

АЛЕКСАНДРОВА ЮЛИЯ РОМАНОВНА

**ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНОСТЬ ГИДРОКСАМОВЫХ КИСЛОТ КАК
КЛЮЧЕВОЙ ФАКТОР ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ И НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ АГЕНТОВ**

1.5.4. Биохимия (биологические науки)

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Уфа-2023

Работа выполнена в Лаборатории биохимии патологических процессов Института физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук

Научный руководитель:

Неганова Маргарита Евгеньевна Кандидат химических наук

Официальные оппоненты:

Навроцкий Максим Борисович Руководитель группы «Медицинская химия»
Доктор химических наук, научного центра трансляционной медицины
профессор Автономной некоммерческой образовательной

организации высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус»»

Зоров Савва Дмитриевич
Кандидат биологических наук

Старший преподаватель факультета биоинженерии и
биоинформатики Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное
учреждение «Научно-исследовательский институт
биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»
(ИБМХ)

Защита диссертации состоится «12» апреля 2023 г. в «__» часов на заседании
Диссертационного совета 24.1.218.01 при Уфимском федеральном исследовательском
центре Российской академии наук по адресу: 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71,
конференцзал ИБГ УФИЦ РАН (ком. № 406).

С диссертацией можно ознакомиться на сайтах ВАК РФ и УФИЦ РАН
(<http://ufaras.ru/>), e-mail: molgen@anrb.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного
совета 24.1.218.01

доктор биологических наук, доцент

Гульназ Фаритовна Корытина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Одной из стратегически важных задач здравоохранения является улучшение качества жизни населения и вывод на рынок новых лекарственных средств, востребованных для терапии социально-значимых патологий, в первую очередь, онкологических и нейродегенеративных заболеваний. По оценкам Всемирной организации здравоохранения к 2030 году в мире от онкозаболеваний будут ежегодно умирать 15 млн. человек, а количество пациентов с различными формами нейродегенеративных заболеваний достигнет 70 млн. Ввиду того, что методы лечения данных патологий до сих пор остаются ограниченными, приоритетным направлением современной биомедицинской химии является разработка более эффективных подходов с целью получения лекарственных средств нового поколения, оказывающих влияние на несколько ключевых звеньев патогенеза заболеваний.

Гидроксамовые кислоты известны как один из перспективных классов химических соединений, обладающих широким спектром биологической активности (Mottamal et al., 2015). В качестве биомишеней, на которые могут воздействовать такие соединения, рассматриваются в первую очередь металлоферменты класса гистоновых деацетилаз как основные звенья эпигенетической регуляции (Qin et al., 2017), а также компоненты редокс-системы, участвующие в процессах, связанных с окислительным стрессом, и митохондрией. В связи с этим поиск в ряду гидроксамовых кислот потенциальных лекарственных средств с запрограммированными свойствами по отношению к специфическим терапевтическим мишеням и процессам, лежащим в основе патогенеза онкологических и нейродегенеративных заболеваний человека, является актуальным и перспективным направлением на стыке фундаментальных наук и здравоохранения, которое характеризуется высокой значимостью.

Положения, выносимые на защиту:

1. Выявленное в ряду спироциклических гидроксамовых кислот с аминокислотами, соединение, содержащее в структуре валин, обладает хемосенсибилизирующими свойствами на клеточной и животной моделях за счёт ингибирующей активности HDAC1.
2. Spiroциклические гидроксамовые кислоты на основе хиназолина проявляют высокую цитотоксическую активность в отношении клеток опухолевого происхождения за счет модуляции перекисного окисления липидов, деполяризирующего митохондриальную мембрану действия, снижения ферментативной активности HDAC1 и ингибирования гликолиза.
3. Наиболее перспективная линейная гидроксамовая кислота, содержащая в структуре фрагмент адамантана, проявляет комплексный тип

нейропротекторной активности за счёт антиоксидантной способности, ингибирования HDAC6 и препятствия агрегации β -амилоида, а также восстанавливает когнитивные функции мышей 5xFAD, моделирующих болезнь Альцгеймера.

4. Выявлена тенденция спироциклических гидроксамовых кислот проявлять противоопухолевые свойства, а для веществ линейной структуры, содержащих фармакофорные фрагменты адамантана и природных соединений, - оказывать нейропротекторное действие.

Степень разработанности темы исследования. Уже более трёх десятков лет гидроксамовые кислоты являются одним из перспективных классов химических соединений с доказанным противоопухолевым потенциалом. На сегодняшний день Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов одобрено использование трёх представителей данного класса для лечения кожной и периферической Т-клеточной лимфомы и множественной миеломы - вориностат, панобиностат и белиностат (Cappellacci et al., 2020), что наглядно подтверждает перспективность поиска антинеопластических агентов среди гидроксамовых кислот. Кроме того, в последние годы показана успешность использования гидроксамовых кислот и в терапии нейродегенеративных заболеваний за счёт способности препятствовать нейрональной гибели и восстанавливать когнитивные функции (Chopra et al., 2016). Однако, несмотря на многочисленные попытки создания терапевтических средств на основе гидроксамовой кислоты, до сих пор отсутствуют высокоэффективные противоопухолевые или нейропротекторные агенты, которые могли бы синергетически сочетать в себе свойства, модулирующие патологические каскады, без потери эффективности в отношении ключевых мишеней действия соединений данного класса - гистоновых деацетилаз.

В связи с этим всестороннее исследование биологической активности ранее не описанных гидроксамовых кислот различных хемотипов является перспективным направлением получения новых многоцелевых потенциальных лекарственных препаратов противоопухолевой или нейропротекторной направленности.

Цель исследования: поиск потенциальных полифункциональных противоопухолевых или нейропротекторных соединений среди гидроксамовых кислот различных хемотипов.

Задачи исследования:

1. Провести *in vitro* и *in vivo* исследование хемосенсибилизирующих свойств спироциклических гидроксамовых кислот, содержащих аминокислоты, и определить потенциальный механизм действия.

2. Изучить противоопухолевый потенциал спироциклических гидроксамовых кислот, имеющих в структуре хиназолиновое ядро. Определить механизмы цитотоксического действия - влияние на окислительный стресс, эпигенетическую регуляцию, митохондриальные характеристики и процесс гликолиза.
3. Исследовать *in vitro* и *in vivo* нейропротекторные свойства гидроксамовых кислот линейной структуры, содержащих фрагменты адамантана и природных соединений.

Научная новизна. В рамках выполнения диссертационного исследования впервые был проведен комплексный *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* анализ биологической активности ряда ранее не описанных гидроксамовых кислот, включая спироциклические гидроксамовые кислоты, а также соединения с линейной структурой. Были получены данные о возможных механизмах фармакологического действия перспективных субстанций на основе гидроксамовой кислоты на молекулярном и клеточном уровнях, вовлечённых в патогенез онкологических заболеваний и нейродегенеративных патологий.

Теоретическая и практическая значимость. Помимо получения новых фундаментальных знаний о роли новых ранее не описанных гидроксамовых кислот в терапии онкологических и нейродегенеративных заболеваний диссертационная работа имеет выраженный практический результат. По итогам изучения биологической активности соединений определены вещества с высоким терапевтическим потенциалом. Данные соединения могут быть как основой для дальнейшей химической оптимизации с целью разработки эффективных полифармакофорных препаратов, так и самостоятельными единицами, рекомендованными для дальнейших исследований в доклинических испытаниях и последующего практического использования в фармацевтической отрасли.

Методология и методы исследования. В основу методологического подхода, использованного в данной работе, положены современные методы *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* анализа, включающие комплексное применение биохимических, гистологических, гистохимических, поведенческих и статистических методик, а также анализа описанных в литературе экспериментальных данных ведущих авторов в области биомедицинской химии и фармакологии.

Степень достоверности и апробация работы. Объективность и достоверность полученных результатов подтверждены использованием современного научного оборудования, валидированных и актуальных методов, а также корреляцией с литературными данными и высоким рейтингом опубликованных научных работ. Анализ результатов проведен с применением различных приемов статистической

обработки и привлечением достаточного числа биологических и аналитических повторностей. Выводы, сформулированные по результатам диссертационной работы, соответствуют поставленным задачам.

Результаты работы представлены на российских и международных научных конференциях, в том числе в виде устных и стендовых докладов на Конгрессе молодых ученых ИТМО (Санкт-Петербург, 2019); 10th Anniversary World Congress on Targeting Mitochondria (Berlin, 2019); European Neuropsychopharmacology (Copenhagen, 2019); Международные научно-практические фестивали «Молодая наука в классическом университете» (Иваново, 2019-2020); 4 и 5-я Российская конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2019, 2021» (Екатеринбург, Волгоград, 2019, 2021).

Личный вклад автора. Определение темы диссертационной работы, цели и задач исследования проводились автором совместно с научным руководителем к.х.н. Негановой М.Е. Разработка методологических подходов к решению поставленных задач, непосредственное проведение экспериментов по исследованию биологической активности соединений, а также анализ и обсуждение полученных результатов и их оформление в виде научных публикаций и докладов проведены автором лично, либо при непосредственном участии. Подготовка рукописи настоящей диссертационной работы и автореферата лично проводились автором.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 15 печатных работ, в том числе 7 статей в журналах, входящих в перечень ВАК и индексируемых в международных базах Scopus и Web of Science, имеется 1 патент Российской Федерации.

Соответствие диссертационной работы паспорту научной специальности. Диссертационная работа «Полифункциональность гидроксамовых кислот как ключевой фактор для создания потенциальных противоопухолевых и нейропротекторных соединений» соответствует паспорту научной специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки), охватывающей проблемы выяснения непосредственной взаимосвязи химической структуры соединений класса гидроксамовых кислот с фармакологической направленностью потенциального терапевтического действия для создания потенциальных лекарственных средств для лечения социально-значимых заболеваний.

Структура и объём работы. Рукопись диссертационной работы написана по классической схеме и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и список цитированной литературы, который содержит 223 зарубежных

и отечественных источника. Материалы диссертации изложены на 152 страницах машинописного текста, включают 42 рисунка и 8 таблиц.

Финансовая поддержка и благодарности. Работа выполнялась в соответствии с планами научно-исследовательских работ Лаборатории биохимии патологических процессов ФИЦ ПХФ и МХ РАН (в.н.с., к.х.н. М.Е. Неганова) с 2019 по 2022 гг. при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-33-01185 мол_а), РНФ (проекты №19-73-10195 и №22-23-00995), а также стипендий Президента и Правительства Российской Федерации на 2022/23 учебный год (приказы Минобрнауки №736 от 8 августа 2022 г. и №750 от 10 августа 2022 г.). Часть результатов диссертационной работы была получена в рамках проекта «Медицинская химия в создании лекарств нового поколения для лечения социально-значимых заболеваний по Соглашению с МНВО РФ № 075-15-2020-777 от «1» октября 2020 г. (договор с ИФАВ РАН №427 от 22.10.2022).

*Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю в. н. с., к. х. н. М.Е. Негановой за выбор темы исследования, неоценимую помощь, квалифицированные научные консультации и всестороннюю поддержку при выполнении работы. Автор глубоко признателен коллективу Лаборатории направленных трансформаций природных соединений №46 НИОХ СО РАН (к. х. н. Е.В. Суслов) за синтез гидроксамовых кислот линейной структуры, с. н. с., к. х. н. В.Н. Осипову (НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина) и И.В. Выстороп за проведение синтетических работ в рамках получения циклических и спироциклических гидроксамовых кислот, а также с.н.с., к.х.н., руководителю Группы экспериментальной химиотерапии опухолей ФИЦ ПХФ и МХ РАН Д.В. Мищенко за помощь в получении результатов при *in vivo* исследовании хемосенсибилизирующей активности гидроксамовых кислот.*

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы исследования. В качестве объектов исследования для данной работы были синтезированы гидроксамовые кислоты различных хемотипов: соединения нетипичной циклической структуры, содержащие аминокислоты и ядро хиназолина, а также линейные с фрагментами адамантана и природных соединений.

Спироциклические гидроксамовые кислоты, содержащие аминокислоты

В отличие от N-гидроксиамидов линейных карбоновых кислот гидроксамовые кислоты циклического строения являются менее изученными. Однако существующий на сегодняшний день массив данных показывает наличие для них противоопухолевых (Goncharova et al., 2017) и антибактериальных (Li et al., 2021) свойств. Растущий интерес в получении таких соединений связан с их более высокой метаболической

стабильностью благодаря наличию эндоциклической N-гидроксигруппы (Rani et al., 2015).

В Отделе кинетики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химической физики Российской академии наук под руководством к.х.н. И.В. Выстороба в ходе направленной химической модификации был синтезирован ряд новых спироциклических гидроксамовых кислот, имеющих в своём составе один кислотный центр (остов гидроксамовой кислоты) и два основных центра (остов тетраметилзамещенного или N-метилзамещенного спиропиперидинового и имидазолидинового оснований с различными аминокислотными заместителями в α положении). Общие формулы полученных соединений представлены на рис. 1.

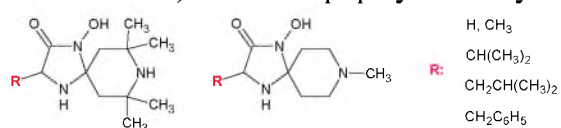


Рисунок 1 – Общие формулы спироциклических гидроксамовых кислот с аминокислотами.

Спироциклические гидроксамовые кислоты на основе хиназолина

Хиназолиновое ядро используется в качестве основы многих противоопухолевых препаратов, в частности, таких как эрлотиниб и gefitinib (Seo, 2012). Более того, описано успешное введение хиназолинового скаффолда в гидроксамовую кислоту, позволившее добиться эффективности ингибирования HDAC со значениями IC_{50} в субмикромольных диапазонах (Hieu et al., 2019).

В Лаборатории химического синтеза национального медицинского исследовательского центра онкологии имени Блохина под руководством к.х.н. В.Н. Осипова был синтезирован ряд новых оригинальных производных гидроксамовых кислот, содержащих гидроксаматную функцию и хиназолин в качестве эффективной противоопухолевой основы, общие формулы которых представлены на рис. 2.

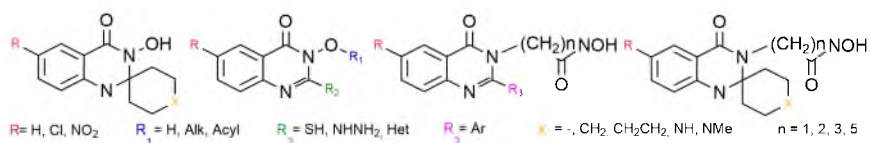


Рисунок 2 – Общие формулы спироциклических гидроксамовых кислот на основе хиназолина.

Гидроксамовые кислоты линейной структуры, содержащие фрагменты адамантана и природных соединений

В последнее время успешность использования гидроксамовых кислот показана также в терапии нейродегенеративных расстройств. Наиболее перспективными направлениями разработки новых лекарственных средств являются модификации CAP-группы (ключевого фрагмента для распознавания изоформ HDAC) и линкерной области. Это позволяет добиться улучшения профиля ингибирования HDAC за счет

повышения сродства к поверхностным группам ферментов и появления новых механизмов действия нейропротекторной направленности (Bieliauskas et al., 2016).

Для реализации данного подхода в Лаборатории направленных трансформаций природных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук под руководством к.х.н. Е.В. Суслова был получен ряд новых гидроксамовых кислот линейной структуры, содержащих фрагменты адамантана и природных соединений камфана и фенхана в качестве САР-группы, которые были объединены с линкерами различной природы с амидной группой. Данный подход является перспективным, поскольку как адамантан, так и терпеновые соединения сами по себе продемонстрировали многообещающие фармакологические эффекты. На рис. 3 представлены общие формулы линейных гидроксамовых кислот.

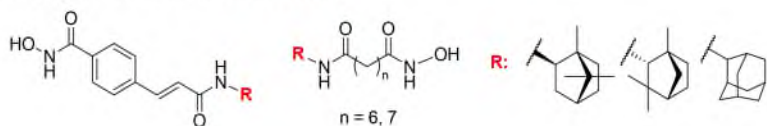


Рисунок 3 – Общие формулы гидроксамовых кислот линейной структуры.

Методы исследования. Были использованы современные методы *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* анализа. *In vitro* скрининг биологической активности включал в себя исследование Fe(II)-хелатирующих свойств (Gulcin et al., 2006), антирадикальной активности (Milackova et al., 2013), способности модулировать гистоновые деацетилазы и агрегацию патологических форм β -амилоидного пептида (Phan et al., 2019), а также влияния на перекисное окисление липидов (Neganova et al., 2017), трансмембранный потенциал (Akerman and Wikstrom, 1976), процесс гликолиза (Zhang and Zhang, 2019) и выживаемость клеток (Prabst et al., 2017). В рамках *in vivo* серии экспериментов был выполнен анализ хемосенсибилизирующей способности соединения, а также изучено общее поведение и когнитивные функции мышей. По окончании тестирования на животных производили забор внутренних органов или образцов головного мозга и оценивали количество метастаз и массы опухоли или уровень глутатиона и малонового диальдегида, работу комплексов дыхательной цепи митохондрий и количество амилоидных отложений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Хемосенсибилизирующая активность спироциклических гидроксамовых кислот, содержащих аминокислоты

Исследование противоопухолевого потенциала новых спироциклических гидроксамовых кислот, содержащих в своей структуре аминокислоты, включало анализ Fe(II)-хелатирующей и HDAC1-ингибирующей способности,

антиоксидантного потенциала и хемосенсибилизирующих свойств на клеточной и животной моделях.

Хорошо известно, что противоопухолевый потенциал гидроксамовых кислот в первую очередь обусловлен их способностью ингибировать ферменты, содержащие в каталитическом центре ионы металлов. Также соединения-хелаторы открывают интересные перспективы в лечении онкологических заболеваний ввиду избыточного содержания металлов, главным образом, ионов железа, в микроокружении опухолей (Corcé et al., 2016). В связи с этим нейтрализация железа может рассматриваться как один из механизмов действия потенциальных онколитиков.

Исследование Fe(II)-связывающей способности гидроксамовых кислот показало, что все соединения обладали хелатирующей способностью (табл. 1).

Таблица 1 – Fe(II)-хелатирующая активность спироциклических гидроксамовых кислот, содержащих аминокислоты

1	74,39 ± 8,99 (IC ₅₀ = 15,41 ± 2,72)	6	36,28 ± 1,91
2	88,74 ± 1,32 (IC ₅₀ = 21,37 ± 3,45)	7	48,36 ± 1,12
3	73,84 ± 3,56 (IC ₅₀ = 13,08 ± 0,12)	8	54,78 ± 3,19
4	91,92 ± 2,40 (IC ₅₀ = 12,28 ± 0,79)	9	47,94 ± 3,57
5	90,01 ± 4,31 (IC ₅₀ = 16,08 ± 1,72)	10	38,42 ± 7,18

Наиболее активными хелаторами являлись гидроксамовые кислоты **1-5**, содержащие в структуре тетраметилзамещенный пиперидиновый цикл, для которых также были рассчитаны величины EC₅₀ (табл. 1). Это согласуется с известными данными о способности соединений класса гидроксамовых кислот к хелатированию иона металла активного центра ферментов гистоновых деацетилаз и других матриксных металлопротеиназ, вовлеченных в канцерогенез.

Исследование HDAC1 ингибирующих свойств соединений показало, что наибольшую способность подавлять ферментативную активность HDAC1 проявили именно гидроксамовые кислоты с наиболее выраженным связывающим Fe(II) эффектом - **3-5** (рис. 4). Очевидно, что на уровень активности наиболее эффективно влияет структура пиперидинового фрагмента, а не заместителя в α-положении имидазолидинового цикла.

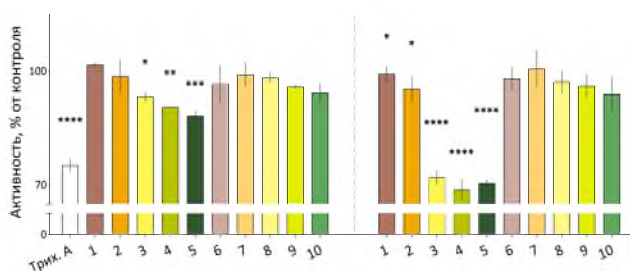


Рисунок 4 – Ингибирование HDAC1 соединениями (30 и 100 μM) и трихостатином А (Трих.) - 50 нM. Данные представлены как среднее±СО (n=3). * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001 и **** p<0,0001 vs Контроль (100% активности HDAC1). ANOVA, поправка Даннета.

Это, вероятно, связано с тем, что для соединений **6-10**, содержащих N-метилзамещенный спиропиперидиновый фрагмент, доступ к активному центру фермента может быть пространственно затруднен ввиду более усиленной конформационной жесткости молекул.

При изучении цитотоксического профиля новых производных гидроксамовых кислот на опухолевых клетках линии HeLa, SH-SY5Y и здоровой клеточной линии Нек 293 с использованием МТТ-теста, было обнаружено, что после 24-х часовой инкубации с соединениями жизнеспособность клеток оставалась выше 90% при всех тестируемых концентрациях в диапазоне до 100 μM .

Таким образом, основываясь на полученных данных в ходе *in vitro* скрининга биологической активности спироциклических гидроксамовых кислот, целесообразным было продолжить *in vivo* исследование противоопухолевого потенциала соединений-лидеров **3-5** в контексте изучения их хемосенсибилизирующей активности, а не собственного противоопухолевого действия. Это обусловлено тем, что отсутствие выраженной цитотоксичности рассматривается как одно из положительных свойств, характеризующих потенциальные хемосенсибилизаторы, что позволяет без усиления побочных эффектов на здоровом микроокружении добиться повышения терапевтического индекса существующих цитостатиков в отношении патологических клеток за счёт добавления нового механизма действия (Bastos et al., 2019; Yao et al., 2020). Более того, на сегодняшний день уже показано, что ингибиторы HDAC являются ценными агентами за счет повышения чувствительности опухолевых клеток к ДНК-алкилирующим химиотерапевтическим средствам благодаря открытой конформации хроматина в опухолевых клетках, что помогает обратить вспять аномальное молчание генов и приводит к остановке клеточного цикла и апоптозу (Thakur et al., 2022).

Для определения хемосенсибилизирующего действия соединений **3-5** на клеточной модели в сочетании с цитостатиком алкилирующего действия циклофосфамидом соединения (100 μM) и цитостатик (0,1 до 100 μM) инкубировали с клетками HeLa (карцинома шейки матки) в течение 24 часов. Полученные данные показали, что IC_{50} для циклофосфамида у клеток, дополнительно обработанных **3-5**, снижалась в 1,44; 1,23 и 1,15 раза для **3**, **4** и **5** соответственно (табл. 2).

Таким образом, наиболее выраженное повышение цитотоксической активности циклофосфамида в отношении клеток HeLa наблюдалось при добавлении гидроксамовой кислоты валинового ряда **3**. Очевидно, что с увеличением объема аминокислотного заместителя эффективность спироциклических гидроксамовых кислот снижалась. В связи с этим для *in vivo* исследования хемосенсибилизирующей активности на перевиваемой модели опухоли было выбрано соединение **3**.

Таблица 3 – Адьювантная способность **3-5** в комбинации с циклофосфамидом

IC ₅₀ цитотоксического эффекта циклофосфамида, μM			
Циклофосфамид (ЦФ)	21,03 \pm 0,17	ЦФ + 4 (100 μM)	17,12 \pm 0,41
ЦФ + 3 (100 μM)	14,82 \pm 0,93	ЦФ + 5 (100 μM)	18,24 \pm 1,90

Первоначально для оценки возможных токсических эффектов был произведен анализ острой токсичности соединения **3** на клинически здоровых мышах линии BDF1. Наблюдение за животными для учета гибели и оценки общего клинического состояния проводилось после однократного введения водного раствора **3** в течение 14 дней. Для расчёта терапевтической дозы была определена величина ЛД₅₀ (доза, вызывающая гибель 50% животных), которая составила 730,4 мг/кг, что позволило отнести его к умеренноопасным веществам (ГОСТ 12.1.007–76).

Исследование адьювантной активности гидроксамовой кислоты на основе 1-бензил пиперид-4-она с валиновым заместителем **3**, проводили в комбинации с тем же цитостатиком в субтерапевтической дозе (1/10) на модели перевиваемой опухоли мышей меланомы B16 (рис. 5).

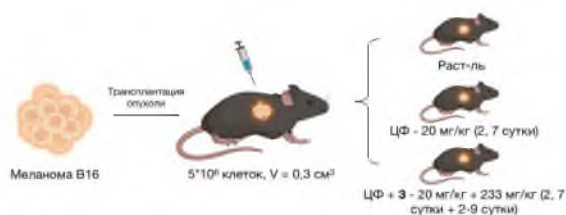


Рисунок 5 – Дозы и режимы введения циклофосфамида и гидроксамовой кислоты **3** на мышинной модели меланомы B16

В качестве критериев эффективности противоопухолевой терапии были использованы показатели метастазирования и массы опухоли. Как показано на рис. 6, при терапии циклофосфамидом было выявлено достоверное снижение количества метастаз, а индекс ингибирования метастазирования составил 38,46%.

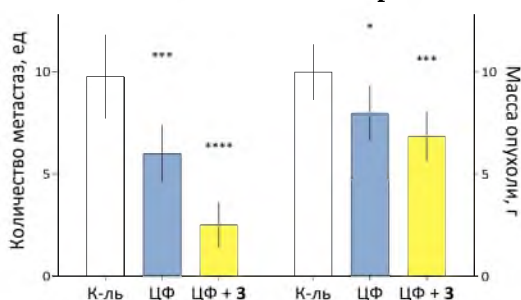


Рисунок 6 – Антиметастатический и противоопухолевый потенциал гидроксамовой кислоты **3**. Данные представлены как среднее \pm CO (n = 8). * p < 0,05; *** p < 0,001 и **** p < 0,0001 vs Контроль (К-ль). ANOVA, поправка Даннета.

В свою очередь применение комбинированной химиотерапии цитостатика с гидроксамовой кислотой **3** привело к двукратному увеличению данного показателя (до 74,36%). Кроме того, терапия опухоли соединением **3** в комбинации с циклофосфамидом позволила снизить средний вес опухоли с $9,97 \pm 1,34$ до $6,83 \pm 1,22$

($p = 0,0002$) и достичь торможения роста опухоли более чем в 1,5 раза выше, чем при монотерапии цитостатиком (рис. 6).

Таким образом, была обнаружена способность гидроксамовой кислоты **3** повышать чувствительность меланомы В16 к действию циклофосфида в субтерапевтической дозе, проявляя тем самым хемосенсибилизирующие свойства.

Противоопухолевый потенциал спироциклических гидроксамовых кислот на основе хиназолина

Для исследования противоопухолевого потенциала спироциклических гидроксамовых кислот на основе хиназолина было изучено их влияние на выживаемость клеточных линий как опухолевого, так и нормального происхождения, а также исследованы возможные механизмы цитотоксического действия.

Как видно из табл. 4, при 72-х часовой инкубации клеток с большинством исследуемых веществ наблюдалось их концентрационно-зависимое токсическое действие по отношению к неопластическим клеткам (Jurkat - Т-лимфобластная лейкемия, SH-SY5Y - нейробластома, HeLa - опухоль шейки матки). При этом наиболее высокая цитотоксическая активность отмечалась для соединений **17-24**. Вероятно это связано с наличием в их структуре атомов хлора и вызывает интерес в их дальнейшем исследовании с целью установления возможных механизмов противоопухолевой активности. Интересно, что для соединений был обнаружен сниженный токсический эффект или полное его отсутствие в максимальной концентрации на здоровой клеточной линии Нек 293, что позволяет предположить селективность их действия именно в отношении клеток опухолевого происхождения.

Таблица 4 – Цитотоксический профиль гидроксамовых кислот на основе хиназолина

	IC ₅₀ цитотоксического эффекта, μM			
	Jurkat	SH-SY5Y	HeLa	Нек 293
11	22,80 \pm 0,44	> 100	> 100	> 100
12	> 100	> 100	> 100	> 100
13	> 100	> 100	> 100	> 100
14	44,28 \pm 0,34	90,17 \pm 1,88	> 100	> 100
15	28,34 \pm 2,41	26,07 \pm 0,03	> 100	> 100
16	34,88 \pm 0,53	96,05 \pm 1,85	> 100	> 100
17	9,77 \pm 0,20	21,35 \pm 0,08	30,96 \pm 4,43	45,89 \pm 3,17
18	11,33 \pm 0,29	20,85 \pm 0,05	38,15 \pm 4,30	> 100
19	21,31 \pm 0,20	23,72 \pm 0,47	38,60 \pm 2,65	> 100
20	0,98 \pm 0,18	20,57 \pm 0,36	48,34 \pm 1,20	> 100
21	6,21 \pm 0,03	22,67 \pm 1,57	8,60 \pm 1,15	> 100
22	22,55 \pm 0,17	56,78 \pm 1,39	> 100	> 100
23	9,92 \pm 0,18	24,84 \pm 0,31	> 100	46,87 \pm 1,44
24	0,86 \pm 0,21	34,38 \pm 2,38	18,07 \pm 2,67	> 100
25	12,24 \pm 1,76	> 100	> 100	22,44 \pm 0,15

При установлении возможных механизмов цитотоксического действия соединений **17-24** была исследована их способность модулировать процессы, связанные с окислительным стрессом. Как показано в табл. 5, большинство гидроксамовых кислот эффективно ингибировали перекисное окисление липидов гомогената мозга крыс. В ДФПГ-тесте соединения проявили антирадикальную активность (табл. 5), что очевидно, говорит о том, что механизм антиоксидантного действия данных соединений скорее всего связан с прямым влиянием на свободные радикалы за счет наличия в структуре гидроксаматной функции.

Таблица 5 – Антиоксидантный статус гидроксамовых кислот на основе хиназолина

	Ингибирование ПОЛ, % активности		Антирадикальная активность, %
	т-БГП	Fe(II)	
17	89,20 ± 9,39	39,13 ± 4,35	24,99 ± 5,20
18	88,56 ± 0,85	52,90 ± 8,23	24,78 ± 1,26
19	81,60 ± 2,76	60,14 ± 2,51	21,90 ± 1,87
20	80,95 ± 2,16	56,02 ± 3,21	18,56 ± 0,42
21	38,39 ± 4,16	44,93 ± 2,51	20,49 ± 0,18
22	55,01 ± 2,22	75,46 ± 0,80	33,46 ± 2,49
23	67,02 ± 0,43	45,65 ± 3,77	34,98 ± 0,09
24	67,61 ± 1,86	67,59 ± 2,12	23,89 ± 1,96

Данные представлены как «среднее ± ОС». « * » - при действии веществ в концентрации 100 мМ.

Такая способность модулировать окислительные процессы в клетке может являться одним из механизмов противоопухолевого действия соединений для снижения токсичности на здоровые клетки, но при этом не теряющих эффективность в отношении патологических клеток, что может быть связано с эффективным ингибированием сверхактивированных транскрипционных факторов, блокирующих апоптоз, восстановлением генетической стабильности и блокированием сигнальных проонкогенных каскадов.

Также в противоопухолевую активность может вносить вклад способность соединений оказывать влияние на функциональные характеристики митохондрий. При изучении влияния гидроксамовых кислот на трансмембранный потенциал митохондрий было обнаружено, что добавление 100 мМ **18, 20, 21** и **22** к суспензии органелл, оказывало деполаризирующее действие на митохондриальную мембрану изолированных митохондрий печени крыс (рис. 7 А). Также была обнаружена концентрационная зависимость влияния **18, 20, 21** и **22** на процесс деполаризации (рис. 7 Б-Д), что позволяет предположить наличие для данных соединений возможного проапоптотического механизма противоопухолевого действия за счёт модуляции митохондриальной функции.

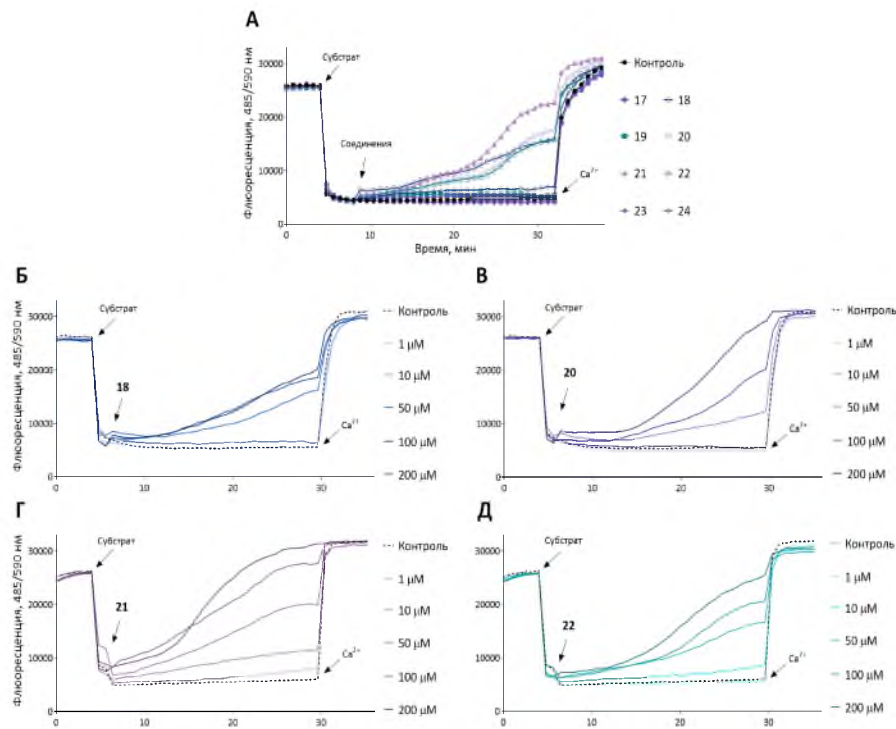


Рисунок 7 – Влияние соединений на мембранный потенциал митохондрий печени крыс (0,5 мг/мл). А - концентрация веществ 100 μM . Действие Б - 18, В - 20, Г - 21 и Д - 22 (от 1 μM до 200 μM). Концентрация Ca^{2+} - 25 μM , субстрат: глутамат (5 мМ), малат (5 мМ), сукцинат калия (5 мМ). Данные представлены в виде кинетических кривых.

При изучении возможного влияния гидроксамовых кислот на эпигенетическую регуляцию в клетке было обнаружено, что 17-22 достоверно снижают активность фермента HDAC1, при этом наиболее выраженным действием обладают 19 и 22 (рис. 8).

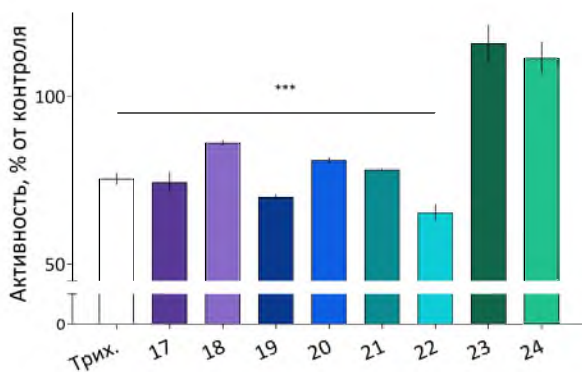


Рисунок 8 – Ингибирование HDAC1 гидроксамовыми кислотами (100 μM) и Трих. - 50 нМ. Данные представлены как среднее \pm CO (n = 3). *** $p < 0,001$ vs Контроль (100% активности HDAC1). ANOVA, поправка Даннета.

При исследовании влияния гидроксамовых кислот на гликолиз клеток опухолевой культуры рака шейки матки человека HeLa, как основного энергетического состояния неопластических клеток, было обнаружено, что соединения 17 и 22 приводили к значительному подавлению гликолиза (рис. 9). Кроме того, для большинства веществ также была показана способность

ингибировать гликолитическую ёмкость и гликолитический резерв. Такое угнетение параметров гликолиза соединениями может являться важным механизмом их цитотоксической активности.

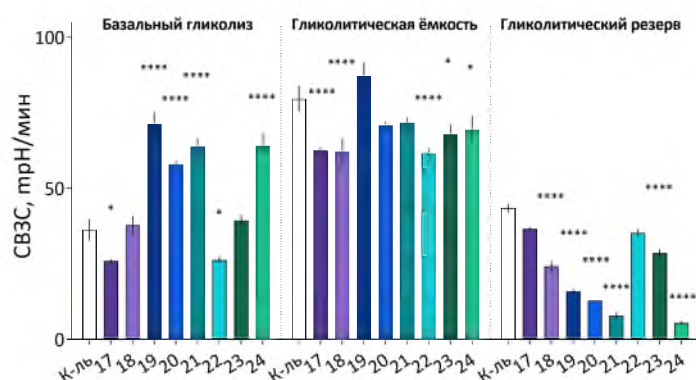


Рисунок 9 – Влияние соединений (100 μM) на гликолитический профиль клеток HeLa. Данные представлены как среднее \pm CO (n = 3) скорости внеклеточного закисления среды. Глюкоза – 10 мМ, олигомицин – 1 μM , 2Д-глюкоза – 25 мМ. * $p < 0,05$ и **** $p < 0,0001$ vs Контроль. ANOVA, поправка Даннета.

Таким образом, по совокупности действия на ключевые мишени канцерогенеза гидроксамовые кислоты на основе хиназолина были рекомендованы к дальнейшим испытаниям в качестве потенциальных мультитаргетных антинеопластических агентов.

Нейропротекторные свойства гидроксамовых кислот, содержащих фрагменты адамантана и природных соединений

Для изучения нейропротекторной активности гидроксамовых кислот с CAP-группой природного происхождения были использованы методы *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo*, включающие определение влияния на ключевые звенья патогенеза нейродегенеративных заболеваний, а также на когнитивные функции трансгенных мышей линии 5xFAD с последующим анализом образцов головного мозга.

Ввиду того, что окислительный стресс является одним из основных патологических признаков болезни Альцгеймера, нейтрализация свободных радикалов рассматривается в качестве важного свойства потенциальных нейропротекторов. Большинство соединений проявило умеренное ингибирование перекисного окисления липидов, а для **30** и **34** наблюдались наиболее выраженные антиоксидантные свойства, что главным образом связано с их антирадикальной способностью (табл. 6).

Таблица 6 – Антиоксидантный статус и HDAC6-ингибирующая способность гидроксамовых кислот

	% активности *			IC ₅₀ , μM
	Ингибирование ПОЛ		Антирадикальная активность	Ингибирование HDAC6
	г-БГП	Fe (II)		
26	35,96 \pm 1,99	28,39 \pm 7,41	22,22 \pm 1,40	0,69 \pm 0,02
27	30,36 \pm 1,98	44,02 \pm 1,57	-	4,06 \pm 0,48

Продолжение таблицы 6

28	24,02 ± 3,44	28,90 ± 3,38	-	9,44 ± 0,74
29	22,62 ± 4,31	37,91 ± 1,08	-	4,48 ± 0,13
30	43,24 ± 1,28	21,52 ± 2,15	19,70 ± 1,34	0,96 ± 0,01
31	16,27 ± 0,42	26,41 ± 2,58	-	0,74 ± 0,01
32	18,26 ± 4,90	32,91 ± 1,12	20,14 ± 1,28	18,03 ± 1,02
33	20,63 ± 3,92	34,16 ± 1,37	20,32 ± 0,41	4,06 ± 0,39
34	44,59 ± 1,73	19,81 ± 4,83	43,34 ± 1,42	6,52 ± 0,40

Данные представлены как «среднее ± ОС». « * » - при действии веществ в концентрации 100 μM , « — » - активность $\leq 10\%$.

В свете эпигенетической теории развития болезни Альцгеймера известно, что патогенез заболевания также формируется за счет aberrантной активности и сверхэкспрессии HDAC6, что коррелирует с патологическим фенотипом нейродегенеративных расстройств (Zhang et al., 2021). Для всех гидроксамовых кислот была обнаружена ингибирующая способность по отношению к HDAC6 (табл. 6). Наиболее выраженное снижение ферментативной активности проявили **26**, **30** и **31**, содержащие в CAP-группе каркасные фрагменты адамантана и камфана. Значения IC_{50} HDAC-ингибирующего эффекта данных соединений находились в наномолярном диапазоне. Также высокая активность наблюдалась для **27**, **29**, **33** и **34**. Очевидно, что наилучшим действием характеризуются соединения с гекса- и гептаметиленовым линкером, имеющие типичное для ингибиторов HDAC6 строение: CAP-linker-ZBD.

Одним из ключевых признаков болезни Альцгеймера являются амилоидные отложения, образованные склонным к агрегации β -амилоидным пептидом (Sweeney et al., 2017). Это делает перспективным поиск соединений, ингибирующих патологическую агрегацию данного белка. Влияние гидроксамовых кислот на процесс агрегации $A\beta_{1-40}$ и $A\beta_{1-42}$ показало, что предварительная обработка β -амилоидных препаратов веществами **30-34** приводила к заметному ингибированию фибриллизации пептидов. Сравнительным действием обладала гидроксамовая кислота **33**, отличающаяся природой CAP-группы.

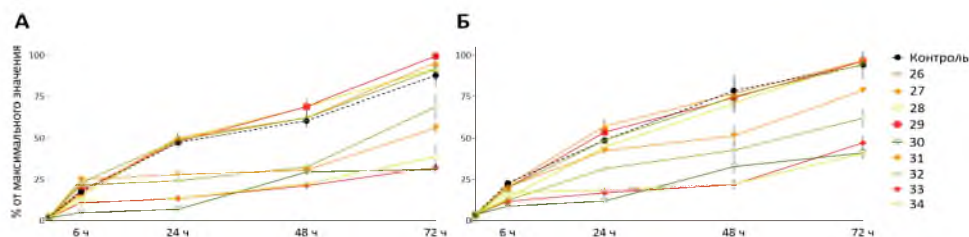


Рисунок 10 – Влияние соединений на агрегацию $A\beta_{1-40}$ (А) и $1-42$ (Б). Данные представлены как % агрегации $A\beta$ относительно максимального значения флюоресценции Тиофлавина Т.

Такое действие соединений может быть связано с влиянием как САР-группы, так и гидроксаматной функции, поскольку ранее аналогичный эффект был обнаружен как для производных адамантана (Takahashi-Ito et al., 2017), так и для соединений на основе гидроксамовой кислоты (Mucke et al., 2012).

Таким образом, по итогам *in vitro* тестирования наиболее перспективными веществами для исследования нейропротекторной активности *in vivo* были выбраны гидроксамовые кислоты **30** и **34**, которые эффективно ингибировали HDAC6, проявляли Аβ-антиагрегационные свойства и обладали антиоксидантной активностью. Более того, при исследовании их влияния на выживаемость клеток SH-SY5Y и Нек 293 было показано отсутствие выраженного токсического действия.

Первоначальным этапом *in vivo* исследования было изучение токсических эффектов соединений-лидеров на клинически здоровых животных – мышах-самцах линии C57BL/6. После внутрибрюшинного введения гидроксамовых кислот в максимальной дозе 300 мг/кг патологических изменений в поведении и физиологическом состоянии животных не наблюдалось, что позволило продолжить эксперименты на животных в выбранной концентрации 15 мг/кг.

In vivo нейропротекторный потенциал **30** и **34** был оценен по их влиянию на когнитивные функции трансгенных мышей-самцов 5xFAD (Tg (APP^{S_wFILon}, PSEN1*^{M146L}*^{L286V}) 6799^{Vas/J}) в возрасте 11 месяцев. Патологический фенотип данной линии мышей включает амилоидные отложения, накопление внутриклеточного Аβ, глиоз, нейродегенерацию и нарушения памяти, обнаруживаемые при болезни Альцгеймера (Oakley et al., 2006). В качестве контрольной группы были использованы животные того же возраста – мыши-самцы линии C57BL/6. Гидроксамовые кислоты **30** и **34** были растворены в NaCl и ДМСО (10%) и ежедневно вводились животным внутрибрюшинно в течение 20 дней в дозе 15 мг/кг. Мышам линии C57BL/6 и животным 5xFAD, не получавшим лечения, вводили растворитель в том же объёме.

При оценке эпизодической памяти в тесте Распознавание нового объекта животные как дикого типа, так и из группы 5xFAD + **30**, показали повышенное предпочтение к исследованию нового объекта в тестовом испытании по сравнению с мышами 5xFAD (рис. 11).

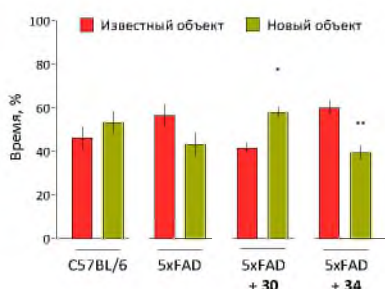


Рисунок 11 – Влияние гидроксамовых кислот **30** и **34** на эпизодическую память мышей 5xFAD. Данные представлены как % исследования объекта - среднее ± ОС (n = 8). * < 0,05 и ** p < 0,01 vs 5xFAD. ANOVA, поправка Бонферрони.

В то время как для животных дикого типа разница в этом параметре не была достоверной, мыши, получавшие гидроксамовую кислоту **30**, затрачивали значительно больше времени на изучение нового объекта по сравнению с ранее изученным ($p = 0,03$).

В качестве показателя влияния соединений **30** и **34** на пространственное обучение трансгенных животных в тесте водный лабиринт Морриса был выбран латентный период поиска скрытой платформы. Во время фазы обучения мыши всех групп, кроме 5xFAD, показали значительное улучшение данного параметра (рис. 12 А). Как для C57BL/6, так и для мышей групп 5xFAD + **30** и 5xFAD + **34** разница между первым и четвертым днём была достоверной и уменьшилась с $53,33 \pm 3,68$ до $34,58 \pm 4,19$ с ($p = 0,003$) - для C57BL/6; с $53,76 \pm 2,79$ до $34,28 \pm 4,32$ с ($p = 0,001$) - для 5xFAD + **30**; с $53,46 \pm 2,75$ до $38,63 \pm 3,01$ с ($p = 0,02$) - для 5xFAD + **34**.

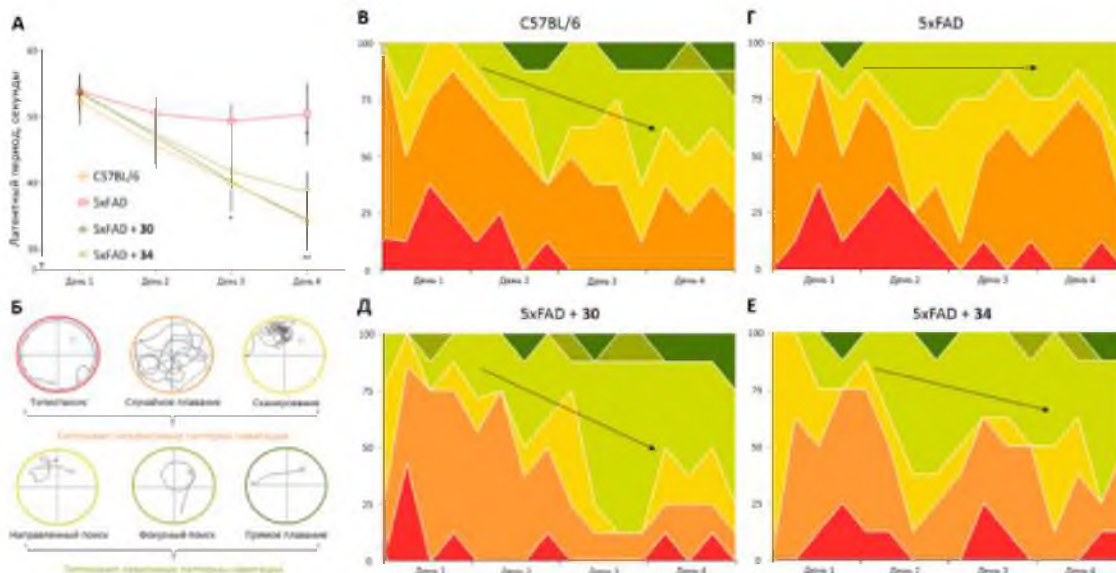


Рисунок 12 – Влияние гидроксамовых кислот на пространственное обучение мышей 5xFAD. А – латентный период поиска скрытой платформы. Данные представлены как среднее \pm ОС ($n = 8$). * $p < 0,05$ и ** $p < 0,01$ vs День 1. ANOVA, поправка Бонферрони. Б – поисковые паттерны. В, Г, Д и Е – когнитивные карты животных на этапе обучения в водном лабиринте Морриса.

При анализе стратегий поиска платформы животными (рис. 12 Б) было обнаружено, что в отличие от дикотипных животных (рис. 12 В) у трансгенных мышей 5xFAD, не подвергавшихся лечению, вплоть до 4-го дня обучения наблюдалось сохранение преимущества использования гиппокамп-независимой эгоцентрической навигации (рис. 12 Г). В свою очередь гидроксамовая кислота **30** привела к нормализации данной ситуации и успешному формированию аллоцентрической когнитивной карты (рис. 12 Д)). Для 5xFAD + **34** наблюдалась схожая тенденция, но в меньшей степени (рис. 12 Е).

Кроме того, на 5-й день во время фазы тестирования без платформы было обнаружено, что введение гидроксамовой кислоты **30** достоверно снижало латентный период входа ($p = 0,01$) и увеличивало количество входов ($p = 0,04$) в зону платформы у мышей 5xFAD до уровня животных дикого типа (рис. 13 А-Б). Для группы 5xFAD + **34** было обнаружено значительное снижение времени нахождения в противоположном верному квадранте ($p = 0,01$) (рис. 13 Г).

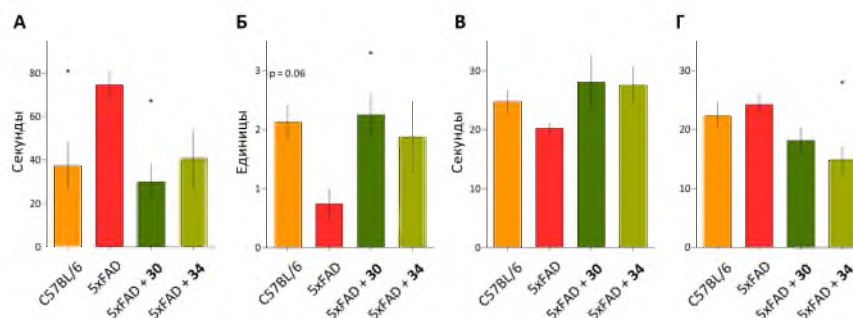


Рисунок 13 – Влияние гидроксамовых кислот **30** и **34** на пространственную память мышей 5xFAD. А – латентный период входа, Б – количество входов в зону платформы; время пребывания в В – верном, Г – противоположном верному квадрантах. Данные представлены как среднее \pm ОС ($n=8$). * $p < 0,05$ vs 5xFAD. ANOVA, поправка Бонферрони.

Для подтверждения показанных в *in vitro* серии экспериментов возможных механизмов нейропротекторного действия гидроксамовых кислот по окончании *in vivo* тестирования у мышей был произведен забор образцов головного мозга для определения в них показателей функционирования митохондрий, окислительного стресса и амилоидных отложений (рис. 14).

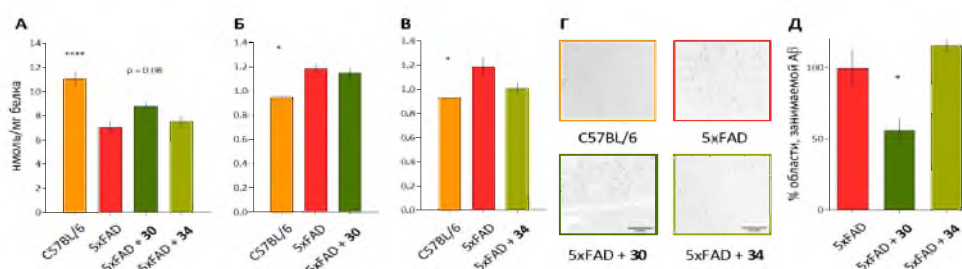


Рисунок 14 – *Ex vivo* анализ уровней А - глутатиона, Б и В - малонового диальдегида в мозге мышей. Г - микрофотографии срезов мозга, окрашенных Конго красным. Д - % площади, покрытой Аβ, по отношению к 5xFAD, принятой за 100%. Данные представлены как среднее \pm ОС. *, $p < 0,05$ и ****, $p < 0,0001$ vs 5xFAD. ANOVA, поправка Бонферрони.

На рис. 14 А показано, что у мышей 5xFAD наблюдалось снижение общего пула глутатиона до $7,03 \pm 0,60$ нмоль/мг белка при $11,10 \pm 0,59$ нмоль/мг белка у C57BL/6 ($p < 0,0001$). Такие нарушения могут способствовать нарастанию стрессовых условий, в частности за счёт активации перекисного окисления липидов (Gaschler et al., 2017). И действительно, у мышей 5xFAD была обнаружена интенсификация данного

процесса, о чём свидетельствовало увеличение малонового диальдегида ($p < 0,05$ vs C57BL/6). Однако для группы 5xFAD + **30** была выявлена тенденция к восстановлению глутатиона ($p = 0,08$ vs 5xFAD) (рис. 14 Б).

Окраска срезов головного мозга мышей флуоресцентным красителем Конго красным во всех группах трансгенных мышей показала положительно окрашенные ядра зрелых амилоидных отложений (рис. 14 Г). Количественная оценка выявила значительно более низкое содержание включений у мышей, получавших соединение **30** (на 45%, $p = 0,03$ vs 5xFAD) (рис. 14 Д). Очевидно, улучшение когнитивной функции у мышей из группы 5xFAD + **30** коррелирует со снижением отложений А β .

При исследовании функционирования митохондрий головного мозга мышей был выполнен анализ работы комплексов дыхательной цепи. Было обнаружено, что после введения сукцината и аскорбата/ТМПД органеллы животных 5xFAD потребляли меньше кислорода, чем митохондрии мышей C57BL/6. Данный показатель был повышен у животных, получавших лечение гидроксамовыми кислотами. После введения сукцината скорость потребления кислорода органеллами мышей из группы 5xFAD + **30** увеличилась со $119,07 \pm 25,51$ до $251,00 \pm 10,45$ пмоль/мин, а после введения аскорбата/ТМПД – с $308,78 \pm 59,54$ до $422,67 \pm 14,61$ пмоль/мин (рис. 15 А). Для **34** был показан аналогичный эффект в отношении стимуляции IV комплекса (рис. 15 Б).

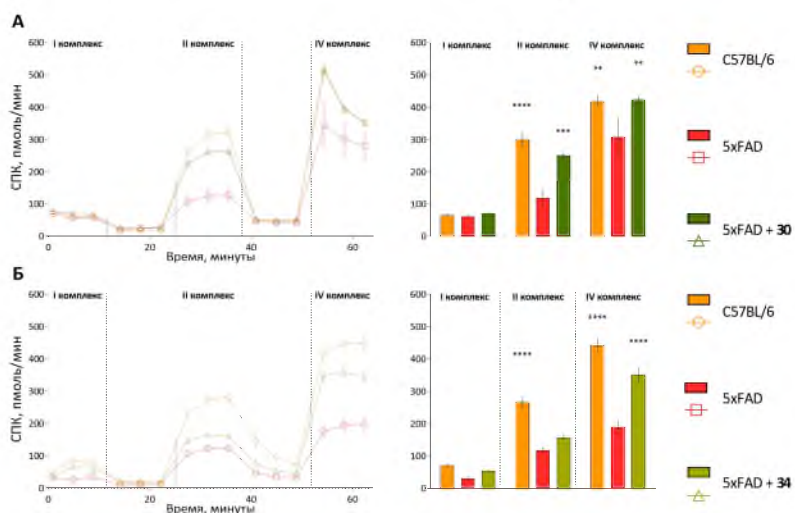


Рисунок 15 – *Ex vivo* анализ дыхательной цепи митохондрий мозга мышей под действием А - **30** и Б - **34**. Концентрация ротенона – 2 μ M, сукцината калия – 2 μ M, антимицина А – 4 μ M, аскорбата/ТМПД – 0,5 μ M. Данные представлены как среднее \pm ОС. **, $p < 0,01$, ***, $p < 0,001$ ****, $p < 0,0001$ vs 5xFAD. ANOVA, поправка Бонферрони.

По совокупности действия на основные патологические процессы, участвующие в патогенезе болезни Альцгеймера, гидроксамовые кислоты, содержащие фрагменты адамантана и природных соединений, могут рассматриваться в качестве потенциальных мультифункциональных нейропротекторных соединений.

Таким образом, на основании полученных экспериментальных данных в ходе реализации диссертационного исследования был выполнен анализ закономерностей

ротаций фармакологического спектра действия гидроксамовых кислот в зависимости от хемотипа. Очевидно, что для спироциклических гидроксамовых кислот характерна тенденция к проявлению противоопухолевых свойств. Это выражалось в способности соединений, содержащих как аминокислоты, так и хиназолиновое ядро, модулировать одновременно несколько ключевых звеньев патогенеза онкологических заболеваний. В свою очередь для веществ линейной структуры, содержащих фармакофорные фрагменты адамантана и природных соединений, наблюдалась способность оказывать нейропротекторное действие за счёт действия на основные патологические процессы, участвующие в патогенезе болезни Альцгеймера. Обнаруженные различия в биологической активности соединений, относящихся к одному классу - гидроксамовые кислоты, явно обусловлены структурной модификацией молекулы: введением различных фармакофорных фрагментов, варьированием длиной линкерной части и циклизацией. Полученные знания могут служить существенной предпосылкой при дальнейшем продолжении работ в области создания лекарственных препаратов на основе гидроксамовых кислот при поиске потенциальных как противоопухолевых, так и нейропротекторных средств.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что в ряду спироциклических гидроксамовых кислот, содержащих аминокислоты, соединение с валиновым заместителем, гидроксамовая кислота **3**, является соединением-лидером, обладающим выраженным Fe(II)-хелатирующим действием и ингибирующей активностью в отношении HDAC1. Данные свойства могут рассматриваться в качестве механизмов для хемосенсибилизирующей активности гидроксамовой кислоты **3** на мышинной модели меланомы B16, повышая чувствительность экспериментальной опухоли к действию циклофосфида.
2. Установлено, что спироциклические гидроксамовые кислоты на основе хиназолина проявляют высокую избирательную цитотоксическую активность в отношении клеток опухолевого происхождения, обусловленную способностью модулировать процессы, связанные с окислительным стрессом и функционированием митохондрий, снижать активность HDAC1 и ингибировать гликолиз.
3. Обнаружено, что среди линейных гидроксамовых кислот с CAP-группой природного происхождения выявлено соединение-лидер - гидроксамовая кислота **30**, содержащая в структуре фрагмент адамантана. Данное соединение проявляет комплексный тип нейропротекторной активности за счёт антиоксидантной способности, ингибирования HDAC6 и агрегации A β , а также

восстанавливает когнитивные дисфункции мышей 5xFAD, моделирующих болезнь Альцгеймера.

4. На основе анализа особенностей строения исследованных соединений выявлена тенденция спироциклических гидроксамовых кислот проявлять противоопухолевые свойства, а для веществ линейной структуры, содержащих фармакофорные фрагменты адамантана и природных соединений, - оказывать нейропротекторное действие.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ, ВХОДЯЩИХ В ПЕРЕЧЕНЬ ВАК МОИ РФ

1. Neganova M.E., **Aleksandrova Yu.R.**, Nebogatikov V.O., Klochkov S.G., Ustyugov A.A. Promising molecular targets for pharmacological therapy of neurodegenerative pathologies // *Acta Naturae*. – 2020. – V. 12. – №3. – P. 60-80. (BAK, Scopus, WoS)
2. Vystorop I.V., Shilov G.V., Chernyak A.V., Klimanova E.N., Sashenkova T.E., Klochkov S.G., Neganova M.E., **Aleksandrova Yu.R.**, Allayarova U.Yu., Mishchenko D.V. Regioselective Synthesis, Structure, and Chemosensitizing Antitumor Activity of Cyclic Hydroxamic Acid Based on DL-Valine // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. – 2021. – V. 47. – №3. – P. 757-764. (BAK, Scopus, WoS)
3. Neganova M.E., **Aleksandrova Yu.R.**, Suslov E.V., Mozhaitsev E.S., Munkuev A.A., Tsyypyshev D., Chicheva M.M., Rogachev A., Sukocheva O., Volcho K.P., Klochkov S.G. Novel Multitarget Hydroxamic Acids with a Natural Origin CAP Group against Alzheimer's Disease: Synthesis, Docking and Biological Evaluation // *Pharmaceutics*. – 2021. – V. 13. – P. 1893. (Scopus, WoS)
4. Neganova M.E., Klochkov S.G., **Aleksandrova Yu.R.**, Aliev G. The Hydroxamic Acids as a Potential Anticancer and Neuroprotective Agents // *Current Medicinal Chemistry*. – 2021. – V. 28. – №39. – P. 8139-8162. (Scopus, WoS)
5. Neganova M.E., Klochkov S.G., **Aleksandrova Yu.R.**, Osipov V.N., Avdeev D.V., Gromyko A.V., Pukhov S.A., Aliev G. New spirocyclic hydroxamic acids as effective antiproliferative agents // *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* – 2021. – V. 21. – №5. – P. 597-610. (Scopus, WoS)
6. Neganova M.E., Klochkov S.G., **Aleksandrova Yu.R.**, Aliev G. Histone modifications in epigenetic regulation of cancer: Perspectives and achieved progress // *Seminars in Cancer Biology*. – 2020. – V. 83. – P. 452-471. (Scopus, WoS)
7. Neganova M.E., **Aleksandrova Yu.R.**, Pukhov S.A., Klochkov S.G., Osipov V.N. Mechanisms of cytotoxic action of a series of directionally synthesized heterocyclic hydroxamic acids // *Biomeditsinskaya khimiya*. – 2020. – V. 66. – №4. – P. 332-338. (BAK, Scopus)

ДРУГИЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Климанова Е.Н., **Александрова Ю.Р.**, Неганова М.Е., Осипов В.Н., Ключков С.Г. Цитотоксические свойства новых спироциклических гидроксамовых кислот // Сборник научных трудов «Концепции современного образования: новации в системе научного знания», Казань. – 2020. – С. 239-243.
2. **Aleksandrova Yu.R.**, Osipov V.N., Avdeev D.V., Klochkov S.G., Neganova M.E. New derivatives of hydroxamic acids as highly effective antioxidants // 4th Russian Conference on Medicinal Chemistry with international participants. Abstract book – Ekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. – 2019. – P. 155.
3. **Александрова Ю.Р.**, Мищенко Д.В. Циклические и спироциклические гидроксамовые кислоты как основа для создания потенциальных противоопухолевых агентов. // Университет ИТМО, 2019 г. Сборник тезисов докладов конгресса молодых ученых. Электронное издание. – 2019.
4. **Aleksandrova Yu.R.**, Klochkov S.G., Osipov V.N., Neganova M.E. Neuroprotective properties of new hydroxamic acids: antioxidant potential and mitoprotective activity // Abstract book - 10th Anniversary World Congress on Targeting Mitochondria. – 2019. P. – 88.
5. Неганова М.Е., Ключков С.Г., **Александрова Ю.Р.** Перспективный класс полифункциональных биологически активных соединений на основе гидроксамовых кислот // Сборник тезисов докладов VI конференции МОБИ-ХимФарма. – 2020. – С. 76.
6. **Александрова Ю.Р.**, Суслов Е.В., Можайцев Е.С., Мункуев А.А., Ключков С.Г., Неганова М.Е. Перспективный класс полифункциональных биологически активных соединений на основе гидроксамовых кислот // Сборник тезисов докладов VI конференции МОБИ-ХимФарма. – 2020. – С. 130.
7. Неганова М.Е., **Александрова Ю.Р.**, Суслов Е.В., Можайцев Е.С., Мункуев А.А., Волчо К.П., Ключков С.Г. Исследование цитотоксического профиля новых спироциклических гидроксамовых кислот // 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием. – 2021. – С. 65.
8. Neganova M.E., **Aleksandrova Yu.R.**, Osipov V.N., Klochkov S.G. Target-oriented search for neuroprotective compounds in a series of spirocyclic hydroxamic acids // European Neuropsychopharmacology. – 2019. – V. 29. – №6. – P. 135-136. (Scopus, WoS)

ПАТЕНТЫ

1. Неганова М.Е., **Александрова Ю.Р.**, Мункуев А.А., Суслов Е.В., Волчо К.П., Салахутдинов Н.Ф. № 2783995 - 4-(3-((2-Адамантил)амино)-3-оксопроп-1-ен-1-ил)-N-гидроксибензамид - новое средство для лечения болезни Альцгеймера.