

УДК 547.75, 547.865.7, 577.113

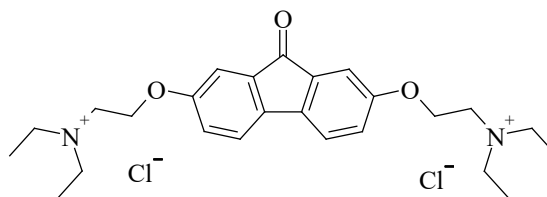
**О. С. Карпенко¹, О. О. Бойко², М. О. Шибінська¹, Н. А. Кутузова^{1,2},
С. А. Ляхов¹**¹Фізико-хімічний інститут ім. О.В.Богатського НАН України, Люстдорфська дорога, 86, м. Одеса, 65080, Україна, *e-mail: alex_chem_2@ukr.net*²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра фармацевтичної хімії, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082, Україна**СИНТЕЗ ТА АФІНІТЕТ ДО ДНК 1-ДІАЛКІЛАМІНО-3-ІНДОЛО[2,3-В]ХІНОКСАЛІН-6-ІЛПРОПАН-2-ОЛІВ**

Похідні індоло[2,3-*b*]хіноксаліну (**2**) проявляють себе як противірусні та інтерферогенні агенти, здатні до інтеркаляції у ДНК. Покращені умови синтезу та отримані нові похідні (**3a-e**) – гідроксивмісні аналоги **2** ($m=n=1$, X = CH₂). Спектрофлуориметричним методом вивчений афінитет до ДНК сполук **3a-b**. Показано, що вони мають дещо нижчі значення констант асоціації у порівнянні з похідними **2a-e**, що не містять ОН-групу.

Ключові слова: індоло[2,3-*b*]хіноксалін, афінитет до ДНК, органічний синтез.

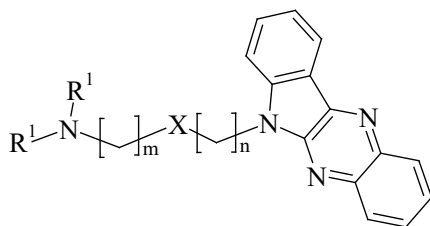
Вступ

Взаємодія нуклеотропних сполук із ДНК є одним з основних механізмів прояву ними як негативних токсичних [1], мутагенних [2], канцерогенних [3], так і позитивних протипухлинних [4, 5], противірусних [6, 7] та антимікробних [8, 9] властивостей. Протягом багаторічних цілеспрямованих пошуків серед багатьох низькомолекулярних речовин, здатних до зворотнього зв'язування із ДНК (інтеркаляції), було знайдено чимало представників з високою противірусною та інтерферогенною активністю та низькою токсичністю, позбавлених здатності викликати мутації та провокувати ріст пухлин. Одним з таких препаратів є «Аміксин» (**1**), більш ніж 15-річне використання якого довело його ефективність та безпечність [10].

Аміксин (Tilorone) **1**

Особливістю будови молекули аміксіну (та його аналогів) є наявність у структурі планарного фрагменту, що обумовлює його здатність до інтеркаляції в двоспиральні полінуклеотиди [11, 12]. Така взаємодія, на нашу думку, є ключовою для прояву аміксіном та його структурними аналогами противірусної та інтерферогенної активності.

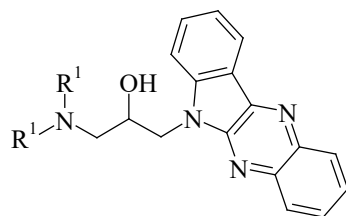
Синтезовані та досліджені раніше планарні поліциклічні сполуки із класу індоло[2,3-*b*]хіноксалінів загальної формули **2** проявили здатність до інтеркаляції у ДНК, високу противірусну та інтерфероніндукуючу активність, причому ці біологічні властивості суттєво залежали від довжини бокового ланцюга, зв'язуючого термінальну аміногрупу з планарним фрагментом [13].



2

$(n + m) = 1 - 5$; X = CH₂, NH, O, CONH, COO; R¹ = Alk

Для взаємодії протонованої термінальної аміногрупи інтеркальованого в ДНК індолохіноксаліну із негативно зарядженим фосфатом, необхідною є достатньо тісна взаємодія лінкерного фрагменту із дном малого жолобу. З огляду на це наявність в лінкерному фрагменті функціональних груп, здатних до утворення водневих зв'язків, має справляти неабиякий вплив на афінитет таких лігандів до ДНК і позначатися на біологічній активності [14, с. 384 – 413]. Дослідженню такого типу **3** сполук та впливу гідроксильної групи, як типового представника функціональних груп, що здатні утворювати водневі зв'язки, на властивості аміноалкіліндолохіноксалінів і присвячена представлена робота.



3
R¹ = Alk

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для хімічних перетворень використані реактиви за чистотою не нижче ступеню «хч». У всіх експериментах використана деіонізована вода ($\rho = 18,2 \text{ М}\Omega \times \text{см}$). Спектри ¹H ЯМР реєстрували в розчинах CDCl₃ та DMSO-*d*₆ відносно ТМС на приборах «Varian VXR-300» (300 МГц), мас-спектри БША – на спектрометрі VG 70-70 EQ. Іонізація здійснювалася пучком атомів Аргону з енергією 10 кВ (речовини розчиняли у 3-нітробензиловому спирті). Для контролю чистоти синтезованих речовин використовували метод ТШХ на платівках «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ».

6-Епоксипропіл-6Н-індоло[2,3-в]хіноксалін (5).

Метод А, аналогічно [15]. До розчину 8 г (0.0365 моль) 5 у 80 см³ 1,4-діоксану додають розчин 7.3 г (0.1825 моль) їдконого натру в 11 см³ води і 16.9 см³ (0.1826 моль) епіхлоргідрину. Суміш перемішують протягом 4 год при 60 °С. Перебіг синтезу контролюють за ТШХ. Відфільтровують утворений осад, фільтрат переносять у роздільну воронку, розбавляють 100 см³ води і екстрагують бензолом (3·50 см³). Бензольний екстракт промивають водою до нейтральної реакції промивної води за індикаторним папером і випаровують розчинник у вакуумі. Залишок перекристалізують з гептану. Вихід: 5.3 г (66 %). C₁₇H₁₃N₃O; М.В. 275.31. Т. пл. 108 – 110 °С. Мас-спектр (БША) – m/z (I, %): 276 (100) – МН⁺; 232 (28); 154 (63); 137 (52).

Метод Б. До розчину 4 г (0.01825 моль) 5 у 40 см³ 1,4-діоксану додають розчин 3.65 г (0.09125 моль) їдконого натру в 5.5 см³ води і 8.45 см³ (0.0913 моль) епіхлоргідрину. Суміш перемішують протягом 4 год при 60 °С. Перебіг синтезу контролюють за ТШХ. Утворену синтетичну масу обережно випаровують досуха. Отриманий залишок використовують у наступній стадії синтезу.

6-[2-Гідрокси-3-(морфолін-4-іл)-пропіл]-6Н-індоло[2,3-в]хіноксалін (3с).

Суміш 1.00 г 7 (0.0036 моль), 0.63 см³ морфоліну (0.072 моль) та 40 см³ 1,4-діоксану перемішують на магнітній мішалці при помірному нагріванні (t ≤ 60 °С) протягом 6 год. Перебіг синтезу контролюють за ТШХ. Після закінчення реакції вміст колби випаровують досуха при зниженому тиску (t ≤ 60 °С, P ≈ 30 мм рт.ст.). Отриманий залишок екстрагують гептаном. Екстракт випаровують досуха. Залишок очищують методом колонкової хроматографії (сорбент – силікагель, елюент – бензол-триетиламін 50:1). Вихід: 0.64 г (64 %). C₂₁H₂₂N₄O₂; М.В. 362.44. Т. пл. 145 – 146 °С. Мас-спектр (БША) – m/z (I, %): 363 (45) – МН⁺; 232 (17); 127 (25); 97 (6). Спектр ¹Н ЯМР – аліфатичні СН: д.д. 4.496 – 4.664 м.ч. (2Н, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂O); т. 4.347 – 4.359 м.ч. (1Н, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂O); м. 4.347 – 4.359 м.ч. (1Н, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂O); м. 2.456 – 2.588 м.ч. (6Н, CH₂N(CH₂CH₂)₂O); т. 3.682 м.ч., (4Н, N(CH₂CH₂)₂O); ароматичні СН: д. 8.447 – 8.468 м.ч (1Н); д. 8.284 – 8.307 м.ч. (1Н); д. 8.087 – 8.112 м.ч. (1Н); т. 7.365 – 7.403 м.ч. (1Н); м. 7.659 – 7.773 м.ч. (4Н).

Аналогічно отримують сполуки 3а-е.

6-[2-Гідрокси-3-(4-метилпіперидин-1-іл)-пропіл]-6Н-індоло[2,3в]хіноксалін (3е). Вихід: 0.84 г (74 %). C₂₃H₂₆N₄O; М.В. 374.49. Т. пл. 146 – 147 °С. Мас-спектр (БША) – m/z (I, %): 375 (40) – МН⁺; 255 (33); 217 (40); 138 (30). Спектр ¹Н ЯМР – аліфатичні СН: д.д. 4.452 – 4.625 м.ч. (2Н, NCH₂CH(OH)CH₂-N(CH₂CH₂)₂CHCH₃); т. 4.297 – 4.347 м.ч. (1Н, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂CHCH₃); м. 4.297 – 4.347 м.ч. (1Н, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂-CHCH₃); м. 2.417 – 2.503 м.ч. (6Н, CH₂N(CH₂CH₂)₂CHCH₃); м. 1.145 – 1.238 м.ч., (6Н, CH₂N(CH₂CH₂)₂CHCH₃); ароматичні СН: д. 8.427 – 8.446 м.ч (1Н); д. 8.265 – 8.285 м.ч. (1Н); д. 8.084 – 8.105 м.ч. (1Н); т. 7.357 – 7.369 м.ч. (1Н); м. 7.676 – 7.744 м.ч. (4Н).

6-[2-Гідрокси-3-(піперидин-1-іл)-пропіл]-6Н-індоло[2,3-в]хіноксалін (3б). Вихід: 0.67 г (67 %). C₂₂H₂₄N₄O; М.В. 360.46. Т. пл. 139 – 140 °С. Мас-спектр (БША) – m/z (I, %): 361 (10) – МН⁺; 202 (13); 154 (27); 104 (100). Спектр ¹Н ЯМР – аліфатичні СН: д.д. 4.463 – 4.637 м.ч. (2Н, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂CH₂); т. 4.275 – 4.342 м.ч. (1Н, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂CH₂); м. 4.012 – 4.001 м.ч.

(1H, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂CH₂); м. 2.261 – 2.556 м.ч. (6H, CH₂N(CH₂CH₂CH₂)); м. 1.233 – 1.593 м.ч. (6H, CH₂N(CH₂CH₂)₂CH₂); ароматичні СН: д. 8.405 – 8.425 м.ч. (1H); д. 8.269 – 8.289 м.ч. (1H); д. 8.046 – 8.069 м.ч. (1H); т. 7.361 – 7.398 м.ч. (1H); м. 7.678 – 7.770 м.ч. (4H).

6-[2-Гідрокси-3-(4-метилпіперазин-1-іл)-пропіл]-6H-індоло[2,3b]хіноксалін (3d). Вихід: 0.43 г (53 %). C₂₂H₂₅N₅O; М.В. 375.48. Т. пл. 150 – 151 °С. Мас-спектр (БША) – m/z (I, %): 376 (90) – МН⁺; 327 (9); 232 (28); 217 (53). Спектр ¹H ЯМР – аліфатичні СН: д.д. 4.450 – 4.624 м.ч. (2H, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂N); т. 4.272 – 4.332 м.ч. (1H, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂-CH₂)₂N); м. 4.272 – 4.332 м.ч. (1H, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂N); д.т. 3.346 – 3.537 м.ч. (4H, CH₂N(CH₂CH₂)₂N); м. 2.232 – 2.455 м.ч. (9H, CH₂N(CH₂-CH₂)₂N(CH₃)); ароматичні СН: д. 8.420 – 8.439 м.ч. (1H); д. 8.253 – 8.276 м.ч. (1H); д. 8.069 – 8.089 м.ч. (1H); т. 7.336 – 7.371 м.ч. (1H); м. 7.634 – 7.742 м.ч. (4H).

6-[2-Гідрокси-(3-гексаметиленамін-1-іл)-пропіл]-6H-індоло[2,3-b]хіноксалін (3e). Вихід: 0.7 г (70 %). C₂₃H₂₆N₄O; М.В. 374.49. Т. пл. 128 – 130 °С. Мас-спектр (БША) – m/z (I, %): 375 (50) – МН⁺; 272 (12); 217 (45); 149 (20). Спектр ¹H ЯМР – аліфатичні СН: д.д. 4.419 – 4.619 м.ч. (2H, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂O); т. 4.192 – 4.241 м.ч. (1H, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂O); м. 4.192 – 4.241 м.ч. (1H, NCH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₂)₂O); м. 2.612 – 2.747 м.ч. (6H, CH₂N(CH₂CH₂CH₂)); м. 1.540 – 1.687 м.ч. (8H, CH₂N(CH₂CH₂CH₂)); ароматичні СН: д. 8.411 – 8.430 м.ч. (1H); д. 8.249 – 8.269 м.ч. (1H); д. 8.071 – 8.091 м.ч. (1H); т. 7.325 – 7.364 м.ч. (1H); м. 7.624 – 7.749 м.ч. (4H).

6-(3-Азепан-1-ілпропіл)-6H-індоло[2,3-b]хіноксалін (2e). Розчиняють 0.65 г (0.0022 моль) 6-(3-хлоропропіл)-6H-індоло[2,3-b]-хіноксаліну в 20 см³ ДМФА, додають 1.5 см³ (1.32 г, 0.0133 моль) гексаметиленаміну та 0.16 г (0.00044 моль) тетрабутиламоній йодиду. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 12 год., потім випаровують досуха. Кубовий залишок розчиняють в 20 см³ бензолу, екстрагують 10%-ою оцтовою кислотою (3·30 см³). У водний екстракт додають насичений розчин Na₂CO₃ до рН 8 – 9. Потім екстрагують хлороформом (3·20 см³), сушать Na₂SO₄ та випаровують досуха. Кубовий залишок очищують методом колонкової хроматографії (сорбент – силікагель, елюент – бензол-триетиламін 10:1). Вихід: 0.58 г (74 %). C₂₃H₂₆N₄; М.В. 358.49. Т. пл. (гідрохлориду) > 250 °С. Мас-спектр (БША) – m/z (I, %): 359 (100) – МН⁺; 260 (34); 232 (12); 220 (14). Гідрохлоридну сіль даної сполуки отримували додаванням до розчину сполуки у 1,4-діоксані насиченого розчину НСІ у тому ж розчиннику до кислої реакції розчину за універсальним індикаторним папером. Осад, що виділяється відфільтровують, промивають на фільтрі етером та висушують на повітрі.

Аналогічно отримували сполуки **2a-d** [20].

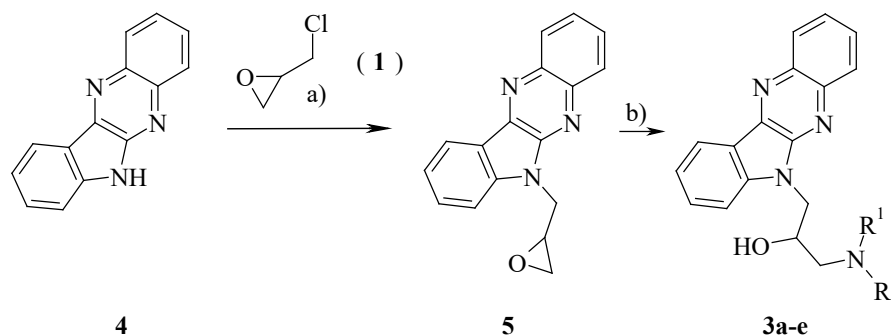
Метод конкуренції з етидієм бромідом

Розчин А, що містить 2.12·10⁻⁵ М ДНК великої рогатої худоби, 2.54·10⁻⁵ М етидію броміду, 3.73·10⁻² М хлориду натрію, 8.00·10⁻³ М ацетату натрію (у складі ацетатного буферу з рН 5.5) розбавляють у два рази дистильованою водою та отримують розчин А'. Точну наважку досліджуваної сполуки (10 мг) розчиняють у 10 см³ дистильованої води. Змішують 3 см³ отриманого розчину досліджуваної сполуки у воді та 3 см³ розчину А (отримують розчин у точці «14»). Експериментальні точки «1 – 13» отримують послідовним дворазовим розведенням (2 см³ + 2 см³) точки

«14» розчином «А'». У кювету спектрофлуориметру (Solar CM2203) вносять досліджуваний розчин, кювету поміщують у кюветотримач та реєструють спектр флуоресценції у інтервалі довжин хвиль 550 – 700 нм при опромінюванні світлом із довжиною хвилі 535 нм. Величину C_{50} отримують як точку перегину графіку залежності відносної інтенсивності флуоресценції розчинів 1 – 14 від десятичного логарифму концентрації досліджуваної речовини.

Результати досліджень та їх аналіз

Синтез цільових сполук було виконано за схемою, наведеною на рис. 1. Алкілуванням 6-Н-індоло[2,3-*b*]хіноксаліну (**4**) дією великого надлишку епіхлорогідрину (**6**) синтезували 6-(оксіранілметил)індолохвноксалін (**5**). Вихід при цьому не перевищував 10 %, а продукт був забруднений смолоподібними речовинами.



a) 8 Моль 2-хлорометил-оксирану, 1,4-діоксан, NaOH, кип., 60-70 %.

b) 5 Моль HNR^1_2 , 1,4-діоксан, кип., 50-75 %.

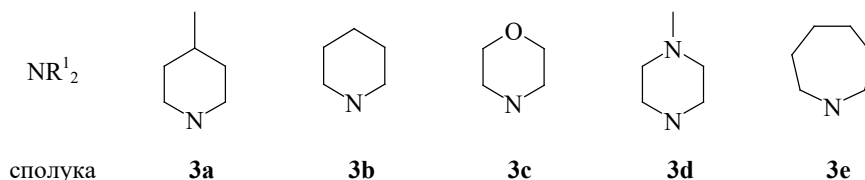


Рис. 1. Схема синтезу цільових сполук

Для підвищення виходу та чистоти **5** нами проведено оптимізацію умов синтезу та виділення цього напівпродукту. Найкращі результати (вихід сирого продукту до 70 %) були отримані при кип'ятінні індолохіноксаліну із надлишком епіхлорогідрину у 1,4-діоксані (метод 5, табл. 1).

Цільові сполуки **3a-e** отримували тривалим кип'ятінням суміші продуктів, яка містила **5** із надлишком відповідного вторинного аміну. Контроль ступеню трансформації здійснювали за ТШХ (сілікагель, бензол/триетиламін 10:1). Після видалення летючих компонентів реакційної суміші, цільові сполуки виділяли препаративною хроматографією, будову підтвердили методом мас-спектрометрії FAB та ^1H ЯМР спектроскопії.

Таблиця 1

Умови отримання сполуки 6

№ з/п	розчинник	Основа	надлишок 4	Вихід 6, %
1	епіхлоргідрин	NaOH aq.	50	10
2	дихлорметан	NaOH aq.	2	сліди (за ТШХ)
3	ДМФА	NaOCH ₃	3	сліди (за ТШХ)
4	ацетонітрил	NaOCH ₃	3	20
5	1,4-діоксан	NaOH aq.	8	70

Афінитет до ДНК вивчали методом конкуренції з етидієм бромідом за зменшенням флуоресценції комплексу ДНК – етидій бромід (при сталій концентрації) при підвищенні концентрації цільових сполук **3a-e** [17]. Десятковий логарифм константи асоціації досліджуваної сполуки з ДНК ($\lg K_a$) розраховували за формулою 1

$$\lg K_a = \lg C_{Et} - \lg C_{50} + \lg K_{Et} \quad (1)$$

де

K_a – константа асоціації з ДНК досліджуваної речовини,

K_{Et} – константа асоціації з ДНК етидію броміду (за [18] $K_{Et} = 10^7 \text{ M}^{-1}$),

C_{50} – концентрація досліджуваного ліганду, що приводить до зниження інтенсивності флуоресценції на 50 %,

C_{Et} – концентрація етидію броміду, яка була застосована у експерименті.

Статистичну обробку виконували згідно [19, с. 298 – 303] при $P < 0.05$.

Структурні формули синтезованих раніше [20] сполук порівняння наведені на рис. 2, а результати досліджень афінитету до ДНК обох груп сполук – у табл. 2.

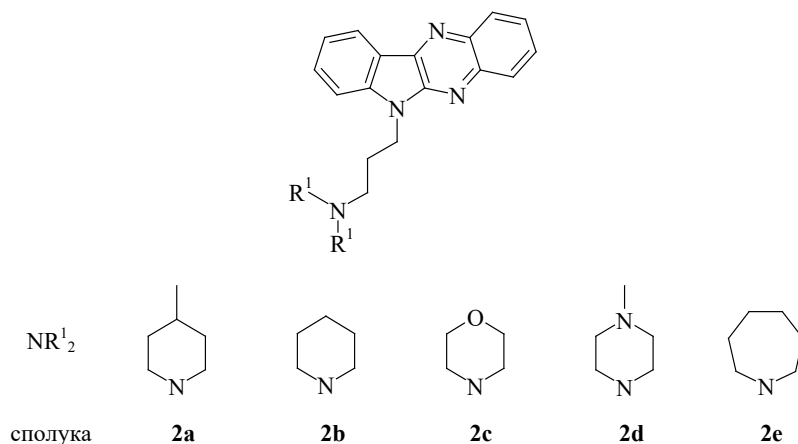


Рис. 2. Будова 6-амінопропіліндолохіноксалінів

Таблиця 2

Афінитет до ДНК сполук 3а-е та 2а-е					
сполука	lg K _a	ε _{p<0.05}	Сполука	lg K _a	ε _{p<0.05}
3а	5.86	0.07	2а	6.07	0.07
3b	5.63	0.16	2b	6.04	0.15
3c	5.66	0.04	2c	6.09	0.14
3d	5.72	0.08	2d	6.37	0.07
3e	5.89	0.09	2e	6.66	0.03

Отримані дані було проаналізовано методом двофакторного дисперсійного аналізу без повторень та доведено, що факт наявності гідроксильної групи у лінкерному ланцюзі із вірогідністю > 95 % впливає на афінитет до ДНК ($F = 25.378$ при $F_{кр} = 7.709$; P -значення = 0.007). Іншими словами – ці дві групи сполук значуще відрізняються одна від одної. Водночас, на тому ж рівні вірогідності вплив будови діалкіламінового фрагменту (–NR12) на афінитет до ДНК виявлений не був.

Таким чином, «введення» гідроксигрупи у боковий ланцюг значно зменшує афінність (на 0.21 – 0.65 одиниць) до ДНК, що, ймовірно, може бути пов'язано зі стерично не вигідним розташуванням ОН-групи у складі інтеркаляційного комплексу або не вигідним гідрофобним оточенням місця розташування лінкеру при інтеркаляції.

ВИСНОВКИ

Показано, що розроблений метод синтезу 6-[2-гідрокси-(3-амінопропіл)-6Н-індоло[2,3-*b*]хіноксалінів дозволяє отримувати широкий спектр похідних. Нами встановлено, що введення гідроксильної групи у бічний ланцюг похідних 6-амінопропіліндолохіноксалінів дещо зменшує афінитет до ДНК.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Ferguson L.R., Denny W.A.* Genotoxicity of non-covalent interactions: DNA intercalators // *Mutat. Res.* – 2007. – Vol. 1, N 623 (1-2). – P. 14 – 23. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.03.014>
2. *Mattes W.B., Kapughian J.C., Lasinski E.R., O'Lone S.D., Puri E.C., Matheson D.W.* Correlation of frameshift mutagenicity with DNA intercalation by CGS 20928A using an *in vitro* DNA unwinding assay // *Environ. Mol. Mutagen* – 1993. – Vol. 22, N 1. – P. 46 – 53. <https://doi.org/10.1002/em.2850220108>
3. *Ames B.N., Gurney E. G., Miller J.A., Bartsch H.* Carcinogens as Frameshift Mutagens: Metabolites and Derivatives of 2-Acetylaminofluorene and Other Aromatic Amine Carcinogens (aromatic nitroso carcinogens/carcinogen detection with Salmonella/DNA intercalation) // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – Vol. 69, N 11. – P. 3128 – 3132. <https://doi.org/10.1073/pnas.69.11.3128>
4. *Denny W.A.* DNA-intercalating ligands as anti-cancer drugs: prospects for future design // *Anticancer Drug Des.* – 1989. – Vol. 4, N 4. – P. 241 – 263.
5. *Skarin T., Rozell B.L., Bergman J., Toftgard R., Möller L.* Protection against 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced skin-hyperplasia and tumor promotion, in a two-stage carcinogenesis mouse model, by the 2,3-dimethyl-6- (2-dimethylaminoethyl)-6H-indolo-[2,3-*b*]quinoxaline analogue of ellipticine // *Chem. Biol. Interact.* – 1999. – Vol. 122, N 2. – P. 89 – 106. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(99\)00117-9](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(99)00117-9)

- Harmenberg J., Wahren B., Bergman J., Akerfeldt S., Lundblad L. Antiherpes virus activity and mechanism of action of indolo[2,3-b]quinoxaline and analogs // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1988. – Vol. 32, N 11. – P. 1720 – 1724. <https://doi.org/10.1128/AAC.32.11.1720>
- Harmenberg J., Akesson-Johansson A., Graslund A., Malmfors T., Bergman J., Wahren B., Akerfeldt S., Lundblad L., Cox S. The mechanism of action of the antiherpes virus compound 2,3-dimethylamino-6-(2-dimethylaminoethyl)6H-indolo (2,3-b)quinoxaline // *Antiviral Res.* – 1991. – Vol. 15, N 3. – P. 193 – 204. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(91\)90066-Z](https://doi.org/10.1016/0166-3542(91)90066-Z)
- Tacar O., Sriamornsak P., Dass C.R. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 65, N 2. – P. 157 – 170. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2012.01567.x>
- Varma R.S., Pandey R.K. Synthesis of substituted indophenazines // *Arch. Pharm.* – 1981. – Vol. 314, N 4. – P. 307 – 310. <https://doi.org/10.1002/ardp.19813140405>
- Sel'kova E.P., Iakovlev V.N., Semenenko T.A., Filatov N.N., Gotvianskaia T.P., Danilina G.A., Pantiukhova T.N., Nikitina G.I., Tur'ianov M.K. Evaluation of amyxin effect in prophylaxis of acute respiratory viral infections // *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* – 2001. – N 3. – P. 42–46.
- Lerman L. S. The structure of the DNA-acridine complex // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1963. – Vol. 49, N 1. – P. 94 – 102. <https://doi.org/10.1073/pnas.49.1.94>
- Nishimura T., Okobira T., Kelly A.M., Shimada N., Takeda Y., Sakurai K. DNA Binding of Tilorone: 1H NMR and Calorimetric Studies of the Intercalation // *Biochem.* – 2007. – Vol. 46, N 27. – P. 8156 – 8163. <https://doi.org/10.1021/bi602402m>
- Шибінська М.О. Синтез, біологічна активність та зв'язок структура-властивості в низці похідних 1H-індол-2,3-діону та 6H-індоло[2,3-b]хіноксаліну // Автореф. дис. ... канд. хім. наук. – Одеса, 2011. 24 с.
- Demeunynck M., Bailly C., Wilson W. D. Small Molecule DNA and RNA Binders: From Synthesis to Nucleic Acid Complexes. – Wiley-VCH. – 2003. – P. 754.
- Голубев А.А., Шлыков Ю.В., Мандругин А.А. Синтез и противотуберкулезная активность in vitro производных тетрагидрокарбазола. N-замещенные гексагидро-1H-пиразино[3,2,1-j,k]-карбазолы // *Хим.-фарм. журнал.* – 1986. – Т. 20, N 3. – С. 300 – 303.
- Schunck E., Marchlewski L. Zur Kenntniss der rothen Isomeren des Indigotins und über einige Derivate des Isatins // *Chem Berichte.* – 1895. – Vol. 28, N 3. – P. 2525 – 2531. <https://doi.org/10.1002/cber.189502801132>
- Shibinskaya M.O., Lyakhov S.A., Andronati S.A., Zholobak N.M., Spivak N.Y., Samochina N.A., Shafran L.M., Zubritsky M.J., Galat V.F. Synthesis and biological activity of 7H-benzo[4,5]indolo[2,3-b]-quinoxaline derivatives // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46, N 2. – P. 794 – 798. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.11.040>
- Antonini I., Polucci P., Kelland L.R., Menta E., Pescalli N., Martelli S. 2,3-Dihydro-1H,7H-pyrimido[5,6,1-de]acridine-1,3,7-trione derivatives, a class of cytotoxic agents active on multidrug-resistant cell lines: synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationships // *J. Med. Chem.* – 1999. – Vol. 42, N 14. – P. 2535 – 2541. <https://doi.org/10.1021/jm9805586>
- Лакун Г.Ф. Биометрия. – М: Высшая школа, 1990. – 358 с.
- Shibinskaya M.O., Kutuzova N.A., Mazepa A.V., Lyakhov S.A., Andronati S.A., Zubritsky M.Ju., Galat V.F., Lipkowski J., Kravtsov V.Ch. Synthesis of 6-Aminopropyl-6H-indolo[2,3-b]quinoxaline Derivatives // *J. Heter. Chem.* – 2012. – Vol. 49, N 3. – P. 678 – 682. <https://doi.org/10.1002/jhet.805>

Стаття надійшла до редакції 02.07.2018

А. С. Карпенко ¹, А. А. Бойко ², М. О. Шибинская ¹, Н. А. Кутузова ^{1,2},

С. А. Ляхов ¹

¹Фізико-хімічний інститут ім. А.В. Богатського НАН України, Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна, e-mail: alex_chem_2@ukr.net

²Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, кафедра фармацевтичної хімії, ул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

СИНТЕЗ И АФФИНТЕТ К ДНК 1-ДИАЛКИЛАМИНО-3-ИНДОЛО[2,3-В]ХИНОКСАЛИН-6-ИЛПРОПАН-2-ОЛОВ

Производные индоло[2,3-b]хиноксалина (**2**) проявляют себя как противовирусные и интерферогенные агенты, способные к интеркаляции в ДНК. Улучшены условия синтеза и получены новые производные (**7** – **11**) – гидроксисодержащие аналоги **2** (m = n = 1,

X = CH₃). Спектрофлуориметрическим методом изучен аффинитет к ДНК соединений 7 – 11. Показано, что целевые соединения имеют более низкие значения констант ассоциации в сравнении с производными 12 – 16, не содержащими ОН-группу.

Ключевые слова: индоло[2,3-*b*]хиноксалин, аффинитет к ДНК, органический синтез.

O. S. Karpenko¹, O. O. Boyko², M. O. Shibinskaya¹, N. A. Kutuzova^{1,2}, S. A. Lyakhov¹

¹A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, Lustdorfskaya doroga, 86, Odessa, 65080, Ukraine, e-mail: alex_chem_2@ukr.net
²I. I. Mechnikov Odessa National University, Department of Pharmaceutical Chemistry, Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65082. Ukraine

SYNTHESIS AND DNA AFFINITY OF 1-DIALKYLAMINO-3-INDOLO [2,3-B] QUINOXALINE-6-YLPROPAN-2-OLS

DNA intercalators demonstrated a broad spectrum of therapeutic activities, such as anticancerogenic, antimicrobial and antiviral as well as cytotoxic, mutagenic and embryotoxic. One of the main marks of DNA-drug interaction is the strength of interaction, which depends on the way of interaction (simple adsorption, minor groove binding or intercalation). It is important to understand that the most potent binder has a great chance to demonstrate high cytotoxic effect and there is no correlation between antiviral activity and association constant ($\lg K_a$) – we only assume the desired range.

On the other hand, continual investigation of DNA intercalators (such as fluorenones, acridines, naphthalimides and indoloquinoxalines) as a potential antiviral drugs demonstrated significantly high antiviral and interferonogenic activity and low toxicity of such compounds. On the last stage of our researches we had admit extremely high therapeutic potential of some 6-((dialkylamino)ethyl)indolo[2,3-*b*]quinoxalines. Due to determine the mode of action of indoloquinoxaline intercalators and to expand the number and variety of compounds for the following QSAR calculation we decided to obtain a set of 6-(2-(hydroxy)-3-(dialkylamino)propyl)indoloquinoxalines. Claimed compounds were obtained in two-steps synthesis out of unsubstituted indolo[2,3-*b*]quinoxaline. On the first step we obtained intermediate 6-(oxiranylmethyl)-6H-indolo[2,3-*b*]quinoxaline by treatment the start compound with epichlorohydrin in basic media. Next condensation of intermediate with dialkylamines lead to target compounds with average yields.

DNA binding properties were tested by spectrofluorimetric titration of complex DNA-ethidium bromide with our compounds and presented as $\lg K_a$. Comparison of $\lg K_a$ of target compound with their des-hydroxy analogues shows us a slight decline of DNA binding properties of target compounds, which we connect with steric factors.

Keywords: indolo[2,3-*b*]quinoxaline, DNA affinity, organic synthesis.

REFERENCES

1. Ferguson L.R., Denny W.A. *Genotoxicity of non-covalent interactions: DNA intercalators*. *Mutat. Res.*, 2007, vol. 1, no 623 (1-2), pp. 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.03.014>
2. Mattes W.B., Kapaghian J.C., Lasinski E.R., O'Lone S.D., Puri E.C., Matheson D.W. *Correlation of frameshift mutagenicity with DNA intercalation by CGS 20928A using an in vitro DNA unwinding assay*. *Environ. Mol. Mutagen.*, 1993, vol. 22, no 1, pp. 46–53. <https://doi.org/10.1002/em.2850220108>
3. Ames B.N., Gurney E. G., Miller J.A., Bartsch H. *Carcinogens as Frameshift Mutagens: Metabolites and Derivatives of 2-Acetylaminofluorene and Other Aromatic Amine Carcinogens (aromatic nitroso carcinogens/ carcinogen detection with Salmonella/DNA intercalation)*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, vol. 69, no 11, pp. 3128–3132. <https://doi.org/10.1073/pnas.69.11.3128>

- Denny W.A. *DNA-intercalating ligands as anti-cancer drugs: prospects for future design*. Anticancer Drug Des., 1989, vol. 4, no 4, pp. 241–263.
- Skarin T., Rozell B.L., Bergman J., Toftgard R., Möller L. *Protection against 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced skin-hyperplasia and tumor promotion, in a two-stage carcinogenesis mouse model, by the 2,3-dimethyl-6-(2-dimethylaminoethyl)-6H-indolo-[2,3-b]quinoxaline analogue of ellipticine*. Chem. Biol. Interact., 1999, Vol. 122, no 2, pp. 89–106. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(99\)00117-9](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(99)00117-9)
- Harmenberg J., Wahren B., Bergman J., Akerfeldt S., Lundblad L. *Antiherpes virus activity and mechanism of action of indolo[2,3-b]quinoxaline and analogs*. Antimicrob. Agents Chemother., 1988, vol. 32, no 11, pp. 1720–1724. <https://doi.org/10.1128/AAC.32.11.1720>
- Harmenberg J., Akesson-Johansson A., Graslund A., Malmfors T., Bergman J., Wahren B., Akerfeldt S., Lundblad L., Cox S. *The mechanism of action of the antiherpes virus compound 2,3-dimethylamino-6-(2-dimethylaminoethyl)6H-indolo (2,3-b)quinoxaline*. Antiviral Res., 1991, vol. 15, no 3, pp. 193–204. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(91\)90066-Z](https://doi.org/10.1016/0166-3542(91)90066-Z)
- Tacar O., Sriamornsak P., Dass C.R. *Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems*. J. Pharm. Pharmacol., 2013, vol. 65, no 2, pp. 157–170. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2012.01567.x>
- Varma R.S., Pandey R.K. *Synthesis of substituted indophenazines*. Arch. Pharm., 1981, vol. 314, no 4, pp. 307–310. <https://doi.org/10.1002/ardp.19813140405>
- Sel'kova E.P., Iakovlev V.N., Semenenko T.A., Filatov N.N., Gotvianskaia T.P., Danilina G.A., Pantiukhova T.N., Nikitina G.I., Tur'ianov M.K. *Evaluation of amyxin effect in prophylaxis of acute respiratory viral infections*. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol., 2001, no 3, pp. 42–46.
- Lerman L. S. *The structure of the DNA-acridine complex*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1963, vol. 49, no 1, pp. 94–102. <https://doi.org/10.1073/pnas.49.1.94>
- Nishimura T., Okobira T., Kelly A.M., Shimada N., Takeda Y., Sakurai K. *DNA Binding of Tilorone: 1H NMR and Calorimetric Studies of the Intercalation*. Biochem., 2007, vol. 46, no 27, pp. 8156–8163. <https://doi.org/10.1021/bi602402m>
- Shibinskaya M.O. *SynteZ, biologichna aktyvnist' ta zv'yazok struktura-vlastyivosti v nyzci pokhidnykh 1N-indol-2,3-dionu ta 6H-indolo[2,3-b]khinoksalinu*. Avtoref. diss. kand. khim. nauk [Synthesis, biological activity and structure-activity relationship of 1H-indole-2,3-dione and 6H-indolo [2,3-b] quinoxaline derivatives], Odessa, 2011, 24 p. (in Ukrainian)
- Demeunynck M., Bailly C., Wilson W. D. *Small Molecule DNA and RNA Binders*. From Synthesis to Nucleic Acid Complexes, Wiley-VCH, 2003, 754 p.
- Golubev A.A., Shlykov Yu.V., Mandrugina A.A. *Synthesis and antituberculosis activity in vitro of tetrahydrocarbazole derivatives. N-substituted hexahydro-1H-pyrazino [3,2,1-j, k] -carbazoles* [SynteZ i protyvo-tuberkuleznaya aktyvnost' in vitro proyzvodnykh tetrahydrokarbazola. N-zameshennyye heksahydro-1N-pyrazyno[3,2,1-j,k]-karbazoly] // Khim.-Pharm. Zhurnal (Pharmaceutical Chemistry Journal), 1986, vol. 20, no 3. pp. 300–303. (in Russian)
- Schunck E., Marchlewski L. *Zur Kenntniss der rothen Isomeren des Indigotins und über einige Derivate des Isatins*. Chem Berichte, 1895, vol. 28, no 3, pp. 2525–2531. <https://doi.org/10.1002/cber.189502801132>
- Shibinskaya M.O., Lyakhov S.A., Andronati S.A., Zholobak N.M., Spivak N.Y., Samochina N.A., Shafran L.M., Zubritsky M.J., Galat V.F. *Synthesis and biological activity of 7H-benzo[4,5]indolo[2,3-b]-quinoxaline derivatives*. Eur. J. Med. Chem., 2011, vol. 46, no 2, pp. 794–798. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.11.040>
- Antonini I., Polucci P., Kelland L.R., Menta E., Pescalli N., Martelli S. *2,3-Dihydro-1H,7H-pyrimido[5,6,1-de]acridine-1,3,7-trione derivatives, a class of cytotoxic agents active on multidrug-resistant cell lines: synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationships*. J. Med. Chem., 1999, vol. 42, no 14, pp. 2535–2541. <https://doi.org/10.1021/jm9805586>
- Lakin G.F. *Biometriya* [Biometry], Moskow, Vysshaya shkola, 1990, 358 p. (in Russian).
- Shibinskaya M.O., Kutuzova N.A., Mazepa A.V., Lyakhov S.A., Andronati S.A., Zubritsky M.J., Galat V.F., Lipkowski J., Kravtsov V.Ch. *Synthesis of 6-Aminopropyl-6H-indolo[2,3-b]quinoxaline Derivatives*. J. Heter. Chem., 2012, vol. 49, no 3. pp. 678–682. <https://doi.org/10.1002/jhet.805>