

УДК 547.728.23

DOI: 10.15372/KhUR2023520

EDN: VXEKDM

Изучение ингибирующей Tdp1 и Tdp2 способности и сенсibiliзирующих действие противоопухолевых препаратов свойств нового производного усниновой кислоты

А. С. ФИЛИМОНОВ¹, А. Л. ЗАХАРЕНКО², А. А. ЧЕПАНОВА², О. А. ЛУЗИНА¹, Н. С. ДЫРХЕЕВА²,
Н. Ф. САЛАХУТДИНОВ¹, О. И. ЛАВРИК²

¹Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН,
Новосибирск (Россия)

E-mail: alfil@niuch.nsc.ru

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск (Россия)

Аннотация

Синтезировано новое производное усниновой кислоты, содержащее цианэтильный и изониазидный фрагменты. Соединение ингибирует активность фермента репарации ДНК Tdp1 со значением $IC_{50} = 1.2$ мкмоль/л, неактивно в отношении Tdp2 и не влияет на выживаемость клеток для панели пассируемых клеточных линий в диапазоне концентраций до 20 мкмоль/л. Показано, что соединение в комбинациях с определенными концентрациями противоопухолевых препаратов способно сенсibiliзировать действие противоопухолевых препаратов олапариба и темозоломида на некоторых клеточных линиях.

Ключевые слова: усниновая кислота, производные усниновой кислоты, ингибитор Tdp1, противоопухолевые свойства, сенсibiliзация, темозоламид, олапариб

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы активно разрабатываются стратегии лечения онкологических заболеваний, действие которых направлено на ферменты репарации ДНК. Одной из важных мишеней таких стратегий является тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 (Tdp1) – фермент репарации ДНК, очищающий 3'-конец ДНК от 3'-фосфотирозина и других различных ковалентных аддуктов, в том числе образующихся под действием лучевой терапии и противоопухолевых препаратов [1, 2]. К широко используемым противоопухолевым препаратам, в частности, относятся топотекан и иринотекан, которые стабилизируют короткоживущие ковалентные комплексы топоизомеразы 1 (Top1) и ДНК и тем самым приводят к

гибели клеток. Устраняя эти комплексы, Tdp1 снижает эффективность терапии. Нами ранее было показано, что применение ингибиторов Tdp1 в сочетании с топотеканом повышает цитотоксичность последнего *in vitro* и его противоопухолевую и антиметастатическую эффективность в отношении опухолей у мышей *in vivo* [3]. Самые эффективные известные на сегодня ингибиторы Tdp1 – производные усниновой кислоты **1** (рис. 1). Из них гидразонотиазолы **2** ингибируют Tdp1 в наиболее низком диапазоне концентраций [3]. Данные соединения имеют ряд недостатков: неустойчивость при хранении, предположительно, из-за высокой реакционной способности гидразонового фрагмента и токсичность, обусловленную протонофорными свойствами трикетонной системы кольца С. Хотя

последние в то же время способствуют высокой способности соединения проникать в клетку [4].

В поисках более стабильного и менее цитотоксичного ингибитора Tdp1 нами были синтезированы другие производные усниновой кислоты, которые также тестировали на способность ингибировать Tdp1 и в качестве ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 2 (Tdp2). Tdp2 принадлежит к семейству металлозависимых фосфодиэстераз и гидролизует 5'-фосфотирозин – продукт ковалентного присоединения топоизомеразы 2 к ДНК [5]. Tdp1 и Tdp2 способны брать на себя функции друг друга, хотя и с меньшей эффективностью [6–8]. Синтезированные производные усниновой кислоты также проверяли в качестве сенсibiliзирующего агента других противоопухолевых препаратов, которые повреждают ДНК, а именно: этопозид, темозоломид и олапариба. При этом известно, что в репарации таких повреждений может участвовать Tdp1.

Этопозид – это ингибитор Top2, применяемый в клинической практике, который стабилизирует ковалентные комплексы Top2 с 5'-концом ДНК [5, 9].

Темозоломид – алкилирующий препарат, который используется в клинических исследованиях [10]. Помимо способности удалять ковалентные аддукты топоизомеразы 1 (Top1) и ДНК, Tdp1 может гидролизовать в ДНК AP-сайты (образующиеся в процессе BER) и индуцировать их репарацию [11]. Эта активность особенно актуальна для репарации повреждений ДНК, инициированных монофункциональными алкилирующими агентами, такими как темозоломид. Так, в работе [12] показано, что опухолевые клетки, дефицитные по Tdp1, гиперчувствительны к алкилирующим агентам, и что сниженное содержание Tdp1 сенсibiliзирует резистентные к терапии клетки глиобластомы к темозоломиду.

Олапариб является эффективным ингибитором поли(АДФ-рибозо)полимераз 1–3 (ПАРП1–ПАРП3), который блокирует ответ на повреждения ДНК в опухолевых клетках с дефицитом гомологичной рекомбинации [13]. Применение олапариба у пациентов с раком яичников и молочной железы существенно увеличивает продолжительность жизни и безрецидивную выживаемость. Поли(АДФ-рибозо)полимераза 1 является ключевым регулятором множества клеточных процессов, связанных с репарацией ДНК, стабильностью генома и программируемой клеточной гибелью, в том числе участвует в репарации

ДНК, катализируемой Tdp1. Показаны прямые взаимодействия ПАРП1 и Tdp1 [14] и ПАРилирование Tdp1, привлекающее Tdp1 к месту повреждения ДНК [15]. Кроме того, известно, что в нокаутных по ПАРП1 клетках снижена активность Tdp1 [16] и повышена чувствительность к ингибиторам Top1 [17, 18]. Также хорошо известен синергический эффект ингибиторов ПАРП1 и Top1 [19, 20]. Все эти данные вместе указывают на возможность синергического эффекта от совместного применения ингибиторов ПАРП1 и Tdp1.

В рамках этого направления в качестве ингибитора Tdp1 нами ранее было синтезировано производное усниновой кислоты **3**, содержащее цианэтильные заместители в кольце А и аннелированный с кольцом С пиразольный цикл. Было показано, что это производное обладает ингибирующей активностью в отношении очищенного рекомбинантного Tdp1 в микромолярном диапазоне концентраций ($IC_{50} = 2.9 \pm 0.8$ мкмоль/л) [21], не влияет на количество живых клеток в концентрациях до 100 мкмоль/л для пассируемых клеток различных типов, усиливает цитотоксический/антипролиферативный эффект олапариба в отношении клеток карциномы шейки матки HeLa и аденокарциномы молочной железы MCF-7, но не топотекана, этопозиды и темозоломиды (неопубликованные данные). Эти данные свидетельствуют, что такие модификации перспективны для синтеза ингибиторов Tdp1, хотя эффективность ингибирования такими соединениями не самая высокая и их сенсibiliзирующий эффект избирателен.

В настоящей работе нами синтезировано новое производное усниновой кислоты с цианэтильными заместителями ацетильной группы кольца А, кольцо С усниновой кислоты в котором модифицировано не формированием конденсированного пиразольного цикла, а введением ацилгидразонового фрагмента (изониазидный заместитель). Гидразиды, в отличие от гидразинов, присоединяются к усниновой кислоте без замыкания пиразольного цикла [2–25] в кольцо С, что обеспечивает сохранение гидроксильной группы С3–ОН, но, как мы надеемся, приводит к снижению протонофорных свойств за счет модификации одной из кетогрупп кольца С.

Задачи данной работы:

- синтез нового производного усниновой кислоты **5**, сочетающего цианэтильные и гидразидный фрагменты (схема 1);
- исследование способности нового соединения подавлять активность очищенных рекомби-

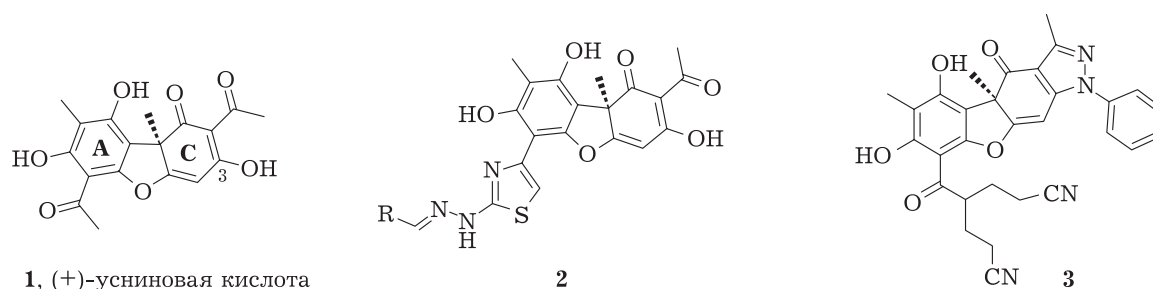


Рис. 1. Структурные формулы усниновой кислоты **1**, ее гидразонотиазольных производных **2** и соединения ОЛ7-43 **3**.

нантных Tdp1 и Tdp2 и собственного цитотоксического/антипролиферативного действия соединения **5** на опухолевых клеточных линиях;

– исследование *in cellulo* способности соединения **5** усиливать действие противоопухолевых препаратов топотекана, этопозиды, олапариба и темозоломида в отношении этих клеточных линий.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

Использованы синтетические исходные материалы и реагенты производства компании Acros Organics (Бельгия), (+)-усниновая кислота – компании Zhejiang Yixin Pharmaceutical Co., Ltd (Китай).

Методы исследования

Температуры плавления (т. пл., °C) определяли на столике Кюфлера без коррекции. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C регистрировали с помощью спектрометра Bruker AV-400 (Германия, рабочие частоты 600 МГц для ^1H и 100 МГц для ^{13}C , растворитель – ДМСО- d_6) с использованием остаточного сигнала ДМСО- d_5 в качестве внутреннего стандарта. Масс-спектры высокого разрешения регистрировали с помощью спектрометра Thermo Electron DFS GC-MS (США, энергия ионизации электронов 70 эВ). Силикагель Merk (63–200 μ) использовался для хроматографии. Нумерация атомов в соединениях дана для отнесения сигналов в спектрах ЯМР и не совпадает с нумерацией атомов в номенклатурном названии.

Соединение **4** получали по методике [21].

Синтез соединения **5**

Соединение **4** (1 ммоль) и изониазид (1.1 ммоль) растворили в 10 мл этанола. Полученную смесь

перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 3 ч. Затем смесь охладили, разбавили водой и подкислили водным раствором 1 М HCl до выпадения осадка. Осадок отфильтровали и сушили на воздухе. Целевое вещество очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – градиент метанола в хлороформе 0–10 %).

N'-[(1E)-1-[(2R)-10-[4-циано-2-(2-цианэтил)бутаноил]-5,11,13-тригидрокси-2,12-диметил-3-оксо-8-оксатрицикло[7.4.0.0^{2,7}]тридека-1(9),4,6,10,12-пентаен-4-ил]этилиден]пиридин-4-карбогидразид (5**).** Коричневый аморфный порошок. Выход 60 %. Т. пл. 240–243 °C. Найдено: m/z 446.1586 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{O}_7\text{N}_5$. Вычислено: $M = 446.1590$. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6 , δ , м. д., 400 Гц): 1.69 (3H, с, H-15), 1.82 (2H, м, H-16), 1.99 (3H, с, H-10), 2.02 (2H, м, H-16), 2.56 (4H, м, H-17), 2.75 (3H, с, H-12), 5.96 (1H, с, H-4), 7.87 (2H, д, $J = 5.2$ Гц, H-20), 8.62 (2H, шс, H-21), 13.24 (1H, с, OH-9), 13.38 (1H, с, OH-7), 14.98 (1H, с, OH-3). Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6 , δ , м. д.): 7.58 (C-10), 14.28 (C-17), 17.38 (C-12), 26.05 и 26.48 (C-16), 31.91 (C-15), 45.53 (C-14), 55.38 (C-9b), 100.41 (C-2), 100.65 (C-6), 103.16 (C-4), 105.97 (C-9a), 106.46 (C-8), 120.09 и 120.16 (CN), 121.76 (C-20), 144.54 (C-19), 149.29 (C-21), 155.48 (C-5a), 158.90 (C-9), 159.93 (C-11), 163.15 (C-7), 164.21 (C-18), 172.38 (C-3), 187.34 (C-4a), 194.56 (C-1), 203.52 (C-13).

Исследование влияния соединения **5** на активность Tdp1

Активность Tdp1 измеряли с использованием методики, разработанной нами ранее [26]. Мы использовали 16-мерный одноцепочечный ДНК-биосенсор (5'-[FAM] AAC GTC AGGGTC TTC C [BHQ]-3'). Биосенсор синтезирован в лаборатории химии нуклеиновых кислот Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Благодаря актив-

ности фермента удаляется тушитель (ВНQ1), что приводит к увеличению интенсивности флуоресценции FAM. Реакцию проводили при разных концентрациях ингибиторов (1.5 % ДМСО, Sigma, США, в контрольных образцах). Реакционные смеси содержали реакционный буфер (50 ммоль/л Tris-HCl pH 8.0, 50 ммоль/л NaCl и 7 ммоль/л β -меркаптоэтанола), 50 нмоль/л биосенсора и испытуемый ингибитор. Очищенным ферментом Tdp1 (1.5 нмоль/л) запускали реакцию.

Флуоресценцию измеряли с помощью флуориметра POLARstar OPTIMA (BMG LABTECH, GmbH, Германия). Значения IC_{50} определяли как минимум в трех независимых экспериментах и рассчитывали с использованием встроенного программного обеспечения MARS Data Analysis 2.0 (BMG LABTECH, GmbH, Германия).

Исследование влияния соединения 5 на выживаемость пассируемых клеток и на цитотоксический/антипролиферативный эффект химиопрепаратов

Влияние соединения 5 на выживаемость клеток линий HeLa (рак шейки матки человека), НЕК293А (эмбриональная почка человека), НСТ-116 (колоректальная карцинома человека) и MRC-5 (фибробласты легких человека) исследовали с использованием стандартного МТТ-теста [27] путем колориметрического измерения количества формазана, превращенного из бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия, в клетках, подвергшихся воздействию соединения. Клетки выращивали в среде DMEM с 50 МЕ/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина (MP Biomedicals, США) и 10 % эмбриональной бычьей сыворотки (ООО “Биолот”, Россия) в 5 % атмосфере CO_2 . После достижения 30–50 % конfluence в среду добав-

ляли соединение. Объем добавляемого реагента составлял 1/100 от общего объема культуральной среды, а количество ДМСО – 1 % от конечного объема. С каждым ингибитором проводили не менее двух независимых испытаний. Для оценки влияния ингибитора Tdp1 на эффекты топотекана (Selleck Chemicals, США), этопозиды (Etoposide-Teva, Pharmachemie, Нидерланды), темозоломида (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Япония) и олапарибы (Santa Cruz Biotechnology, США) варьировали концентрации химиопрепаратов в присутствии или в отсутствии 10 мкмоль/л ингибитора Tdp1. С каждой комбинацией проводили не менее трех независимых испытаний.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для синтеза целевого соединения на первом этапе было получено производное 4 по разработанной ранее методике [21]. Для этого (+)-усниновую кислоту 1 вводили в реакцию с акрилонитрилом в ДМФА в присутствии карбоната калия (схема 1). Продукт 4 был выделен с выходом 88 % после колоночной хроматографии. Затем полученное производное вводили в реакцию с изониазидом в этаноле при кипячении, что привело к образованию целевого соединения 5 с выходом 60 % после колоночной хроматографии.

Ранее было показано, что реакция усниновой кислоты с гидразидами ароматических кислот протекает с формированием гидразонового фрагмента по карбонильной группе (C-11)=O [22–25], в отличие от реакции усниновой кислоты с аминами, в которых происходит изомеризация с образованием енамина [28–32], и гидразинами, в которых протекает внутримолекулярная циклизация с образованием пиразольного цикла [32]. Образование гидразонового фрагмента подтверж-

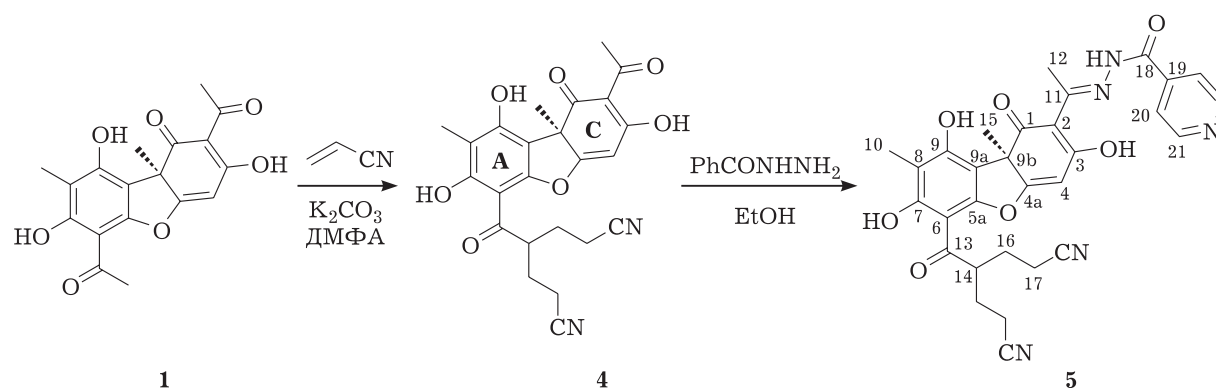
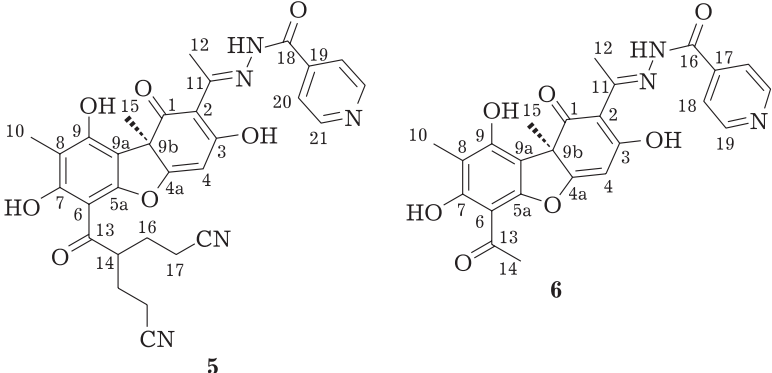


Схема 1. Синтез целевого соединения 5.

ТАБЛИЦА 1

Сравнение спектров ЯМР ^1H и ^{13}C производных **5** и **6** (δ , м. д.)

Номер атома		
		
H-4	5.96	5.95
H-12	2.75	2.71
ОН-3	14.98	14.80
ОН-7	13.38	13.40
ОН-9	13.24	12.13
C-1	194.56	197.5
C-2	100.41	101.0
C-3	172.38	173.6
C-4	103.16	102.4
C-4a	187.34	188.7
C-11	159.93	157.7
C-13	203.52	201.0

Примечание. Данные ЯМР-спектров соединения **6** взяты из [24].

дается многочисленными исследованиями реакции усниновой кислоты с различными N-нуклеофилами. В ряде случаев реакция может протекать по атому C-1 карбонильной группы, однако для такого продукта реакции явно видно различие в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C в сравнении с продуктом C-11 аминирования [33, 34].

Строение соединения **5** также подтверждается данными спектров ЯМР ^1H и ^{13}C , которые

схожи со спектральными данными ранее полученного продукта конденсации усниновой кислоты с изониазидом **6** [24, 25] (табл. 1). Так, сигналы ОН-3, ОН-7, ОН-9 и Н-4 в ^1H ЯМР спектрах практически совпадают. Наличие трех сигналов в области более 10 м. д. свидетельствует о том, что продукт находится именно в незамкнутом виде, в то время как при реакциях с замещенными гидразинами может происходить образование аннелированного кольца С пиразольного цикла, в котором бы наблюдалось только два сигнала в данной области спектра [33, 35]. В ^{13}C ЯМР-спектре сигналы в кольце А практически не изменились при превращении соединения **4** в производное **5**. Сигналы кольца С, а именно (C-1)–(C-4), C-4a, C-11, сходятся с сигналами тех же атомов гидразона **6**.

Соединение **5** ингибировало Tdp1 со значением IC_{50} 1.2 ± 0.4 мкмоль/л, которое вдвое ниже, чем для аналога с пиразольным циклом (соединение **3**) [3]. Ранее нами было показано, что некоторые производные усниновой кислоты слабо ингибируют Tdp2 – другой фермент репарации ДНК, удаляющий повреждения с 5'-конца [3].

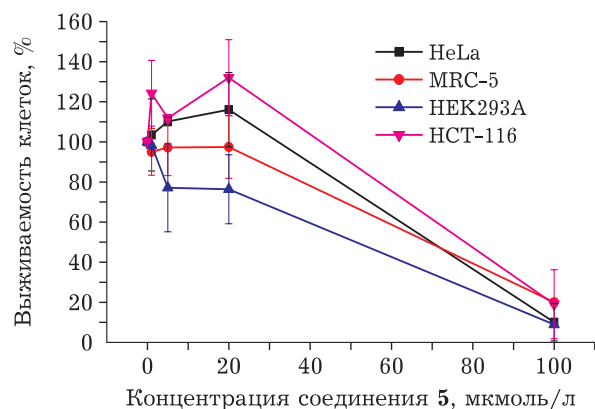


Рис. 2. Цитотоксическое/антипролиферативное действие соединения **5** согласно данным МТТ-теста.

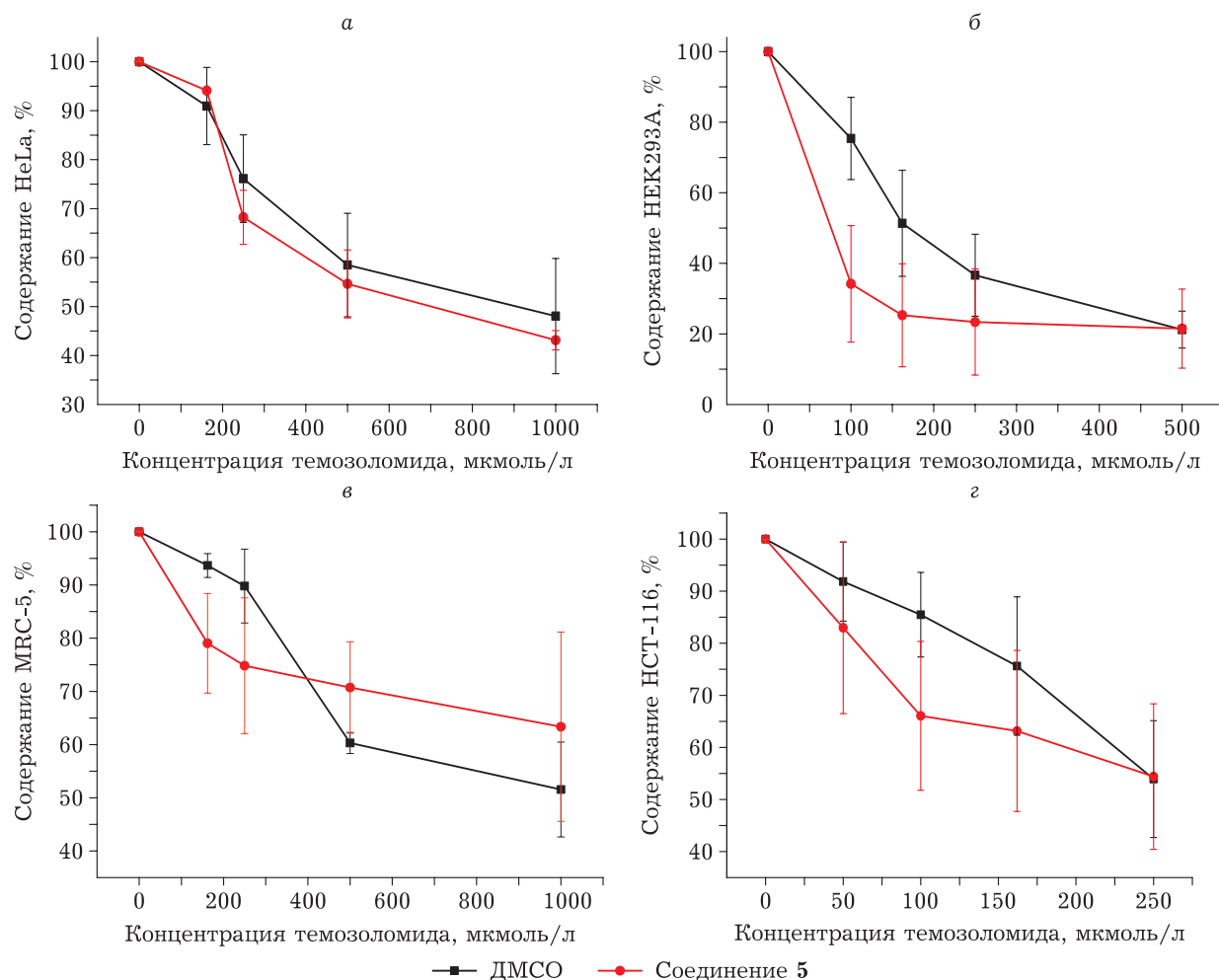


Рис. 3. Влияние соединения 5 на цитотоксическое/антипролиферативное действие темозоломида в отношении клеток HeLa, HEK293A, MRC-5 и HCT-116 по данным МТТ-теста.

Мы также проверили способность соединения 5 ингибировать Tdp2. Ингибирующей активности не обнаружили: остаточная активность фермента составляла не менее 70 % в присутствии 1 ммоль/л соединения (данные не приведены).

Влияние соединения 5 на выживаемость клеток тестировали на панели пассируемых опухолевых (HeLa, карцинома шейки матки человека, HCT-116, колоректальная карцинома человека) и неопухолевых (MRC-5, фибробласты легких человека, HEK293A, эмбриональная почка человека) клеточных линий. Поскольку мы планируем использовать ингибиторы Tdp1 в составе терапевтических комбинаций, они не должны усугублять и без того серьезные побочные эффекты. Соединение 5 не проявляло цитотоксического/антипролиферативного действия в диапазоне концентраций 1–20 мкмоль/л (не менее 80 % живых клеток). В концентрации 100 мкмоль/л соединение снижало выживаемость клеток всех типов (рис. 2).

Нами изучена способность соединения 5 потенцировать действие известных противоопухолевых препаратов, таких как топотекан, этопозид, темозоломид и олапариб. Для этого использовали нетоксичную концентрацию вещества, равную 10 мкмоль/л. Способности сенсibilизировать действие этопозид и топотекан мы не обнаружили, за исключением слабого эффекта с топотеканом на HeLa (данные не приведены). При этом соединение 5 проявляет тенденцию к потенцированию действия темозоломида на клетки HCT-116 и HEK293A, но не HeLa и MRC-5 (рис. 3). Для клеток HEK293A разница между метаболической активностью клеток в отсутствии соединения 5 и в его присутствии в комбинациях с темозоломидом в концентрациях 100 и 160 мкмоль/л достоверна согласно критерию Манна–Уитни ($p < 0.5$), в то время как в концентрации темозоломида 250 мкмоль/л разница недостоверна. В концентрации темозоломида 500 мкмоль/л сравнение не проводили из-

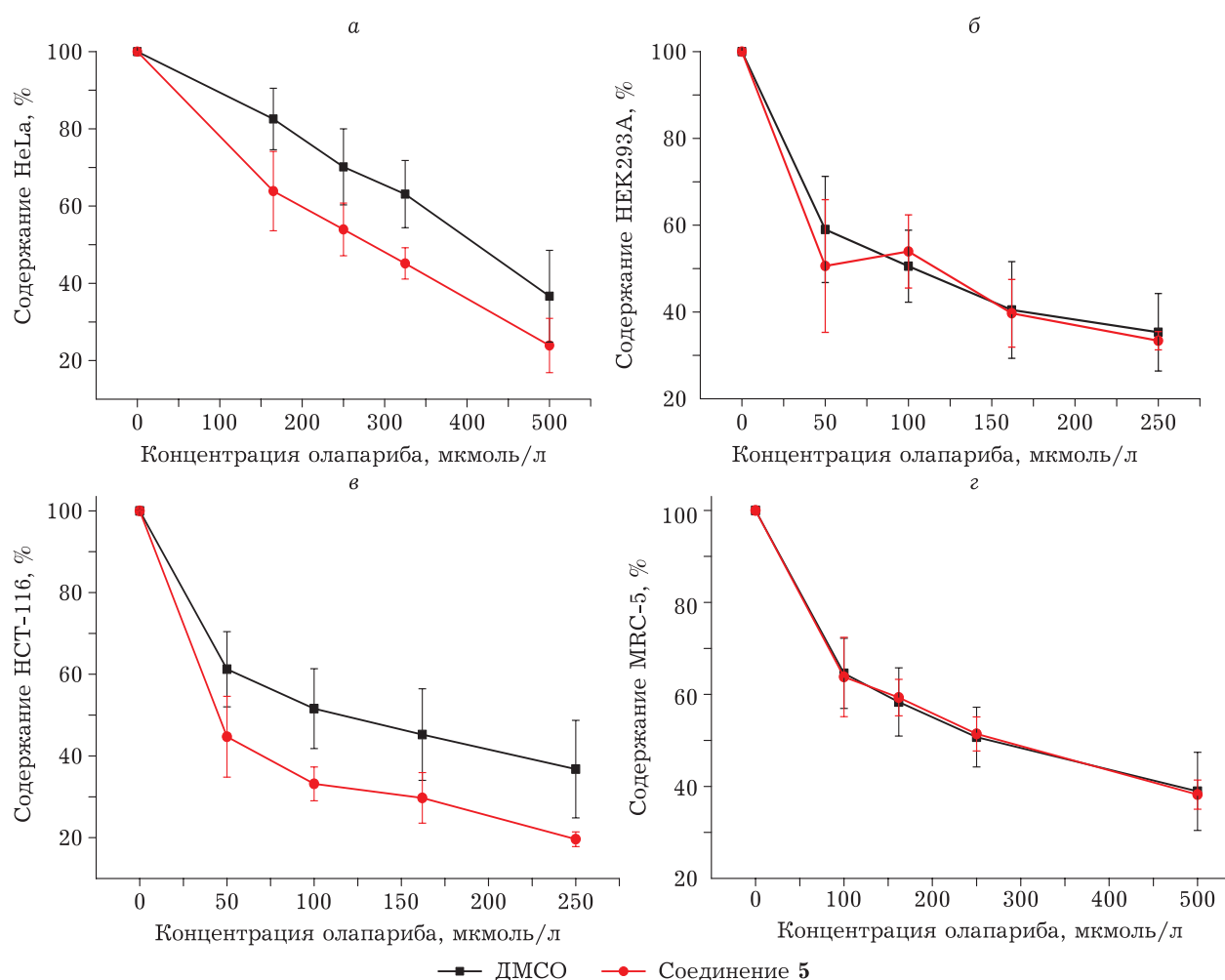


Рис. 4. Влияние соединения 5 на цитотоксическое/антипролиферативное действие олапариба в отношении клеток HeLa, HEK293A, HCT-116 и MRC-5 по данным МТТ-теста.

за малого числа живых клеток. Для клеток HCT-116 достоверной оказалась разница только в точке 100 мкмоль/л ($p < 0.5$).

Важно отметить, что действие олапариба потенцируется соединением 5 в отношении опухолевых клеток HeLa и HCT-116, но не неопухолевых клеток HEK293A и MRC-5 (рис. 4). Для клеток HCT-116 достоверна разница в метаболической активности клеток под действием олапариба по сравнению с комбинацией олапариба в концентрации 100 мкмоль/л и соединения 5 (критерий Манна–Уитни, $p < 0.5$). При других концентрациях олапариба достоверная разница не достигнута. В случае клеток HeLa разница достоверна при всех концентрациях олапариба кроме максимальной (500 мкмоль/л).

Таким образом, результаты экспериментов по определению ингибирующей активности в отношении Tdp1 и Tdp2 показали, что соединение 5 является ингибитором Tdp1, но не Tdp2,

его ингибирующая концентрация вдвое ниже, чем тот же показатель прототипа – соединения 3. При этом сенсibiliзирующее действие соединения 5 распространяется на два противоопухолевых препарата (олапариб и темозоломид), тогда как соединение 3 усиливало действие только олапариба.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований было синтезировано новое производное усниновой кислоты, обладающее ингибирующим действием в отношении фермента репарации ДНК человека Tdp1, но не Tdp2. Показано, что новое соединение не проявляет цитотоксического/антипролиферативного эффекта в концентрации 20 мкмоль/л и менее. Умеренное влияние соединения 5 на выживаемость клеток позволяет выбрать неток-

сичную концентрацию при применении данного соединения в качестве компонента противоопухолевой терапии. Показано, что соединение способно потенцировать действие противоопухолевых препаратов олапариба и темозоломида.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 21-14-00105.

Авторы выражают благодарность Химическому исследовательскому центру коллективного пользования СО РАН (Новосибирск) за проведение спектральных и аналитических измерений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Comeaux E. Q., van Waardenburg R. C. A. M. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase I resolves both naturally and chemically induced DNA adducts and its potential as a therapeutic target // *Drug Metab. Rev.* 2014. Vol. 46. P. 494–507.
- Brettrager E. J., van Waardenburg R. C. A. M. Targeting tyrosyl-DNA phosphodiesterase I to enhance toxicity of phosphodiester linked DNA-adducts // *Cancer Drug Resist.* 2019. Vol. 2. P. 1153–1163.
- Zakharenko A. L., Luzina O. A., Chepanova A. A., Dyrkheeva N. S., Salakhutdinov N. F., Lavrik O. I. Natural products and their derivatives as inhibitors of the DNA repair enzyme tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 17, No. 24(6). Art. 5781.
- Antonenko Yu. N., Khailova L. S., Rokitskaya T. I., Nosikova E. S., Nazarov P. A., Luzina O. A., Salakhutdinov N. F., Kotova E. A. Mechanism of action of an old antibiotic revisited: Role of calcium ions in protonophoric activity of usnic acid // *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 2019. Vol. 1860, No. 4. P. 310–316.
- Ledesma F. C., El Khamisy S. F., Zuma M. C., Osborn K., Caldecott K. W. A human 5'-tyrosyl DNA phosphodiesterase that repairs topoisomerase-mediated DNA damage // *Nature.* 2009. Vol. 461. P. 674–678.
- Zeng Zh., Sharma A., Ju L., Murai J., Umans L., Vermeire L., Pommier Y., Takeda Sh., Huylebroeck D., Caldecott K. W., El-Khamisy Sh. F. TDP2 promotes repair of topoisomerase I-mediated DNA damage in the absence of TDP1 // *Nucleic Acids Res.* 2012. Vol. 40, No. 17. P. 8371–8380.
- Murai J., Huang S. Y., Das B. B., Dexheimer T. S., Takeda S., Pommier Y. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 (TDP1) repairs DNA damage induced by topoisomerases I and II and base alkylation in vertebrate cells // *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 13, No. 287(16). P. 12848–12857.
- Barthelmes H. U., Habermeyer M., Christensen M. O., Mielke C., Interthal H., Pouliot J. J., Boege F., Marko D. TDP1 overexpression in human cells counteracts DNA damage mediated by topoisomerases I and II // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. P. 55618–55625.
- Zeng Z., Cortés-Ledesma F., El Khamisy S. F., Caldecott K. W. TDP2/TTRAP is the major 5'-tyrosyl DNA phosphodiesterase activity in vertebrate cells and is critical for cellular resistance to topoisomerase II-induced DNA damage // *J. Biol. Chem.* 2011. Vol. 286. P. 403–409.
- Zhang J., Stevens M. F., Bradshaw T. D. Temozolomide: Mechanisms of action, repair and resistance // *Curr. Mol. Pharmacol.* 2012. Vol. 5, No. 1. P. 102–114.
- Lebedeva N. A., Anarbaev R. O., Kupryushkin M. S., Rechkunova N. I., Pyshnyi D. V., Stetsenko D. A., Lavrik O. I. Design of a new fluorescent oligonucleotide-based assay for a highly specific real-time detection of apurinic/apyrimidinic site cleavage by tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 // *Bioconjug. Chem.* 2015. Vol. 26, No. 10. P. 2046–2053.
- Alagoz M., Wells O. S., El-Khamisy S. F. TDP1 deficiency sensitizes human cells to base damage *via* distinct topoisomerase I and PARP mechanisms with potential applications for cancer therapy // *Nucleic Acids Res.* 2014. Vol. 42, No. 5. P. 3089–3103.
- Lin K. Y., Kraus W. L. PARP inhibitors for cancer therapy // *Cell.* 2017. Vol. 169, No. 2. Art. 183.
- Moor N. A., Vasil'eva I. A., Anarbaev R. O., Antson A. A., Lavrik O. I. Quantitative characterization of protein-protein complexes involved in base excision DNA repair // *Nucleic Acids Res.* 2015. Vol. 43, No. 12. P. 6009–6022.
- Das B. B., Huang S. Y., Murai J., Rehman I., Amé J. C., Sengupta S., Das S. K., Majumdar P., Zhang H., Biard D., Majumder H. K., Schreiber V., Pommier Y. PARP1-TDP1 coupling for the repair of topoisomerase I-induced DNA damage // *Nucleic Acids Res.* 2014. Vol. 42, No. 7. P. 4435–4449.
- Pommier Y., Barcelo J. M., Rao V. A., Sordet O., Jobson A. G., Thibaut L., Miao Z. H., Seiler J. A., Zhang H., Marchand C., Agama K., Nitiss J. L., Redon C. Repair of topoisomerase I-mediated DNA damage // *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 2006. Vol. 81. P. 179–229.
- Zhang Y. W., Regairaz M., Seiler J. A., Agama K. K., Doroshov J. H., Pommier Y. Poly(ADP-ribose) polymerase and XPF-ERCC1 participate in distinct pathways for the repair of topoisomerase I-induced DNA damage in mammalian cells // *Nucleic Acids Res.* 2011. Vol. 39, No. 9. P. 3607–3620.
- Patel A. G., de Lorenzo S. B., Flatten K. S., Poirier G. G., Kaufmann S. H. Failure of iniparib to inhibit poly(ADP-ribose) polymerase *in vitro* // *Clin. Cancer Res.* 2012. Vol. 18, No. 6. P. 1655–1662.
- Murai J., Pommier Y. PARP trapping beyond homologous recombination and platinum sensitivity in cancers // *Annu. Rev. Cancer Biol.* 2019. Vol. 3, No. 1. P. 131–150.
- Chowdhuri S. P., Das B. B. Top1-PARP1 association and beyond: From DNA topology to break repair // *NAR Cancer.* 2021. Vol. 3, No. 1. Art. zcab003.
- Рахманова М. Е., Лузина О. А., Покровский М. А., Покровский А. Г., Салахутдинов Н. Ф. Синтез цианэтильных производных усниновой кислоты и их цитотоксическая активность // *Изв. Академии наук. Сер. хим.* 2016. № 2. С. 566–569.
- Beljanski V., Anđelković K., Poletti D., Zivoslav T., Brčeski I., Sladić D. Copper(II) complexes of usnic acid condensation derivatives and their antibacterial activities // *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.* 1998. Vol. 28. P. 1607–1617.
- Natić M., Tešić Z., Anđelković K., Brčeski I., Radulović S., Manić S., Sladić D. Synthesis and biological activity of Pd(II) and Cu(II) complexes with acylhydrazones of usnic acid. Synthesis and reactivity // *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.* 2004. Vol. 34, No. 1. P. 101–113.
- Barrera T. M., Tomas C. G. E., Sheen C. P., Fuentes B. P., Inocente C. M. A., Santiago C. J. C. Synthesis of acylhydrazone from usnic acid and isoniazid and its anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity // *Revista Colombiana de Química.* 2017. Vol. 46, No. 3. P. 17–21.
- Cirillo D., Borroni E., Festoso I., Monti D., Romeo S., Mazier D., Verotta L. Synthesis and antimycobacterial activity of (+)-usnic acid conjugates // *Archiv der Pharmazie.* 2018. Vol. 351, No. 12. Art. 1800177.
- Zakharenko A., Khomenko T., Zhukova S., Koval O., Zakharova O., Anarbaev R., Lebedeva N., Korchagina D.,

- Komarova N., Vasiliev V., Reynisson J., Volcho K., Salakhutdinov N., Lavrik O. Synthesis and biological evaluation of novel tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors with a benzopentathiepine moiety // *Bioorg. Med. Chem.* 2015. Vol. 23. P. 2044–2052.
- 27 Mosmann T. J. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays // *Immunol. Methods* 1983. Vol. 65. P. 55–63.
- 28 Kutney J. P., Sanchez I. H. Studies in the usnic acid series. I. The condensation of (+)-usnic acid with aliphatic and aromatic amines // *Can. J. Chem.* 1976. Vol. 54. P. 2795–2803.
- 29 Соколов Д. Н., Лузина О. А., Салахутдинов Н. Ф. Усниновая кислота: получение, строение, свойства и химические превращения // *Успехи химии*. 2012. № 8. С. 747–768.
- 30 Bruno M., Trucchi B., Burlando B., Ranzato E., Martinotti S., Akkol E. K., Sutar I., Keles H., Verotta L. (+)-Usnic acid enamines with remarkable cicatrizing properties // *Bioorg. Med. Chem.* 2013. Vol. 21, No. 7. P. 1834–1843.
- 31 Bangalore P. K., Pedapati R. K., Pranathi A. N., Batchu U. R., Mirsa S., Esharala M., Sriram D., Kantevari S. Aryl-*n*-hexanamide linked enaminones of usnic acid as promising antimicrobial agents // *Mol. Dev.* 2023. Vol. 27. P. 811–836.
- 32 Venkata M. U., Vanga N. R., Balabhaskara R. K., Jain N. Synthesis and antiproliferative activity of novel (+)- usnic acid analogues // *J. Asian Nat. Prod. Res.* 2020. Vol. 22, No. 6. P. 562–577.
- 33 Gunawan G. A., Gimla M., Gardiner M. G., Herman-Antosiewicz A., Reekie T. A. Divergent reactivity of usnic acid and evaluation of its derivatives for antiproliferative activity against cancer cells // *Bioorg. Med. Chem.* 2023. Vol. 79. Art. 117157.
- 34 Filimonov A., Luzina O., Gatilov Y., Salakhutdinov N. Regioselectivity amination of usnic acid by ammonia in water // *Molbank*. 2023. Vol. 2023, No. 2. Art. M1618.
- 35 Barton D. H. R., Bruun T. Some observations on the constitution of usnic acid // *J. Chem. Soc.* 1953. P. 603–609.