

**К 40-летию Института физиологически активных веществ РАН****ОБЗОРЫ****МИТОХОНДРИИ КАК ВАЖНАЯ МИШЕНЬ ПРИ ПОИСКЕ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ  
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА И СТАРЧЕСКИХ ДЕМЕНЦИЙ****Е.Ф. Шевцова\*, Д.В. Виноградова, М.Е. Неганова, П.Н. Шевцов, Б.В. Леднев, С.О. Бачурин**Институт физиологически активных веществ Российской академии наук,  
142432, Черноголовка Московской обл., Северный проезд, 1; \*эл. почта: shevtsova@ipac.ac.ru

Обобщены собственные и литературные данные, обосновывающие роль митохондрий как важнейшей мишени при поиске препаратов для лечения нейродегенеративных заболеваний. Старение является основным фактором риска спорадических форм различных нейродегенеративных заболеваний, в том числе и болезни Альцгеймера (БА). Одной из наиболее аргументированных и принятых в настоящее время является свободнорадикальная митохондриальная теория старения. Именно с ней тесно связаны и митохондриальные гипотезы развития спорадических форм нейродегенеративных заболеваний и, в частности, БА. Нарушение митохондриальных функций приводит к снижению их способности регулировать гомеостаз кальция в клетке и снижению порога для индукции поры митохондриальной проницаемости (МРТ). Ингибиторы МРТ можно рассматривать как перспективный подход к терапии нейродегенеративных заболеваний, так как эти препараты могут не только проявлять свойства нейропротекторов, но и обеспечивать нормализацию синаптической активности благодаря увеличенной кальциевой ёмкости митохондрий. В обзоре представлены данные о ряде ингибиторов МРТ, включая эндогенные соединения – мелатонин, N-ацетилсеротонин, их биоизостерный аналог димебон и ряд других соединений. Использование митохондрий как основы для формирования скрининговой стратегии поиска соединений для лечения нейродегенеративных заболеваний представляет особый интерес и как тестирование их потенциальной токсичности, и как основа для создания метаболических стимуляторов и препаратов, обладающих нейропротекторным и когнитивно-стимулирующим действием.

**Ключевые слова:** нейродегенеративные заболевания; митохондрии; кальций; пора митохондриальной проницаемости; димебон

**DOI:** 10.18097/BMCRM00058**ВВЕДЕНИЕ**

Старение является основным фактором риска спорадических форм различных нейродегенеративных заболеваний, в том числе и болезни Альцгеймера (БА). С возрастом вероятность развития БА значительно увеличивается, в 65-69 лет около 2% людей страдают БА, а после 90 лет – уже 25% [1]. Поэтому очевидно, что механизмы нарушения когнитивных функций при нормальном старении и при развитии нейродегенеративных заболеваний могут иметь общие черты. Одной из наиболее аргументированных и принятых в настоящее время является свободнорадикальная митохондриальная теория старения. Именно с ней тесно связаны и митохондриальные гипотезы развития спорадических форм нейродегенеративных заболеваний и, в частности, БА. Митохондриальная теория старения основывается на идее замкнутого цикла, в котором накопление с возрастом мутаций мтДНК ведёт к дисфункции дыхательной цепи, усиливая выработку радикалов кислорода, которые приводят к дальнейшему накоплению мутаций мтДНК. Возникающий биоэнергетический кризис ведёт к явной дисфункции органов и дегенерации. Митохондриальная дисфункция является и одним из самых первых признаков БА [2]. Согласно митохондриальной теории БА [3] накапливающиеся с возрастом нарушения функций митохондрий, рост концентрации свободных

радикалов и окислительные повреждения мембран, белков и ДНК могут вызывать чрезмерное образование A $\beta$  и появление гиперфосфорилированной формы тау белка, провоцируя таким образом развитие БА. Важно, что внутримитохондриальное накопление амилоидных форм предшествует их внеклеточному накоплению [4]. Образующиеся в нейроне A $\beta$  олигомеры вызывают ещё большее повреждение митохондрий, увеличение окислительного стресса и провоцируют запуск каскада клеточной гибели [5].

Нарушение митохондриальных функций приводит к снижению их способности регулировать гомеостаз кальция в клетке и к снижению порога для индукции процесса скачка митохондриальной проницаемости (mitochondrial permeability transition – МРТ), который обусловлен формированием особых пор неспецифической проводимости и является ключевым этапом каскадов гибели клеток. Именно поэтому митохондрии и процесс МРТ являются крайне перспективной мишенью для поиска нейропротекторных препаратов.

Возможными механизмами увеличения устойчивости митохондрий к индукции МРТ являются ингибирование входа кальция в митохондрии, предотвращение формирования пор МРТ и/или увеличение порога их открытия, то есть увеличение кальциевой ёмкости митохондрий, причём последнее наиболее значительно в мозге.



## 1. ИОНЫ $Ca^{2+}$ , ПОРЫ МРТ И ИХ РОЛЬ В НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОЙ ПАТОЛОГИИ

Нарушения кальциевого гомеостаза в нейронах мозга не только закономерно происходят при старении, но и являются существенным признаком БА. Эндогенная кальций-буферная ёмкость интактных нейронов изменяется с возрастом, особенно в нейронах гиппокампа [6] и, в частности, в пирамидальных нейронах CA1 [7]. В значительной степени это связано с изменениями накопления и выхода кальция из внутриклеточных депо – эндоплазматического ретикулума и митохондрий [8]. Согласно литературным данным концентрация кальция в состоянии покоя в кортикальных нейронах трансгенных мышей 3xFAD более чем в 2 раза выше, чем в нейронах мышей дикого типа (247 нмоль/л против 110 нмоль/л) [9].

Увеличение уровня кальция в клетке может провоцировать дегенеративные изменения, приводить к значительно большей вероятности запуска процесса скачка митохондриальной проницаемости с последующим запуском каскадов апоптоза и некроза [10]. Также повышенный уровень кальция способен приводить к росту генерации свободных радикалов кислорода в клетке и окислительному стрессу [11].

Важную роль в поддержании и регуляции гомеостаза  $Ca^{2+}$  в нейронах играют митохондрии. Митохондриальные пути транспорта кальция

участвуют в регуляции таких важных функций нервных клеток, как высвобождение нейротрансмиттеров в синаптическое пространство, передача сигнала, регуляция динамики цитоскелета, адаптация биоэнергетического метаболизма к функциональной активности нейрона. Существуют многочисленные регуляторные системы поддержания гомеостаза  $Ca^{2+}$  в митохондриях, которые могут служить привлекательными терапевтическими мишенями для лечения БА.

Транспорт  $Ca^{2+}$  через внешнюю митохондриальную мембрану происходит в основном по потенциал-зависимому анионному каналу (VDAC). Показано, что сверхэкспрессия VDAC способствует росту входа  $Ca^{2+}$  в митохондрии [12]. Вход кальция в матрикс в наибольшей степени реализуется через низкоаффинный митохондриальный кальциевый унипортер (MCU), расположенный во внутренней митохондриальной мембране, кроме того, есть модель или тип “быстрого” входа кальция (RAM), митохондриальный рианодинорный рецептор (mRyR) и в последние годы обнаружен ряд рецептор-связанных ионных каналов, подобных каналам плазматической мембраны. Выход кальция из митохондрий обеспечивают  $Na^+/Ca^{2+}$  и  $H^+/Ca^{2+}$  антипортеры (рис. 1).

Митохондрии могут выступать в качестве эндогенных буферов вблизи плазматической мембраны или ЭР, увеличивать/уменьшать токи кальция и модулировать частоту осцилляций  $Ca^{2+}$  в разных

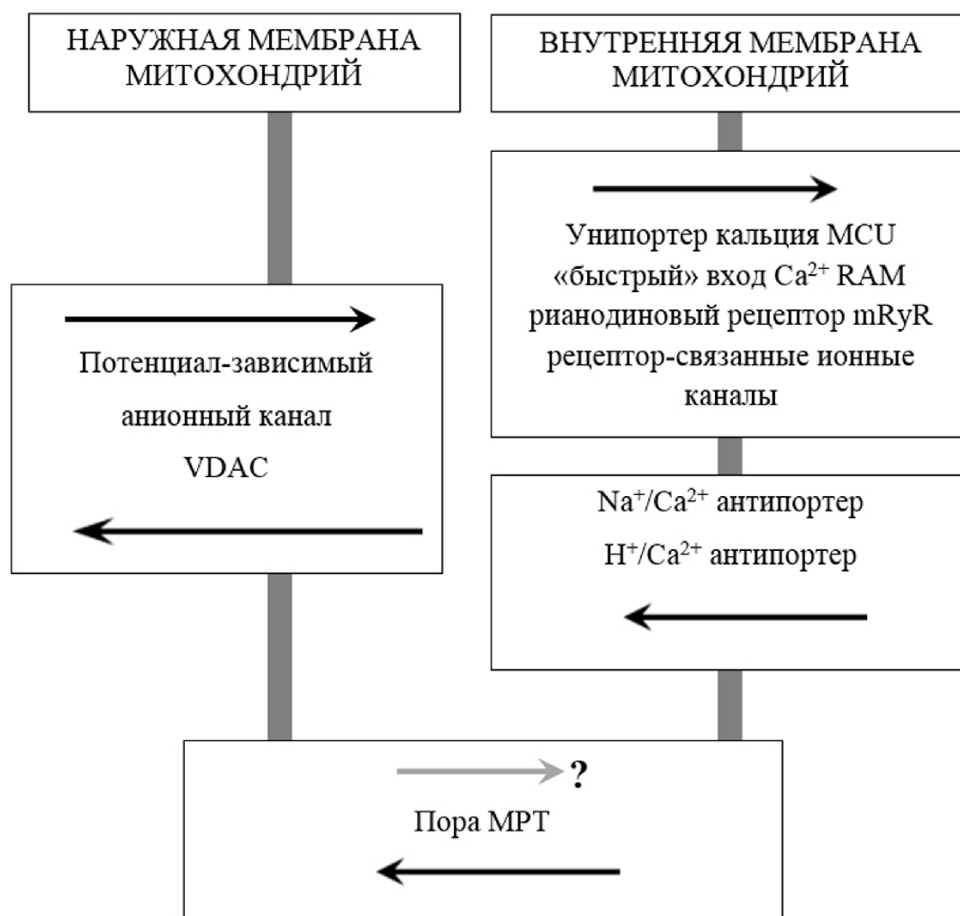


Рисунок 1. Схема митохондриальных путей транспорта ионов кальция.

типах клеток [13]. В нейронах захват кальция митохондриями происходит в пресинаптических окончаниях в моменты максимальной кальциевой нагрузки, позже митохондрии медленно выбрасывают кальций и происходит его попадание в ЭР. ЭР и митохондрии тесно взаимосвязаны, поэтому изменение кальциевых функций одной органеллы приводит к нарушению передачи кальциевого сигнала при участии другой. Упомянутые ранее ассоциированные с митохондриями мембраны ЭР выполняют функции посредников в переносе фосфолипидов, амилоида,  $\text{Ca}^{2+}$  и, вероятно, и других сигнальных молекул между внутриклеточными органеллами [14]. Предполагается, что MCU митохондрий взаимодействует с рецептором инозитолтрифосфата на мембране ЭР, в результате чего образуется  $\text{Ca}^{2+}$ -туннель между ЭР и митохондрией. Перенос кальция при этом происходит непосредственно из одного внутриклеточного компартмента в другой без колебаний концентрации кальция в цитозоле.

В последние годы получен ряд данных о существовании в мембране митохондрий кальциевых каналов, подобных рецептор-связанным ионным каналам плазматической мембраны. Прежде всего показано, что регуляторная ND2 субъединица NMDA рецептора кодируется митодНК и одновременно является субъединицей комплекса I дыхательной цепи [15]. Косвенные подтверждения наличия структур, подобных NMDA-рецептору, были получены в экспериментах с влиянием лигандов этих рецепторов на митохондриальные процессы, связанные с кальциевым гомеостазом. Специфические лиганды NMDA рецептора MK801 и мемантин подавляют кальций-индуцированное MPT и увеличивают кальциевую ёмкость митохондрий [16]. Позже было показано, что митохондрии экспрессируют белки комплекса кальциевого канала NMDA рецептора и формируют рецепторно-канальный комплекс, функционально ему идентичный. Направленная экспрессия NR1-NR2a субъединиц NMDA-рецепторного комплекса увеличивает внутримитохондриальный кальций и защищает нейрональные клетки от глутаматной токсичности [17].

Эти данные могут быть теоретическим обоснованием перспективности и реализуемости направления поиска мультитаргетных лекарственных препаратов, механизм действия которых связан одновременно с воздействием на митохондриальные кальций-зависимые функции и глутаматные рецепторы нейронов и обеспечивает улучшение когнитивных функций и нейропротекторный эффект, соответственно.

Особую роль как в регуляции кальциевого гомеостаза, так и в ключевом определении жизнеспособности клетки играет процесс формирования пор MPT, тесно связанный с процессами накопления катионов кальция митохондриями, окислительным стрессом, недостатком адениновых нуклеотидов, ростом концентрации фосфата. MPT поры могут выступать в качестве митохондриального канала выхода  $\text{Ca}^{2+}$  как в состоянии

высокой проводимости, что в большинстве случаев сопряжено с запуском каскадов клеточной гибели, так и в состоянии низкой проводимости, способствуя функциональным изменениям кальциевого гомеостаза. Физиологическая роль этого процесса не ограничивается апоптотической элиминацией клеток в процессе развития, но также связана и с функционированием поры как быстрого канала выхода кальция из митохондрий [18].

Периодическое временное открытие-закрытие поры позволяет через изменение трансмембранного потенциала регулировать синтез АТФ. Существуют гипотезы о значении поры MPT в транспорте белков по митохондриальным конгломератам и в экспрессии некоторых митохондриальных генов (например, гена белка bcl-2). Есть экспериментальные доказательства того, что механизм пресинаптической посттетанической потенциации основан на MPT и соответствующем выходе кальция из митохондриального депо. Возможно участие поры MPT в реализации синаптической пластичности и механизмах формирования памяти [19]. Активно изучается в настоящее время модуляция поры MPT различными проникающими в клетку гормонами и вторичными мессенджерами. Тем не менее основная и наиболее изученная роль поры MPT – это элиминация повреждённых митохондрий, а затем и клеток, которые становятся нежелательными для нормального функционирования организма, в частности, если в них накапливаются свободные радикалы [20]. Именно митохондриям принадлежит решающая роль в запуске как каспаз-зависимого, так и каспаз-независимых путей клеточной гибели.

Вопрос молекулярной структуры поры MPT и механизмов её регуляции, имеющий важное значение при определении молекулярных мишеней для скрининга модуляторов поры, в настоящее время остаётся открытым. В современной научной литературе можно встретить несколько гипотез структуры поры MPT. Большинство из них сходятся в том, что пора имеет белковую природу. Однако ряд авторов предполагает, что пора MPT может также иметь небелковую природу. Например, есть гипотеза, что хотя бы частично, пора MPT образована комплексом, состоящим из поли-R-3-гидроксипутирата, полифосфатов и катионов кальция (РНВ/polyр/ $\text{Ca}^{2+}$  комплекс). Данный комплекс, выделенный из митохондрий печени крыс, обладает свойствами, схожими со свойствами поры MPT [21]. Важно отметить, что полифосфат играет не последнюю роль в митохондриальном метаболизме и в процессах накопления  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями. Экспериментально показано, что снижение уровня полифосфата увеличивает кальциевую ёмкость митохондрий и снижает вероятность вызванного  $\text{Ca}^{2+}$  открытия поры MPT [22].

В рамках гипотезы о строении поры как мультибелкового образования также не существует ясности на настоящий момент о конкретных компонентах поры. Выделяют три основных предполагаемых компонента поры MPT: потенциал-зависимый анионный канал (VDAC),

переносчик адениновых нуклеотидов (ANT) и циклофилин D (CypD). Данная модель поры была подтверждена с использованием очищенных белков-компонентов в липосомах, причём, циклоспорин А (наиболее известный ингибитор МРТ, лиганд циклофилина D) ингибировал образование поры МРТ-подобных пор в липосомах. Изначально предполагалось, что основными порообразующими компонентами являются белки VDAC и ANT. Однако ряд экспериментальных данных позволяет заключить, что оба белка не являются её абсолютно необходимыми ключевыми составляющими. На трансгенных мышах, полных нокаутах по трём изоформам VDAC [23] или нокаутах по двум изоформам ANT было показано, что даже в отсутствие любых изоформ этих белков митохондрии обладают порообразующей активностью и чувствительностью к циклоспориноу А.

В то же время экспериментальные доказательства позволяют предположить, что в образовании и регуляции поры играют роль и другие белки, в том числе проапоптотические Bax белки, антиапоптотические белки семейства Bcl, гексокиназа, митохондриальный фосфатный переносчик [24], периферический бензодиазепиновый рецептор [25] и комплекс I дыхательной цепи митохондрий [26]. Сравнительно недавно было показано, что локализованная во внутренней митохондриальной мембране АТР-синтаза (комплекс V ДЦ митохондрий) тоже может являться потенциальным компонентом поры МРТ. Известно, что АТР-синтаза способна димеризоваться. Димеры, вероятно, вызывают формирование крист митохондрий и оптимизируют каталитическую функцию фермента, но, кроме того, именно димеры АТР-синтазы, но не её мономеры, могут проявлять порообразующую активность, регулирующую  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}/ADP$ ,  $P_i$  и другими модуляторами МРТ [27]. Циклофилин D связывается с АТР-синтазой в присутствии неорганического фосфата, при этом происходит частичное ингибирование АТР-синтазной функции фермента и уменьшается порог чувствительности митохондрий к открытию поры. Образование комплекса циклоспорина А (ЦсА) с циклофилином D препятствует связыванию последнего с АТР-синтазой и, соответственно, увеличивает её ферментативную активность и снижает порообразующую активность, увеличивая порог чувствительности митохондрий к индукции МРТ. В литературе также есть данные о том, что АТР-синтаза взаимодействует и с другими ключевыми участниками процесса скачка митохондриальной проницаемости – с ANT и с митохондриальным переносчиком фосфата. Важную роль в процессе вызванного ростом концентрации катионов кальция ЦсА-зависимого открытия поры МРТ играет с-субъединица  $F_0$ -АТР-синтазы [28]. В то же время в клеточной линии, полностью лишённой всех изоформ этой субъединицы, наблюдается индукция процесса МРТ и кальциевая ёмкость митохондрий не отличается от контрольных клеток [29], что не позволяет считать с-субъединицу  $F_0$ -АТР-синтазы абсолютно необходимым компонентом поры МРТ.

Существует и гипотеза о том, что пора МРТ образована мембранными белками с нарушенным вследствие окислительного и прочих видов стресса фолдингом, и её регулируют шапероноподобные белки (к которым относится и циклофилин D) [30]. Циклофилин D блокирует проводимость через эти белковые агрегаты, но когда число подобных белковых кластеров превышает количество циклофилина D, происходит нерегулируемое открытие пор, стимулированное кальцием и ингибируемое связыванием ЦсА с циклофилином D.

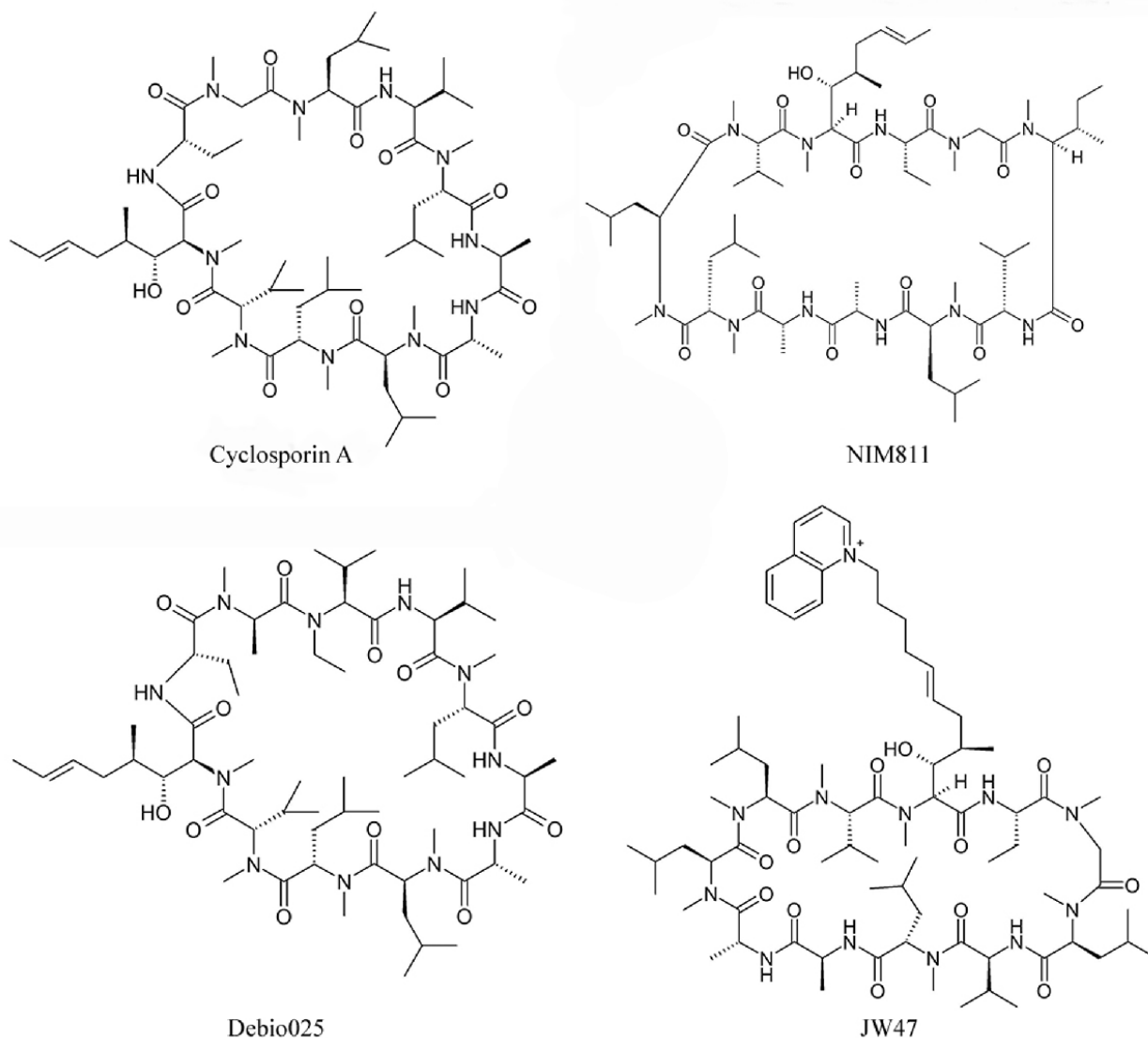
Таким образом, все предполагаемые в настоящее время модели состава поры МРТ имеют как очевидные доказательства своего существования, так и доказательства возможности альтернативного пути формирования поры. Это позволило нам предположить, что пора МРТ является динамичным ансамблем с переменным составом, который может варьироваться в зависимости от типа ткани, триггеров, обуславливающих её открытие, внутриклеточных условий в данный момент времени и прочих факторов.

Поскольку не существует единой теории строения поры МРТ, каждый из вероятных её компонентов может рассматриваться как потенциальная мишень новых лекарственных препаратов. И в то же время именно процесс МРТ, регистрируемый как кальций-индуцируемое “набухание”, деполяризация митохондрий или исчезновение кальций-буферной активности митохондрий может быть перспективной методической основой для скрининговых исследований потенциальных ингибиторов МРТ.

## **2. ИНГИБИТОРЫ МРТ КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ ГРУППА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАВИСИМОЙ ОТ ВОЗРАСТА НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОЙ ПАТОЛОГИИ**

Коррекцию митохондриальных функций и митохондриального кальциевого гомеостаза можно рассматривать в качестве перспективных подходов ранней терапии нейродегенеративных заболеваний, и одними из наиболее перспективных из этого класса препаратов могут быть ингибиторы (модуляторы) процесса МРТ (и как препараты, увеличивающие выживаемость нейронов, и как препараты способные поддержать функциональную активность синапсов благодаря увеличенной кальциевой ёмкости митохондрий).

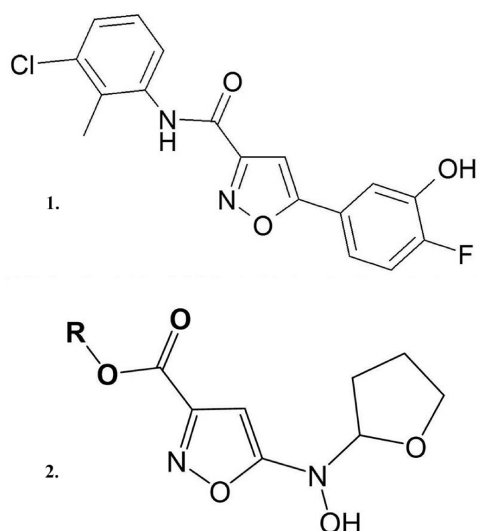
Одними из первых препаратов такого класса явились аналоги специфического и высокоэффективного ( $IC_{50}=0.5nM$ ) ингибитора МРТ ЦсА (рис. 2), благодаря которому были проведены исследования структуры, регуляции, специфичности поры МРТ, её участия во многих патологических процессах и заболеваниях, показано, что ингибирование поры МРТ может иметь положительный терапевтический эффект при ряде дегенеративных заболеваний [31, 32]. Но ЦсА обладает иммуносупрессивным действием и, соответственно, большим числом побочных эффектов, а кроме того, активно секвестрируется эритроцитами, плохо проникает через гематоэнцефалический барьер [33].



**Рисунок 2.** Формулы циклоспорина А и его аналогов.

В связи с этим были разработаны его неиммунносупрессивные производные именно как ингибиторы МРТ: N-метил-4-изолейцин-циклоспорин (NIM811) (рис. 2), который обладает цитопротекторным действием на культуре гепатоцитов крыс, а также проявил нейропротекторное действие после травматического повреждения мозга и ишемии мозга [34, 35]; Debio025 (рис. 2), который не только ингибирует индукцию МРТ и снижает интенсивность некротической гибели клеток, но также оптимизирует кальциевые сигналы в состоянии стресса у mdx мышей (модели миодистрофии Дюшенна) [36]; JW47 (рис. 2), хинолин-катион модифицированный ЦсА с увеличенным сродством к митохондриям и проявляющий нейропротекторные свойства в экспериментальной модели множественного склероза [37]. Действие ЦсА и его производных на процесс МРТ обусловлено связыванием с компонентом (или, по некоторым теориям, модулятором) МРТ циклофилином Д – белком митохондриального матрикса – и ингибированием его пептидилпролил-изомеразной активности уже в наномолярных концентрациях.

Недавно в результате программ направленного скрининга высокоэффективных ингибиторов МРТ был выявлен ряд превосходящих ЦсА ингибиторов МРТ, в частности, диариллизоксазол-3-карбоксамиды, которые повышают устойчивость митохондрий печени мышей к  $Ca^{2+}$  индуцированному открытию поры МРТ и увеличивают более чем в 20 раз кальциевую ёмкость митохондрий, не оказывая влияние на митохондриальный потенциал вплоть до концентрации 100 мкМ. Действующие концентрации диариллизоксазол-3-карбоксамидов ниже, чем у ЦсА, причём, основываясь на синергичности действия этих ингибиторов, авторы делают вывод об отличной от ЦсА молекулярной мишени действия этих соединений [38]. В результате оптимизации структур авторам удалось создать ряд соединений, которые в пиколярных концентрациях ингибируют открытие пор МРТ. Для соединения-лидера из этого ряда (N-(3-хлоро-2-метилфенил)-5-(4-фтор-3-гидроксибензил)изоксазол-3-карбоксамид) (рис. 3) в экспериментах *in vivo* наблюдался терапевтический эффект на данио-рерио модели одного из дегенеративных заболеваний – врождённой мышечной



**Рисунок 3.** Изоксазол-содержащие митопротекторы: 1-N-(3-хлоро-2-метилфенил)-5-(4-фтор-3-гидроксифенил)изоксазол-3-карбоксамид; R - производные адамантана.

дистрофии Ульриха [38]. Эти соединения представляют значительный интерес для дальнейших испытаний в качестве потенциальных нейропротекторов. Для соединений, также содержащих изоксазольный и адамантановый фрагменты (рис. 3) было показано наличие радикал-связывающей активности, способности подавлять ПОЛ и ингибировать липоксигеназу, а также увеличение в их присутствии скорости поглощения кислорода изолированными митохондриями печени крыс как в сопряжённом, так и в разобщённом состоянии при отсутствии влияния на митохондриальный мембранный потенциал и отсутствии цитотоксичности [39]. Эти *in vitro* характеристики также позволяют предположить потенциальный нейропротекторный потенциал.

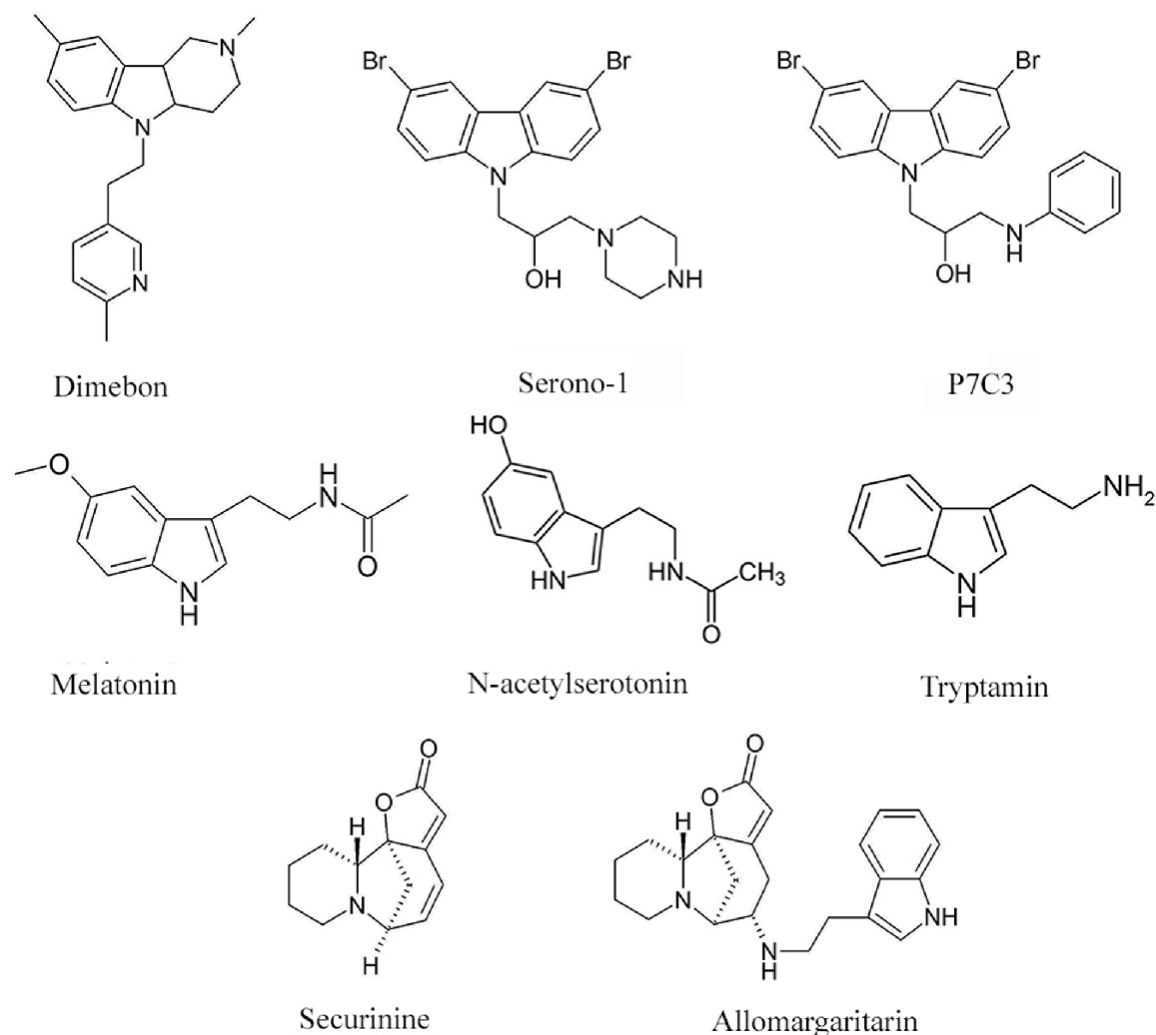
Окислительный стресс в значительном числе случаев рассматривается как условие сниженной устойчивости митохондрий к открытию пор МРТ. В соответствии с этим разработан целый ряд потенциальных лекарственных препаратов-антиоксидантов, обладающих способностью накапливаться в митохондриях [40]. Для ряда подобных препаратов показана их способность подавлять чувствительность митохондрий к индукции МРТ [41], и именно эти препараты представляются нам особенно интересными в качестве основы для создания лекарственных препаратов для лечения нейродегенеративных заболеваний.

Одним из наиболее привлекательных направлений создания подобных лекарственных средств является разработка аналогов эндогенных антиоксидантов и регуляторов МРТ. Гормон эпифиза мелатонин (рис. 4), являющийся эндогенным антиоксидантом с радикал-связывающей активностью и способностью ингибировать активность NO-синтазы, обладает значительным нейропротекторным потенциалом [42, 43]. Более того, этот индоламин помимо антиоксидантного и рецептор-опосредованного гормонального эффекта влияет и на ряд митохондриальных функций. Он действует

как стимулятор дыхательной цепи митохондрий, увеличивая активность комплексов I и IV, и специфически накапливаясь в митохондриях [44]. В последнее время появились данные о непосредственном ингибировании процесса МРТ мелатонином в экспериментах на клеточной культуре и при исследовании методом патч-кламп изолированных митохондрий мозга –  $IC_{50}=0.8$  мкМ [45]. Эти данные позволяют предположить, что наблюдаемый положительный эффект при ряде нейродегенеративных заболеваний связан не только с гормональным и антиоксидантным эффектом, регуляцией циркадных ритмов и нормализацией сна мелатонином, но и с направленным действием на митохондрии и, в частности, со способностью ингибировать процесс МРТ.

Предшественник мелатонина, N-ацетилсеротонин (NAS) (рис. 4), во многом обладает сходными с мелатонином свойствами: нейропротекторными, антивозрастными свойствами [46]. Но в отличие от мелатонина синтезируется и обнаруживается в наномолярных концентрациях в ряде отделов головного мозга, обладает более выраженным антиоксидантным потенциалом и так же, как мелатонин, проявляет нейропротекторный эффект, ингибируя процесс МРТ на клеточном уровне и митохондриальный этап клеточной гибели [47]. В то же время показано отсутствие прямого подавления МРТ в изолированных митохондриях в диапазоне концентраций NAS от 1 до 30 мкМ, впрочем, как и непосредственное влияние мелатонина на открытие пор МРТ [48]. В этом диапазоне концентраций вышеописанные результаты согласуются с полученными нами ранее. Однако нами было показано, что ингибирующее влияние NAS на МРТ в изолированных митохондриях наблюдается в более низком диапазоне концентраций 5-50 нМ и наиболее стабильно проявляются при индукции открытия пор МРТ нейротоксином MPP+ [49]. Такая неоднозначность действия мелатонина и в большей степени NAS, немонотонная зависимость от концентрации и условий индукции МРТ достаточно хорошо согласуется с гипотезой о том, что это соединение играет особую роль как эндогенный и локальный регулятор жизнеспособности нейронов и процесса МРТ.

Структурный аналог и предшественник мелатонина триптамин (рис. 4) обладает незначительной антиоксидантной активностью ( $IC_{50}=0,84$  мМ) и не проявляет свойств ингибитора МРТ [50], однако описанный нами его конъюгат с алкалоидом секуринином (также не обладающим этими типами активностей) – алломаргаритарин (рис. 4) в микромолярном диапазоне концентраций проявляет высокую антиоксидантную активность, которая связана с его способностью хелатировать ионы Fe(II) и с антирадикальной активностью. Кроме того, алломаргаритарин эффективно блокирует открытие пор МРТ, в том числе и индуцированное A $\beta$ -пептидом [51]. Выбор секуринина для создания потенциального лекарственного препарата основывался на имеющихся данных о его активности как стимулятора когнитивных функций, в том числе и в условиях



**Рисунок 4.** Производные индола как митопротекторы.

Аβ-вызванной токсичности. Молекулярными механизмами этих эффектов может быть роль secuрина как антагониста ГАМК рецепторов и ингибирование ацетилхолинэстеразы [52, 53].

Алломаргаритарин проявляет выраженные нейропротекторные свойства, защищая нейроны первичной культуры коры мозга от гибели, вызванной эксайтотоксичностью, окислительным стрессом и Аβ. Очевидно, этот эффект связан с его антиоксидантной и митопротекторной активностью [54, 55]. Кроме того, алломаргаритарин снижает агрегацию Аβ [56]. Противосудорожная активность алломаргаритарина на моделях индуцированных пилокарпином судорог [57] также может быть отчасти связана с его способностью увеличивать устойчивость митохондрий к индукции МРТ. О роли МРТ в противосудорожном эффекте кетоновых тел и топирамата достаточно убедительно свидетельствуют исследования на трансгенных мышцах Kcna1 со спонтанной эпилептической активностью и пилокарпиновой модели хронических судорог, соответственно [58, 59].

Биоизостерным аналогом мелатонина можно считать и препарат димебон (рис. 4), который был разработан и запатентован как неселективное

антигистаминное лекарственное средство учёными МГУ в начале 80-х годов прошлого века [60]. Позже было установлено, что димебон проявляет когнитивно стимулирующие и нейропротекторные свойства на нейротоксикологических и трансгенных моделях ряда нейродегенеративных заболеваний и является модулятором поры МРТ, увеличивая устойчивость к её индукции.

Уникальной особенностью димебона можно назвать мультинаправленность его действия, сочетание когнитивно-стимулирующего и нейропротекторного эффектов с соответствующим сочетанием мишеней. Когнитивно-стимулирующий эффект препарата связывают, в основном, с ингибированием ряда нейрональных рецепторов и ионных каналов, в том числе NMDA-рецепторов, серотониновых 5-HT<sub>7</sub> рецепторов и потенциал-зависимых кальциевых каналов L-типа. Нейропротекторный потенциал димебона может во многом основываться на его способности увеличивать функциональную устойчивость митохондрий. На изолированных митохондриях печени и мозга крыс было показано, что димебон подавляет индукцию МРТ различными стимулами (ионами фосфата, кальция или *tert*-бутилгидроксипероксидом – ТБГП), и, в отличие

от ЦсА, проявляет свойства антиоксиданта, снижая перекисное окисление липидов митохондрий печени крыс, вызванное тБГП или Аβ [61]. В то же время димебон является гораздо более слабым модулятором МРТ поры, чем ЦсА и проявляет свой эффект только в состоянии энергизации митохондрий, то есть в условиях работы дыхательной цепи митохондрий. Ингибирование индукции МРТ димебоном сопровождается увеличением кальциевой ёмкости митохондрий [62], что вносит свой вклад в когнитивно-стимулирующие свойства димебона, нормализуя синаптическую нейротрансмиссию. Нейропротекторный эффект димебона широко подтверждается на клеточных культурах: как защита от глутаматной эксайтотоксичности, Аβ-, МРР+-, АF64А-, тБГП- и иономицин-вызванной токсичности и т.п. С использованием первичной культуры нейронов коры головного мозга мышей и клеток нейробластомы человека SH-SY5Y было показано, что наномолярные концентрации димебона увеличивают активность сукцинатдегидрогеназы, стабилизируют митохондриальный трансмембранный потенциал (ΔΨ<sub>m</sub>) и увеличивают уровень АТФ в клетке [63]. При этом димебон не влияет на количество митохондриальной ДНК, то есть не индуцирует биогенез митохондрий. В этой же работе было показано, что в условиях стресса предобработанные димебоном нейроны более устойчивы к повышенной внутриклеточной концентрации кальция, в меньшей степени подвержены деполяризации митохондрий в отличие от контрольных нейронов. Димебон в наномолярных концентрациях ингибирует апоптоз клеток нейробластомы человека SH-SY5Y [64] и нивелирует негативное действие сверхэкспрессии мутантной формы Аβ (HEKsw) на морфологию митохондрий и активность ферментативных комплексов дыхательной цепи митохондрий [65]. Кроме того, димебон способен увеличивать сниженную в этих клетках экспрессию белка TIMM (транслоказы внутренней мембраны митохондрий), который обеспечивает транспорт ядерно-кодируемых белков, в том числе и участвующих в формировании комплексов дыхательной цепи, через внутреннюю мембрану митохондрий [66].

Учитывая данные о митопротекторном и антиоксидантном эффектах димебона мы предположили и затем экспериментально подтвердили в опытах *in vivo* геропротекторные свойства димебона [67]. Димебон оказывает положительное влияние на метаболизм мозга стареющих крыс, в том числе и нормализуя потребление глюкозы [68]. Несмотря на имеющиеся в литературе данные об отсутствии снижения нерастворимых амилоидных агрегатов в мозге трансгенных животных с 5xFAD (модель БА), даже в этом исследовании была выявлена коррекция поведенческих нарушений – снижение тревожности у этих животных под влиянием димебона [69]. Кроме того, для ряда трансгенных моделей протеинопатий как моделей нейродегенеративных заболеваний показано, что хроническое введение димебона или его фтор-содержащих аналогов вызывает снижение специфической патологии

при одновременном снижении числа нерастворимых агрегатов связанных с этими нейродегенеративными заболеваниями белков [70, 71]. Снижение агрегатов наблюдается и на клеточных моделях протеинопатий [72] и, вероятно, в значительной степени связано с усилением аутофагии [73].

Подобное сочетание активностей – ингибирование МРТ, активация аутофагии и соответствующее снижение агрегатов – наблюдали для 4-азастероидов и, возможно, именно умеренное снижение числа митохондрий с активированной порой МРТ в присутствии азастероидов и димебона приводит к снижению вероятности активации апоптоза или некроза в клетках и превалированию активации локальной аутофагии.

Структурно близкими для мелатонина и димебона соединениями можно считать и аминопропилкарбазольные производные, описанные в работе [74] и проявляющие пронеурогенную активность, защищая новые (newborn) нейроны от апоптоза благодаря митопротекторной активности. Стимулируют нейрогенез в гиппокампе также димебон и бром-содержащий карбазол Serono-1, причём авторы отмечают корреляцию между митопротекторным эффектом, нейропротекцией и пронеурогенной активностью: наиболее активное соединение во всех тестах – соединение-лидер P7C3 (рис. 4) в ряду аминопропилкарбазолов, менее активны Serono-1 (рис. 4) и димебон. Как в вопросах выживаемости-гибели клеток, так и в вопросе нейрогенеза, то есть дифференцировки и дальнейшего выживания вновь образованных нейронов, митохондрии играют крайне важную роль. Дифференцировка полипотентных клеток в нейроны сопровождается переключением биоэнергетики клетки с анаэробного гликолиза на аэробное окислительное фосфорилирование [75] и образующиеся при работе дыхательной цепи в результате кратковременного локального открытия пор МРТ “вспышки” (flash) образования супероксид-анионов, по-видимому, являются одним из механизмов регуляции дифференцировки этих клеток. В зависимости от частоты flash-открытия МРТ и выброса супероксид-аниона клетка либо включает каскад дифференцировки, либо реагирует на повышение свободных радикалов супероксид-анионов запуском апоптоза или некроза [76].

Но, тем не менее, ингибиторы МРТ, и вышеперечисленные, и ЦсА, стимулируют нейрогенез в большей степени благодаря увеличению выживаемости вновь дифференцированных клеток [77]. Ингибирование МРТ и, возможно, активация никотинамид фосфорибозилтрансферазы – скорость-лимитирующего фермента каскада образования никотинамид адениновых динуклеотидов [78], а также стимулирование нейрогенеза обуславливают когнитивно-стимулирующий и нейропротекторный потенциал этой группы соединений в целом ряде неврологических и нейродегенеративных заболеваний: ишемический инсульт, травматическое повреждение мозга, болезнь Паркинсона и Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз [79, 80].



**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Практически все описанные в данном обзоре соединения, являясь ингибиторами/модуляторами поры МРТ и в соответствии с этим проявляющие нейропротекторный эффект, взаимодействуют с другими мишенями, обеспечивающими сопряжённые положительные терапевтические эффекты – стимулирование когнитивных функций, противосудорожный, антидепрессантный и т.д. То есть фактически все описанные соединения являются мультитаргетными препаратами.

Разработка новых высокоэффективных препаратов для лечения широкого спектра нейродегенеративных заболеваний является одним из самых сложных и востребованных направлений современной медицинской химии. Поиск и дизайн многоцелевых препаратов, действующих одновременно на несколько мишеней, участвующих в патогенезе этих заболеваний, в настоящее время считается одной из наиболее перспективных стратегий [81, 82]. В связи с этим использование митохондрий как основы для формирования скрининговой стратегии поиска соединений для лечения нейродегенеративных заболеваний представляет особый интерес – и как тестирование их потенциальной токсичности, и как основа для создания метаболических стимуляторов и препаратов, обладающих нейропротекторным и когнитивно-стимулирующим действием.

**БЛАГОДАРНОСТИ**

Работа выполнена в рамках Госзадания №0090-2017-0019.

**ЛИТЕРАТУРА**

- Qiu C., Kivipelto M., von Strauss E. (2009) Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues Clin. Neurosci.*, 11(2), 111–128. DOI: 10.4236/wjns.2015.55030
- Eckert A., Schmitt K., Götz J. (2011) Mitochondrial dysfunction - the beginning of the end in Alzheimer's disease? Separate and synergistic modes of tau and amyloid- $\beta$  toxicity. *Alzheimers. Res. Ther.*, 3(2), 15. DOI: 10.1186/alzrt74
- Swerdlow R.H., Burns J.M., Khan S.M. (2014) The Alzheimer's Disease Mitochondrial Cascade Hypothesis: Progress and Perspectives. *Biochimica et biophysica acta*, 1842(8), 1219-1231. DOI: 10.1016/j.bbadis.2013.09.010
- Caspersen C., Wang N., Yao J., Sosunov A., Chen X., Lustbader J.W., Xu H.W., Stern D., McKhann G., Yan S. Du. (2005) Mitochondrial Abeta: a potential focal point for neuronal metabolic dysfunction in Alzheimer's disease. *FASEB J.*, 19(14), 2040–2041. DOI: 10.1096/fj.05-3735fje
- Shevtzova E.F., Kireeva E.G., Bachurin S.O. (2001) Effect of beta-amyloid peptide fragment 25-35 on nonselective permeability of mitochondria. *Bull Exp Biol Med.*, 132(6), 1173-1176. DOI: 10.1023/A:1014559331402
- Kumar A., Bodhinathan K., Foster T.C. (2009). Susceptibility to Calcium Dysregulation during Brain Aging. *Front. Aging Neurosci.*, 1, 2. DOI: 10.3389/neuro.24.002.2009
- Oh M.M., Oliveira F.A., Waters J., Disterhoft J.F. (2013) Altered Calcium Metabolism in Aging CA1 Hippocampal Pyramidal Neurons. *J. Neurosci.*, 33(18), 7905–7911. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5457-12.2013
- Mattson M.P. (2007) Calcium and neurodegeneration. *Aging Cell.*, 6(3), 337–350. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2007.00275.x
- Lopez J.R., Lyckman A., Oddo S., Laferla F.M., Querfurth H.W., Shtifman A. (2008) Increased intraneuronal resting  $[Ca^{2+}]$  in adult Alzheimer's disease mice. *J. Neurochem.*, 105(1), 262–271. DOI 10.1111/j.1471-4159.2007.05135.x
- Crompton M. (1999) The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem. J.*, 341, 233–249. DOI: 10.1042/bj3410233
- Peng T., Jou M. (2010) Oxidative stress caused by mitochondrial calcium overload. *J. Biol. Chem.*, 285(1), 183–188. DOI 10.1111/j.1749-6632.2010.05634.x
- Rapizzi E., Pinton P., Szabadkai G., Wieckowski M.R., Vandecasteele G., Baird G., Tuft R.A., Fogarty K.E., Rizzuto R. (2002) Recombinant expression of the voltage-dependent anion channel enhances the transfer of  $Ca^{2+}$  microdomains to mitochondria. *J. Cell Biol.*, 159(4), 613–624. DOI: 10.1083/jcb.200205091
- Giacomello M., Drago I., Pizzo P., Pozzan T. (2007) Mitochondrial  $Ca^{2+}$  as a key regulator of cell life and death. *Cell Death Differ.*, 14(7), 1267–1274. DOI: 10.1038/sj.cdd.4402147
- Velikanov, G.A. (2013) Endoplasmic reticulum: Membrane contact sites *Cell Tiss. Biol.*, 7, 504-511. DOI: 10.1134/S1990519X13060138
- Gingrich J.R., Pelkey K.A., Fam S.R., Huang Y., Petralia R.S., Wenthold R.J., Salter M.W. (2004) Unique domain anchoring of Src to synaptic NMDA receptors via the mitochondrial protein NADH dehydrogenase subunit 2. *Proc Natl Acad Sci.*, 101, 6237–6241. DOI: 10.1073/pnas.0401413101
- Shevtsova, E.P., Dubova, L.G., Kireeva, E.G., Bachurin, S.O. (2006) Mitochondria as the memantine target. *European Neuropsychopharmacology*, 16, 243-244. DOI: 10.1016/S0924-977X(06)70205-X
- Korde A.S., Maragos W.F. (2012) Identification of an N-methyl-D-aspartate receptor in isolated nervous system mitochondria. *J Biol Chem.*, 287(42), 35192-35200. DOI: 10.1074/jbc.M111.322032
- Bernardi P. (2013) The mitochondrial permeability transition pore: a mystery solved? *Front. Physiol. Frontiers*, 4, 95. DOI: 10.3389/fphys.2013.00095
- Weeber E.J., Levy M., Sampson M.J., Anflous K., Armstrong D.L., Brown S.E., Sweatt J.D., Craigen W.J. (2002) The role of mitochondrial porins and the permeability transition pore in learning and synaptic plasticity. *J Biol Chem.*, 277(21), 18891-18897. DOI: 10.1074/jbc.M201649200
- Skulachev V.P. (2012) Mitochondria-Targeted Antioxidants as Promising Drugs for Treatment of Age-Related Brain Diseases. *J. Alzheimers Dis.*, 28 (2), 283-289. DOI: 10.3233/JAD-2011-111391
- Pavlov E., Zakharian E., Bladen C., Diao C.T.M., Grimbly C., Reusch R.N., French R.J. (2005) A large, voltage-dependent, isolated from mitochondria by water-free chloroform extraction. *Biophys. J.*, 88(4), 2614–2625. DOI 10.1529/biophysj.104.057281
- Abramov A.Y., Fraley C., Diao C.T., Winkfein R., Colicos M.A., Duchon M.R., French R.J., Pavlov E. (2007) Targeted polyphosphatase expression alters mitochondrial metabolism and inhibits calcium-dependent cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 104(46), 18091–18096. DOI: 10.1073/pnas.0708959104

23. Kokoszka J.E., Waymire K.G., Levy S.E., Sligh J.E., Cai J., Jones D.P., MacGregor G.R., Wallace D.C. (2004) The ADP/ATP translocator is not essential for the mitochondrial permeability transition pore. *Nature*, 427(6973), 461–465. DOI: 10.1038/nature02229
24. Varanyuwatana P., Halestrap A.P. (2012) The roles of phosphate and the phosphate carrier in the mitochondrial permeability transition pore. *Mitochondrion*, 12, 120–125. DOI: 10.1016/j.mito.2011.04.006
25. Papadopoulos V., Baraldi M., Guilarte T.R., Knudsen T.B., Lacapère J.-J., Lindemann P., Norenberg M.D., Nutt D., Weizman A., Zhang M.-R., Gavish M. (2006) Translocator protein (18 kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends Pharmacol. Sci.*, 27(8), 402–409. DOI: 10.1016/j.expneurol.2009.04.016
26. Roestenberg P., Manjeri G.R., Valsecchi F., Smeitink J.A.M., Willems P.H.G.M., Koopman W.J.H. (2012) Pharmacological targeting of mitochondrial complex I deficiency: the cellular level and beyond. // *Mitochondrion*, 12(1), 57–65. DOI: 10.1016/j.mito.2011.06.011
27. Giorgio V., von Stockum S., Antoniel M., Fabbro A., Fogolari F., Forte M., Glick G.D., Petronilli V., Zoratti M., Szabó I., Lippe G., Bernardi P. (2013) ATP synthase dimers form the mitochondrial PTP. *PNAS*, 110(15), 5887–5892. DOI: 10.1073/pnas.1217823110
28. Bonora M., Bononi A., De Marchi E., Giorgi C., Lebedzinska M., Marchi S., Patergnani S., Rimessi A., Suski J.M., Wojtala A., Wieckowski M.R., Kroemer G., Galluzzi L., Pinton P. (2013) Role of the c subunit of the FO ATP synthase in mitochondrial permeability transition. *Cell Cycle*, 12(4), 674–683. DOI: 10.4161/cc.23599
29. He J., Ford H.C., Carroll J., Ding S., Fearnley I.M., Walker J.E. (2017) Persistence of the mitochondrial permeability transition in the absence of subunit c of human ATP synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114, 3409–3414. DOI: 10.1016/S0014-5793(01)03314-2
30. Kowaltowski A.J., Castilho R.F., Vercesi A.E. (2001) Mitochondrial permeability transition and oxidative stress. *FEBS Lett.*, 495(1-2), 12–15. DOI: 10.1016/S0014-5793(01)02316-X
31. Luciano M., Patrizia S., Annarita A. (2011) Cyclosporine A in Ullrich Congenital Muscular Dystrophy: Long-Term Results. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011, 1–10. DOI: 10.1155/2011/139194
32. Nighoghossian N., Berthezène Y., Mechtouff L., Derex L., Cho T.H., Ritzenthaler T., Rheims S., Chauveau F., Béjot Y., Jacquin A., Giroud M., Ricolfi F., Philippeau F., Lamy C., Turc G., Bodiguel E., Domingo V., Guiraud V., Mas J.L., Oppenheim C., Amarenco P., Cakmak S., Sevin-Allouet M., Guillon B., Desal H., Hosseini H., Sibon I., Mahagne M.H., Ong E., Mewton N., Ovize M. (2015) Cyclosporine in acute ischemic stroke. *Neurology*, 84(22), 2216–2223. DOI: 10.1212/WNL.0000000000001639
33. Atkinson K., Britton K., Biggs J. (1984) Distribution and concentration of cyclosporin in human blood. *Journal of Clinical Pathology*, 37(10), 1167–1171. DOI: 10.1136/jcp.37.10.1167
34. Readnower R.D., Pandya J.D., McEwen M.L., Pauly J.R., Springer J.E., Sullivan P.G. (2011) Post-injury administration of the mitochondrial permeability transition pore inhibitor, NIM811, is neuroprotective and improves cognition after traumatic brain injury in rats. *J. Neurotrauma*, 28(9), 1845–1853. DOI: 10.1089/neu.2011.1755
35. Korde A.S., Pettigrew L.C., Craddock S.D., Pocernich C.B., Waldmeier P.C., Maragos W.F. (2007) Protective Effects of NIM811 in Transient Focal Cerebral Ischemia Suggest Involvement of the Mitochondrial Permeability Transition. *J. Neurotrauma*, 24, 895–908. DOI: 10.1089/neu.2006.0122
36. Wissing E.R., Millay D.P., Vuagniaux G., Molkenin J.D. (2010) Debio-025 Is More Effective Than Prednisone in Reducing Muscular Pathology in Mdx Mice. *Neuromuscul. Disord.*, 20, 753–760. DOI: 10.1016/j.nmd.2010.06.016
37. Warne J., Pryce G., Hill J.M., Shi X., Lennerås F., Puentes F., Kip M., Hilditch L., Walker P., Simone M.I., Chan A.W., Towers G.J., Coker A.R., Duchon M.R., Szabadkai G., Baker D., Selwood D.L. (2016) Selective Inhibition of the Mitochondrial Permeability Transition Pore Protects against Neurodegeneration in Experimental Multiple Sclerosis. *J Biol Chem.*, 291(9), 4356–4373. DOI: 10.1074/jbc.M115.700385
38. Roy S., Šileikytė J., Schiavone M., Neuenswander B., Argenton F., Aubé J., Hedrick M.P., Chung T.D., Forte M.A., Bernardi P., Schoenen F.J. (2015) Discovery, Synthesis, and Optimization of Diarylisoxazole-3-carboxamides as Potent Inhibitors of the Mitochondrial Permeability Transition Pore. *ChemMedChem.*, 10(10), 1655–1671. DOI: 10.1002/cmdc.201500284
39. Averina E.B., Gracheva Y.A., Grishin Y.K., Radchenko E.V., Burmistrov V.V., Butov G.M., Neganova M.E., Serkova T.P., Redkozubova O.M., Shevtsova E.F., Milaeva E.R., Kuznetsova T.S., Zefirov N.S. (2016) Synthesis and biological evaluation of novel 5-hydroxylaminoisoxazole derivatives as lipoxygenase inhibitors and metabolism enhancing agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24(4), 712–720. DOI: 10.1016/j.bmc.2015.12.040
40. Smith R.A., Adlam V.J., Blaikie F.H., Manas A.R., Porteous C.M., James A.M., Ross M.F., Logan A., Cochemé H.M., Trnka J., Prime T.A., Abakumova I., Jones B.A., Filipovska A., Murphy M.P. (2008) Mitochondria-targeted antioxidants in the treatment of disease. *Ann N Y Acad Sci.*, 1147, 105–111. DOI: 10.1196/annals.1427.003
41. Rocha M., Hernandez-Mijares A., Garcia-Malpartida K., Baculs C., Bellod L., Victor V.M. (2010) Mitochondria-targeted antioxidant peptides. *Curr Pharm Des.*, 16(28), 3124–3131. DOI: 10.2174/138161210793292519
42. Srinivasan V., Spence D.W., Pandi-Perumal S.R., Brown G.M., Cardinali D.P. (2011) Melatonin in Mitochondrial Dysfunction and Related Disorders. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2011, 1–16. DOI: 10.4061/2011/326320
43. He H., Dong W., Huang F. (2010) Anti-amyloidogenic and anti-apoptotic role of melatonin in Alzheimer disease. *Curr Neuropharmacol.*, 8(3), 211–217. DOI: 10.2174/157015910792246137
44. Pandi-Perumal S.R., BaHammam A.S., Brown G.M., Spence D.W., Bharti V.K., Kaur C., Hardeland R., Cardinali D.P. (2013) Melatonin antioxidative defense: therapeutical implications for aging and neurodegenerative processes. *Neurotox Res.*, 23(3), 267–300. DOI: 10.1007/s12640-012-9337-4
45. Andrabi S.A., Sayeed I., Siemen D., Wolf G., Horn T.F. (2004) Direct inhibition of the mitochondrial permeability transition pore: a possible mechanism responsible for anti-apoptotic effects of melatonin. *FASEB J.*, 18(7), 869–871. DOI: 10.1096/fj.03-1031fje
46. Bachurin S., Oxenkrug G., Lermontova N., Afanasiev A., Beznosko B., Vankin G., Shevtsova E., Mukhina T., Serkova T. (2000) N-Acetyl-Serotonin, Melatonin and Their Derivatives Improve Cognition and Protect Against beta-Amyloid-induced Neurotoxicity. *Annals of NY Aca of Sci.*, 890, 156–166. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb07990.x

47. Zhou H., Wang J., Jiang J., Stavrovskaya I.G., Li M., Li W., Wu Q., Zhang X., Luo C., Zhou S., Sirianni A.C., Sarkar S., Kristal B.S., Friedlander R.M., Wang X. (2014) N-acetyl-serotonin offers neuroprotection through inhibiting mitochondrial death pathways and autophagic activation in experimental models of ischemic injury. *J Neurosci.*, 34(8), 2967-2978. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1948-13.2014
48. Wang X., Figueroa B.E., Stavrovskaya I.G., Zhang Y., Sirianni A.C., Zhu S., Day A.L., Kristal B.S., Friedlander R.M. (2009) Methazolamide and melatonin inhibit mitochondrial cytochrome C release and are neuroprotective in experimental models of ischemic injury. *Stroke*, 40(5), 1877-1885. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.540765
49. Bachurin S.O., Shevtsova E.P., Kireeva E.G., Oxenkrug G.F., Sablin S.O. (2003) Mitochondria as a target for neurotoxins and neuroprotective agents. *Ann N Y Acad Sci.*, 993, 334-344. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07541.x
50. Millán-Plano S., Piedrafita E., Miana-Mena F.J., Fuentes-Broto L. (2010) Melatonin and Structurally-Related Compounds Protect Synaptosomal Membranes from Free Radical Damage. *J. Mol. Sci.*, 11, 312-328. DOI: 10.3390/ijms11010312
51. Neganova M.E., Klochkov S.G., Afanasieva S.V., Chudinova E.S., Serkova T.P., Shevtsova E.F. (2014) Allomargaritarine as a basis for the creation of mitochondrial targeted potential neuroprotectors. *Eur Neuropsychopharmacol.*, 24, 262. DOI: 10.1016/S0924-977X(14)70409-2
52. Lin X., Jun-Tian Z. (2004) Neuroprotection by D-securinine against neurotoxicity induced by beta-amyloid (25-35). *Neurol Res.*, 26(7), 792-796. DOI: 10.1179/016164104225014148
53. Raj D., Luczkiewicz M. (2008) *Securinega suffruticosa*. *Fitoterapia*, 79(6), 419-427. DOI: 10.1016/j.fitote.2008.02.011
54. Neganova M.E., Serkova T.P., Klochkov S.G., Afanasieva S.V., Shevtsova E.F., Bachurin S.O. (2011) Neuroprotective properties of Allomargaritarine, a Novel Tryptamine Derivative of the Natural Alkaloid Securinine Natural and Technical Sciences, 5, 86-90.
55. Neganova M.E., Klochkov S.G., Afanasieva S.V., Serkova T.P., Chudinova E.S., Bachurin S.O., Reddy V.P., Aliev G., Shevtsova E.F. (2016) Neuroprotective effects of the securinine-analogues: identification of Allomargaritarine as a lead compound CNS & Neurological Disorders - Drug Targets, 15, 102-107. DOI: 10.2174/1871527314666150821111812
56. Neganova M.E., Klochkov S.G., Petrova L.N., Shevtsova E.F., Afanasieva S.V., Chudinova E.S., Fisenko V.P., Bachurin S.O., Barreto G.E., Aliev G. (2017) Securinine Derivatives as Potential Anti-amyloid Therapeutic Approach. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 16(3), 351-355. DOI: 10.2174/1871527315666161107090525
57. Neganova M.E., Blik V.A., Klochkov S.G., Chepurnova N.E., Shevtsova E.F. (2011) Investigation of the Antioxidant Characteristics of a New Tryptamine Derivative of Securinine and its Influence on Seizure Activity in the Brain in Experimental Epilepsy. *Neurochemical Journal*, 5, 208. DOI: 10.1134/S1819712411030056
58. Kim do Y., Simeone K.A., Simeone T.A., Pandya J.D., Wilke J.C., Ahn Y., Geddes J.W., Sullivan P.G., Rho J.M. (2015) Ketone bodies mediate antiseizure effects through mitochondrial permeability transition. *Ann Neurol.*, 78(1), 77-87. DOI: 10.1002/ana.24424
59. Kudin A.P., Debska-Vielhaber G., Vielhaber S., Elger C.E., Kunz W.S. (2004) The mechanism of neuroprotection by topiramate in an animal model of epilepsy. *Epilepsia*, 45(12), 1478-1487. DOI: 10.1111/j.0013-9580.2004.13504.x
60. Matveeva I.A. (1983) Action of dimebon on histamine receptors. *Pharmakology and Toxicology*, 46(4), 27-29.
61. Bachurin S.O., Shevtsova E.P., Kireeva E.G., Oxenkrug G.F., Sablin S.O. (2003) Mitochondria as a Target for Neurotoxins and Neuroprotective Agents. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 993, 334-344. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07541.x
62. Shevtsova E.F., Vinogradova D.V., Kireeva E.G., Prakash Reddy V., Aliev G., Bachurin S.O. (2015) Dimebon Attenuates the Rat-Brain Mitochondrial Permeabilization. *Current Alzheimer Research*, 11(5), 422-429. DOI: 10.2174/1567205011666140505094808
63. Zhang S., Hedskog L., Petersen C.A., Winblad B., Ankarcrona M. (2010) Dimebon (latrepirdine) enhances mitochondrial function and protects neuronal cells from death. *J Alzheimers Dis.*, 21(2), 389-402. DOI: 10.3233/JAD-2010-100174
64. Bharadwaj P.R., Verdile G., Barr R.K., Gupta V., Steele J.W., Lachenmayer M.L., Yue Z., Ehrlich M.E., Petsko G., Ju S., Ringe D., Sankovich S.E., Caine J.M., Macreadie I.G., Gandy S., Martins R.N. (2012) Latrepirdine (dimebon) enhances autophagy and reduces intracellular GFP-A $\beta$ 42 levels in yeast. *J Alzheimers Dis.*, 32(4), 949-967. DOI: 10.3233/JAD-2012-120178
65. Eckert S.H., Eckmann J., Renner K., Eckert G.P., Leuner K., Muller W.E. (2012) Dimebon ameliorates amyloid- $\beta$  induced impairments of mitochondrial form and function. *J Alzheimers Dis.*, 31(1), 21-32. DOI: 10.3233/JAD-2012-120310
66. Eckert S., Gaca J., Kolesova N. (2018) Mitochondrial Pharmacology of Dimebon (Latrepirdine) Calls for a New Look at its Possible Therapeutic Potential in Alzheimer's Disease *J. Aging Dis.*, 9(4), 729-744. DOI: 10.14336/AD, 1014.
67. Bachurin S., Grigoriev V., Shevtsova E., Koroleva I., Dubova L., Kireeva E. (2007) Anti-aging properties of Dimebon: Relation to mitochondrial permeability inhibition, *Experimental Gerontology*, 42(1-2), 142-143. DOI: 10.1016/j.exger.2006.06.017
68. Peters O.M., Shelkovnikova T., Tarasova T., Springe S., Kukharsky M.S., Smith G.A., Brooks S., Kozin S.A., Kotelevtsev Y., Bachurin S.O., Ninkina N., Buchman V.L. (2013) Chronic administration of Dimebon does not ameliorate amyloid- $\beta$  pathology in 5xFAD transgenic mice. *J Alzheimers Dis.*, 36(3), 589-596. DOI: 10.3233/JAD-130071
69. Peters O.M., Connor-Robson N., Sokolov V.B., Aksinenko A.Y., Kukharsky M.S., Bachurin S.O., Ninkina N., Buchman V.L. (2013) Chronic administration of dimebon ameliorates pathology in TauP301S transgenic mice. *J Alzheimers Dis.*, 33(4), 1041-1049. DOI: 10.3233/JAD-2012-121732
70. Bachurin S.O., Shelkovnikova T.A., Ustyugov A.A., Peters O., Khritankova I., Afanasieva M.A., Tarasova T.V., Alentov I.I., Buchman V.L., Ninkina N.N. (2012) Dimebon slows progression of proteinopathy in  $\gamma$ -synuclein transgenic mice. *Neurotox Res.*, 22(1), 33-42. DOI: 10.1007/s12640-011-9299-y
71. Ustyugov A.A., Shelkovnikova T.A., Kokhan V.S., Khritankova I.V., Peters O., Buchman V.L., Bachurin S.O., Ninkina N.N. (2012) Dimebon reduces the levels of aggregated amyloidogenic protein forms in detergent-insoluble fractions *in vivo*. *Bull Exp Biol Med.*, 152(6), 731-733. DOI: 10.1007/s10517-012-1618-7
72. Yamashita M., Nonaka T., Arai T., Kametani F., Buchman V.L., Ninkina N., Bachurin S.O., Akiyama H., Goedert M., Hasegawa M. (2009) Methylene blue and dimebon inhibit aggregation of TDP-43 in cellular models. *FEBS Lett.*, 583(14), 2419-2424. DOI: 10.1016/j.febslet.2009.06.042
73. Khritankova I.V., Kukharskiy M.S., Lytkina O.A., Bachurin S.O., Shorning B.Y. (2012) Dimebon activates

- autophagosome components in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. Dokl Biochem Biophys., 446, 251-253. DOI: 10.1134/S1607672912050079
74. Pieper A.A., Xie S., Capota E., Estill S.J., Zhong J., Long J.M., Becker G.L., Huntington P., Goldman S.E., Shen C.H., Capota M., Britt J.K., Kotti T., Ure K., Brat D.J., Williams N.S., MacMillan K.S., Naidoo J., Melito L., Hsieh J., De Brabander J., Ready J.M., McKnight S.L. (2010) Discovery of a proneurogenic, neuroprotective chemical. Cell, 142(1), 39-51. DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.018
75. Hou Y., Mattson M.P., Cheng A. (2013) Permeability Transition Pore-Mediated Mitochondrial Superoxide Flashes Regulate Cortical Neural Progenitor Differentiation. PLoS ONE, 8(10), 76721. DOI: 10.1371/journal.pone.0076721
76. Shin J.Y., Kong S.Y., Yoon H.J., Ann J., Lee J., Kim H.J. (2015) An Aminopropyl Carbazole Derivative Induces Neurogenesis by Increasing Final Cell Division in Neural Stem Cells. Biomol Ther (Seoul), 23(4), 313-319. DOI: 10.4062/biomolther.2015.016
77. Wang G., Han T., Nijhawan D., Theodoropoulos P., Naidoo J., Yadavalli S., Mirzaei H., Pieper A.A., Ready J.M., McKnight S.L. (2014) P7C3 neuroprotective chemicals function by activating the rate-limiting enzyme in NAD salvage. Cell, 158(6), 1324-1334. DOI: 10.1016/j.cell.2014.07.040
78. Wang S.N., Xu T.Y., Wang X., Guan Y.F., Zhang S.L., Wang P., Miao C.Y. (2016) Neuroprotective Efficacy of an Aminopropyl Carbazole Derivative P7C3-A20 in Ischemic Stroke. CNS Neurosci Ther, 22(9), 782-788. DOI: 10.1111/cns.12576
79. Jiang B., Song L., Huang C., Zhang W. (2016) P7C3 Attenuates the Scopolamine-Induced Memory Impairments in C57BL/6J Mice. Neurochem Res., 41(5), 1010-1019. DOI: 10.1007/s11064-015-1783-y
80. Blaya M.O., Bramlett H.M., Naidoo J., Pieper A.A., Dietrich W.D. (2014) Neuroprotective efficacy of a proneurogenic compound after traumatic brain injury. J Neurotrauma, 31(5), 476-486. DOI: 10.1089/neu.2013.3135
81. Kuharskiy M.S., Ovchinnikov R.K., Ustyugov A.A., Bachurin S.O. (2014) Molecular Aspects of Pathogenesis and Modern Approaches to Pharmacological Correction of Alzheimer's Disease. Neurodegenerative Diseases: from the Genome to the Whole Organism, Ed. M.V.Ugryumov, Moscow, Scientific World, 2, 137-162.
82. Bachurin S. (2015) Contemporary Approaches for Pharmacological Intervention of Abundant Neurodegenerative Disorders. J Nanomedicine Biotherapeutic Discov, 5(2), 137. DOI: 10.4172/2155-983X.1000e137

Поступила: 01. 08. 2018.  
Принята к публикации: 10. 09. 2018.

## MITOCHONDRIA ARE AN IMPORTANT TARGET IN THE SEARCH FOR NEW DRUGS FOR THE TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE AND SENILE DEMENTIA

*E.F. Shevtsova\*, D.V. Vinogradova, M.E. Neganova, P.N. Shevtsov, B.V. Lednev, S.O. Bachurin*

Institute of Physiologically Active Compounds of the Russian Academy of Sciences,  
1 Severny proezd, Moscow region, Chernogolovka, 142432 Russia; \*e-mail: shevtsova@ipac.ac.ru

The review and summarizes own and literature data about the role of mitochondria as the important target in the search for drugs for the treatment of neurodegenerative diseases. Aging is a major risk factor for sporadic forms of various neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease. One of the most argued and currently accepted theories is the Mitochondrial Free Radical Theory of Aging. Mitochondrial hypotheses of the development of sporadic forms of neurodegenerative diseases particularly Alzheimer's disease, are closely connected with it. Impairments of mitochondrial functions lead to a decrease in their ability to regulate calcium homeostasis in the cell and to a decrease in the threshold for the induction of mitochondrial permeability transition (MPT) pores. MPT inhibitors can be considered as a promising approach to the treatment of neurodegenerative diseases, since these drugs can not only exhibit the properties of neuroprotectors, but also can provide normalization of synaptic activity due to increased calcium capacity of mitochondria. The review presents data on the number of MPT inhibitors, including endogenous compounds melatonin and N-acetylserotonin, their bioisosteric analogue Dimebon and a number of other compounds. The use of mitochondria as a basis for the formation of screening strategy for the search for compounds for the treatment of neurodegenerative diseases is of particular interest – both as a test of their potential toxicity, and as a basis for the creation of metabolic stimulants and drugs with neuroprotective and cognitive-stimulating effect.

**Key words:** neurodegenerative diseases; mitochondria; calcium; mitochondrial permeability transition pore; Dimebon

### ACKNOWLEDGMENTS

This work was done in frames of the IPAC Research Program Framework 0090-2017-0019.