения механизма их биологического действия.

Список литературы

- (a) Bolhuis, A.; Aldrich-Wright, J. R. *Bioorg. Chem.* **2014**, *55*, 51. (b) Ali, A.; Bhattacharya, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 4506. (c) Nekkanti, S.; Tokala, R.; Shankaraiah, N. *Curr. Med. Chem.* **2017**, *24*, 2887.
- Gibson, D. *Pharmacogenomics J.* **2002**, *2*, 275.
- (a) Balasubramanian, S.; Hurlley, L. H.; Neidle, S. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2011**, *10*, 261. (b) Hansel-Hertsch, R.; Beraldi, D.; Lensing, S. V.; Marsico, G.; Zyner, K.; Parry, A.; Di Antonio, M.; Pike, J.; Kimura, H.; Narita, M.; Tannahill, D.; Balasubramanian, S. *Nat. Genet.* **2016**, *48*, 1267. (c) Neidle, S. *Nat. Rev. Chem.* **2017**, *1*, 0041. (d) Paulo, A.; Castillo, C. C.; Neidle, S. In *Comprehensive Medicinal Chemistry III*; Chackalamannil, S.; Rotella, D.; Ward, S. E., Eds.; Elsevier: New York, 2017, p. 314.
- Lipps, H. J.; Rhodes, D. *Trends Cell Biol.* **2009**, *19*, 414.
- (a) Konig, S. L. B.; Huppert, J. L.; Sigel, R. K. O.; Evans, A. C. *Nucleic Acids Res.* **2013**, *41*, 7453. (b) Rhodes, D.; Lipps, H. J. *Nucleic Acids Res.* **2015**, *43*, 8627.
- Holder, I. T.; Hartig, J. S. *Chem. Biol.* **2014**, *21*, 1511.
- Zhou, B.; Liu, C.; Geng, Y.; Zhu, G. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 16673.
- Maizels, N. *EMBO Rep.* **2015**, *16*, 910.
- Metifiot, M.; Amrane, S.; Litvak, S.; Andreola, M.-L. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, 12352.
- (a) Perrone, R.; Nadai, M.; Frasson, I.; Poe, J. A.; Butovskaya, E.; Smithgall, T. E.; Palumbo, M.; Palù, G.; Richter, S. N. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 6521. (b) Perrone, R.; Nadai, M.; Poe, J. A.; Frasson, I.; Palumbo, M.; Palù, G.; Smithgall, T. E.; Richter, S. N. *PLoS One* **2013**, *8*, e73121. (c) Tosoni, E.; Frasson, I.; Scalabrin, M.; Perrone, R.; Butovskaya, E.; Nadai, M.; Palù, G.; Fabris, D.; Richter, S. N. *Nucleic Acids Res.* **2015**, *43*, 8884. (d) Amrane, S.; Kerkour, A.; Bedrat, A.; Vialet, B.; Andreola, M.-L.; Mergny, J.-L. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 5249. (e) Piekna-Przybylska, D.; Sullivan, M. A.; Sharma, G.; Bambara, R. A. *Biochemistry* **2014**, *53*, 2581.
- (a) Perrone, R.; Butovskaya, E.; Daelemans, D.; Palù, G.; Pannecouque, C.; Richter, S. N. *J. Antimicrob. Chemother.* **2014**, *69*, 3248. (b) Perrone, R.; Doria, F.; Butovskaya, E.; Frasson, I.; Botti, S.; Scalabrin, M.; Lago, S.; Grande, V.; Nadai, M.; Freccero, M.; Richter, S. N. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 9639.
- (a) Artusi, S.; Nadai, M.; Perrone, R.; Biasolo, M. A.; Palù, G.; Flamand, L.; Calistri, A.; Richter, S. N. *Antiviral Res.* **2015**, *118*, 123. (b) Artusi, S.; Perrone, R.; Lago, S.; Raffa, P.; Di Iorio, E.; Palù, G.; Richter, S. N. *Nucleic Acids Res.* **2016**, *44*, 10343. (c) Murat, P.; Zhong, J.; Lekieffre, L.; Cowieson, N. P.; Clancy, J. L.; Preiss, T.; Balasubramanian, S.; Khanna, R.; Tellam, J. *Nat. Chem. Biol.* **2014**, *10*, 358. (d) Norseen, J.; Johnson, F. B.; Lieberman, P. M. *J. Virol.* **2009**, *83*, 10336.
- (a) Tan, J.; Vonrhein, C.; Smart, O. S.; Bricogne, G.; Bollati, M.; Kusov, Y.; Hansen, G.; Mesters, J. R.; Schmidt, C. L.; Hilgenfeld, R. *PLoS Pathog.* **2009**, *5*, e1000428. (b) Tluczkova, K.; Marušič, M.; Tóthová, P.; Bauer, L.; Šket, P.; Plavec, J.; Viglasky, V. *Biochemistry* **2013**, *52*, 7207.
- (a) Fleming, A. M.; Ding, Y.; Alenko, A.; Burrows, C. J. *ACS Infect. Dis.* **2016**, *2*, 674. (b) Wang, S.-R.; Min, Y.-Q.; Wang, J.-Q.; Liu, C.-X.; Fu, B.-S.; Wu, F.; Wu, L.-Y.; Qiao, Z.-X.;

- Song, Y.-Y.; Xu, G.-H.; Wu, Z.-G.; Huang, G.; Peng, N.-F.; Huang, R.; Mao, W.-X.; Peng, S.; Chen, Y.-Q.; Zhu, Y.; Tian, T.; Zhang, X.-L.; Zhou, X. *Sci. Adv.* **2016**, 2, e1501535/1.
- (c) Wang, S.-R.; Zhang, Q.-Y.; Wang, J.-Q.; Ge, X.-Y.; Song, Y.-Y.; Wang, Y.-F.; Li, X.-D.; Fu, B.-S.; Xu, G.-H.; Shu, B.; Gong, P.; Zhang, B.; Tian, T.; Zhou, X. *Cell Chem. Biol.* **2016**, 23, 1113.
15. (a) Endoh, T.; Kawasaki, Y.; Sugimoto, N. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, 52, 5522. (b) Rawal, P.; Kummarsetti, V. B. R.; Ravindran, J.; Kumar, N.; Halder, K.; Sharma, R.; Mukerji, M.; Das, S. K.; Chowdhury, S. *Genome Res.* **2006**, 16, 644.
16. (a) Beaume, N.; Pathak, R.; Yadav, V. K.; Kota, S.; Misra, H. S.; Gautam, H. K.; Chowdhury, S. *Nucleic Acids Res.* **2013**, 41, 76. (b) Kota, S.; Dhamodharan, V.; Pradeepkumar, P. I.; Misra, H. S. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2015**, 99, 9761. (c) Kota, S.; Misra, H. S. *J. Biosci.* **2015**, 40, 833.
17. Rehm, C.; Wurmthaler, L. A.; Li, Y.; Frickey, T.; Hartig, J. S. *PLoS One* **2015**, 10, e0144275/1.
18. (a) Ehrat, E. A.; Johnson, B. R.; Williams, J. D.; Borchert, G. M.; Larson, E. D. *BMC Mol. Biol.* **2012**, 13, 23. (b) Kang, S.-G.; Henderson, E. *Mol. Cells.* **2002**, 14, 404. (c) Liu, N.-N.; Duan, X.-L.; Ai, X.; Yang, Y.-T.; Li, M.; Dou, S.-X.; Rety, S.; Deprez, E.; Xi, X.-G. *Nucleic Acids Res.* **2015**, 43, 8942. (d) McGlynn, P.; Lloyd, R. G. *Nucleic Acids Res.* **1999**, 27, 3049. (e) van Leeuwen, H. C.; Bakker, D.; Steindel, P.; Kuijper, E. J.; Corver, J. *Nucleic Acids Res.* **2013**, 41, 2382. (f) Wu, X.; Maizels, N. *Nucleic Acids Res.* **2001**, 29, 1765.
19. (a) Cahoon, L. A.; Manthei, K. A.; Rotman, E.; Keck, J. L.; Seifert, H. S. *J. Bacteriol.* **2013**, 195, 2255. (b) Cahoon, L. A.; Seifert, H. S. *Science* **2009**, 325, 764. (c) Harris, L. M.; Merrick, C. J. *PLoS Pathog.* **2015**, 11, e1004562/1. (d) Kuryavii, V.; Cahoon, L. A.; Seifert, H. S.; Patel, D. J. *Structure* **2012**, 20, 2090.
20. Cohen, S. M.; Lippard, S. J. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **2001**, 67, 93.
21. Морощкина, Е. Б. *Вестн. СПбГУ, Сер. 4: Физика. Химия* **2011**, 4, 114.
22. Lerman, L. S. *J. Mol. Biol.* **1961**, 3, 18.
23. (a) Pommier, Y. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 2894. (b) Pommier, Y. *Nat. Rev. Cancer* **2006**, 6, 789.
24. McClendon, A. K.; Osheroff, N. *Mutat. Res.* **2007**, 623, 83.
25. Drlica, K.; Zhao, X. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1997**, 61, 377.
26. Palumbo, M.; Gatto, B.; Moro, S.; Sissi, C.; Zagotto, G. *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, 1587, 145.
27. Dezhenkova, L. G.; Tsvetkov, V. B.; Shtil, A. A. *Russ. Chem. Rev.* **2014**, 83, 82. [*Успехи химии* **2014**, 83, 82.]
28. Balzani, V.; Credi, A.; Langford, S. J.; Raymo, F. M.; Stoddart, J. F.; Venturi, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 3542.
29. Lilienthal, N. D.; Alsafar, H.; Conerty, J.; Fernandez, R.; Kong, C.; Smith, D. K. *Anal. Chem.* **2003**, 75, 3322.
30. Ashton, P. R.; Boyd, S. E.; Brindle, A.; Langford, S. J.; Menzer, S.; Pérez-García, L.; Preece, J. A.; Raymo, M.; Spencer, N.; Frasser Stoddart, J.; White, A. J. P.; Williams, D. J. *New J. Chem.* **1999**, 23, 587.
31. (a) Jazwinski, J.; Blacker, A. J.; Lehn, J.-M.; Cesario, M.; Guilhem, J.; Pascard, C. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 6057. (b) Molloy, J. K.; Bergamini, G.; Baroncini, M.; Hahn, U.; Ceroni, P. *New J. Chem.* **2018**, 42, 16193.
32. (a) Stang, P. J.; Olenyuk, B.; Fan, J.; Arif, A. M. *Organometallics* **1996**, 15, 904. (b) Stang, P. J.; Cao, D. H.; Saito, S.; Arif, A. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 6273.
33. (a) Borovlev, I. V.; Demidov, O. P. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2003**, 39, 1417. [Химия гетероцикл. соединений **2003**, 1612.] (b) Borovlev, I. V.; Demidov, O. P. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2008**, 44, 1311. [Химия гетероцикл. соединений **2008**, 1613.]
34. (a) Calcul, L.; Longeon, A.; Al-Mourabit, A.; Guyot, M.; Bourguet-Kondracki, M.-L. *Tetrahedron* **2003**, 59, 6539. (b) Pham, C.-D.; Hartmann, R.; Muller, W. E. G.; de Voogd, N.; Lai, D.; Proksch, P. *J. Nat. Prod.* **2013**, 76, 103. (c) Yu, H.-B.; Yang, F.; Sun, F.; Li, J.; Jiao, W.-H.; Gan, J.-H.; Hu, W.-Z.; Lin, H.-W. *Mar. Drugs* **2014**, 12, 6003.
35. (a) Gul, W.; Hammond, N. L.; Yousaf, M.; Bowling, J. J.; Schinazi, R. F.; Wirtz, S. S.; Garcia de Castro, A.; Cuevas, C.; Hamann, M. T. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 8495. (b) Larghi, E. L.; Bohn, M. L.; Kaufman, T. S. *Tetrahedron* **2009**, 65, 4257. (c) Arai, M.; Han, C.; Yamano, Y.; Setiawan, A.; Kobayashi, M. *J. Nat. Med.* **2014**, 68, 372. (d) Sa'adah, N. N.; Nurhayati, A. P. D.; Shovitri, M. *J. Technol. Sci.* **2016**, 27. DOI: 10.12962/j20882033.v27i3.1183.
36. Becker, H.-C.; Norden, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 5798.
37. Blacker, A. J.; Jazwinski, J.; Lehn, J.-M.; Wilhelm, F. X. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1986**, 1035.
38. Ikeda, H.; Fuji, K.; Tanaka, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 101.
39. Ikeda, H.; Fuji, K.; Tanaka, K.; Iso, Y.; Yoneda, F. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, 47, 1455.
40. (a) Blacker, A. J.; Jazwinski, J.; Lehn, J.-M. *Helv. Chim. Acta* **1987**, 70, 1. (b) Saito, I.; Takayama, M.; Matsuura, T. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 2237.
41. Hünig, S.; Groß, J. *Tetrahedron Lett.* **1968**, 9, 2599.
42. (a) Brun, A. M.; Harriman, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 8153. (b) Coudret, C.; Harriman, A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 1755.
43. Rogers, J. E.; Weiss, S. J.; Kelly, L. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 427.
44. Kawai, K.; Osakada, Y.; Fujitsuka, M.; Majima, T. *J. Phys. Chem. B* **2007**, 111, 2322.
45. Vicic, D. A.; Odom, D. T.; Nunez, M. E.; Gianolio, D. A.; McLaughlin, L. W.; Barton, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 8603.
46. Piantanida, I.; Tomišić, V.; Žinić, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 375.
47. Piantanida, I.; Palm, B. S.; Žinić, M.; Schneider, H.-J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2001**, 1808.
48. Palm, B. S.; Piantanida, I.; Žinić, M.; Schneider, H.-J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 385.
49. Piantanida, I.; Žinić, M.; Marcz, S.; Glavaš-Obrovac, L. *J. Phys. Org. Chem.* **2007**, 20, 285.
50. Long, E. C.; Claussen, C. A. In *Small Molecule DNA and RNA Binders: From Synthesis to Nucleic Acid Complexes*; Demeunynck, M.; Bailly, C.; Wilson W. D., Eds; Wiley-VCH: Weinheim, 2002, p. 88.
51. Tanious, F. A.; Yen, S.-F.; Wilson, W. D. *Biochemistry* **1991**, 30, 1813.
52. (a) Czerwinska, I.; Sato, S.; Juskowiak, B.; Takenaka, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, 22, 2593. (b) Esaki, Y.; Islam, Md. M.; Fujii, S.; Sato, S.; Takenaka, S. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 5967. (c) Marchetti, C.; Minarini, A.; Tumiat, V.; Moraca, F.; Parrotta, L.; Alcaro, S.; Rigo, R.; Sissi, C.; Gunaratnam, M.; Ohnmacht, S. A.; Neidle, S.; Milelli, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, 23, 3819. (d) Islam, Md. M.; Sato, S.; Shinozaki, S.; Takenaka, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, 27, 329. (e) Vasimalla, S.; Sato, S.; Takenaka, F.; Kurose, Y.; Takenaka, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, 25, 6404.
53. (a) Islam, Md. M.; Fujii, S.; Sato, S.; Okauchi, T.; Takenaka, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, 23, 4769. (b) Islam, Md. M.; Fujii, S.; Sato, S.; Okauchi, T.; Takenaka, S. *Molecules* **2015**, 20, 10963.
54. McKnight, R. E.; Reisenauer, E.; Pintado, M. V.; Polasani, S. R.; Dixon, D. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 4288.
55. Suseela, Y. V.; Das, S.; Pati, S. K.; Govindaraju, T. *ChemBioChem* **2016**, 17, 2162.

56. Cuenca, F.; Greciano, O.; Gunaratnam, M.; Haider, S.; Munnur, D.; Nanjunda, R.; Wilson, W. D.; Neidle, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1668.
57. (a) Collie, G. W.; Promontorio, R.; Hampel, S. M.; Micco, M.; Neidle, S.; Parkinson, G. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 2723. (b) Spinello, A.; Barone, G.; Grunenberg, J. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 2871.
58. Nadai, M.; Doria, F.; Scalabrin, M.; Pirota, V.; Grande, V.; Bergamaschi, G.; Amendola, V.; Winnerdy, F. R.; Phan, A. T.; Richter, S. N.; Freccero, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 14528.
59. Yang, Q.; Xu, J.; Sun, Y.; Li, Z.; Li, Y.; Qian, X. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 803.
60. Doria, F.; Manet, I.; Grande, V.; Monti, S.; Freccero, M. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 8065.
61. Matsugo, S.; Kawanishi, S.; Yamamoto, K.; Sugiyama, H.; Matsuura, T.; Saito, I. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1351.
62. Terenzi, A.; Ducani, C.; Blanco, V.; Zerkankova, L.; Westendorf, A. F.; Peinador, C.; Quintela, J. M.; Bednarski, P. J.; Barone, G.; Hannon, M. J. *Chem.–Eur. J.* **2012**, *18*, 10983.
63. Czerwinska, I.; Sato, S.; Takenaka, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 6416.
64. Holman, G. G.; Zewail-Foote, M.; Smith, A. R.; Johnson, K. A.; Iverson, B. L. *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 875.
65. Lee, J.; Guelev, V.; Sorey, S.; Hoffman, D. W.; Iverson, B. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14036.
66. Smith, A. R.; Ikkanda, B. A.; Holman, G. G.; Iverson, B. L. *Biochemistry* **2012**, *51*, 4445.
67. Okamoto, A.; Nakamura, T.; Yoshida, K.; Nakatani, K.; Saito, I. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3249.
68. Tansil, N. C.; Xie, F.; Xie, H.; Gao, Z. *Chem. Commun.* **2005**, 1064.
69. (a) Takenaka, H.; Sato, S.; Takenaka, S. *Electroanalysis* **2013**, *25*, 1827. (b) Takenaka, S.; Yamashita, K.; Takagi, M.; Uto, Y.; Kondo, H. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 1334. (c) Takenaka, S.; Uto, Y.; Saita, H.; Yokoyama, M.; Kondo, H.; Wilson, W. D. *Chem. Commun.* **1998**, 1111. (d) Sato, S.; Yamamura, K.; Takenaka, S. *Electroanalysis* **2013**, *25*, 1831.
70. Sato, S.; Fujii, S.; Yamashita, K.; Takagi, M.; Kondo, H.; Takenaka, S. *J. Organomet. Chem.* **2001**, *637–639*, 476.
71. Sato, S.; Kondo, H.; Nojima, T.; Takenaka, S. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 7304.
72. Yamashita, K.; Takagi, A.; Takagi, M.; Kondo, H.; Ikeda, Y.; Takenaka, S. *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 1193.
73. Gaiji, H.; Jolly, P.; Ustuner, S.; Goggins, S.; Abderrabba, M.; Frost, C. G.; Estrela, P. *Electroanalysis* **2017**, *29*, 917.
74. (a) Steiner-Biocić, I.; Glavaš-Obrovac, Lj.; Karner, I.; Piantanida, I.; Žinić, M.; Pavelić, K.; Pavelić, J. *Anticancer Res.* **1996**, *16*, 3705. (b) Roknić, S.; Glavaš-Obrovac, Lj.; Karner, I.; Piantanida, I.; Žinić, M.; Pavelić, K. *Chemotherapy* **2000**, *46*, 143.
75. Yu, D.-H.; MacDonald, J.; Josephs, S.; Liu, Q.; Nguy, V.; Tor, Y.; Wong-Staal, F.; Li, Q.-X. *Invest. New Drugs* **2006**, *24*, 489.
76. Marczl, S.; Glavaš-Obrovac, Lj.; Belovari, T.; Stojković, R.; Ivanković, S.; Šerić, V.; Piantanida, I.; Žinić, M. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2008**, *62*, 595.
77. Marczl, S.; Glavaš-Obrovac, Lj.; Karner, I. *Chemotherapy* **2005**, *51*, 217.
78. Cogo, S.; Ferino, A.; Miglietta, G.; Pedersen, E. B.; Xodo, L. E. *Nucleic Acids Res.* **2018**, *46*, 661.
79. Pennarun, G.; Granotier, C.; Gauthier, L. R.; Gomez, D.; Hoffschir, F.; Mandine, E.; Riou, J.-F.; Mergny, J.-L.; Mailliet, P.; Boussin, F. D. *Oncogene* **2005**, *24*, 2917.
80. Street, S. T. G.; Chin, D. N.; Hollingworth, G. J.; Berry, M.; Morales, J. C.; Galan, M. C. *Chem.–Eur. J.* **2017**, *23*, 6953.
81. Salvati, E.; Doria, F.; Manoli, F.; D'Angelo, C.; Biroccio, A.; Freccero, M.; Manet, I. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 7238.
82. Milelli, A.; Marchetti, C.; Greco, M. L.; Moraca, F.; Costa, G.; Turrini, E.; Catanzaro, E.; Betari, N.; Calcabrini, C.; Sissi, C.; Alcaro, S.; Fimognari, C.; Tumiatti, V.; Minarini, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *128*, 107.
83. Hampel, S. M.; Sidibe, A.; Gunaratnam, M.; Riou, J.-F.; Neidle, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 6459.
84. Gunaratnam, M.; de la Fuente, M.; Hampel, S. M.; Todd, A. K.; Reszka, A. P.; Schätzlein, A.; Neidle, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 7151.
85. Hampel, S. M.; Pepe, A.; Greulich-Bode, K. M.; Malhotra, S. V.; Reszka, A. P.; Veith, S.; Boukamp, P.; Neidle, S. *Mol. Pharmacol.* **2013**, *83*, 470.
86. Rasadean, D. M.; Sheng, B.; Dash, J.; Pantos, G. D. *Chem.–Eur. J.* **2017**, *23*, 8491.
87. Micco, M.; Collie, G. W.; Dale, A. G.; Ohnmacht, S. A.; Pazitna, I.; Gunaratnam, M.; Reszka, A. P.; Neidle, S. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 2959.
88. Ohnmacht, S. A.; Marchetti, C.; Gunaratnam, M.; Besser, R. J.; Haider, S. M.; Di Vita, G.; Neidle, S.; Lowe, H. L.; Mellinas-Gomez, M.; Diocou, S.; Robson, M.; Pedley, R. B.; Hartley, J. A.; Šponer, J.; Islam, B. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 11385.
89. Mpima, S.; Ohnmacht, S. A.; Barletta, M.; Husby, J.; Pett, L. C.; Gunaratnam, M.; Hilton, S. T.; Neidle, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 6162.
90. Marchetti, C.; Zyner, K. G.; Ohnmacht, S. A.; Robson, M.; Haider, S. M.; Morton, J. P.; Marsico, G.; Vo, T.; Laughlin-Toth, S.; Ahmed, A. A.; Di Vita, G.; Pazitna, I.; Gunaratnam, M.; Besser, R. J.; Andrade, A. C. G.; Diocou, S.; Pike, J. A.; Tannahill, D.; Pedley, R. B.; Evans, T. R. J.; Wilson, W. D.; Balasubramanian, S.; Neidle, S. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 2500.
91. Gunaratnam, M.; Swank, S.; Haider, S. M.; Galesa, K.; Reszka, A. P.; Beltran, M.; Cuenca, F.; Fletcher, J. A.; Neidle, S. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 3774.
92. Gunaratnam, M.; Collie, G. W.; Reszka, A. P.; Todd, A. K.; Parkinson, G. N.; Neidle, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 2958.
93. Kamal, A.; Adil, S. F.; Tamboli, J. R.; Siddardha, B.; Murthy, U. S. N. *Letts. Drug Des. Discovery* **2009**, *6*, 201.
94. Sur, S.; Tiwari, V.; Sinha, D.; Kamran, M. Z.; Dubey, K. D.; Suresh Kumar, G.; Tandon, V. *ACS Omega* **2017**, *2*, 966.
95. Suseela, Y. V.; Das, S.; Pati, S. K.; Govindaraju, T. *ChemBioChem* **2016**, *17*, 2162.
96. Tumiatti, V.; Milelli, A.; Minarini, A.; Micco, M.; Gasperi Campani, A.; Roncuzzi, L.; Baiocchi, D.; Marinello, J.; Capranico, G.; Zini, M.; Stefanelli, C.; Melchiorre, C. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 7873.
97. Di Antonio, M.; Doria, F.; Richter, S. N.; Bertipaglia, C.; Mella, M.; Sissi, C.; Palumbo, M.; Freccero, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13132.
98. Doria, F.; Nadai, M.; Folini, M.; Di Antonio, M.; Germani, L.; Percivalle, C.; Sissi, C.; Zaffaroni, N.; Alcaro, S.; Artese, A.; Richter, S. N.; Freccero, M. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 2798.
99. Nadai, M.; Doria, F.; Di Antonio, M.; Sattin, G.; Germani, L.; Percivalle, C.; Palumbo, M.; Richter, S. N.; Freccero, M. *Biochimie* **2011**, *93*, 1328.
100. Lopergolo, A.; Tortoreto, M.; Beretta, G. L.; Zuco, V.; Borrello, M. G.; Lanzi, C.; Zaffaroni, N.; Folini, M.; Perrone, R.; Richter, S. N.; Doria, F.; Freccero, M. *Oncotarget* **2016**, *7*, 49649.
101. Minarini, A.; Milelli, A.; Tumiatti, V.; Ferruzzi, L.; Marton, M.-R.; Turrini, E.; Hrelia, P.; Fimognari, C. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *48*, 124.

102. Xu, X.; Wang, S.; Chang, Y.; Ge, C.; Li, X.; Feng, Y.; Xie, S.; Wang, C.; Dai, F.; Luo, W. *MedChemComm* **2018**, 9, 1377.
103. Pasini, A.; Marchetti, C.; Sissi, C.; Cortesi, M.; Giordano, E.; Minarini, A.; Milelli, A. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**, 8, 1218.
104. Arévalo-Ruiz, M.; Doria, F.; Belmonte-Reche, E.; De Rache, A.; Campos-Salinas, J.; Lucas, R.; Falomir, E.; Carda, M.; Pérez-Victoria, J. M.; Mergny, J.-L.; Freccero, M.; Morales, J. C. *Chem.–Eur. J.* **2017**, 23, 2157.
105. Callegaro, S.; Perrone, R.; Scalabrin, M.; Palù, G.; Richter, S. N.; Doria, F. *Sci. Rep.* **2017**, 7, 2341.
106. Perrone, R.; Lavezzo, E.; Riello, E.; Manganelli, R.; Palù, G.; Toppo, S.; Richter, S. N.; Provvedi, R. *Sci. Rep.* **2017**, 7, 5743.
107. Ariyasu, S.; Too, P. C.; Mu, J.; Goh, C. C.; Ding, Y.; Tnay, L. Y.; Yeow, E.; Yang, L.; Ng, L. G.; Xing, B.; Chiba, S.; *Chem. Commun.* **2016**, 4667.
108. Dana, S.; Keshri, S. K.; Shukla, J.; Vikramdeo, K. S.; Mondal, N.; Mukhopadhyay, P.; Dhar, S. K. *ACS Omega* **2016**, 1, 318.
109. (a) Belmonte-Reche, E.; Martínez-García, M.; Guédin, A.; Zuffo, M.; Arévalo-Ruiz, M.; Doria, F.; Campos-Salinas, J.; Maynadier, M.; López-Rubio, J. J.; Freccero, M.; Mergny, J.-L.; Pérez-Victoria, J. M.; Morales, J. C. *J. Med. Chem.* **2018**, 61, 1231. (b) Zuffo, M.; Stucchi, A.; Campos-Salinas, J.; Cabello-Donayre, M.; Martínez-García, M.; Belmonte-Reche, E.; Pérez-Victoria, J. M.; Mergny, J. L.; Freccero, M.; Morales, J. C.; Doria, F. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 163, 54.
110. Gurung, S. K.; Dana, S.; Mandal, K.; Mukhopadhyay, P.; Mondal, N. *Chem. Biol. Interact.* **2019**, 304, 106.
111. Sikder, A.; Sarkar, J.; Sakurai, T.; Seki, S.; Ghosh, S. *Nanoscale* **2018**, 10, 3272.
112. Miller, C. T.; Weragoda, R.; Izbicka, E.; Iverson, B. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 2015.
113. Zappacosta, R.; Semeraro, M.; Baroncini, M.; Silvi, S.; Aschi, M.; Credi, A.; Fontana, A. *Small* **2010**, 6, 952.
114. (a) Gorteau, V.; Bollot, G.; Mareda, J.; Perez-Velasco, A.; Matile, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 14788. (b) Gorteau, V.; Bollot, G.; Mareda, J.; Matile, S. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 3000. (c) Gorteau, V.; Julliard, M. D.; Matile, S. *Science* **2008**, 321, 37.
115. (a) Mareda, J.; Matile, S. *Chem.–Eur. J.* **2009**, 15, 28. (b) Dawson, R. E.; Hennig, A.; Weimann, D. P.; Emery, D.; Ravikumar, V.; Montenegro, J.; Takeuchi, T.; Gabutti, S.; Mayor, M.; Mareda, J.; Schalley, C. A.; Matile, S. *Nat. Chem.* **2010**, 2, 533.
116. (a) Saha, T.; Hossain, M. S.; Saha, D.; Lahiri, M.; Talukdar, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, 7558. (b) Akhtar, N.; Saha, A.; Kumar, V.; Pradhan, N.; Panda, S.; Morla, S.; Kumar, S.; Manna, D. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2018**, 10, 33803.
117. (a) Bhosale, S. V.; Jani, C. H.; Langford, S. J. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 331. (b) Pan, M.; Lin, X.-M.; Li, G.-B.; Su, C.-Y. *Coord. Chem. Rev.* **2011**, 255, 1921. (c) Suraru, S.-L.; Würthner, F. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2014**, 53, 7428. (d) Kobaisi, M. A.; Bhosale, S. V.; Latham, K.; Raynor, A. M.; Bhosale, S. V. *Chem. Rev.* **2016**, 116, 11685. (e) Insuasty, A.; Maniam, S.; Langford, S. *Chem.–Eur. J.* **2019**, 25, 7058.
118. Wang, Y.; Zhang, X.; Zhao, J.; Xie, S.; Wang, C. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 3502.
119. (a) Banerjee, S.; Veale, E. B.; Phelan, C. M.; Murphy, S. A.; Tocci, G. M.; Gillespie, L. J.; Frimannsson, D. O.; Kelly, J. M.; Gunnlaugsson, T. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 1601. (b) Kamal, A.; Bolla, N. R.; Srikanth, P. S.; Srivastava, A. K. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2013**, 23, 299. (c) Tomczyk, M. D.; Walczak, K. Z. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 159, 393.