

ПРОИЗВОДНЫЕ ХИНАЗОЛИНОНА ДЛЯ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕВЫХ, ПАРАЗИТАРНЫХ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Д.С. Хачатрян¹, В.А. Мисюрин², М.А. Барышникова^{1,2}, Н.В. Голубцова², А.В. Колотаев^{1,2}, К.Р. Матевосян³

¹Институт химических реактивов и особо чистых химических веществ (ФГУП ИРЕА);

Россия, 107076 Москва, Богородский Вал, 3;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

³Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева; Россия, 125047 Москва, Миусская площадь, 9

Контакты: Дереник Саркисович Хачатрян derenik-s@yandex.ru

В обзоре охарактеризована биологическая активность ряда производных хиназолинона. В основном производные хиназолинона действуют таргетно, связываясь с некоторыми белками, важными для выживания, пролиферации и метастазирования опухолевой клетки. Имеются основания инициировать клинические испытания данных веществ для создания новых протоколов лечения широкого спектра онкологических, ряда паразитарных и некоторых нейродегенеративных заболеваний.

Ключевые слова: ингибирование сигнальных путей, блокирование репарации ДНК, производные хиназолинона

DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-3-32-42

QUINAZOLINON DERIVATIVES FOR THE TREATMENT OF NEOPLASTIC, PARASITIC AND NEURODEGENERATIVE DISEASES

D.S. Khachatryan¹, V.A. Misyurin², M.A. Baryshnikova^{1,2}, N.V. Golubtsova², A.V. Kolotaev^{1,2}, K.R. Matevosyan³

¹Institute of Chemical Reagents and High Purity Chemical Substances (IREA); 3 Bogorodskii Val, Moscow 107076, Russia;

²N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashyrskoe shosse, Moscow, 115478, Russia;

³Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, 9 Miusskaya ploshchad', Moscow, 125047, Russia

In this review we discuss some biological activities of quinazolinon derivatives. The derivatives of quinazolinon possess their activity by binding to some proteins important for the survival, proliferation and metastasis of tumor cells. There are grounds to initiate clinical trials of these substances to create new treatment protocols for a wide range of cancer diseases, several parasitic diseases, and certain neurodegenerative diseases.

Key words: inhibition of signaling pathways, blocking of DNA repair, quinazolinon derivatives

Введение

В настоящее время в практической медицине находят все больше подтверждений тому, что концепция «одна болезнь — одно лекарство» не всегда оправдывает себя. В человеческой популяции распространено множество генетических вариантов. Вследствие этого разнообразия лекарство, эффективность которого доказана на большой выборке больных, зачастую может не помочь отдельным индивидуумам. Отсюда возникает потребность в разработке множества отличных друг от друга препаратов, каждый из которых, тем не менее, подходит небольшой группе больных.

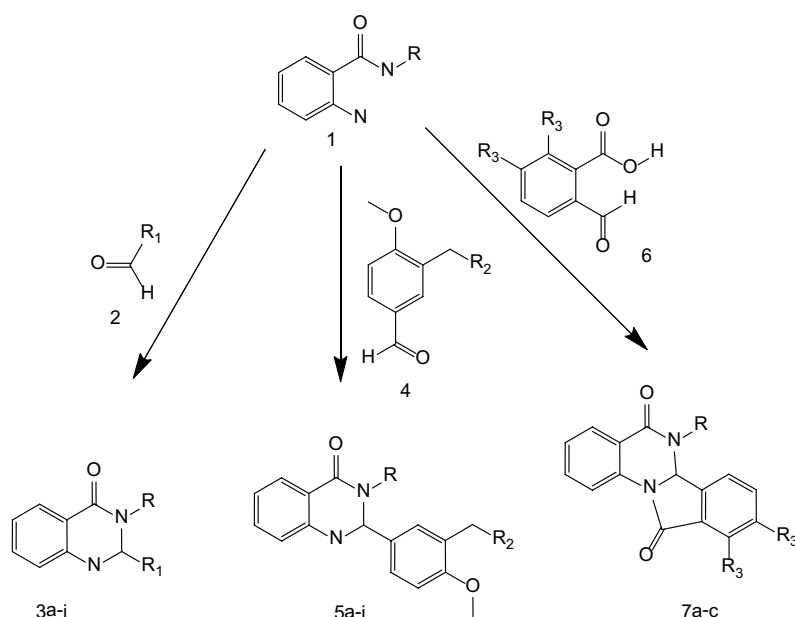
Одной из наиболее перспективных стратегий терапии онкологических, аутоиммунных и некоторых нейродегенеративных заболеваний является применение таргетных препаратов. Основа таргетной

терапии — наличие мишени в клеточном сигнальном пути, на которую можно воздействовать, применив вещество, обладающее высокой степенью сродства к этой мишени. Если данный сигнальный путь активен преимущественно в опухолевой клетке или в клетке, осуществляющей аутоиммунитет, прерывание этого пути может приводить к гибели клеточных популяций. Здоровые клетки останутся нетронутыми, и может наступить излечение.

Для расширения арсенала уже известных таргетных препаратов ежегодно в мире синтезируется и исследуется множество новых соединений. Среди них — хиназолинон и его производные. Известно, что производные хиназолинона обладают рядом значимых фармакологических эффектов. Исследователи рассматривают их как антибиотики [1], кардиостимуляторы [2], сосудорасширяющие соединения [3]

и анальгетики [4]. Кроме того, производные хиназолинона активно подавляют пролиферацию опухолевых клеток [5]. В ФГУП ИРЕА синтезировано 22 новых производных хиназолинона [6]. На рисунке представлены структурные формулы соединений, о которых будет идти речь в данном обзоре.

На интернет-ресурсе PubChem Project [7] приведены результаты исследований биологической активности производных хиназолинона. Активность представленных веществ была изучена методом HTS (High-throughput screening), или методом высокопроизводительного скрининга, который выполняется






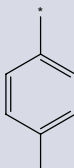
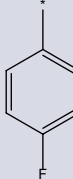
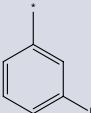
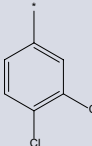
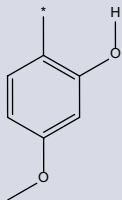
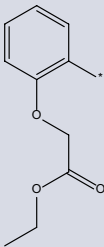
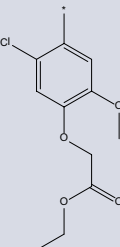
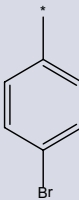
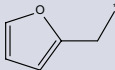
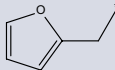
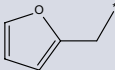

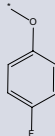
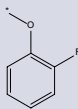
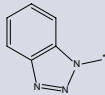
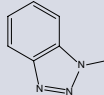

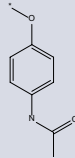
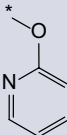
3	a	b	c	d	e	f	g	h
R				n-Pr	n-Pr	3-Cl-Ph	4-Cl-Ph	Et ₂ N-(CH ₂) ₂
R ¹								
5	a	b	c	d	e	f	g	h
R	4-Cl-Ph			Bn	4-Me-Ph	4-Me-Ph		4-Me-Ph
R ²								
7	a	b	c	d	e	f		
R	Ph	4-F-Ph	2-F-Ph	4-MeO-Ph	Bn	Ph		
R ³	MeO	MeO	MeO	MeO	H	H		

Схема синтеза и структурные формулы производных хиназолинона

на автоматизированной системе для тестирования различных эффектов. Современная автоматизированная система точно дозирует опытные вещества, осуществляет клеточные пассажи и проводит измерение скорости деления клеток, их морфологии, а также оценивает спектр секретируемых веществ. Метод HTS позволяет быстро обнаружить и подтвердить в независимых экспериментах основные эффекты, оказываемые тестируемым веществом на биохимические процессы в живых клетках [8]. Среди эффектов, встречающихся с наибольшей частотой, можно отметить такие, как изменение скорости роста клеток, а также увеличение доли погибших клеток в популяции. Метод позволяет выяснить, на какие сигнальные пути может быть оказано воздействие. Для этого используют клетки, рост которых зависит от 1 ключевого сигнального пути (например, NF- κ B). В случае прекращения пролиферации или массовой гибели таких клеток под действием тестируемого вещества можно сделать вывод о том, что именно NF- κ B-путь является мишенью для данного соединения. Для подтверждения эффекта вещество добавляется в культуральную среду с другими клетками, как зависимыми, так и не зависимыми от NF- κ B-пути.

Кроме того, с помощью SAR-анализа (Structure-activity relationship) было проведено прогнозирование биологической активности производных хиназолинона, результаты которого имеются в открытом доступе на интернет-ресурсе PubChem Project [7]. SAR-анализ предназначен для выявления взаимосвязи химических и пространственных структур молекулы с ее биологической активностью. Анализ SAR позволяет определять химические группы, ответственные за различные биологические эффекты в организме [9]. Метод предусматривает модификацию молекулы путем введения в нее новых химических групп и сравнения эффектов, оказываемых новым веществом, с эффектами, характерными для исходного.

Представленные методы позволяют обнаружить потенциально полезные свойства новых молекул и определить возможные негативные последствия их использования в сфере лечения онкологических заболеваний. Согласно данным, представленным в PubChem Project [7], производные хиназолинона способны значимо воздействовать на множество молекулярных мишеней внутри клеток. На основе производных хиназолинона можно создавать новые лекарственные препараты, обладающие противоопухолевыми, противопаразитарными и иными свойствами.

В данном обзоре объединены результаты исследований производных хиназолинона (см. рисунок), проведенных с помощью методов HTS и SAR, выложенные в открытом доступе на интернет-ресурсе PubChem Project [7].

Противоопухолевые и возможные негативные эффекты

Соединение, представленное на рисунке под кодовым названием 7a, обладает способностью ингибировать ELG1-зависимую репарацию ДНК в клетке, что было показано на клетках линии эмбриональной почки человека HEK293T. Кроме того, данное вещество блокирует действие TDP1 (tyrosyl-DNA phosphodiesterase), ингибирует NF- κ B-зависимый сигнальный путь, действие протеазы ATG4B, препятствует взаимодействию белков Mdm2 и MdmX, а также нарушает работу сигнальных молекул STAT1 и STAT3.

Как известно, белок ELG1 распознает поврежденные структуры ДНК во время S-фазы клеточного цикла [10]. TDP1 распознает и устраняет 1- и 2-цепочечные разрывы в ДНК [11], а присутствие соединения 7a внутри клетки может приводить к фрагментации генома. Ингибирование NF- κ B-зависимого сигнального пути в случае доставки этого вещества в опухолевую клетку может приводить к снижению ее сопротивляемости индуцируемому апоптозу [12]. При подавлении протеазы ATG4B снижается способность опухолевой клетки к пролиферации и может запуститься процесс аутофагии, что облегчает течение заболевания [13]. Белки Mdm2 и MdmX, образуя друг с другом комплекс, препятствуют работе антионкогенного белка p53. Нарушив взаимодействие между Mdm2 и MdmX, можно восстановить функции p53 и стимулировать апоптотическую гибель трансформированной клетки [14]. STAT1 и STAT3 вместе с другими молекулами передают пролиферативный сигнал от тирозинкиназы Jak2. Оборвав сигнальный путь Jak2-STAT, можно воспрепятствовать делению клеток, зависящих от мутантной киназы Jak2. Это может быть полезным при терапии Jak2-V617F-положительных пациентов с острыми лейкозами и миелопролиферативными заболеваниями [15]. Была выявлена способность 7a ингибировать рост клеток рака легкого, однако механизм воздействия на клетки не описан.

Следует обратить внимание на возможные побочные эффекты применения 7a как лекарственного агента, в частности кардио- и нейротоксичность. Так, он повреждает клетки линии кардиомиоцитов HL-1. Кроме того, данное производное блокирует работу белка SLC5A7, который представляет собой мембранный переносчик молекул холина для синтеза ацетилхолина в нейронах. Дисфункция холинергической сигнализации нейронов может быть причиной различных расстройств, таких как депрессия, дефицит внимания, шизофрения [16]. Он может выступать в роли антагониста человеческого мускаринового рецептора CHRM1, в результате чего могут наблюдаться такие же эффекты, как при блокировании SLC5A7 [17]. Наконец, соединение 7a взаимодействует с NPY-Y2,

рецептором нейропептида Y. Этому рецептору приписывается важное значение в процессах формирования памяти человека [18].

Соединение, представленное на рисунке под названием 7с, является ингибитором фактора HIF-1, ответственного за выживание клетки в условиях недостаточного снабжения кислородом, затрудняет работу TDP1, ингибирует транскрипционный фактор HIVEP3, внутриклеточные адаптерные белки NF-κB, STAT1 и STAT3 и ядерный рецептор LRH-1. Подобно соединению 7а, 7с нарушает взаимодействие белков Mdm2 и MdmX. Ингибируя TDP1, затрудняет возможности опухолевой клетки по репарации ДНК.

Фактор HIVEP3 управляет программой выживания клетки. В частности, HIVEP3 стимулирует активность NF-κB и его посредников [19]. Поскольку и HIVEP3, и NF-κB могут быть мишенью для соединения 7с, опухолевая клетка становится менее жизнеспособной. Эффекты, оказываемые им на Jak2-STAT-сигнальный путь, могут быть такими же, как и эффекты соединения 7а. О белке LRH-1 известно, что его ингибирование в линиях клеток колоректального рака замедляет их пролиферацию [20]. Таким образом, можно проверить эффективность терапевтического эффекта 7с при лечении колоректального рака. Кроме того, оно замедляет рост культуры клеток рака легкого H69AR и культуры клеток нейробластомы. Следует обратить внимание на его возможную нейротоксичность. Так, соединение 7с блокирует ацетилхолиновый рецептор M1, а также рецептор TAAR1, ответственный за нормальное функционирование клеток нервной системы [21].

Вещество 5g, структурная формула которого представлена на рисунке, также продемонстрировало различные биологические эффекты. Положительные эффекты при использовании данного вещества как лекарства могут быть достигнуты за счет того, что оно способствует гетеродимеризации опиоидных рецепторов OPRM1 и OPRD1, ингибирует действие TPD1, HSD17B4 и KDM4A и активирует ClpP. OPRM1 и OPRD1 — мембранные опиоидные рецепторы нервной системы, их функция заключается в регулировании болевых ощущений. При связывании опиоидных лигандов белки OPRM1 и OPRD1 гетеродимеризуются и проводят сигнал внутрь нервной клетки. В результате способность чувствовать боль снижается. Агонисты OPRM1 и OPRD1 разрабатываются как вспомогательные вещества при купировании болевого синдрома опиатами, позволяющие назначать существенно меньшие их дозы [22]. Не исключено, что вещество 5g можно будет применять подобным образом. Белок HSD17B4 участвует в окислении жирных кислот и в синтезе 3-кетоацил-CoA [23]. При условии активного метаболизма в опухолевых клетках соединение 5g вызовет их гибель. Белок KDM4A

деметирует гистоновые белки, за счет чего функционирует как активатор экспрессии генов, ответственных за дифференцировку клеток [24]. Он рассматривается как перспективная мишень для противоопухолевой таргетной терапии.

Ген *CLPP* кодирует белок, закрепленный в мембране митохондрии. Данный белок образует комплекс из 2 гептамерных колец с каналом, пронизывающим насквозь оба кольца [25]. Такая структура повышает проницаемость мембраны митохондрии и способствует выходу в цитоплазму цитохрома C. При гиперпродукции CLpP можно индуцировать начало апоптоза по митохондриальному пути, что существенно увеличит вероятность гибели клетки. Следует оценить отдельно чувствительность клеток различных типов к апоптозу, вызванному гиперэкспрессией CLpP. Соединение 5g активирует кальций-проницаемый канал TRPC4, работа которого усиливает процессы аутофагии, высвобождение нейротрансмиттеров и пролиферацию клеток [26]. Трудно предположить, будет ли полезной данная его способность при лечении онкологических заболеваний, возможны негативные эффекты при использовании соединения 5g. Так, данное вещество активирует работу TSHR, рецептора, стимулирующего рост клеток щитовидной железы [27]. При нарушении ферментативной активности липоксигеназы 15-hLO будет затруднен липидный обмен во всех клетках организма [28].

Вещество, представленное на рисунке как 3g, обладает широким спектром свойств, значимых при планировании новых протоколов для противоопухолевой терапии. Оно блокирует функции miR-21 и активирует экспрессию генов *BRCA1*, *CLPP*, *AHR*, *STAT1*, *SMARCA2*, *KLK7*. Согласно современным представлениям микроРНК miR-21 гиперэкспрессирована в опухолевых клетках многих гистологических типов, она снижает интенсивность реакций воспаления и помогает трансформированным клеткам пережить иммунный ответ [29]. Ген *BRCA1* функционирует как важный онкосупрессор. Белок BRCA1 вместе с другими белками формирует комплекс, проверяющий клеточный геном на наличие повреждений, и осуществляющий репарацию ДНК. Мутации кодирующего его гена связаны с развитием ~ 40 % спонтанных случаев рака молочной железы и ~ 80 % наследуемых случаев рака молочной железы и яичников [30]. В случае если в данном гене нет мутаций, реактивация его экспрессии позволит восстановить некоторые нормальные клеточные функции и может способствовать апоптотической гибели трансформированной клетки [31]. При активации экспрессии гена *AHR* в клетке нарабатывается одноименный белок. AHR — транскрипционный фактор, который связывается с молекулой ксенобиотика, в том числе лекарственного вещества, транспортируется в ядро

и запускает программу по обезвреживанию и метаболизму ксенобиотиков [32]. Данная система защищает клетку от отравления, но можно создать вещества-пролекарства, которые нейтральны по отношению к клеткам человека при введении, и становятся ядами при их активации во время метаболизма. Таким образом, вещество 3g может способствовать внутриклеточной активации дополнительно введенного пролекарства.

В отличие от вещества 7с, которое ингибирует сигнальную молекулу *STAT1*, соединение 3g ее активирует. С одной стороны, можно ожидать усиления проведения сигнала от киназы *Jak2*, что является стимулом к выживанию клетки, особенно в случае онкогематологических заболеваний. С другой стороны, известно об онкосупрессорных свойствах *STAT1* при плоскоклеточном раке пищевода [33]. Вполне возможно, что 3g окажется эффективным терапевтическим средством при данном заболевании.

Ген *SMARCA2*, экспрессия которого повышается в присутствии 3g, управляет состоянием хроматина. Вместе с другими белками *SMARCA2* входит в состав комплекса *SWI/SNF*, который ослабляет связи между нуклеосомами и ДНК. Активность комплекса конвертирует неактивный гетерохроматин в активный эухроматин. Дефицит или отсутствие белка *SMARCA2* приводит к развитию палочковидной саркомы у детей [34]. Возможно, повышение уровня экспрессии гена *SMARCA2* при помощи 3g позволит предотвратить развитие данного заболевания. Показано также, что 3g блокирует функции транскрипционного фактора *DAX1*. Сам *DAX1* подавляет экспрессию других генов. При раке молочной железы активность этого фактора снижает чувствительность опухолевых клеток к эстрогену, что негативно сказывается на их росте [35]. Кроме того, гиперэкспрессия *DAX1* в клетках линии рака печени приводила к остановке их развития [36]. Таким образом, подавление *DAX1* может стимулировать рост опухолевых клеток. Применение 3g в качестве лекарства допустимо только в тех случаях, когда клетки опухоли нечувствительны к активности *DAX1*. Вместе с этим негативные последствия использования 3g могут проявиться за счет того, что данное соединение активирует экспрессию белка *KLK7*. Сериновая протеаза *KLK7* является биомаркером опухолевых клеток. Белок осуществляет протеолиз межклеточного матрикса, что способствует опухолевой инвазии и метастазированию [37]. Повышенный уровень экспрессии гена *KLK7* связан с неблагоприятным прогнозом при колоректальном раке и раке поджелудочной железы [38, 39], нужно учитывать эту особенность при планировании клинических исследований.

Подобно 3g, соединение 5a ингибирует *miR-21*, *DAX1*, активирует экспрессию белка *AHR* и белок *STAT1*.

Соединение 5a также ингибирует *KCNK9*, что может быть полезным при лечении онкологических заболеваний.

АТФ-зависимый калиевый канал *KCNK9* по неизвестным причинам гиперэкспрессирован при некоторых типах рака. При раке яичников его активность связана с повышенной выживаемостью опухолевых клеток [40]. Ингибирование проводимости этого канала снижает пролиферативную активность клеток рака яичников и стимулирует апоптоз. Одновременно с этим соединение 5a может проявлять нейротоксичность. Найдено блокирование функций рецептора *GALR3*, который связывается с нейропептидом галанином. Галанин модулирует разнообразные процессы, такие как память, обработка сенсорной информации, боль, секреция гормонов и пищевое поведение [41]. Кроме того, 5a блокирует работу дофаминовых рецепторов, что может привести к описанным выше эффектам.

Хиназолинон 3с ингибирует белок *L3MBTL1*, ДНК-полимеразу- β , эндонуклеазу *APE1*, фермент *HSD17B4* и митохондриальный канал *ClpP*.

Рецептор *L3MBTL1* активирует экспрессию генов, ответственных за осуществление митоза [42]. Блокировка его работы позволит снизить пролиферативный потенциал опухолевых клеток. Функции ДНК-полимеразы- β заключаются в репарации ДНК и, возможно, репликации и рекомбинации [43]. В условиях применения препаратов, повреждающих ДНК, опухолевая клетка не сможет провести репарацию, и вероятность ее апоптотической гибели увеличится. Фермент *APE1* — важная эндонуклеаза, которая активна практически во всех клетках человека. Она предназначена для распознавания и репарации поврежденных апуриновых/апириимидиновых сайтов ДНК, образованных в результате гидролиза нормальных оснований [44]. Такие сайты препятствуют репликации ДНК, что делает невозможным митотическое деление клетки.

Хиназолинон 3с является антагонистом дофаминового рецептора [3], что может стать причиной нейротоксичности препарата, разработанного на основе данного соединения. Он также активирует сериновую протеазу *KLK7* и может способствовать формированию локомоторного фенотипа опухолевых клеток.

Вещество 3е тоже обладает противоопухолевой активностью, так как ингибирует взаимодействие белков *Mdm2* и *MdmX*. Оно модулирует работу дофаминового рецептора 1, однако трудно предсказать последствия применения этого препарата при лечении больных. Кроме того, хиназолинон 3е повышает активность протеазы *KLK7*.

Соединение 5b ингибирует альдегиддегидрогеназу *ALDH1A1*, работу калиевого канала *KCNK9* и кальциевого канала *CACNA1G*, одновременно активирует *ClpP*.

Клетки, экспрессирующие ALDH1A1, обладают высокой онкогенностью из-за высокой химической активности как самих альдегидов, так и продуктов их метаболизма. Сайленсинг ALDH1A1 в ксенотрансплантатных меланомах приводил к снижению темпов роста опухоли и снижал количество метастазов. Предполагается, что ингибиторы ALDH1A1 будут замедлять рост опухолевой массы в первичном очаге меланомы человека и понижать риск развития рецидива [45]. Кальциевый канал CACNA1G гиперэкспрессирован при некоторых типах рака, в частности при раке яичников. Имеются данные, что блокирование CACNA1G подавляет пролиферацию опухолевых клеток и вводит их в состояние покоя [46]. Таким образом, можно рекомендовать провести клинические испытания эффективности лечения рака яичников при помощи соединения 5b. Предполагаемые побочные эффекты — нейротоксичность. Хиназолинон 5b может нарушать работу нервной системы, так как ингибирует функции нейропептида Y2. Кроме того, он функционирует как агонист опиоидных рецепторов OPRM1 и OPRD1, а также нейропептидного рецептора GPR7, который поддерживает стабильность работы нервной системы человека [47].

Вещество 3f ингибирует *miR-21*, что позволяет ожидать снижения выживаемости опухолевых клеток в условиях иммунного ответа. Оно также блокирует работу калиевых каналов KCNK9 и KCNK3. Подобно 5b хиназолинон 3f может быть эффективным при лечении рака яичников. Активирует ClpP, а также экспрессию гена *SMARCA4*. Фактор *SMARCA4*, подобно *SMARCA2*, входит в состав комплекса SWI/SNF, который предназначен для декомпактизации хроматина и активации экспрессии генов. Корректная работа SWI/SNF в целом и *SMARCA4* в частности важна для контроля стабильности ДНК и клеточной дифференцировки, а также ограничивает скорость деления клетки и активность некоторых онкогенов [48].

Вещество 5c ингибирует белок NF-κB и зависимый от него сигнальный путь, перекрывает кальциевый канал CACNA1G. Он, активируя *ClpP*, способен повышать проницаемость митохондриальной мембраны и облегчать инициацию внутреннего пути апоптоза. Вещество с такими характеристиками может обладать мощным противоопухолевым действием. При этом хиназолинон 5c является агонистом нейропептидного рецептора GPR7 и может оказать непредсказуемый эффект на нервную систему больного.

Из значимых противоопухолевых эффектов соединения 5d обнаружены ингибирование калиевых каналов KCNK9 и KCNK3 и активация митохондриального канала ClpP. Применяя 5d, можно добиться инициации апоптоза опухолевой клетки. Кроме того, соединение 5d блокирует нейропептидный рецептор NPSR1. Лиганд NPSR1 — нейропептид S. Данный

лиганд усиливает пролиферацию NPSR1-положительных опухолевых клеток нейроэндокринных опухолей [49]. Нарушив стимулирующее воздействие нейропептида S, можно остановить рост опухолевой массы при злокачественных глиомах.

Хиназолинон 5d может оказать губительное влияние на нервную систему, так как ограничивает функции нейропептида Y1 и нейропептидного рецептора GPR7.

Вещество 5e ингибирует *miR-21*, калиевый канал KCNK3 и активирует ClpP, что может понизить злокачественность опухолевых клеток, а также индуцировать в них апоптоз. Оно активирует нейронный рецептор MrgX1, стимуляция которого вызывает чувство боли [50]. Прогнозируемый побочный эффект — развитие острого болевого синдрома.

Хиназолинон 7b ингибирует образование комплекса Mdm2/MdmX, что стимулирует работу антионкогенного белка p53. Он также затрудняет процессы репарации ДНК, опосредованные фактором ELG1 и TDP1. Противоопухолевый эффект данного соединения был продемонстрирован в эксперименте по ограничению роста клеток рака легкого линии H69AR. Хиназолинон 7b потенциально нейротоксичен, так как воздействует на мускариновый рецептор 1, дофаминовый рецептор 2, нейропептид Y1 и рецептор TAAR1.

Вещество 5f ингибирует альдегиддегидрогеназу ALDH1A1, что может снизить скорость роста злокачественности опухолевых клеток. Соединение 5f способно блокировать калиевый канал KCNK3, что также снижает пролиферативную активность клеток опухоли. Наконец, оно стимулирует работу комплекса SWI/SNF, который замедляет процессы деления и препятствует работе онкобелков. Возможна нейротоксичность 5f за счет ингибирования нейропептида Y2.

Вещество 3h при инкубировании с клетками карциномы печени линии Huh7 вызывает их гибель по неизвестному пока механизму. Выяснилось также, что 3h блокирует проводимость кальциевых каналов TRPC4 и TRPC6. Блокирование их существенно замедляет клеточную пролиферацию, а гиперэкспрессия этих белков прямо коррелирует со скоростью роста опухолевых клеток линии [51]. Он ингибирует фермент LYPLA2, расщепляющий фосфолипиды и ремоделирующий клеточные мембраны, и сериновую протеазу KLK7, которая способствует опухолевой инвазии и метастазированию [52]. Последствия бывают различными, и предсказать их трудно.

Вещество 5h способно стимулировать начало внутреннего пути апоптоза, так как активирует ClpP. Оно также способствует усилению работы комплекса SWI/SNF, обладающего противоопухолевым потенциалом. Однако 5h активирует STAT1 и тем самым

может увеличить автономность опухолевой клетки и придать ей независимость от внешних сигналов к выживанию. Кроме того, данное соединение ингибирует противоопухолевый фактор DAX1, и это может ограничить спектр его применения DAX1-негативными злокачественными новообразованиями.

Хиназолинон 3a затрудняет репарацию ДНК во всех быстроделющихся клетках посредством ингибирования TDP1, осуществляющего контроль стабильности генома. Может стимулировать апоптотическую гибель клетки, так как повышает проницаемость митохондриального канала ClpP. Возможное негативное последствие применения хиназолинона 3a — вызванная им индукция инвазии и метастазирования опухоли, так как обнаружена способность данного соединения активировать протеазу KKL7.

Вещество 3d ингибирует серин-треониновую киназу PLK1-PDB. Эта киназа экспрессируется на высоком уровне при многих онкологических заболеваниях. Инактивация этого белка в опухолевых клеточных линиях значительно замедляла пролиферацию и стимулировала апоптотическую гибель [53]. Под действием соединения 3d снижается активность фактора ERAC2, который участвует в процессах клеточной пролиферации, транспорта микровезикул и ядерного транспорта [54]. Снижение скорости метаболизма опухолевой клетки и скорости ее деления при применении вещества 3d может оказать позитивное влияние на прогноз онкологического заболевания. Соединение 3d усиливает воздействие гормона TRH на щитовидную железу. Кроме того, TRH может оказать более выраженный эффект на иммунную систему, в частности усилить воспалительные процессы. Повышение активности этого гормона связывают с улучшением качества жизни и нормализацией сна [55].

Вещество 3b ингибирует HSD17B4 и может снизить скорость метаболизма в опухолевой клетке. Однако этот полезный эффект уравнивается способностью вещества активировать протеазу KKL7, из-за чего опухоль может сформировать метастазы в организме больного.

Производное 7d повреждает клетки-кардиомиоциты линии HL-1. Других значимых эффектов обнаружено не было.

Производное под номером 7f блокирует белки TDP1 и ELG1, и это увеличивает геномную нестабильность в опухолевой клетке, что может привести к ее гибели из-за фатальных нарушений транскрипции генов. Кроме того, тетрацикл 7f может понижать интенсивность пролиферации опухолевых клеток посредством подавления функций протеазы ATG4B. Смесь тетрацикла 7f со своим стереоизомером токсична для кардиомиоцитов.

Соединение 7e способно ингибировать сигнальную протеинкиназу MEK5. Эта протеинкиназа

передает активирующий сигнал к киназе MAPK-14, гиперактивность которой, в свою очередь, приводит к трансформации нормальной клетки в опухолевую [56]. Блокирование работы MEK5 облегчает инициацию апоптоза в опухолевой клетке.

Таким образом, описанные хиназолиноны обладают противоопухолевой активностью, так как ингибируют действие систем репарации ДНК и пролиферативную активность. Данные вещества можно применять при лечении широкого спектра онкологических и онкогематологических заболеваний. Чтобы установить точнее, какие типы данных заболеваний окажутся наиболее чувствительными, требуется провести клинические испытания. Необходимо учитывать токсичность представленных соединений для здоровых клеток и провести оптимизацию доз препаратов.

Возможность применения при неопухолевых заболеваниях и борьбе с паразитами

Некоторые из представленных веществ обладают и другим действием, которое может стать полезным в терапии неопухолевых заболеваний.

Соединения 3g, 3f, 5a, 5f, 5h стимулируют экспрессию гена *Rab9*. Ген *Rab9* кодирует белок, отвечающий за везикулярный транспорт от эндосом в аппарат Гольджи [57]. Можно предположить, что активность этого белка увеличивает скорость распространения низкомолекулярных веществ, в том числе и лекарств, внутри клетки. Это способно повысить чувствительность опухолевых клеток к терапии. Хиназолиноны 3g, 5a, 5f и 5h повышают уровень экспрессии гена *NPC1*, который закреплен в мембранах эндосом и экзосом, и опосредует внутриклеточный транспорт холестерина и липопротеинов. Дефекты в этом гене способствуют развитию нейродегенеративных заболеваний — болезни Ниманна–Пика и, возможно, Альцгеймера [58]. Данное заболевание плохо поддается терапии из-за недоступности нервных клеток, защищенных гематоэнцефалическим барьером. Низкомолекулярные соединения имеют шанс преодолеть барьер, купировать последствия недостаточной активности белка NPC1 и остановить гибель клеток.

Хиназолиноны 3g, 5f и 5h формируют различные варианты сплайсинга мРНК гена *SMN2*. Ген *SMN2* кодирует белок, важный для стабильности моторных нейронов. Нарушения сплайсинга его мРНК приводят к синтезу нефункционального белка [59]. В результате развивается мышечная атрофия, что фатально заканчивается для больного. Коррекция процессов сплайсинга может восстановить нормальные функции моторных нейронов. Тетрацикл 7f разрушает белок TDP-43. Известно, что этот белок образует агрегаты в цитоплазме нейронов и является одной

из причин развития бокового амиотрофического склероза — неизлечимого нейродегенеративного заболевания [60]. При устранении его агрегатов возможно замедление нейродегенеративных процессов и улучшение состояния больного.

Соединение 7e активирует белок-транспортер холина СНТ. Потенциально это может стимулировать работу нервной системы [61].

Некоторые из синтезированных нами соединений (3g, 5a, 3e, 5b, 3f, 5e, 5f, 5h) блокируют *Shiga toxin*. Группа этих токсинов продуцируется патогеном *Shigella dysenteriae*, вызывающим дизентерию [62]. Сами токсины связываются с рибосомами и останавливают синтез белка. Представленные соединения инактивируют токсины и могут облегчать течение дизентерии.

Соединения 7a, 7c, 5g, 3e, 5b, 5d, 5e, 3h, 5h, 3a и 3d инактивируют органоид *Apicoplast*, который жизненно важен для малярийного плазмодия, нарушения в его функциях могут привести к гибели плазмодия.

Вещества 5a, 5d и 3h токсичны для *Leishmania major*, вызывающего лейшманиозы. Механизм токсичности не был описан.

Соединения 3a, 3g, 3c, 3e, 3f, 3h, 5h и 3b ядовиты по отношению к *Mycobacterium tuberculosis*, так как ингибируют фермент FBA, или альдолазу. Альдолаза отвечает за превращение фруктозо-1,6-дифосфата в дигидроксиацетонфосфат и глицеральдегид-3-фосфат в процессе гликолиза [63].

Заключение

Согласно Е.Б. Владимирской, каждая клетка человека непрерывно получает сигналы, стимулирующие как инициацию апоптотической гибели, так и сопротивление развитию апоптоза [64, 65]. В норме влияние инактивирующих апоптоз сигналов обычно сильнее, и клетка не погибает. В случае если здоровую клетку требуется устранить, она получает усиленный сигнал, активирующий апоптоз. Это иллюстрируется примером созревания В-лимфоцитов, распознающих антиген [66]. Изначально противостояние апоптозу поддерживается во всех В-лимфоцитах как клетками микроокружения, так и внутриклеточными факторами MCL1 и BCL-2. В момент контакта с антигеном белок BCL-2 перестает экспрессироваться, а В-клетка получает про-апоптотический сигнал от FAS-лиганда, находящегося на поверхности фолликулярных дендритных клеток [67]. В-лимфоцит выживает только в случае эффективного распознавания антигена, когда одновременно с сигналом от FAS-лиганда получает сигнал противодействия апоптозу от собственной мембранной молекулы иммуноглобулина. В этом случае FAS-лиганд не способен активировать апоптоз [68]. Если распознавание антигена произошло неэффек-

тивно, В-лимфоцит не получает сигналов противодействия апоптозу и погибает, так как апоптоз стимулирован FAS-лигандом.

Распределение силы сигналов, регулирующих апоптоз, необходимо для своевременного устранения трансформированных клеток. Отклонения в работе систем контроля клеточной гибели могут привести к развитию опухолевых заболеваний, так же как в случае с В-клетками неконтролируемая экспрессия BCL-2 становится причиной развития злокачественных лимфом [66, 69].

Во многих случаях производные хиназолинона действуют как фактор, облегчающий начало апоптоза в опухолевой клетке. Особенно часто эти производные ингибируют антиапоптотический NF-κB-зависимый сигнальный путь, препятствуют образованию комплексов Mdm2/MdmX, инактивирующих белок p53, повышают уровень экспрессии белка CLpP, который увеличивает вероятность инициации внутреннего пути апоптоза.

Кроме того, производные хиназолинов воздействуют на белки, ответственные за репарацию ДНК, или изменяют проницаемость внешней мембраны для ионов, или блокируют некоторые сигнальные молекулы. Непосредственно с развитием апоптоза это не связано, однако снижает способность опухолевой клетки к инвазии и пролиферации.

Особенно важно то, что производные хиназолинона действуют таргетно на отдельно взятые белки или другие важные молекулы, и эффекты применения производных можно предсказать заранее. При использовании производных хиназолинона можно выбрать опухолевые заболевания, в патогенезе которых оказываются значимыми ферменты или сигнальные молекулы, сами являющиеся удобной мишенью для 7a и других соединений.

Действие доксорубина, например, приводит к образованию свободных радикалов, которые разрушают структуры не только опухолевых, но и всех клеток без исключения, а также являются мутагенами [70]. Напротив, производные хиназолинона не формируют свободные радикалы.

Кроме противоопухолевых эффектов, ряд соединений обладают способностью замедлить или даже полностью обратить развитие нейродегенеративных заболеваний, а также отличаются противопаразитарным эффектом. Необходимо проводить клинические исследования их эффективности при лечении таких заболеваний, как болезнь Неманна–Пика, Альцгеймера, а также мышечная атрофия, малярия, туберкулез, лейшманиоз и дизентерия.

Благодаря возможностям высокопроизводительного скрининга выяснены основные молекулярные мишени, на которые действуют различные производные хиназолинона. Остались неизвестными константы

связывания производных с белками-мишенями, но это относительно нетрудно сделать в бесклеточных системах. Кроме того, следует провести определение летальных доз для каждого из соединений. Дополни-

тельные исследования в таком формате в случае нахождения безопасной дозы для человека, но фармакологически эффективной, необходимы для инициации полноценных клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Alaimo R.J., Russell H.E. Antibacterial 2,3-dihydro-2-(5-nitro-2-thienyl) – quinazolin-4(1H) – ones. *J Med Chem* 1972;15(3):335–6. PMID: 4621761.
- Bonola G., Da Re P., Magistretti M.J. et al. 1-aminoacyl-2,3-dihydro-4(1H) – quinazolinone derivatives with choleretic and antifibrillatory activity. *J Med Chem* 1968;11(6):1136–9. PMID: 5680025.
- Levin J.I., Chan P.S., Bailey T. et al. The synthesis of 2,3-dihydro-4(1H) – quinazolinone angiotensin II receptor antagonists *Bioorg. Med Chem Lett* 1994;4:1141–6.
- Okumura K., Oine T., Yamada Y. et al. 4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolines. I. Syntheses and pharmacological properties of 2-methyl-3-aryl-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolines and their 1-acyl derivatives. *J Med Chem* 1968;11(2):348–52. PMID: 4385706.
- Neil G.L., Li L.H., Buskirk H.N., Moxley T.E. Antitumor effects of the antispermatogenic agent, 2,3-dihydro-2-(1-naphthyl) – 4(1H) – quinazolinone (NSC-145669). *Cancer Chemother Rep* 1972;56(2):163–73. PMID: 5043224.
- Хачатрян Д.С., Белусь С.К., Мисюрин В.А. Синтез и свойства 1,2-дигидро-4(3H)-хиназолинонов. *Известия РАН. Серия химическая* 2017;6:1044.
- PubChem Project <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Alexandrov V., Brunner D., Hanania T., Leahy E. High-throughput analysis of behavior for drug discovery. *Eur J Pharmacol* 2015;750:82–9. DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.11.047. PMID: 25592319.
- Baker J.R., Gamberger D., Mihelcic J.R., Sabljic A. Evaluation of artificial intelligence based models for chemical biodegradability prediction. *Molecules* 2004;9(12):989–1004. PMID: 18007499.
- Sikdar N., Banerjee S., Lee K.Y. et al. DNA damage responses by human ELG1 in S phase are important to maintain genomic integrity. *Cell Cycle* 2009;8(19):3199–207. DOI: 10.4161/cc.8.19.9752. PMID: 19755857.
- Heo J., Li J., Summerlin M. et al. TDP1 promotes assembly of non-homologous end joining protein complexes on DNA. *DNA Repair (Amst)* 2015;30:28–37. DOI: 10.1016/j.dnarep.2015.03.003. PMID: 25841101.
- Клаан Н.К., Пронина Т.А., Акиншина Л.П., Решетникова В.В. Ядерный фактор каппа В (NF-κB) в качестве мишени для действия природных противоопухолевых соединений. *Российский биотерапевтический журнал* 2014;13(1):3–8.
- Liu P.F., Leung C.M., Chang Y.H. et al. ATG4B promotes colorectal cancer growth independent of autophagic flux. *Autophagy* 2014;10(8):1454–65. DOI: 10.4161/auto.29556. PMID: 24991826.
- Qin L., Yang F., Zhou C. et al. Efficient reactivation of p53 in cancer cells by a dual MdmX/Mdm2 inhibitor. *J Am Chem Soc* 2014;136(52):18023–33. DOI: 10.1021/ja509223m. PMID: 25453499.
- Мисюрин А.В. Молекулярный патогенез миелопролиферативных заболеваний. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика* 2009;2(3):211.
- Barwick K.E., Wright J., Al-Turki S. et al. Defective presynaptic choline transport underlies hereditary motor neuropathy. *Am J Hum Genet* 2012;91(6):1103–7. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.09.019. PMID: 23141292.
- Abdul-Ridha A., Lane J.R., Mistry S.N. et al. Mechanistic insights into allosteric structure-function relationships at the M1 muscarinic acetylcholine receptor. *J Biol Chem* 2014;289(48):33701–11. DOI: 10.1074/jbc.M114.604967. PMID: 25326383.
- Arning L., Stock A.K., Kloster E. et al. NPY2-receptor variation modulates iconic memory processes. *Eur Neuro-psychopharmacol* 2014;24(8):1298–302. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2014.03.003. PMID: 24709141.
- Rustgi A.K., Van't Veer L.J., Bernards R. Two genes encode factors with NF-κappa B- and H2TF1-like DNA-binding properties. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87(22):8707–10. PMID: 2247438.
- Bayrer J.R., Mukkamala S., Sablin E.P. et al. Silencing LRH-1 in colon cancer cell lines impairs proliferation and alters gene expression programs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(8):2467–72. DOI: 10.1073/pnas.1500978112. PMID: 25675535.
- Cichero E., Espinoza S., Gainetdinov R.R. et al. Insights into the structure and pharmacology of the human trace amine-associated receptor 1 (hTAAR1): homology modelling and docking studies. *Chem Biol Drug Des* 2013;81(4):509–16. DOI: 10.1111/cbdd.12018. PMID: 22883051.
- Gelernter J., Gueorguieva R., Kranzler H.R. et al. Opioid receptor gene (OPRM1, OPRK1, and OPRD1) variants and response to naltrexone treatment for alcohol dependence: results from the VA Cooperative Study. *Alcohol Clin Exp Res* 2007;31(4):555–63. DOI: 10.1111/j.1530-0277.2007.00339.x. PMID: 17374034.
- McMillan H. J., Worthylake T., Schwartzentruber J. et al. Specific combination of compound heterozygous mutations in 17β-hydroxysteroid dehydrogenase type 4 (HSD17B4) defines a new subtype of D-bifunctional protein deficiency. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7:90. DOI: 10.1186/1750-1172-7-90. PMID: 23181892.
- Guerra-Calderas L., González-Barrios R., Herrera LA. et al. The role of the histone demethylase KDM4A in cancer. *Cancer Genet* 2015;208(5):215–24. DOI: 10.1016/j.cancergen.2014.11.001. PMID: 25633974.
- Kang S.G., Maurizi M.R., Thompson M. et al. Crystallography and mutagenesis point to an essential role for the N-terminus of human mitochondrial ClpP. *J Struct Biol* 2004;148(3):338–52. DOI: 10.1016/j.jsb.2004.07.004. PMID: 15522782.
- Zhang L., Dai F., Cui L. et al. Novel role for TRPC4 in regulation of macroautophagy by a small molecule in vascular endothelial cells. *Biochim*

- Biophys Acta 2015;1853(2):377–87. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2014.10.030. PMID: 25476892.
27. Aliyev A., Soundararajan S., Bucak E. et al. The utility of peripheral thyrotropin receptor mRNA in the management of differentiated thyroid cancer. *Surgery* 2015;158(4):1089–93; discussion 1093–4. DOI: 10.1016/j.surg.2015.06.023. PMID: 26212344.
 28. Horn T., Ivanov I., Di Venere A. et al. Molecular basis for the catalytic inactivity of a naturally occurring near-null variant of human ALOX15. *Biochim Biophys Acta* 2013;1831(12):1702–13. DOI: 10.1016/j.bbailp.2013.08.004. PMID: 23958500.
 29. Sheedy F.J. Turning 21: Induction of miR-21 as a Key Switch in the Inflammatory Response. *Front Immunol.* 2015;6:19. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00019. eCollection 2015. PMID: 25688245.
 30. Jiang Q., Greenberg R.A. Deciphering the BRCA1 Tumor Suppressor Network. *J Biol Chem* 2015;290(29):17724–32. DOI: 10.1074/jbc.R115.667931. PMID: 26048987.
 31. Thangaraju M., Kaufmann S.H., Couch F.J. BRCA1 facilitates stress-induced apoptosis in breast and ovarian cancer cell lines. *J Biol Chem* 2000;275(43):33487–96. DOI: 10.1074/jbc.M005824200. PMID: 10938285.
 32. Esser C., Rannug A. The aryl hydrocarbon receptor in barrier organ physiology, immunology, and toxicology. *Pharmacol Rev* 2015;67(2):259–79. DOI: 10.1124/pr.114.009001. PMID: 25657351.
 33. Zhang Y., Molavi O., Su M., Lai R. The clinical and biological significance of STAT1 in esophageal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer* 2014;14:791. DOI: 10.1186/1471-2407-14-791. PMID: 25355139.
 34. Kahali B., Yu J., Marquez S.B. et al. The silencing of the SWI/SNF subunit and anticancer gene BRM in Rhabdoid tumors. *Oncotarget* 2014;5(10):3316–32. DOI: 10.18632/oncotarget.1945. PMID: 24913006.
 35. Lanzino M., Maris P., Sirianni R. et al. *DAX-1*, as an androgen-target gene, inhibits aromatase expression: a novel mechanism blocking estrogen-dependent breast cancer cell proliferation. *Cell Death Dis* 2013;4: e724. DOI: 10.1038/cddis.2013.235. PMID: 23846226.
 36. Jiang H.L., Xu D., Yu H. et al. *DAX-1* inhibits hepatocellular carcinoma proliferation by inhibiting β -catenin transcriptional activity. *Cell Physiol Biochem* 2014;34(3):734–42. DOI: 10.1159/000363038. PMID: 25171651.
 37. Yu Y., Prassas I., Dimitromanolakis A., Diamandis E.P. Novel Biological Substrates of Human Kallikrein 7 Identified through Degradomics. *J Biol Chem* 2015;290(29):17762–75. DOI: 10.1074/jbc.M115.643551. PMID: 26032414.
 38. Walker F., Nicole P., Jallane A. et al. Kallikrein-related peptidase 7 (KLK7) is a proliferative factor that is aberrantly expressed in human colon cancer. *Biol Chem* 2014;395(9):1075–86. DOI: 10.1515/hsz-2014-0142. PMID: 25153388.
 39. Iakovlev V., Siegel E.R., Tsao M.S., Haun R.S. Expression of kallikrein-related peptidase 7 predicts poor prognosis in patients with unresectable pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;21(7):1135–42. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-11-1079. PMID: 22573795.
 40. Innamaa A., Jackson L., Asher V. et al. Expression and prognostic significance of the oncogenic K2P potassium channel KCNK9 (TASK-3) in ovarian carcinoma. *Anticancer Res* 2013;33(4):1401–8. PMID: 23564779.
 41. Juhasz G., Hullam G., Eszlari N. et al. Brain galanin system genes interact with life stresses in depression-related phenotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(16):E1666–73. DOI: 10.1073/pnas.1403649111. PMID: 24706871.
 42. Bench A.J., Li J., Huntly B.J. et al. Characterization of the imprinted polycomb gene *L3MBTL*, a candidate 20q tumour suppressor gene, in patients with myeloid malignancies. *Br J Haematol* 2004;127(5):509–18. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05278.x. PMID: 15566354.
 43. Nowak R., Woszczyński M., Siedlecki J.A. Changes in the DNA polymerase beta gene expression during development of lung, brain, and testis suggest an involvement of the enzyme in DNA recombination. *Exp Cell Res* 1990;191(1):51–6. PMID: 2226650.
 44. Hinz J.M. Impact of abasic site orientation within nucleosomes on human APE1 endonuclease activity. *Mutat Res* 2014;766–767:19–24. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2014.05.008. PMID: 25083139.
 45. Yue L., Huang Z.M., Fong S. et al. Targeting ALDH1 to decrease tumorigenicity, growth and metastasis of human melanoma. *Melanoma Res* 2015;25(2):138–48. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000144. PMID: 25643237.
 46. Li W., Zhang S.L., Wang N. et al. Blockade of T-type Ca(2+) channels inhibits human ovarian cancer cell proliferation. *Cancer Invest* 2011;29(5):339–46. DOI: 10.3109/07357907.2011.568565. PMID: 21438841.
 47. Fujii R., Yoshida H., Fukusumi S. et al. Identification of a neuropeptide modified with bromine as an endogenous ligand for GPR7. *J Biol Chem* 2002;277(37):34010–6. DOI: 10.1074/jbc.M205883200. PMID: 12118011.
 48. Medina P.P., Romero O.A., Kohno T. et al. Frequent BRG1/SMARCA4-inactivating mutations in human lung cancer cell lines. *Hum Mutat* 2008;29(5):617–22. DOI: 10.1002/humu.20730. PMID: 18386774.
 49. Pulkkinen V., Ezer S., Sundman L. et al. Neuropeptide S receptor 1 (NPSR1) activates cancer-related pathways and is widely expressed in neuroendocrine tumors. *Virchows Arch* 2014;465(2):173–83. DOI: 10.1007/s00428-014-1602-x. PMID: 24915894.
 50. Solinski H.J., Zierler S., Gudermann T., Breit A. Human sensory neuron-specific Mas-related G protein-coupled receptors-X1 sensitize and directly activate transient receptor potential cation channel V1 via distinct signaling pathways. *J Biol Chem* 2012;287(49):40956–71. DOI: 10.1074/jbc.M112.408617. PMID: 23074220.
 51. Zeng B., Yuan C., Yang X. et al. TRPC channels and their splice variants are essential for promoting human ovarian cancer cell proliferation and tumorigenesis. *Curr Cancer Drug Targets* 2013;13(1):103–16. PMID: 22920441.
 52. Manna J.D., Wepy J.A., Hsu K.L. et al. Identification of the major prostaglandin glycerol ester hydrolase in human cancer cells. *J Biol Chem* 2014;289(49):33741–53. DOI: 10.1074/jbc.M114.582353. PMID: 25301951.
 53. Sparta A.M., Bressanin D., Chiarini F. et al. Therapeutic targeting of Polo-like kinase-1 and Aurora kinases in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cell Cycle* 2014;13(14):2237–47. DOI: 10.4161/cc.29267. PMID: 24874015.
 54. Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Science, 2002. 877 p.
 55. Kamath J. Cancer-related fatigue, inflammation and thyrotropin-releasing hormone. *Curr Aging Sci* 2012;5(3):195–202. PMID: 23387883.
 56. Jia M., Souchevnytskyi N., Hellman U. et al. Proteome profiling of immortalization-to-senescence transition

- of human breast epithelial cells identified MAP2K3 as a senescence-promoting protein which is downregulated in human breast cancer. *Proteomics Clin Appl* 2010;4(10–11):816–28. DOI: 10.1002/prca.201000006. PMID: 21137025.
57. Barbero P., Bittova L., Pfeffer S.R. Visualization of Rab9-mediated vesicle transport from endosomes to the trans-Golgi in living cells. *J Cell Biol* 2002;156(3):511–8. DOI: 10.1083/jcb.200109030. PMID: 11827983.
 58. Yu X.H., Jiang N., Yao P.B. et al. NPC1, intracellular cholesterol trafficking and atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 2014;429:69–75. DOI: 10.1016/j.cca.2013.11.026. PMID: 24296264.
 59. Cho S., Moon H., Loh T.J. et al. 3' Splice site sequences of spinal muscular atrophy related SMN2 pre-mRNA include enhancers for nearby exons. *Sci World J* 2014;2014:617842. PMID: 24616638.
 60. Mitchell J.C., Constable R., So E. et al. Wild type human TDP-43 potentiates ALS-linked mutant TDP-43 driven progressive motor and cortical neuron degeneration with pathological features of ALS. *Acta Neuropathol Commun* 2015;3:36. DOI: 10.1186/s40478-015-0212-4. PMID: 26108367.
 61. Michel V., Bakovic M. The ubiquitous choline transporter SLC44A1. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem* 2012;12(2):70–81. PMID: 22483272.
 62. Beutin L. Emerging enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, causes and effects of the rise of a human pathogen. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2006;53(7):299–305. DOI: 10.1111/j.1439–0450.2006.00968.x. PMID: 16930272.
 63. Zgiby S.M., Thomson G.J., Qamar S., Berry A. Exploring substrate binding and discrimination in fructose 1, 6-bisphosphate and tagatose 1,6-bisphosphate aldolases. *Eur J Biochem* 2000;267(6):1858–68. PMID: 10712619.
 64. Владимирская Е.Б. Апоптоз и его роль в регуляции клеточного равновесия. *Клиническая лабораторная диагностика* 2002;11:25–32.
 65. Владимирская Е.Б. Апоптоз в регуляции клеточного равновесия и формировании опухолевого роста. *Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2003;2(1):5.
 66. Мисюрина А.Е., Мисюрин В.А., Барях Е.А. и др. Роль экспрессии генов c-MYC, BCL2 и BCL6 в патогенезе диффузной В-крупноклеточной лимфомы. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика* 2014;7(4):511–20.
 67. Verbeke C.S., Wenthe U., Zentgraf H. Fas ligand expression in the germinal centre. *J Pathol* 1999;189(2):155–60. DOI: 10.1002/(SICI)1096–9896(199910)189:2<155::AID-PATH442>3.0.CO;2–9. PMID: 10547568.
 68. Мисюрин В.А. Структура и свойства основных рецепторов и лигандов внешнего пути апоптоза. *Российский биотерапевтический журнал* 2015;14(2):23–30.
 69. Agapova L.S., Ivanov A.V., Sablina A.A. et al. P53-dependent effects of RAS oncogene on chromosome stability and cell cycle checkpoints. *Oncogene* 1999;18(20):3135–42.
 70. Keizer H.G., Pinedo H.M., Schuurhuis G.J., Joenje H. Doxorubicin (adriamycin): a critical review of free radical-dependent mechanisms of cytotoxicity. *Pharmacol Ther* 1990;47(2):219–31. PMID: 2203071.