

## Гетероциклические аналоги 5,12-нафтаценхинона 16\*. Синтез и свойства новых ДНК-лигандов на основе 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]тиофен-5,10-диона

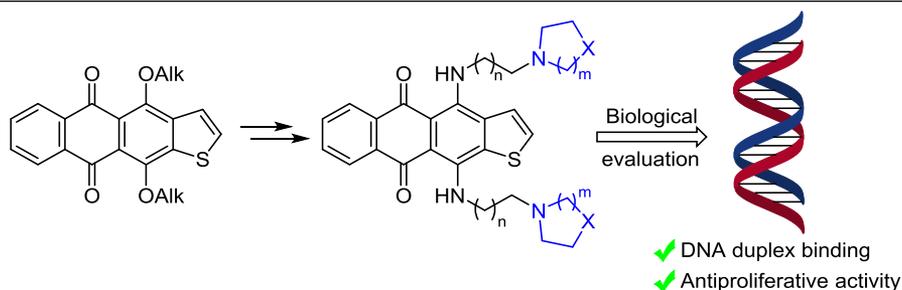
Дарья В. Андреева<sup>1</sup>, Александр С. Тихомиров<sup>1,2\*</sup>, Любовь Г. Деженкова<sup>1</sup>,  
Дмитрий Н. Калюжный<sup>3</sup>, Ольга К. Мамаева<sup>3</sup>, Светлана Е. Соловьева<sup>1</sup>,  
Юрий Б. Синькевич<sup>2</sup>, Андрей Е. Щекотихин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе,  
ул. Большая Пироговская, д. 11, стр. 1, Москва 119021, Россия; e-mail: tikhomirov.chem@gmail.com

<sup>2</sup> Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева,  
Миусская пл., 9, Москва 125190, Россия

<sup>3</sup> Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН,  
ул. Вавилова, 32, Москва 119991, Россия

Поступило 14.02.2020  
Принято после доработки 31.03.2020



Разработана дивергентная схема синтеза новых производных 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]тиофен-5,10-диона, основанная на введении циклических аминов в терминальные положения 4,11-аминоалкильных групп. Модификация боковых цепей антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов повышает сродство лигандов к дуплексу ДНК и снижает аффинность к G-квадруплексам. Анализ связи структура–активность показал, что 2-(пиперидин-1-ил)этиламин является наиболее перспективным фрагментом боковых цепей для разработки новых лигандов двухцепочечной ДНК. Способность новых лигандов связываться с дуплексом ДНК коррелирует с ингибированием роста опухолевых клеток, что указывает на перспективы дальнейшего поиска новых противоопухолевых соединений или химических проб на формирующие дуплекс последовательности нуклеиновых кислот в ряду 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов.

**Ключевые слова:** антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионы, нуклеиновые кислоты, G-квадруплексы, нуклеофильное замещение, противоопухолевые свойства.

Нуклеиновые кислоты являются мишенями многих противоопухолевых агентов.<sup>2–4</sup> Воздействие химических соединений на различные этапы обмена полирибонуклеотидов позволяет подавлять пролиферацию опухолевых клеток и лечить онкологические заболевания. Помимо хорошо изученной вторичной структуры нуклеиновых кислот – дуплекса, доказана возможность образования ряда неканонических структур ДНК (G-квадруплексы, шпильки, i-мотивы, R-петли и др.<sup>5–7</sup>), которые также играют важную роль в различных биологических процессах и их регуляции. Так,

богатые гуанином последовательности нуклеиновых кислот способны образовывать G-квадруплексы (G4). Эти четырехцепочечные элементы формируются за счет стеклинг-взаимодействий нескольких G-квартетов, стабилизированных ионами калия или натрия. Доказано, что G4 участвуют в поддержании стабильности генома, регуляции активности теломеразы и клеточного деления, репликации ДНК и экспрессии онкогенов. В частности, G4 формируются теломерными участками ДНК, а также в промоторных областях многих онкогенов (*MYC*, *KIT*, *KRAS*, *HRAS*, *Bcl-2* и др.), экспрессированных в опухолевых клетках.<sup>8,9</sup> Стабилизация G4 лигандами позволяет влиять на

\* Сообщение 15, см.<sup>1</sup>

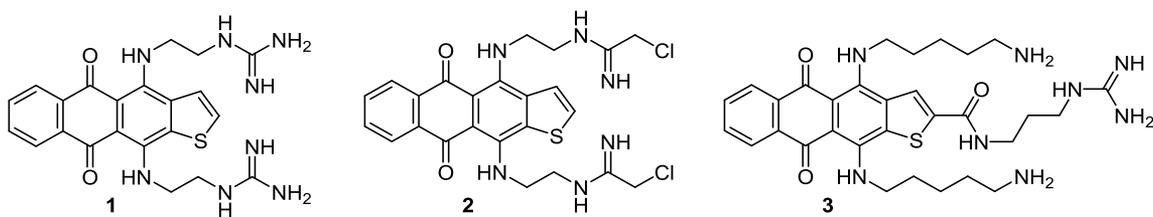


Рисунок 1. Лиганды G4 на основе производных 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов.

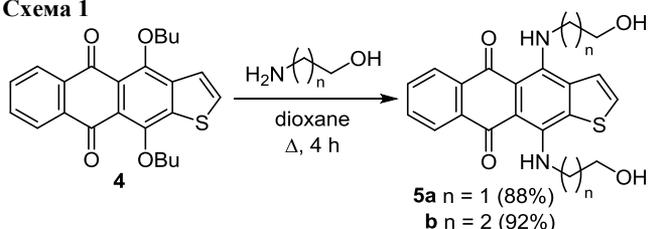
экспрессию генов и активность теломеразы, делая G4 перспективной мишенью для химиотерапии, а их лиганды – потенциальными противоопухолевыми средствами.<sup>10–13</sup>

Показано, что производные 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]тиофен-5,10-диона **1–3** способны стабилизировать теломерный G4, а также G4 из промоторных последовательностей ряда онкогенов, подавлять активность теломеразы и экспрессию онкогенов в опухолевых клетках (рис. 1).<sup>14–16</sup> Вариация структуры терминальных групп и длины линкерных фрагментов боковых цепей в положениях 4, 11 позволяет модулировать способность соединений проникать в клетки и связываться с внутриклеточными мишенями.<sup>16,17</sup> Недавно было обнаружено, что введение дополнительной боковой цепи в положение 2 гетероциклического каркаса (соединение **3**) приводит к увеличению аффинности в отношении G4 по сравнению с двухцепочечной ДНК.<sup>18</sup>

Анализ литературы показал, что наличие терминальных циклических аминов в боковых цепях лигандов не только увеличивает связывание с нуклеиновыми кислотами, но в ряде случаев способно повышать селективность в отношении тех или иных вторичных структур.<sup>19–21</sup> Поэтому, продолжая оптимизацию структур лигандов нуклеиновых кислот на основе конденсированных с гетероаренами производных антрахинона, синтезирован ряд новых 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов, содержащих циклические амины в терминальных положениях боковых цепей, а также проведена оценка их связывания с мишенями и воздействия на опухолевые клетки.

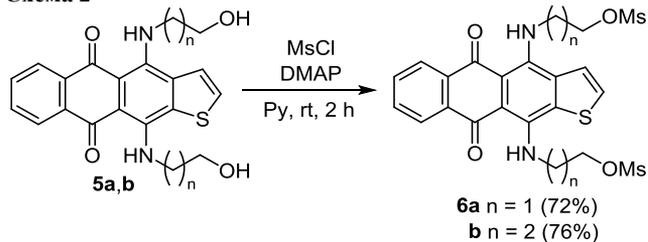
Для получения серии целевых ДНК-лигандов разработана дивергентная схема, основанная на синтезе 4,11-бис(ω-гидроксиалкильных)производных антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-диона с последующей активацией гидроксильных групп боковых цепей и их замещении на фрагменты циклических аминов. Исходные 4,11-бис(ω-гидроксиалкиламино)антра[2,3-*b*]тиофендионы синтезированы нуклеофильным замещением алкоксигрупп в *peri*-положениях хиноидного каркаса.<sup>22</sup> Кипячение полученного ранее 4,11-дибутоксидантра[2,3-*b*]тиофендиона **4**<sup>23</sup> с 2-аминоэтанолом и 3-аминопропан-1-олом в диоксане приводит к соединениям **5a,b** с высокими выходами (схема 1).

Схема 1



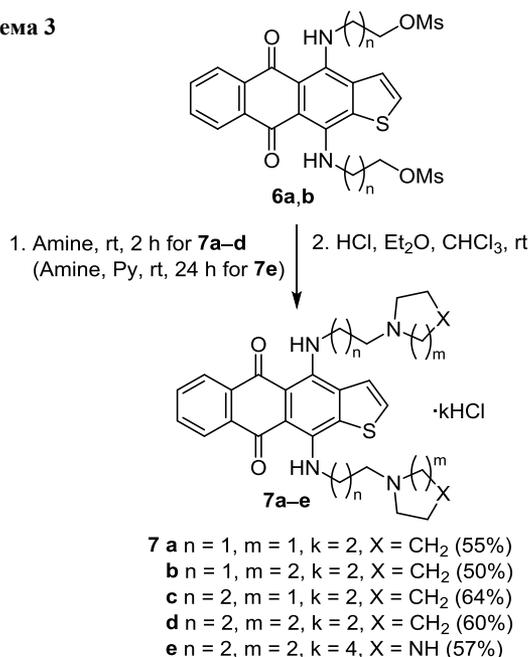
Для активации гидроксигрупп соединений **5a,b** с целью последующего замещения циклическими аминами было испытано несколько реагентов и растворителей: TsCl или MsCl в DMA, TsCl или MsCl в диоксане в присутствии Et<sub>3</sub>N, I<sub>2</sub>/ImH/PPH<sub>3</sub> в DMA, SOCl<sub>2</sub>, которые, однако, не привели к удовлетворительному результату. Наиболее эффективным методом активации терминальных гидроксигрупп боковых цепей 4,11-бис(ω-гидроксиалкиламино)антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов **5a,b** оказалась сульфонилирование метансульфохлоридом в абсолютном пиридине в присутствии DMAP (схема 2).<sup>24</sup>

Схема 2

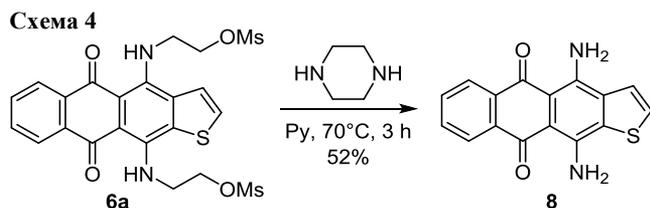


Новые 4,11-бис(аминоалкиламино)антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионы **7a–e** получены в виде гидрохлоридов взаимодействием *O*-месилированных производных **6a,b** с пирролидином, пиперидином или пиперазином и последующей обработкой раствором HCl в Et<sub>2</sub>O (схема 3). Следует отметить, что, несмотря на предпринятые попытки, получить 4,11-бис((2-пиперазин-1-ил)этил)-

Схема 3



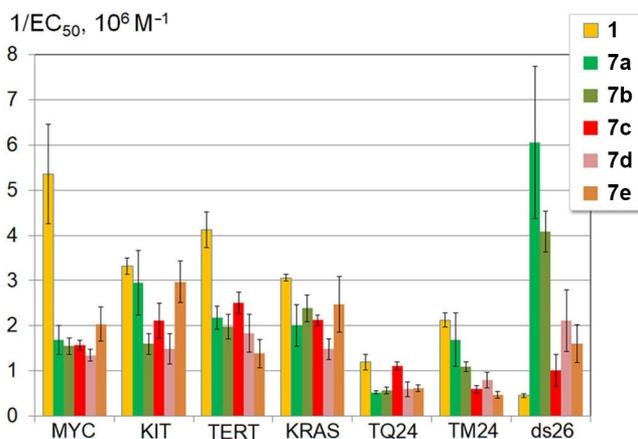
амино]антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дион не удалось. Низкая растворимость исходного соединения **6a** позволяет растворить его лишь в пиридине при нагревании, однако последующее добавление к раствору пиперазина вызывает не замещение групп MsO, а приводит к дезалкилированию боковых цепей с образованием 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]тиофен-5,10-диона (**8**) (схема 4), которое наблюдалось ранее.<sup>25</sup>



Способность новых 4,11-бис(аминоалкиламино)антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов **7a–e** стабилизировать различные по топологии вторичные структуры ДНК была оценена методом FID-скрининга. Аффинность лигандов измерялась в отношении образующих G4 олигонуклеотидов MYC, KIT, TERT, KRAS и TQ24, теломерной ДНК, неспособной образовывать квадруплексную структуру TM24, и дуплекса ДНК ds26.

Установлено, что введение фрагментов циклических аминов в боковые цепи антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов приводит к снижению связывания лигандов с последовательностями G4 в сравнении с ранее полученным лигандом G4 – бисгуанидином **1**. С другой стороны, модификация основных групп боковых цепей способствует увеличению аффинности к двухцепочечной ДНК: наибольшие константы связывания новых лигандов наблюдались для самокомплементарного олигонуклеотида ds26, формирующего двухцепочечный дуплекс (рис. 2). Соединения **7a,b**, содержащие этильный линкер в боковых цепях, значительно превосходят по способности связываться с дуплексом пропиловые аналоги **7c–e**. Несмотря на то, что строгой корреляции между структурой терминальных групп и аффинностью к различным последовательностям ДНК не наблюдается, производное **7a** с пирролидиновым фрагментом в боковых цепях продемонстрировало заметно более высокое сродство к дуплексу, чем аналоги с пиперидиновым и пиперазиновым фрагментами. Интересно отметить, что наименьшее сродство 4,11-бис(аминоалкиламино)антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионы проявляют в отношении теломерной последовательности (TQ24), формирующего G4, и ее мутантного аналога TM24, неспособного формировать элементы вторичной структуры ДНК.

Влияние новых 4,11-бис(аминоалкиламино)антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов **7a–e** на рост опухолевых клеток было изучено в МТТ-тесте на линиях клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 и меланомы мыши В16. Большинство полученных соединений ингибирует пролиферацию опухолевых клеток в микромолярных концентрациях. Наибольшая активность производных **7a–e** наблюдалась в отношении клеток рака молочной железы MCF-7 (табл. 1), в то время как для клеток меланомы мыши В16 значения



**Рисунок 2.** Взаимодействие бисгуанидина **1** и новых лигандов **7a–e** с различными по топологии вторичными структурами нуклеиновых кислот (FID-скрининг, EC<sub>50</sub> – концентрация, при которой вытесняется 50% флуоресцентного интеркалятора).

IC<sub>50</sub> (концентрация, ингибирующая рост клеток на 50%) оказались заметно выше. Структура терминального циклического амина и длина алкильного спейсера влияют на антипролиферативную активность соединений **7a–e**. Как и в случае связывания с дуплексом, соединения, содержащие этильные спейсерные фрагменты (дионы **7a,b**) в боковых цепях, несколько превосходят пропиловые аналоги (дионы **7c,d**) по своему действию на опухолевые клетки. Замена терминальных фрагментов пирролидина на пиперидин в боковых цепях в положениях 4, 11 практически не влияет на антипролиферативные свойства этих соединений, однако введение пиперазина снижает их активность в 2–10 раз. Сравнение свойств новых соединений **7a–e** и ранее описанных антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов,<sup>26</sup> содержащих первичные и вторичные аминогруппы в боковых цепях, показывает, что они обладают схожим уровнем активности и в микромолярных концентрациях ингибируют рост опухолевых клеток. Примечательно, что большинство антрахинонсодержащих противоопухолевых соединений индуцируют гибель опухолевых клеток, воздействуя на синтез ДНК.<sup>27,28</sup> Наличие корреляции между способностью лигандов связываться с дуплексом ДНК и антипролиферативной активностью косвенно свидетельствует о механизме противоопухо-

**Таблица 1.** Антипролиферативная активность (IC<sub>50</sub>, мкМ) соединений **7a–e** в отношении линий опухолевых клеток В16 и MCF-7\*

Соединение	В16	MCF-7
<b>7a</b>	5.0 ± 0.7	1.6 ± 0.2
<b>7b</b>	5.5 ± 0.5	1.6 ± 0.1
<b>7c</b>	8.3 ± 1.1	2.0 ± 0.3
<b>7d</b>	9.0 ± 1.2	3.7 ± 0.5
<b>7e</b>	15.0 ± 2.2	5.0 ± 0.6
Доксорубин (препарат сравнения)	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1

\* МТТ-тест, 72 ч.

левого действия антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов **7a–e**, связанным с нарушением полинуклеотидного обмена.

Таким образом, разработана дивергентная схема синтеза производных 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов, основанная на введении терминальных аминогрупп в боковые цепи в положениях 4 и 11. Синтез серии новых соединений позволил оценить роль структуры основных групп боковых цепей в аффинности к различным элементам вторичной структуры ДНК и в цитотоксических свойствах 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов. В противоположность фрагменту гуанидина, введение в боковые цепи антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов циклических аминов повышает сродство лигандов к дуплексу ДНК и снижает аффинность к G-квадруплексам. Анализ связи структура–активность показал, что наиболее перспективным для разработки новых ДНК-лигандов является введение в положения 4 и 11 антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов в качестве боковых цепей 2-(пиперидин-1-ил)этиламина. Важным является факт, что способность новых лигандов – 4,11-бис(аминоалкиламино)антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов – связываться с дуплексом ДНК коррелирует с ингибированием роста опухолевых клеток. Таким образом, полученные результаты, могут быть взяты за основу при создании новых противоопухолевых соединений или химических сенсоров формирующих дуплекс последовательностей нуклеиновых кислот.

#### Экспериментальная часть

ИК спектры записаны на спектрометре Nicolet iS10 Fourier transform с DTGS-детектором, сплиттером из KBr и модулем Smart Performer с кристаллом ZnSe (ATR) в тонком слое в интервале 3000–650 см<sup>-1</sup>. Электронные спектры поглощения записаны на спектрометре Shimadzu UV-1601PC в EtOH (для обработки использован программный пакет OMNIC-7.0). Спектры ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C (400 и 100 МГц соответственно) зарегистрированы на спектрометре Varian Mercury Plus 400 в ДМСО-*d*<sub>6</sub> и CDCl<sub>3</sub>, внутренний стандарт ТМС. Масс-спектры высокого разрешения (ионизация электро-распылением) зарегистрированы на спектрометре micrOTOF-Q II (Bruker Daltonic GmbH). Точность измерений 0.25–0.38 м. д. в интервале масс 118.086255–2721.894829. Прямой ввод растворов образцов (0.1 мг/мл) в смеси MeCN–HCOOH (2000:1) в источник. Положительно заряженные ионы определяют в следующих условиях: напряжение на капилляре 4 кВ, давление азота в небулайзере 0.4 Бар, скорость потока осушающего газа 4 л/мин, температура источника 180 °С. ВЭЖХ проведена на хроматографе Shimadzu LC-20 AD, колонка Kromasil 100-5-C-18 (5-мкм, 4.6 × 250 мм), LW 260 нм, используя элюенты: А – 0.01 М Н<sub>3</sub>РO<sub>4</sub> (рН 2.6), В – MeCN, градиент В 10/50%, 30 мин). Контроль за ходом реакций и чистотой полученных соединений осуществлен методом ТСХ на пластинах Silica Gel 60 F<sub>254</sub> (Merck). Препаративная хроматография проведена на силикагеле Merck 60 (SiO<sub>2</sub>).

**4,11-Бис[(2-гидроксиэтил)амино]антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дион (5a).** К раствору 0.20 г (0.49 ммоль) антра-тиофена **4**<sup>23</sup> в 3 мл диоксана добавляют 0.50 мл

(16.72 ммоль) этаноламина и кипятят при перемешивании в течение 4 ч. После завершения реакции (контроль методом ТСХ) к смеси добавляют 20 мл Н<sub>2</sub>O, выпавший осадок отфильтровывают, промывают 20 мл Н<sub>2</sub>O, 10 мл Me<sub>2</sub>CO и сушат на воздухе. Выход 0.16 г (88%), синие кристаллы, т. пл. 263–265 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (ДМСО-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): 12.50 (1H, с, NH); 12.41 (1H, с, NH); 8.28–8.24 (2H, м, H-6,9); 8.12 (1H, д, *J* = 5.3, H-2); 8.04 (1H, д, *J* = 5.3, H-3); 7.74–7.72 (2H, м, H-7,8); 5.04–5.02 (2H, м, OH); 3.97–3.96 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3.84–3.83 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3.76–3.70 (4H, м, CH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (ДМСО-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д.: 179.5 (C=O); 179.4 (C=O); 147.2 (C); 146.5 (C); 135.9 (C); 135.8 (C); 134.7 (C); 134.2 (C); 131.8 (2CH); 131.6 (CH); 126.4 (CH); 126.3 (CH); 125.5 (CH); 108.0 (C); 106.2 (C); 57.7 (CH<sub>2</sub>); 57.6 (CH<sub>2</sub>); 45.9 (CH<sub>2</sub>); 44.6 (CH<sub>2</sub>). Найдено, *m/z*: 383.1026 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, *m/z*: 383.1060.

**4,11-Бис[(3-гидроксипропил)амино]антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дион (5b)** получают аналогично из 0.20 г антрадиофена **4** и 1,3-пропаноламина. Выход 0.16 г (92%), синие кристаллы, т. пл. 218–221 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (ДМСО-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): 12.54–12.50 (2H, м, 2NH); 8.23–8.20 (2H, м, H-6,9); 8.08 (1H, д, *J* = 5.5, H-2); 7.98 (1H, д, *J* = 5.5, H-3); 7.71–7.68 (2H, м, H-7,8); 4.67–4.62 (2H, м, 2OH); 3.92–3.89 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3.81–3.77 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3.64–3.61 (4H, м, CH<sub>2</sub>); 1.92–1.86 (4H, м, 2CH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (ДМСО-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д.: 178.7 (C=O); 178.6 (C=O); 146.7 (C); 145.8 (C); 135.1 (C); 135.0 (C); 134.0 (C); 133.8 (C); 131.5 (2CH); 131.1 (CH); 126.2 (CH); 125.5 (CH); 125.4 (CH); 106.0 (C); 104.8 (C); 57.7 (CH<sub>2</sub>); 57.6 (CH<sub>2</sub>); 43.9 (CH<sub>2</sub>); 42.3 (CH<sub>2</sub>); 33.3 (CH<sub>2</sub>); 33.0 (CH<sub>2</sub>). Найдено, *m/z*: 411.1320 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, *m/z*: 411.1373.

**4,11-Бис[(2-мезилоксиэтил)амино]антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дион (6a).** К раствору 100 мг (0.25 ммоль) антрадиофена **5a** в 5 мл сухого пиридина добавляют 80 мкл (1.10 ммоль) MsCl, 65 мг (0.50 ммоль) DMAP и перемешивают в атмосфере аргона в течение 2 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляют 30 мл горячего *n*-BuOH, промывают 10 мл 5% водного раствора HCl, 10 мл Н<sub>2</sub>O и упаривают при пониженном давлении. Остаток перекристаллизовывают из диоксана, продукт отфильтровывают и сушат на воздухе. Выход 100 мг (72%), синие кристаллы, т. пл. 273–275 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (ДМСО-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): 12.21 (1H, уш. с, NH); 12.05 (1H, уш. с, NH); 8.25–8.23 (2H, м, H-6,9); 8.22 (1H, д, *J* = 5.9, H-2); 7.99 (1H, д, *J* = 5.9, H-3); 7.78–7.76 (2H, м, H-7,8); 4.54 (2H, т, *J* = 5.1, CH<sub>2</sub>); 4.49 (2H, т, *J* = 5.1, CH<sub>2</sub>); 4.24–4.20 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 4.11–4.07 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3.29 (3H, с, SCH<sub>3</sub>); 3.28 (3H, с, SCH<sub>3</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (ДМСО-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д.: 180.5 (C=O); 180.4 (C=O); 147.0 (C); 146.2 (C); 135.7 (C); 135.6 (C); 134.5 (C); 134.4 (C); 132.0 (2CH); 131.6 (CH); 126.4 (CH); 126.3 (CH); 125.5 (CH); 108.1 (C); 106.3 (C); 57.9 (CH<sub>2</sub>); 57.7 (CH<sub>2</sub>); 46.1 (CH<sub>2</sub>); 44.8 (CH<sub>2</sub>); 37.9 (CH<sub>3</sub>); 37.7 (CH<sub>3</sub>). Найдено, *m/z*: 539.0605 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>3</sub>. Вычислено, *m/z*: 539.0611.

**4,11-Бис[(3-мезилоксипропил)амино]антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дион (6b)** получают аналогично из 153 мг антрадиофена **5b** и MsCl. Выход 0.16 г (76%), синие кристаллы, т. пл. 251–253 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (ДМСО-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): 12.34–12.09 (2H, м, 2NH); 8.19–8.16 (2H,

м, Н-6,9); 7.63–7.52 (4Н, м, Н-2,3,7,8); 4.46–4.43 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 3.78–3.75 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 3.06 (3Н, SCH<sub>3</sub>); 3.04 (3Н, с, SCH<sub>3</sub>); 2.22–2.20 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д.: 180.0 (C=O); 179.9 (C=O); 146.7 (C); 146.0 (C); 135.7 (C); 135.6 (C); 134.5 (C); 134.3 (C); 132.3 (2СН); 131.7 (СН); 126.5 (СН); 126.1 (СН); 126.0 (СН); 107.3 (C); 106.0 (C); 68.3 (СН<sub>2</sub>); 68.2 (СН<sub>2</sub>); 44.1 (СН<sub>2</sub>); 42.4 (СН<sub>2</sub>); 37.1 (СН<sub>3</sub>); 36.9 (СН<sub>3</sub>); 30.4 (СН<sub>2</sub>); 30.2 (СН<sub>2</sub>). Найдено, *m/z*: 567.0917 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>3</sub>. Вычислено, *m/z*: 567.0924.

**4,11-Бис[2-(пирролидин-1-ил)этиламино]антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дион (7а).** При комнатной температуре раствор 49 мг (0.09 ммоль) соединения **6а** в 1.0 мл пирролидина перемешивают в течение 2 ч. После завершения реакции (контроль методом ТСХ) реакцию смесь разбавляют 20 мл горячего *n*-BuOH, промывают H<sub>2</sub>O (2 × 10 мл) и отгоняют растворитель при пониженном давлении. Остаток очищают хроматографически на SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub>–MeOH, градиент от 10:0 до 5:1). Полученное свободное основание **7а** растворяют в 5 мл CHCl<sub>3</sub>, добавляя 0.3 мл раствора 7.3 масс. % HCl в Et<sub>2</sub>O, перемешивают в течение 5 мин и упаривают растворитель при пониженном давлении. Остаток пересаждают из воды ацетоном, отфильтровывают, промывают Et<sub>2</sub>O и сушат. Выход дигидрохлорида 30 мг (55%), синие кристаллы, т. пл. >250 °С. ИК спектр, ν, см<sup>-1</sup>: 1650 (C=O), 2881 (NH), 2975 (NH), 3360 (NH<sup>+</sup>). УФ спектр (H<sub>2</sub>O), λ<sub>max</sub>, нм (lg ε): 266 (4.77), 563 (4.30), 603 (4.33). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): свободное основание **7а**: 12.40 (1Н, уш. с, NH); 12.12 (1Н, уш. с, NH); 8.40–8.38 (2Н, м, Н-6,9); 7.93 (1Н, д, *J* = 5.5, Н-2); 7.69–7.64 (3Н, м, Н-3,7,8); 4.13–4.08 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 3.96–3.91 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 2.99–2.92 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 2.67–2.65 (8Н, м, 4СН<sub>2</sub>); 1.83 (8Н, уш. с, 4СН<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д.: свободное основание **7а**: 181.3 (C=O); 181.2 (C=O); 147.0 (C); 146.2 (C); 135.9 (C); 135.8 (C); 134.8 (C); 134.7 (C); 131.8 (СН); 131.7 (СН); 128.9 (СН); 126.2 (СН); 126.1 (2СН); 108.4 (C); 106.8 (C); 56.6 (СН<sub>2</sub>); 56.4 (СН<sub>2</sub>); 54.5 (2СН<sub>2</sub>); 54.4 (2СН<sub>2</sub>); 47.7 (СН<sub>2</sub>); 45.7 (СН<sub>2</sub>); 23.6 (4СН<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (ДМСО-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): дигидрохлорид **7а**: 12.01 (1Н, уш. с, NH); 11.88 (1Н, уш. с, NH); 11.08 (2Н, уш. с, 2NH); 8.32 (1Н, д, *J* = 5.5, Н-2); 8.28–8.26 (2Н, м, Н-6,9); 8.10 (1Н, д, *J* = 5.5, Н-3); 7.84–7.82 (2Н, м, Н-7,8); 4.33–4.30 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 4.18–4.16 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 3.61–3.58 (8Н, м, 4СН<sub>2</sub>); 3.15–3.09 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 2.03–2.01 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 1.90–1.87 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>). Найдено, *m/z*: 489.2324 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S. Вычислено, *m/z*: 489.2319. ВЭЖХ: *t*<sub>R</sub> 16.20 мин, чистота 99%.

**4,11-Бис[2-(пиперидин-1-ил)этил]амино}антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дион (7б)** получают аналогично из 55 мг тиофена **6а** и пиперидина. Выход дигидрохлорида 30 мг (50%), синие кристаллы, т. пл. >250 °С. ИК спектр, ν, см<sup>-1</sup>: 1651 (C=O), 2882 (NH), 2976 (NH), 3361 (NH<sup>+</sup>). УФ спектр (H<sub>2</sub>O), λ<sub>max</sub>, нм (lg ε): 266 (4.78), 562 (4.28), 602 (4.32). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): свободное основание **7б**: 12.32 (1Н, уш. с, NH); 12.13 (1Н, уш. с, NH); 8.40–8.38 (2Н, м, Н-6,9); 7.94 (1Н, д, *J* = 5.5, Н-2); 7.69–7.65 (3Н, м, Н-3,7,8); 4.13–4.08 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 3.96–3.92 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 2.86–2.79 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 2.57 (8Н, уш. с, 4СН<sub>2</sub>); 1.68–1.66 (8Н, м,

4СН<sub>2</sub>); 1.50–1.48 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д.: свободное основание **7б**: 181.4 (C=O); 181.2 (C=O); 146.9 (C); 146.1 (C); 135.9 (C); 135.8 (C); 134.8 (C); 134.7 (C); 131.8 (СН); 131.7 (СН); 128.9 (СН); 126.2 (СН); 126.0 (2СН); 90.2 (2C); 59.2 (СН<sub>2</sub>); 58.9 (СН<sub>2</sub>); 54.9 (2СН<sub>2</sub>); 54.8 (2СН<sub>2</sub>); 49.5 (СН<sub>2</sub>); 43.8 (СН<sub>2</sub>); 25.8 (2СН<sub>2</sub>); 25.7 (2СН<sub>2</sub>); 24.2 (СН<sub>2</sub>); 24.1 (СН<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (ДМСО-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): дигидрохлорид **7б**: 12.01 (1Н, уш. с, NH); 11.89 (1Н, уш. с, NH); 8.34 (1Н, д, *J* = 5.5, Н-2); 8.28–8.26 (2Н, м, Н-6,9); 8.11 (1Н, д, *J* = 5.5, Н-3); 7.84–7.82 (2Н, м, Н-7,8); 4.33–4.30 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 4.18–4.16 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 3.61–3.58 (8Н, м, 4СН<sub>2</sub>); 3.15–3.09 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 2.03–2.01 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 1.98–1.93 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 1.90–1.87 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>). Найдено, *m/z*: 517.2626 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>30</sub>H<sub>37</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S. Вычислено, *m/z*: 517.2632. ВЭЖХ: *t*<sub>R</sub> 18.29 мин, чистота 95%.

**4,11-Бис[3-(пирролидин-1-ил)пропил]амино}антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дион (7с)** получают аналогично из 60 мг тиофена **6б** и пирролидина. Выход дигидрохлорида 40 мг (64%), синие кристаллы, т. пл. >250 °С. УФ спектр (H<sub>2</sub>O), λ<sub>max</sub>, нм (lg ε): 266 (4.78), 565 (4.34), 606 (4.44). ИК спектр, ν, см<sup>-1</sup>: 1651 (C=O), 2886 (NH), 2976 (NH), 3364 (NH<sup>+</sup>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): свободное основание **7с**: 12.51 (1Н, уш. с, NH); 12.36 (1Н, уш. с, NH); 8.38–8.35 (2Н, м, Н-6,9); 7.89 (1Н, д, *J* = 5.5, Н-2); 7.67–7.64 (2Н, м, Н-7,8); 7.59 (1Н, д, *J* = 5.5, Н-3); 3.98–3.93 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 3.82–3.78 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 2.70–2.64 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 2.55 (8Н, уш. с, 4СН<sub>2</sub>); 2.08–2.02 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 1.78 (8Н, уш. с, 4СН<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д.: свободное основание **7с**: 180.8 (C=O); 180.7 (C=O); 147.3 (C); 146.4 (C); 135.8 (C); 135.7 (C); 134.8 (C); 134.7 (C); 131.7 (СН); 131.6 (СН); 128.8 (СН); 126.3 (СН); 126.0 (СН); 125.9 (СН); 107.9 (C); 106.5 (C); 54.3 (2СН<sub>2</sub>); 54.2 (2СН<sub>2</sub>); 53.8 (СН<sub>2</sub>); 53.7 (СН<sub>2</sub>); 46.3 (СН<sub>2</sub>); 44.4 (СН<sub>2</sub>); 30.3 (СН<sub>2</sub>); 30.2 (СН<sub>2</sub>); 23.5 (4СН<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (ДМСО-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): дигидрохлорид **7с**: 12.45 (1Н, уш. с, NH); 11.01 (1Н, уш. с, NH); 8.30–8.23 (2Н, м, Н-6,9); 8.18 (1Н, д, *J* = 5.5, Н-2); 7.99 (1Н, д, *J* = 5.5, Н-3); 7.80–7.77 (2Н, м, Н-7,8); 4.02–3.98 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 3.93–3.90 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 3.56–3.50 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 3.33–3.29 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 3.09–3.00 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 2.25–2.20 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 1.99–1.88 (8Н, м, 4СН<sub>2</sub>). Найдено, *m/z*: 517.2606 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>30</sub>H<sub>37</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S. Вычислено, *m/z*: 517.2632. ВЭЖХ: *t*<sub>R</sub> 17.23 мин, чистота 98%.

**4,11-Бис[3-(пиперидин-1-ил)пропил]амино}антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дион (7д)** получают аналогично из 61 мг тиофена **6б** и пиперидина. Выход дигидрохлорида 40 мг (60%), синие кристаллы, т. пл. >250 °С. УФ спектр (H<sub>2</sub>O), λ<sub>max</sub>, нм (lg ε): 266 (4.77), 564 (4.33), 606 (4.43). ИК спектр, ν, см<sup>-1</sup>: 1650 (C=O), 2892 (NH), 2976 (NH), 3369 (NH<sup>+</sup>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): свободное основание **7д**: 12.49 (1Н, уш. с, NH); 12.31 (1Н, уш. с, NH); 8.39–8.36 (2Н, м, Н-6,9); 7.95 (1Н, д, *J* = 5.5, Н-2); 7.70–7.65 (3Н, м, Н-3,7,8); 3.99–3.95 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 3.84–3.80 (2Н, м, СН<sub>2</sub>); 2.61–2.55 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 2.48 (8Н, уш. с, 4СН<sub>2</sub>); 2.09–2.05 (4Н, м, 2СН<sub>2</sub>); 1.63 (8Н, уш. с, 4СН<sub>2</sub>); 1.46 (4Н, уш. с, 2СН<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д.: свободное основание **7д**: 181.0 (C=O); 180.9 (C=O); 147.3 (C); 146.4 (C); 135.9 (C); 135.8 (C); 134.8 (C); 134.7 (C); 131.7 (СН); 131.6

(CH); 128.9 (CH); 126.3 (CH); 126.0 (2CH); 108.4 (C); 106.6 (C); 56.4 (CH<sub>2</sub>); 56.3 (CH<sub>2</sub>); 54.5 (4CH<sub>2</sub>); 46.3 (CH<sub>2</sub>); 44.4 (CH<sub>2</sub>); 28.1 (CH<sub>2</sub>); 27.9 (CH<sub>2</sub>); 25.7 (4CH<sub>2</sub>); 24.2 (2CH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (DMCO-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): дигидрохлорид **7d**: 12.44 (1H, уш. с, NH); 11.99 (1H, уш. с, NH); 9.67 (2H, уш. с, 2NH); 8.29–8.27 (2H, м, H-6,9); 8.25 (1H, д, *J* = 5.5, H-2); 8.15 (1H, д, *J* = 5.5, H-3); 7.80–7.77 (2H, м, H-7,8); 4.01–3.97 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3.92–3.89 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3.47–3.42 (4H, м, 2CH<sub>2</sub>); 3.23–3.14 (4H, м, 2CH<sub>2</sub>); 2.92–2.86 (4H, м, 2CH<sub>2</sub>); 2.27–2.20 (4H, м, 2CH<sub>2</sub>); 1.79–1.77 (8H, м, 4CH<sub>2</sub>); 1.72–1.68 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 1.42–1.38 (2H, м, CH<sub>2</sub>). Найдено, *m/z*: 545.2936 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>32</sub>H<sub>41</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S. Вычислено, *m/z*: 545.2945. ВЭЖХ: *t*<sub>R</sub> 18.61 мин, чистота 99%.

**4,11-Бис[3-(пиперазин-1-ил)пропил]амино}антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дион (7e).** К раствору 50 мг (0.09 ммоль) тиофена **6b** в 1 мл сухого пиридина добавляют 46 мг (0.53 ммоль) пиперазина и перемешивают в течение 24 ч при комнатной температуре. После завершения реакции (контроль методом ТСХ) реакционную смесь разбавляют 20 мл горячего *n*-BuOH, промывают H<sub>2</sub>O (2 × 10 мл) и отгоняют растворитель при пониженном давлении. Остаток очищают хроматографически на SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub>–MeOH–NH<sub>4</sub>OH, градиент от 10:0:0 до 5:1:1). Свободное основание **7e** растворяют при нагревании в 10 мл CHCl<sub>3</sub>, добавляют 0.3 мл раствора 7.3 масс. % HCl в Et<sub>2</sub>O, перемешивают в течение 5 мин и упаривают растворитель при пониженном давлении. Остаток пересаживают из воды ацетоном, отфильтровывают, промывают Et<sub>2</sub>O и сушат. Выход тетрагидрохлорида 30 мг (57%), синие кристаллы, т. пл. >250 °С. УФ спектр (H<sub>2</sub>O), λ<sub>max</sub>, нм (lg ε): 266 (4.77), 564 (4.33), 606 (4.42). ИК спектр, ν, см<sup>-1</sup>: 1651 (C=O), 2892 (NH), 2976 (NH), 3364 (NH<sup>+</sup>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): свободное основание **7e**: 12.46 (1H, уш. с, NH); 12.26 (1H, уш. с, NH); 8.38–8.36 (2H, м, H-6,9); 7.94 (1H, д, *J* = 5.5, H-2); 7.69–7.65 (3H, м, H-3,7,8); 4.00–3.96 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3.84–3.79 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 2.95–2.91 (6H, м, 3CH<sub>2</sub>); 2.58–2.48 (16H, м, 7CH<sub>2</sub>, 2NH); 2.06–1.97 (4H, м, 2CH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д.: свободное основание **7e**: 181.1 (C=O); 181.0 (C=O); 147.4 (C); 146.5 (C); 136.0 (C); 135.7 (C); 134.8 (C); 134.7 (C); 131.8 (CH); 131.7 (CH); 128.9 (CH); 126.3 (CH); 126.1 (CH); 126.0 (CH); 108.2 (C); 106.7 (C); 56.1 (CH<sub>2</sub>); 56.0 (CH<sub>2</sub>); 54.1 (2CH<sub>2</sub>); 54.0 (2CH<sub>2</sub>); 46.2 (CH<sub>2</sub>); 45.8 (4CH<sub>2</sub>); 44.2 (CH<sub>2</sub>); 28.1 (CH<sub>2</sub>); 27.9 (CH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (DMCO-*d*), δ, м. д. (*J*, Гц): тетрагидрохлорид **7e**: 12.45 (1H, уш. с, NH); 11.98 (1H, уш. с, NH); 9.67 (4H, уш. с, 2NH<sub>2</sub>); 8.30–8.28 (2H, м, H-6,9); 8.25 (1H, д, *J* = 5.9, H-2); 8.13 (1H, д, *J* = 5.9, H-3); 7.80–7.78 (2H, м, H-7,8); 3.99 (2H, т, *J* = 5.5, CH<sub>2</sub>); 3.88 (2H, т, *J* = 7.0, CH<sub>2</sub>); 3.76–3.73 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3.57–3.50 (8H, м, 4CH<sub>2</sub>); 3.37–3.25 (10H, м, 5CH<sub>2</sub>); 2.25–2.22 (4H, м, 2CH<sub>2</sub>). Найдено, *m/z*: 547.2787 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>30</sub>H<sub>39</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>S. Вычислено, *m/z*: 547.2850. ВЭЖХ: *t*<sub>R</sub> 10.28 мин, чистота 97%.

**4,11-Диаминоантра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дион (8).**<sup>25</sup> Суспензию 50 мг (0.09 ммоль) тиофена **6a** в 1 мл сухого пиридина перемешивают при 70 °С до полного растворения осадка, добавляют 46 мг (0.53 ммоль) пиперазина и выдерживают в течение 3 ч. После завершения реакции (контроль методом ТСХ) реакционную

смесь охлаждают до комнатной температуры, разбавляют 20 мл CHCl<sub>3</sub>, промывают 5 мл 5% водного раствора HCl, H<sub>2</sub>O (2 × 10 мл) и отгоняют растворитель при пониженном давлении. Остаток очищают хроматографически на SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub>–MeOH, градиент от 10:0 до 5:1). Выход 26 мг (52%), коричневые кристаллы, т. пл. 279–281 (т. пл. 279–281 °С<sup>25</sup>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (DMCO-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): 8.92 (4H, уш. с, 2NH<sub>2</sub>); 8.26–8.23 (2H, м, H-6,9); 8.08 (2H, с, H-2,3); 7.78–7.75 (2H, м, H-7,8). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (DMCO-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): 181.4 (C=O); 181.0 (C=O); 144.2 (C); 142.9 (C); 136.0 (C); 135.5 (C); 134.5 (C); 134.2 (C); 132.2 (CH); 132.1 (CH); 131.2 (CH); 125.7 (2CH); 124.1 (CH); 104.8 (C); 104.6 (C). Найдено, *m/z*: 295.0548. [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S. Вычислено, *m/z*: 295.0559.

**Тестирование антипролиферативной активности соединений 7a–e.** Все линии опухолевых клеток приобретены в АТСС (США). Клетки культивируют в модифицированной по Дальбекко среде Игла (DMEM) (ПанЭко, Россия) и среде RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) с добавлением 5–10% эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, Logan, UT), 2 mM L-глутамин, 100 ЕД/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина при 37 °С, 5% CO<sub>2</sub>, в увлажненной атмосфере. В экспериментах используют культуры в логарифмической фазе роста.

Клетки рассеивают в лунки 96-луночного планшета (Nunc, США) (5 · 10<sup>3</sup> клеток в 190 мкл культуральной среды), инкубируют 24 ч при 37 °С, 5% CO<sub>2</sub> в увлажненной атмосфере. Вносят по 10 мкл растворов исследуемых соединений в культуральной среде, приготовленных серийными разведениями из исходного раствора в DMCO (10 mM), до конечных концентраций 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6, 12, 25 и 50 μM. Контролем служат клетки без препарата. Клетки инкубируют 72 ч при 37 °С, 5% CO<sub>2</sub> в увлажненной атмосфере. После окончания инкубации в лунки вносят по 20 мкл водного раствора бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ, ПанЭко, Россия, 5 мг/мл) для развития окраски. О жизнеспособности клеток судят по цветной реакции, развивающейся при восстановлении тетразолия в формазан дегидрогеназами митохондрий. После окончания инкубации культуральную среду отбирают, клетки суспендируют в 100 мкл DMCO и измеряют оптическую плотность растворов на автоматическом фотометре для микропланшетов ELx800 (BioTek, США) при длине волны 570 нм. Процент клеток, выживших при действии каждой концентрации исследуемого соединения, подсчитывают как частное от деления средней оптической плотности в лунках после инкубации с данной концентрацией соединений к средней оптической плотности контрольных лунок (значения последних приняты за 100%). Антипролиферативная активность при каждой концентрации указана как среднее значение трех независимых измерений.

**Скрининг связывания с олигонуклеотидами.** Для изучения связывания лигандов в качестве ДНК выбраны участки промоторных последовательностей из онкогенов MYC d(TTGGGTGGGGAGGGTGGGGTT); KIT d(TTGGGCGGGCGCGAGGGAGGGGTT); TERT d(TTGGGCGGGACGGGGCGGGGTT); KRAS

d(TTGGAGGGCGGTGTGGGAAGAGGGAAGAGGGGGATT). Как показано ранее изучаемые последовательности образуют внутримолекулярные квадруплексные структуры с параллельной укладкой гуаниновых блоков.<sup>29</sup> Кроме того, в качестве мишени связывания выбран ДНК олигонуклеотид с теломерной последовательностью TQ24 d(TTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG), образующий смешанную квадруплексную структуру, а также его мутантная форма TM24 d(TTAGGGTTAGAGTTAGGGTTAGGG) с единичной заменой гуанина на аденин, неспособный формировать квадруплексную структуру. В качестве модельной структуры участка двойной спирали ДНК использован самокомплементарный олигонуклеотид ds26 d(CAATCGGATCGAATTCGATCCGATTG), образующий дуплекс длиной 26 пар оснований.

Скрининг связывания лигандов с ДНК различной структуры проведен методом вытеснения интеркалирующего красителя тиазолового оранжевого (FID).<sup>30</sup> Основой метода является конкурентное взаимодействие известного флуоресцирующего красителя ДНК и изучаемого лиганда. Флуоресценцию тиазолового оранжевого (ТО) регистрируют при длине волны 530 нм (спектральная ширина щели 20 нм), при возбуждении 480 нм (спектральная ширина щели 10 нм) на микропланшетном флуориметре TECAN Spark при комнатной температуре. Концентрации ДНК (0.1 мкМ) и тиазолового оранжевого (1 мкМ) в каждой тестируемой пробе являются постоянными, концентрация лигандов варьируется от 0.06 до 20 мкМ. Концентрация тестируемого соединения, при которой половина красителя вытесняется с ДНК ( $EC_{50}$ ), определяется аппроксимацией зависимости флуоресценции от концентрации с помощью уравнения  $F_{TO} = 1 - 1/(1 + C/EC_{50})$ , где  $F_{TO}$  – наблюдаемая интенсивность флуоресценции ТО при добавлении изучаемого лиганда при концентрации  $C$ . Аффинность взаимодействия тестируемых соединений определена как обратное значение концентрации вытеснения половины связанного красителя с ДНК и приводится как среднее значение трех независимых измерений.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 18-73-00256, химический синтез, цитотоксическая активность) и по программе фундаментальных исследований Президиума РАН "Постгеномные технологии и перспективные решения в биомедицине" (грант АААА-А19-119092390114-6, скрининг связывания).

### Список литературы

- Andreeva, D. V.; Sinkevich, Y. B.; Tikhomirov, A. S.; Luzikov, Y. N.; Korolev, A. M.; Shchekotikhin, A. E. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2018**, *54*, 612. [Химия гетероцикл. соединений **2018**, *54*, 612].
- Cimino-Reale, G.; Zaffaroni, N.; Folini, M. *Curr. Pharm. Des.* **2016**, *22*, 6612.
- Gurova, K. V. *Bioessays* **2019**, *41*, 1800141.
- Goodfellow, E.; Senhaji Mouhri, Z.; Williams, C.; Jean-Claude, B. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 688.
- Kwok, C. K.; Merrick, C. J. *Trends Biotechnol.* **2017**, *35*, 997.
- Rigo, R.; Palumbo, M.; Sissi, C. *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **2017**, *1861*, 1399.
- Debnath, M.; Fatma, K.; Dash, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2019**, *58*, 2942.
- Islam, M. K.; Jackson, P. J.; Rahman, K. M.; Thurston, D. E. *Future Med. Chem.* **2016**, *8*, 1259.
- Francisco, A. P.; Paulo, A. *Curr. Med. Chem.* **2017**, *24*, 4873.
- Che, T.; Wang, Y.-Q.; Huang, Z.-L.; Tan, J.-H.; Huang, Z.-S.; Chen, S.-B. *Molecules* **2018**, *23*, 493.
- Duarte, A. R.; Cadoni, E.; Ressurreição, A. S.; Moreira, R.; Paulo, A. *ChemMedChem* **2018**, *13*, 869.
- Pirota, V.; Nadai, M.; Doria, F.; Richter, S. N. *Molecules* **2019**, *24*, 426.
- Asamitsu, S.; Bando, T.; Sugiyama, H. *Chem.–Eur. J.* **2019**, *25*, 417.
- Kaluzhny, D.; Ilyinsky, N.; Shchekotikhin, A.; Sinkevich, Y.; Tsvetkov, P. O.; Tsvetkov, V.; Veselovsky, A.; Livshits, M.; Borisova, O.; Shtil, A.; Shchyolkina, A. *PLoS One* **2011**, *6*, e27151.
- Cogoi, S.; Shchekotikhin, A. E.; Membrino, A.; Sinkevich, Y. B.; Xodo, L. E. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 2764.
- Cogoi, S.; Zorzet, S.; Shchekotikhin, A. E.; Xodo, L. E. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 5476.
- Ilyinsky, N. S.; Shchyolkina, A. K.; Borisova, O. F.; Mamaeva, O. K.; Zvereva, M. I.; Azhibek, D. M.; Livshits, M. A.; Mitkevich, V. A.; Balzarini, J.; Sinkevich, Y. B.; Luzikov, Y. N.; Dezhenkova, L. G.; Kolotova, E. S.; Shtil, A. A.; Shchekotikhin, A. E.; Kaluzhny, D. N. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *85*, 605.
- Tikhomirov, A. S.; Tsvetkov, V. B.; Kaluzhny, D. N.; Volodina, Y. L.; Zatonsky, G. V.; Schols, D.; Shchekotikhin, A. E. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *159*, 59.
- Ou, A.; Guédin, A.; Skelton, B. W.; Amrane, S.; Evans, C. W.; Norret, M.; Iyer, K. S.; Mergny, J.-L.; Smith, N. M. *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 9647.
- Gao, C.; Zhang, W.; He, S.; Li, S.; Liu, F.; Jiang, Y. *Bioorg. Chem.* **2015**, *60*, 30.
- Guo, Q. L.; Su, H. F.; Wang, N.; Liao, S. R.; Lu, Y. T.; Ou, T. M.; Tan, J. H.; Li, D.; Huang, Z. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *130*, 458.
- Tikhomirov, A. S.; Shchekotikhin, A. E.; Preobrazhenskaya, M. N. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2014**, *50*, 171. [Химия гетероцикл. соединений **2014**, *50*, 193.]
- Sinkevich, Yu. B.; Shchekotikhin, A. E.; Luzikov, Yu. N.; Buyanov, V. N.; Kovalenko, L. V. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2007**, *43*, 1252. [Химия гетероцикл. соединений **2007**, *43*, 1478.]
- Krapcho, A. P.; Petry, M. E.; Getahun, Z.; Landi, J. J.; Stallman, J.; Polsenberg, J. F.; Gallagher, C. E.; Maresch, M. J.; Hacker, M. P. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 828.
- Tikhomirov, A. S.; Bykov, E. E.; Luzikov, Y. N.; Korolev, A. M.; Shchekotikhin, A. E. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2016**, *52*, 797. [Химия гетероцикл. соединений **2016**, *52*, 797.]
- Shchekotikhin, A. E.; Glazunova, V. A.; Dezhenkova, L. G.; Luzikov, Y. N.; Sinkevich, Y. B.; Kovalenko, L. V.; Buyanov, V. N.; Balzarini, J.; Huang, F.-C.; Lin, J.-J.; Huang, H.-S.; Shtil, A. A.; Preobrazhenskaya, M. N. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1861.
- Tikhomirov, A. S.; Shtil, A. A.; Shchekotikhin, A. E. *Recent Pat. Anti-Cancer Drug Discovery* **2018**, *13*, 159.
- Malik, E. M.; Müller, C. E. *Med. Res. Rev.* **2016**, *36*, 705.
- Chashchina, G. V.; Beniaminov, A. D.; Kaluzhny, D. N. *Biochemistry (Moscow)* **2019**, *84*, 562. [Биохимия **2019**, *84*, 730.]
- Monchaud, D.; Teulade-Fichou, M.-P. *Methods Mol. Biol.* **2010**, *608*, 257.