

Обзорная статья

УДК 57.089

DOI: 10.31857/S0869769824030076

EDN: ISBYZW

## Лаборатория биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ: недавние достижения в исследованиях биологически активных соединений

Е.Л. Чайкина, И.Г. Агафонова, Е.А. Юрченко, Е.А. Чингизова, С.А. Козловский, Е.А. Пислягин, А.Л. Бурьлова, Е.С. Менчинская, Д.Л. Аминин✉

*Елена Леонидовна Чайкина*

научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,  
Владивосток, Россия  
chaikin.dima@yandex.ru

*Ирина Григорьевна Агафонова*

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,  
Владивосток, Россия  
agafonova@piboc.dvo.ru  
<http://orcid.org/0000-0002-5587-2610>

*Екатерина Александровна Юрченко*

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,  
Владивосток, Россия  
eyurch@piboc.dvo.ru  
<http://orcid.org/0000-0001-7737-0980>

*Екатерина Александровна Чингизова*

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,  
Владивосток, Россия  
martyuas@mail.ru  
<http://orcid.org/0000-0003-0093-5757>

*Сергей Антонович Козловский*

младший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,  
Владивосток, Россия  
sergeimerx@gmail.com  
<http://orcid.org/0000-0001-9961-8350>

*Евгений Александрович Пислягин*

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

pislyagin@hotmail.com

<http://orcid.org/0000-0002-3558-0821>

*Анна Леонидовна Бурьлова*

студентка

Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

anaburylova1@gmail.com

*Екатерина Сергеевна Менчинская*

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

ekaterinamenchinskaya@gmail.com

<http://orcid.org/0000-0002-4027-9064>

*Дмитрий Львович Аминин*

член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, заведующий лабораторией

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

daminin@piboc.dvo.ru

<http://orcid.org/0000-0002-1073-4994>

**Аннотация.** Основное научное направление лаборатории биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН – изучение биологической активности природных и синтетических соединений. В обзоре кратко рассматриваются основные достижения лаборатории за последние пять лет.

**Ключевые слова:** биологически активные природные и синтетические соединения, поиск биологической активности

**Для цитирования:** Чайкина Е.Л., Агафонова И.Г., Юрченко Е.А., Чингизова Е.А., Козловский С.А., Пислягин Е.А., Бурьлова А.Л., Менчинская Е.С., Аминин Д.Л. Лаборатория биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ: недавние достижения в исследованиях биологически активных соединений // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 3. С. 121–142. <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030076>

Review article

## Laboratory of bioassays and mechanism of action of bioactive substances: recent advances in bioactive compound

E.L. Chaykina, I.G. Agafonova, E.A. Yurchenko, E.A. Chingizova, S.A. Kozlovskiy, E.A. Pislyagin, A.L. Burylova, E.S. Menchinskaya, D.L. Aminin

*Elena L. Chaykina*

Researcher

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia

chaykin.dima@yandex.ru

*Irina G. Agafonova*

Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher  
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia  
agafonova@piboc.dvo.ru  
<http://orcid.org/0000-0002-5587-2610>

*Ekaterina A. Yurchenko*

Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher  
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia  
eyurch@piboc.dvo.ru  
<http://orcid.org/0000-0001-7737-0980>

*Ekaterina A. Chingizova*

Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher  
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia  
martyyas@mail.ru  
<http://orcid.org/0000-0003-0093-5757>

*Sergey A. Kozlovskiy*

Junior Researcher  
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia  
sergeimerx@gmail.com  
<http://orcid.org/0000-0001-9961-8350>

*Evgeny A. Pisyagin*

Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher  
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia  
pisyagin@hotmail.com  
<http://orcid.org/0000-0002-3558-0821>

*Anna L. Burylova*

Student  
Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia  
anaburylova1@gmail.com

*Ekaterina S. Menchinskaya*

Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher  
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia  
ekaterinamenchinskaya@gmail.com  
<http://orcid.org/0000-0002-4027-9064>

*Dmitry L. Aminin*

Corresponding Member of RAS, Doctor of Sciences in Biology, Head of the Laboratory  
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia  
daminin@piboc.dvo.ru  
<http://orcid.org/0000-0002-1073-4994>

**Abstract.** The main scientific direction of the laboratory of bioassays and mechanism of action of biologically active compounds of the G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS is the study on the biological activity of natural and synthetic compounds. The review briefly examines the laboratory's main achievements over the past five years.

**Keywords:** biologically active natural and synthetic compounds, search for biological activity

**For citation:** Chaykina E.L., Agafonova I.G., Yurchenko E.A., Chingizova E.A., Kozlovskiy S.A., Pisyagin E.A., Burylova A.L., Menchinskaya E.S., Aminin D.L. Laboratory of bioassays and mechanism of action of bioactive substances: recent advances in bioactive compound. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(3):121–142. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030076>

*Авторы посвящают этот обзор памяти кандидата физико-математических наук Галины Николаевны Лихацкой, внесшей неоценимый вклад в работу лаборатории в области компьютерного моделирования и биоинформатики*

## **Введение**

Основной круг научных интересов и научное направление лаборатории биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ ТИБОХ ДВО РАН – изучение биологической активности природных и синтетических соединений; фиторегулирующей активности на моделях проростков сельскохозяйственных растений; проведение скрининга среди соединений для обнаружения цитотоксической, гемолитической, эмбриотоксической, антибактериальной, антифунгальной и противоопухолевой активностей на моделях культур клеток микроорганизмов, животных и человека; поиск соединений с гепатозащитными и иммуномодулирующими свойствами; исследование препаратов, обладающих протекторными свойствами, на экспериментальных животных моделях ишемии и инфаркта миокарда, инсульта головного мозга, артериальной гипертензии, воспаления и цирроза, нейродегенеративных заболеваний; установление зависимости между структурой вещества и его биологической активностью; компьютерное моделирование пространственной структуры биологических молекул; моделирование взаимодействия биологически активных соединений с внутриклеточными и мембранными молекулярными мишенями. Объектами исследования являются биологически активные вещества, выделенные из наземных растений, морских микроорганизмов, водорослей и беспозвоночных и их синтетические аналоги.

В обзоре кратко рассматриваются основные достижения лаборатории за последние пять лет.

## **Накопления рутина в гречихе обыкновенной**

Гречиха является ценной сельскохозяйственной культурой, возделываемой во многих странах мира. Большой интерес гречиха представляет как источник биофлавоноидов. Известно, что флавоноиды принимают активное участие в физиологических процессах растительной клетки и могут оказывать влияние на репродуктивные процессы, способствовать ризогенезу, подавлять развитие патогенов, регулировать процессы окислительного фосфорилирования, являются универсальными полифункциональными адаптогенами к неблагоприятным факторам среды. Флавоноиды гречневой крупы предупреждают развитие злокачественных новообразований, предохраняют организм от старения и болезней, стимулируют иммунитет. Одним из перспективных источников является выращиваемая в Дальневосточном регионе гречиха *Fagopyrum esculentum* Moench. В селекции гречихи актуальное и приоритетное направление – выведение сортов с высоким содержанием флавоноидов (рутина) в зерне и надземной части растений. Получение клеточных культур из различных частей растения с использованием высоких доз ионов тяжелых металлов, манипуляции с ними могут служить базисом для последующего отбора вариантов с качественно новыми показателями. В то же время для получения форм растений с повышенным уровнем стрессоустойчивости, увеличения урожайности, улучшения качества зерна эффективным подходом является использование биопрепаратов, таких как биостимуляторы, биологические средства защиты растений, биоудобрения и ряд других. Практическая значимость этих исследований также в том, что помимо зерна, идущего в пищу, надземная часть этого растения может служить источником получения рутина для фармацевтической промышленности.

Совместно с сотрудниками ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки (академик РАН Клык А.Г.) мы проводим исследование содержания рутина и продуктивности сортов гречихи различного эколого-географического происхождения и селекционного материала, полученного в условиях *in vitro* на селективной среде с повышенным содержанием тяжелых металлов. Изучено содержание рутина в плодах и надземной массе у отечественных

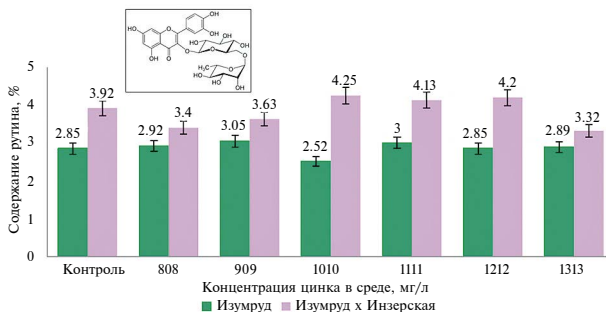


Рис. 1. Содержание рутина в регенерированных в пробирках растениях *F. esculentum* сорта Изумруд и гибрида Изумруд × Инзерская, полученных после воздействия питательных сред с цинком и выращенных *in vitro* в течение III–V пассажей. На врезке – химическая структура рутина

и зарубежных сортов гречихи, а также в разных генотипах этой культуры. Выделен сорт гречихи Башкирская красностебельная с максимальным содержанием флавоноидов в плодах и надземной массе [1, 2]. Установлено, что содержание рутина в надземной части гречихи зависит от рода, вида и разновидности растения, а также определяется морфологическими и хозяйственно ценными признаками. Использование селективных сред с высокими концентрациями ионов цинка и меди способствует расширению диапазона генетической изменчивости и получению растений-регенерантов с повышенным содержанием рутина (на 20–25 %) [3, 4]. Повышенная продукция рутина наблюдалась в регенерированных в пробирке растениях гибрида гречихи Изумруд × Инзерская, полученных после воздействия высоких доз цинка [5] (рис. 1). Исследовано влияние биологически-активных веществ на содержание рутина в плодах и надземной массе гречихи сорта Изумруд. Установлено, что при применении экстрактов из биотипа красных стеблей гречихи наблюдается повышение технологических и биохимических показателей качества зерна гречихи [6].

Таким образом, генотипы гречихи, полученные в том числе с использованием культуральных сред с высокими концентрациями тяжелых металлов, являются перспективными биосистемами для синтеза рутина, ценного в фармакологии и медицине.

### Нейропротекторные эффекты гистохрома на фоне экспериментальной артериальной гипертензии

В лаборатории разработан метод с применением диффузионно-взвешенной томографии для выявления бессимптомного поражения головного мозга. Изучено потенциальное нейропротекторное лекарственное средство гистохром, предотвращающее диффузионные изменения ткани головного мозга крыс на ранней стадии развития АГ (артериальной гипертензии). Несмотря на достижения современной медицины, распространенность АГ среди населения чрезвычайно высока, в том числе среди лиц молодого возраста. Начальные проявления АГ начинаются бессимптомно и могут развиваться длительное время. Очень важно распознать начало развития заболевания для оказания своевременной терапии. Маркерами для раннего выявления АГ являются мелкие гиперинтенсивные очаги в глубинных отделах мозга, так называемые немые инфаркты, которые выявляются только методом МРТ (магнитно-резонансная томография). Со временем такие скрытые инфаркты приводят к когнитивным нарушениям, деменции, инсультам [7]. Диффузионно-взвешенная томография позволяет выявить изменения ткани головного мозга (ГМ) на ранней стадии развития патологии, определить направление диффузии молекул воды. Особенный интерес в диагностике заболеваний ГМ относится к методу спиновой маркировки артериальной крови, позволяющей отследить в кратчайшее время цереброваскулярные изменения на молекулярном уровне. Представленный метод дает возможность получить изображения почти всех биологических тканей, взвешенных по диффузии молекул воды *in vivo* [8].

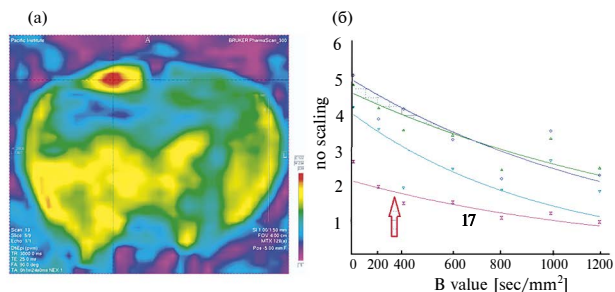


Рис. 2. Визуальная оценка интенсивности сигнала на диффузионном изображении аксиального среза головного мозга крысы, полученного методом МРТ; на участках, выделенных желто-красным цветом, скорость диффузии выше, по сравнению с участками, представленными синим цветом (а). Количественное определение скорости диффузии воды, выполненное с помощью измерения коэффициента диффузии; снижение диффузии отмечено на графике розовой линией, указанной стрелкой (б)

Своевременная диагностика ранних проявлений патологии позволяет предотвратить более глубокие последствия развития АГ. При использовании возможностей МРТ гиперинтенсивные очаги белого вещества ГМ у пациентов с предположением на АГ выявляются более чем в 85 % случаев. В связи с тем что контингент больных разнороден по возрасту и наличию осложнений сопутствующих заболеваний, соответственно, развитие патологии также разнородно. Для полноценного ответа на различные проявления АГ совершенствуются дополнительные методы диагностики и экспериментальные модели на животных. Используемая экспериментальная модель дает возможность исследовать механизм развития заболевания, а импульсная последовательность позволяет визуализировать скорость движения молекул воды (рис. 2, а, б) [9].

Множество антигипертензивных препаратов уже успешно используется в клинической практике, однако поиск новых средств остается актуальной задачей и активно продолжается в настоящее время. В серии наших экспериментов антиоксидант и хелатор молекулярного железа гистохром использован по прямому назначению на самой ранней стадии агрегации эритроцитов и тромбоцитов в микрокапиллярном русле [10]. Гистохром, вероятно, обладает нейропротективными свойствами благодаря своей способности прерывать каскад патологических реакций. Нейропротекторы известны как вещества, которые повышают устойчивость мозговой ткани к вредным воздействиям различной природы. Использование гистохрома перспективно как в комплексе с лекарствами прямого назначения, так и в качестве препарата превентивного действия. Потенциальный нейропротекторный эффект гистохрома на данной модели допускает защиту медиаторного и метаболического баланса, способность качественно влиять на состояние кровотока.

Индукция АГ осуществлялась согласно допустимым протоколам работы с лабораторными крысами. В исследовании использовали фармакопейный препарат «Гистохром®» в форме 0,02 % раствора для внутривенного введения (ТИБОХ ДВО РАН, Россия). Поведенческий статус животных оценивали в тесте «Открытое поле». Основную оценку ГМ проводили в режиме диффузионно-взвешенной импульсной последовательности с помощью магнитно-резонансного томографа «PharmaScan US 70/16», 7.0 T, 300 MHz (Bruker). Индуцированную АГ у крыс верифицировали как усиление сигнальных характеристик ткани ГМ в сравнении с интактными животными. Гиперинтенсивный сигнал от ткани говорит об избыточном скоплении жидкости в интра- и экстрацеллюлярном пространстве, что ассоциируется с гиперволемией. После курсового введения гистохрома отмечено снижение нарушенной церебральной микроциркуляции. Поведенческий статус животных характеризовался сокращением латентного периода выхода крыс в центр поля на 20 %, увеличением когнитивной активности в 1,6 раза и возрастанием исследовательского компонента поведения до 30 % [11]. На рис. 2 представлен фрагмент аксиального среза головного мозга крысы на фоне формирования АГ. На графике зафиксировано снижение скорости диффузии воды в подкорковой зоне ГМ (на рис. 2, А он отмечен линиями, пересекающимися под углом 90°).

Представленные результаты предполагают возможность использования антиоксидантных свойств препарата гистохром как превентивного средства в лечении АГ.

## Противомикробная активность метаболитов морских грибов

Последние пять лет в лаборатории проводился масштабный поиск ингибиторов различных бактериальных ферментов, которые рассматриваются как альтернатива мишеням «классических» антибиотиков. Одной из мишеней для этого поиска был выбран фермент сортаза А, контролирующий образование биопленок грамположительными бактериями *Staphylococcus aureus* (рис. 3). Ингибиторы сортазы А были обнаружены среди вторичных метаболитов морских грибов Коллекции морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН. Это церебросид флавузид В [12], ряд антрахинонов [13], циклопиановые дитерпены [14], хлорсодержащие пренилированные тетракетиды [15], трипептидные производные астеррипептиды А-С [16]. Более того, было установлено, что некоторые из этих соединений эффективно противодействуют повреждению клеток кожи при стафилококковой инфекции. Так, флавузид В снижал выход лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и уменьшал уровень апоптоза в инфицированных кератиноцитах человека линии HaCaT [12], а антрахиноны акруцихон А и  $\omega$ -гидроксипахибазин не только обеспечивали снижение выхода ЛДГ из инфицированных кератиноцитов, но и способствовали ускорению их миграции в *in vitro* модели инфицированной кожной раны [13].

Другой мишенью для поиска новых антибиотиков является уреаза – фермент, обеспечивающий метаболизм мочевины. Было обнаружено, что известный антимикотик гризеофульвин, продуцируемый морскими грибами, способен ингибировать активность уреазы и значительно увеличивать жизнеспособность кардиомиоцитов, инфицированных *S. aureus*, в *in vitro* модели инфекционного миокардита [17]. Эти исследования, проводимые совместно

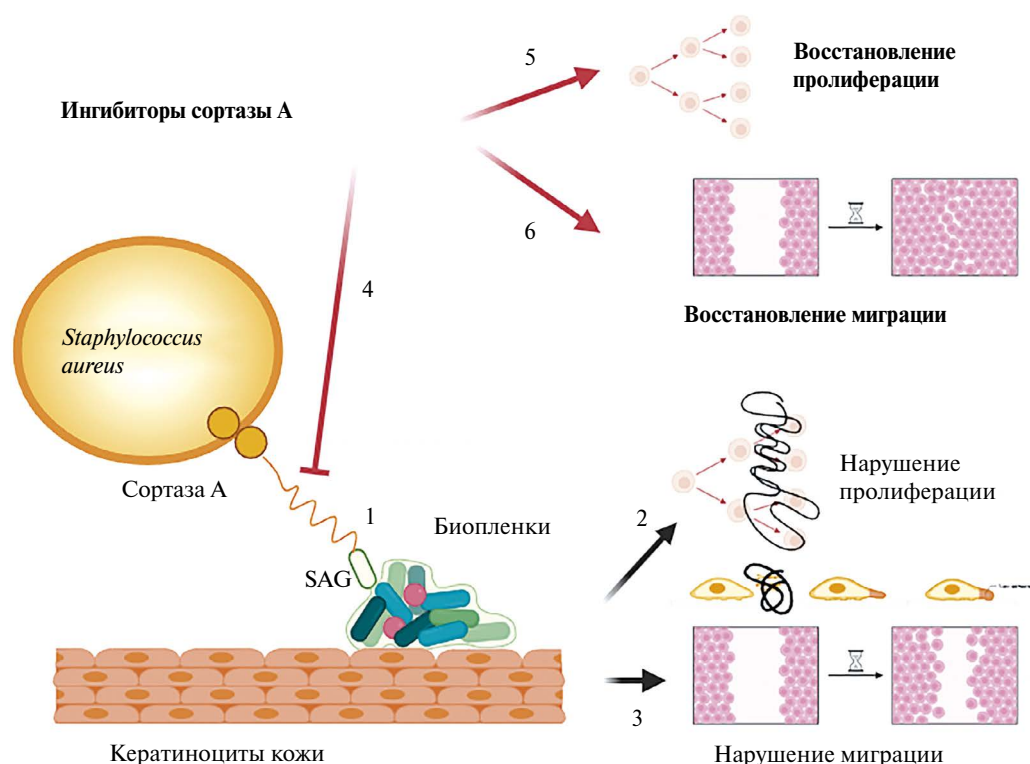


Рис. 3. Схема действия антибиотиков, мишенью которых является сортаза А. Фермент сортаза А – один из ключевых при образовании биопленок грамположительными бактериями *Staphylococcus aureus* (1), что при инфицировании клеток кожи приводит к торможению их пролиферации (2) и миграции (3). Ингибирование активности сортазы А (4) обеспечивает восстановление уровня пролиферации кератиноцитов (5) и их миграции (6)

с сотрудниками лаборатории химии микробных метаболитов (рук. к.х.н. Юрченко А.Н.) и лаборатории микробиологии (рук. чл.-корр. РАН, д.б.н. Михайлов В.В.) ТИБОХ ДВО РАН за довольно короткое время привели к обнаружению более чем 10 новых перспективных антибиотиков.

### **Поиск соединений с кардиопротекторным действием**

Поиск соединений с кардиопротекторным действием среди вторичных метаболитов морских грибов и беспозвоночных животных проводился с использованием культивируемой клеточной линии кардиомиоцитов крысы H9c2, что позволило оценить активность большого количества соединений. Было показано, что глиорозеин повышает жизнеспособность кардиомиоцитов крысы в модели хронической гипоксии и при действии токсина ротенона [18]. Феликарнезолин В также повышал жизнеспособность кардиомиоцитов в модели гипоксии, что сопровождалось снижением уровня активных форм кислорода и увеличением активности антиоксидантного фермента супероксид-дисмутазы [19]. Рабдастреллозид В также повышал жизнеспособность кардиомиоцитов в модели гипоксии, вызванной хлоридом кобальта (II) [20], а топорозиды А, С и D – при воспалении, вызванном культивированием кардиомиоцитов в присутствии воспалительного цитокина TNF- $\alpha$  [21].

### **Поиск соединений, обладающих нейропротекторной активностью**

Нами был проведен целенаправленный поиск нейропротекторов среди низкомолекулярных метаболитов некоторых морских беспозвоночных и микроорганизмов. В результате скрининга обнаружен ланостановый тритерпеноид ацетилпенастерон, выделенный из морской губки *Penares* sp. Это соединение обладает выраженными цитопротекторными свойствами: эффективно увеличивает жизнеспособность клеток в модели болезни Паркинсона, индуцированной в нейрональных клетках нейротоксином паракватом (PQ), существенно снижает уровень активных форм кислорода (АФК) и устраняет митохондриальную дисфункцию, а также индуцирует синтез шаперона (белка теплового шока) Hsp70 в клетках, что приводит к восстановлению жизнеспособности нейронов и увеличению числа нейритов, формирующих нейрональную сеть [22].

Изучалось цитопротекторное действие нескольких поликетидов из морского гриба *Aspergillus candidus* КММ 4676 и цереброзида флавузида В из морского гриба *Penicillium islandicum* в отношении клеток Neuro-2a в присутствии нейротоксинов ротенона и PQ. Было показано, что исследованные соединения значительно увеличивают жизнеспособность клеток, обработанных нейротоксинами, и снижают уровни токсичных АФК в них, что указывает на перспективность дальнейшего исследования данных метаболитов в качестве нейропротекторов [23].

Данные молекулярного докинга показали, что ряд поликетидов и алкалоидов с цитопротекторными свойствами из морских грибов: глиорозеин, niveоглауцин А, 6-гидрокси-N-ацетил- $\beta$ -оксотриптамин, 4-гидроксициталон и 4-гидрокси-6-дегидроксициталон могут образовывать водородные связи с аминокислотными остатками Arg415 или Arg483 в P1-P2 карманах в сайте связывания Nrf2 и домена Kelch белка Keap1. Эти положения малых молекул в домене Kelch способны ингибировать взаимодействие Keap1 с Nrf2 и усиливать ядерную транслокацию Nrf2 из цитозоля, что может приводить к сверхэкспрессии родственных генов, обеспечивающих антиоксидантный ответ [24].

Природные и синтетические 1,4-нафтохиноны (1,4-NQs) характеризуются широким спектром биологической активности. За последнее десятилетие у этих соединений обнаружены кардиопротекторные, противоишемические, гепатопротекторные, нейропротекторные свойства, установлена их роль в защите от нейродегенеративных заболеваний, более детально изучена их противовоспалительная, противомикробная и противоопухолевая активность, открыты новые, ранее неизвестные внутриклеточные молекулярные мишени и механизмы



действия. Некоторые соединения этого класса уже используются в качестве лекарственных препаратов, а некоторые вещества могут быть использованы как биохимические инструменты и зонды для неинвазивного обнаружения патологических участков в клетках и тканях при инфаркте миокарда и нейродегенеративных заболеваниях с применением современных методов молекулярной визуализации [25].

В лаборатории органического синтеза природных соединений ТИБОХ ДВО РАН (рук. д.х.н. Ануфриев В.Ф.) была создана мини-библиотека из порядка 150 синтетических производных 1,4-NQs. На начальном этапе нами изучена цитотоксическая и гемолитическая активность новых тетрациклических конъюгатов на основе производных биологически активных хинонов: 5,8-диметокси-1,4-нафтохинона, 5-гидрокси-1,4-нафтохинона и серии пер-*O*-ацетил-1-меркаптомоносахаридов. Установлено, что тетрациклические производные на основе 5,8-диметокси-1,4-нафтохинона не активны. Самую высокую цитотоксичность в отношении нейрональных клеток Neuro-2a проявили линейные тетрациклические производные юглона. Шесть тетрациклических конъюгатов, несущих гидроксильную группу в нафтохиноновом ядре, показали высокую цитотоксическую активность со значениями  $EC_{50}$  (эффективная концентрация вещества, подавляющая жизнеспособность 50 % клеток) в диапазоне от 0,3 до 1,2 мкМ и отсутствие гемолитической активности до 25 мкМ [26].

Были проведены исследования цитотоксической и гемолитической активности 40 новых синтетических тиогликозидных производных 1,4-нафтохинона в отношении различных линий опухолевых клеток человека. Использовалась панель клеток, включающая нейробластому SH-SY5Y, аденокарциному толстого кишечника HCT-116, лейкемию ТНР-1 и аденокарциному шейки матки HeLa. Для сравнения использовали неопухолевую клеточную линию почек эмбриона человека HEK-293. В результате было отобрано 10 соединений, которые в микромолярном диапазоне концентраций подавляли рост определенных опухолевых линий. Среди них соединения с лабораторными кодами U-732 и U-733 проявили сопоставимую цитотоксическую активность в отношении всех исследуемых клеточных линий со значением полумаксимальной эффективной концентрации ( $EC_{50}$ ) в диапазоне 2,95–5,09 мкМ. Наиболее эффективным оказалось соединение U-704 в отношении клеток HeLa с  $EC_{50} = 2,25$  мкМ и HCT-116 с  $EC_{50} = 3,49$  мкМ. Производное U-703 селективно подавляло рост клеток лейкемии человека ТНР-1 с  $EC_{50} = 4,68$  мкМ, в то время как U-733 наиболее эффективно ингибировал жизнедеятельность клеток нейробластомы человека SH-SY5Y с  $EC_{50} = 3,71$  мкМ. В результате скрининга гемолитической активности, проводимого на эритроцитах из крови доноров, установлено, что фактически все исследуемые тиогликозидные производные 1,4-NQs неактивны в диапазоне концентраций до 100 мкМ. Исключением является лишь одно соединение U-700, для которого полумаксимальная эффективная концентрация гемолиза составила 4,64 мкМ, а цитотоксическая активность для всех типов клеток была  $>10$  мкМ.

Для 1,4-NQs, проявляющих цитотоксическую активность, осуществлено построение QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationship) моделей связи химическая структура – цитотоксическая активность и проведен фармакофорный анализ. Проанализировано порядка 400 дескрипторов, описывающих физико-химические свойства химических соединений и отобрано 12 значимых дескрипторов. Установлено, что повышение цитотоксической активности значительно коррелирует с увеличением общего размера молекул и площади поверхности гидрофобных атомов этих молекул.

Важную роль в проявлении токсичности играет углеводный компонент с гидрофобными функциональными группами (AcO-) как для –O-, так и для –S- гликозидов. Заместители у C-2 играют ключевую роль в проявлении цитотоксической активности производных нафтазарина. Производные с метоксигруппой при C-2 или несущие остаток ацетилированного моносахарида в положении C-3 обязательно проявляют цитотоксическую активность, в то же время все производные с гидроксигруппой при C-2 нетоксичны [27].

В результате высокопродуктивного скрининга мини-библиотеки 1,4-NQs отобран ряд соединений, эффективно защищающих нейрональные клетки Neuro-2a в моделях БП (болезнь Паркинсона) *in vitro*, индуцированной нейротоксинами паракватом (PQ)

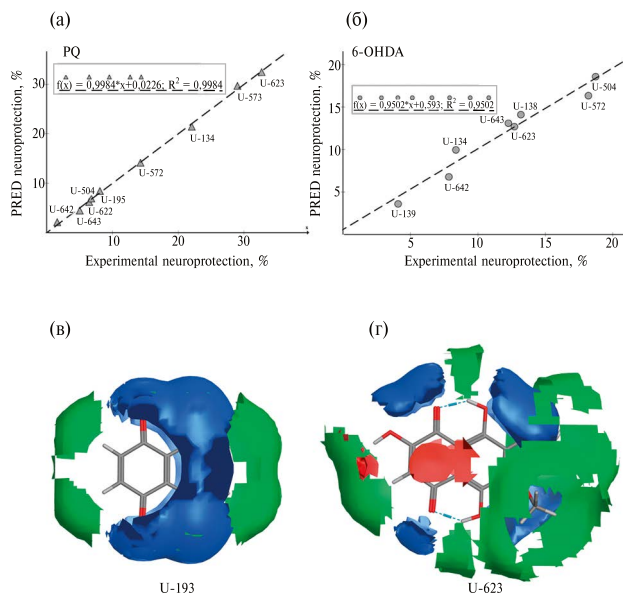


Рис. 4. QSAR анализ связи химическая структура – нейропротекторная активность. Прогнозируемая нейропротекторная активность (в %) 1,4-NQs в зависимости от экспериментальных значений для линии клеток Neuro-2a в присутствии PQ (а) или 6-OHDA (б). Электростатическая карта, предсказывающая предпочтительные местоположения для гидрофобных участков (зеленый цвет), акцепторов водородных связей (синий цвет), доноров водородных связей (красный цвет) для неактивного U-193 (в) и высокоактивного нейропротектора U-623 (г)

и 6-гидроксидамином (6-OHDA). Соединения значительно защищают клетки от подавления активности фермента эстеразы, лизиса биомембран и нормализуют клеточный цикл в присутствии нейротоксинов. Защитные эффекты связаны с их выраженной способностью улавливать токсичные свободные радикалы, образующиеся под действием нейротоксинов, с подавлением окислительного стресса и нормализацией функции митохондрий. Проведенный количественный QSAR анализ связи структура–активность *in silico* показал, что гидрофобность, полярность, заряд, форма молекул и молекулярная масса имеют решающее значение в проявлении нейропротекторных свойств исследуемых соединений [рис. 4] [28].

Были выявлены два эффективных соединения, U-443 и U-573, с высоким потенциалом защиты нейрональных клеток Neuro-2a от токсического воздействия ротенона на модели нейротоксичности *in vitro*. Выбранные 1,4-NQs продемонстрировали способность снижать окислительный стресс за счет снижения уровней АФК и оксида азота (NO) в нейрональных клетках Neuro-2a и макрофагах RAW 264.7 и значительные антиоксидантные свойства в тесте железоиндуцированного окисления липидов в гомогенате головного мозга мыши. Показано, что в присутствии исследуемых 1,4-NQs нормализовалась функция митохондрий и восстанавливался митохондриальный мембранный потенциал, нарушенные воздействием нейротоксина. Кроме того, в низких концентрациях эти соединения значительно снижали уровни провоспалительных цитокинов TNF-α и IL-1β и заметно ингибировали активность циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) в макрофагах RAW 264.7. Результаты докинга продемонстрировали, что 1,4-NQs связываются с активным центром ЦОГ-2 аналогично селективному ингибитору этого фермента SC-558. Оба вещества значительно улучшили поведенческие реакции у самок мышей CD1 с индуцированной ротеноном ранней стадией БП *in vivo* (рис. 5). Предполагается, что 1,4-NQs U-443 и U-573 могут защищать нейроны и микроглию благодаря своей мощной антиоксидантной и противовоспалительной активности [29].

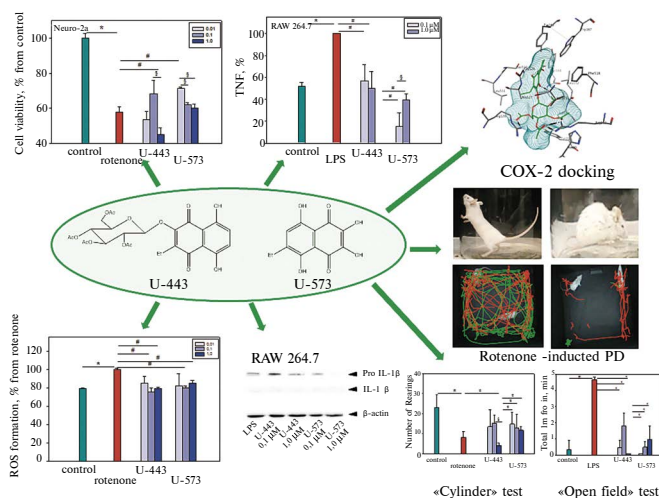


Рис. 5. Схема действия производных 1,4-NQs U-443 и U-573, защищающих нейрональные клетки Neuro-2a и макрофагальные клетки RAW 264.7 от нейротоксического действия ротенона, оказывающих противовоспалительный эффект и восстанавливающих когнитивное поведение у животных с индуцированной ранней стадией БП

## Производные 1,4-нафтохинона, блокирующие пуриnergические P2X7 рецепторы

Пуриnergические P2X рецепторы экспрессируются в клетках и тканях многих видов животных, включая человека. Они играют важную роль в различных физиологических процессах и способны модулировать сердечный ритм, инициировать сокращение клеток скелетных мышц и различных тканей гладких мышц, а также модулировать иммунный ответ. Эти рецепторы участвуют во многих патологических состояниях и могут являться молекулярными мишенями действия лекарственных соединений. Терапевтический потенциал агонистов и антагонистов P2X рецепторов в настоящее время исследуется при ряде расстройств, в том числе при хронической невропатической и воспалительной боли, депрессии, кистозном фиброзе, сухости глаз, синдроме раздраженного кишечника, интерстициальном цистите, дисфункции мочевого пузыря, раке и ряде внутриклеточных инфекций. Однако эти исследования сдерживаются отсутствием эффективных и селективных модуляторов пуринорецепторов. Поэтому поиск новых соединений, способных активировать или блокировать P2X рецепторы, является чрезвычайно актуальной задачей [30].

Рецептор P2X7 типа представляет собой АТФ-управляемый ионный канал, а также потенциальную терапевтическую мишень для разработки новых лекарств. В лаборатории органического синтеза природных соединений ТИБОХ ДВО РАН к.х.н. Полоник С.Г. и к.х.н. Сабуцкий Ю.Е. синтезировали серию новых производных 1,4-NQs, было исследовано их антагонистическое действие против P2X7 рецепторов мыши. Нами изучалась способность тестируемых веществ блокировать АТФ-индуцированный приток  $Ca^{2+}$  в нейрональные клетки Neuro-2a мыши, в результате чего выбраны четыре наиболее эффективных вещества: 1,4-нафтохинонтиоглюкозиды U-548 и U-557, а также их тетрациклические конъюгаты U-286 и U-556.

Биологическое тестирование этих соединений выявило значительное ингибирование функций рецептора *in vitro*. Анализ *in silico* показал высокую вероятность взаимодействия 1,4-NQs с P2X7 рецептором. Полученные данные указывают на потенциал связывания рассматриваемых соединений с аллостерическим сайтом, расположенным во внеклеточной области P2X7 рецептора. Добавление растворов соединений к клеткам приводило к заметной блокаде АТФ-индуцированного поглощения бромистого этидия (EtBr) и флуоресцентного красителя YO-PRO-1, а также выраженному снижению продукции

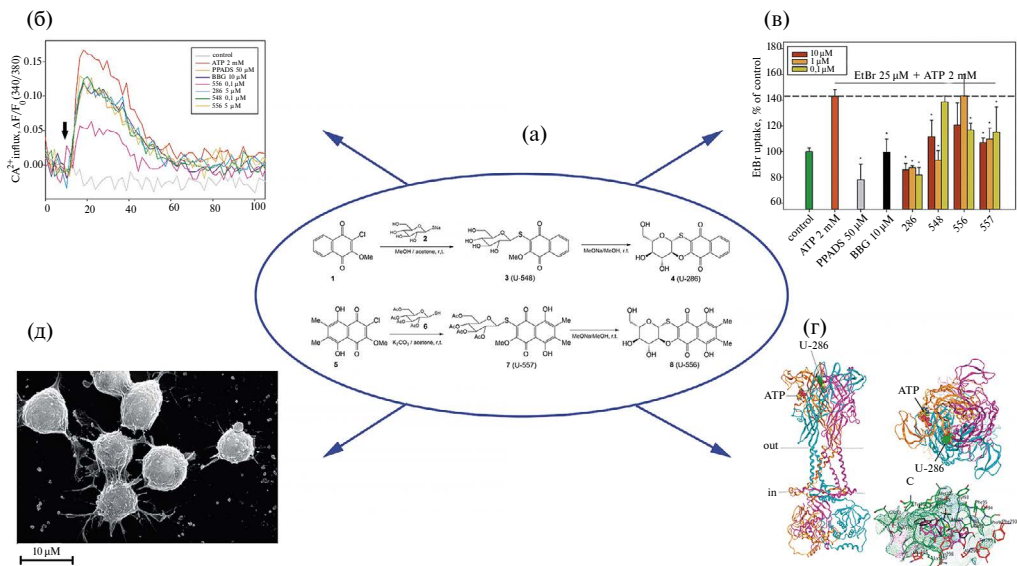


Рис. 6. 1,4-NQs модулируют функционирование P2X7 рецепторов. (а) – схема синтеза 1,4-нафтохинонгликозидов. (б) – влияние предварительной инкубации с 1,4-NQs (0,1; 1,0 и 5,0 мкМ), BBG (бриллиантовый синий G, 10 мкМ) и PPADS (пиридоксальфосфат-6-азофенил-2',4'-дисульфоновая кислота, 50 мкМ) на вход ионов  $Ca^{2+}$ , вызванный АТФ (2 мМ) в клетках нейробластомы Neuro-2a мыши. (в) – влияние предварительной инкубации клеток с 1,4-NQs (0,1; 1,0 и 10,0 мкМ) на поглощение EtBr. (г) – молекулярное моделирование; гомологическая модель тримерной структуры P2X7 рецептора мыши (mP2X7R, UniProt ID Q9Z1M0) в закрытой форме с 1,4-NQs. (д) – изображение клеток нейробластомы Neuro-2a мыши

АФК и NO и защите жизнеспособности нейрональных клеток от токсического действия высоких концентраций АТФ (рис. 6) [31].

Было исследовано анальгезирующее и противовоспалительное действие 1,4-NQs U-286, U-548 и U-556. Благодаря использованию таких подходов, как спектрофлуориметрия, спектрофотометрия, вестерн-блоттинг и иммуноферментный анализ, была установлена способность данных соединений ингибировать воспаление, опосредованное P2X7 рецептором. Воспаление индуцировалось добавлением АТФ/ЛПС в макрофагальных клетках RAW 264.7 мыши. Установлено, что выбранные соединения способны ингибировать АТФ-индуцированный приток кальция и продукцию активных форм кислорода, а также проявляют выраженную антиоксидантную активность в гомогенате головного мозга мышей. Кроме того, соединения U-286 и U-548 снижали ЛПС-индуцированную активность фермента ЦОГ-2, высвобождение провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  в макрофагальных клетках и значительно защищали макрофаги от токсического действия АТФ и ЛПС.

Соединение U-548 продемонстрировало существенный ингибирующий эффект в антиноцицептивных тестах, уменьшая количество корчей в тесте «Укусные корчи» и латентное время облизывания задних лап мышей в тесте «Горячая пластина». Связывание нафтохинон-гликозидного конъюгата U-556 с внеклеточной частью P2X7 рецептора подтверждено методом поверхностного плазмонного резонанса, в результате которого были установлены кинетические характеристики образования данного комплекса. Соединения U-286, U-548 и U-556 оказались способны почти полностью уменьшить размер вызванного каррагинаном отека лапы через сутки и обладали мощной противовоспалительной активностью. Наблюдаемые эффекты в макрофагах также сопровождалась способностью изученных 1,4-NQs ингибировать образование макропоры P2X7 рецептора, связанного с воспалением и ноцицептивной болью [32–34].

Полученные результаты позволяют предположить, что соединения U-286, U-548, U-556 и U-557 могут стать перспективными моделями для разработки и создания новых блокаторов P2X7 рецепторов и лекарственных средств, обладающих противовоспалительной,

противоболевой и нейропротекторной активностью. На основе данных исследований планируется разработка эффективных препаратов против хронических воспалительных патологий, нейропатической боли и нейродегенеративных заболеваний.

## Противоопухолевая активность тритерпеновых гликозидов голотурий

Цитотоксическая и противоопухолевая активности гликозидов голотурий (морских огурцов) в отношении различных типов клеток и клеточных линий, включая опухолевые клетки человека, изучаются на протяжении многих лет. Однако молекулярный механизм противоопухолевого действия тритерпеновых гликозидов до сих пор остается неясным. Мы продолжаем изучение тритерпенового гликозида кукумариозида  $A_2-2$  ( $CA_2-2$ ), выделенного из дальневосточной съедобной промысловой голотурии кукумария японская (*Cucumaria japonica*). Установлено, что  $CA_2-2$  влияет на жизнеспособность опухолевых клеток в микромолярных концентрациях, в то же время в субцитотоксическом диапазоне концентраций гликозид проявляет цитостатический эффект, блокируя клеточную пролиферацию и биосинтез ДНК в S-фазе. Он индуцирует апоптоз в опухолевых клетках каспаза-зависимым способом, минуя активацию p53-зависимого сегмента. Также мы установили, что  $CA_2-2$  проявляет выраженный противоопухолевый эффект *in vivo* [35].

Дальнейшее исследование эффективности, токсичности и механизма действия  $CA_2-2$  мы проводили с использованием модели метастатического кастрационно-устойчивого рака предстательной железы (CRPC) *in vitro*.  $CA_2-2$  индуцировал остановку клеточного цикла в фазе G<sub>2</sub>/M в клетках PC-3 рака предстательной железы человека и вызывал каспаза-зависимый апоптоз. Кроме того, гликозид ингибировал образование и рост колоний клеток CRPC при низких микромолярных концентрациях. Впервые был проведен протеомный анализ, выполненный с использованием двумерного гель-электрофореза с последующим масс-спектрометрическим анализом и биоинформационной оценкой, который выявил изменения в белках, участвующих в клеточных процессах, таких как метастатический потенциал, инвазия и апоптоз (рис. 7). Среди белков, экспрессия которых изменяется под воздействием  $CA_2-2$ , с помощью протеомного подхода идентифицированы кератин 81,

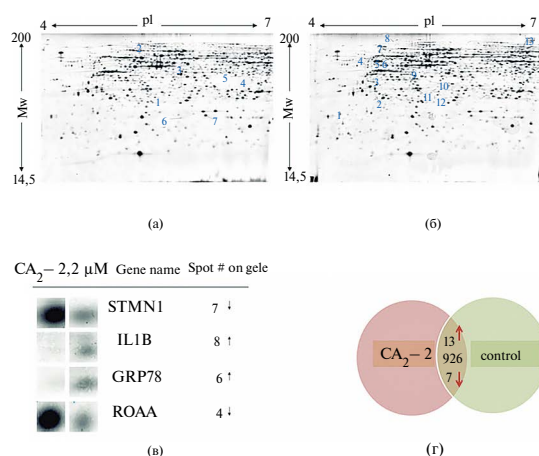


Рис. 7. Изображения двумерных гель-электрофорезов белков клеток линии PC-3 в контроле (а) и после инкубирования в течение 48 ч с  $CA_2-2$  (б). Увеличенные изображения пятен на геле, соответствующие регулируемым белкам-мишеням, под действием  $CA_2-2$ ; знаком «+» обозначены пятна, соответствующие белкам, экспрессия которых менялась под действием  $CA_2-2$ , знаком «—» – белки-мишени контрольных клеток (в). Диаграмма Венна влияния  $CA_2-2$  на экспрессию белков в опухолевых клетках простаты человека линии PC-3. Цифры показывают количество обнаруженных белков; стрелками указаны направления регулирования экспрессии (г)

CgkII, IL-1 $\beta$  и катепсин В. Эти эффекты были подтверждены на уровне белка с помощью вестерн-блоттинга. Полученные результаты демонстрируют выраженную противоопухолевую активность CA<sub>2</sub>-2 в модели рака предстательной железы и дают представление о молекулярном механизме, лежащем в основе этого действия [36].

Устойчивость опухолевых клеток одновременно ко многим токсическим противоопухолевым препаратам, с помощью которых проводится химиотерапия онкологических заболеваний, не сходным по химической структуре и механизму действия, достаточно давно известный феномен, получивший название «множественная лекарственная устойчивость» (МЛУ). Наиболее часто встречающийся механизм МЛУ – активация трансмембранных транспортных белков, выводящих различные вещества из клетки. Одним из основных белков этого типа является Р-гликопротеин. Используя технику молекулярных флуоресцентных зондов и спектрофлуориметрию, мы установили, что в нецитотоксичных концентрациях CA<sub>2</sub>-2 из голотурии *C. japonica* и фрондозид А из *C. ohotensis*, а также их комплексы с холестерином блокируют активность мембранно-транспортного Р-гликопротеина в клетках асцитной формы карциномы Эрлиха (АКЭ) мыши. Поскольку блокирование активности Р-гликопротеина приводит к подавлению МЛУ, эти гликозиды и их комплексы с холестерином могут рассматриваться как потенциальные ингибиторы множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток [37].

На следующем этапе исследований мы применили анализ выброса кальцеина и измерение поглощения и удерживания стандартного цитостатика – доксорубина (DOX) в опухолевых клетках АКЭ, а также определение цитотоксического и противоопухолевого эффектов DOX в сочетанном варианте с CA<sub>2</sub>-2. Так, обработка клеток АКЭ тритерпеновым гликозидом CA<sub>2</sub>-2 блокировала отток кальцеина и DOX из раковых клеток и увеличивала накопление и цитотоксичность DOX в клетках АКЭ. Более того, предварительная обработка мышей с АКЭ гликозидом CA<sub>2</sub>-2, затем трансплантация опухолевых клеток свежим животным и последующее лечение этих мышей DOX значительно увеличили среднюю продолжительность жизни мышей, несущих опухоль, и, следовательно, значительно увеличили противоопухолевый эффект DOX *in vivo* [38].

Недавно было изучено порядка 20 тритерпеновых гликозидов, выделенных из кукумарии *C. djakonovi*. Эти соединения были исследованы на токсичность в отношении ряда опухолевых клеток человека (MCF-7, T-47D, MDA-MB-231, HL-60), а также нормальных клеток молочной железы человека MCF-10A и почек эмбриона НЕК-293. Все гликозиды были протестированы на мембранолитическую активность в отношении эритроцитов человека. Наиболее агрессивная трижды отрицательная клеточная линия рака молочной железы MDA-MB-231 оказалась наиболее чувствительной к действию гликозидов по сравнению с другими раковыми клетками. Охотозид А<sub>1</sub>-1 и кукумариозид А<sub>0</sub>-1 значительно ингибировали миграцию, а также образование и рост колоний клеток MDA-MB-231. Дьяконовиозид Е<sub>1</sub> продемонстрировал избирательное действие в отношении ER-позитивных линий клеток MCF-7 и трижды негативных линий клеток MDA-MB-231, в то время как токсический эффект в отношении нормальных клеток эпителия молочной железы (MCF-10A) отсутствовал. Кукумариозид А<sub>2</sub>-5 ингибировал образование и рост колоний раковых клеток до 44 % и миграцию опухолевых клеток до 85 % от контроля [39, 40].

### **Иммуномодулирующая активность кукумариозидов А<sub>2</sub>-2**

В своих ранних работах мы установили, что тритерпеновый гликозид CA<sub>2</sub>-2 проявляет ярко выраженную иммуномодулирующую активность [41]. Показано, что в основе иммуномодулирующего действия исследуемого природного соединения лежит его способность взаимодействовать прежде всего с клеточными мембранами иммунокомпетентных клеток и изменять их физико-химические свойства. Впервые обнаружено, что CA<sub>2</sub>-2 в наномолярных концентрациях обратимо увеличивает микровязкость биомембран, что сопровождается обратимым изменением мембранного потенциала, деполаризацией биомембран и резким обратимым увеличением концентрации ионов Са<sup>2+</sup> в цитоплазме за счет его поступления из внеклеточного пространства. Впервые показано, что на мембранах макрофагов существуют как минимум два сайта связывания CA<sub>2</sub>-2 (высокоаффинный и низкоаффинный), характеризующихся различными константами диссоциации. Впервые

установлено, что одними из молекулярных мишеней действия  $CA_2-2$  являются мембранные пуринергические рецепторы P2X семейства (P2X1 и P2X4 типа), обеспечивающие  $Ca^{2+}$ -проводимость в мембранах макрофагов и активацию клеток. Показано, что  $CA_2-2$  действует в качестве аллостерического модулятора пуриновых рецепторов. Связываясь с ними, гликозид усиливает ответ клеток на АТФ и частично снимает эффект десенсibilизации рецепторов. Установлено, что в перитонеальной полости мыши присутствует популяция крупных зрелых F4/80+ макрофагов, характеризующихся наличием высокой плотности пуриновых рецепторов P2X1 и P2X4 типа. Именно крупные F4/80+/P2X+ перитонеальные макрофаги принимают участие в  $Ca^{2+}$ -ответе на аппликацию  $CA_2-2$  [42]. Методами радиоспектроскопии, масс-спектрометрией и масс-спектрометрического имиджинга впервые изучены и определены фармакокинетические параметры поведения  $CA_2-2$  в селезенке мыши при внутрибрюшинном введении. Обнаружено, что  $CA_2-2$  локализуется главным образом в области серозной оболочки селезенки и, в меньшей степени, проникает в центральную часть органа, где располагается красная и белая пульпа. Показано, что введение  $CA_2-2$  мышам приводит к выраженной активации макрофагов селезенки и увеличению образования маркеров активации i**ba**-1, IL-1**β**, iNOs, АФК и NO с изменением фенотипа (поляризации) макрофагов на M1 фенотип. Получены масс-спектрометрические профили пептидов/белков с использованием масс-спектрометрического анализа различных участков срезов селезенки, изолированных с помощью метода лазерной микродиссекции. Установлено, что иммуностимуляция животных путем введения  $CA_2-2$  приводит к выраженным изменениям интенсивности характеристических пиков пептидов/белков селезенки, прежде всего в красной пульпе, где локализуются макрофаги [43–45].

Клеточная иммунотерапия, основанная на активации и доставке иммунных клеток с противоопухолевыми свойствами непосредственно к опухоли в организме, является одним из новейших и наиболее быстро развивающихся подходов в лечении рака. Несмотря на интенсивные разработки адоптивной терапии Т-лимфоцитами и НК-клетками, их использование против солидных опухолей остается малоэффективным вследствие слабого проникновения в опухолевые ткани. В связи с этим макрофаги, покидающие кровоток и свободно проникающие в новообразования, являются наиболее подходящими клетками для таргетной противоопухолевой иммунотерапии солидных опухолей. Однако их применение тормозится отсутствием эффективных и безопасных модуляторов активности макрофагов [46].



Рис. 8. Стратегия клеточной противораковой иммунотерапии. Мышиные макрофаги активировали тритерпеновым гликозидом  $CA_2-2$  и поляризовали в противоопухолевый M1 фенотип *ex vivo*. Затем макрофаги нагружали наночастицами, конъюгированными с флуоресцентным зондом ближнего инфракрасного диапазона CyTE777. Активированные и поляризованные флуоресцентные M1 макрофаги вводили мышам с опухолью для визуализации и локализации макрофагов, а также для проведения противоопухолевой клеточной иммунотерапии

Мы обнаружили, что  $CA_2-2$  способен в наномолярных концентрациях активировать и поляризовать макрофаги мыши в M1 фенотип *ex vivo*. Это приводит к выраженному усилению противоопухолевой активности макрофагов в отношении нескольких типов опухолевых клеток мыши *in vitro*. Макрофаги M1 уверенно распознают и быстро проникают в ткани опухоли в отличие от неактивированных макрофагов *in vivo*. Это, в свою очередь, приводит к заметному увеличению количества M1 макрофагов в опухолевых тканях, к существенному подавлению роста опухолей, включая трижды негативный рак молочной железы, и значимому увеличению средней продолжительности жизни животных-опухоленосителей (рис. 8).

Работа была проведена совместно с сотрудниками Национального университета Ян Мин Цзяодун, Тайвань (National Yang Ming Chiao Tung University, Taiwan). Использование природного иммуномодулятора  $CA_2-2$  может стать очень перспективным подходом для разработки стратегии противоопухолевой клеточной иммунотерапии. Наше исследование показывает, что клеточная терапия на основе макрофагов может быть мощным терапевтическим вариантом против солидных типов опухолей [47].

## Заключение

Таким образом, наши исследования природных и синтетических соединений за последние 5 лет привели к открытию целого ряда новых свойств биологических молекул и установлению отдельных элементов в молекулярных механизмах их действия. Показано, что определенные генотипы гречихи, культивируемые с использованием высоких концентраций цинка и меди, являются перспективными биосистемами для синтеза флавоноида рутина, ценного в фармакологии и медицине. Методом магнитно-резонансной томографии головного мозга крыс показана эффективность применения препарата гистохром в качестве превентивного средства в лечении артериальной гипертензии. Благодаря проводимому в лаборатории масштабному поиску новых противомикробных средств среди вторичных метаболитов морских грибов обнаружен ряд низкомолекулярных соединений, селективно ингибирующих бактериальные ферменты сортазу А и уреазу. Это приводит к выраженному подавлению данными соединениями стафилококковой инфекции в моделях инфицированной кожной раны и проявлению кардиопротекторных свойств в условиях гипоксии и инфекционного заражения кардиомиоцитов. Был проведен многопараметрический скрининг биологической активности среди синтетических производных 1,4-нафтохинона. Обнаружено, что определенные нафтохиноны обладают нейропротекторной и противовоспалительной активностью и способны эффективно защищать нейрональные и макрофагальные клетки от различных повреждений, вызванных нейротоксинами и индукторами воспаления. Для нескольких соединений установлен выраженный нейропротекторный эффект в модели болезни Паркинсона *in vivo*. Среди производных 1,4-нафтохинона найдены эффективные блокаторы пуриnergических рецепторов P2X7 типа, ингибирование которых приводит к существенному подавлению ноцицептивной боли и нейровоспаления. Использование протеомного анализа позволило впервые установить детали молекулярного механизма противоопухолевого действия тритерпенового гликозида  $CA_2-2$ . Обнаружены ключевые внутриклеточные белковые мишени, экспрессия которых меняется под действием этого соединения в клетках рака предстательной железы человека, что сопряжено с проявлением противоопухолевого эффекта. Впервые продемонстрировано, что  $CA_2-2$  способен в наномолярных концентрациях активировать и поляризовать макрофаги мыши в противоопухолевый M1 фенотип. Использование таких макрофагов приводит к существенному подавлению роста опухолей и значимому увеличению средней продолжительности жизни животных-опухоленосителей при проведении клеточной противоопухолевой иммунотерапии.

Результаты проводимых в лаборатории исследований и последующие доклинические испытания отобранных лидерных соединений, полученных из уникальных наземных растений Дальнего Востока России и биологических ресурсов Мирового океана, а также их синтетических аналогов, могут заложить основу для создания новых отечественных биологически активных добавок, продуктов функционального питания и лекарственных средств.



## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Клыков А.Г., Барсукова Е.Н., Чайкина Е.Л., Анисимов М.М. Перспективы и результаты селекции *Fagopyrum esculentum* Moench на повышение содержания флавоноидов // Вестн. ДВО РАН. 2019. № 3. С. 5–16.
2. Барсукова Е.Н., Клыков А.Г., Чайкина Е.Л. Использование метода культуры ткани для создания новых форм *Fagopyrum esculentum* Moench // Рос.с.-х. наука. 2019. № 5. С. 3–6.
3. Klykov A., Chaikina E., Anisimov M., Borovaya S., Barsukova E. Rutin content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench, *F. tataricum* (L.) Gaertn. and *F. cymosum* Meissn.) growth in the Far East of Russia // Folia Biologica et Geologica. 2020. Vol 61 (1). P. 61–68. <https://doi.org/10.3986/fbg0068>.
4. Барсукова Е.Н., Клыков А.Г., Фисенко П.В., Боровая С.А., Чайкина Е.Л. Использование методов биотехнологии в селекции гречихи на Дальнем Востоке // Вестн. ДВО РАН. 2020. №. 4 (212). С. 58–66.
5. Borovaya S., Klykov A., Barsukova E., Chaikina E. Study of the effect of selective media with high doses of zinc on regeneration ability and rutin accumulation in common buckwheat in // Plants. 2022. Vol. 11 (3). P. 264. <https://doi.org/10.3390/plants11030264>.
6. Барсукова Е.Н., Клыков А.Г., Чайкина Е.Л. Селекционная оценка сортообразцов гречихи посевной (*Fagopyrum esculentum* Moench), полученных с использованием ионов меди и цинка // Аграрная наука. 2023. Т. 374, № 9. С. 84–89. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-374-9-84-89>.
7. Агафонова И.Г., Котельников В.Н., Гельцер Б.И. Особенности структурно-функциональных изменений грудной аорты при экспериментальной артериальной гипертензии // Бюл. эксперим. биол. мед. 2022. Т. 174, № 9. С. 289–293. DOI: 10.47056/0365-9615-2022-174-9-289-293.
8. Агафонова И.Г., Котельников В.Н., Гельцер Б.И. Магнитно-резонансная томография головного мозга крыс в оценке нейропротективных эффектов гистохрома при экспериментальной артериальной гипертензии // Бюл. эксперим. биол. мед. 2021. Т. 172, № 9. С. 277–282. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-172-9-277-282.
9. Применение гистохрома в качестве нейропротекторного средства, предотвращающего диффузионные изменения ткани головного мозга на ранней стадии развития артериальной гипертензии: пат. № 2021110258 РФ / Агафонова И.Г., Мищенко Н.П., Котельников В.Н., Гельцер Б.И.; заявл. 12.04.2021; опубл. 07.02.2022.
10. Agafonova I.G., Kotelnikov V.N., Geltser B.I., Kolosova N.G., Stonik V.A. Assessment of combined therapy of histochrome and nebivolol as angioprotectors on the background of experimental hypertension by magnetic resonance angiography // Appl. Magn. Resonance. 2018. Vol. 49 (2). P. 217–225. <https://doi.org/10.1007/s00723-017-0960-3>.
11. Агафонова И.Г., Котельников В.Н., Гельцер Б.И. Оценка морфофункционального статуса головного мозга крыс Вистар на фоне артериальной гипертензии методом диффузионно-взвешенной томографии // Бюл. эксперим. биол. мед. 2021. Т. 171, № 2. С. 247–252. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-247-252.
12. Chingizova E.A., Menchinskaya E.S., Chingizov A.R., Pisyagin E.A., Girich E.V., Yurchenko A.N., Guzhova I.V., Mikhailov V.V., Aminin D.L., Yurchenko E.A. Marine fungal cerebroside flavuside b protects HaCaT keratinocytes against *Staphylococcus aureus* induced damage // Mar. Drugs. 2021. Vol. 19 (10). P. 553. <https://doi.org/10.3390/md19100553>.
13. Zhuravleva O.I., Chingizova E.A., Oleinikova G.K., Starnovskaya S.S., Antonov A.S., Kirichuk N.N., Menshov A.S., Popov R.S., Kim N.Y., Berdyshev D.V., Chingizov A.R., Kuzmich A.S., Guzhova I.V., Yurchenko A.N., Yurchenko E.A. Anthraquinone derivatives and other aromatic compounds from marine fungus *Asteromyces cruciatus* KMM 4696 and their effects against *Staphylococcus aureus* // Mar. Drugs. 2023. Vol. 21 (8). P. 431. <https://doi.org/10.3390/md21080431>.
14. Yurchenko A.N., Zhuravleva O.I., Khmel O.O., Oleynikova G.K., Antonov A.S., Kirichuk N.N., Chausova V.E., Kalinovsky A.I., Berdyshev D.V., Kim N.Y., Popov R.S., Chingizova E.A., Chingizov A.R., Isaeva M.P., Yurchenko E.A. New cyclopiane diterpenes and polyketide derivatives from marine sediment-derived fungus *Penicillium antarcticum* KMM 4670 and their biological activities // Mar. Drugs. 2023. Vol. 21 (11). P. 584. <https://doi.org/10.3390/md21110584>.
15. Zhuravleva O.I., Oleinikova G.K., Antonov A.S., Kirichuk N.N., Pelageev D.N., Rasin A.B., Menshov A.S., Popov R.S., Kim N.Y., Chingizova E.A., Chingizov A.R., Volchkova O.O., von Amsberg G., Dyshlovoy S.A., Yurchenko E.A., Guzhova I.V., Yurchenko A.N. New antibacterial chloro-containing polyketides from the alga-derived fungus *Asteromyces cruciatus* KMM 4696 // J. Fungi. 2022. Vol. 8 (5). P. 454. <https://doi.org/10.3390/jof8050454>.

16. Girich E. V., Rasin A. B., Popov R. S., Yurchenko E. A., Chingizova E. A., Trinh P. T. H., Ngoc N. T. D., Pivkin M. V., Zhuravleva O. I., Yurchenko A. N. New tripeptide derivatives asperriptides A-C from vietnamese mangrove-derived fungus *Aspergillus terreus* LM.5.2 // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20 (1). P. 77. <https://doi.org/10.3390/md20010077>.
17. Leshchenko E. V., Berdyshev D. V., Yurchenko E. A., Antonov A. S., Borkunov G. V., Kirichuk N. N., Chausova V. E., Kalinovskiy A. I., Popov R. S., Khudyakova Y. V., Chingizova E. A., Chingizov A. R., Isaeva M. P., Yurchenko A. N. Bioactive polyketides from the natural complex of the sea urchin-associated fungi *Penicillium sajarovii* KMM 4718 and *Aspergillus protuberus* KMM 4747 // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24 (23). 16568. <https://doi.org/10.3390/ijms242316568>.
18. Trinh P. T., Yurchenko A. N., Khmel O. O., Dieu T. V., Ngoc N. T., Girich E. V., Menshov A. S., Kim N. Y., Chingizova E. A., Van T. T., Lee J. S., Lee H.-S., Yurchenko E. A. Cytoprotective polyketides from sponge-derived fungus *Lopadostoma pouzarii* // *Molecules*. 2022. Vol. 27 (21). P. 7650. <https://doi.org/10.3390/molecules27217650>.
19. Belousova E. B., Zhuravleva O. I., Yurchenko E. A., Oleynikova G. K., Antonov A. S., Kirichuk N. N., Chausova V. E., Khudyakova Y. V., Menshov A. S., Popov R. S., Menchinskaya E. S., Pisylyagin E. A., Mikhailov V. V., Yurchenko A. N. New anti-hypoxic metabolites from co-culture of marine-derived fungi *Aspergillus carneus* KMM 4638 and *Amphichorda* sp. KMM 4639 // *Biomolecules*. 2023. Vol. 13 (5). P. 741. <https://doi.org/10.3390/biom13050741>.
20. Kozhushnaya A. B., Kolesnikova S. A., Yurchenko E. A., Lyakhova E. G., Menshov A. S., Kalinovsky A. I., Popov R. S., Dmitrenko P. S., Ivanchina N. V. Rhabdastrellosides A and B: two new isomalabaricane glycosides from the marine sponge *Rhabdastrella globostellata*, and their cytotoxic and cytoprotective effects // *Mar. Drugs*. 2023. Vol. 21 (11). P. 554. <https://doi.org/10.3390/md21110554>.
21. Guzii A. G., Makarieva T. N., Fedorov S. N., Menshov A. S., Denisenko V. A., Popov R. S., Yurchenko E. A., Menchinskaya E. S., Grebnev B. B., Iarotsckaia V. V., Kim N. Y., Stonik V. A. Toporosides A and B, Cyclopentenyl-Containing  $\omega$ -Glycosylated Fatty Acid Amides, and Toporosides C and D from the North-western Pacific Marine Sponge *Stelodoryx toporoki* // *J. Nat. Prod.* 2022. Vol. 85 (4). P. 1186–1191. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00130>.
22. Yurchenko E. A., Kolesnikova S. A., Lyakhova E. G., Menchinskaya E. S., Pisylyagin E. A., Chingizova E. A., Aminin D. L. Lanostane triterpenoid metabolites from a *Penares* sp. marine sponge protect Neuro-2a cells against paraquat neurotoxicity // *Molecules*. 2020. Vol. 25 (22). 5397 [1–44]. <https://doi.org/10.3390/molecules25225397>.
23. Yurchenko E. A., Menchinskaya E. S., Pisylyagin E. A., Chingizova E. A., Girich E. V., Yurchenko A. N., Aminin D. L., Mikhailov V. V. Cytoprotective activity of p-terphenyl polyketides and flavuside b from marine-derived fungi against oxidative stress in Neuro-2a Cells // *Molecules*. 2021. Vol. 26. 3618. <https://doi.org/10.3390/molecules26123618>.
24. Yurchenko E. A., Khmel O. O., Nesterenko L. E., Aminin D. L. The Kelch/Nrf2 antioxidant system as a target for some marine fungal metabolites // *Oxygen*. 2023. Vol. 3 (4). P. 374–385. <https://doi.org/10.3390/oxygen3040024>.
25. Aminin D., Polonik S. 1,4-naphthoquinones: some biological properties and application // *Chem. Pharm. Bull.* 2020. Vol. 68 (1). P. 46–57. <https://doi.org/10.1248/cpb.c19-00911>.
26. Sabutski Y. E., Menchinskaya E. S., Shevchenko L. S., Chingizova E. A., Chingizov A. R., Popov R. P., Denisenko V. A., Mikhailov V. V., Aminin D. L., Polonik S. G. Synthesis and Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activity of oxathiine-fused quinone-thiogluconide conjugates of substituted 1,4-naphthoquinones // *Molecules*. 2020. Vol. 25 (16). 3577. <https://doi.org/10.3390/molecules25163577>.
27. Polonik S., Likhatskaya G., Sabutski Y., Pelageev D., Denisenko V., Pisylyagin E., Chingizova E., Menchinskaya E., Aminin D. Synthesis, cytotoxic activity evaluation and quantitative structure-activity analysis of substituted 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinones and their o- and s-glycoside derivatives tested against Neuro-2a cancer cells // *Mar. Drugs*. 2020. Vol. 18 (12). 602. <https://doi.org/10.3390/md18120602>.
28. Menchinskaya E., Chingizova E., Pisylyagin E., Likhatskaya G., Sabutski Y., Pelageev D., Polonik S., Aminin D. Neuroprotective effect of 1,4-naphthoquinones in an *in vitro* model of paraquat and 6-OHDA-induced neurotoxicity // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22. 9933. <https://doi.org/10.3390/ijms22189933>.
29. Agafonova I., Chingizova E., Chaikina E., Menchinskaya E., Kozlovskiy S., Likhatskaya G., Sabutski Y., Polonik S., Aminin D., Pisylyagin E. Protection activity of 1,4-naphthoquinones in rotenone-induced models of neurotoxicity // *Mar. Drugs* 2024. Vol. 22. P. 62. <https://doi.org/10.3390/md22020062>.

30. Пислягин Е. А., Аминин Д. Л. Пуринергические P2X рецепторы как новые молекулярные мишени для поиска и создания новых лекарственных средств // Исследования природных соединений в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г. Б. Елякова. Новые подходы и результаты. Владивосток, 2016. С. 45–51.
31. Pisylyagin E., Kozlovskiy S., Menchinskaya E., Chingizova E., Likhatskaya G., Gorpenchenko T., Sabutski Y., Polonik S., Aminin D. Synthetic 1,4-naphthoquinones inhibit P2X7 receptors in murine neuroblastoma cells // *Bioorg. Med. Chem.* 2021. Vol. 31. 115975 [1–13]. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115975>.
32. Kozlovskiy S., Pisylyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Likhatskaya G., Sabutski Y., Polonik S., Aminin D. Anti-Inflammatory Activity of 1,4-Naphthoquinones Blocking P2X7 Purinergic Receptors in RAW 264.7 Macrophage Cells // *Toxins.* 2023. Vol. 15. P. 47. <https://doi.org/10.3390/toxins15010047>.
33. Kozlovskiy S., Pisylyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Kaluzhskiy L., Ivanov A. S., Likhatskaya G., Agafonova I., Sabutski Y., Polonik S., Manzhulo I., Aminin D. Tetracyclic 1,4-naphthoquinone thioglucoside conjugate U-556 blocks the purinergic P2X7 receptor in macrophages and exhibits anti-inflammatory activity in vivo // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24. 12370. <https://doi.org/10.3390/ijms241512370>.
34. Kozlovskiy S., Pisylyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Sabutski Y., Polonik S., Agafonova I., Aminin D. Antinociceptive effect and anti-inflammatory activity of 1,4-naphthoquinones in mice // *Explor. Neurosci.* 2024. Vol. 3. P. 39–50. <https://doi.org/10.37349/en.2024.00035>.
35. Menchinskaya E. S., Pisylyagin E. A., Kovalchuk S. N., Davydova V. N., Silchenko A. S., Avilov S. A., Kalinin V. I., Aminin D. L. Antitumor activity of cucumarioside A2-2 // *Chemotherapy.* 2013. Vol. 59 (3). P. 181–191. <https://doi.org/10.1159/000354156>.
36. Menchinskaya E. S., Aminin D. L., Avilov S. A., Silchenko A. S., Andryjashchenko P. V., Kalinin V. I., Stonik V. A. Inhibition of tumor cells multidrug resistance by cucumarioside A2-2, frondoside A and their complexes with cholesterol // *Nat. Prod. Comm.* 2013. Vol. 8 (10). P. 1377–1380. <https://doi.org/10.1177/1934578X1300801009>.
37. Menchinskaya E., Gorpenchenko T., Silchenko A., Avilov S., Aminin D. Modulation of doxorubicin intracellular accumulation and anticancer activity by triterpene glycoside cucumarioside A2-2 // *Mar. Drugs.* 2019. Vol. 17 (11). 597 [1–9]. <https://doi.org/10.3390/md17110597>
38. Menchinskaya E. S., Dyshlovoy S. A., Venz S., Jacobsen C., Hauschild J., Rohlfing T., Silchenko A. S., Avilov S. A., Balabanov S., Bokemeyer C., Aminin D. L., von Amsberg G., Honecker F. Anticancer activity of the marine triterpene glycoside cucumarioside A2-2 in human prostate cancer cells // *Mar. Drugs.* 2024. Vol. 22 (1). 20 [1–16]. <https://doi.org/10.3390/md22010020>.
39. Silchenko A. S., Kalinovsky A. I., Avilov S. A., Popov R. S., Dmitrenok P. S., Chingizova E. A., Menchinskaya E. S., Panina E. G., Stepanov V. G., Kalinin V. I., Stonik V. A. Djakonoviosides A, A1, A2, B1–B4 – triterpene monosulfated tetra- and pentaosides from the sea cucumber *Cucumaria djakonovi*: The first finding of a hemiketal fragment in the aglycones; activity against human breast cancer cell lines // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24 (13). 11128 [1–24]. <https://doi.org/10.3390/ijms241311128>.
40. Silchenko A. S., Kalinovsky A. I., Avilov S. A., Popov R. S., Chingizova E. A., Menchinskaya E. S., Zelepuga E. A., Panina E. G., Stepanov V. G., Kalinin V. I., Dmitrenok P. S. Sulfated triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Cucumaria djakonovi*: Djakonoviosides C1, D1, E1, and F1; cytotoxicity against human breast cancer cell lines; quantitative structure–activity relationships // *Mar. Drugs.* 2023. Vol. 21 (12). 602 [1–29]. <https://doi.org/10.3390/md21120602>.
41. Aminin D. L. Immunomodulatory properties of sea cucumber triterpene glycosides // *Marine and Freshwater Toxins.* 2016. Vol. 1. P. 381–401. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6419-4\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6419-4_3).
42. Aminin D., Pisylyagin E., Astashev M. et al. Glycosides from edible sea cucumbers stimulate macrophages via purinergic receptors // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6 (1). 39683. <https://doi.org/10.1038/srep39683>.
43. Pisylyagin E. A., Dmitrenok P. S., Gorpenchenko T. Y., Avilov S. A., Silchenko A. S., Aminin D. L. Determination of cucumarioside A<sub>2</sub>-2 in mouse spleen by radiospectroscopy, MALDI-MS and MALDI-IMS // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2013. Vol. 49 (4). P. 461–467. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.05.017>.
44. Pisylyagin E. A., Manzhulo I. V., Dmitrenok P. S., Aminin D. L. Cucumarioside A<sub>2</sub>-2 causes changes in the morphology and proliferative activity in mouse spleen // *Acta Histochemica.* 2016. Vol. 118. P. 387–392. <http://dx.doi.org/10.1016/j.acthis.2016.03.009>.
45. Pisylyagin E. A., Manzhulo I. V., Gorpenchenko T. Y., Dmitrenok P. S., Avilov S. A., Silchenko A. S., Wang Y.-M., Aminin D. L. Cucumarioside A<sub>2</sub>-2 causes macrophage activation in mouse spleen // *Mar. Drugs.* 2017. Vol. 15 (11). 341. <https://doi.org/10.3390/ijms15110341>.
46. Aminin D., Wang Y.-M. Macrophages as a “weapon” in anticancer cellular immunotherapy // *Kaohsiung J. Med. Sci.* 2021. Vol. 37 (9). P. 749–758. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12405>.

47. Chuang W.H., Pislyagin E., Lin L.-Y., Menchinskaya E., Chernikov O., Kozhemyako V., Gorpnenchenko T., Manzhulo I., Chaikina E., Agafonova I., Silchenko A., Avilov S., Stonik V., Tzou S.-C., Aminin D., Wang Y.M. Holothurian triterpene glycoside cucumarioside A<sub>2</sub>-2 induces macrophages activation and polarization in cancer immunotherapy // *Cancer Cell Int.* 2023. Vol. 23 (1). 292 [1–17]. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03141-z>.

## REFERENCES

1. Klykov A.G., Barsukova E.N., Chaikina E.L., Anisimov M.M. Prospects and results of selection of *Fagopyrum esculentum* Moench for increased flavonoid content. *Vestnik of the FEB RAS.* 2019;(3):5–16. (In Russ.)
2. Barsukova E.N., Klykov A.G., Chaikina E.L. Using tissue culture to create new forms of *Fagopyrum esculentum* Moench. *Russian Agricultural Science.* 2019;(5):3–6. (In Russ.)
3. Klykov A., Chaikina E., Anisimov M., Borovaya S., Barsukova E. Rutin content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench, *F. tataricum* (L.) Gaertn. and *F. cymosum* Meissn.) growth in the Far East of Russia. *Folia Biologica Geologica.* 2020;61(1):61–68.
4. Barsukova E.N., Klykov A.G., Fisenko P.V., Borovaya S.A., Chaikina E.L. Usage of the method of biotechnology in the selection of buckwheat plants in the Far East. *Vestnik of the FEB RAS.* 2020;(4):58–66. (In Russ.)
5. Borovaya S., Klykov A., Barsukova E., Chaikina E. Study of the effect of selective media with high doses of zinc on regeneration ability and rutin accumulation in common buckwheat. *Plants.* 2022;11(3):264. <https://doi.org/10.3390/plants11030264>.
6. Barsukova E.N., Klykov A.G., Chaikina E.L. Breeding evaluation of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) varieties obtained using copper and zinc ions. *Agricult. Sci.* 2023;374(9):84–89. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-374-9-84-89>. (In Russ.)
7. Agafonova I.G., Kotel'nikov V.N., Gel'tser B.I. Features of structural and functional changes in the thoracic aorta in experimental arterial hypertension. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2022;174(9):289–293. DOI:10.47056/0365-9615-2022-174-9-289-293. (In Russ.)
8. Agafonova I.G., Kotel'nikov V.N., Gel'tser B.I. Magnetic resonance imaging of the rat brain in assessing the neuroprotective effects of histochrome in experimental arterial hypertension. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;172(9):277–282. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-172-9-277-282. (In Russ.)
9. The use of histochrome as a neuroprotective agent that prevents diffusion changes in brain tissue at the early stage of development of arterial hypertension: Pat. N2021110258 RF / Agafonova I.G., Mishchenko N.P., Kotelnikov V.N., Geltser B.I.; application 04/12/2021; publ. 02/07/2022. (In Russ.)
10. Agafonova I.G., Kotelnikov V.N., Geltser B.I., Kolosova N.G., Stonik V.A. Assessment of Combined Therapy of Histochrome and Nebivolol as Angioprotectors on the Background of Experimental Hypertension by Magnetic Resonance Angiography. *Appl. Magn. Resonance.* 2018;49(2):217–225. <https://doi.org/10.1007/s00723-017-0960-3>.
11. Agafonova I.G., Kotelnikov V.N., Geltser B.I. Assessment of the morphofunctional status of the brain of Wistar rats against the background of arterial hypertension using diffusion-weighted tomography. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;171(2):247–252. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-247-252. (In Russ.)
12. Chingizova E.A., Menchinskaya E.S., Chingizov A.R., Pislyagin E.A., Girich E.V., Yurchenko A.N., et al. Marine Fungal Cerebroside Flavuside B Protects HaCaT Keratinocytes against *Staphylococcus aureus* Induced Damage. *Mar. Drugs.* 2021;19(10):553. <https://doi.org/10.3390/md19100553>.
13. Zhuravleva O.I., Chingizova E.A., Oleinikova G.K., Starnovskaya S.S., Antonov A.S., Kirichuk N.N., Menshov A.S., Popov R.S., Kim N.Y., Berdyshev D.V., Chingizov A.R., Kuzmich A.S., Guzhova I.V., Yurchenko A.N., Yurchenko E.A. Anthraquinone Derivatives and Other Aromatic Compounds from Marine Fungus *Asteromyces cruciatus* KMM 4696 and Their Effects against *Staphylococcus aureus*. *Mar. Drugs.* 2023;21(8):431. <https://doi.org/10.3390/md21080431>.
14. Yurchenko A.N., Zhuravleva O.I., Khmel O.O., Oleynikova G.K., Antonov A.S., Kirichuk N.N. et al. New Cyclopiane Diterpenes and Polyketide Derivatives from Marine Sediment-Derived Fungus *Penicillium antarcticum* KMM 4670 and Their Biological Activities. *Mar. Drugs.* 2023;21(11):584. <https://doi.org/10.3390/md21110584>.
15. Zhuravleva O.I., Oleinikova G.K., Antonov A.S., Kirichuk N.N., Pelageev D.N., Rasin A.B. et al. New Antibacterial Chloro-Containing Polyketides from the Alga-Derived Fungus *Asteromyces cruciatus* KMM 4696. *J. Fungi.* 2022;8(5):454. <https://doi.org/10.3390/jof8050454>.

16. Girich E. V., Rasin A. B., Popov R. S., Yurchenko E. A., Chingizova E. A., Trinh P. T. H. et al. New Tripeptide Derivatives Asperriptides A-C from Vietnamese Mangrove-Derived Fungus *Aspergillus terreus* LM.5.2. *Mar. Drugs*. 2022;20(1):77. <https://doi.org/10.3390/md20010077>.
17. Leshchenko E. V., Berdyshev D. V., Yurchenko E. A., Antonov A. S., Borkunov G. V., Kirichuk N. N. et al. Bioactive Polyketides from the Natural Complex of the Sea Urchin-Associated Fungi *Penicillium sajarovii* KMM 4718 and *Aspergillus protuberus* KMM 4747. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(23):16568. <https://doi.org/10.3390/ijms242316568>.
18. Trinh P. T., Yurchenko A. N., Khmel O. O. et al. Cytoprotective Polyketides from Sponge-Derived Fungus *Lopadostoma pouzarii*. *Molecules*. 2022;27(21):7650. <https://doi.org/10.3390/molecules27217650>.
19. Belousova E. B., Zhuravleva O. I., Yurchenko E. A. et al. New Anti-Hypoxic Metabolites from Co-Culture of Marine-Derived Fungi *Aspergillus carneus* KMM 4638 and *Amphichorda* sp. KMM 4639. *Biomolecules*. 2023;13(5):741. <https://doi.org/10.3390/biom13050741>.
20. Kozhushnaya A. B., Kolesnikova S. A., Yurchenko E. A. et al. Rhabdastrellosides A and B: Two New Isomalabaricane Glycosides from the Marine Sponge *Rhabdastrella globostellata*, and Their Cytotoxic and Cytoprotective Effects. *Mar. Drugs*. 2023;21(11):554. <https://doi.org/10.3390/md21110554>.
21. Guzii A. G., Makarieva T. N., Fedorov S. N., Menshov A. S., Denisenko V. A., Popov R. S., Yurchenko E. A., Menchinskaya E. S. et al. Toporosides A and B, Cyclopentenyl-Containing  $\omega$ -Glycosylated Fatty Acid Amides, and Toporosides C and D from the Northwestern Pacific Marine Sponge *Stelodoryx toporoki*. *J. Nat. Prod.* 2022;85(4):1186–1191. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00130>.
22. Yurchenko E. A., Kolesnikova S. A., Lyakhova E. G., Menchinskaya E. S., Pisyagin E. A., Chingizova E. A., Aminin D. L. Lanostane Triterpenoid Metabolites from a *Penares* sp. Marine Sponge Protect Neuro-2a Cells against Paraquat Neurotoxicity. *Molecules*. 2020;25(22):5397. <https://doi.org/10.3390/molecules25225397>.
23. Yurchenko E. A., Menchinskaya E. S., Pisyagin E. A., Chingizova E. A., Girich E. V., Yurchenko A. N. et al. Cytoprotective Activity of p-Terphenyl Polyketides and Flavuside B from Marine-Derived Fungi against Oxidative Stress in Neuro-2a Cells. *Molecules*. 2021;26(12):3618. <https://doi.org/10.3390/molecules26123618>.
24. Yurchenko E. A., Khmel O. O., Nesterenko L. E., Aminin D. L. The Kelch/Nrf2 Antioxidant System as a Target for Some Marine Fungal Metabolites. *Oxygen*. 2023;3 (4):374–385. <https://doi.org/10.3390/oxygen3040024>.
25. Aminin D., Polonik S. 1,4-Naphthoquinones: Some Biological Properties and Application. *Chem. Pharm. Bull.* 2020;68(1):46–57. <https://doi.org/10.1248/cpb.c19-00911>.
26. Sabutski Y. E., Menchinskaya E. S., Shevchenko L. S., Chingizova E. A., Chingizov A. R., Popov R. S. et al. Synthesis and Evaluation of Antimicrobial and Cytotoxic Activity of Oxathiine-Fused Quinone-Thioglycoside Conjugates of Substituted 1,4-Naphthoquinones. *Molecules*. 2020;25(16). 3577. <https://doi.org/10.3390/molecules25163577>.
27. Polonik S., Likhatskaya G., Sabutski Y., Pelageev D., Denisenko V., Pisyagin E. et al. Synthesis, Cytotoxic Activity Evaluation and Quantitative Structure-Activity Analysis of Substituted 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthoquinones and Their O- and S-Glycoside Derivatives Tested against Neuro-2a Cancer Cells. *Mar. Drugs*. 2020;18(12). 602. <https://doi.org/10.3390/md18120602>.
28. Menchinskaya E., Chingizova E., Pisyagin E., Likhatskaya G., Sabutski Y., Pelageev D. et al. Neuroprotective effect of 1,4-naphthoquinones in an *in vitro* model of paraquat and 6-OHDA-induced neurotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(18). 9933. <https://doi.org/10.3390/ijms22189933>.
29. Agafonova I., Chingizova E., Chaikina E., Menchinskaya E., Kozlovskiy S., Likhatskaya G. et al. Protection Activity of 1,4-Naphthoquinones in Rotenone-Induced Models of Neurotoxicity. *Mar. Drugs*. 2024;22(2):62. <https://doi.org/10.3390/md22020062>.
30. Pisyagin E. A., Aminin D. L. Purinergic P2X receptors as new molecular targets for the search and creation of new drugs. In: *Research of natural compounds at the Pacific Institute of Bioorganic Chemistry named after G. B. Elyakov. New approaches and results*. Vladivostok; 2016. P. 45–51. (In Russ.).
31. Pisyagin E., Kozlovskiy S., Menchinskaya E., Chingizova E., Likhatskaya G., Gorpenchenko T. et al. Synthetic 1,4-Naphthoquinones inhibit P2X7 receptors in murine neuroblastoma cells. *Bioorg. Med. Chem.* 2021;31. 115975. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115975>.
32. Kozlovskiy S., Pisyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Likhatskaya G., Sabutski Y., Polonik S., Aminin D. Anti-Inflammatory Activity of 1,4-Naphthoquinones Blocking P2X7 Purinergic Receptors in RAW 264.7 Macrophage Cells. *Toxins*. 2023;15(1):47. <https://doi.org/10.3390/toxins15010047>.

33. Kozlovskiy S., Pisyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Kaluzhskiy L., Ivanov A. et al. Tetracyclic 1,4-naphthoquinone thioglucoside conjugate U-556 blocks the purinergic P2X7 receptor in macrophages and exhibits anti-inflammatory activity *in vivo*. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(15). 12370. <https://doi.org/10.3390/ijms241512370>.
34. Kozlovskiy S., Pisyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Sabutski Y., Polonik S. et al. Antinociceptive effect and anti-inflammatory activity of 1,4-naphthoquinones in mice. *Explor. Neurosci.* 2024;3(1):39–50. <https://doi.org/10.37349/en.2024.00035>.
35. Menchinskaya E.S., Pisyagin E.A., Kovalchik S.N., Davydova V.N., Silchenko A.S., Avilov S.A. et al. Antitumor activity of cucumarioside A2-2. *Chemotherapy.* 2013;59(3):181–191. <https://doi.org/10.1159/000354156>.
36. Menchinskaya E.S., Aminin D.L., Avilov S.A., Silchenko A.S., Andryjashchenko P.V., Kalinin V.I. et al. Inhibition of tumor cells multidrug resistance by cucumarioside A<sub>2</sub>-2, frondoside A and their complexes with cholesterol. *Nat. Prod. Comm.* 2013;8(10):1377–1380. <https://doi.org/10.1177/1934578X1300801009>.
37. Menchinskaya E., Gorpenchenko T., Silchenko A., Avilov S., Aminin D. Modulation of doxorubicin intracellular accumulation and anticancer activity by triterpene glycoside cucumarioside A<sub>2</sub>-2. *Mar. Drugs.* 2019;17(11). 597. <https://doi.org/10.3390/md17110597>.
38. Menchinskaya E.S., Dyshlovoy S.A., Venz S., Jacobsen C., Hauschild J., Rohlfing T. et al. Anti-cancer Activity of the Marine Triterpene Glycoside Cucumarioside A<sub>2</sub>-2 in Human Prostate Cancer Cells. *Mar. Drugs.* 2024;22(1):20.
39. Silchenko A.S., Kalinovsky A.I., Avilov S.A., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A. et al. Djakonoviosides A, A1, A2, B1–B4 — Triterpene Monosulfated Tetra- and Pentaosides from the Sea Cucumber *Cucumaria djakonovi*: The First Finding of a Hemiketal Fragment in the Aglycones; Activity against Human Breast Cancer Cell Lines. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(13). 11128. <https://doi.org/10.3390/ijms241311128>.
40. Silchenko A.S., Kalinovsky A.I., Avilov S.A., Popov R.S., Chingizova E.A., Menchinskaya E.S. et al. Sulfated Triterpene Glycosides from the Far Eastern Sea Cucumber *Cucumaria djakonovi*: Djakonoviosides C1, D1, E1, and F1; Cytotoxicity against Human Breast Cancer Cell Lines; Quantitative Structure-Activity Relationships. *Mar. Drugs.* 2023;21(12). 602. <https://doi.org/10.3390/md21120602>.
41. Aminin D.L. Immunomodulatory properties of sea cucumber triterpene glycosides *Marine and Freshwater Toxins.* 2016;1:381–401. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6419-4\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6419-4_3).
42. Aminin D., Pisyagin E., Astashev M., Es'kov A., Kozhemyako V., Avilov S. et al. Glycosides from edible sea cucumbers stimulate macrophages via purinergic receptors. *Sci. Rep.* 2016;6. 39683. <https://doi.org/10.1038/srep39683>.
43. Pisyagin E.A., Dmitrenok P.S., Gorpenchenko T.Y., Avilov S.A., Silchenko A.S., Aminin D.L. Determination of cucumarioside A<sub>2</sub>-2 in mouse spleen by radiospectroscopy, MALDI-MS and MALDI-IMS. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2013;49(4):461–467.
44. Pisyagin E.A., Manzhulo I.V., Dmitrenok P.S., Aminin D.L. Cucumarioside A<sub>2</sub>-2 causes changes in the morphology and proliferative activity in mouse spleen. *Acta Histochemica.* 2016;118(4):387–392. <http://dx.doi.org/10.1016/j.acthis.2016.03.009>.
45. Pisyagin E.A., Manzhulo I.V., Gorpenchenko T.Y., Dmitrenok P.S., Avilov S.A., Silchenko A.S. et al. Cucumarioside A2-2 Causes Macrophage Activation in Mouse Spleen. *Mar. Drugs.* 2017;15(11). 341. <https://doi.org/10.3390/ijms15110341>.
46. Aminin D., Wang Y.M. Macrophages as a «weapon» in anticancer cellular immunotherapy. *Kaohsiung J. Med. Sci.* 2021;37(9):749–758. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12405>.
47. Chuang W.H., Pisyagin E., Lin L.Y., Menchinskaya E., Chernikov O., Kozhemyako V. et al. Holothurian triterpene glycoside cucumarioside A<sub>2</sub>-2 induces macrophages activation and polarization in cancer immunotherapy. *Cancer Cell Int.* 2023;23(1):292. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03141-z>.