

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки федерального
исследовательского центра проблем химической физики и медицинской
химии Российской академии наук (ФИЦ ПХФ и МХ РАН)
Институт физиологически активных веществ Федерального
государственного бюджетного учреждения науки федерального
исследовательского центра проблем химической физики и медицинской
химии Российской академии наук (ИФАВ РАН)

На правах рукописи

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)

Диссертация

на соискание ученой степени

доктора биологических наук

Научный консультант:

доктор химических наук,

доцент

Константин Валерьевич Балакин

Черноголовка – 2024

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	19
1.1. Окислительный стресс и митохондриальная дисфункция при онкологических и нейродегенеративных заболеваниях	21
1.1.1. Понятие окислительного стресса и источники свободных радикалов	21
1.1.2. Свободно-радикальная теория возникновения патологического состояния в клетке	24
1.1.3. Сбой работы собственной антиоксидантной системы защиты клетки	30
1.1.4. АФК-опосредованные сигнальные пути при онкологии и нейродегенерации	33
1.1.5. Потенциальные терапевтические кандидаты нейропротекторной и противоопухолевой направленности, нацеленные на активные формы кислорода	40
1.2. Общие аспекты эпигенетической регуляции развития патогенеза НДЗ и онкологических патологий	51
1.2.1. Гистоновые деацетилазы как основные эпигенетические регуляторы: структура и функции	51
1.2.2. Изменения в интенсивности ацетилирования гистонов при онкогенезе	55
1.2.3. Роль гистоновых деацетилаз в патогенезе нейродегенеративных расстройств	64
1.2.4. Достижения в разработке ингибиторов гистоновых деацетилаз в терапии онкологических и нейродегенеративных заболеваний	69
1.3. Альтерации в биоэнергетическом метаболизме клеток при онкогенезе и нейродегенерации	77

1.3.1. Определение основных метаболических процессов клетки, энергетический обмен	77
1.3.2. Молекулярные тонкости метаболизма опухолевых клеток: нарушение регуляции аэробного гликолиза, эффект Варбурга	80
1.3.3. Коррекция аномалий процесса окислительного фосфорилирования в митохондриях как перспективный терапевтический подход при создании нейропротекторных препаратов	87
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	103
2.1. Лабораторные животные, использованные в работе	103
2.2. Приготовление биообразцов	103
2.3. <i>In vitro</i> методы исследования	107
2.4. <i>In vivo</i> методы исследования	114
2.5. <i>Ex vivo</i> методы исследования	118
2.6. Молекулярный докинг и оценка ADME/Tox	121
2.7. Создание QSAR модели	123
2.8. Статистическая обработка данных	125
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	126
3.1. Совершенствование системы биологического тестирования химических соединений для поиска как противоопухолевых, так и нейропротекторных агентов	126
3.1.1. Предпосылки создания более совершенной интегральной схемы биологического тестирования	126
3.1.2. Каскадная архитектура усовершенствованной схемы биологического тестирования	127
3.1.3. Обоснование выбора скрининговых тестов для раннего скринингового этапа, а также принципы и алгоритм отнесения соединений к категориям активности	132

3.2. Молекулярные объекты исследования	135
3.2.1. Принципы создания бифармакофорных соединений для тонкой модуляции специфических биохимических каскадов	135
3.2.2. Исследуемые соединения: источники, структуры и схемы синтеза	136
3.3. Биотестирование синтезированных молекулярных объектов исследования с использованием усовершенствованной интегральной схемы скрининга	151
3.3.1. Ранний скрининговый этап и распределение веществ по фармакологическим группам: потенциальные противоопухолевые или нейропротекторные агенты	151
3.3.2. <i>In vitro</i> и <i>in vivo</i> исследование целевой эффективности соединений-хитов в группе потенциальных нейропротекторных агентов среди соединений на основе природных скаффолдов	155
3.3.3. <i>In vitro</i> и <i>in vivo</i> исследование целевой эффективности соединений-хитов в группе потенциальных противоопухолевых агентов среди соединений на основе природных скаффолдов	211
3.3.4. <i>In vitro</i> и <i>in vivo</i> исследование целевой эффективности соединений-хитов в группе потенциальных нейропротекторных агентов среди гидроксамовых кислот	231
3.3.5. <i>In vitro</i> и <i>in vivo</i> исследование целевой эффективности соединений-хитов в группе потенциальных противоопухолевых агентов среди гидроксамовых кислот	262
3.4. Составление и хемоинформационный анализ аннотированной базы данных, содержащей комплексную информацию о соединениях и их влиянии на биохимические каскады, вовлечённые в ранние стадии развития нейродегенеративных и онкологических заболеваний	296
3.4.1. Структура аннотированной базы	296

3.4.2. Поиск и прогнозирование паттернов влияния молекулярных объектов на биохимические каскады на основе анализа информационной матрицы с применением алгоритмов искусственного интеллекта	297
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	309
ВЫВОДЫ	314
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	316
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	324
Приложение А	402
Приложение Б	413
Приложение В	421

ВВЕДЕНИЕ

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 ненеурональных 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, абберантным 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 дофаминергических нейронов в головном мозге животных с хемоиндуцированной патологией паркинсонического типа.
4. Бифармакофорные производные сесквитерпеновых лактонов (дегидрокостуслактона и алантолактона) и полиалкокксибензолов 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 циклофосамида за счет HDAC1-ингибирующих и Fe(II)-хелатирующих свойств, а также способности приводить к дегградации 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 РФФ (17-73-10461 «Общность молекулярных мишеней комплексной системы биотестирования для разработки инновационных лекарственных препаратов с противоопухолевым или нейропротекторным действием»; РФФ №19-73-10195 «Синтез и мишень-ориентированный поиск полифункциональных молекул, обладающих избирательным действием на основные звенья патогенеза нейродегенеративных заболеваний»; РФФ №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. Суслову, А.А. Мункуеву и д.х.н., проф. К.П. Волчо за синтез гидроксамовых кислот линейной структуры и монотерпеновых производных параментанового остова; с. н. с., к. х. н. В.Н. Осипову (НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина) и И.В. Высторону (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.*

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Несмотря на масштабные мультидисциплинарные исследования трех последних десятилетий в сфере разработки лекарственных средств для терапии онкологических и нейродегенеративных патологий, арсенал эффективных фармакотерапевтических подходов до сих пор остается весьма ограниченным. В первую очередь, такая ситуация обусловлена многочисленными побочными эффектами существующих лекарственных агентов ввиду их системного действия по причине недостатка знаний об этиопатогенезе данных расстройств. В результате этого в последние годы происходит принципиальный пересмотр преобладающих на сегодняшний день традиционных терапевтических парадигм с целью создания наиболее перспективных фармакологических подходов (Неганова и др., 2020б).

Несмотря на то, что злокачественные новообразования и нейродегенеративные расстройства рассматриваются как две совершенно разные группы заболеваний, а их эпидемиологическая ассоциация крайне сложна, в обоих случаях происходят нарушения в механизмах клеточной регуляции (Aleksandrova et al., 2023c). И если возникновение и прогрессирование онкопатологий связаны с неконтролируемой пролиферацией клеток (Schiliro and Firestein, 2021), то деменция, напротив, характеризуется атрофией головного мозга в результате обширной нейрональной гибели (Aleksandrova et al., 2023a; Neganova et al., 2021a).

Возрастающий интерес исследователей к данной проблеме, преследующий своей целью обнаружение эффективных терапевтических средств для лечения злокачественных новообразований и нейродегенеративных расстройств, позволяет выявить ряд общих патологических каскадов, связанных с нарушениями регуляции сигнальных путей и изменениями в экспрессии генов и белков (Lanni et al., 2021). В основном такие изменения происходят в антагонистичных направлениях. К

примеру, ещё задолго до появления первых симптомов болезни Альцгеймера в ненеурональных клетках головного мозга и на периферии отмечается сверхэкспрессия и аберрантная активность неправильно свернутой 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 (Pemberton et al., 2021), противопоставляется сверхэкспрессии данного антиапоптотического белка при онкопатологиях (Fairlie and Lee, 2021; Opferman, 2016; Schenk et al., 2017), приводя к повышенной выживаемости неопластических клеток и развитию их химио- и радиорезистентности (Jin et al., 2017; Kaloni et al., 2023; Thomalla et al., 2022; Tutusaus et al., 2018).

Однако особого внимания заслуживают вовлеченные в этиопатогенез указанных 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). В подтверждение этому может рассматриваться обратная корреляция между онкопатологиями и нейродегенерацией (Zhang et al., 2015a), когда распространённость злокачественных новообразований значительно снижена у людей с различными формами нейродегенеративных расстройств, получающих сопроводительную терапию (около 70%) (Driver et al., 2012), в то время как среди пациентов с успешно излеченным онкологическим анамнезом наблюдается снижение риска развития болезни Альцгеймера (около 50%) (Driver et al., 2012), болезни Паркинсона (Gao and Ning, 2011) и других дементных синдромов.

В связи с этим, проанализировав большое количество экспериментальных и обзорных работ ведущих исследователей со всего мира, мы постарались установить сложные биологические связи между патогенезом злокачественных новообразований и нейродегенеративных расстройств. И поскольку данные об общих механизмах развития этих заболеваний предполагают внедрение новых терапевтических стратегий, мы также представили детальное обоснование потенциальных мишеней для действия перспективных терапевтических агентов. Всё это может привести к улучшенному пониманию их этиопатологических механизмов, а также внести вклад в открытие новых перспективных направлений в создании эффективных фармакотерапевтических стратегий.

1.1. Окислительный стресс и митохондриальная дисфункция при онкологических и нейродегенеративных заболеваниях

1.1.1. Понятие окислительного стресса и источники свободных радикалов

Уже почти четыре десятилетия научное сообщество в области экспериментальной и клинической медицины проявляет значительный интерес к роли активных форм кислорода (АФК) для терапии различных заболеваний. Среди наиболее важных АФК выделяют как радикальные — гидроксильный радикал (OH^\bullet), супероксид-анион радикал ($\text{O}_2^{\bullet-}$) и пероксильные радикалы (ROO^\bullet , RCOO^\bullet), так и нерадикальные молекулы — пероксид водорода (H_2O_2), синглетный кислород ($^1\text{O}_2$), оксид азота (NO) и пероксинитрит (ONOO^-) (Brieger et al., 2012).

Активные формы кислорода могут образовываться в результате многочисленных внутриклеточных процессов, среди которых ключевыми выступают митохондриальное дыхание (в результате функционирования электрон-транспортной цепи может происходить потеря электронов от промежуточных продуктов (Zhao et al., 2019)), метаболические процессы (за

счет β -окисления жирных кислот в пероксисомах (Sarniak et al., 2016) и окисления белков в эндоплазматическом ретикулуме), а также под действием связанных с мембраной никотинамидадениндинуклеотидфосфат оксидаз. В свою очередь экзогенные источники свободных радикалов включают факторы окружающей среды (ионизация, радиация), фармацевтические агенты и промышленные химикаты, ионы металлов, барбитураты и другие (Antognazza et al., 2019).

Первоначальная интеграция АФК в биомедицинские концепции была связана исключительно с их токсическими эффектами и необратимыми функциональными изменениями при различных патологиях. С тех пор знания, касающиеся окислительно-восстановительного баланса в клетке, получили стремительное развитие, и на сегодняшний день известно о двойственной роли АФК в функционировании живых систем. Действуя как вторичные мессенджеры, АФК на базальном уровне (в низких или умеренных концентрациях) регулируют протекание многочисленных внутриклеточных сигнальных каскадов (Bouchez and Devin, 2019; Moloney and Cotter, 2018; Zhang et al., 2016; Zhao et al., 2017). В свою очередь, их перепроизводство и кумулятивная выработка в биологических системах в результате эндогенных или экзогенных воздействий являются токсичными, что делает АФК важными медиаторами неспецифического повреждения клеточных структур (называемого окислительным стрессом), включая белки, липиды, углеводы и нуклеиновые кислоты (Neganova et al., 2021b). Иными словами, понятие окислительный стресс включает в себя нарушения в гомеостазе свободных радикалов, происходящие в результате перепроизводства АФК и дефицита антиоксидантных ферментов, способных детоксифицировать реакционноспособные промежуточные продукты и устранять повреждения (Forman and Zhang, 2021).

Как было сказано выше, образование АФК является следствием окислительного фосфорилирования, а митохондриальные АФК играют решающую роль в ряде окислительно-восстановительных сигнальных

процессов, а также в формировании и развитии различных патологических состояний. Считается, что именно митохондрии вносят основной вклад во внутриклеточную выработку АФК (Dan Dunn et al., 2015).

В целом, дыхательная цепь митохондрий млекопитающих содержит пять комплексов, четыре из которых — NADH-убихиноноксидоредуктаза (комплекс I), сукцинат-убихиноноксидоредуктаза (комплекс II), комплекс цитохрома bc₁ (комплекс III) и цитохром с-оксидаза (комплекс IV) — ответственны за перенос электронов, а комплекс V — H⁺-транслоцирующая АТФ-синтаза — направляет полученные электроны по многоступенчатому пути, кульминацией которого является перекачка протонов за пределы митохондрий. Считается, что основными участками образования супероксида являются комплексы I и III дыхательной цепи (Jakubczyk et al., 2020). Если в случае NADH-убихиноноксидоредуктазы данный комплекс является потенциальным местом утечки электронов и образования супероксида, выделяющегося исключительно в митохондриальный матрикс, то из комплекса цитохрома bc₁ высвобождение супероксида происходит по обе стороны внутренней митохондриальной мембраны (Guo et al., 2018). Проникновение образовавшегося с помощью электрон-транспортной цепи супероксида в исходной анионной форме через внутреннюю мембрану митохондрий может происходить двумя способами: (1) путем мгновенного превращения под действием ферментов супероксиддисмутаза в пероксид водорода, который затем транспортируется из митохондрий в цитоплазму и далее расщепляется на гидроксильные радикалы и анионы по реакции Фентона (Abe et al., 2022), (2) посредством диффузии самого супероксида в цитоплазму через митохондриальную пору перехода проницаемости (Mantel et al., 2011).

Хотя на сегодняшний день достоверно известно о роли именно данных сайтов переноса электронов в качестве источников образования АФК, можно с уверенностью предположить, что комплексы II и IV также выполняют

аналогичную функцию. В свою очередь, не существует доказательств того, что АТФ-синтаза напрямую генерирует свободные радикалы, однако изменения в её активности могут вызывать нарушения трансмембранного потенциала и, как следствие, заметно влиять на выработку АФК (Martinez-Reyes and Cuezva, 2014).

Следует отметить, что одной из причин гиперпродукции АФК митохондриями могут быть непосредственно сами свободные радикалы, приводящие к прогрессирующему перекисному окислению митохондриальных фосфолипидов (Jiang et al., 2021). Такая индукция патофизиологических изменений в дыхательной цепи, главным образом, путём дезагрегации I и III комплексов, формирует условия для возникновения окислительного стресса и нарушения выработки АТФ.

Ввиду того, что тонкий баланс между уровнями свободных радикалов является ключевым аспектом в нормальном функционировании организма, процессы, связанные с окислительным стрессом, рассматриваются в качестве оптимальных терапевтических мишеней для действия потенциальных лекарственных агентов.

1.1.2. Свободно-радикальная теория возникновения патологического состояния в клетке

В настоящее время существует целый ряд теорий и гипотез, призванных объяснить движущие силы возникновения и развития злокачественных новообразований и нейродегенеративных расстройств. Одним из самых популярных и фундаментальных постулатов является свободнорадикальная теория, интерпретирующая данные патологические процессы на молекулярном уровне.

Впервые свободнорадикальная теория была выдвинута в 1956 году Денхемом Харманом для описания механизмов атаки клеточных компонентов свободными радикалами, вырабатываемыми митохондриями в качестве побочных продуктов, в ходе нормального метаболизма (Harman,

1956). На сегодняшний день известно, что данные органеллы являются одними из ключевых источников АФК, образующихся вследствие утечки электронов в электрон-транспортной цепи (Shadel and Horvath, 2015).

Благодаря продолжающимся открытиям в этой области, спустя 16 лет Д. Харман сделал важное заявление о том, что продолжительность жизни млекопитающих зависит от скорости утилизации кислорода, предложив митохондриальную свободнорадикальную теорию старения. Так, основной постулат теории Хармана гласит, что «длительное присутствие этих нестабильных и реакционноспособных молекул в системе может привести к прямому или косвенному повреждению клеточных компонентов и соединительных тканей» (Harman, 1956). Развитие теории Хармана привело к возникновению идеи о том, что удаление таких молекул способно уменьшить повреждение клеток и, как следствие, замедлить патологический процесс. Значительные усилия были приложены к проверке достоверности данного предположения, и к настоящему моменту оно нашло подтверждение в широком ряде работ, демонстрирующих перспективность применения антиоксидантной терапии—для увеличения продолжительности жизни модельных организмов (Lu et al., 2021a).

Хорошо известно, что течение различных типов нейродегенеративных расстройств сопровождается прогрессирующими модификациями или ухудшением процессов метаболизма в головном мозге. Являясь одной из основных причин данного феномена, окислительный стресс влияет на целый ряд метаболических путей (Kang et al., 2015), а доказательства участия свободных радикалов в нарушении когнитивных функций получены из исследований пациентов, страдающих нейродегенеративными расстройствами. При болезни Альцгеймера часто сообщается об окислительно-опосредованном повреждении различных биомолекул. Так, при поиске механизмов, лежащих в основе данного расстройства, помимо доминирующей гипотезы амилоидного каскада, было предложено альтернативное объяснение патогенеза данного заболевания, которое

заключалось во взаимосвязи митохондриальной дисфункции и гиперпродукции АФК. Именно данные признаки повсеместно встречаются у пациентов с данной нейропатологией (Grimm and Eckert, 2017). Было обнаружено, что высокие уровни биомаркеров окислительного стресса в плазме крови и моче регистрируются как у модельных животных (Kim et al., 2019; Kim et al., 2021; Park et al., 2021; Peng et al., 2019a; Shin et al., 2020; Yang et al., 2021a), так и у пациентов с БА (Foroumandi et al., 2023; Khalil et al., 2012; Pena-Bautista et al., 2019; Ton et al., 2020), что коррелирует с агрегацией и отложениями β -амилоида. Кроме того, протеомное исследование показало, что более высокий риск развития нейродегенеративных расстройств у пациентов с синдромом Дауна может быть объяснён их более высокой восприимчивостью к повреждениям, вызванным окислительным стрессом (Hasina et al., 2022; Mufson et al., 2021).

Ключевую роль в гиперпродукции АФК в головном мозге играет окислительное повреждение липидов (Butterfield, 2020), поскольку хорошо известно об их высоком содержании в данном органе (36-40% в сером веществе, 49-66% в белом веществе и 78-81% в миелиновой оболочке) и необходимости в значительном потреблении кислорода нервными клетками (Leu et al., 2019). В ходе данного процесса липиды подвергаются воздействию АФК, в результате которого посредством механизма цепной реакции свободных радикалов образуются соответствующие продукты (Gaschler and Stockwell, 2017). Интересно, что гистологические исследования показывают совместную локализацию продуктов перекисного окисления липидов и β -амилоидных бляшек в головном мозге пациентов с болезнью Альцгеймера (Guan et al., 2022; Meng et al., 2021). Так, оценка содержания малонового диальдегида показала значительно более высокие уровни данного маркера в гиппокампе, затылочной и височной коре, а также сыворотке и плазме крови у людей с данным расстройством (Schrag et al., 2013; Song et al., 2021; Zabel et al., 2018) по сравнению со здоровой группой людей. Аналогичные результаты были получены при анализе уровней 4-

гидрокси-2-*транс*-ноненаля (4-HNE), изопростанов и нейропростанов, акролеинов, окисленных липопротеинов низкой плотности, фосфолипидов и гидроперекисей (Miyazawa et al., 2013; Pena-Bautista et al., 2021; Trares et al., 2022; Zabel et al., 2018).

В связи с тем, что митохондрии являются основными источниками АФК в центральной нервной системе, данные органеллы занимают лидирующие позиции в патологической иерархии нейродегенеративных заболеваний (Streck et al., 2013). Доказано, что при болезни Альцгеймера нарушаются практически все аспекты митохондриальной функции. Существующая на сегодняшний день гипотеза митохондриального каскада, объясняющая возникновение и прогрессирование БА, утверждает, что дисфункция данных органелл влияет на экспрессию и процессинг белка-предшественника β -амилоида (APP), способствуя олигомеризации патологических форм пептида (Echtay et al., 2003; Takeda et al., 2000). Позже было обнаружено, что β -амилоид сам по себе является источником окислительного стресса, а инкубация нейронов с олигомерами пептида $A\beta_{1-42}$ приводит к перекисному окислению липидов, о чем свидетельствуют высокие уровни маркера данного процесса 4-HNE (Takagane et al., 2015). Интересно, что уровни 4-HNE пропорциональны степени поражения нейронов (Akude et al., 2010). Кроме того, было показано, что окислительный стресс, вызванный β -амилоидом (главным образом, в результате образования металлоамилоидных комплексов белка с окислительно-восстановительными активными металлами — медью, цинком и железом) приводит к нарушению функционирования митохондрий (Jiang et al., 2007), способствует деполяризации мембраны органелл и развитию феномена эксайтотоксичности. В то же время уменьшение митохондриальной дисфункции приводит к ослаблению патологических признаков болезни Альцгеймера и позволяет рассматривать нацеливание на поврежденные органеллы в качестве ключевой стратегии снижения окислительного стресса в моделях данного заболевания.

Нетрудно заметить, что изначально свободно-радикальная теория была ассоциирована со старением и дегенеративными процессами, происходящими в головном мозге у пациентов с различными типами деменции. По мере развития междисциплинарного сотрудничества между фармацевтической и биохимической областями науки с целью лучшего понимания специфичности окислительно-восстановительных процессов, уровни активных форм кислорода стали привлекать внимание исследователей, занимающихся проблемой и онкологических заболеваний.

Традиционно повышение уровней свободных радикалов рассматривалось в качестве перспективной терапевтической стратегии для индукции окислительного стресса, повреждения клеточных компонентов и уничтожения опухолевых клеток по пути апоптоза (Firczuk et al., 2020) и запуска аутофагии (Li et al., 2015). Однако использование такой прооксидантной терапии может повлечь за собой ряд нежелательных побочных эффектов в отношении здорового микроокружения. К примеру, стимуляция окислительного стресса известным цитостатиком алкилирующего действия цисплатином происходит не только в опухолевых клетках, но и клетках нормального происхождения, что является причиной распространённого побочного эффекта данного препарата — ототоксичности (Santos et al., 2020). Подобно цисплатину, для доксорубина — классического антибиотика антрациклинового ряда, приводящего к прямой генерации пероксида водорода и, как следствие, последующей деполяризации митохондриальной мембраны и каспазозависимой гибели клеток, была выявлена неселективная локализация в митохондриях нетрансформированных клеток, что обуславливает его высокую кардиотоксичность и накладывает серьёзные ограничения на его применение в клинике (Christidi and Brunham, 2021).

Подобные примеры обусловили необходимость пересмотра существующей на тот момент концепции, в связи с чем дальнейшие

исследования заложили основу для предположения о том, что АФК являются движущим фактором онкогенеза (Wang et al., 2021a). Так, было обнаружено, что их повышенные уровни, регистрируемые в различных типах опухолевых клеток, напротив, являются онкогенными за счёт повреждающего действия на ДНК, белки и липиды, что приводит к генетической нестабильности, возникновению и развитию онкогенеза (Moloney and Cotter, 2018). Об этом свидетельствует значительное повышение вышеупомянутых маркеров окислительного стресса в биологическом материале пациентов со злокачественными новообразованиями. В частности, увеличение содержания малонового диальдегида показано при карциноме молочной железы (do Val Carneiro et al., 2009; Sadati Zarrini et al., 2016), лёгкого (Gonenc et al., 2001), предстательной железы (Arif et al., 2018; Dillioglulugil et al., 2012; Drozd-Afelt et al., 2022) и мочевого пузыря (Gecit et al., 2017; Lepara et al., 2020), полости рта и ротоглотки (Firdausa et al., 2023; Marakala et al., 2012). Уровни этого маркера коррелируют с клиническими стадиями рака, достигая максимума на III и IV стадиях (Pande et al., 2011), что указывает на прямую роль окислительного стресса в прогрессировании заболеваний. Повреждение при злокачественных новообразованиях ДНК в результате действия свободных радикалов подтверждается увеличением экскретируемого 8-гидрокси-2-деоксигуанозина (8-OHdG), играющего важную роль в канцерогенезе для трансформации здоровых клеток в неопластические (Valavanidis et al., 2009). Исследования показывают, что высокие уровни 8-OHdG в моче, плазме и сыворотке крови являются прогностическими факторами при карциноме пищевода (Pylvas et al., 2011; Song et al., 2015a; Yamamoto et al., 1996), яичников (Mikhaleva et al., 2020) и толстого кишечника (Plachetka et al., 2013; Rozalski et al., 2015; Sato et al., 2010). Такое эктопическое накопление АФК и развитие состояния перманентного окислительного стресса приводит к дедифференцировке (Sedlic et al., 2020) и аномальному росту клеток (Diebold and Chandel, 2016; Migliario et al., 2014), метастазированию (Chang and Pauklin, 2021), возникновению устойчивости к апоптозу (в частности, за счет

усиления метаболизма глюкозы и адаптации к гипоксическим условиям) (Cui et al., 2018), ангиогенезу (Fukai and Ushio-Fukai, 2020) и генерации онкогенных мутаций (Perillo et al., 2020).

Таким образом, несмотря на всю противоречивость вышеописанного, на сегодняшний день как препятствие протеканию свободно-радикальных реакций, так и стимулирование выработки АФК для специфического уничтожения трансформированных клеток рассматриваются в качестве многообещающих стратегий противоопухолевой терапии. Однако применение последней в качестве перспективного терапевтического инструмента должно иметь строгую селективную нацеленность именно на опухолевые клетки.

1.1.3. Сбой работы собственной антиоксидантной системы защиты клетки

В связи с тем, что генерация АФК является неизбежным явлением не только в патологических, но и в нормальных условиях, у живых организмов эволюционно сформирована система собственной антиоксидантной защиты (САЗ), задача которой заключается в жесткой регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза: устранении избыточного количества АФК без препятствия сохранению их полезной роли (Demirci-Cekic et al., 2022; Pisoschi and Pop, 2015).

Клеточная система эндогенной антиоксидантной защиты состоит из ряда компонентов, защитные механизмы которых функционируют в двух основных направлениях: (1) удаление свободных радикалов и реакционноспособных форм с помощью ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы (Grazioli et al., 1998) и (2) удаление свободных радикалов донором электронов — глутатионом (GSH) (Forman et al., 2009).

Первую линию собственной антиоксидантной системы, которая играет ключевую роль в защитных механизмах клетки, составляют непосредственно вышеуказанные ферменты, которые действуют путем связывания супероксида и других пероксидов, превращая их в стабильные соединения, и тем самым несут важную роль биологической защиты при атаке АФК (Demirci-Cekic et al., 2022).

Фермент супероксиддисмутаза, катализирующий реакцию дисмутации супероксидного анион-радикала в пероксид водорода, локализуется в цитозоле и митохондриях (Wang et al., 2018a). Далее образовавшийся пероксид водорода в результате ферментативной активности каталазы преобразуется в воду и кислород (Goyal and Basak, 2010). Несмотря на то, что этот антиоксидант в избытке локализуется в различных компартментах клеток и считается основным антиоксидантным ферментом (Glorieux and Calderon, 2017), каталаза не обнаруживается в митохондриях, в связи с чем для деградации молекул пероксида водорода в данных органеллах необходим другой фермент – глутатионпероксидаза (Handy and Loscalzo, 2022), реализующая свою основную активность путем превращения H_2O_2 в две молекулы H_2O . Известно, что именно глутатионпероксидаза является первым ферментом, активируемым при высоких уровнях АФК (Flohe et al., 2022). Помимо H_2O_2 , глутатионпероксидаза также преобразует другие пероксиды и гидроксильные радикалы в нетоксичные формы путем последовательного окисления восстановленного глутатиона в глутатиондисульфид, который под действием глутатионредуктазы восстанавливается до GSH (Brigelius-Flohe and Flohe, 2020). Одной из важных функций глутатионредуктазы является поддержание соотношения восстановленной и окисленной форм глутатиона (Couto et al., 2016).

Глутатион является основным неферментативным антиоксидантом, участвующим во многих клеточных функциях, действуя как поглотитель свободных радикалов (Averill-Bates, 2023). Он синтезируется в цитозоле и далее распределяется практически по всем клеточным компартментам,

включая митохондриальный матрикс, где реагирует с АФК и предотвращает апоптоз (Alanazi et al., 2015). В физиологических условиях восстановленный глутатион (GSH) является основной формой, присутствующей в гораздо более высоких концентрациях, чем его окисленная дисульфидная форма (GSSG), в то время как в условиях окислительного стресса соотношение смещается в сторону GSSG (Owen and Butterfield, 2010).

Различные возрастзависимые и метаболические заболевания тесно связаны с аномальными уровнями эндогенных антиоксидантов (Poljsak and Milisav, 2018; Santos et al., 2013). Так, в биологических материалах пациентов с карциномой шейки матки обнаруживается значительно более низкая активность супероксиддисмутазы (Zahra et al., 2021), каталазы (Manju et al., 2002a), глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы (Manju et al., 2002b) по сравнению со здоровой контрольной группой. Аналогичная картина была показана при карциноме молочной железы (Bel'skaya et al., 2022) и лёгкого (Cobanoglu et al., 2010; Skorska et al., 2021), прогрессирующей карциноме мочевого пузыря (Pirincci et al., 2012), а также лимфолейкозе (Cavallini et al., 2018; Oltra et al., 2001). Следует отметить, что наблюдаемые изменения в активности ферментов значительно усугубляются по мере прогрессирования заболевания, что свидетельствует об их роли в патогенезе злокачественных новообразований. Что касается GSH, то в развитии онкопатологий уровни данного антиоксиданта играют диаметрально противоположную роль (Bansal and Simon, 2018). Ввиду того, что глутатион помимо антиоксидантной защиты играет роль в протекании многих метаболических процессов, усиление чувствительности глутатионовой системы в ответ на окислительно-восстановительные изменения при онкологических заболеваниях оказывает отнюдь не положительное действие, а, напротив, защищает трансформированные клетки от гибели в стрессовой среде, способствуя пролиферации, метастатической активности и приобретению резистентности к действию терапевтических агентов (Estrela et al., 2016; Hatem et al., 2017; Liu et al., 2021a). В частности, прямая корреляция между

высокими уровнями восстановленной формы глутатиона и неблагоприятными прогностическими признаками обнаружены при карциноме яичников (Nunes and Serpa, 2018), молочной железы (Miran et al., 2018), толстой кишки (Skrzydewska et al., 2005), легких (Kontakiotis et al., 2011), лейкозе (Pei et al., 2013) и ряде других видов злокачественных новообразований.

Ослабление работы собственной антиоксидантной системы клетки также имеет прямое отношение к патогенезу нейродегенеративных расстройств (Aoyama, 2021). Так, измерение широкого набора ферментативных и неферментативных антиоксидантов в образцах, полученных у пациентов с деменцией Альцгеймерского типа, демонстрирует снижение их активности с положительной корреляцией по мере ухудшения клинического прогноза (Haddad et al., 2021; Nandi et al., 2019).

1.1.4. АФК-опосредованные сигнальные пути при онкологии и нейродегенерации

В последние годы понимание роли окислительного стресса значительно расширилось, и на сегодняшний день его часто рассматривают как дисбаланс, который играет прямую роль в регуляции экспрессии генов и соответствующих сигнальных путях. Являясь важными физиологическими модуляторами внутриклеточных сигнальных путей, активные формы кислорода вовлечены в прогрессирование злокачественных новообразований и нейродегенеративных расстройств посредством регуляции митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК), фосфоинозитид-3-киназы (PI3K)/Akt, активации ядерного фактора активированных В-клеток – κВ (NF-κВ), а также мутаций в факторах транскрипции (рисунок 1).

1. Митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК) представляют собой серин-треониновые киназы, которые опосредуют как вне-, так и внутриклеточную передачу сигналов, регулирующих все аспекты клеточных

функций, включая пролиферацию, дифференцировку, выживание, гибель и трансформацию (Ronkina and Gaestel, 2022). MAPK вовлечены в трёхуровневый киназный каскад, который в активном состоянии фосфорилирует различные субстратные белки (Zhang et al., 2022a). Одним из ключевых сигналов, на который возникает патологический ответ MAPK, является окислительный стресс (Behl et al., 2021), вызывающий точечные мутации (Khan et al., 2021; Sosa et al., 2013).

На сегодняшний день убедительно доказана важная роль сигнальных путей MAPK в возникновении и прогрессировании многих заболеваний (Kim and Choi, 2010; 2015), при этом в центре внимания в течение последних лет находится путь RAS-RAF-MEK-ERK (Degirmenci et al., 2020), модификации которого доказаны почти в 50% случаев онкопатологий человека (Santarpia et al., 2012). Так, передача сигналов по данному пути и фосфорилирование соответствующих белков RAS, например, фарнезилтрансферазой, способствует миграции и выживанию опухолевых клеток (Клочков и др., 2020; Klochkov et al., 2019a), деградации белков внеклеточного матрикса и последующей инвазии опухоли (Chakraborti et al., 2003). Таким образом, сигнальный путь RAS-RAF-MEK-ERK считается важной терапевтической мишенью для разработки лекарственных средств для борьбы с онкопатологиями. Значимость других сигнальных путей MAPK в развитии злокачественных новообразований неоднозначна. Однако в случае нейродегенеративных заболеваний активные формы кислорода (главным образом, гидроксильный радикал, супероксидный анион-радикал и пероксид водорода) являются типичными активаторами сигнальных путей JNK и p38, которые опосредуют нижестоящую негативную регуляцию активности β - и γ -секретазы, фосфорилирования белка-предшественника амилоида и тау-протеина, приводя к нейрональной гибели.

2. Сигнальный путь фосфатидилинозитол-3-киназы/протеинкиназы В (PI3K/Akt) является важнейшим координатором внутриклеточной передачи сигналов в ответ на внеклеточные стимуляторы, которыми являются

свободные радикалы. Данный сигнальный путь играет центральную роль в восприятии метаболических изменений в окружающей среде (Xie et al., 2019), а его роль эволюционно связана с регуляцией и поддержанием роста клеток, пролиферации и выживания. Гиперактивация сигнальных каскадов PI3K/Akt является одним из наиболее распространённых нарушений при онкологических заболеваниях (Mikhaleva et al., 2020), в то время как нейродегенеративные расстройства характеризуются нарушенной передачей сигналов в данном пути (Long et al., 2021; Razani et al., 2021).

Исследования показали, что при онкопатологиях сигнальный путь PI3K/Akt влияет на клеточный цикл путём фосфорилирования ингибиторов циклинзависимых киназ и предотвращения транслокации в ядро гена-супрессора опухоли p27, тем самым ослабляя его ингибирующее действие на клеточный цикл и непосредственно способствуя пролиферации опухолевых клеток (Shin et al., 2002). Активация данного сигнального пути также обуславливает устойчивость трансформированных клеток к апоптотической гибели путём ингибирования проапоптотических факторов Bad и прокаспазы-9 (Chen et al., 2001) и резистентность к противоопухолевой терапии при различных типах злокачественных новообразований, включая карциномы простаты (Pungsrinont et al., 2021; Shorning et al., 2020), легких (Jin et al., 2022; Li et al., 2021a), молочной железы (Dong et al., 2021; Guerrero-Zotano et al., 2016; Miricescu et al., 2020), пищевода (An et al., 2022), глиому (Sun et al., 2022) и другие.

В контексте роли PI3K/Akt в прогрессировании нейродегенеративных заболеваний важно отметить, что в головном мозге данный сигнальный путь выполняет широкий спектр функций, включая такие сложные процессы как удлинение дендритов и аксонов (Wang et al., 2021b; Xiang et al., 2022). Это обуславливает уникальную роль PI3K/Akt в поддержании синаптической пластичности и существенном влиянии на процессы формирования памяти (Fabbrin et al., 2020; Knox et al., 2021; Li et al., 2020a). Нарушение PI3K-Akt, обнаруживаемое в головном мозге при нейродегенеративных заболеваниях,

провоцирует митохондриальную дисфункцию, что приводит к всплеску генерации АФК и дальнейшему развитию патологических механизмов (Ali et al., 2018; Wang et al., 2020a). В частности, показано, что инактивация пути PI3K/Akt коррелирует с повышением уровня гиперфосфорилированного тау-белка (Yang et al., 2020a) и накоплением $A\beta_{40-42}$ бляшек в головном мозге (Kumar and Bansal, 2022), главным образом, за счет повышения активности гликогенсинтазы-3 β (GSK-3 β) (Yang et al., 2020a). На сегодняшний день документально подтверждено, что применение антиоксидантной терапии с нацеливанием на данный сигнальный путь является перспективной стратегией лечения болезни Альцгеймера (Ali et al., 2018; Salem et al., 2021; Yang et al., 2020a).

3. Ядерный фактор активированных В-клеток (NF- κ B) представляет собой семейство редокс-чувствительных транскрипционных факторов, регулирующих экспрессию различных генов (Mitchell et al., 2016) и участвующих в воспалительных процессах (Barnabei et al., 2021; Mitchell and Carmody, 2018). NF- κ B является известным «датчиком» окислительного стресса, который обнаруживает H_2O_2 на низких уровнях. В нормальных условиях данный фактор находится в неактивном состоянии благодаря ассоциации с ингибитором белков κ B (I κ B) (Mulero et al., 2019), в то время как индуцирующие стимулы, к которым, в частности, относятся свободные радикалы, запускают активацию комплекса I κ B-киназы и приводят к протеасомной деградации I κ B. Так, в *in vitro* модели нейротоксичности было обнаружено, что обработка культуры клеток человека нейробластомы пероксидом водорода способствовала транслокации NF- κ B в ядро и последующей транскрипции провоспалительных цитокинов и хемокинов (Su et al., 2010a).

В последние годы NF- κ B все чаще признается в качестве ключевого фактора на всех этапах инициации и прогрессирования опухолей как в качестве самостоятельной единицы (Mitchell et al., 2016; Yu et al., 2020), так и при перекрестном взаимодействии со множеством других сигнальных

молекул (Fan et al., 2013). Вызванные свободными радикалами онкогенные мутации, приводящие к активации NF-κB, были идентифицированы при различных типах злокачественных новообразований, ассоциируемых с отрицательным прогнозом. К примеру, в клетках плоскоклеточной карциномы полости рта снижение активности антиоксиданта супероксиддисмутазы и повышенная продукция АФК коррелируют с высокой активностью NF-κB (Wang et al., 2007). Было показано, что в условиях развития опухоли NF-κB обладает избирательным действием в трансформированных клетках: запускает активацию генов выживания и генов в микроокружении опухоли, способствующих воспалению. Интересным является и тот факт, что при нейродегенеративных заболеваниях NF-κB оказывает своё негативное воздействие не только посредством индукции нейровоспаления (Shabab et al., 2017; Singh et al., 2020), но и через стимуляцию амилоидогенных каскадов за счет наличия сайтов связывания в промоторной области генов, участвующих в амилоидогенезе (Du et al., 2005). Всё это позволяет предположить наличие тесной корреляции между данным фактором транскрипции и патогенезом онкологических заболеваний и болезни Альцгеймера.

4. Фактор-2, связанный с эритроидным ядерным фактором (Nrf2) — фактор транскрипции, который считается одним из основных координаторов клеточного антиоксидантного ответа. Традиционно активация Nrf2 ассоциировалась с онкологическими патологиями для увеличения выработки антиоксидантных белков и поддержания окислительно-восстановительного баланса в опухолевых клетках (Chatterjee et al., 2020). Однако недавние исследования выявили многочисленные функции Nrf2, которые выходят за пределы его первоначальной миссии, открывая возможности рассматривать действие на данный транскрипционный фактор в терапии других заболеваний, включая болезнь Альцгеймера (Osama et al., 2020).

В нормальных условиях базальные уровни Nrf2 поддерживаются на низком уровне, в то время как при возникновении патологических состояний происходит его активация, сопровождающаяся быстрым подавлением активных форм кислорода и восстановлением окислительных повреждений посредством экспрессии генов-мишеней (Kasai et al., 2020). Такая положительная сторона данного белка в терапии различных заболеваний ещё с прошлого века была подробно рассмотрена в ряде работ и не имела конкуренции вплоть до 2006 года. Исследователи стали активно освещать роль активации Nrf2, главным образом, в трансформированных клетках, в прогрессировании злокачественных новообразований, метастазировании опухолей (Jeong et al., 2006; Rojo de la Vega et al., 2018) и формировании резистентности к терапии (Sivinski et al., 2021) за счет поддержания перепрограммированного метаболизма клеток в условиях гипоксии (Brzecka et al., 2020; He et al., 2020). Изучение этого явления, которое было описано как «темная сторона» Nrf2 (Choi et al., 2021), позволило значительно продвинуться в понимании роли транскрипционного фактора в патогенезе онкологических заболеваний.

Как было сказано выше, все больше данных свидетельствует о том, что измененная экспрессия Nrf2 в значительной степени связана с нейродегенеративными заболеваниями, включая болезнь Альцгеймера (George et al., 2022). Однако в этом случае, напротив, снижение экспрессии Nrf2 и подконтрольных данному белку генов связаны с повышенным риском развития и ранним началом болезни Альцгеймера (Davies et al., 2021). Так, у модельных животных с данным когнитивным расстройством было обнаружено, что в условиях нарушения окислительно-восстановительного баланса в головном мозге происходит подавление Nrf2-опосредованного антиоксидантного ответа, коррелирующее с более высокими уровнями нерастворимой формы гиперфосфорилированного тау-белка (Riordan et al., 2023) и β -амилоида (Simoni et al., 2017). Кроме того, в работе Branca и соавт. было показано, что дефицит Nrf2 значительно усугубляет когнитивные

дисфункции трансгенных животных APP/PS1 при исследовании различных типов памяти, включая пространственную, рабочую и ассоциативную, что было связано, в частности, с повышением уровня A β (Branca et al., 2017). В свою очередь индукция экспрессии Nrf2 может способствовать выведению белка-предшественника β -амилоида и тау-протеина посредством воздействия на нижестоящие гены, участвующие в процессах аутофагии (Pajares et al., 2018) и макроаутофагии (Pajares et al., 2016).

Все эти данные указывают на то, что нарушение экспрессии Nrf2 в результате окислительно-восстановительного дисбаланса может рассматриваться в качестве важной терапевтической мишени при поиске перспективных терапевтических средств для лечения как злокачественных новообразований, так и болезни Альцгеймера.

Таким образом, окислительный стресс, безусловно, является существенным общим знаменателем, который связывает онкологические заболевания и нейродегенеративные расстройства (рисунок 1). И хотя данный процесс является не единственным фактором в их этиопатогенезе, он открывает интересные возможности для разработки новых стратегий лечения этих социально значимых заболеваний.

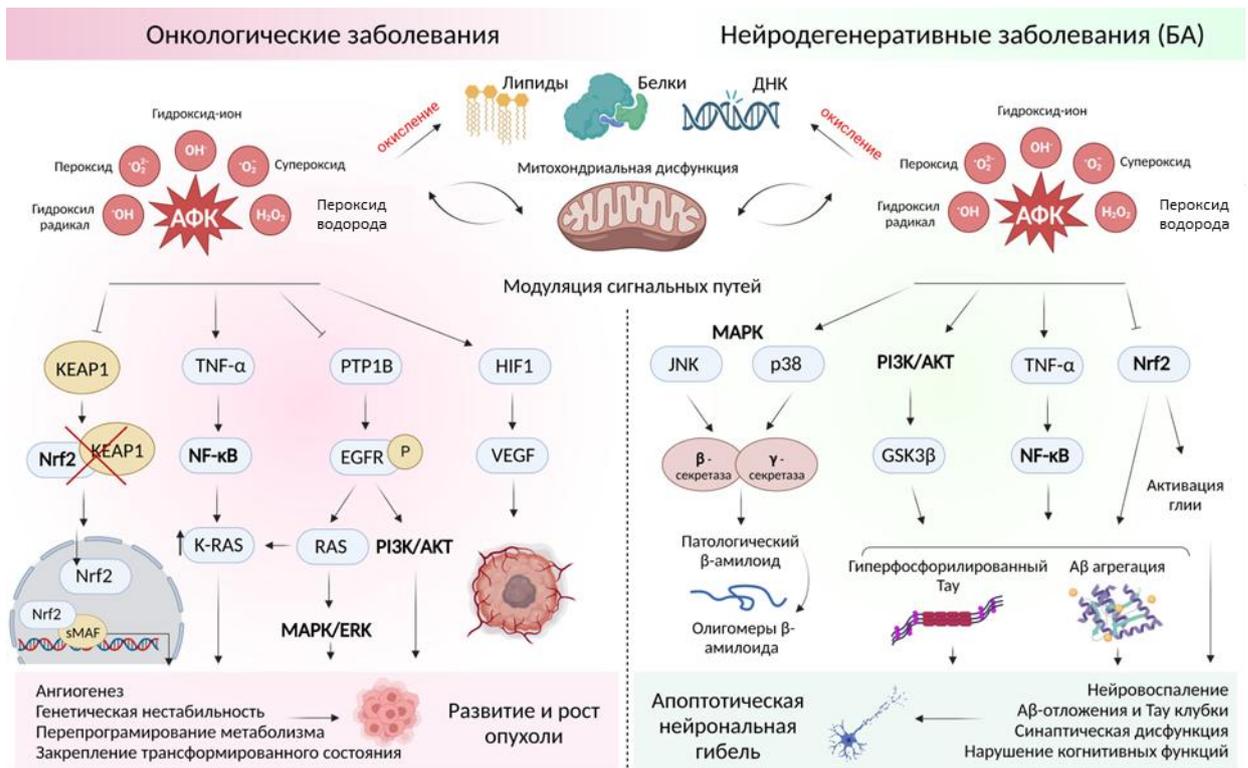


Рисунок 1 — Схематическая иллюстрация негативной роли митохондриальной дисфункции и активных форм кислорода в развитии и прогрессировании онкологических и нейродегенеративных заболеваний с акцентом на перекрестные эффекты сигнальных путей, связанных с окислительным стрессом.

1.1.5. Потенциальные терапевтические кандидаты нейропротекторной и противоопухолевой направленности, нацеленные на активные формы кислорода

Существуют многочисленные варианты лечения онкологических заболеваний, в частности, химиотерапия. Часть подходов в терапии злокачественных новообразований оказываются перспективными и эффективными; с другой стороны, встречается и негативный опыт, например, попытки лечения высокоагрессивной и инвазивной опухоли головного мозга — глиобластомы — с применением концепции нацеливания на раковые стволовые клетки (Tarasov et al., 2019).

Один из популярных подходов основывается на том факте, что большинство известных терапевтических препаратов прямо или косвенно

были получены из природных ресурсов (более 70% существующих на сегодняшний день противоопухолевых агентов являются натуральными продуктами или их производными (Deng et al., 2020)). В связи с этим мы сосредоточили своё внимание на веществах природного происхождения, обладающих высоким фармакологическим потенциалом.

Ярким представителем природного вещества с высоким потенциалом в терапии широкого спектра заболеваний является кверцетин (3,3',4',5,7-пентагидроксифлавонон), который представляет собой полифенольное соединение.

Среди противоопухолевых эффектов кверцетина были идентифицированы способность приводить к остановке клеточного цикла в G2/M и G1 фазах посредством регуляции сигнальных путей PI3K/Akt (Lu et al., 2020) и MAPK (Jia et al., 2021), ингибировать пролиферацию и запускать каскады апоптотической гибели опухолевых клеток (Reyes-Farias and Carrasco-Pozo, 2019), а также обращать вспять резистентность к действию цитостатиков (Ghafouri-Fard et al., 2021), и все они обусловлены в первую очередь проявляемой этим биофлавоноидом способностью к модуляции уровней АФК (Biswas et al., 2022). В частности, в работе Lu и соавт. (Lu et al., 2020) кверцетин продемонстрировал способность эффективно ингибировать сигнальный путь PI3K/Akt в резистентных к доцетакселу клетках рака предстательной железы LNCaP/R и PC-3/R и, тем самым, восстанавливать чувствительность трансформированных клеток к действию цитостатика. Это также коррелировало со сниженным ростом опухоли у мышей на модели ксенотрансплантата. Данный эффект находит отражение и в результатах, направленных на исследование хемосенсибилизирующей способности кверцетина при аденокарциноме яичников (Hasan et al., 2022), где флавоноид путём регуляции сигнального пути PI3K/Akt/mTOR и ингибирования экспрессии Nrf2 обращал вспять устойчивость клеточной линии SKOV-3/CDDP к действию цисплатина. Последовательная обработка клеток карциномы предстательной железы PC3 и DU145 витамином С и

кверцетином привела к значительному снижению экспрессии Nrf2 и активности ферментов глутатионового звена, что сопровождалось более низкой продукцией эндогенных АФК и клеточной гибелью (Abbasi et al., 2021). Аналогичные результаты были получены в работе (Mostafavi-Pour et al., 2017) при исследовании терапевтического потенциала такой комбинации в отношении клеток рака молочной железы человека MDA-MB-231. Ещё одним из механизмов противоопухолевого действия кверцетина является его противовоспалительная функция (Li et al., 2016a). Так, Lin с коллегами (Lin et al., 2020) продемонстрировали для кверцетина способность восстанавливать количество лейкоцитов и снижать экспрессию маркеров окислительного стресса у мышей с моделью колоректальной карциномы, что сопровождалось уменьшением количества и размера опухоли толстой кишки.

Широко изучены и нейропротекторные эффекты кверцетина, связанные с реализацией им антиоксидатных свойств (Xu et al., 2019). В частности, в работе Rishitha и соавт. (Rishitha and Muthuraman, 2018) благодаря ингибированию перекисного окисления липидов и модуляции уровней глутатиона твердые липидные наночастицы кверцетина эффективно препятствовали когнитивной дисфункции *Danio rerio* с индуцированной пентилентетразолом нейродегенерацией. Нейропротекторное действие кверцетина подтверждается и на индуцированной липополисахаридами (ЛПС) модели, где хроническое введение флавоноида 18-месячным мышам с ЛПС-вызванной деменцией привело к значительному улучшению показателей памяти (Patil et al., 2003). Li с коллегами (Li et al., 2019a) при оценке когнитивных функций крыс с моделью болезни Альцгеймера, стимулированной токсичными формами $A\beta_{1-42}$, также обнаружили положительные эффекты кверцетина в тесте водный лабиринт Морриса. Это напрямую коррелировало с активацией Nrf2, измененными уровнями маркеров окислительного стресса — снижением МДА и увеличением экспрессии супероксиддисмутазы, каталазы и глутатиона, что в конечном итоге препятствовало нейрональному повреждению. Более того,

трёхмесячное введение гликозида кверцетина — кверцитрина — трансгенным мышам линии 5xFAD привело к нивелированию когнитивных нарушений, опосредованному ранее упомянутой противовоспалительной функцией (Wang et al., 2022a). Так, модулируя сверхактивированный при нейродегенерации транскрипционный фактор NF-κB (Chen et al., 2020a), кверцитрин препятствовал избыточной секреции воспалительных цитокинов, блокируя пролиферацию микроглии.

Среди природных соединений важную роль в процессе создания терапевтических препаратов, благодаря широкому спектру биологической активности и перспективному фармакологическому профилю, также сыграли сесквитерпеновые лактоны (Neganova et al., 2022a; Neganova et al., 2021c; Neganova et al., 2020a; Neganova et al., 2022b; Paco et al., 2022; Wang et al., 2018b). Одним из выдающихся открытий традиционной китайской медицины стал выделенный из *Artemisia annua L.* артемизинин с превосходной антималярийной активностью (Talman et al., 2019). С момента его внедрения в клиническую практику в качестве приоритетной терапии тропической малярии прошло уже почти 50 лет, при этом спектр проявляемых артемизинином фармакологических свойств непрерывно расширяется (Chen et al., 2020b).

В широком ряде исследований было обнаружено, что артемизинин и его производные оказывают противоопухолевое действие путем индукции окислительного стресса. В частности, АФК-зависимая цитотоксичность была показана для водорастворимой формы артемизинина — артесуната, на клеточных моделях колоректальной карциномы (Huang et al., 2022), рака яичников (Greenshields et al., 2017), Т-клеточной лимфомы (Greenshields et al., 2017), немелкоклеточного рака лёгких (Zhang et al., 2021a) и других. Интересно, что противоопухолевые эффекты артесуната не ограничиваются только повышением уровней свободных радикалов, а проявляемые им токсические эффекты имеют строгую селективность именно в отношении

клеток опухолевого происхождения (Roh et al., 2017). Будучи ингибитором NF-κB, артезунат обращает вспять устойчивость клеток метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы к антагонистам рецепторов андрогенов, приводя к их убиквитин-опосредованной деградации (Nunes et al., 2017).

Благодаря своим выраженным антиоксидантным свойствам в клетках неопухолевого происхождения и способности проникать через гематоэнцефалический барьер без серьёзных побочных эффектов, артемизинин активно изучается в качестве перспективного нейропротекторного агента. Так, при исследовании защитных свойств артемизинина на клеточной модели MPP⁺-индуцированной болезни Паркинсона была обнаружена способность сесквитерпенового лактона препятствовать апоптотической гибели клеток линии SH-SY5Y путём снижения окислительных повреждений за счёт повышения активности эндогенных антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и глутатиона и подавления уровней малонового диальдегида (Yan et al., 2021). В *in vivo* модели данного нейродегенеративного расстройства артемизинин уменьшал повреждение дофаминергических нейронов у мышей, получавших нейротоксин 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (Lv et al., 2023). Нейропротекторные свойства артемизинина также были показаны при обработке клеточной линии нейронального происхождения HT-22 с глутамат-вызванной нейротоксичностью, которые выражались в блокировании выработки активных форм кислорода и активации сигнального пути Akt, и, как следствие, повышенной выживаемости клеток (Lin et al., 2018). В работе Okorji с коллегами (Okorji et al., 2016) был описан возможный терапевтический нейропротекторный эффект жирорастворимого производного артемизинина — артеметера. Артеметер приводил к активации Nrf2 и его связыванию с элементами антиоксидантного ответа в ЛПС-стимулированной микроглии BV2, что напрямую коррелировало со снижением уровней воспалительных медиаторов (простагландина E,

микросомальной простагландин Е-синтазы 1, циклооксигеназы 2, TNF- α и интерлейкина 6), а также содержанием A β и активностью β -секретазы 1. Zhao и соавт. (Zhao et al., 2020a) также удалось обнаружить способность артемизинина благодаря снижению окислительного стресса и противовоспалительному действию улучшать когнитивные функции трансгенных мышей линии 3xTg, несущих тройную мутацию в генах APP_{Swe}, Таup_{301L} и PS1_{M146V}, чётко воспроизводящую нарушения, связанные с болезнью Альцгеймера.

Мощными терапевтическими свойствами за счет модуляции окислительно-восстановительного баланса также обладают другие представители группы сесквитерпеновых лактонов — костунолид, впервые полученный из корней *Saussurea lappa* в работе С.В. Clarke, и партенолид, экстрагированный из *Tanacetum parthenium*. Снижение жизнеспособности клеток рака мочевого пузыря человека под действием костунолида ассоциировано с гиперпродукцией активных форм кислорода и нарушением трансмембранного потенциала митохондрий, что приводит к сверхэкспрессии апоптотических белков, подавлению онкосупрессоров и, в конечном итоге, запуску апоптотического каскада гибели клеток (Rasul et al., 2013). Схожие эффекты костунолида были продемонстрированы и в работе Нua и соавт. (Hua et al., 2016) при исследовании противоопухолевых свойств костунолида на модели плоскоклеточной карциномы пищевода человека, а также аденокарциномы протоков молочной железы (Choi et al., 2023). В свою очередь, исследование терапевтического потенциала партенолида показало для него способность индуцировать гибель клеток рака шейки матки путем блокирования сигнального пути PI3K/Akt и интенсивного образования АФК, приводящих к диссипации мембранного потенциала митохондрий (Jeayamohan et al., 2016). Возможности использования партенолида в терапии трижды негативного рака молочной железы были продемонстрированы в работе D'Anneo и соавт. (D'Anneo et al., 2013). Так, вызванная данным соединением генерация АФК в клеточной линии MDA-MB-231 приводила к

истощению восстановленной формы глутатиона и выключению транскрипционного фактора NF-κB с последующей гибелью клеток. А недавняя работа, выполненная исследовательской группой во главе с Jorge, была направлена на изучение антинеопластической активности партенолида при лимфоидных новообразованиях — множественной миеломе, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме, Т- и Б-клеточном остром лимфобластном лейкозе, а также лимфоме Беркитта (Jorge et al., 2023). Интересно, что механизмы противоопухолевого действия партенолида отличались в зависимости от клеточной линии, однако во всех случаях сесквитерпеновый лактон способствовал гибели клеток по пути апоптоза, обусловленного значительным увеличением АФК и снижением активности GSH.

Аналогично артемизинину, костунолид и партенолид также активно исследуются в качестве потенциальных нейропротекторных агентов. Так, обработка костунолидом клеточной линии PC12, полученной из феохромоцитомы мозгового вещества надпочечников крысы, препятствовала повреждению клеток нейротоксином H₂O₂ (Cheong et al., 2016). Благодаря снижению уровня внутриклеточных АФК, костунолид снижал экспрессию каспазы 3, принимающей участие в процессе апоптоза. Аналогичные нейропротекторные свойства были обнаружены и для партенолида. На модели трансгенных мышей линии APP/PS1 партенолид значительно улучшил показатели памяти в тесте водного лабиринта Морриса, что может быть обусловлено его антиоксидантными свойствами и способностью снижать нейровоспаление, блокируя сигнальный путь Akt/MAPK/NF-κB (Fan et al., 2023). Более того, в работе Arslan и соавт. (Arslan et al., 2023) способность костунолида и партенолида ингибировать активность фермента моноаминоксидазы В была рассмотрена в качестве возможного механизма нейропротекторной активности на клеточной модели болезни Паркинсона.

В таблице 1 представлены наиболее существенные особенности вышеописанных химических соединений, позволяющие рассматривать их в качестве лекарственных агентов, способных воздействовать на процессы, связанные с окислительным стрессом.

Таблица 1 — Терапевтический потенциал продуктов природного происхождения как модуляторов окислительного стресса при лечении онкологических и нейродегенеративных заболеваний

Терапевт. агент	Молекулярные механизмы действия	Прогностическая значимость	Заболевание	
Кверцетин	Ингибирование сигнального пути PI3K/Akt	Восстановление чувствительности трансформированных клеток к действию доцетаксела <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> на мышинной модели ксенотрансплантата (Lu et al., 2020)	РПЖ	Злокачественные новообразования
	Снижение экспрессии маркеров окислительного стресса и восстановление количества лейкоцитов	Снижение воспаления, уменьшение размера опухоли (Lin et al., 2018)	КК	
	Регуляция сигнального пути PI3K/Akt/mTOR и ингибирование экспрессии Nrf2	Обращение вспять лекарственной устойчивости к цисплатину (Hasan et al., 2022)	ЭКЯ	
Кверцетин + Витамин С	Снижение экспрессии Nrf2 и активности ферментов глутатионового звена	Стимуляция гибели опухолевых клеток (Abbasi et al., 2021)	РПЖ	
			РМЖ	
Артесунат	АФК-зависимая остановка клеточного цикла в фазе G2/M	Антипролиферативный эффект (Greenshields et al., 2017)	ЭКЯ	

	вследствие изменения экспрессии циклина D3, E2F-1 и p21		
	Индукция АФК-зависимого апоптоза посредством снижения уровня белка VDAC и увеличения расщепления каспазы 3		НМРЛ
	Остановка клеточного цикла в фазе G0/G1 в результате повышения экспрессии p16, p21, p-IRE1 α и LC3B и снижения Ki67 и циклина D1		КК
	Ингибирование NF- κ B, убиквитин-опосредованная деградация клеток кастрационно-резистентного рака предстательной железы	Обращение вспять устойчивости клеток к антагонистам рецепторов андрогенов (Nunes et al., 2017)	РПЖ
Костунолид	Запуск апоптоза в результате гиперпродукции АФК и нарушения φ_m	Гибель трансформированных клеток (Rasul et al., 2013)	РМП
			ПКП
			РМЖ
Партенолид	Блокирование сигнального пути PI3K/Akt, гиперпродукция АФК	Антипролиферативное действие (D'Anneo et al., 2013; Jeyamohan et al., 2016; Jorge et al., 2023)	РШМ
	Истощение GSH, выключение транскрипционного фактора NF- κ B		РМЖ

	Увеличением продукции АФК, снижение активности GSH		ЛНО	
Кверцетин	Ингибирование ПОЛ, увеличение экспрессии GSH	Восстановление когнитивной дисфункции <i>Danio rerio</i> с индуцированной пентилентетразолом нейродегенерацией (Rishitha and Muthuraman, 2018)	БА	Нейродегенеративные заболевания
	Снижение уровня СОХ-2	Улучшение показателей памяти у мышей в возрасте 18 месяцев с индуцированной липополисахаридами моделью нейродегенерации (Patil et al., 2003)		
	Активация Nrf2, снижение уровня МДА, усиление экспрессии SOD, CAT и GSH	Препятствие нейрональному повреждению, нивелирование когнитивных нарушений у крыс с моделью болезни Альцгеймера, стимулированной токсичными формами А β ₁₋₄₂ (Li et al., 2019a)		

	Снижение уровня МДА, усиление экспрессии SOD и GSH	Препятствие гибели клеток линии SH-SY5Y в условиях моделирования MPP ⁺ -индуцированной нейротоксичности (Yan et al., 2021), уменьшение повреждений дофаминергических нейронов у мышей с MPTP-вызванной моделью болезни Паркинсона (Lv et al., 2023)	БП	
Артемизинин	Блокирование выработки АФК в результате активации сигнального пути Akt	Повышение выживаемости клеточной линии нейронального происхождения HT-22 с глутамат-вызванной нейротоксичностью (Lin et al., 2018)	БА	
	Активация пути ERK/CREB	Препятствие гибели клеток SH-SY5Y в условиях токсичности, вызванной A β ₁₋₄₂ , улучшение когнитивных функций трансгенных мышей линии 3xTg (Zhao et al., 2020a)	БА	
Артемизинин	Активация сигнального пути Nrf2, снижение уровня воспалительных медиаторов простагландина E, микросомальной простагландин E-синтазы 1, COX-2, TNF- α и IL-6, уменьшение уровня A β и	Ингибирование нейровоспаления в стимулированной липополисахаридами микроглии BV2 (Okorji et al., 2016)	БА	

	активности β -секретазы 1		
Костунолид	Снижение уровня внутриклеточных АФК и экспрессии каспазы 3	Препятствие повреждению клеточной линии PC12 нейротоксином H_2O_2 (Cheong et al., 2016)	БА
Партенолид	Блокирование сигнального пути АКТ/МАРК/NF- κ B, снижение нейровоспаления	Улучшение показателей памяти у трансгенных мышей линии APP/PS1 (Fan et al., 2023)	БА
	Ингибирование активности MAO B	Уменьшение клеточной гибели при MPP ⁺ -индуцированной нейротоксичности (Arslan et al., 2023)	БП

1.2. Общие аспекты эпигенетической регуляции развития патогенеза НДЗ и онкологических патологий

1.2.1. Гистоновые деацетилазы как основные эпигенетические регуляторы: структура и функции

Хорошо известно, что хроматин состоит из ДНК и гистонов. В его структуре 146 пар оснований ДНК плотно обернуты вокруг октамера гистоновых белков, включающего по две копии H2A, H2B, H3 и H4, при этом H1 является линкерным гистоновым белком (Hauer and Gasser, 2017; Reyes et al., 2021). Длинные N-концевые участки белков-гистонов подвергаются ряду посттрансляционных модификаций, включая ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, сумоилирование, убиквитинирование и другие (Neganova et al., 2022c; Strahl and Allis, 2000; Zhang et al., 2021b).

Ацетилирование и деацетилирование гистонов являются наиболее важными эпигенетическими процессами, которые влияют на состояние хроматина и экспрессию генов. Представляя собой жестко регулируемые динамические процессы, они контролируются динамичным балансом между

обратимой активностью ферментов двух семейств: гистоновых ацетилтрансфераз (HATs) и гистоновых деацетилаз (HDACs) (Peserico and Simone, 2011; Shen et al., 2015; Shvedunova and Akhtar, 2022).

Процесс ацетилирования заключается в добавлении ацетильной группы к *N*-концевому лизину субстратов, что приводит к снижению положительного заряда гистоновых белков до нейтрального и препятствию их связывания с отрицательно заряженной ДНК (Chen et al., 2021; Shvedunova and Akhtar, 2022). Такое формирование рыхлой структуры хроматина, эухроматина, связано с активацией транскрипции. В свою очередь, деацетилирование — процесс, обратный ацетилированию, — заключается в удалении ацетильной группы от остатков лизина в концевых положениях белков, что усиливает взаимодействие между положительно заряженными гистонами и отрицательно заряженной ДНК (Khangura et al., 2017). Такое прочное связывание ДНК с гистоновыми белками способствует формированию пермиссивного состояния хроматина, препятствующего транскрипции генов. Интересно, что гистоновые деацетилазы, будучи ферментами, лимитирующими данный процесс, также обладают способностью регулировать и другие посттрансляционные модификации, такие как метилирование, убиквитинирование и сумоилирование (Seto and Yoshida, 2014). Так, было показано, что ацетилирование ингибирует опосредованную протеасомами деградацию белка, зависимую от убиквитинирования (Caron et al., 2005). Всё это обуславливает высокий интерес к роли HDACs как критического регулятора нормального и патологического функционирования организма. И несмотря на то, что самые первые задокументированные исследования ферментативной активности гистоновых деацетилаз датируются сравнительно недавними работами, опубликованными в начале 70-х годов прошлого века, с тех пор на эту тему вышло около 15 000 статей (при систематическом литературном поиске оригинальных статей в базе PubMed), благодаря чему на сегодняшний день уже были сделаны важные открытия в области изучения HDACs.

HDACs представляют собой химически разнообразное семейство ферментов, включающее 18 представителей, в широком смысле сгруппированных в два класса — «классические» HDACs и «сиртуины» (рисунок 2). Однако, в зависимости от локализации, гистоновые деацетилазы обычно делят на четыре класса (Seto and Yoshida, 2014):

HDACs класса I включают повсеместно экспрессируемые гистоновые деацетилазы 1, 2, 3 и 8, которые отличаются преимущественно ядерной локализацией (Behera et al., 2015; Wang et al., 2023a).

HDACs класса II, которые в зависимости от доменной организации подразделяются на две группы: IIa (HDACs 4, 5, 7 и 9) и IIb (HDACs 6 и 10). Представители данного класса расположены как в ядре, так и в цитоплазме (Griffin et al., 2018), и их отличительной особенностью является контроль экспрессии генов посредством вовлечения в механизм транскрипции других белков (Verdin et al., 2003).

HDACs класса III включают сиртуины, главным отличием которых является использование в качестве кофактора никотинамидадениндинуклеотида (NAD^+) (Watroba et al., 2017), в то время как остальные члены данного семейства представляют собой цинк-зависимые протеиндеацетилазы (Seto and Yoshida, 2014; Witt et al., 2009). На сегодняшний день идентифицировано 7 представителей класса III, каждый из которых характеризуется специфическими локализацией, функцией и использованием определенного субстрата (Chang and Guarente, 2014).

HDAC класса IV включает в себя единственного представителя — относительно недавно идентифицированную HDAC11 (Chen et al., 2022a; Liu et al., 2020), функциональные свойства которой схожи с HDACs I и II класса. На сегодняшний день конкретная роль HDAC класса IV до сих пор остается неясной.

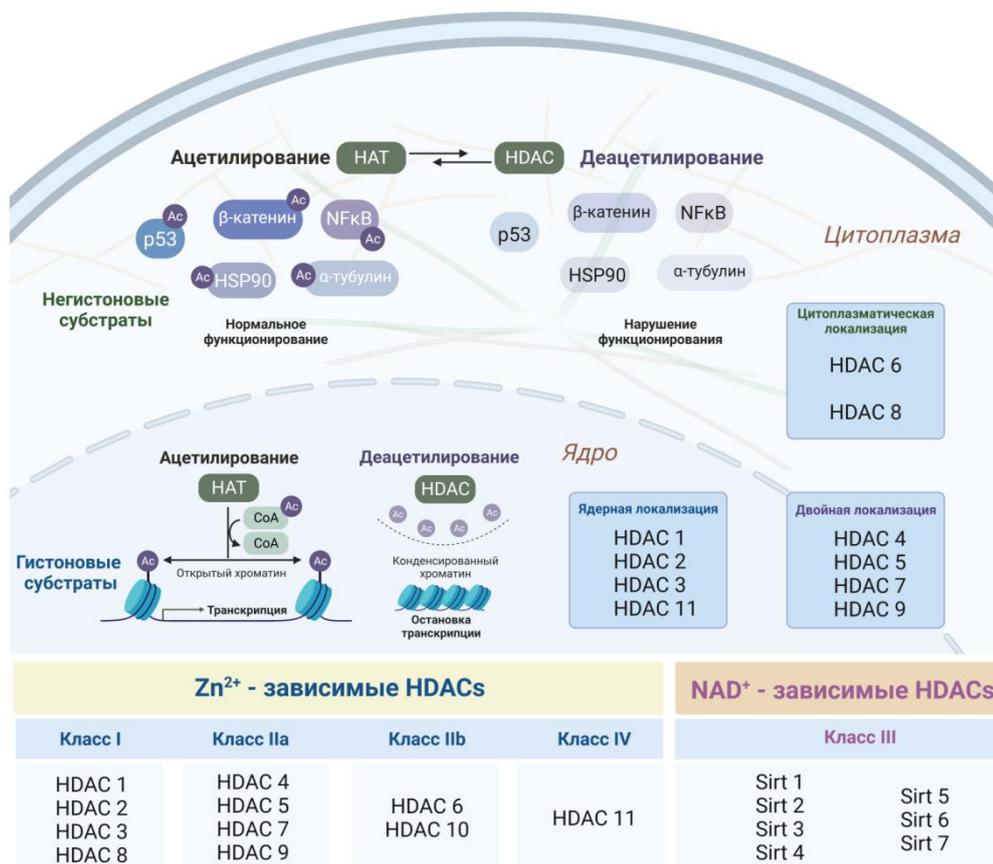


Рисунок 2 — Процессы ацетилирования и деацетилирования гистонов в качестве фундаментальных механизмов эпигенетической регуляции, контролирующей экспрессию генов. Ацетилирование опосредовано работой ферментов гистонацетилтрансфераз (НАТs), которые катализируют присоединение ацетильных групп к лизиновым остаткам гистоновых белков, что способствует расслаблению конформации хроматина и запуску транскрипции. Гистоновые деацетилазы, напротив, удаляют ацетильные группы из гистонов, что приводит к уплотнению структуры хроматина и подавлению транскрипции генов. Гистоновые деацетилазы также реализуют свои функции через модификации негистоновых субстратов.

Спектр биологических функций HDACs включает пролиферацию (De Souza and Chatterji, 2015) и дифференцировку (Sweet et al., 2012) клеток, воспалительные реакции (Glauben et al., 2009; Leus et al., 2016), повреждение ДНК (Robert and Rassool, 2012), а также апоптоз (Leus et al., 2016), при этом помимо их роли в репрессии транскрипции, HDACs также выступают в качестве модуляторов негистоновых посттрансляционных модификаций белков различной природы, включая факторы транскрипции и сигнальные

медиаторы (Zhao et al., 2020b), в связи с чем гистондеацетилазы потенциально играют роль почти во всех аспектах функционирования организма. Благодаря этому HDACs привлекают пристальное внимание исследователей в терапевтических экспериментальных парадигмах (De Souza and Chatterji, 2015). Из многих ролей, которые HDACs играют в заболеваниях человека, наиболее часто обсуждаются онкологические патологии.

1.2.2. Изменения в интенсивности ацетилирования гистонов при онкогенезе

Аберрантная активность гистоновых деацетилаз часто связана с прогрессией опухоли, благодаря чему ферменты данного класса уже более 30 лет признаны ключевыми мишенями для действия терапевтических агентов против различных типов злокачественных новообразований (Li and Seto, 2016; Ramaiah et al., 2021; Zhao et al., 2020b).

Многочисленные отчеты документируют, что сверхэкспрессия HDACs наблюдается как при солидных опухолях, так и гематологических злокачественных новообразованиях, что коррелирует с множественными клинико-патологическими параметрами и низкой выживаемостью пациентов.

Согласно доклиническим и клиническим исследованиям, именно HDAC класса I способствуют развитию злокачественных новообразований.

Так, HDAC1 является важным эпигенетическим фактором карциномы легкого (Cao et al., 2017), при этом существует тесная корреляция между его экспрессией и степенью гистологической дифференцировки, а также подтипом (Cao et al., 2017). Было обнаружено, что уровень экспрессии HDAC1 при плоскоклеточной карциноме был выше, чем при аденокарциноме легкого (Park et al., 2009). Уровень экспрессии HDAC1 также может служить хорошим диагностическим и прогностическим маркером злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта (Cao et al., 2017), особенно при колоректальной карциноме (Benard et al., 2015; Higashijima et al., 2011; Weichert et al., 2008a). При анализе взаимосвязи между экспрессией HDAC1 и

клиническими особенностями было обнаружено, что активность данной изоформы гистондеацетилазы была выше (1) на III-IV стадиях, чем у больных с I-II стадиями рака желудка (Mutze et al., 2010; Weichert et al., 2008b; Wisniewski et al., 2014) и печени (Morine et al., 2012); (2) у пациентов с низкодифференцированным раком печени (Rikimaru et al., 2007) и аденокарциномой толстого кишечника, чем со средне- и высокодифференцированным (Weichert et al., 2008a); (3) в группах людей с положительным метастазированием в лимфатические узлы при карциноме желудка (Weichert et al., 2008b) и печени (Morine et al., 2012) и отдаленными метастазами при колоректальной карциноме (Benard et al., 2015). Недавнее исследование возможного механизма действия гистондеацетилазы 1 Yu и соавт. (Yu et al., 2019) продемонстрировало, что HDAC1 участвует в стимуляции пролиферации клеток злокачественного новообразования желудка путем усиления экспрессии длинных некодирующих РНК, регулирующих активность как онкогенов, так и опухолевых супрессоров (Bhan et al., 2017; McCabe and Rasmussen, 2021; Peng et al., 2017; Yan and Bu, 2021). Более того, было обнаружено, что HDAC1 играет важную роль в уклонении опухолевых клеток от иммунного ответа за счет γ -интерферон-индуцированной экспрессии гомолога B7 1 (B7-H1), играющего фундаментальную роль в инициации и прогрессировании карциномы желудка (Deng et al., 2018a). В то же время в работе Jiang и соавт. (Jiang et al., 2019) анализ образцов первичных опухолей, полученных у пациентов с раком желудка, показал, что сверхэкспрессия HDAC1 сопровождается высоким значением максимального стандартизованного поглощения и неблагоприятным прогнозом. Это обусловлено прямым влиянием фермента на активность фактора, индуцируемого гипоксией 1-альфа (HIF-1 α), приводящего к сдвигу метаболического состояния опухолевых клеток в сторону гликолиза.

Эпигенетические модификации, связанные со сверхэкспрессией HDAC1, также являются одной из причин развития рака молочной железы

(PMЖ). Guo и соавт. (Guo et al., 2020) было показано, что высокая экспрессия гистондеацетилазы 1 коррелирует с клинико-патологическими признаками и отрицательным прогнозом у пациентов с PMЖ; при этом наблюдалась прямая зависимость между уровнями HDAC1 и белком, связывающим гистоны RBVP4, ответственным за инвазию и миграцию опухолевых клеток. Уровни HDAC1 в клетках данного злокачественного новообразования являются повышенными по сравнению с нормальными клетками, что способствует их пролиферации и миграции путем регуляции транскрипционной и промоторной активности интерлейкина 8 (Tang et al., 2017), играющего существенную роль в многочисленных онкогенных путях (Alfaro et al., 2017). В то же время в недавнем обзоре Sukocheva и соавт. (Sukocheva et al., 2022a) была отмечена определяющая роль эпигенетической регуляции в резистентности PMЖ к модуляторам эстрогеновых рецепторов. Так, аномальный профиль экспрессии HDAC1 выступает в качестве энхансера для развития множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) в клетках рака молочной железы, приводя к блокированию рецепторов эстрогена наряду с индукцией генов-активаторов опухолей. Подобный эффект также может быть связан со способностью HDAC1 усиливать экспрессию Р-гликопротеина (P-gp) — мембранного белка, являющегося критически важным обратным переносчиком лекарственных средств (Zhang et al., 2021c), посредством рекрутирования коактиваторов транскрипции Р300/СВР-ассоциированного фактора (РСАФ) и субъединицы α ядерного фактора транскрипции Υ (NF- Υ) в область промотора P-gp (Xu et al., 2012). Недавние исследования, где Duan с коллегами (Duan et al., 2019; Wang et al., 2021c) проложили первые шаги к пониманию роли HDAC1 в регуляции другого белка с аналогичными P-gp функциями — плацентарного белка устойчивости к раку молочной железы (BCRP), сверхэкспрессируемого в опухолевых клетках. Было обнаружено, что активность гистондеацетилазы 1 имеет положительную корреляцию с экспрессией BCRP в клетках плацентарного рака молочной железы.

Повышенная активность HDAC1 также была обнаружена при раке предстательной железы (Burdelski et al., 2015; Kim et al., 2011). В частности, в работе Halkidou и соавт. (Halkidou et al., 2004) был проведен иммуногистохимический анализ экспрессии HDAC1 в образцах, полученных от пациентов со злокачественными поражениями предстательной железы человека и мышей из модели ксенотрансплантата CWR22. Значительная активация данного фермента приводила к агрессивному, активно пролиферирующему фенотипу и метастатическому потенциалу клеток, опосредованным подавлением активности опухолевого супрессора p53 и ингибиторов циклин-зависимых киназ p21 и p27. Выраженное прогностическое влияние HDAC1 на рак предстательной железы было показано при масштабном анализе образцов в исследовании Burdelski с коллегами (Burdelski et al., 2015), где ядерная аккумуляция HDAC1 тесно коррелировала с агрессивностью опухоли и плохим прогнозом, что также было подтверждено в ранних работах (Kitamura et al., 2006; Nakagawa et al., 2007). В качестве одного из возможных механизмов онкогенного действия гистондеацетилазы 1 Shankar и соавт. (Shankar et al., 2020) была выявлена опосредованная HDAC1 репрессия маспина — гена-онкосупрессора, регулирующего клеточную инвазию, ангиогенез и апоптоз, то есть процессы, важные как для роста, так и метастазирования опухоли (Bodenstine et al., 2012; Dzinic et al., 2015).

Гистонозная деацетилаза 1 является предиктором неблагоприятного фенотипа опухоли и при гинекологических раковых заболеваниях — карциномах яичников (Jin et al., 2008) и шейки матки (Liu et al., 2012a). Глобальное исследование взаимосвязи между иммуногистохимической экспрессией HDAC1 и клинико-патологическими данными больных раком яичников выявило максимальное повышение ядерной экспрессии в образцах, полученных у пациентов с муцинозной карциномой: на 80% — со светлоклеточной карциномой, более чем на 70% — с серозной карциномой и

на 53% — с эндометриоидной карциномой (Yano et al., 2018), что свидетельствует о четкой корреляции уровней HDAC1 с прогнозом. Исследование в химиорезистентных клетках рака яичника A2780-AD молекулярных механизмов эпигенетических модификаций, связанных со сверхэкспрессией HDAC1, выявило опосредованную HDAC1 супрессию регулятора передачи сигналов G-белка 10 (RGS10), который выполняет ключевую функцию в процессах воспаления и выживания клеток (Casan et al., 2014). В ряде работ показано, что дефицит этого белка связан с развитием у трансформированных клеток резистентности к терапии за счет усиления выработки TNF- α и циклооксигеназы 2 (COX-2), опосредующей продукцию простагландина E₂ (PGE₂) (Cruceriu et al., 2020; Hooks and Murph, 2015), а также с нарушением в метаболизме сфинголипидов за счет модуляции работы сфингозинкиназы-1, что также приводит к воспалительным процессам, провоцирующим развитие опухоли (Gardner et al., 2016; Sukocheva et al., 2020). Двумя годами позднее тем же коллективом авторов во главе с Casan было обнаружено, что усиление активности HDAC1 в клеточной линии A2780-AD также сопровождало снижение уровня ацетилированного гистона 3 (H3) на промоторной области FAS-антигена (Casan, 2016) и, как следствие, блокирование его рецепторной функции, заключающейся в индукции запрограммированной апоптотической гибели клеток. В работе Liu и соавт. (Liu et al., 2018) также было доказано, что активация HDAC1 является важным событием в развитии лекарственной устойчивости, при этом особый интерес вызывают результаты по исследованию возможного механизма такого действия фермента. Коллектив авторов обнаружил, что аномальная экспрессия HDAC1 в устойчивых к цисплатину клетках рака яичника стимулирует клеточную пролиферацию и химиорезистентность посредством регуляции пути c-Myc-miR-34a — стимуляции aberrантной экспрессии транскрипционного фактора c-Myc и подавления активности мощного онкосупрессора miR-34a — двух известных

регуляторов множественной лекарственной устойчивости (Krysan et al., 2014; Li et al., 2021b; Yang et al., 2022; Zhu et al., 2022).

Что касается рака шейки матки, Liu с коллегами (Liu et al., 2012a) обнаружили, что аберрантная активность HDAC1 в клетках C-33A значительно увеличивает экспрессию октамер-связывающего эмбрионального транскрипционного фактора 4 (Oct4), который является прогностическим биомаркером различных типов злокачественных новообразований, играющим критическую роль в поддержании плюрипотентности и самообновлении эмбриональных стволовых клеток (Gao et al., 2019; Upadhyay et al., 2020; Wei et al., 2019; Zhao et al., 2020c). Вклад гистондеацетилазы 1 в поддержание стволовых свойств у трансформированных клеток был также показан в недавнем исследовании Yokoï и коллег (Yokoï et al., 2019), где аномальный профиль экспрессии HDAC1 в клеточных линиях ME180 и CaSki привел к активации генов Oct4, Nanog и SOX2, несущих онкогенную функцию.

Изменение активности других изоформ HDACs класса I также может иметь клиническую ценность в качестве терапевтических мишеней, однако на сегодняшний день понимание их роли в патогенезе онкозаболеваний находится на достаточно ранних стадиях по сравнению с таковыми для гистондеацетилазы 1. Тем не менее хорошо доказано, что HDAC2 сверхэкспрессирован в образцах тканей, полученных у пациентов с раком легкого, при этом наблюдается отрицательная корреляция между уровнями HDAC2 и прогнозом (Cai et al., 2021). Такая функция гистоновой деацетилазы 2 в процессах миграции и инвазии клеток рака легкого может осуществляться путём регуляции экспрессии белковых комплексов — эукариотических факторов инициации 5 и 6 (eIF5 и eIF6), играющих решающую роль в возникновении и прогрессировании опухолей (Gantenbein et al., 2018; Golob-Schwarzl et al., 2019; Wang et al., 2013; Zhang et al., 2020a). Свойство HDAC2 контролировать метастазирование трансформированных

клеток также может быть опосредовано другими механизмами. В работе (Li et al., 2016b) повышение уровня HDAC2 в клетках немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) привело к увеличению экспрессии фибронектина — белка, являющегося внеклеточным драйвером злокачественных новообразований (Kumra and Reinhardt, 2016; Lin et al., 2019; Rick et al., 2019). Wang и соавт. показали, что HDAC2 активирует экспрессию с-Мус и циклина D1, способствующих пролиферации, миграции и инвазии клеток НМРЛ (Wang et al., 2023b). Уровни экспрессии гистоновой деацетилазы 2 также нарушены при колоректальном раке (Conte et al., 2023). Анализ образцов, полученных у пациентов с колоректальной карциномой, показал значительное увеличение HDAC2 и аномальный уровень ацетилирования H3K56 в тканях (Benard et al., 2015). Клинико-патологические данные, представленные в работе (Qi et al., 2021) показали, что более высокая экспрессия HDAC2 коррелирует с плохой общей выживаемостью и связана с метастазированием в печень. Уровни гистондеацетилазы 2 также связаны с агрессивностью опухолей при раке желудка (Song et al., 2005). Так, наблюдается статистически значимое усиление экспрессии HDAC2 по мере прогрессирования патологии и положительного метастазирования в лимфатические узлы. HDAC2 также может быть потенциальным биомаркером прогноза опухолевой прогрессии при плоскоклеточной карциноме полости рта (Krishna et al., 2020), плоскоклеточном раке пищевода (Li et al., 2017a), карциномах желчного пузыря (Du et al., 2013) и молочной железы (Shan et al., 2017).

Являясь ключевым компонентом, участвующим в процессах репликации и репарации ДНК и поддержания структуры хроматина, гистоновая деацетилаза 3 играет ряд важных ролей в регуляции прогрессирования клеточного цикла, дифференцировки и других процессах, связанных с прогрессированием злокачественных новообразований (Edderkaoui et al., 2016; Hu et al., 2019; Ma et al., 2020). Нарушения в экспрессии HDAC3 являются частым явлением при самых распространённых видах онкологических патологий, в частности, при различных

гистологических формах немелкоклеточного рака лёгких (Chen et al., 2013; Eichner et al., 2023; Miao et al., 2014; Minamiya et al., 2010), раке предстательной железы (McLeod et al., 2018), желудочно-кишечных злокачественных новообразованиях (Edderkaoui et al., 2016; Jiao et al., 2016; Liu et al., 2013; Nemati et al., 2018; Wu et al., 2010; Xu et al., 2018; Zheng et al., 2020), глиоме (Zhong et al., 2018) и некоторых других. Вeyer и соавт. (Beyer et al., 2019) было обнаружено, что сверхэкспрессия HDAC3 опосредует рост трансформированных клеток при остром миелоидном лейкозе человека посредством модуляции связанных с лейкемией факторов транскрипции — β -катенина, гена-супрессора опухоли Вильмса (WT1) и онкогена миелоцитоматоза (MYC). Аберрантная активность HDAC3 в клетках аденокарциномы толстой кишки SW480 значительно снижает ацетилирование гистонов H4-K12 и модулирует экспрессию генов во внутриклеточном сигнальном пути Wnt (Godman et al., 2008), гиперактивация которого положительно контролирует ряд ключевых каскадов, регулирующих стволовые свойства, метастазирование и иммунный контроль в неопластических клетках (Parsons et al., 2021; Zhan et al., 2017; Zhou et al., 2022a). Более того, было обнаружено, что HDAC3 способствует не только пролиферации и инвазии трансформированных клеток, но и приобретению лекарственной устойчивости за счет репрессии транскрипции генов-супрессоров опухоли p53, p27 и Bax (Jiao et al., 2014) и активации пути PI3K-Akt-mTOR (Ren and Tang, 2021).

Ещё одной гистонозой деацетилазой класса I, дерегуляция и сверхэкспрессия которой вовлечены в различные аспекты прогрессирования злокачественных новообразований, является HDAC8. Несмотря на то, что данная изоформа была идентифицирована относительно недавно в качестве последнего представителя класса I HDACs, использование передовых методов позволило произвести четкую идентификацию структуры и функций фермента и определить его значение при онкологических заболеваниях (An et al., 2020; Chen et al., 2022b; Kim et al., 2022). Воздействуя как на гистоны, так

и на негистоновые субстраты, сверхэкспрессируемая HDAC8 реализует свои онкогенные функции посредством регуляции целого ряда сигнальных каскадов при различных типах злокачественных новообразований, в частности, при гепатоцеллюлярной карциноме (Wu et al., 2013), аденокарциноме желудка (Song et al., 2015b), остром лимфобластном лейкозе (Moreno et al., 2010), плоскоклеточной карциноме полости рта (Ahn and Yoon, 2017), нейробластоме (Oehme et al., 2009) и др. (Lopez et al., 2015; Mormino et al., 2021; Wilmott et al., 2015). Так, изучение молекулярных механизмов HDAC8-индуцированной пролиферации опухолевых клеток показало, что гистондеацетилаза 8 посредством снижения экспрессии супрессоров передачи сигналов цитокинов 1 и 3 (SOCS1 и SOCS3) способствует конститутивной активации каскада Янус-киназы 2 и сигнальных преобразователей и активаторов передачи сигналов транскрипции (JAK2/STAT) (Gao et al., 2013), играющего важную роль в онкогенезе миелопролиферативных новообразований и лейкемии (Chen et al., 2020c). В недавней работе Zhang с коллегами (Zhang et al., 2020b) было обнаружено, что деацетилированный консервативный остаток K62 ключевого фермента гликолиза пируваткиназы M2 (PKM2) облегчает транспорт PKM2 в ядро, усиливая его ферментативную активность, и связывает β -катенин, способствуя транскрипции гена, кодирующего циклин D (CCND1), стимулирующий прогрессирование многих форм злокачественных новообразований (Nie et al., 2020; Valla et al., 2022; Zhu et al., 2021a) и развитие клеточного цикла. HDAC8 также участвует в метастазировании многих видов онкозаболеваний (Chen et al., 2022b; Kim et al., 2023; Tang et al., 2020). Аналогично первой изоформе гистондеацетилазы, HDAC8 также способствует миграции клеток карциномы предстательной железы путем подавления экспрессии опухолевого супрессора маспина (Shankar et al., 2020), а функциональная избыточность HDAC8 в клетках рака шейки матки человека HeLa способствует метастазированию посредством чрезмерного деацетилирования тубулина (Vanaaja et al., 2018). Миграция неопластических

клеток при тройном негативном раке молочной железы значительно усиливается вследствие HDAC8-индуцированной модуляции мезенхимальных маркеров, таких как матриксные металлопротеиназы-2 и -9 (MMP-2 и MMP-9), N-кадгерин, фибронектин и виментин (Wu et al., 2016).

1.2.3. Роль гистоновых деацетилаз в патогенезе нейродегенеративных расстройств

Роль гистоновых деацетилаз в регуляции функций головного мозга, неврологического статуса и патогенеза широкого спектра нейродегенеративных состояний была исследована с использованием широкого ряда экспериментальных моделей (Kumar et al., 2022). Было обнаружено, что отдельные изоформы гистондеацетилаз за счет снижения ацетилирования белков-гистонов, а также негистоновых субстратов, вызывают подавление транскрипции регуляторных генов, участвующих в нейропластичности, процессах обучения и памяти, приводя к развитию и прогрессированию расстройств центральной нервной системы.

Особое внимание исследователей уже 15 лет привлекает взаимосвязь между шестой изоформой гистоновой деацетилазы (HDAC6) и болезнью Альцгеймера (Simoes-Pires et al., 2013; Zhang et al., 2013), в связи с чем на сегодняшний день HDAC6 стала широко распространенной терапевтической мишенью для лечения данной нейропатологии. Гистондеацетилаза 6 является уникальным ферментом, поскольку она реализует свои функции как через эпигенетические, так и неэпигенетические механизмы посредством регуляции множества сигнальных путей, связанных с нейродегенеративными расстройствами (Simoes-Pires et al., 2013). При анализе уровней различных изоформ гистоновых деацетилаз в лобной доле головного мозга пациентов с легкой, умеренной и тяжелой стадиями болезни Альцгеймера было выявлено значительное увеличение именно HDAC6, которое отрицательно коррелировало с общим когнитивным статусом по мере прогрессирования заболевания (Mahady et al., 2018). В то же время в работе Bai и соавт.

визуализация методом позитронно-эмиссионной томографии головного мозга трансгенных мышей 5xFAD, моделирующих деменцию Альцгеймерского типа, показала значительно более высокую радиоактивность зонда [¹⁸F]PB118 для визуализации HDAC6 в коре и гиппокампе — областях, наиболее восприимчивых к патологии (Bai et al., 2022).

Ввиду присущей гистондеацетилазе 6 преимущественно цитоплазматической локализации, что отличает данный фермент от других HDACs, в спектр специфических негистоновых субстратов и белков, деацетилируемых HDAC6, входят тау-протеин, α -тубулин, убиквитин, белок теплового шока 90 и другие (Li and Yang, 2015; Pulya et al., 2021).

Известно, что уровень ацетилирования α -тубулина, основного субстрата HDAC6 (Li and Yang, 2015), играет ключевую роль в формировании стабильных микротрубочек, имеющих важное значение в различных биологических процессах, включая обучение и память (Dent, 2017; Pena-Ortega et al., 2022). Сверхэкспрессия HDAC6 приводит к интенсивному деацетилированию α -тубулина, приводящему к дестабилизации микротрубочек и, как следствие, патологической гибели нейрональных клеток, способствующих нейродегенерации (Boiarska and Passarella, 2021). Более того, HDAC6 является критическим регулятором убиквитин-протеасомной системы (Lee et al., 2020; Pandey et al., 2007) — процессов, ответственных за деградацию тау-протеина (Hamano et al., 2021; Xu et al., 2021a). В органоидах головного мозга трансгенных мышей, сверхэкспрессирующих HDAC6, наблюдается высокое содержание агрегированных форм фосфорилированного тау-протеина (Choi et al., 2020). Также в работе Balmik и соавт. (Balmik et al., 2020; Qureshi and Chinnathambi, 2022) избыточное взаимодействие убиквитин-связывающего домена гистондеацетилазы 6 с тау-протеином приводило к конформационным изменениям белка, а также снижению тенденции дезагрегации уже

сформированных агрегатов. Корреляция высокой концентрации тау-протеина с aberrantными уровнями HDAC6 была доказана при количественной оценке нейронов коры головного мозга мышей с высокой экспрессией данного фермента, в то время как нейроны с нокаутом по данному белку продемонстрировали снижение образования нейрофибриллярных клубков примерно на 90%, что сопровождалось увеличением жизнеспособности (Tseng et al., 2017). Аналогичный клиренс гиперфосфорилированного тау-белка в условиях блокирования активности HDAC6 также был продемонстрирован в работах Cook (Cook et al., 2012) и Sreenivasmurthy (Sreenivasmurthy et al., 2022).

Сверхэкспрессия HDAC6 также влияет на процессы, связанные с аутофагией. Существует несколько путей регуляции HDAC6 данного процесса, наиболее важным из которых является деацетилирование связанных с аутофагией транскрипционных факторов TFEB и FOXO1, что приводит к блокированию их транслокации в ядро и торможению транскрипции связанных с аутофагией генов. Вследствие этого нарушаются процессы слияния аутофагосом с лизосомами и не происходит деградации неправильно свернутых белков (тау-белка, A β и других) и митохондрий с нарушенными функциями, что в конечном итоге приводит к гибели нейрональной клетки (Brijmohan et al., 2018; Chang et al., 2021; Zhang et al., 2021d). А в недавней работе Liu с коллегами (Liu et al., 2023) было обнаружено, что aberrantная активность HDAC6 является критическим регулятором нейровоспалительных реакций, приводящим к сверхэкспрессии воспалительных цитокинов, таких как интерлейкины 6 и 1 β (IL-6, IL1 β), а также TNF- α .

Кроме того, aberrantная активность HDAC6 продемонстрирована при других нейродегенеративных заболеваниях, таких как болезнь Паркинсона (Mazzetti et al., 2020) и болезнь Хантингтона (Li et al., 2023).

В поле зрения исследователей, занимающихся проблемой болезни Альцгеймера, попали и другие изоформы гистоновых деацетилаз, которые также участвуют в патогенезе, хотя и с другой степенью вовлеченности. Существует четкая корреляция между сверхэкспрессией гистондеацетилазы 2 (HDAC2), относящейся к I классу, и нарушением функций головного мозга. В частности, в работе Guan и соавт. (Guan et al., 2009) анализ вакансий промотора позволил обнаружить для гистоновой деацетилазы 2 способность негативно регулировать активность генов, участвующих в синаптической пластичности и формировании памяти, при этом сверхэкспрессия HDAC2 в головном мозге генно-модифицированных мышей способствовала существенному нарушению данных функций. Такая репрессорная функция HDAC2 была показана и на трансгенных животных линии p25, моделирующих болезнь Альцгеймера (Graff et al., 2012), у которых увеличение уровня данной изоформы гистондеацетилазы коррелирует с когнитивным дефицитом, обусловленным более высоким рекрутированием HDAC2 на промоторах ключевых генов, связанных с обучением, памятью, нейропластичностью при сравнении с животными дикого типа. К генам, влияние на которые оказывает HDAC2, относятся нейротрофический фактор головного мозга и белок реакции раннего роста 1. Интересным фактом является и то, что несмотря на 85% структурную гомологию HDAC2 к HDAC1, именно вторая изоформа гистондеацетилазы участвует в когнитивных процессах (Guan et al., 2009). Однако несмотря на то, что гистондеацетилаза 2, казалось бы, представляет собой подходящую мишень для терапии нейродегенеративных расстройств, необходима осторожность в применении модуляторов её активности. Это связано с тем, что каталитическая функция HDAC2 критически необходима в нейрогенезе головного мозга во взрослом возрасте (Jawerka et al., 2010).

Среди представителей I класса имеющая ядерную локализацию HDAC3 также значительно увеличена в гиппокампе трансгенных животных APP^{swe}/PS1^{dE9}, что коррелирует с высокими уровнями A β , активацией

микроглии и снижением плотности дендритных шипиков в головном мозге. Это обуславливает негативную регуляцию гистоновой деацетилазой 3 пространственной памяти у мышей данной линии (Zhu et al., 2017). Кроме того, Bardai и d'Mello (Bardai and D'Mello, 2011) обнаружили, что HDAC3 является белком с выраженной нейротоксической активностью, поскольку сверхэкспрессия данного фермента приводит к селективной гибели нейрональных клеток головного мозга без влияния на выживаемость клеточных линий иного происхождения. Что касается HDAC4, Fitzsimons с коллегами в работе (Fitzsimons et al., 2013) доказали её роль в процессах памяти модельного генетического организма Дрозофиллы фруктовой, однако было показано, что в зависимости от локализации данная изоформа является не только репрессором долговременной памяти, но и модулирует её нормальное формирование, что аналогично HDAC2 затрудняет применение целевой терапии.

Для остальных изоформ гистоновых деацетилаз специфические корреляции с болезнью Альцгеймера на сегодняшний день не доказаны.

Таким образом, на сегодняшний день известно по крайней мере о 18 белках HDACs у человека, которые функционируют как транскрипционные репрессоры и корепрессоры, что обуславливает значительный интерес к ферментам данного класса. Несмотря на то, что объем информации о структурных и функциональных особенностях гистоновых деацетилаз растет в геометрической прогрессии, до сих пор большое количество вопросов о том, как та или иная изоформа HDACs регулирует сигнальные каскады и активность генов, в значительной степени остаётся неизученным. Тем не менее, существуют безусловные доказательства того, что ферменты данного класса участвуют в патогенезе широкого спектра заболеваний, главным образом, злокачественных новообразований и нейродегенеративных патологий, что закладывает теоретическую основу для клинического использования HDACs в качестве мишеней для действия перспективных фармакологических агентов.

На рисунке 3 мы попытались объединить самую важную информацию о механизмах действия наиболее распространённых гистоновых деацетилаз: HDAC1 и HDAC6, как ключевых эпигенетических регуляторов патогенеза онко- и нейродегенеративных заболеваний.

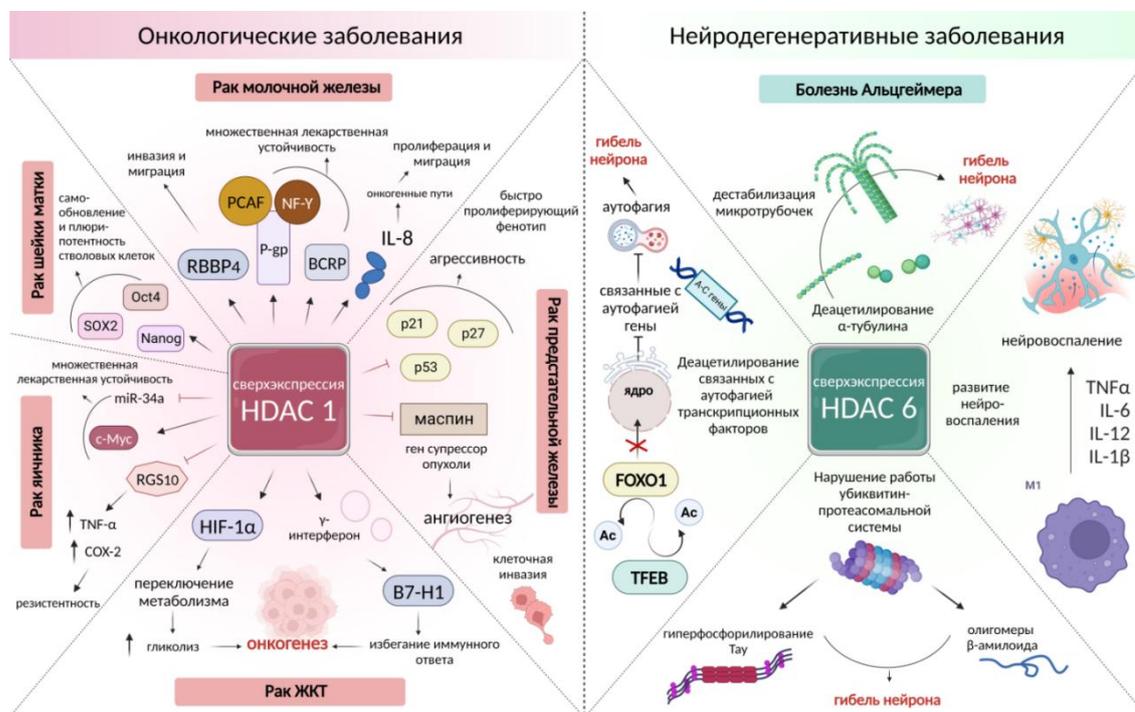


Рисунок 3 — Схематическое отображение патологических функций HDAC1 при различных типах злокачественных новообразований и HDAC6 при нейродегенерации Альцгеймеровского типа. Сверхэкспрессия HDAC1 способствует онкогенезу посредством усиления пролиферации опухолевых клеток и подавления апоптоза, а также метастазирования и развития в лекарственной устойчивости. В свою очередь aberrантные уровни HDAC6 участвуют в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, приводя к дестабилизации микротрубочек и участвуя в процессах нейровоспаления, а также вызывая нарушения в убиквитин-протеасомальной системе и процессах аутофагии, препятствуя деградации неправильно свернутых белков.

1.2.4. Достижения в разработке ингибиторов гистоновых деацетилаз в терапии онкологических и нейродегенеративных заболеваний

На сегодняшний день управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) одобрено использование пяти ингибиторов гистоновых деацетилаз — вориностат

(субероиланилид гидроксамовой кислоты, SAHA), ромидепсин (FK228), туцидинонат (хидамид), белинонат (PXD101) и панобинонат (LBH 589) (рисунок 4).

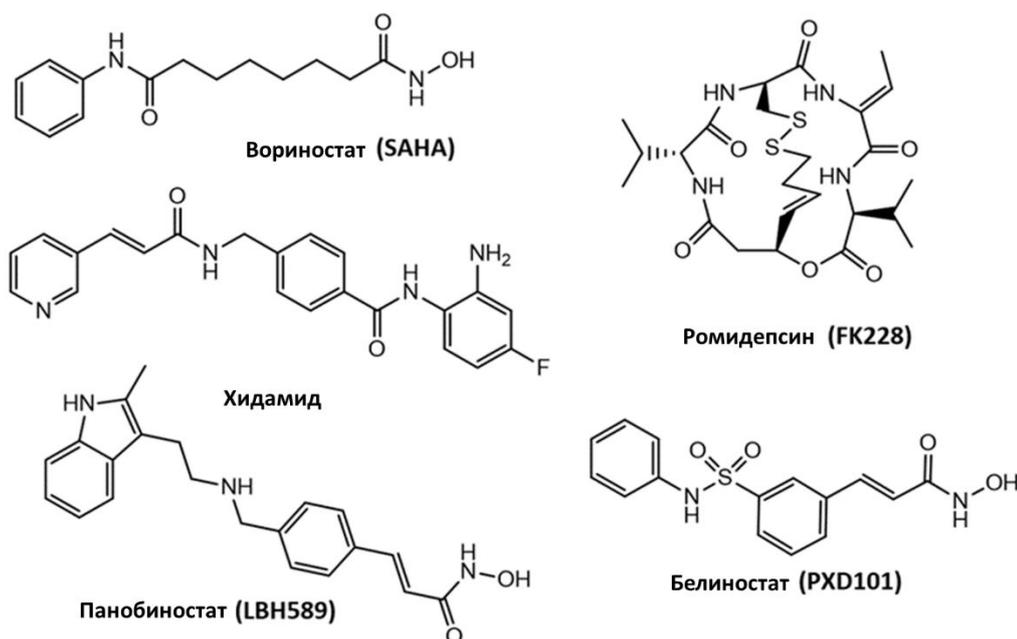


Рисунок 4 — Одобрённые FDA США ингибиторы гистоновых деацетилаз.

Исходя из формул, представленных на рисунке 4, нетрудно заметить, что HDAC-ингибирующая способность была обнаружена для представителей различной химической структуры. Условно все существующие на сегодняшний день ингибиторы гистоновых деацетилаз можно разделить на четыре большие группы: (1) гидроксамовые кислоты, (2) бензамиды, (3) циклические пептиды и (4) алифатические жирные кислоты. При этом из всех ингибиторов HDACs именно соединения на основе гидроксамовой кислоты представляют самый большой и клинически успешный класс ввиду проявления наиболее перспективного профиля фармакологической активности (Aleksandrova et al., 2023a; Neganova et al., 2021a; Neganova et al., 2021d). И хотя на сегодняшний день существует колоссальное количество исследований, посвящённых терапевтическому потенциалу производных гидроксамовых кислот, охватить все работы в рамках данной диссертации не представляется возможным. Более того, данной проблеме уже посвящён ряд

обзорных рукописей, в том числе, недавно опубликованный нами масштабный обзор (Neganova et al., 2021e). В связи с этим в данном разделе мы приняли решение выбрать оригинальную стратегию рассмотрения фармакологической перспективности одного из уже одобренных представителей ингибиторов HDACs — вориностата в контексте не просто обобщения широко известных для него противоопухолевых свойств, но и относительно недавно обнаруженного нейропротекторного действия, что позволит предоставить убедительные доказательства перспективности данного класса химических соединений в качестве уникальных терапевтических агентов.

Вориностат был первым ингибитором гистондеацетилазы, одобренным в 2006 году FDA в качестве монотерапии для лечения пациентов с рефрактерной или рецидивирующей кожной Т-клеточной лимфомой (Mann et al., 2007; Siegel et al., 2009). На сегодняшний день проведено большое количество доклинических и клинических испытаний вориностата в терапии других гематологических и солидных опухолей. Однако исследования противоопухолевых свойств вориностата в монотерапии солидных опухолей показали для препарата недостаточно удовлетворительные результаты (Bradley et al., 2009; Quinn et al., 2021). Это побудило коллективы авторов предпринять попытки к изучению эффективности вориностата в комбинации с другими активными соединениями, которые уже используются в терапии различных злокачественных новообразований. В частности, комбинированное применение вориностата и радиолиганда ^{131}I -метайодбензилгуанидина продемонстрировало высокую частоту истинного ответа у пациентов с рецидивирующей или рефрактерной нейробластомой (DuVois et al., 2021). А включение вориностата и изотретиноина в режим интенсивной химиотерапии медуллобластомы позволило добиться улучшения показателей пятилетней выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости у детей раннего возраста (Leary et al., 2022). Применение SAHA в комбинации с нацеленным на аутофагию

гидроксихлорохином у пациентов с метастатическим колоректальным раком показало в рандомизированном исследовании фазы II высокий ответ противоопухолевого иммунитета (Arora et al., 2022) за счёт усиления экспрессии лизосомальной протеазы катепсина D, белка p62 и, как следствие, ингибирования аутофагии и последующего апоптоза трансформированных клеток (Patel et al., 2016). Усиление антиангиогенных свойств пазопаниба под действием SANA также было обнаружено в исследованиях фазы I при метастатических солидных опухолях с мутациями TP53 (Wang et al., 2020b). Здесь пациенты, получавшие вориностат+пазопаниб, продемонстрировали значительно более высокую среднюю продолжительность общей выживаемости и жизни без прогрессирования заболевания, что может быть связано с запуском механизмов деградации мутантного p53 и подавлением опосредованной ингибированием сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) сверхэкспрессии HIF-1 α . Перспективность стратегии комбинированного применения противоопухолевых агентов с эпигенетическими модуляторами подтверждается и результатами, полученными при сочетании вориностата с химиолучевой терапией при лечении плоскоклеточного рака головы и шеи, где выбранная схема введения продемонстрировала высокую эффективность (96,2% пациентов показали положительный ответ) и безопасность (Teknos et al., 2019), что также было показано и при других типах рака (Chan et al., 2016; Galanis et al., 2018).

Существуют убедительные доказательства терапевтической ценности вориностата и при заболеваниях, поражающих головной мозг (Athira et al., 2021). Это связано с тем, что, являясь пан-селективным ингибитором, вориностат модулирует активность не только HDACs I класса, выполняющих преимущественно онкогенную функцию, но и HDAC6 — изоформы, играющей ведущую роль в функционировании нейронов. Буквально за последние 10 лет исследователям удалось накопить внушительный пул данных о перспективности перепрофилирования данного лекарственного

агента в качестве препарата для борьбы с нейродегенеративными расстройствами.

В работе Chen и соавт. (Chen et al., 2012) воринонат продемонстрировал защитное действие в условиях моделирования индуцированной липополисахаридами и *N*-метил-4-фенилпиридиниевым катионом (MPP⁺) нейротоксичности, увеличивая жизнеспособность дофаминергических нейронов за счёт ингибирования деацетилирования гистонов, опосредующего высвобождение нейротрофических факторов из астроглии. Сообщалось также, что воринонат реализует нейропротекторные эффекты за счёт стимуляции экспрессии гликопротеина кластерина в астроцитарных клетках человека, играющего известную роль в модуляции агрегации Aβ при болезни Альцгеймера (Nuutinen et al., 2010). Kilgore и соавт. (Kilgore et al., 2010) показали, что внутривенные инъекции вориноната трансгенным мышам линии APP^{swe}/PS1dE9 приводили к восстановлению контекстуальной памяти у животных, что напрямую коррелировало с ингибированием HDACs I класса и HDAC6. Дальнейшие *in vitro* исследования нейропротекторных свойств вориноната также показали, что снижение активности гистондеацетилазы в результате действия SAHA сопровождалось улучшениями в синаптической функции. Однако в *in vivo* поведенческих экспериментах на модели трансгенных мышей линии Tg2576 авторам не удалось подтвердить защитный эффект соединения, что связано с его ограниченной доступностью в головном мозге и эффективным периферическим распределением (Hanson et al., 2013). В связи с этим коллективы авторов сосредоточили своё внимание на другом известном для вориноната свойстве — его адьювантной способности. Так, в работе Sarathlal с коллегами (K et al., 2021) использование вориноната в качестве хемосенсибилизирующего агента в комбинации с гипогликемическим средством росиглитазоном привело к значительно более высокой экспрессии генов нейротрофических факторов и ослабило биохимические, клеточные и поведенческие нарушения в мышинной модели болезни Альцгеймера,

индуцированной стрептозотоцином. Интересно, что авторам также удалось улучшить профиль терапевтической эффективности и биодоступности такой системы путём усовершенствования формы приёма агентов, используя стабилизированную поллоксамером систему полимерных наноносителей. Годом позже этой же группе авторов также удалось подтвердить перспективность вориностата в качестве средства, усиливающего активность антиинсулинорезистентных препаратов (Kakoty et al., 2022). Комбинированное применение вориностата и рапамицина привело к облегчению когнитивной дисфункции крыс с развитым состоянием инсулинорезистентности (ИР) и подвергнутых интрацеребровентрикулярной инъекции $A\beta_{1-42}$. А последующий анализ биомаркеров, связанных с нейродегенерацией, усугубляемой ИР, показал значительное снижение белка-предшественника амилоида (APP) вследствие усиления экспрессии беклина-1, нейротрофических факторов глиальных клеток (GDNF) головного мозга (BDNF), роста нейронов (NGF), нейрональных маркеров MAP2 (белка 2, ассоциированного с микротрубочками) и LAMP2 (связанного с лизосомой мембранного белка 2). Способность эффективно облегчать симптомы когнитивного дефицита у мышей, моделирующих болезнь Альцгеймера, также была показана для комбинации вориностата с тадалафилом, нацеленным на другую мишень — фосфодиэстеразу 5 типа, которая является критическим компонентом сигнального пути циклического гуанозинмонофосфата/протеинкиназы G (сGMP/PKG), регулирующего апоптоз нервных клеток (Cuadrado-Tejedor et al., 2015). Примечательно, что синергетическое действие данных лекарственных агентов также проявлялось в снижении амилоидной и тау-патологий и препятствии гибели нейронов гиппокампа. Такая стратегия применения вориностата в качестве хемосенсибилизирующего терапевтического агента имеет существенное преимущество – использование при лечении крайне низких доз препарата. Это позволяет избежать вызываемые им побочные эффекты на здоровое микроокружение, ввиду отсутствия селективности действия на ту или иную

изоформу, и обеспечить оптимальные показатели безопасности при хроническом применении.

В таблице 2 представлено обобщение вышеописанного материала с целью акцентирования внимания на наиболее значимых моментах при разработке лекарственных агентов для терапии онкологических и нейродегенеративных заболеваний.

Таблица 2 — Терапевтический потенциал вориностата в качестве адъювантного агента при лечении онкологических и нейродегенеративных заболеваний

Терапевт. агент в комбинации	Молекулярные механизмы действия	Прогностическая значимость	Заболевание	
¹³¹ I-метайод-бензилгуанидин	Увеличение экспрессии белка NET человека	Усиление поглощения радиолиганда, повышение частоты истинного ответа (DuBois et al., 2021; DuBois et al., 2015; More et al., 2011)	НБ	Злокачественные новообразования
Изотретиноин	Модуляция уровней АПФ2	Улучшение показателей пятилетней выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости (Leary et al., 2022; Pinto et al., 2018; Sinha et al., 2020)	МБ	
Гидрокси-хлорохин	Ингибирование аутофагии в результате усиления экспрессии катепсина D и белка p62	Усиление противоопухолевого иммунитета (Arora et al., 2022; Mahalingam et al., 2014; Patel et al., 2016)	КК	
Пазопаниб	Деградация мутантного p53, усиление экспрессии VEGF, снижение уровня HIF-1α	Повышение средней продолжительности общей выживаемости и жизни без прогрессирования заболевания (Fu et al., 2015; Wang et al., 2020b)	ЭКЯ	
			РМЖ	
			КК	
			КЖ	
			ПРГШ	
Химиолучевая	Усиление	Улучшение показателей	НМРЛ	ПРГШ

терапия	скорости апоптоза за счет повышения экспрессии апоптотических белков Вах и p21	общей выживаемости (Chan et al., 2016; Galanis et al., 2018; Teknos et al., 2019)	КПЖЖ	Нейродегенеративные заболевания
			ГБ	
Росиглитазон	Повышение экспрессии генов нейротрофических факторов	Снижение биохимических, клеточных и поведенческих нарушений в мышинной модели болезни Альцгеймера, индуцированной стрептозотоцином (K et al., 2021)	БА	
Рапамицин	Снижение APP вследствие усиления экспрессии беклина-1, нейротрофических факторов GDNF, BDNF, NGF, нейрональных маркеров MAP2 и LAMP2	Облегчение когнитивной дисфункции у крыс с развитым состоянием инсулинорезистентности и подвергнутых интрацеребровентрикулярной инъекции A β ₁₋₄₂ (Kakoty et al., 2022)		
Тадалафил	Восстановление долговременной потенции, облегчение амилоидной и тау-патологии посредством регуляции пути Akt/GSK3 β	Восстановление когнитивных функций у трансгенных мышей линии APP/PS1 (Cuadrado-Tejedor et al., 2015)		

Таким образом, на сегодняшний день терапия онкологических заболеваний и нейродегенеративных расстройств (преимущественно болезни Альцгеймера) составляет большинство показаний для класса препаратов, нацеленных на HDACs. В частности, благодаря проведённой нами оценке текущего состояния исследований с участием вориноста, был подтверждён масштабный потенциал эпигенетической терапии представителями класса

гидроксамовых кислот, который на сегодняшний день уже достиг многообещающего клинического прогресса.

1.3. Альтерации в биоэнергетическом метаболизме клеток при онкогенезе и нейродегенерации

1.3.1. Определение основных метаболических процессов клетки, энергетический обмен

Клеточный метаболизм включает в себя множество взаимосвязанных путей, главная цель которых заключается в обеспечении клетки энергией, необходимой для её функционирования (Yang et al., 2019). В целом метаболизм можно разделить на ряд химических реакций, которые включают как синтез (анаболизм, ассимиляция, пластический обмен), так и расщепление сложных макромолекул (катаболизм, диссимиляция, энергетический обмен). Данные процессы имеют тесную взаимосвязь между собой, поскольку в ходе анаболизма используются энергия и продукты, образующиеся в реакциях диссимиляции, в то время как для осуществления катаболизма необходимы ферменты, образующиеся в результате реакций ассимиляции.

И ввиду того, что энергия, крайне необходимая для поддержания функций клеток — активного транспорта ионов и субстратов, биосинтеза сложных макромолекул и др., образуется в результате реакций катаболизма (диссимиляции, энергетического обмена), данный процесс уже более 150 лет является предметом исследования специалистов в области биохимии (Judge and Dodd, 2020), и его изучение является ключом к пониманию как нормальной физиологической функции, так и роли в патологических состояниях организма.

В нормальных условиях получение энергии живыми организмами происходит путем последовательного окисления органических соединений в ходе трёх основных этапов клеточного дыхания — (1) гликолиза, (2) цикла

трикарбоновых кислот и (3) митохондриального транспорта электронов (рисунок 5).

Гликолиз представляет собой первую стадию катаболизма глюкозы в организмах и включает расщепление одной молекулы глюкозы до двух молекул пирувата в результате десяти (или одиннадцати) последовательных ферментативных реакций в цитозоле (Fornie et al., 2004).

В ходе гликолиза первоначальные затраты энергии в виде двух молекул АТФ за счет образования двух трёхуглеродных молекул 3-ФГА вдвойне окупаются на более поздних стадиях гликолиза. Так, каждый глицеральдегид-3-фосфат трансформируется в пируват и АТФ, по итогу генерируя четыре молекулы АТФ и истинный «доход» в виде 2 молекул АТФ.

В зависимости от условий окружающей среды определяется судьба конечного продукта — пирувата. В присутствии кислорода он вступает в цикл трикарбоновых кислот, а образуемая на шестой стадии восстановленная форма никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) отдаёт свои электроны на функционирование электрон-транспортной цепи митохондрий, тем самым обеспечивая полное окисление глюкозы. В свою очередь, в анаэробных условиях НАДН отдаёт свои электроны для регенерации НАД⁺, а молекулы пирувата в результате дальнейшей гомолактической ферментации (11-я реакция) под действием лактатдегидрогеназы восстанавливаются до лактата. Несмотря на то, что анаэробный гликолиз даёт низкий энергетический выход (2 молекулы АТФ), данный процесс критически важен в условиях недостатка кислорода, а также для эритроцитов, которые ввиду отсутствия в них митохондрий для получения энергии полагаются исключительно на анаэробное дыхание, протекающее в цитоплазме.

В аэробных условиях преобразование пирувата в ацетилкоэнзим-А, который является пусковым субстратом цикла трикарбоновых кислот (цикл Кребса, ЦТК) для дальнейшего клеточного дыхания, катализируется

пируватдегидрогеназным комплексом (рисунок 5), который включает в себя три типа ферментов, пять коферментов и два вспомогательных белка.

Для того, чтобы извлечь полную выгоду из энергии, содержащейся в глюкозе, по окончании цикла трикарбоновых кислот образованные восстановленные переносчики электронов (НАДН и ФАДН₂) должны попасть в электрон-транспортную цепь, ферменты которой встроены в кристы митохондрий, и претерпеть модификации для производства АТФ (Guo et al., 2018; Rich and Marechal, 2010).

Ранее в подразделе *«Понятие окислительного стресса и источники свободных радикалов»* уже была дана краткая характеристика электрон-транспортной цепи в контексте источника свободных радикалов. Однако ключевая роль митохондриальной системы окислительного фосфорилирования заключается именно в поддержании энергетического баланса.

Окислительное фосфорилирование — это фундаментальный процесс, связывающий цикл трикарбоновых кислот с производством АТФ, который требует согласованного действия комплексов электрон-транспортной цепи и АТФ-синтазы, расположенных во внутренней митохондриальной мембране (Vercellino and Sazanov, 2022). Как было сказано выше, в ОКСФОС участвуют пять комплексов, среди которых I-IV переносят электроны от доноров, образованных в результате цикла трикарбоновых кислот (или окисления жирных кислот), на кислород (Fernandez-Vizarra and Zeviani, 2021), в то время как АТФ-синтаза (V комплекс) использует образованный в межмембранном пространстве протонный градиент непосредственно для синтеза АТФ (Neurane et al., 2019).

На рисунке 5 наглядно проиллюстрированы нарушения в клеточном метаболизме при онкологических и нейродегенеративных заболеваниях, детальное рассмотрение которых представлено ниже в тексте рукописи.

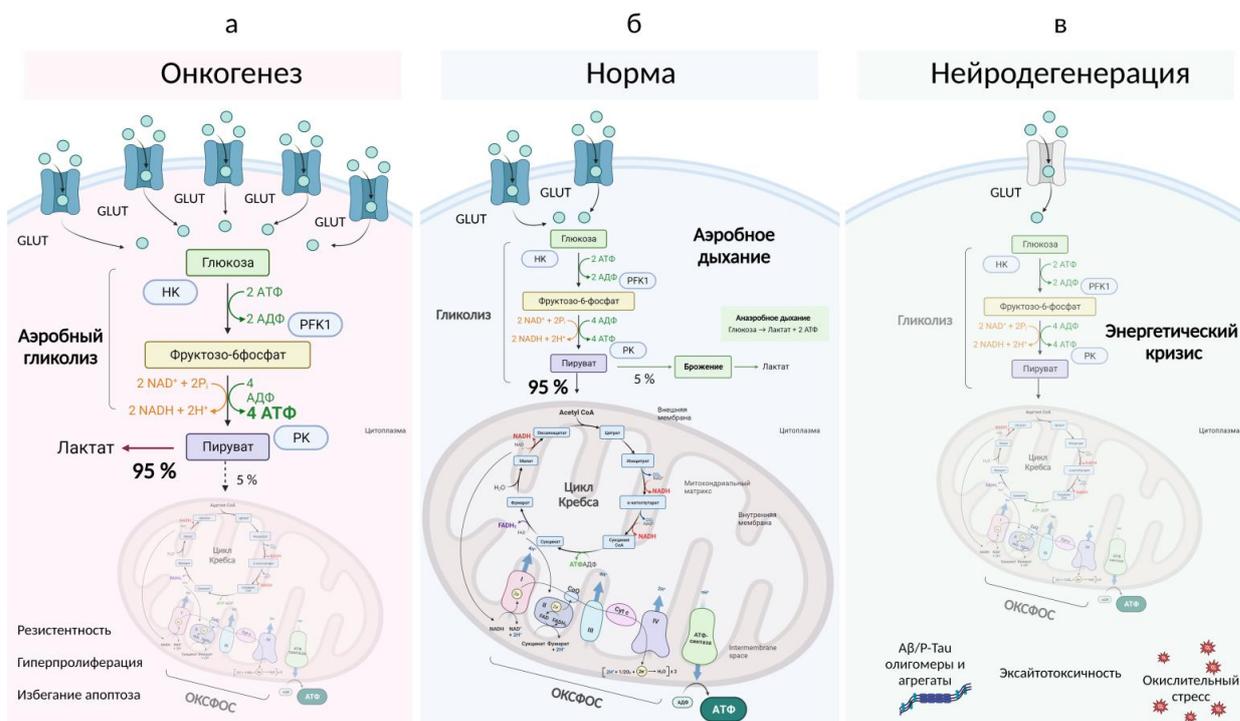


Рисунок 5 — Метаболические реакции, протекающие при онкологических (а) и нейродегенеративных (в) заболеваниях, а также в условиях нормального функционирования клетки (б). (а) Схематическое представление биохимического процесса, протекающего в опухолевых клетках, который заключается в перепрограммировании метаболизма и способа получения энергии с окислительного фосфорилирования на гликолиз. (б) Иллюстрация этапов клеточного дыхания, протекающего в физиологических условиях. (в) Митохондриальная дисфункция и связанные с ней метаболические нарушения, происходящие при нейродегенеративных заболеваниях и приводящие к дисбалансу между выработкой и потреблением энергии, а также гиперпродукции активных форм кислорода.

1.3.2. Молекулярные тонкости метаболизма опухолевых клеток:

нарушение регуляции аэробного гликолиза, эффект Варбурга

Хорошо известно, что опухолевые клетки имеют перепрограммированный метаболизм, способствующий их росту, метастазированию и выживанию (Martinez-Reyes and Chandel, 2021). Такой пролиферативный метаболический фенотип (Kroemer and Pouyssegur, 2008) характеризуется повышенной гликолитической функцией. При этом фенотипе трансформированные клетки за счет интенсивного поглощения глюкозы и её ферментации до лактата не только удовлетворяют свои высокие энергетические потребности, но и получают промежуточные продукты,

критически необходимые для синтеза макромолекул. Это явление, часто называемое «эффектом Варбурга» (Pascale et al., 2020), известно уже около 100 лет, и на сегодняшний день является объектом исследований большого количества научных групп, а нацеливание на усиленный гликолиз в опухолевых клетках рассматривается в качестве перспективной стратегии для повышения эффективности традиционной терапии злокачественных новообразований (Sun et al., 2021a).

До недавнего времени преобладание гликолитического пути в неопластических клетках было необъяснимой загадкой для научного сообщества, поскольку в отличие от митохондриально-зависимого окислительного фосфорилирования (ОКСФОС) данный путь является менее эффективным способом получения энергии в виде АТФ (Ferne et al., 2004), в то время как для поддержания опухолевого фенотипа клетки потребляют высокое количество энергии (Jia et al., 2018; Ward and Thompson, 2012; Yoshida, 2015). Но результатам последних лет удалось пролить свет на длившиеся долгое время дискуссии о значении этого уникального явления в опухолевых клетках. Pfeiffer с коллегами постулировали, что гликолиз, будучи способом продукции АТФ с высокой скоростью, дает неопластическим клеткам избирательное преимущество в условиях конкуренции за общие источники энергии, придавая, тем самым, эволюционное значение данному процессу (Pfeiffer et al., 2001). Так, в работе Locasale и соавт. описано, что скорость производства АТФ при гликолизе может быть в 100 раз выше, чем при ОКСФОС (Locasale and Cantley, 2010). Кроме того, превалирование гликолиза может быть обусловлено гипоксическим микроокружением опухолей, когда наблюдаются митохондриальные дефекты (Srinivasan et al., 2017), и окислительное фосфорилирование становится неактивным, а получение энергии в результате высокоскоростного превращения глюкозы становится единственным возможным способом. К примеру, митохондриальная дисфункция наблюдается при злокачественном новообразовании толстого

кишечника (Shi et al., 2021), карциномах протоков молочной железы (Ma et al., 2013) и желудка (Lee et al., 2014).

Однако поскольку эффект Варбурга наблюдается даже в присутствии полностью функциональных митохондрий, а митохондриальная дисфункция вовсе не является необходимым явлением для онкогенеза, было обнаружено, что неопластические клетки могут приобретать гибридный фенотип, используя как интенсивный гликолиз, так и стандартную скорость окислительного фосфорилирования (гликолиз/ОКСФОС) (Roth et al., 2020). Считается, что благодаря этому явлению опухолевые клетки приобретают свойство метаболической пластичности, играющее особо важную роль при метастазировании и развитии резистентности к терапии. Такие свойства могут достигаться за счет гликолиз-зависимой активации сигнального пути PI3K/Akt, позволяющего опухолевым клеткам приобретать стволовые свойства (Almaguel et al., 2020).

Помимо обеспечения клеточной энергии, метаболические промежуточные продукты гликолиза также играют ключевую роль в биосинтезе макромолекул, тем самым предоставляя селективное преимущество раковым клеткам в условиях ограниченного снабжения питательными веществами. В частности, было показано, что за счет усиления пути биосинтеза гексозамина и пентозофосфатного пути aberrantный гликолиз может способствовать увеличению оборота нуклеотидов, необходимых для эффективного восстановления повреждений ДНК, вызванных действием терапевтических агентов (Kohnken et al., 2015; Le et al., 2017). В свою очередь, такие репарации ДНК индуцируют активацию проонкогенных сигнальных путей, запуская механизмы устойчивости опухолевых клеток к апоптозу (Almaguel et al., 2020; Efimova et al., 2016). Кроме того, образуемые в результате пентозофосфатного пути НАДФН и рибозо-5-фосфат крайне необходимы для биосинтеза липидов и нуклеиновых кислот в опухоли, а НАДФН также позволяет неопластическим клеткам поддерживать повышенный уровень GSH, реализующему положительные

для прогрессирования опухоли эффекты, описанные ранее (Baczkos et al., 2012; Traverso et al., 2013).

Как видно на рисунке 5(a), отражающем основные биохимические реакции гликолиза, протекающие под действием целого ряда ферментов, первоначальное потребление глюкозы зависит от специфических переносчиков GLUT (Thorens and Mueckler, 2010), обеспечивающих её перенос из системного кровотока в клетку (Deng and Yan, 2016). Среди 14 белков данного семейства, принадлежащих к суперсемейству Major Facilitator мембранных переносчиков, четыре изоформы GLUTs 1-4 играют специфическую роль исключительно в гомеостазе глюкозы в клетках и организме в целом (Lu et al., 2021b; Reckzeh and Waldmann, 2020). При этом именно сверхэкспрессия представителя GLUT-1 наблюдается при многих типах злокачественных новообразований. В частности, прогностическое значение экспрессии GLUT-1 показано при аденокарциномах желудка (Carvalho et al., 2011; Yin et al., 2020), поджелудочной (Higashi et al., 1998) и предстательной желез (Carreno et al., 2019; Gasinska et al., 2020), карциномах легких (Mogi et al., 2013) и эндометрия (Canpolat et al., 2016; Khabaz et al., 2019), а также остеосаркоме (Kubo et al., 2015), менингиоме (van de Nes et al., 2015) и злокачественной опухоли эпителиальной ткани полости рта (Luo et al., 2010; Xi et al., 2020). Кроме того, высокие уровни экспрессии GLUT-1 обнаруживаются у пациентов с низкодифференцированными опухолями молочной железы (Krzeslak et al., 2012), и связаны с отрицательным прогнозом (Deng et al., 2018b; Hussein et al., 2011; Kang et al., 2002).

Казалось бы, блокирование GLUT может рассматриваться в качестве прямого подхода к ингибированию гликолиза в результате прекращения поступления субстрата в опухолевые клетки, и, как следствие, полного нарушения данного пути. Однако ввиду повсеместной экспрессии данных транспортных белков, существует критическое ограничение такой стратегии — сложность в создании селективных блокаторов GLUT именно в

неопластических клетках. По этой причине изучение гликолитической функции продолжает расширяться, и на сегодняшний день было обнаружено, что интенсивность гликолиза в опухолевых клетках также имеет тесную корреляцию с активностью ключевых гликолитических ферментов — гексокиназы, 6-фосфофрукто-2-киназы и пируваткиназы (рисунок 5) (Fukushi et al., 2022), катализирующих необратимые стадии данного процесса, что делает нацеливание на них многообещающей стратегией для перестройки нарушенного метаболизма опухоли.

Гексокиназа — фермент, катализирующий первую стадию гликолиза, превращая глюкозу в глюкозо-6-фосфат. Лимитирующая роль данного фермента обусловлена его кинетическими свойствами, благодаря которым имеет превосходную степень сродства к глюкозе, что позволяет запускать процесс гликолиза даже во время низкого уровня глюкозы, играя ключевую роль в энергетическом метаболизме опухолевых клеток (Ciscato et al., 2021). Среди четырёх существующих изоформ гексокиназы млекопитающих на сегодняшний день хорошо известно о вкладе второго изофермента (HK2) в регуляцию защитных функций неопластических клеток (Garcia et al., 2019). В частности, было обнаружено, что эктопическая экспрессия гексокиназы 2 ослабляет апоптоз глюкозозависимым образом и является эффектором Akt-опосредованного выживания клеточной культуры фибробластов крысы (Gottlob et al., 2001). Кроме того, широкий спектр онкогенных эффектов HK2 показан при гепатоцеллюлярной карциноме (Jiao et al., 2018), злокачественной опухоли яичников (Tian et al., 2022; Zhang et al., 2018a), немелкоклеточном раке легкого (Yang et al., 2021b), карциноме простаты (Deng and Lu, 2015) и желудка (Rho et al., 2007), а также связан с рецидивами и неблагоприятным прогнозом *рака* молочной железы (Sato-Tadano et al., 2013; Zhang et al., 2019).

Было также показано, что обнаруженная в клеточной линии карциномы предстательной железы экспрессия гексокиназы 2, подвергшейся

сумоилированию, наряду с увеличением потребления глюкозы и продукции лактата, снижает митохондриальное дыхание, способствуя метаболическому перепрограммированию клеток и запуску антиапоптотических механизмов (Shangguan et al., 2021). Более того, реализация онкогенных функций гексокиназы может происходить и по альтернативному неметаболическому пути. В частности, в работе Wang и соавт. была обнаружена прямая корреляция между сверхэкспрессией HK2 и CD133 — ключевого маркера самообновления стволовых клеток при мелкоклеточном *раке* легкого независимо от гликолитической активности фермента (Wang et al., 2022b). Подобные свойства HK2 показаны на модели острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). Так, Thomas и соавт. показали, что взаимодействие HK2 с ядерными белками лейкемических стволовых клеток регулирует доступность хроматина к действию терапевтических агентов, способствуя тем самым развитию механизма химиорезистентности (Thomas et al., 2022).

6-Фосфофрукто-2-киназа — фермент, катализирующий ещё одну необратимую стадию гликолиза, которая представляет собой превращение фруктозо-6-фосфата в фруктозо-1,6-бисфосфат (Yi et al., 2019). Как и в случае большинства других гликолитических ферментов, активность и экспрессия 6-фосфофрукто-2-киназы нарушены при различных видах онкозаболеваний и сильно коррелируют с агрессивностью и плохим прогнозом. В частности, было обнаружено, что ген PFKFB3, кодирующий третью изоформу 6-фосфофрукто-2-киназы, являясь ключевым эффекторным белком трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), стимулирует гликолиз в клеточной линии карциномы поджелудочной железы Panc1, опосредуя тем самым эпителиально-мезенхимальный переход, необходимый для приобретения инвазивной способности клеток (Yalcin et al., 2017). Аналогичная ситуация и усиление эпителиально-мезенхимального перехода, опосредованного активацией передачи сигналов по пути NF- κ B, показаны при карциноме желудка, когда высокая экспрессия гена PFKFB3

положительно коррелирует с размерами опухоли, дифференцировкой, инвазией, метастазированием и выживаемостью пациентов (Lei et al., 2021). В работе Moon и соавт. было обнаружено, что конститутивная активация 6-фосфофрукто-2-киназы, обнаруживаемая в клетках L-лимфатической узловой карциномы предстательной железы, приводит к высокой скорости гликолиза и, как следствие, играет важную роль в стимуляции андроген-индуцированного липогенеза (Moon et al., 2011) — процесса, необходимого для пролиферации неопластических клеток (Zadra et al., 2019). Роль 6-фосфофрукто-2-киназы как активатора гликолитической перестройки неопластических клеток также показана и при онкопатологиях центральной нервной системы. Так, уровни гена PFKFB3 значительно выше в глиомах высокой степени злокачественности (G3 и G4 степени дифференцировки), чем в непатологических тканях головного мозга или при глиомах с G1 и G2 степенями дифференцировки (Alvarez et al., 2021).

Пируваткиназа — фермент, катализирующий третью физиологически необратимую реакцию гликолиза — превращение фосфоенолпирувата, с образованием одной молекулы пирувата и генерацией одной молекулы АТФ. Среди различных изоформ наибольшее внимание в качестве мишени для действия потенциальных терапевтических средств противоопухолевой направленности привлекает изоформа M2 (PKM2) из-за ее повышенной экспрессии в трансформированных клетках (Chen et al., 2011; Goldberg and Sharp, 2012). Ввиду того, что пируваткиназа M2 повсеместно экспрессируется во время эмбриогенеза и регенерации, нетрудно заметить, что её ферментативная активность крайне важна в активно пролиферирующих клетках, какими являются опухолевые (Zhu et al., 2021b). Будучи прогностическим и диагностическим маркером злокачественных новообразований, PKM2 играет критическую роль в поддержании метаболической программы неопластических клеток при немышечно-инвазивной и высокодифференцированной мышечно-инвазивной карциномах

мочевого пузыря (Xia et al., 2022), колоректальном раке (Yu et al., 2022), карциноме яичников (Zhou et al., 2022b) и других. Помимо участия в развитии солидных опухолей, оценка плазмы крови пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) и острой лимфобластной лейкемией (ОЛЛ) выявила значительно более высокие уровни РКМ2, величины которых отрицательно коррелировали с прогнозом выживаемости (Huang et al., 2021). Более того, в работе Wang и соавт. было обнаружено, что реализация онкогенных функций РКМ2 обусловлена не только способностью фермента усиливать гликолиз, но и опосредовать активацию аутофагии путем увеличения фосфорилирования ключевого белка инициации раннего этапа данного процесса Beclin-1 (Wang et al., 2019), способствуя выживанию клеток при ОМЛ.

Ввиду того, что воздействие на процесс гликолиза в целом и непосредственно гликолитические ферменты может повысить эффективность существующих на сегодняшний день стратегий лечения за счет сенсibilизации опухолевых клеток к терапии, селективное нацеливание на специфичные ферменты или изоформы ферментов является перспективным направлением для создания новых противоопухолевых препаратов.

1.3.3. Коррекция аномалий процесса окислительного фосфорилирования в митохондриях как перспективный терапевтический подход при создании нейропротекторных препаратов

В центральной нервной системе (ЦНС) метаболизм протекает в основном в спинномозговой жидкости, а его продукты проникают в паравенозное пространство и мозг через сложную систему дренирования, которая играет важную роль в нормальном функционировании ЦНС (Nikolenko et al., 2020). Непосредственно в нейрональных клетках поддержание целостности и функции митохондрий имеет наивысший приоритет, поскольку нейроны являются как ключевыми потребителями АТФ, так и обеспечивают её наибольший выход (Cobley et al., 2018). На

сегодняшний день существуют убедительные доказательства, демонстрирующие, что гипометаболизм головного мозга в результате нарушений окислительного фосфорилирования предшествует клиническим проявлениям нейродегенеративных состояний (Ardanaz et al., 2022). Это обеспечивает обоснование коррекции, направленной на метаболизм и митохондриальную функцию, как потенциальной стратегии, модифицирующей заболевание, блокируя его прогрессирование (Шевцова и др., 2018).

Анализ образцов головного мозга пациентов с различными формами патологий аффективного и нейродегенеративного характера обнаруживает нарушения митохондриальных функций в виде дисфункции транспорта электронов и окислительного фосфорилирования. В частности, НАДН-дегидрогеназный и цитохром-*c*-оксидазный комплексы особенно нарушены при биполярном расстройстве (Holper et al., 2019a; Holper et al., 2019b), шизофрении (Bergman et al., 2020; Rice et al., 2014), болезни Паркинсона (Gonzalez-Rodriguez et al., 2021; Yan et al., 2013) и болезни Альцгеймера (Dong and Brewer, 2019; Ohta and Ohsawa, 2006). Масштабное исследование Lunnon и соавт. (Lunnon et al., 2012) показало, что значительное снижение активности I комплекса наблюдается в образцах височной коры, полученных у пациентов с болезнью Альцгеймера, что сопровождается более низкой экспрессией субъединиц NDUFA1/4/7-9, NDUFB2/3/6 и NDUFS3/4/5 в крови. В то же время активность цитохром-*c*-оксидазы была ниже в лобной, моторной, затылочной, теменной и височной долях коры больших полушарий, а также в гиппокампальной области по сравнению с клинически здоровым контролем. Очевидно, что эти доли головного мозга потенциально вовлечены в снижение когнитивных функций при болезни Альцгеймера (Ahullo-Fuster et al., 2022; Berron et al., 2020; Fonseca et al., 2016; Jaroudi et al., 2017), что предполагает их критический вклад в нейродегенерацию. Так, в работе Perluigi и коллег (Perluigi et al., 2016) авторы сообщают о тесной корреляции уровня митохондриальной дисфункции с нейрональной гибелью

в гиппокампальной и полисенсорных областях неокортекса, а также энторинальной коре.

Нельзя недооценивать роль и трех других комплексов, сукцинатдегидрогеназы, цитохром-с-редуктазы и АТФ-синтазы, в формировании патологического фенотипа данных заболеваний, однако на сегодняшний день они изучены в гораздо меньшей степени по сравнению с комплексами I и IV. Тем не менее, интересные результаты были получены при параллельной оценке активности комплексов НАДН + цитохром с редуктазы в работе Francis и соавт. (Francis et al., 2014) у трансгенных мышей линии TgCRND8 в возрасте 45 недель. Авторам удалось выявить биоэнергетическую недостаточность в головном мозге животных, моделирующих болезнь Альцгеймера, заключающуюся в снижении активности комплексов I + III и нарушении уровня АТФ. Протеомное исследование образцов замороженных тканей головного мозга пациентов с данным нейродегенеративным расстройством выявило паттерн низкой активности комплексов I, III и АТФ-синтазы на ранних стадиях течения болезни Альцгеймера, в то же время нарушение функции цитохром-с-оксидазного комплекса наблюдалось на более поздних стадиях (Adav et al., 2019). В свою очередь исследование Emmerzaal с коллегами (Emmerzaal et al., 2018) показало возрастное снижение активности митохондриального комплекса II у мышей APP^{swE}/PS1^{ΔE9} в возрасте от 9 до 14 месяцев. Интересно, что наблюдаемые у животных данной линии когнитивные нарушения проявляются именно в данном возрастном интервале — 8-10 месяцев (Webster et al., 2013), что позволяет предположить критическую роль данной митохондриальной аномалии в снижении когнитивных функций при болезни Альцгеймера. Другое исследование показало параллельное с нарушением активности сукцинатдегидрогеназного комплекса снижение содержания АТФ в головном мозге у мышей APP/PS1 (Zhang et al., 2015b), подтверждая значительный вклад данного комплекса в энергетическую функцию митохондрий.

Остается дискуссионным вопрос о том, возникают ли аномалии в функционировании электрон-транспортной цепи митохондрий на самых ранних стадиях развития заболевания ещё до появления каких-либо гистопатологических отклонений, или они зависят от непосредственного влияния предшествующих патологических признаков, главным образом, токсических отложений β -амилоидного пептида ($A\beta$) (Николаева и др., 2022). То, как это взаимодействие между митохондриями и $A\beta$ влияет на патогенез болезни Альцгеймера, до сих пор в значительной степени неизвестно. Имеется значительное количество литературных данных о том, что $A\beta$, накапливаясь в митохондриальном матриксе, играет важную роль в коллапсе митохондрий и опосредованном дисфункцией данных органелл повреждении нейронов при болезни Альцгеймера (Deak et al., 2016; Kim et al., 2017; Manczak et al., 2011; Manczak et al., 2016). Токсичные формы β -амилоидного пептида за счет ингибирования ферментативной активности комплексов III и IV значительно ингибируют митохондриальное дыхание, тем самым снижая производство АТФ (Shi et al., 2014). Кроме того, было показано, что $A\beta$ колокализуется с α -субъединицей АТФ-синтазы в коре и гиппокампальной области головного мозга мышей, моделирующих болезнь Альцгеймера, приводя к снижению внеклеточных уровней АТФ в результате повреждения электрон-транспортной цепи и, как следствие, повышенной долговременной депрессии в синапсах (Yamazaki and Fujii, 2015). В то же время хорошо доказана обратная ситуация, когда дисфункция митохондрий, напротив, провоцирует токсичность $A\beta$ (Leuner et al., 2012; Recuero et al., 2010). В частности, в работах Emmerzaal (Emmerzaal et al., 2018) и Djordjevic (Djordjevic et al., 2020) снижение активности комплекса II у модельных животных APP/PS1 и уровней белков во всех пяти субъединицах комплексов электронной-транспортной цепи у мышей 3xTg наблюдались ещё до появления β -амилоидных бляшек, обнаруживаемых в более позднем возрасте. Кроме того, критическая роль нарушения активности НАДН-дегидрогеназы в патологических механизмах $A\beta$ доказана на клеточной модели SH-SY5Y,

сверхэкспрессирующей шведскую мутацию белка-предшественника амилоида человека, где ротенон-вызванная дисфункция митохондриального комплекса I усиливала β -амилоидную токсичность (Joh and Choi, 2017), давая возможность рассматривать митохондриальную дисфункцию в качестве отправной точки амилоидного каскада.

Литература также богата примерами, свидетельствующими о синергизме другого биомаркера болезни Альцгеймера, фосфорилированного тау-протеина, и дефектов в комплексах электрон-транспортной цепи в формировании патогенеза данного заболевания (Lasagna-Reeves et al., 2011). На *in vivo* модели генно-модифицированных животных, сверхэкспрессирующих мутантный тау-белок человека P301L, накопление гиперфосфорилированного тау приводило к снижению активности НАДН-дегидрогеназного комплекса и нарушению выработки АТФ (David et al., 2005). Позднее Rhein и соавт. доказали тау-зависимое нарушение регуляции комплекса I у трансгенных мышей в возрасте 8 месяцев линии pR5 (Gotz et al., 2001) с аномально фосфорилированным белком (Rhein et al., 2009), подтверждая тем самым тесную взаимосвязь между двумя основными патологическими особенностями болезни Альцгеймера. В свою очередь в работе Yamada с коллегами (Yamada et al., 2014) было показано, что введение ингибитора митохондриального комплекса I аннонацина трансгенным мышам, экспрессирующим мутацию R406W-tau, приводило к увеличению количества нейронов с гиперфосфорилированным тау-белком в лобной и теменной долях, а также гиппокампальной области головного мозга.

Однако вне зависимости от того, какой процесс носит функцию триггера, на сегодняшний день имеются крайне весомые аргументы, доказывающие, что нарушение окислительного фосфорилирования вызывает общий биоэнергетический кризис в нейронах, приводящий к гибели клеток при нейродегенеративных состояниях. В связи с тем, что нормальная функция нейрональных клеток требует хорошо скоординированных механизмов, для которых, в свою очередь, необходимо соответствующее

обеспечение энергетическими субстратами, акцентирование внимания на данном патологическом процессе как терапевтической мишени является рациональным направлением при разработке потенциальных нейропротекторных препаратов.

1.3.4. Химические модуляторы сдвигов клеточного метаболизма при онкологии и нейродегенеративных расстройствах

Нацеливание на процесс гликолиза является привлекательным для терапевтического вмешательства при лечении злокачественных новообразований. На сегодняшний день существует несколько подходов к модуляции метаболизма в опухолевых клетках (таблица 3).

Таблица 3 — Терапевтический потенциал перспективных модуляторов гликолитической функции

Терапевт. агент	Ключевая мишень	Молекулярные механизмы действия	Прогностическая значимость	Заболевание
WZB117	GLUT1	Остановка клеточного цикла, некротическая гибель неопластических клеток	Уменьшение размера опухоли у мышей NU/J nude с моделью ксенотрансплантата (Liu et al., 2012b)	НМРЛ
			Снижение жизнеспособности клеток (Peng et al., 2019b)	НБ
		Препятствие самообновлению стволовых клеток	Ингибирование инициации опухоли у мышей BALB/ cAJcl-nu/nu с моделью ксенотрансплантата (Shibuya et al., 2015)	КПЖЖ
		Блокирование оси STAT3/РКМ2	Преодоление лекарственной устойчивости к действию апатиниба (Zhang et al., 2022b)	Меланома
		Активация АМПК, блокирование пути mTOR,	Повышение чувствительности клеток к адриамицину и радиации (Chen et al.,	РМЖ

		увеличение транслокации Вах и Bcl-2 в митохондрии	2017; Zhao et al., 2016)	
		Снижение фосфорилирования АКТ и экспрессии Bcl-2	Препятствие резистентности к действию иматиниба (Zhang et al., 2022b)	ГИСО
GRg3	GLUT1, GLUT4	Ингибирование пути IL-6/STAT3/p-STAT3, подавление КСМП, снижение количества ОАФ и коллагеновых волокон микроокружении опухоли, апоптотическая гибель клеток	Преодоление лекарственной устойчивости к паклитакселу в <i>in vivo</i> модели ксенотрансплантата (Zhu et al., 2023)	РМЖ
		Снижение уровня маркера интенсивной пролиферации клеток AKR1C1	Индукция клеточной гибели, преодоление лекарственной устойчивости к действию бортезомиба (Klippel et al., 2012)	ММ
Метил-жасмонат	HK2	Открытие митохондриальной поры перехода проницаемости вследствие диссоциации комплекса HK2/VDAC1, запуск апоптотической гибели клеток	Повышение чувствительности клеток к 5-фторурацилу, адриамицину и сорафенибу у мышей с моделью ксенотрансплантата (Li et al., 2017b)	ГЦК
ЗРО	PFKFB3	Снижение экспрессии сурвивина, c-IAP1 и c-IAP2, активация	Индукция клеточной гибели (Jiang et al., 2022)	ЭКЯ

		сигнального пути, опосредованного NF-κB		
Шиконин	PKM2	Запуск апоптотической гибели клеток в результате снижения экспрессии Bcl-2	Усиление терапевтического эффекта цисплатина (Dai et al., 2022; Wang et al., 2018c)	РМП
		Ингибирование секреции экзосом		НМРЛ
		Повреждение ДНК, снижение экспрессии BRCA1	Повышение чувствительности клеток к действию олапариба (Zhou et al., 2022b)	ЭКЯ
		Ингибирование сигнального пути PKM2/STAT3	Снижение роста опухоли в <i>in vivo</i> модели ксенотрансплантата (Zhang et al., 2021e)	ПКП

Одной из наиболее очевидных стратегий является применение агентов, блокирующих глюкозный транспортер GLUT, благодаря чему удаётся предотвратить поступление глюкозы в клетку и нарушить гликолитический путь.

Чуть больше 10 лет назад Liu с коллегами был идентифицирован низкомолекулярный ингибитор GLUT1 WZB117 (Liu et al., 2012b), исследования противоопухолевой активности которого продолжаются и на сегодняшний день. За это время исследовательским коллективам удалось обнаружить для WZB117 широкий спектр антинеопластических свойств на различных моделях злокачественных новообразований. В частности, в первой работе (Liu et al., 2012b) авторы сообщили, что данное соединение посредством блокирования GLUT1 лишает трансформированные клетки глюкозы в качестве источника получения энергии и снижает уровни внутриклеточного АТФ и гликолитических ферментов, что сопровождается остановкой клеточного цикла и некротической гибелью неопластических

клеток. Всё это опосредовало уменьшение размера опухоли у мышей NU/J nude с моделью ксенотрансплантата немелкоклеточного рака лёгких более чем на 70%. Аналогичные свойства WZB117 были показаны и при оценке влияния соединения на регуляцию метаболизма и жизнеспособности клеточной линии нейробластомы (Peng et al., 2019b). Так, обработка SH-SY5Y WZB117 за счёт воздействия на GLUT1 снижала содержание гликолитических метаболитов и АТФ, индуцировала остановку клеточного цикла и запуск гибели клеток по пути некроза. Примечательно, что будучи специфическим ингибитором GLUT1, WZB117 также препятствует самообновлению раковых стволовых клеток (Shibuya et al., 2015), одним из характерных свойств которых является интенсивный гликолиз (Sancho et al., 2016).

Годами позже спектр положительных свойств WZB117 был расширен, о чём свидетельствует ряд работ, посвящённых его хемосенсибилизирующим свойствам (Chen et al., 2017; Li et al., 2019b; Liu et al., 2014; Yakisich et al., 2019; Zhao et al., 2016), поскольку хорошо известно об участии GLUT1 в развитии лекарственной устойчивости (Ancey et al., 2021; Sun et al., 2021b). В частности, использование WZB117 позволило клеткам рака толстой кишки преодолеть резистентность к действию 5-фторурацила (Liu et al., 2014); адриамицина (Chen et al., 2017) и облучения (Zhao et al., 2016) в случае клеток рака молочной железы человека MCF-7/ADR и MDA-MB-231/MCF-7, соответственно; иматиниба при желудочно-кишечных стромальных опухолях (Shima et al., 2022); а также апатиниба в отношении клеток меланомы человека A375 и SK-MEL-28 (Zhang et al., 2022b).

Для гинзенозида GRg3, полученного из женьшеня *Panax*, была обнаружена способность приводить к значительному снижению сверхэкспрессируемых в опухолевых клетках HGC-27 (полученных из метастатического лимфатического узла карциномы желудка) и AGS (атипичных железистых клетках рака желудка) белков GLUT1 (~ 50%) и GLUT4 (~ 40%) (Zeng et al., 2022). Очевидно, это может быть одним из

возможных механизмов, обнаруженных ранее для GRg3 противоопухолевых свойств. Интересно, что в недавно опубликованном исследовании Zhu и соавт. (Zhu et al., 2023) GRg3 был использован в качестве активного компонента для создания уникальных липосом, нагруженных известным цитостатиком паклитакселом (Rg3-PTX-LP). В целом, подход использования наноносителей для химиотерапевтических агентов является перспективным и помогает преодолеть ряд нежелательных эффектов (Klochkov et al., 2021; Sukocheva et al., 2022b). Так, благодаря нацеливанию GRg3 на GLUT1 (Chen et al., 2022c), авторам удалось обратить вспять резистентность клеток опухолевого происхождения MCF7/T к паклитакселу и достичь более 90% ингибирования опухоли.

В исследовании (Chen et al., 2022c) благодаря комплексному анализу *in vitro* и *in vivo* противоопухолевых свойств SMI277 — нового модулятора GLUT1, авторам удалось обнаружить высокую ингибирующую способность соединения в отношении процесса поглощения глюкозы, что подтверждалось снижением продукции лактата. Такой механизм действия SMI277 эффективно препятствует пролиферации и запускает апоптотическую гибель трансформированных клеток, что в экспериментах *in vivo* на мышинной модели сопровождается уменьшением размера опухоли более чем на 50%.

Исходя из вышеописанного, нетрудно заметить, что существующие на сегодняшний день ингибиторы GLUT находятся на достаточно начальных стадиях исследования их противоопухолевых свойств. До сих пор FDA не было одобрено ни одного препарата-модулятора GLUT, а их разработка и внедрение в клиническую практику остаются серьёзными проблемами ввиду повсеместной экспрессии данных белков и невозможности нацеливания только на локализованные в опухолевых клетках GLUTs. Это обуславливает использование альтернативных подходов в модуляции метаболизма злокачественных новообразований, среди которых многообещающим

является воздействие на упомянутые в предыдущем подразделе ключевые гликолитические ферменты.

В качестве одного из перспективных ингибиторов гексокиназы 2 не так давно активно рассматривался лонидамин, прошедший третью фазу клинических испытаний, но так и не внедрившийся в клиническую практику ввиду высокой системной токсичности (Nath et al., 2016). Однако до сих пор литература богата экспериментальными данными, полученными при исследовании противоопухолевых свойств производных лонидамина. Введение в структуру металлоорганического рутениевого каркаса лонидаминового мотива привело к значительному усилению цитотоксических свойств в отношении клеточной линии MCF7, опосредованной активацией апоптотических каспаз (Shutkov et al., 2023). А объединение в одной молекуле цисплатина, тегафура и лонидамина демонстрирует превосходные цитотоксические свойства на клеточной линии тройного негативного рака молочной железы за счёт повреждения ДНК и нарушения метаболического состояния клеток (Muhammad et al., 2020).

В литературе хорошо описана роль жасмонатов в ингибировании гексокиназы 2 и, как следствие, реализации ими противоопухолевых эффектов (Goldin et al., 2008). В частности, применение его производного метилжасмоната представляет собой многообещающую стратегию для лечения множественной миеломы (Klippel et al., 2012). Так, обработка соединением клеток, полученных у пациентов с данным заболеванием, приводила к нарушению активности НК2, снижению выработки АТФ и последующей гибели вследствие дисфункции внутриклеточных онкогенных сигнальных путей. Такие свойства метилжасмоната побудили исследователей к рассмотрению возможности его использования в качестве адъювантной терапии. В работе Klippel и соавт. (Klippel et al., 2012) комбинация метилжасмоната с бортезомибом, являющимся известным ингибитором протеасом (Fricker, 2020), продемонстрировала синергизм действия на клеточных моделях множественной миеломы MM.1S и INA-6, что может

свидетельствовать о перспективности использования данного агента в терапии гематологических заболеваний. Хемосенсибилизирующие свойства метилжасмоната также были показаны и при его сочетании с 5-фторурацилом, адриамицином и сорафенибом при терапии гепатоцеллюлярной карциномы (Li et al., 2017b). Особый интерес представляют результаты, полученные в работе (Klippel et al., 2012), где авторам удалось обнаружить, что ингибирующее действие метилжасмоната на процесс гликолиза является селективным именно в отношении клеток опухолевого происхождения, что объясняет отсутствие выраженных повреждений печени, лёгких и почек и является безусловным преимуществом для будущего клинического применения.

Существует относительно небольшой пул данных об ингибиторах двух других ключевых ферментов гликолиза — 6-фосфофрукто-2-киназы и пируваткиназы. Тем не менее, в работе Jiang и соавт. (Jiang et al., 2022) (2E)-3-(3-пиридинил)-1-(4-пиридинил)-2-пропен-1-он (ЗРО), являясь модулятором активности PFKFB3, привёл к снижению продукции лактата и экспрессии антиапоптотических белков сурвивина, с-IAP1 и с-IAP2, а также активации сигнального пути, опосредованного NF-κB, приводя к гибели клеток рака яичников A2780SP. Химиотерапевтический потенциал ЗРО был также подтверждён в исследовании (Clem et al., 2008), где ингибирование PFKFB3 привело к эффективному подавлению пролиферации ряда клеточных линий опухолевого происхождения, что сопровождалось снижением внутриклеточных концентраций фруктозо-2,6-бисфосфата, лактата и АТФ. Несмотря на вышеописанные положительные свойства ЗРО, механизм ингибирующего им PFKFB3 действия находится под сомнением, поскольку в недавних исследованиях было обнаружено, что данный агент не взаимодействует с PFKFB3, а проявляемые им эффекты могут быть обусловлены вовсе не действием на данный фермент (Boyd et al., 2015; Emini Veseli et al., 2020). Это задаёт направление для новых работ в области конструирования селективных модуляторов 6-фосфофрукто-2-киназы,

благодаря чему был создан AZ67 (Emini Veseli et al., 2021), уникальность которого объясняется тем, что благодаря целенаправленному связыванию с PFKFB3, AZ67 в критически низких дозах реализует антиангиогенный эффект без влияния на гликолиз.

Около 100 публикаций обнаруживается в поисковой системе PubMed при обработке запроса “shikonin-pkm2”, благодаря чему удаётся всесторонне проанализировать полученные коллективами авторов многообещающие результаты ингибирования данным представителем изоформы M2 пируваткиназы и связанные с ним терапевтические эффекты. Среди наиболее примечательных — работа Wang и соавт. (Wang et al., 2018c), в которой благодаря добавлению шиконина в стандартную схему лечения рака мочевого пузыря, при котором убедительно доказана сверхактивация РКМ2, авторам удалось добиться усиления терапевтического эффекта цисплатина в устойчивых к цитостатику клетках T24. Такая способность шиконина приводить к гибели клеток по пути некроза или апоптоза сопровождалась нарушениями в регуляции белков семейства Bcl-2. Аналогичный эффект был также показан на модели немелкоклеточного рака легкого, где повышение чувствительности к цисплатину шиконином может быть обусловлено ингибированием секреции экзосом (Dai et al., 2022) — непосредственных участников в формировании резистентного фенотипа опухолевых клеток (Mashouri et al., 2019). А подавление пируваткиназной активности шиконином в модели рака яичников усиливало противоопухолевые свойства олапариба (Zhou et al., 2022b), вновь подтверждая адьювантный потенциал продукта природного происхождения. В свою очередь оценка эффектов шиконина при плоскоклеточной карциноме пищевода в *in vivo* модели ксенотрасплантата показала способность агента препятствовать пролиферации клеток посредством блокирования РКМ2 и, как следствие, аэробного гликолиза за счёт регуляции сигнального пути РКМ2/STAT3 (Zhang et al., 2021e). Обнаруженный для шиконина пул данных,

описывающий современное состояние исследований его противоопухолевых свойств за счёт РКМ2-ингибирующей способности, позволяет надеяться на стремительное внедрение этого агента в доклинические и клинические испытания с целью подтверждения его фармакологической перспективности и вывода на рынок нового лекарственного препарата с перспективным терапевтическим профилем.

Как было сказано ранее, нарушения энергетического метаболизма являются характерной особенностью широкого спектра заболеваний, особенно нейродегенеративных расстройств. Центральной мишенью для действия терапевтических средств с нейропротекторным типом активности являются митохондрии, дисфункция которых участвует в различных патологических каскадах при НДЗ. При этом на первый взгляд очевидной кажется концепция усиления митохондриальной биоэнергетики посредством активации работы комплексов электрон-транспортной цепи. В частности, для метаболита соевого изофлавона даидзеина *S*-эквиола была обнаружена способность потенцировать функции митохондрий головного мозга за счёт положительной регуляции активности комплекса IV (Wilkins et al., 2017), что напрямую коррелирует с защитным действием соединения при моделировании А β -индуцированной нейротоксичности (Tsai et al., 2019).

Однако не менее интересным подходом при разработке нейропротекторных препаратов является создание лекарственных средств с обратной функцией — так называемых “мягких” ингибиторов митохондриального дыхания. Положительные эффекты, проявляемые такими агентами, могут быть обусловлены двумя явлениями: (1) снижением выработки митохондриальных АФК и (2) развитием адаптационных механизмов, приобретаемых органеллами в ответ на своего рода положительный мобилизующий стресс. Одним из наиболее ярких примеров таких соединений является препарат с антигипергликемической активностью — метформин. Будучи обратимым ингибитором активности НАДН-

дегидрогеназного комплекса, метформин приводит к индукции шаперон-опосредованной аутофагии у трансгенных мышей линии APP/PS1, что опосредует снижение количества отложений A β в головном мозге и препятствует развитию патологического поведенческого фенотипа (Xu et al., 2021b). Более того, на сегодняшний день уже проведен ряд клинических испытаний, направленных на оценку влияния метформина на когнитивные функции пациентов. В частности, в метаанализе, выполненном Zhang и соавт. (Zhang et al., 2020c), было обнаружено, что данный препарат значительно улучшал нейроповеденческий профиль пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Таким образом, основываясь на вышесказанном можно сделать вывод, что ряд исследований действительно продемонстрировал эффективность терапевтического подхода, заключающегося в модуляции метаболических сдвигов при злокачественных новообразованиях и нейродегенеративных расстройствах, тем самым подтвердив его научное обоснование. Однако до сих пор доклиническая и клиническая оценка модуляторов метаболизма для лечения данных заболеваний находится в относительно зачаточном состоянии, что только усиливает интерес в продолжении исследований с целью изучения потенциала терапевтических возможностей. Уже сейчас можно быть уверенным в том, что разработка высокоспецифичных лекарственных агентов, нацеленных на метаболизм трансформированных клеток при онкопатологиях и нейронов при нейродегенеративных расстройствах создаст абсолютно новый арсенал средств для борьбы с данными заболеваниями.

Подводя итоги работы по анализу литературных данных о важных молекулярных механизмах, которые одновременно способствуют развитию и нейродегенеративных, и онкологических патологий, мы прежде всего постарались повысить осведомлённость исследователей о возможной взаимосвязи данных социально значимых заболеваний, а также дать обзор текущих тенденций в исследованиях и клиническом применении наиболее

перспективных терапевтических платформ различной химической структуры, что может способствовать разработке как передовых диагностических инструментов, так и инновационных методов лечения данных болезней. Кроме того, мы попытались на основе сформулированной гипотезы о единстве ранних этапов патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний построить дальнейшее экспериментальное исследование, касающееся поиска новых эффективных кандидатов в лекарственные препараты противоопухолевой или нейропротекторной направленности.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Лабораторные животные, использованные в работе

Для всех экспериментов с использованием лабораторных животных были оформлены протоколы-заявки на проведение биоэтической экспертизы исследования на животных, одобренные Комиссией по биоэтике ИФАВ РАН (ФГБУН ФИЦ ПХФ и МХ РАН). Номера протоколов указаны в соответствующих публикациях.

- Животные, использованные для выделения митохондрий печени и мозга и гомогената мозга: 3-х месячные самцы нелинейных крыс Wistar весом 200-300 г.

- Животные, использованные для экспериментов *in vivo* по изучению противоопухолевой активности соединений: мыши линии BDF1 в возрасте 2-3 месяцев весом 21-24 г.

- Животные, использованные для изучения нейропротекторного действия *in vivo*: мыши-самцы линий C57BL6/j и 5xFAD в возрасте 11 и 13 месяцев. Трансгенные мыши 5xFAD (Tg(APP^{SwF1L}on, PSEN1*^{M146L}*^{L286V}) 6799VAs/J) содержат в своем геноме пять мутаций, три из которых в гене, кодирующем белок APP, и две – в гене пресенилина, обнаруживаемые при наследственной форме БА.

- Животные, использованные для изучения антипаркинсонического действия *in vivo*: половозрелые мыши самцы линии C57BL6/j в возрасте 14 недель.

Все животные содержались в стандартных условиях: 12-ти часовая смена дня/ночи, постоянная температура ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) и свободный доступ к воде и пище.

2.2. Приготовление биообразцов

Гомогенат мозга крыс

Крыс наркотизировали в CO₂-камере с последующей декапитацией с помощью гильотины («Open Science», Москва). Извлеченный мозг

промывали в буфере (120 мМ KCl и 20мМ HEPES, pH 7,4) с дальнейшей гомогенизацией (гомогенизатором Поттера) в этом же буфере. Гомогенат центрифугировали при 1500 об/мин в течение 15 минут, после чего отбирали супернатант и хранили на льду не более 1 часа до проведения эксперимента.

Митохондрии печени крыс

Митохондрии печени выделяли общепринятым методом дифференциального центрифугирования в соответствии с методикой, описанной ранее (Neganova et al., 2022a). Все этапы выделения митохондрий проводили на льду. Крысу, предварительно наркотизированную в камере с CO₂, декапитировали гильотиной, затем аккуратно производили забор печени и помещали ее в ледяной буфер для промывания от избытка крови (225 мМ маннитола (Диаэм, Россия), 75 мМ сахарозы (Sigma Aldrich, Saint Louis, США), 10 мМ HEPES (Диаэм, Россия), 0,5 мМ ЭГТА (Диаэм, Россия) и 0,5 мМ ЭДТА·2Na (Диаэм, Россия) и 1 мг/мл бычьего сывороточного альбумина (Boval BioSolutions/ Sigma Aldrich, Saint Louis, США), pH = 7,4), после чего мелко измельчали с дальнейшей гомогенизацией в этом же буфере с помощью гомогенизатора Поттера. Гомогенат печени центрифугировали при 4 °С и 1500 об/мин в течение 13 минут, после чего с поверхности полученного супернатанта отбирали излишки жира, переносили супернатант в новую пробирку и снова центрифугировали при 10570 об/мин в течение 13 минут. Образовавшийся осадок в виде митохондриальной фракции ресуспендировали в буфере, содержащем 225 мМ маннитола (Диаэм, Россия), 75 мМ сахарозы (Sigma Aldrich, Saint Louis, USA), 10 мМ HEPES (Диаэм, Россия), 20 мкМ ЭГТА (Диаэм, Россия) и 1 мг/мл бычьего сывороточного альбумина (Boval BioSolutions/Sigma Aldrich, Saint Louis, США), pH = 7,4. Изолированные митохондрии во время эксперимента хранили на льду при 4°С в течение 3 часов, чтобы гарантировать высококачественный свежий митохондриальный препарат.

Митохондрии мозга крыс

Митохондрии мозга крыс получали центрифугированием в градиенте плотности Перколла по методу Sims (Sims, 1990). Мозг быстро извлекали (выше мозжечка) после декапитации крысы, помещали на ледяную чашку Петри, освобождали от оболочки и помещали в ледяной буфер выделения (маннитол 225 мМ, сахароза 75 мМ, HEPES 10 мМ, ЭГТА 0,5 мМ, ЭДТА*2К 0,5 мМ, рН 7.4) — БВ. Все операции по выделению митохондрий проводили при 4 °С. Мозг измельчали ножницами, промывали буфером выделения и суспендировали в БВ, затем гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера (тефлон:стекло) при 900 об/мин. Гомогенат центрифугировали 5 минут при 1300 g. Супернатант аккуратно декантировали, и оставляли на льду, а осадок гомогенизировали в половине начального объёма и повторяли центрифугирование. Супернатанты объединяли и центрифугировали 10 минут при 21500 g, супернатант декантировали и отбрасывали, а осадок ресуспендировали в 10 мл (на 1 г мозга) 15% перколла, разведенного в БВ, и наносили по 3 мл на заранее сформированные непосредственно перед нанесением градиенты, состоящие из 3,5 мл 40% и 3 мл 26% перколла. Пробирки центрифугировали 15 минут при 31000 g, после чего осторожно отбирали фракцию митохондрий, расположенную между двумя нижними слоями градиента, разводили 1:4 в БВ, тщательно перемешивая. Митохондрии осаждали центрифугированием 10 минут при 17000 g. Супернатант осторожно отбирали, осадок вновь тщательно ресуспендировали в буфере отмывания (225 мМ маннитол, 75 мМ сахароза, 5 мМ HEPES, ЭГТА 10 мМ, ЭДТА 20 мкМ, рН 7.4) — БО, + 0,5% альбумин. Центрифугировали 10 минут при 7000 g и полученный осадок ресуспендировали в минимальном объёме БО. Выход митохондрий составил 8-10 мг на мозг. Митохондрии хранили при 4 °С в пластиковой посуде. Функциональная активность органелл сохранялась в течение 2,5-4 часов.

Количественное определение белка в биологических образцах

Количественное определение белка проводили с использованием

микробиуретового метода (Gornall et al., 1949). К исследуемым образцам добавляли биуретовый реагент (Supelco[®], США) и 0,5% дезоксихолат натрия (Sigma Aldrich, Сент-Луис, США) с последующим инкубированием 15 минут при температуре 37 °С. В контрольные лунки добавляли равный объём дистиллированной воды. После термостатирования измеряли оптическую плотность с помощью планшетного ридера Victor 3 (Perkin Elmer) при длине волны 540 нм. Интенсивность фиолетовой окраски комплексов, которые формируются при реакции меди II с пептидными связями в щелочной среде, пропорциональна содержанию белка в растворе.

Клеточные линии

Культуры клеток человека Jurkat (Т-лимфобластная лейкемия), HeLa (карцинома шейки матки), SH-SY5Y (нейробластома), HEK-293 (эмбриональная почка человека), PA-1 (феохромочитома человека), Her-2 (эпидермоидная карцинома гортани), A549 (карцинома легкого) были предоставлены ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина» и ФГБУН «Институт цитологии Российской академии наук». Клеточные линии были отрицательными в отношении контаминации микоплазмой и культивировались в средах DMEM (Gibco, Scotland, UK) и RPMI-1640 (Gibco, Scotland, UK) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (ThermoFisher Scientific, Paisley, UK), глутамакса (2мМ), пенициллина-стрептомицина (1% по объему, ПанЭко, Россия) в контролируемых условиях (37 °С, 5% CO₂, 95% влажности). Пассаж клеток проводили каждые 2-3 дня и поддерживали в фазе экспоненциального роста.

Получение резистентной к цисплатину клеточной линии карциномы шейки матки человека HeLa/CDDP осуществлялось путем «пошагового» увеличения доз цитостатика. Для этого каждые 3-4 дня клетки обрабатывали низкими концентрациями цитостатика (0,5 - 1 - 5 - 10 - 15 - 25 мкМ). Каждую дозу цисплатина вводили 7 раз, предварительно осуществляя пересев культуры. Для поддержания устойчивого к цитостатику фенотипа

резистентные клетки культивировали в среде, содержащей 10 мкМ цисплатина.

2.3. *In vitro* методы исследования

Перекисное окисление липидов

Интенсивность процесса перекисного окисления липидов оценивали с помощью модифицированного ТБК-теста (Неганова и др., 2011б), в основе которого лежит реакция 2-тиобарбитуровой кислоты с малоновым диальдегидом, конечным продуктом ПОЛ, результатом которой является образование розового триметинового комплекса. В качестве инициаторов реакции использовали 0,5 мМ Fe(II) или 1,6 мМ *трет*-бутилгидропероксид (т-БГП). К гомогенату мозга крысы (2 мг/мл) добавляли исследуемые вещества и окислитель, после чего пробы термостатировали 30 минут при 37 °С. В лунках негативного контроля окислитель заменяли на воду, а в пробах с позитивным контролем вместо исследуемых соединений вносили растворитель. По окончании инкубации в каждую лунку добавляли ТБК-реактив (смесь 0,25 М тиобартитуровой и 1% трихлоруксусной кислот, растворенных в 0,25 Н HCl) и нагревали при температуре 90°С в течение 90 минут. После этого центрифугировали 20 минут при 6000 об/мин, отбирали супернатант и измеряли оптическую плотность на планшетном ридере Victor 3 (Perkin Elmer) при длине волны 540 нм. Для активных производных рассчитывали величину IC₅₀.

Антирадикальная активность

Спектрофотометрический анализДФПГ основан на способности окисленной формыДФПГ поглощать свет с длиной волны 517 нм, при этом окисленная форма радикала имеет темно-фиолетовый цвет, а его восстановленная форма обесцвечивается до прозрачного бледно-желтого раствора. Согласно методу (Huang et al., 2002) способность исследуемых производных поглощать радикалы 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (ДФПГ, Sigma Aldrich, Сент-Луис, г. Миссури, США) измеряли следующим образом:

к аликвотам изучаемых соединений вносили этанольный раствор ДФПГ (250 мкМ), после чего оставляли планшет в темном месте на 30 мин при комнатной температуре. Измерение оптической плотности восстановленного ДФПГ проводили на планшетном анализаторе Cytation3 (BioTek Instruments, США) при $\lambda = 517$ нм. Было проведено три повторения для каждой концентрации вещества.

Анализ способности веществ к поглощению радикалов кислорода проводили по методу, описанному в работе (Kim and Kim, 2020), с некоторыми модификациями. В 96-луночный черный планшет с прозрачным дном вносили исследуемые соединения (100 мкМ), тролокс, который использовали в качестве стандартного антиоксиданта, и флуоресцеин (80 нМ). Полученную смесь перемешивали и помещали в термостат на 30 мин при 37 °С. После 30-минутного периода инкубации к пробам вводили раствор 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорида (AAPH) в концентрации 12 мМ. Интенсивность флуоресценции регистрировали на многофункциональном планшетном анализаторе Cytation™ 3 (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA) в течение 5 часов при $\lambda_{ex} = 480$ нм, $\lambda_{em} = 520$ нм с интервалом каждые 5 мин.

Fe(II)-хелатирующая активность

Способность соединений хелатировать Fe(II) изучали с помощью метода, основным принципом которого является конкурентное связывание веществ-хелаторов и феррозина ((3-(2-пиридил)-5,6-бис(4-фенилсульфоновая кислота)-1,2,4-триазин)) с ионами железа (Клочков и др., 2014). Исследуемые вещества в концентрациях 1, 10, 30, 100 и 300 мкМ добавляли к 96% этиловому спирту, после чего к полученной смеси вносили 50 мкМ раствор FeSO₄. Планшет инкубировали при температуре 22-25 °С в течение 5 мин, по истечении которых в пробы добавляли 250 мкМ раствор феррозина и оставляли еще на 15 минут в тех же условиях, а затем измеряли оптическую плотность при $\lambda = 562$ нм на планшетном анализаторе Cytation™3 (BioTek Instruments, Inc., США).

Ca²⁺-индуцированное набухание изолированных митохондрий

Скорость набухания митохондрий, которая указывает на возникновение перехода митохондриальной проницаемости, определяли по Neganova et al., 2016 изменению оптической плотности митохондриальной суспензии при 530 нм в соответствии с процедурой, описанной в работе (). Свежевыделенные митохондрии печени крысы (0,5 мг/мл) суспендировали в буфере (225 мМ маннитол, 75 мМ сахароза, 10 мМ HEPES, 20 мкМ ЭГТА, 1 мкМ ротенон, 5 мМ сукцинат калия и 1 мМ K₂HPO₄, pH=7,4). Полученную суспензию вносили в 96-луночный планшет в трех повторах для каждого вещества и контроля, добавляли 25 мкМ CaCl₂ в качестве инициатора набухания и регистрировали показатели светопропускания на ридере Victor 3 (Perkin Elmer, США) при $\lambda = 540$ нм.

Трансмембранный потенциал митохондрий

Для изучения мембранного потенциала митохондрий ($\Delta\psi$) использовали катионный липофильный флуоресцентный краситель Сафранин А (Sigma Aldrich, США), который проникает через внутреннюю мембрану и накапливается в поляризованном митохондриальном матриксе. Изолированные митохондрии печени крысы (0,5 мг/мл) суспендировали в буфере (225 мМ маннитол, 75 мМ сахароза, 10 мМ HEPES, 20 мкМ ЭГТА, 1 мкМ ротенон и 1 мМ K₂HPO₄, pH=7,4), а затем к полученной суспензии добавляли Сафранин А (5 мкМ). После 5 минут измерения флуоресценции в пробы вносили раствор сукцината калия в концентрации 5 мМ с целью энергизации митохондрий. Для открытия митохондриальных пор перехода проницаемости мембраны и полной диссипации потенциала вносили CaCl₂ (25 мкМ). Интенсивность флуоресценции регистрировали с помощью планшетного ридера (Victor 3, PerkinElmer, США) при $\lambda_{ex} = 485$ нм и $\lambda_{em} = 590$ нм при 25°C (Neganova et al., 2022a).

Исследование митопротекторного действия Д 1 и Д 2 на трансмембранный потенциал митохондрий проводили по следующей схеме: к разведенным в буфере (225 мМ маннитол, 75 мМ сахароза, 10 мМ HEPES,

20 мкМ ЭГТА и 1 мМ K_2HPO_4 , pH=7,4) митохондриям с добавленной флуоресцентной меткой сафранином А вносили исследуемые соединения в диапазоне концентраций от 10 до 50 мкМ. По завершении 5 минут инкубации проводили первоначальное измерение продолжительностью 10 циклов. После этого в лунки вносили глутамат натрия и малат натрия (5 мМ), регистрировали флюоресценцию в течение 30 циклов до наступления устойчивой поляризации мембраны митохондрий. Ротенон добавляли во все лунки трижды пульсами по 10 нМ, измеряя 20 циклов для каждого добавления. Открытие митохондриальных пор перехода проницаемости мембраны и полную диссипацию потенциала вызывали 25 мкМ CaCl_2 (Aleksandrova et al., 2023b).

Агрегация β -амилоидного пептида

Влияние исследуемых соединений на агрегацию бета-амилоидного пептида оценивали с помощью флуоресцентного анализа связывания белка с тиофлавином Т. Флуоресценцию измеряли на Cytation™ 3 (BioTek Instruments, Inc., США) при $\lambda_{\text{ex}} = 450$ нм и $\lambda_{\text{em}} = 480$ нм, соответственно. Интенсивность флуоресценции раствора без $\text{A}\beta_{1-42}$ вычитали из значений флуоресценции растворов, содержащих белок, из-за необходимости вычитания фоновой флуоресценции. С подробным описанием метода можно ознакомиться в работе (Phan et al., 2019).

Реакционная смесь состояла из фосфатносолевого буфера (pH = 8,0), $\text{A}\beta_{1-40}$ или $\text{A}\beta_{1-42}$ (25 мкМ, Sigma Aldrich, Мичиган, США), исследуемых соединений (1-100 мкМ) и 10 мкМ тиофлавина Т (10 мкМ, Sigma Aldrich, Мичиган, США). Измерение флуоресценции регистрировали в разные промежутки времени 0, 12, 24, 48 и 72 ч при 37 °С.

Активность BACE1

Оценка влияния исследуемых соединений на ферментативную активность β -секретазы (фермент-1, расщепляющий β -сайт белка-предшественника амилоида (BACE1)) проводилась с помощью набора BACE1 (β -секретаза) FRET Assay Kit, Red (Thermo Fisher Scientific, США). В

данном наборе используется технология переноса энергии флуоресцентного резонанса (FRET). Принцип анализа BACE1 FRET заключается в том, что слабо флуоресцентный пептидный субстрат приобретает сильную флуоресценцию при ферментативном расщеплении. Таким образом, увеличение флуоресценции линейно связано со скоростью протеолиза.

Рабочие растворы субстрата и фермента готовили в соответствии с инструкцией, прилагаемой производителем. В рабочий раствор субстрата BACE1 добавляли исследуемые соединения в том же объеме (или буфер анализа BACE1 для контрольных лунок), после чего аккуратно перемешивали. Для инициации реакции вносили фермент BACE1 и инкубировали 1 час при комнатной температуре. По окончании времени инкубации, вносили буфер, останавливающий реакцию, и регистрировали флуоресценцию на планшетном анализаторе Cytation™ 3 (BioTek Instruments, Inc., США) при $\lambda_{ex} = 545$ нм и $\lambda_{em} = 585$ нм.

Анализ ингибирования ацетилхолинэстеразы (АХЭ)

Ферментативный анализ активности АХЭ проводили в 96-луночном планшете с использованием PBS (рН = 7,4), 5,5-дитиобис-(2-нитробензойной кислоты) (ДТНБ, известный как реагент Элмана) и субстрата ацетилтиохолина (АХТ). Система анализа работает на основе метода Элмана, как описано в работе (Ellman et al., 1961).

Биоэнергетический профиль и клеточный метаболизм

Энергетический профиль клеток нейробластомы SH-SY5Y при исследовании антипаркинсонических свойств Д 2

Изучение скорости потребления кислорода клетками нейробластомы проводили с помощью митохондриального стресс-теста на анализаторе клеточного метаболизма Agilent Seahorse XFe96 (Seahorse Bioscience, США). Клетки SH-SY5Y культивировали в 96-луночном планшете плотностью 30 тыс/лунка. Через 24 часа к клеткам вносили исследуемые соединения (контрольные лунки содержали эквивалентный объем растворителя). Для калибровки анализатора в прибор загружали планшет с калибровочным

буфером, после чего заменяли на планшет с клетками и регистрировали параметры флюоресценции, изменяемые во времени. Первоначально фиксировали базовое потребление кислорода клетками. После этого из порта А вводили ротенон (10 нМ) и в течение 5 циклов измеряли скорость потребления кислорода. После 5 измерений через порты В, С и D последовательно добавляли олигомицин (2 мкМ), FCCP (2 мкМ) и антимицин А (1 мкМ), соответственно, и регистрировали флюоресценцию в течение 3 измерений (Aleksandrova et al., 2023b).

Гликолитический профиль опухолевых клеток

Для исследования параметров гликолитической функции клеток опухолевых линий под воздействием исследуемых веществ использовали гликолиз стресс-тест. Измерение параметров проводили на анализаторе Seahorse XF96e Analyzer (Agilent Technologies, США). В качестве показателя гликолиза регистрировали продукцию протонов водорода, также известную как скорость внеклеточного закисления среды (СВЗС). Клетки HeLa, SH-SY5Y или PA-1 плотностью 20 тыс/лунка сеяли в стандартный планшет XF96e и оставляли в инкубаторе на 24 часа при 37 °С в увлажненной атмосфере CO₂ (5%). На следующий день осуществляли калибровку анализатора и заправляли сенсорный картридж с портами в соответствии с протоколом: в порт А вносили исследуемые соединения, в порт В — глюкозу (10 мМ), в порт С — олигомицин (1 мкМ) и в порт D — 2-фтор-2-дезоксид-глюкозу (25 мМ). Регистрацию флюоресценции осуществляли во времени и рассчитывали количественные показатели — базовый гликолиз, гликолитическую ёмкость и гликолитический резерв (Neganova et al., 2022d).

Результаты всех экспериментов обрабатывали с помощью программного обеспечения Wave Desktop версия 2.6 (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США).

Анализ жизнеспособности клеток

Влияние исследуемых соединений на выживаемость клеточных культур оценивали с помощью МТТ- и ресазурина-тестов. Ресазурин (7-гидрокси-3H-феноксазин-3-он 10-оксид) синего цвета, представляет собой флуоресцентный окислительно-восстановительный краситель, который восстанавливается NADH, NADPH, FADH или другими биологически распространенными восстановителями в присутствии митохондриальных или цитоплазматических редуктаз метаболически активной живой клетки до резорурфина (7-гидрокси-3H-феноксазин-3-она), который имеет розовую окраску. В основе МТТ-теста лежит способность дегидрогеназ живых клеток восстанавливать 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ) желтого цвета до кристаллов формазана фиолетового цвета (Prabst et al., 2017).

При изучении цитотоксического действия исследуемых соединений культивируемые клетки сеяли в 96-луночные планшеты в количестве $1 \cdot 10^4$ /лунку и инкубировали при температуре 37°C с 5% содержанием CO₂. Через 24 часа к клеткам добавляли вещества в диапазоне концентраций от 0,1 до 100 мкМ и оставляли в инкубаторе еще на сутки. В контрольные лунки вносили ДМСО (использовали в качестве растворителя для веществ) в объеме, не превышающем 1%. После чего в каждую лунку добавляли МТТ (5 мг/мл) или ресазурин (50 мкМ) и оставляли в термостате при 37 °C на 2 часа. В планшетах с МТТ отбирали среду и вносили по 150 мкл ДМСО для растворения формазана. На многофункциональном планшетном анализаторе Cytation3 (БиоТек Инструментс Инк., США) регистрировали флуоресценцию восстановленного резорурфина при $\lambda_{ex} = 530$ нм и $\lambda_{em} = 590$ нм, а также оптическую плотность растворенных кристаллов формазана при длине волны 536 нм. Для соединений с высокой цитотоксичностью рассчитывали величину IC₅₀ с помощью кривых «концентрация — эффект».

МТТ-тест также использовали при оценке цитопротекторного эффекта Д 2 в отношении ротенон-индуцированной гибели клеток нейробластомы. К

клеткам SH-SY5Y, посаженным в 96-луночный планшет ($1 \cdot 10^4$ клеток/200 мкл), добавляли исследуемые соединения в концентрациях 1, 10, 50 и 100 мкМ. Ротенон (100 нМ и 400 нМ) вносили в лунки планшета спустя 24 часа после добавления исследуемых соединений и инкубировали еще 24 часа. Отрицательный контроль обрабатывали соответствующими объемами растворителей, использованных для получения рабочих растворов Д 1 и Д 2 (H_2O) и ротенона (ДМСО), а положительный контроль — H_2O + ротенон. Жизнеспособность клеток оценивали методом МТТ-анализа, как описано выше.

Определение активности гистоновых деацетилаз

Исследование действия соединений на активность ферментов гистоновых деацетилаз (HDAC1 и HDAC6) проводили с помощью коммерчески доступных наборов (FLUOR DE LYS[®] HDAC1 и FLUOR DE LYS[®] HDAC6, Enzo Life Sciences). Регистрацию флюоресценции осуществляли на планшетном анализаторе Cytation3 (BioTek Instruments, США) при $\lambda_{ex} = 350-380$ нм и $\lambda_{em} = 440-460$ нм.

2.4. *In vivo* методы исследования

Исследование острой токсичности

Изучение острой токсичности проводили на мышах линий BDF1 и C57Bl6/j весом 22-24 г. В каждой группе было по 6 особей, разница в массе тела которых не превышала 20%. Соединения вводили внутривентрально в различных дозах. Регистрацию состояния животных проводили в течение 30 минут после введения веществ, а также через час, 4 и 24 часа. Дальнейшее наблюдение за состоянием животных осуществлялось ежедневно в течение 14 дней.

Анализ хемосенсибилизирующих свойств

Исследование хемосенсибилизирующей активности проводили на модели экспериментальной перевиваемой опухоли меланомы B16 на самцах мышей линии BDF1 весом 22-24 г. В каждой из трех групп было по 8

животных. Опухоли трансплантировали подкожно (инокулум измельченной опухолевой ткани в изотоническом растворе NaCl $5 \cdot 10^6$ клеток, $V = 0,3 \text{ см}^3$). Исследуемое соединение в дозе 233 мг/кг и референсный препарат циклофосфамид (в субтерапевтической дозе, 20 мг/кг) вводили внутрибрюшинно в виде водных растворов. Контрольной группе производили инъекцию растворителя. Наблюдение за здоровьем животных осуществляли ежедневно в течение 24 суток (Выстороп и др., 2021).

Общее поведение в тесте Открытое поле

Для оценки двигательной активности и уровня тревожности мышей использовали тест Открытое поле. Установка представляла собой квадратную серую коробку с размерами пола 40 см × 40 см и стенами высотой 40 см (интенсивность освещения составляла 50 люкс). Животное помещали в центр арены для исследования установки в течение 5 минут, после чего мышь возвращали в клетку содержания. После каждого испытания открытое поле очищали 70%-ным этанолом с целью удаления любых запахов от предыдущего животного и тщательно просушивали. Каждое испытание фиксировали с помощью камеры, подключенной к компьютеру, что впоследствии позволило обработать полученные результаты с помощью программного обеспечения EthoVision XT system (Noldus, Вагенинген, Нидерланды). Была произведена оценка параметров двигательной функции, таких как средняя скорость и пройденное расстояние; уровня тревожности по времени нахождения в центральной области и на периферии установки (Kraeuter et al., 2019a).

Эпизодическая память в тесте Распознавание нового объекта

Исследование эпизодической памяти трансгенных животных 5xFAD проводили с помощью теста распознавания нового объекта. Увеличение времени обследования нового объекта относительно известного указывает на успешное формирование данного вида памяти. В данном эксперименте была использована установка теста открытого поля при освещении 50 Лк. Эксперимент включал в себя три этапа (длительность каждого 10 минут):

первый — акклиматизация к установке, второй — обучение и третий — тестирование. Каждый из этапов разделен между собой 24-часовым интервалом. Во время акклиматизации животное помещали в установку без объектов с целью снижения уровня тревожности и увеличения исследовательской реакции при дальнейшем обучении. На этапе обучения в камере устанавливали 2 объекта, после чего помещали мышь в установку. Во время тестирования один из известных объектов заменяли на новый. Изучение объекта считалось положительным при приближении носа мыши к объекту не менее чем на 1 см. Все этапы эксперимента записывали на видео и анализировали с помощью программного обеспечения EthoVision XT (Noldus, Вагенинген, Нидерланды) (Lueptow, 2017).

Двигательная функция и выносливость животных в тесте Ускоряющийся ротарод

Для оценки координации движения и баланса мышей применяли тест «ускоряющийся ротарод». Установка для тестирования представляла собой барабан, разделенный перегородками на отсеки, который способствует вращению цилиндрических стержней с определенной скоростью («Rotarod», Ugo Basile 7650, Biological Research Apparatus, Италия). Эксперимент включает в себя фазы привыкания, обучения и тестирования. На этапах привыкания и обучения мышей помещали на стержни, которые вращались со скоростью 4 об/мин. Через 24 часа после обучения, проводили четырехкратное тестирование с постепенным ускорением стержня за 5 минут от 4 до 40 об/мин. Между каждым тестированием соблюдали интервал в 30 минут. Регистрировали задержку падения с вращающегося стержня при каждой попытке в тестировании. Данные были представлены как среднее значение из 4 тестов (Aleksandrova et al., 2023b).

Гиппокамп-зависимая пространственная память мышей в тесте Y-образный лабиринт

Для анализа действия исследуемых соединений на кратковременную гиппокамп-зависимую пространственную память животных использовали

тест Y-образный лабиринт с некоторыми модификациями (Kraeuter et al., 2019b). Установка Y-образного лабиринта (OpenScience, Москва, Россия) изготовлена из акрила с тремя рукавами (размер рукава 32,5 см × 8,5 см × 15 см), расположенными на расстоянии 120° друг от друга. Во время фазы обучения мышь помещали в начало одного рукава лабиринта (стартовый рукав) и позволяли свободно перемещаться по двум открытым рукавам лабиринта в течение 5 минут. Спустя 30 минут проводили фазу тестирования, во время которой животное помещали на ту же стартовую позицию, но позволяли исследовать все три рукава установки. После каждого животного все рукава лабиринта тщательно очищали 70%-ным этанолом и просушивали. Все попытки были записаны на видео для последующей обработки с использованием системы EthoVision XT (Noldus, Вагенинген, Нидерланды). Была проанализирована продолжительность пребывания животных во время фазы тестирования в рукавах лабиринта. В качестве критерия эффективности формирования пространственной памяти рассматривалось нахождение животных в новом рукаве лабиринта.

Пространственная память в тесте Водный лабиринт Морриса

Оценку долговременной пространственной памяти животных проводили с помощью теста водный лабиринт Морриса (Vorhees and Williams, 2006). В бассейн белого цвета (диаметр 150 см и высота 60 см (OpenScience, Россия)), наполненный водой ($t = 22 \pm 1^\circ\text{C}$), устанавливали платформу (белого цвета, Ø 10 см), которая была погружена в воду на 1 см. Освещение выставляли на уровне 50 Лк для темной стороны бассейна и 75 Лк — для светлой. Бестеневое освещение способствовало созданию эффекта невидимой платформы. Бассейн визуально делили на 4 квадранта, в одном из которых находилась платформа. Для лучшей ориентации мышей в пространстве по бокам бассейна устанавливали визуальные подсказки (OpenScience, Москва, Россия), закрепленные на стойках. Эксперимент состоял из обучения и тестирования. Обучение проводили в течение четырех дней. Мышь помещали в воду поочередно с 4-х разных позиций (север, юг, восток, запад)

на 60 секунд с целью нахождения платформы. Если за отведенное время животное не находило платформу, то его направляли к ней рукой и оставляли на ней в течение 30 секунд. Во время этапа тестирования (на 5 день) убрали платформу и животное запускали в бассейн на 90 секунд. С помощью видеокамеры, подключенной к системе отслеживания EthoVision XT system (Noldus, Вагенинген, Нидерланды), регистрировали такие параметры, как время нахождения в целевом квадранте, латентный период нахождения и количество входов в зону платформы.

2.5. *Ex vivo* методы исследования

Антиметастатическая активность

По окончании эксперимента, направленного на изучение хемосенсибилизирующей активности соединения, мышей умерщвляли методом цервикальной дислокации, извлекали внутренние органы, проводили взвешивание опухоли и подсчет метастазов в легких.

Антиметастатическую активность определяли по изменению индекса ингибирования метастазирования (ИИМ) по формуле:

$$\text{ИИМ (\%)} = \frac{(A_k \times B_k) - (A_o \times B_o)}{(A_k \times B_k)} \times 100$$

где A_o и A_k – частота метастазирования в опытной и контрольной группах соответственно; B_o и B_k – среднее число метастазов в опытной и контрольной группах животных соответственно (Выстороп и др., 2021).

Уровень МДА в образцах мозга

Интенсивность перекисного окисления липидов в головном мозге мышей C57Bl6 после фармакологического моделирования когнитивных дисфункций и трансгенных мышей 5xFAD также оценивали с помощью ТБК-теста, как описано выше, однако без использования инициаторов и предварительной инкубации.

Содержание глутатиона

Изучение работы глутатионовой системы собственной антиоксидантной защиты клеток проводили в соответствии с протоколом производителя (Glutathione Assay Kit, Sigma Aldrich). С помощью планшетного анализатора Citation3 (BioTek Instruments, США) определяли количество 2-нитро-5-тиобензойной кислоты, продукта восстановления глутатиона, при $\lambda = 412$ нм (Caito and Aschner, 2015).

Работа комплексов дыхательной цепи митохондрий

Анализ работы комплексов электрон-транспортной цепи митохондрий проводили на митохондриальной р2-фракции, полученной из образцов головного мозга животных опытных групп. Митохондриальное дыхание определяли по скорости потребления кислорода органеллами с помощью анализатора клеточного метаболизма Seahorse XFe96 (Seahorse Bioscience, North Billerica, MA, USA) в полном соответствии с протоколом, описанным в работе (Liu and Pan, 2017).

Анализ отложений β -амилоида в образцах головного мозга мышей 5xFAD

Головной мозг мышей делили на 2 половины и фиксировали раствором Карнуа (этанол–хлороформ–ледяная уксусная кислота, 6:3:1) в течение 17 часов. Ткань обезвоживали растворами этанола (96% (I), (II) и (III) в течение 10 мин; 100% (I) и (II) в течение 10 мин). Образец инкубировали последовательно со смесью этанол–хлороформ (1:1) в течение 30 мин, хлороформом (I) в течение 1 ч и хлороформом (II) в течение ночи и заливали в парафин (3 раза по 1 ч) при 62 °С. Парафиновые срезы (толщиной 8 мкм) монтировали на предметные стекла, покрытые поли-L-лизинном, по схеме, описанной в работе (Aleksandrova et al., 2023b), с покрытием зоны гиппокампа толщиной 400 мкм. Предметные стекла депарафинизировали в ксилоле в течение 20 мин; регидратация через растворы этанола (100% в течение 20 мин, 95% в течение 5 мин и 50% в течение 10 мин); промывают в деионизированной воде в течение 15 мин; окрашивали 0,5% раствором конго

красного в 50% этаноле в течение 5 мин; дифференцируют 0,2% КОН в 80% этаноле в течение 2 мин; снова промывали и заливали средой Epredia™ Immu-Mount™ на водной основе (Thermo Fisher Scientific Inc., Пейсли, Великобритания) (Vorobyov et al., 2022). Окрашенные отложения оценивали с помощью лазерного сканирующего микроскопа ZEISS LSM 880 (Carl Zeiss, Оберкохен, Германия) в режиме тайлового сканирования. Всего было просмотрено 10 изображений каждого животного. Обработка изображений морфометрического анализа отложений β -амилоида была основана на классификаторе пикселей QuPath, алгоритме машинного обучения для обнаружения различных областей (таких как зоны гиппокампа, таламуса и коры) с контролем гистологического атласа в изображениях.

Подготовка гистологических срезов, иммуногистохимия и подсчет нейрональных клеток

У 4-месячных самцов, предварительно умерщвленных методом цервикальной дислокации, аккуратно доставали головной мозг. Фиксация, подготовка гистологических срезов, окрашивание антителами в отношении тирозингидроксилазы (ТН, мышинное моноклональное антитело, клон ТН-2, Sigma разведение 1:1000) и стереологический подсчет ТН-позитивных нейронов в черной субстанции (ЧС) и вентральной области покрышки (ВОП) выполняли как описано в работе (Connor-Robson et al., 2016; Goloborshcheva et al., 2020). Границы ЧС и ВОП на окрашенных срезах очерчены с использованием атласа распределения ТГ-позитивных клеток (Ninkina et al., 2020). Первый участок для подсчета выбирали случайным образом из первых десяти участков, включающих область SN/VTA. Начиная с этого среза, на каждом пятом срезе по всей области подсчитывали ТГ-положительные клетки с хорошо видимым ядром. Программное обеспечение для микроскопии ZEN (Carl Zeiss) использовали для измерения диаметра 30 ядер дофаминергических нейронов в каждой из этих областей мозга каждой мыши, включенной в это исследование. Ядра были выбраны случайным образом, а расстояние измерялось как длина по горизонтали, когда они появлялись на

экране. Среднее значение рассчитывали для каждого животного и использовали для поправки Аберкромби (Abercrombie, 1946), чтобы получить фактическое количество ТГ-положительных клеток в структуре.

2.6. Молекулярный докинг и оценка ADME/Tox

Для белка HDAC6 и β -амилоида соответствующие структуры были найдены в Protein Data Bank (PDB) — 5EDU и 1IYT. Структуры загружали и обрабатывали с помощью подпрограммы Protein Preparation Wizard пакета программ Schrodinger Suite (Huang et al., 2002; Jacobson et al., 2002; Jacobson et al., 2004; Sastry et al., 2013) с восстановлением всех отсутствующих петель и боковых цепей. Предварительная обработка выполнялась с использованием модуля Prime (Huang et al., 2002; Jacobson et al., 2004), оптимизировались водородные связи, удалялись неключевые молекулы воды и другие неключевые малые молекулы, а также выполнялась ограниченная минимизация геометрии белка с использованием силового поля OPLS3e (Schrödinger, 2021a).

Структуры лигандов готовили с помощью подпрограммы LigPrep (Harder et al., 2016). Фармакокинетический профиль соединений рассчитывали с помощью подпрограммы QikProp (Schrödinger, 2023a). Стыковку с активным центром белка HDAC6 выполняли с использованием протокола Induced Fit Docking (Farid et al., 2006; Harder et al., 2016; Schrödinger, 2023b; Schrödinger, 2023c; Sherman et al., 2006a; Sherman et al., 2006b), а эталонный лиганд повторно стыковали для проверки выбранного метода. Активный центр Induced Fit Docking был заявлен как куб с центром в геометрическом центре координат кристаллизующегося лиганда трихостатина А. Ребра куба соответствовали возможности стыковки лигандов, соизмеримой с эталоном. Модуль Prime обрабатывал аминокислоты в радиусе 5Å от атомов лиганда по результатам предварительного докинга в алгоритме Induced Fit. Постобработку стыковкой Glide проводили по протоколу Standard Precision.

СКО эталонного лиганда структуры 5EDU составило 0,6205, что указывает на то, что эталонная поза воспроизводится хорошо и метод докинга к активному центру белка HDAC6 выбран успешно.

При работе со структурой β -амилоида для первичного докинга и определения активных аминокислот, к которым соединения обладают наибольшим сродством, использовали пакет программ Glide (Friesner et al., 2004; Friesner et al., 2006; Schrödinger, 2023c; 2021b). С помощью инструмента Receptor Grid Generation программного комплекса Glide была создана максимально крупная рецепторная сетка: куб, ограничивающий положение геометрических центров лигандов при докинге, имел максимально допустимый размер $40 \times 40 \times 40 \text{ \AA}$ с центром в геометрическом центре координат атомов пептида; размер допустимых для докинга лигандов также был установлен на максимальное значение 36 \AA . В полученной сетке рецепторов был проведен докинг Glide по протоколу Extra Precision с целью определения связывающих доменов пептида, в которых будут кластеризованы координаты лигандов, полученные по результатам докинга. Были обнаружены два пептидных фрагмента, к которым молекулы проявляли сродство: N-конец пептида и изгиб ближе к C-концу пептида. Соединения стыковали в соответствии с обоими этими положениями с использованием протокола Induced Fit Docking.

Активные центры для Induced Fit Docking были объявлены как кубы с центром в геометрическом центре координат атомов аминокислот с 3 по 12 (C-конец) и аминокислот с 22 по 30 (кратность вблизи N-конца). Ребра куба соответствовали возможности стыковки лигандов радиусом 20 \AA . Модуль Prime обрабатывал аминокислоты в радиусе 5 \AA от атомов лиганда по результатам предварительного докинга в алгоритме Induced Fit. Постобработку стыковкой Glide проводили по протоколу Standard Precision.

Наилучшие позы докинга, полученные таким образом, были введены в расчет ΔG MM-GBSA с использованием модуля Prime, с объявлением всех аминокислот в радиусе 5 \AA от атомов лиганда «гибкими» и подвергающимися

оптимизации. Полученные значения ΔG связывания использовали для статистического анализа с использованием распределения Больцмана (при температуре 298 К) для определения частоты воспроизведения положений стыковки друг относительно друга для каждой молекулы.

В случае проведения процедуры молекулярного докинга для противоопухолевых гидроксамовых кислот с бициклическим пинановым остовом, трехмерные структурные модели выбранных белков-мишеней были получены из банка данных белков RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) — кристаллическая структура гексокиназы 1 (PDB ID: 4F9O); фруктозо-2,6-бифосфотазы (PDB ID: 1K6M) и пируваткиназы M2 (PDB ID: 1T5A). С помощью программного обеспечения UCSF Chimera осуществляли подготовку геометрии белков путем удаления разных лигандов (в случае использования соответствующих структур) и других гетероатомов, таких как вода и ионы, а также добавления атомов водорода, зарядов и отсутствующих боковых цепей. По окончании оптимизации белковых молекул целевые белки и исследуемые соединения, а также референсные лиганды подвергали процедуре молекулярного докинга с помощью алгоритма AutoDock Vina. Предсказание взаимодействия в комплексе «белок-лиганд» и оценка энергии связывания осуществляется на основе критериев комплементарности формы химического соединения с их аффинностью связывания.

Дескрипторы ADME были получены с помощью Швейцарского программного обеспечения Швейцарского института биоинформатики (<http://www.sib.swiss>), представленного на онлайн-сервере SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) посредством загрузки химической структуры в формате .mol с последующим преобразованием в каноническое представление SMILES и оценкой индивидуальных параметров соединения.

2.7. Создание QSAR модели

Весь процесс создания новой QSAR модели был осуществлен с использованием Python версии 3.90 и ряда библиотек (библиотека sklearn

была использована для создания и проверки моделей машинного обучения; библиотеки `matplotlib` и `seaborn` использовались для создания графиков и визуализации данных; `PyTorch` – это библиотека, применяемая для работы с моделями глубокого обучения; `shap` – это библиотека, которая используется для интерпретации моделей машинного обучения), каждая из которых выполняла свои функции, начиная от создания и валидации моделей машинного обучения и заканчивая визуализацией данных и интерпретацией результатов.

Создание GA-RF модели проходило по следующему плану:

1) Генерация разных видов молекулярных дескрипторов с помощью базы данных OCHEM [DOI: 10.1007/s10822-011-9440-2].

2) Разделение выборки на часть для выбора дескрипторов, имеющих наибольшую предсказательную способность и валидационную часть.

3) Выбор дескрипторов с помощью генетического алгоритма (GA), а также последовательного выбора признаков (SFS) используя регрессию разными методами машинного обучения (метод наименьших векторов, градиентный бустинг, случайный лес, k-ближайших соседей, L1, L2-регуляризованная линейная регрессия, многослойный перцептрон и т.д).

4) Анализ полученных моделей на шаге 3 и выбор лучшей модели путем проведения кросс-валидации и теста на валидационной части выборки.

Графовая нейронная сеть AttentiveFP была использована на основе ранее проведенного исследования Zhaoping Xiong и коллег (Xiong et al., 2020). Нейронная сеть AttentiveFP тренировалась со следующими параметрами: 250 скрытых слоев, 500 эпох, learning rate = 10^{-3.2}, размер батча = 40, weight decay = 10⁻⁵. В нодах графа сохранялась информация о типе атома, гибридизации атома, формальном заряде атома, принадлежности к бензольному кольцу или ароматической системе, хиральность, число радикальных электронов, в связях графа сохранялась информация о типе связи, стереоизомерии, сопряженности связи.

2.8. Статистическая обработка данных

Данные в работе представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего или стандартное отклонение. Статистические сравнения проводили с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) с поправками Даннета и Бонферрони. Анализ данных для экспериментов *ex vivo* оценивали с использованием тестов ANOVA и множественного сравнения Даннета. $p \leq 0,05$ считали статистически значимым различием между группами. Статистический анализ был выполнен с использованием GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, Сан-Диего, Калифорния, США). В ходе экспериментов *in vivo* ни одно из животных не было исключено.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Совершенствование системы биологического тестирования химических соединений для поиска как противоопухолевых, так и нейропротекторных агентов

3.1.1. Предпосылки создания более совершенной интегральной схемы биологического тестирования

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 оказывается 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 большинство заболеваний человека являются полиэтиологичными, и для получения эффективного фармацевтического препарата отобранное соединение должно обладать мультитаргетным типом активности, то есть воздействовать одновременно на несколько потенциальных биомишеней и/или биохимических каскадов,

вовлеченных в патогенез. Более того, стоит отметить, что монотаргетная терапия, как неоднократно показано в клинических исследованиях, способна приводить к быстрой выработке резистентности, а системное многонаправленное воздействие на патогенез препятствует этому эффекту.

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 медицинской химии, биохимии 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 тяжелых социально значимых заболеваний.

3.1.2. Каскадная архитектура усовершенствованной схемы биологического тестирования

Одной из основополагающих задач работы было усовершенствование имеющейся стандартной системы биотестирования химических соединений различной структуры и создание на ее основе интегральной схемы, включающей уникальный этап первичного скрининга, основанный на теоретической базе знаний о единстве биохимических каскадов, вовлеченных в ранние этапы патогенеза онкологических и нейродегенеративных заболеваний.

Необходимым условием получения достоверной и всесторонне развернутой информации об эффективности потенциального лекарственного

средства перед передачей вещества на доклинические испытания является проведение его через подобранную определенным образом систему тестов оценки биологической активности, которая должна включать в себя биообъекты разных уровней организации живой материи – молекулярного, клеточного, 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*.

На первом этапе, которому предшествовал синтез, оценивалось систематическое действие тестируемых соединений на процессы, связанные с окислительным стрессом, а также на митохондриальные характеристики и эпигенетическую регуляцию.

Аналитический этап включал занесение исследуемого соединения в аннотированную базу данных, которая представляет собой информационную матрицу, содержащую для каждого соединения комплексную характеристику по ряду экспериментальных и расчетных параметров.

Данная информация, с одной стороны, позволяет идентифицировать активные соединения-хиты для передачи на дальнейшее углубленное изучение биологической активности, а с другой стороны – дать рекомендации к последующей направленной химической модификации с целью получения веществ с оптимизированным профилем активности. Более того, полученные на данном этапе результаты исследования биологической активности позволяют разделить наиболее эффективные соединения на две группы – потенциальные нейропротекторные и противоопухолевые агенты.

На этапе определения влияния веществ на выживаемость клеточных культур были использованы две стратегии. В соответствии с первой

стратегией, для потенциальных нейропротекторов был определен уровень собственной токсичности по отношению к здоровым клеткам и нейрональноподобным клеточным культурам. Все вещества, проявляющие цитотоксичность, отсеивались и не проходили на дальнейший этап. Для нетоксичных соединений было исследовано цитопротекторное действие при моделировании различных патологических состояний, связанных с нейродегенерацией. В соответствии со второй стратегией, для потенциальных противоопухолевых веществ был проанализирован их цитотоксический профиль, включающий определение влияния на выживаемость различных клеточных культур опухолевого происхождения. Для дальнейшего этапа отбирались наиболее токсичные соединения, дополнительно для них определялся индекс селективности в сравнении со здоровыми клетками.

На четвёртом этапе происходило определение специфической активности – влияния веществ внутри каждой группы на мишени, характерные для того или иного заболевания. Для нейропротекторов, например, это были молекулярные мишени, связанные с протеинопатией (формирование и агрегация β -амилоида), а для онколитиков – гликолитические ферменты и непосредственно процесс гликолиза в целом (как основной метаболический путь опухолевых клеток) и др. В итоге на следующий этап были отобраны наиболее эффективные соединения-лидеры, обладающие полифункциональным спектром действия.

На этапе *in vivo* тестирования были использованы модельные лабораторные животные. В случае исследования нейропротекторной активности – мыши со сформированной химическим путём нейропатологией и трансгенные животные, на которых было изучено влияние соединений-лидеров на общие поведенческие характеристики и формирование когнитивной карты (память и обучение). При исследовании противоопухолевой активности терапевтический эффект оценивался как при монокимиотерапии, так и в комбинации с известными цитостатиками (хемосенсибилизирующее действие) на животных с перевиваемыми

опухолями различного происхождения.

Таким образом, достичь рационализации данного подхода удастся за счет разработки и применения теоретически обоснованных принципов, учитывающих единство биохимических каскадов ранних стадий патогенеза НДЗ и онкологических патологий, а также за счет использования набора передовых инструментальных подходов.



Схема 1 — Архитектура усовершенствованной интегральной схемы биологического тестирования химических соединений различной структуры.

3.1.3. Обоснование выбора скрининговых тестов для раннего скринингового этапа, а также принципы и алгоритм отнесения соединений к категориям активности

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

Предложенная научно-обоснованная методическая база представляет собой эффективную скрининговую систему, позволяющую выявить из большого числа новых синтезированных 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 позволила выявить про- и антиоксидантные соединения при изучении влияния на интенсивность процесса перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, инициируемого различными окислителями. Для веществ, способных ингибировать ПОЛ, был определён механизм антиоксидантного действия: по наличию или отсутствию железохелатирующей активности, антирадикальному действию и ряду других характеристик.

2. Исследование влияния на функциональные характеристики изолированных митохондрий печени крыс включало влияние на трансмембранный потенциал – для первичной оценки потенциальной токсичности соединений, и действие на Ca^{2+} -вызванное «набухание» митохондрий — для оценки протекторного или проапоптотического потенциала веществ.

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 эффективные вещества и распределены по группам:

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.

Общая выборка веществ

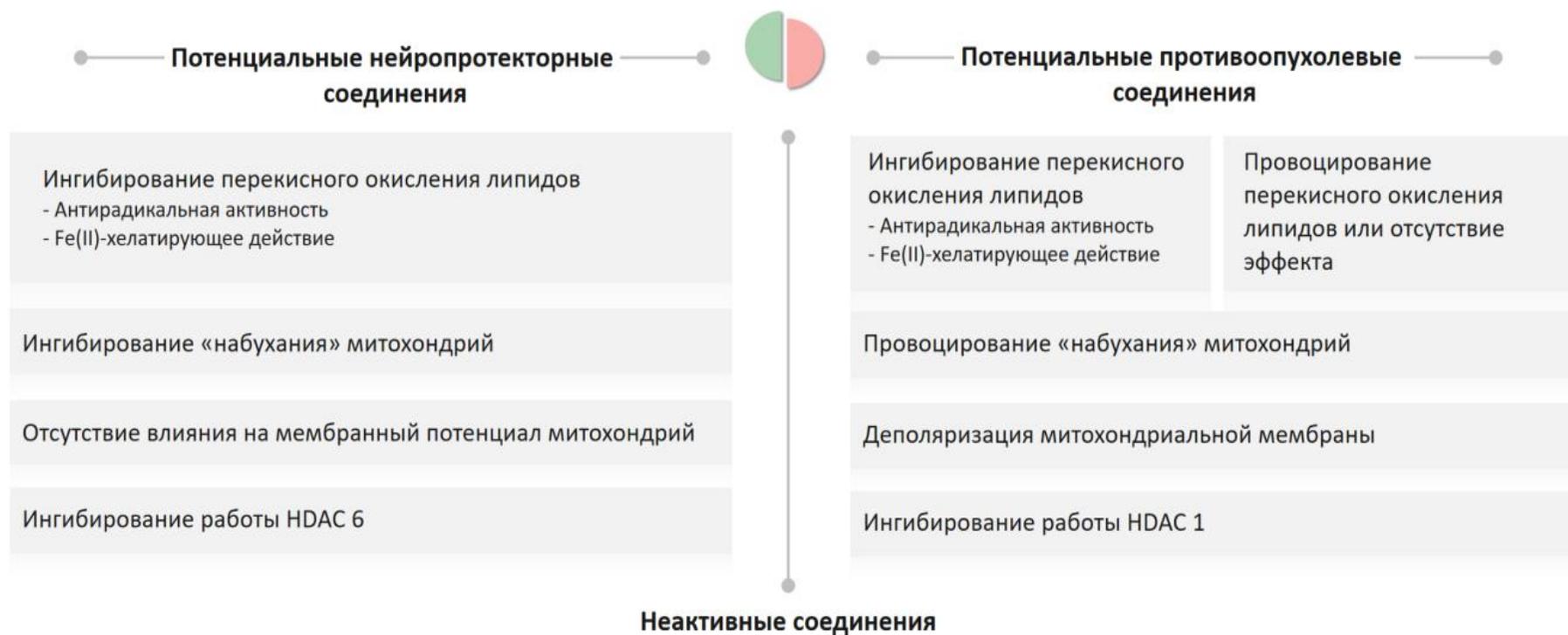


Схема 2 — Алгоритм отбора эффективных соединений в группы потенциальных нейропротекторных или противоопухолевых препаратов по итогам исследования биологической активности на раннем скрининговом этапе.

3.2. Молекулярные объекты исследования

3.2.1. Принципы создания бифармакофорных соединений для тонкой модуляции специфических биохимических каскадов

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

Бифармакофорные соединения можно подразделить на две группы: гомобифармакофоры – вещества, содержащие две одинаковые фармакофорные единицы, и гетеробифармакофоры – соединения с различными фармакофорными фрагментами.

Существует несколько концепций использования фармакофоров для создания более сложных и эффективных конструкций. Одна из наиболее популярных идей, которая может лежать в основе бифармакофорного дизайна, состоит в том, что один из фармакофоров является основным действующим фактором, или «боеголовкой» (например, антибиотиком, цитотоксическим агентом и т.п.), а второй фармакофор играет вспомогательную роль. Альтернативная идея заключается в том, что в одной молекуле можно сочетать химические блоки, которые сами по себе действуют на разные биологические мишени, играющие функционально сходные роли в развитии патологического состояния. То есть при создании таких гетеробифармакофоров происходит суммирование в одной молекуле необходимых качеств с целью достижения мультитаргетного эффекта и наиболее результативного фармакологического воздействия.

Важным элементом бифармакофорной конструкции является связующий линкер (спейсер). В типичном случае, длина и строение линкера существенно влияют на биологические свойства всей конструкции. Существует несколько вариаций конструкции связующей части в молекуле. Например, можно использовать линкеры, которые являются стабильными в физиологических условиях. Фармакологический эффект в таких соединениях оказывает вся молекула как единое целое. В соответствии с другой концепцией, в состав молекулы вводится линкер, который подвергается химическому или биохимическому расщеплению после попадания в физиологические условия. В результате этого происходит высвобождение индивидуальных фармакофоров, которые начинают действовать в организме как независимые молекулы, однако с определенными синергетическими эффектами; в этом случае реализуется идея пролекарственного дизайна.

В данной работе при создании базы физиологически активных соединений были использованы все вышеперечисленные концепции. Работы велись в сотрудничестве с рядом ведущих отечественных научных организаций, специализирующихся в сфере медицинской и органической химии.

3.2.2. Исследуемые соединения: источники, структуры и схемы синтеза

Для изучения биологической активности с использованием усовершенствованной интегральной системы биотестирования для реализации концепции единовременного поиска потенциальных лекарственных препаратов различной фармакологической направленности в работе использовались две основные группы бифармакофорных агентов: первая группа — производные природных соединений, а вторая группа — гидроксамовые кислоты.

3.2.2.1. Производные природных соединений

Перспективность использования природных скаффолдов для создания потенциальных лекарственных агентов

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.

С фармакологической точки зрения наиболее интересными группами природных соединений являются алкалоиды, терпены и терпеноиды, включая сесквитерпеновые лактоны. В первую очередь производные представителей данных классов веществ представляют интерес в качестве средств для борьбы с онкологическими заболеваниями. Однако встречаются и лекарственные препараты для лечения неврологических расстройств, паразитарных, грибковых и других заболеваний.

Одним из наиболее ярких примеров успешного использования природных соединений в качестве эффективных терапевтических средств, является паклитаксел (таксол) — алкалоид, выделенный из коры тихоокеанского тиса. Противоопухолевые препараты на основе таксола в настоящее время широко применяются в клинической практике (Schiff and Horwitz, 1980). Недавно было обнаружено, что паклитаксел играет большую роль в противоопухолевом иммунитете и имеет большой потенциал для использования в лечении многих видов опухолей (Zhu and Chen, 2019).

Также широко известен алкалоид секуринин, использующийся в традиционной медицине многих стран для лечения различных патологических состояний (Chirkin et al., 2015; Klochkov and Neganova, 2021; Lin and Jun-Tian, 2004; Raj and Luczkiewicz, 2008) и содержащий уникальную

трициклическую структуру, сочетающую четыре цикла: 6-азобицикло[3.2.1]октан в качестве ключевой структуры, с которой аннелированы α,β -ненасыщенный- γ -лактон и пиперидиновое кольцо. Среди большого разнообразия минорных секурининовых алкалоидов наиболее интересным представляется маргаритарин, выделяемый из растения *Margaritaria indica* Dalz (Arbain et al., 1991). Маргаритарин – единственный природный алкалоид секурининового типа, который содержит в качестве периферийного заместителя *N*-триптаминовый фрагмент. Замена кратной связи на sp^3 -гибридизованные атомы углерода и наличие дополнительного асимметрического центра приводит к определенной конформационной подвижности молекулы маргаритарина, в связи с чем увеличивается возможность ее взаимодействия с активными центрами рецепторов (Klochkov and Neganova, 2021). Секуринин является селективным антагонистом GABA рецепторов (Klochkov et al., 2008). Было показано, что секуринин может использоваться при лечении таких неврологических заболеваний, как боковой амиотрофический склероз (Copperman et al., 1973) и рассеянный склероз (Beutler et al., 1985; Buravtseva, 1958). Кроме того, было показано, что секуринин является агонистом макрофагов, усиливающим бактериальный клиренс с помощью механизма, отличного от плацебоподобных рецепторов (TLRs) (Lubick et al., 2007). Секуринин, по-видимому, стимулирует фосфорилирование p38 MAPK посредством антагонизма ГАМКА рецептора в моноцитах (Shipman et al., 2012). Было обнаружено, что секуринин стимулирует апоптоз в клетках рака толстой кишки с нокаутом белка p53 (Perry and Holmes, 2014; Rana et al., 2010).

В работе (Leonoudakis et al., 2017) показана перспективность использования секуринина в качестве противовоспалительного средства при лечении болезни Паркинсона. Секуринин ингибирует активацию воспалительного медиатора NF- κ B, а также его активатора MAPK, включая ERK. Кроме того, секуринин подавляет экспрессию iNOS и продуцирование NO, оба этих процесса активируются NF- κ B. Также секуринин оказывает

нейропротекторное действие на первичные дофаминергические нейроны в *in vitro* модели болезни Паркинсона, ингибируя липополисахарид-индуцированную микроглиальную активацию.

Lin и соавторы описывают секуринин как потенциальный нейропротектор для лечения болезни Альцгеймера (БА). Хроническое введение *D*-секуринина предотвращало проявление когнитивных нарушений у крыс, вызванных введением амилоидного фрагмента (A β ₂₅₋₃₅) (Lin and Jun-Tian, 2004). Также для *D*-секуринина характерно снижение ацетилхолинэстеразы (AChE) активности и отсутствие влияния на ацетилтрансферазу (ChAT). Более того, *D*-секуринин способен значительно снижать воспалительный ответ в глиальных клетках, вызванный действием β -амилоидного белка.

Димерные аналоги секуринина (с разной длиной углеродной цепи линкера между двумя молекулами секуринина в положении C-15) показали заметное положительное влияние как на дифференцировку нейронов, так и на расширение нейритной сети нейронных клеток. Действие данных соединений на рост нейритов происходило за счет фосфорилирования/активации нескольких сигнальных молекул, включая Ca²⁺-кальмодулин-зависимую протеинкиназу II (CaMKII), внеклеточную сигнально-регулируемую киназу (ERK) и Akt (Tang et al., 2016).

При лечении малярии безусловно зарекомендовал себя препарат на основе артемизинина — соединения, относящегося к перспективному классу природных соединений, сесквитерпеновым лактонам (Klayman, 1985; O'Neill and Posner, 2004). За открытие артемизинина и исследования его полусинтетических производных в 2015 году профессору Tu You-You была присуждена Нобелевская премия в области физиологии и медицины.

Некоторые сесквитерпеновые лактоны и их производные обладают также противоопухолевыми свойствами. Например, биодоступная форма партенолида (диметиламинопартенолид) (Curry et al., 2004), тапсигаргин (Mahalingam et al., 2016), а также противоопухолевый препарат на основе

сесквитерпенового γ -лактона арглабина (Zhumakayeva et al., 2018). Было показано, что биологический эффект этих сесквитерпеновых лактонов реализуется путём индукции апоптоза в результате их влияния на образование активных форм кислорода, что приводит к окислительным повреждениям в клетке и запуску митохондриально-зависимого пути апоптоза (Zhang et al., 2005).

Все эти примеры успешного применения сесквитерпеновых лактонов в качестве потенциальных противоопухолевых препаратов вызывают большой интерес к соединениям подобной структуры и к их возможным структурным модификациям (Babaei et al., 2018; Dandawate et al., 2016; Siveen et al., 2017; Xu et al., 2015; Zhang et al., 2012). Поскольку большинство сесквитерпеновых лактонов содержат активированный экзометиленовый фрагмент, легко вступающий в реакцию с нуклеофилами по реакции Михаэля, это позволяет достаточно просто создавать на их основе бифармакофорные соединения (Ghantous et al., 2010). Для этого могут быть использованы различные амины (Neganova et al., 2020a; Semakov and Klochkov, 2020), фрагменты лекарственных препаратов, например, конъюгаты лактонов с антрациклиновыми антибиотиками, которые показывают не только повышенную эффективность, но и сниженную кардиотоксичность (Semakov et al., 2018). Интересные производные описаны в работе (Taleghani et al., 2017), где в одной молекуле был объединён сесквитерпеновый лактон партенолид с лекарственными препаратами цитарабином и мелфаланом. Бифармакофорные производные в итоге показали более высокую эффективность в отношении опухолевых линий клеток, чем исходные вещества.

Таким образом, структурная модификация природных соединений путём создания бифармакофорных конъюгатов является перспективным направлением получения новых эффективных лекарственных препаратов с различными фармакологическими векторами действия.

В нашей работе проводился поиск потенциальных противоопухолевых и нейропротекторных препаратов в ряду разнообразных по структуре производных природных соединений (более 100 веществ), среди которых: аминопроизводные алкалоида секуринина, и амино- и азинопроизводные сесквитерпеновых лактонов, производные монотерпеноида диола и биоконъюгаты лактонов с полиалкокксибензолами (рисунок 6).

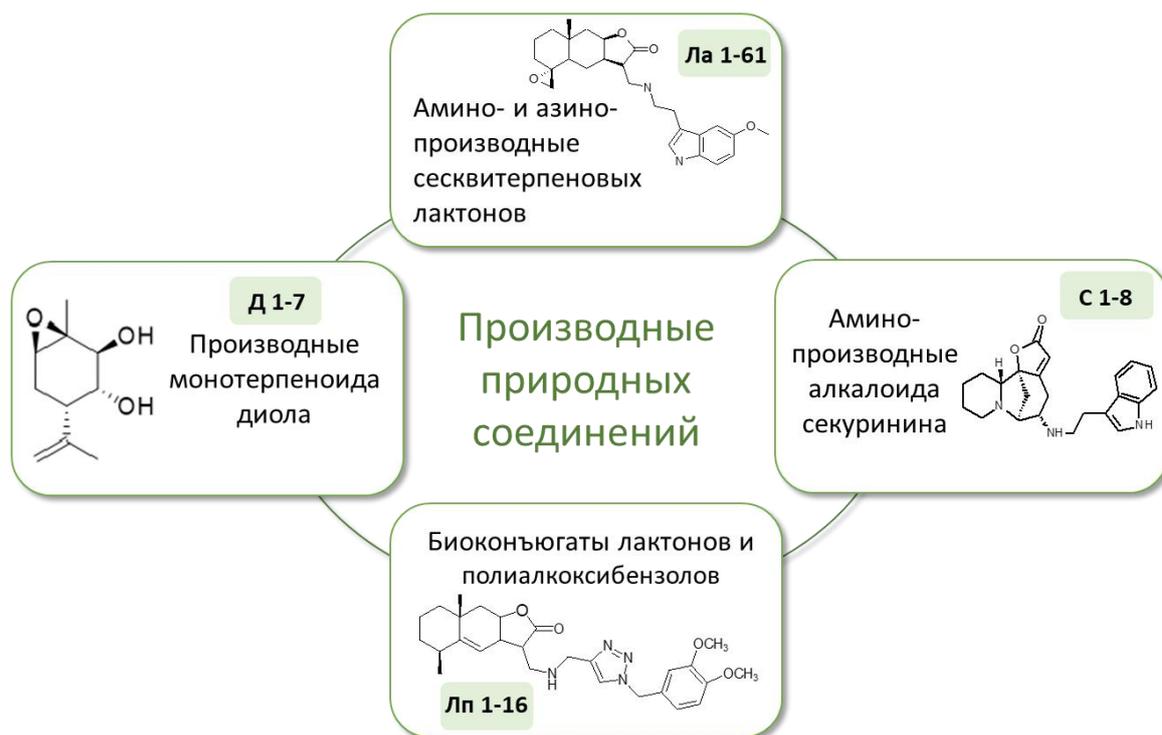


Рисунок 6 — Группы объектов исследования из первой серии веществ — производных природных соединений (репрезентативные примеры).

Конъюгаты алкалоида секуринина и сесквитерпеновых лактонов с фармакофорами, содержащими первичную аминогруппу

Химические соединения на основе сесквитерпеновых лактонов и алкалоида секуринина были получены в Лаборатории природных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологически активных веществ Российской академии наук группой исследователей — С.В. Афанасьевой, С.А.Пуховым и А.В. Семаковым под руководством к.б.н. С.Г. Ключкова. В качестве объектов для модификации были выбраны следующие сесквитерпеновые лактоны: изоалантолактон **Ла 1**,

алантолактон **Ла 12**, аллоалантолактон **Ла 19**, эпоксиизоалантолактон **Ла 22**, эпоксиалантолактон **Ла 31**, 6-гидроксисантонодиен **Ла 36**, артеаннуин Б **Ла 46**, дегидросантонин **Ла 62** и алкалоид секуринин **С 1** (рисунок 7).

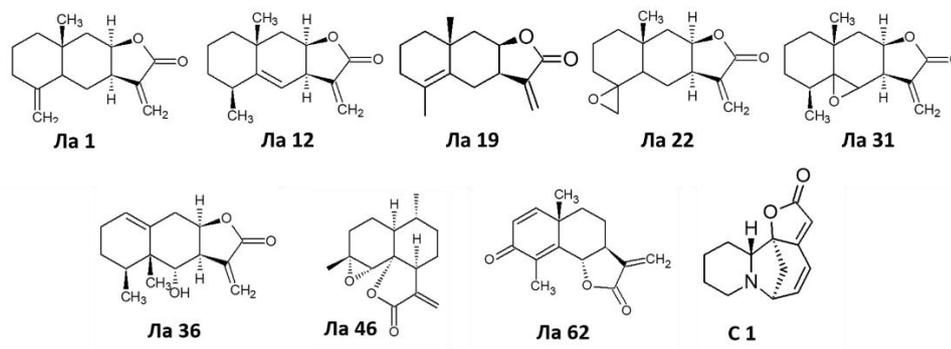


Рисунок 7 — Структурные формулы сесквитерпеновых лактонов и алкалоида секуринина, исследованные в диссертационной работе.

Синтез гибридных молекул с мультитаргетным действием на основе природных сесквитерпеновых лактонов и фармакофорных фрагментов известных физиологически активных веществ был осуществлен в соответствии со схемой 3 (Клочков и др., 2012; Пухов и др., 2014).

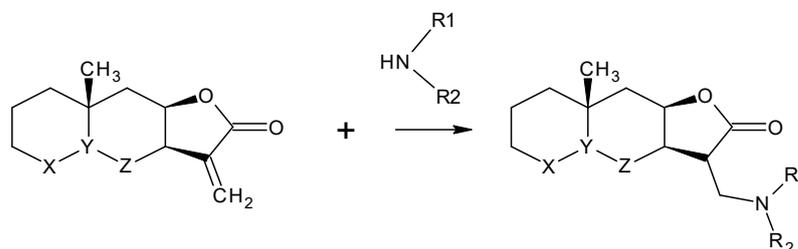


Схема 3 — Общая схема получения аддуктов нуклеофильного присоединения сесквитерпеновых лактонов и фармакофорных аминов.

Соединения на основе секурининового каркаса (рисунок 8) получали с использованием стереоспецифического катализатора трифлата иттербия, как описано в работах (Klochkov et al., 2008; Клочков и др., 2014; Neganova et al., 2017).

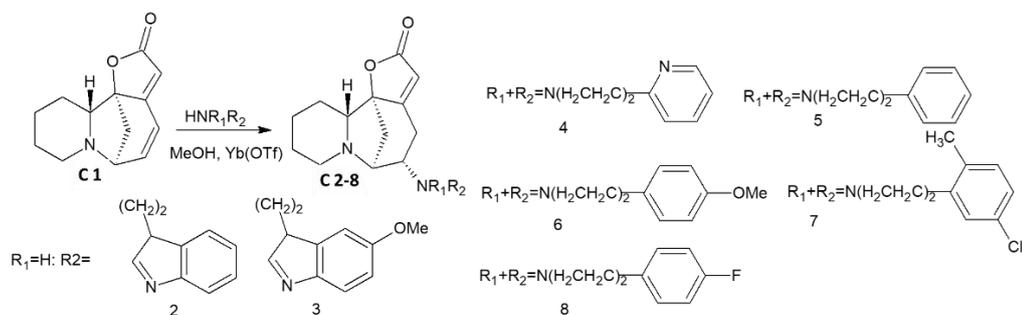


Рисунок 8 — Синтез производных алкалоида секурина.

Биоконъюгаты лактонов и полиалкокксибензолов, полученные с помощью методологии “клик”-химии

В Лаборатории фосфорорганических соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук под руководством д.х.н., проф. В.К. Бреля был разработан способ модификации сесквитерпеновых лактонов с использованием методологии “клик”-химии (Makarov et al., 2016; Neganova et al., 2022d). Для конструирования биоконъюгатов алантолактона и дегидрокостуслактона была использована Cu(I)-катализируемая реакция циклоприсоединения органических азидов к терминальному ацетилену, получившая название “клик”-реакция (рисунок 9).

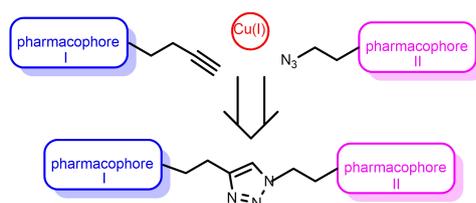


Рисунок 9 — Cu(I)-катализируемая реакция циклоприсоединения органических азидов к терминальным ацетиленам - “клик”-реакция.

Метод “клик”-химии предполагает использование двух синтетических блоков – “ацетиленового” и “азидного”. В качестве “ацетиленовых” блоков использовались продукты нуклеофильного присоединения пропаргиламина к алантолактону и дегидрокостуслактону. В качестве “азидного” блока использовались замещенные бензилазиды.

С целью лучшего понимания влияния природы спейсера, соединяющего лактонный фрагмент с бензильными производными, был получен ряд биоконъюгатов с различной длиной линкерной части (схема 4).

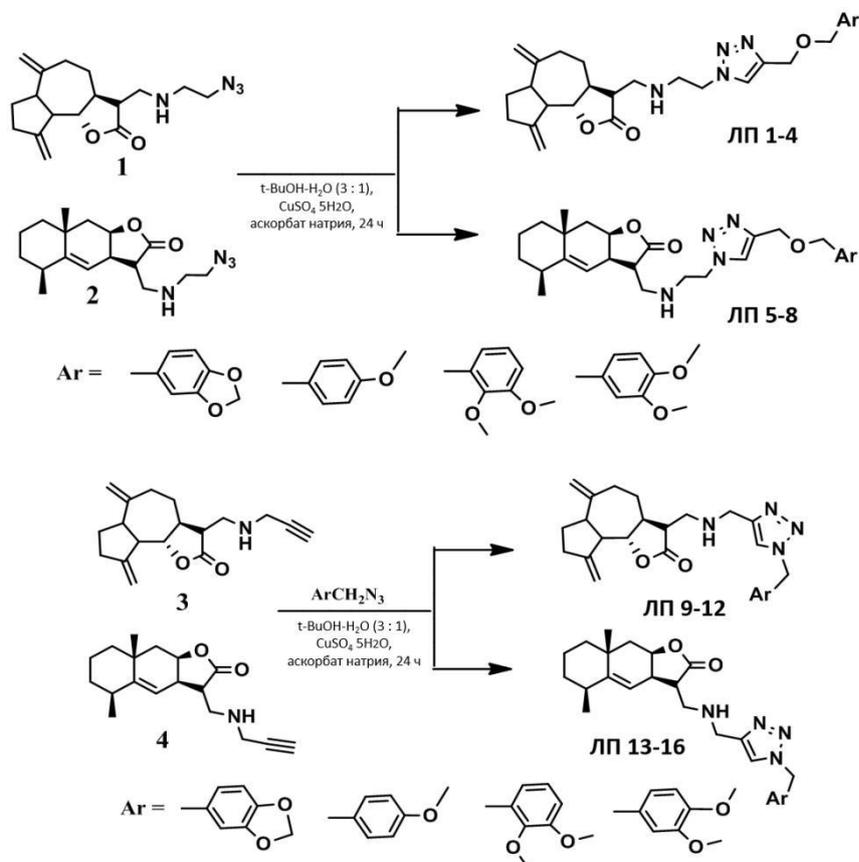


Схема 4 — Общая схема получения биоконъюгатов алантолактона и дегидрокостуслактона с бензильными производными.

Таким образом, были получены целевые продукты, сочетающие в своей структуре два фармакофорных компонента – лактоновые фрагменты и бензилазиды (Артюшин и др., 2022; Neganova et al., 2022b).

Производные монотерпеноида диола

В Лаборатории физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук под руководством д.х.н., проф. К.П.Волчо был получен ряд новых производных монотерпеноида диола. Изначально был проведен стереоселективный синтез диола Д 1 из коммерчески доступного (-)-вербенона последовательными

эпоксидированием двойной связи, восстановлением кето-группы и последующей изомеризацией на глине К-10 по ранее разработанным методикам (Ardashov et al., 2011). Далее полученный (1*R*,2*R*,6*S*)-3-метил-6-(1-метилэтенил)циклогекс-3-ен-1,2-диол **Д 1** вводили в реакцию с метаклорнадбензойной кислотой (*m*-CPBA) с последующим хроматографическим разделением, позволившим получить индивидуальный региостереоизомер эпоксида **Д 2** (Ardashov et al., 2019) (Схема 5).

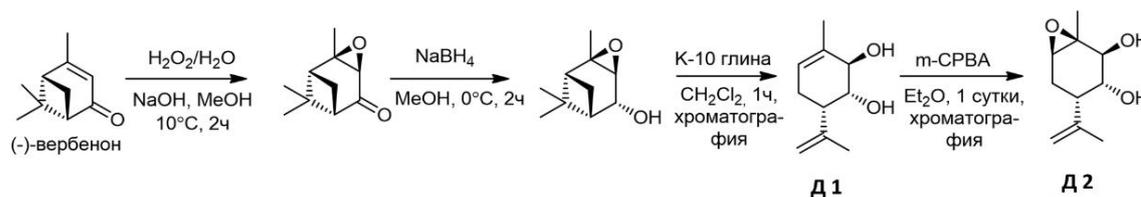


Схема 5 — Получение диола **Д 1** и региостереоизомера эпоксида **Д 2**.

Для получения новых производных (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 было проведено аллильное бромирование соединения **Д 2**. Далее бромид вводили в реакцию нуклеофильного замещения с различными тиолами, содержащими гетероциклический фрагмент. Выходы полученных соединений **Д (3-7)** после колоночной хроматографии составили 24-44% (Схема 6). Данные соединения были получены в рамках проекта РНФ под руководством автора диссертации.

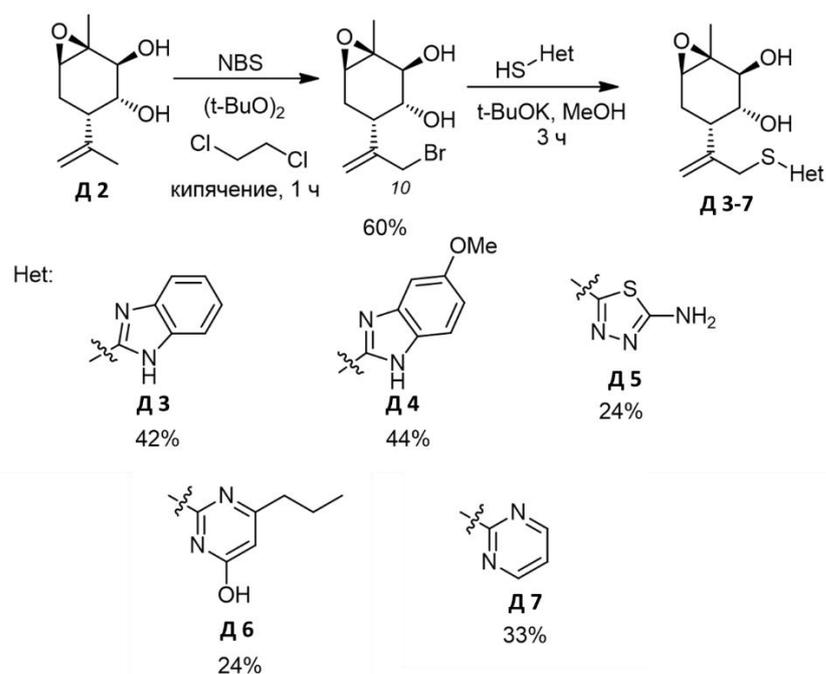


Схема 6 — Получение производных монотерпеноида диола Д 3-7.

Таким образом, был получен ряд производных монотерпеноида диола, биологические свойства которых мы изучали в нашей работе.

3.2.2.2. Гидроксамовые кислоты

Обоснование для использования гидроксамовых кислот в качестве основы для лекарственных препаратов

Гидроксамовые кислоты представляют собой *N*-гидроксиамиды, способные хелатировать ионы металлов, такие как Fe(III) и Zn(II). Поэтому в большинстве случаев они являются предпочтительной основой для разработки ингибиторов, нацеленных на металлосодержащие ферменты (Zhang et al., 2018b). В частности, в области исследований медицинской химии идентифицировали структурно различные производные гидроксамовой кислоты, ингибирующие гистондеацетилазы человека (HDAC), семейство ферментов, контролирующее многие важные процессы, такие как регуляция генов, прогрессирование клеточного цикла, дифференцировка и апоптоз (Herrera-Martinez et al., 2020).

На сегодняшний день FDA одобрено использование пяти ингибиторов гистоновых деацетилаз — вориностата, ромидепсина, туцидиностата, белиностата и панобиностата — для лечения злокачественных новообразований, что иллюстрирует растущую популярность этих препаратов в терапии онкологии (Goey et al., 2016).

В структуре потенциального лекарственного препарата на основе гидроксамовой кислоты важную роль играет линкерная часть молекулы, которая позволяет гидроксаматной группе успешно взаимодействовать с каталитическим доменом гистондеацетилаз и хелатировать ионы цинка, что приводит к аберрантной активности фермента, который в такой конформации не способен удалять ацетильную группу гистоновых и негистоновых белков, провоцируя накопление ацетилированных молекул с последствиями для многих клеточных функций, например, таких как остановка клеточного цикла.

В последнее десятилетие возник значительный интерес к изучению HDAC6-ингибирующей активности потенциальных терапевтических средств для лечения болезни Альцгеймера. Увеличение экспрессии 6-й изоформы гистондеацетилазы, обнаруживаемой в тканях головного мозга пациентов, связано с гибелью нейронов и когнитивной дисфункцией. Одним из соединений, способных контролировать активность HDAC6, является хорошо известное противоопухолевое и противогрибковое средство трихостатин А, представитель класса гидроксамовых кислот, который продемонстрировал нейропротекторные эффекты в ряде экспериментальных исследований. Было обнаружено, что трихостатин А обладает способностью уменьшать повреждение клеток нейробластомы SH-SY5Y, индуцированное патологическим β -амилоидным пептидом, что обусловлено его антиоксидантными свойствами и нормализацией передачи сигналов Nrf2 (Li et al., 2020b). В экспериментах на трансгенных животных трихостатин А повышает уровни белка гельсолина, ответственного за клиренс $A\beta$, в образцах крови, а также в головном мозге мышей (Yang et al., 2014a; Yang et

al., 2014b). Su и соавт. продемонстрировали, что хроническое введение трихостатина А оказывает положительное влияние на кратковременную эпизодическую и долговременную пространственную память мышей APP/PS1, моделирующих болезнь Альцгеймера (Su et al., 2021).

В рамках данного диссертационного исследования изучались биологические свойства гидроксамовых кислот (ГК) различных хемотипов, схематично представленных на рисунке 10.

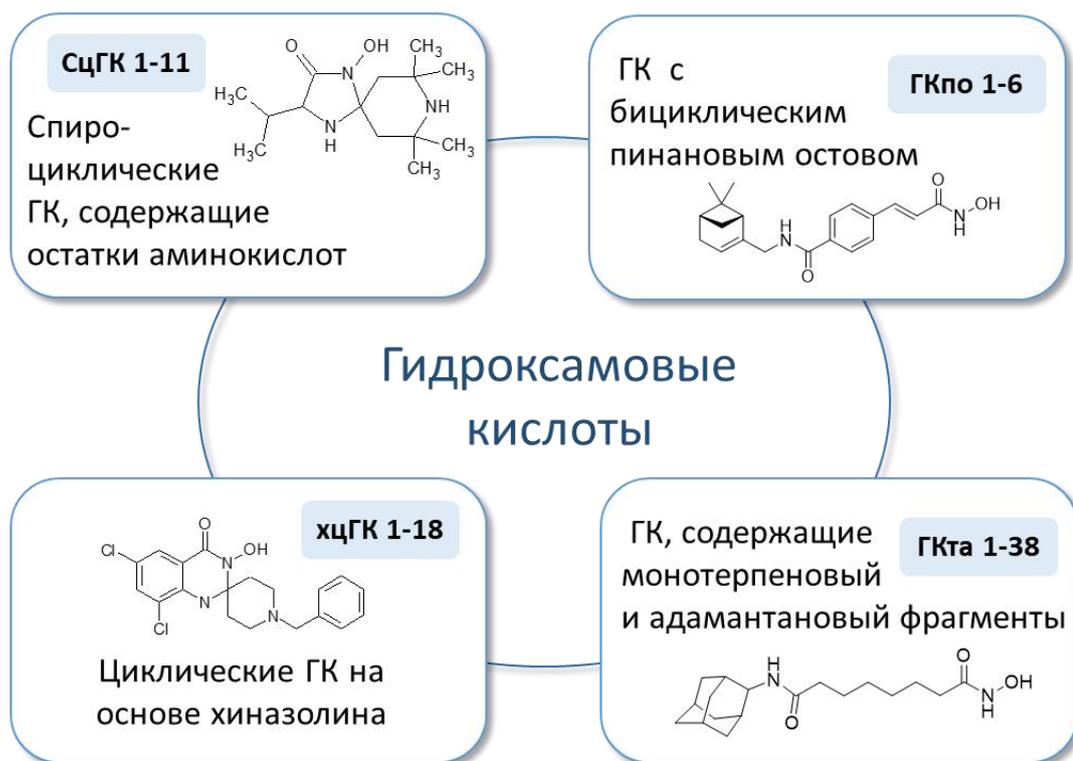


Рисунок 10 — Группы объектов исследования из второй серии веществ — гидроксамовые кислоты (репрезентативные примеры).

Спироциклические гидроксамовые кислоты, содержащие остатки аминокислот

В Отделе кинетики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химической физики Российской академии наук под руководством к.х.н. И.В. Выстороба в ходе направленной химической модификации был синтезирован ряд новых спироциклических гидроксамовых кислот,

содержащих в своей структуре тетраметилзамещенный (1) или *N*-метилзамещенный (2) спиропиперидиновые фрагменты с различными заместителями в α -положении имидазолидинового цикла (рисунок 11). Подробное описание схем синтеза, а также аналитические характеристики соединений содержатся в наших статьях и тезисах докладов (Mishchenko et al., 2018; Неганова и др., 2016; Выстороп и др., 2021).

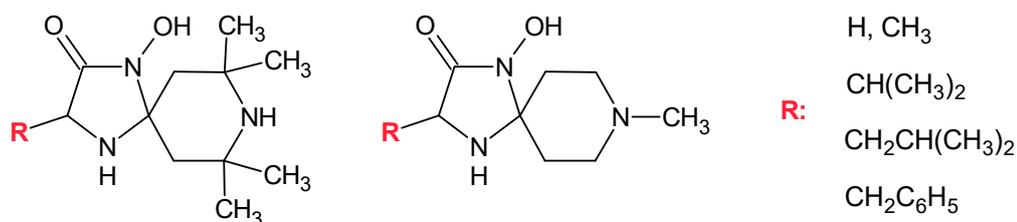


Рисунок 11 — Общие формулы спироциклических гидроксамовых кислот с аминокислотными заместителями, исследованных в диссертационной работе.

В качестве примера протекания реакции на схеме 7 представлен синтез спироциклической гидроксамовой кислоты на основе *DL*-валина.

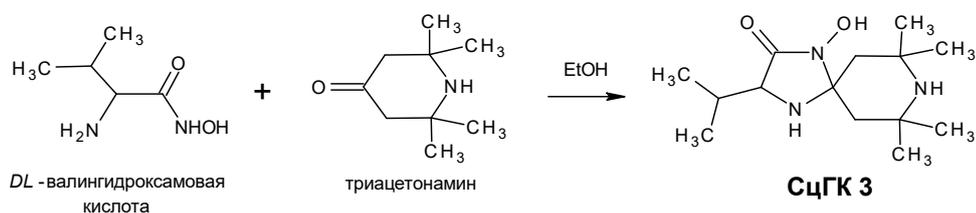


Схема 7 — Схема синтеза спироциклической гидроксамовой кислоты (СЦГК) на основе *DL*-валина.

Циклические гидроксамовые кислоты на основе хиназолина

В Лаборатории химического синтеза Национального медицинского исследовательского центра онкологии имени Н.Н. Блохина под руководством с.н.с., к.х.н. В.Н. Осипова был синтезирован ряд новых оригинальных соединений, содержащих два фармакофорных мотива – гидроксаматную функцию (*Zn*(II)-хелатирующая группа, являющаяся типичным фрагментом ингибиторов гистоновых диацетилаз) и хиназолиновый фрагмент, являющийся структурной основой ряда известных противоопухолевых соединений, используемых в настоящее время в медицинской практике.

Для получения целевых соединений сначала из замещённых антралиловых кислот синтезировали хлорзамещённые производные, а затем соответствующие метиловые эфиры. Обработка последних гидроксиламином приводила к гидроксамовым кислотам, взаимодействие которых с циклическими карбонильными соединениями приводило к целевым спирозамещённым 3-гидрокси-2,3-дигидрохиназолинонам. Подробное описание синтетических схем, а также аналитические характеристики соединений представлены в наших статьях и тезисах докладов (Неганова и др., 2020а; Neganova et al., 2021d). В рамках настоящей диссертационной работы была исследована биологическая активность ряда новых циклических производных хиназолин-4(3*H*)-она или дигидрохиназолин-4(1*H*)-она с гидроксаматной функцией, общие формулы которых представлены на рисунке 12.

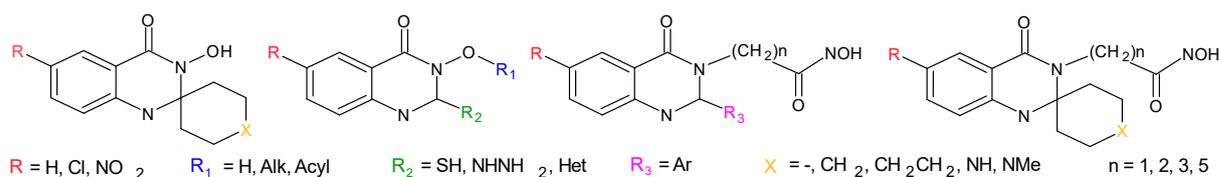


Рисунок 12 — Общие формулы циклических гидроксамовых кислот на основе хиназолина, исследованных в диссертационной работе.

Гидроксамовые кислоты, содержащие монотерпеновый и адамантановый фрагменты

В Лаборатории направленных трансформаций природных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук под руководством к.х.н. Е.В. Сулова был получен ряд новых гидроксамовых кислот линейной структуры, содержащих фрагменты адамантана или природных соединений камфана и фенхана в качестве Сар-группы. Указанные фрагменты были соединены линкерами различной природы, содержащими амидную группу. Данный подход представляется перспективным, поскольку как адамантан, так и терпеновые соединения сами по себе обладают выраженными мишень-

ориентированными фармакологическими эффектами. Гипотеза, положенная в основу молекулярного дизайна, состояла в том, что сочетание в гетеробифармакофорной системе остатка гидроксамовой кислоты и гидрофобного фрагмента, несущего другую фармакологическую функцию, может привести как к усилению активности, характерной для индивидуальных фармакофоров, так и к появлению у молекулы новых полезных свойств. На рисунке 13 представлены общие формулы линейных гидроксамовых кислот (Aleksandrova et al., 2023b; Aleksandrova et al., 2023a).

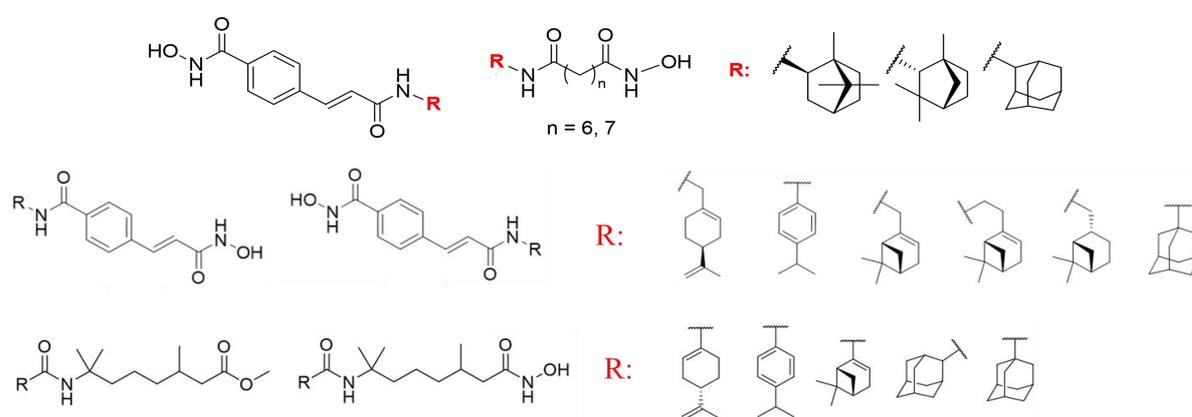


Рисунок 13 — Общие формулы гидроксамовых кислот линейной структуры, исследованных в диссертационной работе.

3.3. Биотестирование синтезированных молекулярных объектов исследования с использованием усовершенствованной интегральной схемы скрининга

3.3.1. 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 неопределенной эффективности, а во вторую очередь, в распределении соединений по двум группам – потенциальные нейропротекторные или противоопухолевые агенты.

Выбранные в результате первичного скрининга хиты являлись отправными точками для дальнейшего исследования и отбора наиболее перспективных соединений-лидеров, которые могли бы выступать как самостоятельные лекарственные претенденты или послужить в дальнейшем в качестве основы для создания более эффективных терапевтических агентов.

Ранее во главе «Обзор литературы» мы, проанализировав большое количество экспериментальных и обзорных работ, сформулировали гипотезу о единстве патологических процессов ранних стадий развития нейродегенеративных и онкологических заболеваний, что послужило консолидирующим началом при выборе мишеней, на которые должны воздействовать тестируемые соединения, чтобы быть отобранными в группу веществ-хитов для дальнейших исследований.

С давних времён окислительный стресс рассматривается в качестве регулирующего фактора в возникновении и прогрессировании широкого спектра заболеваний, в том числе и различных нейродегенеративных расстройств и онкопатологий (Chiurchiu et al., 2016). Избыточные уровни окислителей и нарушение функционирования собственной антиоксидантной системы организма приводят к окислительно-восстановительному дисбалансу, что порождает окислительный стресс, характеризующийся повышением уровней активных форм кислорода, генетической нестабильности и воспалительным реакциям (Luo et al., 2020).

В связи с этим при разработке потенциальных нейропротекторных или противоопухолевых препаратов существенное значение придается исследованию влияния веществ на окислительный стресс. Причем 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 химиотерапевтическую токсичность по отношению к здоровому микроокружению.

В тесной взаимосвязи с окислительным стрессом находится функциональное состояние митохондрий. Данные органеллы регулируют процессы клеточной гибели, участвуют в регуляции электролитного баланса клетки, а также действуют как депо ионов кальция, поддерживая концентрацию Ca^{2+} в цитоплазме на постоянном низком уровне. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что при неопластическом процессе происходит нарушение способности данных органелл активировать процессы, ассоциированные с открытием митохондриальных пор перехода проницаемости и высвобождением проапоптотических факторов, в частности, цитохрома C (Zamzami and Kroemer, 2001). За счёт гиперполяризации митохондриальной мембраны, а также снижения продукции активных форм кислорода опухолевые клетки приобретают резистентность к апоптозу (Michelakis et al., 2008). Всё это свидетельствует о перспективности поиска противоопухолевых соединений, способных вызывать нарушение функционирования митохондрий, приводящих к набуханию органелл, и, как следствие, высвобождению проапоптотических факторов в цитозоль и гибели опухолевой клетки.

Также, согласно гипотезе митохондриального каскада (Lin et al., 2002), нарушения митохондриальных функций, сопровождающиеся изменениями в электрон-транспортной цепи, способствуют развитию нейродегенеративных заболеваний, в том числе болезни Альцгеймера. Уже на ранних стадиях нейродегенеративных расстройств обнаруживается нарушение биогенеза и функционирования митохондрий (Su et al., 2010b), которое сопровождается снижением уровня активности митохондриальных ферментов и усилением окислительного стресса (Reddy and Reddy, 2011; Swerdlow and Khan, 2004), в результате чего происходит гибель нейронов (Bradley-Whitman and Lovell,

2013). Всё это позволяет рассматривать данные органеллы в качестве перспективной терапевтической мишени для лечения расстройств нервной системы.

В последние годы все больше внимания уделяется эпигенетической регуляции транскрипции генов при различных патологиях (Portela and Esteller, 2010), в том числе НДЗ (Nikolac Perkovic et al., 2021) и онкогенезе (Plango et al., 2020). Сравнительно недавно стали появляться данные о вовлечении гистоновых ацетилаз, таких как, например, HDAC6, в этиопатогенез болезни Альцгеймера, что также позволяет рассматривать этот регуляторный белок в качестве перспективной терапевтической мишени для лечения нейродегенеративных расстройств. Что касается онкологических заболеваний, то наиболее ярко выраженное влияние на патогенез имеет фермент HDAC1, сверхэкспрессия которого приводит к возникновению генетических аномалий, неконтролируемой гибели, избеганию апоптоза и химиорезистентности.

Исходя из вышесказанного, все новые химические соединения, которые поступали к нам на исследование биологической активности, изначально тестировались в концентрации 100 мкМ в следующих тестах: 1. Комплексная оценка антиоксидантного статуса: влияние на интенсивность процесса перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, определение железохелатирующей и антирадикальной активности. 2. Исследование влияния на функциональные характеристики изолированных митохондрий печени крыс: действие на трансмембранный потенциал и Ca^{2+} -вызванное «набухание» митохондрий. Для гидроксамовых кислот добавилось еще 2 дополнительных пункта — анализ действия соединений на гистоновые деацетилазы (HDAC1 и HDAC6).

Все полученные данные были занесены в общую таблицу (приложение А и Б), которая в дальнейшем была преобразована в электронную аннотированную базу, содержащую комплексную информацию о самой молекуле и ее разносторонней биологической активности (более подробное описание аннотированной базы находится в разделе 4.1 Главы 4.).

При анализе результатов, занесенных в эту базу, с помощью стандартизированного алгоритма (схема 2), который более подробно был описан ранее в разделах 3.1.2 и 3.1.3, из общего количества тестируемых соединений были выделены эффективные вещества-хиты и распределены по группам:

1) потенциальные нейропротекторы:

среди природных – алломаргаритарин, эпоксидированная форма монотерпеноида диола – эпоксидиол;

среди гидроксамовых кислот — гидроксамовые кислоты, содержащие монотерпеновый и адамантановый фрагменты;

2) потенциальные онколитики:

среди природных — азинопроизводные б-гидроксиксантаодиена и аминопроизводные артеаннуина Б, биоконъюгаты сесквитерпеновых лактонов и полиалкокксибензолов;

среди гидроксамовых кислот — гидроксамовые кислоты на основе хиназолина, гидроксамовые кислоты с бициклическим пинановым остовом, спироциклические гидроксамовые кислоты, содержащие аминокислотные остатки.

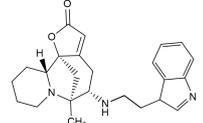
Далее, согласно усовершенствованной системе биотестирования, мы перешли к более подробному изучению целевых свойств веществ-хитов в том или ином фармакологическом направлении.

3.3.2. *In vitro* и *in vivo* исследование целевой эффективности соединений-хитов в группе потенциальных нейропротекторных агентов среди соединений на основе природных скаффолдов

3.3.2.1. Алломаргаритарин

Алломаргаритарин (С 2), триптаминовое производное алкалоида секурина (С 1), был выделен как наиболее активное соединение из ряда аддуктов секурина на этапе первичного скрининга.

Таблица 4 — Результаты исследования биологической активности триптаминового производного секуринина на раннем скрининговом этапе

В-во	Формула	ПОЛ (Fe ²⁺)	ПОЛ (т-БГП)	АА	ХА	Свеллинг
С 2		86,6±4,5	19,2±4,8	12,0±0,5	49,3±3,7	35,5±4,4

Сокращения: В-во — исследуемое вещество. ПОЛ (Fe²⁺) и ПОЛ (т-БГП) — ингибирование перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, инициированного ионами двухвалентного железа и трет-бутилгидроксипероксидом, соответственно. АА — антирадикальная активность. ХА — Fe²⁺-хелатирующая активность. φ_m — деполяризация митохондриальной мембраны. Свеллинг — максимальная скорость «набухания» митохондрий. Все данные представлены в виде процента активности относительно контроля. Символ «-» свидетельствует об отсутствии активности.

Вещество **С 2** обладало антиоксидантной и митопротекторной активностями: эффективно ингибировало перекисное окисление липидов гомогената мозга крыс (в концентрации 100 мкМ на 90%), инициируемое различными индукторами, и увеличивало порог чувствительности изолированных митохондрий к Ca²⁺-индуцированному «набуханию» (на 65%), не влияя на мембранный потенциал данных органелл (таблица 4) (Неганова и др, 2011б; Неганова и др, 2011в). Эти характеристики позволили отнести алломаргаритарин (**С 2**) к группе потенциальных нейропротекторов и продолжить более углубленное изучение специфической активности на *in vitro* этапе исследования биологических свойств и успешно перейти к экспериментам на лабораторных животных, моделирующих болезнь Альцгеймера.

Несмотря на важную роль окислительного стресса и митохондриальной дисфункции в ранних стадиях развития нейродегенерации, нельзя забывать и о других значимых процессах, которые также определяют патологическую картину НДЗ. К таким процессам можно отнести протеинопатию (агрегацию

специфических белковых молекул) и дисфункцию холинэргической системы, приводящую к недостаточности важного нейромедиатора ацетилхолина.

Для объяснения механизмов, лежащих в основе патогенеза болезни Альцгеймера, было представлено множество гипотез, ключевой из которых является описанная в 1992 году «гипотеза амилоидного каскада». В рамках этого постулата ранее говорилось только о токсической роли сенильных бляшек, которые были обнаружены Аллоисом Альцгеймером почти 110 лет назад. Однако современные исследователи все больше акцентируют свое внимание на нарушениях в процессах расщепления белка предшественника β -амилоида, главным образом, ферментом β -секретазой 1 (BACE1) и своевременной утилизации патологических фрагментов. Таким образом, исходя из текущего состояния амилоидной гипотезы большое количество исследовательских групп вдохновлены поиском новых мультимодальных стратегий терапии болезни Альцгеймера, которые заключаются в создании лекарственных средств, которые могли бы воздействовать одновременно на несколько звеньев протеинопатии — процесс агрегации токсичных форм β -амилоида и ферменты, участвующие в образовании этих токсических форм из белка предшественника APP (рисунок 14).

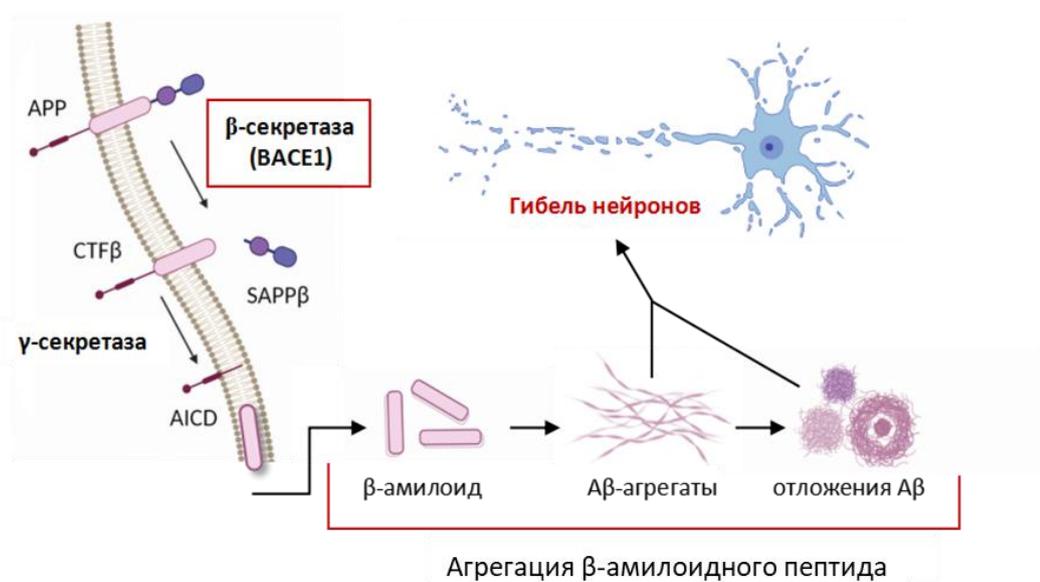


Рисунок 14 — Схематичное изображение образования β -амилоидного пептида из APP и процесса его агрегации.

В нашей работе активность β -секретазы была измерена с использованием флуоресцентного метода резонансного переноса энергии. В качестве положительного контроля для подтверждения валидности методики и правильности её выполнения был использован коммерчески доступный ингибитор β -секретазы GL189 (H-EVNstatineVAEF-NH₂, ингибитор β -секретазы III, Calbiochem, Sigma Aldrich). Нами было обнаружено, что **С 2** оказывает концентрационно-зависимое ингибирующее действие в отношении BACE1, в отличие от исходных веществ секурина и триптамина. Значение IC₅₀ для **С 2** составило $58,1 \pm 0,1$ мкМ (рисунок 15а, б). Более того, с помощью метода, основанного на регистрации флуоресценции тиофлавина Т, взаимодействие которого с амилоидными агрегатами приводит к усилению сигнала флуоресценции, была выявлена способность **С 2** влиять на агрегацию патологического бета-амилоидного пептида 1-42, эффективно подавляя данный процесс на протяжении 72 часов инкубации (рисунок 15в, г). Данный эффект также носил концентрационно-зависимый характер (Neganova et al., 2016; Neganova et al., 2017; Aleksandrova et al., 2024).

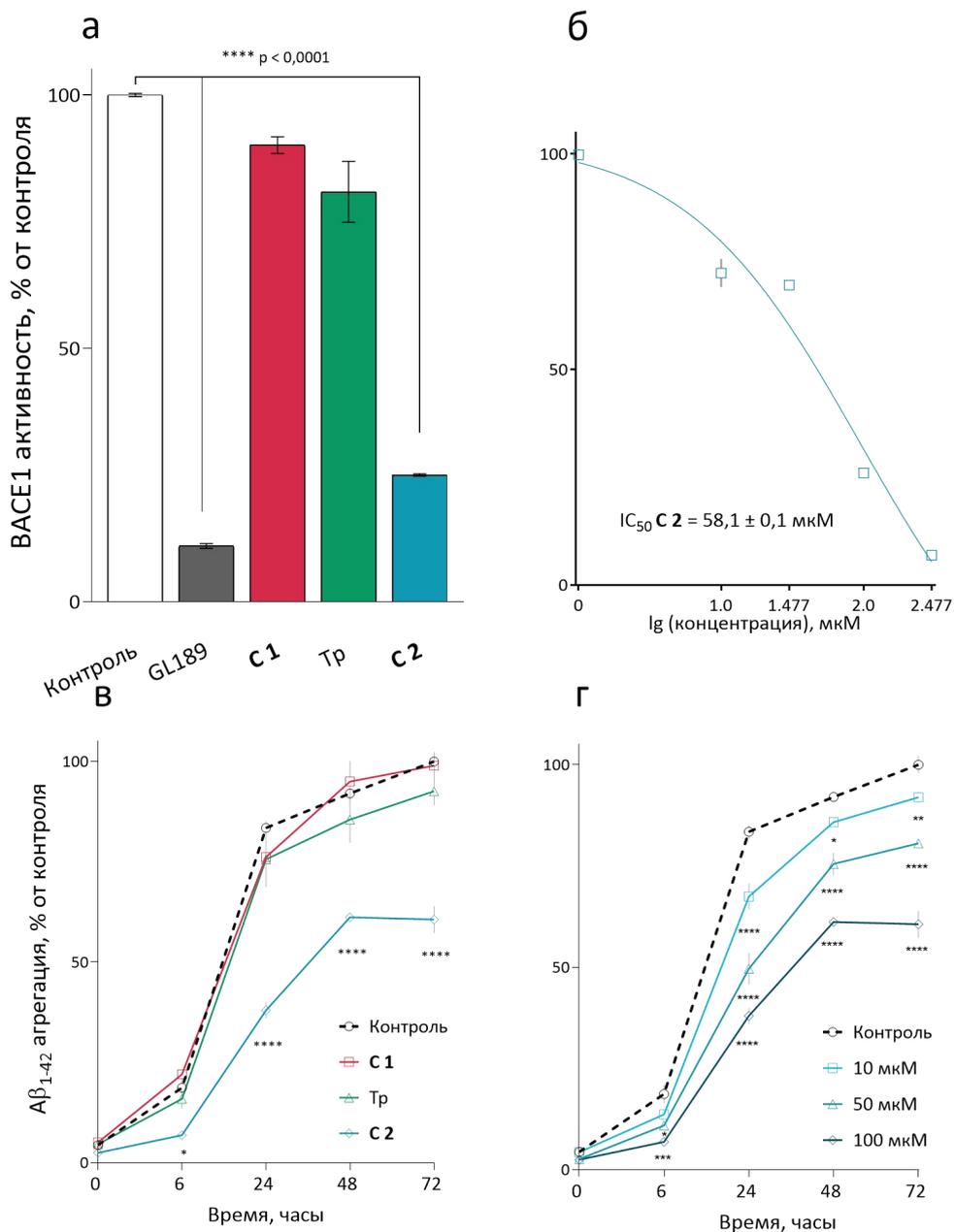


Рисунок 15 — Ингибирование ферментативной активности ВАСЕ1 и агрегации $A\beta$ под действием С 2: (а) влияние исследуемых соединений в концентрации 100 мкМ на активность ВАСЕ1. Концентрация ВАСЕ1 составляла 1,0 ЕД/мл. Данные представлены как среднее значение \pm SEM. ****, $p \leq 0,0001$ по сравнению с контролем (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующими тестами множественного сравнения Даннета). (б) концентрационно-зависимое действие С 2 (в диапазоне от 1 до 100 мкМ) на ферментативную активность ВАСЕ1. (в) кривые флуоресценции тиофлавина Т в присутствии исследуемых соединений в концентрации 100 мкМ. (г) концентрационно-зависимое действие С 2 (в диапазоне от 1 до 100 мкМ) на процесс агрегации $A\beta_{1-42}$.

Дополнительно, во избежание получения ложноположительных результатов по причине возможного связывания флуоресцентной метки Тиофлавина Т с исследуемыми соединениями, были созданы образцы, содержащие исключительно Тиофлавин Т и вещество. Мониторинг флуоресценции не выявил каких-либо различий между показателями экспериментальных проб и образцов, содержащих вместо соединений эквивалентный объем растворителя. Это позволяет исключить предположение о взаимодействии тестируемых веществ с флуоресцентным зондом.

Кроме того, для подтверждения влияния веществ на агрегацию β -амилоида была проведена процедура докинга, которая является полезной альтернативой дорогостоящим и малодоступным методам просвечивающей электронной микроскопии. В связи с тем, что изучение агрегации $A\beta_{1-42}$ методом флуоресцентной спектроскопии с использованием тиофлавина Т выявляет образование β -складчатых структур, образующих токсичные олигомеры и фибриллы $A\beta_{1-42}$ из исходных α -спиральных растворимых форм. По этой причине молекулярный докинг проводили с использованием в качестве мишени структуры α -спирального растворимого мономера $A\beta_{1-42}$ (PDB ID: 1IYT).

Для определения сайтов связывания изначально был проведен «слепой» докинг по всей поверхности пептида. Анализ полученных результатов указывает на два наиболее энергетически выгодных кармана связи: около С-конца пептида, и в изгибе около N-конца пептида, что согласуется с литературными данными (Bansode et al., 2014; Rostagno et al., 2021). После уточнения координат карманов связывания были выполнены расчеты и получена оценка энергии Гиббса связывания для **С 2** в обоих положениях (таблица 5). Оценка энергии Гиббса связывания использовалась для расчета относительных вероятностей реализации той или иной позы докинга для данного вещества.

Таблица 5 — Результаты связывания С 2 с β -амилоидным пептидом

Шифр соединения	Водородные связи	Прочие взаимодействия	docking score
С 2 - Azep+	GLU3 ASP7 GLU11	Salt br.: ASP7 GLU11	-3,844
С 2 - Link+	GLU3 GLU11	Salt br.: GLU11	-3,372
С 2	GLU3	Pi-Pi: TYR10	-3,267
С 2 - Azep+Link+	GLU3 ASP7	Salt br.: GLU3 ASP7 GLU11 Pi-Pi: TYR10	-1,539

На рисунке 16 представлена визуальная идентификация положения связывания С 2 непосредственно с β -амилоидом. Так, было обнаружено, что С 2 проявляет способность к ингибированию агрегации А β за счёт взаимодействия с N-концом белка.

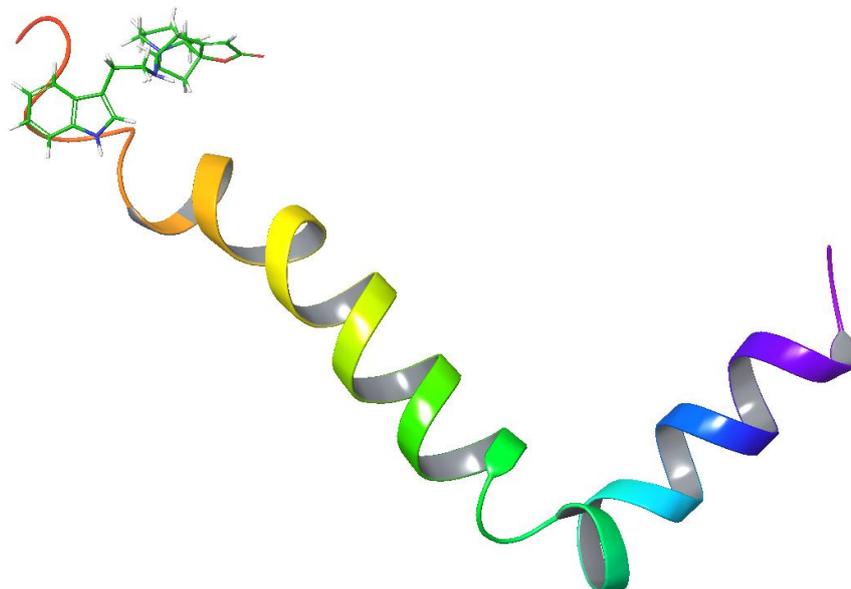


Рисунок 16 — Наложение структуры молекулы С 2 - белок для результатов свободного докинга соединения в бета-амилоид.

Таким образом, С 2 одинаково эффективно ингибирует BACE1, ключевой фермент, запускающий амилоидогенный путь расщепления APP, и непосредственно препятствует агрегации патологической формы β -

амилоидного пептида 1-42, что делает данное соединение перспективным средством для борьбы с протеинопатией при БА.

Несмотря на существующее разнообразие знаний о патогенезе болезни Альцгеймера, среди одобренных FDA США препаратов для её лечения на сегодняшний день преобладают ингибиторы ацетилхолинэстеразы (АХЭ). Эти препараты компенсируют гибель холинергических нейронов и обеспечивают симптоматическое облегчение за счет ингибирования оборота ацетилхолина (АХ) и восстановления синаптических уровней этого нейротрансмиттера (Ferreira-Vieira et al., 2016). Кроме того, многочисленные исследования показали, что холинергическая модуляция и другие функциональные последствия ингибирования АХЭ могут влиять на процессинг белков-предшественников амилоида и защищать нейроны от различных повреждений вследствие протеинопатии (Frisoni et al., 2022). Поэтому кажется вероятным, что соединения, которые способны не только препятствовать агрегации Аβ, но и ингибировать АХЭ, могут быть превосходными кандидатами для терапии болезни Альцгеймера.

Первоначально нами была проведена процедура докинга **С 2** в каталитический центр ацетилхолинэстеразы. Также как и в случае с амилоидным пептидом, структура молекулы **С 2** была загружена в программу Schrodinger Suites Maestro (Schrödinger, 2023d) и обработана модулем LigPrep (Schrödinger, 2023b). В диапазоне биологических рН была показана возможность существования четырёх различных форм молекулы с различной степенью протонированности. Для уточнения отношения концентраций различных форм молекулы в биологических рН при помощи модуля Jaguar (Bochevarov et al., 2016; Klicic et al., 2002; Schrödinger, 2021c; Yu et al., 2018) были рассчитаны показатели рКа для двух атомов азота, подвергающихся протонированию. Было обнаружено, что при рН 7.4 подавляющее большинство молекул **С 2** будут нейтральными, в связи с чем в ходе дальнейшей работы использовалась нейтральная структура вещества.

Структуры белка ацетилхолинэстеразы в комплексе с различными ингибиторами (Cheung et al., 2012) (гуперзином А, галантамином, донепезилом) были выгружены с сайта банка данных протеинов (Protein Data Bank (Berman, 2008), PDB ID: 4EY5, 4EY6, 4EY7) и обработаны модулем Protein Preparation Wizard (Sastry et al., 2013; Schrödinger, 2023e). Были добавлены отсутствующие боковые цепи и петли, проведена оптимизация положений водородов и регенерация водородных связей, удалены молекулы воды и иные малые молекулы, после чего была проведена ограниченная геометрическая минимизация структур протеинов.

Докинг **С 2** и редокинг исходных ингибиторов был проведен в активный центр ацетилхолинэстеразы по протоколу Induced fit docking (Farid et al., 2006; Schrödinger, 2023c; 2021b; Sherman et al., 2006a; Sherman et al., 2006b) (рисунок 17). Наименьшее среднеквадратичное отклонение полученных поз референсных ингибиторов составило 0,0681 для гуперзина А, 0,6552 для галантамина и 0,3591 для донепезила, подтверждая таким образом валидность используемого протокола докинга (таблица 6).

Таблица 6 — Результаты докинга **С 2** и референсных лигандов в активный центр ацетилхолинэстеразы по протоколу Induced Fit Docking

Шифр соединения	Водородные связи	Прочие взаимодействия	Docking Score
Донепезил	PHE295	Pi-Pi: TRP82 TRP286 Pi-Cat.: TRP86 PHE338	-12.464
Галантамин	GLU202 HIP447 TYR337	---	-10.764
Гуперзин А	TYR133 TYR337	---	-10.512
С 2	SER125 PHE295	---	-9.503

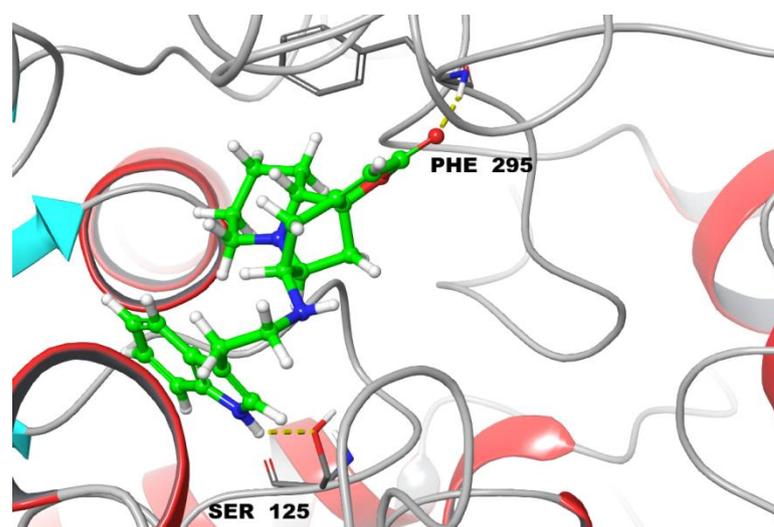


Рисунок 17 — Комплекс «С 2 — ацетилхолинэстераза», полученный в результате докинга по протоколу Induced Fit в активный центр белка (PDB: 4EY7). Лиганд представлен в виде «шариков и палочек» с атомами углерода, водорода, кислорода и азота, окрашенными в зеленый, белый, красный и синий цвета, соответственно. Белок представлен лентами, окрашенными по-разному в зависимости от представленного элемента вторичной структуры белка: α -спирали окрашены в красный цвет, а β -листы — в светло-голубой. Релевантные аминокислоты подписаны и представлены в виде «тонких трубок» с атомами углерода, водорода, кислорода и азота, окрашенными в серый, белый, красный и синий цвета соответственно. Водородные связи представлены пунктирными желтыми линиями.

Исходя из набора взаимодействий, проявляемых по результатам докинга в позах «рецептор-лиганд», С 2 показывает отличный от исследованных ингибиторов режим связывания с активным центром ацетилхолинэстеразы. Значение показателя Docking Score С 2 хотя и ниже по абсолютному значению таковых для известных ингибиторов, но достаточно большое по абсолютной величине, чтобы указывать на возможность ингибирующей активности, и достаточно близко к соответствующим значениям для гуперзина А и галантамина, являющимися проверенными ингибиторами ацетилхолинэстеразы.

После проведения процедуры докинга было экспериментально показано влияние С 2 на активность фермента АХЭ с помощью модифицированного метода Элмана. Как видно на рисунке 18, в отличие от исходных молекул, алкалоида секурина и триптамина, С 2 на 48 % ингибировал активность

фермента, что проявлялось в снижении оптической плотности, регистрируемой при взаимодействии продукта гидролиза субстрата тиохолина с 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойной кислотой) (рисунок 18).

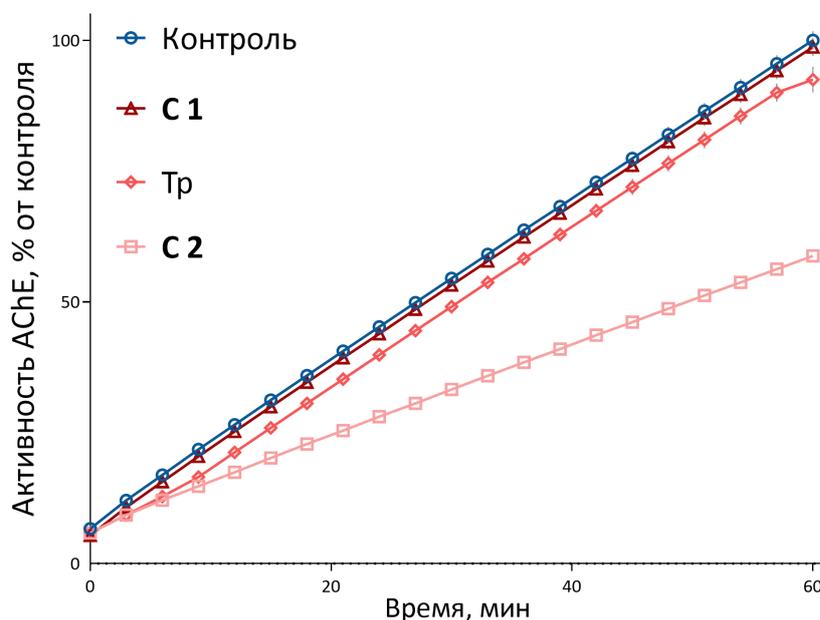


Рисунок 18 — Ингибирование ферментативной активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ) тестируемыми соединениями в концентрации 100 мкМ. Данные представлены как среднее \pm SEM ($n = 3$).

На следующем этапе были изучены цитопротекторные свойства **C 2** при моделировании различных видов клеточной нейротоксичности (железо-индуцированная токсичность или ферроптоз и $A\beta$ -вызванная токсичность). Было показано, что инкубация первичной культуры нейронов коры головного мозга крыс с 25 мкМ **C 2** после воздействия обоих нейротоксинов значительно увеличивала процент выживших клеток, в отличие от исходного алкалоида секурина (рисунок 19). Этот эффект может быть связан как с антиоксидантным эффектом **C 2**, так и с его способностью увеличивать устойчивость митохондрий к индукции скачка митохондриальной проницаемости, возникающей при токсическом действии β -амилоида (Neganova et al., 2014).

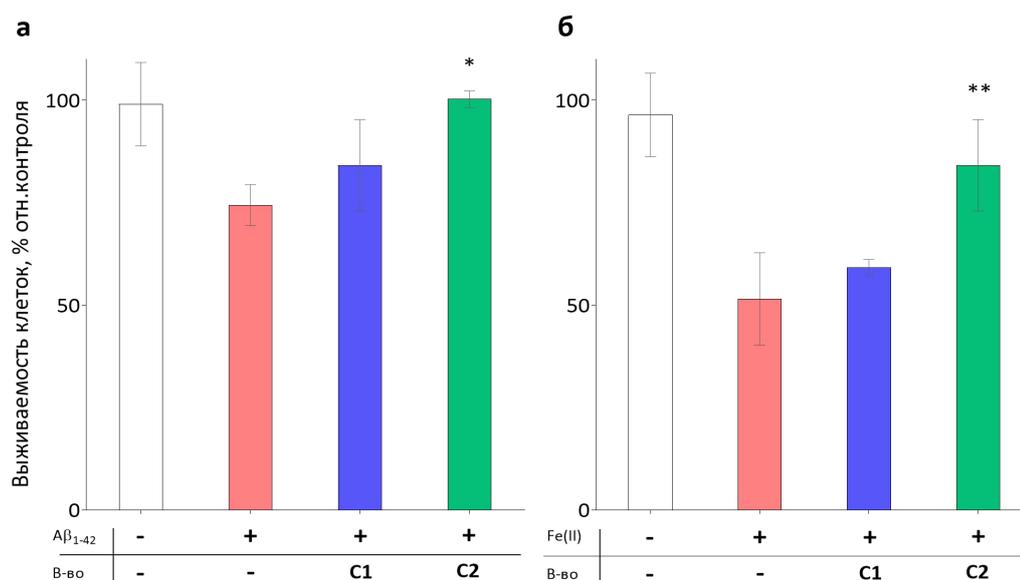


Рисунок 19 — Влияние С 1 и С 2 на выживаемость нейронов при различных моделях нейротоксичности. Данные представлены как среднее \pm SEM ($n = 3$). * $p < 0,05$; **, $p \leq 0,001$ по сравнению с контролем. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Таким образом, С 2 эффективно защищает клетки коры головного мозга крыс при различных видах клеточной нейротоксичности, а в основе его защитного действия лежат митопротекторные и антиоксидантные свойства.

Все вышеперечисленные виды активности, обнаруженные для С 2 в *in vitro* экспериментах — антиоксидантное, митопротекторное и цитопротекторное действие, способность ингибировать BACE1 и препятствовать агрегации патологического Aβ₁₋₄₂, позволили нам рассматривать данное соединение в качестве потенциального перспективного мультитаргетного соединения для борьбы с болезнью Альцгеймера (рисунок 20). Для подтверждения данного предположения необходимым условием было проведение *in vivo* испытаний на лабораторных животных, моделирующих заболевание.



Рисунок 20 — Визуализация мультитаргетного действия С 2.

In vivo исследование нейропротекторного потенциала С 2 было оценено по его способности оказывать влияние на когнитивные функции животных в двух моделях нейродегенерации: (1) широко применяемой фармакологической модели скополамин-вызванной амнезии и (2) трансгенных животных, моделирующих болезнь Альцгеймера (рисунок 21).

Валидность использования скополамина для моделирования когнитивных нарушений подтверждается значительным количеством результатов исследований нейрохимических механизмов, лежащих в основе вызванных данным нейротоксином поведенческих изменений. В контексте болезни Альцгеймера его эффекты включают холинергическую дисфункцию и увеличение отложения β -амилоида, оба из которых являются критическими чертами заболевания. Так, в работе (Lazarova et al., 2021) показано, что скополамин приводит к нарушениям как кратковременной, так и долговременной памяти, вызывая атрофию и дегенерацию нейронов головного мозга у мышей. А внутрибрюшинное введение скополамина в дозе 2 мг/кг/день в течение 42 дней у самцов крыс линии Вистар почти в 2,5 раза увеличивало уровни белка А β и экспрессию мРНК белка-предшественника APP (в 2,7 раза) (Akerman and Wikstrom, 1976).

Модель скополамин-вызванной амнезии



Линия: C57BL/6
Возраст: 3 месяца

Скополамина гидробромид

C12CC3C(C1)OC(=O)C(C2)C4=CC=CC=C4

Патологический фенотип:

- Холинэргическая дисфункция
- Окислительное повреждение

Трансгенные животные 5xFAD



Линия: Tg(APP^SwF1L^{on},PSEN1*^{M146L}*^{L286V}) 6799Vas/J
Возраст: 11 месяцев

Сверхэкспрессия:

- APP 695 с мутациями K670N, M671L, I716V и V717I
- PS1 с мутациями M146L и L286V

Патологический фенотип:

- Глиоз
- Амилоидные отложения
- Митохондриальная дисфункция
- Накопление внутриклеточного A β

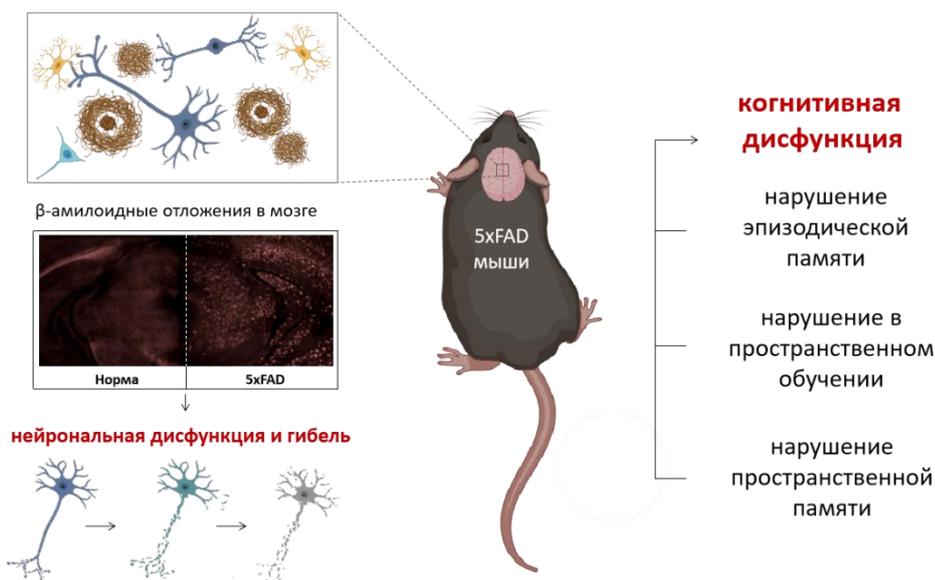


Рисунок 21 — Краткое описание моделей животных, используемых в *in vivo* экспериментах при изучении нейропротекторного потенциала С 2.

Более того, для полноценного воспроизведения патологического состояния при болезни Альцгеймера в качестве наиболее четко воспроизводящей модели данного заболевания была использована генно-модифицированная линия мышей 5xFAD (Tg(APP^SwF1L^{on},PSEN1*^{M146L}*^{L286V}) 6799Vas/J) (Oakley et al., 2006) в возрасте 11 месяцев. Патологический фенотип данной линии включает накопление внутриклеточного β -амилоида и его отложения, выраженную

нейрональную гибель и нейродегенерацию, наблюдаемые при болезни Альцгеймера.

При формировании групп животных мы руководствовались важным принципом международных правил работы с лабораторными животными — минимизацией количества дорогостоящих трансгенных особей мышей. В связи с этим нами не были использованы референсные вещества с уже известными нейропротекторными свойствами, применяемые в клинике для лечения болезни Альцгеймера (например, Ривастигмин или Мемантин). Более того, существующие на сегодняшний день одобренные FDA терапевтические агенты для лечения БА имеют кардинально отличающиеся от соединения-лидера механизмы действия, связанные с ингибированием ацетилхолинэстеразы или NMDA-рецепторов, что свидетельствует об отсутствии целесообразности в сравнении проявляемых ими свойств *in vivo*. Более того, значительное количество уже существующих экспериментальных данных показало, что в тесте Водный лабиринт Морриса для мемантина наблюдался слабый эффект или вовсе отсутствовал, а в некоторых случаях (например, для возрастной группы трансгенных мышей 5xFAD – 12-15 месяцев) приводил к ухудшению когнитивных характеристик (Devi and Ohno, 2016; Saab et al., 2011).

В свою очередь, отсутствие групп животных, получавших лечение секурином и триптамином обусловлено тем фактом, что секуринин, как и триптамин, не проявлял аналогичных алломаргаритарину нейропротекторных свойств в *in vitro* экспериментах, что объясняет отсутствие целесообразности в *in vivo* испытаниях их активности. Более того, хорошо известен тот факт, что индол, производным которого является триптамин, не проходит через гематоэнцефалический барьер (Afergan et al., 2008; Pagire et al., 2022), что делает невозможным оценку его действия на животных.

Перед проведением *in vivo* исследований нейропротекторных свойств **C 2**, с целью предупреждения вопроса о его способности проникать через ГЭБ,

нами был проведен теоретический анализ фармакокинетических параметров конъюгата секурина и триптамина с помощью сетевого инструмента SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>). При разработке терапевтических средств ранний скрининг ADME имеет решающее значение, поскольку позволяет определить потенциальную лекарственную способность кандидата и избежать дорогостоящих неудач на более поздних стадиях исследований.

Чтобы предсказать лекарственную способность **С 2**, мы проанализировали ряд параметров, в частности, связанных с правилами Липински (известным также как правило пяти), Гхоша, Вебера, Эгана и Муэгге, а также непосредственно способность проникать через желудочно-кишечный тракт для предсказания возможности потенциального перорального применения соединения, а также гематоэнцефалический барьер, что является критически важной характеристикой потенциальных нейропротекторных агентов. Полученные данные представлены на рисунке 22. Сервер SwissADME показал, что **С 2** в полной мере подчиняется эмпирическим правилам (рисунок 22б) и потенциально имеет высокую скорость всасывания в ЖКТ и способность проникать через ГЭБ, что позволяет сделать вывод о его приемлемых ADME-свойствах и обосновать целесообразность проведения серии *in vivo* экспериментов на животных.

Первоначально была произведена *in vivo* оценка возможных токсических эффектов **С 2**, в результате которой не было обнаружено каких-либо отклонений в поведенческих и физиологических реакциях мышей, получавших соединение (вплоть до 300 мг/кг), что позволило продолжить исследование его нейропротекторных свойств на животных.

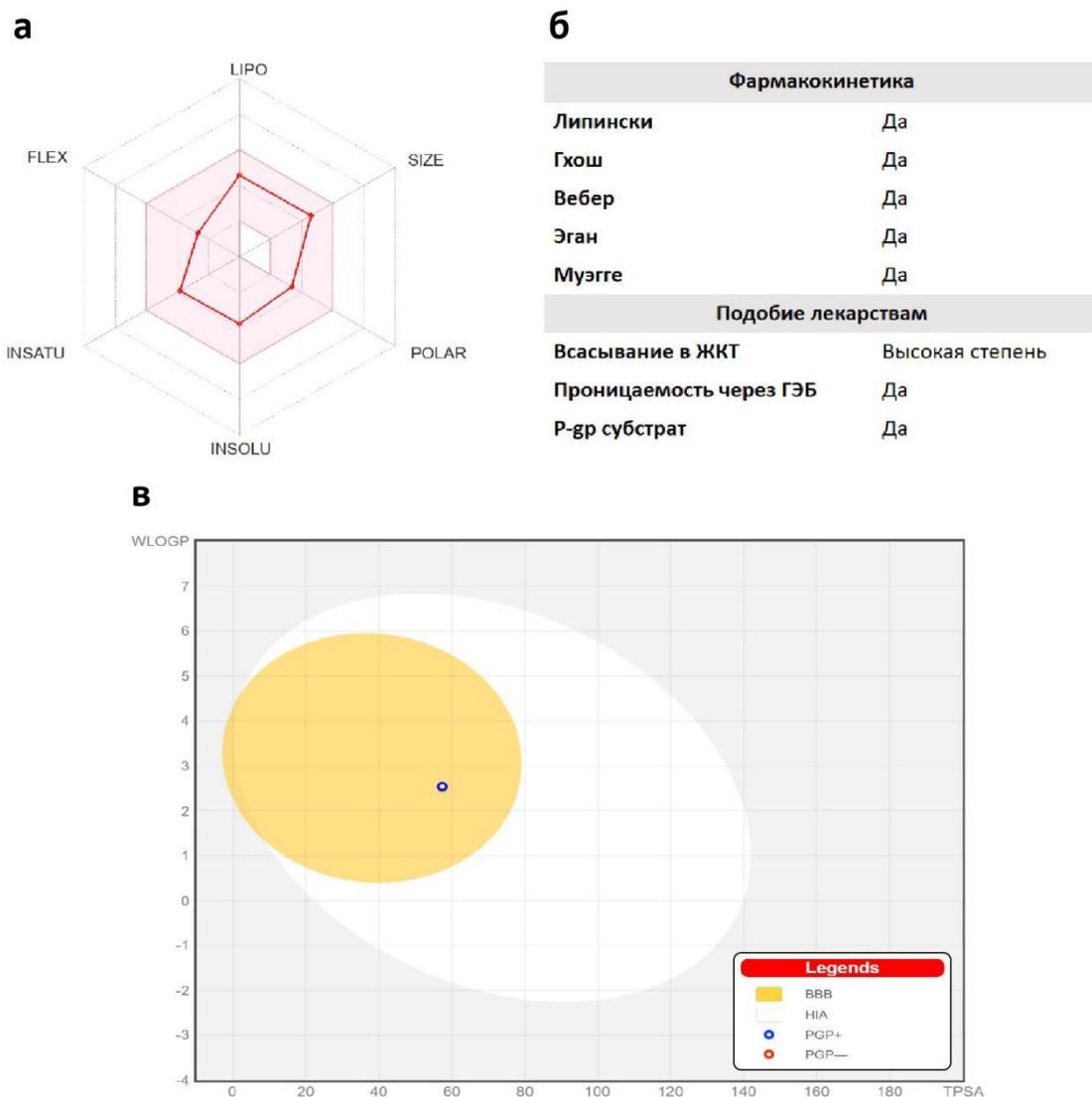


Рисунок 22 — Фармакокинетические свойства конъюгата секурина и триптамина **С 2**, проанализированные с помощью сетевого инструмента SwissADME. а — радарная диаграмма биодоступности **С 2**. На графике показаны параметры LIPO (липофильность), SIZE (молекулярная масса), POLAR (полярность), INSOLU (нерастворимость), INSATU (ненасыщенность) и FLEX (конформационная гибкость). Окрашенная розовым цветом зона показывает идеальные значения пероральной биодоступности, красная линия показывает непосредственно результат для исследованного соединения. б — соответствие фармакокинетических параметров, рассчитанных для **С 2**, эмпирическим правилам. в — модель BOILED-Egg для прогнозирования пассивного всасывания **С 2** в желудочно-кишечном тракте (белая область) и проникновения в головной мозг (желтая область).

Для исследований *in vivo* использовали 3-месячных или 11-месячных самцов мышей линии C57BL6/j и 11-месячных самцов мышей линии 5xFAD.

Животных содержали при 12/12-часовом цикле свет/темнота со свободным доступом к воде и пищи на протяжении всего эксперимента.

Поведенческие тесты включали пошаговое исследование различных типов памяти с учётом существующих отличий как во времени сохранения материала (кратковременную и долговременную), так и в преобладающем в процессах запоминания, сохранения и воспроизведения информации анализаторе (эпизодическую и пространственную).

Первоначально нами была произведена оценка эпизодической памяти животных в тесте Распознавание нового объекта. Критерием успешного формирования памяти в данном эксперименте служит тот факт, что во время фазы тестирования мышь тратит больше времени на изучение нового объекта, который она не видела ранее.

На рисунке 23 показан процент времени, затрачиваемого экспериментальными группами на изучение двух разных объектов (ранее известного и нового), на этапе тестирования. В группе, получавшей скополамин, не было выявлено статистически значимой разницы во времени исследования объектов ($p > 0.05$), что, очевидно, свидетельствует о нарушениях в процессе запоминания. В то же время в обеих моделях как клинически здоровые животные дикого типа, так и мыши, получавшие лечение С 2, показали повышенное предпочтение новому объекту в тестовом испытании. В то время как для контрольных мышей разница в этом параметре не была достоверной, для животных из групп С 2 продолжительность изучения новых объектов была значительно большей, чем известных ранее ($p = 0,009$ в условиях моделирования вызванной скополамином амнезии, рисунок 23б и $p = 0,006$ в модели трансгенных животных, рисунок 23в).

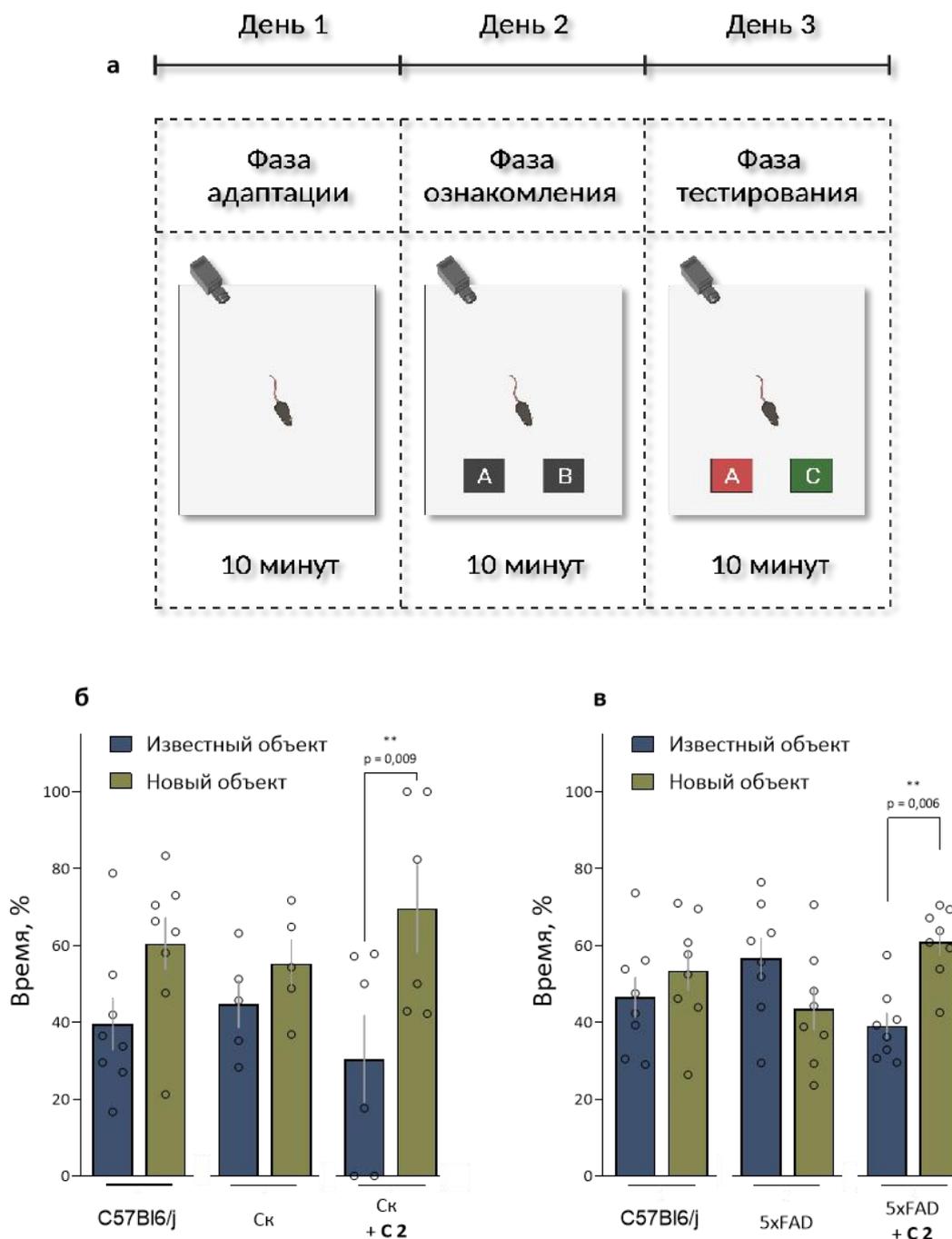


Рисунок 23 — Исследование эпизодической памяти мышей в тесте Распознавание нового объекта. а — схематическое изображение эксперимента. Влияние С 2 на эпизодическую память: б — животных со скополамин-индуцированной амнезией и в — трансгенных мышей линии 5xFAD. Данные представлены в виде времени исследования того или иного объекта в течение 5-минутной тестовой фазы относительно общего времени изучения обоих объектов (в процентах, среднее значение \pm SEM, количество животных в каждой группе, $n = 8$). **, $p < 0,01$, по сравнению со скополамином (б) или 5xFAD (в). Статистический анализ проводили с использованием двухфакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Бонферрони.

Затем нами было исследовано влияние **С 2** на пространственную память мышей. Тест Y-образный лабиринт позволил оценить кратковременную пространственную память, которая основана на естественном инстинкте грызунов — исследовать неизвестные среды. Показателем эффективности формирования памяти в данном тесте служит продолжительность нахождения мышей в новом, ранее не обследованном рукаве лабиринта.

На рисунке 24 представлены результаты исследования пространственной памяти мышей в тесте Y-образный лабиринт. Было обнаружено, что животные из группы Скополамин (Ск) во время фазы тестирования демонстрируют тенденцию к снижению времени нахождения в ранее не обследованном рукаве лабиринта ($p = 0.078$ при сравнении с контролем), свидетельствующую о нарушениях в формировании кратковременной пространственной памяти. В свою очередь мыши из группы Ск + **С 2** демонстрируют значительно более высокие значения данного показателя ($p = 0,042$) (рисунок 24б, в).

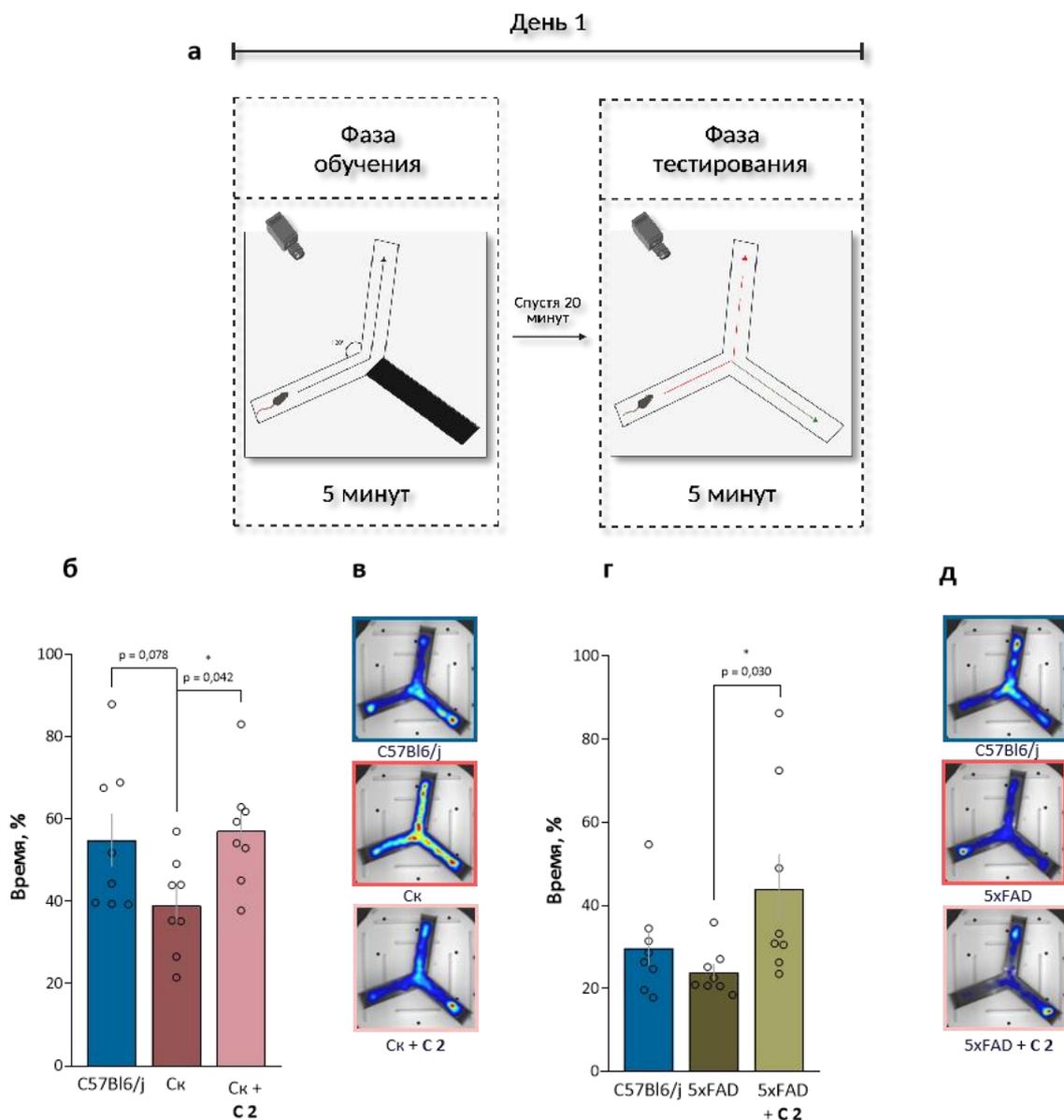


Рисунок 24 — Исследование кратковременной пространственной памяти мышей в тесте Y-образный лабиринт. а — схематическое изображение эксперимента. Влияние С 2 на пространственную память: б, в — животных со скополамин (Ск) -индуцированной амнезией и г, д — трансгенных мышей линии 5xFAD. Данные представлены в виде продолжительности пребывания мышей в целевом рукаве лабиринта в течение 5-минутной тестовой фазы общего времени нахождения в лабиринте (в процентах, среднее значение \pm SEM, количество животных в каждой группе, $n = 8$). *, $p < 0,05$, по сравнению со Ск (б) или 5xFAD (г). Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

На модели трансгенных животных (рисунок 24г, д) при исследовании кратковременной пространственной памяти в тесте Y-образный лабиринт была обнаружена сходная продолжительность во времени посещения нового рукава лабиринта контрольными дикотипными и интактными трансгенными мышами ($p > 0,05$), что вполне вероятно может быть связано с отсутствием нарушений в формировании кратковременной пространственной памяти у животных 5xFAD в возрасте 11 месяцев. Однако для мышей, получавших лечение С 2, данный показатель был достоверно более высоким ($p = 0,030$), что позволяет предположить наличие когнитивно-стимулирующих свойств данного вещества.

Также для оценки влияния С 2 на долговременную пространственную память был проведен тест водный лабиринт Морриса. Как показано на рисунке 25, по сравнению с контрольными животными, мыши в группах Скополамин (рисунок 25б) и 5xFAD (рисунок 25в) вплоть до четвертого дня обучения демонстрируют отсутствие изменений в показателе латентного периода поиска скрытой платформы. Это свидетельствует о том, что у трансгенных мышей и у животных, получавших внутрибрюшинные инъекции нейротоксина (1 мг/кг) наблюдаются серьезные нарушения в пространственной памяти. Лечение С 2 смогло нивелировать когнитивное расстройство у мышей, о чем свидетельствует постепенное снижение времени, необходимого животным для достижения платформы. Так, уже на третий день обучения мыши демонстрировали достоверное уменьшение данного показателя ($p = 0.021$).

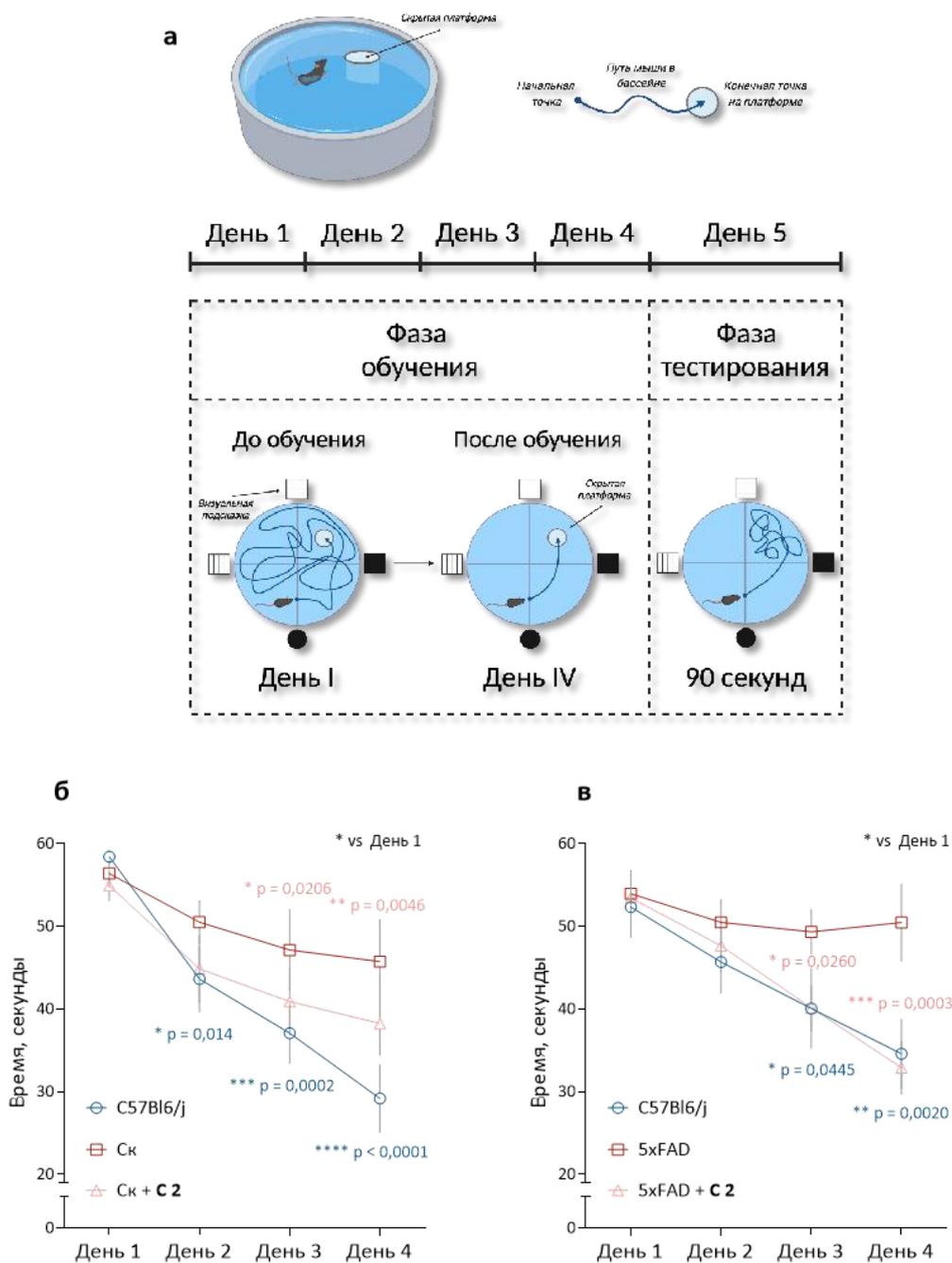


Рисунок 25 — Исследование обучения и долговременной пространственной памяти мышей в тесте Водный лабиринт Морриса. а — схематическое изображение эксперимента. Влияние C 2 на пространственное обучение: б — животных со скополамин-индуцированной амнезией и в — трансгенных мышей линии 5xFAD. Данные представлены как латентный период поиска скрытой платформы в течение четырех дней обучения (среднее значение \pm SEM, количество животных в каждой группе, $n = 8$). *, **, ***, ****, $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно по сравнению с 1-м днём. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Дополнительно нами был проведен анализ стратегий поиска скрытой платформы животными в течение всего периода обучения (рисунок 26) (Wolfer et al., 2001).

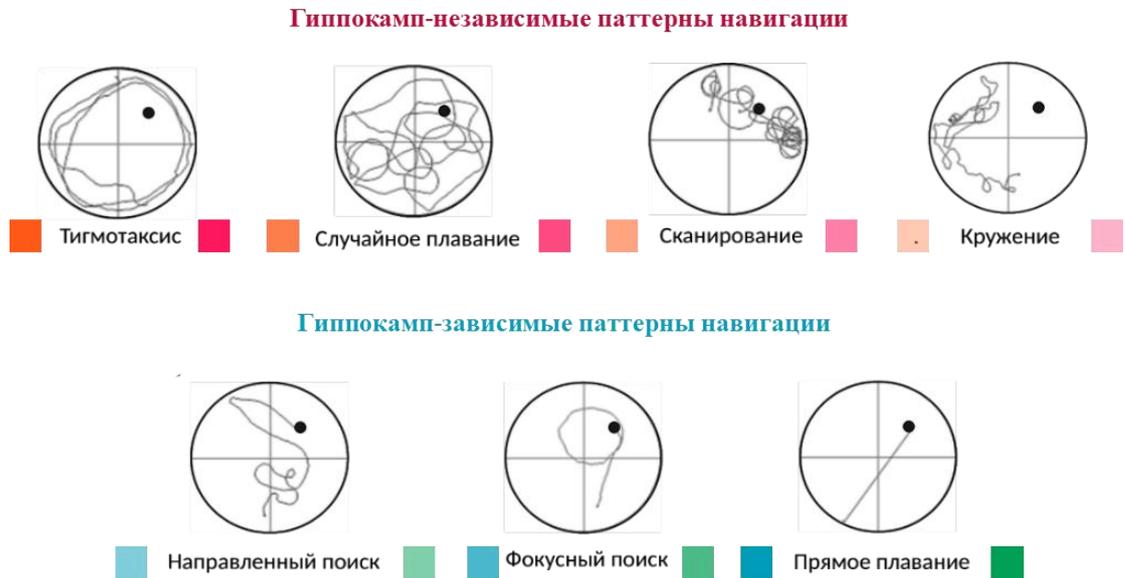


Рисунок 26 — Виды навигации, используемые животными для нахождения скрытой под водой платформы. Независимая от гиппокампа эгоцентрическая навигация включает несколько типов стратегий поиска платформы: (1) тигмотаксис — животное перемещается только по периферии арены; (2) случайный поиск — животное начинает удаляться от периферии арены с видимыми движениями внутрь; (3) сканирование — поведение, связанное со случайным поиском, ориентированным на центр бассейна; (4) кружение — беспорядочное плавание животного по кругу. Зависимая от гиппокампа аллоцентрическая ориентация включает: (1) направленный поиск — плавание небольшими круговыми или извилистыми движениями для нахождения платформы; (2) фокусный поиск — это поведение также связано со случайным поиском, но здесь животное активно ищет определённый небольшой участок арены; (3) прямое плавание — животное плывёт прямо к платформе.

Его суть заключается в постепенном переключении гиппокамп-независимой эгоцентрической навигации (оттенки синего), наблюдаемой в первые дни помещения животного в установку, когда мышь демонстрирует стереотипную последовательность шаблонов поиска скрытой платформы,

ориентируясь только на проксимальные и внутренние сигналы, на гиппокамп-зависимую аллоцентрическую (оттенки розового) с добавлением различных векторов движения, в результате использования животными дистальных сигналов (визуальных подсказок, расположенных у бортиков бассейна).

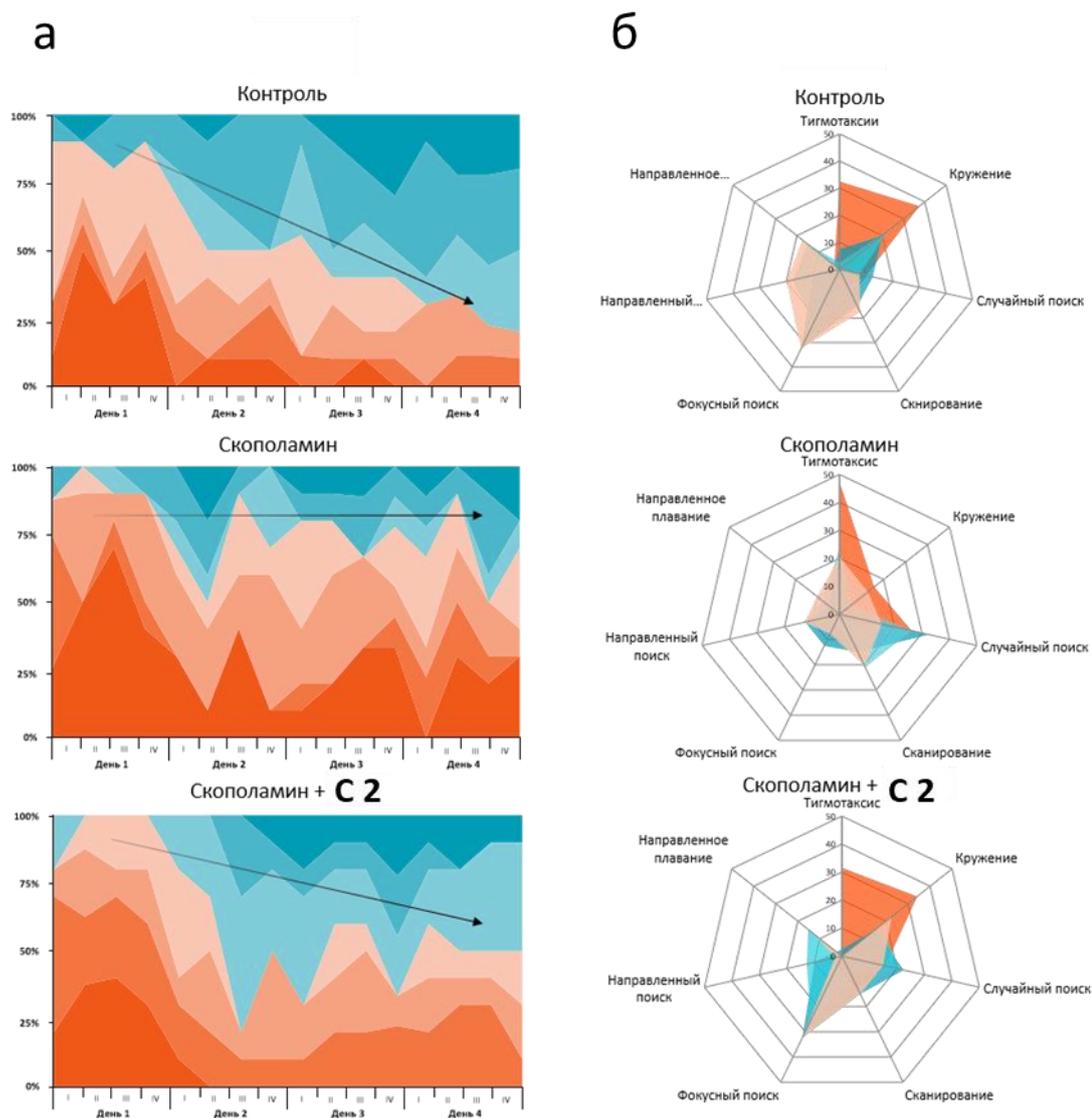


Рисунок 27 — Анализ стратегий поиска скрытой платформы животными в течение периода обучения под действием С 2 при скополамин-индуцированной нейродегенерации. а — когнитивные карты, б — визуализация перехода эгоцентрической навигации к аллоцентрической.

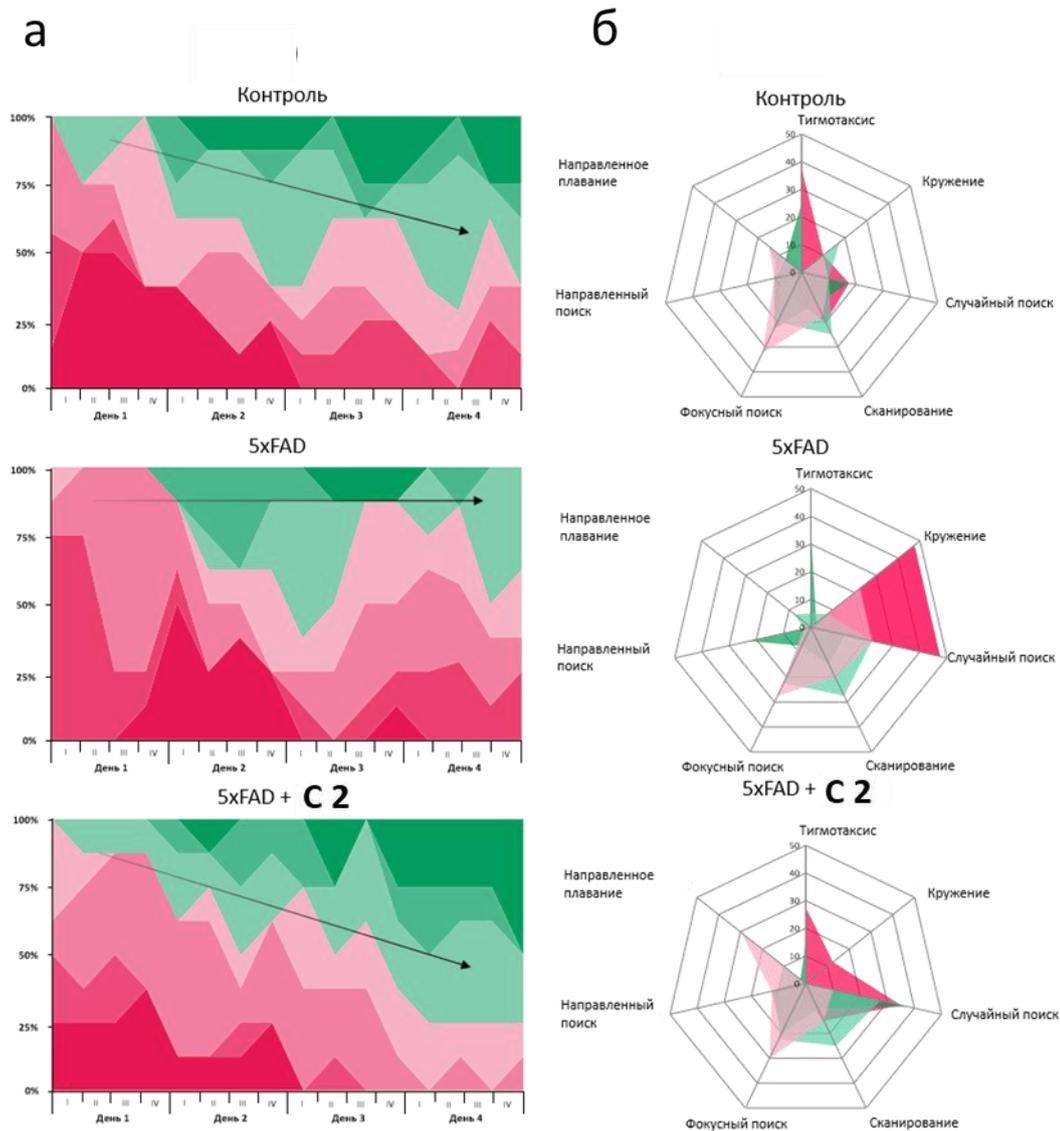


Рисунок 28 — Анализ стратегий поиска скрытой платформы трансгенными животными линии 5xFAD в течение периода обучения под действием С 2. а — когнитивные карты, б — визуализация перехода эгоцентрической навигации к аллоцентрической.

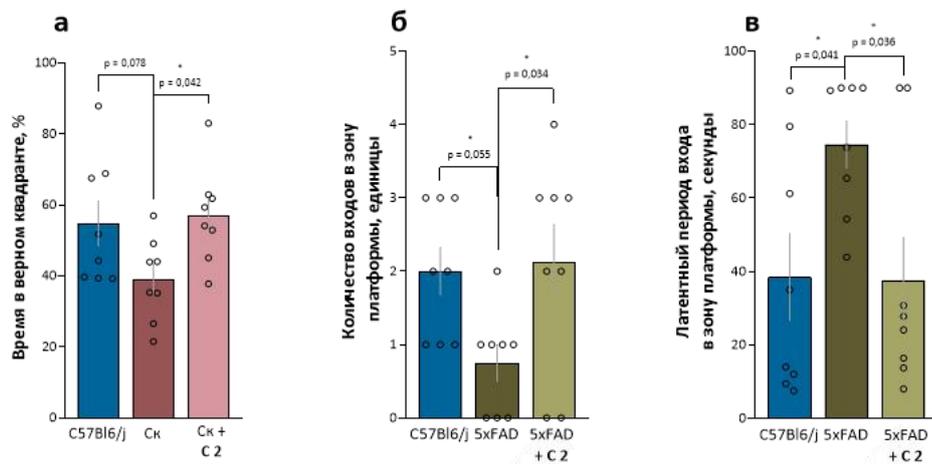
Было обнаружено, что у животных из группы Скополамин (рисунок 27) и мышей линии 5xFAD (рисунок 28), не подвергавшихся лечению С 2, наблюдается сохранение преимущества использования гиппокамп-независимой эгоцентрической навигации вплоть до последнего четвертого дня обучения в отличие от дикотипных клинически здоровых животных. В свою очередь С 2 в обеих моделях нейродегенерации приводит к нормализации данной ситуации и успешному формированию

аллоцентрической когнитивной карты, аналогично животным контрольных групп.

Успешность гиппокамп-зависимого пространственного обучения и формирования долговременной памяти также была подтверждена во время фазы тестирования на пятый день эксперимента в тесте Водный лабиринт Морриса. Было показано, что мыши, получавшие лечение **C 2**, демонстрируют большую продолжительность нахождения в верном квадранте лабиринта, в отличие от таковой у группы животных, получавшей скополамин (рисунок 29). В то же время на модели трансгенных животных **C 2** способствовал увеличению количества входов в зону платформы и снижал латентный период входа в зону платформы, аналогично тому, как было показано для животных из контрольной группы.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что **C 2** нивелирует амнестический эффект скополамина, а также улучшает пространственное обучение и формирование памяти трансгенных мышей 5xFAD в тесте Водный лабиринт Морриса.

Параметры формирования пространственной памяти



Показатели двигательной активности

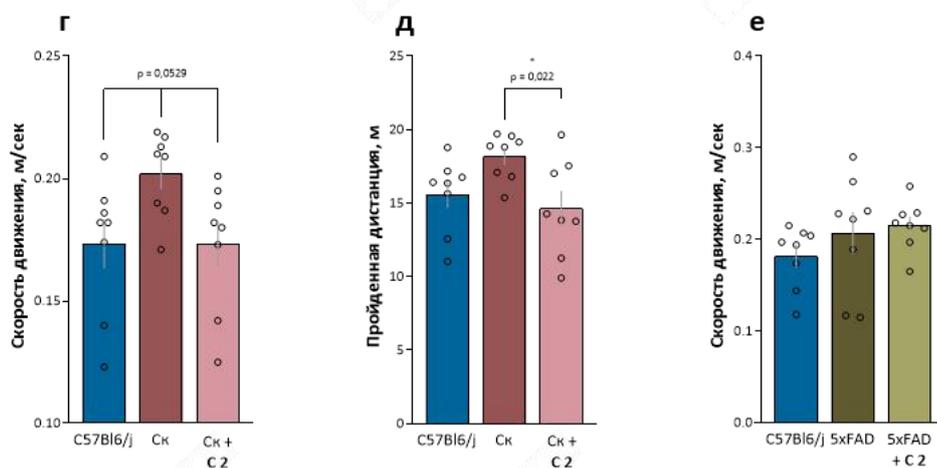


Рисунок 29 — Влияние С 2 на пространственную память (а-в) и двигательную функцию (г-е) мышей со скополамин-индуцированной амнезией и трансгенных животных 5xFAD в тесте водный лабиринт Морриса. Данные представлены как среднее \pm SEM (количество животных в каждой группе, $n = 8$). *, $p < 0,05$ по сравнению с скополамином (а, г, д) или 5xFAD (б, в). Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа, тест Даннета.

Интересно, что во время тестовой сессии у трансгенных животных не наблюдалось отличий в двигательной активности (рисунок 29 е), в то время как мыши, получавшие скополамин, показали изменения в данных показателях, а именно, достоверное снижение пройденной дистанции ($p = 0,022$, рисунок 29 д) и тенденцию к увеличению средней скорости движения

($p = 0,053$, рисунок 29 г). Это согласуется с известными данными о том, что одним из поведенческих нарушений, вызванных скополамином, является нарушение локомоторных функций, выражающихся в приступах гиперподвижности (Hasegawa et al., 2016). Подобный эффект, главным образом, связан со стимуляцией ацетилхолиновых рецепторов, увеличением концентрации соответствующего нейромедиатора и, как следствие, усилением оттока и высвобождения дофамина (Thomsen, 2014). В то же время было обнаружено, что лечение **С 2** обращало вспять увеличение двигательной активности, вызванное скополамином, что вероятно может быть обусловлено способностью данного соединения ингибировать активность фермента ацетилхолинэстеразы (рисунок 29г-е).

Как уже ранее было сказано, окислительный стресс и митохондриальная дисфункция играют важную роль в патогенезе БА. Более того, снижение уровня GSH, повышение содержания МДА тесно связаны с агрегацией А β , приводящей к формированию амилоидных отложений и гибели нейронов (Zhou et al., 2014). Для анализа защитного эффекта **С 2** после серии *in vivo* экспериментов на трансгенных животных был произведен забор образцов головного мозга мышей и проведен количественный анализ показателей GSH, МДА и аккумуляции А β .

Как показано на рисунке 30б, в мозге мышей 5xFAD наблюдался более низкий уровень GSH по сравнению с мышами дикого типа, при этом лечение **С 2** достоверно повышало уровень эндогенного антиоксиданта. Аналогичная ситуация наблюдалась и с количеством МДА. Содержание МДА было значительно выше в головном мозге мышей 5xFAD ($1,2 \pm 0,1$ нмоль/мг белка), чем у мышей из контрольной группы ($0,9 \pm 0,1$ нмоль/мг белка), что иллюстрирует наличие у трансгенных животных более высокого уровня свободных радикалов и клеточного повреждения. Интересно, что лечение **С 2** существенно снижало уровень МДА у мышей 5xFAD ($0,7 \pm 0,01$ нмоль/мг белка).

Кроме того, нами была произведена оценка функционирования митохондрий головного мозга у мышей экспериментальных групп, а именно, работа комплексов дыхательной цепи с помощью анализатора клеточного метаболизма Seahorse Bioscience XFe96. Было обнаружено достоверно более низкое потребление кислорода органеллами у трансгенных животных 5xFAD, чем у мышей из контрольной группы, после инъекций сукцината и аскорбата/TMPD (II и IV комплексы). Это свидетельствует о том, что ЭТЦ функционально отличается у мышей 5xFAD по сравнению с клинически здоровыми животными дикого типа. В свою очередь скорость потребления кислорода (СПК) увеличивалась у трансгенных животных, получавших лечение С 2. Так, после введения сукцината С 2 повышал СПК органеллами трансгенных мышей со $119,1 \pm 25,5$ пмоль/мин до $325,7 \pm 13,7$ пмоль/мин, а после введения аскорбата — с $308,8 \pm 59,5$ пмоль/мин до $383,1 \pm 5,1$ пмоль/мин (рисунок 30 в,г).

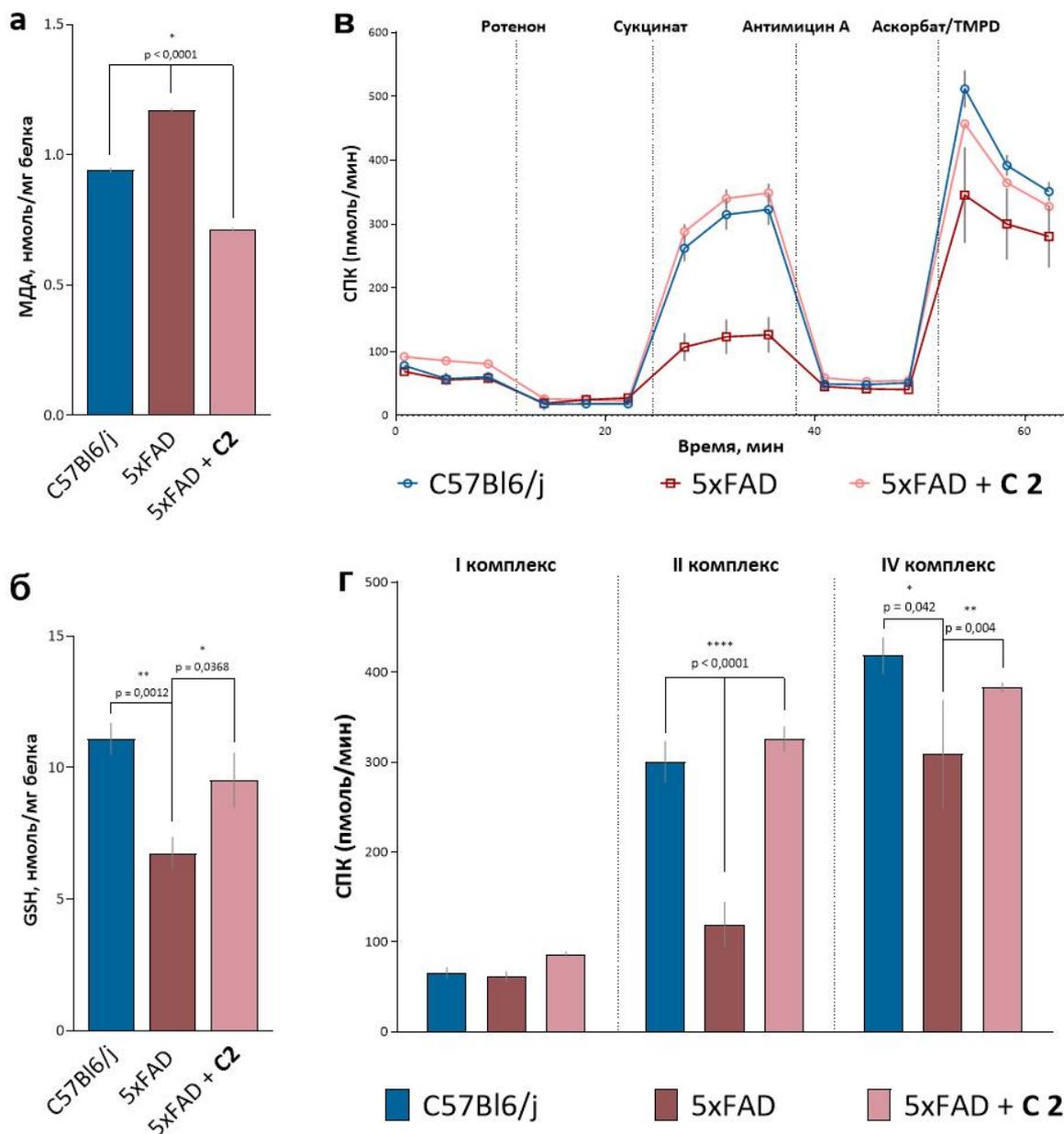


Рисунок 30 — *Ex vivo* анализ образцов головного мозга трансгенных мышей 5xFAD post-mortem, получавших C 2 в экспериментах *in vivo*: а — уровень МДА; б — содержание глутатиона (GSH); в, г — активность комплексов электрон-транспортной цепи в митохондриях мозга мышей (концентрация ротенона 2 мкМ, сукцината калия — 10 мМ, антимицина А — 4 мкМ, аскорбата/TMPD — 10 мМ/100 мкМ). Данные представлены как среднее \pm SEM. *, **, ****, $p < 0,05$, $p < 0,01$ и $p < 0,0001$, соответственно, по сравнению с 5xFAD.

Для выявления способности C 2 оказывать влияние на депонирование A β отложений нами было произведено окрашивание срезов головного мозга

мышей флуоресцентным красителем Конго красным, выявляющим амилоидное ядро зрелых бляшек. Положительное окрашивание было обнаружено в обеих группах 11-месячных трансгенных мышей, но не у животных дикого типа (рисунок 31 а, б, в). Однако у мышей, получавших **С 2**, наблюдалось значительное снижение количества β -амилоидных агрегатов в мозге — на ~38% меньше по сравнению с 5xFAD (рисунок 31 г, д).

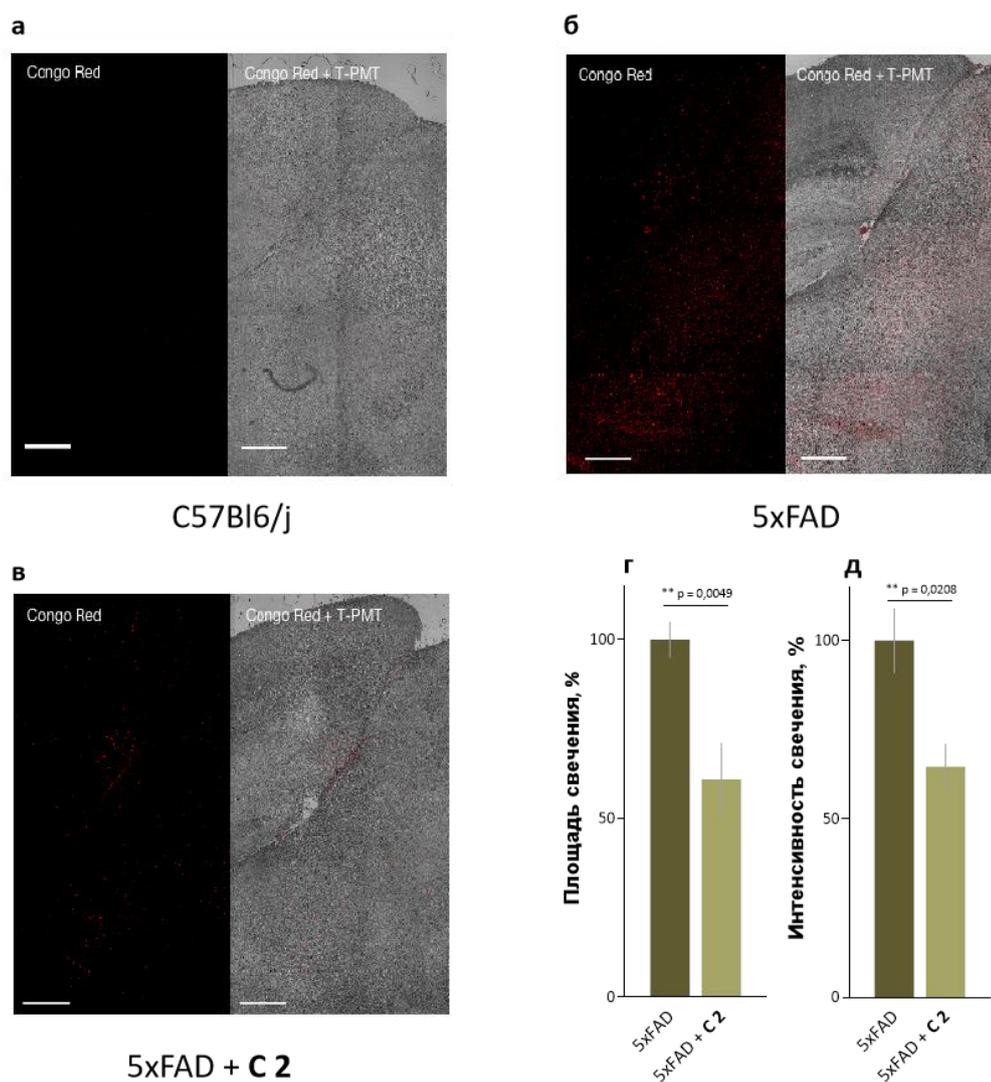


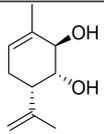
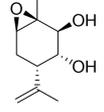
Рисунок 31 — *Ex vivo* анализ образцов головного мозга трансгенных мышей 5xFAD post-mortem, получавших **С 2** в экспериментах *in vivo*: а, б, в — β -амилоидные отложения, микрофотографии срезов мозга мышей, меченных конго красным (масштабная линейка 5 дюймов). Площадь и интенсивность свечения конго красного, % по отношению к мышам 5xFAD, принятый за 100 %. ** $p < 0,01$ по сравнению с контролем. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Таким образом, мы продемонстрировали многонаправленное защитное действие **С 2**, заключающееся в наличии антиоксидантной и митопротекторной активности, в его способности ингибировать BACE1 и предотвращать патологическую агрегацию A β 1-42, влиять на активность ацетилхолинэстеразы и защищать нейроны от различных видов нейротоксичности. В *in vivo* серии экспериментов было показано, что введение **С 2** (15 мг/кг в течение 3 недель) ослабляло когнитивные нарушения, наблюдаемые у животных со скополамин-индуцированной амнезией и у трансгенных мышей 5xFAD. Более того, в мозге мышей 5xFAD, получавших **С 2** уменьшалось количество амилоидных отложений, снижался уровень МДА и увеличивался уровень GSH. Также наблюдалось улучшение функционирования комплексов дыхательной цепи изолированных митохондрий головного мозга. В заключение, полученные результаты дают представление о многоцелевом профиле и потенциале применения **С 2** в качестве нейропротекторного средства для лечения болезни Альцгеймера и связанных с ней патологий.

3.3.2.2. Монотерпеноиды на основе пара-ментанового остова диола и эпоксидиол

В ходе раннего скринингового этапа биотестирования среди значительного количества веществ на природной основе также были выделены два соединения с нейропротекторным потенциалом – монотерпеноиды диол (**Д 1**) и эпоксидиол (**Д 2**). Для данных веществ было характерно наличие антиоксидантной активности, за счет ингибирования процесса ПОЛ, инициируемого разными окислителями, и митопротекторной активности на изолированных митохондриях, за счет снижения скорости «набухания» и отсутствия влияния на мембранный потенциал (таблица 7) (Aleksandrova et al., 2023a).

Таблица 7 — Результаты исследования биологической активности монотерпеноидов диола и его эпоксидированной формы 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

Сокращения: В-во — исследуемое вещество. ПОЛ (Fe²⁺) и ПОЛ (т-БГП) — ингибирование перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, иницированного ионами двухвалентного железа и *трет*-бутилгидроксипероксидом, соответственно. Свеллинг — максимальная скорость «набухания» митохондрий. Все данные представлены в виде процента активности относительно контроля при концентрации вещества 100 мкМ.

Ранее нашими коллегами из Новосибирска был показан сравнимый по эффективности с леводопой противопаркинсонический потенциал для (1*R*,2*R*,6*S*)-3-метил-6-(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-3-ен-1,2-диола (Д 1) (Ardashov et al., 2011; Valdman et al., 2017), который находится в настоящее время на первой стадии клинических исследований. Подобное действие было также обнаружено у некоторых производных данного соединения, в частности, его активного метаболита эпоксидиола (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), для которого была продемонстрирована способность восстанавливать поврежденные нейротоксином МРТР дофаминергические нейроны, запуская сигнальный каскад митоген-активируемой протеинкиназы (Ardashov et al., 2019). Таким образом, имея научный задел по характерной для данных соединений активности 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.

Более того, мы с уверенностью можем утверждать, что наша система первичного скрининга, основанная на изучении антиоксидантного статуса и

влияния на митохондриальные характеристики, подходит для отбора не только потенциальных нейропротекторов для лечения болезни Альцгеймера, но и для других НДЗ, в частности болезни Паркинсона.

Для имитации патогенеза болезни Паркинсона был использован ротенон, который является широко применяемым нейротоксином в большом количестве исследований как для выяснения механизмов, лежащих в основе гибели дофаминергических клеток, так и для исследования новых потенциальных нейропротекторных агентов (Dodiya et al., 2020; Innos and Hickey, 2021; Thirugnanam and Santhakumar, 2022; Wang et al., 2020c). Это обусловлено его участием во многих патологических путях, которые опосредуют гибель дофаминергических нейронов (Guo et al., 2022; Jing et al., 2021; Nistico et al., 2011), способностью воспроизводить как моторные (Hettiarachchi et al., 2022; Thong-Asa et al., 2021), так и немоторные симптомы паркинсонизма (Babatunde et al., 2023; Yi et al., 2007; Zhao et al., 2021), а также чрезвычайно высокой липофильностью (Kadigamuwa et al., 2016), что позволяет ему без труда проникать через гематоэнцефалический барьер. На рисунке 32 представлены механизмы действия ротенона, вызывающие невропатологические признаки, а также двигательные и немоторные симптомы. Доказано, что наиболее распространенные симптомы болезни Паркинсона ротенон воспроизводит за счёт прямого ингибирования комплекса I дыхательной цепи митохондрий (Maegawa and Niwa, 2021; Troshev et al., 2021).

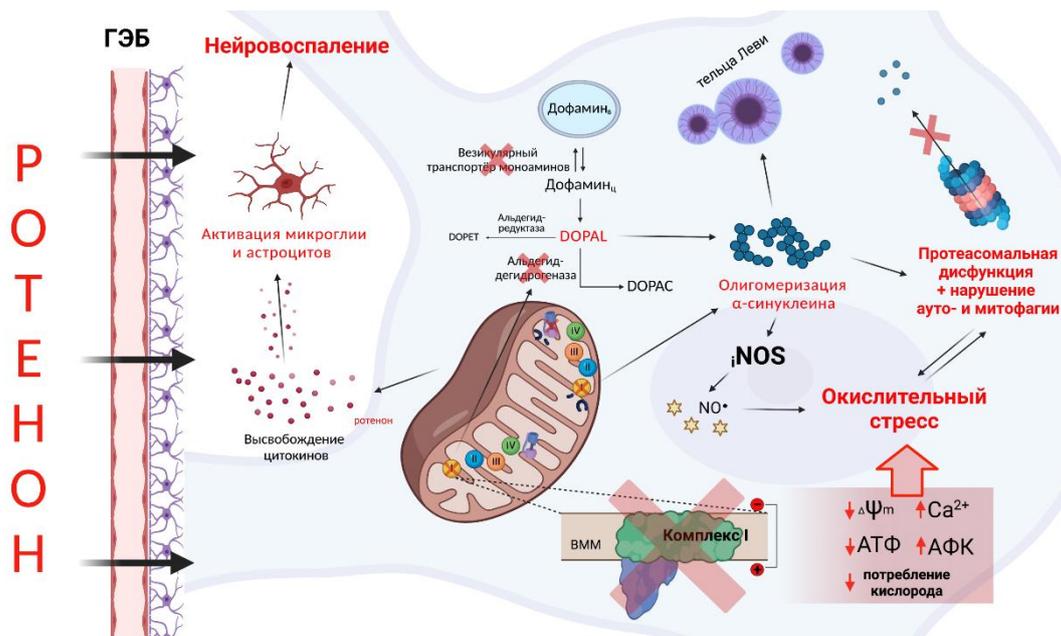


Рисунок 32 — Предполагаемый механизм действия ротенона при прогрессировании паркинсонизма. В нейрональных клетках дофамин существует в двух формах: везикулярной и цитоплазматической, баланс которых поддерживается благодаря функционированию везикулярного транспортера моноаминов (VMAT). VMAT способствует активному депонированию нейромедиатора в везикулах. Дофамин_c в нейронах подвергается окислительному дезаминированию, катализируемому моноаминоксидазой А, с образованием DOPAL. DOPAL является цитотоксичным катехолаальдегидом и способствует образованию олигомерных форм α-синуклеина, патогенных при болезни Паркинсона. Однако в нормальных условиях метаболизм DOPAL регулируется с помощью ферментов, главным образом, альдегиддегидрогеназы, в результате чего образуется нетоксичный метаболит DOPAC, способствующий снижению уровня воспалительных цитокинов. Введение ротенона приводит к увеличению содержания эндогенного DOPAL, что коррелирует с повышенной гибелью нейрональных клеток и нейроповеденческими аномалиями, сходными с таковыми при болезни Паркинсона. Это может происходить по двум причинам. (1) Ротенон, воздействуя на VMAT, блокирует его, и в результате перераспределение дофамина происходит только в одну сторону — из везикул в цитоплазму. Такой сдвиг «цитоплазматическая форма > везикулярная форма» и приводит к увеличению доступности дофамина в качестве предшественника для производства аномального количества DOPAL. (2) Ротенон, блокируя митохондриальный комплекс I и, как следствие, генерацию NAD⁺, может снижать внутриклеточную активность альдегиддегидрогеназы, поскольку NAD⁺ является необходимым кофактором для функционирования данного фермента. Это приводит к увеличению уровня DOPAL, поскольку в таком случае его метаболизм регулируется с помощью лишь альтернативного пути через альдоредуктазу.

Первоначально для оценки возможных собственных токсических эффектов исследуемых соединений было протестировано их влияние на выживаемость клеток в максимально используемой концентрации 100 мкМ. Было обнаружено, что Д 1 приводит к подавлению выживаемости клеток на $18,1 \pm 0,6 \%$ ($p < 0,0001$), однако его эпоксид Д 2 не вызывал какого-либо снижения жизнеспособности клеток ($97,5 \pm 0,9$, $p = 0,43$) (рисунок 33а). В свою очередь выбранные концентрации ротенона (100 нМ и 400 нМ) привели к снижению выживаемости клеток на $26,1 \pm 1,8 \%$ и $37,4 \pm 1,3 \%$ ($p < 0,0001$) (рисунок 33б) по сравнению с контрольными образцами, что согласуется с уже известными данными, полученными для данного токсина в аналогичных экспериментах (Beneventano et al., 2017; Cimdins et al., 2019).

В экспериментах с комбинированным применением исследуемых соединений и ротенона было обнаружено, что Д 2 проявлял защитный эффект на клеточной линии SH-SY5Y, подвергшейся воздействию токсина (рисунок 33в, г). Данный эффект носил концентрационно-зависимый характер, достигая максимума при 100 мкМ и увеличивая количество жизнеспособных клеток с $73,9 \pm 1,8 \%$ (концентрация ротенона 100 нМ) и $62,6 \pm 1,3 \%$ (концентрация ротенона 400 нМ) вплоть до $91,7 \pm 2,5 \%$ и $90,5 \pm 3,2\%$ ($p < 0,0001$), соответственно. В то же время, Д 1 не оказывал влияния на жизнеспособность клеток, обработанных ротеноном (рисунок 33д, е).

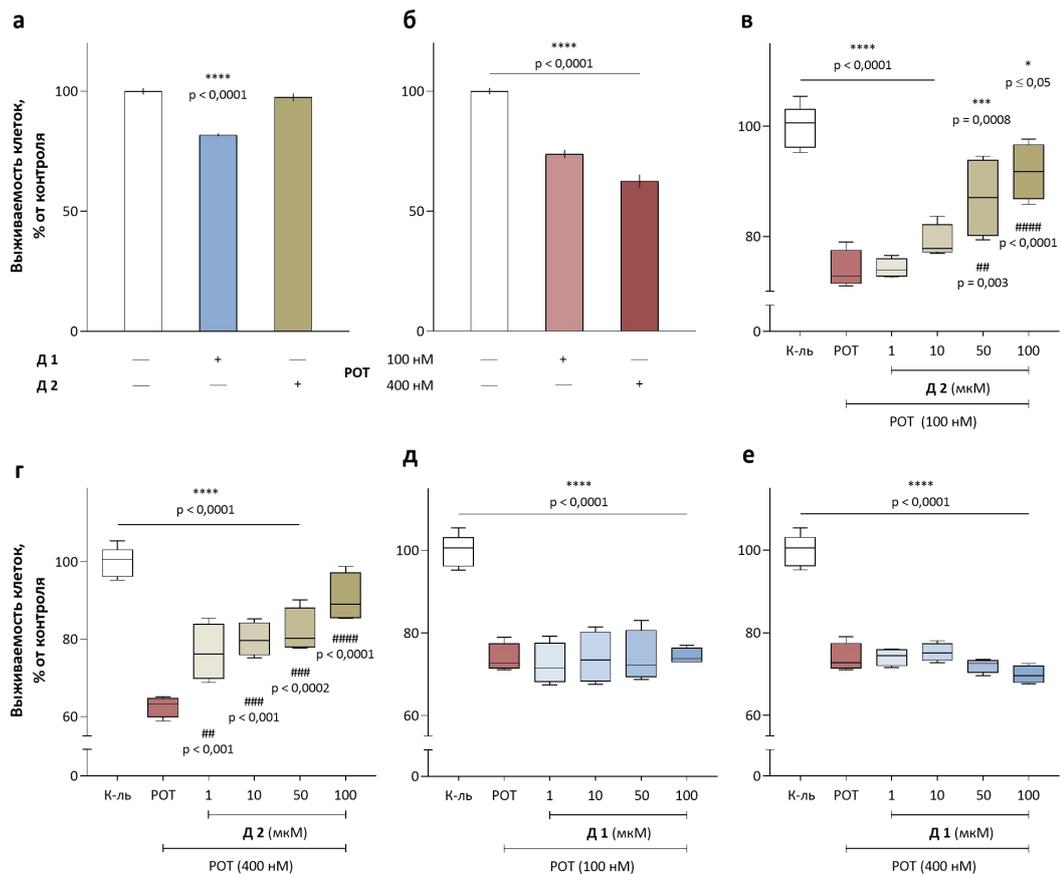


Рисунок 33 — Анализ жизнеспособности клеток SH-SY5Y (10000 клеток на лунку) в присутствии: а — исследуемых соединений и б — ротенона. Влияние Д 1 и Д 2 в диапазоне концентраций от 1 мкМ до 100 мкМ на выживаемость клеток SH-SY5Y в присутствии ротенона в концентрациях 100 нМ (в, д) и 400 нМ (г, е). Данные представлены как среднее значение ± SEM. *, ***, ****, $p \leq 0,05$; $p \leq 0,001$, $p \leq 0,0001$ по сравнению с контролем (ДМСО ≤ 1%). Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Обнаруженная для ротенона токсичность может быть индуцирована путем апоптоза с помощью различных механизмов, среди которых ключевым является его способность приводить к диссипации трансмембранного потенциала митохондрий. Это коррелирует с патологическим состоянием при болезни Паркинсона, когда вследствие дефицита РТЕН-индуцированной киназы 1 (PINK1) наблюдается снижение базального мембранного потенциала и нарушение гомеостаза кальция (Ma et al., 2021), приводящие к

уязвимости нейронов к открытию переходной поры проницаемости, за которой следует гибель нервных клеток (Li et al., 2022).

Для анализа процесса деполяризации митохондриальной мембраны под действием ротенона был измерен трансмембранный потенциал органелл, предобработанных исследуемыми соединениями в диапазоне концентраций от 10 до 100 мкМ. На рисунке 34 представлены кинетические кривые изменения мембранного потенциала митохондрий под действием модуляторов. Энергизация органелл субстратами первого комплекса дыхательной цепи, глутаматом и малатом, привела к уменьшению флюоресценции, что соответствует увеличению трансмембранного потенциала и отражает использование протонного градиента для стимулирования синтеза АТФ. Как и ожидалось, последовательное добавление ротенона приводило к существенному снижению трансмембранного потенциала, что свидетельствует о деполяризации митохондриальной мембраны. В свою очередь, для исследованных соединений наблюдалась способность снижать ответ органелл на пульсы ротенона. Д 2 наиболее эффективно нормализовал вызванные токсином нарушения мембранного потенциала митохондрий. Данное соединение в максимально исследованной концентрации препятствовало усилению сигнала флюоресценции на 47% (после первой инъекции РОТ), 37% (после второй инъекции РОТ) и 26% (после третьей инъекции РОТ).

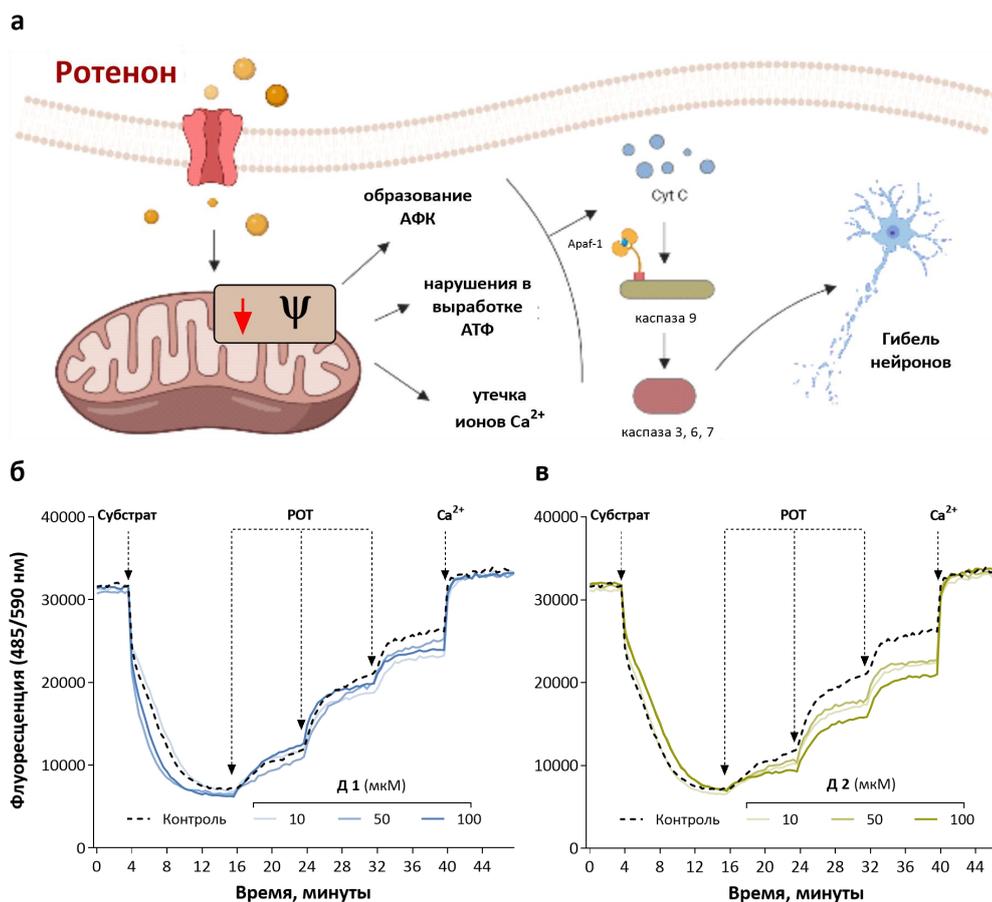


Рисунок 34 — Оценка мембранного потенциала митохондрий с помощью флуоресцентного липофильного катиона сафранина А. а — схематическое представление диссипирующего влияния ротенона на трансмембранный потенциал митохондрий, приводящего к гибели нейрональных клеток. Влияние б — Д 1 и в — Д 2 в диапазоне концентраций от 10 мкМ до 100 мкМ на трансмембранный потенциал митохондрий печени крыс (0,5 мг/мл) в присутствии ротенона в концентрации 10 нМ. Энергизацию органелл осуществляли субстратами первого комплекса электрон-транспортной цепи — глутаматом/малатом (5 мМ). Открытие митохондриальной поры с целью достижения максимальной флуоресценции в результате полной деполяризации стимулировали ионами Ca^{2+} (25 мкМ). Данные представлены как кинетические кривые изменения мембранного потенциала митохондрий (среднее значение \pm SEM).

Как было сказано выше, ротенон является мощным ингибитором комплекса I митохондриальной цепи переноса электронов, блокирующим последующее использование кислорода при окислительном фосфорилировании и снижающим выработку АТФ (Schiller and Zickermann, 2022; Valdez et al., 2019). 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). Это обусловлено тем, что НАДН-дегидрогеназный комплекс является вышестоящим в митохондриальной цепи переноса электронов, и благодаря ему происходит перенос электронов от никотинамидадениндинуклеотида к нижестоящим молекулам (Formosa et al., 2018). Ряд исследований показывает, что нарушение в работе митохондриального комплекса I занимает центральное место в патогенезе болезни Паркинсона (Ibarra-Gutierrez et al., 2023).

В нашей работе для изучения биоэнергетики митохондрий был использован Seahorse/Agilent Mito Stress Test на Seahorse XFe96 Extracellular Flux Analyzer (Jaber et al., 2020) с некоторыми модификациями. Перед началом анализа по стандартному протоколу клетки нейробластомы подвергали 24-часовой обработке исследуемыми соединениями в концентрации 100 мкМ. Интересно, что скорость потребления кислорода при анализе базального дыхания была одинаковой для всех групп за исключением Д 1, который значительно её снижал (рисунок 35г). После первой инъекции в клетках, подвергнутых обработке нетоксичной концентрацией ротенона 10 нМ, наблюдалось значительное снижение скорости потребления кислорода с $28,2 \pm 0,7$ пмоль/мин до $14,7 \pm 2,1$ пмоль/мин по сравнению с контрольными клетками, получавшими инъекцию растворителя (в среднем на 48%, $p = 0,01$, рисунок 35д), что также было подтверждено при анализе количественного показателя параметра острого ответа (рисунок 35в). Однако предварительная обработка клеток нейробластомы Д 2 смогла нивелировать эффекты, вызванные токсином (рисунок 35б). СПК группы ROT + Д 2 находилась на уровне контрольных образцов ($26,6 \pm 5,1$ пмоль/мин) и имела уверенную тенденцию к увеличению по сравнению с группой ROT ($p = 0,07$). Аналогичная ситуация наблюдалась в показателе СПК, связанном с выработкой АТФ (рисунок 35е). Ротенон значительно снижал данный

параметр с $18,4 \pm 1,5$ пмоль/мин до $5,3 \pm 1,1$ пмоль/мин (на 71% при сравнении с контрольной группой, $p = 0,04$). Наконец, применение Д 2 сохранило СПК, связанную с выработкой АТФ, на уровне $18,9 \pm 4,9$ пмоль/мин, что достоверно выше, чем в образцах с ротеноном (на 72% при сравнении с ROT, $p = 0,04$). В случае образцов, предобработанных Д 1 в концентрации 100 мкМ, уже с первого измерения СПК находилась на гораздо более низком уровне, а последующее добавление модуляторов в среду не вызывало каких-либо выраженных ответов. Это, вероятнее всего, связано с обнаруженной выше для данного вещества некоторой цитотоксической активностью, где при данной концентрации происходила гибель $18,1 \pm 0,6$ % клеток (рисунок 33).

Полученные данные подтверждают предположение о ключевой роли блокирования НАДН-дегидрогеназного комплекса в последующем каскаде событий митохондриального дыхания (Curtabbi and Enriquez, 2022; Murai, 2020; Ten and Galkin, 2019). Более того, Д 2 значительно ослаблял эффект ротенона, что указывает на способность данного соединения защищать дыхательную функцию органелл от действия токсина.

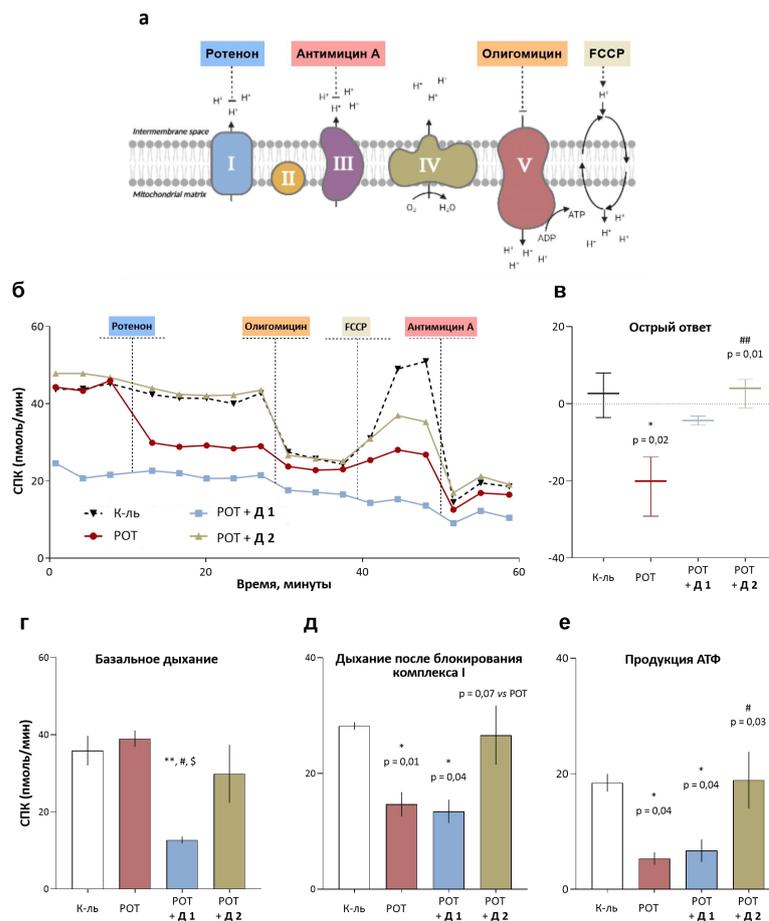


Рисунок 35 — Оценка дыхательного профиля и биоэнергетических характеристик митохондрий клеток нейробластомы SH-SY5Y. а — схема работы комплексов дыхательной цепи митохондрий и влияния модуляторов Seahorse/Agilent Mito Stress Test. б — кинетические кривые изменения скорости потребления кислорода предобработанной в течение 24 часов исследуемыми соединениями клеточной культуры нейробластомы SH-SY5Y (30000 клеток на лунку) с течением времени под действием модуляторов. Концентрации Д 1 и Д 2 составляли 100 мкМ, ротенона — 10 нМ, олигомицина — 2 мкМ, FCCP — 2 мкМ и антимицина А — 1 мкМ. Данные представлены в виде среднее значение \pm SEM. Биоэнергетические параметры митохондрий, такие как: в — острый ответ на первую инъекцию ротенона; г — базальное дыхание, представляющее собой скорость потребления кислорода до введения модуляторов в систему; д — дыхание после блокирования NADH-дегидрогеназного комплекса цепи переноса электронов ротеноном; а также е — выработка АТФ, представляющая собой разность между последним измерением СПК перед введением олигомицина и минимальной СПК после инъекции олигомицина. Данные представлены в виде графиков, в которых каждый столбец представляет среднее значение независимой популяции клеток (среднее значение \pm SEM, $n = 6$). * $p \leq 0,05$ и ** $p \leq 0,01$ относительно контроля; # $p \leq 0,05$ и ## $p \leq 0,01$ относительно POT; \$ $p \leq 0,05$ относительно POT + Д 2. Однофакторный дисперсионный анализ Anova (тест Даннета).

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 тем, что противопаркинсонические свойства Д 1 уже были обнаружены на другой модели — МРТР-индуцированной нейродегенерации, было интересно исследовать его возможный механизм нейропротекторного действия путем модуляции функции митохондрий. Однако ввиду того, что нами не было обнаружено положительных эффектов Д 1 в серии экспериментов *in vitro* (что, очевидно, связано с отсутствием у него митопротекторных свойств), оказалось нецелесообразным продолжать его исследования на животных с индуцированным ротеноном паркинсонизмом, где основным патогенетическим механизмом является нарушение в функционировании I комплекса дыхательной цепи митохондрий. Более того, в соответствии с биоэтическими принципами минимизации количества лабораторных животных, нами также было принято решение не создавать дополнительную группу животных, получавших вещество сравнения, ввиду отсутствия чёткого обоснования их использования. В частности, это связано с тем фактом, что на сегодняшний день в литературе существует достаточное количество данных, описывающих действие наиболее распространенных референсных соединений на показатели двигательной активности и когнитивной функции, что позволяет без труда соотнести с ними полученные нами результаты.

Таким образом, в дальнейшей *in vivo* серии экспериментов влияние на параметры двигательной функции и пространственную память мышей в условиях ротенон-индуцированной модели болезни Паркинсона *in vivo* было исследовано только соединения 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. В связи с тем, что наблюдающиеся отличия в фармакологических эффектах ротенона при использовании различных доз требуют точного выбора протокола применения токсина, первоначально был проведен анализ имеющихся на сегодняшний день экспериментальных данных. Было обнаружено, что избыточно высокие дозы ротенона приводят к развитию явной системной токсичности, поражающей внутренние органы и вызывающей гибель организма, а не индуцируют фенотип паркинсонизма (Innos and Hickey, 2021; Jiang et al., 2017). В свою очередь именно при использовании низких доз токсина при многократном введении наблюдается четкая временная зависимость развития паркинсонической патологии (Borland et al., 2008; Miyazaki et al., 2020; Sharma et al., 2022), что и обусловило выбор схемы введения ротенона в *in vivo* эксперименте. На рисунке 36 представлено наглядное отображение патологического фенотипа мышей с ротенон-индуцированным паркинсонизмом, которое выражается в проявлении типичного рефлекса обхватывания (так называемого «limb-clasping reflex»).



Рисунок 36 — Рефлекс обхватывания («limb-clasping reflex»), наблюдаемый у мышей с ротенон-индуцированным паркинсонизмом.

С целью сравнения возможных различий в нейропротекторных эффектах Д 2 введение соединения в дозе 15 мг/кг осуществляли по двум схемам (рисунок 37а): (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.

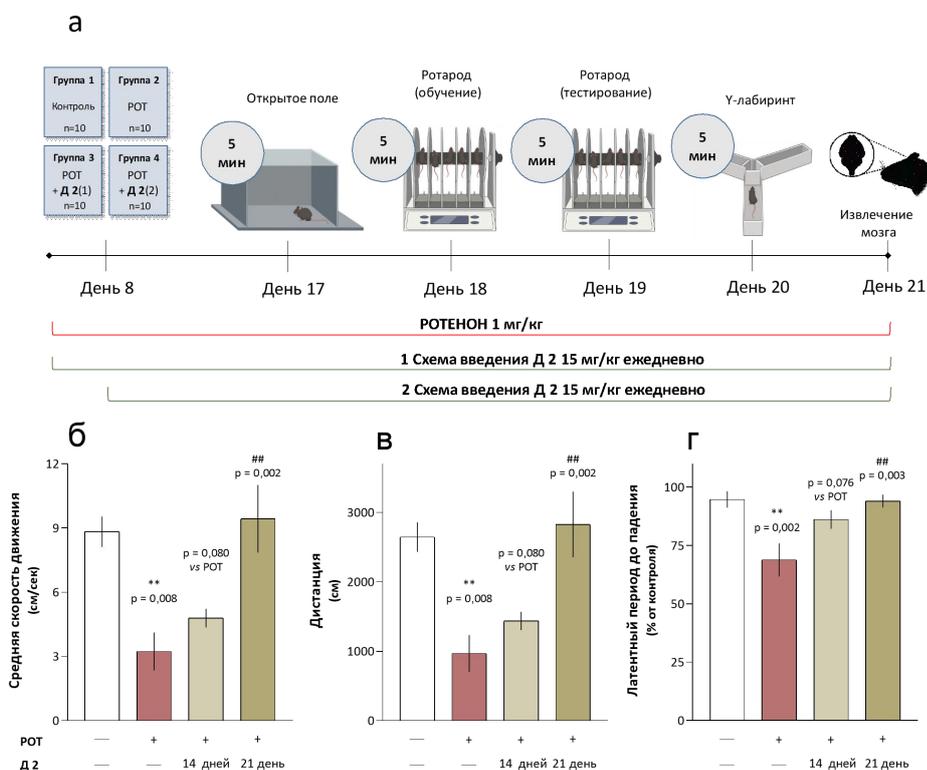


Рисунок 37 — *In vivo* исследование двигательной функции мышей линии C57BL/6 в возрасте 3 месяцев ($n = 10$). а — схема *in vivo* серии экспериментов, направленной на исследование нейропротекторного потенциала Д 2 (15 мг/кг) при внутрибрюшинном введении в условиях моделирования индуцированной ротеноном (РОТ, 1 мг/кг) нейротоксичности. Влияние Д 2 на двигательную активность мышей в тесте Открытое поле: б — средняя скорость и в — пройденная дистанция. Данные представлены в виде графиков, в которых каждый столбец представляет среднее значение независимой группы мышей (среднее значение \pm SEM). г — оценка влияния Д 2 на двигательные нарушения мышей в тесте Ускоряющийся ротород. Данные представлены как латентный период до падения с роторода (среднее значение \pm SEM временных интервалов от начала теста до падения животного для каждой экспериментальной группы). ** $p \leq 0.01$ относительно контроля; ## $p \leq 0.01$ относительно ротенона. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Бонферрони.

Двигательные характеристики животных оценивали в тесте Открытое поле по средней скорости и пройденному расстоянию в течение 5-минутного эксперимента. Как показано на рисунке 37б,в, в группе ROT наблюдалось статистически значимое уменьшение средней скорости движения животных по сравнению с контрольной группой с $8,8 \pm 0,7$ см/сек до $3,2 \pm 0,9$ см/сек ($p = 0,008$ от контроля). Аналогичная картина была показана и в пройденной дистанции, которая была снижена с $2645,4 \pm 213,5$ см до $969,5 \pm 265,7$ см ($p = 0,008$ от контроля). Группы животных, получавшие помимо токсина Д 2, продемонстрировали способность восстанавливать показатели двигательной активности. Это выражалось в тенденции у мышей из группы ROT + Д 2 (1) к увеличению средней скорости и пройденного расстояния ($p = 0,080$ от контроля). В группе ROT + Д 2 (2) наблюдалось достоверное улучшение данных показателей до $9,4 \pm 1,6$ см/сек и $2827,3 \pm 472,8$ м/сек, что соответствует уровню контрольных животных ($p = 0,002$ относительно ROT и $p > 0,999$ относительно контроля).

Моторную координацию и выносливость мышей оценивали с помощью ускоряющегося ротарода. Интересно, что большинство животных из контрольной группы успешно прошли 5-минутное испытание во время фазы тестирования, продемонстрировав практически 100%-ное пребывание на вращающемся барабане (рисунок 37г). В свою очередь, мыши, моделирующие болезнь Паркинсона, проводили значительно меньше времени на ротароде, чем интактные животные, снижая данный показатель с $94,7 \pm 3,5$ % до $68,9 \pm 7,1$ % ($p = 0,002$ от контроля). Это указывает на то, что двигательная функция мышей из группы ROT была значительно нарушена, что выражалось в их неспособности 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 ($86,1 \pm 3,9$ %, $p = 0,076$ относительно ROT).

Комбинированная терапия с Д 2 в течение всего периода *in vivo* эксперимента привела к достоверному увеличению времени нахождения на ротароде - $94,1 \pm 2,8$ % ($p = 0,002$ относительно ROT) вплоть до уровня контрольных дикотипных мышей ($p > 0,999$ относительно контроля).

Помимо симптомов, связанных с двигательными нарушениями, у пациентов с паркинсонизмом наблюдаются так называемые немоторные, среди которых наиболее распространёнными являются когнитивные дисфункции (Aarsland et al., 2021; Brandao et al., 2020; Goldman and Sieg, 2020). В частности, большое количество работ, описывающих патологический фенотип болезни Паркинсона как у людей, так и на животных моделях, указывает на нарушения гиппокамп-зависимой пространственной памяти (Das et al., 2019; Smith et al., 2021; Villar-Conde et al., 2021).

В данной работе гиппокамп-зависимую пространственную рабочую память оценивали путем измерения времени нахождения мышей в верном рукаве Y-лабиринта. Было обнаружено, что мыши, получавшие инъекции ротенона, во время фазы тестирования проводили меньше времени в целевом рукаве лабиринта по сравнению с дикотипными контрольными животными ($39,4 \pm 9,5$ сек для группы ROT и $70,1 \pm 12,6$ сек, $p = 0,043$ относительно контроля). В свою очередь, для группы ROT + Д 2 (2), получавшей Д 2 начиная с первого дня *in vivo* эксперимента, наблюдалась способность достоверно увеличивать данный показатель вплоть до $108,6 \pm 16,8$ сек ($p = 0,005$ относительно ROT), превышая таковой у контрольной группы (рисунок 38).

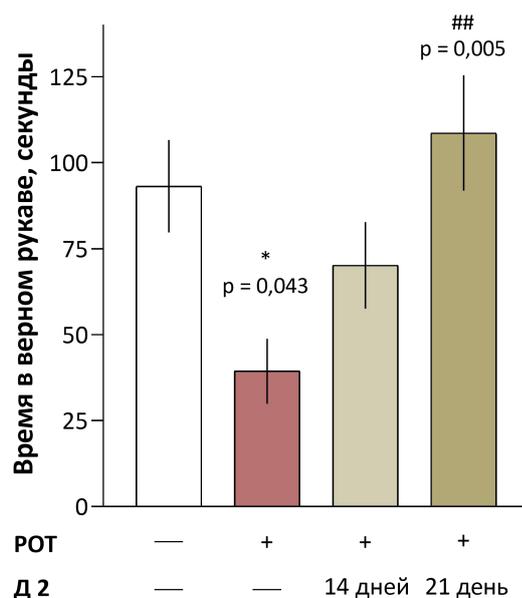


Рисунок 38 — *In vivo* исследование влияния Д 2 на формирование кратковременной пространственной памяти мышей линии C57BL/6 в возрасте 3 месяцев в условиях индуцированной ротеноном (ROT) нейротоксичности. Данные представлены в виде графиков, в которых каждый столбец представляет среднее значение времени нахождения независимой группы мышей в верном рукаве лабиринта (среднее значение \pm SEM). * $p \leq 0,05$ относительно контроля; ## $p \leq 0,01$ относительно ROT. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Бонферрони.

По окончании *in vivo* тестирования для формирования полноценного представления о механизмах антипаркинсонического действия эпоксидиола нами был произведен анализ образцов головного мозга мышей экспериментальных групп. Несмотря на то, что при болезни Паркинсона происходит поражение различных типов нейрональных клеток, на сегодняшний день лучше всего изучена роль дофаминовых нейронов (Surmeier, 2018). Патофизиологические исследования пациентов с данным заболеванием свидетельствуют о том, что кардинальные признаки, проявляющиеся в первую очередь в прогрессирующем развитии двигательных симптомов, вызваны снижением уровня дофамина и потерей именно дофаминергических нейронов в нигростриатальной системе (Carmichael et al., 2021; Li and Chen, 2019).

В нашей работе для определения количества дофаминергических нейронов срезы головного мозга окрашивали антителом против тирозингидроксилазы (ТН) — фермента, ограничивающего скорость синтеза дофамина (Connor-Robson et al., 2016; Goloborshcheva et al., 2020), и производили стереологический подсчет ТН-позитивных нейронов в черной субстанции (SNpc) и вентральной области покрышки (VTA).

У мышей из группы ROT было отмечено значительное снижение числа ТН-позитивных дофаминергических нейронов в обеих исследованных областях (рисунок 39 б, д) на 27,8 % ($p = 0,050$ относительно контроля) и 32,4 % ($p = 0,023$ относительно контроля), соответственно. Напротив, количество нейронов было значительно увеличено у животных, получавших лечение Д 2 в течение 14 (рисунок 39 в, д) и 21 (рисунок 39 г, д) дней введения. У мышей из группы ROT + Д 2 (1) данный показатель был достоверно выше на 36,6 % (в SNpc; $p = 0,050$ относительно ROT) и 41,7 % (в VTA; $p = 0,028$ относительно ROT). В свою очередь, для группы ROT + Д 2 (2) число ТН-позитивных дофаминергических нейронов превышало таковое для ROT на 45,7 % (в SNpc; $p = 0,010$ относительно ROT) и 45,9 % (в VTA; $p = 0,017$ относительно ROT).

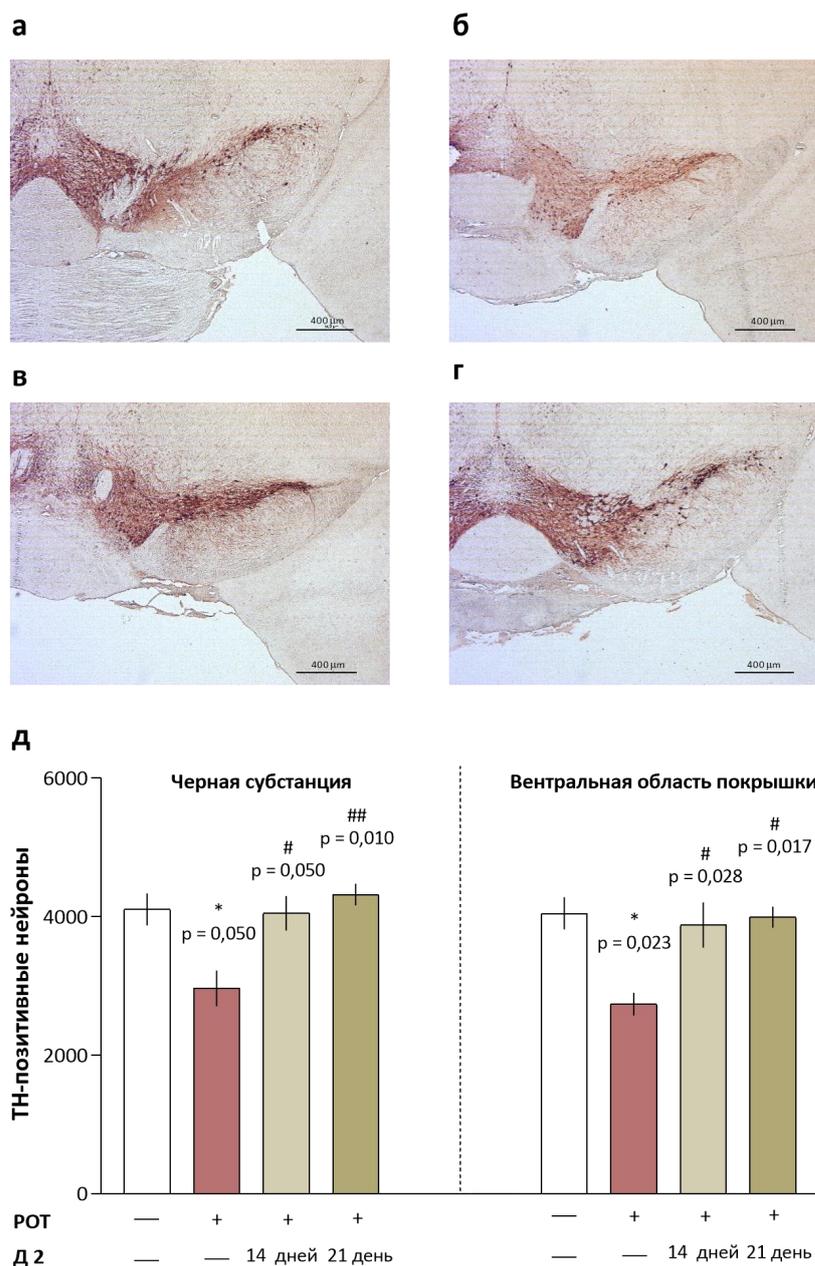


Рисунок 39 — *Post mortem* анализ количества дофаминергических нейронов в областях головного мозга мышей. Репрезентативные фотографии секций мозга: а — контрольной группы, б — РОТ, в — РОТ + Д 2 (1) и г — РОТ + Д 2 (2). Шкала — 400 мкм. д — гистограммы, показывающие количество TH-позитивных нейронов в отдельных областях мозга. Данные представлены как среднее значение \pm SEM, $n = 8$. * $p \leq 0,05$ относительно контроля; # $p \leq 0,05$ и ## $p \leq 0,01$ относительно РОТ. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Крассела-Уоллиса.

В связи с тем, что болезнь Паркинсона связана с нарушениями в работе

дыхательной цепи митохондрий, которая служит основным источником образования активных форм кислорода, посмертный анализ образцов головного мозга пациентов с паркинсонизмом доказывает, что дофаминергические нейроны находятся в состоянии перманентного окислительного стресса и подвергаются радикальному окислению с образованием АФК (Chakrabarti and Bisaglia, 2023). В свою очередь, активные формы кислорода превращают дофамин в реактивный дофамин-хинон, который является высокотоксичным, что, по-видимому, может быть причиной выраженной гибели дофаминергических нейронов (Ahn et al., 2021; Han et al., 2021; Theofanous and Kourti, 2022). Подобная картина наблюдается и при действии ротенона. Блокирование первого комплекса дыхательной цепи и, как следствие, переноса электронов на кислород, приводит к образованию активных форм кислорода, особенно супероксидных радикалов (Biosa et al., 2018; Zamanian et al., 2023).

Для подтверждения того, что наблюдаемые в ротенон-индуцированной модели симптомы паркинсонизма обусловлены не системной токсичностью, а целенаправленным влиянием токсина на работу цепи переноса электронов, а способность эпоксидиола оказывать антипаркинсонические эффекты в *in vivo* модели заболевания связана с митопротекторными свойствами соединения, была проведена функциональная оценка работы митохондриальных комплексов. С помощью анализатора клеточного метаболизма Seahorse XF96 измеряли скорость потребления кислорода митохондриальной р2 фракцией, полученной из головного мозга животных, после инъекций различных субстратов и ингибиторов комплексов электрон-транспортной цепи.

Первые три цикла измерения скорости потребления кислорода митохондриями, предварительно обработанными глутаматом и малатом — субстратами комплекса I, подтвердили гипотезу об ингибирующем действии ротенона в отношении НАДН-дегидрогеназы. Об этом свидетельствовало снижение данного показателя с $74,8 \pm 2,3$ пмоль/мин (для контрольных проб)

до $45,7 \pm 1,9$ пмоль/мин ($p = 0,0003$ относительно контроля). Этот эффект был снижен в образцах головного мозга животных из групп, получавших Д 2, где воздействие соединением привело к увеличению скорости потребления кислорода на 28,7% (в случае РОТ + Д 2 (1); $p = 0,037$ относительно РОТ) и 29,4% (для РОТ + Д 2 (2); $p = 0,033$ относительно РОТ). После ингибирования НАДН-дегидрогеназного комплекса ротеноном для стимулирования дыхания комплекса II был добавлен его субстрат — сукцинат. Для всех групп было показано усиленное дыхание, однако в митохондриальной р2 фракции, полученной у мышей группы РОТ, активность данного комплекса была снижена более чем на 50% ($p = 0,0002$ относительно контроля). В свою очередь у мышей, получавших Д 2 в течение 21 дня, наблюдалось увеличение СПК с $195,0 \pm 7,3$ пмоль/мин до $360,5 \pm 26,5$ ($p = 0,008$ от РОТ) (рисунок 40). Как и ожидалось, последующее добавление ингибитора комплекса III, антимицина А, снижало СПК, что было ликвидировано введением доноров электронов комплекса IV - аскорбата/*N,N,N,N*-тетраметил-*n*-фенилендиамина (TMPD), доставляющих их непосредственно к цитохром С оксидазе. В образцах РОТ была обнаружена аналогичная ситуация со снижением скорости потребления кислорода, наблюдаемой в случае II комплекса, что свидетельствует о том, что блокирование ротеноном I комплекса влечёт за собой дальнейший каскад событий, препятствующий транспорту электронов на всём последующем протяжении цепи. И в этом случае Д 2 также обладал способностью улучшать митохондриальную функцию.

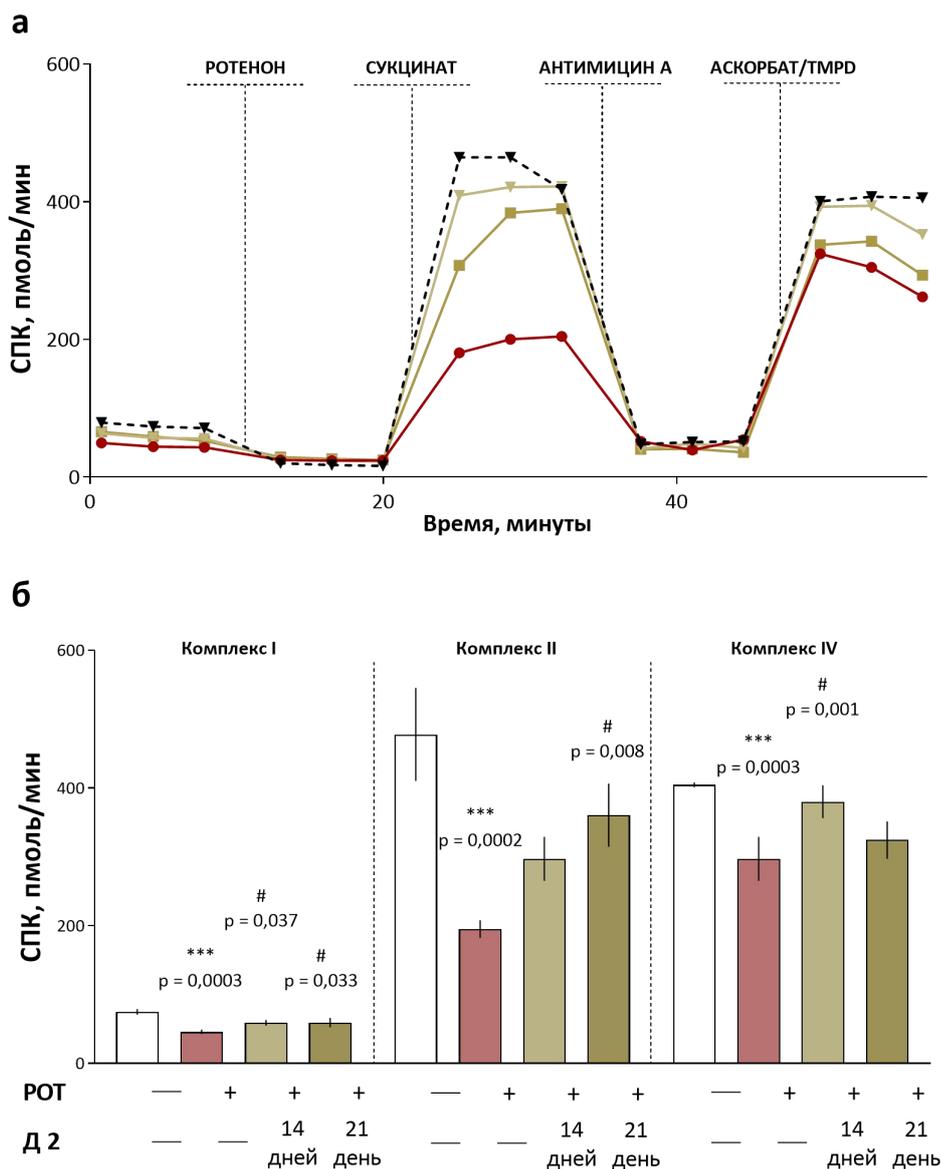


Рисунок 40 — Анализ потребления скорости кислорода митохондриальной р2 фракцией. а — кинетические кривые изменения скорости потребления кислорода органеллами (10 мкг на лунку), предобработанными субстратами первого комплекса дыхательной цепи глутаматом и малатом (10 мМ) с течением времени под действием модуляторов. Концентрация ротенона составила 2 мкМ, сукцината — 10 мМ, антимицина А — 1 мкМ и аскорбата 10 мМ /N,N,N',N'-тетраметил-*n*-фенилендиамин дигидрохлорида — 0,1 мМ. б — данные представлены в виде гистограмм, в которых каждый столбец представляет среднее значение СПК органеллами экспериментальных групп (среднее значение \pm SEM, $n = 8$). *** $p \leq 0.001$ относительно контроля; # $p \leq 0.05$ относительно ROT. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Чтобы проанализировать влияние Д 2 на образование свободных

радикалов в мозге животных экспериментальных групп, был исследован уровень перекисного окисления липидов в гомогенатах мозга мышей. Было обнаружено, что обработка ротеноном значительно увеличивала содержание малонового диальдегида — маркера интенсивности окислительного стресса в организме (рисунок 41). При этом данный показатель составил 0,453 нмоль/мг белка по сравнению с 0,410 нмоль/мг белка в контрольных пробах ($p = 0,003$ относительно контроля). В свою очередь, в образцах головного мозга животных, получавших лечение Д 2, наблюдалось достоверное снижение уровня перекисного окисления липидов вплоть до 0,342 нмоль/мг белка в случае 21-дневной схемы введения соединения. Следует отметить, что помимо достоверных отличий по сравнению с группой ROT ($p < 0,0001$), введение Д 2 значительно снизило содержание малонового диальдегида и при сравнении с контролем ($p = 0,0005$ для ROT + Д 2 (1) и $p < 0,0001$ для ROT + Д 2 (2) от контроля), что подтверждает наличие для исследуемого соединения антиоксидантных свойств, обнаруженных на раннем скрининговом этапе.

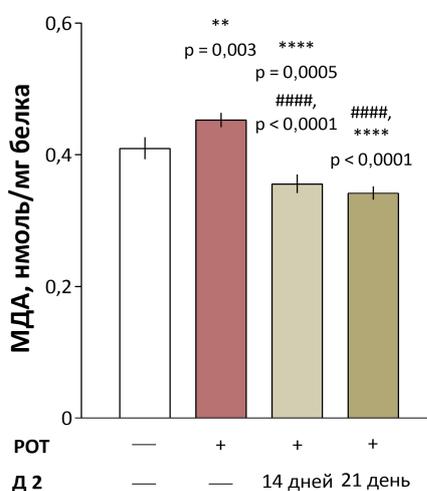


Рисунок 41 — Измерение концентрации малонового диальдегида в гомогенатах головного мозга мышей (4 мг/мл). Данные представлены в виде гистограмм, показывающих количество малонового диальдегида как среднее значение \pm SEM, $n = 8$. ** $p \leq 0,01$ и **** $p \leq 0,0001$ относительно контроля; ##### $p \leq 0,0001$ относительно ротенона. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения 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. Наши результаты показали, что Д 2 обладал цитопротекторными свойствами на клеточной линии SH-SY5Y, подвергшейся воздействию ротенона. Это может быть обусловлено способностью соединения препятствовать потере мембранного потенциала митохондрий и, как следствие, модулировать события в последующем апоптотическом каскаде. Анализ биоэнергетического профиля клеток нейробластомы показал для Д 2 способность восстанавливать скорость потребления кислорода после ингибирования функции комплекса I и, как следствие, ослаблять эффект ротенона. В условиях моделирования болезни Паркинсона *in vivo* лечение Д 2 привело к нивелированию как моторных нарушений, так и немоторного симптома — когнитивной дисфункции. В заключение, посмертный анализ образцов головного мозга животных продемонстрировал способность Д 2 препятствовать потере дофаминергических нейронов, что может быть обусловлено его свойствами восстанавливать работу комплексов дыхательной цепи митохондрий и значительно снижать выработку активных форм кислорода. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что Д 2, выделенный 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.

3.3.3. *In vitro* и *in vivo* исследование целевой эффективности соединений-хитов в группе потенциальных противоопухолевых агентов среди соединений на основе природных скаффолдов

С использованием нашей усовершенствованной системы биотестирования на раннем скрининговом этапе среди производных природных молекулярных объектов были выделены не только потенциальные нейропротекторные соединения, обладающие набором положительных характеристик, о которых велась речь ранее, но и вещества, которые можно отнести к потенциальным противоопухолевым агентам, способные приводить к деградации митохондрий и проявлять антиоксидантные свойства. К ним относятся аминопроизводные сесквитерпеновых лактонов (6-гидроксиксантанодиена и артеаннуина Б), а также дигидрокостус лактон и изоалантолактон, модифицированные полиалкоксibenзолами и 3,5-бис(арилиден)-4-пиперидонами.

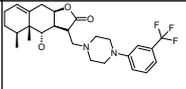
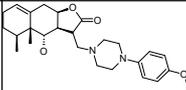
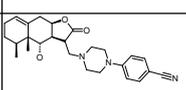
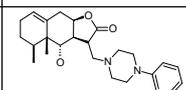
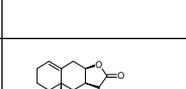
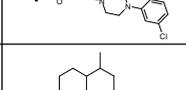
3.3.3.1. Аминопроизводные 6-гидроксиксантанодиена и аминопроизводные артеаннуина Б

Среди оригинальных гибридных молекул, сочетающих в структуре два биологически активных фрагмента – сесквитерпеновый лактон и фармакофорные замещенные гидрированные азин или амин, в качестве потенциальных противоопухолевых агентов были выбраны шесть соединений на основе 6-гидроксиксантанодиена (Ла 37, Ла 38, Ла 42, Ла 43, Ла 44 и Ла 45) и одно соединение на основе лактона Артеаннуина Б (Ла 52).

Было установлено, что преинкубация изолированных митохондрий печени крыс с данными веществами приводит к эффективной активации Ca^{2+} -индуцируемого набухания органелл, увеличивая скорость данного процесса до 50% от скорости контроля (таблица 8). Кроме того, для большинства конъюгатов отмечается деполяризирующее действие на

митохондриальную мембрану в рабочей концентрации 100 мкМ, при этом наибольший эффект наблюдался для соединений **Ла 37**, **Ла 38**, **Ла 43** на основе 6-гидроксисантаноидина и **Ла 52** на основе артеаннуина Б (таблица 8). Эти данные позволяют предположить проапоптотический механизм противоопухолевого действия исследованных конъюгатов за счёт модуляции функций митохондрий в клетке, в первую очередь, диссипации трансмембранного потенциала, открытия пор перехода проницаемости, и выхода проапоптотических факторов в цитозоль (Klochkov et al., 2020; Klochkov et al., 2019b; Neganova et al., 2020a).

Таблица 8 — Результаты исследования биологической активности азинопроизводных 6-гидроксисантаноидина и азинопроизводного артеаннуина Б на раннем скрининговом этапе

В-во	Формула	ПОЛ (Fe ²⁺)	ПОЛ (т-БГП)	АА	ХА	φ _m	Свеллинг
Ла 37		20,6±4,5	19,6±1,3	29,1±1,1	-	15,6±9,9	137,4±4,2
Ла 38		75,5±0,4	32,3±2,8	-	-	18,6± 8,3	112,1±11,2
Ла 42		33,8±3,7	-	-	-	-	151,6±13,2
Ла 43		36,1±2,6	15,9±1,8	25,9±0,7	11,0±3,4	17,8±1,4	132,8±4,7
Ла 44		45,1±6,3	-	11,7±5,2	-	-	141,8±0,2
Ла 45		52,9±0,9	25,1±2,8	-	-	26,5±2,4	93,8±4,2
Ла 52		17,8±3,6	-	-	29,5±2,1	23,5±3,8	138,9±6,7

Сокращения: В-во — исследуемое вещество. ПОЛ (Fe²⁺) и ПОЛ (т-БГП) — ингибирование перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс,

инициированного ионами двухвалентного железа и *трет-*бутилгидроксипероксидом, соответственно. АА — антирадикальная активность. ХА — Fe²⁺-хелатирующая активность. φ_м — деполяризация митохондриальной мембраны. Свеллинг — максимальная скорость «набухания» митохондрий. Все данные представлены в виде процента активности относительно контроля при концентрации вещества 100 мкМ, Символ «-» свидетельствует об отсутствии активности.

Более того, для данных соединений-хитов была обнаружена антиоксидантная активность, характеризующаяся наличием способности к ингибированию перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, за счет антирадикальных, а в некоторых случаях железо-хелатирующих свойств (таблица 8). Стоит отметить, что у исходных лактонов Ла 36 и Ла 46 антиоксидантной активности не наблюдалось. Для наиболее активных соединений были рассчитаны величины IC₅₀ ингибирующего эффекта по отношению к ПОЛ (рис. 42 б).

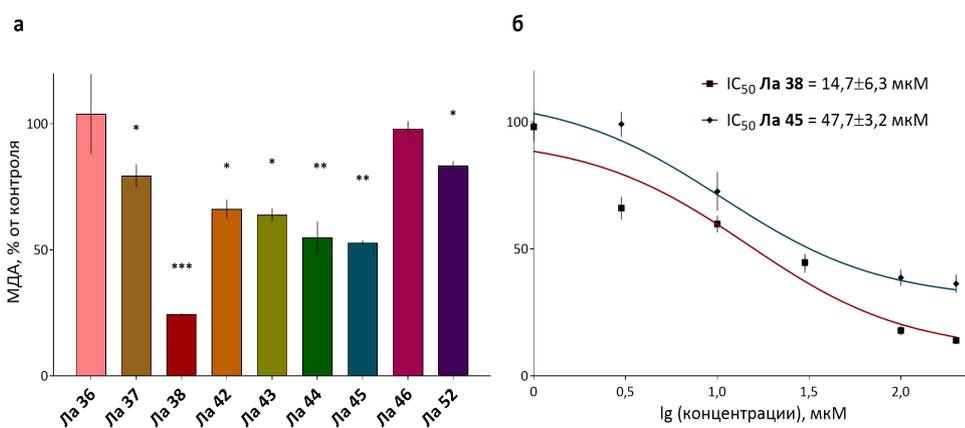


Рисунок 42 — Исследование антиоксидантной активности азинопроизводных б-гидроксиксантаодиена и аминопроизводного артеаннуина Б по их способности ингибировать процесс перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс (2,5 мг/мл), инициированного Fe²⁺. а — антиоксидантный эффект веществ в концентрации 100 мкМ, б — концентрационная зависимость ингибирующего ПОЛ действия и значения IC₅₀. Концентрация Fe²⁺ составила 500 мкМ. Данные представлены в виде процента активности относительно контроля (ДМСО ≤ 1%) как среднее значение ± SEM. *, **, ***, p < 0,05, p < 0,01 и p < 0,001, по сравнению с контролем. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

На следующем этапе, неотъемлемом при исследовании противоопухолевой активности потенциальных терапевтических агентов, был проведён анализ цитотоксического профиля соединений на различных культурах опухолевых клеток. Это позволило получить необходимые данные, касающиеся химиотерапевтической активности веществ непосредственно на клеточном уровне, что является хорошей альтернативой тестам на экспериментальных животных.

В нашей работе мы изучали цитотоксическое действие синтезированных аминокислотных лактонов на широкой панели клеточных линий опухолевого происхождения A549, MCF7, HCT116, Jurkat и RD и псевдонормальных клетках HEK-293.

С помощью МТТ- и ресазурин-тестов было показано, что 24-х часовая преинкубация клеточных культур опухолевого происхождения со всеми исследуемыми веществами приводила к значительному снижению количества жизнеспособных клеток, и величина IC_{50} цитотоксического эффекта начиналась от 11 мкМ (таблица 9). Для соединений **Ла 45** и **Ла 52** наблюдалось селективное действие к клеткам культур RD и MCF7 по сравнению с псевдонормальными клетками HEK-293. Так, расчёт индекса селективности (ИС) показал значения больше 3, а в случае клеток эмбриональной рабдомиосаркомы человека для вещества **Ла 52** ИС составил 6. Также стоит отметить, что для большинства соединений цитотоксический эффект превышал таковой у соответствующих исходных лактонов, которые также были протестированы в качестве веществ сравнения. Более того, для исходных лактонов была обнаружена высокая цитотоксичность и по отношению к клеткам нормального происхождения, что является существенным побочным эффектом.

Таблица 9 — Влияние азинопроизводных 6-гидроксисантаноидина и аминопроизводного артеаннуина Б на выживаемость клеток опухолевого и нормального происхождения

В-во	IC ₅₀ цитотоксического эффекта, мкМ					
	A549	HCT116	RD	Jurkat	MCF7	Hek-293
Ла 36	74,9±0,1	46,8±0,1	28,5±0,0	59,7±0,1	39,4±0,1	45,1±0,1
Ла 37	> 100	65,3±0,0	44,0±0,0	81,5±0,1	56,2±0,1	>100
Ла 38	75,1±0,0	43,2±0,0	29,3±0,0	62,4±0,1	26,7±0,2	79,4±0,1
Ла 44	94,4±0,0	52,5±0,0	46,6±0,0	>100	76,3±0,2	>100
Ла 43	>100	50,6±0,0	42,9±0,0	92,9±0,1	69,3±0,1	98,6±0,3
Ла 42	84,1±0,1	61,3±0,0	26,6±0,0	64,1±0,1	36,5±0,1	43,9±0,1
Ла 45	63,6±0,0	57,8±0,0	25,2±0,0 (ИС ≈ 3,5)	57,9±0,1	28,4±0,6 (ИС ≈ 3,5)	87,4±0,2
Ла 46	19,5±0,1	36,1±0,1	24,8±0,1	35,9±0,1	32,5±0,1	26,5±0,4
Ла 52	18,1±0,1 (ИС ≈ 3,7)	19,4±0,1 (ИС ≈ 3,5)	11,3±0,0 (ИС ≈ 6)	30,7±0,1	19,1±0,1 (ИС ≈ 3,5)	68,4±0,2

Сокращения: В-во — исследуемое вещество; А549 — карцинома легкого человека; HCT116 — аденокарцинома толстого кишечника человека; MCF7 — аденокарцинома протоков молочной железы человека; RD — эмбриональная рабдомиосаркома человека; Jurkat — Т-лимфобластная лейкемия человека; Hek-293 — клетки, полученные из эмбриональной почки человека; ИС — индекс селективности.

Одним из ключевых механизмов, нацеливание на который используют при разработке новых противоопухолевых средств, является апоптоз. Соединения, способные провоцировать опухолевую клетку к гибели по пути апоптоза, могут рассматриваться как потенциальные химиотерапевтические агенты. Существует два основных механизма индукции апоптоза: внешний — через рецепторы смерти, и внутренний — опосредованный митохондриями. Внешний путь запускает апоптоз в ответ на внешние раздражители, при этом специфические лиганды связываются с рецепторами смерти на поверхности

клеточной мембраны, что провоцирует работу инициаторных и эффекторных каспаз и в итоге приводит к гибели клетки. Внутренний путь индукции апоптоза сопровождается разрушением митохондриальной мембраны, что приводит к снижению ее потенциала, выходу проапоптотических факторов в цитозоль и запуску соответствующего каспазного каскада.

В нашей работе влияние соединений-хитов среди производных сесквитерпеновых лактонов на протекание апоптоза по митохондриальному пути оценивали методом проточной цитометрии с использованием флуоресцентного красителя JC-10. В нормальных клетках JC-10 накапливается в митохондриальной матриксе, где он образует агрегаты с красной флуоресценцией. Однако в апоптотических клетках JC-10 диффундирует из митохондрий, превращается в мономерную форму и излучает зеленый сигнал флуоресценции.

Было обнаружено, что соединения **Ла 38**, **Ла 42** и **Ла 45** из серии производных на основе 6-гидроксиксантаодиена (в концентрации 60 мкМ, которая соответствует средней величине IC_{50} цитотоксичности на этой линии клеток) и **Ла 46**, **Ла 52** на основе артеаннуина Б (в концентрации 30 мкМ) в большей степени, чем другие вещества, способны индуцировать апоптоз по митохондриально-зависимому пути после 24 часовой инкубации клеток Jurkat. Увеличение количества апоптотических клеток, подтверждалось значительным усилением зеленого сигнала флуоресценции JC-10, указывающего на диффундирование индикатора из поврежденных митохондрий (рисунок 43). В свою очередь, для исходных лактонов эффект был менее выраженным, что хорошо коррелирует с данными, полученными при анализе цитотоксического профиля соединений.

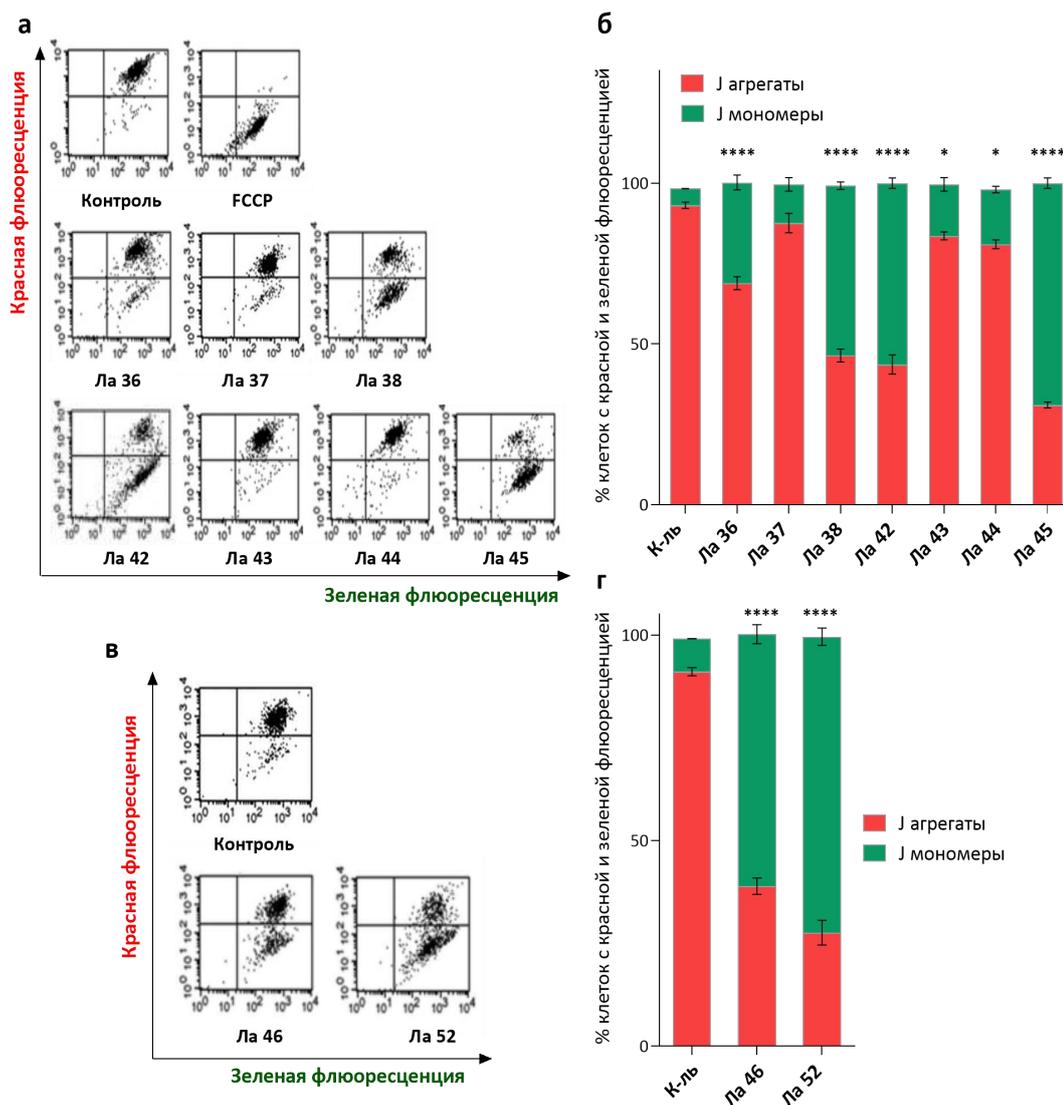


Рисунок 43 — Влияние исследуемых соединений на индукцию апоптоза в клетках Jurkat: а, б — 6-гидроксисантанодин **Ла 36** и его производные **Ла 37-Ла 45**; в, г — артенуин **Ла 46** и его производное **Ла 52**. б, г — количественное определение содержания клеток (в %) с красными и зелеными агрегатами. Данные представлены в виде процента клеток как среднее значение \pm SEM. *, ****, $p < 0,05$ и $p < 0,0001$, по сравнению с контролем (ДМСО $\leq 1\%$). Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Полученные результаты подтверждают предположение, выдвинутое на этапе исследования влияния веществ на изолированных митохондриях, что одним из возможных механизмов противоопухолевого действия цитотоксичных соединений является способность к индукции апоптоза, протекающего по внутреннему митохондриальному пути, за счет

способности диссипировать трансмембранный потенциал и нарушать целостность органелл.

Еще одним механизмом противоопухолевого действия может выступать способность веществ ингибировать процесс гликолиза. Существует большое количество экспериментальных данных, подтверждающих наличие функциональных различий в метаболической активности между нормальными и опухолевыми клетками. Известно, что канцерогенез происходит в гипоксическом микроокружении, при этом отличительным свойством неопластических клеток уже на самых ранних стадиях онкопатологий является высокая скорость анаэробного гликолиза, характеризующаяся интенсивным поглощением глюкозы с последующим превращением в молочную кислоту в условиях отсутствия кислорода. Так, основную долю энергии опухолевые клетки получают именно от этого метаболического пути, в то время как у физиологически здоровых клеток в ходе гликолиза образуется не более 10% АТФ. Такой перепрограммированный метаболизм неопластических клеток играет важную роль в развитии злокачественных новообразований, за счёт чего данный тип клеток обладает способностью к неограниченному делению, метастазированию и снижению их гибели путём избегания апоптоза. Поэтому за счёт сопряжённости высокой скорости анаэробного гликолиза с интенсивной пролиферацией неопластических клеток, поиск соединений, механизм действия которых направлен на регуляцию данного процесса, представляет интерес в системе доклинических исследований потенциальных противоопухолевых средств.

В нашей работе с целью выяснения еще одного механизма цитотоксического действия соединений-хитов было изучено их влияние на процесс гликолиза клеток аденокарциномы протоков молочной железы человека MCF7 путем измерения скорости внеклеточного закисления среды во время последовательного введения метаболических модуляторов.

Как показано на рисунке 44, добавление глюкозы индуцировало увеличение скорости внеклеточного закисления среды, в то время как инъекции олигомицина ещё больше стимулировали закисление среды за счет интенсивной продукции лактата в образцах. Однако добавление соединений **Ла 38**, **Ла 42** и **Ла 45** из серии азинопроизводных на основе 6-гидроксисантаноидина (в концентрации 30 мкМ, которая соответствует средней величине IC₅₀ цитотоксического эффекта на данной линии клеток) (рисунок 44 а-г) и **Ла 52** на основе артеаннуина Б (в концентрации 20 мкМ) (рисунок 44 д-з) приводило к значительному ингибированию данного показателя, что сопровождалось снижением параметров гликолитической функции: глюкозо-индуцированного гликолиза, гликолитической емкости и гликолитического резерва. Такая модуляция гликолитической функции в клетках опухолевого происхождения MCF7 соединениями **Ла 38**, **Ла 42**, **Ла 45** и **Ла 52** также может рассматриваться в качестве возможного механизма обнаруженного для них ранее цитотоксического действия.

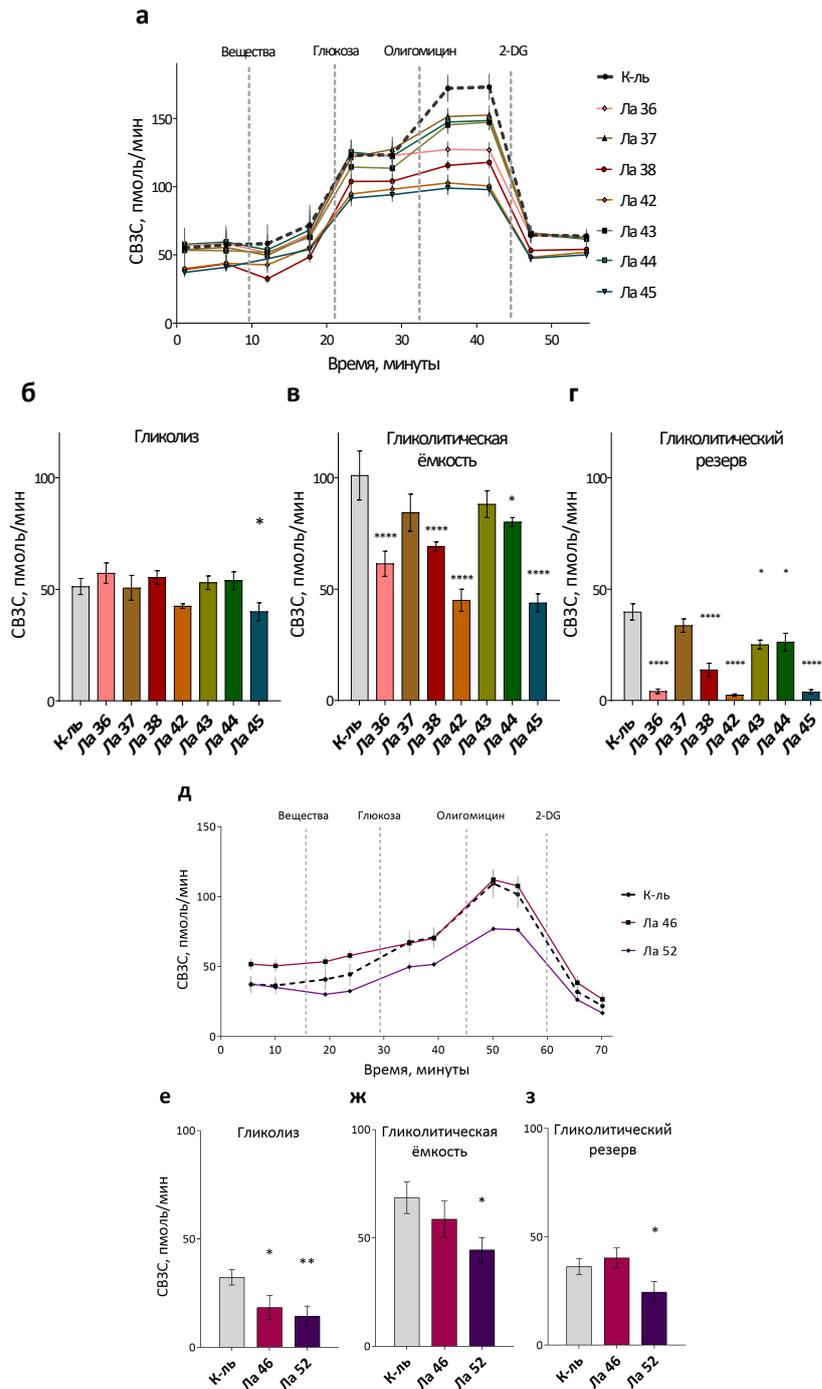


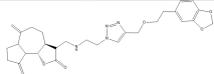
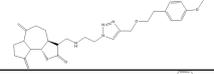
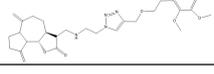
Рисунок 44 — Влияние азинопроизводных 6-гидроксиксантаодиена (а-г) и аминопроизводного артеаннуина Б (д-з) на гликолитический профиль клеток опухолевого происхождения MCF7 посредством измерения скорости внеклеточного закисления среды (СВЗС). Концентрация 6-гидроксиксантаодиена и его азинопроизводных и артеаннуина Б и его аминопроизводного составляла 30 мкМ, глюкозы — 10 мМ, олигомицина — 1 мкМ, 2-фтор-2-дезокси-D-глюкозы (2-DG) — 25 мМ. а, д — кинетические кривые изменения скорости внеклеточного закисления среды. б-г, е-з — количественные расчетные параметры гликолитической функции. *, **, ***, $p < 0,05$, $p < 0,01$ и $p < 0,0001$, по сравнению с контролем (ДМСО $\leq 1\%$). ANOVA, критерий Даннета.

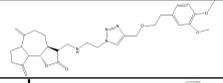
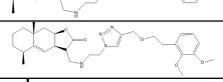
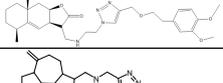
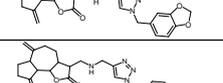
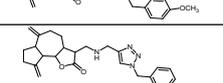
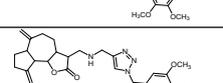
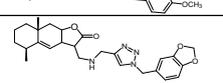
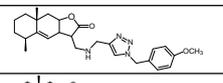
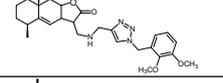
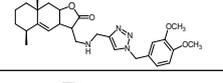
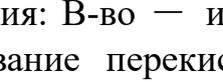
Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что конъюгаты сесквитерпеновых лактонов 6-гидроксисантаноидина с гидрированными азинами и артеаннуина Б с аминами могут выступать в качестве основы для создания перспективных противоопухолевых препаратов с механизмом действия, основанном на (1) разрушении целостности митохондриальной мембраны и последующем запуске каскада клеточной гибели по пути апоптоза, (2) способности к ингибированию главного метаболического пути опухолевых клеток – гликолиза, а также (3) антиоксидантном действии веществ, способствующему нормализации генетической нестабильности при онкогенезе.

3.3.3.2. Биоконъюгаты сесквитерпеновых лактонов и полиалкоксибензолов

Ещё одной перспективной группой потенциальных противоопухолевых агентов, выделенной в ходе первичного скрининга, была серия веществ на основе двух сесквитерпеновых лактонов — дегидрокостуслактона и алантолактона, модифицированных методом «клик»-химии путем добавления в молекулу фрагментов полиалкоксибензолов. Все соединения этой группы проявляли антиоксидантные свойства – ингибировали процесс ПОЛ гомогената мозга крыс и деполяризовали митохондриальную мембрану (таблица 10), приводя к деградации данных органелл, что может служить стимулом к запуску каскада гибели опухолевой клетки по пути апоптоза (Артюшин и др., 2022; Neganova et al., 2022b).

Таблица 10 — Результаты исследования биологической активности биоконъюгатов сесквитерпеновых лактонов и полиалкоксибензолов на раннем скрининговом этапе

В-во	Формула	ПОЛ, Fe ²⁺	ПОЛ, т-БГП	АА	Ф _m
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

Сокращения: В-во — исследуемое вещество. ПОЛ (Fe^{2+}) и ПОЛ (т-БГП) — ингибирование перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, инициированного ионами двухвалентного железа и трет-бутилгидроксипероксидом, соответственно. АА — антирадикальная активность. ХА — Fe^{2+} -хелатирующая активность. φ_m — деполаризация митохондриальной мембраны. Все данные представлены в виде процента активности относительно контроля при концентрации вещества 100 мкМ. Символ «-» свидетельствует об отсутствии активности.

Далее, в соответствии с усовершенствованной схемой биотестирования, целесообразным стало проведение исследования влияния соединений-хитов на выживаемость различных клеток опухолевого и нормального происхождения. Оценку цитотоксического профиля синтезированных бифармакофорных молекул проводили на ряде клеточных линий опухолевого происхождения (SH-SY5Y, HeLa, Hep-2, A549). Клетки нормального происхождения Нек-293 использовали для сравнения действия веществ на трансформированное и здоровое микроокружение. В качестве референсного соединения был использован известный противоопухолевый препарат

природного происхождения — арглабин, сесквитерпеновый лактон, выделяемый из *Artemisia glabella*.

В таблице 11 представлены величины IC_{50} цитотоксического эффекта, представляющие собой концентрации, при которых наблюдается 50% гибель клеток. Среди соединений, содержащих в своей структуре более длинный спейсер между двумя фармакофорами, наибольшую активность показали вещества на основе алантолактона. При этом по совокупности показателей цитотоксичности для всех клеточных линий наиболее эффективным оказалось соединение Лп 5, IC_{50} которого варьировала от 29 мкМ до 55 мкМ. Также стоит отметить, что на нетрансформированных клетках Нек-293 наблюдался аналогичный уровень цитотоксичности.

Интересно, что в группе веществ с коротким спейсером наиболее выраженную цитотоксичность проявили соединения, содержащие в своей структуре иной природный фрагмент — дегидрокостус лактон, причём уровень цитотоксического действия для Лп 9 и Лп 12 в отношении опухолевых клеток SH-SY5Y и HeLa превышал таковую у арглабина: значения величины IC_{50} не выходили за пределы 20 мкМ. Более того, для данных соединений наблюдалось сниженное токсическое действие по отношению к клеточной линии нормального происхождения Нек-293. Аналогичная тенденция наблюдалась и у арглабина.

Таким образом, суммируя полученные результаты по изучению цитотоксического профиля синтезированных соединений, можно выделить несколько ключевых моментов: (1) при удлинении спейсера у соединений на основе алантолактона Лп 5-Лп 8 происходит усиление цитотоксических свойств, при этом избирательности действия в отношении опухолевых клеток не наблюдается; (2) в случае веществ, содержащих дегидрокостус лактон, наиболее активными оказались вещества с коротким спейсером Лп 9-Лп 12, которые избирательно и наиболее эффективно подавляли выживаемость клеток опухолевого происхождения, аналогично арглабину. Также следует

отметить, что наибольшая эффективность наблюдалась у соединений, содержащих в качестве второго фармакофора бензилпропаргилловые эфиры.

Таблица 11 — Влияние биоконъюгатов сесквитерпеновых лактонов и полиалкоксобензолов на выживаемость клеток опухолевого и нормального происхождения

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	19,31±0,57	18,0±0,3	>100	>100	58,0±0,1
Лп 10	16,14±0,46	16,6±0,6	26,3±0,3	25,2±3,4	56,7±0,1
Лп 11	89,47±2,57	79,6±0,3	>100	>100	66,3±0,1
Лп 12	21,83±0,02	26,4±2,4	82,2±1,2	>100	>100
Лп 13	71,78±2,00	88,9±0,2	>100	95,9±1,5	61,4±0,1
Лп 14	60,38±0,39	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	56,08±1,06	89,4±0,4	>100	91,2±1,5	59,6±1,8
Арглабин	34,02±2,48	20,0±0,0	29,9±0,9	-	78,0±2,1

Сокращения: В-во - исследуемое вещество. SH-SY5Y – нейробластома человека, HeLa – карцинома шейки матки человека, Нер-2 – карцинома гортани человека, A549 – карцинома легкого человека.

При изучении потенциальных механизмов цитотоксического действия синтезированных веществ было определено их влияние на ряд процессов, играющих важную роль в функционировании опухолевых клеток.

Как уже говорилось ранее, существует два основных апоптотических пути запрограммированной гибели клеток: опосредованный рецепторами смерти (внешний) и митохондриальный (внутренний) пути апоптоза (Fulda, 2015). Потеря мембранного потенциала митохондрий ($\Delta\Psi_m$) приводит к индукции апоптоза по митохондриальному пути (Yan et al., 2017) и является ранним событием, предшествующим клеточной гибели. Доказано, что это

может быть обусловлено следующим каскадом событий: деполяризация митохондриальной мембраны вызывает ассоциацию белков, входящих в состав митохондриальной поры перехода проницаемости (в частности, переносчика адениновых нуклеотидов и циклофилина D), запуская её открытие. Это приводит к истощению АТФ и высвобождению проапоптотических факторов в цитозоль, активации каспаз и, как следствие, запуску гибели клетки (рисунок 45 а) (He et al., 2018). В связи с этим перспективным направлением при поиске лекарственных препаратов противоопухолевой направленности является создание соединений, способных приводить к деполяризации митохондриальной мембраны. К примеру, снижение трансмембранного потенциала под действием терапевтических агентов в химиорезистентных клетках карциномы предстательной железы индуцирует апоптоз через митохондриальный путь (Bonora and Pinton, 2014; Huo et al., 2016).

На рисунке 45 б представлено углубленное изучение влияния данных соединений на мембранный потенциал изолированных митохондрий печени крыс. Было обнаружено, что все вещества в той или иной степени приводили к снижению мембранного потенциала изолированных митохондрий печени крыс. Также для веществ с различными лактонами и длиной спейсеров отчётливо прослеживается корреляция процента деполяризации с цитотоксичностью, показанной ранее. В случае алантолактон-содержащих соединений, вещества Лп 5-Лп 8 приводили к практически полной деполяризации митохондриальной мембраны, а для веществ с коротким спейсером эта активность была ниже. Для дегидрокостус-содержащих веществ выраженная разница наблюдалась лишь для соединений Лп 4 и Лп 12, где наибольшей эффективностью обладало соединение с коротким спейсером.

В качестве примера для соединений Лп 1, Лп 9 и Лп 5, Лп 13 на рисунке 45 в, г для более наглядного представления полученных результатов показаны кинетические кривые изменения флюоресценции суспензии митохондрий во

времени после добавления модуляторов. Так, при добавлении сукцината и ротенона наблюдалась энергизация митохондриальной мембраны и падение флюоресцентного ответа потенциал-зависимой метки сафранина А. На этом фоне были добавлены исследуемые соединения и в течение определенного периода времени наблюдалась реакция, сопровождающаяся усилением флюоресценции в образцах и отсутствием изменений в контроле. 100%-ю деполяризацию митохондриальной мембраны наблюдали при добавлении ионов кальция, индуцирующих открытие митохондриальных пор и приводящих к энергетическому коллапсу органелл.

Таким образом, свойство синтезированных соединений приводить к диссипации трансмембранного потенциала и энергетическому коллапсу митохондрий может служить вероятным механизмом, приводящим к запуску каскада гибели опухолевой клетки по пути апоптоза и обуславливать обнаруженную ранее цитотоксичность.

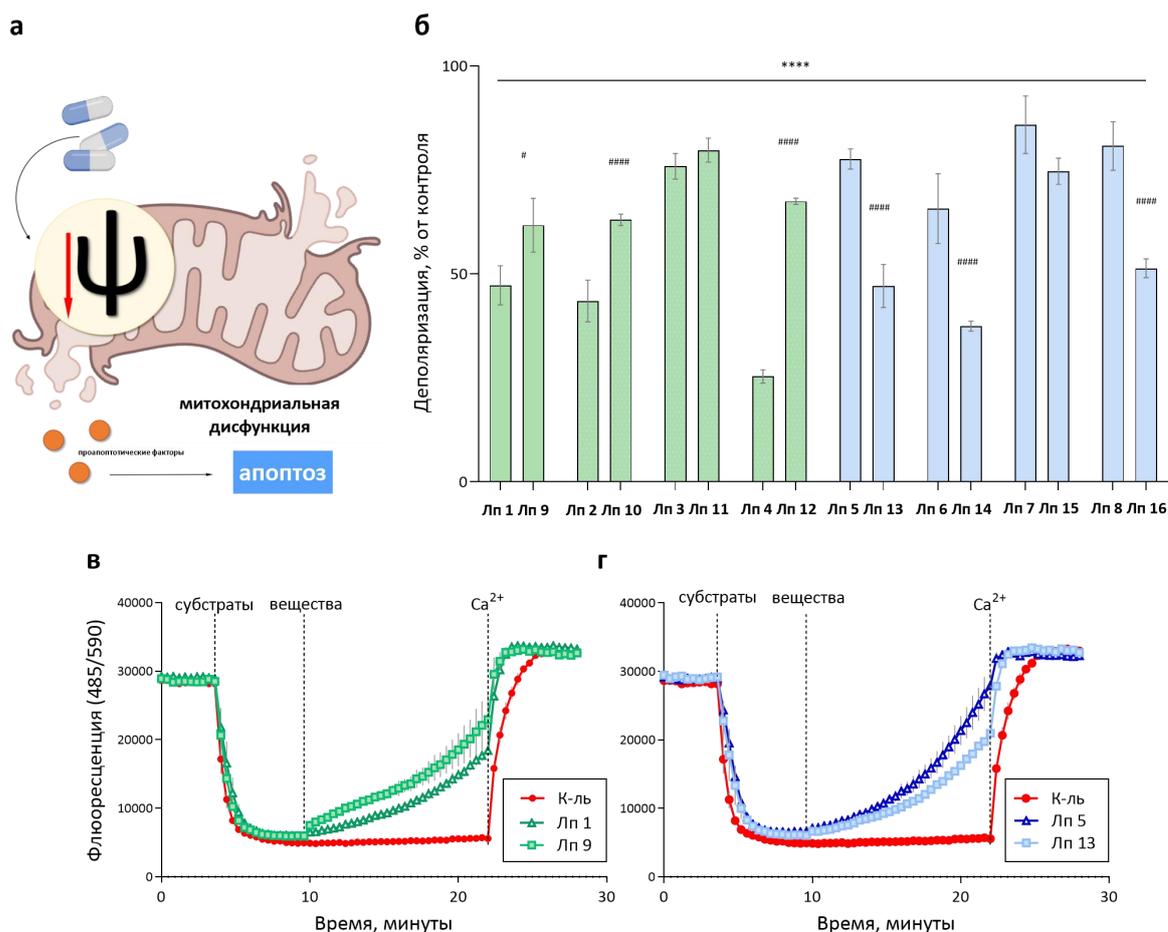


Рисунок 45 — Влияние биоконъюгатов сесквитерпеновых лактонов и полиалкокксибензолов на трансмембранный потенциал изолированных митохондрий печени крыс. а — схематическое представление влияния деполаризации митохондриальной мембраны на запуск гибели клетки по митохондриально-зависимому пути апоптоза. б — процент деполаризации митохондриальной мембраны в определённом временном интервале относительно контроля (как среднее значение \pm SEM ($n = 3$)). **** $p \leq 0,0001$ от контроля, # $p \leq 0,05$ от соответствующего конъюгата с длинным спейсером. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета. Кинетические кривые изменения трансмембранного потенциала митохондрий под действием конъюгатов в - дегидрокостуслактона Лп 1 и Лп 9 и г - алантолактона Лп 5 и Лп 13 с ароматическими алкоксипроизводными. Концентрация исследуемых соединений составляла 100 мкМ, сукцината калия — 5 мкМ, ротенона — 0,5 мкМ, Ca²⁺ — 25 мкМ.

Как было сказано выше, аэробный гликолиз является хорошо известным признаком метаболизма трансформированных клеток (рисунок 46 а), и нацеливание на него может рассматриваться в качестве перспективной лекарственной мишени при терапии онкопатологий (Wu et al., 2020a). К

примеру, было показано, что блокирование гликолиза в клетках меланомы снижает уровень АТФ и ингибирует клеточную пролиферацию (Wu et al., 2020b).

С помощью анализатора клеточного метаболизма Agilent Seahorse XF96e Analyzer (Seahorse Bioscience, США) нами была произведена оценка скорости внеклеточного закисления среды 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.

На рисунке 46 б, в показан процент изменения СВЗС относительно контрольных проб, содержащих эквивалентный объём растворителя для тестируемых веществ (ДМСО $\leq 1\%$). Очевидно, что в клетках SH-SY5Y, обработанных 100 мкМ всех конъюгатов дегидрокостуслактона и алантолактона с алкоксизамещенными бензиламидами, оба параметра гликолитической функции, включая базальный гликолиз и гликолитическую ёмкость, были значительно снижены, достигая минимума после инъекций соединений на основе дегидрокостуслактона Лп 4 и Лп 9-Лп 12 и алантолактона Лп 5-Лп 8 (в случае гликолиза), а также Лп 1, Лп 9-Лп 12 и Лп 5-Лп 8, Лп 13 (в случае гликолитической ёмкости). Более того, в данном эксперименте наблюдается аналогичная тенденция, что и при исследовании влияния синтезированных соединений на трансмембранный потенциал, где отчётливо видна корреляция между структурой соединений и их активностью. И вновь, 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. В свою очередь, в случае дегидрокостуслактон-содержащих конъюгатов наибольшей эффективностью обладали соединения с коротким спейсером Лп 1-Лп 4.

В качестве примера для соединений **Лп 1**, **Лп 9** и **Лп 5**, **Лп 13** на рисунке 46 г и д для более наглядного представления полученных результатов показаны кинетические кривые изменения СВЗС клетками во времени по мере добавления модуляторов. Так, инъекция глюкозы приводила к резкому возрастанию данного показателя, в то время как клетки, предобработанные исследуемыми соединениями, демонстрировали подавление СВЗС. Подобная ситуация наблюдалась и в случае, когда при добавлении олигомицина в контрольных образцах наблюдалась максимальная гликолитическая активность, однако под действием **Лп 1**, **Лп 9** и **Лп 5**, **Лп 13** отмечалось снижение СВЗС более чем на 50%.

Таким образом, способность конъюгатов дегидрокостуслактона и алантолактона с алкоксизамещенными бензилазидами подавлять параметры гликолитической функции клеток опухолевого происхождения также может рассматриваться в качестве возможного механизма показанной для них ранее цитотоксической активности.

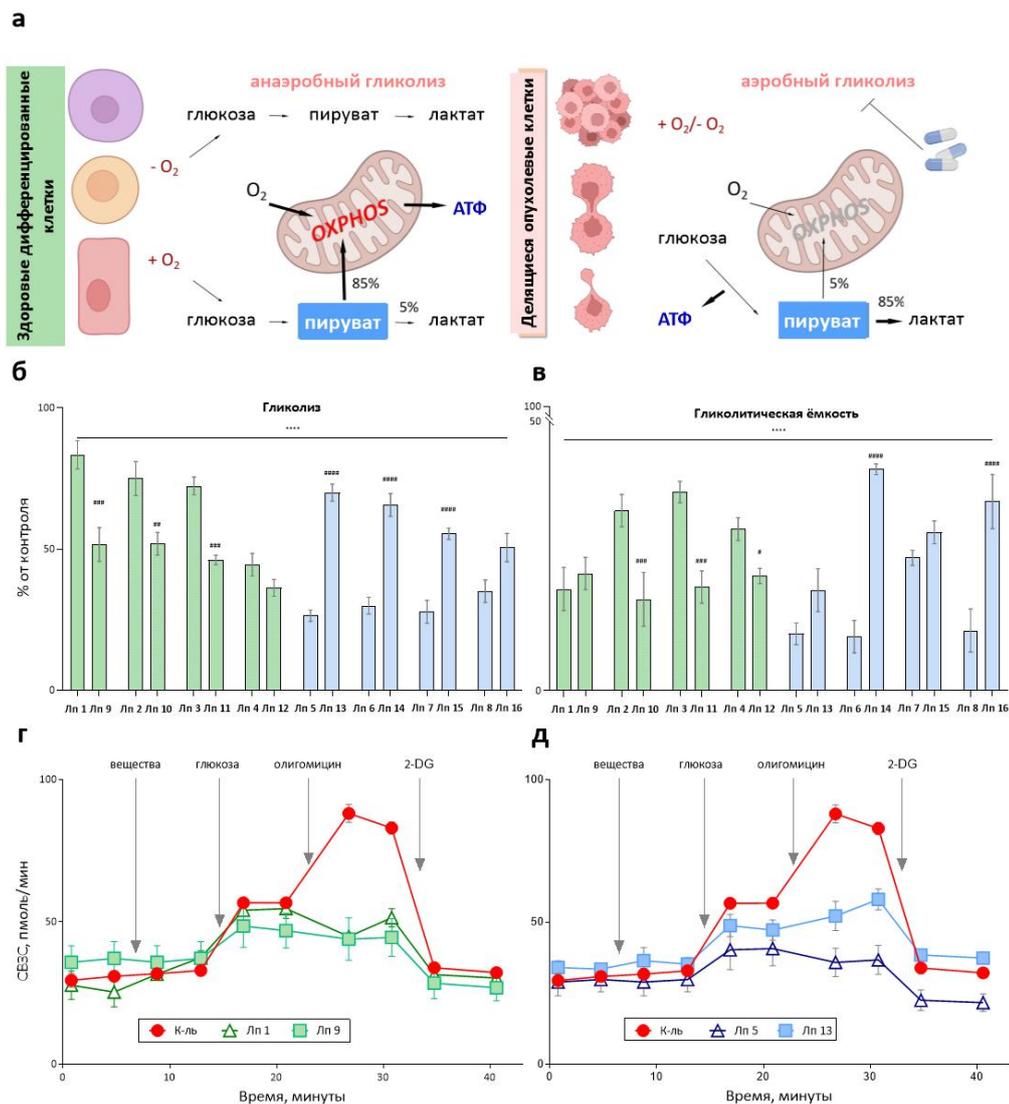


Рисунок 46 — Влияние биоконъюгатов сесквитерпеновых лактонов и полиалкокксибензолов на гликолитический профиль клеток опухолевого происхождения SH-SY5Y посредством измерения скорости внеклеточного закисления среды (СВЗС). а — схематическое представление различий в метаболизме нормальных и опухолевых клеток (Эффект Варбурга). Влияние исследуемых соединений на основные расчётные параметры гликолитической функции SH-SY5Y: б — гликолиз; в — гликолитическую ёмкость (разница между скоростью внеклеточного закисления среды при добавлении блокатора АТФ-синтазы олигомицина и базальным гликолизом). Данные представлены в виде процента СВЗС относительно контроля (ДМСО \leq 1%) как среднее значение \pm SEM. ****, $p < 0,0001$, по сравнению с контролем. **** $p \leq 0,0001$ от контроля, # $p \leq 0,05$, ## $p \leq 0,01$, ### $p \leq 0,001$ и #### $p \leq 0,0001$ от соответствующего конъюгата с длинным спейсером. Однофакторный дисперсионный анализ (тест Даннета). Кинетические кривые изменения гликолитического профиля под действием конъюгатов г - Лп 1 и Лп 9 и д — Лп 5 и Лп 13 в 100 мкМ, глюкоза — 10 мМ, олигомицин — 1 мкМ, 2-фтор-2-дезоксид-*D*-глюкоза (2-DG) — 25 мМ.

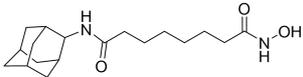
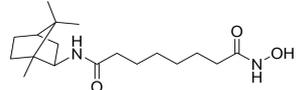
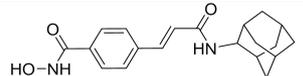
Полученные результаты позволяют подтвердить предположение о том, что варьирование длины 1,2,3-триазольного спейсера, а также природы используемых фармакофорных частей при создании биоконъюгатов на основе сесквитерпеновых лактонов и полиалкокксибензолов может рассматриваться в качестве перспективной стратегии поиска потенциальных противоопухолевых агентов с выраженным цитотоксическим действием, связанным со способностью деполаризовать митохондриальную мембрану и ингибировать гликолиз.

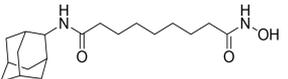
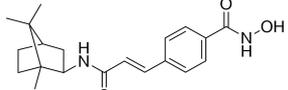
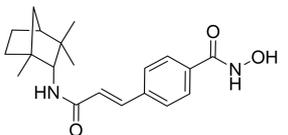
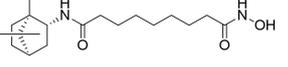
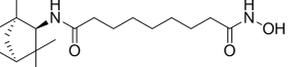
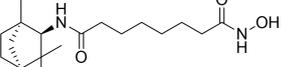
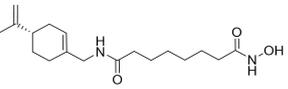
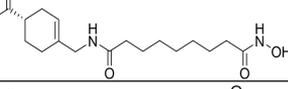
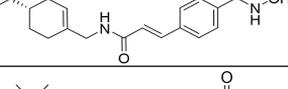
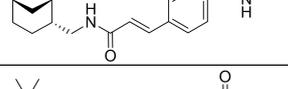
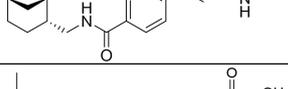
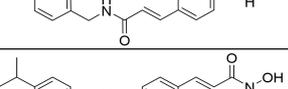
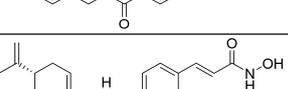
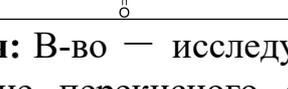
3.3.4. *In vitro* и *in vivo* исследование целевой эффективности соединений-хитов в группе потенциальных нейропротекторных агентов среди гидроксамовых кислот

3.3.4.1. Гидроксамовые кислоты, содержащие монотерпеновый и адамантановый фрагменты

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

Таблица 12 — Результаты исследования биологической активности 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±2,6	42,4 ± 4,2	3,9 ± 0,2
ГКта 24		-	-	33,9±0,8	6,9±0,4
ГКта 25		-	-	33,6±4,0	8,0±0,3
ГКта 26		-	-	23,8±3,6	8,2±0,4
ГКта 27		-	-	38,1±0,1	4,8±0,0
ГКта 28		-	-	31,9±1,1	7,7±0,1

Сокращения: В-во — исследуемое вещество. ПОЛ (Fe²⁺) и ПОЛ (т-БГП) — ингибирование перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, инициированного ионами двухвалентного железа и *трет*-бутилгидроксипероксидом, соответственно. АА — антирадикальная активность. HDAC6 — ингибирование гистоновой деацетилазы 6, представленное в виде значений IC₅₀. Все остальные данные представлены в виде процента активности относительно контроля при концентрации вещества 100 мкМ, Символ «-» свидетельствует об отсутствии активности.

Как показано в таблице 12, отобранные соединения-хиты проявляли

высокую ингибирующую способность по отношению к гистондеацетилазе 6. Было обнаружено, что среди ряда гидроксамовых кислот на основе монотерпеноидов наличие линкера оказывало значительное влияние на ингибирующую активность HDAC6, при этом наиболее выраженным преимуществом обладал метиленовый мотив линкера. Так, гидроксамовые кислоты, содержащие гекса- и гептаметиленовый линкер и (-)-перилловый фрагмент в составе Car-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 превышающей 8,2 мкМ.

Для гидроксамовых кислот с высокой HDAC6-ингибирующей активностью мы также провели процедуру докинга в HDAC 6 (PDB: 5EDU), где были выявлены особенности взаимодействия соединений с шестой изоформой HDAC человека, наиболее часто ассоциируемой с болезнью Альцгеймера.

Структурно, в отличие от других HDAC (Xiao and Zhang, 2020), имеющих только один каталитический домен (CD), HDAC6 содержит два различных CD, а именно CD1 и CD2 (рисунок 47), а также уникальный убиквитин-связывающий домен «цинкового пальца – zinc-finger domain» (ZnF-UBD) (Zhang et al., 2006; Zou et al., 2006). В то время как CD2 HDAC6 в основном функционирует как α -тубулин и тау-деацетилаза, субстратная специфичность и функция CD1 остаются менее изученными. Считается, что CD1 проявляет гораздо более узкую субстратную специфичность по сравнению с CD2 (Hai and Christianson, 2016).

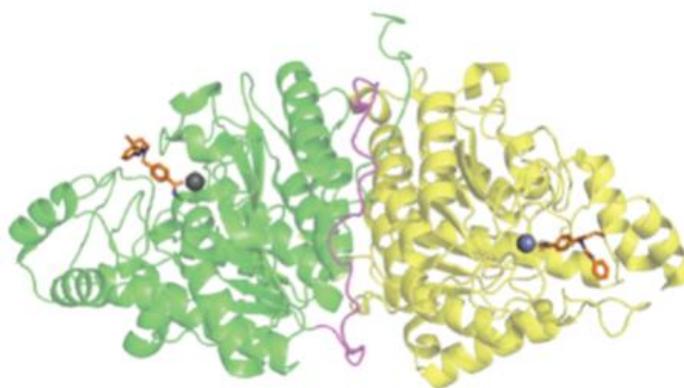


Рисунок 47 — Структурные особенности HDAC6: CD1 – желтый, CD2 – зеленый, атомы цинка – серые сферы, междоменный линкер – пурпурный; рисунок адаптирован из работы (Xiao and Zhang, 2020).

Недавно было обнаружено несколько со-кристаллических структур CD1 с ингибиторами HDAC, дающих понимание о структурной разнице между CD1 и CD2 (Osiko and Christianson, 2019). Оказалось, что активный сайт HDAC6 CD1 шире, чем у CD2. Однако большинство усилий при разработке HDAC6-селективных ингибиторов сосредоточено исключительно на «таргетировании» CD2. Кристаллическая структура CD2-домена HDAC6 человека с трихостатином А (TSA) полностью расшифрована (PDB ID: 5EDU), при этом установлено, что связывающий карман CD2 имеет заметные структурные различия по сравнению с другими HDAC (Hai and Christianson, 2016), что позволяет работать над структурно-селективными ингибиторами HDAC6.

В большинстве случаев ингибиторы HDAC6 содержат: липофильную «западную» часть, включающую «колпачок» (Cap) и «восточную» часть — бидентатную часть лиганда, с цинк-связывающей группой (ZBG); эти две части соединяет «линкер» (рисунок 48).



Рисунок 48 — Основные структурные части селективного ингибитора HDAC6; рисунок адаптирован из работы (Dawood et al., 2020).

Каталитический Zn^{2+} в CD2-связывающем кармане всегда координируется с цинк-связывающей группой (ZBG), и гидроксаматная группа, по-видимому, наиболее благоприятна для уникальной координации с Zn^{2+} (Osiko and Christianson, 2020; Porter et al., 2017). Хотя существуют опасения, связанные с низкой растворимостью, плохими фармакокинетическими свойствами и потенциальной генотоксичностью (Kazantsev and Thompson, 2008; Shen and Kozikowski, 2016), гидроксаматы все ещё выделяются как наиболее широко используемые ZBG в HDAC6-селективных ингибиторах.

Линкерная часть, иногда включающая ароматическое кольцо, присоединяется к ZBG, что приводит к благоприятным π - π -стекинг-подобным взаимодействиям с ароматическими остатками Phe583 и Phe643 в CD2 (Porter et al., 2018); насыщенные и ненасыщенные алифатические линкеры также были использованы в структурах ингибиторов HDAC6 CD2. Существует правило, что заметная селективность HDAC6 может быть достигнута в том случае, если длина линкера соответствующим образом включена в ZBG, и ее длина обычно колеблется примерно между 3 и 7 Å (Osiko and Christianson, 2020). Поскольку ZBG и линкерные области вносят ограниченный вклад в селективность ингибирования HDAC6, «Сар» область среди молекул известных специфичных HDAC6 антагонистов наиболее структурно разнообразна. Наличие функциональных групп в «сар» части молекулы, способствующих связывающим взаимодействиям с основными петлями L1, L2 и L7 могут способствовать аффинности и селективности (рисунок 49).

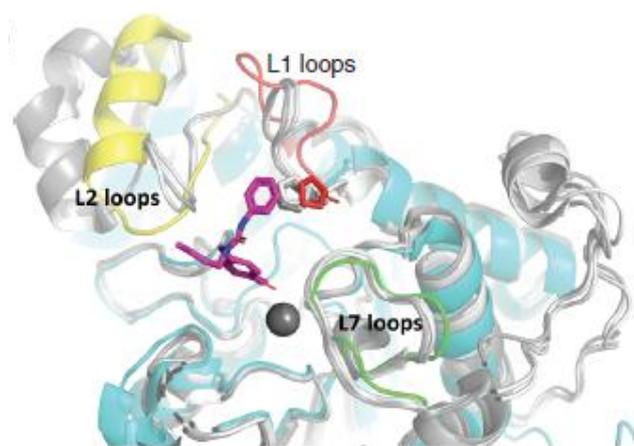


Рисунок 49 — Петли L1, L2 и L7 HDAC6 показаны красным, желтым и зеленым, соответственно. Консервативный остаток пролина показан на петле L1; рисунок адаптирован из работы (Xiao and Zhang, 2020).

Сар-группа молекулы ингибитора может быть направленно видоизменена для создания специфического взаимодействия с аминокислотными остатками в HDAC6 (например, с теми, которые отсутствуют в других HDAC). Например, Ser531 является уникальным для активного сайта HDAC6 CD2, который участвует в образовании водородной связи с некоторыми селективными ингибиторами, такими как ACY-1083 (Porter et al., 2018). Кроме того, молекулы, которые вписываются в трехмерный контур связывающего кармана, также проявляют хорошее сродство и селективность к HDAC6, даже без новообразованных взаимодействий водородных связей. Кроме того, петли L1 и L2 относительно жесткие, что делает HDAC6 идеальным рецептором для молекулярного моделирования методом *in silico*.

Строение изучаемых в данной работе и отобранных на этапе первичного скрининга гидроксамовых кислот, содержащих монотерпеновый и адамантановый фрагменты, формально соответствуют фармакофорным признакам лигандов HDAC6, представленным на рисунке 48: они содержат ZBD – остаток гидроксамовой кислоты (отмечен красным цветом) и гидрофобную часть (отмечена зеленым цветом), связанную с ZBD отличающимися в некоторых случаях по своей природе и длине линкерами (отмечены синим цветом). Далее структуры лигандов были подготовлены с

помощью подпрограммы LigPrep. Их докинг в активный центр белка был произведен по протоколу Induced Fit Docking, для верификации выбранного метода был произведен редокинг референсного лиганда Трихостатина А. Полученные в результате выполненных расчетных процедур данные сгруппированы в таблице 13 и проиллюстрированы на рисунке 50. Для всех гидроксамовых кислот, введенных в докинг, воспроизводилась поза докинга, аналогичная референсному Трихостатину А, в которой гидроксаматная группа ориентируется по атому цинка.

Таблица 13 — Возможные взаимодействия исследуемых линкерных фрагментов молекул с HDAC6

Вещество	Водородные связи	Прочие взаимодействия
ГКта 12	HIS610, HIS651, TYR782	---
ГКта 13	HIS610, HIS651, TYR782	---
ГКта 14	SER568, GLY619, TYR782	π - π : PHE680
ГКта 15	HIS610, HIS651, TYR782	---
ГКта 16	GLY619	---
ГКта 17	HIS610, HIS651, TYR782	---
ГКта 18	HIS610, TYR782	π - π : PHE620
ГКта 19	HIS610, HIS651, TYR782	---
ГКта 20	HIS610, HIS651, TYR782	---
ГКта 21	SER568, GLY619, TYR782	---
ГКта 22	SER568, HIS610, TYR782	---

ГКта 23	HIE500, SER568, TYR782	π - π : PHE620, HIE651
ГКта 24	SER568, GLY619	π - π : PHE620, HIE651, PHE680
ГКта 25	TYR782	---
ГКта 26	HIE500, SER568, TYR782	π - π : HIE500, PHE680
ГКта 27	SER568	π - π : PHE680
ГКта 28	GLY619	π - π : PHE680
Трих. А	HIS610	π - π : HIE500

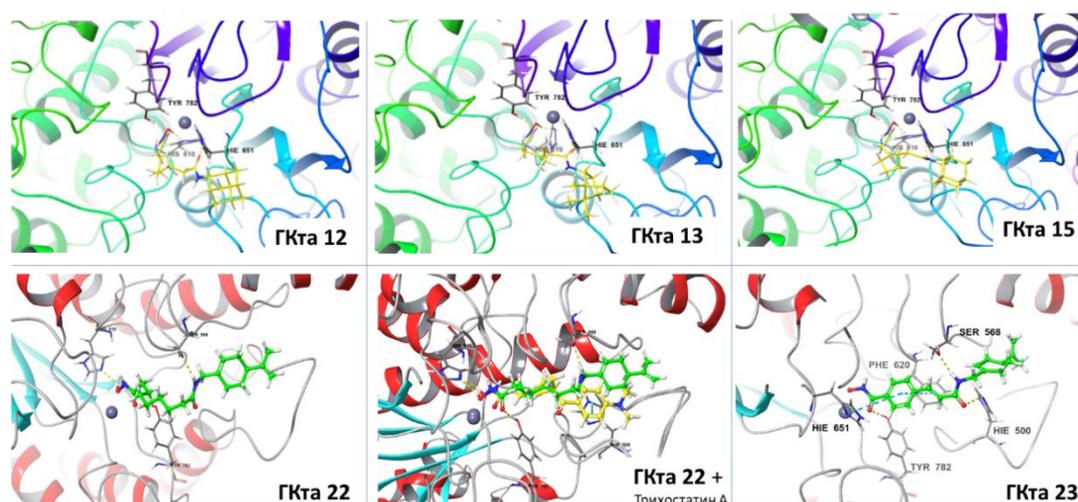


Рисунок 50 — Структуры комплексов наиболее активных **ГКта** и HDAC6 (PDB: 5EDU) по результатам докинга Induced Fit. Наложение структур комплексов молекул **ГКта 22** и референсного лиганда с белком HDAC6 (PDB: 5EDU). Желтым выделен референсный лиганд, зеленым – соединение **ГКта 22**. Серая сфера – атом цинка.

Положение гидрофобной Сар-группы цис-пинанового типа в активном центре для соответствующих соединений (**ГКта 24**, **ГКта 25**) значительно отличается от положения Сар-группы (-)-перриллового и кумилового типа (**ГКта 21**, **ГКта 22**, **ГКта 23**, **ГКта 26**, **ГКта 27**, **ГКта 28**). (-)-Перилловые и кумиловые Сар-группы в позах докинга соответствующих соединений находятся внутри одной и той же складки белка (между фрагментом с

ASN494 по PRO501 и фрагментом с ASP567 по CYS572), в то время как объемные *cis*-пинановые фрагменты занимают иные положения (в ГКта 24 – в кармане между петлей с THR678 по GLY683 и петлей с ASP567 по ILE569; в ГКта 25 – на петле с ASP497 по PRO501), что влечет за собой разницу в геометриях воспроизводимых поз и разницу во взаимодействиях между белком и лигандом.

Значительное количество водородных связей воспроизвелось для соединений с гибкими линкерами (ГКта 21, ГКта 22) и для соединений с линкером «гидроксамат-фенил-этилен» (ГКта 23, ГКта 24, ГКта 26). Соединения ГКта 21, ГКта 22, ГКта 23, ГКта 26 взаимодействуют с тремя из пяти аминокислот из списка HIE500, SER568, HIS610, GLY619, TYR782; соединение ГКта 24 образовало водородные связи с двумя из пяти аминокислот – SER568 и GLY619. Соединения с линкером «гидроксамат-фенил-этилен» (ГКта 23, ГКта 24, ГКта 26) формируют взаимодействия π - π укладки с двумя из трех аминокислот из списка HIE500, PHE620, HIE651, PHE680. Соединения с линкером «гидроксамат-этилен-фенил» (ГКта 25, ГКта 27, ГКта 28) участвуют в меньшем количестве взаимодействий по водородным связям и по π - π укладке: для них характерны единичные водородные связи с SER568, GLY619 и TRY782 соответственно, а взаимодействия π - π укладки проявляются только для ГКта 27 и ГКта 28 и также с аминокислотой PHE680 для обоих соединений.

Для производного ГКта 17, представляющего собой фрагмент «фенханамида», связанного с остатком гидроксамовой кислоты этенилфенильным линкером, тип электростатических взаимодействий (найлены водородные связи с HIS610, TYR782 и π - π -стэкинговое взаимодействие с PHE620) не совпадает с референсным. В то же время, их гидрофобные взаимодействия почти повторяются (пять из шести): для ГКта 17 зарегистрировано взаимодействие с PRO501, PHE620, PHE680, LEU749, TYR782. Близким образом взаимодействуют с 5EDU сайтом связывания HDAC6 производные ГКта 14 и ГКта 16 (отличающиеся только строением

«сар»-части молекулы), для которых обнаружена водородная связь с GLY619, характерная для лиганда сравнения трихостатина. Следующая группа соединений – это лиганды ГКта 12, ГКта 13, ГКта 15, ГКта 18, ГКта 19 и ГКта 20 с углеводородным (C₆-C₇) линкером, которые группируются по режиму взаимодействия с аминокислотными остатками сайта связывания. Так, все они образуют водородные связи с HIS610, HIS651, TYR782 и достаточно схожие (с небольшими отклонениями) гидрофобные взаимодействия с PRO608, PHE620, PHE679, PHE680, LEU749, TYR782.

Таким образом, анализируя полученные результаты молекулярного докинга синтезированных соединений в сайт связывания HDAC6, можно сделать вывод, что основной вклад в их способность взаимодействовать с аминокислотными остатками сайта 5EDU вносит именно природа линкера. Очевидно, что соединения с гекса-, гептаметиленовым и ароматическим линкером (имеющие типичное для ингибиторов HDAC6 строение: cap-linker-ZBD) характеризуются наиболее высоким сродством с каталитическим центром фермента.

Ранее нами уделялось большое внимание окислительному стрессу, играющему важную роль в патогенезе нейродегенеративных расстройств, в частности, болезни Альцгеймера (Ionescu-Tucker and Cotman, 2021; Simunkova et al., 2019; Ton et al., 2020). Наблюдаемые при данном патологическом состоянии гиперпродукция и накопление свободных радикалов приводят к повреждению клеток и молекул липидов, белков и нуклеиновых кислот (Martinez Leo and Segura Campos, 2019). Антирадикальные свойства в контексте поиска фармакологических агентов, направленных на коррекцию нейродегенеративных расстройств, коррелируют с улучшением когнитивных функций и нейрональной выживаемостью. В связи с этим значительное внимание уделяется антиоксидантной терапии, рассматриваемой в качестве многообещающего подхода для замедления прогрессирования нейродегенерации при болезни Альцгеймера (Feng and Wang, 2012; Khan et al., 2019). Мы также

сконцентрировали свое внимание на антиоксидантной активности соединений типа **ГКта**. Для понимания механизма, за счет которого данные соединения препятствуют перекисному окислению липидов (таблица 12), мы изучили антирадикальную способность гидроксамовых кислот с использованием двух тестов — ДФПГ и ORAC.

ДФПГ является стабильным хромоген-радикалом, который широко используется для оценки антирадикальной активности биологических объектов, в частности, при поиске потенциальных терапевтических средств, используемых для поддержания окислительно-восстановительного баланса в организме и лечения патологий, связанных с действием свободных радикалов (Foti, 2015; Ionita, 2021). В свою очередь, анализ способности поглощать кислородные радикалы основан на удалении потенциальными антиоксидантами пероксильных радикалов, генерируемых ААРН (2,2'-аксобис-2-метил-пропанидами дигидрохлорид), предотвращая распад флуоресцентного зонда флуоресцеина.

На рисунке 51 представлены результаты по исследованию антирадикальной активности гидроксамовых кислот. Умеренная антирадикальная активность в ДФПГ-тесте была обнаружена для гидроксамовых кислот **ГКта 12**, **ГКта 14**, **ГКта 23**, **ГКта 24**, **ГКта 25**, **ГКта 27** и **ГКта 28**. Для данных соединений процент антирадикальной активности варьировал от $23,8 \pm 2,5$ % до $42,4 \pm 2,9$ %.

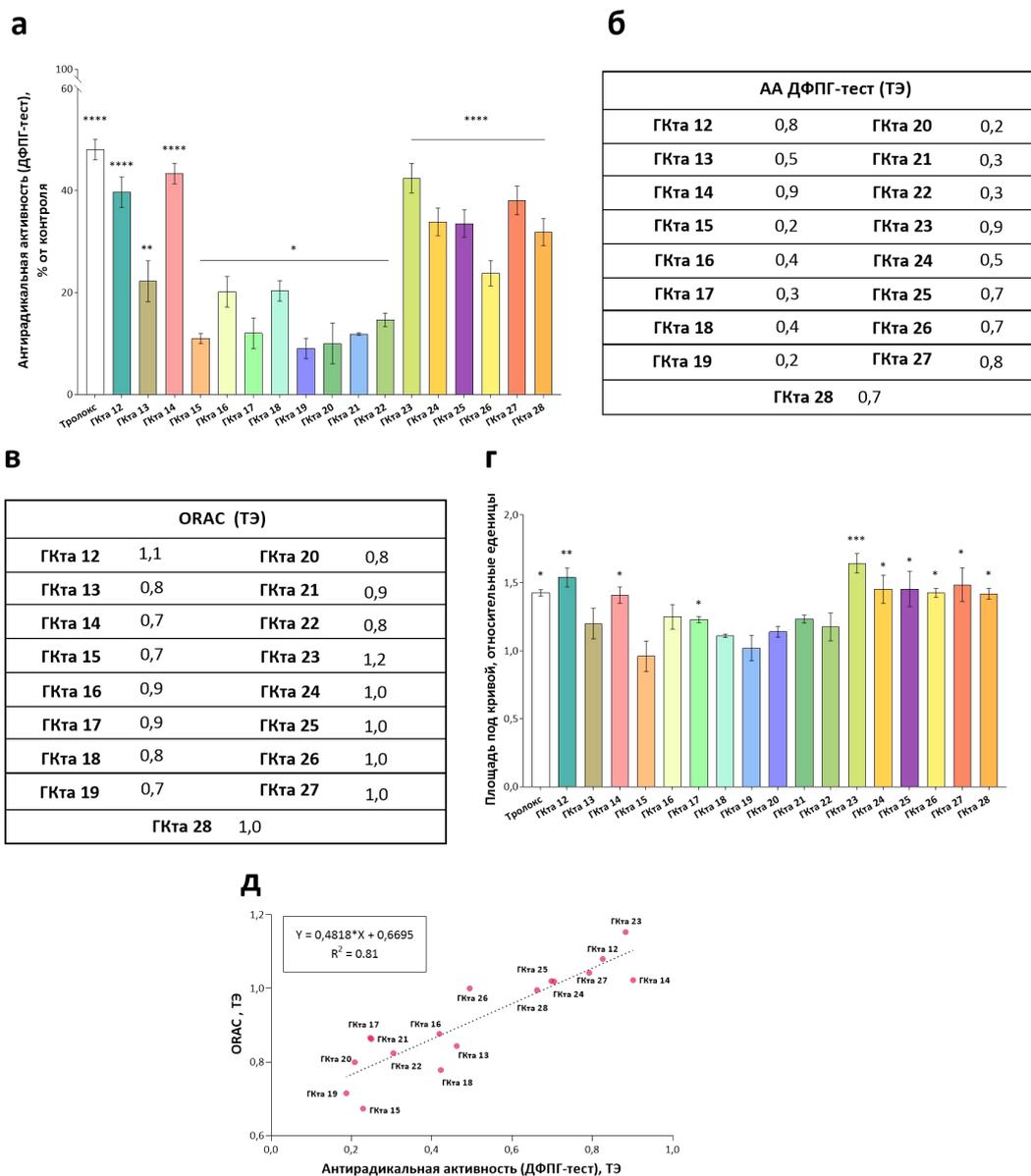


Рисунок 51 — Антиоксидантный потенциал гидроксамовых кислот, содержащих монотерпеновый и адамантановый фрагменты: (а) антирадикальная активность (АА) в ДФПГ-тесте. (б) АА (ДФПГ-тест), выраженная в Тролокс-эквиваленте (ТЭ). (в) значения ORAC, выраженные как ТЭ. (г) Способность поглощать кислородные радикалы (ORAC). (д) Корреляция между значениями АА (ДФПГ-тест) и ORAC. Концентрация химических соединений и Тролокса составила 100 мкМ, ДПФГ — 100 мкМ, ААРН — 12 мкМ. *, **, *** и ****, $p < 0,5$; $p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$, по сравнению с контролем. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Результаты анализа ORAC также подтвердили антиоксидантный потенциал данных гидроксамовых кислот. Аналогично результатам

исследования антирадикальной активности, в ДФПГ-тесте для соединений **ГКта 12**, **ГКта 14**, **ГКта 23**, **ГКта 24**, **ГКта 25**, **ГКта 27** и **ГКта 28** была обнаружена наибольшая способность к поглощению пероксильных радикалов, образованных в результате разложения 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида. При этом именно для гидроксамовых кислот **ГКта 12** и **ГКта 23** в обоих экспериментах были выявлены наиболее выраженные антирадикальные свойства.

На рисунке 51 д представлен график корреляции, связывающий значения, полученные в данных тестах. Наши результаты продемонстрировали положительную корреляцию при сравнении антирадикальной активности в ДФПГ-тесте и ORAC со значением $R^2 = 0,81$.

Таким образом, можно предположить, что наиболее активные соединения обладают способностью нейтрализовать любые свободные радикалы вне зависимости от структурных различий и тем самым способны оказывать антиоксидантные свойства.

Окислительный стресс и митохондриальная дисфункция являются общими процессами для всех нейродегенеративных заболеваний. Однако, если сфокусироваться на отдельном заболевании, например, болезни Альцгеймера, то необходимо также исследовать возможность вещества влиять на специфические мишени. Таким специфическим процессом может рассматриваться амилоидоз. Ещё с начала прошлого века концепция амилоидного происхождения болезни Альцгеймера является определяющим направлением в разработке потенциальных терапевтических средств (Hardy and Higgins, 1992; Selkoe and Hardy, 2016; Zhang and Zheng, 2019). В связи с тем, что выработка и накопление патологических форм β -амилоида неизбежны при прогрессировании болезни Альцгеймера, нацеливание на клиренс $A\beta$ в головном мозге рассматривается в качестве перспективной стратегии для лечения данного заболевания.

На сегодняшний день выявлено большое количество ингибиторов данного процесса, принадлежащих к соединениям различных химических

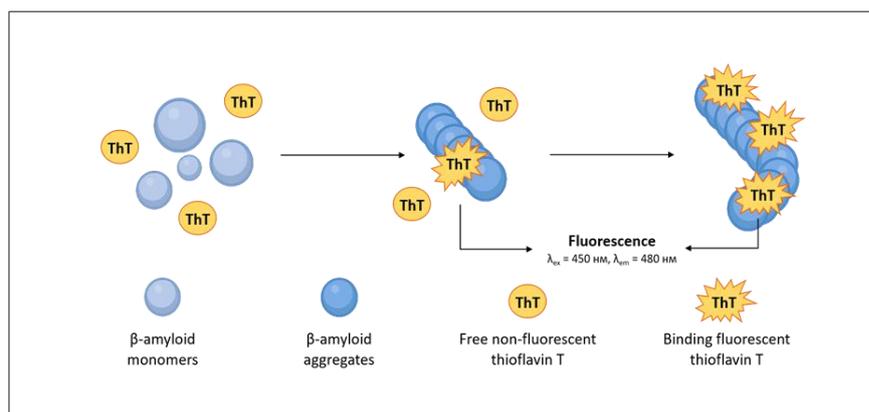
классов (Ashrafian et al., 2021; Hosoi et al., 2023; Liu et al., 2021b; Wang et al., 2014). Такие молекулы оказывают свой положительный эффект за счет модуляции конформацией амилоидных пептидов, стабилизацией непатологических форм β -амилоида, переключением агрегации в сторону нетоксичных пептидов и др. В качестве β -амилоидных пептидсвязывающих молекул могут быть рассмотрены и гидроксаматные лиганды (Athaide Rocha et al., 2023; Neganova et al., 2021a). В частности, в работе Yadav и соавт. (Yadav et al., 2015) было показано защитное действие клеток нейробластомы SH-SY5Y от индуцированной металлами агрегации β -амилоида и нейрональной токсичности. Внутривенные инъекции дефероксамина также значительно ингибировали аберрантный генез β -амилоидных пептидов, обращая вспять нарушения пространственного обучения и памяти трансгенных мышей APP/PS1 (Fine et al., 2015; Guo et al., 2013; Zhaba et al., 2021). Подобные свойства были продемонстрированы для вальпроевой кислоты, усиливающей выведение β -амилоидных пептидов в головном мозге трансгенных мышей, моделирующих болезнь Альцгеймера (Nuutinen et al., 2010).

Кроме того, на сегодняшний день представлены убедительные доказательства, свидетельствующие о непосредственной взаимосвязи аберрантной активности HDAC6 с уровнем патологических форм β -амилоидных отложений на модели трансгенных мышей с классической амилоидной патологией (Bai et al., 2022). Было обнаружено гетерологичное распределение HDAC6-специфичного радиолиганда [18F]PB118 с наиболее выраженными изменениями в коре головного мозга и гиппокампе аналогично распределению амилоидных отложений. Такая ассоциация HDAC6 с амилоидной патологией может свидетельствовать о том, что применение агентов, нацеленных на данный фермент, может приводить к более эффективному снижению β -амилоидных бляшек и растворимых токсических олигомеров A β в головном мозге пациентов с болезнью Альцгеймера.

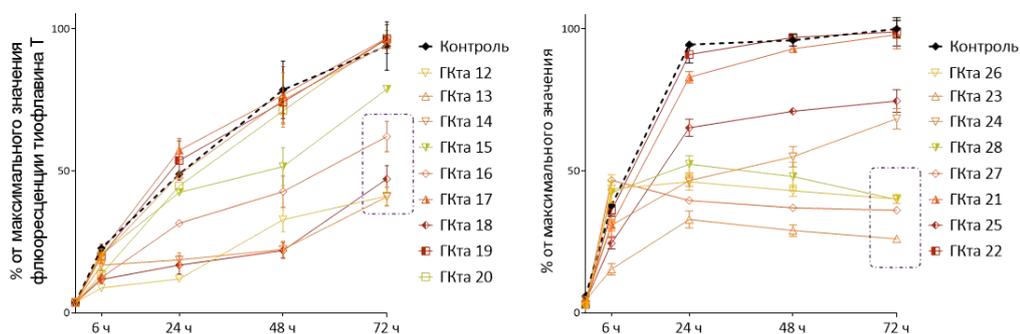
В связи с этим нами было исследовано влияние гидроксамовых кислот **ГКта** на кинетику процесса агрегации патологической формы β -амилоидного пептида 1-42 путём 72-часовой регистрации флуоресценции тиофлавина Т (рисунок 52 а).

Как показано на рисунке 52 б, 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. На рисунке 52 б также представлены кинетические кривые образования токсичных форм олигомеров под действием соединений, проявивших способность к подавлению агрегации патологического β -амилоидного пептида 1-42. Нетрудно заметить, что лишь для 8 веществ была обнаружена превосходная ингибирующая активность. Так, в образцах с гидроксамовыми кислотами **ГКта 12, ГКта 14, ГКта 16, ГКта 18, ГКта 23, ГКта 26, ГКта 27 и ГКта 28** 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.

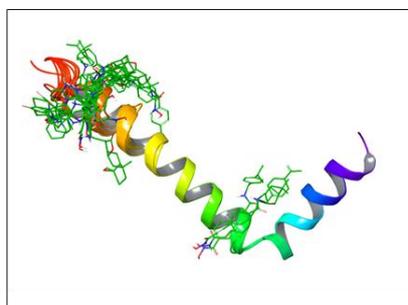
а



б



в



г

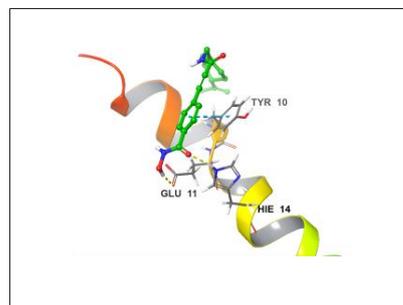


Рисунок 52 — а — принцип взаимодействия тиофлавина Т с β -амилоидом. Тиофлавин Т (ThT) связывается с агрегированной структурой β -амилоида, проникая в β -слои белка, в результате чего детектируется его флуоресценция. б — тиофлавин Т флуоресцентный анализ влияния гидроксамовых кислот, содержащих монотерпеновый и адамантановый фрагменты, на агрегацию патологической формы β -амилоидного пептида 1-42. Концентрация исследуемых соединений составила 100 мкМ, Тиофлавина Т - 10 мкМ. в, г — наложение структур комплексов молекула-белок для результатов свободного докинга соединений в β -амилоид (PDB ID: 1IYT). г — молекулы **ГКта** представлены зеленым цветом. Азот и кислород окрашены в синий и красный цвета соответственно. Водородные связи показаны желтыми пунктирными линиями, π - π стэкинг-взаимодействия показаны голубыми пунктирными линиями. α -спираль β -амилоида окрашена в соответствии с номером остатка от красного до фиолетового.

Дополнительно для гидроксамовых кислот с высокой антиагрегационной активностью мы провели процедуру докинга в β -амилоид (PDB ID: 1IYT) с целью подтверждения взаимодействия соединений именно со структурой белка, а не флуоресцентной меткой Тиофлавином Т (рисунок 52 в,г).

Для подтверждения влияния веществ именно на агрегацию β -амилоида, а не на флуоресцентную метку, процедура докинга является отличной альтернативой дорогостоящим и малодоступным методам просвечивающей электронной микроскопии. Исследование агрегации $A\beta_{1-42}$ с помощью флуоресцентной спектроскопии с использованием тиофлавина Т выявляет образование β -складчатых структур, образующих токсичные олигомеры и фибриллы $A\beta_{1-42}$ из исходных α -спиральных растворимых форм. По этой причине молекулярный докинг с использованием в качестве мишени структуры α -спирального растворимого мономера $A\beta_{1-42}$ является более приоритетным.

Для оценки связывания гидроксамовых кислот с пептидом, которое могло бы препятствовать агрегации мономеров, был проведен докинг в карманы связывания мономера. Для определения карманов связывания изначально был проведен «слепой» докинг по всей поверхности пептида. Анализ полученных результатов указывает на два наиболее энергетически выгодных кармана связи: около С-конца пептида, и в изгибе около N-конца пептида, что согласуется с литературными данными (Neganova et al., 2021a; Zou et al., 2006). После уточнения координат карманов связывания были выполнены уточняющие расчеты и получена оценка энергии Гиббса связывания для гидроксамовых кислот в обоих положениях. Оценка энергии Гиббса связывания использовалась для расчета относительных вероятностей реализации той или иной позы докинга для данной гидроксамовой кислоты.

Большинство соединений легло ближе к N-концу белка. Исключение составляют **ГКта 22**, **ГКта 25** и **ГКта 26**, расположившиеся около изгиба

ближе к С-концу β -амилоида (рисунок 52 в).

В качестве примера на рисунке 52 г представлена визуальная идентификация положения связывания гидроксамовой кислоты с ароматическим линкером и Сар-группой, содержащей (-)-перилловый фрагмент, **ГКта 23** с превосходной способностью к ингибированию агрегации β -амилоида непосредственно с β -амилоидом. Молекулярный докинг подтвердил возможность взаимодействия данного соединения с пептидом, и статистическая обработка результатов показала, что возможно связывание как с С-концом, так и с изгибом около N-конца, при этом связывание с С-концом вероятнее относительно второго в 15 раз. Образование комплекса «**ГКта 23-белок**» при связывании с карманом около С-конца обусловлено взаимодействием гидроксамовой кислоты через водородные связи с GLU11 и HIE14, а также взаимодействием π - π -укладки с TYR10.

Далее для оценки наличия возможных цитотоксических эффектов гидроксамовых кислот, содержащих монотерпеновый и адамантановый фрагменты, было определено их влияние на выживаемость нейрональноподобной клеточной линии нейробластомы SH-SY5Y. Как показано в таблице 14, ни одно из исследованных соединений не обладало выраженной цитотоксической активностью в отношении использованной культуры клеток.

Таблица 14 — Значения IC_{50} (мкМ) цитотоксического действия гидроксамовых кислот, содержащих монотерпеновый и адамантановый фрагменты

Вещество	IC_{50}	Вещество	IC_{50}
ГКта 12	47,6 \pm 7,2	ГКта 21	> 100
ГКта 13	51,9 \pm 3,6	ГКта 22	89,4 \pm 3,9
ГКта 14	59,5 \pm 0,4	ГКта 23	89,2 \pm 2,1

ГКта 15	> 100	ГКта 24	86,7 ± 1,4
ГКта 16	64,2 ± 4,1	ГКта 25	90,5 ± 2,9
ГКта 17	> 100	ГКта 26	> 100
ГКта 18	52,0 ± 2,6	ГКта 27	> 100
ГКта 19	> 100	ГКта 28	> 100
ГКта 20	> 100		

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о возможности перехода на следующий *in vivo* уровень исследования нейропротекторного потенциала гидроксамовых кислот ввиду отсутствия возможных ограничений в виде побочных токсических эффектов на организм.

Дополнительно перед экспериментами на лабораторных животных были оценены фармакокинетические свойства соединений (ADME/Tox) с помощью подпрограммы «QikProp» (Schrödinger, 2023a). Методология прогнозирования молекулярных свойств основана на методе Монте-Карло. Молекулы сравниваются со свойствами известных лекарственных препаратов: предсказание осуществляется на основе создания «матрицы сходства» фрагментов исследуемой молекулы. Программа позволяет спрогнозировать более 40 различных параметров, часть из которых представлена в таблице 15.

Анализируя значения «#stars», можно определить структуры, которые позиционированы как потенциальные лекарственные препараты. В определение «#stars» включены следующие дескрипторы: значения молекулярных масс, дипольных моментов, сродства к электрону и потенциал ионизации; объемные характеристики молекулы, количество связей вращения и усредненные значения количества доноров и акцепторов водородных связей; значения, характеризующие липофильность, растворимость, проницаемость через гематоэнцефалический барьер, аффинность к альбумину, а также количество возможных метаболических реакций, в которые могут вступать исследуемые соединения.

Таблица 15 — Значения параметров ADME/Tox для ГКта

Title	#stars	logPo/w	logS	PCaco	logBB	PMDCK	#M	%HOA	RO5	RO3
ГКта 12	0	0,9	-1,9	66,1	-1,7	98,0	2	64,5	0	0
ГКта 13	0	1,5	-4,3	172,6	-1,8	161,5	2	75,8	0	0
ГКта 14	1	2,2	-4,5	241,9	-1,5	106,7	0	82,5	0	0
ГКта 15	0	1,3	-2,7	91,7	-1,8	114,5	2	69,4	0	0
ГКта 16	1	2,4	-4,4	268,0	-1,4	119,2	0	84,3	0	0
ГКта 17	1	2,5	-4,5	319,0	-1,4	143,9	0	86,4	0	0
ГКта 18	0	1,4	-2,5	73,9	-1,8	107,2	2	68,7	0	0
ГКта 19	0	1,6	-2,9	94,2	-1,8	123,7	2	71,6	0	0
ГКта 20	0	1,2	-2,4	121,8	-1,5	145,4	2	71,2	0	0
ГКта 21	0	1,5	-2,7	107,3	-1,8	134,9	7	71,8	0	1
ГКта 22	0	1,8	-3,2	72,9	-2,1	96,3	7	70,7	0	1
ГКта 23	0	2,7	-4,9	209,5	-1,8	91,3	5	84,1	0	0
ГКта 24	1	2,5	-4,7	219,0	-1,6	95,8	0	83,3	0	0
ГКта 25	1	2,1	-4,2	120,6	-1,8	50,3	0	76,6	0	0
ГКта 26	0	2,6	-4,9	210,2	-1,8	91,6	2	83,9	0	0
ГКта 27	0	2,6	-4,9	198,6	-1,9	86,2	2	83,4	0	0
ГКта 28	0	2,6	-4,9	198,5	-1,8	86,1	5	83,5	0	0
Интервал значений	Меньше - лучше	(-2÷6,5)	(-6,5÷0,5)	> 500	(-3÷1,2)	> 500	(1÷8)	> 80 – большой < 20 – малый	< 4	< 3

Расшифровка рассчитанных параметров:

- #star – чем меньше (максимальное значение равно 5), тем больше данное соединение похоже на потенциальную лекарственную молекулу: drug-like;
- QPlogPo/w – предсказанное значение парциального коэффициента октанол/вода: значение должно располагаться в интервале от -2,0 до 6,5;
- QPlogS – предсказанное значение растворимости, logS, где S – значение в моль/дм³ должно находиться в интервале от -6,5 до 0,5;

- QPPCaco – оценка проницаемости через клетки линии Caco-2 (непрерывная линия гетерогенных клеток эпителиальной колоректальной аденокарциномы человека) в нм/с. Клетки Caco-2 представляют собой модель барьера кишечника и крови. Прогноз проницаемости неактивного транспорта. Значение менее 25 свидетельствует от плохой проницаемости, более 500 - о хорошей;
- QPlogBB – оценка проницаемости через гематоэнцефалический барьер (прогнозируемый коэффициент распределения мозг/кровь при пероральном введении). Значение должно располагаться в интервале от -3.0 до 1.2;
- QPPMDCK – оценка проницаемости через клетки MDCK (модельная линия клеток почки собаки) в нм/с. Клеточная линия MDCK считается хорошим имитатором гематоэнцефалического размера для неактивного транспорта. Прогноз проницаемости неактивного транспорта. Значение менее 25 свидетельствует от плохой проницаемости, более 500 о хорошей;
- #metab – количество вероятных метаболических реакций. Значение должно находиться в интервале от 1 до 8.;
- Percent Human Oral Absorption – прогнозируемая оральная абсорбция, основанная на количественной модели множественной линейной регрессии. Значение ниже 20% считает плохим показателем, выше 80% - хорошим;
- Rule Of Five – количество нарушений правила пяти Липински, при котором значение MW должно быть меньше 500, QPlogPo/w – меньше 5, количество доноров и акцепторов водородных связей не превышать 5 и 10, соответственно. Считается, что соединения, удовлетворяющие данному правилу подобны лекарственным препаратам;
- Rule Of Three – количество нарушений правила трех Йоргенсена, при котором значения логарифма растворимости должно быть больше -5.7, проницаемости через линию клеток Caco-2 более 22 нм/с, и количество первичных метаболитов меньше 7. Соединения без нарушений данного правила с большей долей вероятности будут биологически активными при пероральном введении.

Все исследуемые гидроксамовые кислоты имеют небольшое количество $\#star$ в диапазоне от 0 до 1, это указывает на то, что они обладают сходными свойствами с другими лекарственными соединениями. Все вещества соответствуют правилу пяти Липински (RO5) без выявленных отклонений, и только соединения **ГКта 21** и **ГКта 22** имеют одно нарушение правила трех Йоргенсена (RO3). Значения $\log P_{o/w}$ для всех соединений находятся в допустимом диапазоне, что свидетельствует о благоприятных коэффициентах распределения. Все вещества имеют менее 8 вероятных метаболических реакций, в которых они могут участвовать, значения $\log S$ находятся в допустимом диапазоне, значения PC_{50} для всех соединений превышают 25 нм/сек, а некоторые даже превышают 200 нм/сек, а прогнозируемое пероральное всасывание в умеренном диапазоне от 70% до 84%. Эти данные свидетельствуют о том, что исследуемые соединения **ГКта** подобно лекарственным препаратам, вероятно, могут быть перорально доступными.

Основываясь на расчетных данных с использованием дескрипторов ADME/Tox, все соединения оказались в достаточной степени схожими по фармакокинетическим параметрам с известными лекарственными препаратами, что является многообещающим при дальнейшем исследовании их в качестве потенциальных кандидатов в лекарства.

В конце серии исследований *in vitro* биологической активности гидроксамовых кислот, содержащих монотерпеновый и адамантановый фрагменты, мы проанализировали взаимосвязь структура-активность, чтобы выбрать наиболее многообещающее соединения-лидеры для дальнейшего тестирования на животных. Все результаты, выраженные в процентах активности, суммированы на термограмме, представленной на рисунке 53.

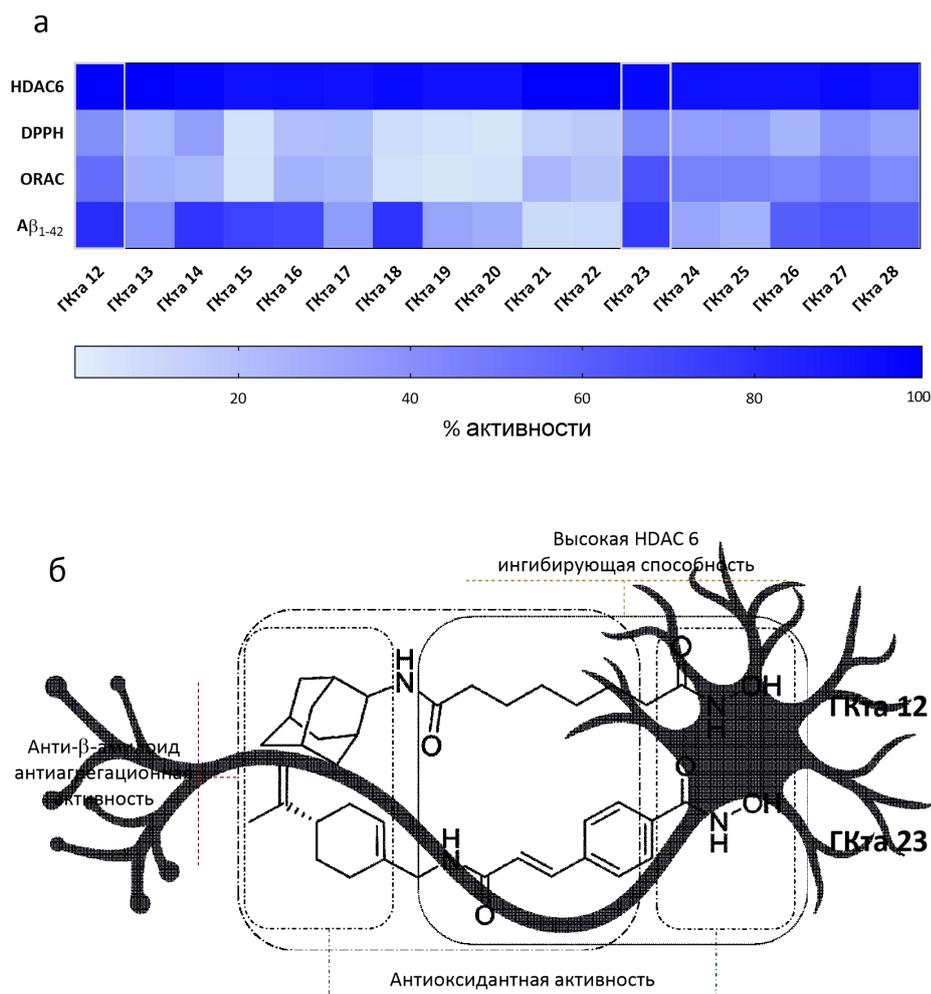


Рисунок 53 — а — термограмма изученных параметров биологической активности гидроксамовых кислот-лидеров. Точные средние значения и ошибки среднего представлены в соответствующих подразделах каждого отдельного эксперимента. Плавный переход градиента от светло-голубого к темно-синему свидетельствует о повышении активности в конкретном тесте. HDAC6 — ингибирование гистондеацетилазы 6; DPPH — антирадикальная активность в ДФПГ-тесте; ORAC — способность поглощать радикалы кислорода; Aβ₁₋₄₂ — ингибирование агрегации β-амилоида. Б — Спектр обнаруженной биологической активности соединений - лидеров - гидроксамовой кислоты с гексаметиленовым линкером и Car-группой, содержащей адамантановый фрагмент, **ГКта 12** и гидроксамовой кислоты с ароматическим линкером и Car-группой, содержащей (-)-перилловый фрагмент, **ГКта 23**.

На изображении хорошо видно, что лидерами оказались **ГКта 12** и **ГКта 23** (контур выделен белой рамкой). Выбор этих соединений обусловлен

спектром проявляемых им потенциальных механизмов терапевтического действия, в том числе выраженными HDAC6-ингибирующими свойствами, антирадикальной активностью в тестах DPPH и ORAC и способностью предотвращать агрегацию патологической формы β -амилоидного пептида без существенного влияния на выживаемость нейрональноподобной клеточной культуры SH-SY5Y.

Ключевым этапом любого исследования перспективной фармакологической субстанции, рассматриваемой для терапии того или иного заболевания, является проведение экспериментов на модельных животных (Anishchenko et al., 2019; Festing and Altman, 2002). Такие *in vivo* испытания являются важным инструментом для подтверждения результатов, полученных в *in vitro* экспериментах, а также возможности экстраполяции данных с животных на человека. Особой перспективностью отличается подход использования трансгенных животных ввиду более точного манипулирования ключевыми параметрами заболевания (Crnic, 1996; Delgado-Garcia and Gruart, 2017; Puzzo et al., 2015).

Широко известен тот факт, что возникновение и прогрессирование когнитивных дисфункций при болезни Альцгеймера в первую очередь связывают с патологическими изменениями, наблюдаемыми в гиппокампальной формации (Balestrieri et al., 2020; Jaroudi et al., 2017; Katabathula et al., 2021; Liu et al., 2021c; Pluta et al., 2021). Это обусловлено тем, что данная область является одной из наиболее чувствительных к патологическим каскадам, участвующим в патогенезе данного заболевания. В связи с этим для проверки предположения о способности **ГКта 12** и **ГКта 23** за счёт обнаруженных в *in vitro* серии экспериментов мультитаргетных свойств улучшать когнитивный дефицит мышей 5xFAD (возраст 11 и 13 месяцев), были исследованы пространственное обучение и память с использованием теста Водный лабиринт Морриса. Данный метод является универсальным средством для решения поставленной перед нами задачи анализа гиппокамп-зависимой памяти, поскольку является золотым

стандартом для проверки функций именно в этой области головного мозга (Lissner et al., 2021; Topuz et al., 2020).

Как показано на рисунке 54 а, в тесте водного лабиринта Морриса, заключающемся в поиске мышами скрытой под водой платформы, животные линии 5xFAD демонстрировали сходный период времени, необходимый для достижения платформы в течение четырех дней обучения. Это свидетельствовало об очевидном снижении когнитивных функций у трансгенных животных. Введение гидроксамовых кислот **ГКта 12** и **ГКта 23** в дозе 15 мг/кг в течение 21 дня существенно сокращало данный показатель. Схожая картина наблюдалась и в группе клинически здоровых дикотипных мышей, однако в этом случае достоверное снижение латентного периода достижения платформы наблюдалось уже на третий день эксперимента.

На пятый день эксперимента в тестовой сессии был подтвержден потенциал **ГКта 12** и **ГКта 23** улучшать нарушенные когнитивные функции животных, моделирующих БА, где было обнаружено одинаковое с контрольной группой количество входов в целевой квадрант лабиринта, в то время как для животных из группы 5xFAD данный показатель был значительно более низким (рисунок 54 б, г).

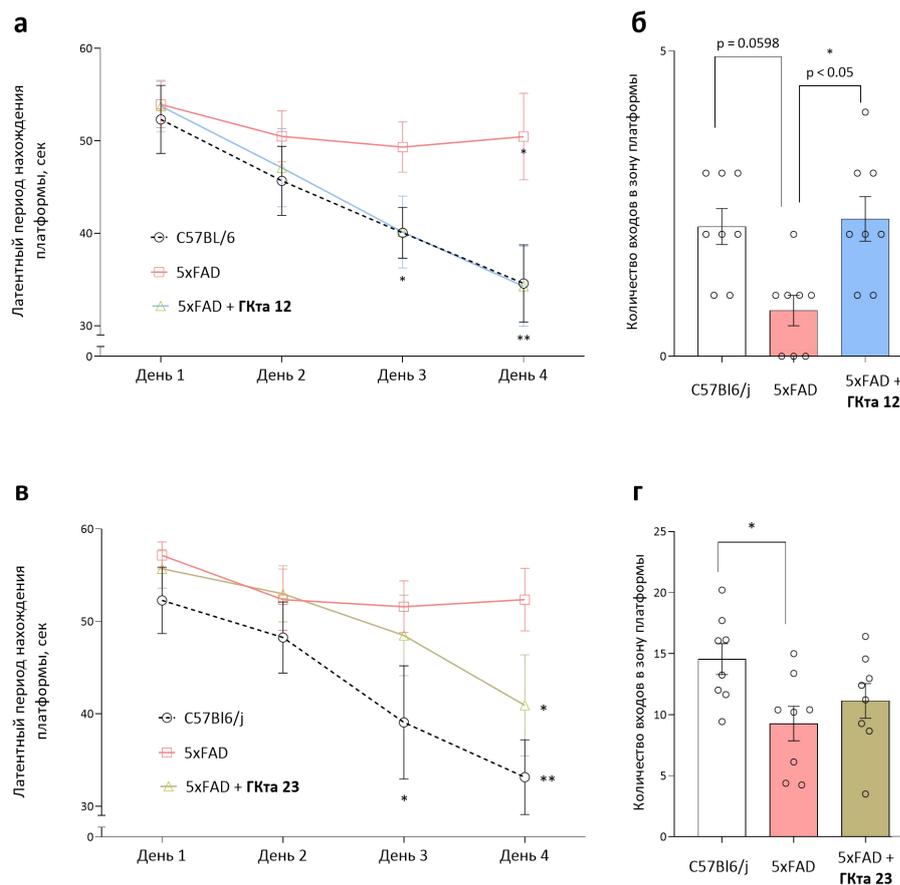


Рисунок 54 — Влияние соединений-лидеров ГКта 12 и ГКта 23 на обучаемость мышей в тесте Водный лабиринт Морриса. а, в — латентный период нахождения скрытой под водой платформы в течение четырех дней обучения * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ по сравнению с днем 1. б, г — количество входов в целевой квадрант в водном лабиринте Морриса в тестовой сессии. * $p < 0,05$ по сравнению с C57Bl6/j. Данные представляют собой среднее \pm SEM ($n = 8$ в каждой группе животных). Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

По окончании экспериментов на животных мы произвели забор образцов головного мозга, в которых исследовали уровень окислительного стресса, функционирование дыхательной цепи митохондрий и содержание β -амилоидных отложений.

Оценку окислительного стресса проводили путем измерения уровней малонового диальдегида — ключевого маркера окислительного стресса (Frijhoff et al., 2015; 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. Подобные результаты были получены в работах других авторов, где мыши 5xFAD также страдали от повреждений, вызванных окислительным стрессом (Peng et al., 2019a). Интересно, что внутрибрюшинное введение гидроксамовой кислоты **ГКта 23** в дозе 15 мг/кг в течение 21 дня достоверно снижало данный показатель, стремясь к уровню контрольных образцов. 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 (рисунок 55).

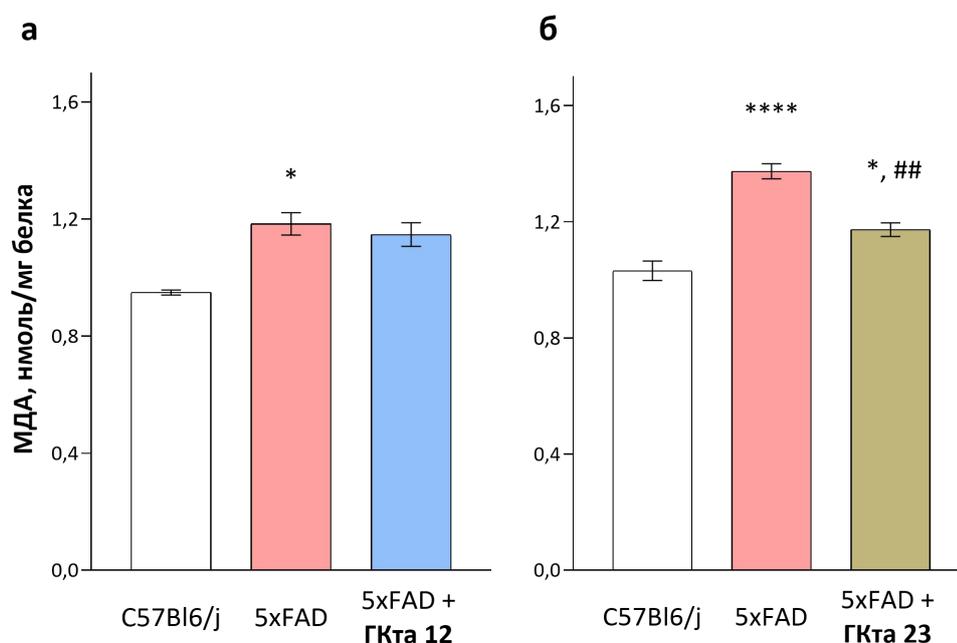


Рисунок 55 — Влияние **ГКта 12** (а) и **ГКта 23** (б) на уровень малонового диальдегида в образцах головного мозга мышей после экспериментов *in vivo*. * $p < 0,05$ и **** $p < 0,0001$ относительно контроля, ## $p < 0,01$ относительно 5xFAD. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Известно, что в результате свободно-радикальных реакций в первую очередь происходит необратимое повреждение митохондрий (Hu et al., 2021; Ouwole and Birch-Machin, 2015). Такое нарушение биоэнергетики органелл

приводит к возникновению аномалий в реакциях переноса электронов и утечке протонов, также стимулирующих перепроизводство свободных радикалов. Ввиду того, что исследование образцов головного мозга трансгенных мышей показало для них нарушения в окислительном статусе, дополнительно 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 глутамата/малата, сукцината и аскорбата/ТМПД (субстратов I, II и IV комплексов) потребление кислорода органеллами было значительно снижено (рисунок 56 а, в). 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 предыдущими исследованиями, где неоднократно сообщалось, что как у пациентов, так и у модельных животных митохондрии головного мозга подвергаются серьезным повреждениям, в частности, нарушениям окислительного фосфорилирования, гиперпродукции активных форм кислорода и образованием переходных пор проницаемости митохондрий (Calkins and Reddy, 2011; Du et al., 2014; Sharma et al., 2021). Интересно, что 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 56 а-г).

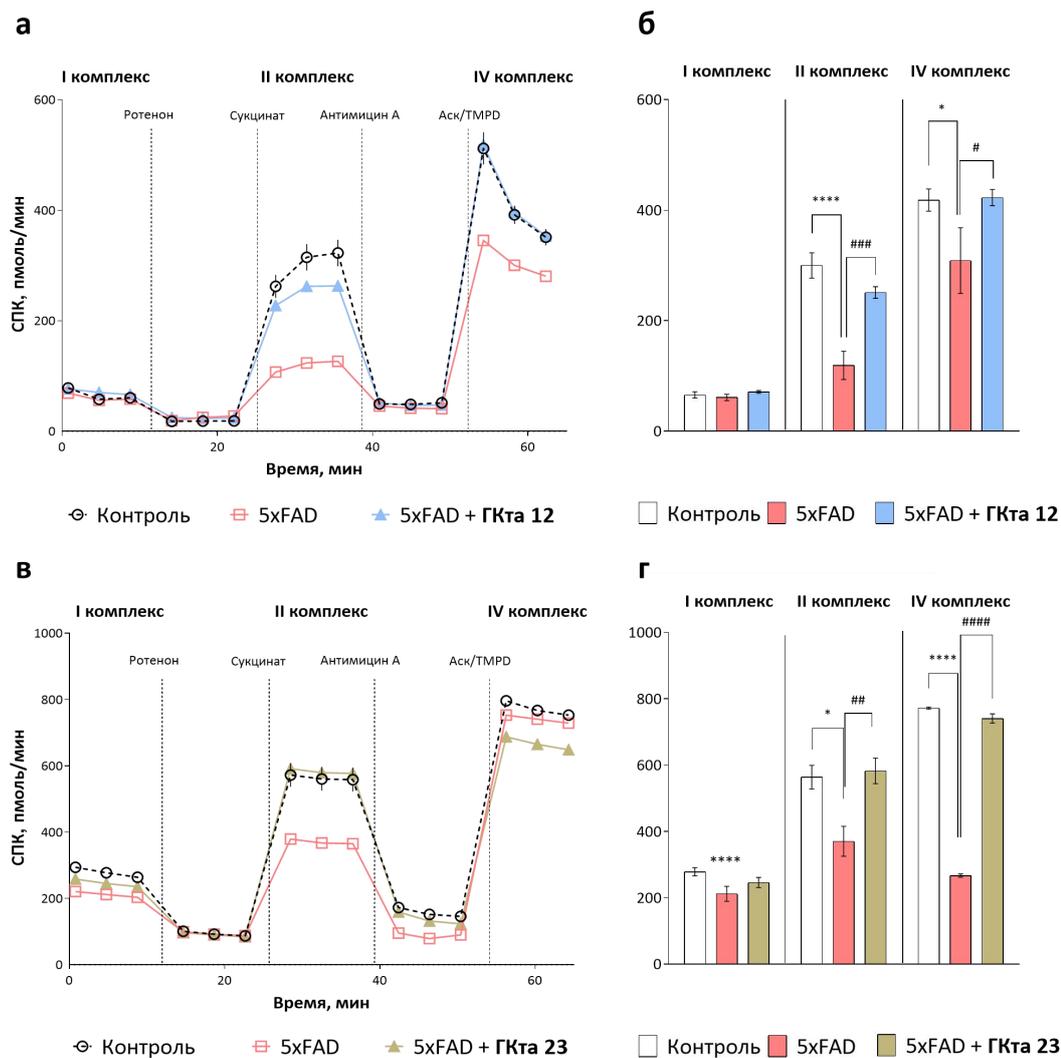


Рисунок 56 — Оценка биоэнергетического профиля митохондриальной p2 фракции, полученной из образцов головного мозга мышей, путём измерения скорости потребления кислорода в результате последовательного добавления модуляторов: глутамата калия (10 мМ) и малата калия (10 мМ) — субстраты I комплекса, ротенон (2 мкМ) — ингибитор I комплекса, сукцинат калия (10 мМ) — субстрат II комплекса, аскорбат (10 мМ) и ТМПД (100 мкМ) — субстраты IV комплекса. ****, ##### $p < 0,0001$ по сравнению с контролем и 5xFAD, соответственно; ## $p < 0,01$ по сравнению с 5xFAD, * $p < 0,05$ по сравнению с контролем. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Для оценки количества отложений β -амилоида срезы головного мозга животных окрашивали конго красным. Крупные отложения амилоида, наряду с мелкими и средними, были обнаружены в коре, таламусе и гиппокампе у трансгенных мышей 5xFAD (рисунок 57 б, г). Морфометрический анализ включений по группам представлен на рисунке 57 а, в. Количество агрегатов

в головном мозге значительно уменьшилось после 21-дневного введения соединений-лидеров, гидроксамовых кислот **ГКта 12** и **ГКта 23**. Значительное количество исследований доказывает, что повышенное содержание отложений β -амилоида прямо коррелирует с когнитивным дефицитом (Binyamin et al., 2020; Bowers et al., 2021; Knopman et al., 2021), что, очевидно, может объяснить положительный эффект соединений-лидеров в экспериментах *in vivo*.

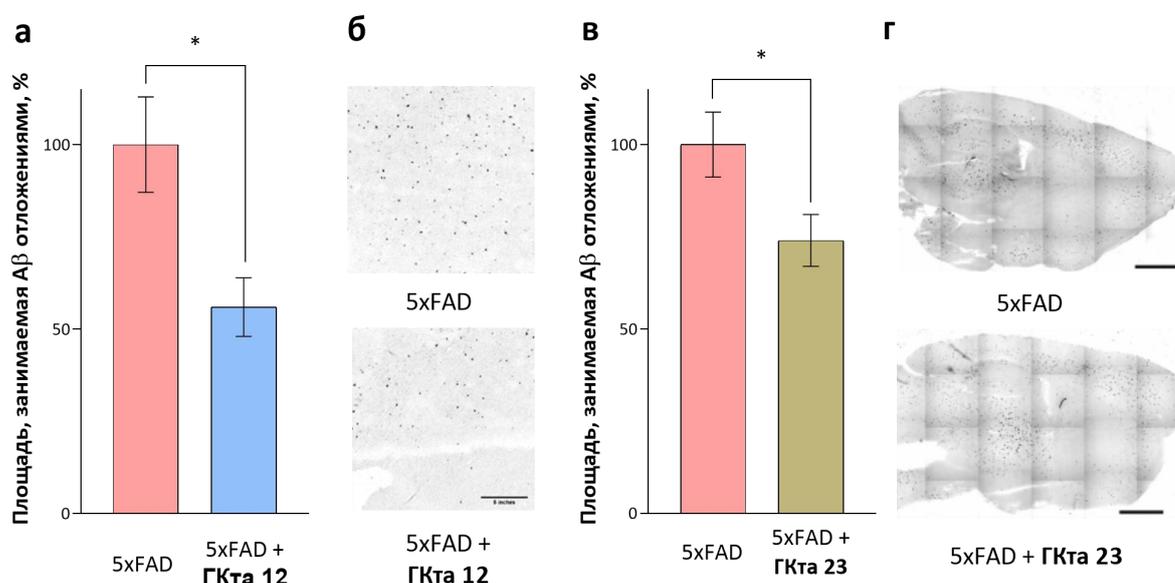


Рисунок 57 — Гистологический анализ отложений β -амилоида в срезах головного мозга трансгенных мышей 5xFAD и 5xFAD после введения гидроксамовых кислот **ГКта 12** и **ГКта 23** в течение 21 дня. а, в — морфометрический анализ амилоидных отложений. * $p < 0,05$ по сравнению с 5xFAD. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета. б, г — репрезентативные изображения головного мозга мышей, отражающие содержание β -амилоидных отложений.

Таким образом, подводя итоги данного раздела работы, можно сделать следующие выводы: анализ потенциальных нейропротекторных свойств новых гидроксамовых кислот, содержащих монотерпеновый и адамантановый фрагменты, проведенный с использованием нашей усовершенствованной системы биотестирования, включающей серию

экспериментов *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo*, а также процедуру докинга, позволил обнаружить два соединения-лидера **ГКта 12** и **ГКта 23**. Данные гидроксамовые кислоты продемонстрировали наиболее перспективный профиль биологической активности. Это выразалось в проявлении превосходных HDAC6-ингибирующих свойств и антирадикальной активности, способности предотвращать агрегацию патологической формы β -амилоидного пептида 1-42, что нашло отражение при изучении процессов, связанных с формированием гиппокамп-зависимой пространственной памяти у трансгенных животных. **ГКта 12** и **ГКта 23** восстанавливали когнитивные дисфункции у генетически модифицированных мышей 5xFAD, патологический фенотип которых включает нарушения, наблюдаемые при болезни Альцгеймера. Кроме того, патологоанатомический анализ образцов головного мозга животных опытных групп после экспериментов *in vivo* показал значительное снижение уровня малонового диальдегида, стимуляцию митохондриальных комплексов дыхательной цепи до уровня клинически здоровых мышей дикого типа и замедление скорости образования β -амилоидных отложений, что подтвердило способность гидроксамовых кислот-лидеров корректировать процессы, связанные с окислительным стрессом, митохондриальной дисфункцией, нарушением в эпигенетической регуляции и протеинопатии *in vitro*.

Все это может свидетельствовать о том, что гидроксамовые кислоты с гексаметиленовым линкером и Car-группой, содержащей адамантановый фрагмент, **ГКта 12**, и с ароматическим линкером и Car-группой, содержащей (-)-периллильный фрагмент, **ГКта 23**, могут быть предложены в качестве основы для создания перспективных средств против болезни Альцгеймера.

3.3.5. *In vitro* и *in vivo* исследование целевой эффективности соединений-хитов в группе потенциальных противоопухолевых агентов среди гидроксамовых кислот

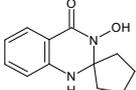
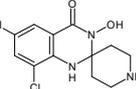
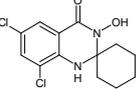
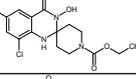
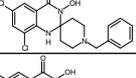
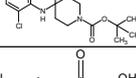
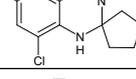
3.3.5.1 Гидроксамовые кислоты на основе хиназолина

Для более детального изучения биологических свойств соединений-хитов из группы циклических гидроксамовых кислот на основе хиназолина были выделены семь веществ, представленные в таблице 16. В данных молекулах содержатся два активных фармакофора – гидроксаматная функция и хиназолиновое ядро.

Результаты многочисленных исследований показывают, что комбинация ингибиторов HDAC с некоторыми противоопухолевыми препаратами имеет сильный синергетический или дополнительные эффекты (Patel et al., 2023). Некоторые комбинации ингибиторов HDAC с известными противоопухолевыми препаратами в настоящее время проходят клинические испытания (Tomaselli et al., 2020). Так, например, гибридная молекула CUDC-101, синтезированная как полифункциональный ингибитор EGFR, HER2 и HDAC, содержит хиназолиновый фрагмент Лапатиниба (Bass et al., 2021; Cao et al., 2023). Это соединение показало антипролиферативную и противоопухолевую активность против ряда опухолевых моделей, в том числе устойчивых по отношению к Лапатинибу, и находится в настоящее время на фазе I клинических испытаний.

Таким образом, поиск потенциальных эффективных противоопухолевых агентов среди производных гидроксамовых кислот как ингибиторов HDAC, содержащих дополнительный фармакофор, на данный момент является актуальной задачей.

Таблица 16 — Результаты, полученные на раннем скрининговом этапе для соединений-хитов среди циклических гидроксамовых кислот на основе хиназолина

В-во	Формула	ПОЛ, Fe ²⁺	ПОЛ, т-БГП	АА	ХА	φ _m	HDAC1
хцГК 7		91,4±0,5	24,8±0,9	26,5±2,1	16,5±1,2	-	31,3±1,7
хцГК 9		89,2±9,4	39,1±4,4	25,0±5,2	14,0±1,6	-	25,6±3,1
хцГК 10		88,6±0,9	52,9±8,2	24,8±1,3	-	79,5±1,2	13,8±0,8
хцГК 11		81,6±2,8	60,1±2,5	21,9±1,9	12,3±3,5	-	30,0±0,7
хцГК 12		81,0±2,2	56,0±3,2	18,6±0,4	-	88,3±1,2	19,0±0,9
хцГК 13		38,4±4,2	44,9±2,5	20,5±0,2	-	114,4±4,3	21,8±0,3
хцГК 14		55,0±2,2	75,5±0,8	33,5±2,5	10,2±0,5	81,0±2,5	34,5±2,5

Сокращения: В-во - исследуемое вещество. ПОЛ (Fe²⁺) и ПОЛ (т-БГП) - ингибирование перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, инициированного ионами двухвалентного железа и *трет*-бутилгидроксипероксидом, соответственно. АА - антирадикальная активность. φ_m - деполаризация митохондриальной мембраны. HDAC1 - ингибирование гистоновых деацетилаз 1 изоформы. Все данные представлены в виде процента активности относительно контроля при концентрации вещества 100 мкМ, Символ «-» свидетельствует об отсутствии активности.

В нашей работе для бифармакофоров, содержащих фрагмент гидроксамовой кислоты и хиназолина, была показана высокая антиоксидантная активность. Так, под действием соединений в концентрации 100 мкМ процесс перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс был подавлен практически полностью – эффект достигал 91% относительно контроля (таблица 16). Для данных веществ дополнительно была определена величина IC₅₀ ингибирующей активности. Как показано в таблице 17, наибольшую активность проявляют соединения хцГК 7 и хцГК 10, действие которых аналогично известному антиоксиданту Тролоксу.

Таблица 17 — Расчет величины IC_{50} ингибирующего эффекта **хцГК** процесса перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, инициируемое Fe(II)

В-во	хцГК 7	хцГК 9	хцГК 10	хцГК 11	хцГК 12	хцГК 13	хцГК 14	Тролокс
IC_{50} , мкМ	12,8±0,4	27,3±3,5	14,8±3,1	35,6±0,5	23,1±0,4	45,4±0,5	53,8±0,9	10,0±1,2

Более того, для соединений **хцГК 10**, **хцГК 12**, **хцГК 13** и **хцГК 14** было обнаружено свойство деполяризовать митохондриальную мембрану (таблица 16). Мы также показали, что данный вид активности зависит от концентрации тестируемых соединений. Так, с увеличением концентрации **хцГК** увеличивалась и диссипация мембраны изолированных митохондрий печени крыс (рисунок 58).

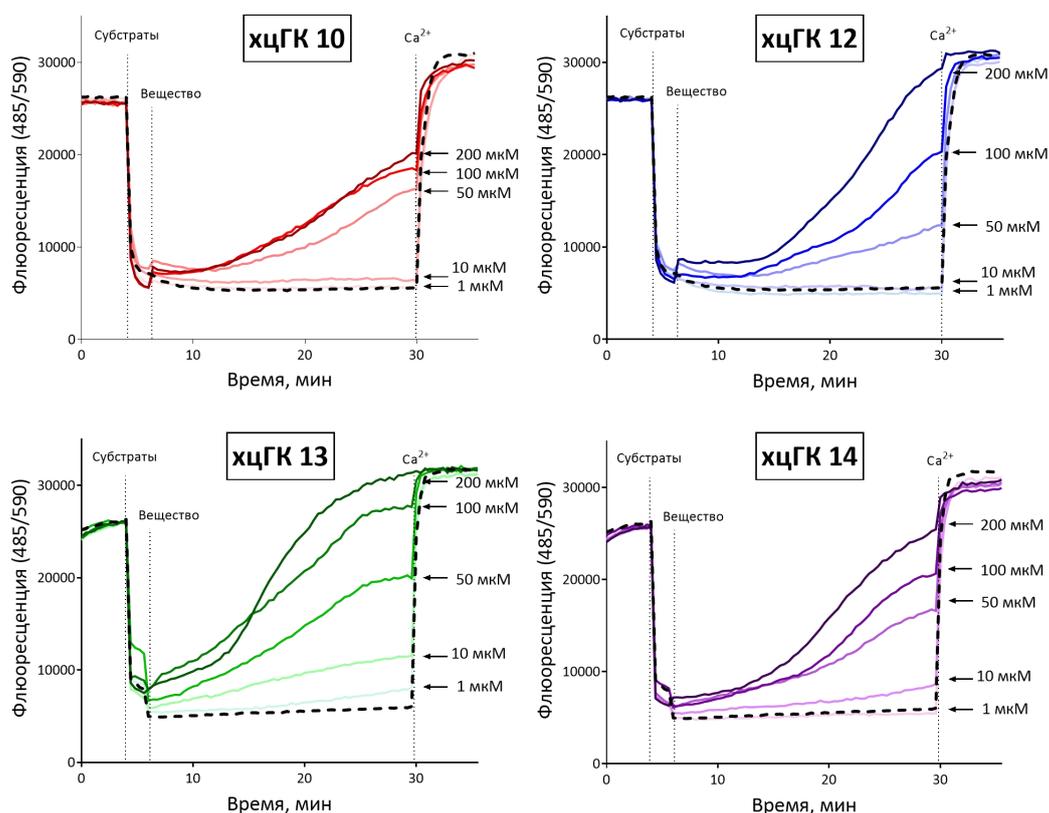


Рисунок 58 — Влияние исследуемых соединений **хцГК 10**, **хцГК 12**, **хцГК 13** и **хцГК 14** на мембранный потенциал митохондрий печени крысы (0,5 мг/мл). Диапазон концентраций исследуемых веществ от 1 мкМ до 200 мкМ, ионов Ca^{2+} - 25 мкМ. Митохондрии энергизовали глутаматом калия (5 мМ), малатом калия (5 мМ) и сукцинатом калия (5 мМ). Данные представлены в виде кинетических кривых изменения флюоресценции потенциал-зависимой метки сафранина А при длинах волн экстинкции и эмиссии 458 и 590 нм.

Интересно, что хиназолиновые циклические гидроксамовые кислоты, обладающие таким свойством, содержали в своей структуре два атома хлора в хиназолиновом фармакофоре. Такое свойство **хцГК** сильно деполаризовать митохондриальную мембрану предполагает наличие цитотоксичности у этих веществ за счет запуска каскада гибели клетки по пути митохондриально-зависимого апоптоза, когда при нарушении целостности органелл происходит выход проапоптотических факторов в цитозоль и активация апоптотических каспаз.

В связи с этим на следующем этапе мы проанализировали цитотоксический профиль выбранных соединений на одной линии здоровых клеток Нек-293 и трех клеточных линиях опухолевого происхождения Jurkat, SH-SY5Y и HeLa с помощью стандартных скрининговых методов (Ресазурин и МТТ тестов) (таблица 18). Время инкубации с веществами составляло 72 часа, за этот промежуток времени нам удалось оценить, как острое цитотоксическое, так и антипролиферативное действие одновременно.

Таблица 18 — Цитотоксический профиль циклических гидроксамовых кислот на основе хиназолина

Вещество	IC ₅₀ (мкМ)			
	Jurkat	SH-SY5Y	HeLa	Нек-293
хцГК 7	> 100	> 100	> 100	> 100
хцГК 9	9,8±0,2	21,4±0,1	31,0±4,4	45,9±14,2
хцГК 10	11,3±0,3	20,9±0,1	38,2±4,3	>100
хцГК 11	21,3±0,2	23,7±0,5	38,6±11,5	>100
хцГК 12	1,0±0,2	20,6±0,4	48,3±13,2	>100
хцГК 13	6,2±0,0	22,7±1,6	8,6±1,2	>100
хцГК 14	22,6±0,2	56,8±16,2	>100	>100

Примечание: данные представлены в виде значений IC₅₀ (мкМ) цитотоксического эффекта: как среднее ± СО по отношению к значениям контроля (ДМСО ≤ 1%), принятого за 100%.

Было обнаружено, что все соединения, кроме **хцГК 7** проявляли цитотоксическое действие по отношению к клеткам опухолевого

происхождения. Это, вероятно, может быть связано с наличием в структуре данных молекул двух атомов хлора, которые играют важную роль в проявлении целевой биологической активности.

Выбор галогенов для химической модификации широко используется при дизайне новых лекарственных препаратов, в том числе и с противоопухолевой активностью, так как при этом происходит сильное изменение биологических свойств различных соединений. Хлор-содержащие соединения составляют большую долю имеющихся на рынке противоопухолевых лекарств (Ahlborg et al., 1995; Huang et al., 2014). Это может быть связано с тем, что атом хлора имеет высокую электроотрицательность. Данное свойство увеличивает способность соединений, содержащих хлор, взаимодействовать с протонированными аминокислотами, играющих важную роль в функционировании клеток. Более того, хлор является хорошим выбором в качестве липофильного фрагмента для модулирования липофильности биологически активных соединений. Монохлорирование или трихлорирование насыщенных алкильных групп часто снижает липофильность в отличие от дихлорирования.

Интересно, что для синтезированных соединений был обнаружен сниженный токсический эффект или полное его отсутствие в максимальной концентрации на нетрансформированных эмбриональных клетках почки человека Нек-293, что позволяет предположить селективность действия хиназолиновых циклических гидроксамовых кислот именно в отношении клеток опухолевого происхождения.

Помимо проапоптотического механизма цитотоксического действия **хцГК**, который проявился как деполяризующая митохондриальную мембрану активность, для наиболее токсичных соединений было исследовано влияние на гликолиз, как основной метаболический путь опухолевых клеток. В качестве биологической тест-системы использовали клеточную линию нейробластомы SH-SY5Y. Влияние исследуемых соединений на гликолиз проводили с помощью анализатора клеточного

метаболизма Agilent Seahorse XF96e (Seahorse Bioscience, США) путем измерения уровня продукции протонов в режиме реального времени.

Как показано на рисунке 59 а, при добавлении глюкозы происходит резкое увеличение скорости закисления среды в контроле, однако для соединений **хцГК 9**, **хцГК 10** и **хцГК 14** наблюдается сниженный ответ на добавление субстрата гликолиза, что свидетельствует об ингибировании данными веществами энергетического процесса. В свою очередь **хцГК 12** и **хцГК 13** стимулировали глюкозо-индуцированный гликолиз.

При введении олигомицина, блокирующего выработку митохондриального АТФ и приводящего к максимальной гликолитической способности клеток, в контрольной группе отмечалось значительное закисление среды, что свидетельствовало об интенсивном гликолизе и высвобождении молочной кислоты. Для всех гидроксамовых кислот, а в большей степени для **хцГК 9**, **хцГК 10** и **хцГК 14**, отмечалось значительное снижение гликолитической ёмкости, что, очевидно, связано с подавлением данными веществами продукции лактата. Снижение такого параметра гликолитической функции как гликолитический резерв также было обнаружено для большинства синтезированных соединений.

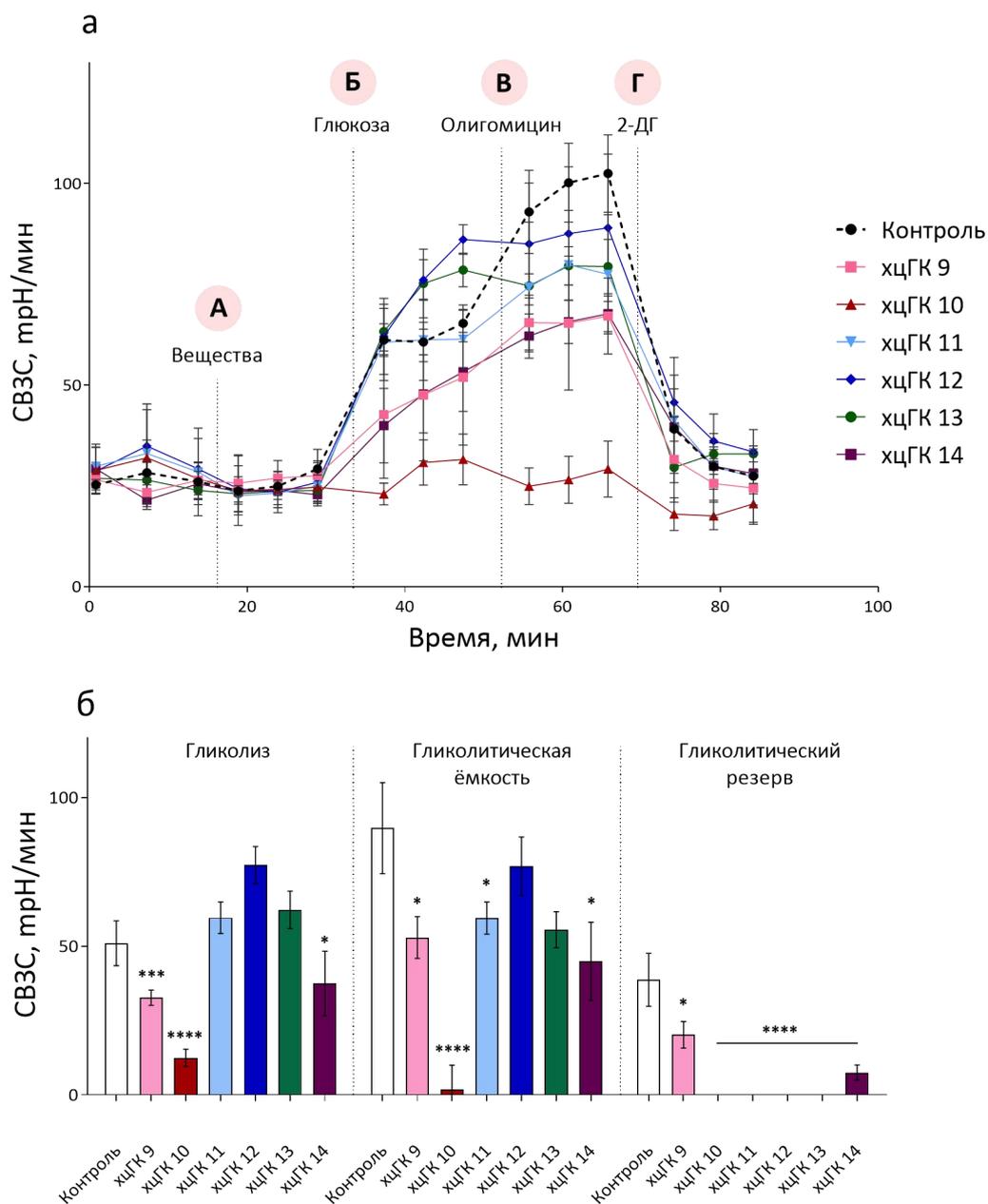


Рисунок 59 — Влияние циклических гидроксамовых кислот на основе хиназолина на гликолитический профиль клеток SH-SY5Y. Скорость внеклеточного закисления среды (СВЗС) является индикатором гликолиза и показывает степень закисления внеклеточной среды. а – кинетические кривые изменения скорости закисления во времени в зависимости от добавления модуляторов гликолиза. Розовым цветом отмечены добавки веществ и модуляторов. б – расчетные параметры гликолиза. Концентрация исследуемых веществ составляла 100 мкМ, глюкозы – 10 мМ, олигомицина – 1 мк М, 2-фтор-2-дезоксид-*D*-глюкозы (2-ДГ) – 25 мМ. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ по сравнению с контролем. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Таким образом, достоверное подавление интенсивности гликолиза в сравнении с контрольной группой отмечалось для соединений **хцГК 9**, **хцГК 10** и **хцГК 14**. Кроме того, большинство исследуемых веществ эффективно снижали гликолитическую ёмкость и гликолитический резерв (рисунок 59 б). Такое угнетение гликолиза, гликолитической ёмкости и уменьшение гликолитического резерва клеток опухолевой линии SH-SY5Y исследуемыми соединениями может свидетельствовать об их возможном регулировании данного процесса в неопластических клетках и являться одним из механизмов цитотоксической активности, показанной ранее (Неганова и др., 2020a; Neganova et al., 2021d).

Подводя итоги данной части работы, можно сделать заключение, что по совокупности действия на ключевые мишени канцерогенеза гидроксамовые кислоты на основе хиназолина могут быть рекомендованы к дальнейшим испытаниям в качестве потенциальных мультитаргетных антинеопластических агентов, механизм цитотоксического действия которых связан с ингибированием гликолиза, диссипацией митохондриальной мембраны и антиоксидантной активностью.

3.3.5.2. Гидроксамовые кислоты с бициклическим пинановым остовом

Как уже говорилось ранее, несмотря на то, что существует широкое разнообразие терапевтических стратегий, химиотерапия по-прежнему остаётся наиболее распространённым и предпочтительным методом лечения (Romero 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 (Assaraf et al., 2019). Неправильно регулируемая активность гистондеацетилазы, главным образом первой изоформы, является одной из таких особенностей, приводящей к развитию терапевтической резистентности. В частности, в работе Yang и соавт. (Yang et al., 2020b) обнаруженная в устойчивых к темозоломиду клетках глиобластомы сверхэкспрессия HDACs приводит к прогрессированию клеточного цикла в G2/M фазе и репарации ДНК за счет повышения уровней В-клеточно-специфического сайта интеграции Mo-MLV 1 (BMI1) и обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT), поддерживающих свойства самообновления и стволовости. В свою очередь Ding с соавт. показали, что повышенные уровни HDAC1 регулируют чувствительность клеточной линии плоскоклеточной карциномы гортани к действию 5-фторурацила и цисплатина, увеличивая экспрессию интерлейкина 8 (Ding et al., 2021) — критического фактора, опосредующего химиорезистентность (Fousek et al., 2021). Будучи онкопротеином, HDAC1 также играет роль в формировании устойчивости клеток немелкоклеточного рака лёгких к gefitinibu за счёт снижения экспрессии фосфатазы с двойной специфичностью 1 (DUSP1) (Lin et al., 2015).

Таким образом, целенаправленное ингибирование гистоновых деацетилаз рассматривается в качестве эффективного терапевтического инструмента для преодоления лекарственной резистентности. К примеру, в работе Chen с коллегами (Chen et al., 2019a) применение ингибитора HDAC панобиностата значительно усиливало апоптотическую гибель устойчивых к

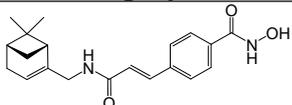
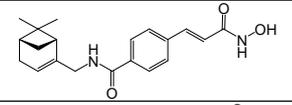
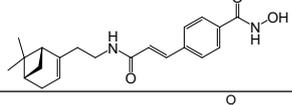
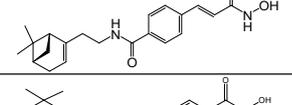
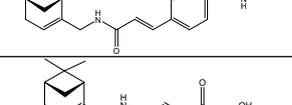
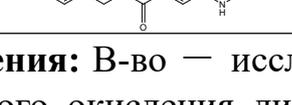
иматинибу клеток хронического миелогенного лейкоза с нацеливанием на стволовые клетки. Применение недавно одобренного FDA ингибитора HDAC хидамида на клеточной модели первичной В-клеточной лимфомы, резистентной к ритуксимабу и химиотерапии, показало успешность за счет повышения чувствительности опухолевых клеток посредством стимуляции гибели клеток путем аутофагии (Xue et al., 2021). В работе Sato и соавт. трихостатин А приводил к ресенсибилизации клеток прогрессирующей почечно-клеточной карциномы к действию сунитиниба за счёт сдвигов клеточного метаболизма (Sato et al., 2019).

Синтезированные в рамках нашей работы гидроксамовые кислоты с бициклическим пинановым остовом воспроизводят классическую фармакофорную модель ингибиторов гистоновых деацетилаз, состоящую из типичных фрагментов: (1) цинк-связывающей группы, (2) линкера и (3) Сар-группы. На раннем скрининговом этапе было обнаружено, что данные гидроксамовые кислоты показали высокую эффективность именно в отношении гистоновой деацетилазы 1 (таблица 19), о чем свидетельствует диапазон значений IC_{50} от $4,5 \pm 0,3$ (для ГКпо 3) до $8,2 \pm 0,5$ (для ГКпо 6) (Aleksandrova et al., 2023d). Более того, дополнительно для данной группы веществ наблюдалась умеренная антиоксидантная активность, выражающаяся в способности соединений ингибировать процесс перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс.

Таким образом, полученные экспериментальным путем результаты о высокой HDAC1-ингибирующей способности синтезированных гидроксамовых кислот позволяют предположить её дальнейший вклад в возможное проявление адьювантных свойств.

Это позволило выбрать данные вещества в качестве интересных молекулярных объектов для дальнейшего изучения биологической активности в рамках анализа их потенциальных противоопухолевых свойств.

Таблица 19 — Результаты раннего скринингового этапа для гидроксамовых кислот с бициклическим пинановым остовом

В-во	Формула	ПОЛ, Fe ²⁺	АА	HDAC1 (IC ₅₀ , мкМ)
ГКпо 1		24,07±0,04	17,38±0,03	6,90±0,03
ГКпо 2		23,71±0,06	16,84±1,01	4,45±0,30
ГКпо 3		38,75±0,07	29,79±0,84	7,23±0,46
ГКпо 4		32,90±0,05	27,57±0,76	5,00±0,12
ГКпо 5		22,42±1,24	10,93±0,85	7,96±0,28
ГКпо 6		21,35±1,03	15,75±1,05	8,20±0,49

Сокращения: В-во — исследуемое вещество, ПОЛ (Fe²⁺) — ингибирование перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, инициированного ионами двухвалентного железа, АА — антирадикальная активность. Данные представлены в виде процента активности относительно контроля при концентрации вещества 100 мкМ. HDAC1 – IC₅₀ ингибирования гистоновой ацетилазы 1. Символ «-» свидетельствует об отсутствии активности.

Также хорошо известно, что метаболизм опухолевых клеток кардинально отличается от такового у нормальных, что позволяет им поддерживать высокую скорость пролиферации и препятствовать апоптотической гибели (Martinez-Reyes and Chandel, 2021). Отличительным признаком клеточного метаболизма при злокачественных новообразованиях является их чрезвычайная зависимость от гликолиза (Ganapathy-Kanniappan and Geschwind, 2013). Даже в условиях достаточного количества кислорода трансформированные клетки отдадут предпочтение, казалось бы, менее энергетически выгодному пути получения энергии — аэробному гликолизу (2 молекулы АТФ против 36 молекул при окислительном фосфорилировании). Однако на сегодняшний день уже показано, что скорость производства АТФ посредством интенсивного гликолиза в клетках быстро пролиферирующего злокачественного новообразования может быть в 100 раз выше, чем при ОКСФОС (Locasale and Cantley, 2010), что объясняет

целесообразность такого переключения опухолевого метаболизма. Благодаря этому трансформированным клеткам удаётся удовлетворить свои высокие анаболические потребности для интенсивной пролиферации и развития (Chelakkot et al., 2023) и, что не менее важно, использовать образующиеся в процессе гликолиза метаболические промежуточные продукты для биосинтеза макромолекул, играющих критическую роль в формировании множественной лекарственной устойчивости (Peng et al., 2021).

Так, экспериментальные наблюдения последних лет всё больше свидетельствуют о том, что aberrantный гликолиз играет критическую роль в резистентности трансформированных клеток к действию химиотерапевтических агентов (Wang et al., 2023c). В частности, анализ метаболического профиля устойчивых к тамоксифену клеток рака молочной железы TamR MCF-7 продемонстрировал повышенную скорость гликолиза в отличие от исходной клеточной культуры, что коррелировало со сверхэкспрессией HK2 (Liu et al., 2019b) — гена, кодирующего гексокиназу 2. Такое усиление активности фермента, лимитирующего скорость данного процесса, привело к усилению аутофагии, опосредованной ингибированием гексокиназой 2 мишени рапамицина млекопитающих (mTOR), благодаря чему опухолевые клетки и приобрели свойство резистентности к тамоксифену. В образцах, полученных от пациентов с глиобластомой, усиление гликолиза сопровождалось перемещением в митохондрии другого ключевого фермента — изоформы M2 пируваткиназы (PKM2), где под его действием происходило фосфорилирование и, как следствие, усиление экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 (Liang et al., 2017), что также может рассматриваться в качестве одного из возможных механизмов развития лекарственной устойчивости (Thomalla et al., 2022). Более того, в связи с тем, что во время интенсивного гликолиза, протекающего в неопластических клетках, происходит выброс во внеклеточное пространство большого количества лактата, микроокружение опухоли характеризуется

кислыми значениями pH (Webb et al., 2011), что играет критическую роль в функционировании локализованных в цитоплазматической мембране эффлюксных насосов для оттока лекарственных агентов (Du et al., 2018), снижая тем самым биодоступность противоопухолевых агентов (Vodenkova et al., 2020).

Таким образом, учитывая важную роль гликолиза в формировании у опухолевых клеток резистентного состояния к действию терапевтических агентов, нацеливание на данный процесс рассматривается в качестве одной из наиболее перспективных стратегий при создании лекарственных агентов для лечения злокачественных новообразований. В частности, в работе Wu и соавт. для природного флавонола кемпферола была обнаружена способность обращать вспять устойчивость резистентной к действию 5-фторурацила клеточной линии колоректальной карциномы HCT8-R путем нацеливания на PKM2 (Wu et al., 2022). Аналогичное действие было показано для гипогликемического препарата симвастатина, восстанавливающего чувствительность клеток гепатоцеллюлярной карциномы LM3-SR к сорафенибу, за счёт подавления опосредованного PKM2 гликолиза (Feng et al., 2020). Всё это подтверждает наличие прямой взаимосвязи между метаболическим перепрограммированием и развитием у неопластических клеток резистентности к действию противоопухолевых препаратов и позволяет рассматривать процесс гликолиза в качестве ценной мишени для преодоления лекарственной устойчивости.

Ввиду того, что ранее для представителей класса гидроксамовых кислот уже была показана способность модулировать гликолитический профиль клеток опухолевого происхождения (Lu et al., 2016), в частности, в ранее опубликованном нами исследовании (Neganova et al., 2021d), для новых гидроксамовых кислот с бициклическим пинановым остовом стало целесообразным исследование ингибирующей способности в отношении данного процесса.

Для оценки влияния соединений на биоэнергетический профиль клеточной культуры тератокарциномы человека Ра-1 мы проанализировали скорость закисления среды клетками в режиме реального времени с помощью гликолизного стресс-теста (Caines et al., 2022).

Как показано на рисунке 60, почти все параметры гликолиза были существенно снижены в клетках, обработанных 100 мкМ гидроксамовых кислот, при этом наиболее перспективный профиль ингибирования был продемонстрирован для соединения **ГКпо 3** (подавление гликолитического резерва на 86%, $p = 0,0001$; гликолитической ёмкости на 48,4%, $p < 0,0001$). Более того, существенным фактом является его выраженная способность снижать и такой критически важный параметр гликолитической функции, как непосредственно гликолиз, на 26,6%, $p = 0,0061$, чего не было обнаружено для других соединений.

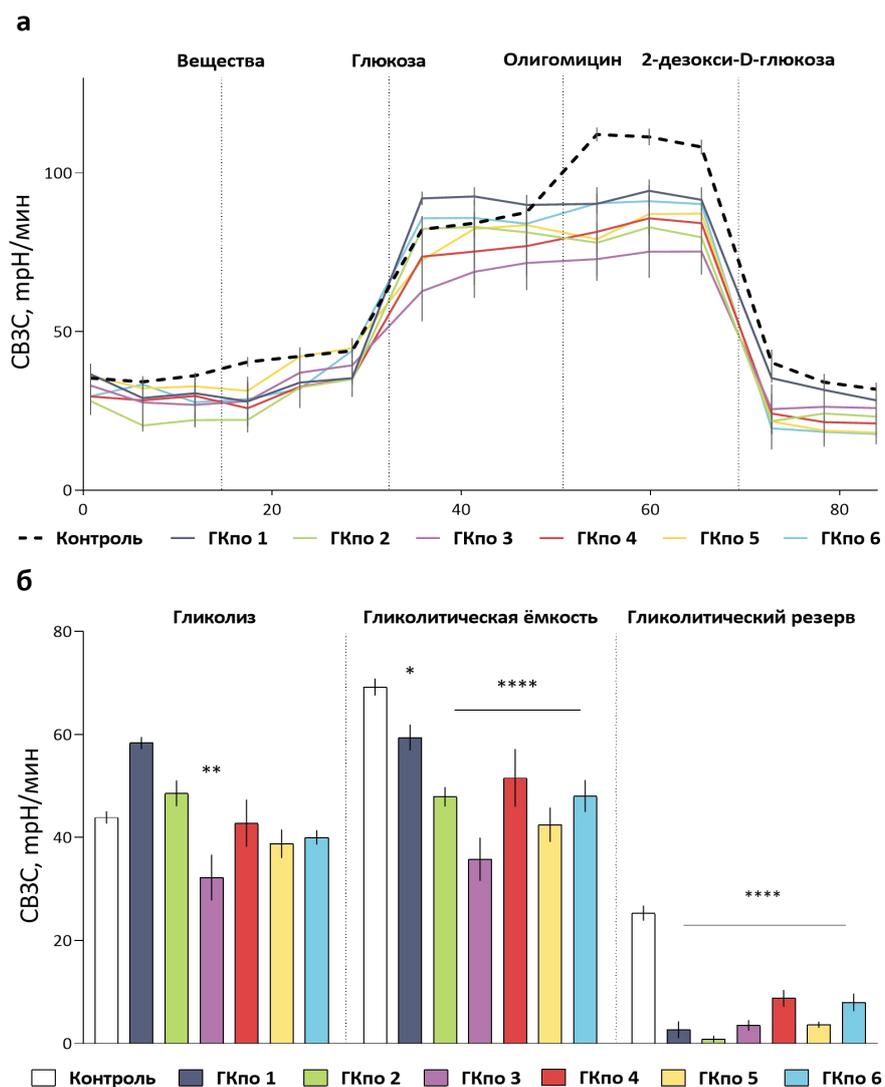


Рисунок 60 — Влияние гидроксамовых кислот с бициклическим пинановым остовом на гликолитический профиль клеток опухолевого происхождения РА-1 посредством измерения скорости внеклеточного закисления среды (СВЗС). а — кинетические кривые изменения гликолитического профиля под действием исследуемых соединений. б — влияние гидроксамовых кислот на основные расчётные параметры гликолитической функции РА-1 (гликолиз, гликолитическую ёмкость и гликолитический резерв). Данные представлены в виде процента СВЗС относительно контроля (ДМСО \leq 1%) как среднее значение \pm SEM. *, ** и ****, $p < 0,05$; $p < 0,01$ и $p < 0,0001$, по сравнению с контролем. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета. Концентрация исследуемых соединений составляла 100 мкМ, глюкозы — 10 мМ, олигомицина — 1 мкМ, 2-фтор-2-дезоксид-D-глюкозы (2-DG) — 25 мМ.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что гидроксамовые кислоты с бициклическим пинановым остовом являются эффективными регуляторами аэробного гликолиза — процесса, играющего решающую роль в жизнедеятельности опухолевых клеток (Chelakkot et al., 2023).

Чтобы предположить молекулярную основу ингибирующего гликолиз действия гидроксамовых кислот, мы смоделировали взаимодействие изучаемых соединений с ключевыми ферментами этого процесса, оценив возможные положения связывания соединений с аллостерическими центрами гексокиназы 1, 6-фосфофрукто-2-киназы и пируваткиназы М2. Таким образом, исследование было сосредоточено на моделировании связывания шести лигандов с тремя целевыми белками.

Как показано в приложении В, аналогичные значения показателя стыковки были продемонстрированы для всех изученных соединений и эталонных лигандов по отношению к выбранным белкам-мишеням. И несмотря на то, что пути взаимодействия изученных гидроксамовых кислот отличаются от таковых у молекул сравнения, значения Docking Score в большинстве случаев равны. Вероятно, структурная сложность этих соединений приводит к дополнительным гибким взаимодействиям с белками-мишенями.

В качестве примера на рисунке 61 показаны наиболее благоприятные молекулярные взаимодействия **ГКпо 3** с целевыми мишенями; 2D-изображение способа связывания других соединений показано на рисунке 1 (приложение В). Как показано на рисунке 61 а, **ГКпо 3** демонстрирует Н-связывание с гексокиназой у Thr336 (2,4 Å), Thr419 (1,9 Å), Arg174 (2,0 Å), Leu416 (2,4 Å), Ser88 (2,5 Å) и Ser415 (3,0 Å), а также гидрофобные алкильные связи по Val119 (4,1 Å) и Ala263 (4,4 Å). С другой стороны, было обнаружено, что **ГКпо 3** проявляет взаимодействие по Н-связи с 6-фосфофрукто-2-киназой при Tyr424 (2,1 Å), Lys168 (2,4 Å), Thr48 (2,4 Å) и

Glu166 (2,2 Å), а также в качестве других гидрофобных взаимодействий — π - π -стекинг по Tyr49 (4,7 Å) и π -алкил по остаткам Val167 (5,0 Å), Ala125 (4,4 Å), Pro43 (5,5 Å) (рисунок 61 б). Моделирование взаимодействий пируваткиназы M2 с **ГКпо 3** показало наличие водородных связей у Arg73 (2,0 Å), Ile119 (2,5 Å), Val209 (2,5 Å и 1,8 Å) и Asp296 (2,0 Å) в аллостерическом центре фермента и электростатической π -катионной и π -алкильной связей у Arg120 (4,3 Å) и Asp296 (3,5 Å), соответственно (рисунок 61 в).

Следует также отметить, что значения энергии связывания **ГКпо 3** оказались в диапазоне от -7,8 до -10,1 ккал/моль для всех ферментных мишеней. Очевидно, это может свидетельствовать о способности данной гидроксамовой кислоты ингибировать гликолитическую функцию клеток опухолевого происхождения за счет ее модулирующего влияния на все ключевые ферменты этого процесса.

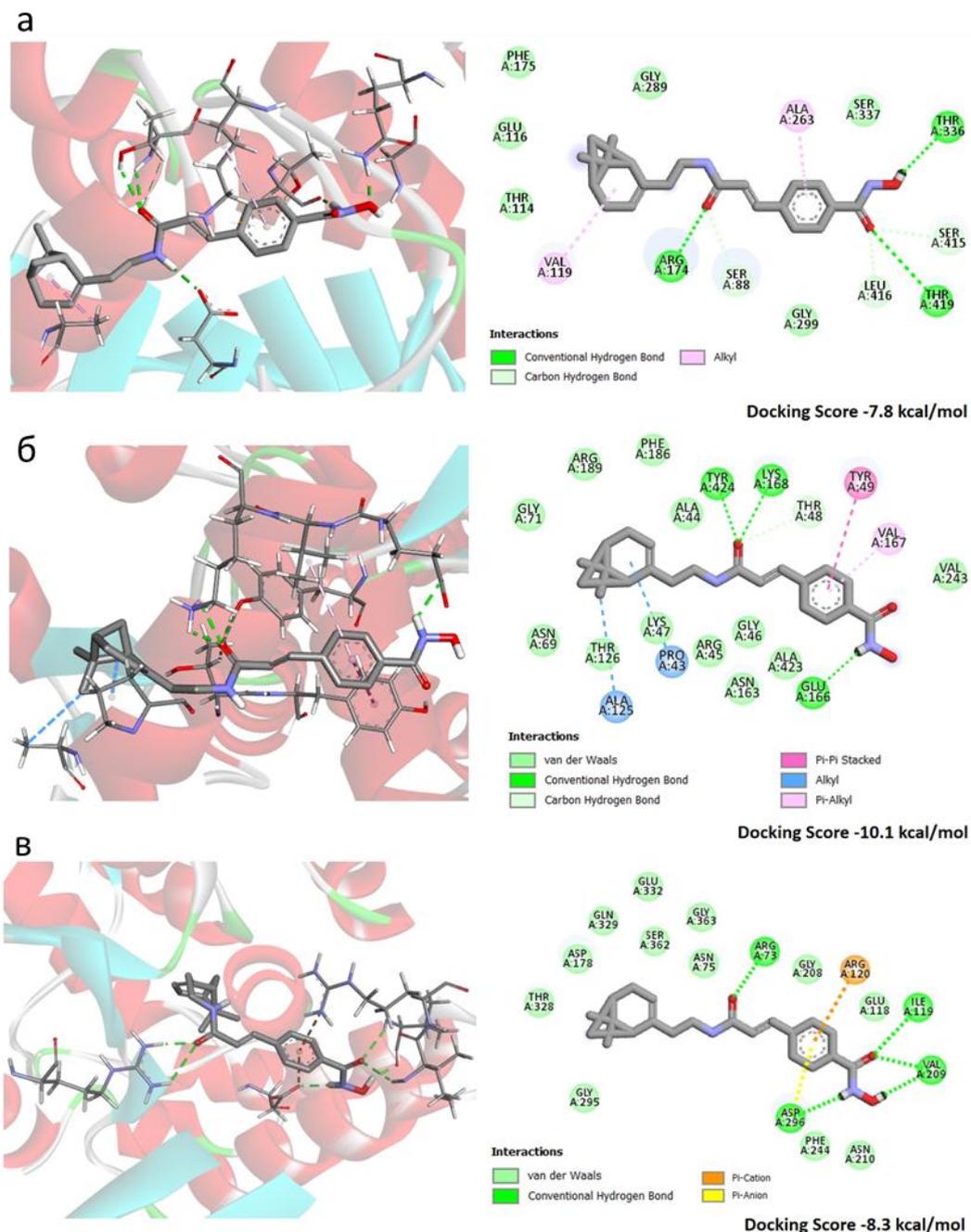


Рисунок 61 — Позы стыковки гидроксамовой кислоты **ГКпо 3** с белками-мишенями: (а) — гексокиназа 1 (ID PDB: 4F9O); (б) — 6-фосфофрукто-2-киназа (ID PDB: 1K6M), (в) — пируваткиназа M2 (ID PDB: 1T5A). Атомы азота и кислорода окрашены в синий и красный цвета, соответственно. На рисунках справа показаны подробные результаты, отражающие аминокислотные остатки, участвующие в существенных взаимодействиях, и другие значимые контакты. Водородная связь (обозначена ярко-зелеными пунктирными линиями), связь Ван-дер-Ваальса (обозначена светло-зелеными пунктирами), другие взаимодействия (алкил показан пунктиром светло-голубого цвета; π -алкил — пунктиром светло-розового цвета; π - π -стекинг — пунктирными линиями ярко-розового цвета, π -анион и π -катион — желтыми и оранжевыми пунктирными линиями, соответственно).

Таким образом, мы обнаружили, что гидроксамовые кислоты вызывают метаболический кризис в опухолевых клетках за счет контроля гликолиза, возможно, опосредованного ферментами, лимитирующими скорость НК1, ПФК2 и РКМ2. Более того, лучшее средство к НК1, выявленное с помощью вычислительных методов для лидера **ГКпо 3**, может объяснить его наиболее выраженную способность ингибировать гликолиз при мониторинге метаболизма опухолевых клеток.

На следующем этапе для подтверждения нашей гипотезы о возможных хемосенсибилизирующих свойствах гидроксамовых кислот мы провели серию экспериментов с использованием объектов клеточного уровня организации.

Первоначально для оценки собственного токсического действия и подбора наименее безопасной концентрации исследуемых соединений нами был проведен анализ жизнеспособности клеток, предварительно обработанных гидроксамовыми кислотами в течение 24 часов в диапазоне концентраций от 0,1 до 100 мкМ. Данный этап имеет важное значение при поиске потенциальных хемосенсибилизирующих средств, поскольку одной из наиболее существенных характеристик, присущей подобного рода агентам, является отсутствие выраженных цитотоксических свойств, которые могут служить препятствием на пути к преодолению множественной лекарственной устойчивости и вносить вклад в проявление системной токсичности. В частности, попытки внедрения в клиническую практику в качестве адьювантной терапии известных ингибиторов гистоновых деацетилаз трихостатина А и вориностата до сих пор не увенчались успехом ввиду проявляемых ими побочных эффектов.

В качестве модельной системы были использованы клетки карциномы шейки матки человека HeLa, являющиеся наиболее оптимизированной клеточной линией для многих областей биологических исследований

(Beskow, 2016). Клетки нормального происхождения Нек-293, полученные из эмбриональной почки человека, послужили объектом, необходимым для экстраполяции результатов на здоровое микроокружение.

Таблица 20 — Значения IC_{50} цитотоксического эффекта гидроксамовых кислот с бициклическим пинановым остовом

Вещество	HeLa	Нек-293	Вещество	HeLa	Нек-293
Трих. А	0,4±0,0	0,2±0,0	ГКпо 3	33,8±1,2	34,0±3,0
			ГКпо 4	19,1±1,0	33,9±2,6
ГКпо 1	29,3±1,1	46,7±2,9	ГКпо 5	43,6±1,0	38,9±1,2
ГКпо 2	18,0±0,5	21,2±1,7	ГКпо 6	42,8±1,3	37,2±1,9

Как показано в таблице 20, диапазон значений IC_{50} цитотоксического действия гидроксамовых кислот варьирует от $18,0 \pm 0,5$ мкМ (в случае **ГКпо 2**) до $43,6 \pm 1,0$ мкМ (для **ГКпо 5**), при этом обработка HeLa исследуемыми соединениями в концентрациях до 5 мкМ слабо или вовсе не влияла на клеточную жизнеспособность. В связи с этим именно данная концентрация гидроксамовых кислот была выбрана для определения того, могут ли исследуемые соединения повышать чувствительность клеточной линии HeLa к гибели, индуцированной известным антинеопластическим агентом алкилирующего действия цисплатином. Целесообразность выбора данного цитостатического препарата обусловлена двумя фундаментальными факторами. В первую очередь это связано с тем, что несмотря на превосходные противоопухолевые свойства цисплатина, в клинической практике хорошо известно о терапевтических неудачах, связанных с возникновением лекарственной устойчивости к данному цитостатику (Amable, 2016; Lugones et al., 2022; Shen et al., 2012; 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).

Таким образом, в поисках возможного синергизма действия на клеточной линии карциномы шейки матки HeLa был проведен анализ комбинации гидроксамовых кислот с цисплатином. Как показано в таблице 21, IC₅₀ цитотоксического эффекта при 24-х часовой инкубации цисплатина составила 29,0 ± 2,8 мкМ. Исследование влияния бинарных комбинаций химических агентов на выживаемость клеток показало синергетическое действие при болюсном введении 5 мкМ **ГКпо 3** с цитостатиком. Это выразалось в достоверном снижении величины IC₅₀ цисплатина на 34,5 % (p = 0,0300). Тенденцию к проявлению подобных свойств, но в меньшей степени, проявил региоизомер **ГКпо 3** — гидроксамовая кислота с инвертированным расположением Сар-группы и гидроксаматной функции **ГКпо 4**, снижающая IC₅₀ цитостатика почти на 11%.

Таблица 21 — Значения IC₅₀ цитотоксического эффекта цисплатина в монотерапии и в комбинации с гидроксамовыми кислотами на клеточной линии карциномы шейки матки человека HeLa

Вещество	IC ₅₀ , мкМ	Вещество	IC ₅₀ , мкМ
Цисплатин	29,0±2,8	Цисплатин + ГКпо 3	19,0±1,2 *
		Цисплатин + ГКпо 4	25,7±2,2
Цисплатин + ГКпо 1	29,1±1,5	Цисплатин + ГКпо 5	30,0±1,6
Цисплатин + ГКпо 2	27,0±1,4	Цисплатин + ГКпо 6	32,7±2,4

Примечание: Данные представлены как среднее ± SEM (n = 3). * p < 0,05 по сравнению с Цисплатином. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Полученные результаты свидетельствуют о способности гидроксамовых кислот с бициклическим пинановым остовом, содержащих в составе Car-группы перилловый фрагмент, приводить к лучшему терапевтическому результату за счет сенсibilизации клеток HeLa к цисплатину.

Затем мы рассчитали показатель индекса комбинации CI для оценки комбинированного эффекта гидроксамовой кислоты и цисплатина. Фракционный анализ показал, что значения CI находились в двух диапазонах в зависимости от используемых концентраций (рисунок 62). Таким образом, в относительно низких концентрациях комбинации цисплатина (0,1–10 мкМ) и **ГКпо3** (0,025–2,5 мкМ) проявляли аддитивный эффект (CI от 0,9 до 1,2) и демонстрировали достаточно низкую цитотоксическую активность. В свою очередь, при обработке клеток умеренными концентрациями цисплатина (15–100 мкМ) и **ГКпо3** (3,75–25 мкМ) был обнаружен синергетический эффект (CI от 0,8 до 0,6). Очевидно, полученные результаты свидетельствуют о том, что обнаруженное выше влияние гидроксамовой кислоты на цитотоксические свойства цисплатина реализует свое действие за счет синергетического эффекта.

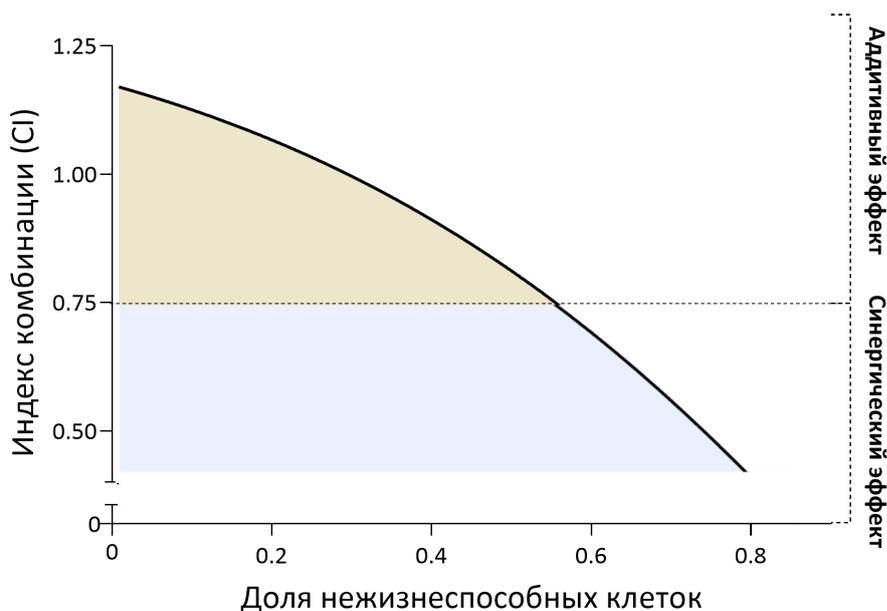


Рисунок 62 — Расчет индекса комбинации (CI) для **ГКпо3** с помощью CompuSyn.exe, анализ, показывающий природу потенцирующего эффекта соединения.

Чтобы дополнительно доказать синергетический эффект гидроксамовых кислот, нами была создана резистентная к цисплатину клеточная линия карциномы шейки матки HeLa, которая имела значительно более низкую чувствительность к различным дозам цитостатика (HeLa/CDDP). Так, обработка HeLa/CDDP концентрацией цисплатина, равной обнаруженной выше величине IC₅₀, едва индуцировала гибель клеток, при этом непосредственная величина полумаксимального ингибирования в отношении устойчивой линии была увеличена более чем на 50% при сравнении с родительскими клетками (таблица 22). Иными словами, эти результаты демонстрируют, что HeLa/CDDP обеспечивает устойчивость к цисплатину и может служить моделью химиорезистентных опухолевых клеток.

Таблица 22 — Значения IC₅₀ цитотоксического эффекта цисплатина в монотерапии и в комбинации с гидроксамовыми кислотами на резистентной клеточной линии карциномы шейки матки человека HeLa/CDDP

Вещество	IC ₅₀ , мкМ	Вещество	IC ₅₀ , мкМ
Цисплатин	59,0±3,3	Цисплатин + ГКпо 3	29,2±2,1 **
		Цисплатин + ГКпо 4	56,1±1,9
Цисплатин + ГКпо 1	60,2±3,1	Цисплатин + ГКпо 5	60,7±2,3
Цисплатин + ГКпо 2	59,6±2,7	Цисплатин + ГКпо 6	61,6±3,8

Примечание: Данные представлены как среднее ± SEM (n = 3). ** p < 0,01 по сравнению с Цисплатином. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Как показано в таблице 22, ГКпо 3 удалось убедительно подтвердить обнаруженные выше адьювантные свойства, о чем свидетельствует значение IC₅₀ для комбинации Цисплатин + ГКпо 3, равное 29,2 ± 2,1 мкМ (p = 0,9420 при сравнении с Цисплатином в отношении HeLa), что в 2,0 раза ниже показателя при монотерапии цисплатином (p = 0,0015 при сравнении с

Цисплатином в отношении HeLa/CDDP). И хотя данной гидроксамовой кислоте не удалось усилить исходный противоопухолевый эффект цитостатика, показанный на родительских клетках HeLa, **ГКпо 3** смогла достичь ключевой цели — снизить лекарственную устойчивость HeLa/CDDP.

В дополнение к полученным результатам нами была произведена оценка фармакокинетических параметров наиболее перспективной гидроксамовой кислоты с бициклическим пинановым остовом, содержащей в составе Car-группы перилловый фрагмент, с использованием программного обеспечения SwissAdme.

Для наглядного отображения результатов исследования фармакокинетических свойств гидроксамовой кислоты **ГКпо 3** на рисунке 63 представлена прогностическая модель Boiled-Egg, которая позволяет оценить пассивную желудочно-кишечную абсорбцию и проникновение в головной мозг потенциальных лекарственных препаратов путем вычисления их липофильности и полярности.

Исходя из расчетных данных, значение такого параметра как топологическая площадь полярной поверхности (TPSA) — дескриптора, который используется для описания способности лекарств проникать в клетки через биологические барьеры, составило $78,4 \text{ \AA}^2$. Это указывает на то, что **ГКпо 3** может быть позиционирована для перорального применения благодаря высокой скорости всасывания в желудочно-кишечном тракте человека. Кроме того, для данного соединения также была предсказана способность проникать через гематоэнцефалический барьер, о чем свидетельствует нахождение **ГКпо 3** в желтой области, что, очевидно, позволяет предположить возможность её использования для терапевтического вмешательства и при злокачественных новообразованиях центральной нервной системы.

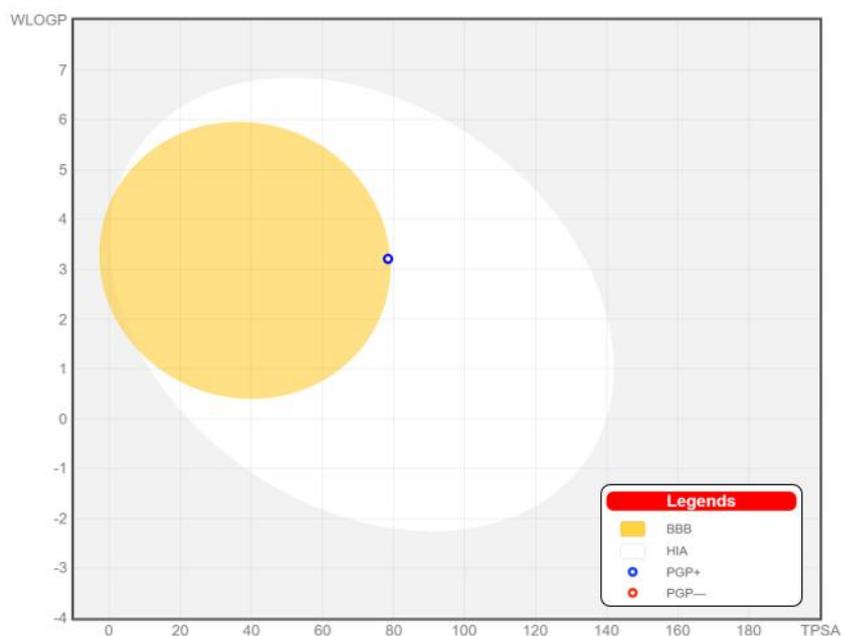


Рисунок 63 — Модель BOILED-Egg для прогнозирования пассивного всасывания **ГКпо 3** в желудочно-кишечном тракте (белая область) и проникновения в головной мозг (желтая область).

Более того, результаты расчета значений основных переменных фармакокинетических характеристик для **ГКпо 3**, представленные в таблице 23, показывают, что данная гидроксамовая кислота в полной мере подчиняется эмпирическому правилу Липински, попадая в диапазон параметров, которыми должно обладать перорально активное лекарственное средство, а также имеет хороший показатель биодоступности (0,6).

Таблица 23 — Параметры ADME и биодоступности гидроксамовой кислоты с бициклическим пинановым остовом, содержащей в составе Сар-группы перилловый фрагмент, **ГКпо 3**

	ММ (г/моль)	ДВС	АВС	ОППП	Log $P_{o/w}$	БД
ГКпо 3	354,4	3	3	78,4 Å ²	2,7	0,6

Сокращения: ММ - молекулярная масса (меньше 500 дальтон); ДВС — количество доноров водородных связей (не более 5); АВС — количество акцепторов водородных связей (не более 10); ОППП — общая площадь полярной поверхности (не более 150); Log $P_{o/w}$ — коэффициент разделения октанол-вода (не более 5); БД — оценка биодоступности.

Мы также получили радарный график биодоступности исследуемого соединения, который отображает оценку соответствия **ГКпо 3** критериям drug-likeness (рисунок 64) по шести ключевым физико-химическим свойствам, включая липофильность (XLOGP3 от -0,7 до +5,0), размер (молекулярная масса от 150 до 500 г/моль), полярность (TPSA от 20 до 130 Å²), растворимость (log S не выше 6), насыщение (доля углеродов в sp³ гибридизации не менее 0,25) и конформационную гибкость (не более 9 вращающихся связей).

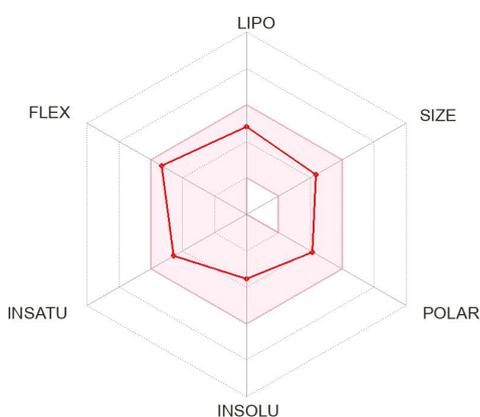


Рисунок 64 — Радарная диаграмма биодоступности гидроксамовой кислоты с бициклическим пинановым остовом, содержащей в составе Сар-группы перилловый фрагмент, **ГКпо 3**. На графике показаны параметры LIPO (липфильность), SIZE (молекулярная масса), POLAR (полярность), INSOLU (нерастворимость), INSATU (ненасыщенность) и FLEX (конформационная гибкость). Окрашенная розовым цветом зона показывает идеальные значения пероральной биодоступности, красная линия показывает непосредственно результат для исследованного соединения.

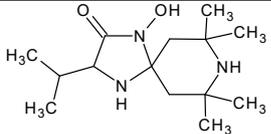
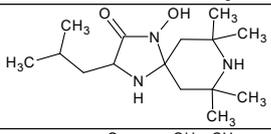
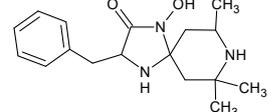
Было обнаружено, что **ГКпо 3** по всем параметрам входит в радиолокационную окрашенную зону, отражающую надлежащие физико-химические характеристики, которыми должно обладать биодоступное лекарственное средство. Иными словами, исходя из полученных данных, представленных в таблице 23 и на рисунках 63, 64 можно предположить, что гидроксамовая кислота **ГКпо 3** обладает хорошими свойствами ADME и высокой биодоступностью.

В совокупности наши результаты продемонстрировали способность эффективного ингибитора гистондеацетилазы 1 и модулятора гликолитической функции с перспективным фармакокинетическим профилем — гидроксамовой кислоты **ГКпо 3** — усиливать цитотоксичность цисплатина и ресенсибилизировать устойчивые к цитостатику клетки карциномы шейки матки человека, что позволяет рассматривать применение соединений данного класса в качестве результативного метода преодоления лекарственной устойчивости при терапии злокачественных новообразований.

3.3.5.3. Spirocyclic hydroxamic acids

Еще одной интересной группой веществ среди всех гидроксамовых кислот были спироциклические гидроксамовые кислоты, включающие в качестве одного из фармакофоров остатки различных аминокислот. Наиболее перспективные молекулы представлены в таблице 24. Для данных веществ характерно наличие HDAC 1 ингибирующей активности, Fe(II)-хелатирующего действия и способности ускорять Ca²⁺-индуцированную деграцию митохондрий (ускорение «набухания» органелл и потерю целостности митохондриальной мембраны) (Mishchenko et al., 2018; Неганова и др., 2016; Выстороп и др., 2021).

Таблица 24 — Результаты, полученные на раннем скрининговом этапе для соединений-хитов среди 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

Сокращения: В-во — исследуемое вещество. ПОЛ (Fe²⁺) — ингибирование перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, инициированного ионами двухвалентного железа. ХА — Fe²⁺-хелатирующая активность. Свеллинг — максимальная скорость «набухания» митохондрий. Все данные представлены в виде процента активности относительно контроля при концентрации вещества 100 мкМ. HDAC1 — ингибирование гистоновых деацетилаз 1 изоформы при концентрации вещества 100 мкМ. Символ «-» свидетельствует об отсутствии активности.

Способность фрагмента гидроксамовой кислоты эффективно координировать металлы переходной валентности, такие как Zn и Fe, широко использовалась для разработки ингибиторов, нацеленных на различные металлосодержащие ферменты (Chen et al., 2019b). Примерами таких молекулярных мишеней могут служить гистоновые деацетилазы, содержащие ионы цинка в каталитическом центре (Linciano et al., 2021), ферменты семейства металлопротеиназ, которые являются цинк- и кальций-зависимыми эндопептидазами, участвующими в ремоделировании внеклеточного матрикса (Skiles et al., 2001), и фермент 5-липоксигеназа (5-LO), который действует как медиатор воспалительных иммунных реакций и требует Fe(III) для каталитической активности (Chen et al., 2019b). Таким образом, соединения, способные к хелатированию биологически значимых металлов, могут иметь перспективы при разработке потенциальных препаратов для

лечения различных патологических состояний человека, и в частности, онкологических заболеваний.

В связи с этим, обнаруженные у соединений-хитов **СцГК 3**, **СцГК 4** и **СцГК 5** выраженные Fe(II)-хелатирующие свойства привлекли наше внимание как положительное фармакологическое свойство для будущего потенциального противоопухолевого агента. Дополнительно мы провели эксперименты по установлению зависимости эффекта от концентрации вещества. Было показано, что с увеличением концентрации соединения увеличивается и хелатирующая активность гидроксамовых кислот. Величина EC_{50} , рассчитанная для **СцГК 3**, **СцГК 4** и **СцГК 5** не превышала 16 мкМ (рисунок 65).

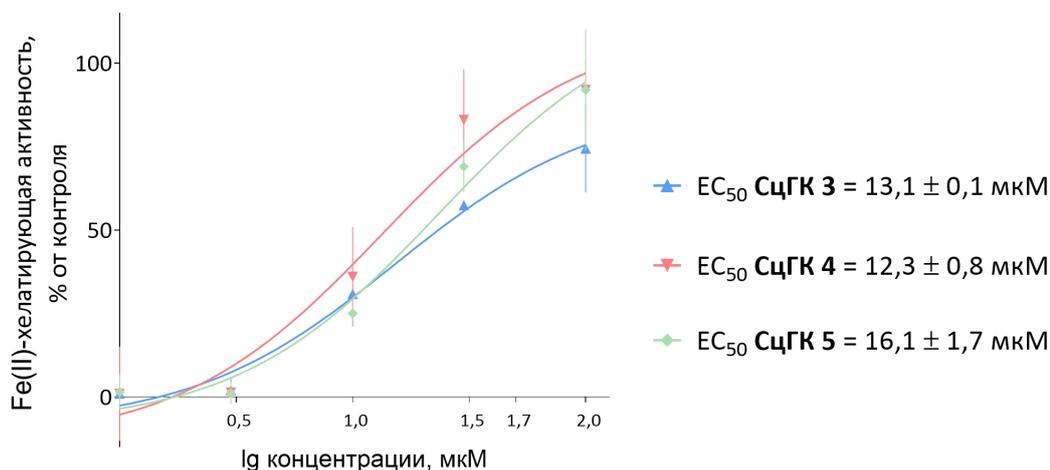


Рисунок 65 — Зависимость Fe(II)-хелатирующей активности от концентрации исследуемых соединений (от 3 мкМ до 100 мкМ) и расчет величин EC_{50} . Концентрация Fe (II) составляла 500 мкМ.

Наиболее специфическим свойством гидроксамовых кислот является ингибирование ферментов HDACs, которые несут важную роль в эпигенетической регуляции транскрипции генов.

Несмотря на то, что синтезированные **СцГК 3**, **СцГК 4** и **СцГК 5** не были так эффективны по отношению к HDAC 1, как известные гидроксамовые кислоты, данные вещества демонстрирует селективность действия, так как при исследовании влияния производных на HDAC 6 активности обнаружено не было. Более того, при увеличении концентрации

соединения ингибирование HDAC 1 заметно возрастало и достигало почти 50% при 200 мкМ (рисунок 66). Полученные данные делают эти вещества интересными для дальнейших более детальных исследований.

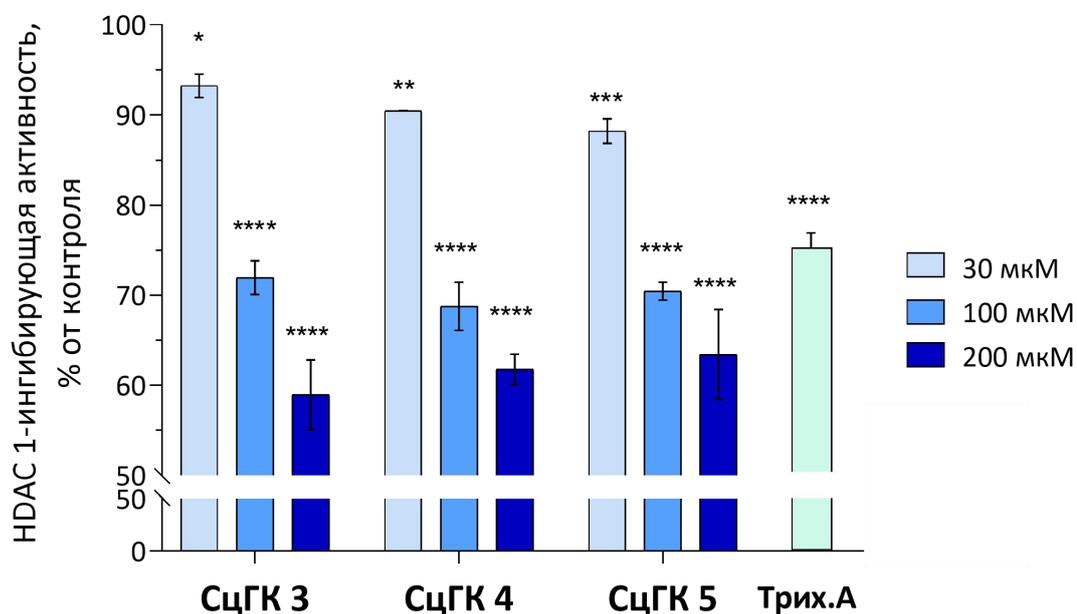


Рисунок 66 — Ингибирование HDAC1 соединениями-хитами **СцГК 3**, **СцГК 4** и **СцГК 5** (30 мкМ, 100 мкМ и 200 мкМ) и трихостатина А (Трих. А) — 50 нМ. Данные представлены как среднее \pm SEM (n = 3). * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 и **** p < 0,0001 по сравнению с контролем (принятым за 100%). Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Данные клинических испытаний показали, что ингибиторы HDAC являются эффективными противоопухолевыми агентами в качестве монотерапии, но обладают широким рядом серьезных побочных эффектов, что ограничивает широкое применение этих препаратов. И в настоящее время наиболее популярными схемами лечения являются сочетания гидроксаматов с другими противоопухолевыми препаратами (Dokmanovic et al., 2007; Mutule et al., 2015).

Основной посыл данного адьювантного подхода заключается в снижении применяемой дозы высокоэффективных алкилирующих агентов, например циклофосфана или других цитостатиков, за счет влияния

гидроксамовых кислот на гистоновые деацетилазы, ингибирование которых приводит к более открытой конформации хроматина и повышению чувствительности опухолевых клеток к ДНК-алкилирующим химиотерапевтическим средствам, что приводит к остановке клеточного цикла и апоптозу (Thakur et al., 2022).

Так как тестируемые соединения **СцГК 3**, **СцГК 4** и **СцГК 5** не проявили собственного цитотоксического действия по отношению к опухолевым клеткам линии HeLa (рисунок 67 а), SH-SY5Y и здоровой клеточной линии Нек-293, дальнейшее исследование противоопухолевого потенциала **СцГК** проходило в рамках изучения возможного хемосенсибилизирующего действия гидроксамовых кислот с применяемым в клинике цитостатиком Циклофосфаном (ЦФ).

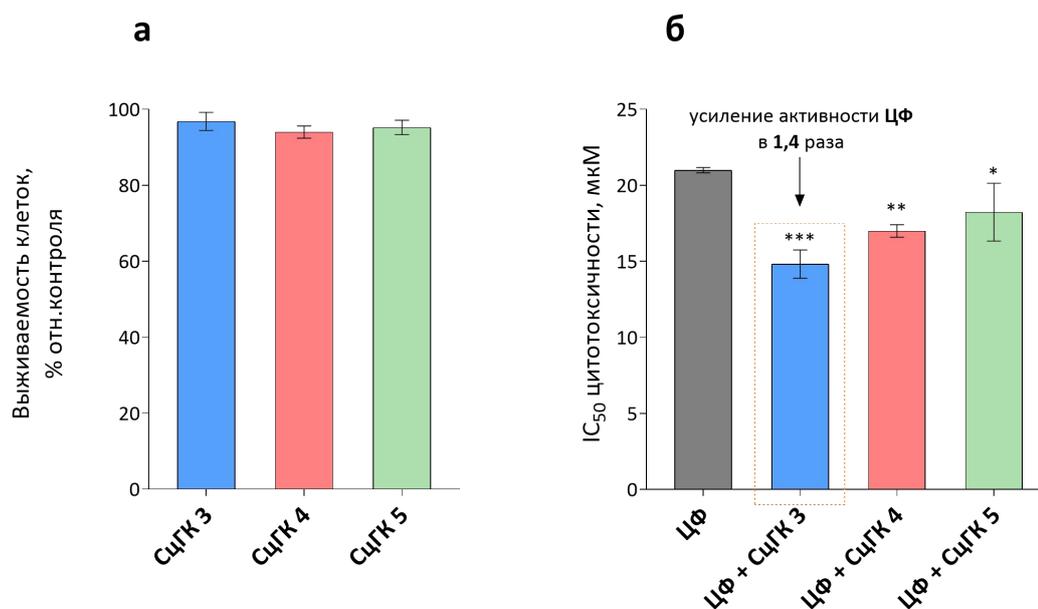


Рисунок 67 — Влияние веществ **СцГК 3**, **СцГК 4** и **СцГК 5** на а - выживаемость (100 мкМ) клеток HeLa и б - их хемосенсибилизирующая активность (100 мкМ) в комбинации с известным цитостатиком циклофосфамидом (**ЦФ**, от 1 до 100 мкМ). *, **, ***, $p < 0,05$, $p < 0,01$ и $p < 0,001$, по сравнению с **ЦФ**. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

Для определения адьювантного действия гидроксамовых кислот **СцГК 3**, **СцГК 4** и **СцГК 5** на клеточной модели в сочетании с цитостатиком алкилирующего действия циклофосфамидом соединения в концентрации 100

мкМ и ЦФ (от 0,1 до 100 мкМ) инкубировали с клетками HeLa (карцинома шейки матки) в течение 24 часов. Полученные данные показали, что IC₅₀ для циклофосфана у клеток, дополнительно обработанных гидроксамовыми кислотами, снижалась в 1,4; 1,2 и 1,2 раза для **СцГК 3**, **СцГК 4** и **СцГК 5**, соответственно (рисунок 67 б).

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

Изначально мы исследовали острую токсичность *in vivo* **СцГК 3**. Для этого были использованы клинически здоровые мыши линии BDF1, для которых характерна повышенная выживаемость при проведении химиотерапевтических экспериментов. Наблюдение за животными с целью учета гибели и оценки общего клинического состояния проводилось после однократного введения водного раствора в течение первых 30 минут, затем – с интервалом 1 час в течение 4 часов, далее – ежедневно один раз в день в течение 14 дней. Для расчёта терапевтической дозы гидроксамовой кислоты были определены величины ЛД₅₀ (доза, вызывающая гибель 50% животных).

Внутрибрюшинное введение **СцГК 3** вызывало 100% гибель животных в дозе 900 мг/кг, а значение величины ЛД₅₀ составило 750 мг/кг, что позволило отнести его к III классу опасности (умеренно опасные вещества, ГОСТ 12.1.007–76).

Исследование хемосенсибилизирующей активности спироциклической гидроксамовой кислоты, полученной на основе 1-бензилпиперид-4-она с валиновым заместителем **СцГК 3**, проводили в комбинации с известными противоопухолевыми цитостатиком алкилирующего действия циклофосфамидом в низкой субтерапевтической дозе (1/10) на модели

экспериментальной перевиваемой опухоли мышей — меланомы В16. Опухоль трансплантировали согласно стандартной методике подкожно (инокулум: $5 \cdot 10^6$ клеток, $V = 0,3 \text{ см}^3$). Циклофосфамид и соединение **СцГК 3** вводили в виде водных растворов внутривенно. Дозы и режимы введения указаны на рисунке 68 а.

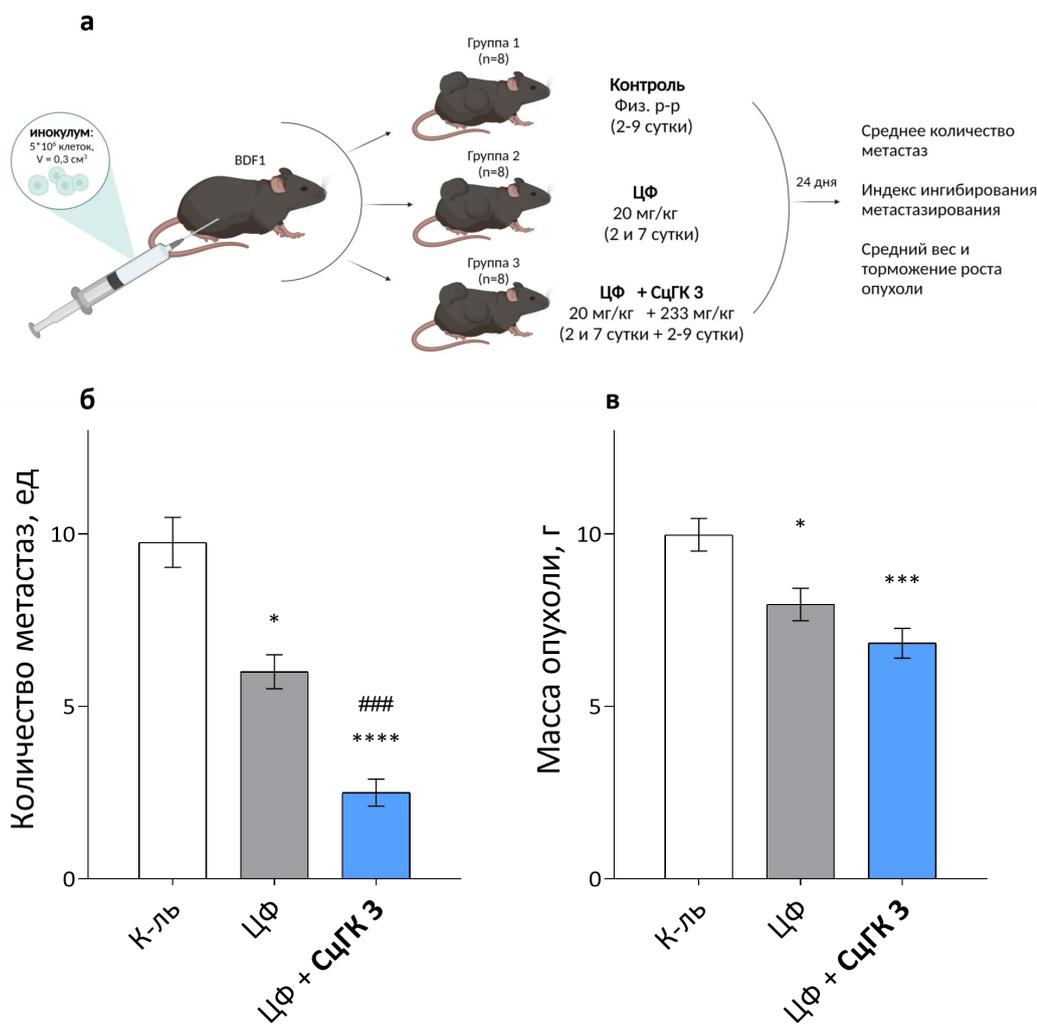


Рисунок 68 — Антиметастатический и противоопухолевый потенциал спироциклической гидроксамовой кислоты валинового ряда **СцГК 3** на модели меланомы В16. а — схема введения веществ и формирования групп животных. б — влияние **СцГК 3** на количество метастаз в легких мышей. в — влияние **СцГК 3** на массу перевиваемой опухоли. Данные представлены как среднее \pm SEM ($n = 8$). * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ и **** $p < 0,0001$ по сравнению с контролем (К-ль), ### - $p < 0,001$ по отношению к ЦФ. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующими тестами множественного сравнения Даннета.

В качестве критериев эффективности противоопухолевой терапии были использованы следующие показатели: среднее количество метастаз, индекс ингибирования метастазирования, средний вес и торможение роста опухоли.

Как показано на рисунке 68 б, при терапии циклофосфамидом было выявлено достоверное снижение количества метастаз, а применение комбинированной химиотерапии цитостатика с гидроксамовой кислотой **СцГК 3** привело к двукратному увеличению данного показателя. Подобный эффект был обнаружен и при анализе показателей, связанных непосредственно с опухолью. Так, терапия опухоли меланомы В16 низкотоксичной **СцГК 3** в комбинации с циклофосфамидом 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 68 в).

Таким образом, в ходе исследования потенциальной противоопухолевой активности синтезированной циклической гидроксамовой кислоты валинового ряда **СцГК 3** была обнаружена адьювантная способность у данного вещества, что выражалось в повышении чувствительности экспериментальной перевиваемой опухоли меланомы В16 к действию циклофосфамида – известного цитостатика алкилирующего действия, использованного в субтерапевтической дозе, проявляя тем самым хемосенсибилизирующие свойства.

3.4. Составление и хемоинформационный анализ аннотированной базы данных, содержащей комплексную информацию о соединениях и их влиянии на биохимические каскады, вовлечённые в ранние стадии развития нейродегенеративных и онкологических заболеваний

3.4.1. Структура аннотированной базы

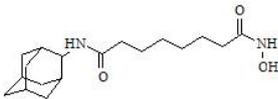
Аннотированная база представляет собой информационную матрицу, содержащую комплексное описание физико-химических свойств молекулярного объекта и его разносторонней биологической активности.

Для создания базы данных использовали программу ChemoSoft (CheD). На рисунке 69 представлен пример визуализации данных для одной конкретной молекулы.

Logical No.	Mark	Brutto-formula	Brutto-formula	Molecular weight	id	id_AU	CHIRAL	COMMENTS
0000086		C19H19Cl2N3O2			OVF-35		False	
0000087		C12H12Cl2N2O2			OVF-37		False	
0000088	▶	C18H30N2O3			Maa-330		False	
0000089		C18H32N2O3			Ms-390		False	

Default

Structure



Brutto-formula
C₁₈H₃₀N₂O₃

Molecular weight
322.45

AA Fe, % 43.00 AA t-BHP, % 21.00 Antiradical, % 20.00 Fe chelation, % 0.00

Depolarization, % 0.00 Swelling, % 0.00 HDAC1 40.00 HDAC6 98.00

Potential neuro 1 Potential anticancer 0 N/A 0

Рисунок 69 — Визуализация содержимого аннотированной базы (пример).

Аннотированная база создавалась с целью удобного и надежного хранения многоплановой информации о биологической активности тестируемых новых веществ, а также для возможности дальнейшего использования данных для проведения виртуального скрининга неизученных соединений.

3.4.2. Поиск и прогнозирование паттернов влияния молекулярных объектов на биохимические каскады на основе анализа информационной матрицы с применением алгоритмов искусственного интеллекта

Виртуальный скрининг — это метод, который используется в химии и фармацевтике для оценки биологической активности химических соединений с использованием компьютерных программ и математических моделей, без необходимости реальных испытаний в лаборатории. Этот метод позволяет исследователям быстро, хотя и в прогностическом режиме, оценивать множество потенциальных соединений на их способность взаимодействовать с биологическими мишенями, такими как рецепторы или ферменты.

Обычно в ходе виртуального скрининга создаются модели активности, которые используются для оценки соединений. Качество таких моделей оценивается путем сопоставления между прогнозируемой и фактической биологической активностью. Для построения моделей используются расчетные дескрипторы, такие как $\log P$ (Kujawski et al., 2012), Tpsa (Prasanna et al., 2009) и многие другие (Danishuddin, 2016). Дескрипторы, полученные на основе физических характеристик и обработанные с использованием математических методов, иногда могут представлять собой абстрактные параметры, которые не имеют непосредственной физико-химической или биологической интерпретации, но при этом они оказываются эффективными в прогнозировании биологической активности.

Виртуальный скрининг позволяет сократить время и затраты, которые обычно связаны с поиском и разработкой новых лекарственных препаратов или биологически активных соединений. Он также позволяет исследователям более широко изучать большое количество потенциальных соединений, что способствует ускорению процесса разработки лекарств и других химических продуктов (Walters et al., 1998; Singh et al., 2021).

Основной операцией в виртуальном скрининге, основанном на информации о пространственной структуре биологической мишени, является молекулярное докирование. Этот метод позволяет реконструировать строение комплекса "лиганд-белок" в трехмерном пространстве и, используя оценочные функции, рассчитать, насколько эффективно лиганд связывается с белком. Из соединений, для которых прогнозируются наиболее высокая эффективность связывания с белком, создается специальная выборка веществ для дальнейших биологических экспериментов. Виртуальный скрининг, основанный на молекулярном докинге, не всегда обеспечивает достаточную точность прогнозирования активности по следующим причинам:

1. Структурная сложность биологических молекул: белки и другие биологические молекулы имеют сложные и конформационно динамичные структуры, и предсказание их взаимодействий с малыми органическими соединениями является очень сложной теоретической и прикладной задачей.

2. Неоднозначность результатов: разные программы могут давать разные результаты молекулярного докинга для одних и тех же молекул, что усложняет интерпретацию данных.

3. Вычислительные ресурсы: вычислительные методы, используемые в молекулярном докинге, могут потреблять большое количество времени и ресурсов, особенно при анализе больших библиотек соединений.

4. Оценка точности: оценка точности предсказаний молекулярного докинга требует экспериментальной проверки, что может быть дорогостоящим и трудоемким процессом.

Применение такого метода описано в нескольких разделах главы 4 настоящей работы. В качестве альтернативных и более быстрых способов виртуального скрининга выступают методы QSAR. QSAR-модели (Quantitative Structure-Activity Relationship) представляют собой математические модели, которые описывают связь между химической структурой молекул, выраженной молекулярными дескрипторами, и их

биологической активностью, физико-химическими, токсическими и иными свойствами. Эти методы находят широкое применение в химической, фармацевтической, биологической и экологической науках. Применение метода позволяет оценить: а) какие структурные элементы молекул влияют на их активность или иные целевые свойства; б) прогнозировать свойства новых химических соединений, не проводя физические эксперименты; в) быстро оценивать наиболее выгодные, с точки зрения теоретически определенной активности, структурные параметры тестируемых молекул.

QSAR-моделирование как подход к виртуальному скринингу также может сталкиваться с рядом проблем, влияющих на качество прогнозирования. Ключевыми проблемами, влияющими на точность QSAR-моделей, являются:

1. Недостаток данных: один из основных факторов, влияющих на точность QSAR, — это недостаточный объем надежных экспериментальных данных, что делает модель неустойчивой и неспособной к адекватному прогнозированию.

2. Несоответствие обучающей и тестовой выборок: если данные, используемые для построения QSAR-модели, сильно отличаются от данных, на которых она тестируется (например, по структурным параметрам), это может привести к недостоверным результатам прогнозирования.

3. Выбор дескрипторов: отбор подходящих дескрипторов для описания молекулы может быть критическим фактором; неадекватные решения способны снизить точность модели.

4. Проблемы валидации: некорректная валидация модели или недостаточное тестирование на новых данных также могут привести к снижению точности.

В данной части работы нами была предпринята попытка разработать достаточно универсальную (с точки зрения структуры оцениваемого соединения) и в тоже время узконаправленную (оценка антиоксидантных параметров) QSAR модель.

Для решения задачи выявления молекул, обладающих способностью ингибировать перекисное окисление липидов, была разработана классификационная QSAR-модель. Необходимость создания именно классификационной, а не регрессионной модели (позволяющей предсказывать непрерывный ряд величин), была обусловлена значительным дисбалансом обучающей выборки в отношении количества активных и неактивных молекул (рисунок 70).

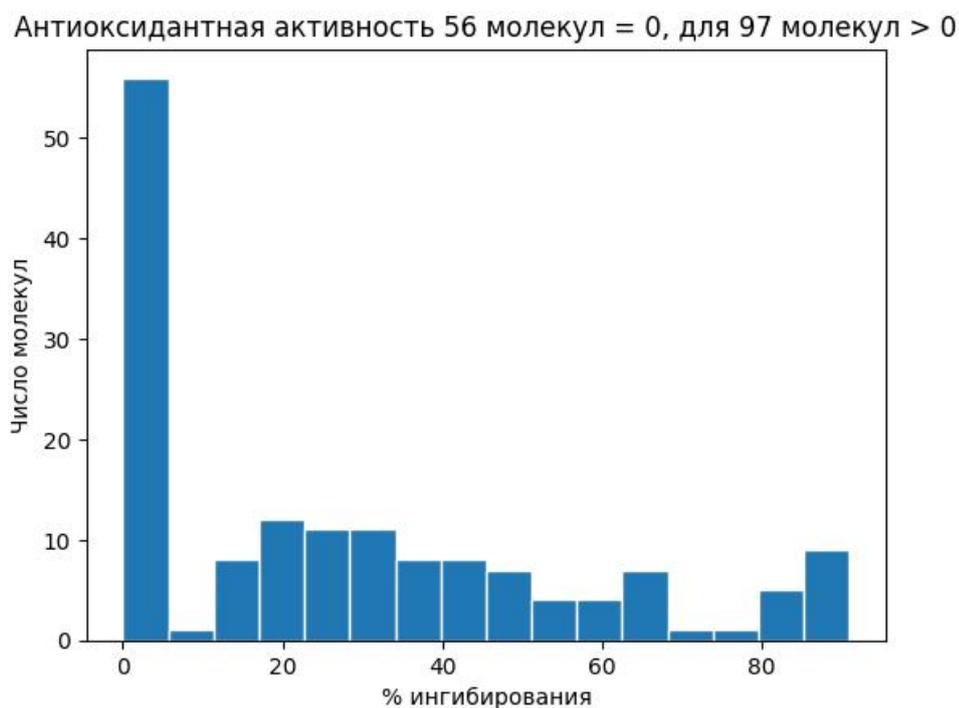


Рисунок 70 — Распределение данных биологической активности из Приложений А и Б.

Для создания модели были использованы химические дескрипторы 2D и 3D DRAGON (Mauri, 2006), полученные из общедоступной базы данных OCHEM (Sushko et al., 2011). Для расчета 3D дескрипторов проводилась оптимизация молекул с использованием программного пакета CORINA. Эти дескрипторы служили в качестве характеристик молекул, на основе которых модель машинного обучения могла проводить классификацию молекул на активные и неактивные по отношению к ингибированию перекисного окисления липидов.

Молекулярные дескрипторы, использованные для построения QSAR-модели, представлены в таблице 25. Рисунок 71 представляет сравнительный вклад указанных дескрипторов в предсказание SAR модели.

Таблица 25 — Дескрипторы для построения QSAR-модели

Название дескриптора	Описание дескриптора	Класс дескриптора
nArOH	Количество ароматических ОН-групп	Количество функциональных групп
SpDiam_X	Спектральный диаметр из матрицы смежности	Дескрипторы на основе 2D-матрицы
SpMax2_Bh(e)	Ведущее собственное значение из матрицы смежности (индекс Ловаша-Пеликана)	
Eig14_EA(dm)	Собственное значение № 14 из матрицы смежности рёбер. Индексы смежности рёбер	
nHM	Количество тяжелых атомов	Конституционные индексы



Рисунок 71 — Численный вклад дескрипторов в предсказание SAR модели.

Для создания модели использовался метод ближайших соседей (k-Nearest Neighbors, KNN), и для выбора наиболее информативных признаков был применен метод последовательного выбора признаков (Sequential Feature Selection, SFS).

KNN — это метод машинного обучения, в котором объект относится к определенному классу на основе того, к какому классу принадлежит большинство его ближайших соседей. Эти соседи определяются в пространстве признаков, и класс объекта определяется на основе классов соседей.

SFS — это алгоритм, который итеративно выбирает наилучшие новые признаки из набора доступных признаков. Этот выбор основан на том, как добавление конкретного признака может максимально улучшить точность

модели при проведении кросс-валидации. Таким образом, SFS помогает определить наиболее важные признаки, способствующие лучшей классификации.

Использование KNN в сочетании с SFS позволяет создать модель машинного обучения, которая учитывает наиболее информативные признаки при классификации объектов в пространстве признаков. Это помогает улучшить способность модели разделять объекты на классы, что может быть важным при определении биологической активности молекул.

Полученная модель была протестирована с использованием кросс-валидации на 10 группах. Метрика точности (accuracy) составила 0.855, что означает корректную классификацию 8-9 молекул из 10 (рисунок 72).

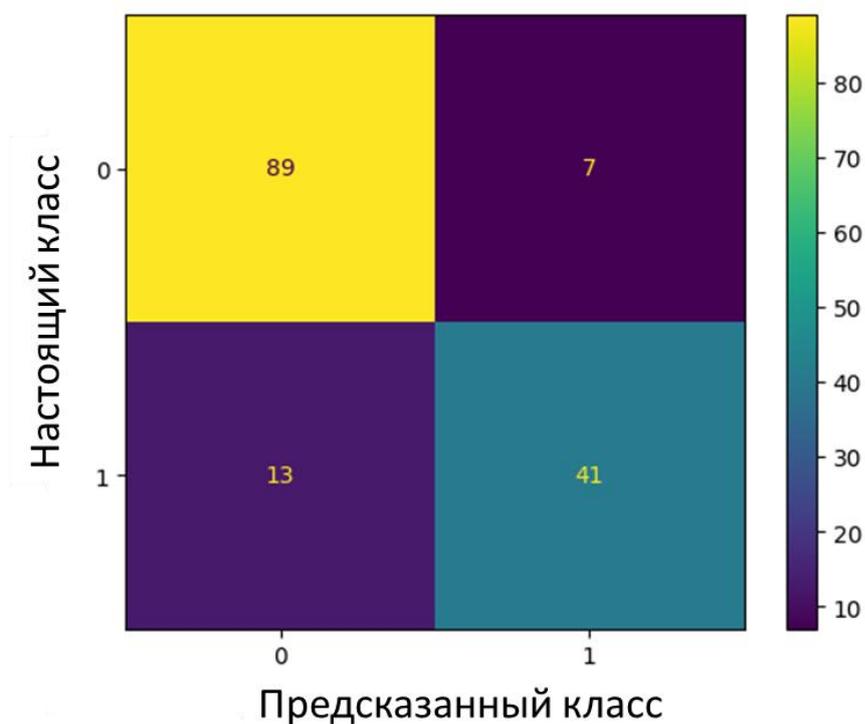


Рисунок 72 — Матрица суммы ошибок при кросс-валидации SAR модели.

Создание регрессионной модели QSAR

Как указано выше, регрессионное моделирование на полной обучающей выборке является проблематичным из-за значительного дисбаланса данных, а именно, неравномерного распределения между активными и неактивными соединениями. Поэтому с целью уточнения прогноза антиоксидантной

активности, на следующем этапе было принято решение детальнее проанализировать вещества, обладающие антиоксидантными свойствами. Для этого в обучающей выборке были оставлены преимущественно соединения, которые имели выраженные антиоксидантные характеристики.

На рисунке 73 изображено реорганизованное распределение использованных для создания модели QSAR данных о биологической активности.

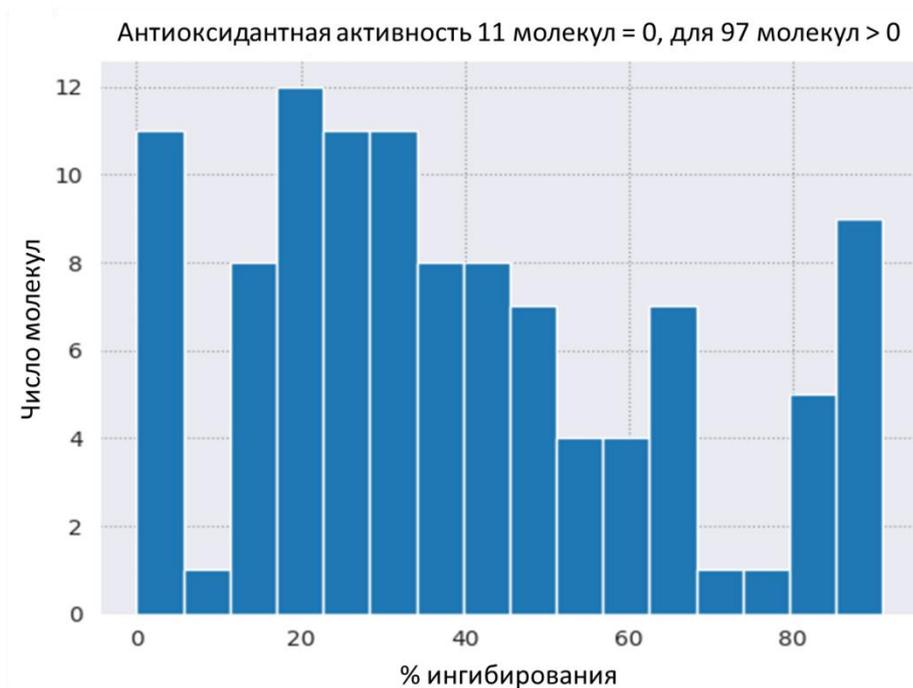


Рисунок 73 — Реорганизованное распределение данных биологической активности из Приложений А и Б.

Следует отметить, что данные были достаточно шумными из-за большого стандартного отклонения в эксперименте, которое могло колебаться в пределах ± 9 мкМ. Это создавало определенные сложности при построении точной регрессионной модели, количественно, а не в классификационном режиме, предсказывающей уровень исследуемого биологического свойства. Наличие такой большой дисперсии усложняло задачу создания надежной и точной модели прогнозирования.

Для создания регрессионной модели были применены два метода: GA-RF и AttentiveFP (рисунок 74 а и б).

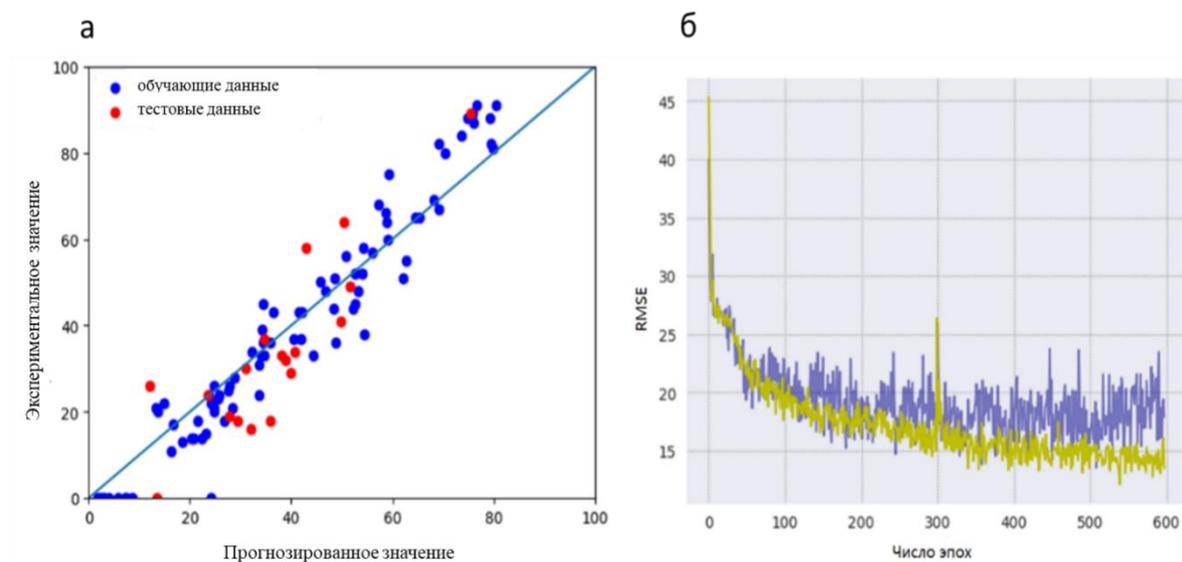


Рисунок 74 — (а) Эксперимент/прогнозирование из случайного разбиения на обучающую и тестовую выборки для модели GA-RF. (б) График обучения графовой нейронной сети AttentiveFP.

При реализации метода GA-RF для выбора наиболее информативных дескрипторов (таблица 26, рисунок 75) в модели был использован генетический алгоритм оптимизации. Генетический алгоритм позволил выбрать наиболее важные признаки, которые были затем использованы в регрессионной модели. Для построения регрессионной модели использовался алгоритм случайного леса (Random Forest). Была выделена валидационная выборка из 5 молекул, которая не использовалась при выборе дескрипторов. Эта выборка служила для оценки точности прогнозирования.

Таблица 26 — Дескрипторы GA-RF QSAR модели

Название дескриптора	Класс дескриптора	Описание дескриптора
H%	Конституционные индексы	Процент атомов водорода
SM5_B	Дескрипторы, основанные на 2D-матрице	Спектральный момент порядка 5 из матрицы Бердена, взвешенный по электроотрицательности Сандерсона
MATS6p	2D автокорреляции	Автокорреляция Морана с лагом 6, взвешенная по поляризуемости
TDB02m	3D автокорреляции	3D дескрипторы, основанные на топологическом расстоянии - лаг 2, взвешенные по массе
Mor05e	Дескрипторы 3D-MoRSE	Сигнал 05 / взвешенный по электроотрицательности Сандерсона
R6v+	Дескрипторы GETAWAY	Максимальная автокорреляция R с лагом 6 / взвешенная по объему ван-дер-Ваальса

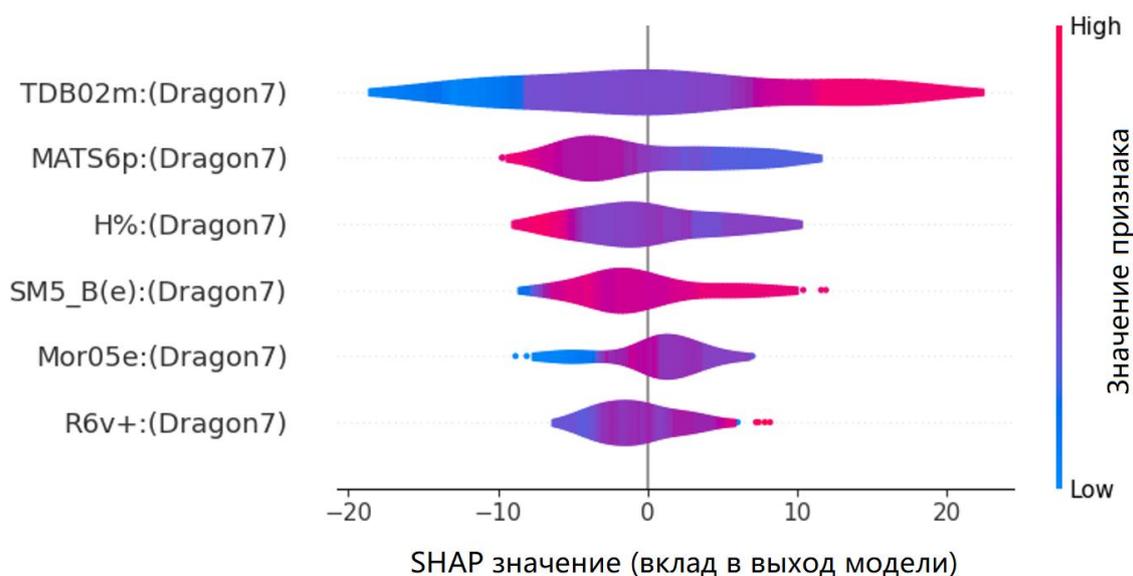


Рисунок 75 — Зависимость выходных значений модели от входных значений дескрипторов

Метод AttentiveFP, который представляет собой графовую нейронную сеть, был использован для сравнения с методом GA-RF. Принципы и особенности метода AttentiveFP описаны в работе (Xiong et al., 2020).

Было проведено сравнение двух моделей (GA-RF и AttentiveFP), чтобы оценить их производительность в задаче регрессии. Для был использован метод кросс-валидации, который позволяет более надежно оценить работу моделей и учесть различия в данных. Процесс кросс-валидации включал

разделение доступных данных на 10 подгрупп. Каждая из этих подгрупп использовалась в качестве тестового набора данных, в то время как оставшиеся девять подгрупп использовались для обучения модели. Следует отметить, что на данном этапе важной задачей является надежная оценка прогностической способности модели. Теоретическая проблема состоит в том, что кросс-валидация дает нам информацию о точности конкретной модели, но не гарантирует, что выбранные дескрипторы будут работать хорошо на других наборах данных. Чтобы учесть этот аспект, мы выделили небольшой валидационный набор данных (оставшиеся девять подгрупп), на котором не производилась оптимизация дескрипторов. Затем мы проанализировали эффективность модели на этом валидационном наборе данных, чтобы убедиться в том, что дескрипторы работают хорошо и на других данных. Этот шаг позволил нам проверить сходимость модели и убедиться, что она не "подгоняется" под тестовые данные.

В случае нейронных сетей такая валидация не требуется, так как они способны генерировать собственные дескрипторы и не зависят от процесса выбора дескрипторов, что исключает возможность подгонки модели под конкретный набор данных.

Такой процесс повторялся 10 раз, при этом каждая подгруппа один раз выступала в роли тестового набора. Это позволило оценить модели на различных подмножествах данных и учесть их обобщающую способность при помощи расчета коэффициента детерминации R^2 и параметра RMSE (рисунок 76; таблица 27).

$$a) R^2 = 1 - \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_i (y_i - \bar{y}_i)^2}, \text{ где } \hat{y}_i = f(x_i)$$

$$б) RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}$$

Рисунок 76 — Уравнения а) для расчета коэффициента детерминации R^2 , б) для расчета корня среднеквадратичной ошибки RMSE (root mean squared error).

Таблица 27 — Значения метрик R^2 и RMSE

Номер группы	модель GA-RF		модель AttentiveFP	
	R^2	RMSE	R^2	RMSE
1	0,794	9,150	0,634	10,856
2	0,493	20,564	0,599	11,361
3	0,564	18,468	0,561	18,697
4	0,753	13,868	0,686	9,572
5	0,678	14,321	0,737	12,207
6	0,283	17,121	0,874	10,912
7	0,697	12,084	0,901	8,567
8	0,720	12,099	0,499	20,388
9	0,420	14,631	0,785	12,291
10	0,730	12,002	0,724	13,998
Среднее значение	0,613	14,794	0,70	12,884

Для модели GA-RF средний R^2 при проведении кросс-валидации составил 0.613, а корень среднеквадратичной ошибки (RMSE) 14.794. Для модели AttentiveFP параметры R^2 и RMSE оказались равными 0.70 и 12.884, соответственно, что указывает на несколько более высокую точность прогнозирования по сравнению с моделью GA-RF.

Также мы проверили точность модели GA-RF на валидационной выборке, которая не участвовала в процессе выбора дескрипторов, чтобы удостовериться, что модель не переобучена на исследуемой выборке. RMSE на валидационной выборке составил 15.136, что в нашем случае является сходящимся результатом.

Можно резюмировать, что в результате выполнения данной части работы нами были разработаны и валидированы две регрессионных QSAR-модели, обученные на наборе данных, полученных из описанной в разделе 3.4.1 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 представляет из себя black-box метод, обладает 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, позволяет быстро и эффективно прогнозировать антиоксидантные свойства новых соединений с точностью, вполне достаточной для практического применения на исследовательском этапе разработки новых антиоксидантных соединений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Взаимосвязь между онкологическими патологиями и нейродегенеративными расстройствами чрезвычайно сложна. Однако за последние годы накопились убедительные научные данные, указывающие на вклад ряда этиологических факторов и патофизиологических процессов в патогенез этих двух кардинально отличающихся между собой заболеваний, продемонстрировав тем самым интригующую взаимосвязь между онкологией и нейродегенерацией.

Существуют критически важные молекулярные механизмы, которые одновременно способствуют развитию и того, и другого типов заболеваний. В итоге в рамках данной гипотезы можно выделить несколько важных моментов.

Концептуальное происхождение термина «окислительный стресс» прослеживается начиная со второй половины прошлого века, когда исследователи задавались вопросами мимолетной природы свободных радикалов и молекулярного хаоса, вызванного их действием. В связи с этим более 50 лет взгляд на окислительный стресс в значительной степени был ориентирован лишь на биологию свободных радикалов, рассматриваемых в качестве триггерных факторов каскада патологических реакций, связанных, главным образом, с процессом старения. За последние годы представление об окислительном стрессе значительно эволюционировало, и на сегодняшний день доказано, что усиление его интенсивности приводит к фатальным последствиям при широком спектре хронических и острых заболеваний, особенно, как бы это ни парадоксально звучало, двух диаметрально разных патологиях — онкологических и нейродегенеративных. Более того, последние 20 лет в фокусе исследовательского внимания находятся наиболее перспективные парадигмы, сосредоточенные на компонентах собственной антиоксидантной системы защиты клетки и внутриклеточных сигнальных

путях, регулирующих продукцию свободных радикалов. В связи с тем, что свободные радикалы являются ключевыми регуляторными факторами в молекулярных механизмах патогенеза злокачественных новообразований и нейродегенеративных расстройств, нацеливание на *различные звенья* окислительного стресса может помочь определить рациональную терапевтическую стратегию, направленную на данные заболевания.

Ещё одной молекулярной детерминантой, имеющей очевидные перекрестные функциональные пути в патогенезе онкологических и нейродегенеративных заболеваний, являются эпигенетические модификации. Можно ли было предположить, что проявленное в середине прошлого века любопытство к ферментативной активности, катализирующей удаление ацетильных групп из гистоновых белков экстракта тимуса телят, спустя более чем 60 лет обернётся колоссальным интересом научного сообщества к области эпигенетики и будет играть критическую роль в понимании патогенетических механизмов различных заболеваний? Благодаря этому на сегодняшний день уже существуют убедительные доказательства того, что ряд паттернов экспрессии различных изоформ HDACs изменён у людей с онкологическими заболеваниями, что играет прямую роль в проявлении многочисленных патологических изменений. В результате таких эпигенетических модификаций неопластическим клеткам удается поддерживать высокопролиферирующий опухолевый фенотип. В то же время существуют безусловные доказательства того, что HDACs регулируют сигнальные каскады, активность генов и уровни экспрессии других молекул, участвующих в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, что также демонстрирует положительные эпидемиологические корреляции между онкологией и нейродегенерацией. В связи с тем, что существует чёткая взаимосвязь между HDACs и патологическим фенотипом при данных заболеваниях человека, лекарственные агенты, которые эффективны в отношении данных ферментов, рассматриваются в качестве инновационных вариантов лечения как для монотерапии, так и в условиях комбинирования с

уже известными препаратами для лечения онкологических и нейродегенеративных расстройств.

Фундаментальное значение в будущих исследованиях при поиске дополнительных биомаркеров и разработке новых терапевтических стратегий для лечения данных заболеваний также имеют нарушения в клеточном метаболизме. Около 30 Нобелевских премий были присуждены за работы, связанные с исследованиями механизмов метаболических реакций, понимание которых за сотни лет (начиная с первого упоминания в работах Ибн аль-Нафиса, XIII век н.э.) расширилось от отдельных ферментов и метаболитов к сложным путям, имеющим тесную взаимосвязь и зависимость друг от друга. Такие открытия позволили произвести четкую детализацию обмена веществ, что помогло понять метаболические изменения при различных заболеваниях человека. На сегодняшний день спектр патологических состояний, которые связаны с нарушениями в процессах гликолиза и окислительного фосфорилирования, описан в большом количестве обзорных и экспериментальных работ. Так, биоэнергетическая гипотеза патогенеза злокачественных новообразований охватывает множество изменённых метаболических путей, которые обеспечивают опухолевые клетки достаточным количеством энергии, необходимой для интенсивной пролиферации и сопротивления апоптозу. Это достигается благодаря свойству метаболической гетерогенности, когда неопластические клетки при продукции АТФ в равной степени ориентируются на аэробный гликолиз и окислительное фосфорилирование. В свою очередь при нейродегенеративных заболеваниях уязвимым местом является митохондриальное дыхание, дисфункция которого описывает последовательные события, приводящие к снижению когнитивных функций, начиная от метаболического дефицита до нейрональной гибели. В связи с этим многогранная модуляция метаболических путей рассматривается в качестве современного терапевтического решения для лечения данных заболеваний.

Таким образом, опираясь на данные теоретические предпосылки, нам удалось усовершенствовать классический вариант системы биотестирования химических соединений, который в основном работает в рамках одного фармацевтического направления, и создать более универсальную интегральную схему, эффективно функционирующую при поиске потенциальных лекарственных препаратов для лечения нейродегенеративных или онкологических заболеваний. Более того, имея в своем исследовательском арсенале синтезированные нашими коллегами уникальные молекулярные объекты различной химической структуры, которые изначально могли бы рассматриваться и как потенциальные антинейродегенеративные, и как противоопухолевые соединения, мы не только показали прикладную эффективность и высокую производительность усовершенствованной системы исследования биологической активности, но и выделили новые перспективные соединения-лидеры среди производных природных соединений и гидроксамовых кислот, которые могут успешно выступать как в качестве самостоятельных фармакологических агентов, так и послужить основой для создания более эффективных аналогов, которые могут быть использованы для лечения нейродегенеративных или онкологических патологий человека.

В ходе работы мы также создали информационный инструмент – аннотированную базу, содержащую теоретическую расчетную информацию о тестируемой молекуле, а также данные, полученные в результате скринингового этапа. В сочетании с современными алгоритмами химической информатики, машинного обучения и молекулярного моделирования, данная информационная матрица открывает новые возможности, отвечающие современным тенденциям в науке и технологическом укладе в целом, связанные с применением искусственного интеллекта для идентификации паттернов биологической активности как среди уже исследованных соединений, так и среди новых, даже еще не синтезированных структур. Еще одним современным высокотехнологичным инструментом, существенно

усилившим возможности по интерпретации полученных биологических результатов, стал молекулярный докинг; с его помощью мы в ряде случаев разработали обоснованные гипотезы о молекулярных механизмах действия исследованных соединений.

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 *пара*-ментанового остова проявляет антиоксидантные и митопротекторные свойства, препятствуя гибели дофаминергических 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 полиалкоксибензолов, 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 6 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-триаза Spiro[4.5]декан-2-она проявляют хемосенсибилизирующую активность к действию циклофосамида 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 СОКРАЩЕНИЙ

- НДЗ – нейродегенеративные заболевания
- HDACs (histone deacetylases) – гистоновые деацетилазы
- FDA (Food and Drug Administration) – Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов
- ZBG (zinc binding group) – цинк-связывающая группа
- HDACi (histone deacetylase inhibitors) – ингибитор HDAC
- IC₅₀ – концентрация полумаксимального ингибирования
- SAHA (suberoyl anilide hydroxamic acid) – субероиланилид гидроксамовой кислоты
- MPP⁺ (1-methyl-4-phenylpyridinium) – 1-метил-4-фенилпиридиний
- EGFR (epidermal growth factor receptor) – рецептор эпидермального фактора роста
- HER2 – тирозиновая протеинкиназа семейства рецепторов эпидермального фактора роста 2
- p53 – белок p53, транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл
- АФК – активные форма кислорода
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- H₂O₂ – пероксид водорода
- ОН[•] – гидроксильный радикал
- ОН⁻ – гидроксид-анион
- МДА – малоновый диальдегид
- 4-HNE – (4-hydroxy-2-nonenal) – 4-гидрокси-транс-2,3-ноненаль
- COX (cyclooxygenase) – циклооксигеназа
- АТФ – аденозинтрифосфат
- SOD – супероксиддисмутаза
- Ψ_m – трансмембранный потенциал митохондрий
- Bcl-2 – внутриклеточный белковый фактор, регулирующий апоптоз

Bax – bcl-2-подобный белок 4, регулирующий апоптоз
м-РНК – матричная рибонуклеиновая кислота
mTOR (the mammalian target of rapamycin) – мишень рапамицина
млекопитающих
НАТ (histone acetyltransferases) – гистонацетилтрансфераза
SIRTs (sirtuins) – сиртуины
NMDA (N-methyl-D-aspartate) – N-метил-D-аспартат
GSH – восстановленная форма глутатиона
ТМПД (TMPD) – N,N,N',N'-тетраметил-п-фенилендиамин дигидрохлорид
ЛД₅₀ – доза вещества, вызывающая гибель половины особей группы
HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) – 4-(2-
гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота
ЭГТА – этиленгликольтетрауксусная кислота
ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота
ТБК – тиобарбитуровая кислота
ПОЛ – перекисное окисление липидов
т-БГП – трет-бутилгидроксипероксид
ДФПГ – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил
2-DG (2-ДГ) – 2-фтор-2-дезоксид-D-глюкоза
PBS (phosphate-buffered saline) – натрий-фосфатный буфер
DMEM (Dulbecco's modified eagle's medium) – модифицированная по
способу Дульбекко питательная среда MEM
RPMI-1640 (Roswell park memorial institute 1640 Medium) – питательная
среда Игла
МТТ – 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид
ДМСО – диметилсульфоксид
ИИМ – индекс ингибирования метастазирования
ЦФ – циклофосфамид
8-OHdG – 8-гидрокси-2-деоксигуанозин
САЗ – собственная антиоксидантная защита

GSSG – окисленная дисульфидная форма глутатиона
PI3K/Akt – сигнальный путь фосфатидинозитол-3-киназы/протеинкиназы В
MAPK – митоген-активируемые протеинкиназы
NF-κB – ядерный фактор активированных В-клеток
IκB – ингибитор белков κB
Nrf2 – фактор-2, связанный с эритроидным ядерным фактором
p27 – ген-супрессор опухоли
JNK – с Jun N терминальные стресс-активируемые киназы
GSK-3β – гликогенсинтаза-3β
VDAC – напряжение-зависимый анион-селективный канал 1
ЛПС – липополисахариды
IL-6 – интерлейкин-6
MAO B – моноаминоксидаза B
CAT – каталаза
БА – болезнь Альцгеймера
БП – болезнь Паркинсона
MPTP – 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин
NAD⁺ – никотинамидадениндинуклеотид
МЛУ – множественная лекарственная устойчивость
P-gp – P-гликопротеин
TLRs – плацебоподобные рецепторы
APP – белок-предшественника β-амилоида
O₂^{•-} – супероксид-анион радикал
ROO[•], RCOO[•] – пероксильные радикалы
¹O₂ – синглетный кислород
NO – оксид азота
ONOO⁻ – пероксинитрит
PCAF – P300/CBP-ассоциированный фактор
NF-Υ – ядерный фактор транскрипции Υ
BCRP – плацентарный белок устойчивости к раку молочной железы

RGS10 – регулятор передачи сигналов G-белка 10
PGE2 – простагландин E2
Oct4 – октамер-связывающий эмбриональный транскрипционный фактор 4
WT1 – ген-супрессор опухоли Вильмса
MYC – онкоген миелоцитоматоза
SOCS1 и SOCS3 - супрессоры передачи сигналов цитокинов 1 и 3
PKM2 – фермент гликолиза пируваткиназы M2
MMP – матриксная металлопротеиназа
FK228 – ромидепсин
PXD101 – белиноостат
LBH 589 – панобиноостат
VEGF – эндотелиальный фактор роста
ИР – инсулинорезистентность
TamR – устойчивость к тамоксифену
NGF – фактор роста нейронов
BDNF – нейротрофический фактор мозга
GDNF – глиальный нейротрофический фактор
MAP2 – белок 2, ассоциированный с микротрубочками
с-Мус – протоонкогенный белок Мус
miR-34a – онкосупрессор
LAMP2 – связанный с лизосомой мембранный белок 2
сGMP/PKG – циклический гуанозинмонофосфат/протеинкиназа G
3-ФГА – глицеральдегид-3-фосфат
НАДН – никотинамидадениндинуклеотид восстановленный
NAD – никотинамидадениндинуклеотид окисленный
ОКСФОС – окислительное фосфорилирование
GLUT – белок-переносчик глюкозы
ОМЛ – острый миелоидный лейкоз
PFKFB3 – ген, кодирующий третью изоформу 6-фосфофрукто-2-киназы
TGFβ1 – эффекторный белок, трансформирующий фактор роста β1

ЦНС – центральная нервная система
Аβ – β-амилоидный пептид
WZB117 – низкомолекулярный ингибитор GLUT1
GL189 – ингибитор β-секретазы
P301L – мутантный тау-белок человека
ЗРО – (2E)-3-(3-пиридинил)-1-(4-пиридинил)-2-пропен-1-он
AAPH – 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорид
BACE1 – фермент-1, расщепляющий β-сайт белка-предшественника амилоида
АХ – ацетилхолин
АХЭ – ацетилхолинэстераза
АХТ – ацетилтиохолин
ДТНБ – 5,5-дитиобис-(2-нитробензойная кислота)
СВЗС – скорость внеклеточного закисления среды
ТН – тирозингидроксилаза
ЧС – черная субстанция
VTA – вентральная область покрышки
GA – генетический алгоритм
SFS – последовательный выбор признаков
ANOVA – однофакторный дисперсионный анализ
ERK – внеклеточная сигнально-регулируемая киназа
ГК – гидроксамовая кислота
СЦГК – спироциклическая гидроксамовая кислота
ГЭБ – гематоэнцефалический барьер
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
Ск – скополамин
СПК – скорость потребления кислорода
PINK1 – PTEN-индуцированная киназа 1
РОТ – ротенон
ТН – тирозингидроксилаза

ИС – индекс селективности

ZnF-UBD – убиквитин-связывающий домен «цинкового пальца – zinc-finger domain»

VMAT – везикулярный транспортёр моноаминов

A β ₁₋₄₂ – патологическая форма β -амилоидного пептида 1-42

АДФ – аденозиндифосфат

HK – гексокиназа

PK – пируваткиназа

TNF- α – фактор некроза опухоли α

ORAC – способность поглощать радикалы кислорода

BMI1 – B-клеточно-специфический сайт интеграции Mo-MLV 1

hTERT – обратная транскриптаза теломеразы человека

HK2 – ген, кодирующий гексокиназу 2

PKM2 – изоформа M2 пируваткиназы

PFK – 6-фосфофрукто-2-киназа

TPSA – топологическая площадь полярной поверхности

5-LO – 5-липоксигеназа

m-CPBA – мета-хлорнадбензойная кислота

RBBP₄ – белок, связывающий гистоны

SOX2 – онкогенный белок

Nanog – транскрипционный фактор, участвующий в самообновлении недифференцированных эмбриональных стволовых клеток

RGS10 – регулятор передачи сигналов G-белка 10

FRET – перенос энергии флуоресцентного резонанса

QSAR – Quantitative Structure-Activity Relationship

SAR – Structure-Activity Relationship

KNN – k-Nearest Neighbors

SFS – Sequential Feature Selection

ЦТК – Цикл трикарбоновых кислот

ФАДН₂ – Флавинадениндинуклеотид

FCCP – Carbonyl cyanide 4-(trifluoromethoxy)phenylhydrazone

ZBD – Zinc-binding domain

Rg3-PTX-LP – Paclitaxel-loaded ginsenoside Rg3 liposomes

Cap – поверхностная группа

CD133 – prominin-1 - membrane glycoprotein

iNOS – Inducible nitric oxide synthase

ГАМК – Гамма-аминомасляная кислота

Клеточные линии

HeLa – карцинома шейки матки человека

SH-SY5Y – нейробластома человека

MDA-MB-231 – аденокарцинома молочной железы

A549 – карцинома лёгкого человека

HCT-116 – аденокарцинома толстого кишечника человека

Jurkat – Т-лимфобластная лейкемия человека

Нер-2 – эпидермоидная карцинома гортани человека

НЕК 293 – клеточная линия, полученная из эмбриональных почек человека

MCF7 – аденокарцинома протоков молочной железы человека

РА-1 – тератокарцинома яичника человека

Caco-2 – непрерывная линия гетерогенных клеток эпителиальной колоректальной аденокарциномы человека

RD – эмбриональная рабдомиосаркома человека

HT-22 – клеточная линия нейронального происхождения с глутамат-вызванной нейротоксичностью

SW480 – аденокарцинома толстой кишки

Panc1 – клеточная линия карциномы поджелудочной железы

A375 – меланома человека

SK-MEL-28 – меланома человека

HGC-27 – опухолевые клетки, полученные из метастатического лимфатического узла карциномы желудка

AGS – атипичные железистые клетки рака желудка
A2780CP – рак яичников
HCT8-R – клеточная линия колоректальной карциномы
LM3-SR – гепатоцеллюлярная карцинома
B16 – меланома мыши
BV2 – клетки микроглии
LNCaP – клеточная линия рака предстательной железы человека
PC-3/R – клеточная линия рака предстательной железы человека
MM.1S – множественная миелома
INA-6 – множественная миелома
T24 – меланома мочевого пузыря
CaSki – эпидермоидная карцинома шейки матки человека
PC12 – феохромоцитомы человека
ME180 – эпидермоидная карцинома человека
SKOV-3/CDDP – устойчивая к цисплатину клеточная линия рака яичников
CWR22 – рак простаты человека

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aarsland, D. Parkinson disease-associated cognitive impairment / D. Aarsland, L. Batzu, G. M. Halliday, G. J. Geurtsen, C. Ballard, K. Ray Chaudhuri, D. Weintraub // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2021. – Vol. 7. – № 1.
2. Abbasi, A. Chemoprevention of Prostate Cancer Cells by Vitamin C plus Quercetin: role of Nrf2 in Inducing Oxidative Stress / A. Abbasi, Z. Mostafavi-Pour, A. Amiri, F. Keshavarzi, N. Nejabat, F. Ramezani, A. Sardarian, F. Zal // *Nutrition and Cancer*. – 2021. – Vol. 73. – № 10. – P. 2003-2013.
3. Abe, C. Current Use of Fenton Reaction in Drugs and Food. Vol. 27 / C. Abe, T. Miyazawa, T. Miyazawa. – MDPI, 2022.
4. Abercrombie, M. Estimation of nuclear population from microtome sections / M. Abercrombie // *The Anatomical Record*. – 1946. – Vol. 94. – № 2. – P. 239-247.
5. Abercrombie, M. Estimation of nuclear population from microtome sections / M. Abercrombie // *Anat Rec*. – 1946. – Vol. 94. – P. 239-247.
6. Adav, S. S. Quantitative profiling brain proteomes revealed mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease / S. S. Adav, J. E. Park, S. K. Sze // *Molecular Brain*. – 2019. – Vol. 12. – № 1.
7. Afergan, E. Delivery of serotonin to the brain by monocytes following phagocytosis of liposomes / E. Afergan, H. Epstein, R. Dahan, N. Koroukhov, K. Rohekar, H. D. Danenberg, G. Golomb // *Journal of Controlled Release*. – 2008. – Vol. 132. – № 2. – P. 84-90.
8. Ahlborg, U. G. Organochlorine compounds in relation to breast cancer, endometrial cancer, and endometriosis: An assessment of the biological and epidemiological evidence / U. G. Ahlborg, L. Lipworth, L. Titus-Ernstoff, C. C. Hsieh, A. Hanberg, J. Baron, D. Trichopoulos, H. O. Adami // *Critical Reviews in Toxicology*. – 1995. – Vol. 25. – № 6. – P. 463-531.
9. Ahn, E. H. Mitochondrial dysfunction triggers the pathogenesis of Parkinson's disease in neuronal C/EBP β transgenic mice / E. H. Ahn, K. Lei, S. S. Kang, Z. H. Wang, X. Liu, W. Hong, Y. T. Wang, L. E. Edgington-Mitchell, L. Jin, K. Ye // *Molecular Psychiatry*. – 2021. – Vol. 26. – № 12. – P. 7838-7850.
10. Ahn, M. Y. Histone deacetylase 8 as a novel therapeutic target in oral squamous cell carcinoma / M. Y. Ahn, J. H. Yoon // *Oncology Reports*. – 2017. – Vol. 37. – № 1. – P. 540-546.
11. Ahulló-Fuster, M. A. The Parietal Lobe in Alzheimer's Disease and Blindness / M. A. Ahulló-Fuster, T. Ortiz, E. Varela-Donoso, J. Nacher, M. L. Sánchez-Sánchez // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2022. – Vol. 89. – № 4. – P. 1193-1202.
12. Åkerman, K. E. O. Safranine as a probe of the mitochondrial membrane potential / K. E. O. Åkerman, M. K. F. Wikström // *FEBS Letters*. – 1976. – Vol. 68. – № 2. – P. 191-197.
13. Akude, E. 4-Hydroxy-2-nonenal induces mitochondrial dysfunction and aberrant axonal outgrowth in adult sensory neurons that mimics features of

- diabetic neuropathy / E. Akude, E. Zherebitskaya, S. K. Roy Chowdhury, K. Girling, P. Fernyhough // *Neurotoxicity research*. – 2010. – Vol. 17. – № 1. – P. 28-38.
14. Alanazi, A. M. Glutathione / A. M. Alanazi, G. A. E. Mostafa, A. A. Al-Badr // *Profiles of drug substances, excipients, and related methodology*. – 2015. – Vol. 40. – P. 43-158.
 15. 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. – Vol. 24. – № 11.
 16. 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. – Vol. 15. – № 20. – P. 4985.
 17. 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. – Vol. 24. – № 6.
 18. 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.
 19. 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. – Vol. 24. – № 19.
 20. Alfaro, C. Interleukin-8 in cancer pathogenesis, treatment and follow-up / C. Alfaro, M. F. Sanmamed, M. E. Rodríguez-Ruiz, Á. Teijeira, C. Oñate, Á. González, M. Ponz, K. A. Schalper, J. L. Pérez-Gracia, I. Melero // *Cancer treatment reviews*. – 2017. – Vol. 60. – P. 24-31.
 21. Ali, T. Natural Dietary Supplementation of Anthocyanins via PI3K/Akt/Nrf2/HO-1 Pathways Mitigate Oxidative Stress, Neurodegeneration, and Memory Impairment in a Mouse Model of Alzheimer's Disease / T. Ali, T. Kim, S. U. Rehman, M. S. Khan, F. U. Amin, M. Khan, M. Ikram, M. O. Kim // *Molecular neurobiology*. – 2018. – Vol. 55. – № 7. – P. 6076-6093.
 22. Almaguel, F. A. Alpha-Enolase: Emerging Tumor-Associated Antigen, Cancer Biomarker, and Oncotherapeutic Target / F. A. Almaguel, T. W. Sanchez, G. L. Ortiz-Hernandez, C. A. Casiano // *Frontiers in genetics*. – 2021. – Vol. 11.
 23. Alvarez, R. Canonical and Non-Canonical Roles of PFKFB3 in Brain Tumors / R. Alvarez, D. Mandal, P. Chittiboina // *Cells*. – 2021. – Vol. 10. – № 11.

24. Amable, L. Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine / L. Amable // *Pharmacological research*. – 2016. – Vol. 106. – P. 27-36.
25. An, J. SPAG5 Activates PI3K/AKT Pathway and Promotes the Tumor Progression and Chemo-Resistance in Gastric Cancer / J. An, L. Yang, Y. Pan, Y. He, H. Xie, Y. Tao, W. Li, Y. Yan, S. Chen, Y. Liu, X. Ma, L. An, D. Ji, Z. Su, J. Sheng // *DNA and cell biology*. – 2022. – Vol. 41. – № 10. – P. 893-902.
26. An, P. HDAC8 promotes the dissemination of breast cancer cells via AKT/GSK-3 β /Snail signals / P. An, F. Chen, Z. Li, Y. Ling, Y. Peng, H. Zhang, J. Li, Z. Chen, H. Wang // *Oncogene*. – 2020. – Vol. 39. – № 26. – P. 4956-4969.
27. Ancey, P. B. GLUT1 Expression in Tumor-Associated Neutrophils Promotes Lung Cancer Growth and Resistance to Radiotherapy / P. B. Ancey, C. Contat, G. Boivin, S. Sabatino, J. Pascual, N. Zangger, J. Y. Perentes, S. Peters, E. Dale Abel, D. G. Kirsch, J. C. Rathmell, M. C. Vozenin, E. Meylan // *Cancer research*. – 2021. – Vol. 81. – № 9. – P. 2345-2357.
28. Anishchenko, M. A. International legal standards for conducting biomedical experiments on animals: status and prospects of development. / M. A. Anishchenko, O. G. Aleksieiev, I. A. Hamburh // *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*. – 2019. – Vol. 72. – № 8. – P. 1582-1585.
29. Antognazza, M. R. Use of Exogenous and Endogenous Photomediators as Efficient ROS Modulation Tools: Results and Perspectives for Therapeutic Purposes / M. R. Antognazza, I. A. Aziz, F. Lodola // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2019. – Vol. 2019. Aoyama, K. Glutathione in the Brain / K. Aoyama // *International journal of molecular sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 9.
30. Aoyama, K. Glutathione in the Brain / K. Aoyama // *International journal of molecular sciences*. – 2021. – Vol. 22. – №9.
31. Arbain, D. The structures of 4-epiphyllanthine, margaritarine and the structural revision of securinol A / D. Arbain, A. A. Girkbeck, L. T. Byrne, M. V. Sargent, B. W. Skelton, A. H. White // *Main Journal of the Chemical Society*. – 1991. – V. 8. – №- P. 1863-1869.
32. Ardanaz, C. G. Brain Metabolic Alterations in Alzheimer's Disease / C. G. Ardanaz, M. J. Ramírez, M. Solas // *International journal of molecular sciences*. – 2022. – Vol. 23. – № 7.
33. Ardashov, O. V. A Novel Small Molecule Supports the Survival of Cultured Dopamine Neurons and May Restore the Dopaminergic Innervation of the Brain in the MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease / O. V. Ardashov, A. V. Pavlova, A. K. Mahato, Y. Sidorova, E. A. Morozova, D. V. Korchagina, G. E. Salnikov, A. M. Genaev, O. S. Patrusheva, N. S. Li-Zhulanov, T. G. Tolstikova, K. P. Volcho, N. F. Salakhutdinov // *ACS chemical neuroscience*. – 2019. – Vol. 10. – № 10. – P. 4337-4349.
34. Ardashov, O. V. Highly potent activity of (1R,2R,6S)-3-methyl-6-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-3-ene-1,2-diol in animal models of Parkinson's disease / O. V. Ardashov, A. V. Pavlova, I. V. Il'ina, E. A. Morozova, D. V. Korchagina, E. V. Karpova, K. P. Volcho, T. G. Tolstikova, N. F. Salakhutdinov // *Journal of medicinal chemistry*. – 2011. – Vol. 54. – № 11. – P. 3866-3874.

35. Arif, M. Evaluation of correlation between expression of P53 and Malondialdehyde levels in prostate cancer patients. / M. Arif, A. Rashid, A. Majeed, F. Qaiser, S. Razak // JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association. – 2018. – Vol. 68. – № 9. – P. 1373-1377.
36. Arora, S. P. Modulation of autophagy: a Phase II study of vorinostat plus hydroxychloroquine versus regorafenib in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer (mCRC) / S. P. Arora, L. Tenner, J. Sarantopoulos, J. Morris, Q. Liu, J. A. Mendez, T. Curiel, J. Michalek, D. Mahalingam // British journal of cancer. – 2022. – Vol. 127. – № 6. – P. 1153-1161.
37. Arslan, M. E. Costunolide and Parthenolide Ameliorate MPP+ Induced Apoptosis in the Cellular Parkinson's Disease Model / M. E. Arslan, H. Türkez, Y. Sevim, H. Selvitopi, A. Kadi, S. Öner, A. Mardinoğlu // Cells. – 2023. – Vol. 12. – № 7.
38. Ashrafian, H. Review on Alzheimer's disease: Inhibition of amyloid beta and tau tangle formation / H. Ashrafian, E. H. Zadeh, R. H. Khan // International journal of biological macromolecules. – 2021. – Vol. 167. – P. 382-394.
39. Assaraf, Y. G. The multi-factorial nature of clinical multidrug resistance in cancer / Y. G. Assaraf, A. Brozovic, A. C. Gonçalves, D. Jurkovicova, A. Linē, M. Machuqueiro, S. Saponara, A. B. Sarmiento-Ribeiro, C. P. R. Xavier, M. H. Vasconcelos // Drug Resistance Updates. – 2019. – Vol. 46.
40. Athaide Rocha, K. M. Assessment of suberoylanilide hydroxamic acid on a Alzheimer's disease model induced by β -amyloid(1-42) in aged female mice: Neuromodulatory and epigenetic effect / K. M. Athaide Rocha, F. R. Machado, M. Poetini, R. Giacomeli, S. P. Boeira, C. R. Jesse, M. Gomes de Gomes // Chemico-Biological Interactions. – 2023. – Vol. 375.
41. Athira, K. V. Repurposing Vorinostat for the Treatment of Disorders Affecting Brain / K. V. Athira, P. Sadanandan, S. Chakravarty // Neuromolecular medicine. – 2021. – Vol. 23. – № 4. – P. 449-465.
42. Averill-Bates, D. A. The antioxidant glutathione / D. A. Averill-Bates // Vitamins and hormones. – 2023. – Vol. 121. – P. 109-141.
43. Babaei, G. Application of sesquiterpene lactone: A new promising way for cancer therapy based on anticancer activity / G. Babaei, A. Aliarab, S. Abroon, Y. Rasmi, S. G. G. Aziz // Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie. – 2018. – Vol. 106. – P. 239-246.
44. Babatunde, B. R. Rotenone induced olfactory deficit in Parkinson's disease rat model: The protective role of adenosine A2A receptors antagonist / B. R. Babatunde, T. A. Adeyeye, V. F. Johnson, P. D. Shallie // Journal of chemical neuroanatomy. – 2023. – Vol. 127.
45. Backos, D. S. The role of glutathione in brain tumor drug resistance / D. S. Backos, C. C. Franklin, P. Reigan // Biochemical pharmacology. – 2012. – Vol. 83. – № 8. – P. 1005-1012.
46. Bai, P. Development of a potential PET probe for HDAC6 imaging in Alzheimer's disease / P. Bai, P. Mondal, F. A. Bagdasarian, N. Rani, Y. Liu, A. Gomm, D. R. Tocci, S. H. Choi, H. Y. Wey, R. E. Tanzi, C. Zhang, C. Wang // Acta pharmaceutica Sinica. B. – 2022. – Vol. 12. – № 10. – P. 3891-3904.

47. Balestrieri, J. V. L. Structural Volume of Hippocampus and Alzheimer's Disease / J. V. L. Balestrieri, M. B. Nonato, L. Gheler, M. N. Prandini // *Revista da Associacao Medica Brasileira* (1992). – 2020. – Vol. 66. – № 4. – P. 512-515.
48. Balmik, A. A. HDAC6 ZnF UBP as the Modifier of Tau Structure and Function / A. A. Balmik, H. Chidambaram, A. Dangi, U. K. Marelli, S. Chinnathambi // *Biochemistry*. – 2020. – Vol. 59. – №48. – P. 4546-4562.
49. Bansal, A. Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance / A. Bansal, M. Celeste Simon // *The Journal of cell biology*. – 2018. – Vol. 217. – № 7. – P. 2291-2298.
50. Bansode, S. B. Molecular investigations of protriptyline as a multi-target directed ligand in Alzheimer's disease / S. B. Bansode, A. K. Jana, K. B. Batkulwar, S. D. Warkad, R. S. Joshi, N. Sengupta, M. J. Kulkarni // *PloS one*. – 2014. – Vol. 9. – № 8.
51. Bardai, F. H. Selective toxicity by HDAC3 in neurons: regulation by Akt and GSK3beta / F. H. Bardai, S. R. D'Mello // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. – 2011. – Vol. 31. – № 5. – P. 1746-1751.
52. Barnabei, L. NF-κB: At the Borders of Autoimmunity and Inflammation / L. Barnabei, E. Laplantine, W. Mbongo, F. Rieux-Laucat, R. Weil // *Frontiers in immunology*. – 2021. – Vol. 12.
53. Bass, A. K. A. Comprehensive review for anticancer hybridized multitargeting HDAC inhibitors / A. K. A. Bass, M. S. El-Zoghbi, E. S. M. Nageeb, M. F. A. Mohamed, M. Badr, G. E. D. A. Abuo-Rahma // *European journal of medicinal chemistry*. – 2021. – Vol. 209.
54. Behera, J. Histone deacetylase inhibitors: a review on class-I specific inhibition / J. Behera, V. Jayaprakash, B. N. Sinha // *Mini reviews in medicinal chemistry*. – 2015. – Vol. 15. – № 9. – P. 731-750.
55. Behl, T. Polyphenols Targeting MAPK Mediated Oxidative Stress and Inflammation in Rheumatoid Arthritis / T. Behl, T. Upadhyay, S. Singh, S. Chigurupati, A. M. Alsubayiel, V. Mani, C. Vargas-De-la-cruz, D. Uivarosan, C. Bustea, C. Sava, M. Stoicescu, A. F. Radu, S. G. Bungau // *Molecules (Basel, Switzerland)*. – 2021. – Vol. 26. – № 21.
56. Bel'Skaya, L. V. Metabolic Features of Saliva in Breast Cancer Patients / L. V. Bel'Skaya, E. A. Sarf, D. V. Solomatin, V. K. Kosenok // *Metabolites*. – 2022. – Vol. 12. – № 2.
57. Benard, A. Nuclear expression of histone deacetylases and their histone modifications predicts clinical outcome in colorectal cancer / A. Benard, I. J. Goossens-Beumer, A. Q. Van Hoesel, H. Horati, W. de Graaf, H. Putter, E. C. M. Zeestraten, G. J. Liefers, C. J. H. Van de Velde, P. J. K. Kuppen // *Histopathology*. – 2015. – Vol. 66. – № 2. – P. 270-282.
58. Beneventano, M. Shedding of Microvesicles from Microglia Contributes to the Effects Induced by Metabotropic Glutamate Receptor 5 Activation on Neuronal Death / M. Beneventano, S. F. Spampinato, S. Merlo, M. Chisari, P. Platania, M. Ragusa, M. Purrello, F. Nicoletti, M. A. Sortino // *Frontiers in pharmacology*. – 2017. – Vol. 8. – № 11.

59. Bergman, O. NDUFV2 pseudogene (NDUFV2P1) contributes to mitochondrial complex I deficits in schizophrenia / O. Bergman, R. Karry, J. Milhem, D. Ben-Shachar // *Molecular psychiatry*. – 2020. – Vol. 25. – № 4. – P. 805-820.
60. Berman, H. M. The Protein Data Bank: a historical perspective / H. M. Berman // *Acta crystallographica. Section A, Foundations of crystallography*. – 2008. – Vol. 64. – № Pt 1. – P. 88-95.
61. Berron, D. Medial temporal lobe connectivity and its associations with cognition in early Alzheimer's disease / D. Berron, D. van Westen, R. Ossenkoppele, O. Strandberg, O. Hansson // *Brain: a journal of neurology*. – 2020. – Vol. 143. – № 4. – P. 1233-1248.
62. Beskow, L. M. Lessons from HeLa Cells: The Ethics and Policy of Biospecimens / L. M. Beskow // *Annual review of genomics and human genetics*. – 2016. – Vol. 17. – P. 395-417.
63. Beutler, J. A. Securinine alkaloids: a new class of GABA receptor antagonist / J. A. Beutler, E. W. Karbon, A. N. Brubaker, R. Malik, D. R. Curtis, S. J. Enna // *Brain research*. – 1985. – Vol. 330. – № 1. – P. 135-140.
64. Beyer, M. HDAC3 Activity is Essential for Human Leukemic Cell Growth and the Expression of β -catenin, MYC, and WT1 / M. Beyer, A. Romanski, A. H. M. Mustafa, M. Pons, I. Büchler, A. Vogel, A. Pautz, A. Sellmer, G. Schneider, G. Bug, O. H. Krämer // *Cancers*. – 2019. – Vol. 11. – № 10.
65. Bhan, A. Long Noncoding RNA and Cancer: A New Paradigm / A. Bhan, M. Soleimani, S. S. Mandal // *Cancer research*. – 2017. – Vol. 77. – № 15. – P. 3965-3981.
66. Binyamin, O. Brain targeting of 9c,11t-Conjugated Linoleic Acid, a natural calpain inhibitor, preserves memory and reduces A β and P25 accumulation in 5XFAD mice / O. Binyamin, K. Nitzan, K. Frid, Y. Ungar, H. Rosenmann, R. Gabizon // *Scientific reports*. – 2020. – Vol. 10. – № 1.
67. Biosa, A. Dopamine Oxidation Products as Mitochondrial Endotoxins, a Potential Molecular Mechanism for Preferential Neurodegeneration in Parkinson's Disease / A. Biosa, I. Arduini, M. E. Soriano, V. Giorgio, P. Bernardi, M. Bisaglia, L. Bubacco // *ACS chemical neuroscience*. – 2018. – Vol. 9. – № 11. – P. 2849-2858.
68. Biswas, P. A Comprehensive Analysis and Anti-Cancer Activities of Quercetin in ROS-Mediated Cancer and Cancer Stem Cells / P. Biswas, D. Dey, P. K. Biswas, T. I. Rahaman, S. Saha, A. Parvez, D. A. Khan, N. J. Lily, K. Saha, M. Sohel, M. M. Hasan, S. Al Azad, S. Bibi, M. N. Hasan, M. Rahmatullah, J. Chun, M. A. Rahman, B. Kim // *International journal of molecular sciences*. – 2022. – Vol. 23. – № 19.
69. Bochevarov, A. D. Multiconformation, Density Functional Theory-Based pKa Prediction in Application to Large, Flexible Organic Molecules with Diverse Functional Groups / A. D. Bochevarov, M. A. Watson, J. R. Greenwood, D. M. Philipp // *Journal of chemical theory and computation*. – 2016. – Vol. 12. – № 12. – P. 6001-6019.

70. Bodenshteyn, T. M. Maspin: molecular mechanisms and therapeutic implications / T. M. Bodenshteyn, R. E. B. Seftor, Z. Khalkhali-Ellis, E. A. Seftor, P. A. Pemberton, M. J. C. Hendrix // *Cancer metastasis reviews*. – 2012. – Vol. 31. – № 3-4. – P. 529-551.
71. Boiarska, Z. Microtubule-targeting agents and neurodegeneration / Z. Boiarska, D. Passarella // *Drug discovery today*. – 2021. – Vol. 26. – № 2. – P. 604-615.
72. Bonora, M. The mitochondrial permeability transition pore and cancer: molecular mechanisms involved in cell death / M. Bonora, P. Pinton // *Frontiers in oncology*. – 2014. – Vol. 4. – № 10.
73. Borland, M. K. Chronic, low-dose rotenone reproduces Lewy neurites found in early stages of Parkinson's disease, reduces mitochondrial movement and slowly kills differentiated SH-SY5Y neural cells / M. K. Borland, P. A. Trimmer, J. D. Rubinstein, P. M. Keeney, K. P. Mohanakumar, L. Liu, J. P. Bennett // *Molecular neurodegeneration*. – 2008. – Vol. 3. – № 1.
74. Bouchez, C. Mitochondrial Biogenesis and Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS): A Complex Relationship Regulated by the cAMP/PKA Signaling Pathway / C. Bouchez, A. Devin // *Cells*. – 2019. – Vol. 8. – № 4.
75. Bowers, Z. Tart Cherry Extract and Omega Fatty Acids Reduce Behavioral Deficits, Gliosis, and Amyloid-Beta Deposition in the 5xFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease / Z. Bowers, P. Maiti, A. Bourcier, J. Morse, K. Jenrow, J. Rossignol, G. L. Dunbar // *Brain sciences*. – 2021. – Vol. 11. – № 11.
76. Boyd, S. Structure-Based Design of Potent and Selective Inhibitors of the Metabolic Kinase PFKFB3 / S. Boyd, J. L. Brookfield, S. E. Critchlow, I. A. Cumming, N. J. Curtis, J. Debreczeni, S. L. Degorce, C. Donald, N. J. Evans, S. Groombridge, P. Hopcroft, N. P. Jones, J. G. Kettle, S. Lamont, H. J. Lewis, P. MacFaull, S. B. McLoughlin, L. J. M. Rigoireau, J. M. Smith et al. // *Journal of medicinal chemistry*. – 2015. – Vol. 58. – № 8. – P. 3611-3625.
77. Bradley, D. Vorinostat in advanced prostate cancer patients progressing on prior chemotherapy (National Cancer Institute Trial 6862): trial results and interleukin-6 analysis: a study by the Department of Defense Prostate Cancer Clinical Trial Consortium and University of Chicago Phase 2 Consortium / D. Bradley, D. Rathkopf, R. Dunn, W. M. Stadler, G. Liu, D. C. Smith, R. Pili, J. Zwiebel, H. Scher, M. Hussain // *Cancer*. – 2009. – Vol. 115. – № 23. – P. 5541-5549.
78. Bradley-Whitman, M. A. Epigenetic changes in the progression of Alzheimer's disease / M. A. Bradley-Whitman, M. A. Lovell // *Mechanisms of ageing and development*. – 2013. – Vol. 134. – № 10. – P. 486-495.
79. Branca, C. Genetic reduction of Nrf2 exacerbates cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease / C. Branca, E. Ferreira, T.-V. Nguyen, K. Doyle, A. Caccamo, S. Oddo // *Human Molecular Genetics*. – 2017. – Vol. 26. – № 24. – P. 4823-4835.
80. Brandão, P. R. P. Cognitive impairment in Parkinson's disease: A clinical and pathophysiological overview / P. R. P. Brandão, R. P. Munhoz, T. C. Grippe, F. E. C. Cardoso, B. M. de Almeida e Castro, R. Titze-de-Almeida, C. Tomaz, M.

- C. H. Tavares // *Journal of the Neurological Sciences*. – 2020. – Vol. 419. – P. 117177.
81. Brieger, K. Reactive oxygen species: from health to disease / K. Brieger, S. Schiavone, J. Miller, K. Krause // *Swiss Medical Weekly*. – 2012.
 82. Brigelius-Flohé, R. Regulatory Phenomena in the Glutathione Peroxidase Superfamily / R. Brigelius-Flohé, L. Flohé // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2020. – Vol. 33. – № 7. – P. 498-516.
 83. Brijmohan, A. S. HDAC6 Inhibition Promotes Transcription Factor EB Activation and Is Protective in Experimental Kidney Disease / A. S. Brijmohan, S. N. Batchu, S. Majumder, T. A. Alghamdi, K. Thieme, S. McGaugh, Y. Liu, S. L. Advani, B. B. Bowskill, M. G. Kabir, L. Geldenhuys, F. S. Siddiqi, A. Advani // *Frontiers in Pharmacology*. – 2018. – Vol. 9.
 84. Brzecka, A. The Association of Sleep Disorders, Obesity and Sleep-Related Hypoxia with Cancer / A. Brzecka, K. Sarul, T. Dylą, 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. – Vol. 21. – № 6. – P. 444-453.
 85. Bukowski, K. Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy / K. Bukowski, M. Kciuk, R. Kontek // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21. – № 9. – P. 3233.
 86. Buravtseva, G. R. Result of application of securinine in acute poliomyelitis. / G. R. Buravtseva // *Farmakologiya i toksikologiya*. – 1958. – Vol. 21. – № 5. – P. 7-12.
 87. Burdelski, O. M. Ruge. HDAC1 overexpression independently predicts biochemical recurrence and is associated with rapid tumor cell proliferation and genomic instability in prostate cancer / C. Burdelski, O. M. Ruge, N. Melling, C. Koop, R. Simon, S. Steurer, G. Sauter, M. Kluth, C. Hube-Magg, S. Minner, C. Wittmer, W. Wilczak, A. Hinsch, P. Lebok, J. R. Izbicki, H. Heinzer, M. Graefen, H. Huland, T. Schlomm et al. // *Experimental and Molecular Pathology*. – 2015. – Vol. 98. – № 3. – P. 419-426.
 88. Butterfield, D. A. Brain lipid peroxidation and alzheimer disease: Synergy between the Butterfield and Mattson laboratories / D. A. Butterfield // *Ageing Research Reviews*. – 2020. – Vol. 64. – P. 101049.
 89. Cacan, E. Inhibition of HDAC1 and DNMT1 Modulate RGS10 Expression and Decrease Ovarian Cancer Chemoresistance / E. Cacan, M. W. Ali, N. H. Boyd, S. B. Hooks, S. F. Greer // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9. – № 1. – P. e87455.
 90. Cacan, E. Histone Deacetylase-1-mediated Suppression of FAS in Chemoresistant Ovarian Cancer Cells. / E. Cacan // *Anticancer research*. – 2016. – Vol. 36. – № 6. – P. 2819-26.
 91. Cai, S. Roles of HDAC2, eIF5, and eIF6 in Lung Cancer Tumorigenesis / S. Cai, W. Chen, W. Zeng, X. Cheng, M. Lin, J. Wang // *Current Medical Science*. – 2021. – Vol. 41. – № 4. – P. 764-769.

92. Caines, J. K. The Use of Seahorse XF Assays to Interrogate Real-Time Energy Metabolism in Cancer Cell Lines / J. K. Caines, D. A. Barnes, M. D. Berry. – 2022. – P. 225-234.
93. Caito, S. W. Quantification of Glutathione in *Caenorhabditis elegans* / S. W. Caito, M. Aschner // Current Protocols in Toxicology. – 2015. – Vol. 64. – № 1.
94. Calkins, M. J. Amyloid beta impairs mitochondrial anterograde transport and degenerates synapses in Alzheimer's disease neurons / M. J. Calkins, P. H. Reddy // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease. – 2011. – Vol. 1812. – № 4. – P. 507-513.
95. Callens, M. The role of Bcl-2 proteins in modulating neuronal Ca²⁺ signaling in health and in Alzheimer's disease / M. Callens, N. Kraskovskaya, K. Derevtsova, W. Annaert, G. Bultynck, I. Bezprozvanny, T. Vervliet // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research. – 2021. – Vol. 1868. – № 6. – P. 118997.
96. Canpolat, T. Glut-1 expression in proliferative endometrium, endometrial hyperplasia, endometrial adenocarcinoma and the relationship between glut-1 expression and prognostic parameters in endometrial adenocarcinoma / T. Canpolat, C. Ersoz, A. Uguz, M. A. Vardar, A. Altintas // Turkish Journal of Pathology. – 2016.
97. Cao, L.-L. Histone deacetylase HDAC1 expression correlates with the progression and prognosis of lung cancer / L.-L. Cao, X. Song, L. Pei, L. Liu, H. Wang, M. Jia // Medicine. – 2017. – Vol. 96. – № 31. – P. e7663.
98. Cao, W. CUDC-101 as a dual-target inhibitor of EGFR and HDAC enhances the anti-myeloma effects of bortezomib by regulating G2/M cell cycle arrest / W. Cao, S. Yao, A. Li, H. Chen, E. Zhang, L. Cao, J. Zhang, Y. Hou, Z. Dai, J. Chen, X. Huang, L. Yang, Z. Cai // Journal of Zhejiang University-SCIENCE B. – 2023. – Vol. 24. – № 5. – P. 442-454.
99. Carmichael, K. Function and Regulation of ALDH1A1-Positive Nigrostriatal Dopaminergic Neurons in Motor Control and Parkinson's Disease / K. Carmichael, R. C. Evans, E. Lopez, L. Sun, M. Kumar, J. Ding, Z. M. Khaliq, H. Cai // Frontiers in Neural Circuits. – 2021. – Vol. 15.
100. Caron, C. Regulatory cross-talk between lysine acetylation and ubiquitination: role in the control of protein stability / C. Caron, C. Boyault, S. Khochbin // BioEssays. – 2005. – Vol. 27. – № 4. – P. 408-415.
101. Carreño, D. Fructose and prostate cancer: toward an integrated view of cancer cell metabolism / D. Carreño, N. Corro, V. Torres-Estay, L. P. Véliz, R. Jaimovich, P. Cisternas, I. F. San Francisco, P. C. Sotomayor, M. Tanasova, N. C. Inestrosa, A. S. Godoy // Prostate Cancer and Prostatic Diseases. – 2019. – Vol. 22. – № 1. – P. 49-58.
102. Carvalho, K. C. VGLUT1 expression in malignant tumors and its use as an immunodiagnostic marker / K. C. Carvalho, I. W. Cunha, R. M. Rocha, F. R. Ayala, M. M. Cajaíba, M. D. Begnami, R. S. Vilela, G. R. Paiva, R. G. Andrade, F. A. Soares // Clinics. – 2011. – Vol. 66. – № 6. – P. 965-972.
103. Cavallini, C. Low catalase expression confers redox hypersensitivity and identifies an indolent clinical behavior in CLL / C. Cavallini, R. Chignola, I.

- Dando, O. Perbellini, E. Mimiola, O. Lovato, C. Laudanna, G. Pizzolo, M. Donadelli, M. T. Scupoli // *Blood*. – 2018. – Vol. 131. – № 17. – P. 1942-1954.
104. Chakrabarti, S. Oxidative Stress and Neuroinflammation in Parkinson's Disease: The Role of Dopamine Oxidation Products / S. Chakrabarti, M. Bisaglia // *Antioxidants*. – 2023. – Vol. 12. – № 4. – P. 955.
105. Chakraborti, S. Regulation of matrix metalloproteinases: an overview / S. Chakraborti, M. Mandal, S. Das, A. Mandal, T. Chakraborti // *Molecular and Cellular Biochemistry*. – 2003. – Vol. 253. – № 1/2. – P. 269-285.
106. Chan, E. Phase I trial of vorinostat added to chemoradiation with capecitabine in pancreatic cancer / E. Chan, L. R. Arlinghaus, D. B. Cardin, L. Goff, J. D. Berlin, A. Parikh, R. G. Abramson, T. E. Yankeelov, S. Hiebert, N. Merchant, S. Bhaskara, A. B. Chakravarthy // *Radiotherapy and Oncology*. – 2016. – Vol. 119. – № 2. – P. 312-318.
107. Chang, P. The Role of HDAC6 in Autophagy and NLRP3 Inflammasome / P. Chang, H. Li, H. Hu, Y. Li, T. Wang // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12.
108. Chang, C.-H. ROS and TGFβ: from pancreatic tumour growth to metastasis / C.-H. Chang, S. Pauklin // *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. – 2021. – Vol. 40. – № 1. – P. 152.
109. Chang, H.-C. SIRT1 and other sirtuins in metabolism / H.-C. Chang, L. Guarente // *Trends in Endocrinology & Metabolism*. – 2014. – Vol. 25. – № 3. – P. 138-145.
110. Chatterjee, P. Cancer Cell Metabolism Featuring Nrf2 / P. Chatterjee, M. Yadav, N. Chauhan, Y. Huang, Y. Luo // *Current Drug Discovery Technologies*. – 2020. – Vol. 17. – № 3. – P. 263-271.
111. Chelakkot, C. Modulating Glycolysis to Improve Cancer Therapy / C. Chelakkot, V. S. Chelakkot, Y. Shin, K. Song // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 3. – P. 2606.
112. Chen, A. Y. Targeting Metalloenzymes for Therapeutic Intervention / A. Y. Chen, R. N. Adamek, B. L. Dick, C. V. Credille, C. N. Morrison, S. M. Cohen // *Chemical Reviews*. – 2019. – Vol. 119. – № 2. – P. 1323-1455.
113. Chen, C. Histone deacetylases inhibitor trichostatin A increases the expression of Dleu2/miR-15a/16-1 via HDAC3 in non-small cell lung cancer / C. Chen, C. Chen, J. Chen, L. Zhou, H. Xu, W. Jin, J. Wu, S. Gao // *Molecular and Cellular Biochemistry*. – 2013. – Vol. 383. – № 1-2. – P. 137-148.
114. Chen, G.-Q. Artemisinin compounds sensitize cancer cells to ferroptosis by regulating iron homeostasis / G.-Q. Chen, F. A. Benthani, J. Wu, D. Liang, Z.-X. Bian, X. Jiang // *Cell Death & Differentiation*. – 2020. – Vol. 27. – № 1. – P. 242-254.
115. Chen, H. HDAC11, an emerging therapeutic target for metabolic disorders / H. Chen, C. Xie, Q. Chen, S. Zhuang // *Frontiers in Endocrinology*. – 2022. – Vol. 13.
116. Chen, J. HDAC8 Promotes Liver Metastasis of Colorectal Cancer via Inhibition of IRF1 and Upregulation of SUCNR1 / J. Chen, L. Cao, J. Ma, C.

- Yue, D. Zhu, R. An, X. Wang, Y. Guo, B. Gu // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2022. – Vol. 2022. – P. 1-23.
117. Chen, J. Shikonin and its analogs inhibit cancer cell glycolysis by targeting tumor pyruvate kinase-M2 / J. Chen, J. Xie, Z. Jiang, B. Wang, Y. Wang, X. Hu // *Oncogene*. – 2011. – Vol. 30. – № 42. – P. 4297-4306.
118. Chen, Q. Blockade of GLUT1 by WZB117 resensitizes breast cancer cells to adriamycin / Q. Chen, Y.-Q. Meng, X.-F. Xu, J. Gu // *Anti-Cancer Drugs*. – 2017. – Vol. 28. – № 8. – P. 880-887.
119. Chen, S. S. Gene polymorphisms of SOCS1 and SOCS2 and acute lymphoblastic leukemia / S. S. Chen, W. Z. Wu, Y. P. Zhang, W. J. Huang // *European review for medical and pharmacological sciences*. – 2020. – Vol. 24. – № 10. – P. 5564-5572.
120. Chen, S. Suberoylanilide hydroxamic acid, a histone deacetylase inhibitor, protects dopaminergic neurons from neurotoxin-induced damage / S. Chen, H. Wu, B. Ossola, N. Schendzielorz, B. Wilson, C. Chu, S. Chen, Q. Wang, D. Zhang, L. Qian, X. Li, J. Hong, R. Lu // *British Journal of Pharmacology*. – 2012. – Vol. 165. – № 2. – P. 494-505.
121. Chen, S.-H. HDAC1,2 Knock-Out and HDACi Induced Cell Apoptosis in Imatinib-Resistant K562 Cells / S.-H. Chen, J.-M. Chow, Y.-Y. Hsieh, C.-Y. Lin, K.-W. Hsu, W.-S. Hsieh, W.-M. Chi, B. M. Shabangu, C.-H. Lee // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – Vol. 20. – № 9. – P. 2271.
122. Chen, T. Quercetin inhibits TNF- α induced HUVECs apoptosis and inflammation via downregulating NF- κ B and AP-1 signaling pathway in vitro / T. Chen, X. Zhang, G. Zhu, H. Liu, J. Chen, Y. Wang, X. He // *Medicine*. – 2020. – Vol. 99. – № 38. – P. e22241.
123. Chen, X. Constitutively active Akt is an important regulator of TRAIL sensitivity in prostate cancer / X. Chen, H. Thakkar, F. Tyan, S. Gim, H. Robinson, C. Lee, S. K. Pandey, C. Nwokorie, N. Onwudiwe, R. K. Srivastava // *Oncogene*. – 2001. – Vol. 20. – № 42. – P. 6073-6083.
124. Chen, X. Identification of a novel GLUT1 inhibitor with in vitro and in vivo anti-tumor activity / X. Chen, Y. Zhao, C. He, G. Gao, J. Li, L. Qiu, X. Wang, Y. Gao, Y. Qi, K. Sun, J. Du // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2022. – Vol. 216. – P. 768-778.
125. Chen, Y. Recent advances in biosensor for histone acetyltransferase detection / Y. Chen, Y. Zhou, H. Yin // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2021. – Vol. 175. – P. 112880.
126. Cheong, C.-S. Protective Effects of Costunolide against Hydrogen Peroxide-Induced Injury in PC12 Cells / C.-U. Cheong, C.-S. Yeh, Y.-W. Hsieh, Y.-R. Lee, M.-Y. Lin, C.-Y. Chen, C.-H. Lee // *Molecules*. – 2016. – Vol. 21. – № 7. – P. 898.
127. Cheung, J. Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands / J. Cheung, M. J. Rudolph, F. Burshteyn, M. S. Cassidy, E. N. Gary, J. Love, M. C. Franklin, J. J. Height // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2012. – Vol. 55. – № 22. – P. 10282-10286.

128. Chirkin, E. The Securinega Alkaloids / E. Chirkin, W. Atkatlian, F.-H. Porée. – 2015. – P. 1-120.
129. Chiurchiù, V. Is Modulation of Oxidative Stress an Answer? The State of the Art of Redox Therapeutic Actions in Neurodegenerative Diseases / V. Chiurchiù, A. Orlacchio, M. Maccarrone // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2016. – Vol. 2016. – P. 1-11.
130. Choi, H. Acetylation changes tau interactome to degrade tau in Alzheimer's disease animal and organoid models / H. Choi, H. J. Kim, J. Yang, S. Chae, W. Lee, S. Chung, J. Kim, H. Choi, H. Song, C. K. Lee, J. H. Jun, Y. J. Lee, K. Lee, S. Kim, H. Sim, Y. Il Choi, K. H. Ryu, J. Park, D. Lee [et al.] // *Aging Cell*. – 2020. – Vol. 19. – № 1.
131. Choi, Y.-J. Investigation of Molecular Mechanisms Involved in Sensitivity to the Anti-Cancer Activity of Costunolide in Breast Cancer Cells / Y.-J. Choi, Y. K. Choi, S.-G. Ko, C. Cheon, T. Y. Kim // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 4. – P. 4009.
132. Choi, B.-H. The multifaceted role of NRF2 in cancer progression and cancer stem cells maintenance / B.-H. Choi, J. M. Kim, M.-K. Kwak // *Archives of Pharmacal Research*. – 2021. – Vol. 44. – № 3. – P. 263-280.
133. Christidi, E. Regulated cell death pathways in doxorubicin-induced cardiotoxicity / E. Christidi, L. R. Brunham // *Cell Death & Disease*. – 2021. – Vol. 12. – № 4. – P. 339.
134. Cimdins, K. Amyloid Precursor Protein Mediates Neuronal Protection from Rotenone Toxicity / K. Cimdins, H. S. Waugh, V. Chrysostomou, M. I. G. Lopez Sanchez, V. A. Johannsen, M. J. Cook, J. G. Crowston, A. F. Hill, J. A. Duce, A. I. Bush, I. A. Trounce // *Molecular Neurobiology*. – 2019. – Vol. 56. – № 8. – P. 5471-5482.
135. Ciscato, F. Hexokinase 2 in Cancer: A Prima Donna Playing Multiple Characters / F. Ciscato, L. Ferrone, I. Masgras, C. Laquatra, A. Rasola // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 9. – P. 4716.
136. Clem, S. Small-molecule inhibition of 6-phosphofructo-2-kinase activity suppresses glycolytic flux and tumor growth / B. Clem, S. Telang, A. Clem, A. Yalcin, J. Meier, A. Simmons, M. A. Rasku, S. Arumugam, W. L. Dean, J. Eaton, A. Lane, J. O. Trent, J. Chesney // *Molecular Cancer Therapeutics*. – 2008. – Vol. 7. – № 1. – P. 110-120.
137. Cobanoglu, U. Erythrocyte catalase and carbonic anhydrase activities in lung cancer. / U. Cobanoglu, H. Demir, M. Duran, A. Şehitogullari, D. Mergan, C. Demir // *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. – 2010. – Vol. 11. – № 5. – P. 1377-82.
138. Copley, J. N. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress / J. N. Copley, M. L. Fiorello, D. M. Bailey // *Redox Biology*. – 2018. – Vol. 15. – P. 490-503.
139. Connor-Robson, N. Combinational losses of synucleins reveal their differential requirements for compensating age-dependent alterations in motor behavior and dopamine metabolism / N. Connor-Robson, O. M. Peters, S.

- Millership, N. Ninkina, V. L. Buchman // *Neurobiology of Aging*. – 2016. – Vol. 46. – P. 107-112.
140. Conte, M. Targeting HDAC2-Mediated Immune Regulation to Overcome Therapeutic Resistance in Mutant Colorectal Cancer / M. Conte, A. Di Mauro, L. Capasso, L. Montella, M. De Simone, A. Nebbioso, L. Altucci // *Cancers*. – 2023. – Vol. 15. – № 7. – P. 1960.
141. Cook, C. Loss of HDAC6, a novel CHIP substrate, alleviates abnormal tau accumulation / C. Cook, T. F. Gendron, K. Scheffel, Y. Carlomagno, J. Dunmore, M. DeTure, L. Petrucelli // *Human Molecular Genetics*. – 2012. – Vol. 21. – № 13. – P. 2936-2945.
142. Copperman, R. From Asia securinine--a central nervous stimulant is used in treatment of amyotrophic lateral sclerosis. / R. Copperman, G. Copperman, A. Der Marderosian // *Pennsylvania medicine*. – 1973. – Vol. 76. – № 1. – P. 36-41.
143. Couto, N. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network / N. Couto, J. Wood, J. Barber // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2016. – Vol. 95. – P. 27-42.
144. Crnic, L. S. Transgenic and Null Mutant Animals for Psychosomatic Research / L. S. Crnic // *Psychosomatic Medicine*. – 1996. – Vol. 58. – № 6. – P. 622-632.
145. Cruceriu, D. The dual role of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in breast cancer: molecular insights and therapeutic approaches / D. Cruceriu, O. Baldasici, O. Balacescu, I. Berindan-Neagoe // *Cellular Oncology*. – 2020. – Vol. 43. – № 1. – P. 1-18.
146. Cuadrado-Tejedor, M. Concomitant histone deacetylase and phosphodiesterase 5 inhibition synergistically prevents the disruption in synaptic plasticity and it reverses cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease / M. Cuadrado-Tejedor, C. Garcia-Barroso, J. Sanchez-Arias, S. Mederos, O. Rabal, A. Ugarte, R. Franco, M. Pascual-Lucas, V. Segura, G. Perea, J. Oyarzabal, A. Garcia-Osta // *Clinical Epigenetics*. – 2015. – Vol. 7. – № 1. – P. 108.
147. Cui, Q. Modulating ROS to overcome multidrug resistance in cancer / Q. Cui, J.-Q. Wang, Y. G. Assaraf, L. Ren, P. Gupta, L. Wei, C. R. Ashby, D.-H. Yang, Z.-S. Chen // *Drug Resistance Updates*. – 2018. – Vol. 41. – P. 1-25.
148. Curry, E. A. Phase I dose escalation trial of feverfew with standardized doses of parthenolide in patients with cancer / E. A. Curry, D. J. Murry, C. Yoder, K. Fife, V. Armstrong, H. Nakshatri, M. O'Connell, C. J. Sweeney // *Investigational New Drugs*. – 2004. – Vol. 22. – № 3. – P. 299-305.
149. Curtabbi, A. The ins and outs of the flavin mononucleotide cofactor of respiratory complex I / A. Curtabbi, J. A. Enríquez // *IUBMB Life*. – 2022. – Vol. 74. – № 7. – P. 629-644.
150. D'Anneo, A. Parthenolide generates reactive oxygen species and autophagy in MDA-MB231 cells. A soluble parthenolide analogue inhibits tumour growth and metastasis in a xenograft model of breast cancer / A. D'Anneo, D. Carlisi, M. Lauricella, R. Puleio, R. Martinez, S. Di Bella, P. Di Marco, S. Emanuele, R. Di

- Fiore, A. Guercio, R. Vento, G. Tesoriere // *Cell Death & Disease*. – 2013. – Vol. 4. – № 10. – P. e891-e891.
151. Dai, Y. Shikonin inhibited glycolysis and sensitized cisplatin treatment in non-small cell lung cancer cells via the exosomal pyruvate kinase M2 pathway / Y. Dai, Y. Liu, J. Li, M. Jin, H. Yang, G. Huang // *Bioengineered*. – 2022. – Vol. 13. – № 5. – P. 13906-13918.
152. Dan Dunn, J. Reactive oxygen species and mitochondria: A nexus of cellular homeostasis / J. Dan Dunn, L. A. Alvarez, X. Zhang, T. Soldati // *Redox Biology*. – 2015. – Vol. 6. – P. 472-485.
153. Dandawate, P. R. Targeting cancer stem cells and signaling pathways by phytochemicals: Novel approach for breast cancer therapy / P. R. Dandawate, D. Subramaniam, R. A. Jensen, S. Anant // *Seminars in Cancer Biology*. – 2016. – Vols. 40-41. – P. 192-208.
154. Danishuddin. Descriptors and their selection methods in QSAR analysis: paradigm for drug design / Danishuddin, A. U. Khan // *Drug Discovery Today*. – 2016. – Vol. 21. – № 8. – P. 1291-1302.
155. Das, T. Episodic recognition memory and the hippocampus in Parkinson's disease: A review / T. Das, J. J. Hwang, K. L. Poston // *Cortex*. – 2019. – Vol. 113. – P. 191-209.
156. David, D. C. Proteomic and Functional Analyses Reveal a Mitochondrial Dysfunction in P301L Tau Transgenic Mice / D. C. David, S. Hauptmann, I. Scherping, K. Schuessel, U. Keil, P. Rizzu, R. Ravid, S. Dröse, U. Brandt, W. E. Müller, A. Eckert, J. Götz // *Journal of Biological Chemistry*. – 2005. – Vol. 280. – № 25. – P. 23802-23814.
157. Davies, D. A. Role of Nrf2 in Synaptic Plasticity and Memory in Alzheimer's Disease / D. A. Davies, A. Adlimoghaddam, B. C. Albeni // *Cells*. – 2021. – Vol. 10. – № 8. – P. 1884.
158. Dawood, M. Molecular docking-based virtual drug screening revealing an oxofluorenyl benzamide and a bromonaphthalene sulfonamido hydroxybenzoic acid as HDAC6 inhibitors with cytotoxicity against leukemia cells / M. Dawood, M. Elbadawi, M. Böckers, G. Bringmann, T. Efferth // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2020. – Vol. 129. – P. 110454.
159. De Souza, C. HDAC Inhibitors as Novel Anti-Cancer Therapeutics / C. De Souza, B. P. Chatterji // *Recent Pat Anticancer Drug Discov*. – 2015. – Vol. 10. – №2. – P. 145-62.
160. Deak, F. Recent Developments in Understanding Brain Aging: Implications for Alzheimer's Disease and Vascular Cognitive Impairment / F. Deak, W. M. Freeman, Z. Ungvari, A. Csiszar, W. E. Sonntag // *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. – 2016. – Vol. 71. – № 1. – P. 13-20.
161. Degirmenci, U. Targeting Aberrant RAS/RAF/MEK/ERK Signaling for Cancer Therapy / U. Degirmenci, M. Wang, J. Hu // *Cells*. – 2020. – Vol. 9. – № 1. – P. 198.

162. Delgado-García, J. M. Learning as a Functional State of the Brain: Studies in Wild-Type and Transgenic Animals / J. M. Delgado-García, A. Gruart. – 2017. – P. 75-93.
163. Demirci-Çekiç, S. Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense / S. Demirci-Çekiç, G. Özkan, A. N. Avan, S. Uzunboy, E. Çapanoğlu, R. Apak // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2022. – Vol. 209. – P. 114477.
164. Deng, L.-J. Natural products and their derivatives: Promising modulators of tumor immunotherapy / L.-J. Deng, M. Qi, N. Li, Y.-H. Lei, D.-M. Zhang, J.-X. Chen // Journal of Leukocyte Biology. – 2020. – Vol. 108. – № 2. – P. 493-508.
165. Deng, R. HDAC is indispensable for IFN- γ -induced B7-H1 expression in gastric cancer / R. Deng, P. Zhang, W. Liu, X. Zeng, X. Ma, L. Shi, T. Wang, Y. Yin, W. Chang, P. Zhang, G. Wang, K. Tao // Clinical Epigenetics. – 2018. – Vol. 10. – № 1. – P. 153.
166. Deng, Y. Clinicopathological and prognostic significance of GLUT1 in breast cancer / Y. Deng, J. Zou, T. Deng, J. Liu // Medicine. – 2018. – Vol. 97. – № 48. – P. e12961.
167. Deng, D. GLUT, SGLT, and SWEET: Structural and mechanistic investigations of the glucose transporters / D. Deng, N. Yan // Protein Science. – 2016. – Vol. 25. – № 3. – P. 546-558.
168. Deng, Y. Targeting hexokinase 2 in castration-resistant prostate cancer / Y. Deng, J. Lu // Molecular & Cellular Oncology. – 2015. – Vol. 2. – № 3. – P. e974465.
169. Dent, E. W. Of microtubules and memory: implications for microtubule dynamics in dendrites and spines / E. W. Dent // Molecular Biology of the Cell. – 2017. – Vol. 28. – № 1. – P. 1-8.
170. Devi, L. Cognitive benefits of memantine in Alzheimer's 5XFAD model mice decline during advanced disease stages / L. Devi, M. Ohno // Pharmacology Biochemistry and Behavior. – 2016. – Vol. 144. – P. 60-66.
171. Diebold, L. Mitochondrial ROS regulation of proliferating cells / L. Diebold, N. S. Chandel // Free Radical Biology and Medicine. – 2016. – Vol. 100. – P. 86-93.
172. Dillioglulil, M. O. Blood and tissue nitric oxide and malondialdehyde are prognostic indicators of localized prostate cancer / M. O. Dillioglulil, H. Mekik, B. Muezzinoglu, T. A. Ozkan, C. G. Demir, O. Dillioglulil // International Urology and Nephrology. – 2012. – Vol. 44. – № 6. – P. 1691-1696.
173. Ding, S. HDAC1 regulates the chemosensitivity of laryngeal carcinoma cells via modulation of interleukin-8 expression / S. Ding, Z. Tang, Y. Jiang, P. Luo, B. Qing, Y. Wei, S. Zhang, R. Tang // European Journal of Pharmacology. – 2021. – Vol. 896. – P. 173923.
174. Djordjevic, J. Early Onset of Sex-Dependent Mitochondrial Deficits in the Cortex of 3xTg Alzheimer's Mice / J. Djordjevic, S. Roy Chowdhury, W. M. Snow, C. Perez, C. Cadonic, P. Fernyhough, B. C. Albensi // Cells. – 2020. – Vol. 9. – № 6. – P. 1541.

175. do Val Carneiro, J. L. Plasma malondialdehyde levels and CXCR4 expression in peripheral blood cells of breast cancer patients / J. L. do Val Carneiro, S. L. Nixdorf, M. S. Mantovani, A. C. da Silva do Amaral Herrera, M. N. Aoki, M. K. Amarante, B. A. Fabris, M. H. Pelegrinelli Fungaro, M. A. Ehara Watanabe // *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. – 2009. – Vol. 135. – № 8. – P. 997-1004.
176. Dodiya, H. B. Chronic stress-induced gut dysfunction exacerbates Parkinson's disease phenotype and pathology in a rotenone-induced mouse model of Parkinson's disease / H. B. Dodiya, C. B. Forsyth, R. M. Voigt, P. A. Engen, J. Patel, M. Shaikh, S. J. Green, A. Naqib, A. Roy, J. H. Kordower, K. Pahan, K. M. Shannon, A. Keshavarzian // *Neurobiology of Disease*. – 2020. – Vol. 135. – P. 104352.
177. Dokmanovic, M. Histone Deacetylase Inhibitors: Overview and Perspectives / M. Dokmanovic, C. Clarke, P. A. Marks // *Molecular Cancer Research*. – 2007. – Vol. 5. – № 10. – P. 981-989.
178. Dong, C. Activation of PI3K/AKT/mTOR Pathway Causes Drug Resistance in Breast Cancer / C. Dong, J. Wu, Y. Chen, J. Nie, C. Chen // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – Vol. 12.
179. Dong, Y. Global Metabolic Shifts in Age and Alzheimer's Disease Mouse Brains Pivot at NAD⁺/NADH Redox Sites / Y. Dong, G. J. Brewer // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2019. – Vol. 71. – № 1. – P. 119-140.
180. Driver, J. A. Inverse association between cancer and Alzheimer's disease: results from the Framingham Heart Study / J. A. Driver, A. Beiser, R. Au, B. E. Kreger, G. L. Splansky, T. Kurth, D. P. Kiel, K. P. Lu, S. Seshadri, P. A. Wolf // *BMJ*. – 2012. – Vol. 344. – № 1. – P. e1442-e1442.
181. Drozd-Afelt, J. M. Analysis of oxidative stress indicators in Polish patients with prostate cancer / J. M. Drozd-Afelt, B. B. Koim-Puchowska, P. Kaminski // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2022. – Vol. 29. – № 3. – P. 4632-4640.
182. Du, D. Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation / D. Du, X. Wang-Kan, A. Neuberger, H. W. van Veen, K. M. Pos, L. J. V. Piddock, B. F. Luisi // *Nature Reviews Microbiology*. – 2018. – Vol. 16. – № 9. – P. 523-539.
183. Du, H. Cyclophilin D deficiency rescues A β -impaired PKA/CREB signaling and alleviates synaptic degeneration / H. Du, L. Guo, X. Wu, A. A. Sosunov, G. M. McKhann, J. X. Chen, S. S. Yan // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. – 2014. – Vol. 1842. – № 12. – P. 2517-2527.
184. Du, X. Overexpression of Histone Deacetylase 2 Predicts Unfavorable Prognosis in Human Gallbladder Carcinoma / X. Du, H. Zhao, L. Zang, N. Song, T. Yang, R. Dong, J. Yin, C. Wang, J. Lu // *Pathology & Oncology Research*. – 2013. – Vol. 19. – № 3. – P. 397-403.
185. Du, Y. NF- κ B mediates amyloid β peptide-stimulated activity of the human apolipoprotein E gene promoter in human astroglial cells / Y. Du, X. Chen, X. Wei, K. R. Bales, D. T. Berg, S. M. Paul, M. R. Farlow, B. Maloney, Y.-W. Ge, D. K. Lahiri // *Molecular Brain Research*. – 2005. – Vol. 136. – № 1-2. – P. 177-188.

186. Duan, H. HDAC1 was involved in placental breast cancer resistance protein regulation in vitro: A preliminary study / H. Duan, K. Zhou, Y. Zhang, P. Yue, T. Wang, Y. Li, D. Qiu, Y. Hua, C. Wang // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2019. – Vol. 23. – № 8. – P. 5818-5821.
187. DuBois, S. G. Phase I Study of Vorinostat as a Radiation Sensitizer with ¹³¹I-Metaiodobenzylguanidine (¹³¹I-MIBG) for Patients with Relapsed or Refractory Neuroblastoma / S. G. DuBois, S. Groshen, J. R. Park, D. A. Haas-Kogan, X. Yang, E. Geier, E. Chen, K. Giacomini, B. Weiss, S. L. Cohn, M. M. Granger, G. A. Yanik, R. Hawkins, J. Courtier, H. Jackson, F. Goodarzian, H. Shimada, S. Czarnecki, D. Tsao-Wei et al. // *Clinical Cancer Research*. – 2015. – Vol. 21. – № 12. – P. 2715-2721.
188. DuBois, S. G. Randomized Phase II Trial of MIBG Versus MIBG, Vincristine, and Irinotecan Versus MIBG and Vorinostat for Patients With Relapsed or Refractory Neuroblastoma: A Report From NANT Consortium / S. G. DuBois, M. M. Granger, S. Groshen, D. Tsao-Wei, L. Ji, A. Shamirian, S. Czarnecki, F. Goodarzian, R. Berkovich, H. Shimada, J. G. Villablanca, K. T. Vo, N. Pinto, Y. P. Mosse, J. M. Maris, S. Shusterman, S. L. Cohn, K. C. Goldsmith, B. Weiss et al. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2021. – Vol. 39. – № 31. – P. 3506-3514.
189. Dzinic, S. H. Tumor suppressor maspin as a modulator of host immune response to cancer / S. H. Dzinic, M. M. Bernardo, D. S. M. Oliveira, M. Wahba, W. Sakr, S. Sheng // *Biomolecules and Biomedicine*. – 2015. – Vol. 15. – № 4. – P. 1-6.
190. Echtay, K. S. A signalling role for 4-hydroxy-2-nonenal in regulation of mitochondrial uncoupling / K. S. Echtay // *The EMBO Journal*. – 2003. – Vol. 22. – № 16. – P. 4103-4110.
191. Edderkaoui, M. HDAC3 mediates smoking-induced pancreatic cancer / M. Edderkaoui, S. Xu, C. Chheda, S. Morvaridi, R. W. Hu, P. J. Grippo, E. Mascariñas, D. R. Principe, B. Knudsen, J. Xue, A. Habtezion, D. Uyeminami, K. E. Pinkerton, S. J. Pandol // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7. – № 7. – P. 7747-7760.
192. Efimova, E. V. Linking Cancer Metabolism to DNA Repair and Accelerated Senescence / E. V. Efimova, S. Takahashi, N. A. Shamsi, D. Wu, E. Labay, O. A. Ulanovskaya, R. R. Weichselbaum, S. A. Kozmin, S. J. Kron // *Molecular Cancer Research*. – 2016. – Vol. 14. – № 2. – P. 173-184.
193. Eichner, L. J. HDAC3 is critical in tumor development and therapeutic resistance in *Kras* -mutant non-small cell lung cancer / L. J. Eichner, S. D. Curtis, S. N. Brun, C. K. McGuire, I. Gushterova, J. T. Baumgart, E. Trefts, D. S. Ross, T. J. Rymoff, R. J. Shaw // *Science Advances*. – 2023. – Vol. 9. – № 11.
194. Ellman, G. L. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity / G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres, R. M. Featherstone // *Biochemical Pharmacology*. – 1961. – Vol. 7. – № 2. – P. 88-95.
195. Emini Veseli, B. Small molecule 3PO inhibits glycolysis but does not bind to 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase-3 (PFKFB3) / B. Emini Veseli, P. Perrotta, P. Van Wielendaele, A. Lambeir, A. Abdali, S. Bellosta, G.

- Monaco, G. Bultynck, W. Martinet, G. R. Y. De Meyer // FEBS Letters. – 2020. – Vol. 594. – № 18. – P. 3067-3075.
196. Emini Veseli, B. The PFKFB3 Inhibitor AZ67 Inhibits Angiogenesis Independently of Glycolysis Inhibition / B. Emini Veseli, P. Van Wielendaele, M. Delibegovic, W. Martinet, G. R. Y. De Meyer // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 11. – P. 5970.
197. Emmerzaal, T. L. Age-Dependent Decrease of Mitochondrial Complex II Activity in a Familial Mouse Model for Alzheimer's Disease / T. L. Emmerzaal, R. J. Rodenburg, H. Tanila, V. Verweij, A. J. Kiliaan, T. Kozicz // Journal of Alzheimer's Disease. – 2018. – Vol. 66. – № 1. – P. 75-82.
198. Estrela, J. M. Glutathione in metastases: From mechanisms to clinical applications / J. M. Estrela, A. Ortega, S. Mena, J. A. Sirerol, E. Obrador // Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences. – 2016. – Vol. 53. – № 4. – P. 253-267.
199. Fabbrin, S. B. Spermidine-induced improvement of memory consolidation involves PI3K/Akt signaling pathway / S. B. Fabbrin, B. A. Girardi, A. de Lorena Wendel, C. Coelho Ilha Valin, M. M. Pillat, F. T. Viero, C. F. Mello, M. A. Rubin // Brain Research Bulletin. – 2020. – Vol. 164. – P. 208-213.
200. Fairlie, W. D. Co-Operativity between MYC and BCL-2 Pro-Survival Proteins in Cancer / W. D. Fairlie, E. F. Lee // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 6. – P. 2841.
201. Fan, M. Parthenolide alleviates microglia-mediated neuroinflammation via MAPK/TRIM31/NLRP3 signaling to ameliorate cognitive disorder / M. Fan, C. Wang, X. Zhao, Y. Jiang, C. Wang // International Immunopharmacology. – 2023. – Vol. 120. – P. 110287.
202. Fan, Y. NF- κ B and STAT3 signaling pathways collaboratively link inflammation to cancer / Y. Fan, R. Mao, J. Yang // Protein & Cell. – 2013. – Vol. 4. – № 3. – P. 176-185.
203. Farid, R. New insights about HERG blockade obtained from protein modeling, potential energy mapping, and docking studies / R. Farid, T. Day, R. A. Friesner, R. A. Pearlstein // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2006. – Vol. 14. – № 9. – P. 3160-3173.
204. Feng, J. Simvastatin re-sensitizes hepatocellular carcinoma cells to sorafenib by inhibiting HIF-1 α /PPAR- γ /PKM2-mediated glycolysis / J. Feng, W. Dai, Y. Mao, L. Wu, J. Li, K. Chen, Q. Yu, R. Kong, S. Li, J. Zhang, J. Ji, J. Wu, W. Mo, X. Xu, C. Guo // Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. – 2020. – Vol. 39. – № 1. – P. 24.
205. Feng, Y. Antioxidant Therapies for Alzheimer's Disease / Y. Feng, X. Wang // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2012. – Vol. 2012. – P. 1-17.
206. Fernandez-Vizarra, E. Mitochondrial disorders of the OXPHOS system / E. Fernandez-Vizarra, M. Zeviani // FEBS Letters. – 2021. – Vol. 595. – № 8. – P. 1062-1106.
207. Fernie, A. R. Respiratory metabolism: glycolysis, the TCA cycle and mitochondrial electron transport / A. R. Fernie, F. Carrari, L. J. Sweetlove // Current Opinion in Plant Biology. – 2004. – Vol. 7. – № 3. – P. 254-261.

208. Ferreira-Vieira, T. H. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System / T. H. Ferreira-Vieira, I. M. Guimaraes, F. R. Silva, F. M. Ribeiro // *Current Neuropharmacology*. – 2016. – Vol. 14. – № 1. – P. 101-115.
209. Festing, M. F. W. Guidelines for the Design and Statistical Analysis of Experiments Using Laboratory Animals / M. F. W. Festing, D. G. Altman // *ILAR Journal*. – 2002. – Vol. 43. – № 4. – P. 244-258.
210. Fine, J. M. Intranasal deferoxamine engages multiple pathways to decrease memory loss in the APP/PS1 model of amyloid accumulation / J. M. Fine, D. B. Renner, A. C. Forsberg, R. A. Cameron, B. T. Galick, C. Le, P. M. Conway, B. M. Stroebel, W. H. Frey, L. R. Hanson // *Neuroscience Letters*. – 2015. – Vol. 584. – P. 362-367.
211. Firczuk, M. Harnessing altered oxidative metabolism in cancer by augmented prooxidant therapy / M. Firczuk, M. Bajor, A. Graczyk-Jarzynka, K. Fidy, A. Goral, R. Zagodzón // *Cancer Letters*. – 2020. – Vol. 471. – P. 1-11.
212. Firdausa, A. Y. Malondialdehyde Level and Tissue Apoptosis Count as an Early-Detection Marker of Oral Potentially Malignant Disorders / A. Y. Firdausa, S. S. Ahimsa, R. A. Ahmada, N. F. Sukmawati, D. S. Ernawati, A. E. Parmadiati, B. Soebadi, D. Radithia, S. Winias, F. Y. Mahdani, R. I. Marsetyo, R. B. Zain, N. F. Ayuningtyas // *European Journal of Dentistry*. – 2023. – Vol. 17. – № 01. – P. 155-160.
213. Fitzsimons, H. L. The Histone Deacetylase HDAC4 Regulates Long-Term Memory in *Drosophila* / H. L. Fitzsimons, S. Schwartz, F. M. Given, M. J. Scott // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8. – № 12. – P. e83903.
214. Flohé, L. The glutathione peroxidase family: Discoveries and mechanism / L. Flohé, S. Toppo, L. Orian // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2022. – Vol. 187. – P. 113-122.
215. Fonseca, L. M. Frontal Lobe Degeneration in Adults with Down Syndrome and Alzheimer's Disease: A Review / L. M. Fonseca, J. E. Yokomizo, C. M. Bottino, D. Fuentes // *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. – 2016. – Vol. 41. – № 3-4. – P. 123-136.
216. Forman, H. J. Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis / H. J. Forman, H. Zhang, A. Rinna // *Molecular Aspects of Medicine*. – 2009. – Vol. 30. – № 1-2. – P. 1-12.
217. Forman, H. J. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy / H. J. Forman, H. Zhang // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2021. – Vol. 20. – № 9. – P. 689-709.
218. Formosa, L. E. Building a complex complex: Assembly of mitochondrial respiratory chain complex I / L. E. Formosa, M. G. Dibley, D. A. Stroud, M. T. Ryan // *Seminars in Cell & Developmental Biology*. – 2018. – Vol. 76. – P. 154-162.
219. Foroumandi, E. The effects of fenugreek seed extract supplementation in patients with Alzheimer's disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial / E. Foroumandi, R. Javan, L. Moayed, H. Fahimi, F. Kheirabadi, M. Neamatshahi, F. Shogofteh, A. Zarghi // *Phytotherapy Research*. – 2023. – Vol. 37. – № 1. – P. 285-294.

220. Foti, M. C. Use and Abuse of the DPPH • Radical / M. C. Foti // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2015. – Vol. 63. – № 40. – P. 8765-8776.
221. Fousek, K. Interleukin-8: A chemokine at the intersection of cancer plasticity, angiogenesis, and immune suppression / K. Fousek, L. A. Horn, C. Palena // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2021. – Vol. 219. – P. 107692.
222. Francis, B. M. Reduced Levels of Mitochondrial Complex I Subunit NDUFB8 and Linked Complex I + III Oxidoreductase Activity in the TgCRND8 Mouse Model of Alzheimer's Disease / B. M. Francis, J. Yang, B. J. Song, S. Gupta, M. Maj, R. P. Bazinet, B. Robinson, H. T. J. Mount // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2014. – Vol. 39. – № 2. – P. 347-355.
223. French, P. Unfolded p53 in non-neuronal cells supports bacterial etiology of Alzheimer's disease / P. French // *Neural Regeneration Research*. – 2022. – Vol. 17. – № 12. – P. 2619.
224. Fricker, L. D. Proteasome Inhibitor Drugs / L. D. Fricker // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. – 2020. – Vol. 60. – № 1. – P. 457-476.
225. Friesner, R. A. Extra Precision Glide: Docking and Scoring Incorporating a Model of Hydrophobic Enclosure for Protein–Ligand Complexes / R. A. Friesner, R. B. Murphy, M. P. Repasky, L. L. Frye, J. R. Greenwood, T. A. Halgren, P. C. Sanschagrin, D. T. Mainz // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2006. – Vol. 49. – № 21. – P. 6177-6196.
226. Friesner, R. A. Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 1. Method and Assessment of Docking Accuracy / R. A. Friesner, J. L. Banks, R. B. Murphy, T. A. Halgren, J. J. Klicic, D. T. Mainz, M. P. Repasky, E. H. Knoll, M. Shelley, J. K. Perry, D. E. Shaw, P. Francis, P. S. Shenkin // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2004. – Vol. 47. – № 7. – P. 1739-1749.
227. Frijhoff, J. Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress / J. Frijhoff, P. G. Winyard, N. Zarkovic, S. S. Davies, R. Stocker, D. Cheng, A. R. Knight, E. L. Taylor, J. Oettrich, T. Ruskovska, A. C. Gasparovic, A. Cuadrado, D. Weber, H. E. Poulsen, T. Grune, H. H. H. W. Schmidt, P. Ghezzi // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2015. – Vol. 23. – № 14. – P. 1144-1170.
228. Frisoni, G. B. The probabilistic model of Alzheimer disease: the amyloid hypothesis revised / G. B. Frisoni, D. Altomare, D. R. Thal, F. Ribaldi, R. van der Kant, R. Ossenkoppele, K. Blennow, J. Cummings, C. van Duijn, P. M. Nilsson, P.-Y. Dietrich, P. Scheltens, B. Dubois // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2022. – Vol. 23. – № 1. – P. 53-66.
229. Fu, S. Phase I study of pazopanib and vorinostat: a therapeutic approach for inhibiting mutant p53-mediated angiogenesis and facilitating mutant p53 degradation / S. Fu, M. M. Hou, A. Naing, F. Janku, K. Hess, R. Zinner, V. Subbiah, D. Hong, J. Wheler, S. Piha-Paul, A. Tsimberidou, D. Karp, D. Araujo, B. Kee, P. Hwu, R. Wolff, R. Kurzrock, F. Meric-Bernstam // *Annals of Oncology*. – 2015. – Vol. 26. – № 5. – P. 1012-1018.
230. Fukai, T. Cross-Talk between NADPH Oxidase and Mitochondria: Role in ROS Signaling and Angiogenesis / T. Fukai, M. Ushio-Fukai // *Cells*. – 2020. – Vol. 9. – № 8. – P. 1849.

231. Fukushi, A. Revisited Metabolic Control and Reprogramming Cancers by Means of the Warburg Effect in Tumor Cells / A. Fukushi, H.-D. Kim, Y.-C. Chang, C.-H. Kim // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23. – № 17. – P. 10037.
232. Fulda, S. Targeting apoptosis for anticancer therapy / S. Fulda // *Seminars in Cancer Biology*. – 2015. – Vol. 31. – P. 84-88.
233. Galanis, E. Phase I/II trial of vorinostat combined with temozolomide and radiation therapy for newly diagnosed glioblastoma: results of Alliance N0874/ABTC 02 / E. Galanis, S. K. Anderson, C. R. Miller, J. N. Sarkaria, K. Jaeckle, J. C. Buckner, K. L. Ligon, K. V Ballman, D. F. Moore, M. Nebozhyn, A. Loboda, D. Schiff, M. S. Ahluwalia, E. Q. Lee, E. R. Gerstner, G. J. Lesser, M. Prados, S. A. Grossman, J. Cerhan et al. // *Neuro-Oncology*. – 2018. – Vol. 20. – № 4. – P. 546-556.
234. Ganapathy-Kanniappan, S. Tumor glycolysis as a target for cancer therapy: progress and prospects / S. Ganapathy-Kanniappan, J.-F. H. Geschwind // *Molecular Cancer*. – 2013. – Vol. 12. – № 1. – P. 152.
235. Gantenbein, N. Influence of eukaryotic translation initiation factor 6 on non-small cell lung cancer development and progression / N. Gantenbein, E. Bernhart, I. Anders, N. Golob-Schwarzl, S. Krassnig, C. Wodlej, L. Brcic, J. Lindenmann, N. Fink-Neuboeck, F. Gollowitsch, E. Stacher-Priehse, M. Asslaber, M. Gogg-Kamerer, J. Rolff, J. Hoffmann, A. Silvestri, C. Regenbrecht, C. Reinhard, A.-M. Pehserl et al. // *European Journal of Cancer*. – 2018. – Vol. 101. – P. 165-180.
236. Gao, S. Histone deacetylases inhibitor sodium butyrate inhibits JAK2/STAT signaling through upregulation of SOCS1 and SOCS3 mediated by HDAC8 inhibition in myeloproliferative neoplasms / S. Gao, C. Chen, L. Wang, L. Hong, J. Wu, P. Dong, F. Yu // *Experimental Hematology*. – 2013. – Vol. 41. – № 3. – P. 261-270.e4.
237. Gao, Z. Octamer binding transcription factor-4 expression is associated with cervical cancer malignancy and histological differentiation: a systematic review and meta-analysis / Z. Gao, X. Liu, F. Yang, L. Liu, J. Zhao, B. Gao, S. Li // *Bioscience Reports*. – 2019. – Vol. 39. – № 5.
238. Gao, X. Cancer and Parkinson's disease: the odd couple / X. Gao, Y. Ning // *Drugs of Today*. – 2011. – Vol. 47. – № 3. – P. 215.
239. Garcia, S. N. Unlocking the Potential of HK2 in Cancer Metabolism and Therapeutics / S. N. Garcia, R. C. Guedes, M. M. Marques // *Current Medicinal Chemistry*. – 2020. – Vol. 26. – № 41. – P. 7285-7322.
240. Gardner, N. M. Elevated nuclear sphingoid base-1-phosphates and decreased histone deacetylase activity after fumonisin B1 treatment in mouse embryonic fibroblasts / N. M. Gardner, R. T. Riley, J. L. Showker, K. A. Voss, A. J. Sachs, J. R. Maddox, J. B. Gelineau-van Waes // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2016. – Vol. 298. – P. 56-65.
241. Gaschler, M. M. Lipid peroxidation in cell death / M. M. Gaschler, B. R. Stockwell // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2017. – Vol. 482. – № 3. – P. 419-425.

242. Gasinska, A. Prognostic Significance of Serum PSA Level and Telomerase, VEGF and GLUT-1 Protein Expression for the Biochemical Recurrence in Prostate Cancer Patients after Radical Prostatectomy / A. Gasinska, J. Jaszczynski, U. Rychlik, E. Łuczynska, M. Pogodzinski, M. Palaczynski // *Pathology & Oncology Research*. – 2020. – Vol. 26. – № 2. – P. 1049-1056.
243. Gecit, I. The Prolidase Activity, Oxidative Stress, and Nitric Oxide Levels of Bladder Tissues with or Without Tumor in Patients with Bladder Cancer / İ. Gecit, R. Eryılmaz, S. Kavak, İ. Meral, H. Demir, N. Pirinççi, M. Güneş, K. Taken // *The Journal of Membrane Biology*. – 2017. – Vol. 250. – № 5. – P. 455-459.
244. George, M. Role of Nrf2 in aging, Alzheimer's and other neurodegenerative diseases / M. George, M. Tharakan, J. Culberson, A. P. Reddy, P. H. Reddy // *Ageing Research Reviews*. – 2022. – Vol. 82. – P. 101756.
245. Ghafouri-Fard, S. Emerging impact of quercetin in the treatment of prostate cancer / S. Ghafouri-Fard, F. A. Shabestari, S. Vaezi, A. Abak, H. Shoorei, A. Karimi, M. Taheri, A. Basiri // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2021. – Vol. 138. – P. 111548.
246. Ghantous, A. What made sesquiterpene lactones reach cancer clinical trials? / A. Ghantous, H. Gali-Muhtasib, H. Vuorela, N. A. Saliba, N. Darwiche // *Drug Discovery Today*. – 2010. – Vol. 15. – № 15-16. – P. 668-678.
247. Glauben, R. HDAC inhibitors in models of inflammation-related tumorigenesis / R. Glauben, E. Sonnenberg, M. Zeitz, B. Siegmund // *Cancer Letters*. – 2009. – Vol. 280. – № 2. – P. 154-159.
248. Glorieux, C. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach / C. Glorieux, P. B. Calderon // *Biological Chemistry*. – 2017. – Vol. 398. – № 10. – P. 1095-1108.
249. Godman, C. A. HDAC3 impacts multiple oncogenic pathways in colon cancer cells with effects on Wnt and vitamin D signaling / C. A. Godman, R. Joshi, B. R. Tierney, E. Greenspan, T. P. Rasmussen, H. Wang, D.-G. Shin, D. W. Rosenberg, C. Giardina // *Cancer Biology & Therapy*. – 2008. – Vol. 7. – № 10. – P. 1570-1580.
250. Goey, A. K. Pharmacogenomics and histone deacetylase inhibitors / A. K. Goey, T. M. Sissung, C. J. Peer, W. D. Figg // *Pharmacogenomics*. – 2016. – Vol. 17. – № 16. – P. 1807-1815.
251. Goldberg, M. S. Pyruvate kinase M2-specific siRNA induces apoptosis and tumor regression / M. S. Goldberg, P. A. Sharp // *Journal of Experimental Medicine*. – 2012. – Vol. 209. – № 2. – P. 217-224.
252. Goldin, N. Methyl jasmonate binds to and detaches mitochondria-bound hexokinase / N. Goldin, L. Arzoine, A. Heyfets, A. Israelson, Z. Zaslavsky, T. Bravman, V. Bronner, A. Notcovich, V. Shoshan-Barmatz, E. Flescher // *Oncogene*. – 2008. – Vol. 27. – № 34. – P. 4636-4643.
253. Goldman, J. G. Cognitive Impairment and Dementia in Parkinson Disease / J. G. Goldman, E. Sieg // *Clinics in Geriatric Medicine*. – 2020. – Vol. 36. – № 2. – P. 365-377.

254. Goldsamt, A. Epigenetic Dysregulation in Advanced Kidney Cancer / A. Goldsamt, N. P. Damayanti, F. De Nigris, R. Pili // *The Cancer Journal*. – 2020. – Vol. 26. – № 5. – P. 399-406.
255. Goloborshcheva, V. V. Reduced complement of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta of mice with a constitutive “low footprint” genetic knockout of alpha-synuclein / V. V. Goloborshcheva, K. D. Chaprov, E. V. Teterina, R. Ovchinnikov, V. L. Buchman // *Molecular Brain*. – 2020. – Vol. 13. – № 1. – P. 75.
256. Golob-Schwarz, N. Eukaryotic translation initiation factor 6 overexpression plays a major role in the translational control of gallbladder cancer / N. Golob-Schwarzl, C. Wodlej, F. Kleinegger, M. Gogg-Kamerer, A. M. Birkl-Toegelhofer, J. Petzold, A. Aigelsreiter, M. Thalhammer, Y. N. Park, J. Haybaeck // *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. – 2019. – Vol. 145. – № 11. – P. 2699-2711.
257. Gonenc, A. Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients / A. Gonenc, Y. Ozkan, M. Torun, B. Simsek // *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. – 2001. – Vol. 26. – № 2. – P. 141-144.
258. González-Casacuberta, I. Mitochondrial and autophagic alterations in skin fibroblasts from Parkinson disease patients with Parkin mutations / I. González-Casacuberta, D.-L. Juárez-Flores, M. Ezquerra, R. Fucho, M. Catalán-García, M. Guitart-Mampel, E. Tobías, C. García-Ruiz, J. C. Fernández-Checa, E. Tolosa, M.-J. Martí, J. M. Grau, R. Fernández-Santiago, F. Cardellach, C. Morén, G. Garrabou // *Aging*. – 2019. – Vol. 11. – № 11. – P. 3750-3767.
259. González-Rodríguez, P. Disruption of mitochondrial complex I induces progressive parkinsonism / P. González-Rodríguez, E. Zampese, K. A. Stout, J. N. Guzman, E. Ilijic, B. Yang, T. Tkatch, M. A. Stavarache, D. L. Wokosin, L. Gao, M. G. Kaplitt, J. López-Barneo, P. T. Schumacker, D. J. Surmeier // *Nature*. – 2021. – Vol. 599. – № 7886. – P. 650-656.
260. Gornall, A. G. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. / A. G. Gornall, C. J. Bardawill, M. M. David // *The Journal of biological chemistry*. – 1949. – Vol. 177. – № 2. – P. 751-66.
261. Gottlob, K. Inhibition of early apoptotic events by Akt/PKB is dependent on the first committed step of glycolysis and mitochondrial hexokinase / K. Gottlob, N. Majewski, S. Kennedy, E. Kandel, R. B. Robey, N. Hay // *Genes & Development*. – 2001. – Vol. 15. – № 11. – P. 1406-1418.
262. Götz, J. Tau Filament Formation in Transgenic Mice Expressing P301L Tau / J. Götz, F. Chen, R. Barmettler, R. M. Nitsch // *Journal of Biological Chemistry*. – 2001. – Vol. 276. – № 1. – P. 529-534.
263. Goyal, M. M. Human catalase: looking for complete identity / M. M. Goyal, A. Basak // *Protein & Cell*. – 2010. – Vol. 1. – № 10. – P. 888-897.
264. Gräff, J. An epigenetic blockade of cognitive functions in the neurodegenerating brain / J. Gräff, D. Rei, J.-S. Guan, W.-Y. Wang, J. Seo, K. M. Hennig, T. J. F. Nieland, D. M. Fass, P. F. Kao, M. Kahn, S. C. Su, A. Samiei, N. Joseph, S. J. Haggarty, I. Delalle, L.-H. Tsai // *Nature*. – 2012. – Vol. 483. – № 7388. – P. 222-226.

265. Grazioli, V. Antioxidant enzymatic activities and lipid peroxidation in cultured human chondrocytes from vertebral plate cartilage / V. Grazioli, R. Schiavo, E. Casari, F. Marzatico, R. Rodriguez y Baena, P. Gaetani // *FEBS Letters*. – 1998. – Vol. 431. – № 2. – P. 149-153.
266. Greenshields, A. L. Contribution of reactive oxygen species to ovarian cancer cell growth arrest and killing by the anti-malarial drug artesunate / A. L. Greenshields, T. G. Shepherd, D. W. Hoskin // *Molecular Carcinogenesis*. – 2017. – Vol. 56. – № 1. – P. 75-93.
267. Griffin, E. A. The Class II Histone Deacetylase Hypothesis of Addiction / E. A. Griffin, P. A. Melas, D. B. Kandel, E. R. Kandel // *Biological Psychiatry*. – 2018. – Vol. 84. – № 3. – P. 165-166.
268. Grimm, A. Brain aging and neurodegeneration: from a mitochondrial point of view / A. Grimm, A. Eckert // *Journal of Neurochemistry*. – 2017. – Vol. 143. – № 4. – P. 418-431.
269. Guan, J.-S. HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity / J.-S. Guan, S. J. Haggarty, E. Giacometti, J.-H. Dannenberg, N. Joseph, J. Gao, T. J. F. Nieland, Y. Zhou, X. Wang, R. Mazitschek, J. E. Bradner, R. A. DePinho, R. Jaenisch, L.-H. Tsai // *Nature*. – 2009. – Vol. 459. – № 7243. – P. 55-60.
270. Guan, L. Dioscin alleviates Alzheimer's disease through regulating RAGE/NOX4 mediated oxidative stress and inflammation / L. Guan, Z. Mao, S. Yang, G. Wu, Y. Chen, L. Yin, Y. Qi, L. Han, L. Xu // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2022. – Vol. 152. – P. 113248.
271. Guerrero-Zotano, A. PI3K/AKT/mTOR: role in breast cancer progression, drug resistance, and treatment / A. Guerrero-Zotano, I. A. Mayer, C. L. Arteaga // *Cancer and Metastasis Reviews*. – 2016. – Vol. 35. – № 4. – P. 515-524.
272. Guo, C. Intranasal deferoxamine reverses iron-induced memory deficits and inhibits amyloidogenic APP processing in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease / C. Guo, T. Wang, W. Zheng, Z.-Y. Shan, W.-P. Teng, Z.-Y. Wang // *Neurobiology of Aging*. – 2013. – Vol. 34. – № 2. – P. 562-575.
273. Guo, Q. Expression of HDAC1 and RBBP4 correlate with clinicopathologic characteristics and prognosis in breast cancer. / Q. Guo, K. Cheng, X. Wang, X. Li, Y. Yu, Y. Hua, Z. Yang // *International journal of clinical and experimental pathology*. – 2020. – Vol. 13. – № 3. – P. 563-572.
274. Guo, Z. Rotenone impairs learning and memory in mice through microglia-mediated blood brain barrier disruption and neuronal apoptosis / Z. Guo, Z. Ruan, D. Zhang, X. Liu, L. Hou, Q. Wang // *Chemosphere*. – 2022. – Vol. 291. – P. 132982.
275. Guo, R. Structure and mechanism of mitochondrial electron transport chain / R. Guo, J. Gu, S. Zong, M. Wu, M. Yang // *Biomedical Journal*. – 2018. – Vol. 41. – № 1. – P. 9-20.
276. Haddad, M. Glutathione: An Old and Small Molecule with Great Functions and New Applications in the Brain and in Alzheimer's Disease / M. Haddad, V. Hervé, M. R. Ben Khedher, J.-M. Rabanel, C. Ramassamy // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2021. – Vol. 35. – № 4. – P. 270-292.

277. Hai, Y. Histone deacetylase 6 structure and molecular basis of catalysis and inhibition / Y. Hai, D. W. Christianson // *Nature Chemical Biology*. – 2016. – Vol. 12. – № 9. – P. 741-747.
278. Halkidou, K. Upregulation and Nuclear Recruitment of HDAC1 in Hormone Refractory Prostate Cancer / K. Halkidou, L. Gaughan, S. Cook, H. Y. Leung, D. E. Neal, C. N. Robson // *The Prostate*. – 2004. – Vol. 59. – № 2. – P. 177-189.
279. Hamano, T. Autophagy and Tau Protein / T. Hamano, S. Enomoto, N. Shirafuji, M. Ikawa, O. Yamamura, S.-H. Yen, Y. Nakamoto // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 14. – P. 7475.
280. Han, K. Nrf2 knockout altered brain iron deposition and mitigated age-related motor dysfunction in aging mice / K. Han, X. Jin, X. Guo, G. Cao, S. Tian, Y. Song, Y. Zuo, P. Yu, G. Gao, Y.-Z. Chang // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2021. – Vol. 162. – P. 592-602.
281. Handy, D. E. The role of glutathione peroxidase-1 in health and disease / D. E. Handy, J. Loscalzo // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2022. – Vol. 188. – P. 146-161.
282. Hanson, J. E. SAHA Enhances Synaptic Function and Plasticity In Vitro but Has Limited Brain Availability In Vivo and Does Not Impact Cognition / J. E. Hanson, H. La, E. Plise, Y.-H. Chen, X. Ding, T. Hanania, E. V. Sabath, V. Alexandrov, D. Brunner, E. Leahy, P. Steiner, L. Liu, K. Scarce-Levie, Q. Zhou // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8. – № 7. – P. e69964.
283. Harder, E. OPLS3: A Force Field Providing Broad Coverage of Drug-like Small Molecules and Proteins / E. Harder, W. Damm, J. Maple, C. Wu, M. Reboul, J. Y. Xiang, L. Wang, D. Lupyan, M. K. Dahlgren, J. L. Knight, J. W. Kaus, D. S. Cerutti, G. Krilov, W. L. Jorgensen, R. Abel, R. A. Friesner // *Journal of Chemical Theory and Computation*. – 2016. – Vol. 12. – № 1. – P. 281-296.
284. Hardy, J. A. Alzheimer's Disease: The Amyloid Cascade Hypothesis / J. A. Hardy, G. A. Higgins // *Science*. – 1992. – Vol. 256. – № 5054. – P. 184-185.
285. Harman, D. Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry / D. Harman // *Journal of Gerontology*. – 1956. – Vol. 11. – № 3. – P. 298-300.
286. Hasan, A. A. S. Suppression of the Antioxidant System and PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway in Cisplatin-Resistant Cancer Cells by Quercetin / A. A. S. Hasan, E. V. Kalinina, V. V. Tatarskiy, Y. L. Volodina, A. S. Petrova, M. D. Novichkova, D. D. Zhdanov, A. A. Shtil // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2022. – Vol. 173. – № 6. – P. 760-764.
287. Hasegawa, Y. Effects of scallop shell extract on scopolamine-induced memory impairment and MK801-induced locomotor activity / Y. Hasegawa, T. Inoue, S. Kawaminami, M. Fujita // *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. – 2016. – Vol. 9. – № 7. – P. 662-667.
288. Hasina, Z. Developmental Neuropathology and Neurodegeneration of Down Syndrome: Current Knowledge in Humans / Z. Hasina, N. Wang, C. C. Wang // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2022. – Vol. 10.

289. Hatem, E. Multifaceted Roles of Glutathione and Glutathione-Based Systems in Carcinogenesis and Anticancer Drug Resistance / E. Hatem, N. El Banna, M.-E. Huang // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2017. – Vol. 27. – № 15. – P. 1217-1234.
290. Hauer, M. H. Chromatin and nucleosome dynamics in DNA damage and repair / M. H. Hauer, S. M. Gasser // *Genes & Development*. – 2017. – Vol. 31. – № 22. – P. 2204-2221.
291. HDAC6 ZnF UBP as the Modifier of Tau Structure and Function / A. A. Balmik, H. Chidambaram, A. Dangi, U. K. Marelli, S. Chinnathambi // *Biochemistry*. – 2020. – Vol. 59. – № 48. – P. 4546-4562.
292. He, W. Arglabin is a plant sesquiterpene lactone that exerts potent anticancer effects on human oral squamous cancer cells via mitochondrial apoptosis and downregulation of the mTOR/PI3K/Akt signaling pathway to inhibit tumor growth in vivo. / W. He, R. Lai, Q. Lin, Y. Huang, L. Wang // *Journal of B.U.ON. : official journal of the Balkan Union of Oncology*. – 2018. – Vol. 23. – № 6. – P. 1679-1685.
293. He, F. NRF2 as a regulator of cell metabolism and inflammation in cancer / F. He, L. Antonucci, M. Karin // *Carcinogenesis*. – 2020. – Vol. 41. – № 4. – P. 405-416.
294. Herrera-Martínez, M. Vorinostat as potential antiparasitic drug. / M. Herrera-Martínez, E. Orozco-Samperio, S. Montaña, J. A. Ariza-Ortega, Y. Flores-García, L. López-Contreras // *European review for medical and pharmacological sciences*. – 2020. – Vol. 24. – № 13. – P. 7412-7419.
295. Hettiarachchi, P. Dopamine Release Impairments Accompany Locomotor and Cognitive Deficiencies in Rotenone-Treated Parkinson's Disease Model Zebrafish / P. Hettiarachchi, S. S. Niyangoda, R. Jarosova, M. A. Johnson // *Chemical Research in Toxicology*. – 2022. – Vol. 35. – № 11. – P. 1974-1982.
296. Higashi, T. FDG uptake, GLUT-1 glucose transporter and cellularity in human pancreatic tumors. / T. Higashi, N. Tamaki, T. Torizuka, Y. Nakamoto, H. Sakahara, T. Kimura, T. Honda, T. Inokuma, S. Katsushima, G. Ohshio, M. Imamura, J. Konishi // *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. – 1998. – Vol. 39. – № 10. – P. 1727-35.
297. Holper, L. Brain cytochrome-c-oxidase as a marker of mitochondrial function: A pilot study in major depression using NIRS / L. Holper, M. J. Lan, P. J. Brown, E. M. Sublette, A. Burke, J. J. Mann // *Depression and Anxiety*. – 2019. – Vol. 36. – № 8. – P. 766-779.
298. Holper, L. Multivariate meta-analyses of mitochondrial complex I and IV in major depressive disorder, bipolar disorder, schizophrenia, Alzheimer disease, and Parkinson disease / L. Holper, D. Ben-Shachar, J. Mann // *Neuropsychopharmacology*. – 2019. – Vol. 44. – № 5. – P. 837-849.
299. Hooks, S. B. Cellular deficiency in the RGS10 protein facilitates chemoresistant ovarian cancer / S. B. Hooks, M. M. Murph // *Future Medicinal Chemistry*. – 2015. – Vol. 7. – № 12. – P. 1483-1489.
300. Hosoi, T. Alkannin Attenuates Amyloid β Aggregation and Alzheimer's Disease Pathology / T. Hosoi, K. Yazawa, M. Imada, A. Tawara, C. Tohda, Y.

- Nomura, K. Ozawa // *Molecular Pharmacology*. – 2023. – Vol. 103. – № 5. – P. 266-273.
301. Hu, G. HDAC3 modulates cancer immunity via increasing PD-L1 expression in pancreatic cancer / G. Hu, N. He, C. Cai, F. Cai, P. Fan, Z. Zheng, X. Jin // *Pancreatology*. – 2019. – Vol. 19. – № 2. – P. 383-389.
302. Hu, H. Mitochondria-targeted accumulation of oxygen-irrelevant free radicals for enhanced synergistic low-temperature photothermal and thermodynamic therapy / H. Hu, X. Deng, Q. Song, W. Yang, Y. Zhang, W. Liu, S. Wang, Z. Liang, X. Xing, J. Zhu, J. Zhang, Z. Shao, B. Wang, Y. Zhang // *Journal of Nanobiotechnology*. – 2021. – Vol. 19. – № 1. – P. 390.
303. Hua, P. Costunolide Induces Apoptosis through Generation of ROS and Activation of P53 in Human Esophageal Cancer Eca-109 Cells / P. Hua, M. Sun, G. Zhang, Y. Zhang, G. Song, Z. Liu, X. Li, X. Zhang, B. Li // *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. – 2016. – Vol. 30. – № 9. – P. 462-469.
304. Huang, B. Chlorinated volatile organic compounds (Cl-VOCs) in environment — sources, potential human health impacts, and current remediation technologies / B. Huang, C. Lei, C. Wei, G. Zeng // *Environment International*. – 2014. – Vol. 71. – P. 118-138.
305. Huang, D. High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format / D. Huang, B. Ou, M. Hampsch-Woodill, J. A. Flanagan, R. L. Prior // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2002. – Vol. 50. – № 16. – P. 4437-4444.
306. Huang, Y. High Expression of PKM2 Was Associated with the Poor Prognosis of Acute Leukemia / Y. Huang, L. Chen, J. Xie, H. Han, B. Zhu, L. Wang, W. Wang // *Cancer Management and Research*. – 2021. – Vol. Volume 13. – P. 7851-7858.
307. Huang, Z. Artesunate Inhibits the Cell Growth in Colorectal Cancer by Promoting ROS-Dependent Cell Senescence and Autophagy / Z. Huang, S. Gan, X. Zhuang, Y. Chen, L. Lu, Y. Wang, X. Qi, Q. Feng, Q. Huang, B. Du, R. Zhang, Z. Liu // *Cells*. – 2022. – Vol. 11. – № 16. – P. 2472.
308. Huo, H. Erastin Disrupts Mitochondrial Permeability Transition Pore (mPTP) and Induces Apoptotic Death of Colorectal Cancer Cells / H. Huo, Z. Zhou, J. Qin, W. Liu, B. Wang, Y. Gu // *PLOS ONE*. – 2016. – Vol. 11. – № 5. – P. e0154605.
309. Hussein, Y. R. Glut-1 Expression Correlates with Basal-like Breast Cancer / Y. R. Hussein, S. Bandyopadhyay, A. Semaan, Q. Ahmed, B. Albashiti, T. Jazaerly, Z. Nahleh, R. Ali-Fehmi // *Translational Oncology*. – 2011. – Vol. 4. – № 6. – P. 321-327.
310. Ibarra-Gutiérrez, M. T. Rotenone-Induced Model of Parkinson's Disease: Beyond Mitochondrial Complex I Inhibition / M. T. Ibarra-Gutiérrez, N. Serrano-García, M. Orozco-Ibarra // *Molecular Neurobiology*. – 2023. – Vol. 60. – № 4. – P. 1929-1948.

311. Ilango, S.; Paital, B.; Jayachandran, P.; Padma, P.R.; Nirmaladevi, R. Epigenetic alterations in cancer / S. Ilango, B. Paital, P. Jayachandran, P. R. Padma // *Front Biosci (Landmark Ed)*. – 2020. – Vol. 25. – №6. – P. 1058-1109
312. Innos, J. Using Rotenone to Model Parkinson's Disease in Mice: A Review of the Role of Pharmacokinetics / J. Innos, M. A. Hickey // *Chemical Research in Toxicology*. – 2021. – Vol. 34. – № 5. – P. 1223-1239.
313. Ionescu-Tucker, A. Emerging roles of oxidative stress in brain aging and Alzheimer's disease / A. Ionescu-Tucker, C. W. Cotman // *Neurobiology of Aging*. – 2021. – Vol. 107. – P. 86-95.
314. Ionita, P. The Chemistry of DPPH· Free Radical and Congeners / P. Ionita // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 4. – P. 1545.
315. Jaber, S. M. Mapping mitochondrial respiratory chain deficiencies by respirometry: Beyond the Mito Stress Test / S. M. Jaber, N. Yadava, B. M. Polster // *Experimental Neurology*. – 2020. – Vol. 328. – P. 113282.
316. Jacobson, M. P. A hierarchical approach to all-atom protein loop prediction / M. P. Jacobson, D. L. Pincus, C. S. Rapp, T. J. F. Day, B. Honig, D. E. Shaw, R. A. Friesner // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. – 2004. – Vol. 55. – № 2. – P. 351-367.
317. Jacobson, M. P. On the Role of the Crystal Environment in Determining Protein Side-chain Conformations / M. P. Jacobson, R. A. Friesner, Z. Xiang, B. Honig // *Journal of Molecular Biology*. – 2002. – Vol. 320. – № 3. – P. 597-608.
318. Jakubczyk, K. Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage. / K. Jakubczyk, K. Dec, J. Kałduńska, D. Kawczuga, J. Kochman, K. Janda // *Polski merkuriusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*. – 2020. – Vol. 48. – № 284. – P. 124-127.
319. Jaroudi, W. Factors underlying cognitive decline in old age and Alzheimer's disease: the role of the hippocampus / W. Jaroudi, J. Garami, S. Garrido, M. Hornberger, S. Keri, A. A. Moustafa // *Reviews in the Neurosciences*. – 2017. – Vol. 28. – № 7. – P. 705-714.
320. Jawerka, M. The specific role of histone deacetylase 2 in adult neurogenesis / M. Jawerka, D. Colak, L. Dimou, C. Spiller, S. Lager, R. L. Montgomery, E. N. Olson, W. Wurst, M. Göttlicher, M. Götz // *Neuron Glia Biology*. – 2010. – Vol. 6. – № 2. – P. 93-107.
321. Jeong, W.-S. Nrf2: A Potential Molecular Target for Cancer Chemoprevention by Natural Compounds / W.-S. Jeong, M. Jun, A.-N. T. Kong // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2006. – Vol. 8. – № 1-2. – P. 99-106.
322. Jeyamohan, S. Parthenolide induces apoptosis and autophagy through the suppression of PI3K/Akt signaling pathway in cervical cancer / S. Jeyamohan, R. K. Moorthy, M. K. Kannan, A. J. V. Arockiam // *Biotechnology Letters*. – 2016. – Vol. 38. – № 8. – P. 1251-1260.
323. Jia, D. Elucidating the Metabolic Plasticity of Cancer: Mitochondrial Reprogramming and Hybrid Metabolic States / D. Jia, J. Park, K. Jung, H. Levine, B. Kaiparettu // *Cells*. – 2018. – Vol. 7. – № 3. – P. 21.

324. Jia, X.-B. Lotus leaf flavonoids induce apoptosis of human lung cancer A549 cells through the ROS/p38 MAPK pathway / X.-B. Jia, Q. Zhang, L. Xu, W.-J. Yao, L. Wei // *Biological Research*. – 2021. – Vol. 54. – № 1. – P. 7.
325. Jiang, D. Redox Reactions of Copper Complexes Formed with Different β -Amyloid Peptides and Their Neuropathological Relevance / D. Jiang, L. Men, J. Wang, Y. Zhang, S. Chickenyen, Y. Wang, F. Zhou // *Biochemistry*. – 2007. – Vol. 46. – № 32. – P. 9270-9282.
326. Jiang, X. The effects of rotenone-induced toxicity via the NF- κ B–iNOS pathway in rat liver / X. Jiang, X. Feng, H. Huang, L. Liu, L. Qiao, B. Zhang, W. Yu // *Toxicology Mechanisms and Methods*. – 2017. – Vol. 27. – № 4. – P. 318-325.
327. Jiang, Y. PFKFB3 Regulates Chemoresistance, Metastasis and Stemness via IAP Proteins and the NF- κ B Signaling Pathway in Ovarian Cancer / Y. Jiang, M. K. Y. Siu, J. Wang, T. H. Y. Leung, D. W. Chan, A. N. Y. Cheung, H. Y. S. Ngan, K. K. L. Chan // *Frontiers in Oncology*. – 2022. – Vol. 12.
328. Jiang, Z. Histone deacetylase-1 as a prognostic factor and mediator of gastric cancer progression by enhancing glycolysis / Z. Jiang, H. Yang, X. Zhang, Z. Wang, R. Rong, X. Wang // *Human Pathology*. – 2019. – Vol. 85. – P. 194-201.
329. Jiang, X. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease / X. Jiang, B. R. Stockwell, M. Conrad // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2021. – Vol. 22. – № 4. – P. 266-282.
330. Jiao, F. Aberrant expression of nuclear HDAC3 and cytoplasmic CDH1 predict a poor prognosis for patients with pancreatic cancer / F. Jiao, H. Hu, T. Han, M. Zhuo, C. Yuan, H. Yang, L. Wang, L. Wang // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7. – № 13. – P. 16505-16516.
331. Jiao, F. Histone deacetylase 3 promotes pancreatic cancer cell proliferation, invasion and increases drug-resistance through histone modification of P27, P53 and Bax / F. Jiao, H. Hu, C. Yuan, Z. Jin, Z. Guo, L. Wang, L. Wang // *International Journal of Oncology*. – 2014. – Vol. 45. – № 4. – P. 1523-1530.
332. Jiao, L. Regulation of glycolytic metabolism by autophagy in liver cancer involves selective autophagic degradation of HK2 (hexokinase 2) / L. Jiao, H.-L. Zhang, D.-D. Li, K.-L. Yang, J. Tang, X. Li, J. Ji, Y. Yu, R.-Y. Wu, S. Ravichandran, J.-J. Liu, G.-K. Feng, M.-S. Chen, Y.-X. Zeng, R. Deng, X.-F. Zhu // *Autophagy*. – 2018. – Vol. 14. – № 4. – P. 671-684.
333. Jin, K. L. Expression profile of histone deacetylases 1, 2 and 3 in ovarian cancer tissues / K. L. Jin, J. H. Pak, J.-Y. Park, W. H. Choi, J.-Y. Lee, J.-H. Kim, J.-H. Nam // *Journal of Gynecologic Oncology*. – 2008. – Vol. 19. – № 3. – P. 185.
334. Jin, Y. Activation of PI3K/AKT Pathway Is a Potential Mechanism of Treatment Resistance in Small Cell Lung Cancer / Y. Jin, Y. Chen, H. Tang, X. Hu, S. M. Hubert, Q. Li, D. Su, H. Xu, Y. Fan, X. Yu, Q. Chen, J. Liu, W. Hong, Y. Xu, H. Deng, D. Zhu, P. Li, Y. Gong, X. Xia et al. // *Clinical Cancer Research*. – 2022. – Vol. 28. – № 3. – P. 526-539.

335. Jin, J. Bcl-2 and Bcl-xL mediate resistance to receptor tyrosine kinase-targeted therapy in lung and gastric cancer / J. Jin, Y. Xiong, B. Cen // *Anti-Cancer Drugs*. – 2017. – Vol. 28. – № 10. – P. 1141-1149.
336. Jing, L. Microglial Activation Mediates Noradrenergic Locus Coeruleus Neurodegeneration via Complement Receptor 3 in a Rotenone-Induced Parkinson's Disease Mouse Model / L. Jing, L. Hou, D. Zhang, S. Li, Z. Ruan, X. Zhang, J.-S. Hong, Q. Wang // *Journal of Inflammation Research*. – 2021. – Vol. Volume 14. – P. 1341-1356.
337. Joh, Y. Mitochondrial Complex I Inhibition Accelerates Amyloid Toxicity / Y. Joh, W.-S. Choi // *Development & Reproduction*. – 2017. – Vol. 21. – № 4. – P. 417-424.
338. Jorge, J. Parthenolide Induces ROS-Mediated Apoptosis in Lymphoid Malignancies / J. Jorge, J. Neves, R. Alves, C. Geraldés, A. C. Gonçalves, A. B. Sarmiento-Ribeiro // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 11. – P. 9167.
339. Juárez-Flores, D. L. Disrupted Mitochondrial and Metabolic Plasticity Underlie Comorbidity between Age-Related and Degenerative Disorders as Parkinson Disease and Type 2 Diabetes Mellitus / D. L. Juárez-Flores, M. Ezquerro, Ingrid González-Casacuberta, A. Ormazabal, C. Morén, E. Tolosa, R. Fucho, M. Guitart-Mampel, M. Casado, F. Valldeoriola, J. de la Torre-Lara, E. Muñoz, E. Tobías, Y. Compta, F. J. García-García, C. García-Ruiz, J. C. Fernández-Checa, M. J. Martí, J. M. Grau et al. // *Antioxidants*. – 2020. – Vol. 9. – № 11. – P. 1063.
340. Judge, A. Metabolism / A. Judge, M. S. Dodd // *Essays in Biochemistry*. – 2020. – Vol. 64. – № 4. – P. 607-647.
341. K C, S. Neuroprotective Efficacy of Co-Encapsulated Rosiglitazone and Vorinostat Nanoparticle on Streptozotocin Induced Mice Model of Alzheimer Disease / S. K C, V. Kakoty, K. V. Krishna, S. K. Dubey, D. Chitkara, R. Taliyan // *ACS Chemical Neuroscience*. – 2021. – Vol. 12. – № 9. – P. 1528-1541.
342. Kadigamuwa, C. C. Lipophilic Cationic Cyanines Are Potent Complex I Inhibitors and Specific *in Vitro* Dopaminergic Toxins with Mechanistic Similarities to Both Rotenone and MPP⁺ / C. C. Kadigamuwa, M. S. T. Mapa, K. Wimalasena // *Chemical Research in Toxicology*. – 2016. – Vol. 29. – № 9. – P. 1468-1479.
343. Kakoty, V. Epigenetic regulation and autophagy modulation debilitates insulin resistance associated Alzheimer's disease condition in rats / V. Kakoty, S. K C, S. K. Dubey, C.-H. Yang, S. A. Marathe, R. Taliyan // *Metabolic Brain Disease*. – 2022. – Vol. 37. – № 4. – P. 927-944.
344. Kaloni, D. BCL-2 protein family: attractive targets for cancer therapy / D. Kaloni, S. T. Diepstraten, A. Strasser, G. L. Kelly // *Apoptosis*. – 2023. – Vol. 28. – № 1-2. – P. 20-38.
345. Kang, S. S. Clinical Significance of Glucose Transporter 1 (GLUT1) Expression in Human Breast Carcinoma / S. S. Kang, Y. K. Chun, M. H. Hur, H. K. Lee, Y. J. Kim, S. R. Hong, J. H. Lee, S. G. Lee, Y. K. Park // *Japanese Journal of Cancer Research*. – 2002. – Vol. 93. – № 10. – P. 1123-1128.

346. Kang, S. W. ROS and energy metabolism in cancer cells: alliance for fast growth / S. W. Kang, S. Lee, E. K. Lee // Archives of Pharmacal Research. – 2015. – Vol. 38. – № 3. – P. 338-345.
347. Kasai, S. Regulation of Nrf2 by Mitochondrial Reactive Oxygen Species in Physiology and Pathology / S. Kasai, S. Shimizu, Y. Tatara, J. Mimura, K. Itoh // Biomolecules. – 2020. – Vol. 10. – № 2. – P. 320.
348. Katabathula, S. Predict Alzheimer's disease using hippocampus MRI data: a lightweight 3D deep convolutional network model with visual and global shape representations / S. Katabathula, Q. Wang, R. Xu // Alzheimer's Research & Therapy. – 2021. – Vol. 13. – № 1. – P. 104.
349. Kazantsev, A. G. Therapeutic application of histone deacetylase inhibitors for central nervous system disorders / A. G. Kazantsev, L. M. Thompson // Nature Reviews Drug Discovery. – 2008. – Vol. 7. – № 10. – P. 854-868.
350. Khabaz, M. N. GLUT 1 expression is a supportive mean in predicting prognosis and survival estimates of endometrial carcinoma / M. N. Khabaz, I. A. Qureshi, J. A. Al-Maghrabi // Ginekologia Polska. – 2019. – Vol. 90. – № 10. – P. 582-588.
351. Khalil, A. Impairment of the ABCA1 and SR-BI-mediated cholesterol efflux pathways and HDL anti-inflammatory activity in Alzheimer's disease / A. Khalil, H. Berrougui, G. Pawelec, T. Fulop // Mechanisms of Ageing and Development. – 2012. – Vol. 133. – № 1. – P. 20-29.
352. Khan, A. Q. Reactive oxygen species (ROS) in cancer pathogenesis and therapy: An update on the role of ROS in anticancer action of benzophenanthridine alkaloids / A. Q. Khan, K. Rashid, A. A. AlAmodi, M. V. Agha, S. Akhtar, I. Hakeem, S. S. Raza, S. Uddin // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2021. – Vol. 143. – P. 112142.
353. Khan, H. Neuroprotective Effects of Quercetin in Alzheimer's Disease / H. Khan, H. Ullah, M. Aschner, W. S. Cheang, E. K. Akkol // Biomolecules. – 2019. – Vol. 10. – № 1. – P. 59.
354. Khangura, R. K. Histone acetylation and histone deacetylation in neuropathic pain: An unresolved puzzle? / R. K. Khangura, A. Bali, A. S. Jaggi, N. Singh // European Journal of Pharmacology. – 2017. – Vol. 795. – P. 36-42.
355. Kilgore, M. Inhibitors of Class 1 Histone Deacetylases Reverse Contextual Memory Deficits in a Mouse Model of Alzheimer's Disease / M. Kilgore, C. A. Miller, D. M. Fass, K. M. Hennig, S. J. Haggarty, J. D. Sweatt, G. Rumbaugh // Neuropsychopharmacology. – 2010. – Vol. 35. – № 4. – P. 870-880.
356. Kim, D. I. Relationship Between β -Amyloid and Mitochondrial Dynamics / D. I. Kim, K. H. Lee, J. Y. Oh, J. S. Kim, H. J. Han // Cellular and Molecular Neurobiology. – 2017. – Vol. 37. – № 6. – P. 955-968.
357. Kim, J. Theracurmin Ameliorates Cognitive Dysfunctions in 5XFAD Mice by Improving Synaptic Function and Mitigating Oxidative Stress / J. Kim, J. Kim, Z. Huang, N. Goo, H. J. Bae, Y. Jeong, H. J. Park, M. Cai, K. Cho, S. Y. Jung, S. K. Bae, J. H. Ryu // Biomolecules & Therapeutics. – 2019. – Vol. 27. – № 3. – P. 327-335.

358. Kim, J. Y. HDAC8 Deacetylates HIF-1 α and Enhances Its Protein Stability to Promote Tumor Growth and Migration in Melanoma / J. Y. Kim, H. Cho, J. Yoo, G. W. Kim, Y. H. Jeon, S. W. Lee, S. H. Kwon // *Cancers*. – 2023. – Vol. 15. – № 4. – P. 1123.
359. Kim, J. Y. Pathological Role of HDAC8: Cancer and Beyond / J. Y. Kim, H. Cho, J. Yoo, G. W. Kim, Y. H. Jeon, S. W. Lee, S. H. Kwon // *Cells*. – 2022. – Vol. 11. – № 19. – P. 3161.
360. Kim, J.-H. Long-Term Treatment of Cuban Policosanol Attenuates Abnormal Oxidative Stress and Inflammatory Response via Amyloid Plaques Reduction in 5xFAD Mice / J.-H. Kim, D.-K. Lim, Y.-H. Suh, K.-A. Chang // *Antioxidants*. – 2021. – Vol. 10. – № 8. – P. 1321.
361. Kim, E. K. Compromised MAPK signaling in human diseases: an update / E. K. Kim, E.-J. Choi // *Archives of Toxicology*. – 2015. – Vol. 89. – № 6. – P. 867-882.
362. Kim, E. K. Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases / E. K. Kim, E.-J. Choi // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. – 2010. – Vol. 1802. – № 4. – P. 396-405.
363. Kim, M. Isoflavone profiles and antioxidant properties in different parts of soybean sprout / M. Kim, M. Kim // *Journal of Food Science*. – 2020. – Vol. 85. – № 3. – P. 689-695.
364. Kim, N. H. Involvement of HDAC1 in E-cadherin expression in prostate cancer cells; its implication for cell motility and invasion / N. H. Kim, S.-N. Kim, Y. K. Kim // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2011. – Vol. 404. – № 4. – P. 915-921.
365. Kitamura, H. Cytosolic overexpression of p62 sequestosome 1 in neoplastic prostate tissue / H. Kitamura, T. Torigoe, H. Asanuma, S. Hisasue, K. Suzuki, T. Tsukamoto, M. Satoh, N. Sato // *Histopathology*. – 2006. – Vol. 48. – № 2. – P. 157-161.
366. Klayman, D. L. *Qinghaosu* (Artemisinin): an Antimalarial Drug from China / D. L. Klayman // *Science*. – 1985. – Vol. 228. – № 4703. – P. 1049-1055.
367. Klippel, S. Methyljasmonate displays *in vitro* and *in vivo* activity against multiple myeloma cells / S. Klippel, J. Jakubikova, J. Delmore, M. Ooi, D. McMillin, E. Kastritis, J. Laubach, P. G. Richardson, K. C. Anderson, C. S. Mitsiades // *British Journal of Haematology*. – 2012. – Vol. 159. – № 3. – P. 340-351.
368. Kličić, J. J. Accurate prediction of acidity constants in aqueous solution via density functional theory and self-consistent reaction field methods / J. J. Kličić, R. A. Friesner, S.-Y. Liu, W. C. Guida // *The Journal of Physical Chemistry A*. – 2002. – Vol. 106. – P. 1327-1335.
369. 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. – Vol. 7.

370. Klochkov, S. G. Synthesis and biological activity of amination products of the alkaloid securinine / S. G. Klochkov, S. V. Afanas'eva, V. V. Grigor'ev // *Chemistry of Natural Compounds*. – 2008. – V. 44. – №2. – P. 197-202.
371. 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. – Vol. 56. – P. 128-134.
372. 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. – Vol. 69. – P. 190-199.
373. Klochkov, S. G. New Arteannuin B Derivatives and Their Cytotoxic Activity /S. G. Klochkov, M. E. Neganova, S. A. Pukhov, S. V. Afanas'eva, Y. R. Aleksandrova, E. Y. Yandulova // *Chemistry of Natural Compounds*. – 2020b. – V. 56. – P. 445-451.
374. Klochkov, S. Unique indolizidine alkaloid securinine is a promising scaffold for the development of neuroprotective and antitumor drugs / S. Klochkov, M. Neganova // *RSC Advances*. – 2021. – Vol. 11. – № 31. – P. 19185-19195.
375. Knopman, D. S. Alzheimer disease / D. S. Knopman, H. Amieva, R. C. Petersen, G. Chételat, D. M. Holtzman, B. T. Hyman, R. A. Nixon, D. T. Jones // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2021. – Vol. 7. – № 1. – P. 33.
376. Knox, D. PI3K-Akt Signaling in the Basolateral Amygdala Facilitates Traumatic Stress Enhancements in Fear Memory / D. Knox, R. Della Valle, N. Mohammadmirzaei, B. Shultz, M. Biddle, A. Farkash, M. Chamness, E. Moulton // *International Journal of Neuropsychopharmacology*. – 2021. – Vol. 24. – № 3. – P. 229-238.
377. Kohnken, R. Regulation of deoxynucleotide metabolism in cancer: novel mechanisms and therapeutic implications / R. Kohnken, K. M. Kodigepalli, L. Wu // *Molecular Cancer*. – 2015. – Vol. 14. – № 1. – P. 176.
378. Kontakiotis, T. Bronchoalveolar lavage fluid alteration in antioxidant and inflammatory status in lung cancer patients / T. Kontakiotis, K. Katsoulis, O. Hagizisi, M. Kougioulis, S. Gerou, D. Papakosta // *European Journal of Internal Medicine*. – 2011. – Vol. 22. – № 5. – P. 522-526.
379. Krauter, A.-K. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior / A.-K. Krauter, P. C. Guest, Z. Sarnyai. – 2019. – P. 99-103.
380. Krauter, A.-K. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice / A.-K. Krauter, P. C. Guest, Z. Sarnyai. – 2019. – P. 105-111.
381. Krishna, A. Upregulated histone deacetylase 2 gene correlates with the progression of oral squamous cell carcinoma / A. Krishna, V. Singh, S. Singh, S. Kumar, V. Kumar, D. Mehrotra, U. S. Singh, A. A. Mahdi // *Cancer Biomarkers*. – 2020. – Vol. 29. – № 4. – P. 543-552.

382. Kroemer, G. Tumor Cell Metabolism: Cancer's Achilles' Heel / G. Kroemer, J. Pouyssegur // *Cancer Cell*. – 2008. – Vol. 13. – № 6. – P. 472-482.
383. Krysan, K. PGE2-Driven Expression of c-Myc and OncomiR-17-92 Contributes to Apoptosis Resistance in NSCLC / K. Krysan, R. Kusko, T. Grogan, J. O'Hearn, K. L. Reckamp, T. C. Walser, E. B. Garon, M. E. Lenburg, S. Sharma, A. E. Spira, D. Elashoff, S. M. Dubinett // *Molecular Cancer Research*. – 2014. – Vol. 12. – № 5. – P. 765-774.
384. Krzeslak, A. Expression of GLUT1 and GLUT3 Glucose Transporters in Endometrial and Breast Cancers / A. Krzeslak, K. Wojcik-Krowiranda, E. Forma, P. Jozwiak, H. Romanowicz, A. Bienkiewicz, M. Brys // *Pathology & Oncology Research*. – 2012. – Vol. 18. – № 3. – P. 721-728.
385. Kubo, T. Does Expression of Glucose Transporter Protein-1 Relate to Prognosis and Angiogenesis in Osteosarcoma? / T. Kubo, S. Shimose, J. Fujimori, T. Furuta, K. Arihiro, M. Ochi // *Clinical Orthopaedics & Related Research*. – 2015. – Vol. 473. – № 1. – P. 305-310.
386. Kujawski, J. The log P Parameter as a Molecular Descriptor in the Computer-aided Drug Design – an Overview / J. Kujawski, H. Popielarska, A. Myka, B. Drabińska, M. Bernard // *Computational Methods in Science and Technology*. – 2012. – Vol. 18. – № 2. – P. 81-88.
387. Kumar, V. Understanding the Role of Histone Deacetylase and their Inhibitors in Neurodegenerative Disorders: Current Targets and Future Perspective / V. Kumar, S. Kundu, A. Singh, S. Singh // *Current Neuropharmacology*. – 2022. – Vol. 20. – № 1. – P. 158-178.
388. Kumar, M. Implications of Phosphoinositide 3-Kinase-Akt (PI3K-Akt) Pathway in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease / M. Kumar, N. Bansal // *Molecular Neurobiology*. – 2022. – Vol. 59. – № 1. – P. 354-385.
389. Kumra, H. Fibronectin-targeted drug delivery in cancer / H. Kumra, D. P. Reinhardt // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2016. – Vol. 97. – P. 101-110.
390. Lacroix, M. Metabolic functions of the tumor suppressor p53: Implications in normal physiology, metabolic disorders, and cancer / M. Lacroix, R. Riscal, G. Arena, L. K. Linares, L. Le Cam // *Molecular Metabolism*. – 2020. – Vol. 33. – P. 2-22.
391. Lanni, C. Cancer and Alzheimer's disease inverse relationship: an age-associated diverging derailment of shared pathways / C. Lanni, M. Masi, M. Racchi, S. Govoni // *Molecular Psychiatry*. – 2021. – Vol. 26. – № 1. – P. 280-295.
392. Lasagna-Reeves, C. A. Tau oligomers impair memory and induce synaptic and mitochondrial dysfunction in wild-type mice / C. A. Lasagna-Reeves, D. L. Castillo-Carranza, U. Sengupta, A. L. Clos, G. R. Jackson, R. Kaye // *Molecular Neurodegeneration*. – 2011. – Vol. 6. – № 1. – P. 39.
393. Lazarova, M. Effects of New Galantamine Derivatives in a Scopolamine Model of Dementia in Mice / M. Lazarova, L. Tancheva, A. Alexandrova, E. Tsvetanova, A. Georgieva, M. Stefanova, D. Tsekova, L. Vezenkov, R. Kalfin, D. Uzunova, P. Petkova-Kirova // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2021. – Vol. 84. – № 2. – P. 671-690.

394. Le, T. M. ATR inhibition facilitates targeting of leukemia dependence on convergent nucleotide biosynthetic pathways / T. M. Le, S. Poddar, J. R. Capri, E. R. Abt, W. Kim, L. Wei, N. T. Uong, C. M. Cheng, D. Braas, M. Nikanjam, P. Rix, D. Merkurjev, J. Zaretsky, H. I. Kornblum, A. Ribas, H. R. Herschman, J. Whitelegge, K. F. Faull, T. R. Donahue et al. // *Nature Communications*. – 2017. – Vol. 8. – № 1. – P. 241.
395. Leary, S. E. S. Vorinostat and isotretinoin with chemotherapy in young children with embryonal brain tumors: A report from the Pediatric Brain Tumor Consortium (PBTC-026) / S. E. S. Leary, L. Kilburn, J. R. Geyer, M. Kocak, J. Huang, K. S. Smith, J. Hadley, R. Ermoian, T. J. MacDonald, S. Goldman, P. Phillips, T. Young Poussaint, J. M. Olson, D. W. Ellison, I. J. Dunkel, M. Fouladi, A. Onar-Thomas, P. A. Northcott // *Neuro-Oncology*. – 2022. – Vol. 24. – № 7. – P. 1178-1190.
396. Lee, S. The Role of HDAC6 in TDP-43-Induced Neurotoxicity and UPS Impairment / S. Lee, Y. Kwon, S. Kim, M. Jo, Y.-M. Jeon, M. Cheon, S. Lee, S. R. Kim, K. Kim, H.-J. Kim // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2020. – Vol. 8.
397. Lee, H.-C. Somatic alterations in mitochondrial DNA and mitochondrial dysfunction in gastric cancer progression / H.-C. Lee // *World Journal of Gastroenterology*. – 2014. – Vol. 20. – № 14. – P. 3950.
398. Lei, L. A Potential Oncogenic Role for PFKFB3 Overexpression in Gastric Cancer Progression / L. Lei, L.-L. Hong, Z.-N. Ling, Y. Zhong, X.-Y. Hu, P. Li, Z.-Q. Ling // *Clinical and Translational Gastroenterology*. – 2021. – Vol. 12. – № 7. – P. e00377.
399. Leonoudakis, D. Anti-Inflammatory and Neuroprotective Role of Natural Product Securinine in Activated Glial Cells: Implications for Parkinson's Disease / D. Leonoudakis, A. Rane, S. Angeli, G. J. Lithgow, J. K. Andersen, S. J. Chinta // *Mediators of Inflammation*. – 2017. – Vol. 2017. – P. 1-11.
400. Lepara, Z. Serum malondialdehyde (MDA) level as a potential biomarker of cancer progression for patients with bladder cancer / Z. Lepara, O. Lepara, A. Fajkić, D. Rebić, J. Alić, H. Spahović // *Romanian Journal of Internal Medicine*. – 2020. – Vol. 58. – № 3. – P. 146-152.
401. Leu, T. When the Brain Yearns for Oxygen / T. Leu, V. Schützhold, J. Fandrey, K. B. Ferez // *Neuro-Signals*. – 2019. – Vol. 27. – № 1. – P. 50-61.
402. Leuner, K. Mitochondrion-Derived Reactive Oxygen Species Lead to Enhanced Amyloid Beta Formation / K. Leuner, T. Schütt, C. Kurz, S. H. Eckert, C. Schiller, A. Occhipinti, S. Mai, M. Jendrach, G. P. Eckert, S. E. Kruse, R. D. Palmiter, U. Brandt, S. Dröse, I. Wittig, M. Willem, C. Haass, A. S. Reichert, W. E. Müller // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2012. – Vol. 16. – № 12. – P. 1421-1433.
403. Leus, N. G. Histone deacetylase 3 (HDAC 3) as emerging drug target in NF- κ B-mediated inflammation / N. G. Leus, M. R. Zwinderman, F. J. Dekker // *Current Opinion in Chemical Biology*. – 2016. – Vol. 33. – P. 160-168.
404. Li, E. A novel HDAC6 inhibitor, CKD-504, is effective in treating preclinical models of huntington's disease / E. Li, J. Choi, H.-R. Sim, J. Kim, J.

- H. Jun, J. Kyung, N. Ha, S. Kim, K. H. Ryu, S. S. Chung, H. S. Kim, S. Lee, W. Seol, J. Song // *BMB Reports*. – 2023. – Vol. 56. – № 3. – P. 178-183.
405. Li, H. Aluminum-Induced Synaptic Plasticity Impairment via PI3K-Akt-mTOR Signaling Pathway / H. Li, X. Xue, L. Li, Y. Li, Y. Wang, T. Huang, Y. Wang, H. Meng, B. Pan, Q. Niu // *Neurotoxicity Research*. – 2020. – Vol. 37. – № 4. – P. 996-1008.
406. Li, J. Methyl jasmonate leads to necrosis and apoptosis in hepatocellular carcinoma cells via inhibition of glycolysis and represses tumor growth in mice / J. Li, K. Chen, F. Wang, W. Dai, S. Li, J. Feng, L. Wu, T. Liu, S. Xu, Y. Xia, J. Lu, Y. Zhou, L. Xu, C. Guo // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – № 28. – P. 45965-45980.
407. Li, J. PINK1-parkin-mediated neuronal mitophagy deficiency in prion disease / J. Li, M. Lai, X. Zhang, Z. Li, D. Yang, M. Zhao, D. Wang, Z. Sun, S. Ehsan, W. Li, H. Gao, D. Zhao, L. Yang // *Cell Death & Disease*. – 2022. – Vol. 13. – № 2. – P. 162.
408. Li, L. ROS and Autophagy: Interactions and Molecular Regulatory Mechanisms / L. Li, J. Tan, Y. Miao, P. Lei, Q. Zhang // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 2015. – Vol. 35. – № 5. – P. 615-621.
409. Li, L.-H. Action of trichostatin A on Alzheimer's disease-like pathological changes in SH-SY5Y neuroblastoma cells / L.-H. Li, W.-N. Peng, Y. Deng, J.-J. Li, X.-R. Tian // *Neural Regeneration Research*. – 2020. – Vol. 15. – № 2. – P. 293.
410. Li, S. HDAC2 regulates cell proliferation, cell cycle progression and cell apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma EC9706 cells / S. Li, F. Wang, Y. Qu, X. Chen, M. Gao, J. Yang, D. Zhang, N. Zhang, W. Li, H. Liu // *Oncology Letters*. – 2017. – Vol. 13. – № 1. – P. 403-409.
411. Li, W. MicroRNA-34a: Potent Tumor Suppressor, Cancer Stem Cell Inhibitor, and Potential Anticancer Therapeutic / W. Li, Y. Wang, R. Liu, A. L. Kasinski, H. Shen, F. J. Slack, D. G. Tang // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2021. – Vol. 9.
412. Li, X. PI3K/Akt/mTOR signaling orchestrates the phenotypic transition and chemo-resistance of small cell lung cancer / X. Li, C. Li, C. Guo, Q. Zhao, J. Cao, H.-Y. Huang, M. Yue, Y. Xue, Y. Jin, L. Hu, H. Ji // *Journal of Genetics and Genomics*. – 2021. – Vol. 48. – № 7. – P. 640-651.
413. Li, Y. Activation of Nrf2 signaling by sitagliptin and quercetin combination against β -amyloid induced Alzheimer's disease in rats / Y. Li, Q. Tian, Z. Li, M. Dang, Y. Lin, X. Hou // *Drug Development Research*. – 2019. – Vol. 80. – № 6. – P. 837-845.
414. Li, Y. Quercetin, Inflammation and Immunity / Y. Li, J. Yao, C. Han, J. Yang, M. Chaudhry, S. Wang, H. Liu, Y. Yin // *Nutrients*. – 2016. – Vol. 8. – № 3. – P. 167.
415. Li, Y.-L. The Combination of MK-2206 and WZB117 Exerts a Synergistic Cytotoxic Effect Against Breast Cancer Cells / Y.-L. Li, H.-C. Weng, J.-L. Hsu, S.-W. Lin, J.-H. Guh, L.-C. Hsu // *Frontiers in Pharmacology*. – 2019. – Vol. 10.

416. Li, L. HDAC2 promotes the migration and invasion of non-small cell lung cancer cells via upregulation of fibronectin / L. Li, D. T. Mei, Y. Zeng // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2016. – Vol. 84. – P. 284-290.
417. Li, L. Tubulin acetylation: responsible enzymes, biological functions and human diseases / L. Li, X.-J. Yang // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2015. – Vol. 72. – № 22. – P. 4237-4255.
418. Li, R. Salidroside Protects Dopaminergic Neurons by Enhancing PINK1/Parkin-Mediated Mitophagy / R. Li, J. Chen // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2019. – Vol. 2019. – P. 1-11.
419. Li, Y. HDACs and HDAC Inhibitors in Cancer Development and Therapy / Y. Li, E. Seto // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. – 2016. – Vol. 6. – № 10. – P. a026831.
420. Liang, J. Mitochondrial PKM2 regulates oxidative stress-induced apoptosis by stabilizing Bcl2 / J. Liang, R. Cao, X. Wang, Y. Zhang, P. Wang, H. Gao, C. Li, F. Yang, R. Zeng, P. Wei, D. Li, W. Li, W. Yang // *Cell Research*. – 2017. – Vol. 27. – № 3. – P. 329-351.
421. Lin, R. Quercetin Suppresses AOM/DSS-Induced Colon Carcinogenesis through Its Anti-Inflammation Effects in Mice / R. Lin, M. Piao, Y. Song, C. Liu // *Journal of Immunology Research*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 1-10.
422. Lin, S. P. Artemisinin Prevents Glutamate-Induced Neuronal Cell Death Via Akt Pathway Activation / S.-P. Lin, W. Li, A. Winters, R. Liu, S.-H. Yang // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2018. – Vol. 12.
423. Lin, T.-S. Fibronectin in Cancer: Friend or Foe / T.-C. Lin, C.-H. Yang, L.-H. Cheng, W.-T. Chang, Y.-R. Lin, H.-C. Cheng // *Cells*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 27.
424. Lin, Y.-C. DUSP1 Expression Induced by HDAC1 Inhibition Mediates Gefitinib Sensitivity in Non-Small Cell Lung Cancers / Y.-C. Lin, Y.-C. Lin, J.-Y. Shih, W.-J. Huang, S.-W. Chao, Y.-L. Chang, C.-C. Chen // *Clinical Cancer Research*. – 2015. – Vol. 21. – № 2. – P. 428-438.
425. Lin, M. T. High aggregate burden of somatic mtDNA point mutations in aging and Alzheimer's disease brain / M. T. Lin // *Human Molecular Genetics*. – 2002. – Vol. 11. – № 2. – P. 133-145.
426. Lin, X. Neuroprotection by D-securinine against neurotoxicity induced by beta-amyloid (25–35) / X. Lin, Z. Jun-tian // *Neurological Research*. – 2004. – Vol. 26. – № 7. – P. 792-796.
427. Linciano, P. Investigation of the effect of different linker chemotypes on the inhibition of histone deacetylases (HDACs) / P. Linciano, R. Benedetti, L. Pinzi, F. Russo, U. Chianese, C. Sorbi, L. Altucci, G. Rastelli, L. Brasili, S. Franchini // *Bioorganic Chemistry*. – 2021. – Vol. 106. – P. 104462.
428. Lissner, L. J. Object recognition and Morris water maze to detect cognitive impairment from mild hippocampal damage in rats: A reflection based on the literature and experience / L. J. Lissner, K. M. Wartchow, A. P. Toniazzo, C.-A. Gonçalves, L. Rodrigues // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 2021. – Vol. 210. – P. 173273.

429. Liu, C. Histone deacetylase 3 participates in self-renewal of liver cancer stem cells through histone modification / C. Liu, L. Liu, J. Shan, J. Shen, Y. Xu, Q. Zhang, Z. Yang, L. Wu, F. Xia, P. Bie, Y. Cui, X. Zhang, X. Bian, C. Qian // *Cancer Letters*. – 2013. – Vol. 339. – № 1. – P. 60-69.
430. Liu, D. HDAC1/DNMT3A-containing complex is associated with suppression of Oct4 in cervical cancer cells / D. Liu, P. Zhou, L. Zhang, W. Gong, G. Huang, Y. Zheng, F. He // *Biochemistry (Moscow)*. – 2012. – Vol. 77. – № 8. – P. 934-940.
431. Liu, G. Design, synthesis, and anti-inflammatory activity characterization of novel brain-permeable HDAC6 inhibitors / G. Liu, P. Mondal, N. Sang, Z. Li, W. Ding, L. Yang, Y. Liu, V. C. Birar, A. Gomm, R. E. Tanzi, C. Zhang, S. Shen, C. Wang, X. Lu, P. Bai // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2023. – Vol. 254. – P. 115327.
432. Liu, S.-S. HDAC11: a rising star in epigenetics / S.-S. Liu, F. Wu, Y.-M. Jin, W.-Q. Chang, T.-M. Xu // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2020. – Vol. 131. – P. 110607.
433. Liu, W. Glutathione peroxidase 4-dependent glutathione high-consumption drives acquired platinum chemoresistance in lung cancer-derived brain metastasis / W. Liu, Y. Zhou, W. Duan, J. Song, S. Wei, S. Xia, Y. Wang, X. Du, E. Li, C. Ren, W. Wang, Q. Zhan, Q. Wang // *Clinical and Translational Medicine*. – 2021. – Vol. 11. – № 9.
434. Liu, W. Overcoming 5-Fu Resistance of Colon Cells through Inhibition of Glut1 by the Specific Inhibitor WZB117 / W. Liu, Y. Fang, X.-T. Wang, J. Liu, X. Dan, L.-L. Sun // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2014. – Vol. 15. – № 17. – P. 7037-7041.
435. Liu, X. Elevated Hexokinase II Expression Confers Acquired Resistance to 4-Hydroxytamoxifen in Breast Cancer Cells / X. Liu, W. Miao, M. Huang, L. Li, X. Dai, Y. Wang // *Molecular & Cellular Proteomics*. – 2019. – Vol. 18. – № 11. – P. 2273-2284.
436. Liu, X. HDAC1 Silencing in Ovarian Cancer Enhances the Chemotherapy Response / X. Liu, Y. Yu, J. Zhang, C. Lu, L. Wang, P. Liu, H. Song // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2018. – Vol. 48. – № 4. – P. 1505-1518.
437. Liu, Y. A Small-Molecule Inhibitor of Glucose Transporter 1 Downregulates Glycolysis, Induces Cell-Cycle Arrest, and Inhibits Cancer Cell Growth *In Vitro* and *In Vivo* / Y. Liu, Y. Cao, W. Zhang, S. Bergmeier, Y. Qian, H. Akbar, R. Colvin, J. Ding, L. Tong, S. Wu, J. Hines, X. Chen // *Molecular Cancer Therapeutics*. – 2012. – Vol. 11. – № 8. – P. 1672-1682.
438. Liu, Y. Recent Progress in the Drug Development for the Treatment of Alzheimer's Disease Especially on Inhibition of Amyloid-peptide Aggregation / Y. Liu, L. Cong, C. Han, B. Li, R. Dai // *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. – 2021. – Vol. 21. – № 8. – P. 969-990.
439. Liu, G. Spatial correlation maps of the hippocampus with cerebrospinal fluid biomarkers and cognition in Alzheimer's disease: A longitudinal study / G. Liu, C. Liu, A. Qiu // *Human Brain Mapping*. – 2021. – Vol. 42. – № 9. – P. 2931-2940.

440. Liu, J. Balancing Apoptosis and Autophagy for Parkinson's Disease Therapy: Targeting BCL-2 / J. Liu, W. Liu, H. Yang // ACS Chemical Neuroscience. – 2019. – Vol. 10. – № 2. – P. 792-802.
441. Liu, Z. A practical method for extending the biuret assay to protein determination of corn-based products / Z. Liu, J. Pan // Food Chemistry. – 2017. – Vol. 224. – P. 289-293.
442. Locasale, J. W. Altered metabolism in cancer / J. W. Locasale, L. C. Cantley // BMC Biology. – 2010. – Vol. 8. – № 1. – P. 88.
443. Long, H.-Z. PI3K/AKT Signal Pathway: A Target of Natural Products in the Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease / H.-Z. Long, Y. Cheng, Z.-W. Zhou, H.-Y. Luo, D.-D. Wen, L.-C. Gao // Frontiers in Pharmacology. – 2021. – Vol. 12.
444. Lopez, G. HDAC8, A Potential Therapeutic Target for the Treatment of Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors (MPNST) / G. Lopez, K. L. J. Bill, H. K. Bid, D. Braggio, D. Constantino, B. Prudner, A. Zewdu, K. Batte, D. Lev, R. E. Pollock // PLOS ONE. – 2015. – Vol. 10. – № 7. – P. e0133302.
445. Lu, H. The *in vitro* and *vivo* anti-tumor effects and molecular mechanisms of suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) and MG132 on the aggressive phenotypes of gastric cancer cells / H. Lu, X. Yang, X. Tian, S. Tang, L. Li, S. Zhao, H. Zheng // Oncotarget. – 2016. – Vol. 7. – № 35. – P. 56508-56525.
446. Lu, W. Antioxidant Activity and Healthy Benefits of Natural Pigments in Fruits: A Review / W. Lu, Y. Shi, R. Wang, D. Su, M. Tang, Y. Liu, Z. Li // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 9. – P. 4945.
447. Lu, X. Quercetin reverses docetaxel resistance in prostate cancer via androgen receptor and PI3K/Akt signaling pathways / X. Lu, F. Yang, D. Chen, Q. Zhao, D. Chen, H. Ping, N. Xing // International Journal of Biological Sciences. – 2020. – Vol. 16. – № 7. – P. 1121-1134.
448. Lu, Y.-Y. GLUT-1 Enhances Glycolysis, Oxidative Stress, and Fibroblast Proliferation in Keloid / Y.-Y. Lu, C.-H. Wu, C.-H. Hong, K.-L. Chang, C.-H. Lee // Life. – 2021. – Vol. 11. – № 6. – P. 505.
449. Lubick, K. Securinine, a GABAA receptor antagonist, enhances macrophage clearance of phase II *C. burnetii*: comparison with TLR agonists / K. Lubick, M. Radke, M. Jutila // Journal of Leukocyte Biology. – 2007. – Vol. 82. – № 5. – P. 1062-1069.
450. Lueptow, L. M. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice / L. M. Lueptow // Journal of Visualized Experiments. – 2017. – № 126.
451. Lugones, Y. Cisplatin Resistance: Genetic and Epigenetic Factors Involved / Y. Lugones, P. Loren, L. A. Salazar // Biomolecules. – 2022. – Vol. 12. – № 10. – P. 1365.
452. Lunnon, K. Mitochondrial Dysfunction and Immune Activation are Detectable in Early Alzheimer's Disease Blood / K. Lunnon, Z. Ibrahim, P. Proitsi, A. Lourdasamy, S. Newhouse, M. Sattlecker, S. Furney, M. Saleem, H. Soininen, I. Kłoszewska, P. Mecocci, M. Tsolaki, B. Vellas, G. Coppola, D.

- Geschwind, A. Simmons, S. Lovestone, R. Dobson, A. Hodges // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2012. – Vol. 30. – № 3. – P. 685-710.
453. Luo, J. Ageing, age-related diseases and oxidative stress: What to do next? / J. Luo, K. Mills, S. le Cessie, R. Noordam, D. van Heemst // *Ageing Research Reviews*. – 2020. – Vol. 57. – P. 100982.
454. Luo, X.-M. Glucose Transporter-1 as a New Therapeutic Target in Laryngeal Carcinoma / X.-M. Luo, S.-H. Zhou, J. Fan // *Journal of International Medical Research*. – 2010. – Vol. 38. – № 6. – P. 1885-1892.
455. Lv, J. Artemisinin exerts a protective effect in the MPTP mouse model of Parkinson's disease by inhibiting microglial activation via the TLR4/Myd88/NF-KB pathway / J. Lv, J. Zhu, P. Wang, T. Liu, J. Yuan, H. Yin, Y. Lan, Q. Sun, Z. Zhang, G. Ding, C. Zhou, H. Wang, Z. Wang, Y. Wang // *CNS Neuroscience & Therapeutics*. – 2023. – Vol. 29. – № 4. – P. 1012-1023.
456. Ma, J. Mitochondrial Dysfunction Promotes Breast Cancer Cell Migration and Invasion through HIF1 α Accumulation via Increased Production of Reactive Oxygen Species / J. Ma, Q. Zhang, S. Chen, B. Fang, Q. Yang, C. Chen, L. Miele, F. H. Sarkar, J. Xia, Z. Wang // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8. – № 7. – P. e69485.
457. Ma, K. Y. Parkinson's disease-associated VPS35 mutant reduces mitochondrial membrane potential and impairs PINK1/Parkin-mediated mitophagy / K. Y. Ma, M. R. Fokkens, F. Reggiori, M. Mari, D. S. Verbeek // *Translational Neurodegeneration*. – 2021. – Vol. 10. – № 1. – P. 19.
458. Ma, L. Aberrant HDAC3 expression correlates with brain metastasis in breast cancer patients / L. Ma, L. Qi, S. Li, Q. Yin, J. Liu, J. Wang, C. She, P. Li, Q. Liu, X. Wang, W. Li // *Thoracic Cancer*. – 2020. – Vol. 11. – № 9. – P. 2493-2505.
459. Maegawa, H. Generation of Mitochondrial Toxin Rodent Models of Parkinson's Disease Using 6-OHDA, MPTP, and Rotenone / H. Maegawa, H. Niwa. – 2021. – P. 95-110.
460. Mahady, L. Frontal Cortex Epigenetic Dysregulation During the Progression of Alzheimer's Disease / L. Mahady, M. Nadeem, M. Malek-Ahmadi, K. Chen, S. E. Perez, E. J. Mufson // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2018. – Vol. 62. – № 1. – P. 115-131.
461. Mahalingam, D. Combined autophagy and HDAC inhibition / D. Mahalingam, M. Mita, J. Sarantopoulos, L. Wood, R. K. Amaravadi, L. E. Davis, A. C. Mita, T. J. Curiel, C. M. Espitia, S. T. Nawrocki, F. J. Giles, J. S. Carew // *Autophagy*. – 2014. – Vol. 10. – № 8. – P. 1403-1414.
462. Mahalingam, D. Mipsagargin, a novel thapsigargin-based PSMA-activated prodrug: results of a first-in-man phase I clinical trial in patients with refractory, advanced or metastatic solid tumours / D. Mahalingam, G. Wilding, S. Denmeade, J. Sarantopoulos, D. Cosgrove, J. Cetnar, N. Azad, J. Bruce, M. Kurman, V. E. Allgood, M. Carducci // *British Journal of Cancer*. – 2016. – Vol. 114. – № 9. – P. 986-994.
463. Maity, S. Epigenetic Mechanisms in Memory and Cognitive Decline Associated with Aging and Alzheimer's Disease / S. Maity, K. Farrell, S.

- Navabpour, S. N. Narayanan, T. J. Jarome // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 22. – P. 12280.
464. Makarov, M. V. 1,5-Diaryl-3-oxo-1,4-pentadienes based on (4-oxopiperidin-1-yl)(aryl)methyl phosphonate scaffold: synthesis and antitumor properties / M. V. Makarov, E. Y. Rybalkina, L. V. Anikina, S. A. Pukhov, S. G. Klochkov, D. V. Mischenko, M. E. Neganova, V. N. Khrustalev, Z. S. Klemenkova, V. K. Brel // *Medicinal Chemistry Research*. – 2016. – Vol. 26. – P. 140-152.
465. Manczak, M. Protective effects of reduced dynamin-related protein 1 against amyloid beta-induced mitochondrial dysfunction and synaptic damage in Alzheimer's disease / M. Manczak, R. Kandimalla, D. Fry, H. Sesaki, P. H. Reddy // *Human Molecular Genetics*. – 2016. – P. ddw330.
466. Manczak, M. Impaired mitochondrial dynamics and abnormal interaction of amyloid beta with mitochondrial protein Drp1 in neurons from patients with Alzheimer's disease: implications for neuronal damage / M. Manczak, M. J. Calkins, P. H. Reddy // *Human Molecular Genetics*. – 2011. – Vol. 20. – № 13. – P. 2495-2509.
467. Manju, V. Circulating lipid peroxidation and antioxidant status in cervical cancer patients: a case-control study / V. Manju, J. Kalaivani Sailaja, N. Nalini // *Clinical Biochemistry*. – 2002. – Vol. 35. – № 8. – P. 621-625.
468. Manju, V. Oxidative Stress and Tumor Markers in Cervical Cancer Patients / V. Manju, V. Balasubramanian, N. Nalini // *The Journal of Biochemistry, Molecular Biology and Biophysics*. – 2002. – Vol. 6. – № 6. – P. 387-390.
469. Mann, B. S. FDA Approval Summary: Vorinostat for Treatment of Advanced Primary Cutaneous T-Cell Lymphoma / B. S. Mann, J. R. Johnson, M. H. Cohen, R. Justice, R. Pazdur // *The Oncologist*. – 2007. – Vol. 12. – № 10. – P. 1247-1252.
470. Mantel, C. Superoxide flashes, reactive oxygen species, and the mitochondrial permeability transition pore: potential implications for hematopoietic stem cell function / C. Mantel, S. V Messina-Graham, H. E. Broxmeyer // *Current Opinion in Hematology*. – 2011. – Vol. 18. – № 4. – P. 208-213.
471. Marakala, V. Lipid Peroxidation and Antioxidant Vitamin Status in Oral Cavity and Oropharyngeal Cancer Patients / V. Marakala, M. Malathi, A. R. Shivashankara // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2012. – Vol. 13. – № 11. – P. 5763-5765.
472. Martínez Leo, E. E. Systemic Oxidative Stress: A Key Point in Neurodegeneration — A Review / E. E. Martínez Leo, M. R. Segura Campos // *The journal of nutrition, health & aging*. – 2019. – Vol. 23. – № 8. – P. 694-699.
473. Martínez-Reyes, I. Cancer metabolism: looking forward / I. Martínez-Reyes, N. S. Chandel // *Nature Reviews Cancer*. – 2021. – Vol. 21. – № 10. – P. 669-680.
474. Martínez-Reyes, I. The H⁺-ATP synthase: A gate to ROS-mediated cell death or cell survival / I. Martínez-Reyes, J. M. Cuezva // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. – 2014. – Vol. 1837. – № 7. – P. 1099-1112.

475. Mashouri, L. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance / L. Mashouri, H. Yousefi, A. R. Aref, A. mohammad Ahadi, F. Molaei, S. K. Alahari // *Molecular Cancer*. – 2019. – Vol. 18. – № 1. – P. 75.
476. Mauri, A. Dragon software: An easy approach to molecular descriptor calculations/ A. Mauri, V. Consonni, M. Pavan, R. Todeschini // *Match*. – 2006. – V. 56. – 2. – P. 237-248.
477. Mazzetti, S. Phospho-HDAC6 Gathers Into Protein Aggregates in Parkinson's Disease and Atypical Parkinsonisms / S. Mazzetti, M. De Leonardis, G. Gagliardi, A. M. Calogero, M. J. Basellini, L. Madaschi, I. Costa, F. Cacciatore, S. Spinello, M. Bramerio, R. Cilia, C. Rolando, G. Giaccone, G. Pezzoli, G. Cappelletti // *Frontiers in Neuroscience*. – 2020. – Vol. 14.
478. McCabe, E. M. lncRNA involvement in cancer stem cell function and epithelial-mesenchymal transitions / E. M. McCabe, T. P. Rasmussen // *Seminars in Cancer Biology*. – 2021. – Vol. 75. – P. 38-48.
479. McLeod, A. B. Validation of histone deacetylase 3 as a therapeutic target in castration-resistant prostate cancer / A. B. McLeod, J. P. Stice, S. E. Wardell, H. M. Alley, C. Chang, D. P. McDonnell // *The Prostate*. – 2018. – Vol. 78. – № 4. – P. 266-277.
480. Meng, M. β -Asarone Ameliorates β -Amyloid-Induced Neurotoxicity in PC12 Cells by Activating P13K/Akt/Nrf2 Signaling Pathway / M. Meng, L. Zhang, D. AI, H. Wu, W. Peng // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – Vol. 12.
481. Miao, L.-J. Stat3 inhibits Beclin 1 expression through recruitment of HDAC3 in nonsmall cell lung cancer cells / L.-J. Miao, F.-X. Huang, Z.-T. Sun, R.-X. Zhang, S.-F. Huang, J. Wang // *Tumor Biology*. – 2014. – Vol. 35. – № 7. – P. 7097-7103.
482. Michelakis, E. D. Dichloroacetate (DCA) as a potential metabolic-targeting therapy for cancer / E. D. Michelakis, L. Webster, J. R. Mackey // *British Journal of Cancer*. – 2008. – Vol. 99. – № 7. – P. 989-994.
483. Migliario, M. Laser-induced osteoblast proliferation is mediated by ROS production / M. Migliario, P. Pittarella, M. Fanuli, M. Rizzi, F. Renò // *Lasers in Medical Science*. – 2014. – Vol. 29. – № 4. – P. 1463-1467.
484. Mikhaleva, L. M. Malignant Transformation and Associated Biomarkers of Ovarian Endometriosis: A Narrative Review / L. M. Mikhaleva, A. I. Davydov, O. I. Patsap, E. V. Mikhaylenko, V. N. Nikolenko, M. E. Neganova, S. G. Klochkov, S. G. Somasundaram, C. E. Kirkland, G. Aliev // *Advances in Therapy*. – 2020. – Vol. 37. – № 6. – P. 2580-2603.
485. Minamiya, Y. Strong expression of HDAC3 correlates with a poor prognosis in patients with adenocarcinoma of the lung / Y. Minamiya, T. Ono, H. Saito, N. Takahashi, M. Ito, S. Motoyama, J. Ogawa // *Tumor Biology*. – 2010. – Vol. 31. – № 5. – P. 533-539.
486. Miran, T. Modulation of glutathione promotes apoptosis in triple-negative breast cancer cells / T. Miran, A. T. J. Vogg, N. Drude, F. M. Mottaghy, A. Morgenroth // *FASEB J*. – 2018. – Vol. 32. – №5. – P. 2803-2813.

487. Miricescu, D. PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway in Breast Cancer: From Molecular Landscape to Clinical Aspects / D. Miricescu, A. Totan, I.-I. Stanescu-Spinu, S. C. Badoiu, C. Stefani, M. Greabu // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 22. – № 1. – P. 173.
488. 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, A. N. Samsonova, G. M. Ashraf, G. Barreto, N. S. Yarla, G. Aliev // Current Cancer Drug Targets. – 2018. – Vol. 18. – № 4. – P. 365-371.
489. Mitchell, J. P. NF- κ B and the Transcriptional Control of Inflammation / J. P. Mitchell, R. J. Carmody. – 2018. – P. 41-84.
490. Mitchell, S. Signaling via the $\text{NF}\kappa\text{B}$ system / S. Mitchell, J. Vargas, A. Hoffmann // WIREs Systems Biology and Medicine. – 2016. – Vol. 8. – № 3. – P. 227-241.
491. Miyazaki, I. Chronic Systemic Exposure to Low-Dose Rotenone Induced Central and Peripheral Neuropathology and Motor Deficits in Mice: Reproducible Animal Model of Parkinson's Disease / I. Miyazaki, N. Isooka, F. Imafuku, J. Sun, R. Kikuoka, C. Furukawa, M. Asanuma // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21. – № 9. – P. 3254.
492. Miyazawa, T. Ingestion of Chlorella Reduced the Oxidation of Erythrocyte Membrane Lipids in Senior Japanese Subjects / T. Miyazawa, K. Nakagawa, H. Takekoshi, O. Higuchi, S. Kato, M. Kondo, F. Kimura, T. Miyazawa // Journal of Oleo Science. – 2013. – Vol. 62. – № 11. – P. 873-881.
493. Mogi, A. Expression and role of GLUT-1, MCT-1, and MCT-4 in malignant pleural mesothelioma / A. Mogi, K. Koga, M. Aoki, M. Hamasaki, N. Uesugi, A. Iwasaki, T. Shirakusa, K. Tamura, K. Nabeshima // Virchows Archiv. – 2013. – Vol. 462. – № 1. – P. 83-93.
494. Moloney, J. N. ROS signalling in the biology of cancer / J. N. Moloney, T. G. Cotter // Seminars in Cell & Developmental Biology. – 2018. – Vol. 80. – P. 50-64.
495. Moon, J.-S. Androgen stimulates glycolysis for *de novo* lipid synthesis by increasing the activities of hexokinase 2 and 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 2 in prostate cancer cells / J.-S. Moon, W.-J. Jin, J.-H. Kwak, H.-J. Kim, M.-J. Yun, J.-W. KIM, S. W. Park, K.-S. Kim // Biochemical Journal. – 2011. – Vol. 433. – № 1. – P. 225-233.
496. More, S. S. Vorinostat Increases Expression of Functional Norepinephrine Transporter in Neuroblastoma *In Vitro* and *In Vivo* Model Systems / S. S. More, M. Itsara, X. Yang, E. G. Geier, M. K. Tadano, Y. Seo, H. F. VanBrocklin, W. A. Weiss, S. Mueller, D. A. Haas-Kogan, S. G. DuBois, K. K. Matthay, K. M. Giacomini // Clinical Cancer Research. – 2011. – Vol. 17. – № 8. – P. 2339-2349.
497. Moreno, D. A. Differential expression of *HDAC3*, *HDAC7* and *HDAC9* is associated with prognosis and survival in childhood acute lymphoblastic leukaemia / D. A. Moreno, C. A. Scrideli, M. A. A. Cortez, R. De Paula Queiroz,

- E. T. Valera, V. Da Silva Silveira, J. A. Yunes, S. R. Brandalise, L. G. Tone // *British Journal of Haematology*. – 2010. – Vol. 150. – № 6. – P. 665-673.
498. Morine, Y. Role of histone deacetylase expression in intrahepatic cholangiocarcinoma / Y. Morine, M. Shimada, S. Iwahashi, T. Utsunomiya, S. Imura, T. Ikemoto, H. Mori, J. Hanaoka, H. Miyake // *Surgery*. – 2012. – Vol. 151. – № 3. – P. 412-419.
499. Mormino, A. Histone-deacetylase 8 drives the immune response and the growth of glioma / A. Mormino, G. Coccozza, G. Fontemaggi, S. Valente, V. Esposito, A. Santoro, G. Bernardini, A. Santoni, F. Fazi, A. Mai, C. Limatola, S. Garofalo // *Glia*. – 2021. – Vol. 69. – № 11. – P. 2682-2698.
500. Mostafavi-Pour, Z. The role of quercetin and vitamin C in Nrf2-dependent oxidative stress production in breast cancer cells / Z. Mostafavi-Pour, F. Ramezani, F. Keshavarzi, N. Samadi // *Oncology Letters*. – 2017. – Vol. 13. – № 3. – P. 1965-1973.
501. Mufson, E. J. own Syndrome, Neurodegeneration and Dementia / E. J. Mufson, S. D. Ginsberg, T. Ma, A. Ledreux, S. E. Perez // *Frontiers in Aging Neuroscience*. – 2021. – Vol. 13.
502. Muhammad, N. Multiaction Platinum(IV) Prodrug Containing Thymidylate Synthase Inhibitor and Metabolic Modifier against Triple-Negative Breast Cancer / N. Muhammad, C.-P. Tan, U. Nawaz, J. Wang, F.-X. Wang, S. Nasreen, L.-N. Ji, Z.-W. Mao // *Inorganic Chemistry*. – 2020. – Vol. 59. – № 17. – P. 12632-12642.
503. Mulero, M. C. NF- κ B, I κ B, and IKK: Integral Components of Immune System Signaling / M. C. Mulero, T. Huxford, G. Ghosh. – 2019. – P. 207-226.
504. Murai, M. Exploring the binding pocket of quinone/inhibitors in mitochondrial respiratory complex I by chemical biology approaches / M. Murai // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. – 2020. – Vol. 84. – № 7. – P. 1322-1331.
505. Mutule, I. 5-Membered cyclic hydroxamic acids as HDAC inhibitors / I. Mutule, D. Borovika, E. Rozenberga, N. Romanchikova, R. Zalubovskis, I. Shestakova, P. Trapencieris // *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. – 2015. – Vol. 30. – № 2. – P. 216-223.
506. Mutze, K. Histone Deacetylase (HDAC) 1 and 2 Expression and Chemotherapy in Gastric Cancer / K. Mutze, R. Langer, K. Becker, K. Ott, A. Novotny, B. Lubner, A. Hapfelmeier, M. Göttlicher, H. Höfler, G. Keller // *Annals of Surgical Oncology*. – 2010. – Vol. 17. – № 12. – P. 3336-3343.
507. Nakagawa, M. Expression profile of class I histone deacetylases in human cancer tissues. / M. Nakagawa, Y. Oda, T. Eguchi, S.-I. Aishima, T. Yao, F. Hosoi, Y. Basaki, M. Ono, M. Kuwano, M. Tanaka, M. Tsuneyoshi // *Oncology reports*. – 2007. – Vol. 18. – № 4. – P. 769-774.
508. Nandi, A. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases / A. Nandi, L.-J. Yan, C. K. Jana, N. Das // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2019. – Vol. 2019. – P. 1-19.
509. Nath, K. Mechanism of antineoplastic activity of lonidamine / K. Nath, L. Guo, B. Nancolas, D. S. Nelson, A. A. Shestov, S.-C. Lee, J. Roman, R. Zhou, D.

- B. Leeper, A. P. Halestrap, I. A. Blair, J. D. Glickson // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. – 2016. – Vol. 1866. – № 2. – P. 151-162.
510. 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. – Vol. 31. – № 5. – P. 529-551.
511. 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. – Vol. 86. – № 2. – P. 805-833.
512. Neganova, M. E. Allomargaritarine as a basis for the creation of mitochondrial targeted potential neuroprotectors / M. E. Neganova, S. G. Klochkov, S. V. Afanasieva, E. S. Chudinova, T. P. Serkova, E. F. Shevtsova // *European Neuropsychopharmacology*. – 2014. – Vol. 24. – P. S261-S262.
513. 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. – Vol. 27. – № 23. – P. 8411.
514. 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. – Vol. 83. – P. 452-471.
515. Neganova, M. E. Neuroprotective effects of the securinine-analogues: 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. Prakash Reddy, G. Aliev, E. F. Shevtsova // *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*. – 2016. – Vol. 15. – № 1. – P. 102-107.
516. 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. – Vol. 21. – № 5. – P. 597-610.
517. 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. – Vol. 16. – № 3. – P. 351-355.
518. 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. – Vol. 74. – P. 128940.
519. Neganova, M. E. Synthesis and Cytotoxic Activity of Azine Derivatives of 6-Hydroxyxanthodiene / M. E. Neganova, S. G. Klochkov, S. A. Pukhov, S. V.

- Afanasieva, Y. R. Aleksandrova, E. Y. Yandulova, M. F. Avila-Rodriguez, L. M. Mikhaleva, V. N. Nikolenko, S. G. Somasundaram, C. E. Kirkland, G. Aliev // *Current Cancer Drug Targets*. – 2020. – Vol. 20. – № 9. – P. 666-674.
520. Neganova, M. E. The Hydroxamic Acids as Potential Anticancer and Neuroprotective Agents / M. E. Neganova, S. G. Klochkov, Y. R. Aleksandrova, G. Aliev // *Current Medicinal Chemistry*. – 2021. – Vol. 28. – № 39. – P. 8139-8162.
521. 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. – Vol. 9. – № 5. – P. 547.
522. 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. – Vol. 13. – № 11. – P. 1893.
523. 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. – Vol. 13. – № 23. – P. 6062.
524. Nemati, M. Deregulated expression of HDAC3 in colorectal cancer and its clinical significance / M. Nemati, N. Ajami, M. A. Estiar, S. Rezapour, R. Ravanbakhsh Gavgani, S. Hashemzadeh, H. Samadi Kafil, E. Sakhinia // *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. – 2018. – Vol. 27. – № 3. – P. 305-311.
525. Neupane, P. ATP Synthase: Structure, Function and Inhibition / P. Neupane, S. Bhuju, N. Thapa, H. K. Bhattarai // *Biomolecular Concepts*. – 2019. – Vol. 10. – № 1. – P. 1-10.
526. Nguyen, M. Synaptic, Mitochondrial, and Lysosomal Dysfunction in Parkinson's Disease / M. Nguyen, Y. C. Wong, D. Ysselstein, A. Severino, D. Krainc // *Trends in Neurosciences*. – 2019. – Vol. 42. – № 2. – P. 140-149.
527. Nie, M. AURKB promotes gastric cancer progression via activation of CCND1 expression / M. Nie, Y. Wang, Z. Yu, X. Li, Y. Deng, Y. Wang, D. Yang, Q. Li, X. Zeng, J. Ju, M. Liu, Q. Zhao // *Aging*. – 2020. – Vol. 12. – № 2. – P. 1304-1321.
528. Nikolac Perkovic, M. Epigenetics of Alzheimer's Disease / M. Nikolac Perkovic, A. Videtic Paska, M. Konjevod, K. Kouter, D. Svob Strac, G. Nedic Erjavec, N. Pivac // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11. – № 2. – P. 195.
529. 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. Vovkogon, 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. – Vol. 18. – № 11. – P. 1054-1063.

530. Ninkina, N. Alterations in the nigrostriatal system following conditional inactivation of α -synuclein in neurons of adult and aging mice / N. Ninkina, T. V. Tarasova, K. D. Chaprov, A. Y. Roman, M. S. Kukharsky, L. G. Kolik, R. Ovchinnikov, A. A. Ustyugov, A. D. Durnev, V. L. Buchman // *Neurobiology of Aging*. – 2020. – Vol. 91. – P. 76-87.
531. Nisticò, R. Paraquat-and Rotenone-Induced Models of Parkinson's Disease / R. Nisticò, B. Mehdawy, S. Piccirilli, N. Mercuri // *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. – 2011. – Vol. 24. – № 2. – P. 313-322.
532. Nunes, J. J. Targeting NF-kappa B Signaling by Artesunate Restores Sensitivity of Castrate-Resistant Prostate Cancer Cells to Antiandrogens / J. J. Nunes, S. K. Pandey, A. Yadav, S. Goel, B. Ateeq // *Neoplasia*. – 2017. – Vol. 19. – № 4. – P. 333-345.
533. Nunes, S. Glutathione in Ovarian Cancer: A Double-Edged Sword / S. Nunes, J. Serpa // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – Vol. 19. – № 7. – P. 1882.
534. Nuutinen, T. Valproic acid stimulates clusterin expression in human astrocytes: Implications for Alzheimer's disease / T. Nuutinen, T. Suuronen, A. Kauppinen, A. Salminen // *Neuroscience Letters*. – 2010. – Vol. 475. – № 2. – P. 64-68.
535. Oakley, H. Intraneuronal β -Amyloid Aggregates, Neurodegeneration, and Neuron Loss in Transgenic Mice with Five Familial Alzheimer's Disease Mutations: Potential Factors in Amyloid Plaque Formation / H. Oakley, S. L. Cole, S. Logan, E. Maus, P. Shao, J. Craft, A. Guillozet-Bongaarts, M. Ohno, J. Disterhoft, L. Van Eldik, R. Berry, R. Vassar // *The Journal of Neuroscience*. – 2006. – Vol. 26. – № 40. – P. 10129-10140.
536. Oehme, I. Histone Deacetylase 8 in Neuroblastoma Tumorigenesis / I. Oehme, H. E. Deubzer, D. Wegener, D. Pickert, J.-P. Linke, B. Hero, A. Kopp-Schneider, F. Westermann, S. M. Ulrich, A. von Deimling, M. Fischer, O. Witt // *Clinical Cancer Research*. – 2009. – Vol. 15. – № 1. – P. 91-99.
537. Ohta, S. Dysfunction of mitochondria and oxidative stress in the pathogenesis of Alzheimer's disease: On defects in the cytochrome c oxidase complex and aldehyde detoxification / S. Ohta, I. Ohsawa // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2006. – Vol. 9. – № 2. – P. 155-166.
538. Okorji, U. P. Antimalarial Drug Artemether Inhibits Neuroinflammation in BV2 Microglia Through Nrf2-Dependent Mechanisms / U. P. Okorji, R. Velagapudi, A. El-Bakoush, B. L. Fiebich, O. A. Olajide // *Molecular Neurobiology*. – 2016. – Vol. 53. – № 9. – P. 6426-6443.
539. Oltra, A. M. Antioxidant enzyme activities and the production of MDA and 8-oxo-dG in chronic lymphocytic leukemia / A. M. Oltra, F. Carbonell, C. Tormos, A. Iradi, G. T. Sáez // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2001. – Vol. 30. – № 11. – P. 1286-1292.
540. O'Neill, P. M. A Medicinal Chemistry Perspective on Artemisinin and Related Endoperoxides / P. M. O'Neill, G. H. Posner // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2004. – Vol. 47. – № 12. – P. 2945-2964.

541. Opferman, J. T. Attacking cancer's Achilles heel: antagonism of anti-apoptotic BCL-2 family members / J. T. Opferman // *The FEBS Journal*. – 2016. – Vol. 283. – № 14. – P. 2661-2675.
542. Osama, A. Nrf2: a dark horse in Alzheimer's disease treatment / A. Osama, J. Zhang, J. Yao, X. Yao, J. Fang // *Ageing Research Reviews*. – 2020. – Vol. 64. – P. 101206.
543. Osko, J. D. Structural Basis of Catalysis and Inhibition of HDAC6 CD1, the Enigmatic Catalytic Domain of Histone Deacetylase 6 / J. D. Osko, D. W. Christianson // *Biochemistry*. – 2019. – Vol. 58. – № 49. – P. 4912-4924.
544. Osko, J. D. Structural determinants of affinity and selectivity in the binding of inhibitors to histone deacetylase 6 / J. D. Osko, D. W. Christianson // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2020. – Vol. 30. – № 8. – P. 127023.
545. Owen, J. B. Measurement of Oxidized/Reduced Glutathione Ratio / J. B. Owen, D. A. Butterfield. – 2010. – P. 269-277.
546. Oyewole, A. O. Mitochondria-targeted antioxidants / A. O. Oyewole, M. A. Birch-Machin // *The FASEB Journal*. – 2015. – Vol. 29. – № 12. – P. 4766-4771.
547. Paço, A. Anti-Inflammatory and Immunoregulatory Action of Sesquiterpene Lactones / A. Paço, T. Brás, J. O. Santos, P. Sampaio, A. C. Gomes, M. F. Duarte // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27. – № 3. – P. 1142.
548. Pagire, S. H. Identification of New Non-BBB Permeable Tryptophan Hydroxylase Inhibitors for Treating Obesity and Fatty Liver Disease / S. H. Pagire, H. S. Pagire, K.-Y. Park, E. J. Bae, K. Kim, M. Kim, J. Yoon, S. Parameswaran, J.-H. Choi, S. Park, J.-H. Jeon, J. S. Song, M. A. Bae, I.-K. Lee, H. Kim, J. M. Suh, J. H. Ahn // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27. – № 11. – P. 3417.
549. Pajares, M. Transcription factor NFE2L2/NRF2 is a regulator of macroautophagy genes / M. Pajares, N. Jiménez-Moreno, Á. J. García-Yagüe, M. Escoll, M. L. de Ceballos, F. Van Leuven, A. Rábano, M. Yamamoto, A. I. Rojo, A. Cuadrado // *Autophagy*. – 2016. – Vol. 12. – № 10. – P. 1902-1916.
550. Pajares, M. Transcription factor NFE2L2/NRF2 modulates chaperone-mediated autophagy through the regulation of LAMP2A / M. Pajares, A. I. Rojo, E. Arias, A. Díaz-Carretero, A. M. Cuervo, A. Cuadrado // *Autophagy*. – 2018. – Vol. 14. – № 8. – P. 1310-1322.
551. Pande, D. Vascular Endothelial Growth Factor Levels in Relation to Oxidative Damage and Antioxidant Status in Patients with Breast Cancer / D. Pande, R. Negi, S. Khanna, R. Khanna, H. D. Khanna // *Journal of Breast Cancer*. – 2011. – Vol. 14. – № 3. – P. 181.
552. Pandey, U. B. HDAC6 rescues neurodegeneration and provides an essential link between autophagy and the UPS / U. B. Pandey, Z. Nie, Y. Batlevi, B. A. McCray, G. P. Ritson, N. B. Nedelsky, S. L. Schwartz, N. A. DiProspero, M. A. Knight, O. Schuldiner, R. Padmanabhan, M. Hild, D. L. Berry, D. Garza, C. C. Hubbert, T.-P. Yao, E. H. Baehrecke, J. P. Taylor // *Nature*. – 2007. – Vol. 447. – № 7146. – P. 860-864.
553. Park, J. H. The Overexpression of Histone Deacetylase 1 and Its Relationship with p16INK4a Gene Hypermethylation in Pulmonary Squamous

- Cell Carcinoma and Adenocarcinoma / J. H. Park, Y. S. Hong, P. J. Choi, N. Y. Kim, K. E. Lee, M. S. Roh // *The Korean Journal of Pathology*. – 2009. – Vol. 43. – № 2. – P. 107.
554. Park, M. W. NOX4 promotes ferroptosis of astrocytes by oxidative stress-induced lipid peroxidation via the impairment of mitochondrial metabolism in Alzheimer's diseases / M. W. Park, H. W. Cha, J. Kim, J. H. Kim, H. Yang, S. Yoon, N. Boonpraman, S. S. Yi, I. D. Yoo, J.-S. Moon // *Redox Biology*. – 2021. – Vol. 41. – P. 101947.
555. Parsons, M. J. WNT as a Driver and Dependency in Cancer / M. J. Parsons, T. Tammela, L. E. Dow // *Cancer Discovery*. – 2021. – Vol. 11. – № 10. – P. 2413-2429.
556. Pascale, R. M. The Warburg Effect 97 Years after Its Discovery / R. M. Pascale, D. F. Calvisi, M. M. Simile, C. F. Feo, F. Feo // *Cancers*. – 2020. – Vol. 12. – № 10. – P. 2819.
557. Patel, S. Vorinostat and hydroxychloroquine improve immunity and inhibit autophagy in metastatic colorectal cancer / S. Patel, V. Hurez, S. T. Nawrocki, M. Goros, J. Michalek, J. Sarantopoulos, T. Curiel, D. Mahalingam // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7. – № 37. – P. 59087-59097.
558. Patel, V. K. Multi-targeted HDAC Inhibitors as Anticancer Agents: Current Status and Future Prospective / V. K. Patel, E. Shirbhate, P. Tiwari, R. Kore, R. Veerasamy, A. Mishra, H. Rajak // *Current Medicinal Chemistry*. – 2023. – Vol. 30. – № 24. – P. 2762-2795.
559. Patil, C. S. Protective Effect of Flavonoids against Aging- and Lipopolysaccharide-Induced Cognitive Impairment in Mice / C. S. Patil, V. P. Singh, P. S. V. Satyanarayan, N. K. Jain, A. Singh, S. K. Kulkarni // *Pharmacology*. – 2003. – Vol. 69. – № 2. – P. 59-67.
560. Pavlova, N. N. The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism / N. N. Pavlova, C. B. Thompson // *Cell Metabolism*. – 2016. – Vol. 23. – № 1. – P. 27-47.
561. Pei, S. Targeting Aberrant Glutathione Metabolism to Eradicate Human Acute Myelogenous Leukemia Cells / S. Pei, M. Minhajuddin, K. P. Callahan, M. Balys, J. M. Ashton, S. J. Neering, E. D. Lagadinou, C. Corbett, H. Ye, J. L. Liesveld, K. M. O'Dwyer, Z. Li, L. Shi, P. Greninger, J. Settleman, C. Benes, F. K. Hagen, J. Munger, P. A. Crooks et al. // *Journal of Biological Chemistry*. – 2013. – Vol. 288. – № 47. – P. 33542-33558.
562. Pemberton, J. M. Neuronal cell life, death, and axonal degeneration as regulated by the BCL-2 family proteins / J. M. Pemberton, J. P. Pogmore, D. W. Andrews // *Cell Death & Differentiation*. – 2021. – Vol. 28. – № 1. – P. 108-122.
563. Peña-Bautista, C. Oxidative Damage of DNA as Early Marker of Alzheimer's Disease / C. Peña-Bautista, T. Tirlle, M. López-Nogueroles, M. Vento, M. Baquero, C. Cháfer-Pericás // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – Vol. 20. – № 24. – P. 6136.
564. Peña-Bautista, C. Plasma isoprostanoids assessment as Alzheimer's disease progression biomarkers / C. Peña-Bautista, L. Álvarez, M. Baquero, I. Ferrer, L.

- García, D. Hervás-Marín, C. Cháfer-Pericás // *Journal of Neurochemistry*. – 2021. – Vol. 157. – № 6. – P. 2187-2194.
565. Peña-Ortega, F. Microtubules as Regulators of Neural Network Shape and Function: Focus on Excitability, Plasticity and Memory / F. Peña-Ortega, Á. A. Robles-Gómez, L. Xolalpa-Cueva // *Cells*. – 2022. – Vol. 11. – № 6. – P. 923.
566. Peng, A. Bazhu Decoction, a Traditional Chinese Medical Formula, Ameliorates Cognitive Deficits in the 5xFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease / A. Peng, Y. Gao, X. Zhuang, Y. Lin, W. He, Y. Wang, W. Chen, T. Chen, X. Huang, R. Yang, Y. Huang, S. Xi, X. Zhang // *Frontiers in Pharmacology*. – 2019. – Vol. 10.
567. Peng, J. Altered glycolysis results in drug-resistant in clinical tumor therapy / J. Peng, Y. Cui, S. Xu, X. Wu, Y. Huang, W. Zhou, S. Wang, Z. Fu, H. Xie // *Oncology Letters*. – 2021. – Vol. 21. – № 5. – P. 369.
568. Peng, Y. Influence of glucose transporter 1 activity inhibition on neuroblastoma in vitro / Y. Peng, S. Xing, H. Tang, C. Wang, F. Yi, G. Liu, X. Wu // *Gene*. – 2019. – Vol. 689. – P. 11-17.
569. Peng, W.-X. LncRNA-mediated regulation of cell signaling in cancer / W.-X. Peng, P. Koirala, Y.-Y. Mo // *Oncogene*. – 2017. – Vol. 36. – № 41. – P. 5661-5667.
570. Perillo, B. ROS in cancer therapy: the bright side of the moon / B. Perillo, M. Di Donato, A. Pezone, E. Di Zazzo, P. Giovannelli, G. Galasso, G. Castoria, A. Migliaccio // *Experimental & Molecular Medicine*. – 2020. – Vol. 52. – № 2. – P. 192-203.
571. Perluigi, M. Aberrant protein phosphorylation in Alzheimer disease brain disturbs pro-survival and cell death pathways / M. Perluigi, E. Barone, F. Di Domenico, D. A. Butterfield // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. – 2016. – Vol. 1862. – № 10. – P. 1871-1882.
572. Perry, V. H. Microglial priming in neurodegenerative disease / V. H. Perry, C. Holmes // *Nature Reviews Neurology*. – 2014. – Vol. 10. – № 4. – P. 217-224.
573. Peserico, A. Physical and Functional HAT/HDAC Interplay Regulates Protein Acetylation Balance / A. Peserico, C. Simone // *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 1-10.
574. Pfeiffer, T. Cooperation and Competition in the Evolution of ATP-Producing Pathways / T. Pfeiffer, S. Schuster, S. Bonhoeffer // *Science*. – 2001. – Vol. 292. – № 5516. – P. 504-507.
575. Phan, H. Polyphenols Modulate Alzheimer's Amyloid Beta Aggregation in a Structure-Dependent Manner / H. Phan, K. Samarath, Y. Takamura, A. Azo-Oussou, Y. Nakazono, M. Vestergaard // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 11. – № 4. – P. 756.
576. Picca, A. Mitochondrial Dysfunction, Protein Misfolding and Neuroinflammation in Parkinson's Disease: Roads to Biomarker Discovery / A. Picca, F. Guerra, R. Calvani, R. Romano, H. J. Coelho-Júnior, C. Bucci, E. Marzetti // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11. – № 10. – P. 1508.
577. Pinto, N. Phase I study of vorinostat in combination with isotretinoin in patients with refractory/recurrent neuroblastoma: A new approaches to

- Neuroblastoma Therapy (NANT) trial / N. Pinto, S. G. DuBois, A. Marachelian, S. J. Diede, A. Taraseviciute, J. L. Glade Bender, D. Tsao-Wei, S. G. Groshen, J. M. Reid, D. A. Haas-Kogan, C. P. Reynolds, M. H. Kang, M. S. Irwin, M. E. Macy, J. G. Villablanca, K. K. Matthay, J. R. Park // *Pediatric Blood & Cancer*. – 2018. – Vol. 65. – № 7.
578. Pirinççi, N. Serum adenosine deaminase, catalase and carbonic anhydrase activities in patients with bladder cancer / N. Pirinççi, İ. Geçit, M. Güneş, M. Bilgehan Yüksel, M. Kaba, S. Tanık, H. Demir, M. Aslan // *Clinics*. – 2012. – Vol. 67. – № 12. – P. 1443-1446.
579. Pisoschi, A. M. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review / A. M. Pisoschi, A. Pop // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2015. – Vol. 97. – P. 55-74.
580. Plachetka, A. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in colorectal adenocarcinoma-is it a result of oxidative stress? / A. Plachetka, B. Adamek, J. K. Strzelczyk, L. Krakowczyk, P. Migula, P. Nowak, A. Wiczowski // *Med Sci Monit*. – 2013. – V. 19. – P. 690-5.
581. Pluta, R. Participation of Amyloid and Tau Protein in Post-Ischemic Neurodegeneration of the Hippocampus of a Nature Identical to Alzheimer's Disease / R. Pluta, L. Ouyang, S. Januszewski, Y. Li, S. J. Czuczwar // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 5. – P. 2460.
582. Poljsak, B. The Role of Antioxidants in Cancer, Friends or Foes? / B. Poljsak, I. Milisav // *Current Pharmaceutical Design*. – 2019. – Vol. 24. – № 44. – P. 5234-5244.
583. Pomeroy, A. E. Drug independence and the curability of cancer by combination chemotherapy / A. E. Pomeroy, E. V. Schmidt, P. K. Sorger, A. C. Palmer // *Trends in Cancer*. – 2022. – Vol. 8. – № 11. – P. 915-929.
584. Portela, A. Epigenetic modifications and human disease / A. Portela, M. Esteller // *Nature Biotechnology*. – 2010. – Vol. 28. – № 10. – P. 1057-1068.
585. Porter, N. J. Unusual zinc-binding mode of HDAC6-selective hydroxamate inhibitors / N. J. Porter, A. Mahendran, R. Breslow, D. W. Christianson // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2017. – Vol. 114. – № 51. – P. 13459-13464.
586. Porter, N. J. Entropy as a Driver of Selectivity for Inhibitor Binding to Histone Deacetylase 6 / N. J. Porter, F. F. Wagner, D. W. Christianson // *Biochemistry*. – 2018. – Vol. 57. – № 26. – P. 3916-3924.
587. Präbst, K. Basic Colorimetric Proliferation Assays: MTT, WST, and Resazurin / K. Präbst, H. Engelhardt, S. Ringgeler, H. Hübner. – 2017. – P. 1-17.
588. Prasanna, S. Topological Polar Surface Area: A Useful Descriptor in 2D-QSAR / S. Prasanna, R. Doerksen // *Current Medicinal Chemistry*. – 2009. – Vol. 16. – № 1. – P. 21-41.
589. Pukhov, S. A. Cytotoxicity of Natural Alantolactones Conjugated to Substituted Piperazines / S. A. Pukhov, S. V. Afanas'eva, L. V. Anikina, M. E. Neganova, S. G. Klochkov, V. I. Kozlovskii // *Chemistry of Natural Compounds*. – 2019. – Vol. 55. – №1. – P. 41-46.

590. 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. – Vol. 6. – №32. – P. 8446-8451.
591. Pulya, S. HDAC6 as privileged target in drug discovery: A perspective / S. Pulya, S. A. Amin, N. Adhikari, S. Biswas, T. Jha, B. Ghosh // *Pharmacological Research*. – 2021. – Vol. 163. – P. 105274.
592. Pungsrinont, T. Role of PI3K-AKT-mTOR Pathway as a Pro-Survival Signaling and Resistance-Mediating Mechanism to Therapy of Prostate Cancer / T. Pungsrinont, J. Kallenbach, A. Baniahmad // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 20. – P. 11088.
593. Puzzo, D. Rodent models for Alzheimer's disease drug discovery / D. Puzzo, W. Gulisano, A. Palmeri, O. Arancio // *Expert Opinion on Drug Discovery*. – 2015. – Vol. 10. – № 7. – P. 703-711.
594. Pylväs, M. Elevated serum 8-OHdG is associated with poor prognosis in epithelial ovarian cancer. / M. Pylväs, U. Puistola, L. Laatio, S. Kauppila, P. Karihtala // *Anticancer research*. – 2011. – Vol. 31. – № 4. – P. 1411-5.
595. Qi, Z. HDAC2 promotes the EMT of colorectal cancer cells and via the modular scaffold function of ENSG00000274093.1 / Z. Qi, A. Yalikong, J. Zhang, S. Cai, B. Li, S. Di, Z. Lv, E. Xu, Y. Zhong, P. Zhou // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2021. – Vol. 25. – № 2. – P. 1190-1197.
596. Quinn, D. I. Phase II study of the histone deacetylase inhibitor vorinostat (Suberoylanilide Hydroxamic Acid; SAHA) in recurrent or metastatic transitional cell carcinoma of the urothelium – an NCI-CTEP sponsored: California Cancer Consortium trial, NCI 6879 / D. I. Quinn, D. D. Tsao-Wei, P. Twardowski, A. M. Aparicio, P. Frankel, G. Chatta, J. J. Wright, S. G. Groshen, S. Khoo, H.-J. Lenz, P. N. Lara, D. R. Gandara, E. Newman // *Investigational New Drugs*. – 2021. – Vol. 39. – № 3. – P. 812-820.
597. Qureshi, T. Histone deacetylase-6 modulates Tau function in Alzheimer's disease / T. Qureshi, S. Chinnathambi // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. – 2022. – Vol. 1869. – № 8. – P. 119275.
598. Raj, D. *Securinega suffruticosa* / D. Raj, M. Łuczkiwicz // *Fitoterapia*. – 2008. – Vol. 79. – № 6. – P. 419-427.
599. Ramaiah, M. J. Epigenetic modulation and understanding of HDAC inhibitors in cancer therapy / M. J. Ramaiah, A. D. Tangutur, R. R. Manyam // *Life Sciences*. – 2021. – Vol. 277. – P. 119504.
600. Rana, S. Securinine induces p73-dependent apoptosis preferentially in p53-deficient colon cancer cells / S. Rana, K. Gupta, J. Gomez, S. Matsuyama, A. Chakrabarti, M. L. Agarwal, A. Agarwal, M. K. Agarwal, D. N. Wald // *The FASEB Journal*. – 2010. – Vol. 24. – № 6. – P. 2126-2134.
601. Rasul, A. Induction of Apoptosis by Costunolide in Bladder Cancer Cells is Mediated through ROS Generation and Mitochondrial Dysfunction / A. Rasul, R. Bao, M. Malhi, B. Zhao, I. Tsuji, J. Li, X. Li // *Molecules*. – 2013. – Vol. 18. – № 2. – P. 1418-1433.

602. Razani, E. The PI3K/Akt signaling axis in Alzheimer's disease: a valuable target to stimulate or suppress? / E. Razani, A. Pourbagheri-Sigaroodi, A. Safaroghli-Azar, A. Zoghi, M. Shanaki-Bavarsad, D. Bashash // *Cell Stress and Chaperones*. – 2021. – Vol. 26. – № 6. – P. 871-887.
603. Reckzeh, E. S. Small-Molecule Inhibition of Glucose Transporters GLUT-1–4 / E. S. Reckzeh, H. Waldmann // *ChemBioChem*. – 2020. – Vol. 21. – № 1-2. – P. 45-52.
604. Recuero, M. A free radical-generating system regulates APP metabolism/processing / M. Recuero, T. Muñoz, J. Aldudo, M. Subías, M. J. Bullido, F. Valdivieso // *FEBS Letters*. – 2010. – Vol. 584. – № 22. – P. 4611-4618.
605. Reddy, P. H. Mitochondria as a Therapeutic Target for Aging and Neurodegenerative Diseases / P. H. Reddy, T. P. Reddy // *Current Alzheimer Research*. – 2011. – Vol. 8. – № 4. – P. 393-409.
606. Ren, H. HDAC3-mediated lncRNA-LOC101928316 contributes to cisplatin resistance in gastric cancer via activating the PI3K-Akt-mTOR pathway / H. Ren, L. Tang // *Neoplasma*. – 2021. – Vol. 68. – № 05. – P. 1043-1051.
607. Reyes, A. A. Structure and Function of Chromatin Remodelers / A. A. Reyes, R. D. Marcum, Y. He // *Journal of Molecular Biology*. – 2021. – Vol. 433. – № 14. – P. 166929.
608. Reyes-Farias, M. The Anti-Cancer Effect of Quercetin: Molecular Implications in Cancer Metabolism / M. Reyes-Farias, C. Carrasco-Pozo // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – Vol. 20. – № 13. – P. 3177.
609. Rhein, V. Amyloid- β and tau synergistically impair the oxidative phosphorylation system in triple transgenic Alzheimer's disease mice / V. Rhein, X. Song, A. Wiesner, L. M. Ittner, G. Baysang, F. Meier, L. Ozmen, H. Bluethmann, S. Dröse, U. Brandt, E. Savaskan, C. Czech, J. Götz, A. Eckert // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2009. – Vol. 106. – № 47. – P. 20057-20062,
610. Rho, M. Expression of type 2 hexokinase and mitochondria-related genes in gastric carcinoma tissues and cell lines. / M. Rho, J. Kim, C. Do Jee, Y. M. Lee, H. E. Lee, M. A. Kim, H. S. Lee, W. H. Kim // *Anticancer research*. – 2007. – Vol. 27. – № 1A. – P. 251-8.
611. Rice, M. V. Assessment of Cytochrome C Oxidase Dysfunction in the Substantia Nigra/Ventral Tegmental Area in Schizophrenia / M. W. Rice, K. L. Smith, R. C. Roberts, E. Perez-Costas, M. Melendez-Ferro // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9. – № 6. – P. e100054.
612. Rich, P. R. The mitochondrial respiratory chain / P. R. Rich, A. Maréchal // *Essays in Biochemistry*. – 2010. – Vol. 47. – P. 1-23.
613. Rick, J. W. Fibronectin in malignancy: Cancer-specific alterations, protumoral effects, and therapeutic implications / J. W. Rick, A. Chandra, C. Dalle Ore, A. T. Nguyen, G. Yagnik, M. K. Aghi // *Seminars in Oncology*. – 2019. – Vol. 46. – № 3. – P. 284-290.

614. Rikimaru, T. Clinical Significance of Histone Deacetylase 1 Expression in Patients with Hepatocellular Carcinoma / T. Rikimaru, A. Taketomi, Y. Yamashita, K. Shirabe, T. Hamatsu, M. Shimada, Y. Maehara // *Oncology*. – 2007. – Vol. 72. – № 1-2. – P. 69-74.
615. Riordan, R. Effect of Nrf2 loss on senescence and cognition of tau-based P301S mice / R. Riordan, W. Rong, Z. Yu, G. Ross, J. Valerio, J. Dimas-Muñoz, V. Heredia, K. Magnusson, V. Galvan, V. I. Perez // *GeroScience*. – 2023. – Vol. 45. – № 3. – P. 1451-1469.
616. Rishitha, N. Therapeutic evaluation of solid lipid nanoparticle of quercetin in pentylenetetrazole induced cognitive impairment of zebrafish / N. Rishitha, A. Muthuraman // *Life Sciences*. – 2018. – Vol. 199. – P. 80-87.
617. Robert, C. HDAC Inhibitors / C. Robert, F. V. Rassool. – 2012. – P. 87-129.
618. Roh, J.-L. Nrf2 inhibition reverses the resistance of cisplatin-resistant head and neck cancer cells to artesunate-induced ferroptosis / J.-L. Roh, E. H. Kim, H. Jang, D. Shin // *Redox Biology*. – 2017. – Vol. 11. – P. 254-262.
619. Rojo de la Vega, M. NRF2 and the Hallmarks of Cancer / M. Rojo de la Vega, E. Chapman, D. D. Zhang // *Cancer Cell*. – 2018. – Vol. 34. – № 1. – P. 21-43.
620. Ronkina, N. MAPK-Activated Protein Kinases: Servant or Partner? / N. Ronkina, M. Gaestel // *Annual Review of Biochemistry*. – 2022. – Vol. 91. – № 1. – P. 505-540.
621. Rostagno, A. Association of clusterin with the BRI2-derived amyloid molecules ABri and ADan / A. Rostagno, M. Calero, J. L. Holton, T. Revesz, T. Lashley, J. Ghiso // *Neurobiology of Disease*. – 2021. – Vol. 158. – P. 105452.
622. Roth, K. G. The Mitochondrion as an Emerging Therapeutic Target in Cancer / K. G. Roth, I. Mambetsariev, P. Kulkarni, R. Salgia // *Trends in Molecular Medicine*. – 2020. – Vol. 26. – № 1. – P. 119-134.
623. Rozalski, R. Urinary 5-hydroxymethyluracil and 8-oxo-7,8-dihydroguanine as potential biomarkers in patients with colorectal cancer / R. Rozalski, D. Gackowski, A. Siomek-Gorecka, M. Starczak, M. Modrzejewska, Z. Banaszkiwicz, R. Olinski // *Biomarkers*. – 2015. – Vol. 20. – № 5. – P. 287-291.
624. Saab, B. J. Memantine Affects Cognitive Flexibility in the Morris Water Maze / B. J. Saab, R. M. Luca, W. B. Yuen, A. M. P. Saab, J. C. Roder // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2011. – Vol. 27. – № 3. – P. 477-482.
625. Sadati Zarrini, A. The status of antioxidants, malondialdehyde and some trace elements in serum of patients with breast cancer. / A. Sadati Zarrini, D. Moslemi, H. Parsian, M. Vessal, A. Mosapour, Z. Shirkhani Kelagari // *Caspian journal of internal medicine*. – 2016. – Vol. 7. – № 1. – P. 31-6.
626. Salem, M. A. Tadalafil and bergapten mitigate streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease in mice via modulating neuroinflammation, PI3K/Akt, Wnt/ β -catenin, AMPK/mTOR signaling pathways / M. A. Salem, B. Budzyńska, J. Kowalczyk, N. S. El Sayed, S. M. Mansour // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2021. – Vol. 429. – P. 115697.

627. Sancho, P. Hallmarks of cancer stem cell metabolism / P. Sancho, D. Barneda, C. Heeschen // *British Journal of Cancer*. – 2016. – Vol. 114. – № 12. – P. 1305-1312.
628. Santarpià, L. Targeting the MAPK–RAS–RAF signaling pathway in cancer therapy / L. Santarpià, S. M. Lippman, A. K. El-Naggar // *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. – 2012. – Vol. 16. – № 1. – P. 103-119.
629. Santos, R. Neurodegeneration, Neurogenesis, and Oxidative Stress / R. Santos, C. Ruiz de Almodóvar, A.-L. Bulteau, C. M. Gomes // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1-2.
630. Santos, N. A. G. dos. Overview of cisplatin-induced neurotoxicity and ototoxicity, and the protective agents / N. A. G. dos Santos, R. S. Ferreira, A. C. dos Santos // *Food and Chemical Toxicology*. – 2020. – Vol. 136. – P. 111079.
631. Sarniak, A. Endogenous mechanisms of reactive oxygen species (ROS) generation / A. Sarniak, J. Lipińska, K. Tytman, S. Lipińska // *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. – 2016. – Vol. 70. – P. 1150-1165.
632. Sastry, G. M. Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments / G. Madhavi Sastry, M. Adzhigirey, T. Day, R. Annabhimoju, W. Sherman // *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. – 2013. – Vol. 27. – № 3. – P. 221-234.
633. Sato, H. Trichostatin A modulates cellular metabolism in renal cell carcinoma to enhance sunitinib sensitivity / H. Sato, M. Uzu, T. Kashiba, T. Fujiwara, H. Hatakeyama, K. Ueno, A. Hisaka // *European Journal of Pharmacology*. – 2019. – Vol. 847. – P. 143-157.
634. Sato, T. Increased Plasma Levels of 8-Hydroxydeoxyguanosine Are Associated with Development of Colorectal Tumors / T. Sato, H. Takeda, S. Otake, J. Yokozawa, S. Nishise, S. Fujishima, T. Orii, T. Fukui, J. Takano, Y. Sasaki, K. Nagino, D. Iwano, T. Yaoita, S. Kawata // *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. – 2010. – Vol. 47. – № 1. – P. 59-63.
635. Sato-Tadano, A. Hexokinase II in breast carcinoma: A potent prognostic factor associated with hypoxia-inducible factor-1 α and Ki-67 / A. Sato-Tadano, T. Suzuki, M. Amari, K. Takagi, Y. Miki, K. Tamaki, M. Watanabe, T. Ishida, H. Sasano, N. Ohuchi // *Cancer Science*. – 2013. – Vol. 104. – № 10. – P. 1380-1388.
636. Schenk, R. L. BCL-2: Long and winding path from discovery to therapeutic target / R. L. Schenk, A. Strasser, G. Dewson // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2017. – Vol. 482. – № 3. – P. 459-469.
637. Schiff, P. B. Taxol stabilizes microtubules in mouse fibroblast cells. / P. B. Schiff, S. B. Horwitz // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1980. – Vol. 77. – № 3. – P. 1561-1565.
638. Schiliro, C. Mechanisms of Metabolic Reprogramming in Cancer Cells Supporting Enhanced Growth and Proliferation / C. Schiliro, B. L. Firestein // *Cells*. – 2021. – Vol. 10. – № 5. – P. 1056.
639. Schiller, J. Binding of Natural Inhibitors to Respiratory Complex I / J. Schiller, V. Zickermann // *Pharmaceuticals*. – 2022. – Vol. 15. – № 9. – P. 1088.

640. Schrag, M. Oxidative stress in blood in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: A meta-analysis / M. Schrag, C. Mueller, M. Zabel, A. Crofton, W. M. Kirsch, O. Ghribi, R. Squitti, G. Perry // *Neurobiology of Disease*. – 2013. – Vol. 59. – P. 100-110.
641. Schrödinger, L.L.C. Schrödinger Release 2023-1: Glide, Schrödinger: New York, 2021b.
642. Schrödinger, L.L.C. Schrödinger Release 2023-1: Induced Fit Docking protocol, Schrödinger: New York, 2023c.
643. Schrödinger, L.L.C. Schrödinger Release 2023-1: Jaguar pKa, Schrödinger: New York, 2021c.
644. Schrödinger, L.L.C. Schrödinger Release 2023-1: LigPrep, Schrödinger: New York, 2023b.
645. Schrödinger, L.L.C. Schrödinger Release 2023-1: Maestro, Schrödinger: New York, 2023d.
646. Schrödinger, L.L.C. Schrödinger Release 2023-1: Protein Preparation Wizard, Schrödinger New York, 2021a.
647. Schrödinger, L.L.C. Schrödinger Release 2023-1: Protein Preparation Wizard, Schrödinger: New York, 2023e.
648. Schrödinger, L.L.C. Schrödinger Release 2023-1: QikProp, Schrödinger: New York, 2023a.
649. Sedlic, F. Mitochondrial ROS Induce Partial Dedifferentiation of Human Mesothelioma via Upregulation of NANOG / F. Sedlic, F. Seiwerth, A. Sepac, S. Sikiric, M. Cindric, M. Milavic, L. Batelja Vuletic, M. Jakopovic, S. Seiwerth // *Antioxidants*. – 2020. – Vol. 9. – № 7. – P. 606.
650. Selkoe, D. J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years / D. J. Selkoe, J. Hardy // *EMBO Molecular Medicine*. – 2016. – Vol. 8. – № 6. – P. 595-608.
651. Semakov, A. V. Addition products of thiophenol and selenophenol to Inula helenium lactones // *Chemistry of Natural Compounds*. – 2020. – Vol. 56. – P. 254-256.
652. Seto, E. Erasers of Histone Acetylation: The Histone Deacetylase Enzymes / E. Seto, M. Yoshida // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. – 2014. – Vol. 6. – № 4. – P. a018713-a018713.
653. Shabab, T. Neuroinflammation pathways: a general review / T. Shabab, R. Khanabdali, S. Z. Moghadamtousi, H. A. Kadir, G. Mohan // *International Journal of Neuroscience*. – 2017. – Vol. 127. – № 7. – P. 624-633.
654. Shadel, G. S. Mitochondrial ROS Signaling in Organismal Homeostasis / G. S. Shadel, T. L. Horvath // *Cell*. – 2015. – Vol. 163. – № 3. – P. 560-569.
655. Shan, W. HDAC2 overexpression correlates with aggressive clinicopathological features and DNA-damage response pathway of breast cancer. / W. Shan, Y. Jiang, H. Yu, Q. Huang, L. Liu, X. Guo, L. Li, Q. Mi, K. Zhang, Z. Yang // *American journal of cancer research*. – 2017. – Vol. 7. – № 5. – P. 1213-1226.
656. Shangguan, X. SUMOylation controls the binding of hexokinase 2 to mitochondria and protects against prostate cancer tumorigenesis / X. Shangguan,

- J. He, Z. Ma, W. zhang, Y. Ji, K. Shen, Z. Yue, W. Li, Z. Xin, Q. Zheng, Y. Cao, J. Pan, B. Dong, J. Cheng, Q. Wang, W. Xue // *Nature Communications*. – 2021. – Vol. 12. – № 1. – P. 1812.
657. Shankar, E. Role of class I histone deacetylases in the regulation of maspin expression in prostate cancer / E. Shankar, M. Pandey, S. Verma, A. Abbas, M. Candamo, R. Kanwal, S. Shukla, G. T. MacLennan, S. Gupta // *Molecular Carcinogenesis*. – 2020. – Vol. 59. – № 8. – P. 955-966.
658. Sharma, C. Mitochondrial Dysfunction as a Driver of Cognitive Impairment in Alzheimer's Disease / C. Sharma, S. Kim, Y. Nam, U. J. Jung, S. R. Kim // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 9. – P. 4850.
659. Sharma, M. Intranasal Exposure to Low-Dose Rotenone Induced Alpha-Synuclein Accumulation and Parkinson's Like Symptoms Without Loss of Dopaminergic Neurons / M. Sharma, J. Kaur, S. Rakshe, N. Sharma, D. Khunt, A. Khairnar // *Neurotoxicity Research*. – 2022. – Vol. 40. – № 1. – P. 215-229.
660. Shen, D. W. Cisplatin Resistance: A Cellular Self-Defense Mechanism Resulting from Multiple Epigenetic and Genetic Changes / D. W. Shen, L. M. Pouliot, M. D. Hall, M. M. Gottesman // *Pharmacological Reviews*. – 2012. – Vol. 64. – № 3. – P. 706-721.
661. Shen, S. Why Hydroxamates May Not Be the Best Histone Deacetylase Inhibitors—What Some May Have Forgotten or Would Rather Forget? / S. Shen, A. P. Kozikowski // *ChemMedChem*. – 2016. – Vol. 11. – № 1. – P. 15-21.
662. Shen, Y. Histone Acetylation Enzymes Coordinate Metabolism and Gene Expression / Y. Shen, W. Wei, D.-X. Zhou // *Trends in Plant Science*. – 2015. – Vol. 20. – № 10. – P. 614-621.
663. Sherman, W. Novel Procedure for Modeling Ligand/Receptor Induced Fit Effects / W. Sherman, T. Day, M. P. Jacobson, R. A. Friesner, R. Farid // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2006. – Vol. 49. – № 2. – P. 534-553.
664. Sherman, W. Use of an Induced Fit Receptor Structure in Virtual Screening / W. Sherman, H. S. Beard, R. Farid // *Chemical Biology & Drug Design*. – 2006. – Vol. 67. – № 1. – P. 83-84.
665. 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. M. Ashraf, G. E. Barreto, S. O. Bachurin, G. Aliev // *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*. – 2017. – Vol. 16. – № 6.
666. Shi, C. Intramitochondrial I κ B/NF- κ B signaling pathway is involved in amyloid β peptide-induced mitochondrial dysfunction / C. Shi, X. Zhu, J. Wang, D. Long // *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. – 2014. – Vol. 46. – № 5. – P. 371-376.
667. Shi, Y. Mitochondrial dysfunction induces radioresistance in colorectal cancer by activating [Ca²⁺]_m-PDP1-PDH-histone acetylation retrograde signaling / Y. Shi, Y. Wang, H. Jiang, X. Sun, H. Xu, X. Wei, Y. Wei, G. Xiao, Z. Song, F. Zhou // *Cell Death & Disease*. – 2021. – Vol. 12. – № 9. – P. 837.
668. Shibuya, K. Targeting the facilitative glucose transporter GLUT1 inhibits the self-renewal and tumor-initiating capacity of cancer stem cells / K. Shibuya,

- M. Okada, S. Suzuki, M. Seino, S. Seino, H. Takeda, C. Kitanaka // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6. – № 2. – P. 651-661.
669. Shima, T. Glucose transporter-1 inhibition overcomes imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumor cells / T. Shima, K. Taniguchi, Y. Tokumaru, Y. Inomata, J. Arima, S.-W. Lee, K. Takabe, K. Yoshida, K. Uchiyama // *Oncology Reports*. – 2021. – Vol. 47. – № 1. – P. 7.
670. Shin, I. PKB/Akt mediates cell-cycle progression by phosphorylation of p27Kip1 at threonine 157 and modulation of its cellular localization / I. Shin, F. M. Yakes, F. Rojo, N.-Y. Shin, A. V. Bakin, J. Baselga, C. L. Arteaga // *Nature Medicine*. – 2002. – Vol. 8. – № 10. – P. 1145-1152.
671. Shin, S. W. 4-Hydroxynonenal Immunoreactivity Is Increased in the Frontal Cortex of 5XFAD Transgenic Mice / S. W. Shin, D.-H. Kim, W. K. Jeon, J.-S. Han // *Biomedicines*. – 2020. – Vol. 8. – № 9. – P. 326.
672. Shipman, M. Proteomic and Systems Biology Analysis of Monocytes Exposed to Securinine, a GABAA Receptor Antagonist and Immune Adjuvant / M. Shipman, K. Lubick, D. Fouchard, R. Guram, P. Grieco, M. Jutila, E. A. Dratz // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7. – № 9. – P. e41278.
673. Shorning, B. Y. The PI3K-AKT-mTOR Pathway and Prostate Cancer: At the Crossroads of AR, MAPK, and WNT Signaling / B. Y. Shorning, M. S. Dass, M. J. Smalley, H. B. Pearson // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21. – № 12. – P. 4507.
674. Shutkov, I. A. New Organometallic Ru(II) Compounds with Lonidamine Motif as Antitumor Agents / I. A. Shutkov, Y. N. Okulova, D. M. Mazur, N. A. Melnichuk, D. A. Babkov, E. V. Sokolova, A. A. Spasov, E. R. Milaeva, A. A. Nazarov // *Pharmaceutics*. – 2023. – Vol. 15. – № 5. – P. 1366.
675. Shvedunova, M. Modulation of cellular processes by histone and non-histone protein acetylation / M. Shvedunova, A. Akhtar // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2022. – Vol. 23. – № 5. – P. 329-349.
676. Siegel, D. Vorinostat in solid and hematologic malignancies / D. Siegel, M. Hussein, C. Belani, F. Robert, E. Galanis, V. M. Richon, J. Garcia-Vargas, C. Sanz-Rodriguez, S. Rizvi // *Journal of Hematology & Oncology*. – 2009. – Vol. 2. – № 1. – P. 31.
677. Simões-Pires, C. HDAC6 as a target for neurodegenerative diseases: what makes it different from the other HDACs? / C. Simões-Pires, V. Zwick, A. Nurisso, E. Schenker, P.-A. Carrupt, M. Cuendet // *Molecular Neurodegeneration*. – 2013. – Vol. 8. – № 1. – P. 7.
678. Simoni, E. Targeting the Nrf2/Amyloid-Beta Liaison in Alzheimer's Disease: A Rational Approach / E. Simoni, M. M. Serafini, R. Caporaso, C. Marchetti, M. Racchi, A. Minarini, M. Bartolini, C. Lanni, M. Rosini // *ACS Chemical Neuroscience*. – 2017. – Vol. 8. – № 7. – P. 1618-1627.
679. Sims, N. R. Rapid Isolation of Metabolically Active Mitochondria from Rat Brain and Subregions Using Percoll Density Gradient Centrifugation / N. R. Sims // *Journal of Neurochemistry*. – 1990. – Vol. 55. – № 2. – P. 698-707.
680. Simunkova, M. Management of oxidative stress and other pathologies in Alzheimer's disease / M. Simunkova, S. H. Alwasel, I. M. Alhazza, K. Jomova,

- V. Kollar, M. Rusko, M. Valko // *Archives of Toxicology*. – 2019. – Vol. 93. – № 9. – P. 2491-2513.
681. Singh, N. Virtual screening web servers: designing chemical probes and drug candidates in the cyberspace / N. Singh, L. Chaput, B. O. Villoutreix // *Briefings in Bioinformatics*. – 2021. – Vol. 22. – № 2. – P. 1790-1818.
682. Singh, S. NF- κ B-Mediated Neuroinflammation in Parkinson's Disease and Potential Therapeutic Effect of Polyphenols / S. Singh, S. N. Rai, H. Birla, W. Zahra, A. S. Rathore, S. P. Singh // *Neurotoxicity Research*. – 2020. – Vol. 37. – № 3. – P. 491-507.
683. Sinha, S. In vitro and in vivo identification of clinically approved drugs that modify ACE 2 expression / S. Sinha, K. Cheng, A. A. Schäffer, K. Aldape, E. Schiff, E. Rupp // *Molecular Systems Biology*. – 2020. – Vol. 16. – № 7.
684. Siveen, K. S. Targeting acute myeloid leukemia stem cell signaling by natural products / K. S. Siveen, S. Uddin, R. M. Mohammad // *Molecular Cancer*. – 2017. – Vol. 16. – № 1. – P. 13.
685. Sivinski, J. Targeting NRF2 to treat cancer / J. Sivinski, D. D. Zhang, E. Chapman // *Seminars in Cancer Biology*. – 2021. – Vol. 76. – P. 61-73.
686. Skiles, J. The Design, Structure, and Therapeutic Application of Matrix Metalloproteinase Inhibitors / J. Skiles, N. Gonnella, A. Jeng // *Current Medicinal Chemistry*. – 2001. – Vol. 8. – № 4. – P. 425-474.
687. Skórska, K. B. Serum Total SOD Activity and SOD1/2 Concentrations in Predicting All-Cause Mortality in Lung Cancer Patients / K. B. Skórska, S. Płaczowska, A. Prescha, I. Porębska, M. Kosacka, K. Pawełczyk, K. Zabłocka-Słowińska // *Pharmaceuticals*. – 2021. – Vol. 14. – № 11. – P. 1067.
688. Skrzydlewska, E. Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer / E. Skrzydlewska // *World Journal of Gastroenterology*. – 2005. – Vol. 11. – № 3. – P. 403.
689. Smith, D. T. Spatial attention and spatial short term memory in PSP and Parkinson's disease / D. T. Smith, S. Casteau, N. Archibald // *Cortex*. – 2021. – Vol. 137. – P. 49-60.
690. Song, J. Increased expression of histone deacetylase 2 is found in human gastric cancer / J. Song, J. H. Noh, J. H. Lee, J. W. Eun, Y. M. Ahn, S. Y. Kim, S. H. Lee, W. S. Park, N. J. Yoo, J. Y. Lee, S. W. Nam // *APMIS*. – 2005. – Vol. 113. – № 4. – P. 264-268.
691. Song, S. The inhibition of histone deacetylase 8 suppresses proliferation and inhibits apoptosis in gastric adenocarcinoma / S. Song, Y. Wang, P. Xu, R. Yang, Z. Ma, S. Liang, G. Zhang // *International Journal of Oncology*. – 2015. – Vol. 47. – № 5. – P. 1819-1828.
692. Song, T. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, neuroinflammation, and metabolic alterations in the progression of Alzheimer's disease: A meta-analysis of in vivo magnetic resonance spectroscopy studies / T. Song, X. Song, C. Zhu, R. Patrick, M. Skurla, I. Santangelo, M. Green, D. Harper, B. Ren, B. P. Forester, D. Öngür, F. Du // *Ageing Research Reviews*. – 2021. – Vol. 72. – P. 101503.

693. Song, W.-J. Expression of Cytoplasmic 8-oxo-Gsn and MTH1 Correlates with Pathological Grading in Human Gastric Cancer / W.-J. Song, P. Jiang, J.-P. Cai, Z.-Q. Zheng // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2015. – Vol. 16. – № 15. – P. 6335-6338.
694. Sosa, V. Oxidative stress and cancer: An overview / V. Sosa, T. Moliné, R. Somoza, R. Paciucci, H. Kondoh, M. E. LLeonart // *Ageing Research Reviews*. – 2013. – Vol. 12. – № 1. – P. 376-390.
695. Sreenivasmurthy, S. G. Bromo-protopine, a novel protopine derivative, alleviates tau pathology by activating chaperone-mediated autophagy for Alzheimer's disease therapy / S. G. Sreenivasmurthy, A. Iyaswamy, S. Krishnamoorthi, R. N. Reddi, A. K. Kammala, K. Vasudevan, S. Senapati, Z. Zhu, C.-F. Su, J. Liu, X.-J. Guan, K.-K. Chua, K.-H. Cheung, H. Chen, H.-J. Zhang, Y. Zhang, J.-X. Song, S. S. Kumar Durairajan, M. Li // *Frontiers in Molecular Biosciences*. – 2022. – Vol. 9.
696. Srinivasan, S. Mitochondrial dysfunction and mitochondrial dynamics-The cancer connection / S. Srinivasan, M. Guha, A. Kashina, N. G. Avadhani // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. – 2017. – Vol. 1858. – № 8. – P. 602-614.
697. Strahl, B. D. The language of covalent histone modifications / B. D. Strahl, C. D. Allis // *Nature*. – 2000. – Vol. 403. – № 6765. – P. 41-45.
698. Streck, E. L. Neurodegeneration, Mitochondrial Dysfunction, and Oxidative Stress / E. L. Streck, G. A. Czapski, C. Gonçalves da Silva // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1-2.
699. Su, B. Abnormal Mitochondrial Dynamics—A Novel Therapeutic Target for Alzheimer's Disease? / B. Su, X. Wang, D. Bonda, G. Perry, M. Smith, X. Zhu // *Molecular Neurobiology*. – 2010. – Vol. 41. – № 2-3. – P. 87-96.
700. Su, Q. Trichostatin A ameliorates Alzheimer's disease-related pathology and cognitive deficits by increasing albumin expression and A β clearance in APP/PS1 mice / Q. Su, T. Li, P.-F. He, X.-C. Lu, Q. Yu, Q.-C. Gao, Z.-J. Wang, M.-N. Wu, D. Yang, J.-S. Qi // *Alzheimer's Research & Therapy*. – 2021. – Vol. 13. – № 1. – P. 7.
701. Su, S.-Y. Paeonol Attenuates H₂O₂-Induced NF- κ B-Associated Amyloid Precursor Protein Expression / S.-Y. Su, C.-Y. Cheng, T.-H. Tsai, C.-Y. Hsiang, T.-Y. Ho, C.-L. Hsieh // *The American Journal of Chinese Medicine*. – 2010. – Vol. 38. – № 06. – P. 1171-1192.
702. 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. – Vol. 86. – P. 358-375.
703. 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. L. 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. – Vol. 207. – P. 107464.
704. Sukocheva, O. A. The crucial role of epigenetic regulation in breast cancer anti-estrogen resistance: Current findings and future perspectives / O. A. Sukocheva, E. Lukina, M. Friedemann, M. Menschikowski, A. Hagelgans, G. Aliev // *Seminars in Cancer Biology*. – 2022. – Vol. 82. – P. 35-59.
705. Sun, M. GLUT1 participates in tamoxifen resistance in breast cancer cells through autophagy regulation / M. Sun, S. Zhao, Y. Duan, Y. Ma, Y. Wang, H. Ji, Q. Zhang // *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. – 2021. – Vol. 394. – № 1. – P. 205-216.
706. Sun, S. Hypoxia Enhances Glioma Resistance to Sulfasalazine-Induced Ferroptosis by Upregulating SLC7A11 via PI3K/AKT/HIF-1 α Axis / S. Sun, C. Guo, T. Gao, D. Ma, X. Su, Q. Pang, R. Zhang // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2022. – Vol. 2022. – P. 1-22.
707. Sun, X. Discovery and development of tumor glycolysis rate-limiting enzyme inhibitors / X. Sun, Y. Peng, J. Zhao, Z. Xie, X. Lei, G. Tang // *Bioorganic Chemistry*. – 2021. – Vol. 112. – P. 104891.
708. Surmeier, D. J. Determinants of dopaminergic neuron loss in Parkinson's disease / D. J. Surmeier // *The FEBS Journal*. – 2018. – Vol. 285. – № 19. – P. 3657-3668.
709. Sushko, I. Online chemical modeling environment (OCHEM): web platform for data storage, model development and publishing of chemical information / I. Sushko, S. Novotarskyi, R. Körner, A. K. Pandey, M. Rupp, W. Teetz, S. Brandmaier, A. Abdelaziz, V. V. Prokopenko, V. Y. Tanchuk, R. Todeschini, A. Varnek, G. Marcou, P. Ertl, V. Potemkin, M. Grishina, J. Gasteiger, C. Schwab, I. I. Baskin et al. // *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. – 2011. – Vol. 25. – № 6. – P. 533-554.
710. Sweet, M. J. HDAC inhibitors: modulating leukocyte differentiation, survival, proliferation and inflammation / M. J. Sweet, M. R. Shakespear, N. A. Kamal, D. P. Fairlie // *Immunology & Cell Biology*. – 2012. – Vol. 90. – № 1. – P. 14-22.
711. Swerdlow, R. H. A “mitochondrial cascade hypothesis” for sporadic Alzheimer's disease / R. H. Swerdlow, S. Khan // *Med Hypotheses*. – 2004. – Vol. 63. – № 1. – P. 8-20.
712. Takagane, K. A β induces oxidative stress in senescence-accelerated (SAMP8) mice / K. Takagane, J. Nojima, H. Mitsuhashi, S. Suo, D. Yanagihara, F. Takaiwa, Y. Urano, N. Noguchi, S. Ishiura // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. – 2015. – Vol. 79. – № 6. – P. 912-918.
713. Takeda, A. In Alzheimer's Disease, Heme Oxygenase Is Coincident with Alz50, an Epitope of τ Induced by 4-Hydroxy-2-Nonenal Modification / A. Takeda, M. A. Smith, J. Avilá, A. Nunomura, S. L. Siedlak, X. Zhu, G. Perry, L. M. Sayre // *Journal of Neurochemistry*. – 2000. – Vol. 75. – № 3. – P. 1234-1241.
714. Taleghani, A. Synthesis of dual-action parthenolide prodrugs as potent anticancer agents / A. Taleghani, M. A. Nasser, M. Iranshahi // *Bioorganic Chemistry*. – 2017. – Vol. 71. – P. 128-134.

715. Talman, A. M. Artemisinin Bioactivity and Resistance in Malaria Parasites / A. M. Talman, J. Clain, R. Duval, R. Ménard, F. Ariey // Trends in Parasitology. – 2019. – Vol. 35. – № 12. – P. 953-963.
716. Tang, X. HDAC8 cooperates with SMAD3/4 complex to suppress SIRT7 and promote cell survival and migration / X. Tang, G. Li, F. Su, Y. Cai, L. Shi, Y. Meng, Z. Liu, J. Sun, M. Wang, M. Qian, Z. Wang, X. Xu, Y.-X. Cheng, W.-G. Zhu, B. Liu // Nucleic Acids Research. – 2020. – Vol. 48. – № 6. – P. 2912-2923.
717. Tang, Z. HDAC1 triggers the proliferation and migration of breast cancer cells via upregulation of interleukin-8 / Z. Tang, S. Ding, H. Huang, P. Luo, B. Qing, S. Zhang, R. Tang // Biol Chem. – 2017. – Vol. 398. – № 12. – P. 1347-1356.
718. Tarasov, V. V. Feasibility of Targeting Glioblastoma Stem Cells: From Concept to Clinical Trials / V. V. Tarasov, A. A. Svistunov, V. N. Chubarev, T. A. Zatsopilova, N. G. Preferanskaya, O. I. Stepanova, A. V. Sokolov, S. A. Dostdar, N. N. Minyaeva, M. E. Neganova, S. G. Klochkov, L. M. Mikhaleva, S. G. Somasundaram, C. E. Kirkland, G. Aliev // Current Topics in Medicinal Chemistry. – 2020. – Vol. 19. – № 32. – P. 2974-2984.
719. Teknos, T. N. A phase 1 trial of Vorinostat in combination with concurrent chemoradiation therapy in the treatment of advanced staged head and neck squamous cell carcinoma / T. N. Teknos, J. Grecula, A. Agrawal, M. O. Old, E. Ozer, R. Carrau, S. Kang, J. Rocco, D. Blakaj, V. Diavolitsis, B. Kumar, P. Kumar, Q. Pan, M. Palettas, L. Wei, R. Baiocchi, P. Savvides // Investigational New Drugs. – 2019. – Vol. 37. – № 4. – P. 702-710.
720. Ten, V. Mechanism of mitochondrial complex I damage in brain ischemia/reperfusion injury. A hypothesis / V. Ten, A. Galkin // Molecular and Cellular Neuroscience. – 2019. – Vol. 100. – P. 103408.
721. Thakur, A. Glioblastoma: Current Status, Emerging Targets, and Recent Advances / A. Thakur, C. Faujdar, R. Sharma, S. Sharma, B. Malik, K. Nepali, J. P. Liou // Journal of Medicinal Chemistry. – 2022. – Vol. 65. – № 13. – P. 8596-8685.
722. Theofanous, T. Abrogating Oxidative Stress as a Therapeutic Strategy Against Parkinson's Disease: A Mini Review of the Recent Advances on Natural Therapeutic Antioxidant and Neuroprotective Agents / T. Theofanous, M. Kourti // Medicinal Chemistry. – 2022. – Vol. 18. – № 7. – P. 772-783.
723. Thirugnanam, T. Chemically induced models of Parkinson's disease / T. Thirugnanam, K. Santhakumar // Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. – 2022. – Vol. 252. – P. 109213.
724. Thomalla, D. Deregulation and epigenetic modification of BCL2-family genes cause resistance to venetoclax in hematologic malignancies / D. Thomalla, L. Beckmann, C. Grimm, M. Oliverio, L. Meder, C. D. Herling, P. Nieper, T. Feldmann, O. Merkel, E. Lorsy, A. da Palma Guerreiro, J. von Jan, I. Kisis, E. Wasserburger, J. Claasen, E. Faitschuk-Meyer, J. Altmüller, P. Nürnberg, T.-P. Yang et al. // Blood. – 2022. – Vol. 140. – № 20. – P. 2113-2126.
725. Thomas, G. E. The metabolic enzyme hexokinase 2 localizes to the nucleus in AML and normal haematopoietic stem and progenitor cells to maintain

- stemness / G. E. Thomas, G. Egan, L. García-Prat, A. Botham, V. Voisin, P. S. Patel, F. W. Hoff, J. Chin, B. Nachmias, K. B. Kaufmann, D. H. Khan, R. Hurren, X. Wang, M. Gronda, N. MacLean, C. O'Brien, R. P. Singh, C. L. Jones, S. M. Harding et al. // *Nature Cell Biology*. – 2022. – Vol. 24. – № 6. – P. 872-884.
726. Thomsen, M. Locomotor activating effects of cocaine and scopolamine combinations in rats / M. Thomsen // *Behavioural Pharmacology*. – 2014. – Vol. 25. – № 4. – P. 259-266.
727. Thong-asa, W. Benefits of betanin in rotenone-induced Parkinson mice / W. Thong-asa, S. Jedsadavitayakol, S. Jutarattananon // *Metabolic Brain Disease*. – 2021. – Vol. 36. – № 8. – P. 2567-2577.
728. Thorens, B. Glucose transporters in the 21st Century / B. Thorens, M. Mueckler // *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. – 2010. – Vol. 298. – № 2. – P. E141-E145.
729. Tian, X. Hexokinase 2 promoted cell motility and proliferation by activating Akt1/p-Akt1 in human ovarian cancer cells / X. Tian, D. Liu, X. Zuo, X. Sun, M. Wu, X. Li, Y. Teng // *Journal of Ovarian Research*. – 2022. – Vol. 15. – № 1. – P. 92.
730. Tomaselli, D. Epigenetic polypharmacology: A new frontier for epi-drug discovery / D. Tomaselli, A. Lucidi, D. Rotili, A. Mai // *Medicinal Research Reviews*. – 2020. – Vol. 40. – № 1. – P. 190-244.
731. Ton, A. M. M. Oxidative Stress and Dementia in Alzheimer's Patients: Effects of Synbiotic Supplementation / A. M. M. Ton, B. P. Campagnaro, G. A. Alves, R. Aires, L. Z. Côco, C. M. Arpini, T. Guerra e Oliveira, M. Campos-Toimil, S. S. Meyrelles, T. M. C. Pereira, E. C. Vasquez // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 1-14.
732. Topuz, R. D. Effects of hippocampal histone acetylation and HDAC inhibition on spatial learning and memory in the Morris water maze in rats / R. D. Topuz, O. Gunduz, E. Tastekin, C. H. Karadag // *Fundamental & Clinical Pharmacology*. – 2020. – Vol. 34. – № 2. – P. 222-228.
733. Trares, K. Association of F2-isoprostane levels with Alzheimer's disease in observational studies: A systematic review and meta-analysis / K. Trares, L.-J. Chen, B. Schöttker // *Ageing Research Reviews*. – 2022. – Vol. 74. – P. 101552.
734. Traverso, N. Role of Glutathione in Cancer Progression and Chemoresistance / N. Traverso, R. Ricciarelli, M. Nitti, B. Marengo, A. L. Furfaro, M. A. Pronzato, U. M. Marinari, C. Domenicotti // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1-10.
735. Troshev, D. The dynamics of nigrostriatal system damage and neurobehavioral changes in the rotenone rat model of Parkinson's disease / D. Troshev, D. Berezhnoy, O. Kulikova, D. Abaimov, O. Muzychuk, D. Nalobin, S. Stvolinsky, T. Fedorova // *Brain Research Bulletin*. – 2021. – Vol. 173. – P. 1-13.
736. Tsai, M.-C. Equol Pretreatment Protection of SH-SY5Y Cells against A β (25–35)-Induced Cytotoxicity and Cell-Cycle Reentry via Sustaining Estrogen Receptor Alpha Expression / M.-C. Tsai, S.-H. Lin, K. Hidayah, C.-I. Lin // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 11. – № 10. – P. 2356.

737. Tseng, J.-H. The Deacetylase HDAC6 Mediates Endogenous Neuritic Tau Pathology / J.-H. Tseng, L. Xie, S. Song, Y. Xie, L. Allen, D. Ajit, J.-S. Hong, X. Chen, R. B. Meeker, T. J. Cohen // *Cell Reports*. – 2017. – Vol. 20. – № 9. – P. 2169-2183.
738. Tsikas, D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges / D. Tsikas // *Analytical Biochemistry*. – 2017. – Vol. 524. – P. 13-30.
739. Tutusaus, A. Antiapoptotic BCL-2 proteins determine sorafenib/regorafenib resistance and BH3-mimetic efficacy in hepatocellular carcinoma / A. Tutusaus, M. Stefanovic, L. Boix, B. Cucarull, A. Zamora, L. Blasco, P. G. de Frutos, M. Reig, J. C. Fernandez-Checa, M. Marí, A. Colell, J. Bruix, A. Morales // *Oncotarget*. – 2018. – Vol. 9. – № 24. – P. 16701-16717.
740. Upadhyay, V. Putative stemness markers octamer-binding transcription factor 4, sex-determining region Y-box 2, and NANOG in non-small cell lung carcinoma: A clinicopathological association / V. Upadhyay, K. Shah, D. Makwana, A. Raval, F. Shah, R. Rawal // *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. – 2020. – Vol. 16. – № 4. – P. 804.
741. Valavanidis, A. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis / A. Valavanidis, T. Vlachogianni, C. Fiotakis // *Journal of Environmental Science and Health, Part C*. – 2009. – Vol. 27. – № 2. – P. 120-139.
742. Valdez, L. B. Complex I syndrome in striatum and frontal cortex in a rat model of Parkinson disease / L. B. Valdez, T. Zaobornyj, M. J. Bandez, J. M. López-Cepero, A. Boveris, A. Navarro // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2019. – Vol. 135. – P. 274-282.
743. Valdman, E. Evolution of anti-parkinsonian activity of monoterpenoid (1 R ,2 R ,6 S)-3-methyl-6-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-3-ene-1,2-diol in various in vivo models / E. Valdman, I. Kapitsa, E. Ivanova, T. Voronina, O. Ardashov, K. Volcho, V. Khazanov, N. Salakhutdinov // *European Journal of Pharmacology*. – 2017. – Vol. 815. – P. 351-363.
744. Valla, M. CCND1 Amplification in Breast Cancer -associations With Proliferation, Histopathological Grade, Molecular Subtype and Prognosis / M. Valla, E. Klæstad, B. Ytterhus, A. M. Bofin // *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. – 2022. – Vol. 27. – № 1. – P. 67-77.
745. van de Nes, J. A. P. Immunocytochemical analysis of glucose transporter protein-1 (GLUT1) in typical, brain invasive, atypical and anaplastic meningioma / J. A. P. van de Nes, K. G. Griewank, K. Schmid, F. Grabelius // *Neuropathology*. – 2015. – Vol. 35. – № 1. – P. 24-36.
746. Vanaja, G. R. Overexpressed HDAC8 in cervical cancer cells shows functional redundancy of tubulin deacetylation with HDAC6 / G. R. Vanaja, H. G. Ramulu, A. M. Kalle // *Cell Communication and Signaling*. – 2018. – Vol. 16. – № 1. – P. 20.
747. Vercellino, I. The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain / I. Vercellino, L. A. Sazanov // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2022. – Vol. 23. – № 2. – P. 141-161.

748. Verdin, E. Class II histone deacetylases: versatile regulators / E. Verdin, F. Dequiedt, H. G. Kasler // *Trends in Genetics*. – 2003. – Vol. 19. – № 5. – P. 286-293.
749. Villar-Conde, S. The Human Hippocampus in Parkinson's Disease: An Integrative Stereological and Proteomic Study / S. Villar-Conde, V. Astillero-Lopez, M. Gonzalez-Rodriguez, P. Villanueva-Anguita, D. Saiz-Sanchez, A. Martinez-Marcos, A. Flores-Cuadrado, I. Ubeda-Bañon // *Journal of Parkinson's Disease*. – 2021. – Vol. 11. – № 3. – P. 1345-1365.
750. Vodenkova, S. 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future / S. Vodenkova, T. Buchler, K. Cervena, V. Veskrnova, P. Vodicka, V. Vymetalkova // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2020. – Vol. 206. – P. 107447.
751. Vorhees, C. V. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory / C. V. Vorhees, M. T. Williams // *Nature Protocols*. – 2006. – Vol. 1. – № 2. – P. 848-858.
752. Vorobyov, V. Loss of the Synuclein Family Members Differentially Affects Baseline- and Apomorphine-Associated EEG Determinants in Single-, Double- and Triple-Knockout Mice / V. Vorobyov, A. Deev, I. Sukhanova, O. Morozova, Z. Oganessian, K. Chaprov, V. L. Buchman // *Biomedicines*. – 2022. – Vol. 10. – № 12. – P. 3128.
753. Wang, B. DL-3-n-butylphthalide ameliorates diabetes-associated cognitive decline by enhancing PI3K/Akt signaling and suppressing oxidative stress / B. Wang, C. Wu, Z. Chen, P. Zheng, Y. Liu, J. Xiong, J. Xu, P. Li, A. Al Mamun, L. Ye, Z. Zheng, Y. Wu, J. Xiao, J. Wang // *Acta Pharmacologica Sinica*. – 2021. – Vol. 42. – № 3. – P. 347-360.
754. Wang, B. The HDAC2–MTA3 interaction induces nonsmall cell lung cancer cell migration and invasion by targeting c-Myc and cyclin D1 / B. Wang, X. Shen, L. Pan, Z. Li, C. Chen, Y. Yao, D. Tang, W. Gao // *Molecular Carcinogenesis*. – 2023. – Vol. 62. – № 11. – P. 1630-1644.
755. Wang, C. Isoforsythiaside Attenuates Alzheimer's Disease via Regulating Mitochondrial Function Through the PI3K/AKT Pathway / C. Wang, J. Hao, X. Liu, C. Li, X. Yuan, R. J. Lee, T. Bai, D. Wang // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21. – № 16. – P. 5687.
756. Wang, C. Modulation of Placental Breast Cancer Resistance Protein by HDAC1 in Mice: Implications for Optimization of Pharmacotherapy During Pregnancy / C. Wang, D. Ma, Y. Hua, H. Duan // *Reproductive Sciences*. – 2021. – Vol. 28. – № 12. – P. 3540-3546.
757. Wang, F. Potential Anti-inflammatory Sesquiterpene Lactones from *Eupatorium lindleyanum* / F. Wang, H. Zhong, S. Fang, Y. Zheng, C. Li, G. Peng, X. Shen // *Planta Medica*. – 2018. – Vol. 84. – № 02. – P. 123-128.
758. Wang, J. A non-metabolic function of hexokinase 2 in small cell lung cancer: promotes cancer cell stemness by increasing USP11-mediated CD133 stability / J. Wang, F. Shao, Y. Yang, W. Wang, X. Yang, R. Li, H. Cheng, S. Sun, X. Feng, Y. Gao, J. He, Z. Lu // *Cancer Communications*. – 2022. – Vol. 42. – № 10. – P. 1008-1027.

759. Wang, L. Glycolytic Enzyme PKM2 Mediates Autophagic Activation to Promote Cell Survival in NPM1-Mutated Leukemia / L. Wang, L. Yang, Z. Yang, Y. Tang, Y. Tao, Q. Zhan, L. Lei, Y. Jing, X. Jiang, H. Jin, Q. Zou, J. Xian, L. Zhang // *International Journal of Biological Sciences*. – 2019. – Vol. 15. – № 4. – P. 882-894.
760. Wang, L. Quercitrin improved cognitive impairment through inhibiting inflammation induced by microglia in Alzheimer's disease mice / L. Wang, J. Sun, Z. Miao, X. Jiang, Y. Zheng, G. Yang // *NeuroReport*. – 2022. – Vol. 33. – № 8. – P. 327-335.
761. Wang, L. The Role of Tumour Metabolism in Cisplatin Resistance / L. Wang, X. Zhao, J. Fu, W. Xu, J. Yuan // *Frontiers in Molecular Biosciences*. – 2021. – Vol. 8.
762. Wang, Q. Inhibition of Amyloid-Aggregation in Alzheimers Disease / Q. Wang, X. Yu, L. Li, J. Zheng // *Current Pharmaceutical Design*. – 2014. – Vol. 20. – № 8. – P. 1223-1243.
763. Wang, S. Targeting ACYP1-mediated glycolysis reverses lenvatinib resistance and restricts hepatocellular carcinoma progression / S. Wang, L. Zhou, N. Ji, C. Sun, L. Sun, J. Sun, Y. Du, N. Zhang, Y. Li, W. Liu, W. Lu // *Drug Resistance Updates*. – 2023. – Vol. 69. – P. 100976.
764. Wang, T. Neuroprotective effects of Danshensu on rotenone-induced Parkinson's disease models in vitro and in vivo / T. Wang, C. Li, B. Han, Z. Wang, X. Meng, L. Zhang, J. He, F. Fu // *BMC Complementary Medicine and Therapies*. – 2020. – Vol. 20. – № 1. – P. 20.
765. Wang, X. Class I histone deacetylase complex: Structure and functional correlates / X. Wang, Y. Wang, S. Liu, Y. Zhang, K. Xu, L. Ji, R. D. Kornberg, H. Zhang // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2023. – Vol. 120. – № 30.
766. Wang, Y. Phase I studies of vorinostat with ixazomib or pazopanib imply a role of antiangiogenesis-based therapy for TP53 mutant malignancies / Y. Wang, F. Janku, S. Piha-Paul, K. Hess, R. Broaddus, L. Liu, N. Shi, M. Overman, S. Kopetz, V. Subbiah, A. Naing, D. Hong, A. M. Tsimberidou, D. Karp, J. Yao, S. Fu // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10. – № 1. – P. 3080.
767. Wang, Y. PKM2 Inhibitor Shikonin Overcomes the Cisplatin Resistance in Bladder Cancer by Inducing Necroptosis / Y. Wang, F. Hao, Y. Nan, L. Qu, W. Na, C. Jia, X. Chen // *International Journal of Biological Sciences*. – 2018. – Vol. 14. – № 13. – P. 1883-1891.
768. Wang, Y. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling / Y. Wang, R. Branicky, A. Noë, S. Hekimi // *Journal of Cell Biology*. – 2018. – Vol. 217. – № 6. – P. 1915-1928.
769. Wang, Y. The double-edged roles of ROS in cancer prevention and therapy / Y. Wang, H. Qi, Y. Liu, C. Duan, X. Liu, T. Xia, D. Chen, H. Piao, H.-X. Liu // *Theranostics*. – 2021. – Vol. 11. – № 10. – P. 4839-4857.
770. Wang, Y. The endogenous reactive oxygen species promote NF- κ B activation by targeting on activation of NF- κ B-inducing kinase in oral

- squamous carcinoma cells / Y. Wang, X. Huang, H. Cang, F. Gao, T. Yamamoto, T. Osaki, J. Yi // *Free Radical Research*. – 2007. – Vol. 41. – № 9. – P. 963-971.
771. Wang, F. Roles of Eukaryotic Initiation Factor 5A2 in Human Cancer / F. Wang, X. Guan, D. Xie // *International Journal of Biological Sciences*. – 2013. – Vol. 9. – № 10. – P. 1013-1020.
772. Ward, P. S. Metabolic Reprogramming: A Cancer Hallmark Even Warburg Did Not Anticipate / P. S. Ward, C. B. Thompson // *Cancer Cell*. – 2012. – Vol. 21. – № 3. – P. 297-308.
773. Wątroba, M. Sirtuins, epigenetics and longevity / M. Wątroba, I. Dudek, M. Skoda, A. Stangret, P. Rzedkiewicz, D. Szukiewicz // *Ageing Research Reviews*. – 2017. – Vol. 40. – P. 11-19.
774. Webb, B. A. Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression / B. A. Webb, M. Chimenti, M. P. Jacobson, D. L. Barber // *Nature Reviews Cancer*. – 2011. – Vol. 11. – № 9. – P. 671-677.
775. Webster, S. J. Comprehensive behavioral characterization of an APP/PS-1 double knock-in mouse model of Alzheimer's disease / S. J. Webster, A. D. Bachstetter, L. J. Van Eldik // *Alzheimer's Research & Therapy*. – 2013. – Vol. 5. – № 3. – P. 28.
776. Wei, Y. Clinicopathological and prognostic significance of octamer-binding transcription factor 4 in patients with gastric cancer: a systematic review and meta-analysis / Y. Wei, H. Liu, C. Wang, W. Zhang, X. Wen, H. Long, Z. Xu, H. Guo, Y. Liu, D. Wei, C. Qiu, G. Li, Z. Sun // *Biomarkers in Medicine*. – 2019. – Vol. 13. – № 3. – P. 219-234.
777. Weichert, W. Association of patterns of class I histone deacetylase expression with patient prognosis in gastric cancer: a retrospective analysis / W. Weichert, A. Röske, V. Gekeler, T. Beckers, M. P. Ebert, M. Pross, M. Dietel, C. Denkert, C. Röcken // *The Lancet Oncology*. – 2008. – Vol. 9. – № 2. – P. 139-148.
778. Weichert, W. Class I Histone Deacetylase Expression Has Independent Prognostic Impact in Human Colorectal Cancer: Specific Role of Class I Histone Deacetylases In vitro and In vivo / W. Weichert, A. Röske, S. Niesporek, A. Noske, A.-C. Buckendahl, M. Dietel, V. Gekeler, M. Boehm, T. Beckers, C. Denkert // *Clinical Cancer Research*. – 2008. – Vol. 14. – № 6. – P. 1669-1677.
779. Wiczkowski, A. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in colorectal adenocarcinoma – is it a result of oxidative stress? / A. Wiczkowski // *Medical Science Monitor*. – 2013. – Vol. 19. – P. 690-695.
780. Wilkins, H. M. A Mitochondrial Biomarker-Based Study of S-Equol in Alzheimer's Disease Subjects: Results of a Single-Arm, Pilot Trial / H. M. Wilkins, J. D. Mahnken, P. Welch, R. Bothwell, S. Koppel, R. L. Jackson, J. M. Burns, R. H. Swerdlow // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2017. – Vol. 59. – № 1. – P. 291-300.
781. Wilmott, J. S. Expression of the class 1 histone deacetylases HDAC8 and 3 are associated with improved survival of patients with metastatic melanoma / J. S. Wilmott, A. J. Colebatch, H. Kakavand, P. Shang, M. S. Carlino, J. F. Thompson,

- G. V Long, R. A. Scolyer, P. Hersey // *Modern Pathology*. – 2015. – Vol. 28. – № 7. – P. 884-894.
782. Wisnieski, F. Differential expression of histone deacetylase and acetyltransferase genes in gastric cancer and their modulation by trichostatin A / F. Wisnieski, D. Q. Calcagno, M. F. Leal, E. S. Chen, C. O. Gigeck, L. C. Santos, T. B. Pontes, L. T. Rasmussen, S. L. M. Payão, P. P. Assumpção, L. G. Lourenço, S. Demachki, R. Artigiani, R. R. Burbano, M. Cardoso Smith // *Tumor Biology*. – 2014. – Vol. 35. – № 7. – P. 6373-6381.
783. Witt, O. HDAC family: What are the cancer relevant targets? / O. Witt, H. E. Deubzer, T. Milde, I. Oehme // *Cancer Letters*. – 2009. – Vol. 277. – № 1. – P. 8-21.
784. Wolfer, D. P. Extended analysis of path data from mutant mice using the public domain software Wintrack / D. P. Wolfer, R. Madani, P. Valenti, H.-P. Lipp // *Physiology & Behavior*. – 2001. – Vol. 73. – № 5. – P. 745-753.
785. Wu, H. Kaempferol Can Reverse the 5-Fu Resistance of Colorectal Cancer Cells by Inhibiting PKM2-Mediated Glycolysis / H. Wu, J. Du, C. Li, H. Li, H. Guo, Z. Li // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23. – № 7. – P. 3544.
786. Wu, J. The Up-Regulation of Histone Deacetylase 8 Promotes Proliferation and Inhibits Apoptosis in Hepatocellular Carcinoma / J. Wu, C. Du, Z. Lv, C. Ding, J. Cheng, H. Xie, L. Zhou, S. Zheng // *Digestive Diseases and Sciences*. – 2013. – Vol. 58. – № 12. – P. 3545-3553.
787. Wu, L.-M. Identification of Histone Deacetylase 3 as a Biomarker for Tumor Recurrence Following Liver Transplantation in HBV-Associated Hepatocellular Carcinoma / L.-M. Wu, Z. Yang, L. Zhou, F. Zhang, H.-Y. Xie, X.-W. Feng, J. Wu, S.-S. Zheng // *PLoS ONE*. – 2010. – Vol. 5. – № 12. – P. e14460.
788. Wu, S. Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) promotes the epithelial mesenchymal transition of triple negative breast cancer cells via HDAC8/FOXA1 signals / S. Wu, Z. Luo, P.-J. Yu, H. Xie, Y.-W. He // *Biological Chemistry*. – 2016. – Vol. 397. – № 1. – P. 75-83.
789. Wu, Z. Emerging roles of aerobic glycolysis in breast cancer / Z. Wu, J. Wu, Q. Zhao, S. Fu, J. Jin // *Clinical and Translational Oncology*. – 2020. – Vol. 22. – № 5. – P. 631-646.
790. Wu, Z. Eupalinolide J induces apoptosis, cell cycle arrest, mitochondrial membrane potential disruption and DNA damage in human prostate cancer cells / Z. Wu, X. Xu, L. Dai, Y. Wang, B. Yang, H. Zhao, C. Lou // *The Journal of Toxicological Sciences*. – 2020. – Vol. 45. – № 1. – P. 15-23.
791. Xi, J. GLUT-1 participates in the promotion of LncRNA CASC9 in proliferation and metastasis of laryngeal carcinoma cells / J. Xi, Y. Wang, H. Liu // *Gene*. – 2020. – Vol. 726. – P. 144194.
792. Xia, Y. PKM2 Is Essential for Bladder Cancer Growth and Maintenance / Y. Xia, X. Wang, Y. Liu, E. Shapiro, H. Lepor, M.-S. Tang, T.-T. Sun, X.-R. Wu // *Cancer Research*. – 2022. – Vol. 82. – № 4. – P. 571-585.
793. Xiang, M. Kinsenoside attenuates liver fibro-inflammation by suppressing dendritic cells via the PI3K-AKT-FoxO1 pathway / M. Xiang, T. Liu, C. Tian, K.

- Ma, J. Gou, R. Huang, S. Li, Q. Li, C. Xu, L. Li, C.-H. Lee, Y. Zhang // *Pharmacological Research*. – 2022. – Vol. 177. – P. 106092.
794. Xiao, Y. Recent advances in small molecular modulators targeting histone deacetylase 6 / Y. Xiao, X. Zhang // *Future Drug Discovery*. – 2020. – Vol. 2. – № 4.
795. Xie, Y. PI3K/Akt signaling transduction pathway, erythropoiesis and glycolysis in hypoxia (Review) / Y. Xie, X. Shi, K. Sheng, G. Han, W. Li, Q. Zhao, B. Jiang, J. Feng, J. Li, Y. Gu // *Molecular Medicine Reports*. – 2018.
796. Xiong, Z. Pushing the Boundaries of Molecular Representation for Drug Discovery with the Graph Attention Mechanism / Z. Xiong, D. Wang, X. Liu, F. Zhong, X. Wan, X. Li, Z. Li, X. Luo, K. Chen, H. Jiang, M. Zheng // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2020. – Vol. 63. – № 16. – P. 8749-8760.
797. Xu, D. Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application / D. Xu, M.-J. Hu, Y.-Q. Wang, Y.-L. Cui // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24. – № 6. – P. 1123.
798. Xu, G. Histone deacetylase 3 is associated with gastric cancer cell growth via the miR-454-mediated targeting of CHD5 / G. Xu, H. Zhu, M. Zhang, J. Xu // *International Journal of Molecular Medicine*. – 2017.
799. Xu, X. Metformin activates chaperone-mediated autophagy and improves disease pathologies in an Alzheimer disease mouse model / X. Xu, Y. Sun, X. Cen, B. Shan, Q. Zhao, T. Xie, Z. Wang, T. Hou, Y. Xue, M. Zhang, D. Peng, Q. Sun, C. Yi, A. Najafov, H. Xia // *Protein & Cell*. – 2021. – Vol. 12. – № 10. – P. 769-787.
800. Xu, Y. Autophagy deficiency modulates microglial lipid homeostasis and aggravates tau pathology and spreading / Y. Xu, N. E. Propson, S. Du, W. Xiong, H. Zheng // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2021. – Vol. 118. – № 27.
801. Xu, Y. Role for Class I histone deacetylases in multidrug resistance / Y. Xu, Z. Jiang, P. Yin, Q. Li, J. Liu // *Experimental Cell Research*. – 2012. – Vol. 318. – № 3. – P. 177-186.
802. Xu, Y.-Z. Design, synthesis and biological evaluation of novel sesquiterpene mustards as potential anticancer agents / Y.-Z. Xu, X.-Y. Gu, S.-J. Peng, J.-G. Fang, Y.-M. Zhang, D.-J. Huang, J.-J. Chen, K. Gao // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2015. – Vol. 94. – P. 284-297.
803. Yadav, R. Sialic Acid Hydroxamate: A Potential Antioxidant and Inhibitor of Metal-Induced β -Amyloid Aggregates / R. Yadav, R. V. Murthy, R. Kikkeri // *ChemBioChem*. – 2015. – Vol. 16. – № 10. – P. 1448-1453.
804. Yakisich, J. S. The Biguanides Metformin and Buformin in Combination with 2-Deoxy-glucose or WZB-117 Inhibit the Viability of Highly Resistant Human Lung Cancer Cells / J. S. Yakisich, N. Azad, V. Kaushik, A. K. V. Iyer // *Stem Cells International*. – 2019. – Vol. 2019. – P. 1-11.
805. Yalcin, A. 6-phosphofructo-2-kinase/fructose 2,6-bisphosphatase-3 is required for transforming growth factor β 1-enhanced invasion of Panc1 cells in vitro / A. Yalcin, T. H. Solakoglu, S. C. Ozcan, S. Guzel, S. Peker, S. Celikler,

- B. D. Balaban, E. Sevinc, Y. Gurpinar, J. A. Chesney // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2017. – Vol. 484. – № 3. – P. 687-693.
806. Yamada, E. S. Annonacin, a natural lipophilic mitochondrial complex I inhibitor, increases phosphorylation of tau in the brain of FTDP-17 transgenic mice / E. S. Yamada, G. Respondek, S. Müssner, A. de Andrade, M. Höllerhage, C. Depienne, A. Rastetter, A. Tarze, B. Friguet, M. Salama, P. Champy, W. H. Oertel, G. U. Höglinger // *Experimental Neurology*. – 2014. – Vol. 253. – P. 113-125.
807. Yamamoto, T. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) Levels in Women with or without Gynecologic Cancer / T. Yamamoto, K. Hosokawa, T. Tamura, H. Kanno, M. Urabe, H. Honjo // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. – 1996. – Vol. 22. – № 4. – P. 359-363.
808. Yamazaki, Y. Extracellular ATP modulates synaptic plasticity induced by activation of metabotropic glutamate receptors in the hippocampus / Y. Yamazaki, S. Fujii // *Biomedical Research*. – 2015. – Vol. 36. – № 1. – P. 1-9.
809. Yan, J. Artemisinin attenuated oxidative stress and apoptosis by inhibiting autophagy in MPP⁺-treated SH-SY5Y cells / J. Yan, H. Ma, X. Lai, J. Wu, A. Liu, J. Huang, W. Sun, M. Shen, Y. Zhang // *Journal of Biological Research-Thessaloniki*. – 2021. – Vol. 28. – № 1. – P. 6.
810. Yan, X. Fluoride induces apoptosis in H9c2 cardiomyocytes via the mitochondrial pathway / X. Yan, L. Wang, X. Yang, Y. Qiu, X. Tian, Y. Lv, F. Tian, G. Song, T. Wang // *Chemosphere*. – 2017. – Vol. 182. – P. 159-165.
811. Yan, H. Non-coding RNA in cancer / H. Yan, P. Bu // *Essays in Biochemistry*. – 2021. – Vol. 65. – № 4. – P. 625-639.
812. Yan, M. H. Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease / M. H. Yan, X. Wang, X. Zhu // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2013. – Vol. 62. – P. 90-101.
813. Yang, L. Hexokinase 2 discerns a novel circulating tumor cell population associated with poor prognosis in lung cancer patients / L. Yang, X. Yan, J. Chen, Q. Zhan, Y. Hua, S. Xu, Z. Li, Z. Wang, Y. Dong, D. Zuo, M. Xue, Y. Tang, H. R. Herschman, S. Lu, Q. Shi, W. Wei // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2021. – Vol. 118. – № 11.
814. Yang, W. Effect of Trichostatin A on Gelsolin Levels, Proteolysis of Amyloid Precursor Protein, and Amyloid Beta-Protein Load in the Brain of Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease / W. Yang, A. Chauhan, J. Wegiel, I. Kuchna, F. Gu, V. Chauhan // *Current Alzheimer Research*. – 2014. – Vol. 11. – № 10. – P. 1002-1011.
815. Yang, W. Sulforaphene Ameliorates Neuroinflammation and Hyperphosphorylated Tau Protein via Regulating the PI3K/Akt/GSK-3 β Pathway in Experimental Models of Alzheimer's Disease / W. Yang, Y. Liu, Q.-Q. Xu, Y.-F. Xian, Z.-X. Lin // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 1-17.
816. Yang, W. Trichostatin A increases the levels of plasma gelsolin and amyloid beta-protein in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease / W. Yang, A.

- Chauhan, S. Mehta, P. Mehta, F. Gu, V. Chauhan // *Life Sciences*. – 2014. – Vol. 99. – № 1-2. – P. 31-36.
817. Yang, W.-B. Increased activation of HDAC1/2/6 and Sp1 underlies therapeutic resistance and tumor growth in glioblastoma / W.-B. Yang, C.-C. Hsu, T.-I. Hsu, J.-P. Liou, K.-Y. Chang, P.-Y. Chen, J.-J. Liu, S.-T. Yang, J.-Y. Wang, S.-H. Yeh, R.-M. Chen, W.-C. Chang, J.-Y. Chuang // *Neuro-Oncology*. – 2020. – Vol. 22. – № 10. – P. 1439-1451.
818. Yang, Y. Impact of mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 on cognitive impairment in the AD model mouse / Y. Yang, W. Chen, X. Wang, W. Ge // *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. – 2021. – Vol. 53. – № 7. – P. 837-847.
819. Yang, Y. Targeting the miR-34a/LRPPRC/MDR1 axis collapse the chemoresistance in P53 inactive colorectal cancer / Y. Yang, H. Yuan, L. Zhao, S. Guo, S. Hu, M. Tian, Y. Nie, J. Yu, C. Zhou, J. Niu, G. Wang, Y. Song // *Cell Death & Differentiation*. – 2022. – Vol. 29. – № 11. – P. 2177-2189.
820. Yang, J. Autophagy and Energy Metabolism / J. Yang, R. Zhou, Z. Ma. – 2019. – P. 329-357.
821. Yano, M. Association of histone deacetylase expression with histology and prognosis of ovarian cancer / M. Yano, M. Yasuda, M. Sakaki, K. Nagata, T. Fujino, E. Arai, T. Hasebe, M. Miyazawa, M. Miyazawa, N. Ogane, K. Hasegawa, H. Narahara // *Oncology Letters*. – 2018.
822. Yi, M. 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3 and 4: A pair of valves for fine-tuning of glucose metabolism in human cancer / M. Yi, Y. Ban, Y. Tan, W. Xiong, G. Li, B. Xiang // *Molecular Metabolism*. – 2019. – Vol. 20. – P. 1-13.
823. Yi, P.-L. Interleukin-1 β Mediates Sleep Alteration in Rats With Rotenone-Induced Parkinsonism / P.-L. Yi, C.-H. Tsai, M.-K. Lu, H.-J. Liu, Y.-C. Chen, F.-C. Chang // *Sleep*. – 2007. – Vol. 30. – № 4. – P. 413-425.
824. Yin, C. Glucose Transporter-1 (GLUT-1) Expression is Associated with Tumor Size and Poor Prognosis in Locally Advanced Gastric Cancer / C. Yin, B. Gao, J. Yang, J. Wu // *Medical Science Monitor Basic Research*. – 2020. – Vol. 26.
825. Yin, F. Energy metabolism and inflammation in brain aging and Alzheimer's disease / F. Yin, H. Sancheti, I. Patil, E. Cadenas // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2016. – Vol. 100. – P. 108-122.
826. Yokoi, E. Lurbinectedin (PM01183), a selective inhibitor of active transcription, effectively eliminates both cancer cells and cancer stem cells in preclinical models of uterine cervical cancer / E. Yokoi, S. Mabuchi, K. Shimura, N. Komura, K. Kozasa, H. Kuroda, R. Takahashi, T. Sasano, M. Kawano, Y. Matsumoto, M. Kodama, K. Hashimoto, K. Sawada, T. Kimura // *Investigational New Drugs*. – 2019. – Vol. 37. – № 5. – P. 818-827.
827. Yoshida, G. J. Metabolic reprogramming: the emerging concept and associated therapeutic strategies / G. J. Yoshida // *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. – 2015. – Vol. 34. – № 1. – P. 111.

828. Yu, H. Targeting NF- κ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study / H. Yu, L. Lin, Z. Zhang, H. Zhang, H. Hu // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. – 2020. – Vol. 5. – № 1. – P. 209.
829. Yu, S. Deubiquitinase OTUB2 exacerbates the progression of colorectal cancer by promoting PKM2 activity and glycolysis / S. Yu, W. Zang, Y. Qiu, L. Liao, X. Zheng // *Oncogene*. – 2022. – Vol. 41. – № 1. – P. 46-56.
830. Yu, Z. Role of HDAC1 in the progression of gastric cancer and the correlation with lncRNAs / Z. Yu, J. Zeng, H. Liu, T. Wang, Z. Yu, J. Chen // *Oncology Letters*. – 2019.
831. Yu, H. S. Weighted Averaging Scheme and Local Atomic Descriptor for p K a Prediction Based on Density Functional Theory / H. S. Yu, M. A. Watson, A. D. Bochevarov // *Journal of Chemical Information and Modeling*. – 2018. – Vol. 58. – № 2. – P. 271-286.
832. Zabel, M. Markers of oxidative damage to lipids, nucleic acids and proteins and antioxidant enzymes activities in Alzheimer's disease brain: A meta-analysis in human pathological specimens / M. Zabel, A. Nackenoff, W. M. Kirsch, F. E. Harrison, G. Perry, M. Schrag // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2018. – Vol. 115. – P. 351-360.
833. Zadra, G. Inhibition of de novo lipogenesis targets androgen receptor signaling in castration-resistant prostate cancer / G. Zadra, C. F. Ribeiro, P. Chetta, Y. Ho, S. Cacciatore, X. Gao, S. Syamala, C. Bango, C. Photopoulos, Y. Huang, S. Tyekucheva, D. C. Bastos, J. Tchaicha, B. Lawney, T. Uo, L. D'Anello, A. Csibi, R. Kalekar, B. Larimer et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2019. – Vol. 116. – № 2. – P. 631-640.
834. Zahra, K. A study of oxidative stress in cervical cancer- an institutional study / K. Zahra, S. Patel, T. Dey, U. Pandey, S. P. Mishra // *Biochemistry and Biophysics Reports*. – 2021. – Vol. 25. – P. 100881.
835. Zamanian, M. Y. Targeting Nrf2 signaling pathway and oxidative stress by resveratrol for Parkinson's disease: an overview and update on new developments / M. Y. Zamanian, R. M. R. Parra, A. Soltani, M. Kujawska, Y. F. Mustafa, G. Raheem, L. Al-Awsi, H. A. Lafta, N. Taheri, M. Heidari, M. Golmohammadi, G. Bazmandegan // *Molecular Biology Reports*. – 2023. – Vol. 50. – № 6. – P. 5455-5464.
836. Zamzami, N. The mitochondrion in apoptosis: how Pandora's box opens / N. Zamzami, G. Kroemer // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2001. – Vol. 2. – № 1. – P. 67-71.
837. Zeng, Z. Ginsenoside Rg3 inhibits angiogenesis in gastric precancerous lesions through downregulation of Glut1 and Glut4 / Z. Zeng, Q. Nian, N. Chen, M. Zhao, Q. Zheng, G. Zhang, Z. Zhao, Y. Chen, J. Wang, J. Zeng, D. Gong, J. Tang // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2022. – Vol. 145. – P. 112086.
838. Zhaba, W.-D. Deferoxamine reduces amyloid-beta peptides genesis and alleviates neural apoptosis after traumatic brain injury / W.-D. Zhaba, Q.-Z. Deji, S.-Q. Gao, Y.-L. Han, C.-C. Gao, H.-J. Deng, X.-L. Liu, T. Li, M.-L. Zhou // *NeuroReport*. – 2021. – Vol. 32. – № 6. – P. 472-478.

839. Zhan, T. Wnt signaling in cancer / T. Zhan, N. Rindtorff, M. Boutros // *Oncogene*. – 2017. – Vol. 36. – № 11. – P. 1461-1473.
840. Zhang, D. Downregulation of hexokinase 2 improves radiosensitivity of breast cancer / D. Zhang, H. Wang, W. Yu, F. Qiao, X. Su, H. Xu // *Translational Cancer Research*. – 2019. – Vol. 8. – № 1. – P. 290-297.
841. Zhang, H. Chemical molecular-based approach to overcome multidrug resistance in cancer by targeting P-glycoprotein (P-gp) / H. Zhang, H. Xu, C. R. Ashby, Y. G. Assaraf, Z. Chen, H. Liu // *Medicinal Research Reviews*. – 2021. – Vol. 41. – № 1. – P. 525-555.
842. Zhang, H. Clinical significance of eukaryotic translation initiation factor 5A2 in papillary thyroid cancer / H. Zhang, K. Zhang, L. Ning, D. Chen, F. Hao, P. Li // *Bioengineered*. – 2020. – Vol. 11. – № 1. – P. 1325-1333.
843. Zhang, J. ROS and ROS-Mediated Cellular Signaling / J. Zhang, X. Wang, V. Vikash, Q. Ye, D. Wu, Y. Liu, W. Dong // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2016. – Vol. 2016. – P. 1-18.
844. Zhang, L. S100A11 Promotes Liver Steatosis via FOXO1-Mediated Autophagy and Lipogenesis / L. Zhang, Z. Zhang, C. Li, T. Zhu, J. Gao, H. Zhou, Y. Zheng, Q. Chang, M. Wang, J. Wu, L. Ran, Y. Wu, H. Miao, X. Zou, B. Liang // *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. – 2021. – Vol. 11. – № 3. – P. 697-724.
845. Zhang, L. Zinc binding groups for histone deacetylase inhibitors / L. Zhang, J. Zhang, Q. Jiang, L. Zhang, W. Song // *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. – 2018. – Vol. 33. – № 1. – P. 714-721.
846. Zhang, Q. Artemisinin Derivatives Inhibit Non-small Cell Lung Cancer Cells Through Induction of ROS-dependent Apoptosis-Ferroptosis / Q. Zhang, H. Yi, H. Yao, L. Lu, G. He, M. Wu, C. Zheng, Y. Li, S. Chen, L. Li, H. Yu, G. Li, X. Tao, S. Fu, X. Deng // *Journal of Cancer*. – 2021. – Vol. 12. – № 13. – P. 4075-4085.
847. Zhang, Q. Guaianolide Sesquiterpene Lactones, a Source To Discover Agents That Selectively Inhibit Acute Myelogenous Leukemia Stem and Progenitor Cells / Q. Zhang, Y. Lu, Y. Ding, J. Zhai, Q. Ji, W. Ma, M. Yang, H. Fan, J. Long, Z. Tong, Y. Shi, Y. Jia, B. Han, W. Zhang, C. Qiu, X. Ma, Q. Li, Q. Shi, H. Zhang et al. // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2012. – Vol. 55. – № 20. – P. 8757-8769.
848. Zhang, Q. Inverse relationship between cancer and Alzheimer's disease: a systemic review meta-analysis / Q. Zhang, S. Guo, X. Zhang, S. Tang, W. Shao, X. Han, L. Wang, Y. Du // *Neurological Sciences*. – 2015. – Vol. 36. – № 11. – P. 1987-1994.
849. Zhang, Q. Shikonin Inhibits Tumor Growth of ESCC by suppressing PKM2 mediated Aerobic Glycolysis and STAT3 Phosphorylation / Q. Zhang, Q. Liu, S. Zheng, T. Liu, L. Yang, X. Han, X. Lu // *Journal of Cancer*. – 2021. – Vol. 12. – № 16. – P. 4830-4840.
850. Zhang, Q.-Q. Metformin therapy and cognitive dysfunction in patients with type 2 diabetes / Q.-Q. Zhang, W.-S. Li, Z. Liu, H.-L. Zhang, Y.-G. Ba, R.-X. Zhang // *Medicine*. – 2020. – Vol. 99. – № 10. – P. e19378.

851. Zhang, R. HDAC8-dependent deacetylation of PKM2 directs nuclear localization and glycolysis to promote proliferation in hepatocellular carcinoma / R. Zhang, M. Shen, C. Wu, Y. Chen, J. Lu, J. Li, L. Zhao, H. Meng, X. Zhou, G. Huang, X. Zhao, J. Liu // *Cell Death & Disease*. – 2020. – Vol. 11. – № 12. – P. 1036.
852. Zhang, R.-S. WZB117 enhanced the anti-tumor effect of apatinib against melanoma via blocking STAT3/PKM2 axis / R.-S. Zhang, Z.-K. Li, J. Liu, Y.-T. Deng, Y. Jiang // *Frontiers in Pharmacology*. – 2022. – Vol. 13.
853. Zhang, S. Anti-Cancer Potential of Sesquiterpene Lactones: Bioactivity and Molecular Mechanisms / S. Zhang, Y.-K. Won, C.-N. Ong, H.-M. Shen // *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*. – 2005. – Vol. 5. – № 3. – P. 239-249.
854. Zhang, X.-Y. Hexokinase 2 confers resistance to cisplatin in ovarian cancer cells by enhancing cisplatin-induced autophagy / M. Zhang, Q. Cong, M.-X. Zhang, M.-Y. Zhang, Y.-Y. Lu, C.-J. Xu // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. – 2018. – Vol. 95. – P. 9-16.
855. Zhang, Y. MAPK signalling-induced phosphorylation and subcellular translocation of PDHE1 α promotes tumour immune evasion / Y. Zhang, M. Zhao, H. Gao, G. Yu, Y. Zhao, F. Yao, W. Yang // *Nature Metabolism*. – 2022. – Vol. 4. – № 3. – P. 374-388.
856. Zhang, Y. Overview of Histone Modification / Y. Zhang, Z. Sun, J. Jia, T. Du, N. Zhang, Y. Tang, Y. Fang, D. Fang. – 2021. – P. 1-16.
857. Zhang, Y. Two Catalytic Domains Are Required for Protein Deacetylation / Y. Zhang, B. Gilquin, S. Khochbin, P. Matthias // *Journal of Biological Chemistry*. – 2006. – Vol. 281. – № 5. – P. 2401-2404.
858. Zhang, C. Characterization of ATP Alternations in an Alzheimer's Disease Transgenic Mouse Model / C. Zhang, R. A. Rissman, J. Feng // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2015. – Vol. 44. – № 2. – P. 375-378.
859. Zhang, H. β Amyloid Hypothesis in Alzheimer's Disease: Pathogenesis, Prevention, and Management / H. Zhang, Y. Zheng // *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. – 2019. – Vol. 41. – № 5. – P. 702-708.
860. Zhang, L. The Role of HDAC6 in Alzheimer's Disease / L. Zhang, S. Sheng, C. Qin // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2012. – Vol. 33. – № 2. – P. 283-295.
861. Zhao, C. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors in cancer: a patent review (2017-present) / C. Zhao, H. Dong, Q. Xu, Y. Zhang // *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. – 2020. – Vol. 30. – № 4. – P. 263-274.
862. Zhao, F. Inhibition of Glut1 by WZB117 sensitizes radioresistant breast cancer cells to irradiation / F. Zhao, J. Ming, Y. Zhou, L. Fan // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. – 2016. – Vol. 77. – № 5. – P. 963-972.
863. Zhao, R. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review) / R. Zhao, S. Jiang, L. Zhang, Z. Yu // *International Journal of Molecular Medicine*. – 2019.
864. Zhao, X. Artemisinin Improved Neuronal Functions in Alzheimer's Disease Animal Model 3xtg Mice and Neuronal Cells via Stimulating the ERK/CREB

- Signaling Pathway / X. Zhao, S. Li, U. Gaur, W. Zheng // *Aging and disease*. – 2020. – Vol. 11. – № 4. – P. 801.
865. Zhao, X. Baicalein alleviates depression-like behavior in rotenone- induced Parkinson's disease model in mice through activating the BDNF/TrkB/CREB pathway / X. Zhao, D. Kong, Q. Zhou, G. Wei, J. Song, Y. Liang, G. Du // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2021. – Vol. 140. – P. 111556.
866. Zhao, X. Prognostic value of octamer binding transcription factor 4 for patients with solid tumors / X. Zhao, H. Lu, Y. Sun, L. Liu, H. Wang // *Medicine*. – 2020. – Vol. 99. – № 42. – P. e22804.
867. Zhao, Y. ROS signaling under metabolic stress: cross-talk between AMPK and AKT pathway / Y. Zhao, X. Hu, Y. Liu, S. Dong, Z. Wen, W. He, S. Zhang, Q. Huang, M. Shi // *Molecular Cancer*. – 2017. – Vol. 16. – № 1. – P. 79.
868. Zheng, Y. Insulin-like growth factor 1-induced enolase 2 deacetylation by HDAC3 promotes metastasis of pancreatic cancer / Y. Zheng, C. Wu, J. Yang, Y. Zhao, H. Jia, M. Xue, D. Xu, F. Yang, D. Fu, C. Wang, B. Hu, Z. Zhang, T. Li, S. Yan, X. Wang, P. J. Nelson, C. Bruns, L. Qin, Q. Dong // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. – 2020. – Vol. 5. – № 1. – P. 53.
869. Zhong, S. HDAC3 Expression Correlates with the Prognosis and Grade of Patients with Glioma: A Diversification Analysis Based on Transcriptome and Clinical Evidence / S. Zhong, Y. Fan, B. Wu, Y. Wang, S. Jiang, J. Ge, C. Hua, G. Zhao, Y. Chen, H. Xu // *World Neurosurgery*. – 2018. – Vol. 119. – P. e145-e158.
870. Zhou, S. Inhibition of PKM2 Enhances Sensitivity of Olaparib to Ovarian Cancer Cells and Induces DNA Damage / S. Zhou, D. Li, D. Xiao, T. Wu, X. Hu, Y. Zhang, J. Deng, J. Long, S. Xu, J. Wu, G. Li, M. Peng, X. Yang // *International Journal of Biological Sciences*. – 2022. – Vol. 18. – № 4. – P. 1555-1568.
871. Zhou, W. Decreasing oxidative stress and neuroinflammation with a multifunctional peptide rescues memory deficits in mice with Alzheimer disease / W. Zhou, S. Lu, Y. Su, D. Xue, X. Yu, S. Wang, H. Zhang, P. Xu, X. Xie, R. Liu // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2014. – Vol. 74. – P. 50-63.
872. Zhou, Y. Wnt signaling pathway in cancer immunotherapy / Y. Zhou, J. Xu, H. Luo, X. Meng, M. Chen, D. Zhu // *Cancer Letters*. – 2022. – Vol. 525. – P. 84-96.
873. Zhu, D. PSMC2/CCND1 axis promotes development of ovarian cancer through regulating cell growth, apoptosis and migration / D. Zhu, J. Huang, N. Liu, W. Li, L. Yan // *Cell Death & Disease*. – 2021. – Vol. 12. – № 8. – P. 730.
874. Zhu, S. Pyruvate kinase M2 (PKM2) in cancer and cancer therapeutics / S. Zhu, Y. Guo, X. Zhang, H. Liu, M. Yin, X. Chen, C. Peng // *Cancer Letters*. – 2021. – Vol. 503. – P. 240-248.
875. Zhu, X. HDAC 3 negatively regulates spatial memory in a mouse model of Alzheimer's disease / X. Zhu, S. Wang, L. Yu, J. Jin, X. Ye, Y. Liu, Y. Xu // *Aging Cell*. – 2017. – Vol. 16. – № 5. – P. 1073-1082.
876. Zhu, Y. Paclitaxel-loaded ginsenoside Rg3 liposomes for drug-resistant cancer therapy by dual targeting of the tumor microenvironment and cancer cells

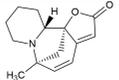
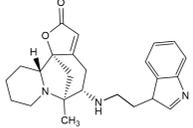
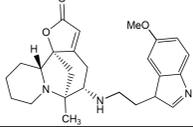
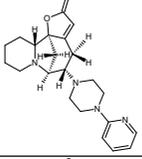
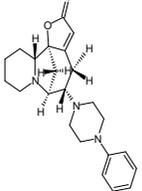
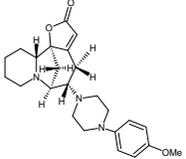
- / A. Wang, S. Zhang, J. Kim, J. Xia, F. Zhang, D. Wang, Q. Wang, J. Wang // Journal of Advanced Research. – 2023. – Vol. 49. – P. 159-173.
877. Zhu, Y. The potential role of c-MYC and polyamine metabolism in multiple drug resistance in bladder cancer investigated by metabonomics / Y. Zhu, C. Piao, Z. Zhang, Y. Jiang, C. Kong // Genomics. – 2022. – Vol. 114. – № 1. – P. 125-137.
878. Zhu, L. Progress in research on paclitaxel and tumor immunotherapy / L. Zhu, L. Chen // Cellular & Molecular Biology Letters. – 2019. – Vol. 24. – № 1. – P. 40.
879. Zhumakayeva, A. Long-term results of combination therapy for locally advanced breast cancer / A. Zhumakayeva, K. Rakhimov, V. Sirota, L. Arystan, A. Madiyarov, S. Adekenov // Georgian medical news. – 2018. – № 282. – P. 30-35.
880. Zou, H. Characterization of the two catalytic domains in histone deacetylase 6 / H. Zou, Y. Wu, M. Navre, B.-C. Sang // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2006. – Vol. 341. – № 1. – P. 45-50.
881. 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.
882. 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. Клочков, М. Е. Неганова, Ю. Р. Александрова, У. Ю. Аллаярова, Д. В. Мищенко // Биоорганическая химия. - 2021. - Т. 47. - № 3. - С. 391-399.
883. 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. Клочков // Biomedical Chemistry: Research and Methods. - 2018. - Т. 1. - № 3. - С. e00051.
884. Клочков, С. Г. Биологическая активность алантолактонов в экспериментах на клетках / С. Г. Клочков, С. А. Пухов, М. Е. Неганова, Е. С. Дубровская, Л. В. Аникина, С. В. Афанасьева, А. В. Семаков // Biomedical Chemistry: Research and Methods. - 2018a. - Т. 1. - № 3. - С. e00047.
885. Клочков, С. Г. Перспективные молекулярные мишени сигнальных каскадов gas-белков для создания противоопухолевых препаратов / С. Г. Клочков, М. Е. Неганова, Ю. Р. Александрова // Биоорганическая химия. - 2020. - Т. 46. - № 6. - С. 580-592.
886. 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

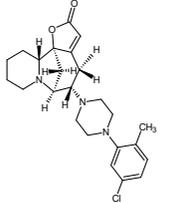
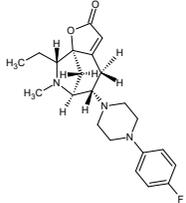
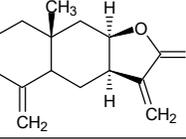
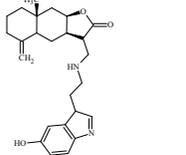
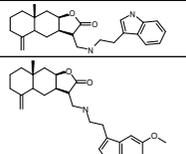
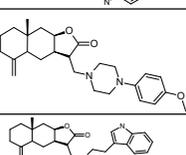
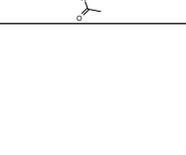
- работ, под ред. член-корр. Российской академии наук С.О. Бачурина. М.: Издательство «Типография 24». - 2018б. - С. 51-82.
887. Клочков, С. Г. Синтез и антиоксидантная активность производных секуринина / С. Г. Клочков, М. Е. Неганова, С. В. Афанасьева, Е. Ф. Шевцова // Химико-фармацевтический журнал. - 2014. - Т. 48. - № 1. - С. 18-21.
888. Клочков, С. Г. Синтез и биологическая активность конъюгатов изоалантолактона с триптамиминами / С. Г. Клочков, С. В. Афанасьева, Ю. Н. Булычев, М. Е. Неганова, Е. Ф. Шевцова // Известия Академии наук. Серия химическая. - 2012. - № 2. - С. 407-412.
889. Неганова, М. Е. Механизмы цитотоксического действия ряда циклических гидроксамовых кислот / М. Е. Неганова, Ю. Р. Александрова, С. А. Пухов, С. Г. Клочков, В. Н. Осипов // Биомедицинская химия. - 2020а. - Т. 66. - № 4. - С. 332-338.
890. Неганова, М. Е. Перспективные молекулярные мишени для фармакологической коррекции нейродегенеративных патологий / М. Е. Неганова, Ю. Р. Александрова, В. О. Небогатиков, С. Г. Клочков, А. А. Устюгов // Acta Naturae. - 2020б. - Т. 12. - № 3 (46). - С. 60-80.
891. 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.
892. Неганова, М. Е. Гибридные молекулы на основе природного алкалоида секуринина 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.: Издательство «Типография 24». - 2018. - С. 29-35.
893. 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. Клочков, Н. Е. Чепурнова, Е. Ф. Шевцова // Нейрохимия. - 2011а. - Т. 28. - № 3. - С. 236-243.
894. Неганова, М. Е. Механизмы антиоксидантного действия производных природных сесквитерпеновых лактонов и алкалоидов / М. Е. Неганова, С. В. Афанасьева, С. Г. Клочков, Е. Ф. Шевцова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2011б. - Т. 152.
895. Неганова, М. Е. Нейропротекторные свойства алломаргаритарина – нового триптаминового производного природного алкалоида секуринина / М. Е. Неганова, Т. П. Серкова, С. Г. Клочков, С. В. Афанасьева, Е. Ф. Шевцова, С. О. Бачурин // Естественные и технические науки. - 2011в. - № 5. - С. 86-90.
896. 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.

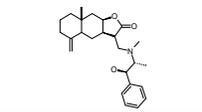
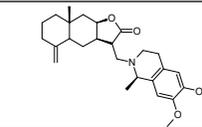
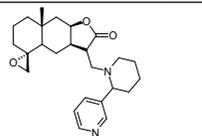
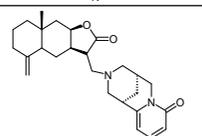
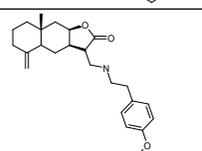
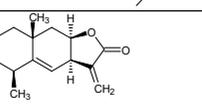
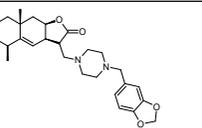
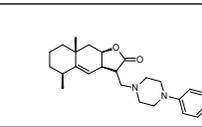
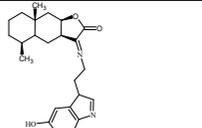
897. Пухов, С. А. Ингибирование роста клеток аденокарциномы молочной железы эпоксиалантолактоном и его производными / С. А. Пухов, М. Е. Неганова, Л. В. Аникина, Е. Ф. Шевцова, С. В. Афанасьева, С. Г. Клочков // *Фундаментальные исследования*. - 2014. – Т. 9. - № 9. - С. 1988-1992.
898. Шевцова, Е. Ф. 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.

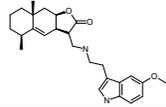
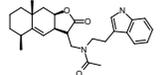
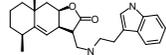
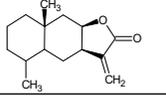
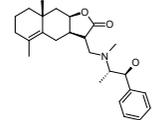
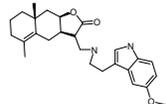
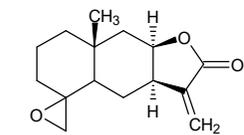
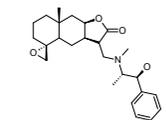
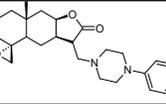
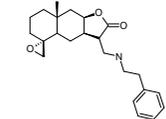
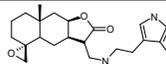
Приложение А

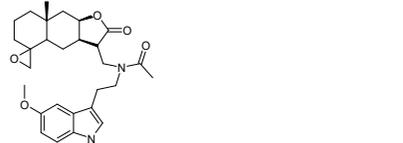
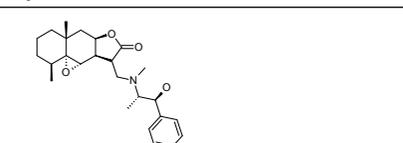
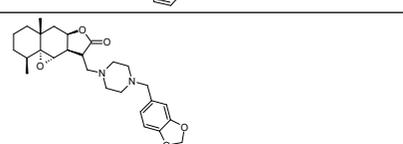
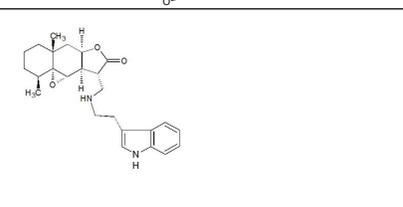
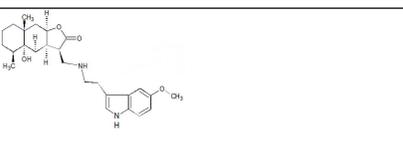
Таблица 1 — Результаты раннего скринингового этапа для производных природных соединений,

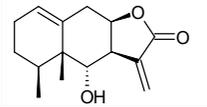
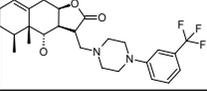
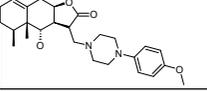
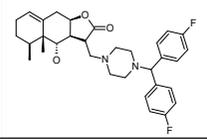
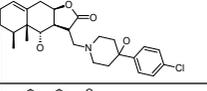
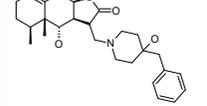
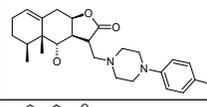
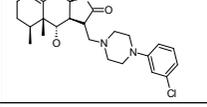
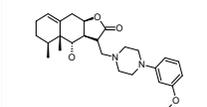
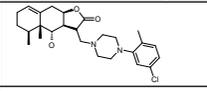
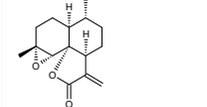
В-во	Формула	ПОЛ (Fe ²⁺)	ПОЛ (т-БГП)	АА	ХА	φ _м	Свеллинг
С (Клочков и др., 2014; Neganova et al., 2016; Neganova et al., 2017; Неганова и др., 2018)							
С 1		-	-	-	-	-	-
С 2		86,60±4,50	19,20±4,80	12,03±0,53	49,31±3,70	-	35,46±4,36
С 3		88,30±0,91	13,25±5,86	-	53,01±1,83	-	64,56±1,46
С 4		69,13±5,74	-	53,61±0,39	8,21±0,93	-	-
С 5		-	-	-	-	-	-
С 6		-*	-*	-	-	-	-

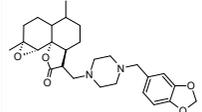
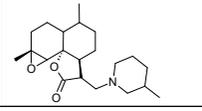
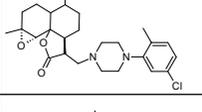
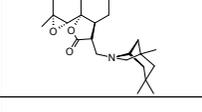
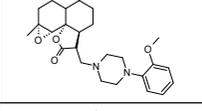
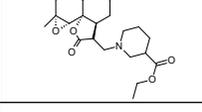
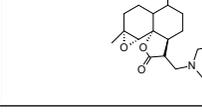
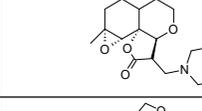
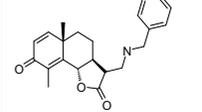
С 7		91,42 ± 0,41	19,48±3,36	-	14,72 ± 0,50	-	-
С 8		84,94 ± 0,92	11,26±3,87	-	16,44 ± 1,12	-	-
Ла (Дубровская и др., 2018; Клочков и др., 2012; Клочков и др., 2014; Klochkov et al., 2020; Klochkov et al., 2019b; Клочков и др., 2018a; Neganova et al., 2022a; Neganova et al., 2021c; Неганова и др., 2011a; Neganova et al., 2020a; Pukhov et al., 2019; Пухов и др., 2014; Pukhov et al., 2021; Клочков и др., 2018б)							
Ла 1		-*	-	-	-	-	127,27±22,14
Ла 2		82,34±1,31	35,02±8,21	80,38±0,69	27,16±0,92	-	40,82±3,75
Ла 3		81,56±2,36	40,28±2,05	-	14,78±3,05	49,41± 1,43	22,26±10,10
Ла 4		65,4±5,4	-	-	81,5±2,6	-	-
Ла 5		31,25±4,36	19,56±6,1	16,19±1,36	-	17,05± 2,13	119,09±10,42
Ла 6		-	41,47±0,53	-	-	15,15± 2,49	53,01±21,94

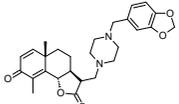
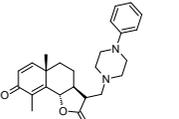
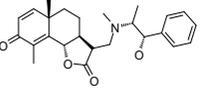
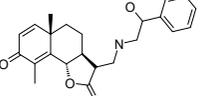
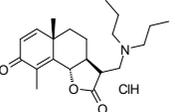
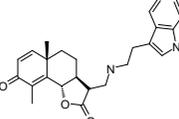
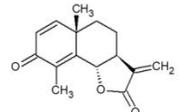
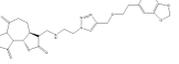
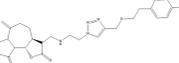
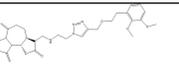
Ла 7		-	-	-	-	-	-
Ла 8		79,7±1,11	37,07±3,09	-	-	11,21±1,79	162,21±12,31
Ла 9		47,5±1,75	10±0,48	-	59,9±1,9	-	-
Ла 10		-	-	-	-	-	-
Ла 11		17,07±5	-	-	38,4±3,1	-	-
Ла 12		-	-	-	-	-	-
Ла 13		57,93±2,58	-	-	20,24±5,16	-	143,42±6,41
Ла 14		35,91±1,43	19,26±7,09	-	-	16,32± 1,08	-
Ла 15							

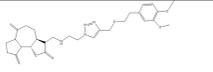
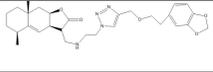
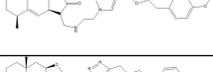
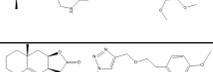
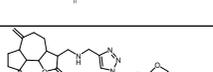
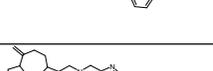
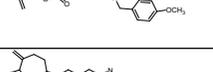
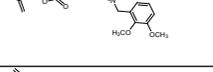
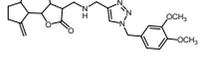
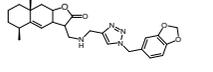
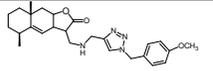
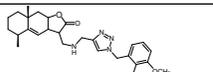
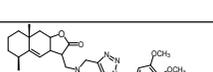
Ла 16		88,12±0,18	44,12±1,95	-	-	-	15,94±4,15
Ла 17		34,02±1,97	40,56±5,63	-	29,41±1,60	-	53,65±7,43
Ла 18		64,10±0,46	43,04±2,14	-	-	47,81±2,61	17,97±7,59
Ла 19		-	-	-	-	-	-
Ла 20		-	-	-	-	-	-
Ла 21		88,14±1,49	50,75±4,54	16,59±1,96	-	-	26,04±6,96
Ла 22		-	-	-	-	-	-
Ла 23		-	-	-	-	29,57±0,68	71,66±1,84
Ла 24		29,15±5,96	20,92±2,98	-	-	18,13± 2,00	-
Ла 25		11,17±2,01	-	-	35,6±2,8	37,54±1,97	39,09±2,76
Ла 26		57,37±0,79	35,64±3,84	-	23,55±2,13	-	41,63±3,06

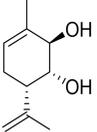
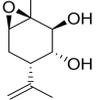
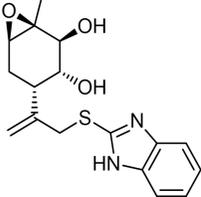
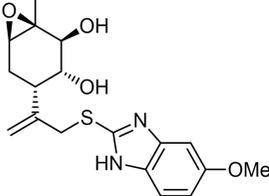
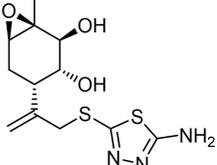
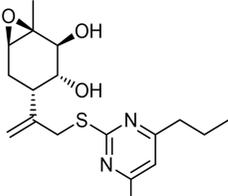
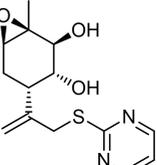
Ла 27		51,35±3,73	43,29±3,78	14,44±1,42	59,61±4,07	-	24,18±7,81
Ла 28		24,32±3,90	17,55±5,79	-	-	-	45,83±7,76
Ла 29		-	34,11±3,33	-	-	-	-
Ла 30		15,33±1,33	21,63±0,73	-	32,55±0,35	-	86,54±3,46
Ла 31		-	-	-	-	-	-
Ла 32		-	-	-	-	41,52±12,11	64,50±8,59
Ла 33		21,63±1,48	27,37±3,98	-	-	-	79,39±11,11
Ла 34		65,84±2,47	27,73±3,85	-	37,38±0,65	17,73 ± 1,49	37,50±7,7
Ла 35		36,79±4,49	36,45±1,02	-	57,05±1,44	-	89,07±9,72

Ла 36		-	-	-	-	-	90,76±9,33
Ла 37		20,6±4,52	19,65±1,3	29,13±1,08	-	15,58±9,90	137,37±4,24
Ла 38		75,53±0,43	32,3±2,8	-	-	18,61± 8,36	112,16±11,25
Ла 39		50,06±1,89	-	-	-	-	111,67±27,71
Ла 40		28,09±0,43	-	-	29,98±1,64	-	101,96±1,07
Ла 41		18,35±4,76	-	-	52,53±3,41	-	85,24±6,60
Ла 42		33,83±3,75	-	-	-	-	151,62±13,21
Ла 43		36,08±2,59	15,92±1,81	25,92±0,73	11,30±3,14	17,77±1,46	132,79±4,74
Ла 44		45,07±6,36	-	11,68±5,23	-	-	141,80±0,19
Ла 45		52,93±0,86	25,12±2,83	-	-	-	93,76±4,15
Ла 46		-	-	-	-	-	19,90±7,50

Ла 47		-	-	-	18,17±1,23	-	51,43±11,18
Ла 48		-	-	-	23,01±3,63	-	94,28±18,03
Ла 49		-	-	-	-	-	42,54±16,05
Ла 50		-	-	-	-	-	32,24±9,57
Ла 51		-	-	-	-	-	47,27±2,21
Ла 52		17,77±3,62	-	-	29,52±2,10	23,58±3,76	138,88±6,70
Ла 53		-	-	-	-	-	67,67±6,25
Ла 54		-	-	-	-	-	62,02±22,08
Ла 55		-	-	-	-	-	62,54±8,29

Ла 56		37,24±1,99	19,7±5,09	15,10±1,08	-	-	64,31±3,02
Ла 57		-	-	-	-	21,63±5,04	66,34±7,99
Ла 58		-	-	-	-	-	-
Ла 59		-	-	-	-	-	62,54±8,29
Ла 60		-	-	-	-	-	73,32±5,98
Ла 61		44,42±5,61	28,7±9,49	-	-	-	53,31±9,59
Ла 62		-	-	-	-	-	-
Лп (Артюшин и др., 2022; Neganova et al., 2022b)							
Лп 1		32,44±7,25	-	-	-	48,33±3,37	-
Лп 2		42,53±3,47	12,02±4,26	24,83±2,57	-	43,93±5,36	-
Лп 3		32,84±2,64	12,03±1,41	10,81±2,21	-	74,63±3,84	-

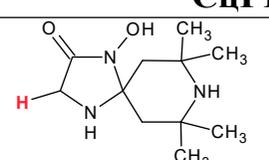
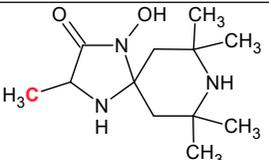
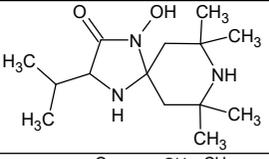
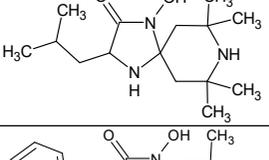
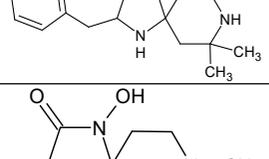
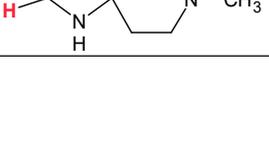
Лп 4		36,83±3,36	13,93±4,73	16,81±2,94	-	28,03±0,99	-
Лп 5		12,92±2,24	-	-	-	80,75±4,62	-
Лп 6		14,81±5,43	-	-	-	69,84±2,65	-
Лп 7		17,83±2,74	8,03±1,14	9,03±1,41	-	90,74±4,72	-
Лп 8		19,13±2,26	11,02±2,54	13,11±2,71	-	84,74±4,42	-
Лп 9		60,14±3,47	20,83±1,93	20,03±4,27	10,84±2,49	68,94±5,26	-
Лп 10		40,85±3,56	11,84±4,11	14,54±3,29	-	61,03±5,37	-
Лп 11		56,02 ± 1,46	23,84±3,56	32,55±5,22	8,84 ± 0,55	92,33±2,36	-
Лп 12		32,95±0,33	13,28±5,86	-	-	78,83±1,46	-
Лп 13		13,73±2,26	-	-	-	50,75±3,74	-
Лп 14		32,84±5,57	13,83±3,47	5,95±1,46	-	39,63±2,48	-
Лп 15		25,73 ± 0,94	9,94±3,87	-	-	81,83±4,85	-
Лп 16		13,91±1,46	-	-	-	51,64±5,37	-
Д (Aleksandrova et al., 2023b)							

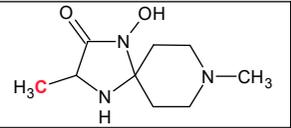
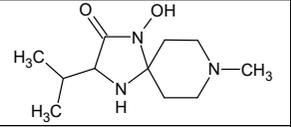
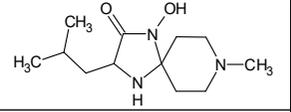
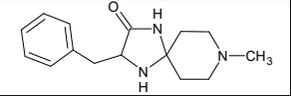
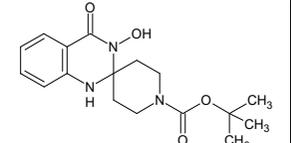
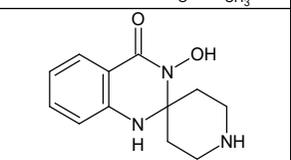
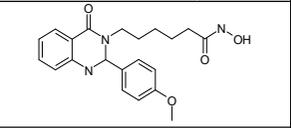
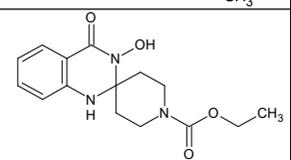
Д 1		22,36±3,25	-	-	-	-	87,28±6,24
Д 2		25,05±4,86	17,84±2,03	-	-	-	67,57±3,68
Д 3		49,32±3,17	-	-	-	-	73,37±6,36
Д 4		48,32±2,03	-	-	-	11,25±1,24	83,84±1,34
Д 5		58,31±4,15	-	-	-	-	74,15±8,46
Д 6		51,72±1,35	-	-	-	-	78,74±7,24
Д 7		43,35±3,93	-	-	-	16,26±4,13	79,02±6,63

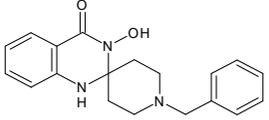
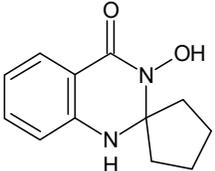
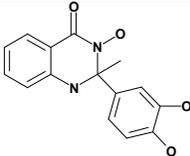
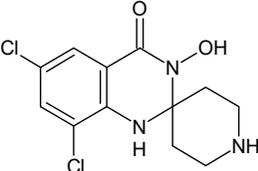
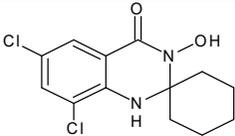
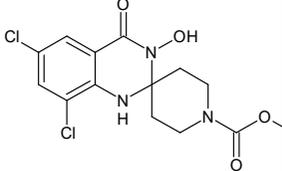
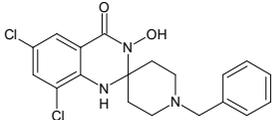
Сокращения: В-во - исследуемое вещество, ПОЛ (Fe^{2+}) и ПОЛ (т-БГП) - ингибирование перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, инициированного ионами двухвалентного железа и трет-бутилгидроксипероксидом, соответственно, Символ «-*» свидетельствует о прооксидантной активности, АА - антирадикальная активность, ХА - Fe^{2+} -хелатирующая активность, φ_m - деполяризация митохондриальной мембраны, Свеллинг - максимальная скорость «набухания» митохондрий, Все данные представлены в виде процента активности относительно контроля при концентрации вещества 100 мкМ, Символ «-» свидетельствует об отсутствии активности.

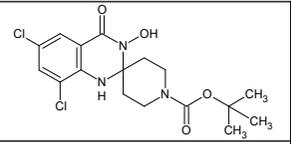
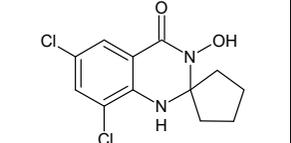
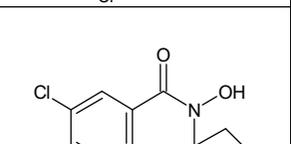
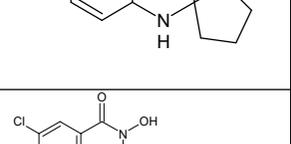
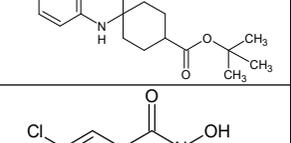
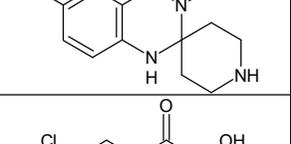
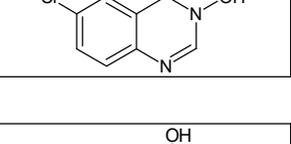
Приложение Б

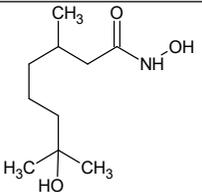
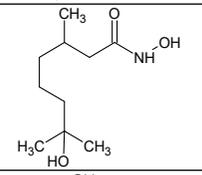
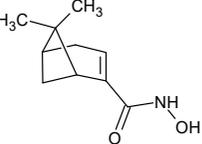
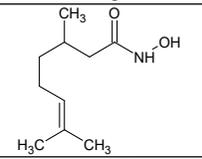
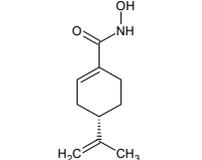
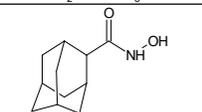
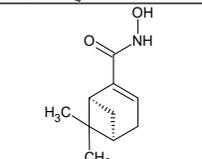
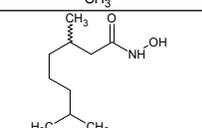
Таблица 1 — Результаты раннего скринингового этапа для гидроксамовых кислот.

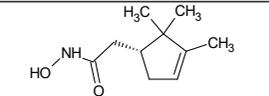
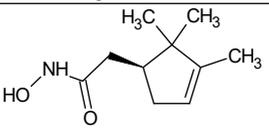
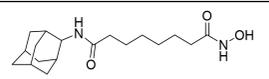
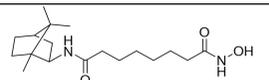
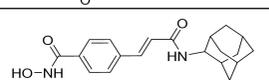
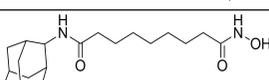
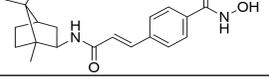
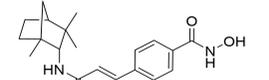
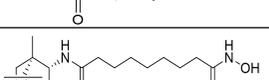
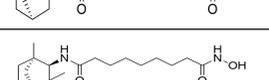
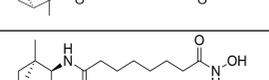
В-во	Формула	ПОЛ (Fe ²⁺)	ПОЛ (т-БГП)	АА	ХА	φ _m	Свеллинг	HDAC1#/6*
СцГК (Mishchenko et al., 2018; Неганова и др., 2016; Выстороп и др., 2021)								
СцГК 1		-	-	-	$74,39 \pm 8,99$	-	-	-
СцГК 2		-	-	-	$88,74 \pm 1,32$	-	$51,32 \pm 6,20$	-
СцГК 3		-	-	-	$73,84 \pm 3,56$	-	-	HDAC1 $28,06 \pm 1,89$
СцГК 4		$20,37 \pm 1,11$	-	-	$91,92 \pm 2,40$	-	$46,98 \pm 3,06$	HDAC1 $31,24 \pm 2,50$
СцГК 5		$33,75 \pm 4,52$	-	-	$90,01 \pm 4,31$	-	-	HDAC1 $29,57 \pm 0,93$
СцГК 6		-	-	-	$36,28 \pm 1,91$	-	-	-

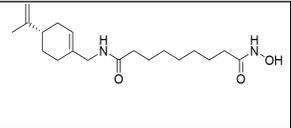
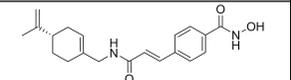
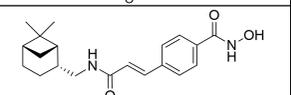
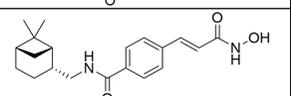
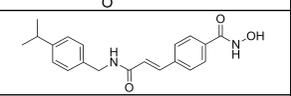
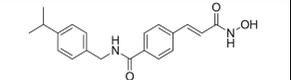
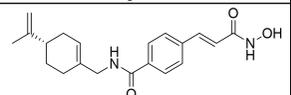
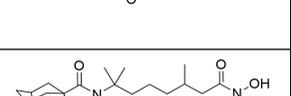
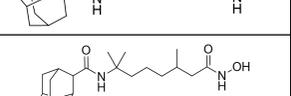
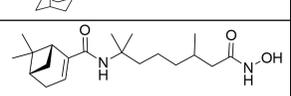
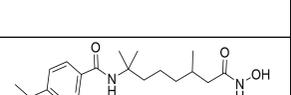
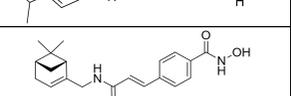
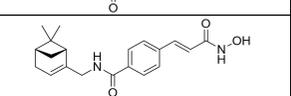
СцГК 7		-	-	-	48,36 ± 1,12	-	-	-
СцГК 8		-	-	-	54,78 ± 3,19	-	42,56 ± 5,92	-
СцГК 10		-	-	-	47,94 ± 3,57	-	-	-
СцГК 11		-	-	-	38,42 ± 7,18	-	17,03 ± 2,38	-
хцГК (Неганова и др., 2020а; Neganova et al., 2021d)								
хцГК 1		63,58 ± 3,76	33,33 ± 2,96	15,58 ± 1,44	13,68 ± 0,10	-	-	HDAC1 18,74 ± 1,71
хцГК 2		-	39,32 ± 3,08	30,43 ± 3,56	25,86 ± 2,36	-	-	HDAC1 33,16 ± 1,51
хцГК 3		-	55,09 ± 0,46	35,66 ± 3,89	-	-	-	HDAC1 66,22 ± 4,59
хцГК 4		64,81 ± 5,24	31,48 ± 1,23	14,38 ± 1,75	10,81 ± 0,28	-	-	HDAC1 14,28 ± 0,21
хцГК 5		51,23 ± 4,45	22,22 ± 3,08	13,48 ± 1,86	10,96 ± 0,11	-	-	HDAC1 22,93 ± 1,29

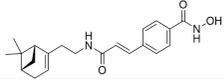
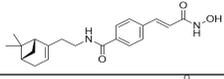
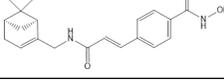
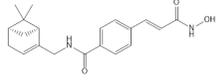
хцГК 6		43,83 ± 2,47	-	22,06 ± 1,56	48,84 ± 3,21	-	-	HDAC1 23,00 ± 2,36
хцГК 7		91,39 ± 0,51	24,79 ± 0,86	26,46 ± 2,08	16,49 ± 1,19	-	-	HDAC1 31,32 ± 1,70
хцГК 8		88,22 ± 0,64	23,01 ± 2,56	85,30 ± 2,07	11,42 ± 0,24	-	-	-
хцГК 9		89,20 ± 9,39	39,13 ± 4,35	24,99 ± 5,20	14,00 ± 1,60	79,46 ± 1,19	-	HDAC1 25,56 ± 3,08
хцГК 10		88,56 ± 0,85	52,90 ± 8,23	24,78 ± 1,26	-	-	-	HDAC1 13,83 ± 0,75
хцГК 11		81,60 ± 2,76	60,14 ± 2,51	21,90 ± 1,87	12,30 ± 3,48	88,33 ± 1,22	-	HDAC1 29,97 ± 0,73
хцГК 12		80,95 ± 2,16	56,02 ± 3,21	18,56 ± 0,42	-	80,99 ± 2,54	-	HDAC1 19,00 ± 0,86

хцГК 13		$38,39 \pm 4,16$	$44,93 \pm 2,51$	$20,49 \pm 0,18$	-	$114,39 \pm 4,27$	-	HDAC1 $21,83 \pm 0,31$
хцГК 14		$55,01 \pm 2,22$	$75,46 \pm 0,80$	$33,46 \pm 2,49$	$10,24 \pm 0,49$	-	-	HDAC1 $34,51 \pm 2,46$
хцГК 15		$67,02 \pm 0,43$	$45,65 \pm 3,77$	$34,98 \pm 0,09$	$14,95 \pm 1,86$	-	-	-
хцГК 16		$67,61 \pm 1,86$	$67,59 \pm 2,12$	$23,89 \pm 1,96$	-	-	-	-
хцГК 17		$46,87 \pm 3,13$	$26,09 \pm 2,64$	$18,56 \pm 0,42$	-	-	-	-
хцГК 18		-	-	-	-	-	-	-
ГКта (Aleksandrova et al., 2023a; Neganova et al., 2021a)								
ГКта 1		-	-	-	$13,35 \pm 6,09$	-	-	-

ГКта 2		-	-	-	11,56±6,07	-	-	-
ГКта 3		-	-	-	-	-	-	-
ГКта 4		20,79±0,33	-	-	15,81±6,62	-	-	-
ГКта 5		-	-	-	-	-	-	-
ГКта 6		-	-	11,06±1,58	21,56±9,17	-	-	HDAC6 87,38 ± 2,32*
ГКта 7		-	-	31,95±3,26	18,97±7,27	-	-	-
ГКта 8		-	-	23,94±3,13	25,00±4,49	-	-	-
ГКта 9		-	-	17,31±3,39	-	-	-	-

ГКта 10		-	-	15,65±2,60	13,33±8,25	-	-	-
ГКта 11		-	-	18,78±1,56	-	-	-	-
ГКта 12		43,24 ± 1,28	21,52 ± 2,15	19,70 ± 1,34	-	-	-	HDAC6 0,96 ± 0,01*
ГКта 13		35,96 ± 1,99	28,39 ± 7,41	22,22 ± 1,40	-	-	-	HDAC6 0,69 ± 0,02*
ГКта 14		44,59 ± 1,73	19,81 ± 4,83	43,34 ± 1,42	-	-	-	HDAC6 6,52 ± 0,40*
ГКта 15		16,27 ± 0,42	26,41 ± 2,58	-	-	-	-	HDAC6 0,74 ± 0,01*
ГКта 16		18,26 ± 4,90	32,91 ± 1,12	20,14 ± 1,28	-	-	-	HDAC6 18,03 ± 1,02*
ГКта 17		30,36 ± 1,98	44,02 ± 1,57	-	-	-	-	HDAC6 4,06 ± 0,48*
ГКта 18		20,63 ± 3,92	34,16 ± 1,37	20,32 ± 0,41	-	-	-	HDAC6 4,06 ± 0,39*
ГКта 19		22,62 ± 4,31	37,91 ± 1,08	-	-	-	-	HDAC6 4,48 ± 0,13*
ГКта 20		24,02 ± 3,44	28,90 ± 3,38	-	-	-	-	HDAC6 9,44 ± 0,74*
ГКта 21		-	19,71 ± 7,82	11,87 ± 2,16	-	-	-	HDAC6 0,64 ± 0,04*

ГКта 22		-	$33,89 \pm 1,76$	$14,63 \pm 2,67$	-	-	-	HDAC6 $0,71 \pm 0,03^*$
ГКта 23		$14,19 \pm 0,04$	$32,86 \pm 2,45$	$42,44 \pm 4,23$	-	-	-	HDAC6 $3,89 \pm 0,18^*$
ГКта 24		$24,93 \pm 0,02$	-	$33,89 \pm 0,78$	-	-	-	HDAC6 $6,87 \pm 0,42^*$
ГКта 25		$26,43 \pm 0,06$	-	$33,56 \pm 4,01$	-	-	-	HDAC6 $8,03 \pm 0,31^*$
ГКта 26		-	-	$23,78 \pm 3,56$	-	-	-	HDAC6 $8,18 \pm 0,38^*$
ГКта 27		$20,73 \pm 0,09$	-	$38,09 \pm 0,06$	-	-	-	HDAC6 $4,76 \pm 0,03^*$
ГКта 28		-	-	$31,85 \pm 1,08$	-	-	-	HDAC6 $7,74 \pm 0,11^*$
ГКта 29		-	-	$11,78 \pm 0,43$	-	-	-	HDAC6 $29,37 \pm 1,36^*$
ГКта 30		-	-	-	-	-	-	HDAC6 $32,28 \pm 2,03^*$
ГКта 31		$25,61 \pm 0,02$	-	-	-	-	-	HDAC6 $28,57 \pm 1,95^*$
ГКта 32		-	-	-	-	-	-	HDAC6 $26,86 \pm 1,43^*$
ГКпо 1		$24,07 \pm 0,04$	-	$17,38 \pm 0,03$	-	-	-	HDAC1 $6,90 \pm 0,03\#$
ГКпо 2		$23,71 \pm 0,06$	-	$16,84 \pm 1,01$	-	-	-	HDAC1 $4,45 \pm 0,30\#$

ГКпо 3		38,75 ± 0,07	-	29,79 ± 0,84	-	-	-	HDAC1 7,23 ± 0,46#
ГКпо 4		32,90 ± 0,05	-	27,57 ± 0,76	-	-	-	HDAC1 5,00 ± 0,12#
ГКпо 5		22,42 ± 1,24	-	10,93 ± 0,85	-	-	-	HDAC1 7,96 ± 0,28#
ГКпо 6		21,35 ± 1,03	-	15,75 ± 1,05	-	-	-	HDAC1 8,20 ± 0,49#

Сокращения: В-во - исследуемое вещество, ПОЛ (Fe²⁺) и ПОЛ (т-БГП) - ингибирование перекисного окисления липидов гомогената мозга крыс, иницированного ионами двухвалентного железа и трет-бутилгидроксипероксидом, соответственно, АА - антирадикальная активность, ХА - Fe²⁺-хелатирующая активность, φ_m - деполяризация митохондриальной мембраны, Свеллинг - максимальная скорость «набухания» митохондрий, HDAC1/6 – ингибирование гистоновых деацетилаз 1 или 6 изоформы: «#» - IC₅₀ для HDAC1, «*» - IC₅₀ для HDAC6. Все данные представлены в виде процента активности относительно контроля при концентрации вещества 100 мкМ, Символ «-» свидетельствует об отсутствии активности.

Приложение В

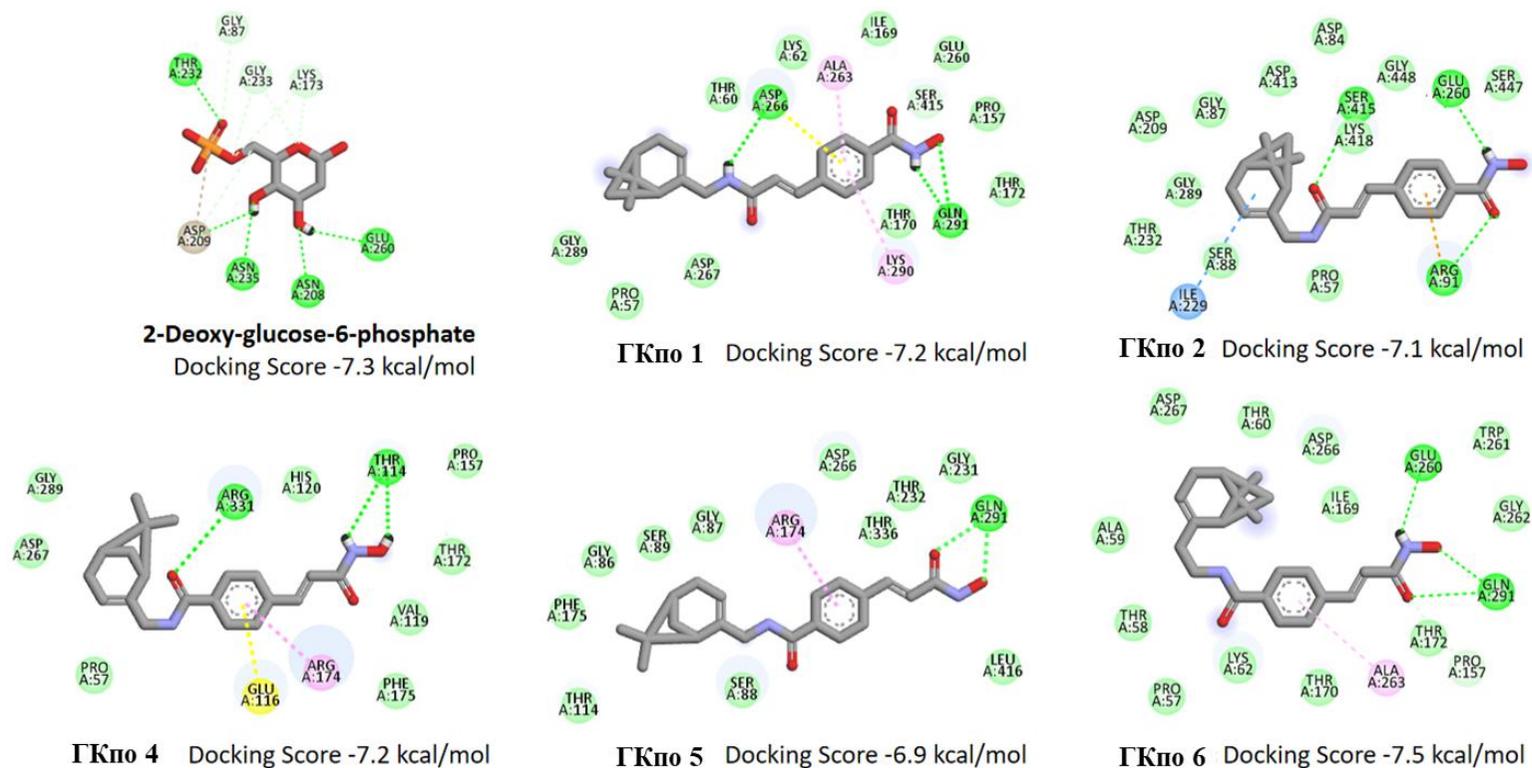
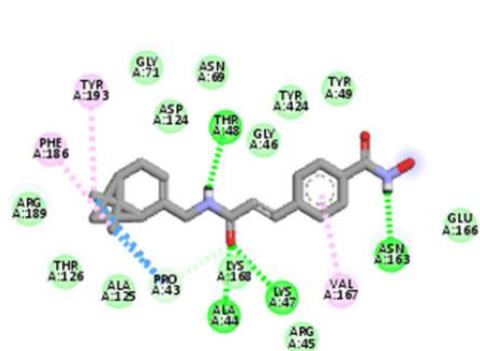
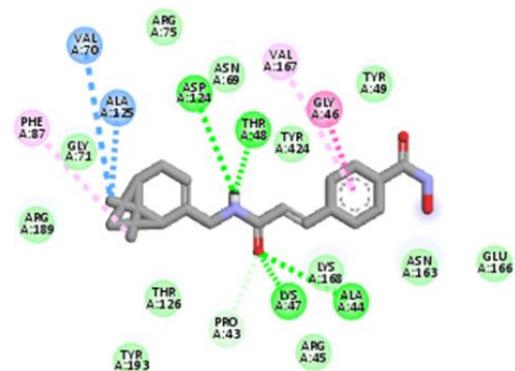


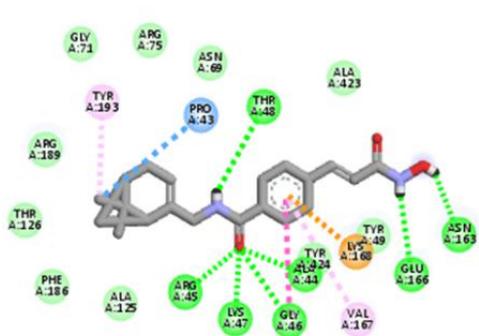
Рисунок 1 — Молекулярный докинг лигандов против гексокиназы 1 (идентификатор PDB: 4F9O). Атомы азота и кислорода окрашены в синий и красный цвета соответственно. Водородная связь (ярко-зеленые пунктирные линии), связь Ван-дер-Ваальса (светло-зеленые пунктирные линии), другие взаимодействия (Алкил показаны светло-голубыми пунктирными линиями; π -Алкил - светло-розовыми пунктирными линиями; π -Анион - пунктирные линии желтого цвета).



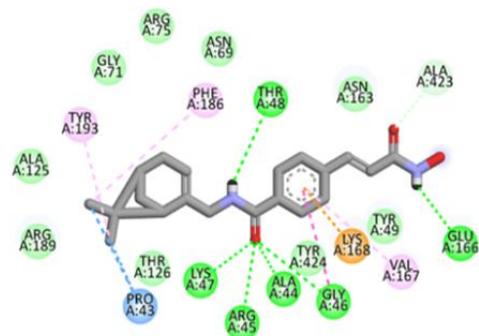
ГКно 1 Docking Score -9.1 kcal/mol



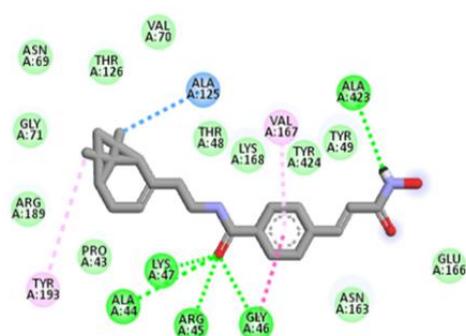
ГКно 2 Docking Score -9.0 kcal/mol



ГКно 4 Docking Score -9.7 kcal/mol

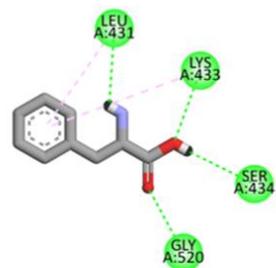


ГКно 5 Docking Score -9.7 kcal/mol

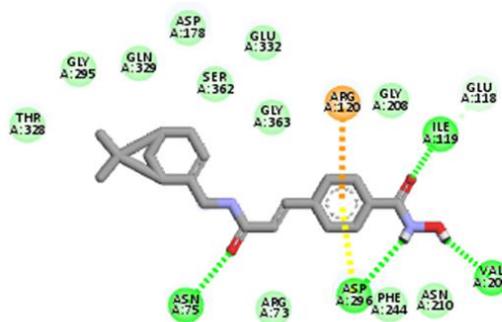


ГКно 6 Docking Score -9.8 kcal/mol

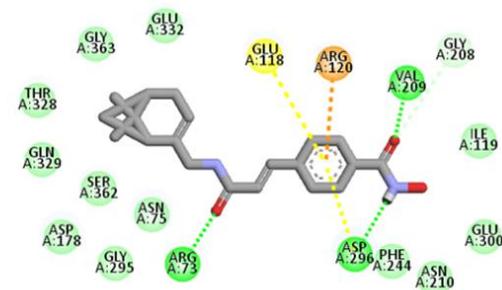
Рисунок 2 — Молекулярный докинг лигандов против 6-фосфофрукто-2-киназы (идентификатор PDB: 1K6M). Атомы азота и кислорода окрашены в синий и красный цвета соответственно. Водородная связь (ярко-зеленые пунктирные линии), связь Ван-дер-Ваальса (светло-зеленые пунктирные линии), другие взаимодействия (Алkil показан светло-голубыми пунктирными линиями; π -Алkil - светло-розовыми пунктирными линиями; π - π стеклинг - ярко-розового цвета пунктирами, π -катион - оранжевого цвета пунктирами).



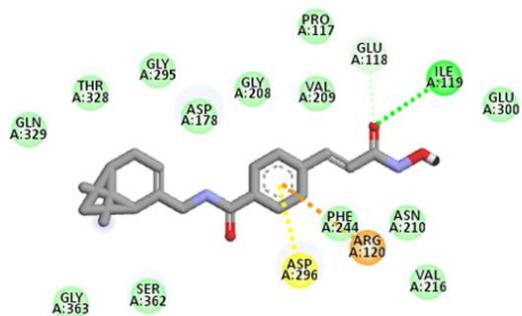
Phenylalanine
Docking Score -7.8 kcal/mol



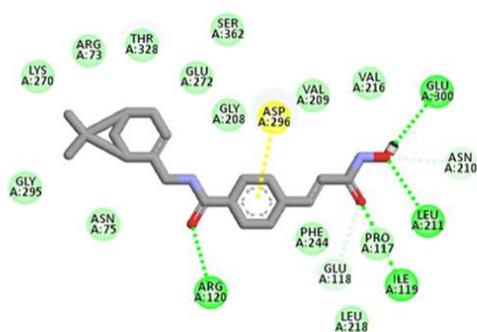
ГКпо 1 Docking Score -7.7 kcal/mol



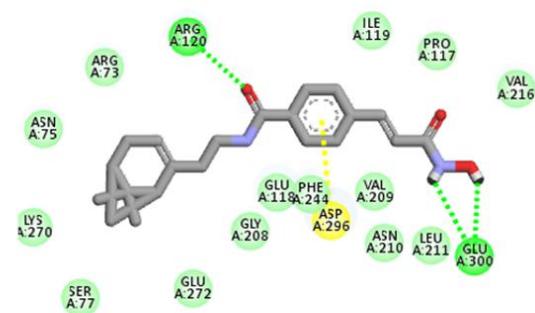
ГКпо 2 Docking Score -8.1 kcal/mol



ГКпо 4 Docking Score -8.6 kcal/mol



ГКпо 5 Docking Score -8.7 kcal/mol



ГКпо 6 Docking Score -8.0 kcal/mol

Рисунок 3 — Молекулярный докинг лигандов против пируваткиназы M2 (идентификатор PDB: 1T5A). Атомы азота и кислорода окрашены в синий и красный цвета соответственно. Водородная связь (обозначены ярко-зелеными пунктирными линиями), связь Ван-дер-Ваальса (обозначены светло-зелеными пунктирными линиями), другие взаимодействия (π -Алкил - светло-розовыми пунктирными линиями; π -Анион и π -катион - пунктирные линии желтого и оранжевого цвета) соответственно).