

УДК 577.1

DOI: 10.25688/2076-9091.2021.44.4.2

**С. А. Лизунова,  
Т. С. Ведехина,  
А. М. Варижук**

## **Природные и синтетические лиганды к G-квадруплексам**

*Аннотация.* G-квадруплекс (G4) представляет собой известную вторичную структуру нуклеиновой кислоты, содержащую богатые гуанином последовательности. Такие структуры — значимый объект в молекулярной биологии и биохимии, ввиду их связи с развитием онкологических заболеваний. Они представляют интерес в фармакологии как мишени терапевтических агентов (лигандов). На сегодняшний день в ряде лабораторий разработано большое количество G4-лигандов ДНК/РНК. Применению G4-лигандов в медицинской практике препятствуют главным образом их низкая селективность и токсичность. Такая низкая селективность может вызвать неожиданные эффекты, которые обычно являются причиной остановки процесса разработки лекарств. Этот обзор направлен на недавние исследования природных и синтетических лигандов, взаимодействующих с квадруплексами. В числе G4-направленных терапевтических агентов рассмотрены макроциклические соединения (производные теломестатина и порфирины), природные конденсированные гетероциклические соединения (индолы, индолизины, берберины, флавоноиды и фенноксазины) и их синтетические производные (акридины, хиназолоны и хинолины, фенантролины и антрахиноны), модульные лиганды и металлокомплексы.

*Ключевые слова:* G-квадруплекс, селективные G4-лиганды, природные соединения

UDC 577.1

DOI: 10.25688/2076-9091.2021.44.4.2

**S. A. Lizunova,  
T. S. Vedekhina,  
A. M. Varizhuk**

## **Native and synthetic ligands for G-quadruplexes**

*Abstract.* G-quadruplex (G4) is a well-known secondary nucleic acid structure containing guanine-rich sequences, and plays a significant role in pharmacological and biological phenomena associated with oncological diseases. Thus, G4 ligands

are receiving a lot of attention as potential therapeutic agents. To date, a large number of DNA/RNA G4 ligands have been developed in several laboratories. The use of G4 ligands in medical practice is hindered mainly by their toxicity and low selectivity. This low selectivity can cause undesired effects, resulting in clinical trial cancellation. In this review, we refer to recent studies of natural and synthetic ligands interacting with quadruplexes. Macrocyclic compounds (telomestatin derivatives and porphyrins), natural condensed heterocyclic compounds (indoles, indolysins, berberines, flavonoids and phenoxazines), synthetic derivatives (acridines, quinazolones and quinolines, phenanthrolines and anthraquinones), modular ligands and metal complexes are considered as G4-targeting therapeutic agents.

**Keywords:** G-quadruplex, G4-selective ligands, native compounds

## Введение

**В** настоящий момент активно развивается направление фармакологии, связанное с разработкой лекарственных средств, нацеленных на новый тип мишеней — неканонические структуры ДНК и РНК (ncNA). К таким структурам относят G-квадруплексы (G4) — фрагменты нуклеиновых кислот, обогащенные гуанином (G4), способные формировать четырехцепочечные спирали. Последовательности, образующие G-квадруплексы, в избытке присутствуют в функционально значимых областях человеческого генома и транскриптома: теломерные области хромосом, промоторные участки генов, в том числе онкогенов, сайты инициации репликации и трансляции. При этом более 55 % генов несут, по крайней мере, один потенциальный G4-мотив вблизи сайта начала транскрипции [*Genome-wide computational...*, 2008]. Также G4-формирующие последовательности обнаружены в регуляторных участках геномов вирусов и других патогенов, что дает возможность рассматривать ncNA-сайты в качестве биологических мишеней для терапии вирусных, бактериальных и грибковых заболеваний.

G4-лиганды — низкомолекулярные соединения, связывающиеся с G4 и влияющие таким образом на их термическую стабильность. Это может приводить к нарушению действий различных белковых факторов и ферментов, функционально связанных с ДНК или РНК. Несмотря на то что все G4 схожи по своей структуре (состоят из квартетов, образованных четырьмя остатками гуанина), они разнообразны по нуклеотидному составу петель, бороздок, фланкирующих последовательностей, а также по ориентации цепей. Поэтому могут реализовываться различные способы взаимодействия низкомолекулярных соединений с G4-мишенями: стекинг с тетрадами, связывание в бороздке или петле и др. С одной стороны, широкое структурное разнообразие может обеспечить высокую селективность распознавания ncNA лигандами. С другой стороны, в настоящий момент методы драг-дизайна недостаточно эффективны, что затрудняет создание избирательных G4-направленных терапевтических агентов. Поэтому поиск эффективных G4-аффинных соединений требует

большого числа экспериментальных исследований *in vitro* и *in vivo* в сочетании с методами моделирования *in silico*.

Несмотря на то что механизмы многих ncNA-опосредованных путей регуляции остаются неизвестными, усилиями различных научных групп найдены высокоаффинные G4-лиганды (пиридостатин, BRACO19 и др.). Некоторые из них обладают антибактериальными, противоопухолевыми и противовирусными свойствами [*Design of modular G-quadruplex...*, 2018; O'Hagan et al., 2019; Ruggiero et al., 2018].

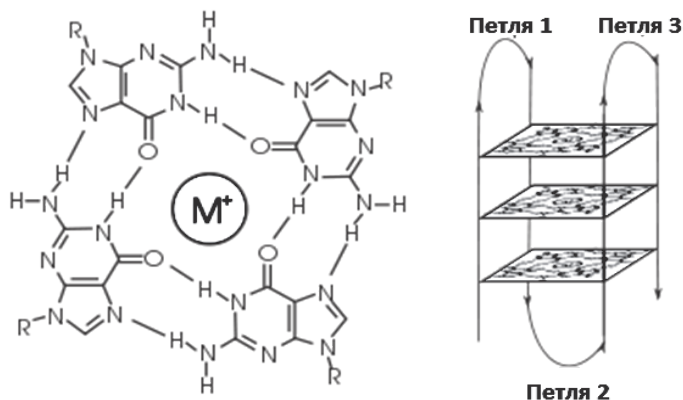
**Целью работы** стало обсуждение структуры и функций квадруплексов и роли G4-лигандов в качестве терапевтических агентов.

## Методы и методология исследования

Для изучения вопроса исследования авторы использовали общенаучные методологические исследования, классификацию G4-лигандов и сравнительный анализ по механизму их взаимодействия с G-квадруплексами.

## Результаты исследования

G-квадруплексы (G4) — класс неканонических вторичных структур нуклеиновых кислот, образованных G-богатыми участками ДНК или РНК за счет  $\pi$  –  $\pi$ -стекинг — взаимодействия двух и более G-тетрад. Каждая тетрада состоит из четырех гуаниновых остатков, связанных сахарно-фосфатным остовом и хугстиновскими водородными связями (рис. 1). G4-структуры разделяют на внутримолекулярные, сформированные одной цепью ДНК или РНК, и межмолекулярные, сформированные двумя и более цепями.



**Рис. 1.** Структура G-квадруплекса:

*слева:* G-квартет с координированным одновалентным катионом M<sup>+</sup>;

*справа:* G-квадруплекс из трех квартетов

G4-структуры обладают большим конформационным разнообразием за счет различий в длине G-трактов, нуклеотидном составе и длине петель, количестве формирующих молекул, фланкирующих фрагментах, среде и др. [Dolinnaya et al., 2016]. Топологию G4-структуры определяет ориентация цепей и соответствующее ей конформационное состояние (син- или анти-) гликозидной связи между сахарным остатком и гуаниновым основанием. Выделяют три основные топологии: параллельная (антиориентация гуанозина), антипараллельная (син- и антиориентации гуанозина) и смешанная. Антипараллельные квадруплексы разделяют в зависимости от направления петли на два вида: «кресло» и «корзина» (рис. 2). РНК G4 преимущественно принимают параллельную конформацию из-за 2'-гидроксильной группы сахарного остатка, которая допускает исключительно антиориентацию.

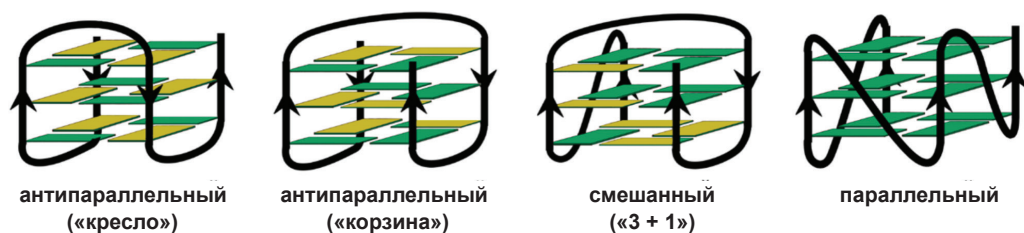


Рис. 2. Схематическое изображение основных топологий внутримолекулярных G4

В настоящий момент активно изучаются имперфектные G4 (ImG4), формирующиеся из прерывающихся или неполных G-трактов. Такие ImG4 могут иметь в своей структуре различные дефекты: мисматчи, выпуклости, вакантные места (рис. 3). Было показано, что, подобно обычным G4, ImG4 можно рассматривать в качестве потенциальных регуляторных элементов, биомаркеров и терапевтических мишеней [*Synthesis of oligonucleotides containing...*, 2017].

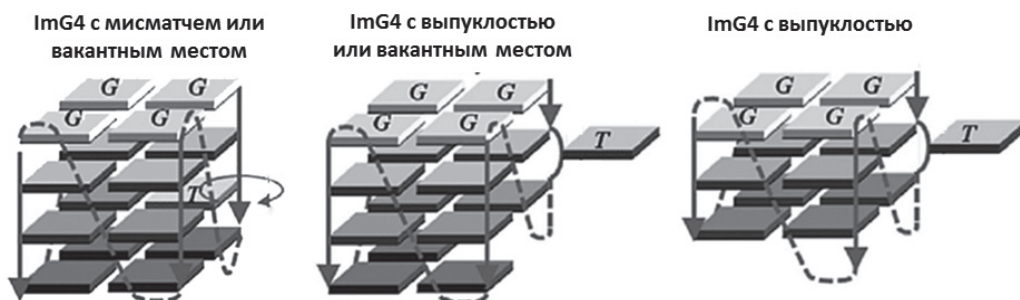


Рис. 3. Схематическое изображение ImG4 с мисматчами, выпуклостями и вакансиями

Вычислительные биоинформатические анализы показали, что в геноме человека могут образовываться от 300 000 до 3 000 000 потенциальных G4-формирующих последовательностей (PQS). Эти данные были подтверждены

высокопроизводительным полногеномным секвенированием G4-seq, который выявил порядка 700 000 G4 (*High-throughput sequencing...*, 2015). Однако картирование G4 методом ChIP-seq выявило не более 10 000 G4-мотивов в высоко-транскрибируемых регуляторных областях хроматина, обедненных нуклеосомами [*Permanganate/s1 nuclease...*, 2017]. Эти данные указывают на то, что G4 в основном находятся в несложном состоянии в хроматине и могут влиять на динамику и локализацию нуклеосом.

G4-образующие последовательности распределены неравномерно и неслучайно. PQS преимущественно локализуются в центральных неметилированных и не вовлеченных в образование нуклеосом областях генома [Dolinnaya et al., 2016]. G4 высоко представлены в теломерных районах хромосом, микро- и минисателлитных повторах, в генах рибосомных РНК, в регуляторных участках генома, таких как промоторы, энхансеры, инсуляторы, точки начала репликации, последовательности, ответственные за перегруппировку генов иммуноглобулинов, участки повышенной ломкости хромосом, точки рекомбинации, интроны генов, CpG островки, а также в различных участках транскрипта: регуляторные сайты альтернативного процессинга мРНК, длинные некодирующие РНК, 5'- и 3'-нетранслируемые области мРНК, теломерные РНК [Dolinnaya et al., 2016]. Вычислительными методами было показано, что G4-мотивы высоко консервативны в эукариотических организмах [*QGRS-conserve...*, 2014]. При этом PQS преимущественно локализуются в регуляторных участках геномов теплокровных животных, в наибольшей степени — человека. Плотность G4-образующих последовательностей значительно выше в некодирующих районах по сравнению с кодирующими, причем PQS присутствуют в регуляторных участках ранних и поздних генов в равной степени. G4-мотивы в основном связаны с генами, кодирующими белки, ответственными за регуляторные функции, а не с генами «домашнего хозяйства» [Dolinnaya et al., 2016]. Помимо человека, G4-мотивы обнаружены в геномах других млекопитающих, вирусах, бактериях, дрожжах и простейших [Spiegel et al., 2020], поэтому G4-структуры участвуют во многих инфекционных заболеваниях.

Важно отметить, что PQS распределены в геномах млекопитающих, бактерий и дрожжей аналогичным образом и представлены в таких же функциональных областях, что и в геноме человека. Такая консервативность дополнительно свидетельствует о том, что G4-структуры участвуют в регуляции важнейших клеточных процессов, таких как репликация, транскрипция, трансляция и геномная нестабильность [Ruggiero et al., 2018].

В течение последних 30 лет множество работ было посвящено поиску селективно связывающих G-квадруплексы низкомолекулярных соединений из библиотеки как природных, так и синтетических молекул. Для рационального дизайна G4-лигандов необходимо знать точную структуру G-квадруплекса и способ связывания лиганда с ним. Основные модели взаимодействия лиганд-квадруплекс:

интеркаляция лиганда между G-квартетами, стекинг с верхней или нижней тетрадой, взаимодействие с петлями и бороздками. Разные способы связывания и их комбинации имеют различные степени специфичности. Взаимодействия большинства лигандов с G4 обычно следуют нескольким принципам:

1. Расширенная планарная ароматическая система лиганда подобна G-квартету по размеру и форме (облегчает  $\pi$  –  $\pi$ -стекинг). Этот остов может быть сшит с другими жесткими планарными структурами или сопряжен с гибкими фрагментами посредством вращающихся связей.

2. Боковые цепи лигандов взаимодействуют с петлями и бороздками. Катионные заместители обычно увеличивают аффинность связывания с анионной фосфатной основной цепью.

3. Катионный центр ароматического ядра электростатически взаимодействует с отрицательно заряженным центром G-квадруплекса. Электронодефицитная природа лиганда усиливает его катион –  $\pi$ -взаимодействие с G-квартетом.

4. Паттерны водородных связей, определяющие молекулярную структуру лиганда, позволяют распознавать области бороздок G-квадруплекса.

Однако прямое сравнение эффектов лигандов на G4 в зависимости от хемотипов может быть проблематичным. Результаты сильно зависят от точной последовательности ДНК, условий эксперимента (например, различных концентраций калия) и используемых методов. На данный момент в PDB (Protein Data Bank) доступно лишь небольшое количество комплексов G4 с лигандами, определенных кристаллографией или ЯМР. При этом важно отметить, что конденсированные ароматические полициклические или макроциклические системы во всех случаях взаимодействуют с гуанинами внешних G-квартетов, а положительно заряженные группы боковых цепей взаимодействуют, прямо или косвенно, через молекулы воды с бороздками или петлями [Duarte et al., 2018].

G4-лиганды разделяют на четыре класса: макроциклы, конденсированные гетероциклы, модульные лиганды и комплексы с металлами. Учитывая полиморфизм и структурную изменчивость различных G4, разумно в первую очередь рассматривать в качестве потенциальных G4-лигандов соединения натурального происхождения. Природные соединения характеризуются высоким уровнем сложности и молекулярным разнообразием, избирательностью и специфической биологической активностью. Действительно, многие исследовательские группы показали, что природные молекулы способны специфически распознавать G4-структуры и проявлять высокую G4-опосредованную биологическую активность: регулировать функциональность теломер, влиять на репликацию, транскрипцию и трансляцию [An overview of quadruplex ligands..., 2020].

Теломестатин — природный макроцикл, выделенный из актиномицета *Streptomyces anulatus* 3533-SV4. Он считается эталонным соединением с точки зрения распознавания G-квадруплексов из-за его способности ингибировать теломеразу *in vitro* ( $IC_{50} = 5$  нМ) и высокой селективности в отношении G4 по сравнению с дуплексной ДНК (> 70 раз). Его высокое средство

и селективность предположительно связаны с необычной структурой с уникальными характеристиками: нейтральное полициклическое соединение, состоящее из пяти оксазолов, двух метилоксазолов и одного тиазолинового кольца (рис. 4), характеризующееся высокой гидрофобностью, планарностью и идеальным размером для стекинга с G-тетрадой. Помимо высокой аффинности к теломерным одноцепочечным 3'-последовательностям, теломестатин может вызывать диссоциацию теломер-специфических связывающих белков (TRF2 и POT1) [*The G-quadruplex ligand telomestatin...*, 2006], участвующих в кэппировании теломер, в результате чего апоптоз протекает быстрее, чем в случае простого ингибирования теломеразы. Теломестатин является эффективным антипролиферативным агентом со значениями  $IC_{50}$  от 0,1 до 5 мкМ [*G-quadruplex binding ligands...*, 2012] без значительного воздействия на здоровые клетки (5 мкМ на фибробласты MRC-5). Поэтому его использовали для изучения роли G4-структур в промоторной области онкогенов, таких как c-MYC, BCL2 и VEGF [*An overview of quadruplex ligands...*, 2020]. Тем не менее, теломестатин имеет несколько недостатков: он плохо растворяется в воде, что затрудняет доставку, и его экстракция и синтез достаточно сложные для получения большого количества чистого вещества.

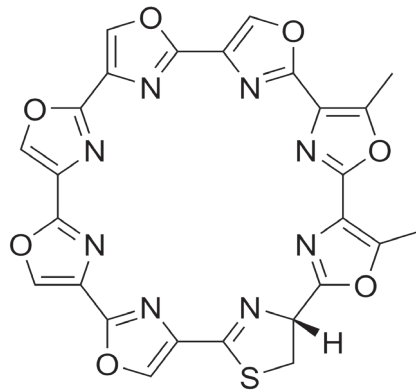
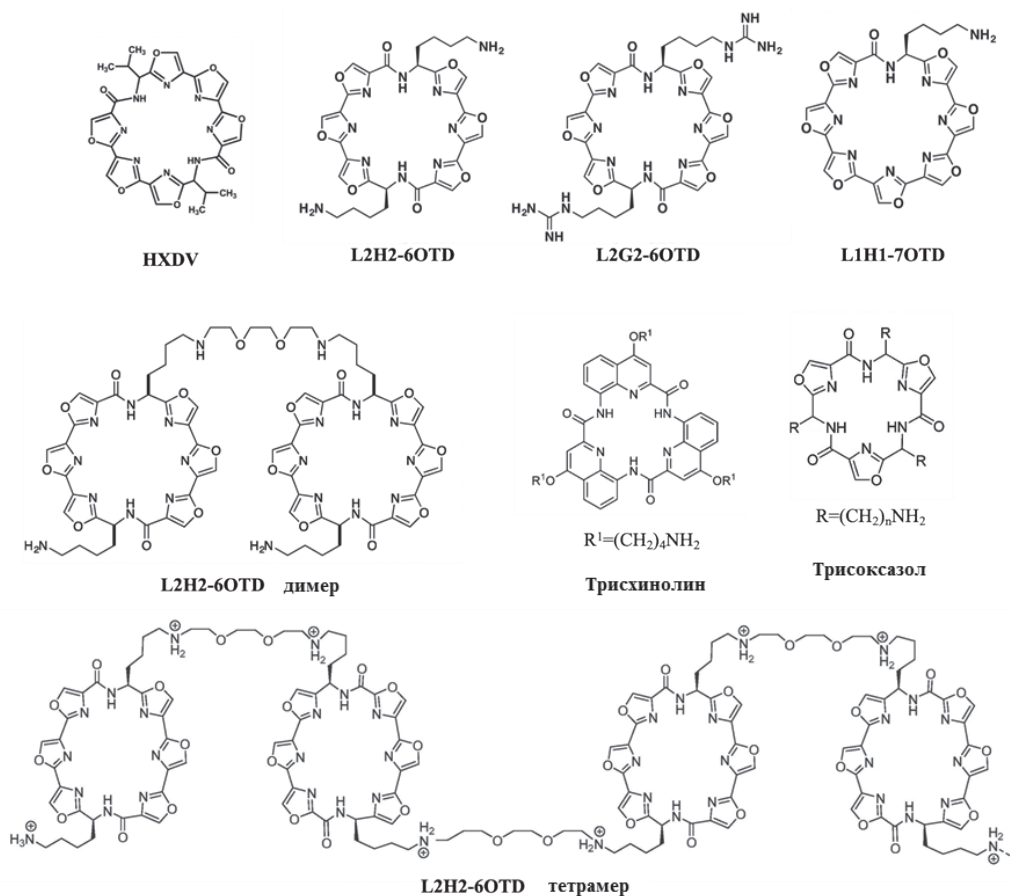


Рис. 4. Химическая структура теломестатина

Класс синтетических макроциклических G4-лигандов можно разделить на три основные группы: производные теломестатина, макроциклы на основе амидов и аналоги порфирина.

Поиск соединений, подобных теломестатину, начался в 2006 году с гекса-оксазольных макроциклов (рис. 5), состоящих из двух симметричных трис-оксазолов, связанных аминокислотами для дополнительной гибкости [*Synthesis and G-quadruplex stabilizing...*, 2006]. Варьируя аминокислотные линкеры, можно значительно изменять свойства лигандов. Например, замена валина на лизин (HXDV → L2H2-6OTD) усиливает сродство этих производных к G4 и делает их более водорастворимыми. Гекса-оксазол с аргининовым линкером (L2G2-6OTD) имеет схожие свойства с теломестатином [*Synthesis of a potent*



**Рис. 5.** Наиболее перспективные макроциклические G4-лиганды

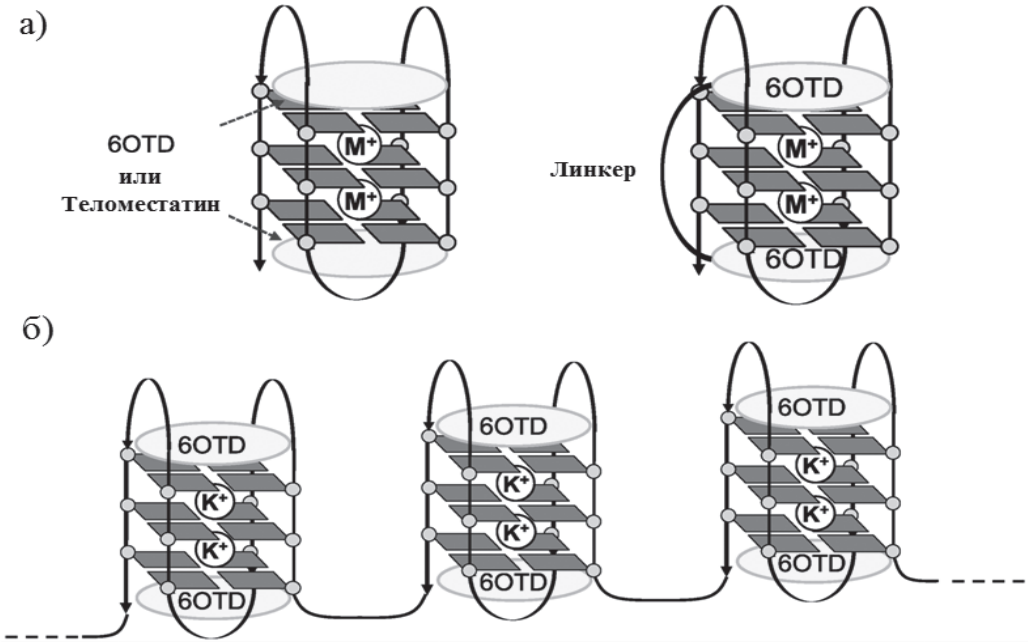
*G-quadruplex...*, 2008]. L1H1-7OTD оказался более эффективным с точки зрения ингибирования теломеразы ( $IC_{50} = 0,8$  нМ), чем теломестатин ( $IC_{50} = 5$  нМ), цитотоксичность по отношению к клеткам HeLa составила 0,03 мкМ (для теломестатина по отношению к клеткам рака поджелудочной железы человека MiaPaCa  $IC_{50} = 0,5$  мкМ [Liu et al., 2005]).

*Производные теломестатина и макроциклы на основе амидов*

Для стабилизации G4-димеров были исследованы мультимерные макроциклы. 6OTD-димер (см. рис. 5) одновременно может взаимодействовать с обеими терминальными G-тетрадами (см. рис. 6а). Он не обладает большим сродством к G4, чем мономерный 6OTD, но проявляет избирательность в отношении длинных теломерных ДНК и эффективно стабилизирует длинный теломерный фрагмент за счет связывания с каждым G4 telo24 с образованием сэндвичевых комплексов (рис. 6б) [Evaluation of the interaction..., 2013].

Чтобы отличить полимерные G-квадруплексы от мономерных, было разработано тетрамерное производное теломестатина 6OTD-тетрамер (см. рис. 5).

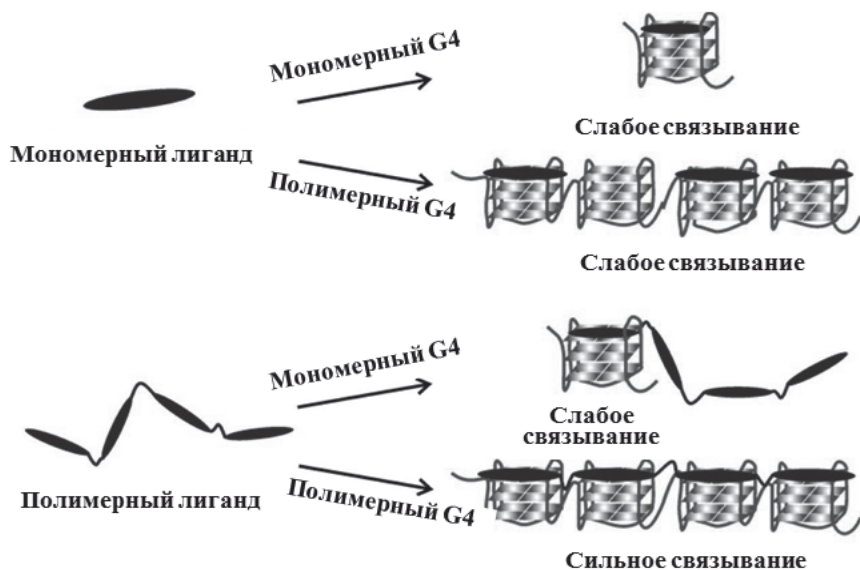




**Рис. 6.** (а) Схематическая модель взаимодействия теломестатина, L2H2-6OTD и L2H2-6OTD-димера с теломерным G4 telo24; (б) Схематическая модель взаимодействия L2H2-6OTD с длинной теломерной ДНК [Evaluation of the interaction..., 2013]

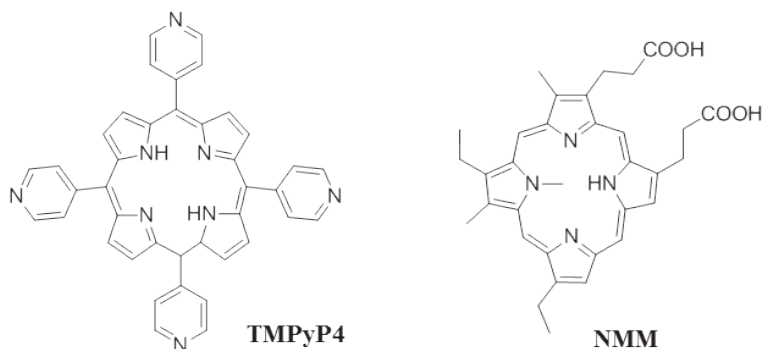
6OTD-тетрамер связывает сразу несколько G4 одноцепочечного 3'-конца теломер значительно эффективнее (в  $> 40$  раз), чем отдельные G4 (рис. 7) [Adaptive and specific..., 2017]. Также в качестве G4-лигандов были исследованы макроциклы, состоящие из трех-четырёх оксазолов или фуранов (Трисоксазол на рисунке 5), но обычно они имеют более низкое сродство к G4, чем теломестатин. Однако замена пятичленных колец на хинолины (Трисоксазол  $\rightarrow$  Трисхинолин на рисунке 5) приводит к значительному повышению G4-стабилизирующего эффекта за счет увеличения площади ароматической поверхности [G-quadruplex DNA bound..., 2009].

Порфирины характеризуются высокой растворимостью в воде и способностью к  $\pi - \pi$ -стекингу за счет ионной природы и пониженной электронной плотности ароматического ядра. Первым G4-лигандом этого ряда является ТМРyP4 (рис. 8), способный взаимодействовать с квадруплексами из теломерной ДНК и ингибировать теломеразу с  $IC_{50} = 6$  мкМ. Кроме того, ТМРyP4 подавляет экспрессию некоторых онкогенов, таких как c-MYC, KRAS, RET и c-KIT [An overview of quadruplex ligands..., 2020]. Тем не менее он слабо селективен к G4 по сравнению с дуплексной ДНК (G4 : дуплекс = 2 : 1), что, вероятно, объясняет его сильную неспецифическую цитотоксичность ( $IC_{50}$  для фибробластов человека  $\sim 13$  мкМ) [Effects of cationic..., 1999]. Способ связывания ТМРyP4 с квадруплексом считается стандартной молекулярной



**Рис. 7.** Мономерные и полимерные взаимодействия между G-квадруплексами (G4) и лигандами. Связывание между полимерным лигандом и полимерным G4 наиболее эффективное [Adaptive and Specific..., 2017]

моделью взаимодействий между низкомолекулярными соединениями и G4. В ходе поиска более селективных G4-лигандов этого класса макроциклов было исследовано множество модифицированных порфиринов. Одним из лидеров оказался N-метилмезопорфирин (NMM) (рис. 8), демонстрирующий высокую селективность к G4, но низкое сродство, вероятно, из-за наличия анионных боковых цепей. Эта особенность, вместе с его фотофизическими свойствами, сделала его одним из наиболее часто используемых G4-сенсоров.



**Рис. 8.** Химические структуры порфиринов TMPyP4 и NMM

Алкалоиды представляют собой важный класс низкомолекулярных природных соединений, характеризующихся ароматическими и гетероциклическими конденсированными кольцами, известные своей широкой биологической

активностью, в частности они эффективны в терапии некоторых типов рака и малярии [*An overview of quadruplex ligands...*, 2020]. Благодаря своей высокой эффективности и низкой системной токсичности алкалоиды обладают значительным терапевтическим потенциалом. На данный момент известно несколько представителей данного класса, которые избирательно и сильно стабилизируют G4-структуры — это протоберберины, криптолепин, индолы, флавоноиды, индолизины и феноксазины.

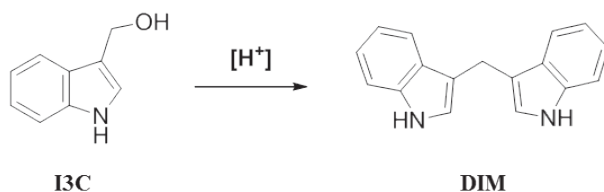
Протоберберины — это класс природных алкалоидов-антибиотиков, выделенных из корней и коры китайских лекарственных растений, таких как *Coptis chinensis* и *Hydrastis canadensis*. Было показано, что берберин (рис. 9) и его производные, стабилизируя теломерные G4, ингибируют теломеразу [*Pyridine derivative...*, 2020]. Также берберин демонстрирует противоопухолевую активность, ингибируя пролиферацию клеток нескольких типов опухолей [*Berberine, an epiphany...*, 2014]. Протоберберины имеют в своих полициклических структурах четвертичные соли аммония, которые обеспечивают лучшую растворимость и повышенное сродство к G-тетрадам за счет снижения электронной плотности в ароматической системе. В 2018 году было обнаружено, что эпиберберин (рис. 9) может специфически распознавать и стабилизировать гибридные G4 в теломерных областях человека, а также переводить G4 других топологий в гибридную конформацию, вызывая обширные теломерные перестройки [*Molecular recognition...*, 2018].



Рис. 9. Химические структуры некоторых представителей природных алкалоидов

Криптолепин (см. рис. 9) — производное хинолина, обладающее противомаларийными и цитотоксическими свойствами. Его тетрациклическая поверхность обеспечивает преимущественное распознавание GC-богатых дуплексных последовательностей по сравнению с AT-богатыми, а также стабилизирует триплексные и квадруплексные структуры [*Interactions of cryptolepine...*, 2003].

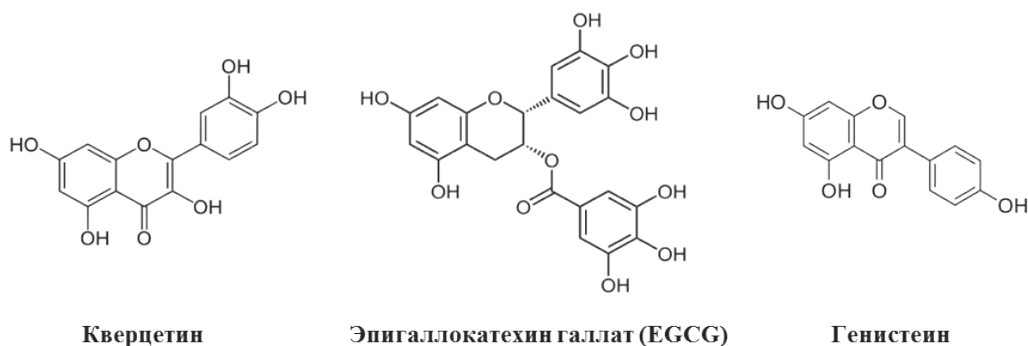
Индол-3-карбинол (I3C на рисунке 10) — биологически активное вещество, содержащееся в овощах семейства крестоцветных, таких как белокочанная и брюссельская капуста, брокколи и пр. Дииндолилметан (DIM на рисунке 10) — стабильный хорошо абсорбируемый *in vivo* метаболит индол-3-карбинола. Для I3C показаны протективные свойства для сердечно-сосудистой



**Рис. 10.** Химические структуры индол-3-карбинола (I3C) и 3,3'-дииндолилметана (DIM)

[Licznerska et al., 2016] и желудочно-кишечной систем [*Indole-3-carbinol induces...*, 2016]. Важно отметить, что индол и его производные вырабатываются микробиотой кишечника и, как считается, защищают кишечник от воспалений. I3C препятствует образованию активных форм кислорода, образованию тромбов и проницаемости кровеносных сосудов. Регулируя апоптотические сигнальные белки, I3C и DIM могут проявлять противоопухолевую активность в отношении различных видов рака, таких как рак печени, легких, молочной железы, толстой кишки и простаты [*Indole-3-carbinol induces...*, 2016].

Известны производные индола, эффективно и селективно стабилизирующие G4-структуры в промоторах онкогенов и проявляющие противоопухолевые и противовоспалительные свойства *in vitro* [*Study of the interaction...*, 2017; *A dihydroindolizino indole...*, 2015]. Эффекты препаратов на основе I3C могут быть усилены добавками природных нутриентов (рис. 11) — кверцетина, генистеина и эпигаллокатехин галлата (EGCG), которые также обладают G4-стабилизирующими свойствами [*Structural insights into...*, 2020].



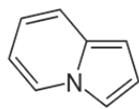
**Рис. 11.** Химические структуры кверцетина, EGCG и генистеина

EGCG (рис. 11) — катехин, содержащийся в больших количествах в зеленом чае. Это соединение известно своими многочисленными свойствами: антиоксидантными, антиканцерогенными, антимикробными и нейропротекторными. Более того, в настоящий момент активно ведутся исследования EGCG для терапии и профилактики коронавирусной инфекции COVID-19 и уже были получены первые положительные результаты [*Potential protective mechanisms...*, 2021].

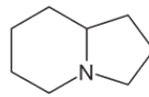
Кверцетин (см. рис. 11) — это природный флавоноид, содержащийся в растениях преимущественно красного цвета: в гречневой крупе, луке, яблоках, перце, чае, красном винограде, цитрусовых, вишне, чесноке, бруснике, томатах, малине, чернике, клюкве и многих других продуктах. Кверцетин обладает ярко выраженными антиоксидантными свойствами. Защищает клетки от повреждений, вызванных свободными радикалами, снижая риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, нарушений обмена веществ и некоторых видов рака [David et al., 2016].

Генистеин (см. рис. 11) — соединение, относящееся к классу изофлавонов, содержащееся во многих продуктах, таких как соя, картофель и бобы. Генистеин уменьшает жировую ткань, подавляет дифференцировку адипоцитов, снижает уровень холестерина и триглицеридов; обладает миопротекторным действием, предотвращает атрофию и повреждение мышц, а также влияет на рост мышечной массы [Genistein — a supplement..., 2021]. Более того, генистеин является эффективным химиотерапевтическим средством против различных типов рака: регулирует апоптоз, клеточный цикл и ангиогенез, а также подавляет метастазирование [Genistein and cancer..., 2015].

В структуру большого числа алкалоидов, лекарственных средств и других физиологически активных веществ (в том числе G4-лигандов) входят гетероциклические системы индолизина и его полностью восстановленной формы индолизидина (рис. 12). Индолизин в чистом виде в природе встречается редко, а его производные (включая индолизидин и производные индолизидина) выделяются из растений, насекомых, животных, морских обитателей и микробов. Природные и синтетические индолизины обладают противоопухолевой, антибактериальной, антагонистической и антипролиферативной активностью [Review on chemistry..., 2017].



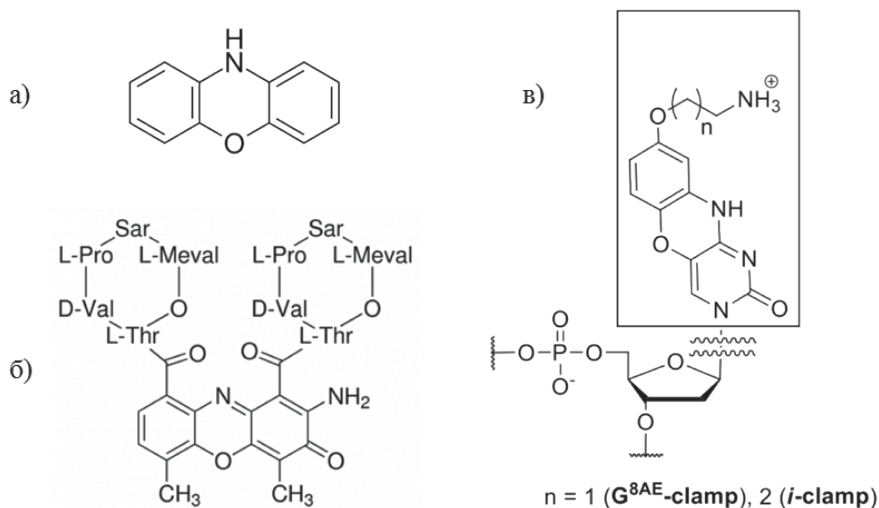
Индолизин



Индолизидин

Рис. 12. Структурные формулы индолизина и индолизидина

Феноксазин (дибензо-1,4-оксазин) — гетероциклическое соединение, представляющее собой оксазин, слитый с двумя бензольными кольцами (рис. 13а). Феноксазин является центральным ядром ряда природных химических соединений, таких как лакмус, красители нильский синий и нильский красный, а также известных антибиотиков и противоопухолевых агентов, таких как актиномицин D (ActD) (рис. 13б). Известно, что ActD может влиять на транскрипцию путем связывания с G4-образующими последовательностями, однако он не проявлял селективности к G4-фрагменту промотора с-Мус [Kang et al., 2009]. В нашей лаборатории ранее было показано, что производные



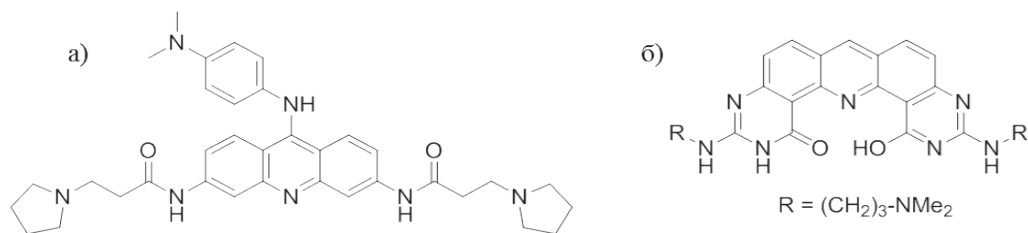
**Рис. 13.** Структурные формулы (а) феноксазина, (б) актиномицина D и (в) нуклеозидных производных феноксазина G<sup>8AE</sup>-clamp и i-clamp

феноксазина G<sup>8AE</sup>-clamp (C8-аминоэтил) и i-clamp (C8-аминопропил) (рис. 13в) повышают термостабильность вторичных структур ДНК (дуплекс и *i*-мотивы) [*i-Clamp phenoxazine...*, 2018].

На основе вышеописанных природных лигандов в течение последних 5 лет было синтезировано еще несколько классов соединений с расширенными планарными ароматическими системами, многие из которых оказались перспективными для терапевтического применения. В основном эти лиганды представляют собой ароматический гетероцикл с различными алкильными боковыми цепями для улучшения клеточного поглощения, растворимости и повышения сродства к G-квадруплексам. К основным классам таких G4-лигандов относят акридины, хиназолонны и хинолины, фенантролины, антрахиноны, хиндолины, нафталендиимиды и перилендиимиды.

Акридины представляют собой класс гетероциклических соединений, характеризующихся тремя конденсированными шестичленными кольцами с плоской ароматической поверхностью. Было показано, что акридины с заместителями в 3,6,9-положениях демонстрируют повышенную аффинность к G4, а также селективность по сравнению с дуплексной ДНК, особенно если в положение 9 вводится ароматический фрагмент [*An overview of quadruplex...*, 2020]. Главным представителем этого ряда является BRACO-19 (см. рис. 14а), который связывается с G4 из теломерных повторов человека с  $K_a = 1,6 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$  и ингибирует теломеразу с  $IC_{50} = 0,06 \text{ мкМ}$ . Его противоопухолевый эффект основан на способности снижать активность теломеразы, препятствуя ее взаимодействию с теломерами.

Биофизическими методами был показан значительный вклад ароматического ядра во взаимодействие с мишенью. Также было установлено, что



**Рис. 14.** Структурные формулы (а) BRACO-19 и (б) его производного

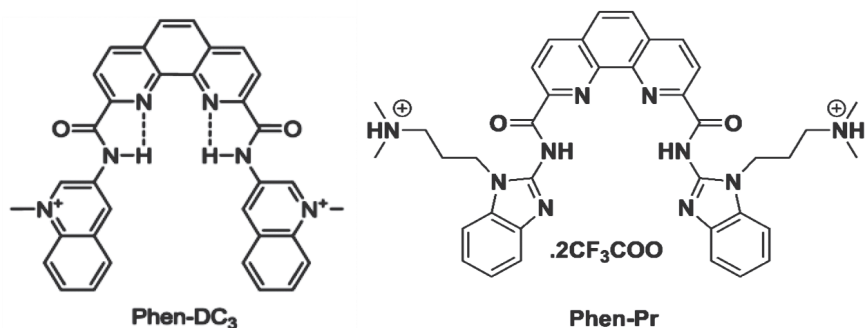
удаление заместителя в положении 9 (см. рис. 14б) приводит к повышению селективности к G4 по сравнению с дуплексной ДНК [*Synthesis and evaluation...*, 2009].

Другой класс эффективных G4-лигандов был синтезирован на основе природного алкалоида изаиндиготона, выделенного из Вайды красильной семейства крестоцветных. В 2009 году было обнаружено, что 4,6-дизамещенные изаиндиготоны (соединение 1 на рисунке 15) обладают высоким сродством к теломерному G4 F21T человека ( $K_a = 9,8 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ) [*Isaindigotone derivatives...*, 2009]. В 2017 году в ходе дизайна новых лигандов к G4 из промотора с-МЫС те же авторы разработали две новые серии молекул, которые различаются длиной боковой цепи, размером неароматического кольца и концевым третичным амином. Наиболее эффективным оказалось соединение 2 (рис. 15), стабилизирующее G4 с-МЫС на  $\Delta T_m = 12 \text{ }^\circ\text{C}$  и способное разрушать комплекс между этим квадруплексом и фактором транскрипции NM23-H2, вызывая апоптоз в раковых клетках [*Design, synthesis, and evaluation...*, 2017].

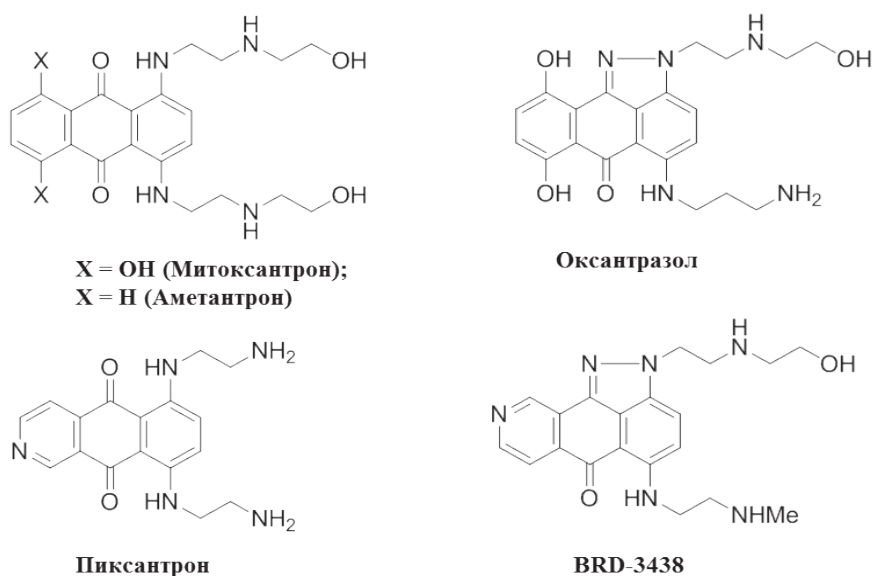
Изаиндиготоны проявляют сродство также к квадруплексам РНК. Конденсированный димер RGB-1 (рис. 15) стабилизирует различные РНК G4 ( $K_d = 5,9 \text{ мкМ}$ ), не проявляя сродства к ДНК G4; активирует G4-опосредованное ингибирование трансляции в клетках млекопитающих и снижает экспрессию протоонкогена NRAS в клетках рака молочной железы человека [*A small molecule that...*, 2016]. Производное хинолона CX-3543 (рис. 15), известное как кварфлорксин, является перспективным противоопухолевым препаратом, прошедшим две фазы клинических испытаний для пациентов с BRCA1/2-дефицитными опухолями [NCT00780663]. Кварфлорксин связывается с G4-последовательностью рибосомной ДНК, предотвращая ее комплексообразование с нуклеолином, блокирует транскрипцию рРНК и приводит к апоптозу [*Small molecules targeting...*, 2014]. Показано, что кварфлорксин эффективно связывается с G4 из промотора с-Мус и подавляет его экспрессию [Brooks et al., 2010]. Несколько лет назад было идентифицировано производное хинололина CX-5461 (рис. 15), или пиднарулекс, которое стабилизирует квадруплексы с-МЫС, с-KIT и hTELO ( $\Delta T_m > 15 \text{ }^\circ\text{C}$  при концентрации 1 мкМ); нарушая взаимодействие рДНК с нуклеолином, блокирует транскрипцию полимеразы I и запускает таким образом путь p53, приводящий к апоптозу BRCA1/2-дефицитных раковых клеток [*CX-5461 is a DNA...*, 2017]. В данный







**Рис. 16.** Структурные формулы синтетических G4-лигандов на основе фенантролина: PhenDC3 и Phen-Pr

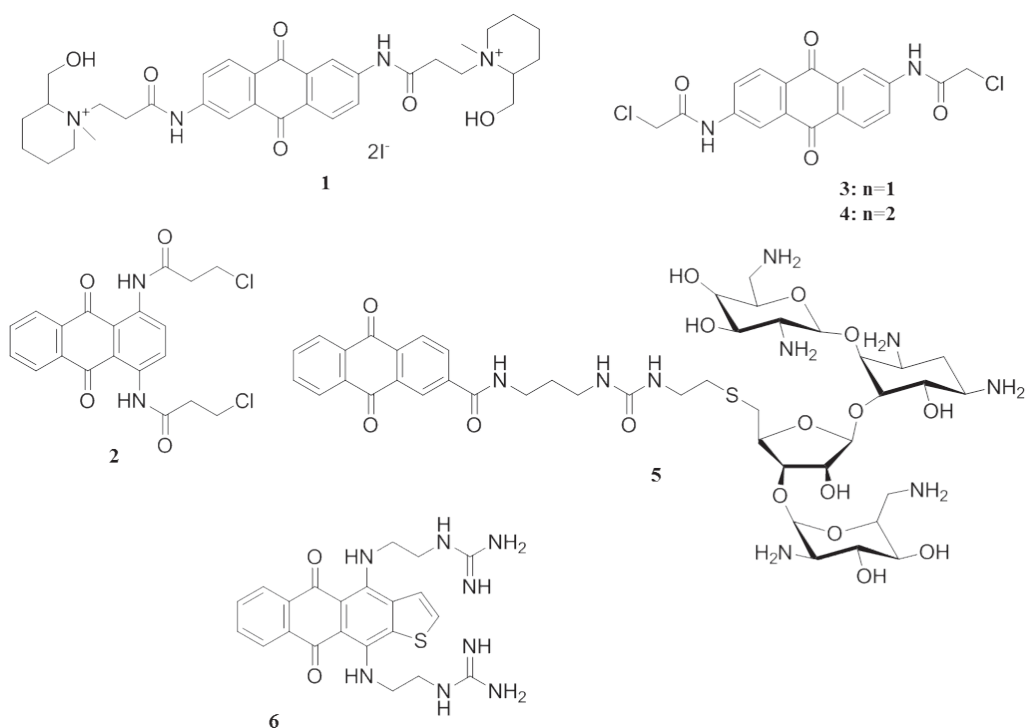


**Рис. 17.** Химические структуры антрахиноновых синтетических G4-лигандов

2016]. Сегодня митоксантрон используется при лечении нескольких типов опухолей [Dunn et al., 1996; *Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies...*, 1992] и рассеянного склероза [Wawrzyniak et al., 2020], а также является контрольным G4-лигандом, широко используемым в исследованиях и скринингах новых G4-лигандов в качестве light-up пробы (обладает 86 %-ным вытеснением тиазолоранжа) [*Identification of new DNA...*, 2017].

В ходе оптимизации полициклического ядра и варьирования боковых цепей были найдены препараты с улучшенными терапевтическими свойствами — оксантразол, пиксантрон и нортопиксантрон (BRD-3438) (см. рис. 17). Эти новые производные обладают мультитаргетным действием, то есть способны ингибировать активность разных внутриклеточных мишеней, включая G-квадруплексы, теломеразу, топоизомеразы I, II.

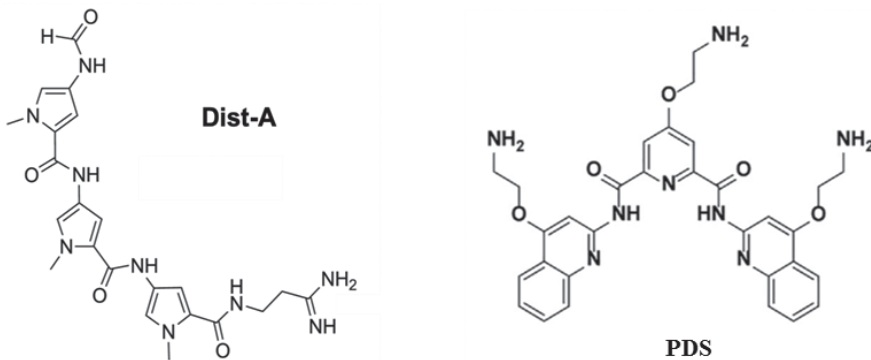
Один из первых G4-лигандов этого ряда, который проявлял высокую аффинность к теломерному G-квадруплексу и ингибирал теломеразу с  $IC_{50} = 23$  мкМ, был синтезирован в 1992 году [*Anthracene 9,10-diones...*, 1992]. Позже этой же группой ученых были синтезированы 1,4-, 1,5-, 1,8-, 2,6- и 2,7-дизамещенные антрахиноны с различными аминокислотами в качестве концевых групп боковых цепей для улучшения взаимодействия с бороздками квадруплекса (соединения 1–4 на рисунке 18). Полученные соединения оказались активными ингибиторами теломеразы [*1,4- and 2,6-Disubstituted...*, 1998]. В 2013 году другая группа исследователей решила использовать в качестве концевых групп вместо аминокислот сахара и разработала антрахинон, конъюгированный с аминосугаром неомицином (соединение 5 на рисунке 18). Полученный лиганд демонстрировал еще более высокое сродство к теломерному квадруплексу ( $K_a = 1,25 \times 10^7$  M<sup>-1</sup>) [*Dual Recognition of Human...*, 2013].



**Рис. 18.** Химические структуры антрахиноновых синтетических G4-лигандов

Далее, поскольку гуанидиновая группа способствует связыванию с нуклеиновыми кислотами, Ксодо Луиджи и его коллеги разработали 4,11-дизамещенные гуанидин-антрахинофендионы. Из пула синтезированных соединений максимальное сродство к G4 было замечено в случае двух- и трехуглеродных алкильных цепей в качестве боковых заместителей (соединение 6 на рисунке 18), с  $K_d$  по отношению к G4 из теломерных повторов человека hTELO и онкогена KRAS ниже 0,2 мкМ.

Ярким представителем модульных G4-лигандов является природный противоопухолевый антибиотик дистамицин А (Dist-A), способный связываться с малыми бороздками ДНК, с А/Т-богатыми участками дуплексной ДНК, а также проявляющий высокую селективность в отношении параллельных G4 [Structural and Thermodynamic..., 2007]. ЯМР-спектроскопия комплекса Dist-A/[d(TGGGGT)]<sub>4</sub> демонстрирует необычный способ связывания: два димера Dist-A/Dist-A одновременно связываются с противоположными бороздками квадруплекса. За счет гибкости пептидных связей лиганд приобретает серповидную форму (рис. 19), которая идеально соответствует кривизне бороздок G4. Кроме того, присутствие аммониевой группы увеличивает электростатические взаимодействия лиганд-квадруплекс [Structural and conformational..., 2010].

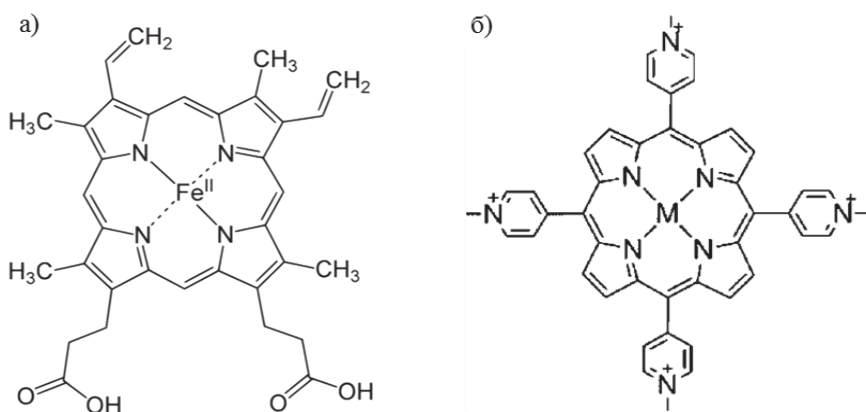


**Рис. 19.** Химические структуры модульных G4-лигандов. Дистамицин А (Dist-A) и пиридостатин (PDS)

Синтетические модульные G4-лиганды имеют самую слабую связь с природными молекулами. К ним относят соединения с двумя и более ароматическими модулями, состоящими из двух конденсированных колец. Наиболее часто используемым модульным G4-лигандом синтетического происхождения является производное аминопиридина пиридостатин (PDS, см. рис. 19). Известно о его взаимодействии с теломерным G4 [Synthesis of oligonucleotides containing..., 2017], РНК G4 [Data on secondary structures..., 2017], подавлении транскрипции гена BRCA1 в нейронах, отвечающего за репарацию двуцепочечных разрывов ДНК за счет связывания с G4 в его промоторе [The G-quadruplex DNA stabilizing..., 2017]. Связываясь с квадруплексными структурами, пиридостатин инициирует остановку клеточного цикла. Методом иммунопреципитации хроматина с антителами к белкам-маркерам разрывов ДНК  $\gamma$ H2AX с последующим секвенированием (ChIP-Seq) было получено полногеномное распределение PDS-индуцированных участков повреждения. Согласно результатам, пиридостатин практически не влияет на уровни экспрессии  $\gamma$ H2AX-негативных контрольных генов и значительно подавляет экспрессию  $\gamma$ H2AX-позитивных мишеней. Наибольшее влияние было оказано на протоонкоген

SRC, его уровни РНК снижались более чем на 95 % спустя 8 часов после обработки. Таким образом была продемонстрирована сильная корреляция между PDS-опосредованным повреждением ДНК и подавлением транскрипции определенных генов [Rodriguez et al., 2012].

Fe(III)-протопорфирин IX (гем В) представляет собой природный комплекс железа (рис. 20а), входящий в состав гемоглобинов, миоглобинов и цитохромов, способный связываться с G-квадруplexами и стабилизировать их структуру [Golub et al., 2015]. Первоначально гем В практически не использовали из-за его склонности к окислению. В настоящее же время это свойство применяется многими искусственными ДНКзимами. ДНКзим, или дезоксирибозим, — молекула ДНК, обладающая каталитической активностью расщепления, лигирования и фосфорилирования молекулы ДНК, метилирования порфиринов и осуществления гидролиза РНК; также известны дезоксирибозимы с РНКазной активностью. Каталитическая активность комплексов гемин-G4 определяется структурными и пространственными особенностями фолдинга, а также количеством G-тетрад квадруplexа. Гемин является эффективным препаратом для лечения синдрома ATR-X (альфа-таласемии и умственной отсталости). Он связывается с G4 в области CpG-островков в мышинной модели ATR-X, уменьшая рекрутирование РНК-полимеразы II и подавляя экспрессию гена *xlr3b*, что приводит к восстановлению когнитивных функций [Targeting G-quadruplex DNA..., 2018].



**Рис. 20.** Химические структуры металлокомплексов, используемых в качестве G4-лигандов: (а) природный комплекс Fe(III)-протопорфирин IX (гем В) и (б) синтезированный на основе порфирина TMRuP4

В последние несколько лет металлокомплексам уделялось значительное внимание в связи с их высокой аффинностью к G4-мишеням и низкой цитотоксичностью. Первыми синтетически модифицированными металлокомплексами стали порфирины. В ядро TMRuP4 вводили катионы различных металлов, включая переходные металлы, металлы основных групп и лантаноиды (см. рис. 20б).

Все такие металлопорфирины демонстрировали умеренные значения константы связывания в диапазоне  $10^6$ – $10^7$   $M^{-1}$  [*G-quadruplex DNA targeted...*, 2017]. В частности, комплекс Zn(II)-ТМРyP4 был единственным металлопорфирином, способным индуцировать и ускорять фолдинг гибридной G4-структуры ( $\Delta T_m = 13,8$  °C) даже при низкой концентрации  $K^+$ . Замена Zn(II) на Cu(II) или Pt(II) приводит к плоскому квадратному комплексу с пониженной стабилизирующей и даже возможной дестабилизирующей способностями [*Induction of G-quadruplex DNA...*, 2011]. Тем не менее Pt(II)-ТМРyP4 является умеренным ингибитором теломеразы и фотосенсибилизатором, что делает его потенциальным препаратом для фотодинамической терапии рака [*Investigation of the interactions...*, 2016].

## Заключение

G-квадруплекс (G4) недавно был признан потенциальной биомедицинской мишенью, в частности для терапии опухолей, и накопился значительный объем доказательств того, что взаимодействующие с G4 препараты проявляют хорошую противоопухолевую активность. В этом обзоре мы рассмотрели лиганды, взаимодействующие с G4, которые были разработаны для повышения селективности в отношении структуры G4 и демонстрации селективной биоактивности в отношении опухолевых клеток. Проблемы селективности остаются нерешенными до конца, но, если они будут решены, это существенно повлияет на терапию рака. Результаты работы научных групп открывают возможность получения новых терапевтических агентов на основе описанных выше классов соединений и могут стать базисом для новых проектов по созданию G4-направленных лекарственных средств.

## Список источников / References

1. 1,4- and 2,6-Disubstituted amidoanthracene-9,10-dione derivatives as inhibitors of human telomerase / P. J. Perry [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. 1998. Vol. 41 (17). P. 3253–3260. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm9801105>
2. A dihydroindolizino indole derivative selectively stabilizes G-quadruplex DNA and down-regulates c-MYC expression in human cancer cells / N. Nagesh [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*. 2015. Vol. 1850 (1). P. 129–140. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.10.004>
3. A small molecule that represses translation of G-quadruplex-containing mRNA / Y. Katsuda [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. 2016. Vol. 138 (29). P. 9037–9040. DOI: <https://doi.org/10.1021/jacs.6b04506>
4. Adaptive and specific recognition of telomeric G-quadruplexes via polyvalency induced unstacking of binding units / J. Abraham Punnoose [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. 2017. Vol. 139 (22). P. 7476–7484. DOI: <https://doi.org/10.1021/jacs.7b00607>
5. An overview of quadruplex ligands: their common features and chemotype diversity / V. Pirota [et al.] // *Annual Reports in Medicinal Chemistry*. 2020. Vol. 54. P. 163–169. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.armc.2020.04.008>

6. Anthracene 9,10-diones as potential anticancer agents. Synthesis, DNA-binding, and biological studies on a series of 2,6-disubstituted derivatives / M. Agbandje [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. 1992. Vol. 35 (8). P. 1418–1429. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm00086a010>
7. Anticancer activity of novel pyrido[2,3-b]indolizine derivatives: the relevance of phenolic substituents / A. Boot [et al.] // *Anticancer Research*. 2014. Vol. 34 (4). P. 1673–1677. URL: <https://ar.iijournals.org/content/34/4/1673>
8. Berberine, an epiphany against cancer / L. M. Guamán Ortiz [et al.] // *Molecules*. 2014. Vol. 19. P. 12349–12367. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules190812349>
9. Brooks T. A., Hurley L. H. Targeting MYC expression through G-quadruplexes // *Genes & Cancer*. 2010. Vol. 1 (6). P. 641–649. DOI: <https://doi.org/10.1177/1947601910377493>
10. CX-5461 is a DNA G-quadruplex stabilizer with selective lethality in BRCA1/2 deficient tumours / H. Xu [et al.] // *Nature Communications*. 2017. Vol. 8. Art. 14432. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms14432>
11. Data on secondary structures and ligand interactions of G-rich oligonucleotides that defy the classical formula for G4 motifs / M. Vlasenok [et al.] // *Data in Brief*. 2017. Vol. 11. P. 258–265. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dib.2017.02.023>
12. David A. V. A., Arulmoli R., Parasuraman S. Overviews of biological importance of quercetin: a bioactive flavonoid // *Pharmacognosy Reviews*. 2016. Vol. 10 (20). P. 84–89. DOI: <http://dx.doi.org/10.4103/0973-7847.194044>
13. Design of Modular G-quadruplex Ligands / A. R. Duarte [et al.] // *ChemMedChem*. 2018. Vol. 13 (9). P. 869–893. DOI: <https://doi.org/10.1002/cmde.201700747>
14. Design, synthesis, and evaluation of isaindigotone derivatives to downregulate c-MYC transcription via disrupting the interaction of NM23-H2 with G-quadruplex / C. Shan [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2017. Vol. 60 (4). P. 1292–1308. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01218>
15. Dolinnaya N.G., Ogloblina A.M., Yakubovskaya M.G. Structure, properties, and biological relevance of the DNA and RNA G-quadruplexes: Overview 50 years after their discovery // *Biochemistry (Moscow)*. 2016. Vol. 81 (13). P. 1602–1649. DOI: <http://dx.doi.org/10.1134/S0006297916130034>
16. Dual recognition of human telomeric G-quadruplex by neomycin-anthraquinone conjugate / N. Ranjan [et al.] // *Chemical Communications*. 2013. Vol. 49 (51). P. 5796–5798. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3CC42721H>
17. Dunn C. J., Goa K. L. Mitoxantrone: a review of its pharmacological properties and use in acutenonlymphoblastic leukaemia // *Drugs & Aging*. 1996. Vol. 9 (2). P. 122–147. DOI: <https://doi.org/10.2165/00002512-199609020-00007>
18. Effects of cationic porphyrins as G-quadruplex interactive agents in human tumor cells / E. Izbicka [et al.] // *Cancer Research*. 1999. Vol. 59 (3). P. 639–644. URL: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/canres/59/3/639.full.pdf>
19. Evaluation of the interaction between long telomeric DNA and macrocyclic hexaoxazole (6OTD) dimer of a G-quadruplex ligand / K. Iida [et al.] // *Molecules*. 2013. Vol. 18 (4). P. 4328–4341. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules18044328>
20. Genistein — a supplement improving efficiency of the human body: A review / K. Leis [et al.] // *Science & Sports*. 2021. Vol. 36 (5). P. 359–367. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scispo.2020.08.005>
21. Genistein and cancer: current status, challenges, and future directions / C. Spagnuolo [et al.] // *Advances in Nutrition*. 2015. Vol. 6 (4). P. 408–419. DOI: <https://doi.org/10.3945/an.114.008052>

22. Genome-wide computational and expression analyses reveal G-quadruplex DNA motifs as conserved cis-regulatory elements in human and related species / A. Verma [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2008. Vol. 51 (18). P. 5641–5649. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm800448a>
23. Golub E., Lu C. H., Willner I. Metalloporphyrin/G-quadruplexes: from basic properties to practical // *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*. 2015. Vol. 19 (1–3). P. 65–91. DOI: <https://doi.org/10.1142/S1088424615300025>
24. G-quadruplex binding ligands: from naturally occurring to rationally designed molecules / T. Vy Thi Le [et al.] // *Current Pharmaceutical Design*. 2012. Vol. 18 (14). P. 1948–1972. DOI: <https://doi.org/10.2174/138161212799958431>
25. G-quadruplex DNA bound by a synthetic ligand is highly dynamic / P. V. Jena [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. 2009. Vol. 131 (35). P. 12522–12523. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja903408r>
26. G-quadruplex DNA targeted metal complexes acting as potential anticancer drugs / Q. Cao [et al.] // *Inorganic Chemistry Frontiers*. 2017. Vol. 4 (1). P. 10–32. DOI: <https://doi.org/10.1039/C6QI00300A>
27. Highly efficient G-quadruplex recognition by bisquinolinium compounds / A. De Cian [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. 2007. Vol. 129 (7). P. 1856–1857. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja067352b>
28. High-throughput sequencing of DNA G-quadruplex structures in the human genome / V. S. Chambers [et al.] // *Nature Biotechnology*. 2015. Vol. 33 (8). P. 877–881. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt.3295>
29. i-Clamp phenoxazine for the fine tuning of DNA i-motif stability / V. Tsvetkov [et al.] // *Nucleic Acids Research*. 2018. Vol. 46 (5). P. 2751–2764. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky121>
30. Identification of new DNA i-motif binding ligands through a fluorescent intercalator displacement assay / Q. Sheng [et al.] // *Organic and Biomolecular Chemistry*. 2017. Vol. 15 (27). P. 5669–5673. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7OB00710H>
31. Indole-3-carbinol induces tumor cell death: function follows form / B. Megna [et al.] // *Journal of Surgical Research*. 2016. Vol. 204 (1). P. 47–54. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2016.04.021>
32. Induction of G-quadruplex DNA structure by Zn(II) 5,10,15,20-tetrakis(N-methyl-4-pyridyl)porphyrin / A. J. Bhattacharjee [et al.] // *Biochimie*. 2011. Vol. 93 (8). P. 1297–1309. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2011.05.038>
33. Interactions of cryptolepine and neocryptolepine with unusual DNA structures / L. Guittat [et al.] // *Biochimie*. 2003. Vol. 85 (5). P. 535–547. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(03\)00035-X](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(03)00035-X)
34. Investigation of the interactions between Pt(II) and Pd(II) derivatives of 5, 10, 15, 20-tetrakis (N-methyl-4-pyridyl) porphyrin and G-quadruplex DNA / N. C. Sabharwal [et al.] // *Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2016. Vol. 21 (2). P. 227–239. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00775-015-1325-8>
35. Isaindigotone derivatives: a new class of highly selective ligands for telomeric G-quadruplex DNA / J.-H. Tan [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2009. Vol. 52 (9). P. 2825–2835. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm801600m>
36. Kang H.-J., Park H.-J. Novel molecular mechanism for actinomycin D activity as an oncogenic promoter G-quadruplex binder // *Biochemistry*. 2009. Vol. 48 (31). P. 7392–7398. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi9006836>

37. Licznarska B., Baer-Dubowska W. Indole-3-carbinol and its role in chronic diseases // *Advances in experimental medicine and biology*. 2016. Vol. 928. P. 131–154. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-41334-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-319-41334-1_6)
38. Liu W., Sun D., Hurley L. H. Binding of G-quadruplex-interactive agents to distinct G-quadruplexes induces different biological effects in MiaPaCa cells // *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2005. Vol. 24 (10–12). P. 1801–1815. DOI: <https://doi.org/10.1080/15257770500267238>
39. Macrocyclic hexaoxazoles as sequence- and mode-selective G-quadruplex binders / M. Tera [et al.] // *Angewandte Chemie*. 2008. Vol. 120 (30). P. 5639–5642. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.200801235>
40. Molecular recognition of the hybrid-2 human telomeric G-quadruplex by epiberberine: insights into conversion of telomeric G-quadruplex structures / C. Lin [et al.] // *Angewandte Chemie*. 2018. Vol. 57(34). P. 10888–10893. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.201804667>
41. NCT00780663. Quarfloxin in patients with low to intermediate grade neuroendocrine carcinoma / U. S. National Library of Medicine. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00780663>
42. NCT02719977. A phase I study of CX5461 / U. S. National Library of Medicine. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02719977>
43. O'Hagan M. P., Morales J. C., Galan M. C. Binding and beyond: what else can G-quadruplex ligands do? // *European Journal of Organic Chemistry*. 2019. Vol. 2019 (31–32). P. 4995–5017. DOI: <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900692>
44. Permanganate/sl nuclease footprinting reveals non-B DNA structures with regulatory potential across a mammalian genome / F. Kouzine [et al.] // *Cell Systems*. 2017. Vol. 4 (3). P. 344–356. e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cels.2017.01.013>
45. Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies with mitoxantrone in the treatment of patients with nasopharyngeal carcinoma / O. Y. Hu [et al.] // *Cancer*. 1992. Vol. 69 (4). P. 847–853. DOI: [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19920215\)69:4<847::AID-CNCR2820690402>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19920215)69:4<847::AID-CNCR2820690402>3.0.CO;2-L)
46. Potential protective mechanisms of green tea polyphenol EGCG against COVID-19 / Z. Zhang [et al.] // *Trends in Food Science & Technology*. 2021. Vol. 114. P. 11–24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.023>
47. Pradeep T. P., Barthwal R. NMR structure of dual site binding of mitoxantrone dimer to opposite grooves of parallel stranded G-quadruplex [d-(TTGGGGT)]<sub>4</sub> // *Biochimie*. 2016. Vol. 128–129. P. 59–69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.07.005>
48. Pyridine Derivative of the natural alkaloid berberine as human telomeric G4-DNA binder: a solution and solid-state study / F. Papi [et al.] // *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 2020. Vol. 11 (5). P. 645–650. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.9b00516>
49. QGRS-conserve: A computational method for discovering evolutionarily conserved G-quadruplex motifs / S. Frees [et al.] // *Human Genomics*. 2014. Vol. 8. P. 8. DOI: <https://doi.org/10.1186/1479-7364-8-8>
50. Review on chemistry of natural and synthetic indolizines with their chemical and pharmacological properties / C. Sandeep [et al.] // *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 2017. Vol. 8 (2). P. 49–60. URL: <https://www.jbclinpharm.org/articles/review-on-chemistry-of-natural-and-synthetic-indolizines-with-their-chemical-and-pharmacological-properties.html>



51. RNA synthesis is modulated by G-quadruplex formation in Hepatitis C virus negative RNA strand / C. Jaubert [et al.] // *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8 (1). P. 8120. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43445-7>
52. Ruggiero E., Richter S. N. G-quadruplexes and G-quadruplex ligands: targets and tools in antiviral therapy // *Nucleic Acids Research*. 2018. Vol. 46 (7). P. 3270–3283. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky187>
53. Small molecule-induced DNA damage identifies alternative DNA structures in human genes / R. Rodriguez [et al.] // *Nature Chemical Biology*. 2012. Vol. 8 (3). P. 301–310. DOI: <https://doi.org/10.1038/nchembio.780>
54. Small molecules targeting c-Myc oncogene: promising anti-cancer therapeutics / B.-J. Chen [et al.] // *International Journal of Biological Sciences*. 2014. Vol. 10 (10). P. 1084–1096. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijbs.10190>
55. Spiegel J., Adhikari S., Balasubramanian S. The structure and function of DNA G-quadruplexes // *Trends in Chemistry*. 2020. Vol. 2 (2). P. 123–136. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trechm.2019.07.002>
56. Structural and conformational requisites in DNA quadruplex groove binding: another piece to the puzzle / S. L. Cosconati [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. 2010. Vol. 132 (18). P. 6425–6433. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja1003872>
57. Structural and thermodynamic studies of the interaction of distamycin A with the parallel quadruplex structure [d(TGGGGT)]<sub>4</sub> / A. Martino [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. 2007. Vol. 129 (51). P. 16048–16056. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja075710k>
58. Structural insights into the anti-cancer activity of quercetin on G-tetrad, mixed G-tetrad, and G-quadruplex DNA using quantum chemical and molecular dynamics simulations / S. Vinnarasi [et al.] // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2020. Vol. 38(2). P. 317–339. DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2019.1574239>
59. Study of the interaction between indole-based compounds and biologically relevant G-quadruplexes / J. Carvalho [et al.] // *Biochimie*. 2017. Vol. 135. P. 186–195. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2017.02.005>
60. Synthesis and evaluation of fused bispyrimidinoacridines as novel pentacyclic analogues of quadruplex-binder BRACO-19 / J. Debray [et al.] // *Organic and Biomolecular Chemistry*. 2009. Vol. 7 (24). P. 5219–5228. DOI: <https://doi.org/10.1039/B912716J>
61. Synthesis and G-quadruplex stabilizing properties of a series of oxazole-containing macrocycles / G. S. Minhas [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2006. Vol. 16 (15). P. 3891–3895. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.05.038>
62. Synthesis of a potent G-quadruplex-binding macrocyclic hepta-oxazole / M. Tera [et al.] // *ChemBioChem*. 2009. Vol. 10 (3). P. 431–435. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbic.200800563>
63. Synthesis of oligonucleotides containing novel G-clamp analogue with C8-tethered group in phenoxazine ring: Implication to qPCR detection of the low-copy Kemerovo virus dsRNA / A. Varizhuk [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2017. Vol. 25 (14). P. 3597–3605. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.03.062>
64. Targeting G-quadruplex DNA as cognitive function therapy for ATR-X syndrome / N. Shioda [et al.] // *Nature Medicine*. 2018. Vol. 24 (6). P. 802–813. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0018-6>
65. The G-quadruplex DNA stabilizing drug pyridostatin promotes DNA damage and downregulates transcription of Brca1 in neurons / J. F. Moruno-Manchon [et al.] //

Aging (Albany NY). 2017. Vol. 9 (9). P. 1957–1970. DOI: <https://doi.org/10.18632/aging.101282>

66. The G-quadruplex ligand telomestatin inhibits POT1 binding to telomeric sequences in vitro and induces GFP-POT1 dissociation from telomeres in human cells / D. Gomez [et al.] // *Cancer Research*. 2006. Vol. 66. P. 6908–6912. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-06-1581>

67. Topology specific stabilization of promoter over telomeric G-quadruplex DNAs by bisbenzimidazole carboxamide derivative / V. Dhamodharan [et al.] // *ACS Chemical Biology*. 2015. Vol. 10 (3). P. 821–833. DOI: <https://doi.org/10.1021/cb5008597>

68. Wawrzyniak S, Rzepiński Ł. Is there a new place for mitoxantrone in the treatment of multiple sclerosis? // *Neurologia i Neurochirurgia Polska*. 2020. Vol. 54 (1). P. 54–61. DOI: <https://doi.org/10.5603/pjnns.a2019.0069>

69. Zee-Cheng R. K. Y., Cheng C. C. *Drugs of the Future*. 1983. Vol. 8 (5). P. 228. URL: [https://journals.prous.com/journals/servlet/xmlxsl/pk\\_journals.xml\\_toc\\_pr?p\\_JournalID=2&p\\_IssueID=158](https://journals.prous.com/journals/servlet/xmlxsl/pk_journals.xml_toc_pr?p_JournalID=2&p_IssueID=158)