

DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-2-15-22

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ АФОБАЗОЛА

М. В. Воронин, И. А. Кадников, Е. В. Абрамова¹

В обзоре изложены результаты исследований, посвящённых анализу участия сигма-1 рецептора (шаперон Sigma1R) и фермента хинон-редуктаза 2 (NQO2) в фармакодинамике афобазола.

Ключевые слова: афобазол; анксиолитик; нейропротекция; сигма-1 рецептор; хинон-редуктаза 2.

ВВЕДЕНИЕ

Стресс, как фактор эволюции, влияет на сложный комплекс генетических и эпигенетических механизмов, формирующих устойчивые индивидуально-типологические особенности поведения [65, 113] и, как следствие, реакции на психотропные средства [62]. Пионерские исследования Д. К. Беляева в области биологии и генетики стресса [5, 6] вошли в современное издание учебного руководства по генетике поведения [85]. В развитие этих базовых научных принципов группой сотрудников ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” под руководством академика Сергея Борисовича Середенина сформулирована фармакогенетическая концепция анксиоселективного эффекта, в рамках которой разработан, фармакологически изучен и внедрён в медицинскую практику анксиолитик афобазол (2-(2-морфолино-этилтио)-5-этоксисбензимидазола дигидрохлорид), лишённый побочных эффектов, характерных для безодиазепиновых транквилизаторов [20, 26]. В экспериментальных моделях афобазол проявил нейропротекторную активность [10, 12, 28, 30] и антидепрессивно-подобные свойства [29].

Сродство афобазола к сигма-1 рецептору (P) (шаперон сигма-1P, $K_i = 5,9$ мкМ), регуляторным сайтам хинон-редуктазы 2 (NQO2/QR2; MT_3 -рецептор, $K_i = 0,97$ мкМ) и MAO-A ($K_i = 3,6$ мкМ). Меньшую аффинность афобазол обнаружил к мелатониновому P 1 типа (MT_1 -P, $K_i = 16$ мкМ) [24], ассоциированному с G-белками (GPCR) [115]. Известно, что соединения с $K_i > 10$ мкМ рассматриваются как слабые лиганды для классических типов P [64]. Фермент MAO-A хорошо изучен как фармакологическая мишень для регуляции уровня нейромедиаторов [126]. Поэтому основные исследования научной группы лаборатории фармакологической генетики под руководством С. Б. Середенина были направлены на выяснение вклада сигма-1P и NQO2 в механизм фармакологического действия афобазола.

Строение и функциональная активность шаперона сигма-1P

Сигма-1P идентифицирован в лаборатории Т. Р. Су в 1982 г. [116]. К настоящему времени установлены шаперонные свойства сигма-1P, накоплено значительное количество данных, характеризующих строение, функциональную активность и лигандную регуляцию сигма-1P. Большинство исследований систематизированы и отражены в подробных обзорах и сборниках трудов [50, 53, 87, 100, 108, 109, 117, 122, 124, 25]. Белок сигма-1P человека и грызунов включает 223 аминокислотных остатка (25 kDa) идентичных более чем на 90 %. Сигма-1P обладает уникальной аминокислотной последовательностью и не имеет гомологии с известными белками млекопитающих [87, 100]. В 2016 г. определена кристаллическая структура белка с одним трансмембранным доменом на каждый мономер [35, 111]. Установлено, что олигомеризация сигма-1P зависит от взаимодействия с лигандами и влияет на функциональную активность шаперона [34, 50, 63, 94, 125].

Шаперон сигма-1P экспрессируется в структурах головного мозга (ГМ) человека [118] и грызунов [36, 40, 66, 76, 88]. Сигма-1P является резидентным белком эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и преимущественно локализован в богатой холестерином области контакта мембран ЭПР с митохондриями (ММ) [53, 73, 117, 130]. В этом компартменте сигма-1P осуществляет шаперонные функции в отношении IP3R3, поддерживая ток Ca^{2+} из ЭПР в митохондрии и продукцию АТФ [74]. Шаперон сигма-1P воздействует на сенсор Ca^{2+} в ЭПР STIM1 и регулируют депо-управляемый вход Ca^{2+} в клетку [114]. Взаимодействие шаперона с каналом VDAC2 оказывает влияние на поступление холестерина и синтез прегненолона в митохондриях [91, 102]. Сигма-1P стабилизирует сенсор ЭПР стресса IRE1, пролонгируя его димеризацию, способствует эндонуклеазной активности и продукции функционально активного фактора транскрипции XBP1, индуцирующего экспрессию генов нейротрофинов, белков антиоксидантной защиты, шаперонов [95, 110]. Сигма-1P способен образовывать Ca^{2+} чувствительный комплекс с основным шапероном ER BiP (GRP 78, HSPA5) [74, 99], который диссоциирует при действии агонистов сигма-1P, активируя BiP [74, 72]. Взаимодействие BiP с сенсорами ЭПР стресса IRE1, PERK и

¹ ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова”, Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8.

ATF6 ингибирует их активность [82]. В свою очередь, вне условий ЭПР стресса и в комплексе с IRE1 BiP сам действует как сенсор ЭПР стресса и не выполняет шаперонные функции [86]. Активность сигма-1P в области МАР имеет важное значение для ответа на ЭПР стресс (UPR - unfolded protein response) при развитии патологических процессов [53, 96].

Шаперон сигма-1P участвует в образовании липидных компартментов ЭПР. При лигандной активации или в условиях клеточного стресса шаперон в составе липидных микродоменов способен как к перераспределению внутри ЭПР, так и к транслокации в область плазматической и ядерной мембран [69, 72, 70]. Сигма-1P вступает в белок-белковые взаимодействия и регулирует функциональную активность множества P, ионных каналов, ферментов плазматической мембраны [108, 117]. В их число входят ионные каналы (ASICs, $K_v1.2$, $K_v1.3$, $K_v2.1$, $Na_v1.2$, субъединица GluN1 NMDA-глутаматных P), сопряжённые с G белками P (дофаминовые — D_1 и D_2 , опиодные — μ , каннабиноидные CB_1 P), тирозинкиназные P нейротрофинов trkB, P фактора роста тромбоцитов PDGFR β [50, 117].

Сигма-1P обладает способностью к связыванию множества веществ и лекарственных препаратов разных химических групп, обладающих психотропной активностью. Среди них бензоморфаны ((+)-пентазонин), антидепрессанты (флувоксамин), нейролептики (галоперидол), нейростероиды (DHEA), декстрометорфан, кетамин [50, 107, 108].

Таким образом, вызванная лигандной активацией сигма-1P внутриклеточная транслокация и способность шаперона взаимодействовать с резидентными белками ядерной и плазматической мембран могут быть направлены на купирование патологических процессов и достижение цитопротекторного действия. В зависимости от локализации в ЦНС и клеточной популяции шаперонная активность сигма-1P опосредует нейропротекторный, антидепрессивный, анксиолитический эффекты [122].

Строение и функциональная активность NQO2

Фермент NQO2 является флавопротеином, катализирующим 2-х электронное восстановление парахинонов (1,4-хиноны), ортохинонов (1,2-хиноны) и псевдохинонов [77]. Свойственная NQO2 ферментативная активность обнаружена в 60-х гг. прошлого века. В 1997 г. клонирован ген фермента и определена последовательность NQO2 человека, включающая 231 аминокислотный остаток (26 kDa) [129]. Позднее установлена кристаллическая структура белка, мономер которого состоит из каталитического (1 – 220 аа) и С-концевого доменов (221 – 230 аа) [59]. В отличие от гомологичного фермента NAD(P)H дегидрогеназы [хинон] 1 (NQO1) [58], NQO2 не распознаёт NAD(P)H, но в качестве ко-субстратов использует производные N-алкил никотинамида (NMNH, NRH, BNAH) [77]. Кроме того, особенностью NQO2 является наличие

участков связывания с Zn^{2+} [59], мелатонином и родственными лигандами (MT_3 -P) [42]. Несмотря на различия, оба фермента кристаллизуются в виде гомодимера и обладают одинаковым каталитическим “пинг-понг” механизмом [59, 77, 104]. В клетке NQO2 локализован преимущественно в цитозоле [77]. Есть данные, свидетельствующие о присутствии фермента в нуклеоплазме [47] и мембранных фракциях [54]. Экспрессия NQO2 неоднородна в органах и тканях [77]. Белок обнаруживается в нейронах различных структур ГМ <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000124588-NQO2/tissue>.

Для характеристики спектра известных метаболизируемых соединений можно обратиться к специальным обзорам [57, 77]. Из экзогенных субстратов NQO2 наиболее изучен парахинон менадион (витамин K_3) [46, 59, 106]. Химически относительно стабильным эндогенным субстратом NQO2 является адренохром, ортохиноновое производное адреналина. Фермент ко-кристаллизуется с дофамином (ДА). Локализация ДА и адренохрома в активном сайте фермента оказалась сходной с выявленной для менадиона [60]. Показано, что NQO2 существенно превосходит NQO1 в восстановлении ортохиноновых продуктов метаболизма катехоламинов (аминохром, адренохром, допахром), что связано с особенностями образования водородных связей в активном сайте фермента [61, 77]. Эти исследования указывают на важную роль NQO2 в метаболизме катехоламинов.

До установления аминокислотной последовательности NQO2 [129], данные радиолигандного анализа позволили рассматривать фермент как подтип мелатониновых P (MT_3 -P). Мелатонин и производные лиганды вытесняют 2-[^{125}I]-йодомелатонин с K_i в наномолярном диапазоне концентраций. Сайт связывания характеризуется быстрой кинетикой, обратимостью, насыщаемостью, фармакологической селективностью [55, 98]. Ко-кристаллизация NQO2 с аффинными лигандами MT_3 -P [44, 101], обнаружение специфического связывания при трансфекции гена *NQO2* в культуру клеток [89, 97], отсутствие рецепторной активности в ГМ мышей с дефицитом гена *Nqo2* [90] подтвердили тождественность NQO2 и MT_3 -P.

Связывание известных лигандов с MT_3 -P вызывает ингибирование NQO2. К числу ингибиторов фермента с IC_{50} в микромолярном диапазоне концентраций относятся мелатонин, МСА-НАГ и их йодированные производные, антагонист α -адренорецепторов празозин [101]. Разработанный под руководством J. Boutin высокоаффинный лиганд MT_3 -P — соединение S29434 (NMDPEF) — селективно ингибирует фермент в наномолярном диапазоне концентраций и используется для изучения биологической роли NQO2 [41, 89].

Функцией NQO2 является детоксикация хинонов [60], однако образовавшиеся нестабильные хинолы (гидрохиноны) способны окисляться с генерацией АФК [77, 106]. В клетках нервной системы такие про-

цессы характерны для восстановления ортохинонных производных катехоламинов, например ДА о-хинона. Полученный в ходе реакции ДА при физиологическом значении рН вновь окисляется до ДА о-хинона и аминоксима с образованием супероксид анион радикалов [112, 119].

Таким образом, активация NQO2 может способствовать циклическим химическим реакциям с продукцией АФК, окислительному стрессу и клеточному повреждению [46, 128]. Это предположение согласуется с повышенной экспрессией гена *NQO2* у пациентов с болезнью Альцгеймера [67] и болезнью Паркинсона [123]. Приведённые данные убедительно указывают на возможность достижения цитопротекторной и нейропротекторной активности при ингибировании NQO2, что находит подтверждение в экспериментах [45, 47, 78, 103].

Анксиолитическое действие афобазола

Афобазол оказывает избирательное анксиолитическое действие, зависимое от фенотипа реакции на эмоциональный стресс [19]. С использованием фармакогенетического подхода показано, что в батарее поведенческих тестов, моделирующих эмоционально-стрессовое воздействие, афобазол активизирует поведение инбредных мышей линии BALB/c с реакцией замирания в новой обстановке и не влияет на поведение мышей линии C57Bl/6 с активным исследовательским фенотипом поведения в условиях стресса [26, 32]. В отделе фармакогенетики под руководством С. Б. Середенина подробно изучен феномен стресс-индуцированного падения специфического бензодиазепинового связывания в ГМ [31, 33]. Установлено, что селективный анксиолитический эффект афобазола сопровождается восстановлением бензодиазепиновой рецепции у мышей BALB/c и C57Bl/6 в зависимости от типа стрессирующего воздействия, а сам показатель может применяться для оценки эффектов анксиолитиков [32]. Принимая во внимание отсутствие у афобазола лигандных свойств к бензодиазепиновому сайту ГАМК_A-рецепторного комплекса и быстрое развитие эффекта [24, 33], можно предположить, что восстановление функции бензодиазепинового участка связывания является следствием конформационных событий на уровне белковых субъединиц и/или их липидного окружения. Не исключено, что эти процессы обусловлены лигандной активацией шаперона сигма-1P. Эта гипотеза согласуется с проявлением у мышей с дефицитом гена *Sigmar1*, тревоги и депрессивно-подобного поведения [48], которое сочетается с нарушением активности ГАМК_A-рецепторного комплекса в базолатеральной миндалине [127]. С другой стороны, известен вклад лигандной активации сигма-1P в ослабление тревожного поведения мышей в экспериментальных моделях [79, 80]. Также продемонстрирована способность лигандов сигма-1P препятствовать реакции замирания аквариумных рыб *Danio rerio* и мышей в ответ на стрессовое воздействие и стимулировать активное избегание угрозы [105].

В отделе фармакогенетики ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” проведён цикл исследований, направленных на изучение вклада шаперона сигма-1P в механизм анксиолитического действия афобазола. С применением радиолигандного анализа *ex vivo* получены IC₅₀ афобазола при вытеснении меченого селективного агониста сигма-1P — [³H](+)-пентазоцина из мест связывания в P2 фракции гомогенатов ГМ мышей ICR (CD-1; IC₅₀ = 13,7 мкМ), C57Bl/6 (IC₅₀ = 7,7 мкМ) и BALB/c (IC₅₀ = 6,4 мкМ), которые оказались близкими к значению, полученному ранее на культуре Т-лимфоцитов человека (IC₅₀ = 7,1 мкМ). Кривые конкурентного вытеснения [³H](+)-пентазоцина при инкубации с P2 мембранными фракциями длительностью 120 мин при температуре 37° С описывались уравнением криволинейной регрессии с одним сайтом связывания, а значения IC₅₀ статистически значимо не отличались [3, 21, 24]. Использование оригинального радиолиганда сигма-1P – соединения [G-³H]PRE-084 в условиях инкубации с P2 фракциями длительностью 15 мин при температуре 4 °С позволило установить идентичность сайтов связывания PRE-084 и афобазола. Кроме того, выявлены межлинейные различия взаимодействия афобазола с сигма-1P [3]. Интересно, что кривая конкурентного вытеснения [G-³H]PRE-084 для инбредных мышей C57Bl/6 соответствовала уравнению криволинейной регрессии с одним сайтом связывания, тогда как для аутбредной линии ICR и инбредных мышей BALB/c предпочтительней оказалась модель с двумя сайтами связывания. Статистический анализ различий IC₅₀ в микромолярной области выявил более высокое сродство афобазола к сигма-1P у мышей BALB/c (IC₅₀ = 0,7 мкМ) в сравнении с C57Bl/6 (IC₅₀ = 3 мкМ). Статистически значимых различий с мышами ICR (IC₅₀ = 1,6 мкМ) не обнаружено [3]. Полученные результаты могут быть следствием различной химической структуры меченых лигандов и/или неодинаковой функциональной активности сигма-1P у экспериментальных животных.

Шаперон сигма-1P способен к внутриклеточному перераспределению при действии агонистов, которое соответствует уменьшению содержания белка в микросомальной фракции низкой плотности (P3L; мембраны ЭПР) и его увеличению в грубой синаптосомальной (P2; цитоплазматические мембраны, мембраны митохондрий) и ядерной (P1; ядерные мембраны) фракциях [72, 71]. В наших исследованиях максимальное специфическое связывание [³H](+)-пентазоцина выявлено в P3 фракции гомогенатов ГМ мышей, что отражает преимущественную локализацию сигма-1P в области ЭПР [93, 1, 2]. В экспериментах *in vitro* на культуре иммортализованных нейронов гиппокампа мыши NT-22 установлена способность афобазола (10 нМ) через 30 и 60 мин после добавления в среду вызывать транслокацию сигма-1P в область цитоплазматической мембраны, включая аксоны [22]. Эти данные согласуются с увеличением специфического свя-

звывания [^3H](+)-пентазоцина в P2 фракции гомогенатов ГМ мышей ICR через 30 мин после внутрибрюшинного (в/б) введения афобазола в дозе 5 мг/кг в сравнении с контрольными группами [1, 2]. Совокупность экспериментальных данных указывает на наличие у афобазола свойств агониста сигма-1Р, что соответствует способности препарата снижать двигательные расстройства, вызванные антагонистом сигма-1Р галоперидолом [27].

Стрессовое воздействие в тесте “Открытое поле” (ОП) оказывало разнонаправленное влияние на специфическое связывание [^3H](+)-пентазоцина в мембранных фракциях ГМ мышей аутбредных (ICR) и инбредных линий (C57Bl/6, BALB/c) [1, 2]. Отмечено увеличение связывания меченого агониста сигма-1Р в P3 фракциях мышей BALB/c в сравнении с C57Bl/6 [2]. Не исключено, что это отличие обусловлено реакцией страха и сопряжено с диссоциацией сигма-1Р от основного шаперона ЭПР BiP на начальных этапах развития ЭПР стресса, который может активироваться сразу после эмоционально-стрессового воздействия [37]. Полученные результаты также согласуются с гипотезой Т. Hayashi о трансформации эмоционально-стрессового воздействия в клеточный стресс [68]. Афобазол в условиях введения за 30 мин до исследования в ОП способен повышать связывание [^3H](+)-пентазоцина в P2 фракции гомогенатов ГМ мышей ICR в сравнении с контрольной группой [1].

В недавно опубликованном исследовании показана способность афобазола (12 мг/кг в/б) влиять на экспрессию генов в ГМ крыс MR через 1 час после экспозиции в тесте ОП со световой вспышкой. Результаты экспериментов указывают на возможный вклад в механизм действия афобазола процессов регуляции трансляции белков (*Rpl5*, *Rpl15*, *Ncl*, *Ybx1*), синаптических функций (*Cplx2*, *Dlg4*, *Syngap1*, *Add1*, *Rab8b*, *Klc1*, *Chn1*) и клеточного метаболизма (*Akr1d1*, *Bcat1*, *Pkm*) [7].

Окислительный стресс включён в патогенез тревожных расстройств [56, 68]. В нашем исследовании в бесклеточной системе *in vitro* установлена способность афобазола ингибировать NQO2 [14], что может способствовать снижению продукции АФК [45]. Поэтому нельзя исключить вклад взаимодействия с регуляторным сайтом фермента NQO2 (MT₃-P) в анксиолитическое действие афобазола. Так метаболит афобазола соединение M-11 (2-[2-(3-оксоморфолин-4-ил)-этилтио]-5-этоксibenзимидазол) [23] селективно связывается с регуляторным сайтом NQO2 (K_i = 0,39 мкМ) [24], ингибирует фермент [17] и в идентичном афобазолу дозовом диапазоне проявляет анксиолитическую активность у мышей в тесте “Приподнятый крестообразный лабиринт” [18].

Антидепрессивно-подобное действие афобазола

В тесте “Вынужденное плавание” афобазол в дозе 5 мг/кг (в/б) оказывал антидепрессивно-подобное действие на самцов беспородных крыс [29]. Принимая во внимание значение активации шаперона сигма-1Р для

развития антидепрессивного действия, всесторонне рассмотренное авторами настоящей статьи в обзоре [122], уменьшение длительности иммобилизации и увеличение двигательной активности животных в указанных тестах может быть следствием агонистического влияния афобазола на сигма-1Р. Вклад в антидепрессивно-подобное действие афобазола может внести и его ингибирующее влияние на MAO-A [8].

Нейропротекторное действие афобазола

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* выявлено нейропротекторное действие афобазола. Препарат повышал выживаемость нейронов гиппокампа мыши HT-22 на модели глутаматной токсичности и окислительного стресса *in vitro* [12]. На модели геморрагического инсульта на крысах афобазол ослаблял проявление неврологических нарушений, улучшал процессы обучения и памяти, повышал выживаемость животных [10, 28]. На экспериментальной модели фокальной ишемии афобазол в дозах от 0,1 до 5 мг/кг уменьшал очаг поражения через 72 ч после операции [30]. В условиях глобальной преходящей ишемии афобазол в дозе 10 мг/кг через 24 ч после реперфузии восстанавливал баланс возбуждающих и тормозных аминокислот в полосатом теле (ПТ) крыс, а также повышал уровень таурина, эндогенного нейропротекторного агента [4].

Известно о значении активации сигма-1Р и ингибирования NQO2 для развития цитопротекторного и нейропротекторного эффектов [43, 45, 49, 92]. Поэтому совместная фармакологическая регуляция шаперона сигма-1Р и NQO2 рассматривается как перспективный подход для лечения нейродегенеративных заболеваний. Под руководством С. Б. Середенина выполнены исследования, направленные на установление роли шаперона сигма-1Р и NQO2 в развитии нейропротекторного действия при их совместной и раздельной регуляции оригинальными лигандами. Как было указано выше, афобазол проявляет свойства агониста сигма-1Р [22] и ингибирует NQO2 со значением K_i, близким к полученному для мелатонина, эндогенного лиганда MT₃-P [14]. С учётом природы белковых мишеней афобазола был разработан методологический подход, основанный на использовании для моделирования клеточного повреждения субстратов NQO2 и сравнения эффектов мультитаргетного препарата афобазола, его метаболита M-11, специфично взаимодействующего с регуляторным сайтом NQO2 (MT₃-P), и селективных лигандов сигма-1Р. В экспериментах *in vitro* клеточное повреждение оценивали методом гель-электрофореза отдельных клеток (метод ДНК-комет) по уровню фрагментированности геномной ДНК [11]. Для ингибирования NQO1 использовали дикумарол в необходимой концентрации. На начальном этапе установлено значение NQO2 для развития цитопротекторных влияний афобазола и M-11 в условиях добавления менадиона, экзогенного субстрата NQO2, к суспензии клеток костного мозга мышей ICR. Интересно, что афобазол значительно уменьшал фрагментированность ДНК клеток в меньших концентрациях, чем M-11 [16].

Полученные результаты указывают на вклад в механизм защитного действия афобазола других мишеней препарата. Это предположение подтвердилось в экспериментах с использованием лигандов сигма-1Р. Селективный антагонист сигма-1Р — вещество BD-1047 (1, 10 мкМ) препятствовало цитопротекторному эффекту афобазола (10 мкМ), но не влияло на активность М-11 в действующей концентрации (50 мкМ). Селективный агонист сигма-1Р — соединение PRE-084 также проявляло цитопротекторную активность на данной модели, но в концентрации 10 мкМ оказывал менее выраженное действие в сравнении с афобазолом [120].

Для оценки вклада сигма-1Р и NQO2 *in vitro* в нейропротекторное действие афобазола в рамках выбранного методологического подхода в отделе фармакогенетики разработана экспериментальная модель с использованием иммортализованной культуры клеток гиппокампа мыши HT-22. Модель основана на развитии окислительного повреждения клеток, экспрессирующих NQO2, при их совместной инкубации с эндогенным субстратом фермента адренохромом и синтетическим ко-субстратом BNAH [45]. На указанной модели прединкубация клеток с афобазолом (25–100 мкМ) в течение 30 мин вызывала значимое уменьшение повреждения геномной ДНК нейронов. Селективный антагонист сигма-1Р соединение BD-1047 (25 мкМ) ослабляло действие афобазола, что согласуется с ранее полученными данными и указывает на вклад шаперона в механизм нейропротекторного действия афобазола. Оригинальный ингибитор NQO2 метаболит афобазола М-11 оказался эффективнее афобазола в концентрациях 50 и 100 мкМ, уменьшая уровень повреждения ДНК до контрольных значений. В тех же экспериментальных условиях М-11 и известный ингибитор фермента S29434 вызывали сопоставимое защитное действие на клетки. Увеличение времени инкубации до 45 мин нивелировало различия в эффективности между афобазолом и М-11, которые снижали уровень повреждений до контрольных значений в диапазоне концентрации 25–100 мкМ. Сравнение активности афобазола и М-11 свидетельствует о значении NQO2 для нейропротекторного действия. Различия в эффективности мультитаргетного препарата афобазола и более аффинного селективного лиганда регуляторного сайта NQO2 М-11 в условиях получасовой прединкубации могут отражать преимущественный вклад ингибирования NQO2 в модели клеточного повреждения, вызванного совместной инкубацией с субстратом и ко-субстратом фермента.

Для изучения нейропротекторного действия афобазола *in vivo* в лаборатории фармакологической генетики использована модель болезни Паркинсона основанная на унилатеральном введении 6-гидроксидофамина (6-OHDA) в ПТ аутбредным мышам ICR. В экспериментах установлено, что двухнедельное введение афобазола в дозе 2,5 мг/кг в/б с началом курса через 30 мин после введения 6-OHDA восстанавливает уровень ДА в ПТ мышей и не влияет на этот показатель у

ложно-оперированных животных [9]. Позитивное влияние афобазола на уровень ДА в ПТ сопровождалось увеличением количества нейронов чёрной субстанции (ЧС), экспрессирующих тирозингидроксилазу (ТН+) [121], и нормализацией двигательной активности мышей в тесте “Вращающийся стержень” (ВС) [15]. Полученные данные свидетельствуют о нейропротекторной активности афобазола в данной экспериментальной модели и позволили предпринять более глубокие исследования вклада шаперона сигма-1Р в механизм действия препарата с использованием селективных лигандов сигма-1Р [121]. Установлено, что в условиях двухнедельного в/б введения соединений с началом курса через 30 мин после введения 6-OHDA в ПТ восстанавливающее действие афобазола (2,5 мг/кг в/б) на уровень ДА в ПТ и двигательную активность в тесте ВС мышей сравнимо по выраженности с влиянием селективного агониста сигма-1Р соединения PRE-084 (1 мг/кг в/б). Содержание ДА в ПТ положительно коррелировало с временем удержания животных на стержне во всех экспериментальных группах. Селективный антагонист сигма-1Р вещество BD-1047 (3 мг/кг в/б) значимо ослабляло действие афобазола и PRE-084, однако его влияние на эффекты афобазола оказалось менее выраженным, что свидетельствует о вовлечённости в нейропротекторное действие афобазола других молекулярных механизмов [121]. Ранее показано, что сравнение эффектов мультитаргетного препарата афобазола и его метаболита М-11, селективно взаимодействующего с мелатонин-зависимым регуляторным сайтом NQO2, является удобным инструментом оценки вклада NQO2 в механизм действия афобазола [120]. На модели болезни Паркинсона соединение М-11 в дозе 2,5 мг/кг (в/б) не влияло на уровень ДА в повреждённом ПТ, количество ТН+ нейронов в ЧС и двигательную активность животных. Однако увеличение дозы М-11 до 7,5 мг/кг сопровождалось нейропротекторным действием, сопоставимым с эффектом афобазола в дозе 2,5 мг/кг [13]. Приведённые результаты согласуются с данными исследований *in vitro* и убедительно демонстрируют вклад как активации шаперона сигма-1Р, так и ингибирования NQO2 в нейропротекторное действие афобазола. Выявленное в условиях профилактического введения нейропротекторное действие афобазола определило целесообразность изучения действия препарата на модели болезни Паркинсона при его отсроченном введении. Двухнедельный курс афобазола в дозе 2,5 мг/кг, начатый через 14 дней после введения 6-OHDA в ПТ мышей ICR, восстанавливал уровень ДА в ПТ и двигательную активность в тесте ВС экспериментальных животных до контрольных значений. Эффекты афобазола оказались сопоставимы с действием селективного агониста сигма-1Р соединения PRE-084 (1 мг/кг в/б) и блокировались селективным антагонистом сигма-1Р веществом BD-1047 (3 мг/кг в/б) [81]. Полученные результаты отражают значение сигма-1Р для нейропротекторного действия афобазола.

Плодотворное сотрудничество С. Б. Середенина с Университетом Южной Флориды (США) внесло существенный вклад в понимание роли шаперона сигма-1Р в механизм нейропротекторного действия афобазола. В исследованиях *in vitro* афобазол блокировал вызванный моделированием ишемии, ацидозом или амилоидом $A\beta_{25-35}$ входящий ток Ca^{2+} в нейронах коры ГМ. Селективные антагонисты Sigma1R препятствовали действию афобазола [39, 51]. Ингибирование афобазолом тока $[Ca^{2+}]_i$ сопровождалось уменьшением клеточной гибели [39, 51]. Известна роль активации микроглии в провоспалительном повреждении клеток нервной системы [75]. Афобазол блокировал миграцию микроглии в ответ на добавление в среду АТФ, УТФ или амилоида $A\beta_{25-35}$. Вклад сигма-1Р в эти эффекты афобазола выявлен с применением селективных антагонистов сигма-1Р, которые значительно ослабляли действие препарата [38, 52]. Значение шаперона сигма-1Р для нейропротекторного действия афобазола продемонстрировано *in vivo* на модели ишемического инсульта с окклюзией средней мозговой артерии крыс. Трёхдневный курс афобазола значительно уменьшал нейродегенерацию в диапазоне доз 0,1 – 30 мг/кг (в/б), с достижением максимального эффекта в дозе 3 мг/кг [84]. На этой экспериментальной модели афобазол снижал гибель и активацию микроглии и астроглии [83]. Селективный антагонист сигма-1Р соединение VD-1063 (30 мг/кг в/б) негативно влияло на способность афобазола уменьшать размер очага ишемического повреждения и оказывать протекторное влияние на глиальные элементы [83, 84]. Приведённые данные подтверждают ранее выявленное в ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” нейропротекторное действие афобазола при моделировании ишемического и геморрагического повреждений ГМ крыс [10, 28, 30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Под руководством академика РАН Сергея Борисовича Середенина впервые разработана стратегия фармакологического изучения шаперонов. В масштабных исследованиях установлена вовлечённость шаперона сигма-1Р в механизм анксиолитического эффекта афобазола. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* доказан вклад активации сигма-1Р и ингибирования NQO2 для развития нейропротекторного действия препарата. Результаты экспериментов позволяют рассматривать афобазол как средство адьювантной терапии депрессивных расстройств и нейродегенеративных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. В. Абрамова, М. В. Воронин, С. Б. Середенин, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **80**(2), 3 – 7 (2017); doi: 10.30906 / 0869-2092-2017-80-2-3-7.
2. Е. В. Абрамова, М. В. Воронин, С. Б. Середенин, *Хим.-фарм. журн.*, **53**(8), 3 – 7 (2019); doi: 10.30906 / 0023-1134-2019-53-8-3-7.
3. Е. В. Абрамова, М. В. Воронин, С. Б. Середенин, *Хим.-фарм. журн.*, **49**(1), 9 – 11 (2015); doi: 10.30906 / 0023-1134-2015-49-1-9-11.
4. В. С. Байкова, И. А. Кадников, М. В. Воронин и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **151**(5), 528 – 531 (2011).
5. Д. К. Беляев, *История и теория эволюционного учения*, Ленинград (1974).
6. Д. К. Беляев, Л. Шюлер, П. М. Бородин, *Генетика*, **12**(12), 62 – 71 (1976).
7. Ю. В. Вахитова, У. Ш. Кузьмина, М. В. Воронин и др., *Вестн. РАМН*, **488**(3), 329 – 332 (2019); doi: 10.31857 / S0869-56524883329-332.
8. М. В. Воронин, Л. Н. Аксенова, О. А. Бунеева и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **147**(7), 31 – 33 (2009).
9. М. В. Воронин, И. А. Кадников, С. Б. Середенин, *Нейрохимия*, **36**(1), 1 – 9 (2019); doi: 10.1134 / S1027813319010187.
10. И. П. Галаева, Т. Л. Гарибова, Т. А. Воронина и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **140**(5), 535 – 537 (2005).
11. А. Д. Дурнев, В. А. Меркулов, А. К. Жанатаев и др., *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, ФГБУ “НЦЭСМП” Минздравсоцразвития России, Москва (2012).
12. Т. А. Зенина, И. В. Гавриш, Д. С. Мелкумян и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **140**(8), 194 – 196 (2005).
13. И. А. Кадников, М. В. Воронин, Д. Н. Воронков и др., *Нейрохимия*, **37**(2), 173 – 182 (2020); doi: 10.31857 / S1027813320010112.
14. И. А. Кадников, М. В. Воронин, С. Б. Середенин, *Хим.-фарм. журн.*, **47**(10), 9 – 11 (2013); doi: 10.30906 / 0023-1134-2013-47-10-9-11.
15. И. А. Кадников, М. В. Воронин, С. Б. Середенин, *Фармакокин. и фармакодин.*, **3**, 3 – 8 (2018); doi: 10.24411 / 2587-7836-2018-10017.
16. И. А. Кадников, М. В. Воронин, С. Б. Середенин, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **159**(1), 52 – 55 (2015).
17. И. А. Кадников, М. В. Воронин, С. Б. Середенин, *Фармакокин. и фармакодин.*, **3**, 27 – 30 (2018); doi: 10.24411 / 2587-7836-2018-10020.
18. Т. Я. Можяева, М. А. Яркова, В. П. Лезина и др., *Хим.-фарм. журн.*, **45**(3), 19 – 22 (2011).
19. Г. Г. Незнамов, С. А. Сюняков, Д. В. Чумаков и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **64**(2), 15 – 19 (2001).
20. Г. Г. Незнамов, С. А. Сюняков, Д. В. Чумаков и др., *Психiatr. и психофармакотер.*, **8**(4), 8 – 13 (2006).
21. Е. В. Ряскина, М. В. Воронин, С. Б. Середенин, *Хим.-фарм. журн.*, **46**(6), 12 – 13 (2012).
22. С. Б. Середенин, Т. А. Антипова, М. В. Воронин и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **147**(7), 53 – 55 (2009).
23. С. Б. Середенин, А. О. Виглинская, Т. Я. Можяева и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **71**(2), 50 – 52 (2008).
24. С. Б. Середенин, М. В. Воронин, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **72**(1), 3 – 11 (2009).
25. С. Б. Середенин, М. В. Воронин, Е. В. Абрамова, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **80**(9), 9 – 19 (2017); doi: 10.30906 / 0869-2092-2017-80-9-9-19.
26. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Г. Г. Незнамов и др., *Вестн. РАМН*, **11**, 3 – 9 (1998).
27. С. Б. Середенин, Т. Л. Гарибова, А. Л. Кузнецова и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **72**(1), 15 – 18 (2009).
28. С. Б. Середенин, В. А. Крайнева, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **72**(1), 24 – 28 (2009).
29. С. Б. Середенин, Г. М. Молодавкин, М. В. Воронин и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **72**(1), 19 – 21 (2009).
30. С. Б. Середенин, О. В. Поварова, О. С. Медведев и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **69**(4), 3 – 5 (2006).
31. К. С. Чекина, М. А. Яркова, С. Б. Середенин, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **148**(10), 408 – 410 (2009).

32. М. А. Яркова, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **74**(8), 3 – 7 (2011).
33. М. А. Яркова, С. Б. Середенин, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **157**(6), 733 – 735 (2014).
34. А. М. Abramyan, H. Yano, M. Xu, et al., *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, **18**, 199 – 206 (2020); doi: 10.1016 / j.csbj.2019.12.012.
35. A. Alon, H. Schmidt, S. Zheng, et al., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **964**, 5 – 13 (2017); doi: 10.1007 / 978-3-319-50174-1 2.
36. G. Alonso, V. Phan, I. Guillemain, et al., *Neurosci.*, **97**(1), 155 – 170 (2000); doi: 10.1016 / s0306-4522(00)00014-2.
37. A. Altpere, S. Raud, S. Sutt, et al., *Behavioural brain research*, **352**, 94 – 98 (2018); doi: 10.1016 / j.bbr.2017.09.039.
38. A. A. Behensky, I. E. Yasny, A. M. Shuster, et al., *J. Pharmacol. and Experim. Ther.*, **347**(2), 458 – 467 (2013); doi: 10.1124 / jpet.113.208348.
39. A. A. Behensky, I. E. Yasny, A. M. Shuster, et al., *J. Pharmacol. and Experim. Ther.*, **347**(2), 468 – 477 (2013); doi: 10.1124 / jpet.113.208330.
40. M. S. Bhuiyan, H. Tagashira, K. Fukunaga, *J. Pharmacol. Sci.*, **121**(3), 177 – 184 (2013); doi: 10.1254 / jphs.12r13cp.
41. J. A. Boutin, F. Bouillaud, E. Janda, et al., *Molecular pharmacol.*, **95**(3), 269 – 285 (2019); doi: 10.1124 / mol.118.114231.
42. J. A. Boutin, G. Ferry, *J. Pharmacol. and Experim. Ther.*, **368**(1), 59 – 65 (2019); doi: 10.1124 / jpet.118.253260.
43. J. M. Brimson, S. Brimson, C. Chomchoei, et al., *Expert Opin Ther. Targets*, **24**(10), 1009 – 1028 (2020); doi: 10.1080 / 14728222.2020.1805435.
44. B. Calamini, B. D. Santarsiero, J. A. Boutin, et al., *Biochem. J.*, **413**(1), 81 – 91 (2008); doi: 10.1042 / BJ20071373.
45. L. E. Cassagnes, M. Chhour, P. Perio, et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **120**, 56 – 61 (2018); doi: 10.1016 / j.freeradbiomed.2018.03.002.
46. L. E. Cassagnes, P. Perio, G. Ferry, et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **89**, 126 – 134 (2015); doi: 10.1016 / j.freeradbiomed.2015.07.150.
47. D. Chen, X. Li, X. Liu, et al., *Biology of reproduction*, **97**(4), 598 – 611 (2017); doi: 10.1093 / biolre / iox098.
48. N. Chevallier, E. Keller, T. Maurice, *J. Psychopharmacol.*, **25**(7), 960 – 975 (2011); doi: 10.1177 / 0269881111400648.
49. M. G. Christ, A. M. Clement, C. Behl, *Trends Neurosci.*, **43**(2), 79 – 81 (2020); doi: 10.1016 / j.tins.2019.12.002.
50. U. B. Chu, A. E. Ruoho, *Molecular Pharmacol.*, **89**(1), 142 – 153 (2016); doi: 10.1124 / mol.115.101170.
51. J. Cuevas, A. Behensky, W. Deng, et al., *J. Pharmacol. and Experim. Ther.*, **339**(1), 152 – 160 (2011); doi: 10.1124 / jpet.111.182774.
52. J. Cuevas, A. Rodriguez, A. Behensky, et al., *J. Pharmacol. and Experim. Ther.*, **339**(1), 161 – 172 (2011); doi: 10.1124 / jpet.111.182816.
53. B. Delprat, L. Crouzier, T. P. Su, et al., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **1131**, 699 – 718 (2020); doi: 10.1007 / 978-3-030-12457-1 28.
54. T. Dorai, A. Shah, F. Summers, et al., *Prostate*, **78**(15), 1181 – 1195 (2018); doi: 10.1002 / pros.23693.
55. M. J. Duncan, J. S. Takahashi, M. L. Dubocovich, *Endocrinol.*, **122**(5), 1825 – 1833 (1988); doi: 10.1210 / endo-122 – 5-1825.
56. A. D. G. Fedoce, F. Ferreira, R. G. Bota, et al., *Free Radic. Res.*, **52**(7), 737 – 750 (2018); doi: 10.1080 / 10715762.2018.1475733.
57. G. Ferry, S. Hecht, S. Berger, et al., *Chemico-biological interactions*, **186**(2), 103 – 109 (2010); doi: 10.1016 / j.cbi.2010.04.006.
58. C. E. Foster, M. A. Bianchet, P. Talalay, et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **29**(3 – 4), 241 – 245 (2000); doi: 10.1016 / s0891-5849(00)00299-9.
59. C. E. Foster, M. A. Bianchet, P. Talalay, et al., *Biochem.*, **38**(31), 9881 – 9886 (1999); doi: 10.1021 / bi990799v.
60. Y. Fu, L. Buryanovskyy, Z. Zhang, *J. Biol. Chem.*, **283**(35), 23829 – 23835 (2008); doi: 10.1074 / jbc.M801371200.
61. Y. Fu, L. Buryanovskyy, Z. Zhang, *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **336**(1), 332 – 338 (2005); doi: 10.1016 / j.bbrc.2005.08.081.
62. E. J. Gallaher, J. C. Crabbe, *Genetic Basis Alcohol and Drug Actions*, Springer Science + Business Media, New York (1991).
63. K. A. Gromek, F. P. Suchy, H. R. Meddaugh, et al., *Journal Biol. Chem.*, **289**(29), 20333 – 20344 (2014); doi: 10.1074 / jbc.M113.537993.
64. B. Guardiola-Lemaitre, C. De Bodinat, P. Delagrance, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **171**(15), 3604 – 3619 (2014); doi: 10.1111 / bph.12720.
65. K. Gudsnuk, F. A. Champagne, *ILAR journal / National Research Council*, Institute of Laboratory Animal Resources, **53**(3 – 4), 279 – 288 (2012); doi: 10.1093 / ilar.53.3 – 4.279.
66. X. Guitart, X. Codony, X. Monroy, *Psychopharmacology*, **174**(3), 301 – 319 (2004); doi: 10.1007 / s00213 – 004 – 1920 – 9.
67. T. Hashimoto, M. Nakai, *Neurosci. Lett.*, **502**(1), 10 – 12 (2011); doi: 10.1016 / j.neulet.2011.07.008.
68. T. Hayashi, *Psychiatry and Clinical Neurosci.*, **69**(4), 179 – 191 (2015); doi: 10.1111 / pcn.12262.
69. T. Hayashi, M. Fujimoto, *Molecular Pharmacol.*, **77**(4), 517 – 528 (2010); doi: 10.1124 / mol.109.062539.
70. T. Hayashi, T. P. Su, *J. Pharmacol. and Experim. Ther.*, **306**(2), 718 – 725 (2003); doi: 10.1124 / jpet.103.051284.
71. T. Hayashi, T. P. Su, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**(2), 491 – 496 (2001); doi: 10.1073 / pnas.021413698.
72. T. Hayashi, T. P. Su, *J. Pharmacol. and Experim. Ther.*, **306**(2), 726 – 733 (2003); doi: 10.1124 / jpet.103.051292.
73. T. Hayashi, T. P. Su, *Subcell Biochem.*, **51**, 381 – 398 (2010); doi: 10.1007 / 978-90-481-8622-8 13.
74. T. Hayashi, T. P. Su, *Cell*, **131**(3), 596 – 610 (2007); doi: 10.1016 / j.cell.2007.08.036.
75. M. T. Heneka, *Nat. Rev. Immunol.*, **19**(2), 79 – 80 (2019); doi: 10.1038 / s41577-018-0112-5.
76. M. L. James, B. Shen, C. L. Zavaleta, et al., *J. Med. Chem.*, **55**(19), 8272 – 8282 (2012); doi: 10.1021 / jm300371c.
77. E. Janda, F. Nepveu, B. Calamini, et al., *Molecular Pharmacol.*, (2020); doi: 10.1124 / molpharm.120.000105.
78. E. Janda, M. Parafati, S. Aprigliano, et al., *British J. Pharmacol.*, **168**(1), 46 – 59 (2013); doi: 10.1111 / j.1476-5381.2012.01870.x.
79. L. L. Ji, J. B. Peng, C. H. Fu, et al., *Behav. Brain Res.*, **311**, 408 – 415 (2016); doi: 10.1016 / j.bbr.2016.05.056.
80. L. L. Ji, J. B. Peng, C. H. Fu, et al., *Mol. Med. Rep.*, **16**(4), 4987 – 4993 (2017); doi: 10.3892 / mmr.2017.7185.
81. I. A. Kadnikov, E. R. Verbovaya, D. N. Voronkov, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, **21**(20), (2020); doi: 10.3390 / ijms21207620.
82. G. E. Karagoz, D. Acosta-Alvear, P. Walter, *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, **11**(9), (2019); doi: 10.1101 / cshperspect.a033886.
83. C. Katnik, A. Garcia, A. A. Behensky, et al., *J. Neurochem.*, **139**(3), 497 – 509 (2016); doi: 10.1111 / jnc.13756.
84. C. Katnik, A. Garcia, A. A. Behensky, et al., *Neurobiology of disease*, **62**, 354 – 364 (2014); doi: 10.1016 / j.nbd.2013.10.011.
85. V. S. Knopik, J. M. Neiderhiser, J. C. DeFries, et al., *Behavioral genetics*, Worth Publishers, Macmillan Learning, New York (2017).
86. M. C. Kopp, N. Larburu, V. Durairaj, et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **26**(11), 1053 – 1062 (2019); doi: 10.1038 / s41594-019-0324-9.
87. A. Kruse, *Handbook Experim. Pharmacol.*, **244**, 13 – 25 (2017); doi: 10.1007 / 164_2016_95.

88. Y. Lan, P. Bai, Z. Chen, et al., *Acta Pharm Sin B*, **9**(6), 1204 – 1215 (2019); doi: 10.1016 / j.apsb.2019.07.002.
89. F. Mailliet, G. Ferry, F. Vella, et al., *Biochem. Pharmacol.*, **71**(1 – 2), 74 – 88 (2005); doi: 10.1016 / j.bcp. 2005.09.030.
90. F. Mailliet, G. Ferry, F. Vella, et al., *FEBS Lett*, **578**(1 – 2), 116 – 120 (2004); doi: 10.1016 / j.febslet.2004.10.083.
91. K. S. Marriott, M. Prasad, V. Thapliyal, et al., *J. Pharmacol. and Experim. Ther.*, **343**(3), 578 – 586 (2012); doi: 10.1124 / jpet.112.198168.
92. T. Maurice, *Expert Opin Drug Discov.*, 1 – 17 (2020); doi: 10.1080 / 17460441.2021.1838483.
93. J. Meunier, B. Demeilliers, A. Celerier, et al., *Behav. Brain Res.*, **166**(1), 166 – 176 (2006); doi: 10.1016 / j.bbr.2005.07.019.
94. A. K. Mishra, T. Mavlyutov, D. R. Singh, et al., *Biochem. J.*, **466**(2), 263 – 271 (2015); doi: 10.1042 / BJ20141321.
95. T. Mori, T. Hayashi, E. Hayashi, et al., *PloS one*, **8**(10), e76941 (2013); doi: 10.1371 / journal.pone.0076941.
96. R. Morihara, T. Yamashita, X. Liu, et al., *J. Neurosci. Res.*, **96**(10), 1707 – 1716 (2018); doi: 10.1002 / jnr.24270.
97. O. Nosjean, M. Ferro, F. Coge, et al., *J. Biol. Chem.*, **275**(40), 31311 – 31317 (2000); doi: 10.1074 / jbc. M005141200.
98. O. Nosjean, J. P. Nicolas, F. Klupsch, et al., *Biochem. Pharmacol.*, **61**(11), 1369 – 1379 (2001); doi: 10.1016 / s0006-2952(01)00615-3.
99. J. L. Ortega-Roldan, F. Ossa, J. R. Schnell, *J. Biol. Chem.*, **288**(29), 21448 – 21457 (2013); doi: 10.1074 / jbc. M113.450379.
100. F. Ossa, J. R. Schnell, J. L. Ortega-Roldan, *Adv Exp. Med. Biol.*, **964**, 15 – 29 (2017); doi: 10.1007 / 978-3-319-50174-1 3.
101. S. D. Pegan, M. Sturdy, G. Ferry, et al., *Protein science: a publication of the Protein Society*, **20**(7), 1182 – 1195 (2011); doi: 10.1002 / pro.647.
102. M. Prasad, J. Kaur, K. J. Pawlak, et al., *J. Biol. Chem.*, **290**(5), 2604 – 2616 (2015); doi: 10.1074 / jbc. M114.605808.
103. A. N. Rappaport, E. Jacob, V. Sharma, et al., *J. Neurosci.*, **35**(47), 15568 – 15581 (2015); doi: 10.1523 / JNEUROSCI.1170 – 15.2015.
104. C. R. Reinhardt, Q. H. Hu, C. G. Bresnahan, et al., *ACS Catal*, **8**(12), 12015 – 12029 (2018); doi: 10.1021 / acscatal.8b04193.
105. A. J. Rennekamp, X. P. Huang, Y. Wang, et al., *Nat. Chem. Biol.*, **12**(7), 552 – 558 (2016); doi: 10.1038 / nchembio.2089.
106. K. Reybier, P. Perio, G. Ferry, et al., *Free radical research*, **45**(10), 1184 – 1195 (2011); doi: 10.3109 / 10715762.2011.605788.
107. M. J. Robson, M. Elliott, M. J. Seminerio, et al., *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **22**(4), 308 – 317 (2012); doi: 10.1016 / j.euroneuro.2011.08.002.
108. C. G. Rousseaux, S. F. Greene, *J. Recept Signal Transduct Res.*, **36**(4), 327 – 388 (2016); doi: 10.3109 / 10799893.2015.1015737.
109. D. A. Ryskamp, S. Korban, V. Zhemkov, et al., *Front Neurosci*, **13**, 862 (2019); doi: 10.3389 / fnins.2019.00862.
110. A. Saito, L. Cai, K. Matsuhisa, et al., *J. Neurochem.*, **144**(1), 35 – 49 (2018); doi: 10.1111 / jnc.14221.
111. H. R. Schmidt, S. Zheng, E. Gurpinar, et al., *Nature*, **532**(7600), 527 – 530 (2016); doi: 10.1038 / nature17391.
112. J. Segura-Aguilar, I. Paris, P. Munoz, et al., *J. Neurochem.*, **129**(6), 898 – 915 (2014); doi: 10.1111 / jnc.12686.
113. J. W. Smoller, *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, **41**(1), 297 – 319 (2016); doi: 10.1038 / npp.2015.266.
114. S. Srivats, D. Balasuriya, M. Pasche, et al., *J. Cell Biol.*, **213**(1), 65 – 79 (2016); doi: 10.1083 / jcb.201506022.
115. B. Stauch, L. C. Johansson, J. D. McCorvy, et al., *Nature*, **569**(7755), 284 – 288 (2019); doi: 10.1038 / s41586-019-1141-3.
116. T. P. Su, *J. Pharmacol. and Experim. Ther.*, **223**(2), 284 – 290 (1982).
117. T. P. Su, T. C. Su, Y. Nakamura, et al., *Trends in pharmacological sciences*, **37**(4), 262 – 278 (2016); doi: 10.1016 / j.tips.2016.01.003.
118. J. Toyohara, M. Sakata, K. Ishiwata, *Cent Nerv Syst Agents Med. Chem.*, **9**(3), 190 – 196 (2009); doi: 10.2174 / 1871524910909030190.
119. N. Umek, B. Gersak, N. Vintar, et al., *Front Mol. Neurosci.*, **11**, 467 (2018); doi: 10.3389 / fnmol.2018.00467.
120. M. V. Voronin, I. A. Kadnikov, *Pharmacol. Res. & Perspect.*, **4**(6), e00273 (2016); doi: 10.1002 / prp2.273.
121. M. V. Voronin, I. A. Kadnikov, D. N. Voronkov, et al., *Sci. Rep.*, **9**(1), 17020 – 17020 (2019); doi: 10.1038/s41598-019-53413-w.
122. M. V. Voronin, Y. V. Vakhitova, S. B. Seredenin, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**(19), 7088 (2020); doi: 10.3390 / ijms21197088.
123. W. Wang, W. D. Le, T. Pan, et al., *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **63**(2), 127 – 134 (2008); doi: 10.1093 / gerona / 63.2.127.
124. F. Weber, B. Wünsch, *Handbook of experimental pharmacology*, **244**, 51 – 79 (2017); doi: 10.1007 / 164 2017 33.
125. H. Yano, L. Liu, S. Naing, et al., *Front Neurosci.*, **13**, 1356 (2019); doi: 10.3389 / fnins.2019.01356.
126. A. W. K. Yeung, M. G. Georgieva, A. G. Atanasov, et al., **12**(143), (2019); doi: 10.3389 / fnmol.2019.00143.
127. B. Zhang, L. Wang, T. Chen, et al., *Neuropharmacol.*, **116**, 387 – 398 (2017); doi: 10.1016 / j.neuropharm.2017.01.014.
128. S. Zhang, R. Wang, G. Wang, *ACS Chem. Neurosci.*, **10**(2), 945 – 953 (2019); doi: 10.1021 / acschemneuro.8b00454.
129. Q. Zhao, X. L. Yang, W. D. Holtzclaw, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**(5), 1669 – 1674 (1997); doi: 10.1073 / pnas.94.5.1669.
130. Z. Zhou, M. Torres, H. Sha, et al., *Science*, **368**(6486), 54 – 60 (2020); doi: 10.1126 / science.aay2494.

Поступила 18.12.20

MOLECULAR MECHANISMS OF AFOBAZOLE NEUROTROPIC ACTION

M. V. Voronin¹, I. A. Kadnikov¹, and E. V. Abramova¹

¹ V. V. Zakusov Research Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia

This review summarizes results of investigations devoted to the analysis of sigma-1 receptor (chaperone Sigma1R) and ribosylidihydroquinone dehydrogenase [quinone] enzyme (NQO2) contribution to the pharmacodynamics of afobazole.

Keywords: afobazole; anxiolytic; neuroprotection; chaperone sigma 1 receptor; NQO2 enzyme.