

Низкомолекулярные ингибиторы различных компонентов сигнального каскада фактора транскрипции NF-κB

Н.Г.Долинная, Е.А.Кубарева, Е.В.Казанова, Н.А.Зигангирова, Б.С.Народицкий, А.Л.Гинцбург, Т.С.Орецкая

Химический факультет и Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова 119991 Москва, Ленинские горы, факс (495) 939–3181

Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи Российской академии медицинских наук 123098 Москва, ул. Гамалеи, 18, факс (499) 193–6183

Ядерный фактор κB является индуцибельным фактором транскрипции, активирующим экспрессию генов, продукты которых играют ключевую роль в развитии сердечно-сосудистых патологий, канцерогенеза, воспалительных и вирусных заболеваний. В обзоре охарактеризованы процессы, приводящие к активации NF-κB, и определены компоненты сигнального каскада, которые могут выступать в качестве мишеней для ингибирования активности NF-κB. Проведена систематизация низкомолекулярных ингибиторов фактора NF-κB, рассмотрены их свойства и молекулярный механизм биологического действия.

Библиография — 120 ссылок.

Оглавление

I. Введение	1036
II. Сигнальные пути активации фактора NF-κB	1037
III. Ядерный фактор κB как редокс-чувствительный фактор транскрипции	1038
IV. Роль фактора NF-κB в развитии воспалительных процессов и канцерогенеза	1040
V. Ингибиторы активности NF-κB	1041
VI. Заключение	1049

I. Введение

Ядерный фактор κB — один из основных переключателей в каскаде сигнальных событий, связанных с развитием воспалительных и сердечно-сосудистых заболеваний, канцерогенеза и стрессового ответа. Он является основным индуктором воспалительной реакции, а также негативным регулято-

ром клеточной гибели. Широкий спектр биологического действия NF-κB обусловлен его способностью регулировать транскрипцию различных генов, продукты которых определяют клеточный ответ на условия среды.

Фактор транскрипции NF-κB был впервые описан в 1986 г. как гетеродимерный белок В-лимфоцитов, который связывается с энхансерным районом генов легких κ-цепей

Н.Г.Долинная. Доктор химических наук, ведущий научный сотрудник химического факультета МГУ.

Телефон: (495)939–3153, e-mail: dolinnaya@hotmail.com

Е.А.Кубарева. Доктор химических наук, ведущий научный сотрудник НИИ ФХБ. Телефон: (495)939–3148, e-mail: kubareva@belozersky.msu.ru

Е.В.Казанова. Аспирантка химического факультета МГУ. Телефон (495)939–3148, e-mail: evkazanova@mail.ru

Т.С.Орецкая. Доктор химических наук, профессор того же факультета. Телефон: (495)939–5411, e-mail: oretskaya@belozersky.msu.ru

Область научных интересов авторов: структура нуклеиновых кислот, белково-нуклеиновые взаимодействия, ферменты

нуклеинового обмена, олигонуклеотидный синтез, модифицированные олигонуклеотиды.

Н.А.Зигангирова. Доктор биологических наук, заведующая лабораторией НИИ эпидемиологии и микробиологии РАМН.

Телефон: (499)193–6136, e-mail: zigangirova@mail.ru

Б.С.Народицкий. Доктор биологических наук, профессор, заместитель директора по науке того же института.

Телефон: (499)190–7469, e-mail: bsnar1941@yahoo.com

А.Л.Гинцбург. Академик РАМН, профессор, директор того же института. Телефон: (499)193–3001, e-mail: gintsburg@riem.ru

Область научных интересов авторов: молекулярная биология, микробиология, биоинженерия.

Дата поступления 4 июня 2008 г.

иммуноглобулинов.¹ В ходе дальнейших исследований было показано, что этот белок является прототипом целого семейства факторов транскрипции, которые имеют в своей структуре участок высокой гомологии с продуктом онкогена Rel.² В клетках млекопитающих семейство транскрипционных факторов NF- κ B/Rel представлено белками p65 (RelA), p50, c-Rel, RelB, p52, а также белками-предшественниками — p105 и p100. Гомологичные участки всех этих белков представляют собой N-концевую последовательность длиной 300 аминокислотных остатков, отвечающую за специфическое узнавание ДНК, димеризацию и ядерную локализацию.³ Белки семейства NF- κ B/Rel формируют гомо- и гетеродимеры, обладающие различной способностью инициировать экспрессию генов, причем эта функция зависит от природы гена-мишени.⁴ Наиболее распространенной формой *in vivo* является гетеродимер, состоящий из субъединиц p50 и p65.

NF- κ B/Rel-Зависимый сигнальный путь является одной из важнейших и наиболее изученных регуляторных систем в эукариотических клетках. Нормальной функцией NF- κ B является регуляция клеточных процессов, таких как иммунный ответ, клеточная адгезия, апоптоз и пролиферация. О центральной роли NF- κ B как иммунорегулятора свидетельствует его консервативность в процессе эволюции. В клеточном ядре транскрипционный фактор NF- κ B связывается через трансактивационные домены с κ B-участком ДНК, который содержит 10 пар оснований 5'-GGGRNNYYCC-3' (где R = A или G, Y = T или C, N = A, G, T или C).⁵⁻⁷ Следует отметить, что нуклеотидная последовательность некоторых функционально активных κ B-участков ДНК может отличаться от указанной. Согласно данным PCA (разрешение 2.5 Å) комплекса гомодимера p50 и олигонуклеотидного дуплекса, содержащего κ B-участок 5'-GGGAATTCCC-3', пептидные петли белка образуют обширную поверхность контактов с гетероциклическими основаниями в большой бороздке ДНК и сахарофосфатным остовом (рис. 1).^{5,6} Прецизионные белково-нуклеиновые контакты в системе NF- κ B – ДНК в растворе были охарактеризованы с помощью химической модификации биополимеров, использования мутантных форм белка и ковалентного

белково-нуклеинового связывания с последующим выделением пептидного фрагмента, участвующего в комплексобразовании.^{8,9}

Установлено, что κ B-участки локализованы в промоторах многих генов, кодирующих провоспалительные белки и белки иммунного и стрессового ответов, такие как цитокины (включая интерлейкины IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 и др.), интерферон γ , фактор некроза опухолей (Tumor Necrosis Factor, TNF), молекулы клеточной адгезии, молекулы I класса гистосовместимости, ферменты, факторы роста, факторы транскрипции, регуляторы апоптоза,^{10,11} в том числе ингибиторы апоптозных белков (Inhibitors of Apoptosis Proteins, IAP). Антиапоптозные белки активно воздействуют на сигнальные пути, регулирующие программируемую клеточную смерть и врожденный иммунитет, что, в свою очередь, ведет к снижению активности основного регулятора апоптоза — белка p53.¹² Главными активаторами NF- κ B являются внешние стимулы: гормоны, цитокины, факторы роста и физические воздействия. Активированный NF- κ B, связываясь с промоторами своих генов-мишеней, регулирует биосинтез десятков белков и факторов, ответственных за физиологические и патофизиологические клеточные процессы.¹³ Основное его предназначение состоит в переключении клеток с одной программы развития на другую в целях сохранения функции органа и всего организма.

Ядерный фактор κ B и компоненты его сигнального каскада рассматриваются в настоящее время как перспективные терапевтические мишени, ингибирование активности которых способствует предотвращению сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, расстройств иммунной системы и различных воспалительных патологий. В настоящем обзоре мы сконцентрировали внимание на рассмотрении биологического действия низкомолекулярных ингибиторов активации NF- κ B, как выделенных из природных источников, так и полученных синтетическим путем.

II. Сигнальные пути активации фактора NF- κ B

Известно, что только В-клетки и клетки плазмы крови млекопитающих используют NF- κ B для своего развития.¹⁴ В других клетках белок NF- κ B находится в цитоплазме в неактивном состоянии в виде комплекса с ингибиторными белками I κ B. Семейство ингибиторных белков I κ B включает белки I κ B- α , I κ B- β , I κ B- γ , I κ B- δ , I κ B- ϵ и Bcl-3. В нестимулированных клетках белки I κ B специфически связываются с обеими субъединицами NF- κ B, что препятствует их транспорту в ядро.^{15,16} Предполагается, что белок I κ B- α не только маскирует участок NF- κ B, ответственный за транслокацию последнего в ядро, но и содержит специфический участок ядерного экспорта, благодаря которому вновь синтезированные молекулы I κ B- α , проникая в ядро, могут «извлекать» уже находящийся там фактор NF- κ B и возвращать его в цитоплазму. Белки I κ B- β и I κ B- ϵ не обладают такой способностью к ядерному экспорту. Роль каждого из ингибиторных белков в регуляции активности NF- κ B была изучена на эмбриональных фибробластах мышей, нокаутированных по различным типам I κ B.¹⁷

Диссоциация комплекса ингибиторного белка I κ B с фактором NF- κ B происходит в результате фосфорилирования сериновых остатков (Ser32 и Ser36) белка I κ B протеинкиназами.¹⁸⁻²⁰ Высвобожденный NF- κ B поступает в ядро, где участвует в процессах инициации транскрипции генов, кодирующих сигнальные и защитные белки, провоспалительные цитокины и др., а ингибиторный белок I κ B связывается с

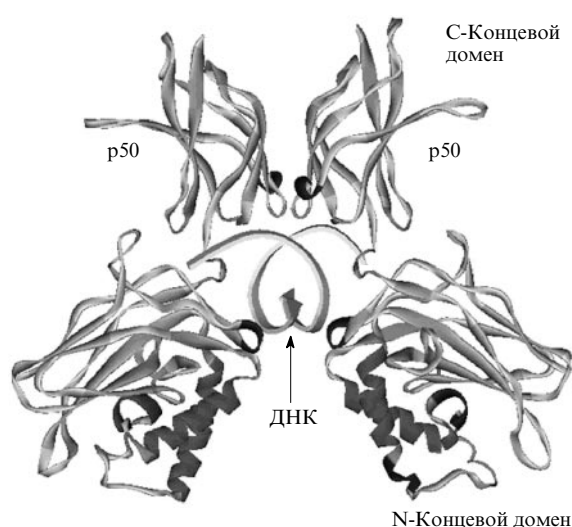


Рис. 1. Структура комплекса гомодимера субъединицы p50 ядерного фактора κ B человека с κ B-содержащим олигонуклеотидным дуплексом (данные PCA).⁵

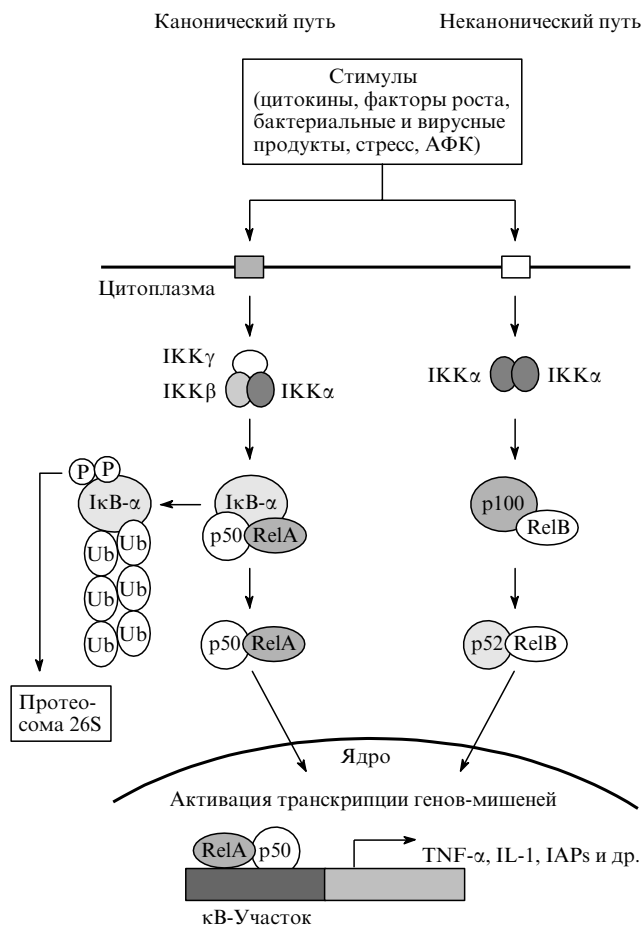


Рис. 2. Канонический и неканонический пути активации NF-κB.

белком убиквитином (Ub), что служит сигналом для его деградации 26S-протеасомами. За фосфорилирование IκB, необходимое для активации NF-κB, отвечает высокомолекулярный комплекс ферментов — киназ (IKK), — который состоит из каталитических субъединиц IKKα и IKKβ и регуляторной субъединицы IKKγ (или NEMO, NF-κB Essential Modulator). Нокаут по различным типам субъединиц киназного комплекса позволил выявить их значение для активации NF-κB. Было показано, что выведение из строя IKKβ приводит к летальному исходу, а IKKα — к существенным нарушениям биологических процессов. Пара IKKβ и IKKα обеспечивает канонический путь активации NF-κB через стадии фосфорилирования и деградации IκB,^{21–23} в то время как IKKα ответственна за альтернативный путь, компонентами которого являются другие субъединицы фактора транскрипции NF-κB; в частности, ядерной транслокации подвергается димер p52/RelB.^{24, 25} Неканонический путь активации NF-κB существен для развития лимфоидных органов и адаптивного иммунного ответа, но не для других NF-κB-зависимых функций, таких как ингибирование апоптоза и врожденный иммунитет. Общая схема активации сигнального каскада NF-κB представлена на рис. 2.

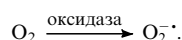
III. Ядерный фактор κB как редокс-чувствительный фактор транскрипции

Редокс-чувствительные факторы транскрипции, к которым принадлежат NF-κB, AP-1 и др., отвечают за изменение

окислительно-восстановительного баланса клетки. Его индикатором служит соотношение восстановленных и окисленных SH-групп в белках или, в более общем случае, соотношение про- и антиоксидантов.²⁶ Активация редокс-чувствительных элементов клетки внешними стимулами и агентами, вызывающими развитие окислительного стресса и стимулирующими продукцию активных форм кислорода (АФК), приводит к изменению экспрессии нескольких сотен генов и, соответственно, к активации многих ферментативных процессов. Поэтому неудивительно, что эти регуляторные элементы служат ключевыми звеньями клеточной пролиферации и дифференцировки, индукции апоптоза и развития множественной лекарственной устойчивости.

Активные формы кислорода эндогенно генерируются аэробными клетками в качестве промежуточных продуктов различных метаболических превращений. Включение кислорода в метаболические пути живых организмов связано с его активацией и образованием ряда более реакционноспособных соединений. В клетке под действием внутренних и внешних факторов, таких как УФ-облучение, электромагнитные поля, рентгеновское облучение, ультразвуковое воздействие, радиация, лекарственные препараты, курение, образуются кислород в возбужденном синглетном состоянии (¹O₂), супероксидные радикалы (O₂^{•−}), гидроксильные радикалы (HO[•]), пероксидные радикалы (HO₂[•]), пероксидные ионы (HO₂[−]), пероксид водорода (H₂O₂), оксид азота(II) (NO), органические пероксиды и радикалы.²⁷

Одним из путей образования супероксидных радикалов является восстановление кислорода в реакции с NADPH, катализируемое оксидазами плазматических мембран:

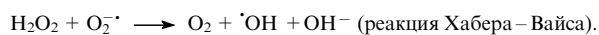
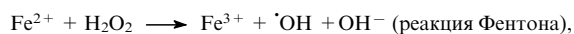
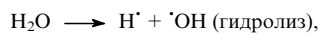


Кроме того, супероксидные радикалы возникают в реакциях с участием ксантиноксидазы, митохондриальных монооксигеназ, липоксигеназы, циклогексеназы, а также в результате самоокисления тиолов, флавинов, хинонов, катехоламинов — продуктов восстановительного цикла ксенобиотиков.²⁸

Инактивация супероксидных радикалов осуществляется с помощью супероксиддисмутазы:



Гидроксильные радикалы образуются в ходе следующих химических превращений:



Оксид азота генерируется в результате окисления L-аргинина под действием NO-синтазы (NOS). Имея один неспаренный электрон, молекулы NO проявляют высокую реакционную способность и легко реагируют с кислородом, супероксидными радикалами или переходными металлами. Активные формы оксида азота — NO[•], NO⁺ и NO[−] — стабилизируются в биологических комплексах с тиолами (RS-...⁺NO), нитритами (O₂N-...⁺NO) и другими мишенями и интермедиатами.²⁹

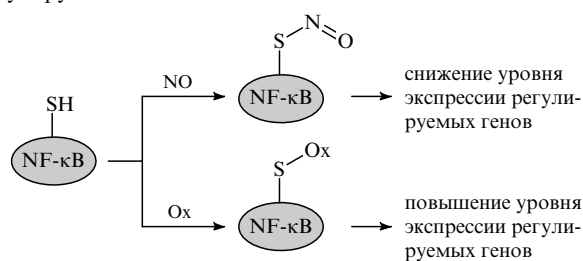
Известно, что АФК участвуют в поддержании функционирования организма. Они вовлечены в процессы клеточной пролиферации, дифференцировки, передачи внешних сигналов, ионного транспорта, иммунного ответа. Активные формы кислорода играют основную роль в защите орга-

низма от микробных и вирусных инфекций, в борьбе с клетками опухолей и в поддержании внутриклеточной коммуникации.³⁰

Вместе с тем выраженный окислительный стресс ведет к гибели клеток или их злокачественной трансформации. Процесс старения клеток и всего организма также связан с активностью свободно-радикальных процессов с участием АФК, которые вызывают неспецифические изменения биополимеров. Для выживания в условиях повышенного содержания кислорода клетки млекопитающих выработали систему защиты, которая включает использование низкомолекулярных антиоксидантов (глутатиона, витаминов А, С, Е и др.), а также ферментов, инактивирующих АФК, таких как супероксиддисмутаза, селензависимая глутатионпероксидаза, каталаза, глутатионредуктаза. В условиях окислительного стресса усиливается экспрессия генов, кодирующих как ферменты антиокислительной защиты, так и ферменты, участвующие в метаболизме лекарственных препаратов.^{31, 32} Также повышается уровень белков, вовлеченных в систему иммунной и противовоспалительной защиты.

В процессе эволюции организмы научились использовать уникальные свойства АФК для регуляции активности многих ферментов и факторов транскрипции.

Пероксид водорода, генерируемый во время дыхательного процесса или добавленный экзогенно, может самостоятельно активировать NF-κB в макрофагах. Этот процесс является специфичным, так как пероксид водорода в используемых концентрациях не оказывает влияния на белки.³³ Было установлено также, что семейство Rel-белков содержит консервативный цистеиновый остаток (Cys62) в N-концевом домене, окисление которого пероксидом водорода повышает, а нитрозилирование снижает связывание NF-κB с участком узнавания в ДНК и, соответственно, экспрессию регулируемых им генов.³⁴

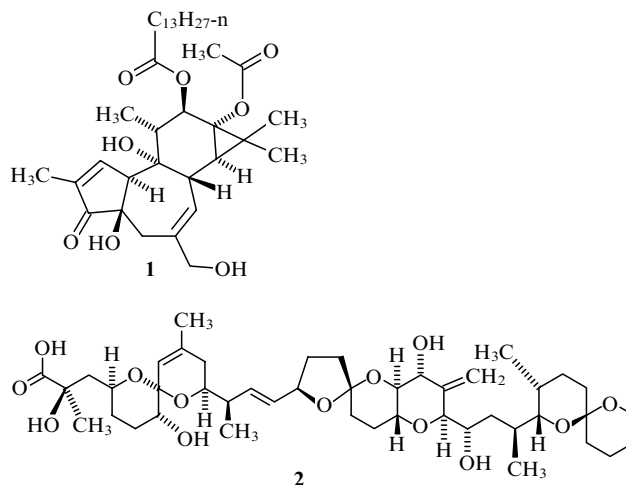


Ox — окислитель, S—Ox — окисленная форма SH-группы цистеина.

Предполагают, что нитрозилирование остатка Cys62 в белке p50 и других белках семейства Rel является одним из механизмов физиологической регуляции NF-κB. Возможно также, что под действием NO-радикалов происходит падение активности IκB-киназ, что снижает эффективность фосфорилирования IκB.²⁶

Существует множество различных активаторов NF-κB, которые используют пероксид водорода в качестве вторичного мессенжера. К ним относятся меристоилфорболовый эфир уксусной кислоты (далее — форболовый эфир (1)), липополисахариды, оадаиковая кислота (2), липопро-теиды † низкой плотности, фенобарбитал, *трет*-бутилгидрохинон (2-*трет*-бутил-1,4-дигидроксibenзол, ТВНҚ) и др.

† Липопро-теиды — сферические частицы с гидрофобным ядром, состоящим из эфиров холестерина и триацилглицеринов; на поверхности липопро-теидов находятся фосфолипиды, свободный холестерин и апобелки.

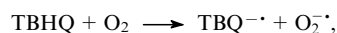


Форболовый эфир и липополисахариды воздействуют на фактор транскрипции путем активации протеинкиназы С, катализирующей фосфорилирование IκB, а оадаиковая кислота, которая относится к классу жирных кислот и является токсином, активирует NF-κB косвенно, через производство активных форм кислорода.

Липопро-теиды низкой плотности в окисленной форме способны активировать фактор транскрипции NF-κB за счет образования свободных радикалов.³⁵ Окислительная модификация липопро-теидов включает разрушение полиненасыщенных жирных кислот и образование продуктов окисления липидов, таких как альдегиды. В основе активации NF-κB фенобарбиталом также лежит окислительный стресс.³⁶

Активация фактора NF-κB под действием различных цитокинов, липополисахаридов, пероксида водорода и др. ингибируется антиоксидантами: *N*-ацетилцистеином, глутатионом и соединениями, способными образовывать координационные связи с ионами металлов. Рост содержания глутатиона в эндотелиоцитах снижает эффективность фосфорилирования IκB и подавляет активацию NF-κB под действием фактора некроза опухолей TNF-α.³⁷ Такой эффект глутатиона и *N*-ацетилцистеина может быть связан с ингибированием киназ IKKα и IKKβ.³⁸

В некоторых случаях соединение, являющееся антиоксидантом, при изменении концентрации или условий окружающей среды может выступать как прооксидант. Так, *трет*-бутилгидрохинон, способный к образованию супероксидных радикалов в процессе превращения в *трет*-бутилхинон (ТВҚ),



может активировать фактор транскрипции NF-κB.³² Его прооксидантная активность подтверждается ингибированием индукции NF-κB в присутствии таких антиоксидантов, как ацетилцистеин и глутатион. Предшественник ТВНҚ — бутилат гидроксианизола — выступает в качестве прооксиданта лишь при низких концентрациях (порядка 30 мкмоль·л⁻¹). В концентрациях 200–400 мкмоль·л⁻¹ начинает проявляться антиоксидантная активность, приводящая к ингибированию активации NF-κB в Т-лимфоцитах и моноцитах.

Цитокины, вызывающие пролонгированную активацию NF-κB, вырабатываются клетками иммунной системы и влияют на рост и жизнедеятельность других клеток. Такие

цитокины, как интерлейкин и TNF- α , связываясь с клеточными рецепторами, вызывают каскад реакций, приводящих к генерированию NO. Цитокин TNF- α , вырабатываемый активированными макрофагами, играет важную роль в регуляции иммунной и противовоспалительной защиты организма и стимулирует размножение тимоцитов. Передача сигнала TNF- α осуществляется посредством внешних рецепторов клетки TNFR1 и TNFR2.^{39, 40} Их внутриклеточные домены имеют различную аминокислотную последовательность, что позволяет предположить разные механизмы действия. Рецептор TNFR1 известен как основной сигнальный трансдуктор большинства функций TNF- α , включая цитотоксичность. Оба рецептора способны независимо активировать фактор транскрипции NF- κ B.^{41, 42} Что касается интерлейкинов, то дополнительная стимуляция интерлейкина IL-1 β циклогексимидом (ингибитором белкового синтеза) и актиномицином D (ингибитором транскрипции) приводит к супериндукции NF- κ B, что, вероятно, связано с уменьшением синтеза *de novo* ингибирующей субъединицы I κ B- α .²⁰

Важную роль в активации NF- κ B играет кислород в возбужденном синглетном состоянии. Он может генерироваться в биологических системах за счет фотовозбуждения под действием эндогенных молекул фотосенсибилизаторов, таких как флавины или порфирины, а также в процессе УФ-облучения. Синглетный молекулярный кислород вырабатывается также фагоцитами. Эти клетки при воспалении производят H₂O₂, HOCl и NO $\cdot$, которые совместно способны генерировать синглетный молекулярный кислород. Хотя ¹O₂ очень реакционноспособен, его вклад в цитотоксический эффект до конца не ясен. В качестве мишени для окисления могут выступать остатки гуанина в нуклеиновых кислотах (при этом образуется 8-оксогуанин), ненасыщенные углеводородные цепочки липидов и белки, в которых в результате окисления аминокислот образуются поперечные сшивки.

Для изучения механизма активации фактора транскрипции NF- κ B под действием ¹O₂ использовали различные фотосенсибилизирующие вещества, в том числе метиленовый синий и профлавин.⁴³ Оказалось, что в присутствии профлавина активация NF- κ B в клетках лимфоцитов и моноцитов при облучении УФ-светом происходила гораздо медленнее, чем под действием TNF- α , причем наблюдаемый эффект не зависел от присутствия антиоксиданта — N-ацетилцистеина. Вероятно, этот феномен связан с тем, что молекулы N-ацетилцистеина, которые служат хорошими ловушками для АФК в клеточных компартментах, не могут препятствовать накоплению кислородных радикалов в клеточном ядре. Полагают, что окислительная деструкция ДНК под действием активных форм кислорода служит сигналом еще одного механизма активации фактора NF- κ B.

IV. Роль фактора NF- κ B в развитии воспалительных процессов и канцерогенеза

1. Воспалительные болезни

Фактор транскрипции NF- κ B играет ключевую роль в развитии воспалительного процесса. Полагают, что активированный NF- κ B участвует в прогрессировании острых и хронических воспалительных заболеваний, таких как воспаление кишечника, болезнь Крона (Crohn's disease), колит, ревматоидные артриты, астма. Многие провоспалительные белки (например, интерлейкин IL-1 и TNF- α) индуцируют ядерную транслокацию NF- κ B. Последний, в свою очередь,

активирует экспрессию генов, продукты которых участвуют в воспалительном ответе, ангиогенезе и клеточной адгезии. К ним относятся хемокины, цитокины (интерлейкины, факторы некроза опухолей TNF- α и TNF- β , интерферон γ), регуляторы апоптоза (белки семейства Bcl-2 и p53, 12-липоксигеназа, циклооксигеназа (COX)), белки острой фазы (ангиотензиноген, факторы комплемента B и C4, активатор плазминогена урокиназного типа), молекулы адгезии (рецептор адгезии тромбоцитов, молекула адгезии клеток сосудов, эндотелиальная молекула адгезии лейкоцитов).²⁶

Провоспалительные медиаторы — оксид азота, простагландины, IL-1 и TNF- α , — в синтезе которых задействованы NF- κ B-зависимые ферменты, включены в регуляцию кровяного давления, температуры тела и др. Среди генов, имеющих исключительную важность при развитии воспалительных процессов, следует отметить ген индуцибельной NO-синтазы (iNOS), которая генерирует оксид азота (в том числе и в клетках человека).⁴⁴ Было показано, что промотор мышиной iNOS содержит два участка связывания с NF- κ B, активация которого критична для генной экспрессии; мутации в этих κ B-участках приводят к ингибированию синтеза мРНК NO-синтазы.⁴⁵ В клетках млекопитающих оксид азота генерируется тремя изоформами NO-синтазы: нейронной NO-синтазой (nNOS), эндотелиальной NOS (eNOS) и iNOS. Изоформы nNOS и eNOS конститутивно активны в клетке (например, eNOS участвует в поддержании сосудистого гомеостаза), а iNOS не функционирует в нормальных поющих клетках. Эта изоформа фермента экспрессируется только в ответ на действие таких стимулов, как провоспалительные цитокины, интерферон γ и липополисахариды. Именно с участием iNOS происходит развитие острых и хронических заболеваний, а также злокачественных опухолей.²⁹

Мишенью NF- κ B является также ген циклооксигеназы COX-2 — другого важного регулятора воспалительного процесса и канцерогенеза. В начале 1990-х годов были идентифицированы две разные COX. Изоформа COX-1 конститутивно экспрессируется почти во всех тканях. С помощью этого фермента осуществляется синтез простагландинов PGE₂, которые выполняют функции цитопротекторов. В противоположность COX-1, изоформа COX-2 — индуцибельная форма простагландин-Н-синтазы — активируется в клетках иммунной системы, таких как макрофаги, в ответ на инфекцию, ранение или другие стрессы. Фермент COX-2 направляет простагландиновый синтез при воспалениях⁴⁶ и селективно суперэкспрессируется в опухолевых тканях, играя важную роль при канцерогенезе.

Активация NF- κ B при хронических воспалениях может привести к инициации опухоли, так как продукты антиапоптотических генов, активированные этим фактором, способствуют выживанию измененных клеток, которые иначе подверглись бы апоптозу. Так, инфицирование бактерией *Helicobacter pylori*, усиленное активацией NF- κ B, является фактором риска для развития рака желудка.⁴⁷ Надежно установлено, что NF- κ B играет важную роль в развитии некоторых вирусных болезней, в частности, он регулирует репликацию ВИЧ-1, а также принимает участие в развитии таких патологических состояний, как болезнь Альцгеймера.⁴⁸ Активация NF- κ B имеет место при сердечно-сосудистых патологиях,⁴⁹ а ингибирование этого фактора, как было показано, приводит к регрессии сердечной гипертрофии.⁵⁰

В общем, при любых болезнях, которые включают воспалительный компонент, понижение активности NF- κ B должно иметь положительный эффект.

2. Злокачественное перерождение клеток и апоптоз

Злокачественные опухоли возникают в результате многостадийного канцерогенного процесса, включающего стадии инициации опухоли, развития и прогрессии. Наиболее трудно предотвратить инициацию опухоли, поскольку она определяется случайными событиями захвата канцерогена, повреждения ДНК под действием неблагоприятных условий среды, хронических воспалений и гормонального дисбаланса. Ключевым регулятором в стимуляции инициированных клеток служит воспаление, видимо, за счет обеспечения клеток сигналами пролиферации и предотвращения апоптоза.⁵¹ Роль воспаления в индукции опухоли и последующей злокачественной прогрессии описана в обзоре⁵². В контексте данного обзора важным является то, что воспалительные реакции способствуют продуцированию АФК и реакционноспособных оксидов азота активированными нейтрофилами и макрофагами.⁵³ Ассоциированное с этим разрегулирование пути передачи сигналов с участием NF-κB вносит существенный вклад в развитие второй, более медленной, стадии неопластической трансформации клеток и в прогрессию опухоли.

При рассмотрении сложной взаимосвязи между активацией фактора NF-κB и злокачественной трансформацией клеток, а также сопряженной с этим процессом программируемой гибелью клеток следует иметь в виду, что белок NF-κB функционирует как часть сети скоординированно регулируемых ДНК-связывающих белков и транскрипционных факторов. Вместе они определяют характер генной экспрессии, требуемый для ответа на определенные клеточные стимулы. В научной литературе не содержится однозначного ответа на вопрос: является ли NF-κB промотором или супрессором злокачественных опухолей; проявляет он проапоптотическую или антиапоптотическую активность.⁵⁴

Роль транскрипционных факторов семейства NF-κB как промоторов роста опухолей твердо установлена.⁵⁵ Первые доказательства роли NF-κB в канцерогенезе вытекают из того факта, что белок c-Rel из клеток человека является аналогом v-Rel вирусного онкогена, вызывающего лейкомию и лимфому у цыплят, мышей и трансгенных животных.⁵⁶ Кроме того, много видов рака ассоциировано с генной амплификацией и хромосомными перестройками генов белков p65, c-Rel и др. В последние годы была выявлена прямая связь между NF-κB и канцерогенезом. Активный NF-κB найден в опухолевых тканях пациентов с раком молочной железы и простаты, а также с гематологическими злокачественными заболеваниями, включая множественные миеломы, острые и хронические лейкозы.^{57, 58} Супрессия NF-κB в этих опухолях ингибировала клеточную пролиферацию, вызвала остановку клеточного цикла и приводила к апоптозу.⁵⁹ Было отмечено также, что некоторые вирусные онкобелки активируют NF-κB в процессе злокачественной трансформации клеток.

Вместе с тем имеются данные, свидетельствующие о том, что при определенных условиях NF-κB может ингибировать рост опухоли. Более того, активность NF-κB модулируется такими известными супрессорами опухоли, как p53 и ARF, в то время как сами субъединицы NF-κB скорее ингибируют экспрессию канцерогенов.⁵⁴ Это предполагает двойственную функцию фактора NF-κB в ходе прогрессии злокачественной опухоли. На ранних стадиях NF-κB ингибирует рост новообразования, но когда в процессе накопления мутаций происходит снижение уровня биосинтеза опухолевых супрессоров, на первый план выходят онкогенные функции NF-κB. Сле-

дует отметить, что двухступенчатый механизм, определяющий влияние NF-κB на канцерогенез, является специфичным и к виду опухоли, и к типу клеток.⁵⁴

Отмеченный дуализм непосредственно связан с двойственной ролью NF-κB в регуляции апоптотической программы. Апоптоз — программируемая клеточная смерть — характеризуется морфологическими изменениями клеток и включает активацию семейства цистеиновых протеиназ — каспаз. Эти ферменты существуют в нестимулированных клетках в виде неактивных зимогенов и активируются путем протеолитического расщепления. Известны два пути активации каспаз: внешний путь с участием рецептора смерти и внутренний, или митохондриальный.⁶⁰ Транскрипционные факторы семейства NF-κB играют важную роль в регуляции апоптоза в различных клеточных линиях. В некоторых типах клеток при определенных условиях NF-κB может проявлять активность, стимулирующую клеточный апоптоз. Так, ингибирование NF-κB частично защищает человеческие эмбриональные клетки печени от гибели.⁶¹ Однако главной функцией NF-κB является стимуляция экспрессии антиапоптотических генов. Продукты экспрессии некоторых из них напрямую связаны с блокированием апоптотического каскада (например, семейства белков IAP и Bcl-2). Фактор NF-κB ингибирует апоптоз, индуцированный TNF-α, путем активации синтеза белков IAP и фактора, ассоциированного с рецептором TNF. Таким образом он ингибирует активность каспазы 8.⁶² Белки семейства Bcl-2 ингибируют секрецию цитохрома C из митохондрий и, следовательно, препятствуют образованию апоптосомы и дальнейшему развитию апоптотического каскада. Активация NF-κB приводит к репрессии некоторых проапоптотических генов и мешает проапоптотической функции белка p53, так как оба транскрипционных фактора — NF-κB и p53 — могут ингибировать активность друг друга.⁶³

Таким образом, активируя транскрипцию генов антиапоптотических и воспалительных регуляторов клеточной пролиферации и ангиогенеза, NF-κB провоцирует развитие и прогрессию злокачественных опухолей.

V. Ингибиторы активности NF-κB

Поскольку NF-κB является ключевым фактором, ответственным за развитие воспалительных процессов, сердечно-сосудистых заболеваний, прогрессию опухолей и устойчивость к апоптозу, понятен интерес к поиску эффективных и специфичных ингибиторов его активности, обладающих иммуносупрессорными, противовоспалительными, антивирусными и противоопухолевыми свойствами. Ингибирование может быть направлено на различные стадии пути сигнальной трансдукции при активации NF-κB: блокирование функций ИКК, фосфорилирование и деградацию IκB, ядерную транслокацию NF-κB, ДНК-связывающую способность фактора NF-κB, транскрипционную активность. Классификация ингибиторов фактора NF-κB приведена в обзоре⁵⁸.

В настоящей статье основное внимание будет уделено низкомолекулярным ингибиторам активности NF-κB, обладающим, как правило, широким спектром биологического действия. К ним относятся химические вещества природного происхождения и их синтетические аналоги, способные препятствовать развитию болезни, останавливать ее или обращать вспять (так называемые хемотреператоры). Многие из них давно известны как противовоспалительные, обезболивающие и противоопухолевые средства. Как правило, они обладают антиоксидантной активностью и влияют не только

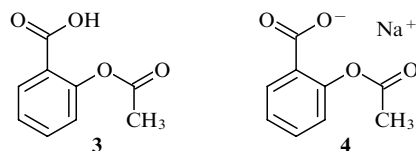
на сигнальный путь NF-κB, но и на другие хорошо известные факторы и медиаторы. Исследования последних лет позволили вплотную приблизиться к пониманию молекулярных основ их биологической активности и выявлению конкретных клеточных мишеней, на которые направлено их действие.

Согласно современным представлениям, существуют по крайней мере два уровня окислительно-восстановительной регуляции сигнальной цепи NF-κB: в ядре и цитоплазме.⁶⁴ Первый включает прямую редокс-модификацию специфических остатков цистеина в ДНК-связывающих доменах NF-κB, в частности окисление остатка Cys62 в p50-субъединице, что ингибирует ДНК-связывающую активность фактора. Реакции окисления NF-κB в цитозоле (например, после добавления H₂O₂ или генерирования АФК), напротив, ведут к активации NF-κB через активацию ИКК. Обработка клеток антиоксидантами ингибирует транскрипционную активность фактора NF-κB. Однако следует отметить, что внутриклеточное генерирование АФК не всегда приводит к индукции NF-κB. Так, в эпителиальных клеточных линиях не наблюдалась корреляция между активацией NF-κB и увеличением производства АФК. Более того, антиоксиданты и молекулы, образующие с ионами металлов хелатные соединения, часто неактивны как ингибиторы фактора NF-κB в этих клетках. Вместе с тем существует тесная взаимосвязь между окислительным стрессом и активностью NF-κB в моноцитах и лимфоидных клетках.⁶⁴

1. Низкомолекулярные ингибиторы NF-κB, обладающие противовоспалительными и антиоксидантными свойствами

Как показали исследования последних лет, большинство противовоспалительных агентов, обладающих антиоксидантными свойствами, проявляют свою активность через ингибирование функций ИКК-киназ. Их действие, по крайней мере частично, сводится к выведению из организма активных форм кислорода, которые являются вторичными мессенджерами при активации NF-κB различными стимулами. К таким соединениям относятся *N*-ацетил-L-цистеин, аспирин, салицилат натрия, производные витамина E, 2-меркаптоэтанол, дитиокарбаматы, бутилат гидроксианизола, α-липоевая кислота, глутатион, пирролидиндитиокарбамат и хелаторы ионов железа и меди. Рассмотрим некоторые из них более подробно.

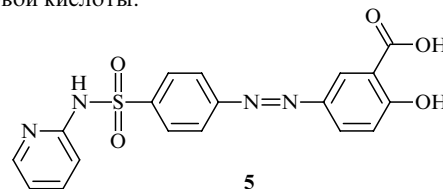
Аспирин (ацетилсалициловая кислота (3)) и салицилат натрия (4) — лекарственные препараты с широким спектром действия. Их обезболивающие и противовоспалительные свойства основаны на ингибировании транскрипции генов, контролируемых фактором NF-κB.



В частности, их действие направлено на регуляцию синтеза белков, включенных в патогенез воспалительного ответа (например, COX-2). В организме аспирин быстро деацетируется до салициловой кислоты, которая является эффективным ингибитором синтеза простагландинов, образующихся в местах воспаления. Кроме того, производные салициловой кислоты блокируют связывание NF-κB с длинным концевым повтором вируса иммунодефицита человека в

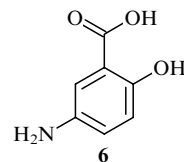
инфицированных клетках.⁶⁵ Предполагается, что механизм действия аспирина и салицилата натрия основан на блокировании фосфорилирующей функции комплекса ИКК за счет конкурентного ингибирования АТФ-связывающего участка ИККβ.⁶⁶

Наиболее эффективным средством для лечения воспалительных заболеваний кишечника и ревматоидных артритов является сульфасалазин (5) — производное 5-аминосалициловой кислоты.



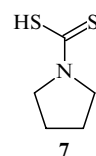
Показано, что сульфасалазин в микромолярных количествах ингибирует активность NF-κB в клетках, стимулированных TNF-α, липополисахаридами или форболовым эфиром, посредством ингибирования деградации ИκB-α. Предполагается, что сульфасалазин, как и аспирин, действует на киназный комплекс и подавляет его каталитическую функцию.⁶⁷

Известно, что многие стимулы, активирующие NF-κB за счет индуцирования деградации ИκB, вызывают также фосфорилирование субъединицы p65, что обеспечивает другой механизм активации фактора NF-κB. В частности, противовоспалительный препарат — аминсалицилат мезаламин (6) — в определенной дозе ингибирует транскрипционную активность NF-κB, стимулированную IL-1, путем блокирования фосфорилирования субъединицы p65, но не за счет деградации ИκB, ядерной транслокации фактора транскрипции и изменения его ДНК-связывающей способности.⁶⁸



Согласно полученным данным, управляя процессом фосфорилирования белка RelA (p65), можно регулировать транскрипционную активность NF-κB.

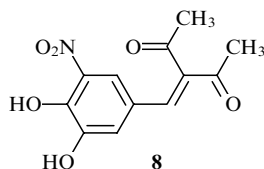
Пирролидиндитиокарбамат (7), образующий хелатные комплексы с ионами металлов, обладает как антиоксидантной, так и прооксидантной активностью. Детальный механизм его действия на NF-κB не ясен.



Предполагается, что ингибирование активности фактора NF-κB в клетках, стимулированных IL-1 или TNF-α, может быть связано с модификацией остатков цистеина в субъединицах p50 и/или p65, которые образуют специфические контакты с фосфатными группами κB-участка ДНК.^{69, 70} Согласно полученным *in vitro* экспериментальным данным, с NF-κB реагирует не сам пирролидиндитиокарбамат, а его метаболит или клеточный глутатион, соотношение между восстановленной и окисленной формами которого меняется в присутствии пирролидиндитиокарбамата, влияя тем

самым на окислительно-восстановительный потенциал клетки.

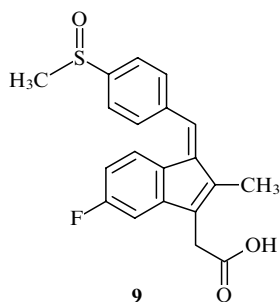
Обладающий антиоксидантными свойствами нитекапон — 3-(3,4-дигидрокси-5-нитрофенилметилиден)пентан-2,4-дион (**8**) — способствует удалению пероксидных, супероксидных и гидроксильных радикалов из раствора и клеточной мембраны, препятствует окислению липидов, а также подавляет активацию NF-κB, вызванную оксидантной кислотой.⁷¹



По-видимому, как и другие противовоспалительные антиоксиданты, нитекапон либо блокирует фосфорилирование ингибирующей фактор NF-κB субъединицы IκB-α, либо препятствует связыванию NF-κB с промоторными участками ДНК в ядре.

2. Сулиндак и его метаболиты

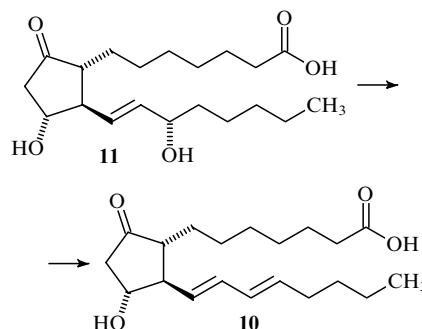
Сулиндак — {2-метил-1-[(4-метилсульфинил)бензилиден]-5-фторинден-3-ил}уксусная кислота (**9**) — относится к классу нестероидных противовоспалительных и болеутоляющих агентов, которые по структуре и фармакологическим свойствам близки к индометацину, но в отличие от него сулиндак и его метаболиты (сульфид и сульфен) ингибируют сигнальный каскад NF-κB.



Противовоспалительное действие сулиндака связано с его способностью понижать уровень синтеза простагландинов, ингибируя активность циклооксигеназы и других NF-κB-зависимых ферментов. Движущей силой процесса является блокирование каталитической активности ИККβ (но не ИККγ) и связанное с этим ингибирование ядерной транскрипции NF-κB. Помимо противовоспалительного действия сулиндак и его метаболиты оказывают антипролиферативное действие, индуцируют клеточный апоптоз и играют важную роль в предотвращении рака толстой кишки.⁷² Концентрации, при которых эти препараты ингибируют активацию NF-κB, не приводят к цитотоксичности. Поскольку сулиндак превращается в свои метаболиты под действием микрофлоры кишечника, то концентрация восстановленной формы (сульфида) в клетках кишечного эпителия по крайней мере в 20 раз выше, чем концентрация сулиндака. Именно этот метаболит является основным ингибитором образования простагландинов и обуславливает основное фармакологическое действие препарата.

3. Циклопентеновые простагландины

Простагландины — биорегуляторы липидной природы — представляют собой оксигенированные производные полиеновых жирных кислот, содержащие пяти- или шестичленные циклы. Простагландины обладают исключительно высокой и разнообразной физиологической активностью. Они синтезируются клеточными ферментами путем окисления арахидоновой кислоты в ответ на внешние стимулы. Реакционная способность и химическая лабильность простагландинов связана с наличием аллильной гидроксильной группы, которая относительно легко эмеризуется, окисляется или отщепляется с образованием диена (как, например, при образовании диена **10** из простагландина E1 (**11**)).

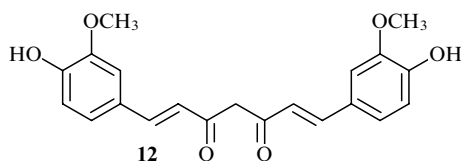


Известно, что сигнальный путь NF-κB включен в патогенез воспалительного ответа путем индукции генов, ответственных за синтез COX-2 и воспалительных простагландинов. Однако на последних стадиях воспаления COX-2 регулирует также синтез противовоспалительных циклопентеновых простагландинов. Противовоспалительная активность простагландина PGJ(2) и его метаболитов, в частности 15-дезоксиде-(12,14)-PGJ(2) (15d-PGJ(2)), связана с активацией рецептора PPAR-γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ).⁷³ Метаболит 15d-PGJ(2), являясь высокоаффинным рецептором PPAR-γ, ингибирует индукцию генов воспалительного ответа, включая гены iNOS и TNF-α. Имеется ряд доказательств того, что ингибирующие свойства 15d-PGJ(2) связаны также с химической модификацией остатков цистеина в киназе ИККβ и в ДНК-связывающем домене р50-субъединицы фактора NF-κB.⁷⁴ Причем для ингибирования ДНК-связывающей активности фактора NF-κB молекула простагландина должна содержать циклопентеновый фрагмент. С помощью точечной замены отдельных аминокислотных остатков в р50-субъединице фактора транскрипции NF-κB было показано, что ингибиторный эффект 15d-PGJ(2) обусловлен модификацией остатка Cys62 белка. Образование конъюгата между субъединицей р50 и циклопентеновым простагландином было подтверждено обращенно-фазовой ВЭЖХ и масс-спектрометрическим анализом. Показательно, что наличие в среде глутатиона или дитиотреитола предотвращало блокирование ДНК-связывающей способности фактора, ассоциированное с окислением остатков цистеина.⁷⁵ Простагландин 15d-PGJ(2) снижал ДНК-связывающую активность фактора NF-κB в ядерных экстрактах, а обработка клеточной линии HeLa биотинилированным 15d-PGJ(2) приводила к образованию аддукта субъединицы р50 с простагландином, что было доказано методом иммунопреципитации.⁷⁵

4. Флавоноиды и фенольные соединения

Флавоноиды — фенольные соединения природного происхождения, которые проявляют антиоксидантные, антипролиферативные, противовоспалительные и противоопухолевые свойства. В ряде исследований было показано, что одной из причин биологической активности флавоноидов является ингибирование активации NF-κB, главным образом, через ингибирование киназного комплекса IKK.

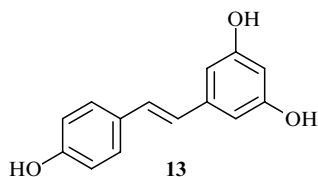
Куркумин — диферулоилметан, 1,7-бис(4-гидрокси-3-метоксифенил)гепта-1,6-диен-3,5-дион (**12**) — является активным компонентом куркумы, который широко используется как пряность в азиатской кухне и в традиционной индийской медицине Аюрведе.



Куркумин обладает широким спектром фармакологического действия. Он проявляет защитные свойства на всех стадиях канцерогенеза; при этом, в отличие от других хемопревенторов, куркумин нетоксичен.^{51,76} Куркумин модулирует функции и экспрессию большого набора не связанных друг с другом белков, включая транскрипционные факторы NF-κB, PPARγ, AP-1, STAT3, антиапоптотические белки, цитохром C, каспазу 9, Bcl-2, мембранные белки, такие как ионные насосы, рецепторы и каналы.⁷⁷ Мы рассмотрим NF-κB-зависимые молекулярные мишени.

Куркумин уменьшает пролиферацию раковых клеток толстой кишки, крови, печени и др. за счет негативной регуляции iNOS в активированных макрофагах, интерлейкинов, онкобелка β-катенина, COX-2, циклина D1, металлопротеиназ матрикса, глутатион-S-трансферазы.^{78–80} Будучи потенциальным поглотителем свободных радикалов, куркумин интенсифицирует синтез орнитиндекарбоксилазы, глутатиона, антиоксидантных белков и др., защищая таким образом почки от окислительных повреждений. Куркумин является одним из наиболее сильных ингибиторов фактора NF-κB.⁸¹ Механизм инактивации NF-κB куркумином включает блокирование сигнала, приводящего к активации комплекса IKK, что предотвращает фосфорилирование остатка Ser32 и деградацию ингибиторного белка IκB-α, а также ядерную транслокацию субъединицы RelA. Предклинические испытания куркумина на клеточных культурах и на животных подтвердили его высокий потенциал в качестве противоопухолевого препарата, а также в качестве ингибитора метастатической прогрессии.

Фитоалексин ресвератрол — 3,5,4'-тригидроксистильбен (**13**) — найден в разнообразных растительных образцах, включая арахис, тутовые ягоды, виноград и продукты его переработки (красное вино).



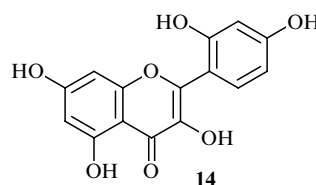
Это соединение, как и другие члены семейства стильбенов, образуется в ответ на патогенную атаку, УФ-облучение и

озонирование.⁸² Ресвератрол давно используется в китайской и японской народной медицине. Показано, что ресвератрол уменьшает риск атеросклероза, ингибирует химический канцерогенез, обладает противовоспалительным и противоаллергическим действием. Следует отметить его антиоксидантные и антикоагуляционные свойства. Поскольку транскрипционный фактор NF-κB включен в регуляцию провоспалительных белков и канцерогенез, то было проверено, может ли ресвератрол изменять активность этого фактора. Оказалось, что ресвератрол ингибирует как активность NF-κB, так и экспрессию NF-κB-зависимых генов посредством блокирования киназной функции комплекса IKK — ключевого регулятора активности NF-κB (см. рис. 2).⁸³

Эти данные могут объяснить некоторые аспекты так называемого «французского парадокса»,[‡] ассоциированного с ресвератролом, который содержится в красном вине. Известно, что в основе атеросклеротического патогенеза лежит накопление липопротеидов в артериальной стенке и, как следствие, возникновение местного воспаления. Привлеченные воспалительным процессом фагоцитирующие клетки генерируют АФК, такие как супероксид-анион, пероксид водорода и гидроксильные радикалы. Воспалительный процесс сопровождается высвобождением арахидоновой кислоты и ее метаболитов, простагландинов и т.д. В свою очередь, простагландиновый синтез регулируется экспрессией генов COX-1 и COX-2. Эти отдельные генные продукты имеют схожие циклооксигеназные и пероксидазные активности, но различаются типами регуляции. Ресвератрол, как было показано, вмешивается в сложный каскад химических превращений, приводя к уменьшению атерогенных изменений в плазме и в артериальной стенке и улучшая последствия ишемического повреждения.⁸⁴ Ресвератрол предохраняет липиды от окислительной деградаци и ингибирует индукцию iNOS, предотвращая цитотоксические эффекты оксидов азота.⁸⁵ Он способен поглощать пероксидные и гидроксильные радикалы в области ишемического поражения (показано на изолированном сердце крысы) и ограничивать размер зоны инфаркта.

Ресвератрол действует также на некоторые факторы, включенные в инициацию и прогрессию опухолей. Было показано, что он стимулирует апоптоз в фибробластах после индуцированной экспрессии онкогена H-Ras.⁸³ Отмечены также антиаллергические свойства ресвератрола и его способность регулировать функции мозга.⁸⁶

Флавоноид морин — 3,5,7,2',4'-пентагидроксифлавоон (**14**) — был выделен из ягод инжира и тутового дерева, скорлупы миндальных орехов и китайских трав.

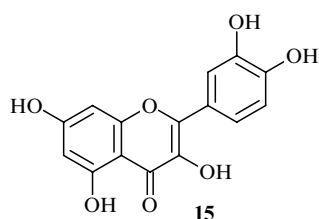


Учитывая тот факт, что морин проявляет противоопухолевые и противовоспалительные свойства путем модуляции активности фактора NF-κB, было исследовано влияние морина на сигнальный каскад NF-κB, активированный вос-

‡ «Французский парадокс» заключается в низком уровне сердечно-сосудистых заболеваний у французов, несмотря на повышенное употребление ими в пищу насыщенных жиров.

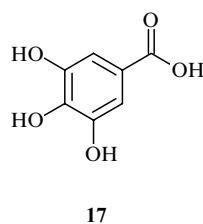
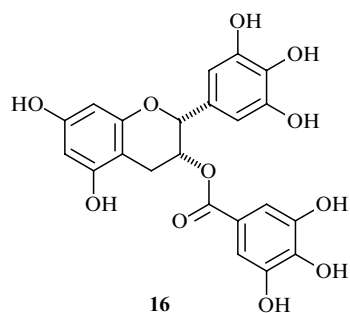
палительными агентами и канцерогенами: TNF и его рецепторами, форболовым эфиром, липополисахаридами, керамидами, интерлейкином-1, H_2O_2 . Было показано, что этот флавоноид действительно подавляет активацию NF- κ B, причем независимо от типа клеток.⁸⁷ Морин ингибировал фосфорилирование и деградацию I κ B- α и последующую ядерную транслокацию р65-субъединицы фактора NF- κ B. Отмечена также индуцированная морином негативная регуляция экспрессии генных продуктов, включенных в клеточное выживание (ингибиторов апоптоза IAP 1 и 2, Bcl-xL), пролиферацию (циклин D1 и COX-2) и инвазию (металлопротеиназа-9 матрикса). Эти эффекты коррелировали с вызываемым морином усилением апоптоза клеток злокачественных опухолей: клеточной карциномы, лейкоза, рака толстой кишки.

Растительный метаболит кверцетин (**15**), обладающий, как и другие флавоноиды, антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, понижает риск сердечно-сосудистых заболеваний.



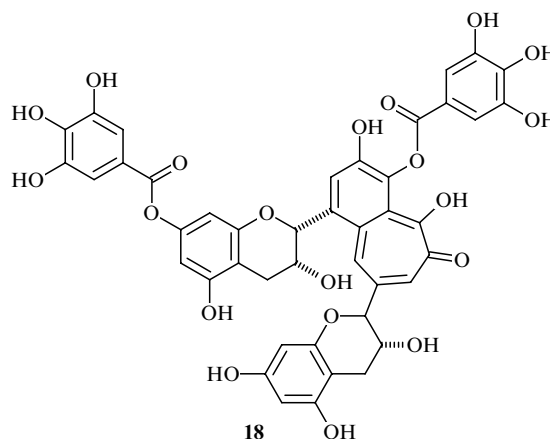
Действие кверцетина на генную экспрессию и секрецию провоспалительного цитокина TNF- α , который связан с производством других цитокинов, хемокинов и воспалительных медиаторов, было изучено на культуре клеток человека PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cells), стимулированных форболовым эфиром и ионами кальция. Кверцетин ингибировал экспрессию TNF с эффективностью, зависящей от дозы препарата, причем в основе молекулярного механизма его действия лежала модуляция активности NF- κ B и I κ B.⁸⁸

Ингибирование синтеза TNF- α , стимулированного эндотоксином, наблюдалось также под действием полифенолов зеленого чая.⁸⁹ Механизм действия этих соединений включал блокирование функций киназного комплекса IKK в сигнальной цепи активации NF- κ B (см. рис. 2). Активность IKK определяли по уровню фосфорилирования слитого белка I κ B- α и глутатион-S-трансферазы. Оказалось, что экстракт полифенолов зеленого чая уменьшал активность киназного комплекса IKK и фактора NF- κ B, причем наиболее эффективным ингибитором являлся (–)-эпигаллокатехин-3-галлат (**16**), содержащий остаток галловой кислоты (**17**), критичный для проявления биологического действия флавоноидов.



Дополнительные исследования показали, что полифенол **16** действует специфично на комплекс IKK, не влияя на функционирование других клеточных киназ.⁸⁹ Было показано, что (–)-эпигаллокатехин-3-галлат подавляет воспаление, клеточную пролиферацию и ангиогенез, вызванные сигаретным дымом,[§] и препятствует развитию рака легких, молочной железы и простаты.⁹¹ Обработка (–)-эпигаллокатехин-3-галлатом бронхиальных эпителиальных клеток человека, стимулированных конденсатом сигаретного дыма, приводила к существенной негативной регуляции NF- κ B-зависимых белков: циклина D1, MMP-9 (белка, включенного в деградацию коллагена IV типа), IL-8 и iNOS, и понижению экспрессии ряда сигнальных молекул, не включенных в цепь активации NF- κ B.⁹² Онкопротекторные свойства полифенола **16** связаны с подавлением фосфорилирования I κ B- α и ядерной транслокации р65-субъединицы фактора NF- κ B. При оптимальных дозах (–)-эпигаллокатехин-3-галлат создает различные окислительные условия в нормальных эпителиальных клетках и клетках злокачественной опухоли, что приводит к селективной гибели перерожденных клеток на фоне выживания клеток нормальной ткани.

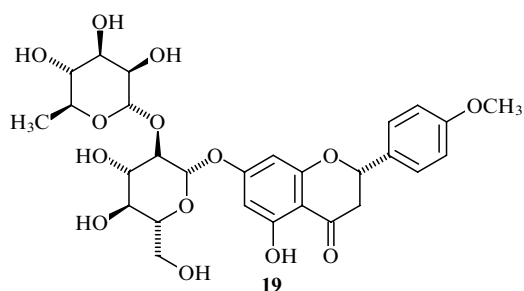
Противоопухолевые свойства широкого набора полифенолов, включая флавоноид **16**, были изучены на макрофагах мышей, активированных липополисахаридами.⁹³ Из всех изученных полифенолов наиболее сильным ингибитором активности IKK оказался TF-3 (теафлавин-3,3'-дигаллат (**18**)).



Полагают, что действие полифенола **18** может быть направлено как на сам киназный комплекс, так и на компоненты предыдущих стадий сигнального пути NF- κ B.

Флавоноид понцирин (**19**) был выделен из спиртового экстракта сушеных недозрелых фруктов *Poncirus trifoliata* в ходе программы скрининга, разработанной для идентификации природных соединений с противовоспалительными свойствами.

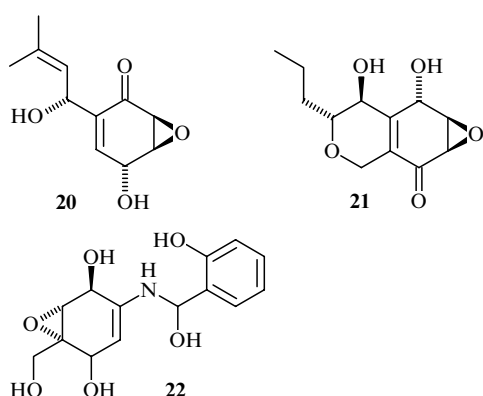
§ Сигаретный дым содержит более 40 веществ. Эти вещества были идентифицированы как мутагены и канцерогены, которые проявляют свою биологическую активность путем образования аддуктов с ДНК, приводящих к генетическим мутациям.⁹⁰



Сухие незрелые фрукты, содержащие кроме понцирина различные биологически активные флавоноиды, кумарины и алкалоиды, традиционно использовались для родовспоможения и лечения гастроэнтерологических и сердечно-сосудистых заболеваний в Китае. Антибактериальное, противотромбоцитное и антиаллергическое действие активного компонента понцирина связано с ингибированием синтеза простагландина PGE₂, интерлейкина IL-6, ферментов iNOS, COX-2 и фактора TNF- α в клетках макрофагов, активированных липополисахаридами.^{94, 95} С помощью молекулярно-биологических подходов было показано, что снижение выработки COX-2 и iNOS происходит на стадии транскрипции, о чем свидетельствует уменьшение количества их мРНК, зависящее от дозы препарата.⁹⁵ Что касается NF- κ B, то ингибиторный эффект понцирина связан с его инактивацией посредством блокирования фосфорилирования I κ B- α , ядерной транслокации фактора и ДНК-связывающей активности субъединицы p65.

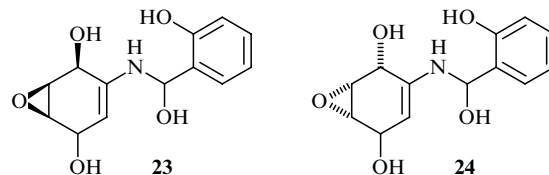
5. Биологически активные компоненты микроорганизмов и растений и их синтетические аналоги

Ряд соединений, выделенных из микроорганизмов и обладающих иммуносупрессорной, противовоспалительной, антивирусной и противоопухолевой активностью, описан в обзоре³⁹. Панэпоксидон (20), выделенный из грибов *Lentinus crinitus*, ингибировал фосфорилирование и деградацию I κ B в клетках COS-7, стимулированных TNF- α или форболовым эфиром.



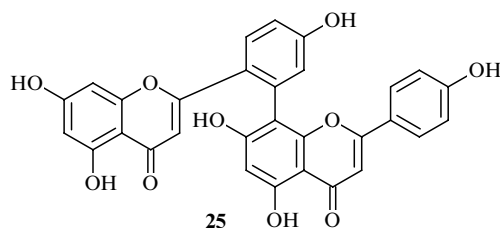
Активацию NF- κ B ингибировал выделенный из бактериальных источников циклоэпоксидон (21),^{10, 96} в то время как антибиотик эпосихиномицин С (22), также содержащий в своей структуре эпосициклогексенильный фрагмент, не обладал таким свойством. Следовательно, этот структурный элемент не является ответственным за инактивацию фактора NF- κ B.^{10, 39} В то же время специально сконструированный и синтезированный дегидроксиметилэпосихиномицин

(DHMEQ), близкий по молекулярной структуре к антибиотiku эпосихиномицину и существующий в виде энантиомеров (–)-DHMEQ (23) и (+)-DHMEQ (24), ингибировал как стимулированную различными способами активность NF- κ B, так и его конститутивную активность в трансформированных клетках (карцинома и лейкоз).^{10, 39}



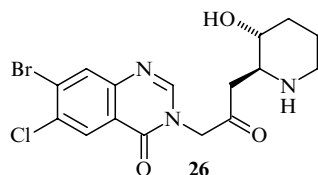
Дегидроксиметилэпосихиномицин ингибировал секрецию провоспалительных цитокинов из раковых клеток.⁹⁷ Действие энантиомеров DHMEQ изучали в лейкозных клетках человека *Jurkat*, стимулированных форболовым эфиром. Оказалось, что (–)-DHMEQ лишь немногим более активен, чем (+)-DHMEQ, поэтому в дальнейших экспериментах использовали рацемическую смесь соединений. Показано, что DHMEQ ингибирует активность NF- κ B на стадиях, следующих за фосфорилированием ингибитора I κ B киназным комплексом ИКК. В частности, эти соединения действуют на уровне ядерной транслокации фактора и ингибируют как канонический, так и неканонический пути активации NF- κ B, не проявляя заметной токсичности (см. рис. 2).³⁹ Кроме того, DHMEQ *in vitro* блокирует связывание фактора NF- κ B с ДНК, но в отличие от природного аналога — панэпоксидона (20) — не ингибирует стадию фосфорилирования и деградации I κ B.¹⁰ Таким образом, хотя и панэпоксидон, и DHMEQ имеют одинаковый эпосициклогексенильный фрагмент, механизм их ингибирования активности NF- κ B различен. Помимо противоопухолевого действия DHMEQ помогает при лечении артритов. Причем его эффективность прямо пропорциональна уровню ингибирования активности NF- κ B.

Бифлавоноид 2',8''-биапигенин (25), выделенный из растения *Selaginella tamariscina*, обладает противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами.



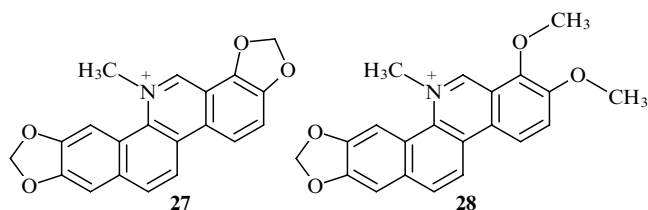
Он ингибирует активность NF- κ B посредством предотвращения ядерной транслокации субъединицы p65 фактора транскрипции.⁹⁸ Инактивируя NF- κ B, биапигенин блокирует транскрипцию генов iNOS и COX-2 в макрофагах. Эти ферменты, как известно, контролируют окислительно-восстановительный баланс клетки. Они ответственны за синтез NO и воспалительных простагландинов и включены в патогенез злокачественных опухолей.

Галофугинон — 7-бром-3-[3-(3-гидрокси-пиперидин-2-ил)-2-оксипропил]-6-хлор-(3*H*)-хиназолин-4-он (26) — является низкомолекулярным растительным алкалоидом, обладающим противоопухолевой и антиангиогенной активностью.

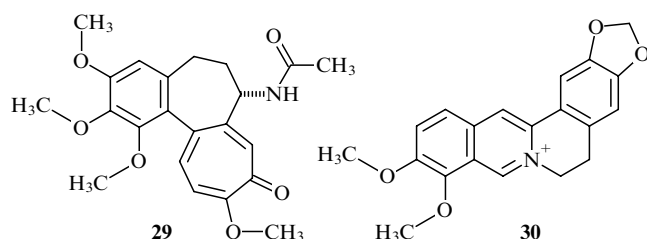


Он способен понижать уровень биосинтеза цитокинов и иммуномодуляторов, а также секрецию $\text{TNF-}\alpha$ и интерлейкинов в активированных периферических Т-клетках крови.⁹⁹ Галофугинон стимулирует апоптоз раковых клеток,¹⁰⁰ ингибируя в то же время запрограммированную клеточную смерть нормальных Т-клеток. Как полагают авторы работы⁹⁹, одной из причин биологической активности этого алкалоида является инактивация NF- κB на уровне ядерной транслокации.

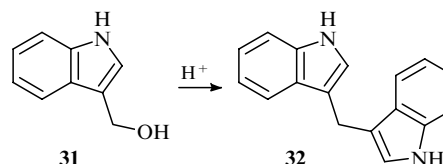
В работе¹⁰¹ была исследована способность различных растительных алкалоидов с противовоспалительными свойствами модулировать сигнальные пути, включенные в развитие воспалительных процессов. В частности, было изучено влияние этих алкалоидов на транскрипционную активность NF- κB -зависимых генов в клетках HeLa. Было найдено, что сангвинарин (27) и хелеритрин (28) форсировали ядерную транслокацию субъединицы p65 фактора NF- κB , причем под действием этих алкалоидов ядерный импорт p65 значительно усиливался как в нестимулированных клетках, так и в клетках, обработанных $\text{TNF-}\alpha$.¹⁰¹



В то же время колхицин (29) и берберин (30) не были включены в путь сигнальной трансдукции при активации NF- κB . Более того, все изученные в работе¹⁰¹ алкалоиды оставались транскрипционно неактивными, т.е. не влияли на экспрессию NF- κB -зависимых генов.



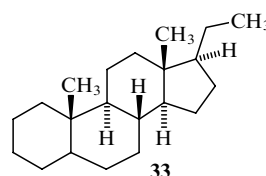
Среди низкомолекулярных ингибиторов NF- κB , выделенных из растительных источников, следует отметить 3-гидроксиметил-индол (31). Это соединение и его димер дииндолилметан (32), в который он легко превращается *in vivo*, известны как агенты, предотвращающие злокачественное перерождение тканей и инициирующие апоптоз в клетках опухолей простаты и молочных желез.^{102, 103}



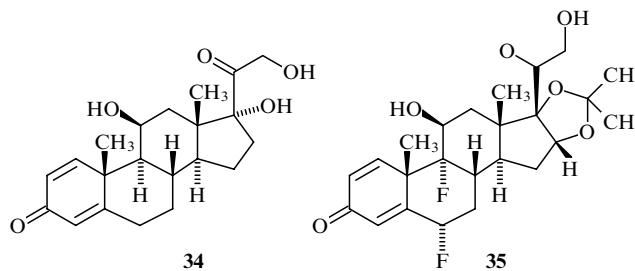
Как было показано в опытах *in vitro*, 3-гидроксиметил-индол существенно ингибирует связывание NF- κB с ДНК, хотя точный механизм инактивации фактора NF- κB как основной терапевтической мишени остается неясным.¹⁰⁴

6. Глюкокортикоидные ингибиторы

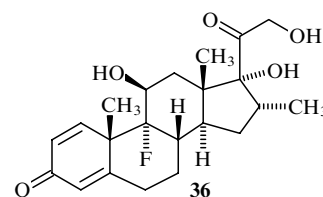
Еще одним классом низкомолекулярных модуляторов активности NF- κB являются глюкокортикоиды, которые известны своим противовоспалительным, противошоковым и анти-аллергическим действием, а также иммуносупрессорной активностью. Это особая группа стероидных гормонов, имеющих прегнанный скелет (33).



Они участвуют в регуляции углеводного, водного и ионного обменов и используются при лечении бронхиальной астмы, экзем, инфекционного гепатита, артритов, астений и др. В настоящее время используют как природные кортикоиды, выделенные из коры надпочечников, так и их синтетические аналоги (преднизолон (34), синалар (35) и др.), обладающие большей биологической активностью.



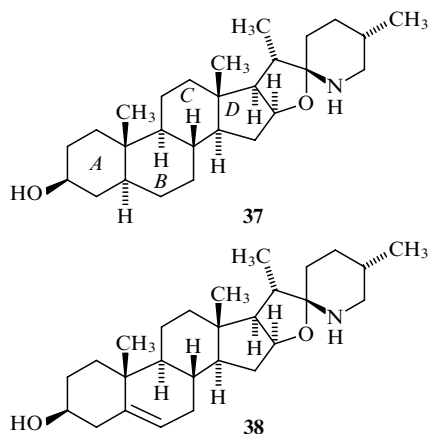
Показано, что глюкокортикоиды являются потенциальными ингибиторами активности NF- κB в клеточных культурах и мышах.¹⁰⁵ В сигнальной цепи активации NF- κB глюкокортикоиды ингибируют экспрессию генов провоспалительных белков COX-2, $\text{TNF-}\alpha$, почти всех известных цитокинов и некоторых молекул клеточной поверхности, необходимых для проявления иммунных свойств. Синтетический глюкокортикоид — дексаметазон (36) — индуцирует синтез белка I $\kappa\text{B-}\alpha$.



Этот вновь синтезированный ингибитор образует комплекс с фактором NF- κ B, супрессируя его активность. Уменьшение количества NF- κ B, импортируемого в ядро, замедляет секрецию цитокинов. Таким образом дексаметазон эффективно блокирует активацию иммунной системы.^{105, 106}

Однако механизм действия глюкокортикоидов заключается не только в ингибировании активации NF- κ B. Эти соединения контролируют также каталитическую активность ряда ферментов, в цепи регуляции которых присутствует субъединица p65.¹⁰⁷ Согласно экспериментальным данным, глюкокортикоиды ингибируют NF- κ B-зависимую экспрессию генов провоспалительного интерлейкина-8 и других продуктов за счет белок-белкового взаимодействия между глюкокортикоидными рецепторами и субъединицами NF- κ B, связанными с регуляторными участками генов-мишеней.¹⁰⁸ В опосредованном глюкокортикоидами ингибировании активности NF- κ B участвуют различные комбинации интермедиатных белков и факторов, задействованных в сигнальных путях воспалительного и иммунного ответов.

В недавно появившейся статье¹⁰⁹ был исследован противовоспалительный эффект стероидных алкалоидов — томатидина (**37**) и солзадина (**38**), — которые были найдены в томатах, картофеле и баклажанах.

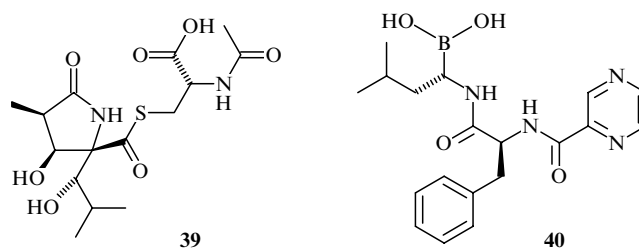


Эти соединения, близкие по структуре к глюкокортикоидам, обладают широким спектром биологического действия, в частности, понижают уровень холестерина, усиливают иммунный ответ, защищают организм от грибковой и бактериальной инфекции. Было показано, что томатидин и солзадин действуют и как противовоспалительные агенты, блокируя сигнальный путь NF- κ B на стадии фосфорилирования ингибиторного белка I κ B- α и ядерной транслокации фактора, причем томатидин проявляет более сильный противовоспалительный эффект.¹⁰⁹ В его основе лежит негативная регуляция экспрессии двух важнейших провоспалительных белков — iNOS и COX-2. Сравнение молекулярных структур томатидина и солзадина показало, что основное различие между ними заключается в отсутствии двойной связи в 5,6-положении B-кольца в случае томатидина, что, как полагают, и является структурной детерминантой, определяющей интенсивность биологического ответа.

7. Ингибиторы протеосомы

Активация фактора NF- κ B и белков клеточной защиты при канцерогенезе может происходить в результате индуцированного внешними стимулами фосфорилирования или деградации ингибитора фактора I κ B- α под действием убиквитина

в протеосомах (см. рис. 2). Убиквитин-опосредованная деградация белков в протеосомах представляет собой высококонсервативный внутриклеточный процесс, контролирующий количество короткоживущих белков. Протеосома 26S представляет собой большой (1500–2000 кДа) мультиферментный комплекс, который присутствует в ядре и цитоплазме эукариотических клеток.¹¹⁰ В нем происходит деградация ряда ключевых регуляторов клеточного цикла и факторов, индуцирующих апоптоз, таких как p53, Bcl-2, p21, циклинов, ингибиторов циклинзависимых киназ и др. Таким образом, протеосома как важный участник сигнального пути NF- κ B является новой перспективной биохимической мишенью. Ингибиторы активности протеосомы, контролирующей NF- κ B-зависимый синтез антиапоптотических и провоспалительных белков, имеют очевидный противоопухолевый потенциал и перспективы для лечения хронических воспалений. В последние годы были предложены селективные протеосомные ингибиторы на основе дипептидных производных альдегидов¹¹¹ и бороновой кислоты,^{111, 112} а также лактаистин (**39**) и винилсульфонтрипептиды.¹¹²

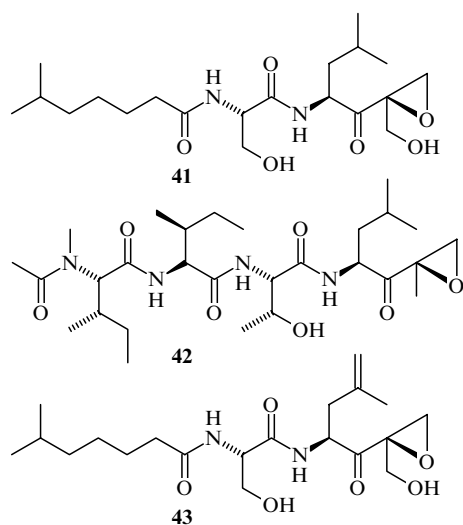


Исследования проводились как на культурах клеток, так и в системах *in vivo*, например на моделях опухолей человека в мышцах. Действие селективных ингибиторов протеосом, их участие в клеточных ответах, таких как антигенная презентация и деградация регуляторных или мембранных белков, описаны в обзорах^{112, 113}.

Прототипом нового класса терапевтических средств является дипептидное производное бороновой кислоты — бортезомиб — {(1*R*)-3-метил-1-[(2*S*)-1-оксо-3-фенил-2-[(пирозин-3-илкарбонил)амино]пропил]амино]бутил}бороновая кислота (**40**) (Velcade, PS-341). Это соединение непосредственно модулирует экспрессию NF- κ B, циклинов, p53, Bcl-2, Вах и других регуляторных белков и влияет на широкий спектр внутриклеточных процессов, связанных с прогрессией опухолей и их устойчивостью к химиотерапевтическим агентам и облучению.^{113–116} Показано, что комбинация протеосомных ингибиторов с химиотерапевтическими препаратами приводит к резкому повышению эффективности лечения и усилению апоптоза клеток опухоли (размер солидной опухоли уменьшался на 94%, а уровень апоптоза достигал 80–90% по сравнению с 10% апоптозного ответа при использовании только противоопухолевых препаратов).¹¹⁶ Ингибитор PS-341 прошел первую фазу клинических испытаний на онкологических больных с запущенными формами рака. Антипролиферативные и антипротеолитические свойства PS-341 были продемонстрированы на 60 клеточных линиях, полученных из различных опухолей человека, включая множественные миеломы, рак легких, рак простаты, карциномы.^{113, 117} Протеосомный ингибитор PS-341 показал свою эффективность и при лечении злокачественных заболеваний крови. Механизм действия пептидных ингибиторов пока малоизучен.

Дигидроэпонемидин (**41**)¹¹⁸ и эпоксомидин (**42**)¹¹⁹ — аналоги противоопухолевого и антиангиогенного природного

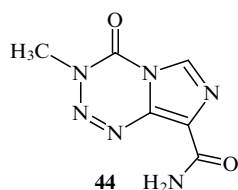
продукта эпонемицина (**43**) — также влияют на детерминированный протеосомой сигнальный путь. Эти соединения модифицируют некоторые каталитические субъединицы и влияют в разной степени на основные пептидолитические активности протеосомы.¹¹⁸



Ингибирование функций протеосомы дигидроэпонемицином приводит к морфологическим изменениям клеток и апоптозу. Потенциальный онкопротектор эпоксомидин в отличие от пептидных альдегидных ингибиторов не блокирует непротеосомные протеазы, такие как трипсин, химотрипсин, папаин, катепсин В, в концентрациях до $50 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$. Эпоксомидин эффективно снижает активность NF- κ B *in vitro* и уменьшает воспаление при отите у мышей *in vivo*. Это соединение может рассматриваться как полезный инструмент исследования роли протеосом в различных системах.¹¹⁹

8. Алкилирующие реагенты

Цитотоксичный алкилирующий реагент темозоломид (**44**), индуцирующий образование O^6 -метилгуанина и других аддуктов ДНК, обычно используется при лечении злокачественных глиом.



В работе¹²⁰ изучено влияние темозоломида на транскрипционную активность NF- κ B и показано, что он ингибирует фактор NF- κ B по механизму, не зависящему от I κ B- α . Темозоломид блокирует связывающую способность субъединицы p65 с κ B-участком ДНК-мишени, не влияя на ее ядерную транслокацию. Для ингибирования NF- κ B темозоломидом необходима низкая клеточная активность O^6 -алкилгуанин-ДНК-алкилтрансферазы и наличие интактной системы репарации мисматчей ДНК.

На рис. 3 приведен в схематическом виде сигнальный путь активации NF- κ B под действием внешних стимулов и указаны типы ингибиторов, нацеленных на различные стадии процесса, а также конкретные биомишени регуляторной цепи.

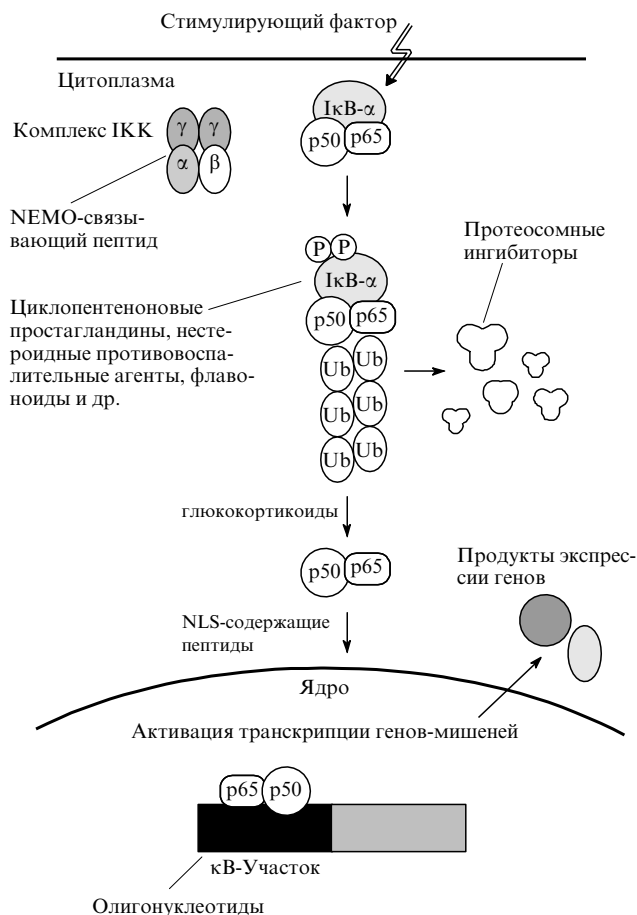


Рис. 3. Различные типы ингибиторов, нацеленных на отдельные стадии или конкретные молекулярные мишени канонического пути сигнальной трансдукции при активации NF- κ B.

NEMO-Связывающие пептиды препятствуют образованию киназного комплекса ИКК; циклопентеновые простагландины, нестероидные противовоспалительные агенты и соединения из природных источников ингибируют активность ИКК; протеосомные ингибиторы блокируют деградацию I κ B, а глюкокортикоиды индуцируют синтез *de novo* I κ B; пептиды, содержащие сигнал ядерной локализации (NLS) фактора NF- κ B, ингибируют ядерную транслокацию субъединиц фактора, в то время как антисенсовые олигонуклеотиды, ДНК-ловушки и алкилирующие реагенты препятствуют транскрипции генов-мишеней (модифицированный рисунок из обзора⁵⁸).

VI. Заключение

Транскрипционный фактор NF- κ B и белки, экспрессию генов которых он регулирует, являются антиапоптотическими и провоспалительными медиаторами и в таком качестве включены в различные патологические состояния: хронические воспалительные процессы, онкологические и вирусные заболевания. Очевидно, что ингибирование активности NF- κ B рассматривается как перспективный подход к борьбе с этими патологиями. В течение последних 10 лет было предложено и протестировано множество лекарственных средств, ингибирующих различные стадии активации NF- κ B. Тем не менее очевидно, что более глубокое понимание различных биологических процессов, приводящих к транскрипционной активности NF- κ B в различных типах клеток, и характеристика

компонентов сигнальных путей NF-κB, регулирующих программируемую клеточную смерть и врожденный иммунитет, позволят провести рациональный поиск, осуществить дизайн и синтез эффективных ингибиторов. Эта работа включает идентификацию перспективных биомишеней в сигнал-передающих цепях, скрининг библиотек химических соединений для поиска потенциальных ингибиторов выбранной мишени, создание клеточных и бесклеточных систем тестирования их эффективности, использование экспериментальных моделей *in vivo*. Разнообразие низкомолекулярных ингибиторов NF-κB в сочетании с олигонуклеотидными и белковыми мишень-специфическими конструкциями представляет надежную базу для отбора реальных кандидатов на роль терапевтических средств нового поколения.

Обзор написан при финансовой поддержке федеральной целевой программы Роснауки (проект № 2007-2-1.2-05-02-071) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 06-04-49196).

Литература

1. R.Sen, D.Baltimore. *Cell*, **46**, 705 (1986)
2. M.L.Schmitz, I.Mattioli, H.Buss, M.Kracht. *ChemBioChem.*, **5**, 1348 (2004)
3. G.J.Nabel, I.M.Verma. *Genes Dev.*, **7**, 2063 (1993)
4. M.L.Schmitz, P.A.Baeuerle. *EMBO J.*, **10**, 3805 (1991)
5. G.Ghosh, G.van Duyn, S.Ghosh, P.B.Sigler. *Nature (London)*, **373**, 303 (1995)
6. C.W.Mueller, F.A.Rey, M.Sodeoka, G.L.Verdine, S.C.Harrison. *Nature (London)*, **373**, 311 (1995)
7. И.А.Козлов, Е.А.Кубарева. *Успехи биол. химии*, **38**, 77 (1998)
8. А.С.Романенков, А.А.Устюгов, Т.С.Зацепин, А.А.Никулова, И.В.Колесников, В.Г.Метелев, Т.С.Орецкая, Е.А.Кубарева. *Биохимия*, **70**, 1474 (2005)
9. V.Metelev, A.Romanenkov, E.Kubareva, E.Zubin, N.Polouchine, T.Zatsepin, N.Molochkov, T.Oretskaya. *IUBMB Life*, **58**, 654 (2006)
10. K.Umezawa, C.Chaicharoenpong. *Mol. Cell*, **14**, 163 (2002)
11. J.T.Wu, J.G.Kral. *J. Surg. Res.*, **123**, 158 (2005)
12. В.П.Алмазов, Д.В.Кочетков, П.М.Чумаков. *Мол. биология*, **41**, 947 (2007)
13. M.Philip, D.A.Rowley, H.Schreiber. *Semin. Cancer Biol.*, **14**, 433 (2004)
14. P.A.Baeuerle, T.Henkel. *Annu. Rev. Immunol.*, **12**, 141 (1994)
15. R.Lin, D.Gewert, J.J.Hiscott. *J. Biol. Chem.*, **270**, 3123 (1995)
16. J.E.Thompson, R.J.Phillips, H.Erdjument-Bromage, P.Tempst, S.Ghosh. *Cell*, **80**, 573 (1995)
17. H.-C.Liou, C.Y.Hsia. *BioEssays*, **25**, 767 (2003)
18. J.A.Brockman, D.C.Scherer, T.A.McKinsey, S.M.Hall, X.Qi, W.Y.Lee, D.W.Ballard. *Mol. Cell Biol.*, **15**, 2809 (1995)
19. K.Brown, S.Gerstberger, L.Carson, G.Franzoso, U.Siebenlist. *Science*, **267**, 1485 (1995)
20. C.Kretz-Remy, P.Mehlen, M.-E.Mirault, A.-P.Arrigo. *J. Cell Biol.*, **133**, 1083 (1996)
21. D.M.Rothwarf, E.Zandi, G.Natoli, M.Karin. *Nature (London)*, **395**, 297 (1998)
22. C.Makris, V.L.Godfrey, G.Krähn-Senftleben, T.Takahashi, J.L.Roberts, T.Schwarz, L.Feng, R.S.Johnson, M.Karin. *Mol. Cell*, **5**, 969 (2000)
23. H.J.Kim, N.Hawke, A.S.Baldwin. *Cell Death Differ.*, **13**, 738 (2006)
24. E.Dejardin, N.M.Droin, M.Delhase, E.Haas, Y.Cao, C.Markis, Z.-W.Li, M.Karin, C.F.Ware, D.R.Green. *Immunity*, **17**, 525 (2002)
25. B.Barré, N.D.Perkins. *EMBO J.*, **26**, 4841 (2007)
26. Е.Б.Меньщикова, В.З.Ланкин, Н.К.Зенков, И.А.Бондарь, Н.Ф.Круговых, В.А.Труфакин. В кн. *Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты*. Слова, Москва, 2006. С. 512
27. Н.Н.Гесслер, А.А.Аверьянов, Т.А.Белозерская. *Биохимия*, **72**, 1342 (2007)
28. Ch.D.Georgiou, N.Patsoukis, I.Papapostolou, G.Zervoudakis. *Integr. Compar. Biol.*, **46**, 1 (2006)
29. F.L.M.Ricciardolo, P.J.Sterk, B.Gaston, G.Folkerts. *Physiol. Rev.*, **84**, 731 (2004)
30. C.J.Lowenstein, E.Padalko. *J. Cell Sci.*, **117**, 2865 (2004)
31. R.Pinkus, L.M.Weiner, V.Daniel. *Biochemistry*, **34**, 81 (1995)
32. R.Pinkus, L.M.Weiner, V.Daniel. *J. Biol. Chem.*, **271**, 13422 (1996)
33. N.Kaul, J.Choi, H.J.Forman. *Free Radical Biol. Med.*, **24**, 202 (1998)
34. H.E.Marshall, J.S.Stamler. *J. Biol. Chem.*, **277**, 34223 (2002)
35. C.Maziere, M.Auclair, M.Djavaheri-Mergny, L.Packer, J.-C.Maziere. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **39**, 1201 (1996)
36. S.Cho, Y.Urata, T.Iida, S.Goto, M.Yamaguchi, K.Sumikawa, T.Kondo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **253**, 104 (1998)
37. Y.Li, L.K.Leung, B.T.Spear, H.P.Glauert. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **229**, 982 (1996)
38. S.Oka, H.Kamata, K.Kamata, H.Yagisawa, H.Hirata. *FEBS Lett.*, **472**, 196 (2000)
39. K.Umezawa. *Cancer Sci.*, **97**, 990 (2006)
40. A.S.Baldwin Jr. *Annu. Rev. Immunol.*, **14**, 649 (1996)
41. G.Kruppa, B.Thoma, T.Machleidt, K.Wiegmann, M.Kroenke. *J. Immunol.*, **148**, 3152 (1992)
42. M.Rothe, S.C.Wong, W.J.Henzel, D.V.Goeddel. *Cell*, **78**, 681 (1994)
43. S.Legrand-Poels, V.Bours, B.Piret, M.Pflaum, B.Epe, B.Rentier, J.Piette. *J. Biol. Chem.*, **270**, 6925 (1995)
44. Z.Guo, L.Shao, Q.Du, K.S.Park, D.A.Geller. *FASEB J.*, **21**, 535 (2007)
45. R.Korhonen, A.Lahti, H.Kankaanranta, E.Moilanen. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy*, **4**, 471 (2005)
46. V.S.Seybold, Y.P.Jia, L.G.Abrahams. *Pain*, **105**, 47 (2003)
47. E.M.El-Omar, M.Carrington, W.H.Chow, K.E.McColl, J.H.Bremm, H.A.Young, J.Herrera, J.Lissowska, C.C.Yuan, N.Rothman, G.Lanyon, M.Martin, J.F.Fraumentti Jr., C.S.Rabkin. *Nature (London)*, **404**, 398 (2000)
48. M.P.Mattson, S.Camandola. *J. Clin. Invest.*, **107**, 247 (2001)
49. S.Gupta, S.Sen. *J. Mol. Med.*, **83**, 993 (2005)
50. S.Gupta, D.Young, R.K.Maitra, A.Gupta, Z.B.Popovic, S.L.Yong, A.Mahajan, Q.Wang, S.Sen. *J. Mol. Biol.*, **375**, 637 (2008)
51. R.L.Thangapazham, A.Sharma, R.K.Maheshwari. *AAPS J.*, **8**, E443 (2006)
52. R.K.Maheshwari, A.K.Singh, J.Gaddipati, R.C.Srimal. *Life Sci.*, **78**, 2081 (2006)
53. J.W.Pollard. *Nat. Rev. Cancer*, **4**, 71 (2004)
54. N.D.Perkins. *Trends Cell Biol.*, **14**, 64 (2004)
55. T.D.Gilmore, M.Koedood, K.A.Piffat, D.W.White. *Oncogene*, **13**, 1367 (1996)
56. T.D.Gilmore. *Cancer Treat Res.*, **115**, 241 (2003)
57. M.Hinz, P.Loesser, S.Mathas, D.Krappmann, B.Doerken, C.Scheidereit. *Blood*, **97**, 2798 (2001)
58. S.Delhalle, R.Blasius, M.Dicato, M.Diederich. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1030**, 1 (2004)
59. A.C.Bharti, B.B.Aggarwal. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **973**, 392 (2002)
60. W.C.Earnshaw, L.M.Martins, S.H.Kaufmann. *Annu. Rev. Biochem.*, **68**, 383 (1999)
61. S.Grimm, M.K.Bauer, P.A.Baeuerle, K.Schulze-Osthoff. *J. Cell Biol.*, **134**, 13 (1996)
62. C.Y.Wang, M.W.Mayo, R.G.Korneluk, D.V.Goeddel, A.S.Baldwin Jr. *Science*, **281**, 1680 (1998)
63. G.A.Webster, M.D.Perkins. *Mol. Cell Biol.*, **19**, 3485 (1999)

64. S.Xiong, H.She, H.Takeuchi, B.Han, J.F.Engelhardt, C.H.Barton, E.Zandi, C.Giulivi, H.Tsukamoto. *J. Biol. Chem.*, **278**, 17646 (2003)
65. E.Kopp, S.Ghosh. *Science*, **265**, 956 (1994)
66. M.J.Yin, Y.Yamamoto, R.B.Gaynor. *Nature (London)*, **396**, 77 (1998)
67. C.Wahl, S.Liptay, G.Adler, R.M.Schmid. *J. Clin. Invest.*, **101**, 1163 (1998)
68. L.J.Egan, D.C.Mays, C.J.Huntoon, M.P.Bell, M.G.Pike, W.J.Sandborn, J.J.Lipsky, D.J.McKean. *J. Biol. Chem.*, **274**, 26448 (1999)
69. P.Brennan, L.A.J.O'Neill. *Biochem. J.*, **320**, 975 (1996)
70. A.F.G.Slater, M.Kimland, S.A.Jiang, S.Orrenius. *Biochem. J.*, **312**, 833 (1995)
71. Y.J.Suzuki, L.Packer. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **32**, 299 (1994)
72. Y.Yamamoto, M.-J.Yin, K.-M.Lin, R.B.Gaynor. *J. Biol. Chem.*, **274**, 27307 (1999)
73. A.Rossi, P.Kapahi, G.Natoli, T.Takahashi, Y.Chen, M.Karin, M.G.Santoro. *Nature (London)*, **403**, 103 (2000)
74. D.S.Straus, G.Pascual, M.Li, J.S.Welch, M.Ricote, C.H.Hsiang, L.L.Senqchanthalangsy, G.Ghosh, C.K.Glass. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 4844 (2000)
75. E.Cernuda-Morollon, E.Pineda-Molina, F.J.Canada, D.Perez-Sala. *J. Biol. Chem.*, **276**, 35530 (2001)
76. L.Pari, D.Tewas, J.Eckel. *Arch. Physiol. Biochem.*, **114**, 127 (2008)
77. H.I.Ingolfsson, R.E.Koepp II, O.S.Andersen. *Biochemistry*, **46**, 10384 (2007)
78. S.M.Plummer, K.A.Holloway, M.M.Manson, R.J.Munks, A.Kaptein, S.Farrow, L.Howells. *Oncogene*, **18**, 6013 (1999)
79. A.Duvoix, F.Morceau, S.Delhalle, M.Schmitz, M.Schnekenburger, M.M.Galteau, M.Dicato, M.Diederich. *Biochem. Pharmacol.*, **66**, 1475 (2003)
80. Y.Takada, A.Bhardwaj, P.Potdar, B.B.Aggarwal. *Oncogene*, **23**, 9247 (2004)
81. C.Jobin, C.A.Bradham, M.P.Russo, B.Juma, A.S.Narula, D.A.Brenner, R.B.Sartor. *J. Immunol.*, **163**, 3474 (1999)
82. L.Fremont. *Life Sci.*, **66**, 663 (2000)
83. M.Holmes-McNary, A.S.Baldwin Jr. *Cancer Res.*, **60**, 3477 (2000)
84. E.Ignatowicz, W.Baer-Dubowska. *Pol. J. Pharmacol.*, **53**, 557 (2001)
85. H.Matsuda, T.Kageura, T.Morikawa, I.Toguchida, S.Harima, M.Yoshikawa. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**, 323 (2000)
86. G.Tredici, M.Miloso, G.Nicolini, S.Galbiati, G.Cavaletti, A.Bertelli. *Drug Exp. Clin. Res.*, **25**, 99 (1999)
87. S.K.Manna, R.S.Aggarwal, G.Sethi, B.B.Aggarwal, G.T.Ramesh. *Clin. Cancer Res.*, **13**, 2290 (2007)
88. M.P.Nair, S.Mahajan, J.I.Reynolds, R.Aalinkeel, H.Nair, S.A.Schwartz, C.Kandaswami. *Clin. Vaccine Immunol.*, **13**, 319 (2006)
89. F.Yang, H.S.Oz, S.Barve, W.J.de Villiers, C.J.McClain, G.W.Varilek. *Mol. Pharmacol.*, **60**, 528 (2001)
90. J.D.Patel. *J. Clin. Oncol.*, **23**, 3212 (2005)
91. M.X.Doss, S.P.Potta, J.Hescheler, A.Sachinidis. *J. Nutr. Biochem.*, **16**, 259 (2005)
92. D.N.Syed, F.Afaq, M.-H.Kweon, N.Hadi, N.Bhatia, V.S.Spiegelman, H.Mukhtar. *Oncogene*, **26**, 673 (2007)
93. M.H.Pan, S.Y.Lin-Shiau, C.T.Ho, J.H.Lin, J.K.Lin. *Biochem. Pharmacol.*, **59**, 357 (2000)
94. A.-R.Han, J.-B.Kim, J.Lee, J.W.Nam, I.S.Lee, C.K.Shim, K.T.Lee, E.-K.Seo. *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 1270 (2007)
95. J.-B.Kim, A.-R.Han, E.-Y.Park, J.-Y.Kim, W.Cho, J.Lee, E.-K.Seo, K.-T.Lee. *Biol. Pharm. Bull.*, **30**, 2345 (2007)
96. A.Gehrt, G.Erkell, T.Anke, O.Sterner. *J. Antibiot. (Tokyo)*, **51**, 455 (1998)
97. G.Matsumoto, J.Namekawa, M.Muta, T.Nakamura, H.Bando, K.Tohyama, M.Toi, K.Umezawa. *Clin. Cancer Res.*, **11**, 1287 (2005)
98. E.-R.Woo, Y.R.Pokharel, J.W.Yang, S.Y.Lee, K.W.Kang. *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 976 (2006)
99. M.Leiba, L.Cahalon, A.Shimoni, O.Lider, A.Zanin-Zhorov, I.Hecht, U.Sela, I.Vlodavsky, A.Nagler. *J. Leukocyte Biol.*, **80**, 399 (2006)
100. Z.Gavish, J.H.Pinthus, V.Barak, J.Ramon, A.Nagler, Z.Eshhar, M.Pines. *Prostate*, **51**, 73 (2002)
101. Z.Dvorak, R.Vrzal, P.Maurel, J.Ulrichova. *Chem. Biol. Interact.*, **159**, 117 (2006)
102. L.M.Howells, B.Gallacher-Horley, C.E.Houghton, M.M.Manson, E.A.Hudson. *Mol. Cancer Ther.*, **1**, 1161 (2002)
103. Y.Li, X.Li, F.H.Sarkar. *J. Nutr.*, **133**, 1011 (2003)
104. F.H.Sarkar, Y.Li. *J. Nutr.*, **134**, 3493S (2004)
105. N.Auphan, J.A.DiDonato, C.Rosette, A.Helmberg, M.Karin. *Science*, **270**, 286 (1995)
106. R.I.Scheinman, P.C.Cogswell, A.K.Lofquist, A.S.Baldwin Jr. *Science*, **270**, 283 (1995)
107. K.Ito, E.Jazrawi, B.Cosio, P.J.Barnes, I.M.Adcock. *J. Biol. Chem.*, **276**, 30208 (2001)
108. R.M.Nissen, K.R.Yamamoto. *Genes Dev.*, **14**, 2314 (2000)
109. F.-L.Chui, J.-K.Lin. *FEBS Lett.*, **582**, 2407 (2008)
110. P.Brooks, G.Fuertes, R.Z.Murray, S.Bose, E.Knecht, M.C.Rechsteiner, K.B.Hendil, K.Tanaka, J.Dyson, J.Rivett. *Biochem. J.*, **346**, 155 (2000)
111. J.Adams, M.Behnke, S.Chen, A.A.Cruickshank, L.R.Dick, L.Grenier, J.M.Klunder, Y.T.Ma, L.Plamondon, R.L.Stein. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 333 (1998)
112. J.Adams, V.J.Palombella, P.J.Elliott. *Invest. New Drugs*, **18**, 109 (2000)
113. P.C.Mack, A.M.Davies, P.N.Lara, P.H.Gumerlock, D.R.Gandara. *Lung Cancer*, **41**, S89 (2003)
114. J.B.Sunwoo, Z.Chen, G.Dong, N.Yeh, C.C.Bancroft, E.Sausville, J.Adams, P.Elliott, C.van Waes. *Clin. Cancer Res.*, **7**, 1419 (2001)
115. R.J.Bold, S.Virudachalam, D.J.McConkey. *J. Surg. Res.*, **100**, 11 (2001)
116. J.C.Cusack Jr., R.Liu, M.Houston, K.Abendroth, P.J.Elliott, J.Adams, A.S.Baldwin Jr. *Cancer Res.*, **61**, 3535 (2001)
117. J.Adams, V.J.Palombella, E.A.Sausville, J.Johnson, A.Destree, D.D.Lazarus, J.Maas, C.S.Pien, S.Prakash, P.J.Elliott. *Cancer Res.*, **59**, 2615 (1999)
118. L.Meng, B.H.Kwok, N.Sin, C.M.Crews. *Cancer Res.*, **59**, 2798 (1999)
119. L.Meng, R.Mohan, B.H.Kwok, M.Elofsson, N.Sin, C.M.Crews. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 10403 (1999)
120. B.Yamini, X.Yu, M.E.Dolan, M.H.Wu, D.W.Kufe, R.R.Weichselbaum. *Cancer Res.*, **67**, 6889 (2007)

LOW-MOLECULAR-WEIGHT INHIBITORS OF VARIOUS COMPONENTS OF THE NF- κ B TRANSCRIPTION FACTOR SIGNALLING CASCADE

N.G.Dolinnaya, E.A.Kubareva, E.V.Kazanova, N.A.Zigangirova, B.S.Naroditsky, A.L.Gintsburg, T.S.Oretskaya

Department of Chemistry and A.N.Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology

M.V.Lomonosov Moscow State University

Leninskie Gory, 119991 Moscow, Russian Federation, Fax +7(495)939–3181

N.F.Gamaleya Research Institute for Epidemiology and Microbiology

Russian Academy of Medical Sciences

18, Ul. Gamaleya, 123098 Moscow, Russian Federation, Fax +7(499)193–6183

The nuclear factor NF- κ B is an inducible transcription factor activating expression of genes the products of which play a key role in cardiovascular pathologies, carcinogenesis, inflammatory and viral diseases. The review describes the processes inducing NF- κ B activation and determines the components of a signal cascade that could constitute targets for NF- κ B inhibition. The low-molecular-weight inhibitors of the NF- κ B factor described systematically, and their properties and molecular action mechanism are considered.

Bibliography — 120 references.

Received 4th June 2008