

## ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРОДУКТОВ ФОТООКИСЛЕНИЯ ПСОРАЛЕНА И ИХ ЦИКЛОАДДУКТОВ С АМИНОТИОЛАМИ: ХЕМОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ

В. В. Скарга<sup>1,2</sup>✉, А. Д. Задорожный<sup>1</sup>, Б. В. Шилов<sup>1</sup>, Е. В. Невежин<sup>1</sup>, В. В. Негребетский<sup>1</sup>, М. А. Маслов<sup>2</sup>, А. А. Лагунин<sup>1,3</sup>, М. В. Малахов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>2</sup> МИРЭА — Российский технологический университет, Москва, Россия

<sup>3</sup> Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича, Москва, Россия

Псоралены, медицинские фотосенсибилизаторы фурукумаринового ряда, используются для фотохимиотерапии и фотоиммунотерапии дерматозов. Продукты фотоокисления псораленов могут принимать участие в реализации терапевтических эффектов, однако возможные механизмы их действия остаются неизвестными. Основной целью работы было оценить потенциальные фармакологические эффекты и возможные механизмы действия шести ранее идентифицированных продуктов фотоокисления псоралена, характеризующихся наличием орто-гидроксиформильной группировки, их циклоаддуктов с аминотиолами, а также структурно родственных соединений (фурукумариновой кислоты и тукарезола). Хемоинформационный анализ потенциальных фармакологических эффектов и возможных механизмов действия указанных соединений был проведен с использованием программ PASS и PharmaExpert. Предсказанные фармакологические эффекты, частично подтверждаемые результатами ранее проведенных исследований, свидетельствуют о возможном участии продуктов фотоокисления псораленов в реализации эффектов PUVA-терапии или фотофереза при лечении ряда дерматозов и пролиферативных патологий. Широкий спектр фармакологических эффектов, обнаруженный для фурукумариновой кислоты и циклоаддуктов кумариновых и бензофурановых фотопродуктов псоралена с цистеином и гомоцистеином, определяет новые направления исследований в области терапевтического применения псораленов.

**Ключевые слова:** псоралены, кумарины, бензофураны, альдегиды, фурукумариновая кислота, аминотиолы, (Q)SAR, PASS, PharmaExpert

**Финансирование:** исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-33-90277.

**Вклад авторов:** В. В. Скарга — анализ литературы, анализ и интерпретация данных, подготовка и окончательная редакция текста рукописи; А. Д. Задорожный, Б. В. Шилов — сбор и анализ данных; Е. В. Невежин — анализ литературы, интерпретация данных; В. В. Негребетский — интерпретация данных, подготовка текста рукописи; М. А. Маслов — дизайн исследования; А. А. Лагунин — дизайн исследования, анализ литературы, подготовка текста рукописи; М. В. Малахов — дизайн исследования, анализ литературы, интерпретация данных, подготовка и окончательная редакция текста рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Владислав Викторович Скарга  
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117437; skargavlad@gmail.com

**Статья получена:** 27.08.2020 **Статья принята к печати:** 22.09.2020 **Опубликована онлайн:** 09.10.2020

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2020.059

## PROSPECTIVE PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF PSORALEN PHOTOOXIDATION PRODUCTS AND THEIR CYCLOADDUCTS WITH AMINOTHIOLS: CHEMOINFORMATIC ANALYSIS

Skarga VV<sup>1,2</sup>✉, Zadorozhny AD<sup>1</sup>, Shilov BV<sup>1</sup>, Nevezhin EV<sup>1</sup>, Negrebetsky VV<sup>1</sup>, Maslov MA<sup>2</sup>, Lagunin AA<sup>1,3</sup>, Malakhov MV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> MIREA — Russian Technological University, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Institute of Biomedical Chemistry (IBMC), Moscow, Russia

Psoralens are medicinal photosensitizing furocoumarins which are used in photochemotherapy and photoimmunotherapy of dermatoses. Psoralen photooxidation products may be involved in therapeutic effects, but the possible mechanisms of their action remain unclear. The study was aimed to assess the prospective pharmacological effects and mechanisms of activity for six previously identified ortho-hydroxyformyl-containing psoralen photooxidation products and their cycloadducts with aminothiols, as well as for structurally similar compounds (furocoumaric acid and tucaresol). Chemoinformatic analysis of the prospective pharmacological effects and mechanisms of action of these compounds was performed using the PASS and PharmaExpert software. The predicted pharmacological effects partially confirmed by previous studies highlight the possible involvement of psoralen photooxidation products in the effects of PUVA therapy or photopheresis during the course of dermatoses and proliferative disorders treatment. A broad spectrum of pharmacological effects found for furocoumaric acid and cycloadducts of coumarinic and benzofuranic photoproducts of psoralen with cysteine and homocysteine appoints new directions of research relating to therapeutic use of psoralens.

**Keywords:** psoralens, coumarins, benzofurans, aldehydes, furocoumaric acid, aminothiols, (Q)SAR, PASS, PharmaExpert

**Funding:** the study was supported by RFBR, project number 19-33-90277.

**Author contribution:** Skarga VV — literature analysis, data analysis and interpretation, manuscript writing and editing; Zadorozhny AD, Shilov BV — data acquisition and analysis; Nevezhin EV — literature analysis, data interpretation; Negrebetsky VV — data interpretation, manuscript writing; Maslov MA — study design; Lagunin AA — study design, literature analysis, manuscript writing; Malakhov MV — study design, literature analysis, data interpretation, manuscript writing and editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Vladislav V. Skarga  
Ostrovityanova, 1, Moscow, 117437; skargavlad@gmail.com

**Received:** 27.08.2020 **Accepted:** 22.09.2020 **Published online:** 09.10.2020

**DOI:** 10.24075/brsmu.2020.059

Псоралены — линейные фурукумарины растительного или синтетического происхождения, сенсибилизирующие биологические объекты к действию ближнего ультрафиолетового излучения (УФ-А-излучения, 320–400 нм)

[1]. Фотосенсибилизирующее действие псораленов широко используют в медицине при PUVA-терапии (от англ. *psoralen* и *UV-A*) или экстракорпоральном фотоферезе с целью лечения таких заболеваний, как

псориаз, витилиго, atopический дерматит, экзема, кожная Т-клеточная лимфома, склеродермия (системный склероз), реакция «трансплантат против хозяина» и ряда других патологий [2–9]. Согласно современным представлениям, PUVA-терапия и фотоферез основаны на антипролиферативном и проапоптотическом эффектах в отношении кератиноцитов и иммунокомпетентных клеток, а также индукции иммуносупрессии, т. е. по сути указанные способы лечения являются фотохимио- и фотоиммунотерапевтическими [2–9]. Важно отметить, что по причинам гибкости в применении, эффективности затрат и высокой безопасности клиническая значимость PUVA-терапии и фотофереза не уменьшается в современную эру разработки и применения биопрепаратов [6, 7, 9].

При проведении PUVA-терапии или фотофереза PUVA-воздействию подвергают кожу пациента или полученную от пациента лейкоцитарную массу соответственно. Ранее нами был предложен метод лечения псориаза, atopического дерматита и экземы, основанный на пероральном введении пациентам предварительно фотоокисленного *in vitro* псоралена (ФОП), индуцирующего иммунотерапевтический эффект *in vivo* [10, 11]. Механизмы указанного эффекта исследовали в модели реакции контактной чувствительности к динитрофторбензолу (ДНФБ) у мышей, являющейся экспериментальным аналогом atopического дерматита у человека [11, 12]. Было выявлено, что ФОП модулирует у ДНФБ-сенсibilизированных мышей продукцию секреторных цитокинов клетками лимфатических узлов: снижает продукцию IL2, IL4 и ИНФ- $\gamma$ , увеличивает секрецию IL17, но не влияет на продукцию IL6 и IL10 [11]. Кроме того, обнаружено, что введение ФОП ДНФБ-сенсibilизированным мышам приводит к уменьшению числа клеток в региональных лимфатических узлах, снижению их пролиферативной активности и индукции в них апоптоза [11]. Полученные результаты хорошо согласуются с современными представлениями о механизмах реализации PUVA-терапии и фотофереза [2–9] и позволяют расценивать ФОП в качестве потенциального агента для лечения заболеваний, обусловленных гиперреактивностью Т-клеточного звена иммунитета.

Известно, что ФОП представляет собой сложную смесь фотопродуктов, образующихся в процессе фотолиза аэрированных растворов псоралена *in vitro* [13, 14]. При этом лишь некоторые из них были выделены из смеси и химически охарактеризованы вследствие их крайне малого выхода в фотореакциях и нестабильности при проведении разделения и/или аналитических процедур [13–16]. Анализ биологической активности продуктов фотоокисления псораленов *in vitro* выявил их апоптогенную активность [16, 17], а также способность влиять на процессы пролиферации и дифференцировки клеток [15, 17]. Примечательно, что апоптогенный эффект наблюдали лишь для трансформированных Т-лимфоцитов (клетки линии Jurkat), в то время как у нормальных лимфоцитов от здоровых доноров апоптогенные эффекты не были выявлены [16]. Это наблюдение позволило предположить, что апоптогенная активность фотопродуктов псоралена специфична, а сами продукты играют важную роль в реализации эффектов PUVA-терапии и фотофереза.

В настоящее время для прогноза биологической активности органических соединений широко используют методы хемоинформатики. Программные продукты, созданные с этой целью, позволяют с высокой точностью предсказывать профили биологической активности на основе

структурных формул анализируемых низкомолекулярных соединений [18–22].

Целью данной работы было оценить потенциальные фармакологические эффекты и возможные механизмы действия ранее идентифицированных продуктов фотоокисления псоралена и их циклоаддуктов с аминотиолами, соотнести результаты хемоинформационного анализа с иммунотропными (терапевтическими) эффектами, известными из литературы для этих продуктов, и определить новые направления исследований в этой области.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для прогноза потенциальных фармакологических эффектов исследуемых соединений использовали компьютерную программу PASS (от англ. *prediction of activity spectra for substances*) версии 2019 (ИБМХ им. В. Н. Ореховича; Россия) [18, 19], позволяющую оценить вероятный профиль биологической активности по структурной формуле органического соединения. Оценка основана на анализе связей «структура–активность» обучающей выборки, включающей в себя более миллиона структур веществ, исследованных на биологическую активность. В программе PASS биологическая активность представлена качественным образом (активно/неактивно). Химическая структура описана в виде MNA-дескрипторов (от англ. *multilevel neighborhoods of atoms* — множественные атомные окрестности) [20]. Алгоритм построения моделей взаимосвязи «структура–активность» на основе веществ обучающей выборки и прогнозирования активности для новых соединений построен на модифицированном Байесовском алгоритме [18, 19]. Использованная версия программы PASS (PASS 2019) прогнозирует более 5000 видов биологической активности, включая терапевтические эффекты, 3818 механизмов действия, побочные эффекты со средней точностью около 95% (скользящий контроль с исключением по одному).

В качестве входной информации в программе PASS использовали информацию о структурной формуле молекулы, представленную в виде файла в формате Molfile. В качестве выходной информации получали список прогнозируемых видов активности с оценкой вероятности наличия каждого вида активности  $P_a$  и вероятности отсутствия каждого вида активности  $P_i$ , которые могут принимать значения в диапазоне от нуля до единицы. Вероятности  $P_a$  и  $P_i$  являются также оценками вероятностей ошибок первого и второго рода соответственно, а также могут быть рассмотрены в качестве меры принадлежности прогнозируемого соединения к классам «активных» и «неактивных» веществ. Чем больше для соответствующей активности прогнозируется величина  $P_a$  и чем меньше величина  $P_i$ , тем больше шанс обнаружить данную активность в эксперименте.

В данном исследовании для прогноза и анализа возможных фармакологических эффектов и связанных с ними механизмов действия использовали также компьютерную программу PharmaExpert версии 2019 (ИБМХ им. В. Н. Ореховича; Россия) [21] с порогом вероятности проявления предсказанной активности 50% (активность считали вероятной, если величина вероятности ее наличия  $P_a$  была выше 0,5 и превосходила величину вероятности ее отсутствия  $P_i$ ). Компьютерная программа PharmaExpert предназначена для анализа результатов прогноза PASS на основе известных данных о связи между действием на лекарственные мишени и

фармакологическими эффектами, которые хранятся в базе данных программы (текущая версия 2019 г. содержит более 15 тыс. таких связей).

Структуры исследуемых соединений использовали при поиске идентичных и похожих соединений в базе данных PubChem — крупнейшей свободно доступной базе, содержащей данные о структуре и биологической активности (как экспериментальные, так и патентные) для более чем 100 млн химических соединений [22]. Поиск идентичных и похожих соединений в PubChem основан на описании их структур в виде PubChem-фингерпринтов (векторов размером 881 бит, описывающих особенности структур соединений). Известно, что структурно подобные соединения могут проявлять аналогичную активность, и обнаружение подобных соединений с известной биологической активностью может помочь в планировании экспериментальных исследований. В данной работе для поиска соединений по структурному сходству использовали встроенный в PubChem сервис, который использует в качестве меры структурного сходства рассчитанный на основе PubChem-фингерпринтов коэффициент Танимото [23]:

$$T(X, Y) = (N(X \cap Y)) / (N(X \cup Y)),$$

где  $N(X \cap Y)$  — число общих дескрипторов у соединений  $X$  и  $Y$ ,  $N(X \cup Y)$  — число всех уникальных дескрипторов у соединений  $X$  и  $Y$ . В качестве порога сходства использовали коэффициент Танимото больше 0,9 и 0,8.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Обоснование выбора объектов исследования

Известно, что формирование фотопродуктов, обладающих иммуностропным (терапевтическим) действием, строго зависит от присутствия кислорода в процессе облучения растворов псоралена [10]. Этот факт позволяет ограничить поисковый анализ ранее охарактеризованными продуктами фотоокисления псоралена (ФОП-продуктами). Исчерпывающий анализ продуктов фотолитиза фурукумаринов и механизмов, приводящих к их формированию, был выполнен в обзоре [13]. В данном обзоре было показано, что все процессы с участием окислительной модификации молекулы псоралена и других фурукумаринов можно разделить на три группы. Первую группу формируют фотопродукты окислительного раскрытия фуранового или пиранового кольца, относящиеся к классам кумаринов и бензофуранов соответственно. Ко второй группе относят фотопродукты, формирование которых является результатом присоединения молекулы растворителя к промежуточному продукту фотоокисления по фурановому кольцу. Третья группа включает в себя фотопродукты двойной модификации молекулы псоралена, по меньшей мере одна из которых окислительная.

Проанализировав известные из литературы данные о биологической активности, мы решили сконцентрироваться на ФОП-продуктах, относящихся к первой группе. Известно, что получающиеся в процессе фотоокисления фурукумаринов кумарины и бензофураны содержат фингерпринт в виде орто-гидроксиформильной группировки (ОГФ) и обладают описанной выше биологической активностью [13, 15, 16]. Было высказано предположение [13], что биологическая активность ФОП-продуктов первой группы может быть обусловлена наличием ОГФ по аналогии с известным

иммуномодулятором тукарезолом [24]. Отчасти это предположение было подтверждено в одной из работ, в которой были описаны апоптогенные эффекты нескольких ОГФ-содержащих соединений [16]. Ранее также было показано, что ОГФ-содержащие продукты фотоокисления протопорфирина IX обладают иммуностропным действием, супрессируя реакцию контактной чувствительности у мышей [25].

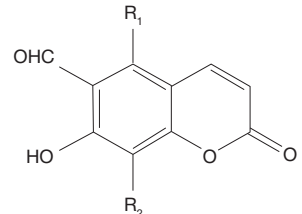
В результате, нами была определена группа соединений для проведения хемоинформационного анализа с использованием программ PASS и PharmaExpert. В нее вошли ОГФ-содержащие кумариновые ФОП-продукты (соединения 1–3), ранее идентифицированные для псоралена, а также для 8-метоксипсоралена (8-МОП) и 5-метоксипсоралена (5-МОП) — основных фотосенсибилизаторов фурукумаринового ряда, используемых в медицине [2–9]. В группу включены также известные ОГФ-содержащие бензофурановые ФОП-продукты вышеуказанных трех псораленов (соединения 4–6). Данная группа дополнена ОГФ-содержащим тукарезолом (соединение 7) в качестве соединения сравнения с известным иммуностропным действием, в основе которого лежит стимуляция Т-клеток посредством формирования Шиффовых оснований с Т-клеточными рецепторами [24]. Кроме того, были проанализированы потенциальные фармакологические эффекты фурукумариновой кислоты (соединение 8) — фотопродукта псоралена, предположительно являющегося интермедиатом при формировании соединения 4 в процессе фотоокисления псоралена [26]. Отдельную группу составили соединения, являющиеся циклоаддуктами ОГФ-содержащих продуктов фотоокисления псоралена с цистеином и гомоцистеином (соединения 9–12 и 13–16 для кумаринового и бензофуранового ФОП-продуктов соответственно). Выбор цистеина и гомоцистеина для данного поискового исследования не случаен. Известно, что ОГФ-содержащие кумарины (в частности, 8-формилумбеллиферон) используют для флуориметрического анализа указанных аминокислот в биологических объектах [27], а их аддукты с аминами обладают биологической активностью [28].

### Прогноз фармакологических эффектов ФОП-продуктов, фурукумариновой кислоты и тукарезола

В табл. 1 и 2 обобщены основные результаты хемоинформационного анализа целевых ФОП-продуктов (соединения 1–6). Единственным из исследованных соединений с предсказанной иммуностропной (иммуносупрессивной) активностью является кумариновый ФОП-продукт 5-МОП. Напротив, для всех соединений предсказана высокая вероятность активности в качестве индуктора апоптоза, причем величины  $P_a/P_i$  для указанного вида активности для кумариновых ФОП-продуктов были выше активности бензофурановых ФОП-продуктов. Кроме того, для соединений 1–6 предсказана противоопухолевая и цитостатическая активности.

Помимо описанных выше различных видов антипролиферативной активности, с высокой вероятностью была предсказана активность в качестве дыхательных (соединения 1–5) и в меньшей степени сердечно-сосудистых (соединения 1, 2) аналептиков, а также антимутагенов (соединения 1–6) и радиопротекторов (соединения 1, 3, 4 и 6). Для бензофурановых ФОП-продуктов (особенно, для соединения 4) предполагается ряд других защитных

Таблица 1. Кумариновые ФОП-продукты

	$R_1 = H$ $R_2 = H$	$R_1 = H$ $R_2 = OMe$	$R_1 = OMe$ $R_2 = H$
	1	2	3
Фармакологический эффект	$P_a / P_i$		
Иммуносупрессивный	–	–	0,541/0,036
Агонист апоптоза	0,899/0,004	0,915/0,004	0,764/0,010
Противоопухолевый	0,741/0,019	0,763/0,017	0,751/0,018
Цитостатический	0,538/0,020	0,586/0,015	0,516/0,023
Антимутагенный	0,807/0,004	0,760/0,005	0,774/0,004
Радиопротекторный	0,701/0,010	–	0,766/0,006
Аналептический	0,791/0,005	0,769/0,007	0,687/0,011
Противогрибковый	0,620/0,016	0,631/0,015	0,584/0,020
Антипротозойный (трипаносома)	0,537/0,014	–	–
Антипаразитарный	0,513/0,014	0,519/0,014	–
Антигельминтный (нематоды)	0,512/0,015	–	–
Антимикобактериальный	0,506/0,018	–	–

видов активности (вазопротекторная, нейропротекторная и кардиопротекторная активности).

Результаты анализа указывают на широкий спектр ожидаемой антибиотической активности: прогнозируется, что соединения 1–6 обладают противогрибковой активностью, а соединение 1 характеризуется сразу пятью видами антибиотической активности. При сравнении можно отметить, что антибиотическая активность кумариновых ФОП-продуктов количественно и качественно превосходит активность бензофурановых ФОП-продуктов.

Анализ предсказанных механизмов действия указанных выше видов активности позволяет сделать вывод, что антипролиферативные виды активности изучаемых соединений могут быть опосредованы их действием в качестве агонистов апоптоза и ингибиторов активности целого ряда

ферментов (фосфатаз, киназ, монофенолоксигеназы) и факторов транскрипции (например, фактора транскрипции NF- $\kappa$ B). Радиопротекторные свойства связывают со способностью выступать в качестве ингибитора проницаемости мембран и способствовать ее целостности, а также действовать в качестве ловушки свободных радикалов. Антибиотическая активность предположительно обусловлена влиянием соединений на трансмембранные процессы и функционирование киназ и мембранных белков (например, ингибировать пенициллинсвязывающий белок *ampH*).

В табл. 3 представлены основные результаты предсказания фармакологических эффектов тукарезола. Согласно проведенному анализу, тукарезол с высокой вероятностью обладает противовоспалительной

Таблица 2. Бензофурановые ФОП-продукты

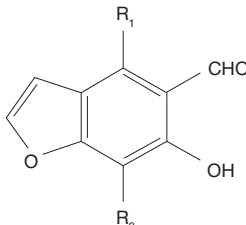
	$R_1 = H$ $R_2 = H$	$R_1 = H$ $R_2 = OMe$	$R_1 = OMe$ $R_2 = H$
	4	5	6
Фармакологический эффект	$P_a / P_i$		
Агонист апоптоза	0,884/0,005	0,906/0,004	0,702/0,015
Противоопухолевый	0,565/0,053	0,635/0,038	0,613/0,042
Цитостатический	–	0,532/0,021	–
Антимутагенный	0,780/0,004	0,724/0,005	0,741/0,005
Радиопротекторный	0,662/0,012	–	0,746/0,008
Аналептический	0,580/0,021	0,532/0,027	–
Противогрибковый	0,531/0,026	0,548/0,024	–
Антимикобактериальный	0,510/0,180	–	–
Вазопротекторный	0,732/0,009	0,550/0,028	0,523/0,034
Нейропротекторный	0,640/0,058	–	0,586/0,080
Кардиопротекторный	0,539/0,008	–	–

Таблица 3. Тукарезол

Фармакологический эффект	$P_a / P_i$
Противовоспалительный (кишечник)	0,800/0,004
Лечение серповидной клеточной анемии	0,738/0,002
Антинейротоксический	0,677/0,035
Нейропротекторный	0,662/0,039
Антипротозойный (лейшмании)	0,608/0,004
Лечение предопухолевых состояний	0,556/0,026
Цитопротекторный	0,533/0,020
Радиопротекторный	0,502/0,022

активностью в кишечнике, а также нейротропными защитным эффектами (антинейротоксическая и нейропротекторная активности).

Неожиданно богатой оказалась палитра прогнозируемых фармакологических эффектов для фурукумариновой кислоты (табл. 4). Предполагается, что, действуя преимущественно в качестве ловушки свободных радикалов и способствуя сохранению целостности мембран, фурукумариновая кислота обеспечивает широкий спектр защитных эффектов (в том числе антимуtagenный, нейропротекторный, вазопротекторный, радиопротекторный, антиканцерогенный и другие эффекты), влияет на процессы метаболизма (регулирует метаболизм липидов, снижает содержание холестерина в крови), обеспечивает противовоспалительную и антиоксидантную защиту, а также обладает потенциальной терапевтической активностью в дерматологии (в частности, антипсориатической) за

счет противовоспалительного эффекта и регуляции ферментативной деятельности.

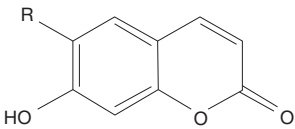
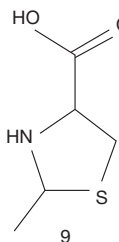
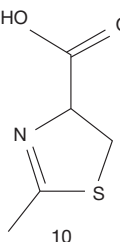
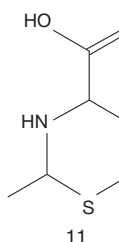
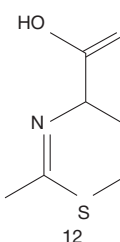
#### Прогноз фармакологических эффектов циклоаддуктов ОГФ-содержащих продуктов фотоокисления псоралена с аминотиолами

В табл. 5 и 6 представлен прогноз фармакологических эффектов циклоаддуктов с аминотиолами для ОГФ-содержащих продуктов фотоокисления псоралена. Взаимодействие кумаринового соединения 1 с цистеином и гомоцистеином приводит к формированию соответствующих циклоаддуктов (см. табл. 5, соединения 9 и 11). Окисление соединений 9 и 11 приводит к получению соединений 10 и 12 соответственно (см. табл. 5). По аналогии, соответствующие циклоаддукты могут быть получены для бензофуранового соединения 4 (см. табл. 6, соединения 13–16).

Таблица 4. Фурукумариновая кислота

Фармакологический эффект	$P_a / P_i$
Антимуtagenный	0,896/0,002
Нейропротекторный	0,754/0,018
Вазопротекторный	0,720/0,006
Регуляция метаболизма липидов	0,676/0,012
Антигиперхолестеринемический	0,669/0,011
Радиопротекторный	0,643/0,011
Противораковый	0,631/0,013
Жаропонижающий	0,566/0,009
Дерматологический	0,530/0,028
Противовоспалительный	0,523/0,033
Антиоксидантный	0,520/0,006

Таблица 5. Циклоаддукты кумариновых ФОП-продуктов с аминотиолами

	R			
	 9	 10	 11	 12
Фармакологический эффект	$P_a / P_i$			
Радиопротекторный	0,857/0,003	0,569/0,015	0,800/0,005	0,513/0,021
Лечение рака предстательной железы	0,734/0,004	–	0,640/0,005	–
Противоопухолевый (меланома)	0,661/0,004	–	0,540/0,006	–
Противоопухолевый (рак печени)	0,563/0,003	–	0,503/0,003	–
Лечение заболеваний печени	0,700/0,004	0,683/0,004	0,555/0,008	0,614/0,005
Спазмолитический (мочевыводящие пути)	0,525/0,021	0,577/0,013	0,512/0,023	0,563/0,015
Лечение нейродегенеративных заболеваний	–	0,528/0,027	–	0,603/0,016
Дерматологический	–	0,522/0,029	–	0,585/0,019

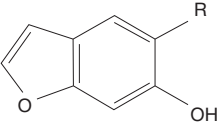
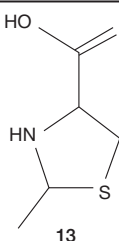
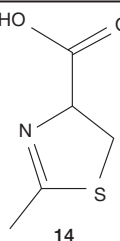
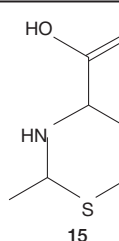
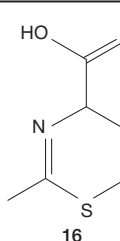
Согласно проведенному анализу, соединения 9–15 могут выступать в роли радиопротекторов, причем данное свойство, связываемое со способностью перехватывать свободные радикалы, более вероятно для неокисленных форм циклоаддуктов (соединения 9, 11, 13, 15). Кроме того, предполагается, что соединения 9, 11, 13 и 15 (но не их соответствующие окисленные формы 10, 12, 14 и 16) обладают противоопухолевой активностью для целого ряда злокачественных опухолей, таких как рак предстательной железы, рак печени и меланома. Для всех соединений 9–16 предсказана активность в роли гепатопротектора, что может быть использовано при лечении заболеваний печени. Как и в случае с радиопротекторными свойствами, этот фармакологический эффект связывают с активностью соединений 9–16 в качестве химического восстановителя и ловушек свободных радикалов. По прогнозу, кумариновые циклоаддукты 9–12 обладают спазмолитической активностью, реализующейся в мочевыводящих путях, тогда как для бензофурановых

циклоаддуктов 13–16 такая активность не предполагается. Все окисленные формы циклоаддуктов (соединения 10, 12, 14 и 16) предположительно применимы для лечения нейродегенеративных заболеваний, а соединения 10 и 12 потенциально активны и в дерматологии.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Описанные результаты исследования хорошо согласуются с данными, известными из литературы. Ранее было обнаружено, что соединения 1 и 2 являются индукторами апоптоза [16], а производные псораленов способны ингибировать активность фактора транскрипции NF- $\kappa$ B [29]. Кроме того, предсказанная для соединений 1–6 противоопухолевая и цитостатическая активность может объяснять некоторые полученные ранее эффекты ФОП и отдельных фотопродуктов. Так, в опытах *in vivo* с привитой мышам лимфомой EL-4, моделирующей кожную Т-клеточную лимфому человека, для ФОП была показана

Таблица 6. Циклоаддукты бензофурановых ФОП-продуктов с аминотиолами

	R			
	 13	 14	 15	 16
Фармакологический эффект	$P_a / P_i$			
Радиопротекторный	0,843/0,004	0,531/0,019	0,783/0,005	–
Лечение рака предстательной железы	0,710/0,004	–	0,621/0,006	–
Противоопухолевый (меланома)	0,670/0,004	–	0,549/0,005	–
Противоопухолевый (рак печени)	0,579/0,003	–	0,510/0,003	–
Лечение заболеваний печени	0,689/0,004	0,672/0,004	0,542/0,008	0,601/0,005
Лечение нейродегенеративных заболеваний	–	0,658/0,011	–	0,707/0,008

противоопухолевая активность [10], а бензофурановый ФОП-продукт псоралена (соединение 4) обладал тератогенным эффектом в опытах на эмбрионах *Xenopus laevis* [15].

Кроме того, ранее было показано, что тукарезол, использованный в настоящем исследовании в качестве соединения сравнения с известным иммуностимулирующим действием, обладает антипротозойной активностью в модели экспериментального висцерального лейшманиоза [30], а также применим для терапии больных серповидноклеточной анемией [31]. В этой связи примечательно, что возможность использования для лечения  $\beta$ -талассемии и серповидноклеточной анемии была также описана для продуктов фотоокисления псораленов [17].

Особый интерес представляет неожиданное обнаружение у фурукумариновой кислоты потенциальной терапевтической активности в дерматологии (в частности, антипсориазической) за счет противовоспалительного действия и регуляции ферментативной активности. Последние два вида биологической активности характерны для коричневых кислот [32], и предположительно реализуются фурукумариновой кислотой за счет перехвата свободных радикалов, ингибирования липоксигеназы и факторов транскрипции и сохранения целостности мембран.

Терапевтической активностью в дерматологии потенциально обладают и окисленные формы кумариновых циклоаддуктов с аминотиолами. Большой интерес представляет предсказанная нами активность ОГФ-содержащих продуктов фотоокисления псоралена в отношении гомоцистеина. Известно, что повышенное содержание и/или накопление гомоцистеина может приводить к ряду патологических состояний (болезни Альцгеймера,

сенильной деменции, сосудистым нарушениям, нефропатии и др.) [33]. Поэтому предсказанная терапевтическая активность окисленных форм циклоаддуктов, возникающая в результате взаимодействия ОГФ-содержащих продуктов фотоокисления псоралена и гомоцистеина, может определять перспективу применения данных соединений для лечения вышеуказанных патологий.

## Выводы

В настоящей работе с использованием программ PASS и PharmaExpert была осуществлена хемоинформационная оценка потенциальных фармакологических эффектов и их возможных механизмов действия ранее идентифицированных продуктов фотоокисления псораленов и их циклоаддуктов с аминотиолами. Ряд предсказанных фармакологических эффектов подтверждают результаты ранних исследований, что указывает на высокую прогностическую эффективность проведенного анализа. В контексте актуального применения псораленов при лечении целого ряда дерматозов и пролиферативных патологий полученные данные свидетельствуют о возможном участии продуктов фотоокисления псораленов в реализации терапевтических эффектов PUVA-терапии или фотофереза, а потому представляют особую ценность. Отдельный интерес вызывает неожиданно широкий спектр фармакологических эффектов, обнаруженный для фурукумариновой кислоты и циклоаддуктов кумариновых и бензофурановых продуктов фотоокисления псоралена с аминотиолами и позволяющий определить новые направления исследований в области терапевтического применения псораленов.

## Литература

1. Bruni R, Barreca D, Protti M, Brighenti V, Righetti L, Anceschi L, et al. Botanical Sources, Chemistry, Analysis, and Biological Activity of Furanocoumarins of Pharmaceutical Interest. *Molecules*. 2019; 24 (11): 2163. DOI: 10.3390/molecules24112163.
2. Trautinger F, Just U, Knobler R. Photopheresis (extracorporeal photochemotherapy). *Photochem Photobiol Sci*. 2013; 12 (1): 22–8. DOI: 10.1039/c2pp25144b.
3. Racz E, Prens EP. Phototherapy and photochemotherapy for psoriasis. *Dermatol Clin*. 2015; 33 (1): 79–89. DOI: 10.1016/j.det.2014.09.007.
4. Bae JM, Jung HM, Hong BY, Lee JH, Choi WJ, Lee JH, et al. Phototherapy for Vitiligo: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Dermatol*. 2017; 153 (7): 666–674. DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.0002.
5. Chaowattapanit S, Choonhakam C, Foocharoen C, Julanon N. Phototherapy in systemic sclerosis: Review. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2017; 33 (6): 296–305. DOI: 10.1111/phpp.12331.
6. Guitart J. Psoralen Plus UV-A Therapy in the 21st Century: Use It or Lose It. *JAMA Dermatol*. 2019; 155 (5): 529–31. DOI: 10.1001/jamadermatol.2018.5844.
7. Richard EG. The Science and (Lost) Art of Psoralen Plus UVA Phototherapy. *Dermatol Clin*. 2020; 38 (1): 11–23. DOI: 10.1016/j.det.2019.08.002.
8. Vieyra-Garcia PA, Wolf P. Extracorporeal Photopheresis: A Case of Immunotherapy Ahead of Its Time. *Transfus Med Hemother*. 2020; 47 (3): 226–35. DOI: 10.1159/000508479.
9. Torres AE, Lyons AB, Hamzavi IH, Lim HW. Role of phototherapy in the era of biologics. *J Am Acad Dermatol*. 2020; S0190-9622 (20): 30711–8. DOI: 10.1016/j.jaad.2020.04.09.
10. Potapenko AY, Kyagova AA, Bezdetnaya LN, Lysenko EP, Chernyakhovskaya IYu, Bekhalo VA, et al. Products of psoralen photooxidation possess immunomodulative and antileukemic effects. *Photochem Photobiol*. 1994; 60 (2): 171–4. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1994.tb05086.x.
11. Пятницкий И. А., Павлова С. И., Албегова Д. З., Козлов И. Г., Потепенко А. Я., Кягова А. А. Супрессорное действие продуктов фотоокисления псоралена на реакцию контактной чувствительности у мышей: ингибирование пролиферации и индукция апоптоза лимфоцитов. *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2013; 6: 59–63.
12. Honda T, Egawa G, Grabbe S, Kabashima K. Update of immune events in the murine contact hypersensitivity model: toward the understanding of allergic contact dermatitis. *J Invest Dermatol*. 2013; 133 (2): 303–15. DOI: 10.1038/jid.2012.284.
13. Caffieri S. Furocoumarin photolysis: chemical and biological aspects. *Photochem Photobiol Sci*. 2002; 1 (3): 149–57. DOI: 10.1039/b107329j.
14. Potapenko AY, Malakhov MV, Kyagova AA. Photobiophysics of furocoumarins. *Biophysics*. 2004; 49 (2): 307–24.
15. Marley KA, Larson RA, Davenport R. Alternative mechanisms of psoralen phototoxicity. *ACS Symposium Series*. 1995; 616 (15): 179–88. DOI: 10.1021/bk-1995-0616.ch015.
16. Caffieri S, Di Lisa F, Bolesani F, Facco M, Semenzato G, Dall'Acqua F, et al. The mitochondrial effects of novel apoptogenic molecules generated by psoralen photolysis as a crucial mechanism in PUVA therapy. *Blood*. 2007; 109 (11): 4988–94. DOI: 10.1182/blood-2006-08-037192.
17. Viola G, Salvador A, Vedaldi D, Dall'Acqua F, Bianchi N, Zuccato C, et al. Differentiation and apoptosis in UVA-irradiated cells treated with furocoumarin derivatives. *Ann NY Acad Sci*. 2009; 1171: 334–44. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04894.x.

18. Филимонов Д. А., Лагунин А. А., Глоризова Т. А., Рудик А. В., Дружиловский Д. С., Погодин П. В. и др. Предсказание спектров биологической активности органических соединений используя веб-ресурс PASS Online. Химия гетероциклических соединений. 2014; 50 (3): 483–99. DOI: 10.1007/s10593-014-1496-1.
19. Филимонов Д. А., Дружиловский Д. С., Лагунин А. А., Глоризова Т. А., Рудик А. В. и др. Компьютерное прогнозирование спектров биологической активности химических соединений: возможности и ограничения. Biomedical Chemistry: Research and Methods. 2018; 1 (1): e00004. DOI: 10.18097/BMCRM00004.
20. Filimonov D, Poroikov V, Borodina Yu, Glorizova T. Chemical Similarity Assessment through Multilevel Neighborhoods of Atoms: Definition and Comparison with the Other Descriptors. J Chem Inf Comput Sci. 1999; 39 (4): 666–70. DOI: 10.1021/ci980335o.
21. Lagunin AA, Goel RK, Gawande DY, Pahwa P, Glorizova TA, Dmitriev AV, et al. Chemo- and bioinformatics resources for in silico drug discovery from medicinal plants beyond their traditional use: a critical review. Nat Prod Rep. 2014; 31 (11): 1585–611. DOI: 10.1039/c4np00068d.
22. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. Nucleic Acids Res. 2019; 47 (D1): D1102–9. DOI: 10.1093/nar/gky1033.
23. Willett P. Similarity-based virtual screening using 2D fingerprints. Drug Discov Today. 2006; 11 (23–24): 1046–53.
24. Chen H, Hall S, Zheng B, Rhodes J. Potentiation of the Immune System by Schiff Base-Forming Drugs. BioDrugs. 1997; 7 (3): 217–31. DOI: 10.2165/00063030-199707030-00005.
25. Kyagova AA, Mansurova GV, Kozir LA, Ponomarev GV, Pavlov VY, Konstantinov IO, et al. Systemic suppression of the contact hypersensitivity by the products of protoporphyrin IX photooxidation. Photochem Photobiol. 2005; 81 (6): 1380–5. DOI: 10.1562/2005-04-26-RA-500.
26. Nevezhin EV, Vlasova NV, Pyatnitskiy IA, Lysenko EP, Malakhov MV. On the mechanism of erythrocyte hemolysis induced by photooxidized psoralen. Biochemistry (Moscow). 2015; 80 (6): 763–8. DOI: 10.1134/S0006297915060115.
27. Yin C, Huo F, Zhang J, Martínez-Mañez R, Yang Y, Lv H, et al. Thiol-addition reactions and their applications in thiol recognition. Chem Soc Rev. 2013; 42 (14): 6032–59. DOI: 10.1039/c3cs60055f.
28. Patil SA, Prabhakara CT, Halasangi BM, Toragalmath SS, Badami PS. DNA cleavage, antibacterial, antifungal and anthelmintic studies of Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes of coumarin Schiff bases: synthesis and spectral approach. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2015; 137: 641–51. DOI: 10.1016/j.saa.2014.08.028.
29. Marzaro F, Lampronti I, Borgatti M, Manzini P, Gambari R, Chilin A. Psoralen derivatives as inhibitors of NF κB DNA interaction — the critical role of the furan ring. Mol Divers. 2015; 19 (3): 551–61. DOI: 10.1007/s11030-015-9586-2.
30. Smith AC, Yardley V, Rhodes J, Croft SL. Activity of the novel immunomodulatory compound tucaresol against experimental visceral leishmaniasis. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44 (6): 1494–8. DOI: 10.1128/aac.44.6.1494-1498.2000.
31. Arya R, Rolan PE, Wootton R, Posner J, Bellingham AJ. Tucaresol increases oxygen affinity and reduces haemolysis in subjects with sickle cell anaemia. Br J Haematol. 1996; 93 (4): 817–21. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1996.d01-1744.x.
32. Sova M. Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. Mini Rev Med Chem. 2012; 12 (8): 749–67. DOI: 10.2174/138955712801264792.
33. Zaric BL, Obradovic M, Bajic V, Haidara MA, Jovanovic M, Isenovic ER. Homocysteine and Hyperhomocysteinaemia. Curr Med Chem. 2019; 26 (16): 2948–61. DOI: 10.2174/0929867325666180313105949.

## References

1. Bruni R, Barreca D, Protti M, Brighenti V, Righetti L, Anceschi L, et al. Botanical Sources, Chemistry, Analysis, and Biological Activity of Furanocoumarins of Pharmaceutical Interest. Molecules. 2019; 24 (11): 2163. DOI: 10.3390/molecules24112163.
2. Trautinger F, Just U, Knobler R. Photopheresis (extracorporeal photochemotherapy). Photochem Photobiol Sci. 2013; 12 (1): 22–8. DOI: 10.1039/c2pp25144b.
3. Racz E, Prens EP. Phototherapy and photochemotherapy for psoriasis. Dermatol Clin. 2015; 33 (1): 79–89. DOI: 10.1016/j.det.2014.09.007.
4. Bae JM, Jung HM, Hong BY, Lee JH, Choi WJ, Lee JH, et al. Phototherapy for Vitiligo: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Dermatol. 2017; 153 (7): 666–674. DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.0002.
5. Chaowattanapanit S, Choonhakarn C, Foocharoen C, Julanon N. Phototherapy in systemic sclerosis: Review. Photodermatol Photoimmunol Photomed. 2017; 33 (6): 296–305. DOI: 10.1111/phpp.12331.
6. Guitart J. Psoralen Plus UV-A Therapy in the 21st Century: Use It or Lose It. JAMA Dermatol. 2019; 155 (5): 529–31. DOI: 10.1001/jamadermatol.2018.5844.
7. Richard EG. The Science and (Lost) Art of Psoralen Plus UVA Phototherapy. Dermatol Clin. 2020; 38 (1): 11–23. DOI: 10.1016/j.det.2019.08.002.
8. Vieyra-Garcia PA, Wolf P. Extracorporeal Photopheresis: A Case of Immunotherapy Ahead of Its Time. Transfus Med Hemother. 2020; 47 (3): 226–35. DOI: 10.1159/000508479.
9. Torres AE, Lyons AB, Hamzavi IH, Lim HW. Role of phototherapy in the era of biologics. J Am Acad Dermatol. 2020; S0190-9622 (20): 30711–8. DOI: 10.1016/j.jaad.2020.04.09.
10. Potapenko AY, Kyagova AA, Bezdetsnaya LN, Lysenko EP, Chernyakhovskaya IYu, Bekhalo VA, et al. Products of psoralen photooxidation possess immunomodulative and antileukemic effects. Photochem Photobiol. 1994; 60 (2): 171–4. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1994.tb05086.x.
11. Pyatnitskiy IA, Pavlova SI, Albegova DZ, Kozlov IG, Potapenko AY, Kyagova AA. Suppressive effects of psoralene photooxidation products on contact sensitivity reaction in mice: lymphocyte proliferation inhibition and apoptosis induction. Russian journal of skin and venereal diseases. 2013; 6: 59–63. Russian.
12. Honda T, Egawa G, Grabbe S, Kabashima K. Update of immune events in the murine contact hypersensitivity model: toward the understanding of allergic contact dermatitis. J Invest Dermatol. 2013; 133 (2): 303–15. DOI: 10.1038/jid.2012.284.
13. Caffieri S. Furocoumarin photolysis: chemical and biological aspects. Photochem Photobiol Sci. 2002; 1 (3): 149–57. DOI: 10.1039/b107329j.
14. Potapenko AY, Malakhov MV, Kyagova AA. Photobiophysics of furocoumarins. Biophysics. 2004; 49 (2): 307–24.
15. Marley KA, Larson RA, Davenport R. Alternative mechanisms of psoralen phototoxicity. ACS Symposium Series. 1995; 616 (15): 179–88. DOI: 10.1021/bk-1995-0616.ch015.
16. Caffieri S, Di Lisa F, Bolesani F, Facco M, Semenzato G, Dall'Acqua F, et al. The mitochondrial effects of novel apoptogenic molecules generated by psoralen photolysis as a crucial mechanism in PUVA therapy. Blood. 2007; 109 (11): 4988–94. DOI: 10.1182/blood-2006-08-037192.
17. Viola G, Salvador A, Vedaldi D, Dall'Acqua F, Bianchi N, Zuccato C, et al. Differentiation and apoptosis in UVA-irradiated cells treated with furocoumarin derivatives. Ann NY Acad Sci. 2009; 1171: 334–44. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04894.x.
18. Filimonov DA, Lagunin AA, Glorizova TA, Rudik AV, Druzhilovskij DS, Pogodin PV i dr. Predskazanie spektrov biologicheskoy aktivnosti organicheskikh soedinenij ispol'zuja veb-resurs PASS Online. Himija geterociklicheskih soedinenij. 2014; 50 (3): 483–99. DOI: 10.1007/s10593-014-1496-1.
19. Filimonov DA, Druzhilovskii DS, Lagunin AA, Glorizova TA, Rudik AV, Dmitriev AV, Pogodin PV, Poroikov VV. Computer prediction of the spectra of biological activity of chemical compounds: possibilities and limitations. Biomedical Chemistry: Research and Methods.



- 2018; 1 (1): e00004. DOI: 10.18097/BMCRM00004.
20. Filimonov D, Poroikov V, Borodina Yu, Glorizova T. Chemical Similarity Assessment through Multilevel Neighborhoods of Atoms: Definition and Comparison with the Other Descriptors. *J Chem Inf Comput Sci*. 1999; 39 (4): 666–70. DOI: 10.1021/ci980335o.
  21. Lagunin AA, Goel RK, Gawande DY, Pahwa P, Glorizova TA, Dmitriev AV, et al. Chemo- and bioinformatics resources for in silico drug discovery from medicinal plants beyond their traditional use: a critical review. *Nat Prod Rep*. 2014; 31 (11): 1585–611. DOI: 10.1039/c4np00068d.
  22. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic Acids Res*. 2019; 47 (D1): D1102–9. DOI: 10.1093/nar/gky1033.
  23. Willett P. Similarity-based virtual screening using 2D fingerprints. *Drug Discov Today*. 2006; 11 (23–24): 1046–53.
  24. Chen H, Hall S, Zheng B, Rhodes J. Potentiation of the Immune System by Schiff Base-Forming Drugs. *BioDrugs*. 1997; 7 (3): 217–31. DOI: 10.2165/00063030-199707030-00005.
  25. Kyagova AA, Mansurova GV, Kozir LA, Ponomarev GV, Pavlov VY, Konstantinov IO, et al. Systemic suppression of the contact hypersensitivity by the products of protoporphyrin IX photooxidation. *Photochem Photobiol*. 2005; 81 (6): 1380–5. DOI: 10.1562/2005-04-26-RA-500.
  26. Nevezhin EV, Vlasova NV, Pyatnitskiy IA, Lysenko EP, Malakhov MV. On the mechanism of erythrocyte hemolysis induced by photooxidized psoralen. *Biochemistry (Moscow)*. 2015; 80 (6): 763–8. DOI: 10.1134/S0006297915060115.
  27. Yin C, Huo F, Zhang J, Martínez-Máñez R, Yang Y, Lv H, et al. Thiol-addition reactions and their applications in thiol recognition. *Chem Soc Rev*. 2013; 42 (14): 6032–59. DOI: 10.1039/c3cs60055f.
  28. Patil SA, Prabhakara CT, Halasangi BM, Toragalmath SS, Badami PS. DNA cleavage, antibacterial, antifungal and anthelmintic studies of Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes of coumarin Schiff bases: synthesis and spectral approach. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2015; 137: 641–51. DOI: 10.1016/j.saa.2014.08.028.
  29. Marzaro F, Lampronti I, Borgatti M, Manzini P, Gambari R, Chilin A. Psoralen derivatives as inhibitors of NF κB DNA interaction — the critical role of the furan ring. *Mol Divers*. 2015; 19 (3): 551–61. DOI: 10.1007/s11030-015-9586-2.
  30. Smith AC, Yardley V, Rhodes J, Croft SL. Activity of the novel immunomodulatory compound tucaresol against experimental visceral leishmaniasis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44 (6): 1494–8. DOI: 10.1128/aac.44.6.1494-1498.2000.
  31. Arya R, Rolan PE, Wootton R, Posner J, Bellingham AJ. Tucaresol increases oxygen affinity and reduces haemolysis in subjects with sickle cell anaemia. *Br J Haematol*. 1996; 93 (4): 817–21. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1996.d01-1744.x.
  32. Sova M. Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. *Mini Rev Med Chem*. 2012; 12 (8): 749–67. DOI: 10.2174/138955712801264792.
  33. Zaric BL, Obradovic M, Bajic V, Haidara MA, Jovanovic M, Isenovic ER. Homocysteine and Hyperhomocysteinaemia. *Curr Med Chem*. 2019; 26 (16): 2948–61. DOI: 10.2174/0929867325666180313105949.