

УДК 615.277.3, 577.214.39

# Ингибиторы PARP1: разработка противоопухолевых препаратов

Н. В. Малюченко<sup>1\*</sup>, Е. Ю. Котова<sup>2</sup>, О. И. Кулаева<sup>1,2</sup>, М. П. Кирпичников<sup>1</sup>, В. М. Студитский<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119991, Россия, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12<sup>2</sup>Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA, 19111-2497 USA

\*E-mail: mal\_nat@mail.ru; Vasily.Studitsky@fccc.edu

Поступила в редакцию 10.12.2014

**РЕФЕРАТ** Одной из перспективных молекулярных мишеней для поиска противоопухолевых средств является поли(ADP-рибозо)полимераза 1 (PARP1), распространенный ядерный белок (1–2 млн молекул на клетку), выполняющий функцию «сенсора» разрывов ДНК. Экспрессия PARP1 повышена при меланоме, раке легкого, молочной железы и других опухолевых заболеваниях. При этом повышенный уровень экспрессии считается прогностическим признаком, связанным с худшим прогнозом выживаемости. Есть данные, что высокая экспрессия PARP1 и устойчивость опухолей к терапии взаимосвязаны. Ингибиторы PARP1 рассматриваются в качестве перспективных противоопухолевых агентов, действующих как химио- и радиосенсибилизаторы при традиционной терапии злокачественных образований. Кроме того, ингибиторы PARP1 могут использоваться как самостоятельные лекарственные средства, эффективные при опухолях, в которых нарушены определенные пути репарации ДНК. В настоящее время получены ингибиторы PARP1 уже третьего поколения, многие из которых проходят клинические испытания второй фазы. В настоящем обзоре рассмотрены свойства и характеристики ингибиторов PARP1, выявленные в доклинических и клинических исследованиях, а также некоторые проблемы, связанные с применением ингибиторов PARP1. Обсуждается возможность создания новых ингибиторов PARP1, направленных не на каталитический домен, а на подавление ДНК-связывающей и транскрипционной активности данного белка.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** ингибиторы PARP1, поли(ADP-рибозо)полимераза 1, противоопухолевые средства.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** PARP1 – поли(ADP-рибозо)полимераза 1; BER – эксцизионная репарация оснований; NER – эксцизионная репарация нуклеотидов; MMR – репарация мисматчей; HR – репарация двухцепочечных разрывов с помощью гомологичной рекомбинации; NHEJ – репарация негомологичного присоединения концов; SSB – односторонние разрывы ДНК; DSB – двухцепочечные разрывы; TMZ – темозоломид; Торо I – топоизомераза 1; КИ – клинические испытания/исследования; PLD – потенциально летальное повреждение.

## ВВЕДЕНИЕ

В основе поиска и получения современных лекарственных средств лежит нацеленность на молекулярную мишень. Одна из мишеней, используемых при разработке противоопухолевых препаратов, – фермент поли(ADP-рибозо)полимераза 1 (PARP1), участвующий во многих клеточных процессах, начиная от репарации ДНК до гибели клеток [1]. Недавно показали, что одним из самых ранних событий, происходящих при повреждениях ДНК, является узнавание ферментом PARP1 разрывов ДНК. При возникновении разрывов ДНК, вызванных, в частности, алкилирующими агентами и радиацией, PARP1 связывается с местами разрывов за счет так называемых «цинковых пальцев», расположенных в ДНК-связывающем домене, и одновременно син-

тезирует олиго- или поли(ADP)-рибозные цепочки, ковалентно связываемые с разными акцепторными белками или с собственной молекулой путем перемещения единицы ADP-рибозы от NAD<sup>+</sup>. В результате в месте разрыва происходит деконденсация хроматина, что облегчает доступ ферментов репарации. Модифицированные поли(ADP-рибозил)ированные белки хроматина привлекают факторы, ремоделирующие хроматин. Один из ключевых механизмов PARP1-зависимой деконденсации заключается в том, что активированный PARP1 способствует удалению линкерного гистона H1 из сайтов инициации транскрипции. При удалении H1 происходит деконденсация хроматина, что позволяет ферментам репарации атаковать поврежденные сайты в ДНК. Следует отметить, что репарация ДНК при актив-

ном участии PARP1 происходит лишь при минимальном генотоксическом повреждении. При более сильном повреждении запускается процесс апоптоза, а при обширном повреждении ДНК наблюдается сверхактивация PARP, приводящая к некрозу.

Получено множество данных об участии PARP1 в канцерогенезе. Потеря PARP1 приводит к нарушениям процесса репарации ДНК, ингибированию транскрипции некоторых генов, вовлеченных в репликацию ДНК, регуляцию клеточного цикла. Пониженная экспрессия PARP1 приводит к возникновению перестановок в геноме, дефектам в хромосомах и, возможно, вносит вклад в общую нестабильность генома. В то же время повышенная экспрессия PARP1 наблюдается в меланомах, опухолях легкого и молочной железы [2–7]. При этом повышенный уровень экспрессии рассматривается как прогностический признак, связанный с худшим прогнозом выживаемости [8]. Было показано, что высокий уровень экспрессии PARP1 коррелирует с более агрессивным фенотипом злокачественных опухолей молочной железы (PMЖ) (эстрогеннегативный тип PMЖ) [9]. Экспрессия PARP1 может коррелировать с устойчивостью опухолей к терапии [10]. Подобная более высокая «злокачественность» связана, видимо, с тем, что повышенная экспрессия PARP1 способствует репарации повреждений ДНК и тем самым преодолению генетической нестабильности, свойственной трансформированным клеткам.

Механизмы проопухолевой активности PARP1 разнообразны, в ряде случаев они опосредуются различными опухоль-ассоциированными факторами транскрипции. Канцерогенез может быть вызван PARP1-зависимой дерегуляцией факторов, вовлеченных в клеточный цикл, митоз, а также факторов, регулирующих экспрессию генов, связанных с инициацией и развитием опухолей [11]. Выявлена связь между PARP1 и фактором NF-κB. Оказалось, что PARP1 корегулирует активность NF-κB и приводит к увеличению секреции прометастатических цитокинов. Известно, что сигнальный каскад NF-κB важен для опухолевого роста [12]. Ингибирование PARP1 приводит к отмене проинвазивного фенотипа [13, 14]. Известно также, что PARP1 контролирует экспрессию белка теплового шока 70 (HSP70) [15, 16], который вносит существенный вклад в выживание опухолевых клеток и их устойчивость к противоопухолевым средствам [17]. PARP1 взаимодействует с белком p21, контролирующим клеточный цикл, что также может способствовать развитию опухолевого фенотипа [18]. Белок p21 взаимодействует непосредственно с PARP1 в процессе репарации ДНК, и нокаун p21 приводит к увеличению ферментативной активности PARP1. Экспрессия p21 в опу-

холях часто подавлена благодаря регуляции p53 [19], что может объяснять возможную роль PARP1 в канцерогенезе. Обнаружено также, что PARP1 участвует в гормонзависимой регуляции канцерогенеза. В клетках рака предстательной железы, экспрессирующих рецептор андрогенов (AR), PARP1 рекрутируется в сайты локализации AR и стимулирует активность AR [20]. Сходные хроматинзависимые механизмы с участием PARP1 вовлечены в эстрогензависимую регуляцию экспрессии генов при PMЖ.

Поскольку PARP1 – это ключевой фермент, регулирующий определенные канцерогенные изменения в клетке, он рассматривается как важная молекулярная мишень для разрабатываемых противоопухолевых средств, а ингибиторы PARP1 считаются перспективными противоопухолевыми средствами.

### ИСТОРИЯ РАЗРАБОТКИ ИНГИБИТОРОВ PARP1

Поскольку эффект лучевой терапии и многих химиотерапевтических подходов при онкологических заболеваниях определяется повреждением ДНК, ингибиторы PARP1 могут применяться для усиления традиционных методов и действовать как химио- и радиосенсибилизаторы. В клетках, обработанных противоопухолевыми агентами, ингибирование PARP1 подавляет репарацию потенциально летального повреждения и может приводить к уничтожению аномальной клетки. Подобным образом в ряде случаев ингибиторы PARP1 повышают эффективность действия ДНК-алкилирующих агентов (например, темозоламида) и ингибиторов топоизомеразы I (например, топотекана), а также ионизирующего излучения. Ингибиторы PARP1 также эффективны в радиосенсибилизации опухолевых клеток. Помимо синергичного действия ингибиторов PARP1 и других ДНК-повреждающих противоопухолевых средств, в некоторых опухолевых клетках наблюдается прямое токсическое действие ингибиторов PARP1.

Первое поколение классических ингибиторов PARP1 – аналогов никотинамида – было создано около 30 лет назад, исходя из наблюдений, что никотинамид, второй продукт катализируемой PARP1 реакции, вызывает умеренное ингибирование реакции (рис. 1). В ингибиторах PARP1 первого поколения гетероциклический атом азота в третьем положении был заменен на атом углерода, что привело к созданию класса бензамидных аналогов [21]. Замена в третьем положении привела к улучшению растворимости препаратов (рис. 2). Изучение активности 3-замещенных бензамидов (например, 3-аминобензамида, 3-AB) помогло лучше понять функцию PARP1. Оказалось, что такие препараты обладают цитотоксическим действием на опухолевые клетки при одновременном использовании агентов, вызывающих генотоксиче-

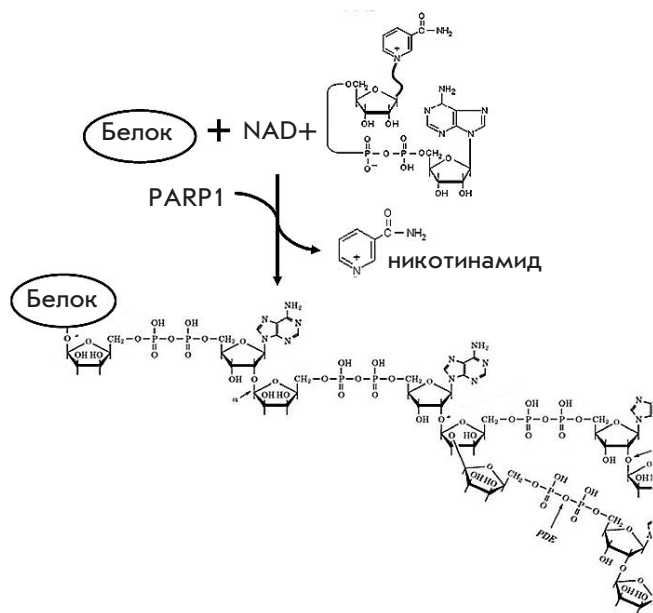


Рис. 1. Схема реакции поли(ADP)-рибозилирования белков

ский стресс [22]. Несмотря на обнадеживающие результаты изучения ингибиторов PARP1 первого поколения, в практическом отношении бензамиды были малоэффективными. В доклинических экспериментах на культуре клеток их приходилось использовать в миллимолярных концентрациях, что делало их непригодными для экспериментов на животных. Кроме того, бензамиды ингибировали другие клеточные пути [23]. Тем не менее они легли в основу создания более эффективных препаратов. Практически все используемые до сих пор ингибиторы PARP1 содержат никотинамидную/бензамидную фармакоформную группу.

В 1990 годы на основе аналогов хиназолина (в частности, 1,5-дигидроизохинолина) были разработаны более эффективные ингибиторы PARP1 второго поколения. Эта группа соединений включала изохинолины, хиназолиндионы, фталазионы и фенантридионы. Ингибиторы PARP1 второго поколения были более эффективными и точнее

нацеленными на терапевтические мишени [24]. Некоторые из этих соединений стали основой для последующей разработки различных групп лекарственных средств (рис. 3). В частности, получение фенантридионов привело к разработке PJ-34, который использовали в дальнейшем в клинических испытаниях (КИ) [25]. Альтернативный подход (химический синтез на основе анализа структуры и активности, SAR) привел к идентификации 3,4-дигидро-5-метилизохинолина-1-[2Н]-1 (PD128763) и 8-гидрокси-2-метилхиназолина-4-[3Н]-он (NU1025). Каждое из этих соединений в ~50 раз более эффективно ингибирует PARP1, чем 3-АВ.

В дальнейшем более сильные ингибиторы разрабатывали по аналогии с уже известными. Все они содержали карбоксамидную группу бензамидного фармакофора, включенную во второе ароматическое кольцо. Именно эта модификация имела решающее значение для повышения активности ингибиторов. Причины, объясняющие связь этих структурных особенностей с увеличением активности, стали очевидными после изучения структуры. Кристаллизация ингибиторов PARP1 показала, что карбоксамидная группа формирует несколько важных водородных связей с Ser904-OG и Gly863-N в каталитическом домене PARP1, что улучшает взаимодействие гетероцикла данных ингибиторов с белком [26]. При этом у более эффективных ингибиторов (PD128763, 4ANI, и NU1025) амидная группа в гетероцикле зафиксирована. Выявлена также важность ароматических (π-π)-взаимодействий между фенольной группой ингибиторов PARP1 и фенольной группой Tyr907 белка PARP1. На основании структурного анализа связывания NU1085 разработано несколько трициклических лактамных индолов и бензамидазолов, в которых карбоксамидная группа была введена в благоприятной ориентации путем включения в 7-членное кольцо [27–30]. Эти соединения, например, AG14361, способны образовывать критические водородные связи с Gly863 и Ser904, Glu988 белка PARP1 [31].

Дальнейший поиск привел к созданию более сильных ингибиторов PARP третьего поколения, первым охарактеризованным представителем которых

Рис. 2. Ингибитор PARP1 первого поколения – 3-аминобензамид (3-АВ). Красным обозначена никотинамидная фармакоформная группа

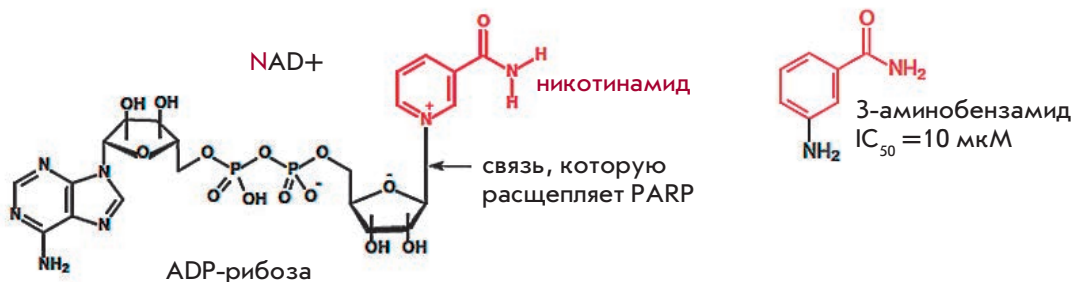
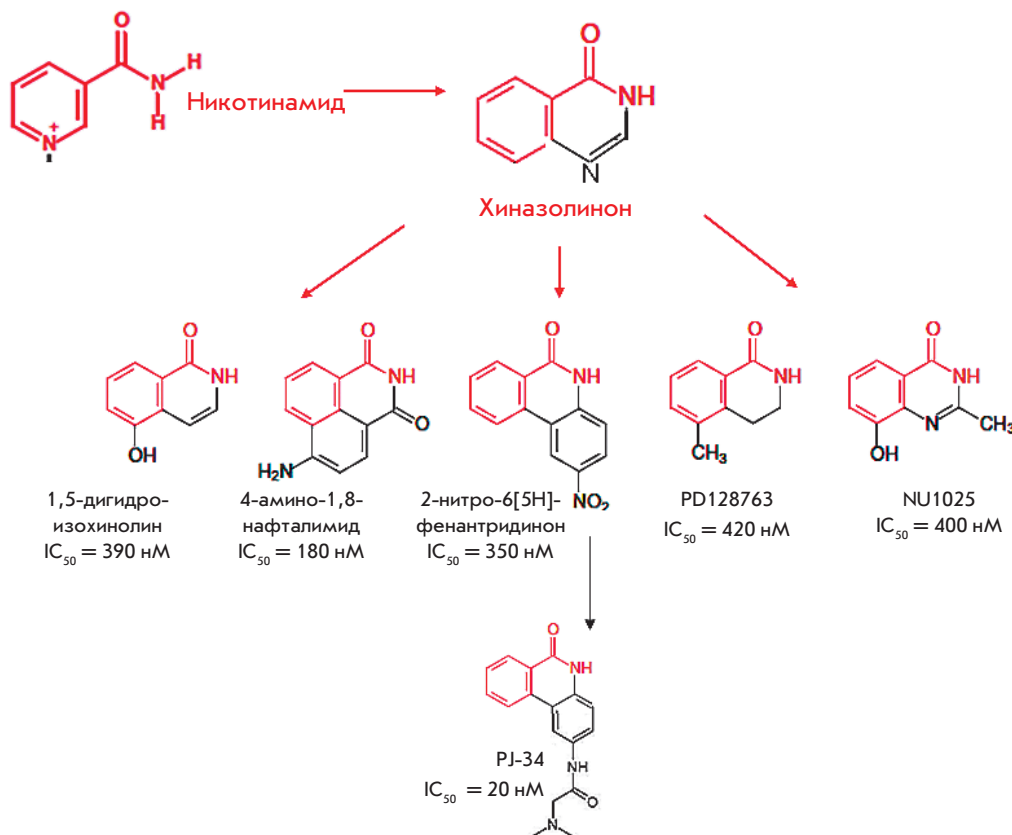


Рис. 3. Ингибиторы второго поколения. Красным обозначена никотинамидная фармакоформная группа



стал рукапариб ( $K_i = 1.4$  нМ) [32]. В настоящее время на основе бензамидазолов синтезирован ряд ингибиторов PARP1 третьего поколения; многие из которых (такие, как рукапариб, инипариб, олапариб, велипариб, нирапариб, талазопариб, CEP-9722 и E7016) в настоящий момент проходят клинические испытания (см. обзоры [33–38], рис. 4, таблица).

**МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ PARP1: ПРЯМОЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ**

Ингибирование PARP1 приводит к нарушению репарации ДНК. Известно, что в ответ на повреждение ДНК PARP1 связывается с одно- и двухцепочечными разрывами ДНК [39]. В отсутствие повреждений активность PARP1 минимальна, однако появление повреждений вызывает его немедленную и значительную (до 500-кратной) активацию. PARP1 отыскивает разрывы в ДНК, действуя как сенсор и обеспечивая быстрое привлечение белков, требуемых для репарации, к месту повреждения. PARP1 контролирует несколько путей репарации ДНК, в том числе эксцизионную репарацию оснований (base excision repair, BER) и нуклеотидов (nucleotide excision repair, NER), репарацию мисматчей (mismatch repair, MMR), репарацию двухцепочечных разрывов с помощью гомологичной рекомбинации (HR) и с помощью негомолгич-

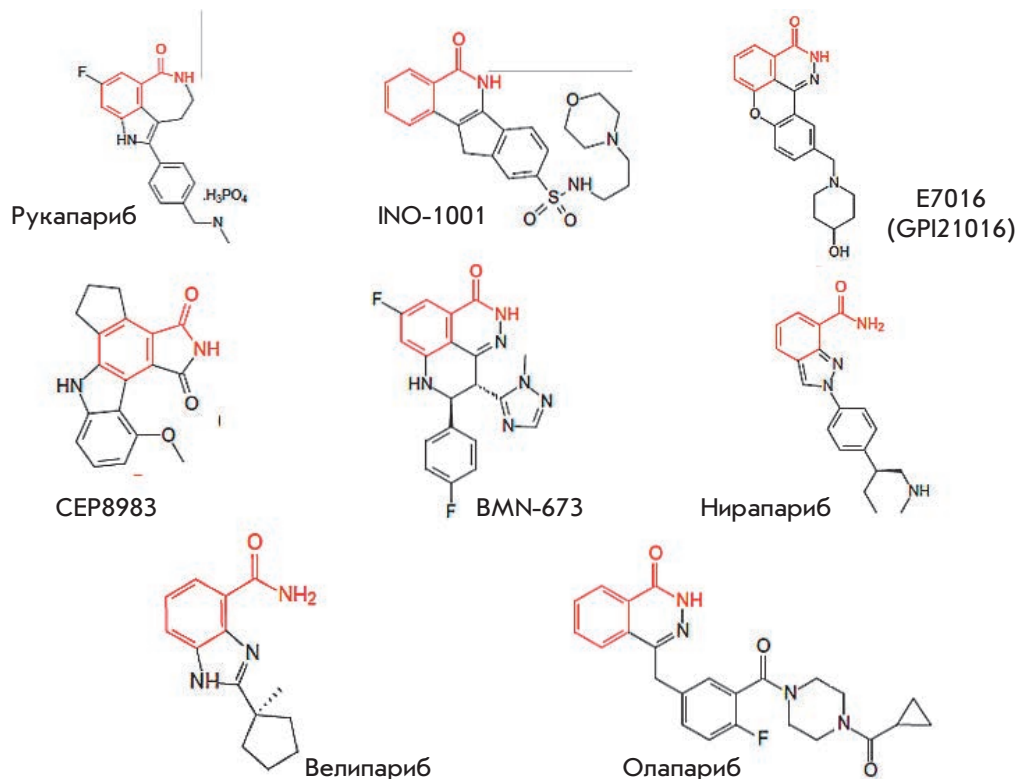
ного соединения концов (non-homologous end joining, NHEJ) [39].

Ингибирование PARP приводит к инактивации системы репарации и сохранению спонтанных одноцепочечных разрывов (SSB) (рис. 5А), что может быть причиной последующего формирования двухцепочечных разрывов ДНК (DSB). DSB можно устранить двумя способами – либо «репарацией ДНК без ошибок» с помощью HR, либо репарацией с возможностью замены в последовательности нуклеотидов путем NHEJ [40, 41]. В ряде опухолевых клеток с нарушениями в системе гомологичной рекомбинации (например, BRCA-мутантные клетки) может включаться система NHEJ, однако использование NHEJ в этих опухолях приводит к дестабилизации генома и, в конечном итоге, к гибели клеток из-за быстрого накопления генетических ошибок [42–44].

В 2005 году произошел прорыв в области исследований ингибиторов PARP1. Двумя независимыми группами ученых было показано, что BRCA1- и BRCA2-дефицитные линии клеток чувствительны к прямому действию ингибиторов PARP. Это были первые свидетельства того, что ингибиторы PARP1 могут выступать как самостоятельные лекарственные средства в случае опухолей, в которых нарушены определенные пути репарации ДНК [45, 46].



**Рис. 4.** Строение ингибиторов PARP1 третьего поколения. Красным обозначена никотинамидная фармакоформная группа



Известно, что опухоль-ассоциированный ген *BRCA1* играет важную роль в репарации двойных разрывов ДНК по механизму HR. Клетки с дефицитом *BRCA1* характеризуются менее эффективной HR, и репарация ДНК в них происходит преимущественно с помощью системы BER. *BRCA2* взаимодействует с белком *RAD51* и также играет существенную роль в HR. Клетки с мутациями в области связывания *BRCA2* с *RAD51* проявляют гиперчувствительность к повреждениям ДНК и хромосомную нестабильность [47]. Например, 10–15% серозного рака яичников имеет наследственный характер, обусловленный мутацией в генах *BRCA1* или *BRCA2*. Показано, что дефекты в HR-репарации, возникающие вследствие мутаций в *RAD51*, *DSS1*, *RPA1* или *CHK1*, вызывают повышенную чувствительность клеток к ингибированию PARP1 [48]. Ингибирование репарации повреждений ДНК при условии дефицита гомологичной рекомбинации приводит клетку к гибели из-за невозможности исправить все повреждения ДНК.

Объяснить прямое действие ингибиторов PARP1 на опухолевые клетки можно также с помощью другого механизма. Предполагается, что в результате действия ингибиторов PARP1 остается связанным с поврежденной ДНК, поэтому он не может отделиться от ДНК и «освободить» место для PARP1-зависимых ферментов репарации (рис. 5Б).

Третья модель прямого действия ингибиторов PARP1 основана на наблюдении Li и Yu [49], которые показали, что в присутствии ингибиторов PARP1 мутантный *BRCA1* в меньшей степени накапливается в области повреждений ДНК (рис. 5В).

Предложена также четвертая модель прямого действия ингибиторов PARP1 (рис. 5Г). Согласно этой модели, при двухцепочечных разрывах в клетках с дефицитом HR активируется другая система NHEJ [44]. Ключевые белки этой системы – *Ku70*, *Ku80* и *DNA-РКс*, как показано ранее, имеют PARP1-связывающие мотивы и могут регулироваться с помощью ADP-рибозилирования [50, 51].

В клинических исследованиях монотерапия олапарибом приводила к ингибированию опухолей с мутациями в *BRCA1* или *BRCA2* (рак молочной железы и рак яичников) [52, 53]. При этом клетки с дефицитом *BRCA1* или *BRCA2* были в 57 или 133 раза более чувствительны к ингибированию PARP1 соответственно [46]. Однако эффективность подобной терапии была невысокой – положительный ответ наблюдался менее чем у 50% пациентов [54]. Поэтому очень важно правильно определить прогностические маркеры терапии ингибиторами PARP1. Такими маркерами могут быть мутации в генах *53BP1*, *RAD51*, *NBS1*, *ATM*, *ATR*, *Chk1*, *Chk2*, *Rad54*, *FANCD2*, *FANCA*, *PALB2*, *FANCC*, *PTEN* [39, 55–59].

Таблица. Клинические испытания ингибиторов PARP1. Взято из обзоров [42, 43]

Название	Терапия	Опухоли	Фаза КИ
Рукапариб AG014699	Монотерапия	BRCA мутантный рак легких, рак яичников	2
Рукапариб	+ темозоломид	Солидные опухоли, меланома	2
Рукапариб	+карбоплатин	Солидные опухоли	1
Олапариб	Монотерапия	Солидные опухоли, носители BRCA, TNBC/ HGSOС	2
Олапариб	+ топотекан	Солидные опухоли	1
Олапариб	+ дакарбазин	Солидные опухоли	1
Олапариб	+бевасизумаб	Солидные опухоли	1
Олапариб	+ паклитаксел	Рак яичников	2
Олапариб	+ паклитаксел	Рак желудка	2
Олапариб	+цисплатин	Солидные опухоли	1
Велипариб АВТ-888	Монотерапия	Солидные опухоли	1
Велипариб	+ топотекан	Солидные опухоли	1
Велипариб	+карбоплатин	Солидные опухоли	1
Велипариб	+темозоломид	Солидные опухоли, опухоли печени, рак простаты	2
Велипариб	+циклофосфамид	Солидные опухоли и лимфомы	2
INO-1001	+темозоломид	Меланома	1
МК4827	Монотерапия	Солидные опухоли и лимфомы	2
МК4827	+темозоломид	Рак яичников/glioblastoma	1
МК4827	+доксорибуцин	Рак яичников/glioblastoma	1
СЕР-9722	Монотерапия	Солидные опухоли	1
СЕР-9722	+темозоломид	Лимфомы	1
BMN-673	Монотерапия	Солидные опухоли	1
Инипариб (BSI-201)	+ гемцитабин + карбоплатин	мТНРМЖ	2
Инипариб	+ гемцитабин + цисплатин	Рак легкого	2
Инипариб	+ гемцитабин + карбоплатин	мТНРМЖ	3

Терминальные мутации генов *BRCA1* или *BRCA2* в опухолевых клетках приводят к появлению дефектов в системе гомологичной рекомбинации ДНК, в работе которой в норме принимают участие оба белка *BRCA*. В этом случае опухолевые клетки становятся чрезвычайно зависимыми от одной из пяти других систем репарации, в работе каждой из которых участвует PARP1. Ингибирование PARP1 при условии дефицита гомологичной рекомбинации ведет клетку к апоптозу из-за невозможности репарации всех возникших повреждений ДНК. Этот процесс назван «синтетической летальностью». В ряде работ показана перспективность применения ингибиторов PARP1 у больных с опухолями, возникшими из-за дефектов в генах *BRCA*.

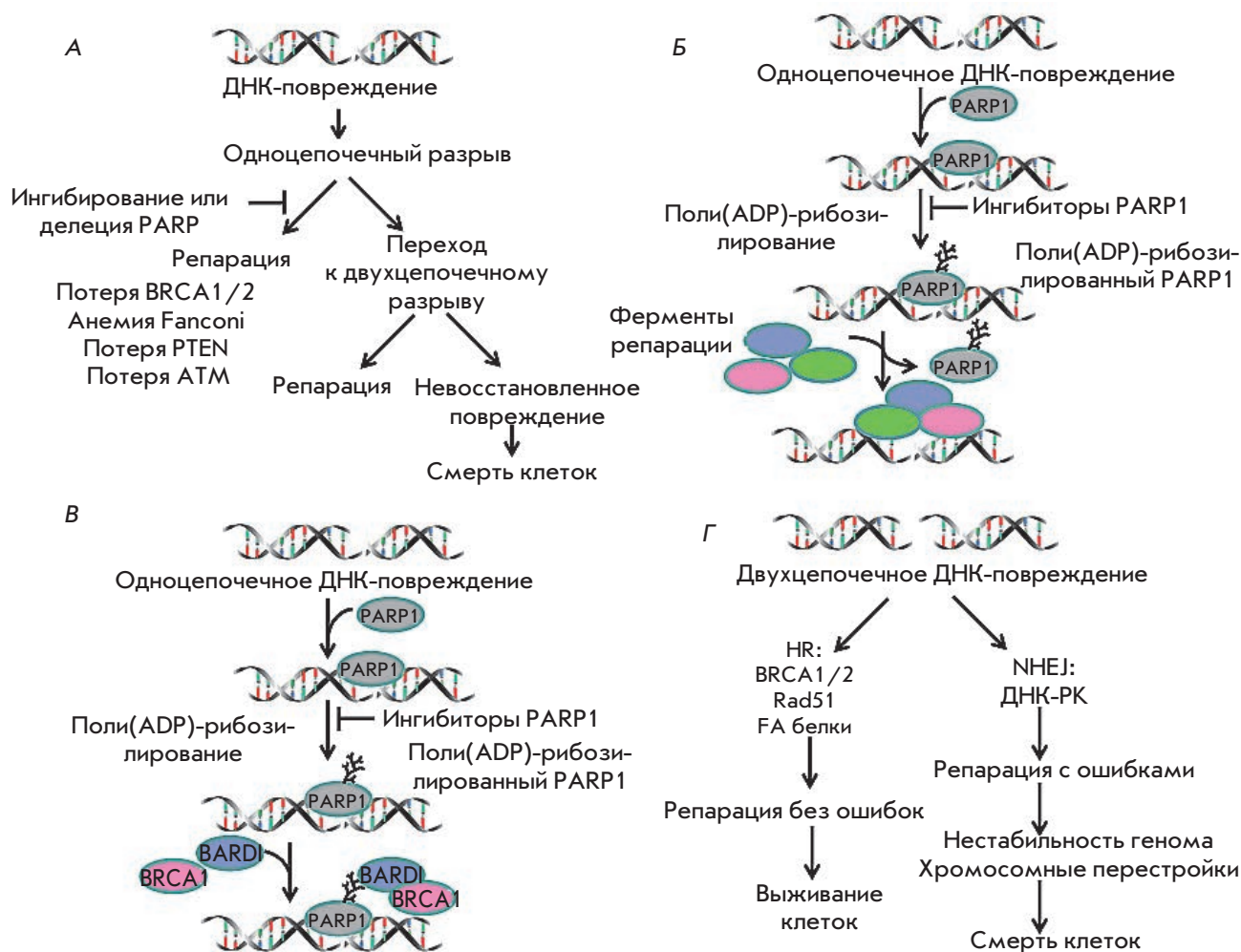
**МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ PARP1: СИНЕРГИЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ**

Ингибиторы PARP1 не всегда оказывают прямое цитотоксическое действие на опухолевые клетки.

В таких случаях желаемый эффект может быть достигнут при совместном использовании ингибиторов PARP1 и других препаратов, вызывающих повреждение ДНК.

**СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ PARP1 И АГЕНТОВ, МЕТИЛИРУЮЩИХ ДНК**

Еще в 80-х годах прошлого столетия на примере 3-AB было показано, что ингибиторы PARP усиливают действие агентов, метилирующих ДНК [22]. ДНК-метилирующие агенты, такие, как дакарбазин (DTIC), темозоломид (TMZ), активно используются в настоящее время в терапии опухолей головного мозга и меланомы. Эти препараты способны метилировать ДНК в положениях O<sup>6</sup> и N<sup>7</sup> гуанина и N<sup>3</sup> аденина. Удаление N-метилпуринов (N<sup>7</sup>-MEG и N<sup>3</sup>-MEA) приводит к появлению SSB, а ингибирование PARP1 инактивирует репарацию таких повреждений [60]. В ранних исследованиях показали, что PD128763 и NU1025 усиливают индуцированные TMZ по-



**Рис. 5.** Прямое цитотоксическое действие ингибиторов PARP1. **А** – ингибирование PARP1 приводит к инактивации системы репарации и сохранению спонтанно возникающих одноцепочечных разрывов (SSB), что приводит к формированию двухцепочечных разрывов. **Б** – в результате действия ингибиторов PARP1 остается связанным с поврежденной ДНК и, таким образом, не может отойти от ДНК и освободить место для действия репарационных PARP1-зависимых ферментов. **В** – в присутствии ингибиторов PARP1 мутантный BRCA1 в меньшей степени накапливается в области повреждений ДНК, **Г** – при двухцепочечных разрывах в HR-дефицитных клетках активируется другая система NHEJ, репарация проходит с ошибками, что может привести к геномной нестабильности и гибели клеток

вреждения ДНК и увеличивают цитотоксичность TMZ в 4–7 раз при его использовании в более низких концентрациях (в 50–100 раз) [61]. Повышение эффективности TMZ (до 6 раз) в присутствии NU1085 наблюдали на 12 различных линиях опухолей человека независимо от их тканевого происхождения и статуса p53 [62]. Серия бензимидазолов и трициклических лактамных индолов, в том числе AG14361 в концентрации только 0.4 мкМ, в 5.3 раза усиливает индуцированное TMZ ингибирование роста клеток LoVo (рак толстой кишки человека) [30]. Подобное синергичное действие ингибиторов PARP и Торо I на-

блюдали во множестве работ, выполненных *in vitro*. Следует подчеркнуть, что ингибиторы PARP1, как установлено, усиливают цитотоксичность TMZ преимущественно в S-фазе, что указывает на механизм синергичного действия: скорее всего, ингибиторы вызывали накопление DSB в процессе репликации [63, 64]. Усиление противоопухолевой активности TMZ в присутствии различных ингибиторов PARP *in vivo* показано во многих экспериментах. Приведем некоторые примеры. Совместная обработка NU1025 и TMZ повышает выживаемость мышей с лимфомами головного мозга [65]. Ингибитор GPI 15427 увели-

чивает индуцированную TMZ задержку роста опухоли и антиметастатическую активность в модели меланомы B16 [66]. Велипариб усиливает активность TMZ в подкожных, ортотопных и метастатических моделях ксенотрансплантатов человека, включая лимфомы, рак яичников, легкого, поджелудочной, молочной и предстательной железы [67]. Интересно, что и GPI 15427 и велипариб преодолевают гематоэнцефалический барьер и усиливают противоопухолевую активность TMZ у мышей с внутречерепными меланомами, глиомами и лимфомами [68]. В моделях детских опухолей рукапариб усиливает противоопухолевую активность TMZ в ксенотрансплантатах нейробластомы и медуллобластомы [69]. Полную регрессию опухоли при обработке TMZ и CEP-6800 наблюдали у мышей, несущих ксенотрансплантаты U251MG (глиобластома человека) [70] и SW620 (рак толстой кишки человека) [32, 71]. Эти и другие данные, полученные в испытаниях *in vivo*, позволили положить начало клиническим испытаниям ингибиторов PARP вместе с ДНК-метилирующими агентами (таблица).

### СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ PARP1 И ИНГИБИТОРОВ ТОПОИЗОМЕРАЗЫ I (ТОРО I)

Известно, что активность Торо I повышена в некоторых опухолях [72]. Ингибиторы Торо I применяют при различных формах опухолей, например, топотекан – при мелкоклеточном раке легкого, раке яичников и шейки матки, иринотекан – при раке толстой кишки. Торо I вносит временные повреждения в ДНК для устранения напряжений, накапливающихся в ДНК в ходе транскрипции и репликации. Ингибиторы Торо I, такие, как камптотецины, стабилизируют расщепляемый комплекс Торо I–

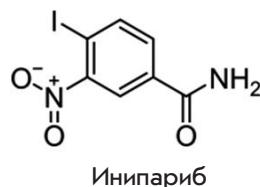


Рис. 6. Структура инипариба

ДНК на стадии, когда происходят разрывы ДНК. Репарация повреждений, вызываемых Торо I, происходит с участием BER/SSB. При этом клетки, лишённые ключевого белка BER – XRCC1, гиперчувствительны к камптотецину. Ферменты PARP, как полагают, участвуют в этом процессе, привлекая XRCC1 к Торо I-зависимым разрывам ДНК [73], которые, в свою очередь, привлекают тирозил-ДНК-фосфодиэстеразу (TDP 1), удаляющую Торо I с ДНК [74]. Кроме того, PARP1 способен взаимодействовать с Торо I и репарировать Торо I-зависимые SSB [75]. В ряде работ показано усиление действия ингибиторов топоизомеразы I в присутствии ингибиторов PARP [30, 32, 71]. Приведем некоторые примеры. В 1987 году Mattern M.R. и соавт. первыми использовали ингибиторы PARP в качестве потенциальных усилителей ингибиторов Торо I. Они показали, что 3-AB увеличивает цитотоксичность камптотецина в клетках L1210 [76]. В дальнейшем синергичное действие ингибиторов Торо I и PARP1 активно изучалось. На 12 клеточных опухолевых линиях человека показано, что NU1025 и NU1085 повышают цитотоксичность топотекана независимо от тканевого происхождения этих линий и статуса p53 [62]. CEP-6800 и GPI 15427 повышали чувствительность к химиотерапевтическим препаратам – ингибиторам Торо I, в клеточных линиях рака толстой кишки [70,

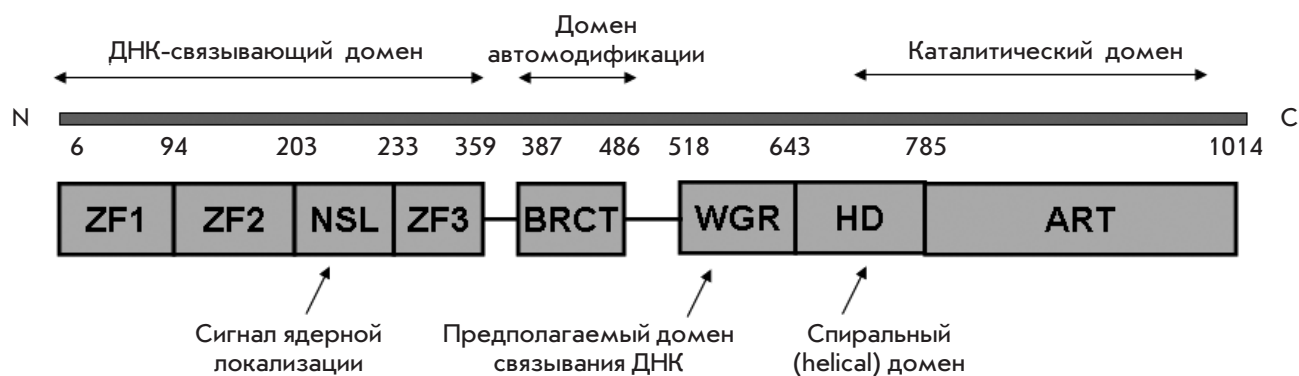


Рис. 7. Структурно-функциональная организация PARP1. В структуре PARP1 выделяют три основных функциональных домена: N-концевой ДНК-связывающий, внутренний домен автомодификации и C-концевой каталитический [108, 109], а также дополнительные функциональные области



77]. Обнадеживающие результаты получены также в опытах *in vivo*, в которых изучали совместное действие ингибиторов PARP и Торо I. CEP-6800 на 60% повышал иринотекан-зависимое ингибирование опухолей у мышей, несущих ксенотрансплантаты HT29 [70], а олапариб увеличивал токсичность топотекана, так что его дозу можно было уменьшить в 8 раз [78]. Эти и другие результаты опытов *in vivo* позволили положить начало клиническим испытаниям совместного применения ингибиторов PARP и Торо I (*таблица*).

### СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ PARP1 И ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Ионизирующее излучение вызывает множество повреждений ДНК, модификацию оснований, SSB и DSB, при этом последние поражения считаются наиболее цитотоксическими. Сенсibilизация клеток, обработанных ингибиторами PARP, к ионизирующему излучению менее значительна, чем сенсibilизация к химическим соединениям, и, как правило, увеличивает цитотоксичность менее чем в 2 раза. Однако, учитывая, что большое число больных подвергаются лучевой терапии, такая комбинация может быть оправданной. Ранние исследования показали, что ингибирование PARP приводит к радиосенсibilизации клеток млекопитающих [79]. В дальнейшем показали, что различные ингибиторы PARP (ANI, NU1025, олапариб, E7016) повышали эффективность радиосенсibilизации разных линий клеток в 1.3–1.7 раза [80]. В некоторых исследованиях ингибиторы PARP селективно вызывали радиосенсibilизацию активно реплицирующихся клеток, находящихся в S-фазе [24]. Это позволило предложить механизм, с помощью которого ингибирование PARP увеличивает чувствительность к ионизирующему излучению. Ингибирование предотвращает репарацию SSB, преобразуя их в DSB при прохождении вилки репликации в S-фазе [81]. Такая гипотеза подтверждается наблюдением, согласно которому ингибирование PARP приводит к образованию дополнительных фокусов  $\gamma$ H2AX и RAD51 (что свидетельствует о повышенной частоте HRR, гомологичной рекомбинации в остановленной вилке репликации). Фактором, предрасполагающим к устойчивости к радиации *in vivo*, является способность клеток восстанавливаться после потенциально летального повреждения (PLD). При этом всегда есть вероятность сохранения радиорезистентных опухолевых клеток, которые могут вновь создать опухоль после лучевой терапии [82]. Показано, что ингибиторы PARP1, такие, как PD128763, NU1025, AG14361, предотвращали восстановление опухолевых клеток после PLD [63]. В ряде работ обнаружена эффектив-

ность радиосенсibilизации ингибиторами PARP1 *in vivo*. У мышей, несущих SCC7, RIF-1 и КНТ саркомы, ингибитор PD128763 вызвал трехкратное повышение терапевтической активности рентгеновских лучей [83]. Доклинические исследования показали, что велипариб значительно увеличивает противоопухолевую активность ионизирующего излучения в ксенотрансплантатных моделях рака толстой кишки, легкого и предстательной железы человека [68, 84, 85].

### ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ PARP1 В СОЧЕТАНИИ С ДРУГИМИ ЦИТОСТАТИЧЕСКИМИ ПРЕПАРАТАМИ

Некоторые данные свидетельствуют о способности ингибиторов PARP усиливать действие других противоопухолевых цитотоксинов. Например, 6(5H)-фенантридинон усиливает цитотоксичность кармустина в лимфоме мышей [86]. PJ-34 увеличивает цитотоксичность доксорубина в клетках HeLa, предположительно, за счет повышения уровня топоизомеразы II [87]. Сходное с ним соединение INO-1001 увеличивает противоопухолевую активность доксорубина на ксенотрансплантатах MDA-MB-231 и MCA-K клеток рака легкого [88]. Сообщения о синергическом действии ингибиторов PARP и соединений платины, таких, как цисплатин и карбоплатин, противоречивы. Тем не менее в ряде исследований показано, что PARP1 активируется индуцированными цисплатином повреждениями ДНК [89], что привело к проведению клинических испытаний ингибиторов PARP совместно с производными цисплатина (*таблица*).

### ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СУЩЕСТВУЮЩИХ ИНГИБИТОРОВ PARP1 И ПЕРСПЕКТИВЫ ПОИСКА НОВЫХ

Практически все существующие ингибиторы PARP1 являются миметиками никотинамида, т.е. ориентированы на связывание с каталитическим доменом PARP1 и конкуренцию с NAD<sup>+</sup>. В опытах *in vitro*, а также во множестве доклинических и некоторых клинических испытаниях ингибиторы PARP1 достаточно хорошо зарекомендовали себя как противоопухолевые средства. Однако при проведении более систематических, контролируемых, расширенных клинических испытаний ингибиторов PARP1 вскрылся целый ряд проблем. Во-первых, соединения, ингибирующие связывание NAD<sup>+</sup>, имеют довольно низкую специфичность к PARP1, а также блокируют другие ферментативные пути с участием NAD<sup>+</sup>. Следует отметить, что NAD<sup>+</sup> это кофактор, который взаимодействует со многими ферментами, вовлеченными в ряд клеточных процессов, поэтому конкуренция с NAD<sup>+</sup> приводит к высокой токсично-

сти. Во-вторых, ферментативные ингибиторы PARP1 активируют репликацию вирусов и противопоказаны больным, инфицированным такими вирусами, как вирус Т-клеточного лейкоза человека (HTLV) или вирус, ассоциированный с саркомой Капоши (KSHV) [90–92]. В-третьих, вопрос о безопасности длительного применения существующих ингибиторов PARP1 остается открытым. Известно, что опухолевые клетки обладают способностью быстро приобретать устойчивость к препаратам, применяемым в качестве длительной монотерапии [93]. Эти проблемы стали причиной того, что многие ингибиторы PARP1 не прошли длительные систематические клинические испытания. Испытания некоторых ингибиторов PARP1 прекращены уже на I и II стадиях из-за высокой токсичности и ряда побочных эффектов. Показательной в этом отношении является история инипариба (BSI-201), который дальше всех других ингибиторов PARP1 продвинулся в разработке и дошел до рандомизированного клинического испытания фазы III.

Клиническое исследование фазы III препарата BSI-201 (инипариба) началось в июле 2009 года для оценки эффективности применения этого препарата в комбинации с химиотерапией, проводимой у пациенток с метастатическим трижды негативным раком молочной железы (мТНРМЖ). В исследовании приняли участие 519 женщин с мТНРМЖ из 109 центров в США. А уже в 2013 году фирма «Санofi-авентис» объявила о прекращении клинических испытаний, поскольку не наблюдалось улучшения состояния и общей выживаемости пациенток, получавших инипариб и химиотерапию, по сравнению с контрольной группой (только химиотерапия). Ряд обстоятельств привел к неудаче клинических испытаний инипариба. Основная причина неудачи заключалась в том, что к моменту набора групп для клинических исследований доклинические эксперименты были проведены не в полном объеме; было получено очень мало сведений о механизме действия инипариба. Инипариб был допущен к КИ первой фазы еще до получения результатов доклинических испытаний [94, 95]. Здесь интересно еще одно обстоятельство: фирма Virag, которая разрабатывала инипариб и продала свои разработки фирме «Санofi», так и не раскрыла структуру данного соединения из-за патентных соображений. Позднее оказалось, что, в отличие от всех других ингибиторов PARP1, имеющих сходную структуру, только инипариб имел подвижную карбоксильную группу, которая могла вращаться вокруг амидной связи, что в значительной

степени ослабляло связывание ингибитора с PARP1 (рис. 6). Как признался один из экспертов «Санofi»: «Если бы Virag предоставил структуру инипариба, то, вероятно, мы смогли бы предположить, что он не будет хорошим ингибитором PARP1». Тем не менее, несмотря на отсутствие достаточного описания препарата (известной структуры и фармакодинамических данных), фирма допустила его до клинических исследований, в результате неудачи которых издержки компании «Санofi-авентис» составили 285 млн долларов.

Достаточно высокая токсичность и ряд побочных эффектов, вызываемых ферментативными ингибиторами PARP1 и выявляемых в КИ, заставляют менять стратегию разработки новых ингибиторов PARP1. Поскольку PARP1 состоит из нескольких функциональных доменов и обладает дополнительными активностями, помимо ферментативной, в частности ДНК-связывающей и транскрипционной (рис. 7), активность PARP1 можно регулировать ингибированием данных функциональных доменов. В частности, разрабатываются препараты, направленные на ингибирование связывания PARP1 с ДНК [96]. По мнению авторов, поиск соединений, способных предотвращать участие PARP1 в процессе транскрипции, может привести к разработке нового класса лекарственных средств, имеющих более высокую специфичность и менее выраженные побочные эффекты. Более подробно о роли PARP1 в регуляции транскрипции можно ознакомиться в работах [97–101]. Используя полученную ранее авторами систему транскрипции в моно- и полинуклеосомных системах, становится возможным провести поиск и проверку транскрипционных ингибиторов PARP1.

В заключение следует отметить, что ингибиторы PARP1 представляют большой интерес и имеют практическую ценность не только в онкологии, но и в терапии различных воспалительных процессов, сердечно-сосудистых и неврологических заболеваний, а также заболеваний, связанных со старением. Терапевтический эффект ингибиторов PARP в данных процессах остался за рамками настоящего обзора (для ознакомления см. обзоры [102–109]). ●

*Работа поддержана ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (соглашение Минобрнауки России № 14.604.21.0063, RFMEFI60414X0063).*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kraus W.L., Hottiger M.O. // *Mol. Aspects Med.* 2013. V. 34. P. 1109–1123.
2. Rodríguez M.I., Peralta-Leal A., O'Valle F., Rodríguez-Vargas J.M., Gonzalez-Flores A., Majuelos-Melguizo J., López L., Serrano S., de Herreros A.G., Rodríguez-Manzanique J.C., et al. // *PLoS Genet.* 2013. V. 9. № 6. P. e1003531.
3. Newshean S., Cooper T., Stanley J.A., Yang E.S. // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 10. P. e46614.
4. Galia A., Calogero A.E., Condorelli R., Frassetto F., La Corte A., Ridolfo F., Bosco P., Castiglione R., Salemi M. // *Eur. J. Histochem.* 2012. V. 56. № 1. P. e9.
5. Csete B., Lengyel Z., Kádár Z., Battyáni Z. // *Pathol. Oncol. Res.* 2009. V. 15. № 1. P. 47–53.
6. Telli M.L., Ford J.M. // *Clin. Breast Cancer.* 2010. V. 10. Suppl 1. P. E16–22.
7. Shimizu S., Nomura F., Tomonaga T., Sunaga M., Noda M., Ebara M., Saisho H. // *Oncol. Rep.* 2004. V. 12. P. 821–825.
8. Rojo F., García-Parra J., Zazo S., Tusquets I., Ferrer-Lozano J., Menendez S., Eroles P., Chamizo C., Servitja S., Ramírez-Merino N., et al. // *Ann. Oncol.* 2012. V. 23. P. 1156–1164.
9. Domagala P., Huzarski T., Lubinski J., Gugala K., Domagala W. // *Breast Cancer Res. Treat.* 2011. V. 127. P. 861–869.
10. Michels J., Vitale I., Galluzzi L., Adam J., Olaussen K.A., Kepp O., Senovilla L., Talhaoui I., Guegan J., Enot D.P., et al. // *Cancer Res.* 2013. V. 73. P. 2271–2280.
11. Simbulan-Rosenthal C.M., Ly D.H., Rosenthal D.S., Konopka G., Luo R., Wang Z.Q., Schultz P.G., Smulson M.E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. № 21. P. 11274–11279.
12. Dajee M. // *Nature.* 2003. V. 421. P. 639–643.
13. Martín-Oliva D., O'Valle F., Muñoz-Gómez J.A., Valenzuela M.T., Nuñez M.I., Aguilar M., Ruiz de Almodóvar J.M., García del Moral R., Oliver F.J. // *Oncogene.* 2004. V. 23. P. 5275–5283.
14. Ohanna M., Giuliano S., Bonet C., Imbert V., Hofman V., Zangari J., Bille K., Robert C., Bressac-de Paillerets B., Hofman P., et al. // *Genes Dev.* 2011. V. 25. P. 1245–1261.
15. Tulin A., Spradling A. // *Science.* 2003. V. 299. P. 560–562.
16. Petesch S.J., Lis J.T. // *Cell.* 2008. V. 134. № 1. P. 74–84.
17. Leu J.I., Pimkina J., Frank A., Murphy M.E., George D.L. // *Mol. Cell.* 2009. V. 36. P. 15–27.
18. Cazzalini O., Donà F., Savio M., Tillhon M., Maccario C., Perucca P., Stivala L.A., Scovassi A.I., Prospero E. // *DNA Repair.* 2010. V. 9. P. 627–635.
19. Abbas T., Dutta A. // *Nat. Rev. Cancer.* 2009. V. 9. P. 400–414.
20. Schiewer M.J., Goodwin J.F., Han S., Brenner J.C., Augello M.A., Dean J.L., Liu F., Planck J.L., Ravindranathan P., Chinnaiyan A.M., et al. // *Cancer Discov.* 2012. V. 12. P. 1134–1149.
21. Purnell M.R., Whish W.J. // *Biochem. J.* 1980. V. 185. P. 775–777.
22. Durkacz B.W., Omidiji O., Gray D.A., Shall S. // *Nature.* 1980. V. 283. P. 593–596.
23. Milam K.M., Cleaver J.E. // *Science.* 1984. V. 223. № 4636. P. 589–591.
24. Banasik M., Komura H., Shimoyama M., Ueda K. // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 1569–1575.
25. Jagtap P., Szabó C. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2005. V. 4. P. 421–440.
26. Ruf A., de Murcia G., Schulz G.E. // *Biochemistry.* 1998. V. 37. P. 3893–3900.
27. Canan Koch S.S., Thoresen L.H., Tikhe J.G., Maegley K.A., Almasy R.J., Li J., Yu X.H., Zook S.E., Kumpf R.A., Zhang C., et al. // *J. Med. Chem.* 2002. V. 45. № 23. P. 4961–4974.
28. Skalitzky D.J., Marakovits J.T., Maegley K.A., Ekker A., Yu X.H., Hostomsky Z., Webber S.E., Eastman B.W., Almasy R., Li J., et al. // *J. Med. Chem.* 2003. V. 46. № 2. P. 210–213.
29. Tikhe J.G., Webber S.E., Hostomsky Z., Maegley K.A., Ekkers A., Li J., Yu X.H., Almasy R.J., Kumpf R.A., Boritzki T.J., et al. // *J. Med. Chem.* 2004. V. 47. № 22. P. 5467–5481.
30. Calabrese C.R., Batey M.A., Thomas H.D., Durkacz B.W., Wang L.Z., Kyle S., Skalitzky D., Li J., Zhang C., Boritzki T., et al. // *Clin. Cancer Res.* 2003. V. 9. № 7. P. 2711–2718.
31. Marsischky G.T., Wilson B.A., Collier R.J. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 3247–3254.
32. Thomas H.D., Calabrese C.R., Batey M.A., Canan S., Hostomsky Z., Kyle S., Maegley K.A., Newell D.R., Skalitzky D., et al. // *Mol. Cancer Ther.* 2007. V. 6. № 3. P. 945–956.
33. Mason K.A., Buchholz T.A., Wang L., Milas Z.L., Milas L. // *Am. J. Clin. Oncol.* 2014. V. 37. № 1. P. 90–100.
34. Ekblad T., Schüller H., Macchiarulo A. // *FEBS J.* 2013. V. 280. № 15. P. 3563–3575.
35. Hilton J.F., Tran M.T., Shapiro G.I. // *Front. Biosci. (Landmark Ed).* 2013. V. 18. P. 1392–1406.
36. Papeo G., Montagnoli A., Ciria A. // *Expert. Opin. Ther. Pat.* 2013. V. 4. P. 503–514.
37. Sonnenblick A., Azim H.A. Jr., Piccart M. // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2015. V. 12. P. 27–41.
38. Curtin N.J., Szabo C. // *Mol. Aspects Med.* 2013. V. 34. № 6. P. 1217–1256.
39. De Lorenzo S.B., Hurley R.M., Kaufmann S.H. // *Front. Oncol.* 2013. V. 11. № 3. P. 228.
40. Kuzminov A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98. № 15. P. 8241–8246.
41. Chapman J.R., Boulton S.J. // *Mol. Cell Biol.* 2012. V. 47. № 4. P. 497–510.
42. Deindl S., Hota S.K., Blosser T.R., Prasad P., Bartholomew B., Zhuang X. // *Cell.* 2013. V. 152. № 3. P. 442–452.
43. Min I.M., Core L.J., Munroe R.J., Schimenti J., Lis J.T. // *Genes Dev.* 2011. V. 25. № 7. P. 742–754.
44. Patel A.G., Sarkaria J.N., Kaufmann S.H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. № 8. P. 3406–3411.
45. Bryant H.E., Thomas H.D., Parker K.M., Flower D., Lopez E., Kyle S., Meuth M., Curtin N.J., Helleday T. // *Nature.* 2005. V. 434. № 7035. P. 913–917.
46. Farmer H., Lord C.J., Tutt A.N., Johnson D.A., Richardson T.B., Santarosa M., Dillon K.J., Hickson I., Knights C., Martin N.M., et al. // *Nature.* 2005. V. 14. № 434. P. 917–921.
47. Donoho G., Brenneman M.A., Cui T.X., Donoviel D., Vogel H., Goodwin E.H., Chen D.J., Hasty P. // *Genes, Chromosomes Cancer.* 2003. V. 36. P. 317–331.
48. McCabe N., Turner N.C., Lord C.J., Kluzek K., Bialkowska A., Swift S., Giavara S., O'Connor M.J., Tutt A.N., et al. // *Cancer Res.* 2006. V. 66. P. 8109–8115.
49. Li M., Yu X. // *Cancer Cell.* 2013. V. 23. № 5. P. 693–704.
50. Miwa M., Masutani M. // *Cancer Sci.* 2007. V. 98. P. 1528–1535.
51. Paddock M.N., Higdon R., Kolker E., Takeda S., Scharenberg A.M. // *DNA Repair.* 2011. V. 10. № 3. P. 338–343.
52. Fong P.C., Yap T.A., Tutt A., Wu P., Mergui-Roelvink M., Mortimer P., Swaisland H., Lau A., O'Connor M.J., Ashworth A., et al. // *N. Engl. J. Med.* 2009. V. 361. P. 123–134.
53. Hutchinson L. // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2010. V. 7. P. 549.
54. Chan S.L. // *Lancet.* 2010. V. 376. № 9737. P. 211–213.
55. Bunting S.F., Callen E., Wong N., Chen H.-T., Polato F., Gunn A., Bothmer A., Feldhahn N., Fernandez-Capetillo O., Cao L., et al. // *Cell.* 2010. V. 141. P. 243–254.
56. Mukhopadhyay A., Elattar A., Cerbinskaite A., Wilkinson S.J., Drew Y., Kyle S., Los G., Hostomsky Z., Edmondson R.J., Curtin N.J. // *Clin. Cancer Res.* 2006. V. 16. P. 2344–2351.



57. Mendes-Pereira A.M., Brough R., McCarthy A., Taylor J.R., Kim J.S., Waldman T., Lord C.J., Ashworth A. // *EMBO Mol. Med.* 2009. V. 1. P. 315–322.
58. Buisson R., Coulombe Y., Launay H., Cai H., Stasiak A.Z., Stasiak A., Xia B., Masson J.Y. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2010. V. 17. P. 1247–1254.
59. Williamson C.T., Turhan A.G., Zamò A., O'Connor M.J., Bebb D.G., Lees-Miller S.P. // *Mol. Cancer Ther.* 2010. V. 9. P. 347–357.
60. Villano J.L., Seery T.E., Bressler L.R. // *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2009. V. 64. P. 647–655.
61. Boulton S., Pemberton L.C., Porteous J.K., Curtin N.J., Griffin R.J., Golding B.T., Durkacz B.W. // *Br. J. Cancer.* 1995. V. 72. P. 849–856.
62. Delaney C.A., Wang L.Z., Kyle S., Srinivasan S., White A.W., Calvert A.H., Curtin N.J., Durkacz B.W., Hostomsky Z., Maegley K., et al. // *Clin. Cancer Res.* 2000. V. 6. P. 2860–2867.
63. Liu S.K., Coackley C., Krause M., Jalali F., Chan N., Bristow R.G. // *Radiother. Oncol.* 2008. V. 88. P. 258–268.
64. Liu X., Shi Y., Guan R., Donawho C., Luo Y., Palma J., Zhu G.D., Johnson E.F., Rodriguez L.E., Ghoreishi-Haack N., et al. // *Mol. Cancer Res.* 2008. V. 6. P. 1621–1629.
65. Tentori L., Leonetti C., Scarsella M., d'Amati G., Portarena I., Zupi G., Bonmassar E., Graziatia G. // *Blood.* 2002. V. 99. P. 2241–2244.
66. Tentori L., Leonetti C., Scarsella M., D'Amati G., Vergati M., Portarena I., Xu W., Kalish V., Zupi G., Zhang J., Graziani G. // *Clin. Cancer Res.* 2003. V. 9. P. 5370–5379.
67. Palma J.P., Rodriguez L.E., Montgomery D., Ellis P.A., Bukofzer G., Niquette A., Liu X., Shi Y., Lasko L., Zhu G.D., et al. // *Clin. Cancer Res.* 2009. V. 15. P. 7277–7290.
68. Donawho C.K., Luo Y., Penning T.D., Bauch J.L., Bouska J.J., Bontcheva-Diaz V.D., Cox B.F., DeWeese T.L., Dillehay L.E., Ferguson D.C., et al. // *Clin. Cancer Res.* 2007. V. 13. P. 2728–2737.
69. Daniel R.A., Rozanska A.L., Mulligan E.A., Drew Y., Thomas H.D., Castelbuono D.J., Hostomsky Z., Plummer E.R., Tweddle D.A., Clifford S.C., et al. // *Br. J. Cancer.* 2010. V. 103. P. 1588–1596.
70. Miknyoczki S.J., Jones-Bolin S., Prichard S. // *Mol. Cancer Ther.* 2003. V. 2. P. 371–382.
71. Calabrese C.R., Almasy R., Barton S., Batey M.A., Calvert A.H., Canan-Koch S., Durkacz B.W., Hostomsky Z., Kumpf R.A., Kyle S., et al. // *J. Natl. Cancer Inst.* 2004. V. 96. P. 56–67.
72. Kaufmann S.H., Charron M., Burke P.J., Karp J.E. // *Cancer Res.* 1995. V. 55. P. 1255–1260.
73. El-Khamisy S.F., Masutani M., Suzuki H., Caldecott K.W. // *Nucl. Acids Res.* 2003. V. 31. P. 5526–5533.
74. Plo I., Liao Z.Y., Barceló J.M., Kohlhagen G., Caldecott K.W., Weinfeld M., Pommier Y. // *DNA Repair.* 2003. V. 2. P. 1087–1100.
75. Malanga M., Althaus F.R. // *Biochem. Cell Biol.* 2005. V. 83. P. 354–364.
76. Mattern M.R., Mong S.M., Bartus H.F., Mirabelli C.K., Crooke S.T., Johnson R.K. // *Cancer Res.* 1987. V. 47. P. 1793–1798.
77. Tentori L., Leonetti C., Scarsella M., Muzi A., Mazzon E., Vergati M., Forini O., Lapidus R., Xu W., Dorio A.S., et al. // *FASEB J.* 2006. V. 20. P. 1709–1711.
78. Zander S.A., Kersbergen A., van der Burg E., de Water N., van Tellingen O., Gunnarsdottir S., Jaspers J.E., Pajic M., Nygren A.O., Jonkers J., et al. // *Cancer Res.* 2010. V. 70. P. 1700–1710.
79. Ben-Hur E., Chen C.C., Elkind M.M. // *Cancer Res.* 1985. V. 45. P. 2123–2127.
80. Russo A.L., Kwon H.C., Burgan W.E., Carter D., Beam K., Weizheng X., Zhang J., Slusher B.S., Chakravarti A., Tofilon P.J., Camphausen K. // *Clin. Cancer Res.* 2009. V. 15. P. 607–612.
81. Saleh-Gohari N., Bryant H.E., Schultz N., Parker K.M., Cassel T.N., Helleday T. // *Mol. Cell. Biol.* 2005. V. 25. P. 7158–7169.
82. Barendsen G.W., van Bree C., Franken N.A.P. // *Int. J. Oncol.* 2001. V. 19. P. 247–256.
83. Leopold W.R., Sebolt-Leopold J.S. *Chemical approaches to improved radiotherapy.* Boston: Kluwer, 1992. P. 179–196.
84. Albert J.M., Cao C., Kim K.W., Willey C.D., Geng L., Xiao D., Wang H., Sandler A., Johnson D.H., Colevas A.D., et al. // *Clin. Cancer Res.* 2007. V. 13. P. 3033–3042.
85. Barreto-Andrade J.C., Efimova E.V., Mauceri H.J., Beckett M.A., Sutton H.G., Darga T.E., Vokes E.E., Posner M.C., Kron S.J., Weichselbaum R.R. // *Mol. Cancer Ther.* 2011. V. 10. P. 1185–1193.
86. Holl V., Coelho D., Weltin D., Hyun J.W., Dufour P., Bischoff P. // *Anticancer Res.* 2000. V. 20. P. 3233–3241.
87. Magan N., Isaacs R.J., Stowell K.M. // *Anticancer Drugs.* 2012. V. 3. P. 627–637.
88. Mason K.A., Valdecanas D., Hunter N.R., Milas L. // *Invest. New Drugs.* 2008. V. 26. P. 1–5.
89. Guggenheim E.R., Ondrus A.E., Movassaghi M., Lippard S.J. // *Bioorg. Med. Chem.* 2008. V. 16. P. 10121–10128.
90. Ohsaki K., Sakakibara S., Do E., Yada K., Yamanishi K. // *J. Virol.* 2004. V. 78. P. 9936–9946.
91. Wang H., Tang Q., Maul G.G., Yuan Y. // *J. Virol.* 2008. V. 82. P. 2867–2882.
92. Nakajima H., Ohkuma K., Ishikawa M., Hasegawa T. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005. V. 312. № 2. P. 472–481.
93. Mandery K., Fromm M.F. // *Br. J. Pharmacol.* 2012. V. 165. P. 345–362.
94. Kopetz S. // *J. Clin. Oncol.* 2008. V. 26 (Suppl.). P. a3577.
95. Mahany J.J. // *J. Clin. Oncol.* 2008. V. 26 (Suppl.). P. a3579.
96. Kotova E., Tulin A.V. // *Meth. Mol. Biol.* 2011. V. 780. P. 491–516.
97. Maluchenko N.V., Kotova E., Chupyrkina A.A., Nikitin D.V., Kirpichnikov M.P., Studitsky V.M. // *Mol. Biol. (Mosc.).* 2015. V. 49. № 1. P. 1–15.
98. Kotova E., Tulin A.V. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. № 14. P. 6406–6411.
99. Dantzer F. // *FEBS J.* 2013. V. 280. № 15. P. 3508–3518.
100. O'Donnell A., Yang S.H., Sharrocks A.D. // *EMBO Rep.* 2013. V. 12. P. 1084–1091.
101. Thomas C. // *Mol. Aspects Med.* 2013. V. 34. P. 1124–1137.
102. Mouchiroud L., Auwerx J. // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2013. V. 48. № 4. P. 397–408.
103. Bürkle A. // *Mol. Aspects Med.* 2013. V. 34. P. 1046–1065.
104. Ma Y., He X., Nie H., Hong Y., Sheng C., Wang Q., Xia W., Ying W. // *Curr. Drug Targets.* 2012. V. 13. № 2. P. 222–229.
105. Ying W. // *Scientifica (Cairo).* 2013. V. 2013. Article ID 691251.
106. Baxter P., Xu Y., Swanson R.A. // *Transl. Stroke Res.* 2014. V. 5. № 1. P. 136–144.
107. Rosado M.M., Novelli F., Pioli C. // *Immunology.* 2013. V. 139. № 4. P. 428–437.
108. Nishikimi M., Kameshita I., Taniguchi T., Shizuta Y. // *J. Biol. Chem.* 1982. V. 257. P. 6102–6105.
109. Kameshita I., Taniguchi T., Shizuta Y. // *J. Biol. Chem.* 1984. V. 259. P. 4770–4776.