

НЕГАНОВА МАРГАРИТА ЕВГЕНЬЕВНА

**РАЦИОНАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ПОИСКУ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
АГЕНТОВ НА ОСНОВЕ ВЗАИМОСВЯЗИ БИОХИМИЧЕСКИХ
МЕХАНИЗМОВ ПАТОГЕНЕЗА НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ
И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

1.5.4. Биохимия (биологические науки)

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
доктора биологических наук

Черноголовка-2024

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 консультант:

Балакин Константин Валерьевич, д.х.н., доцент, в.н.с. Лаборатории медицинского оборудования в области ин витро диагностики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»

Официальные оппоненты:

Егорова Ксения Сергеевна, д.х.н., в.н.с. Лаборатории металлокомплексных и наноразмерных катализаторов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук

Торопова Яна Геннадьевна, д.б.н., заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Институт экспериментальной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, профессор кафедры патологической физиологии лечебного факультета Института медицинского образования Федерального государственного бюджетного учреждения «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России

Зоров Дмитрий Борисович, д.б.н., профессор МГУ имени М.В. Ломоносова, заведующий Отделом функциональной биохимии биополимеров Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)

Защита диссертации состоится «5» июня 2024 г. в «10.00» 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 (<https://vak.minobrnauki.gov.ru>) и УФИЦ РАН (<http://ufaras.ru>). Автореферат разослан «__» _____ 2024 г

Учёный секретарь диссертационного совета 24.1.218.01 доктор биологических наук, доцент Гульназ Фаритовна Корытина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Обеспечение населения эффективными средствами терапии социально значимых заболеваний является не только задачей науки и системы практического здравоохранения, но и одной из приоритетных стратегических целей научно-технологического развития как в Российской Федерации, так и во всем мире, достижение которой будет способствовать повышению качества и продолжительности жизни пациентов, а также снижению затрат национальных экономик на лечение данных заболеваний. Пожалуй, особое место в их списке – по распространенности, тяжести последствий, расходам на лечение – занимают нейродегенеративные состояния и злокачественные новообразования. Согласно статистическим данным, к 2030 году в мире от онкопатологий будут ежегодно умирать 15 млн. человек, а количество пациентов с различными формами нейродегенеративных расстройств достигнет 70 млн. Расходы на лечение указанных заболеваний ложатся тяжким бременем на бюджеты даже самых экономически развитых регионов планеты. Существующие на сегодняшний день терапевтические решения не обеспечивают достаточной эффективности и безопасности, что обуславливает необходимость разработки современных подходов с целью получения противоопухолевых и нейропротекторных средств нового поколения.

Доминирующая современная парадигма ранней поисковой фазы разработки лекарств основана на последовательном применении трёх базовых платформенных технологий – виртуальный компьютерный скрининг, химический синтез библиотек молекулярных объектов, биологический скрининг полученных образцов. Результатом этой исследовательской фазы является идентификация соединений-лидеров – потенциальных лекарственных кандидатов, которые в дальнейшем могут быть направлены на систематические доклинические и клинические исследования. Учитывая высокую консервативность и зарегулированность доклинической и клинической фаз – по фактической фиксированности объекта исследований, стандартизованности методов, срокам, стоимости, законодательным аспектам и пр., лишь совершенствование и повышение продуктивности ранних поисковых этапов способно обеспечить существенный прогресс в едином цикле разработки лекарств. Не вызывает сомнений, что рационализация подходов к биологическому скринингу молекулярных объектов является одним из значимых ресурсов к повышению эффективности исследовательской фазы.

В настоящее время большинство научных групп придерживается традиционной поисковой стратегии, в основном нацеленной на изучение биологической активности веществ в рамках одного терапевтического направления,

преимущественно в контексте мишень-ориентированного подхода. Однако такая стратегия не всегда оказывается рациональной, так как зачастую не учитывается фармакологический потенциал соединений в других терапевтических областях. Поэтому весьма актуальной проблемой является построение и внедрение комплексной, многоцелевой системы биологического тестирования химических веществ различной структуры как природного, так и синтетического происхождения, способной в максимальной степени раскрывать терапевтический потенциал тестируемых объектов, с целью повышения эффективности отбора и минимизации потерь активных соединений. В идеале такая система должна учитывать не только известные возможности, связанные с вариативностью терапевтического применения определенных типов мишень-специфичных молекулярных объектов, являющихся эффекторами поздних, нижележащих (от англ. downstream) биохимических каскадов, но и менее очевидный потенциал биологических тестов, дающих информацию о влиянии соединений на ранние, ключевые биохимические аспекты патогенеза, которые могут быть общими для различных заболеваний. Помимо развития концептуальных основ подобной интегральной системы биотестирования, необходимыми этапами работы являются ее практическое построение и совершенствование на базе современных высокотехнологичных исследовательских инструментов, экспериментальная валидация, а также непосредственное использование в практике.

Современный уровень научно-теоретических знаний о биохимических каскадах, вовлечённых в ранние этапы патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний, а также общее развитие мультидисциплинарных исследований, связанных с различными аспектами ранних этапов разработки лекарств, позволяют успешно решить указанные задачи, которые обладают несомненной актуальностью как на фундаментальном уровне, так и с точки зрения практического применения в сфере российского и мирового здравоохранения.

Степень разработанности темы исследования. Представление о единстве ранних этапов патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний в настоящее время переходит из области гипотез на уровень активного появления теоретических и экспериментальных обоснований. Так, в ряде недавних исследованиях был выявлен ряд общих патологических каскадов, связанных с нарушениями регуляции сигнальных путей и изменениями в экспрессии генов и белков (Lanni et al., 2021). Нередко такие изменения происходят в антагонистичных направлениях. Так, ещё до появления первых симптомов болезни Альцгеймера в нейрональных клетках головного мозга и на периферии отмечается сверхэкспрессия и аберрантная активность неправильно свёрнутой формы белка

p53 (French, 2022), в то время как его функциональная недостаточность ассоциирована с опухолевой трансформацией и прогрессированием широкого спектра злокачественных новообразований (Lacroix et al., 2020). В то же время наблюдаемый при нейродегенеративных заболеваниях сниженный уровень регулятора апоптоза Bcl-2 (Callens et al., 2021; Liu et al., 2019a), отражающий уязвимость нейрональных клеток к гибели, может сопровождаться сверхэкспрессией этого антиапоптотического белка при онкопатологиях (Fairlie and Lee, 2021). Отдельного внимания заслуживают вовлечённые в этиопатогенез данных заболеваний процессы, имеющие между собой существенные патофизиологические корреляции. Доминирующее положение в перечне таких процессов занимают окислительный стресс и митохондриальная дисфункция (Shevtsova et al., 2017), альтерации в биоэнергетическом метаболизме клеток (Pavlova and Thompson, 2016; Yin et al., 2016), а также эпигенетическая дисрегуляция (Goldsamt et al., 2020; Maity et al., 2021). Отмечалась также обратная корреляция между онкопатологиями и нейродегенерацией (Zhang et al., 2015a), когда распространённость злокачественных новообразований значительно снижена у людей с различными формами нейродегенеративных расстройств (Driver et al., 2012), в то время как среди пациентов с успешно излеченным онкологическим анамнезом наблюдается снижение риска развития болезни Альцгеймера (Driver et al., 2012), болезни Паркинсона (Gao and Ning, 2011) и других дементных синдромов. Из этих и других работ в данной области можно сделать вывод, что существуют теоретические предпосылки для выявления некоторых биохимических процессов, происходящих одновременно на этапах раннего патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний, а также рассмотрения этих процессов в контексте возможности построения интегральной системы биологического тестирования с целью рационализации поиска нейропротекторных и противоопухолевых лекарственных средств.

Цель исследования. Целью диссертационного исследования является разработка и практическое применение рационального подхода к поиску противоопухолевых и нейропротекторных агентов на основе гипотезы о взаимосвязи биохимических каскадов ранних стадий патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний.

Задачи исследования:

1. Обосновать фундаментальную взаимосвязь биохимических механизмов ранних стадий патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний, основываясь на анализе современного состояния исследований.

2. Построить на основе известных на уровне техники решений систему биологического тестирования химических соединений, предназначенную для оценки их влияния на биохимические каскады, потенциально вовлечённые в патогенез как онкологических, так и нейродегенеративных заболеваний, с целью рационализации ранних исследовательских этапов поиска лекарственных препаратов.
3. Используя разработанную систему тестирования, исследовать биологическую активность веществ, относящихся к различным классам химических соединений синтетического, природного и полусинтетического происхождения.
4. Выявить полифункциональные соединения-лидеры различных хемотипов, обладающие потенциалом противоопухолевого или нейропротекторного действия, и провести с ними систематический цикл *in vitro* и *in vivo* исследований, направленных на оценку перспектив использования в качестве лекарственных кандидатов.
5. Сформировать аннотированную базу химико-биологических данных, описывающих влияние исследуемых соединений на процессы, связанные с ранними стадиями развития нейродегенеративных и онкологических заболеваний.
6. Провести анализ возможности использования указанной аннотированной базы для поиска и прогнозирования структурно-функциональных закономерностей влияния молекулярных объектов на биохимические каскады на основе анализа информационной матрицы с применением алгоритмов хемоинформатики и искусственного интеллекта.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость. В рамках выполнения данного диссертационного исследования впервые был реализован интегральный подход к биотестированию химических соединений, основанный на общности биохимических каскадов патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний, для рационализации ранних исследовательских этапов поиска лекарственных препаратов.

Помимо фундаментально-теоретического аспекта, в работе был создан новый специальный информационно-аналитический инструмент, содержащий полученные в рамках настоящего диссертационного исследования химико-биологические данные для широкого ряда соединений – аннотированная база, позволяющая, в частности, относить исследуемые вещества к целевым группам потенциальных нейропротекторов или противоопухолевых агентов; прогнозировать структурно-функциональные закономерности влияния молекулярных объектов на биохимические каскады с применением алгоритмов хемоинформатики и искусственного интеллекта; получать информацию,

необходимую для дальнейшей направленной химической модификации синтезированных соединений с целью улучшения фармакологических характеристик.

Также новым практическим результатом в данной работе является идентификация при помощи разработанного подхода ряда эффективных нейропротекторных и противоопухолевых агентов среди соединений различных хемотипов: гидроксамовых кислот и производных природных молекулярных скаффолдов. Совокупность полученных теоретических и экспериментальных данных позволяет рассматривать эти соединения в качестве перспективных лекарственных кандидатов для дальнейшей доклинической и клинической разработки.

Интеграция теоретических знаний и полученного практического результата позволяет рассматривать данную диссертационную работу как социально значимую, так как фундаментальное исследование подобной направленности является неотъемлемой частью высокотехнологичного здравоохранения и разработки инновационных лекарственных препаратов.

Методология и методы исследования. Используемые в данном исследовании методы в полной мере соответствуют общей концепции диссертационной работы. Начальный этап работы включал информационный поиск, сбор и анализ литературных данных, отражающих текущее состояние проблемы, с целью изучения теоретических основ, поставленных в исследовании задач. В основе экспериментального методологического подхода лежат современные подходы *in silico*, *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* анализа. При выявлении межмолекулярных и межатомных взаимодействий молекул-лигандов с белками-мишенями методология проведенного исследования опирается на использование суперкомпьютерного молекулярного докинга. Реализация биохимических, гистологических и гистохимических подходов основана на применении флуориметрических, спектрофотометрических и люминесцентных методов, а также технологий микроскопической визуализации высокого разрешения. Для *in vivo* подтверждения нейропротекторных или противоопухолевых эффектов соединений-лидеров были использованы трансгенные животные или мыши с фармакологическими моделями нейродегенерации, а также экспериментальные животные с перевиваемыми опухолями.

Положения, выносимые на защиту:

1. Существует взаимосвязь определённых биохимических каскадов, вовлеченных в ранние этапы патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний и регулирующих, в частности, процессы, связанные с окислительным стрессом,

аберрантным функционированием митохондрий и некоторыми аспектами эпигенетической регуляции.

2. Разработанная система биологического тестирования, учитывающая фундаментальную взаимосвязь биохимических механизмов патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний, позволяет рационализировать ранний исследовательский этап разработки лекарственных препаратов, связанный с биологическим скринингом химических соединений различной природы.

3. Ряд идентифицированных соединений на основе природных матриц проявляет комплексный тип нейропротекторного действия; в частности, монотерпеновый эпоксидиол на основе *para*-ментанового остова является перспективной платформой для создания лекарственных препаратов для терапии болезни Паркинсона за счет своих антиоксидантных и митопротекторных свойств, препятствующих гибели дофаминэргических нейронов в головном мозге животных с хемоиндуцированной патологией паркинсонического типа.

4. Бифармакофорные производные сесквитерпеновых лактонов (дегидрокостуслактона и алантолактона) и полиалкоксибензолов демонстрируют новый, ранее не описанный комплексный профиль противоопухолевой активности, в основе которого лежат антиоксидантные свойства, а также способность деполяризовать митохондриальную мембрану и изменять метаболический фенотип опухолевых клеток, что позволяет рассматривать эти соединения в качестве перспективной основы для создания инновационных антинеопластических агентов.

5. Оригинальные производные гидроксамовых кислот линейной структуры, содержащие фрагменты адамантана и монотерпенов, способны восстанавливать когнитивный дефицит трансгенных мышей линии 5xFAD, моделирующих болезнь Альцгеймера, за счет мультитаргетного типа нейропротекторного действия, включающего антиоксидантную активность, а также способность ингибировать гистоновую деацетилазу 6 и препятствовать агрегации патологической формы β -амилоидного пептида 1-42.

6. Новые идентифицированные структурные хемотипы гидроксамовых кислот обладают специфическим типом противоопухолевого действия при отсутствии выраженной собственной цитотоксичности; в частности, спироциклические гидроксамовые кислоты ряда 1,4,8-триазаспиро[4.5]декан-2-она проявляют хемосенсибилизирующую активность к действию циклофосфида за счет HDAC1-ингибирующих и Fe(II)-хелатирующих свойств, а также способности приводить к деградации митохондрий.

7. Аннотированная база, содержащая химико-биологическую информацию об исследованных молекулярных объектах, позволяет идентифицировать и прогнозировать структурно-функциональные закономерности проявления целевой биологической активности новых соединений при помощи современных алгоритмов хемоинформатики и искусственного интеллекта.

Степень достоверности и апробация работы. При выполнении диссертационной работы были использованы разнообразные современные методы исследований, относящиеся к платформенным технологиям компьютерного скрининга, химического синтеза и биологического тестирования, соответствующие мировому уровню. Экспериментальные этапы работы проводились при помощи высокотехнологичного оборудования ИФАВ РАН и центров коллективного пользования. Достоверность полученных результатов обеспечена современными подходами к статистической обработке данных в программах GraphPad и Excel, сравнительным анализом и сопоставлением с известными литературными данными, а также высоким уровнем независимого экспертного рецензирования опубликованных автором научных работ.

Результаты работы апробированы на российских и международных научных конференциях, в частности, представлены в виде устных и стендовых докладов на I (Москва, МедХим Россия-2013), III (Казань, МедХим Россия-2017) и VI (Волгоград, МедХим Россия-2022) Конференциях по Медицинской Химии с международным участием; на Международных Конгрессах Европейского колледжа Нейропсихофармакологии – 29th ECNP Congress, 2016, Вена, Австрия; 30th ECNP Congress, 2017, Париж, Франция; 31st ECNP Congress, 2018, Барселона, Испания и 32nd ECNP Congress, 2019, Копенгаген, Дания; на 9-м (2018) и 10-м (2019) Конгрессах «Митохондрия как мишень» (Targeting Mitochondria), Берлин, Германия и других.

Личный вклад автора. Автору принадлежит ключевая роль в выработке цели и направления исследования, определении общей концепции, постановке задач, выборе плана работы и методологии исследования. Описанные в диссертационной работе экспериментальные результаты, касающиеся всех проведенных биологических испытаний, статистическая обработка, анализ данных и их публикация проведены автором лично, либо при ключевом непосредственном участии. Под руководством автора защищена диссертация на соискание степени кандидата биологических наук.

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 47 статей в журналах, индексируемых в Web of Science, Scopus, РИНЦ, из них 37 в

журналах Q1 и Q2, 10 в журналах РИНЦ, 2 главы в монографиях и получен 1 патент.

Соответствие диссертационной работы паспорту научной специальности.

Диссертационная работа «Рациональный подход к поиску лекарственных агентов на основе взаимосвязи биохимических механизмов патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний» полностью соответствует паспорту научной специальности 1.5.4. – «Биохимия» и представляет собой целостное научное исследование, основополагающим звеном которого являлось построение системы биотестирования соединений различной химической структуры, предназначенной для оценки их влияния на биохимические каскады, потенциально вовлечённые в патогенез как онкологических, так и нейродегенеративных заболеваний, с целью рационализации ранних исследовательских этапов поиска лекарственных препаратов.

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 898 зарубежных и отечественных источников. Материалы диссертации изложены на 423 страницах машинописного текста, включают 76 рисунков, 27 таблиц и 3 приложения.

Финансовая поддержка и благодарности. Диссертационная работа выполнялась в соответствии с планами научно-исследовательских работ Лаборатории биохимии патологических процессов ИФАВ РАН в период с 2014 по 2024 гг. при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2022-1128, от 30.06.2022 г.), РФФИ (№ 18-33-01185 мол_а «Направленный молекулярный дизайн таргетных противоопухолевых агентов на основе гидроксамовых кислот – ингибиторов гистондеацетилазы»; РФФИ № 18-33-20209 мол_а_вед «Синтез и изучение фундаментальных механизмов противоопухолевого действия рационально спланированных гибридных соединений на основе уникальных природных матриц») и РНФ (17-73-10461 «Общность молекулярных мишеней комплексной системы биотестирования для разработки инновационных лекарственных препаратов с противоопухолевым или нейропротекторным действием»; РНФ №19-73-10195 «Синтез и мишень-ориентированный поиск полифункциональных молекул, обладающих избирательным действием на основные звенья патогенеза нейродегенеративных заболеваний»; РНФ №22-23-00995 «Разработка новых методологических подходов синтеза полифункциональных гидроксамовых кислот с нейропротекторными или

противоопухолевыми свойствами путём варьирования Сар-группы и линкерной части»).

*Автор выражает глубокую признательность руководителю Лаборатории природных соединений ИФАВ РАН к.б.н. С.Г. Клочкову за помощь в концептуальной постановке проблемы настоящего исследования, синтез соединений на основе природных матриц, совместные обсуждения полученных результатов, соавторство в научных публикациях, а также многолетнее плодотворное творческое сотрудничество. Автор выражает искреннюю благодарность научному консультанту д.х.н. К.В. Балакину за неоценимую помощь и квалифицированные научные консультации при выполнении работы. Особые слова благодарности автор выражает академику РАН С.О. Бачурину за ценные рекомендации при обсуждении полученных результатов. Автор благодарит коллектив Лаборатории биохимии патологических процессов ИФАВ РАН за постоянное содействие в проведении экспериментов и получении результатов, особенно к.б.н. Ю.Р. Александрову. Автор признателен коллективу Лаборатории природных соединений ИФАВ РАН за синтез веществ на основе природных агентов; д.х.н., проф. В.К. Брелю и сотрудникам Лаборатории фосфорорганических соединений ИНЭОС РАН за синтез биоконъюгатов на основе сесквитерпеновых лактонов; сотрудникам НИОХ СО РАН – к. х. н. Е.В. Сулову, А.А. Мункуеву и д.х.н., проф. К.П. Волчо за синтез гидроксамовых кислот линейной структуры и монотерпеновых производных пара-ментанового остова; с. н. с., к. х. н. В.Н. Осипову (НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина) и И.В. Высторопу (ФИЦ ПХФ и МХ РАН) за проведение синтетических работ по получению циклических гидроксамовых кислот. Также автор выражает благодарность с.н.с., к.б.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.*

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Совершенствование системы биотестирования химических соединений для поиска как противоопухолевых, так и нейропротекторных агентов

Большинство типичных современных поисково-исследовательских программ на ранних этапах разработки фармакологических средств преследуют задачи, связанные с поиском лекарственных кандидатов для определённого терапевтического направления. В частности, это направление задаётся выбором специфических биологических мишеней в качестве объектов химико-биологических исследований. Однако такой подход не всегда является

рациональным, поскольку возможны ситуации, когда по результатам экспериментов соединение оказывается бесперспективным для целевой, изначально предполагаемой терапевтической индикации. Но при этом может не учитываться потенциал использования этого же соединения по другим терапевтическим направлениям, который обусловлен результатами тех же экспериментов, но рассмотренными с точки зрения альтернативных потенциальных физиологических последствий. И во многих случаях такая ситуация возникает не из-за недостатка исследовательских ресурсов, а из-за концептуальных ограничений при разработке стратегии исследования. Как следствие, вещества, не проходящие изначально заданные критерии отбора, выводятся из дальнейших исследований, хотя потенциально среди них могут оказаться перспективные соединения.

Также необходимо учитывать тот факт, что нейродегенеративные и онкологические заболевания являются полиэтиологичными, то есть их патогенез формируется множеством факторов. При этом в том и в другом случае наблюдаются общие патологические процессы, развивающиеся на ранних стадиях заболевания и проявляющиеся раньше специфических признаков болезни. К таким патологическим процессам можно отнести окислительный стресс, дисфункцию митохондрий, изменения в энергетическом обмене клетки и нарушения в эпигенетической регуляции, что при нейродегенерации и онкогенезе запускает целый ряд негативных последствий, приводящих в случае нейродегенеративных заболеваний к гибели нейрональных клеток, а при онкологии – возникновению, росту и развитию опухоли. Более того, для получения эффективного фармацевтического препарата отобранное соединение должно обладать мультитаргетным типом активности, то есть воздействовать одновременно на несколько потенциальных биомишеней и/или биохимических каскадов, вовлечённых в патогенез заболевания.

В силу сказанного, создание универсальной комплексной системы биологического тестирования химических соединений с целью поиска потенциальных лекарственных препаратов, способной с максимальной пользой использовать информацию, полученную в ходе экспериментов, является актуальной задачей современной биохимии, медицинской химии и фармакологии.

В данной работе мы предприняли попытку усовершенствования существующей стандартной схемы биотестирования с целью формирования интегральной панели биотестов, позволяющих перенести фундаментальный принцип единства развития ранних стадий нейродегенерации и онкогенеза, а также концепцию мультитаргетности в прикладную плоскость для реализации важнейшей задачи – создания новых лекарственных средств для лечения социально значимых

заболеваний.

Необходимым условием получения достоверной и всесторонне развёрнутой информации об эффективности потенциального лекарственного средства перед передачей вещества на доклинические испытания является проведение его через систему тестов, которая должна включать в себя биообъекты разных уровней организации живой материи – молекулярного, клеточного и организменного. При составлении алгоритма отбора эффективных соединений был использован принцип каскадности – поэтапное получение информации и интеграция потока знаний в единое целое.

Как представлено на схеме 1, усовершенствованная система биотестирования включала 5 основных этапов: ранний скрининговый этап, аналитический этап, этап определения влияния соединений на выживаемость клеточных культур, этапы определения специфической активности *in vitro* и *in vivo*.



Схема 1 – Архитектура усовершенствованной интегральной системы биологического тестирования химических соединений различной структуры.

При выборе тестов для раннего скринингового этапа интегральной системы биологического тестирования химических соединений был использован принцип единства биохимических каскадов начальных стадий патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний.

Предложенная научно-обоснованная методическая база представляет собой эффективную скрининговую схему, позволяющую выявить из большого числа новых соединений вещества, способные модулировать процессы, связанные с окислительным стрессом, влиять на функциональные характеристики митохондрий

и компоненты эпигенетической регуляции.

Для первичного скрининга были использованы следующие блоки тестов:

1. Комплексная оценка антиоксидантного статуса: оценка влияния на интенсивность процесса перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, анализ железохелатирующей активности и антирадикального действия.
 2. Исследование влияния на функциональные характеристики изолированных митохондрий печени крыс: влияние на трансмембранный потенциал и действие на Ca^{2+} -вызванное «набухание» митохондрий.
 3. Анализ действия соединений на компоненты эпигенетической регуляции – гистоновые деацетилазы, относящиеся к разным классам: I – HDAC1 и II – HDAC6.
- После описанного выше скрининга с помощью стандартизированного алгоритма (схема 2) из общего количества тестируемых соединений были выделены и распределены по группам эффективные вещества-хиты:



Схема 2 – Алгоритм отбора эффективных соединений в группы потенциальных нейропротекторных или противоопухолевых препаратов по итогам исследования биологической активности на раннем скрининговом этапе.

- 1) потенциальные нейропротекторы, обладающие двумя или более характеристиками – антиоксидантной активностью, отсутствием влияния на трансмембранный потенциал митохондрий, способностью увеличивать порог чувствительности митохондрий к открытию поры перехода проницаемости, а также способностью ингибировать активность HDAC6;
- 2) потенциальные онколитики, обладающие двумя или более характеристиками – прооксидантной или антиоксидантной активностью, способностью деполаризовать мембрану митохондрий и снижать порог чувствительности митохондрий к Ca^{2+} -вызванному «набуханию», а также ингибировать активность HDAC1.

Таким образом, главной характеристикой построенной системы раннего скрининга химических соединений является принцип объединения мишеней действия веществ для разных патологий, что позволяет с минимальными затратами получать полный объем данных, необходимых для определения фармакологической направленности, а также обеспечивать тесную связь между синтетическими работами и получением информации о биологической активности.

Молекулярные объекты исследования

Дизайн бифармакофорных соединений является перспективным современным направлением в разработке инновационных лекарственных средств. Типичной идеей, обосновывающей присутствие в одной молекуле двух ковалентно связанных блоков, является значительное (в некоторых случаях на порядки) повышение эффективности в определённом фармакологическом направлении по сравнению с действием тех же самых индивидуальных компонентов.

При биотестировании с использованием усовершенствованной интегральной системы для реализации концепции единовременного поиска потенциальных лекарственных препаратов различной фармакологической направленности в работе использовались две основные группы бифармакофорных агентов: 1 группа – производные природных соединений и 2 группа – гидроксамовые кислоты.

Производные природных соединений

Перспективность поиска лекарственных агентов среди веществ природного происхождения может быть обусловлена несколькими факторами, в частности, уникальной и разносторонней биологической активностью, доступностью из природных источников и широкими возможностями для модификации. Исторически большинство новых лекарств разрабатывалось из природных продуктов (или их вторичных метаболитов) и полученных из них соединений.

В нашей работе проводился поиск потенциальных противоопухолевых и нейропротекторных препаратов в ряду разнообразных по структуре производных природных соединений, включая аминопроизводные алкалоида секуринина, амино- и азинопроизводные сесквитерпеновых лактонов, производные монотерпенового диола *para*-ментанового остова и биоконъюгаты лактонов с полиалкокксибензолами (рисунок 1).

Гидроксамовые кислоты

Гидроксамовые кислоты представляют собой *N*-гидроксиамиды, нацеленные на металлосодержащие ферменты (Zhang et al., 2018b) и используемые в качестве лекарственных препаратов для лечения онкологических и других заболеваний. В рамках данного диссертационного исследования изучались биологические свойства

гидроксамовых кислот (ГК) различных хемотипов, схематично представленных на рисунке 2.

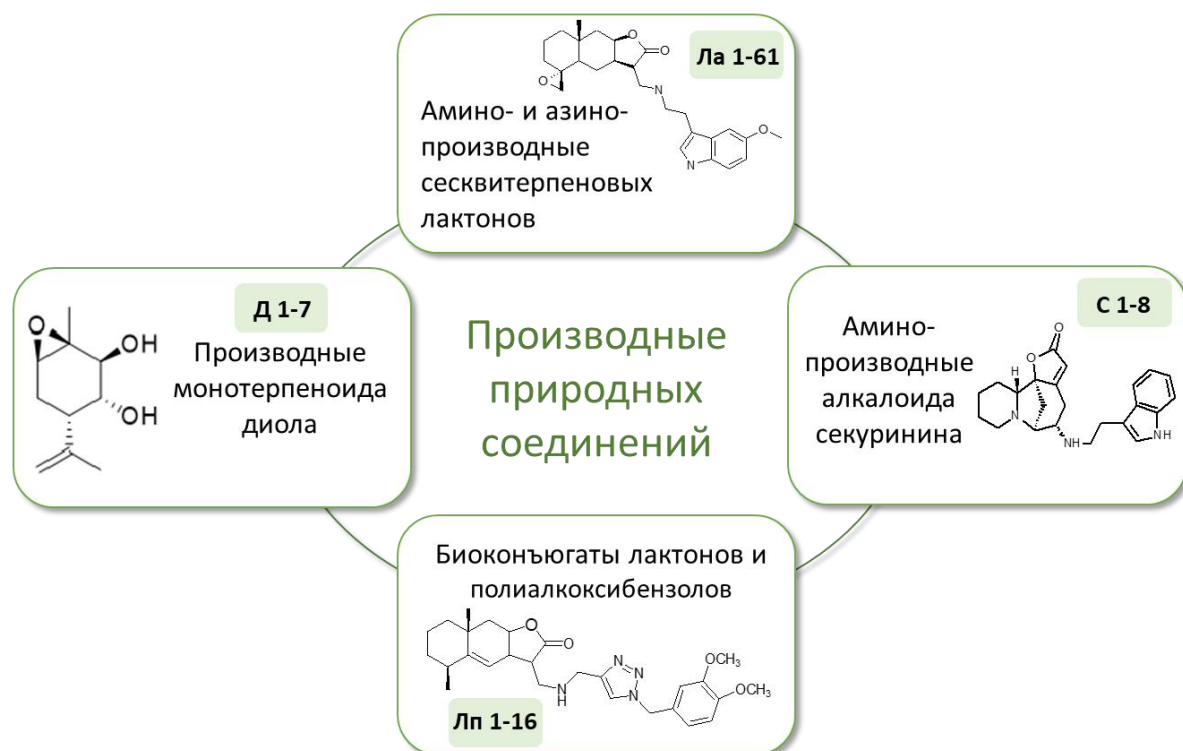


Рисунок 1 — Группы объектов исследования из первой серии веществ — производных природных соединений (репрезентативные примеры).



Рисунок 2 — Объекты исследования из второй группы веществ – гидроксамовые кислоты (репрезентативные примеры).

Биотестирование

Ранний скрининговый этап и распределение веществ по фармакологическим группам: потенциальные противоопухолевые или нейропротекторные агенты

На первом этапе исследования биологических характеристик молекулярных объектов (раннем скрининговом этапе) мы сформулировали основные задачи, которые, в первую очередь, заключались в идентификации активных соединений-хитов, обладающих тем или иным терапевтическим потенциалом, в массиве новых синтезированных веществ неопределённой эффективности, а во вторую очередь, в распределении соединений по двум группам – потенциальные нейропротекторные или противоопухолевые агенты. Идентифицированные в результате первичного скрининга хиты являлись отправными точками для дальнейшего исследования и отбора наиболее перспективных соединений-лидеров, которые могли бы выступать как самостоятельные лекарственные кандидаты или послужить в дальнейшем в качестве основы для создания более эффективных терапевтических агентов.

При разработке потенциальных нейропротекторных или противоопухолевых препаратов существенное значение придаётся исследованию влияния веществ на окислительный стресс. Причём наличие антиоксидантных свойств у целевых соединений является положительным свойством, которое при нейродегенерации помогает бороться с АФК и защищает нейроны от гибели, а при онкогенезе возвращает генетическую стабильность трансформированным клеткам и снижает токсичность по отношению к здоровому микроокружению.

В тесной взаимосвязи с окислительным стрессом находится функциональное состояние митохондрий, которые регулируют процессы клеточной гибели, что позволяет рассматривать данные органеллы в качестве перспективной терапевтической мишени для лечения данных патологических состояний.

В последние годы все больше внимания уделяется эпигенетической регуляции транскрипции генов при различных патологиях, в том числе НДЗ и онкогенезе. Так, в качестве перспективных терапевтических мишеней для лечения онкопатологий и болезни Альцгеймера рассматриваются гистоновые деацетилазы 1 и 6 (HDAC1 и HDAC6), сверхэкспрессия которых приводит к ряду патологических каскадов при данных заболеваниях.

Исходя из вышесказанного, все химические соединения, которые поступали на исследование биологической активности, изначально тестировались в концентрации 100 мкМ в экспериментах, направленных на комплексную оценку антиоксидантного статуса и анализ влияния на функциональные характеристики изолированных митохондрий печени крыс. Для гидроксамовых кислот также был проведен анализ действия соединений на HDAC6 и HDAC1.

Все полученные данные были занесены в общую таблицу (приложение А и Б в полном тексте диссертации), которая в дальнейшем была преобразована в электронную аннотированную базу. При анализе полученных результатов с помощью стандартизированного алгоритма (схема 2) из всех тестируемых соединений были выделены и распределены по группам эффективные вещества-хиты:

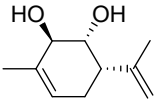
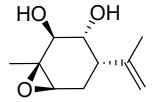
- 1) потенциальные нейропротекторы: *производные природных соединений* – алломаргаритарин, монотерпеновый эпоксидиол; *гидроксамовые кислоты* – ГК, содержащие монотерпеновый и адамантановый фрагменты;
- 2) потенциальные онколитики: *производные природных соединений* – азинопроизводные 6-гидроксиксантаодиена и аминопроизводное артеаннуина Б, биоконъюгаты сесквитерпеновых лактонов и полиалкокксибензолов; *гидроксамовые кислоты* – ГК на основе хиназолина, ГК с бициклическим пинановым остовом, спироциклические ГК, содержащие аминокислотные остатки.

Далее, согласно нашей системе биотестирования, мы перешли к подробному изучению целевых свойств веществ-хитов в том или ином фармакологическом направлении. В автореферате представлены наиболее значимые доказательные результаты.

***In vitro* и *in vivo* исследование целевой эффективности монотерпеноидов на основе *para*-ментанового остова диола и эпоксидиола, отнесённых к группе потенциальных нейропротекторных агентов среди соединений на основе природных скаффолдов**

В ходе раннего скринингового этапа биотестирования среди значительного количества производных природных веществ одной из групп соединений-хитов были выделены два молекулярных объекта с нейропротекторным потенциалом – монотерпеноиды на основе *para*-ментанового остова диол (Д 1) и эпоксидиол (Д 2) (таблица 1). Для данных веществ было характерно наличие антиоксидантной активности за счёт ингибирования процесса ПОЛ, инициируемого разными окислителями, и митопротекторной активности на изолированных митохондриях за счёт снижения скорости «набухания» и отсутствия влияния на мембранный потенциал (таблица 1) (Aleksandrova et al., 2023a).

Таблица 1 — Результаты раннего скринингового этапа для монотерпеноидов диола и эпоксидиола

В-во	Формула	ПОЛ (Fe ²⁺)	ПОЛ (т-БГП)	Свеллинг
Д 1		22,4±3,3	14,4±1,4	87,3±6,2
Д 2		25,1±4,9	17,8±2,0	67,6±3,7

Ранее для Д 1 был показан противопаркинсонический потенциал (Ardashov et al., 2011; Valdman et al., 2017) и в настоящее время данное вещество успешно прошло первую фазу клинических исследований. Подобное действие было обнаружено и для его активного метаболита Д 2 (1*S*,2*S*,3*R*,4*S*,6*R*)-1-метил-4-(проп-1-ен-2-ил)-7-оксабицикло[4.1.0]гептан-2,3-диола) (Ardashov et al., 2019), и для расширения понимания возможных механизмов антипаркинсонического действия Д 1 и Д 2 мы впервые провели исследование их биологической активности в контексте последовательного изучения митопротекторных свойств на *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* стадиях тестирования.

Для имитации патогенеза болезни Паркинсона был использован известный нейротоксин ротенон, что обусловлено его участием во многих патологических путях, опосредующих гибель именно дофаминергических нейронов, что воспроизводит как моторные (Hettiarachchi et al., 2022), так и немоторные симптомы паркинсонизма (Babatunde et al., 2023).

Первоначально для оценки возможных собственных токсических эффектов Д 1 и Д 2 было изучено их влияние на выживаемость клеток SH-SY5Y в максимально используемой концентрации 100 мкМ, где было обнаружено, что Д 1 приводит к гибели 18,1 ± 0,6 % ($p < 0,0001$) клеток, в то время как Д 2 не вызывал какого-либо снижения жизнеспособности. В экспериментах с комбинированным применением исследуемых соединений и ротенона было обнаружено, что Д 2 проявлял концентрационно-зависимый защитный эффект на клеточной линии SH-SY5Y, подвергшейся воздействию токсина в концентрации 100 нМ (рисунок 3б), при этом Д 1 не оказывал подобного действия (рисунок 3а).

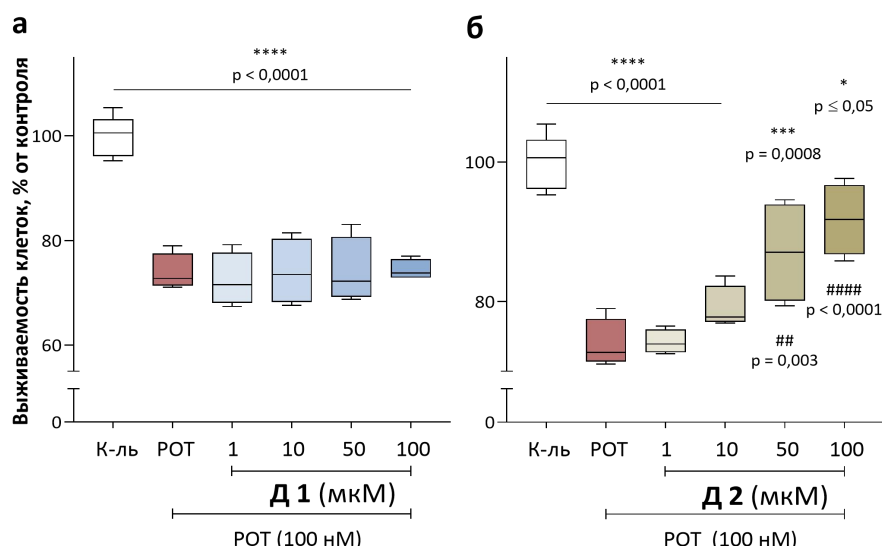


Рисунок 3 — Влияние Д 1 (а) и Д 2 (б) (от 1 мкМ до 100 мкМ) на выживаемость клеток SH-SY5Y в присутствии ротенона (100 нМ). Данные представлены как среднее \pm SEM. *, ***, ****, $p < 0,05$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ по сравнению с контролем, ##, #### $p < 0,01$ и $p < 0,0001$ по сравнению с ротенонем (ANOVA, критерий Даннета).

Одним из механизмов цитотоксического действия ротенона является его способность приводить к диссипации трансмембранного потенциала митохондрий, в связи с чем нами была измерена данная характеристика органелл, предобработанных Д1 и Д 2 при импульсном добавлении подпороговых концентраций нейротоксина в систему.

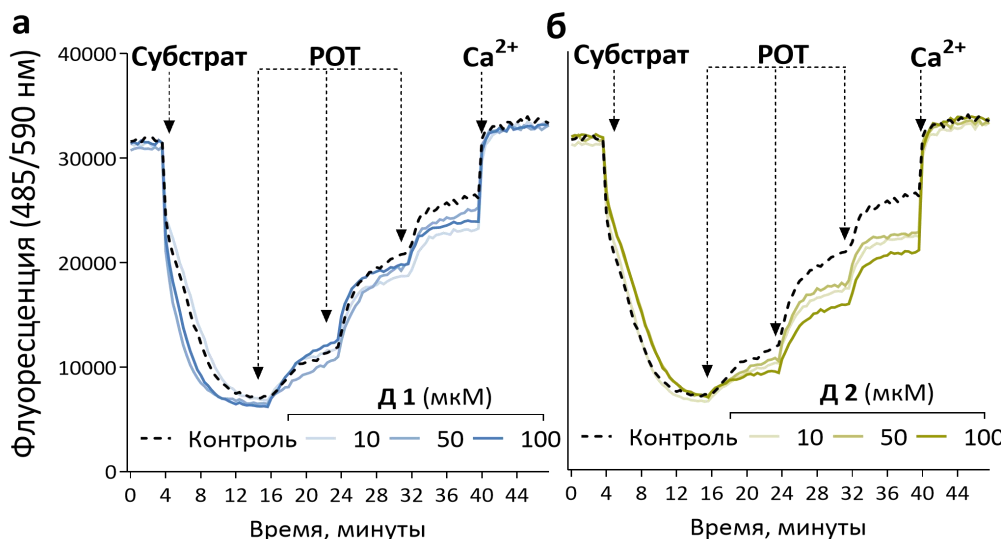


Рисунок 4 — Оценка мембранного потенциала изолированных митохондрий печени крыс под действием а — Д 1 и б — Д 2 (от 10 мкМ до 100 мкМ) и при болюсном добавлении ротенона (10 нМ). Субстраты — глутамат/малат (5 мМ), концентрация ионов Ca²⁺ - 25 мкМ.

Как показано на рисунке 4, последовательное добавление ротенона приводило к существенной деполяризации митохондриальной мембраны, в то время как Д 2

наиболее эффективно нормализовал нарушения мембранного потенциала, препятствуя снижению сигнала флюоресценции на 47%, 37% и 26%, соответственно.

Ротенон является мощным ингибитором комплекса I митохондриальной цепи переноса электронов и блокирует последующее использование кислорода при окислительном фосфорилировании, снижающая выработку АТФ (Schiller and Zickermann, 2022). Такая модуляция метаболизма и дыхательной способности органелл имеет выраженную корреляцию с гибелью клеток, что важно для формирования патологии при болезни Паркинсона (Gonzalez-Casacuberta et al., 2019; Juarez-Flores et al., 2020; Nguyen et al., 2019; Picca et al., 2021). Ряд исследований показывает, что нарушение в работе митохондриального комплекса I занимает центральное место в патогенезе болезни Паркинсона (Ibarra-Gutierrez et al., 2023).

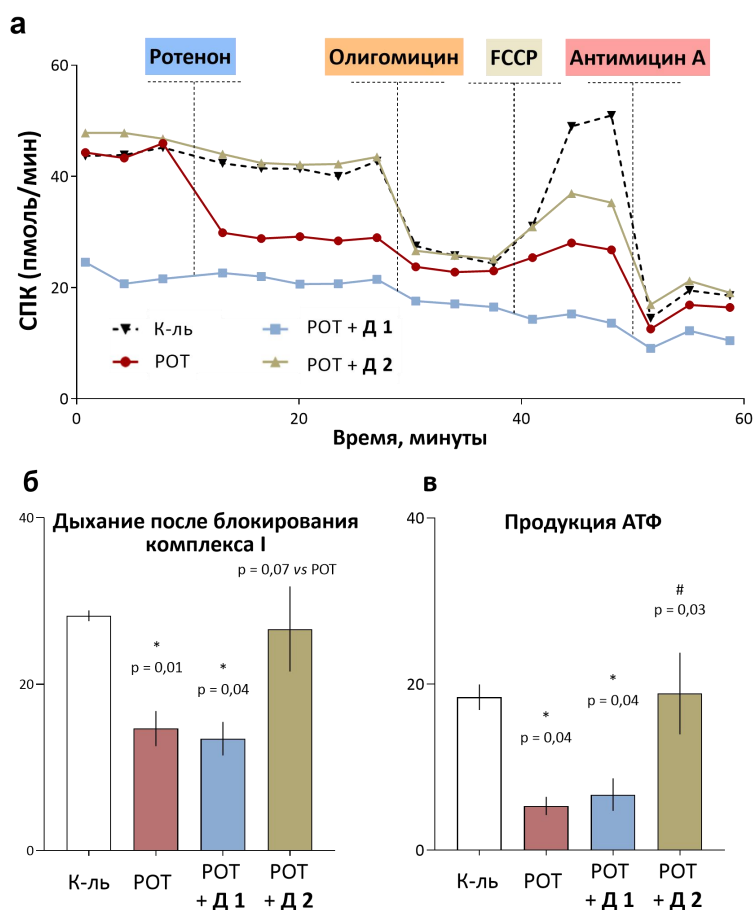


Рисунок 5 — Оценка биоэнергетических характеристик митохондрий клеток нейробластомы SH-SY5Y. а — кинетические кривые изменения скорости потребления кислорода (Д 1 и Д 2 — 100 мкМ, ротенон — 10 нМ, олигомицин — 2 мкМ, FCCP — 2 мкМ и антимицин А — 1 мкМ). Биоэнергетические параметры митохондрий: б — дыхание после блокирования I комплекса; в — продукция АТФ. Данные представлены как среднее \pm SEM. *, $p < 0,05$ по сравнению с контролем, #, $p < 0,05$ по сравнению с ротеноном (ANOVA, критерий Даннета).

В нашей работе было изучено влияние соединений на биоэнергетический профиль клеточной линии нейробластомы под действием нейротоксина. Так, предварительная обработка клеток нейробластомы SH-SY5Y Д 2 в концентрации 100 мкМ смогла нивелировать эффекты, вызванные ротеноном (рисунок 5), а именно, препятствовать снижению скорости поглощения кислорода (СПК) клетками, удерживая данный показатель на уровне контрольных образцов ($26,6 \pm 5,1$ пмоль/мин). Более того, Д 2 сохранил СПК, связанную с выработкой АТФ, на уровне $18,9 \pm 4,9$ пмоль/мин, что достоверно выше, чем в образцах с токсином. В случае образцов, предобработанных Д 1, уже с первого измерения СПК находилась на гораздо более низком уровне.

Таким образом, полученные в рамках этапа углубленных *in vitro* исследований результаты с использованием биообъектов разных уровней организации продемонстрировали для Д 2 большую эффективность по сравнению с исходным монотерпеноидом Д 1, что выражалось в превосходной способности препятствовать токсичности ротенона за счёт положительного влияния на митохондриальную дисфункцию. В связи с этим в дальнейшей *in vivo* серии экспериментов было исследовано только соединение Д 2.

Для моделирования патологического фенотипа болезни Паркинсона в рамках *in vivo* исследований мышам-самцам линии C57BL/6 в течение 21 дня путём внутрибрюшинной инъекции вводили ротенон в дозе 1 мг/кг ежедневно. При использовании именно низких доз токсина и многократном введении наблюдается чёткая временная зависимость развития паркинсонической патологии (Borland et al., 2008; Miyazaki et al., 2020; Sharma et al., 2022). С целью сравнения возможных различий в нейропротекторных эффектах Д 2 введение соединения в дозе 15 мг/кг осуществляли по двум схемам: (1) ежедневно, начиная с 8 дня эксперимента в условиях уже сформированной патологии, и (2) ежедневно в течение всего периода эксперимента. В качестве контрольной группы были использованы животные того же возраста, которые получали инъекции эквивалентных объёмов растворителей.

Двигательные характеристики животных оценивали в тесте Открытое поле, где было обнаружено, что у мышей, получавших РОТ, наблюдалось значительное снижение средней скорости движения и пройденной дистанции по сравнению с контрольной группой. Группы животных, получавшие помимо токсина Д 2, продемонстрировали способность восстанавливать показатели двигательной активности, увеличивая среднюю скорость и пройденную дистанцию вплоть до уровня контроля (рисунок 6а,б).

При оценке моторной координации и выносливости мышей в тесте Ускоряющегося ротарода животные, моделирующие болезнь Паркинсона,

проводили значительно меньше времени в установке, чем интактные мыши, что свидетельствует о значительном нарушении их способности удерживаться на вращающемся барабане. Лечение Д 2 значительно улучшило способность животных оставаться на ротароде, при этом как и в тесте Открытое поле при использовании первой схемы введения наблюдалась тенденция к улучшению показателя выносливости и координации, а применение Д 2 в течение всего периода *in vivo* эксперимента привело к достоверному увеличению времени нахождения на ротароде вплоть до уровня контрольных дикотипных мышей (рисунок 6в).

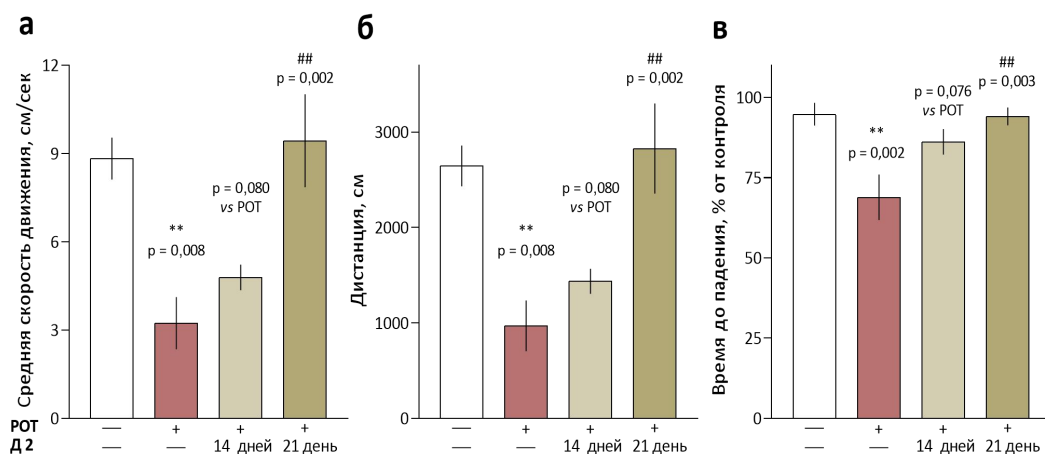


Рисунок 6 — Влияние Д 2 (15 мг/кг) на двигательную активность мышей тесте Открытое поле (а и б), координацию в тесте Ускоряющийся ротарод (в). **, ## $p \leq 0,01$ относительно контроля и Ротенона, соответственно (ANOVA, критерий Бонферрони).

В связи с тем, что помимо симптомов, связанных с двигательными нарушениями, у пациентов с паркинсонизмом наблюдаются так называемые немоторные когнитивные дисфункции (Aarsland et al., 2021), связанные главным образом с нарушениями гиппокамп-зависимой пространственной памяти (Smith et al., 2021), нами была произведена оценка данного вида памяти в тесте Y-образного лабиринта.

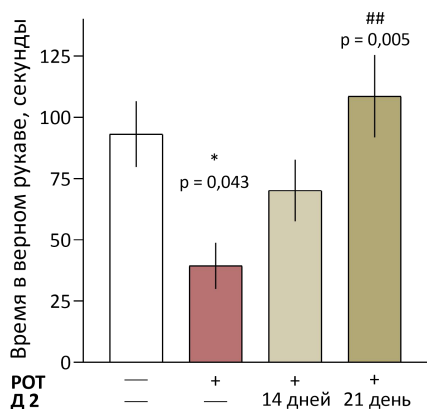


Рисунок 7 — *In vivo* исследование влияния Д 2 на формирование кратковременной пространственной памяти мышей в тесте Y-образный лабиринт. Данные представлены как среднее \pm SEM. * $p \leq 0,05$ относительно контроля; ## $p \leq 0,01$ относительно POT (ANOVA, критерий Бонферрони).

Так, мыши, получавшие инъекции ротенона, проводили меньше времени в целевом рукаве лабиринта по сравнению с контролем, в то время как для группы ROT + Д 2 (2) наблюдалась способность достоверно увеличивать данный показатель (рисунок 7).

По окончании *in vivo* тестирования для формирования полноценного представления о механизмах антипаркинсонического действия Д 2 нами был произведен анализ образцов головного мозга мышей для анализа количества дофаминергических нейронов. Так, у животных из группы ROT было отмечено значительное снижение числа TH-позитивных дофаминергических нейронов в черной субстанции и вентральной области покрышки на 27,8 % и 32,4 %, соответственно (рисунок 8б,д). В свою очередь у животных, получавших лечение Д 2, в течение 14 (рисунок 8в,д) и 21 (рисунок 8г,д) дней введения данный показатель был достоверно выше на 36,6 % и 41,7 % (для ROT + Д 2 (1)) и на 45,7 % и 45,9 % (для ROT + Д 2 (2)), соответственно.

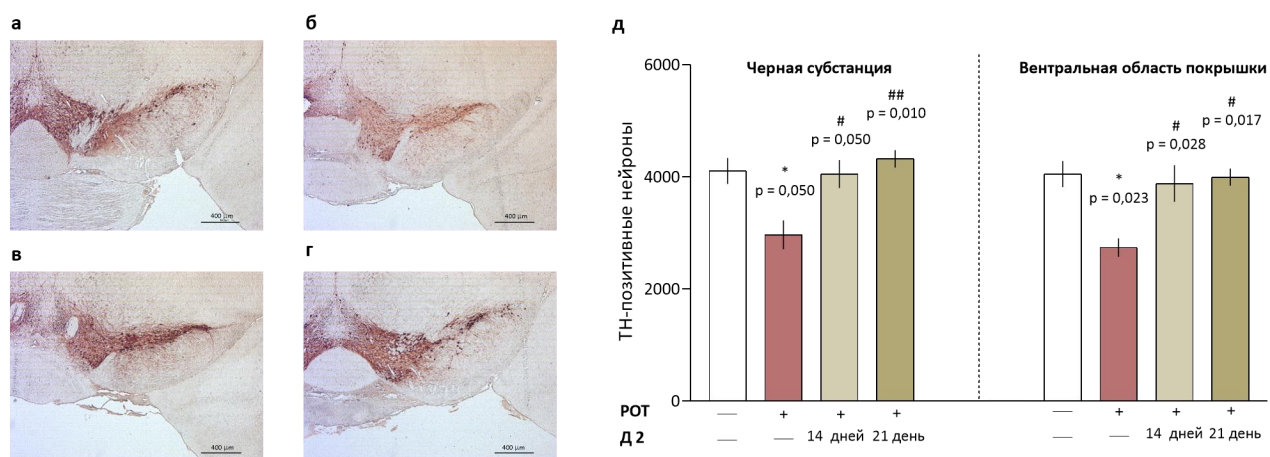


Рисунок 8 — Анализ количества дофаминергических нейронов в областях головного мозга мышей. Репрезентативные фотографии мозга: а — контроль, б — ROT, в — ROT + Д 2 (1) и г — ROT + Д 2 (2). д — количественная оценка нейронов в отдельных областях мозга. Данные представлены как среднее \pm SEM. *, # $p \leq 0,05$ относительно контроля и ROT, соответственно (ANOVA, критерий Краскела-Уоллиса).

Далее была проведена функциональная оценка работы митохондриальных комплексов синаптосомальных р2 фракции, полученных из образцов головного мозга животных. В органеллах, выделенных у мышей, получавших ротенон, наблюдалось сниженное потребление кислорода для всех комплексов дыхательной цепи, однако в митохондриях мозга животных, получавших Д 2 в течение 21 дня, наблюдалось достоверное увеличение СПК, что подтверждает гипотезу о митопротекторном действии исследуемого соединения (рисунок 9а).

Также было обнаружено, что в образцах головного мозга животных,

получавших лечение Д 2, наблюдалось достоверное снижение маркера перекисного окисления липидов – малонового диальдегида – по сравнению как с группой РОТ, так и с контрольными мышами (рисунок 9б), что подтверждает наличие для исследуемого соединения антиоксидантных свойств, обнаруженных на раннем скрининговом этапе.

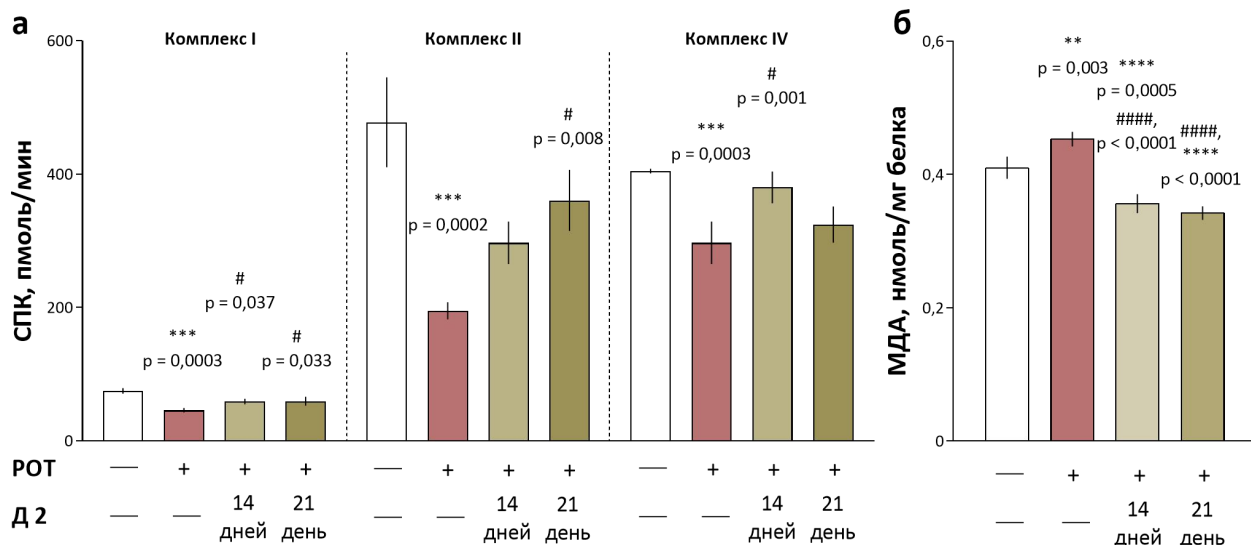


Рисунок 9 — Влияние Д 2 на работу комплексов ЭТЦ митохондрий (а) и уровень МДА (б). Данные представлены как среднее \pm SEM. **, *** $p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$ относительно контроля; #, #### $p \leq 0,05$, $p \leq 0,0001$ относительно РОТ, ANOVA (критерий Даннета).

Таким образом, в данном разделе нашей работы были проанализированы антипаркинсонические свойства *транс*-эпоксид (1*S*,2*S*,3*R*,4*S*,6*R*)-1-метил-4-(проп-1-ен-2-ил)-7-оксабицикло[4.1.0]гептан-2,3-диола (Д 2) на модели ротенон-индуцированной нейротоксичности с использованием *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* подходов в контексте изучения митопротекторных свойств соединения. Полученные результаты свидетельствуют о том, что Д 2, отобранный с помощью использованной усовершенствованной системы биотестирования из ряда терпеновых производных, может рассматриваться в качестве нового средства для терапии болезни Паркинсона, и позволяют надеяться на их дальнейшую трансляцию в практическую плоскость разработки перспективных фармакологических субстанций для лечения данного заболевания.

***In vitro* и *in vivo* исследование целевой эффективности биоконъюгатов сесквитерпеновых лактонов и полиалкоксибензолов, относящихся к группе потенциальных противоопухолевых агентов среди соединений на основе природных скаффолдов**

Одной из перспективных групп среди производных природных веществ с противоопухолевым потенциалом, выделенной в ходе первичного скрининга, была

серия бифармакофоров на основе двух сесквитерпеновых лактонов — дегидрокостуслактона и алантолактона, модифицированных методом «клик»-химии путем добавления в молекулу фрагментов полиалкокксибензолов. Все соединения этой группы проявляли антиоксидантные свойства и деполаризовали митохондриальную мембрану (таблица 2), приводя к деградации митохондрий, что может служить стимулом к запуску каскада гибели опухолевой клетки по пути апоптоза (Artyushin et al., 2022; Neganova et al., 2022b).

Таблица 2 — Результаты раннего скринингового этапа для биоконъюгатов сесквитерпеновых лактонов и полиалкокксибензолов

В-во	Формула		ПОЛ, Fe ²⁺	ПОЛ, т-БГП	АА	φ _m
	R	Лактон				
Лп 1			32,4±7,3	-	-	48,3±3,4
Лп 2			42,5±3,5	12,0±4,3	24,8±2,6	43,9±5,4
Лп 3			32,8±2,6	12,0±1,4	10,8±2,2	74,6±3,8
Лп 4			36,8±3,4	13,9±4,7	16,8±2,9	28,0±1,0
Лп 5			12,9±2,2	-	-	80,8±4,6
Лп 6			14,8±5,4	-	-	69,8±2,7
Лп 7			17,8±2,7	8,0±1,1	9,0±1,4	90,7±4,7
Лп 8			19,1±2,3	11,0±2,5	13,1±2,7	84,7±4,4
Лп 9			60,1±3,5	20,8±1,9	20,0±4,3	68,9±5,3
Лп 10			40,9±3,6	11,8±4,1	14,5±3,3	61,0±5,4
Лп 11			56,0±1,5	23,8±3,6	32,6±5,2	92,3±2,4
Лп 12			33,0±0,3	13,3±5,9	-	78,8±1,5
Лп 13			13,7±2,3	-	-	50,8±3,7
Лп 14			32,8±5,6	13,8±3,5	6,0±1,5	39,6±2,5
Лп 15			25,7±0,9	9,9±3,9	-	81,8±4,9
Лп 16			13,9±1,5	-	-	51,6±5,4

Далее, в соответствии с усовершенствованной схемой биотестирования, целесообразной стала оценка влияния соединений-хитов на выживаемость различных клеток опухолевого и нормального происхождения. Было обнаружено, что среди соединений, содержащих в своей структуре более длинный спейсер между двумя фармафорами, наибольшую активность показали вещества на основе алантолактона, при этом наиболее токсичным оказалось Лп 5, IC₅₀ которого варьировала от 29 мкМ до 55 мкМ на всех линиях клеток (таблица 3). Интересно, что в группе веществ с коротким спейсером наиболее выраженную цитотоксичность проявили соединения, содержащие в своей структуре дегидрокостуслактон, причём уровни цитотоксического действия для Лп 9 и Лп 12 в отношении опухолевых клеток SH-SY5Y и HeLa не выходили за пределы 20 мкМ. Более того, для данных соединений наблюдалось сниженное токсическое действие по отношению к клеточной линии нормального происхождения Нек-293.

Таблица 3 — Влияние биоконъюгатов сесквитерпеновых лактонов и полиалкоксibenзолов на выживаемость клеточных культур

В-во	IC ₅₀ цитотоксического эффекта, мкМ				
	SH-SY5Y	HeLa	Нер-2	A549	Нек-293
Лп 1	37,4±0,3	62,4±0,0	88,1±2,7	85,7±0,4	57,0±1,2
Лп 2	36,3±2,4	61,5±0,1	>100	>100	56,4±1,0
Лп 3	94,9±1,1	82,4±1,1	>100	>100	59,8±1,4
Лп 4	57,8±1,7	>100	>100	>100	69,5±0,5
Лп 5	33,6±1,3	39,0±1,3	55,7±0,5	29,3±1,4	38,9±1,2
Лп 6	41,7±1,7	55,1±0,9	67,2±0,1	47,3±1,5	42,3±1,1
Лп 7	40,0±1,3	46,6±0,8	62,6±0,7	53,1±0,3	46,3±0,2
Лп 8	45,2±1,2	81,0±3,2	91,1±2,9	83,5±1,1	35,4±0,3
Лп 9	19,3±0,6	18,0±0,3	>100	>100	58,0±0,1
Лп 10	16,1±0,5	16,6±0,6	26,3±0,3	25,2±3,4	56,7±0,1
Лп 11	89,5±2,6	79,6±0,3	>100	>100	66,3±0,1
Лп 12	21,8±0,1	26,4±2,4	82,2±1,2	>100	>100
Лп 13	71,8±2,0	88,9±0,2	>100	95,9±1,5	61,4±0,1
Лп 14	60,4±0,4	72,8±0,1	>100	70,3±1,2	49,6±0,3
Лп 15	>100	88,2±1,3	>100	>100	67,9±0,7
Лп 16	56,1±1,1	89,4±0,4	>100	91,2±1,5	59,6±1,8
Арглабин	34,0±2,5	20,0±0,0	29,9±0,9	-	78,0±2,1

При изучении потенциальных механизмов цитотоксического действия веществ было определено их влияние на ряд процессов, играющих важную роль в функционировании опухолевых клеток. Аэробный гликолиз является хорошо известным признаком метаболизма трансформированных клеток и нацеливание на него может рассматриваться в качестве перспективной лекарственной мишени при терапии онкопатологий (Wu et al., 2020a). С помощью анализатора клеточного метаболизма Agilent Seahorse XF96e Analyzer (Seahorse Bioscience, США) нами была произведена оценка скорости внеклеточного закисления среды (СВЗС) в клетках опухолевого происхождения SH-SY5Y в качестве показателя гликолиза. Влияние соединений на ключевые параметры гликолитической функции — гликолиз и гликолитическую ёмкость — анализировали путем мониторинга изменений СВЗС в ответ на последовательное добавление модуляторов. Так, в клетках, обработанных конъюгатами в концентрации 100 мкМ, были значительно снижены оба расчётных параметра — базальный гликолиз и гликолитическая ёмкость (рисунок 10). Более того, в случае алантолактон-содержащих конъюгатов, вещества с длинным спейсером Лп 5-Лп 8 приводили к значительно более эффективному подавлению параметров гликолиза в отличие от веществ с коротким спейсером Лп 13-Лп 16. Для дегидрокостуслактон-содержащих конъюгатов наибольшей эффективностью обладали соединения с коротким линкером Лп1-Лп 4.

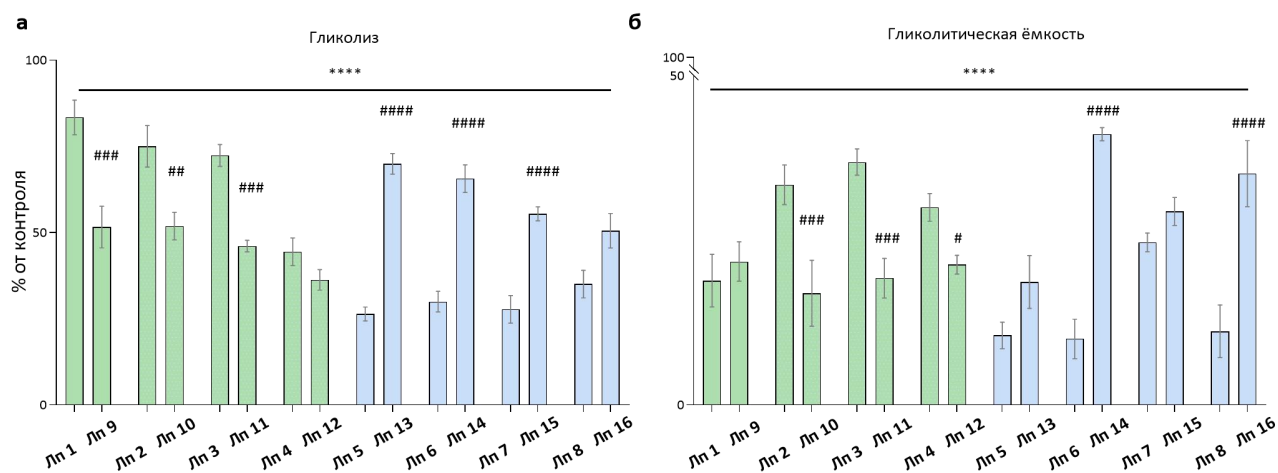


Рисунок 10 — Влияние веществ на параметры гликолитической функции клеток SH-SY5Y: гликолиз — а, гликолитическую ёмкость — б. Данные представлены как среднее \pm SEM. ****, $p \leq 0,0001$ относительно контроля, ##, ###, #####, $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$, $p \leq 0,0001$ относительно соответствующего конъюгата (ANOVA, критерий Даннета).

Полученные результаты подтверждают предположение о том, что варьирование длины 1,2,3-триазольного спейсера, а также природы используемых фармакофорных частей при создании биоконъюгатов на основе сесквитерпеновых

лактонов и полиалкоксибензолов может рассматриваться в качестве перспективной стратегии создания агентов с выраженным цитотоксическим действием, связанным со способностью деполаризовать митохондриальную мембрану и ингибировать гликолиз.

***In vitro* и *in vivo* исследование целевой эффективности гидроксамовых кислот с монотерпеновым или адамантановым фрагментом, относящихся к группе потенциальных нейропротекторных агентов**

Среди гидроксамовых кислот была выделена обширная группа соединений-хитов (гидроксамовые кислоты, содержащие монотерпеновый и адамантановый фрагменты (ГКта)) (таблица 4), которые были отнесены к потенциальным нейропротекторам (Aleksandrova et al., 2023a; Neganova et al., 2021a).

Таблица 4 — Результаты раннего скринингового этапа для гидроксамовых кислот, содержащих монотерпеновый и адамантановый фрагменты

В-во	Формула	ПОЛ, Fe ²⁺	ПОЛ, т-БГП	АА	HDAC 6, IC ₅₀
ГКта 12		43,2±1,3	21,5±2,2	19,7±1,3	1,0±0,0
ГКта 13		36,0±2,0	28,4 ±7,4	22,2±1,4	0,7±0,0
ГКта 14		44,6±1,7	19,8±4,8	43,3±1,4	6,5±0,4
ГКта 15		16,3±0,4	26,4±2,6	-	0,7±0,0
ГКта 16		18,3±4,9	32,9±1,1	20,1±1,3	18,0±1,0
ГКта 17		30,4±2,0	44,0±1,6	-	4,1±0,5
ГКта 18		20,6±3,9	34,2±1,4	20,3±0,4	4,1±0,4
ГКта 19		22,6±4,3	37,9±1,1	-	4,5±0,1
ГКта 20		24,0±3,4	28,9±3,4	-	9,4±0,7
ГКта 21		-	19,7±7,8	11,9±2,2	0,6±0,0
ГКта 22		-	33,9±1,8	14,6±2,7	0,7±0,0
ГКта 23		-	32,9±2,5	42,4±4,2	3,9±0,2

Как показано в таблице 4, отобранные соединения-хиты проявляли высокую ингибирующую способность по отношению к гистондеацетилазе 6, при этом

наличие линкера оказывало значительное влияние на проявление активности. Так, гидроксамовые кислоты, содержащие гекса- и гептаметиленовый линкер и (-)-перилловый фрагмент в составе Сар-группы, проявили превосходную ингибирующую активность в отношении HDAC6 в наномолярном диапазоне. Соединения с ароматическим линкером на основе *para*-замещенных коричных кислот также проявили высокую HDAC6 ингибирующую активность с IC₅₀, не превышающими 8,2 мкМ. Данное явление было подтверждено и при проведении процедуры молекулярного докинга соединений в сайт связывания HDAC6, в результате чего была выявлена положительная корреляция между данными, полученными экспериментальным и расчётным путем. Мы также сконцентрировали свое внимание на антиоксидантной активности ГКта, поскольку окислительный стресс играет важную роль в патогенезе болезни Альцгеймера. Умеренная антирадикальная активность в ДФПГ-тесте была обнаружена для гидроксамовых кислот ГКта 12, ГКта 14 и ГКта 23, процент активности которых варьировал от 23,8 ± 2,5% до 42,4 ± 2,9% (рисунок 11а). Антиоксидантный потенциал данных гидроксамовых кислот также подтвердили результаты анализа ORAC (рисунок 11б). При этом именно для ГКта 12 и ГКта 23 в обоих экспериментах были выявлены наиболее выраженные антирадикальные свойства, что позволяет предположить их способность нейтрализовать свободные радикалы вне зависимости от структурных различий.

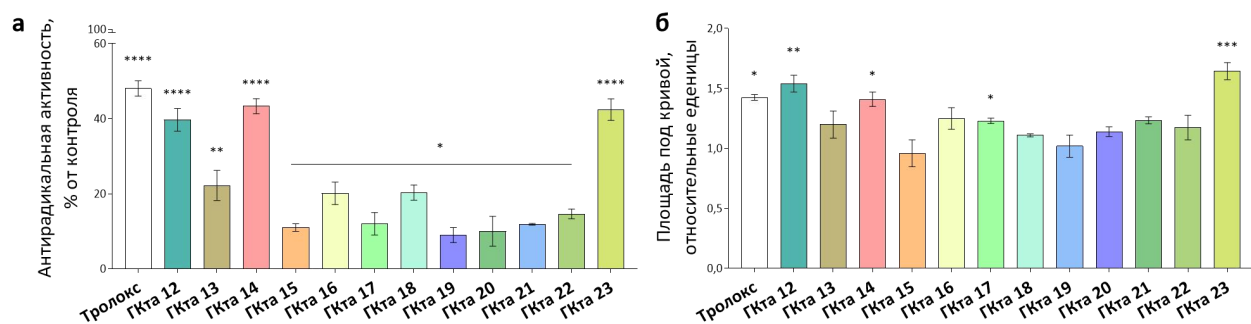


Рисунок 11 — Антиоксидантный потенциал гидроксамовых кислот: а — в ДФПГ-тесте; б — в ORAC-тесте. Концентрация соединений и Тролокса составила 100 мкМ, ДПФГ — 100 мкМ, ААРН — 12 мкМ. Данные представлены как среднее ± SEM. *, **, *** и ****, $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ по сравнению с контролем (ANOVA, критерий Даннета).

При исследовании влияния гидроксамовых кислот на кинетику процесса агрегации A β ₁₋₄₂ путём 72-часовой регистрации флуоресценции тиофлавина Т (рисунок 12) в контрольных пробах наблюдалась типичная S-образная кривая, свидетельствующая о быстром формировании белковых агрегатов в течение первых 24 часов, за которой следовала фаза равновесия без значительного

увеличения сигнала флуоресценции при анализе проб спустя 72 часа. В свою очередь в образцах, содержащих **ГКта 12**, **ГКта 14**, **ГКта 16**, **ГКта 18** и **ГКта 23** в концентрации 100 мкМ, на протяжении всего эксперимента наблюдалась значительно сниженная флуоресценция тиофлавина Т, свидетельствующая о способности предотвращать процесс агрегации $A\beta_{1-42}$ до 75 % относительно контрольных проб.

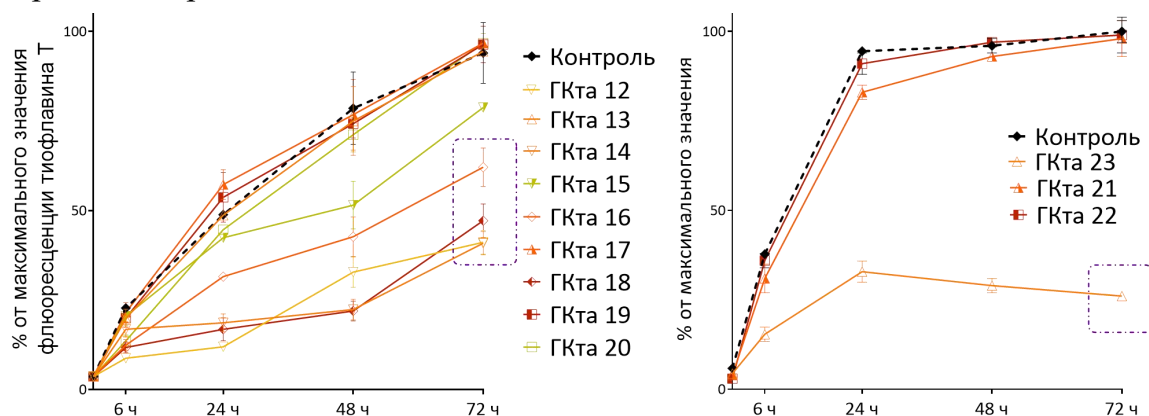


Рисунок 12 — Влияние гидроксамовых кислот на агрегацию $A\beta_{1-42}$. Концентрация соединений составила 100 мкМ, Тиофлавина Т — 10 мкМ, $A\beta_{1-42}$ — 25 мкМ.

Следует отметить, что при оценке возможных цитотоксических эффектов гидроксамовых кислот было обнаружено, что ни одно из соединений не обладало выраженной цитотоксической активностью в отношении нейрональноподобной клеточной линии нейробластомы SH-SY5Y (IC_{50} цитотоксического действия не превышали 47,6 мкМ) (таблица 5), что позволило перейти на *in vivo* уровень исследования нейропротекторного потенциала ввиду отсутствия ограничений в виде побочных токсических эффектов на организм.

Таблица 5 — Значения IC_{50} (мкМ) цитотоксического действия в отношении клеток нейробластомы SH-SY5Y гидроксамовых кислот, содержащих монотерпеновый и адамантановый фрагменты

В-во	IC_{50}	В-во	IC_{50}
ГКта 12	47,6 ± 7,2	ГКта 18	52,0 ± 2,6
ГКта 13	51,9 ± 3,6	ГКта 19	> 100
ГКта 14	59,5 ± 0,4	ГКта 20	> 100
ГКта 15	> 100	ГКта 21	> 100
ГКта 16	64,2 ± 4,1	ГКта 22	89,4 ± 3,9
ГКта 17	> 100	ГКта 23	89,2 ± 2,1

Для того, чтобы отобрать соединения-лидеры для их дальнейшего тестирования на животных, мы проанализировали взаимосвязь «структура-активность» и определили, что наиболее перспективными оказались **ГКта 12** и

ГКта 23, что обусловлено их спектром биологического действия: выраженными HDAC6-ингибирующими свойствами, антирадикальной активностью и способностью предотвращать агрегацию патологической формы β -амилоидного пептида без существенного влияния на выживаемость нейрональноподобной клеточной культуры SH-SY5Y.

Для исследований *in vivo* использовали 11- и 13-месячных самцов мышей линии C57BL6/j и 5xFAD (Tg(APP^{sw}Flon, PSEN1 \times M146L \times L286V) 6799Vas/J).

В связи с тем, что возникновение и прогрессирование когнитивных дисфункций при болезни Альцгеймера в первую очередь связывают с патологическими изменениями, наблюдаемыми в гиппокампальной формации (Katabathula et al., 2021; Liu et al., 2021c; Pluta et al., 2021), для проверки предположения о способности **ГКта 12** и **ГКта 23** улучшать когнитивный дефицит мышей 5xFAD, были исследованы пространственное обучение и память с использованием теста Водный лабиринт Морриса (Lissner et al., 2021; Topuz et al., 2020).

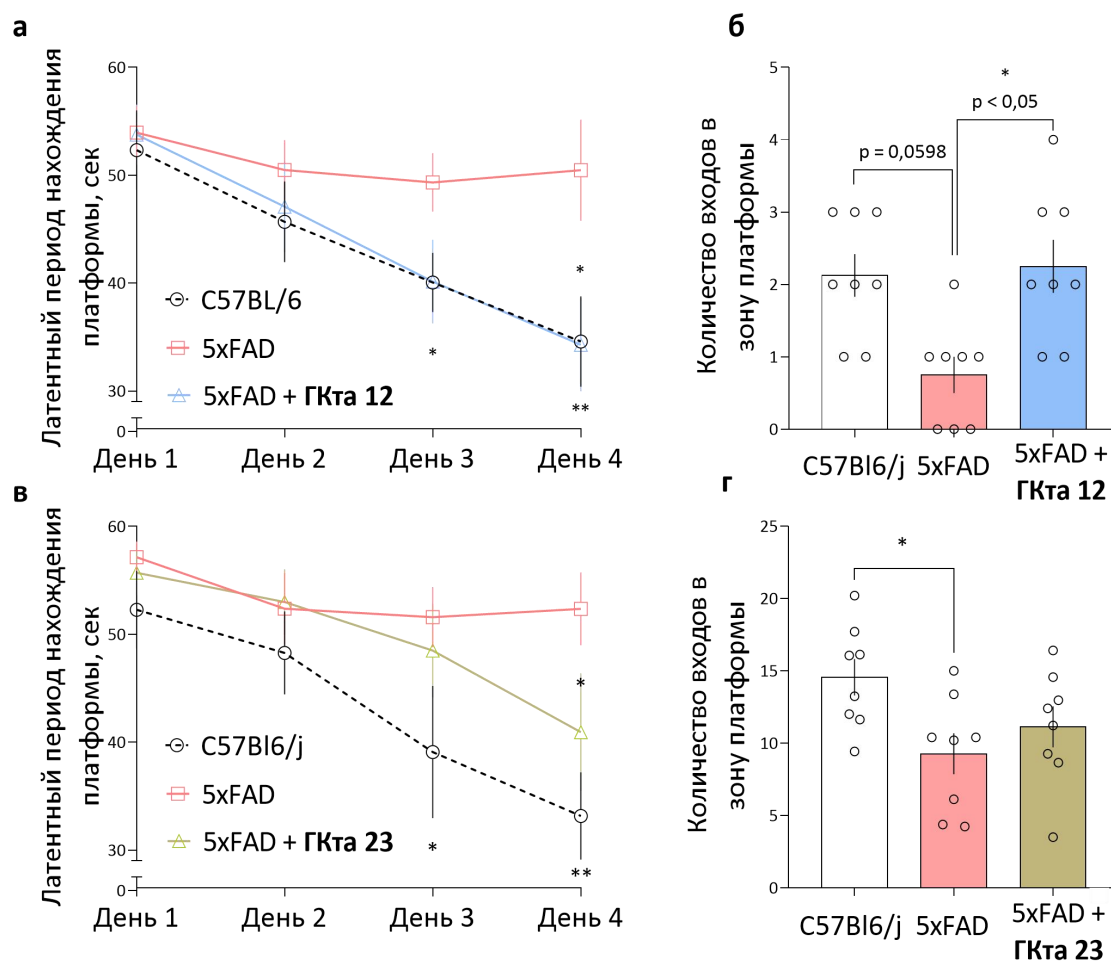


Рисунок 13 — Влияние **ГКта 12** и **ГКта 23** на обучение (а, в) и пространственную память (б, г) мышей в тесте Водный лабиринт Морриса. Данные представлены как среднее \pm SEM ($n = 8$ в каждой группе животных). * и **, $p < 0,05$ и $p < 0,01$ по сравнению с 5xFAD (ANOVA, критерий Даннета).

Как показано на рисунке 13 а, животные линии 5xFAD демонстрировали сходный период времени, необходимый для достижения платформы в течение четырех дней обучения, что свидетельствует о снижении когнитивных функций у трансгенных животных. В свою очередь введение гидроксамовых кислот **ГКта 12** и **ГКта 23** в дозе 15 мг/кг в течение 21 дня существенно сокращало данный показатель аналогично картине, наблюдаемой в группе клинически здоровых дикотипных мышей.

Более того, на пятый день эксперимента в тестовой сессии был подтвержден потенциал данных соединений улучшать нарушенные когнитивные функции животных, моделирующих болезнь Альцгеймера, где было обнаружено одинаковое с контрольной группой количество входов в зону платформы, в то время как для животных из группы 5xFAD данный показатель был значительно более сниженным (рисунок 13б, г).

По окончании экспериментов на животных был произведен забор образцов головного мозга и проведен анализ уровня окислительного стресса, функционирования дыхательной цепи митохондрий и содержания Аβ отложений – показателей, потенциально связанных со спектром проявляемой гидроксамовыми кислотами активности в *in vitro* исследованиях.

Оценку окислительного стресса проводили путем измерения уровней малонового диальдегида (МДА) — ключевого маркера окислительного стресса (Tsikas, 2017).

У мышей 5xFAD наблюдался достоверно более высокий уровень МДА, чем у животных контрольной группы, что позволяет предположить более высокие уровни свободных радикалов и повреждения нейрональных клеток. Внутривентрикулярное введение гидроксамовой кислоты **ГКта 23** в дозе 15 мг/кг в течение 21 дня достоверно снижало данный показатель, стремясь к уровню контрольных образцов (рисунок 14а,б). Для **ГКта 12** наблюдалась тенденция, схожая с предыдущим соединением. Очевидно, полученные результаты указывают на то, что **ГКта 12** и **ГКта 23** способны уменьшать окислительное повреждение в головном мозге трансгенных мышей 5xFAD за счёт показанных для них в *in vitro* экспериментах антирадикальных свойств.

Такие нарушения в окислительном статусе головного мозга трансгенных мышей позволили предположить возможное повреждение митохондрий в результате свободно-радикальных реакций (Hu et al., 2021). В связи с этим нами была изучена дыхательная способность синаптосомально-митохондриальной (p2) фракции мозга для определения возможного влияния соединений-лидеров **ГКта 12** и **ГКта 23** на активность комплексов электрон-транспортной цепи.

Было обнаружено, что в образцах, полученных у нативных мышей 5xFAD, в присутствии субстратов I, II и IV комплексов потребление кислорода органеллами было значительно снижено (рисунок 14в,г). Это может свидетельствовать о том, что мутации, наблюдаемые у этих животных, блокируют НАДН-дегидрогеназный, сукцинатдегидрогеназный и цитохром-С-оксидазный комплексы, что в свою очередь приводит к гиперпродукции активных форм кислорода. Это согласуется с известными данными о том, что у пациентов с болезнью Альцгеймера митохондрии головного мозга подвергаются серьезным повреждениям вследствие свободно-радикальной атаки (Du et al., 2014; Sharma et al., 2021). В свою очередь синаптосомальные фракции митохондрий, полученные у мышей из групп 5xFAD + ГКта 12 и ГКта 23, смогли обойти ингибирование II и IV митохондриальных комплексов и нормализовали митохондриальное дыхание.

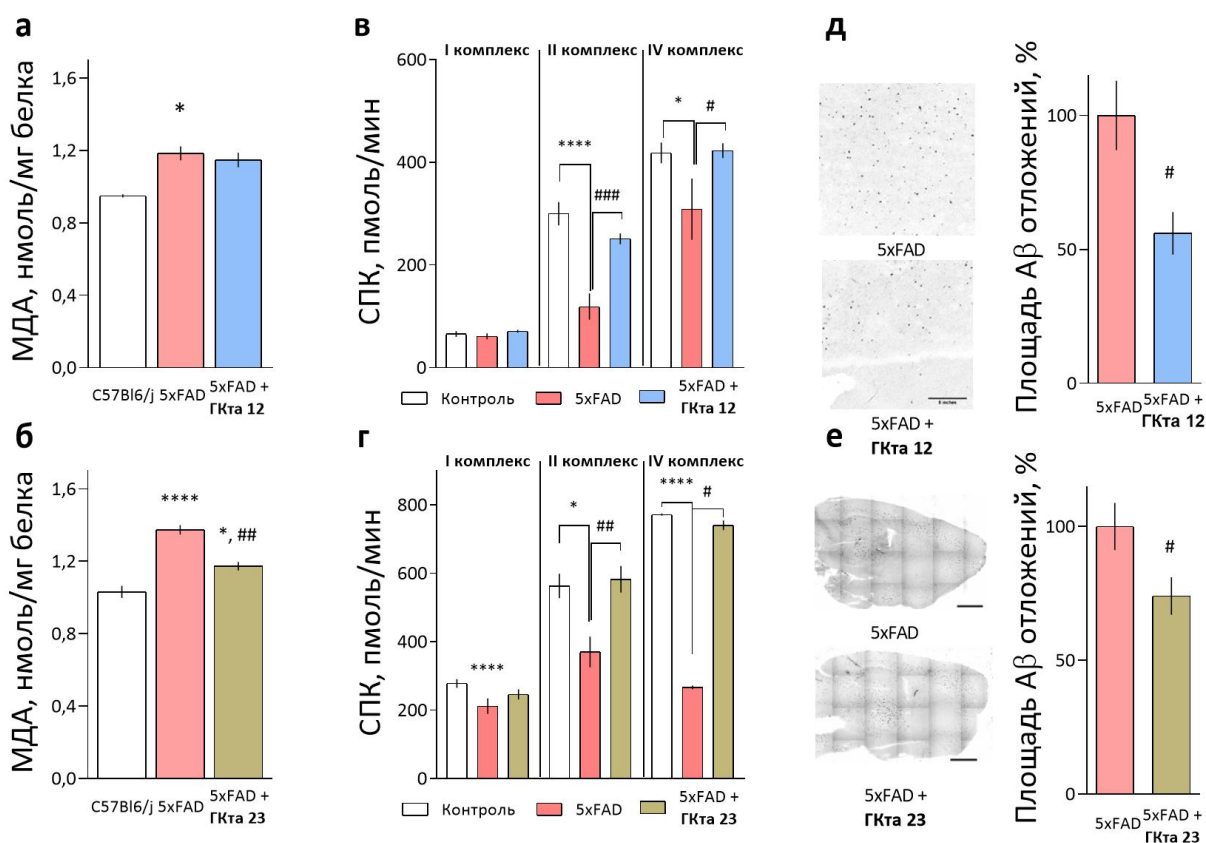


Рисунок 14 — Влияние ГКта 12 и ГКта 23 на уровень МДА (а, б), работу комплексов ЭТЦ митохондрий (в, г) и количество Aβ отложений (д, е) в головном мозге мышей после экспериментов *in vivo*. Данные представлены как среднее \pm SEM (n = 8). * и ****, $p < 0,05$ и $p < 0,0001$ по сравнению с C57Bl6/j; # и ##, $p < 0,05$ и $p < 0,01$ по сравнению с 5xFAD (ANOVA, критерий Даннета).

Кроме того, нами была произведена оценка количества отложений β -амилоида в срезах головного мозга животных экспериментальных групп. Крупные отложения амилоида, наряду с мелкими и средними, были обнаружены в коре, таламусе и

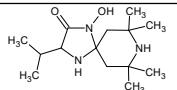
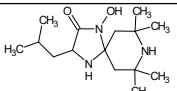
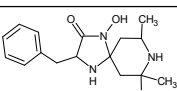
гиппокампе у трансгенных мышей 5xFAD (рисунок 14д,е). Однако количество агрегатов в головном мозге значительно уменьшилось после 21-дневного введения соединений-лидеров ГКта 12 и ГКта 23.

Таким образом, анализ потенциальных нейропротекторных свойств гидроксамовых кислот, содержащих монотерпеновый и адамантановый фрагменты, проведенный с использованием усовершенствованной системы биотестирования, позволил обнаружить два соединения-лидера ГКта 12 и ГКта 23, которые продемонстрировали перспективный профиль биологической активности, что позволяет предположить целесообразность рассмотрения соединений данного класса в качестве основы для создания перспективных средств терапии болезни Альцгеймера.

***In vitro* и *in vivo* исследование целевой эффективности спироциклических гидроксамовых кислот, относящихся к группе потенциальных противоопухолевых агентов среди гидроксамовых кислот**

Интересной группой веществ среди всех гидроксамовых кислот были спироциклические гидроксамовые кислоты, включающие в качестве одного из фармакофоров остатки различных аминокислот. Наиболее перспективные молекулы, обладающие HDAC1-ингибирующей активностью, Fe(II)-хелатирующим действием и способностью ускорять Ca²⁺-индуцированную деградацию митохондрий, представлены в таблице 6 (Mishchenko et al., 2018; Neganova et al., 2016b; Vystorop et al., 2021).

Таблица 6 — Результаты раннего скринингового этапа для спироциклических гидроксамовых кислот, содержащих аминокислоты

В-во	Формула	ПОЛ, Fe ²⁺	ХА	Свеллинг	HDAC1
СцГК 3		-	73,8±3,6	-	28,1±1,9
СцГК 4		20,4±1,1	91,9±2,4	47,0±3,1	31,2±2,5
СцГК 5		33,8±4,5	90,0±4,3	-	29,6±0,9

Несмотря на то, что существует широкое разнообразие терапевтических стратегий, химиотерапия по-прежнему остаётся наиболее распространённым и предпочтительным методом лечения (Pomeroy et al., 2022). Критическим ограничением в её применении является множественная лекарственная устойчивость, часто возникающая после длительного использования химиотерапевтических средств и выражающаяся в снижении чувствительности опухолевых клеток к действию препаратов, приводя к рецидиву и стремительной

гибели пациентов (Bukowski et al., 2020). В связи с этим в настоящее время предпринимаются интенсивные усилия для разработки специальных лекарственных агентов, которые могли бы обращать вспять терапевтическую устойчивость и повышать эффективность лечения.

Недавние достижения в области фундаментальных исследований молекулярных механизмов формирования лекарственной устойчивости в опухолевых клетках выявили характерные изменения или отличительные признаки, которые могут рассматриваться в качестве перспективных мишеней для терапевтического вмешательства. Неправильно регулируемая активность гистондеацетилазы, главным образом первой изоформы, является одной из таких особенностей, приводящей к развитию терапевтической резистентности (Yang et al., 2020b; Ding et al., 2021; Fousek et al., 2021). Таким образом, целенаправленное ингибирование гистоновых деацетилаз рассматривается в качестве эффективного терапевтического инструмента для преодоления лекарственной устойчивости.

В связи с тем, что будучи ингибиторами гистоновой деацетилазы 1 **СцГК 3**, **СцГК 4** и **СцГК 5** не проявили собственного цитотоксического действия на клеточных линиях HeLa, SH-SY5Y и Нек-293 ($IC_{50} > 100$ мкМ, таблица 7), дальнейшее исследование их противоопухолевого потенциала проходило именно в рамках изучения возможного хемосенсибилизирующего действия.

Таблица 7 — Значения IC_{50} (мкМ) цитотоксического действия спироциклических гидроксамовых кислот

В-во	IC_{50}	В-во	IC_{50}	В-во	IC_{50}
СцГК 3	> 100	СцГК 4	> 100	СцГК 5	> 100

Первоначально нами была исследована способность исследуемых соединений повышать чувствительность клеточной линии HeLa к гибели, индуцированной известным антинеопластическим агентом алкилирующего действия циклофосфамидом. Целесообразность выбора данного цитостатического препарата обусловлена двумя фундаментальными факторами. В первую очередь это связано с тем, что несмотря на превосходные противоопухолевые свойства циклофосфамида, в клинической практике хорошо известно о терапевтических неудачах, связанных с возникновением лекарственной устойчивости к данному цитостатику (Wang et al., 2021d), что делает нацеливание на этот феномен перспективным направлением при создании хемосенсибилизирующих агентов. Более того, будучи ингибиторами гистоновых деацетилаз, гидроксамовые кислоты с большей долей вероятности могут оказывать своё адьювантное действие именно в отношении лекарственных препаратов, механизм действия которых заключается в нарушении функции ДНК. Это обусловлено тем фактом, что HDACi способствуют

релаксации хроматина и открытию структуры ДНК, обеспечивая беспрепятственный доступ химиотерапевтическим агентам (Ramaiah et al., 2021).

Так, исследование влияния бинарных комбинаций химических агентов на выживаемость клеток показало синергетическое действие гидроксамовых кислот с цитостатиком. Анализ комбинации **СцГК 3**, **СцГК 4** и **СцГК 5** с циклофосфамидом показал значительное снижение IC_{50} цитотоксичности цитостатика в 1,4; 1,2 и 1,2 раза, соответственно (рисунок 15).

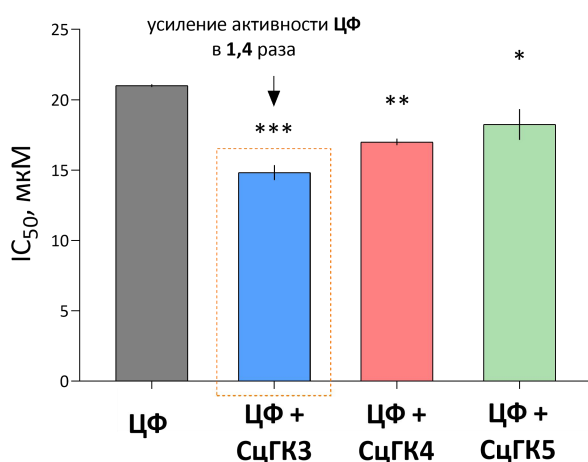


Рисунок 15 — Хемосенсибилизирующая активность **СцГК 3**, **СцГК 4** и **СцГК 5** (100 мкМ) в комбинации с циклофосфаном (**ЦФ**, от 1 до 100 мкМ) на клеточной линии HeLa. Данные представлены в виде IC_{50} цитотоксического эффекта как среднее \pm SEM. *, ** и ***, $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,01$ по сравнению с **ЦФ** (ANOVA, критерий Даннета).

Таким образом, наиболее выраженную способность приводить к лучшему терапевтическому результату за счет сенсibilизации клеток HeLa к циклофосфамиду продемонстрировала гидроксамовая кислота, полученная на основе 1-бензилпиперид-4-она с валиновым заместителем, **СцГК 3**, на которой было продолжено *in vivo* исследование хемосенсибилизирующей активности.

Первоначально при исследовании острой токсичности **СцГК 3** было обнаружено, что LD_{50} при внутрибрюшинном введении составила 750 мг/кг (III класс опасности — умеренно опасные вещества, ГОСТ 12.1.007–76), что позволило продолжить эксперименты на животных.

In vivo исследование хемосенсибилизирующей активности **СцГК 3** показало, что комбинация **СцГК 3** с циклофосфамидом в низкой субтерапевтической дозе (1/10) на модели экспериментальной перевиваемой опухоли мышей — меланомы В16 — привела к значительному снижению количества метастаз (в два раза эффективнее, чем при монотерапии циклофосфамидом, рисунок 16а), а также позволила снизить средний вес опухоли с $10,0 \pm 1,3$ до $6,8 \pm 1,2$ ($p = 0,0002$), что более чем в 1,5 раза выше данного показателя при монотерапии цитостатиком (рисунок 16б).

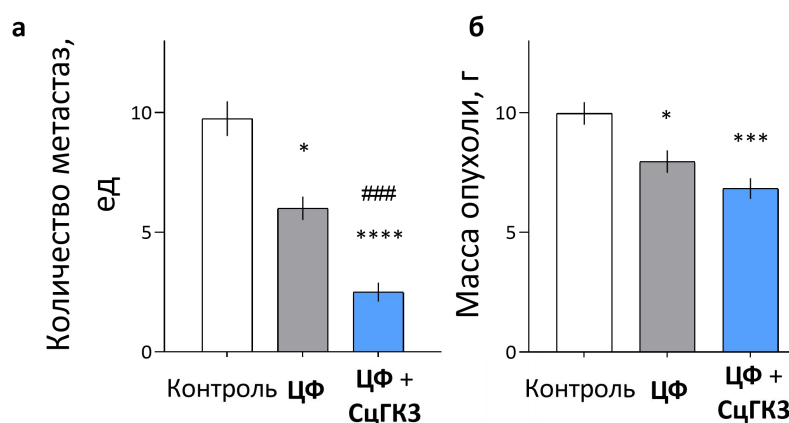


Рисунок 16 — Антиметастатический и противоопухолевый потенциал **СцГК 3** на модели меланомы В16. Влияние **СцГК 3** на а — количество метастаз в легких мышей; б — массу опухоли. Данные представлены как среднее \pm SEM. *, *** и ****, $p < 0,05$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ по сравнению с контролем; ### $p < 0,001$ по сравнению с **ЦФ** (ANOVA, критерий Даннета).

Таким образом, для **СцГК 3** была обнаружена хемосенсибилизирующая активность, что выражалось в повышении чувствительности перевиваемой опухоли меланомы В16 к действию циклофосфамида в субтерапевтической дозе.

Создание и хемоинформационный анализ аннотированной базы данных

Еще одной задачей данной диссертационной работы было создание аннотированной базы, представляющей собой информационную матрицу, содержащую описание физико-химических свойств молекулярного объекта и его разносторонней биологической активности. Для этого использовали программу ChemoSoft (CheD). Аннотированная база создавалась с целью удобного и надежного хранения многоплановой информации о биологической активности тестируемых новых веществ, а также для возможности дальнейшего проведения хемоинформационного анализа. Нами были разработаны и валидированы одна классификационная и две регрессионные QSAR-модели, обученные на наборе данных, полученных из аннотированной базы. Модель GA-RF обучена с использованием информации о химических характеристиках, которые могут быть быстро вычислены и имеют физическую интерпретацию. Это позволяет выявлять общие закономерности и использовать модель для разработки антиоксидантных молекул методом рационального проектирования. Модель AttentiveFP представляла из себя black-box метод, обладающая немного более высокой точностью по сравнению с GA-RF благодаря возможности самостоятельной генерации признаков для молекулярного графа, однако при этом менее интерпретируема.

Каждая из моделей, описанных в данном разделе, позволяла быстро и эффективно прогнозировать антиоксидантные свойства новых соединений с

точностью, вполне достаточной для практического применения на исследовательском этапе разработки новых антиоксидантных веществ.

ВЫВОДЫ

1. На основе анализа современных научных источников обосновано, что существует взаимосвязь определенных биохимических каскадов, вовлечённых в ранние этапы патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний и регулирующих, в частности, процессы, связанные с окислительным стрессом, абберрантным функционированием митохондрий и некоторыми аспектами эпигенетической регуляции.
2. Разработана и экспериментально апробирована система биологического тестирования, учитывающая фундаментальную взаимосвязь биохимических механизмов патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний, которая позволяет рационализировать ранний исследовательский этап разработки лекарственных препаратов, связанный с биологическим скринингом химических соединений различной природы.
3. Идентифицирован ряд соединений на основе природных матриц, обладающих комплексным типом нейропротекторного действия; в частности, показано, что монотерпеновый эпоксидиол на основе *para*-ментанового остова проявляет антиоксидантные и митопротекторные свойства, препятствуя гибели дофаминэргических нейронов в головном мозге животных с хемоиндуцированной патологией паркинсонического типа, что позволяет рассматривать данное соединение в качестве перспективной платформы для создания лекарственных препаратов для терапии болезни Паркинсона.
4. Выявлены бифармакофорные производные сесквитерпеновых лактонов (дегидрокостуслактона и алантолактона) и полиалкоксibenзолов, демонстрирующие новый, ранее не описанный комплексный профиль противоопухолевой активности, в основе которого лежат антиоксидантные свойства, а также способность деполяризовать митохондриальную мембрану и изменять метаболический фенотип опухолевых клеток, что позволяет рассматривать данные соединения в качестве перспективной основы для создания инновационных антинеопластических агентов.
5. Идентифицированы оригинальные производные гидроксамовых кислот линейной структуры, содержащие фрагменты адамантана и монотерпенов, которые восстанавливают когнитивный дефицит трансгенных мышей линии 5xFAD, моделирующих болезнь Альцгеймера, за счет мультитаргетного типа нейропротекторного действия, включающего антиоксидантную активность, а также

способность ингибировать гистоновую деацетилазу β и препятствовать агрегации патологической формы β -амилоидного пептида 1-42.

6. Выявлены новые структурные хемотипы гидроксамовых кислот, обладающие специфическим типом противоопухолевого действия при отсутствии выраженной собственной цитотоксичности; в частности, показано, что спироциклические гидроксамовые кислоты ряда 1,4,8-триазаспиро[4.5]декан-2-она проявляют хемосенсибилизирующую активность к действию циклофосфида за счет HDAC1-ингибирующих и Fe(II)-хелатирующих свойств, а также способности приводить к деградации митохондрий.

7. Создана аннотированная база, содержащая химико-биологическую информацию об исследованных молекулярных объектах, которая позволяет идентифицировать и прогнозировать структурно-функциональные закономерности проявления целевой биологической активности новых соединений при помощи современных алгоритмов хемоинформатики и искусственного интеллекта.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Neganova, M.E.** Neuroprotective effects of the securinine-analogs: identification of allomargaritarine as a lead compound / **M.E Neganova**, S.G Klochkov, S.V. Afanasieva, T.P Serkova, E.S. Chudinova, S.O. Bachurin, V.P. Reddy, G. Aliev, E.F Shevtsova // CNS & Neurological Disorders - Drug Targets. - 2016. - V. 15. - № 1. - P. 102-107. - 7. - DOI: 10.2174/1871527314666150821111812 – WoS, SCOPUS, Q2, IF= 3 (глава 3 / Приложение А).
2. **Neganova, M.E.** Securinine derivatives as potential anti-amyloid therapeutic approach / **M.E Neganova**, S.G Klochkov, L.N Petrova, E.F Shevtsova, S.V Afanasieva, E.S Chudinova, V.P Fisenko, S.O Bachurin, G.E Barreto, G. Aliev // CNS & Neurological Disorders - Drug Targets. - 2017. - V. 16. - № 3. - P. 351-355. - DOI: 10.2174/1871527315666161107090525. - WoS, SCOPUS, Q2, IF=3 (глава 3 / Приложение А).
3. Shevtsova, E.F. Mitochondrial permeability transition pore as a suitable target for neuroprotective agents against Alzheimer's disease / E.F Shevtsova, D.V Vinogradova, **M.E Neganova**, M.Avila-Rodriguez, G.Md Ashraf, G.E Barreto, S.O Bachurin, G. Aliev // CNS & Neurological Disorders - Drug Targets. - 2017. - V. 16. - № 6. - P. 677-685. - DOI: 10.2174/1871527316666170424114444 - WoS, SCOPUS, Q2, IF=3 (глава 1).
4. Mishchenko, D.V. Chemosensitizing activity of histone deacetylases inhibitory cyclic hydroxamic acids for combination chemotherapy of lymphatic leukemia / D.V Mishchenko, **M.E. Neganova**, E.N. Klimanova, T.E Sashenkova, S.G Klochkov, E.F Shevtsova, I.V Vystorop, V.V Tarasov, V.N Chubarev, Anna N Samsonova, G.Md

- Ashraf, G. Barreto, N.S. Yarla, G. Aliev // *Current Cancer Drug Targets*. - 2018. - V. 18. - № 4. - P. 365-371. - DOI: 10.2174/1568009617666170623104030 - WoS, SCOPUS, Q1, IF=3 (глава 3 / Приложение Б).
5. Pukhov, S.A. Cytotoxicity of natural alantolactones conjugated to substituted piperazines / S.A. Pukhov, S.V. Afanas'eva, L.V. Anikina, V.I. Kozlovskii, **M.E. Neganova**, S.G. Klochkov // *Chemistry of Natural Compounds*. - 2019. - V. 55. - № 1. - P. 41-46. - DOI: 10.1007/s10600-019-02611-z - WoS, SCOPUS, Q3, IF=1,3 (Приложение А).
6. Klochkov, S.G. Implications of farnesyltransferase and its inhibitors as a promising strategy for cancer therapy / S.G. Klochkov, **M.E. Neganova**, N.S. Yarla, M. Parvathaneni, B. Sharma, V.V. Tarasov, G. Barreto, S.O. Bachurin, G.M. Ashraf, G. Aliev // *Seminars in Cancer Biology*. - 2019. - V. 56. - P. 128-134. - DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.10.010. - WoS, SCOPUS, Q1, IF=14,5 (глава 1).
7. Nikolenko, V.N. Current understanding of central nervous system drainage systems: implications in the context of neurodegenerative diseases / V.N. Nikolenko, M.V. Oganessian, A.D. Vovkogan, A.T. Nikitina, E.A. Sozonova, V.A. Kudryashova, N.A. Rizaeva, R. Cabezas, M. Avila-Rodriguez, **M.E. Neganova**, L.M. Mikhaleva, S.O. Bachurin, S.G. Somasundaram, C.E. Kirkland, V.V. Tarasov, G. Aliev // *Current Neuropharmacology*. - 2020. - V. 18. - №11. - P. 1054-1063. - DOI: 10.2174/1570159X17666191113103850 - WoS, SCOPUS, Q1, IF=5,3 (глава 1).
8. Klochkov, S.G. A novel heterocyclic system based on natural epoxyalantolactone / S.G. Klochkov, S.A. Pukhov, S.V. Afanasieva, **M.E. Neganova**, I.V. Ananiev, M. Avila-Rodriguez, V.V. Tarasov, G. Aliev // *Frontiers in Chemistry*. - 2019. - V. 7. - P. 655. - DOI: 10.3389/fchem.2019.00655. - WoS, SCOPUS, Q1, IF=5,5 (глава 3 / Приложение А).
9. Klochkov, S.G. New Arteannuin B Derivatives and Their Cytotoxic Activity / S.G. Klochkov, **M.E. Neganova**, S.A. Pukhov, S.V. Afanas'eva, Yu.R. Aleksandrova E.Yu. Yandulova // *Chemistry of Natural Compounds*. - 2020. - V. 56. - P. 445-451. - DOI: 10.1007/s10600-020-03059-2 - WoS, SCOPUS, Q3, IF=0,8 (глава 3 / Приложение А).
10. **Neganova, M.E.** Synthesis and Cytotoxic Activity of Azine Derivatives of 6-Hydroxyxanthanodiene / **M.E. Neganova**, S.G. Klochkov, S.A. Pukhov, S.V. Afanasieva, Yu.R. Aleksandrova, E.Yu. Yandulova, M.F. Avila-Rodriguez, L.M. Mikhaleva, V.N. Nikolenko, S.G. Somasundaram, C.E. Kirkland, G. Aliev // *Current Cancer Drug Targets*. - 2020. - V. 20. - № 9. - P. 666-674. - DOI: 10.2174/1568009620999200421200338. - SCOPUS, Q2, IF=3 (глава 3 / Приложение А).
11. Brzecka, A. The Association of Sleep Disorders, Obesity and Sleep-Related Hypoxia with Cancer / A. Brzecka, K. Sarul, T. Dyła, M. Avila-Rodriguez, R. Cabezas-

- Perez, V.N. Chubarev, N.N. Minyaeva, S.G. Klochkov, **M.E. Neganova**, L.M. Mikhaleva, S.G. Somasundaram, C.E. Kirkland, V.V. Tarasov, G. Aliev // *Current Genomics*. - 2020. V. 21. - № 6. - P. 444-453. - DOI: 10.2174/1389202921999200403151720. - WoS, SCOPUS, Q3, IF=2,6 (глава 1).
12. Sukocheva, O.A. Sphingosine kinase and sphingosine-1-phosphate receptor signaling pathway in inflammatory gastrointestinal disease and cancers: A novel therapeutic target / O.A. Sukocheva, H. Furuya, M. Li Ng, M. Friedemann, M. Menschikowski, V.V. Tarasov, V.N Chubarev, S.G. Klochkov, **M.E. Neganova**, A.A. Mangoni, G. Aliev, A. Bishayee // *Pharmacology & Therapeutics*. - 2020. - V. 207. - P. 107464. - DOI: 10.1016/j.pharmthera.2019.107464. - WoS, SCOPUS, Q1, IF=13,5 (глава 1).
13. **Neganova, M.E.** The Hydroxamic Acids as a Potential Anticancer and Neuroprotective Agents. / **M.E. Neganova**, S.G. Klochkov, Y.R. Aleksandrova, G. Aliev // *Current Medicinal Chemistry*. - 2021. V.28. - № 39. - P. 8139-8162. - DOI: 10.2174/0929867328666201218123154 – Scopus, Q1, IF=4,1 (глава 1).
14. **Neganova, M.** Therapeutic Influence on Important Targets Associated with Chronic Inflammation and Oxidative Stress in Cancer Treatment / **M. Neganova**, J. Liu, Y. Aleksandrova, S. Klochkov, R. Fan // *Cancers*. - 2021. - V. 13. - № 23. - P. 6062. - DOI: 10.3390/cancers13236062 – WoS, Scopus, Q1, IF=5,2 (глава 1).
15. **Neganova, M.** Novel Multitarget Hydroxamic Acids with a Natural Origin CAP Group against Alzheimer’s Disease: Synthesis, Docking and Biological Evaluation / **M. Neganova**, Y.Aleksandrova, E. Suslov, E. Mozhaitsev, A. Munkuev, D. Tsypyshev, M. Chicheva, A. Rogachev, O. Sukocheva, K. Volcho, S. Klochkov // *Pharmaceutics*. - 2021. - V. 13. - № 11. - P. 1893. - DOI: 10.3390/pharmaceutics13111893, WoS, Scopus, Q1, IF=5,4 (глава 3 / Приложение Б).
16. Pukhov, S.A. New conjugates of daunorubicin with sesquiterpene lactones and their biological activity / S.A. Pukhov, A.V. Semakov, A.A. Globa, L.V. Anikina, S.V. Afanasyeva, E.Y. Yandulova, Y.R. Aleksandrova, **M.E. Neganova**, S.G. Klochkov // *ChemistrySelect*. - 2021. - V. 6. - № 32. - P. 8446-8451. - DOI:10.1002/slct.202102244–Scopus, Q2, IF=2,1 (Приложение А).
17. Klochkov, S.G. Unique indolizidine alkaloid securinine is a promising scaffold for the development of neuroprotective and antitumor drugs / S.G. Klochkov, **M.E. Neganova** // *RSC Advances*. - 2021. - V. 11. - № 31. - P. 19185-19195. - DOI: 10.1039/d1ra02558a – WoS, Scopus, Q2, IF=3,9 (глава 1).
18. **Neganova, M.E.** New spirocyclic hydroxamic acids as effective antiproliferative agents / **M.E. Neganova**, S.G. Klochkov, Y.R. Aleksandrova, V.N. Osipov, D.V. Avdeev, S.A. Pukhov, A.V. Gromyko, G. Aliev // *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. -

2021. - V. 21. - № 5. - P. 597-610. - DOI: 10.2174/1871520620666200527132420 – Scopus, Q3, IF=2,8 (глава 3 / Приложение Б).

19. **Neganova, M.** N-Alkylation of Anthracycline Antibiotics by Natural sesquiterpene Lactones as a Way to Obtain Antitumor Agents with Reduced Side Effects / **M. Neganova**, A. Semakov, Y. Aleksandrova, E. Yandulova, S. Pukhov, L. Anikina, S. Klochkov // *Biomedicines*. - 2021. - V. 9. - № 5. - P. 547. - DOI: 10.3390/biomedicines9050547, WoS, Scopus, Q1, IF=4,7 (глава 1 / Приложение А).

20. Klochkov, S.G. Implications of nanotechnology for the treatment of cancer: Recent advances / S.G. Klochkov, **M.E. Neganova**, V.N. Nikolenko, K. Chen, S.G. Somasundaram, C.E. Kirkland, G. Aliev // *Seminars in Cancer Biology*. - 2021. - V. 69. - P. 190-199. - DOI: 10.1016/j.semcancer.2019.08.028 – WoS, Scopus, Q1, IF=14,5 (глава 1).

21. **Neganova, M.E.** Design of Conjugates Based on Sesquiterpene Lactones with Polyalkoxybenzenes by “Click” Chemistry to Create Potential Anticancer Agents / **M.E. Neganova**, E.V. Smirnova, E.V. Sharova, O.I. Artyushin, Y.R. Aleksandrova, E.Y. Yandulova, N.S. Nikolaeva, V.K. Brel // *Molecules*. - 2022. - V. 27. - № 23. - P. 8411. – DOI: 10.3390/molecules27238411 – WoS, Scopus, Q1, IF=4,6 (глава 3).

22. **Neganova, M.E.** Synthesis and biological testing of 3,5-bis(arylidene)-4-piperidone conjugates with 2,5-dihydro-5H-1,2-oxaphospholenes / **M.E. Neganova**, Y.R. Aleksandrova, N.S. Nikolaeva, V.K. Brel // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. - 2022. - V. 74. - P. 128940. - DOI: 10.1016/j.bmcl.2022.128940 – WoS, Scopus, Q2, IF=2,8 (глава 3).

23. Sukocheva, O.A. Perspectives of using microRNA-loaded nanocarriers for epigenetic reprogramming of drug resistant colorectal cancers / O.A. Sukocheva, J. Liu, **M.E. Neganova**, N.M. Beeraka, Y.R. Aleksandrova, P. Manogaran, E.M. Grigorevskikh, V.N. Chubarev, R. Fan // *Seminars in Cancer Biology*. - 2022. - V. 86. - № 2. - P. 358-375. - DOI: 10.1016/j.semcancer.2022.05.012 – WoS, Scopus, Q1, IF=14,5 (глава 1).

24. **Neganova, M.E.** Benefits and limitations of nanomedicine treatment of brain cancers and age-dependent neurodegenerative disorders / **M.E. Neganova**, Y.R. Aleksandrova, O.A. Sukocheva, S.G. Klochkov // *Seminars in Cancer Biology*. - 2022. - V. 86. - Pt 2. - P. 805-833. - DOI: 10.1016/j.semcancer.2022.06.011 – WoS, Scopus, Q1, IF=14,5 (глава 1).

25. **Neganova, M.E.** Histone modifications in epigenetic regulation of cancer: Perspectives and achieved progress / **M.E. Neganova**, S.G. Klochkov, Y.R. Aleksandrova, G. Aliev // *Seminars in Cancer Biology*. - 2022. - V. 83. - P. 452-471. - DOI: 10.1016/j.semcancer.2020.07.015 – WoS, Scopus, Q1, IF=14,5 (глава 1).

26. **Neganova M.** Development of Neuroprotective Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease Using Conjugates of Serotonin with Sesquiterpene Lactones / **M. Neganova**, J. Liu, Y. Aleksandrova, N. Vasilieva, A. Semakov, E. Yandulova, O. Sukocheva, K. Balakin, S. Klochkov, R. Fan // *Current Medicinal Chemistry*. - 2024. V. 31. - № 5. - P. 529-551. - DOI: 10.2174/0929867330666221125105253 – Scopus, Q1, IF=4,1 (Приложение А).
27. Aleksandrova, Y. Elaboration of the Effective Multi-Target Therapeutic Platform for the Treatment of Alzheimer's Disease Based on Novel Monoterpene-Derived Hydroxamic Acids / Y. Aleksandrova, A. Munkuev, E. Mozhaitsev, E. Suslov, D. Tsypyshev, K. Chaprov, R. Begunov, K. Volcho, N. Salakhutdinov, **M. Neganova** // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2023. - V. 24. - № 11. - P. 9743. - DOI: 10.3390/ijms24119743 –WoS, Scopus, Q1, IF=5,6 (глава 3 / Приложение Б).
28. Aleksandrova, Y. Monoterpenoid Epoxidiol Ameliorates the Pathological Phenotypes of the Rotenone-Induced Parkinson's Disease Model by Alleviating Mitochondrial Dysfunction / Y. Aleksandrova, K. Chaprov, A. Podturkina, O. Ardashov, E. Yandulova, K. Volcho, N. Salakhutdinov, **M. Neganova** // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2023. V. 24. - № 6. - P. 5842. - DOI: 10.3390/ijms24065842 –WoS, Scopus, Q1, IF=5,6 (глава 3 / Приложение А).
29. Aleksandrova, Y. Deciphering the Mysterious Relationship between the Cross-Pathogenetic Mechanisms of Neurodegenerative and Oncological Diseases / Y. Aleksandrova, **M. Neganova** // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2023. - V. 24. - № 19. - P. 14766. - DOI: 10.3390/ijms241914766 –WoS, Scopus, Q1, IF=5,6 (глава 1).
30. Aleksandrova, Y. Hydroxamic Acids Containing a Bicyclic Pinane Backbone as Epigenetic and Metabolic Regulators: Synergizing Agents to Overcome Cisplatin Resistance / Y. Aleksandrova, A. Munkuev, E. Mozhaitsev, E. Suslov, K. Volcho, N. Salakhutdinov, **M. Neganova** // *Cancers*. - 2023. - V. 15. - № 20. - P. 4985. - DOI: 10.3390/cancers15204985 –WoS, Scopus, Q2, IF=5,2 (глава 3 / Приложение Б).
31. Aleksandrova, Y. Neuroprotective Effects and Cognitive Enhancement of Allomargaritarine in 5xFAD Alzheimer's Disease Mice Model / Y. Aleksandrova, A. Semakov, D. Tsypyshev, K. Chaprov, S. Klochkov, **M. Neganova** // *OBM Neurobiology*. – 2024. – Vol. 8. – № 1 (глава 3 / Приложение А).
32. **Неганова, М.Е.** Нейропротекторные свойства алломаргаритарина – нового триптаминового производного природного алкалоида секуринина / **М.Е. Неганова**, Т.П. Серкова, С.Г. Ключков, С.В. Афанасьева, Е.Ф. Шевцова, С.О. Бачурин // *Естественные и технические науки*. - 2011. - №5. - С.86-90. - РИНЦ, ВАК (глава 3).

33. **Неганова, М.Е.** Исследование антиоксидантных свойств нового триптаминового производного секуринина и его влияние на судорожную активность мозга при экспериментальной эпилепсии / **М.Е. Неганова**, В.А. Блик, С.Г. Ключков, Н.Е. Чепурнова, Е.Ф. Шевцова // *Нейрохимия*. - 2011. - Т.28. - №3. - С.236-243. - РИНЦ, ВАК, WoS, RSCI, IF(РИНЦ)= 0,286 (глава 3).
34. Пухов, С.А. Ингибирование роста клеток аденокарциномы молочной железы эпоксиалантолактоном и его производными / С.А. Пухов, **М.Е. Неганова**, Л.В. Аникина, Е.Ф. Шевцова, С.В. Афанасьева, С.Г. Ключков // *Фундаментальные исследования*. - 2014. - Т.9. - №9. - С. 1988-1992. - РИНЦ, ВАК, IF(РИНЦ) = 1,7 (глава 3 / Приложение А).
35. **Неганова, М.Е.** Механизмы антиоксидантного действия производных природных сесквитерпеновых лактонов и алкалоидов / **М.Е. Неганова**, С.В. Афанасьева, С.Г. Ключков, Е.Ф. Шевцова // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. - 2011. - Т. 152. - С. 661-664. - DOI: 10.1007/s10517-012-1615-x - РИНЦ, ВАК, WoS, RSCI, IF= 0,7 (Приложение А).
36. Ключков, С.Г. Синтез и биологическая активность конъюгатов изоалантолактона с триптаминами / С.Г. Ключков, С.В. Афанасьева, Ю.Н. Булычев, **М.Е. Неганова**, Е.Ф. Шевцова // *Известия Академии наук. Серия химическая*. - 2012. - № 2. - С. 407-412. - DOI:10.1007/s11172-012-0058-x – SCOPUS, ВАК, IF= 1.7 (глава 3 / Приложение А).
37. Ключков, С.Г. Синтез и антиоксидантная активность производных секуринина / С.Г. Ключков, **М.Е. Неганова**, С.В. Афанасьева, Е.Ф. Шевцова // *Химико-фармацевтический журнал*. - 2014. - Т. 48. - № 1. - С. 18-21. - DOI:10.1007/s11094-014-1035-5 - WoS, SCOPUS, ВАК, IF= 0.9 (глава 3 / Приложение А).
38. **Неганова, М.Е.** Биологическая активность спироциклических гидроксамовых кислот. / **М.Е. Неганова**, Д.В. Мищенко, Т.П. Серкова, И.В. Выстороп, Е.Ф. Шевцова // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. - 2016. - Т. 162. - № 8. - С. 192-194. - DOI:10.1007/s10517-016-3582-0 – WoS, SCOPUS, ВАК, Q3, IF= 0.7 (глава 3 / Приложение Б).
39. Ключков, С.Г. Биологическая активность алантолактонов в экспериментах на клетках / С.Г. Ключков, С.А. Пухов, **М.Е. Неганова**, Е.С. Дубровская, Л.В. Аникина, С.В. Афанасьева, А.В. Семаков // *Biomedical Chemistry: Research and Methods*. - 2018. - Т. 1. - № 3. - С. e00047. - DOI:10.18097/BMCRM00047 – РИНЦ, ВАК, CrossRef, IF=0,4 (Приложение А).
40. Дубровская, Е.С. Защита клеток нейробластомы SK-N-MC природными сесквитерпеновыми лактонами от повреждений, вызванных глутаматом и пероксидом / Е.С. Дубровская, А.В. Семаков, С.В. Афанасьева, **М.Е. Неганова**,

В.И. Козловский, С.Г. Ключков // Biomedical Chemistry: Research and Methods. - 2018. - Т. 1. - № 3. - С. e00051. - DOI:10.18097/BMCRM00051 - РИНЦ, ВАК, CrossRef, IF=0,4 (Приложение А).

41. Шевцова, Е.Ф. Митохондрии как важная мишень при поиске новых препаратов для лечения болезни Альцгеймера и старческих деменций / Е.Ф. Шевцова, Д.В. Виноградова, **М.Е. Неганова**, П.Н. Шевцов, Б.В. Леднев, С.О. Бачурин // Biomedical Chemistry: Research and Methods. - 2018. - Т. 1. - № 3. - С. e00058. - doi:10.18097/BMCRM00058 - РИНЦ, ВАК, CrossRef, IF=0,4 (глава 1).

42. **Неганова, М.Е.** Механизмы цитотоксического действия ряда циклических гидроксамовых кислот / **М.Е. Неганова**, Ю.Р. Александрова, С.А. Пухов, С.Г. Ключков, В.Н. Осипов // Биомедицинская химия. - 2020. - Т. 66. - № 4. - С. 332-338. - DOI: 10.18097/PBMS20206604332 – ВАК, РИНЦ, Q4, IF=1,3 (глава 3 / Приложение Б).

43. Ключков, С.Г. Перспективные молекулярные мишени сигнальных каскадов gas-белков для создания противоопухолевых препаратов / С.Г. Ключков, **М.Е. Неганова**, Ю.Р. Александрова // Биоорганическая химия. - 2020. - Т. 46. - № 6. - С. 580-592. - DOI: 10.1134/S1068162020050118 – Scopus, Q4, IF=1,1 (глава 1).

44. **Неганова, М.Е.** Перспективные молекулярные мишени для фармакологической коррекции нейродегенеративных патологий / **М.Е. Неганова**, Ю.Р. Александрова, В.О. Небогатилов, С.Г. Ключков, А.А. Устюгов // Acta Naturae. - 2020. - Т. 12. - № 3 (46). - С. 60-80. - DOI: 10.32607/actanaturae.10925 – WoS, ВАК, РИНЦ, Q3, IF=2,1 (глава 1).

45. Выстороп, И.В. Региоселективный синтез, структура и хемосенсибилизирующая противоопухолевая активность циклической гидроксамовой кислоты на основе DL-валина / И.В. Выстороп, Г.В. Шилов, А.В. Черняк, Е.Н. Климанова, Т.Е. Сашенкова, С.Г. Ключков, **М.Е. Неганова**, Ю.Р. Александрова, У.Ю. Аллаярова, Д.В. Мищенко // Биоорганическая химия. - 2021. - Т. 47. - № 3. - С. 391-399. - DOI: 10.1134/S1068162021030171 – Scopus, Q4, IF=1,1 (глава 3 / Приложение Б).

46. Артюшин О.И. Модификация сесквитерпеновых лактонов - алантолактона и дегидрокостуслактона - методом клик-химии и оценка цитотоксических свойств полученных конъюгатов / О.И. Артюшин, Е.В. Шарова, Н.С. Николаева, Ю.Р. Александрова, А.В. Семаков, **М.Е. Неганова**, В.К. Брель // Журнал общей химии. - 2022. - Т. 92. - № 6. - С. 875-884. - DOI: 10.1134/S107036322206007X – ВАК, РИНЦ, Q4, IF=0,9 (глава 3 / Приложение А).

47. Николаева, Н.С. Патологическое взаимодействие β -амилоида и митохондрий: роль в возникновении и развитии болезни Альцгеймера / Н.С. Николаева, Е.Ю.

Яндулова, Ю.Р. Александрова, А.С. Стариков, **М.Е. Неганова** // Acta Naturae. - 2022. - Т. 14. - № 3. - С. 19-34. - DOI: 10.32607/actanaturae.11723 – WoS, ВАК, РИНЦ, Q3, IF=2 (глава 1).

Публикации в других изданиях

48. **Неганова, М.Е.** Гибридные молекулы на основе природного алкалоида secuринина в качестве потенциальных нейропротекторов / **М.Е. Неганова**, Е.Ф. Шевцова, С.Г. Клочков // В кн. ИФАВ РАН: основные направления работ, под ред. член-корр. Российской академии наук С.О. Бачурина. М.: Изд. «Типография 24». - 2018. - С. 29-35. - DOI: 10.18097/IPAC-RAS-2018 (Приложение А).

49. Клочков, С.Г. Природные сесквитерпеновые лактоны как основа для создания мультитаргетных гибридных молекул с противоопухолевыми свойствами / С.Г. Клочков, **М.Е. Неганова**, С.А. Пухов, Л.В. Аникина, А.В. Семаков, С.В. Афанасьева // В кн. ИФАВ РАН: основные направления работ, под ред. член-корр. Российской академии наук С.О. Бачурина. М.: Издательство «Типография 24». - 2018. - С. 51-82. - DOI: 10.18097/IPAC-RAS-2018 (Приложение А).

Патенты

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

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

HDAC1 – гистоновая деацетилаза 1

HDAC6 – гистоновая деацетилаза 6

ПОЛ – ингибирование перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, иницированного ионами двухвалентного железа и *трет*-бутилгидроксипероксидом

АА – антирадикальная активность

ХА – Fe²⁺-хелатирующая активность

φ_m – деполяризация митохондриальной мембраны

Свеллинг – максимальная скорость «набухания» митохондрий

МДА – малоновый диальдегид

Аβ – бета-амилоидный пептид

GSH – глутатион

ВАСЕ1 – бета-секретаза

НДЗ – нейродегенеративные заболевания

СПК – скорость поглощения кислорода

АТФ – аденозиндифосфат

ЭТЦ – электрон-транспортная цепь