

УДК 577.24

НОБИЛЕТИН: НАПРАВЛЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ЦИРКАДНЫЕ РИТМЫ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ НОРМАЛЬНОЙ БИОЭНЕРГЕТИКИ И ЗДОРОВОГО СТАРЕНИЯ

Обзор

© 2020 Е. Милейковская*, С.-Х. Ёо, У. Доухан, Ж. Чен*

Department of Biochemistry and Molecular Biology, The University of Texas Health Science Center at Houston, 6431 Fannin St., Houston, TX 77030; E-mail: eugenia.mileykovskaya@uth.tmc.edu; Zheng.chen.1@uth.tmc.edu

Поступила 06.07.2020

После доработки 21.08.2020

Принята к публикации 21.08.2020

Циркадные ритмы являются удивительным биологическим механизмом, управляющим в течение суток процессами деятельности живого организма. В последние годы в этой области появилась тема, вызывающая повышенный интерес. Это соединения, способные влиять на ход биологических часов, в число которых входят небольшие молекулы как синтетические, так и природного происхождения. Большой интерес вызывает возможность их практического применения в моделях болезней. Нобилетин является природным флавоноидом, который, в основном, содержится в кожуре цитрусовых плодов. В результате проведения обширных исследований было показано, что нобилетин обладает широким спектром биологической активности. Однако механизм его действия до сих пор неизвестен. Недавно с помощью объективного химического скрининга нами было показано, что нобилетин воздействует на часовую механизм, активируя временной механизм контроля нижележащих процессов внутри клетки и в организме в целом. С помощью животных моделей различных заболеваний и процесса старения были показаны возможные полезные последствия воздействия нобилетина на биоэнергетику клеток как периферической нервной системы, так и мозга, которые могут способствовать здоровому старению. С учетом отличных показателей безопасности нобилетин представляет собой многообещающую кандидатную молекулу для нутрицевтики и хронотерапии в борьбе с хроническими и возрастными нейродегенеративными заболеваниями.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нобилетин, циркадные ритмы, рецепторы ROR, метаболизм, митохондрии, здоровое старение.

DOI: 10.31857/S0320972520120076

ВВЕДЕНИЕ

Нобилетин (Nobiletin, NOB; 5,6,7,8,3',4'-hexamethoxyflavone; 5,6,7,8,3',4'-гексаметоксифлавоноид) является полиметоксилированным флавоноидом природного происхождения (PMF – polymethoxylated flavonoid), который обнаруживается во многих цитрусовых фруктах (особенно в их кожуре). Как и в случае многих других флавоноидов, сначала была обнаружена его противогрибковая активность [1]. За прошедшие годы были проведены сотни лабораторных исследований, а также клиническое тести-

рование продуктов питания, содержащих нобилетин, например, апельсиновый сок или экстракты цитрусовых, которые показали широкий спектр активности нобилетина против окислительного стресса, воспалительных процессов, прогрессирования рака, метаболических и сердечно-сосудистых заболеваний, старения и возрастных нейродегенеративных процессов [2–5]. Интерес к нобилетину отчасти обусловлен его известными показателями безопасности и фармакокинетики [5]. Нобилетин часто встречается в нашей обычной пище, привычных продуктах (например, апельсиновый сок, кум-

Принятые сокращения: AD (Alzheimer's disease) – болезнь Альцгеймера; ALT (alanine aminotransferase) – аланинаминотрансфераза; VLDL (very low density lipoprotein) – липопротеины очень низкой плотности; SC (supernatant) – супернатант; CI (complex I) – комплекс I; CIII (complex III) – комплекс III; CIV (complex IV) – комплекс IV; CL (cardiolipin) – кардиолипин; C/EBP, CCAAT (cytosine-cytosine-adenosine-adenosine-thymidine)-enhancer-binding proteins, CCAAT-энхансер-связывающие белки; *db/db* mice – мыши линии *db/db*; mice model for type 2 diabetes – мышьяная модель диабета 2 типа; LDL (low-density lipoprotein) – липопротеин низкой плотности; NOB (Nobiletin) – нобилетин; PMF (polymethoxylated flavonoid) – полиметоксилированный флавоноид; SCN (suprachiasmatic nuclei) – супрахиазматические ядра; TRF (time-restricted feeding) – ограниченное по времени кормление.

* Адресат для корреспонденции.

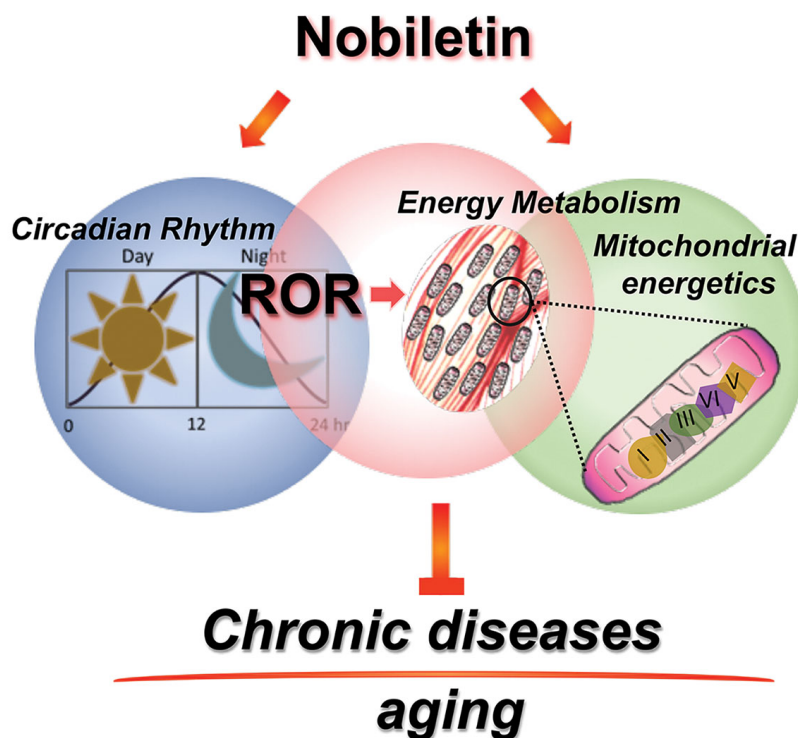
кват, цедра, мармелад) и в традиционной медицине. Он легко усваивается клетками. Благодаря метоксильным группам NOB показывает отличные показатели метаболической стабильности и транспорта через мембраны, что, в конечном итоге, обуславливает его хорошую доступность при пероральном употреблении в сравнении с другими флавоноидами, содержащими небольшое количество метоксильных групп или вообще их не имеющих [2, 4]. Более того, было обнаружено, что некоторые продукты метаболизма NOB обладают биологической активностью со сложной фармакокинетикой. Кроме использования методов, химического синтеза нобилетин, в основном, получают в результате экстракции, например, с использованием этанола [6]. В последние годы были опубликованы несколько прекрасных обзоров, в которых рассмотрены биологические свойства нобилетина и возможности его применения при различных заболеваниях [2–4]. В настоящем мини-обзоре авторы обсуждают недавно обнаруженный способ его действия, а именно, в качестве молекулы, усиливающей действие биологических часов [7] и, в частности, как этот механизм может способствовать возникновению отдельных характерных особенностей нобилетина, направленных против метаболических нарушений и старения.

НОБИЛЕТИН КАК МОДУЛЯТОР ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ

Недавно проведенные исследования, в том числе, и в наших лабораториях, подчеркивают роль нобилетина как модулятора циркадных ритмов. Эти биологические часы развиты в различных биологических видах (от цианобактерий до человека) с целью предвидения и адаптации к изменениям окружающей среды в результате ежедневного вращения нашей планеты [8, 9]. Если у фотосинтетических бактерий эти часы способствуют разделению фотосинтеза и процесса фиксации азота, который особо чувствителен к кислороду, то в клетках млекопитающих различные метаболические программы также разделены во времени. Например, гликолиз преобладает в активной фазе жизнедеятельности, в то время как глюконеогенез активен во время сна [10]. Теперь ясно, что все аспекты внутриклеточных, физиологических и поведенческих функций нашего организма, от периферии до мозга, находятся под управлением биологических часов. Такое центральное управление осуществляется сетью молекулярных осцилляторов, присутствующих практически в

каждой клетке [9]. В то время как ~ 15 ключевых генов формируют переплетенные петли из обратных связей, которые в основном направлены на осуществление контроля за экспрессией генов, то существует множество путей входа и выхода, сосредоточенных на осцилляторе [11]. В результате подавляющее большинство генов экспрессируется в колебательном режиме, по крайней мере, в одной ткани или одном типе клеток [12, 13]. Внутри этой генетической сети осциллирующая внутриклеточная экспрессия генов на уровне ткани и всего организма координируется гормонами и сигналами нервной системы, многие из которых исходят от главного центра, расположенного в мозге, а именно от супрахиазматических ядер гипоталамуса (SCN) [14]. Учитывая большую регуляторную роль биологических часов в физиологических условиях и при патологиях, новой темой, представляющей большой интерес, является выявление фармакологических агентов, которые могли бы модулировать активность этих часов [15–17].

Впервые нобилетин был идентифицирован в качестве модулятора циркадных ритмов в результате проведения высокопроизводительного скрининга, когда репортерные фибробласты, экспрессирующие люциферазу, подвергали слиянию с PER, являющимся основным компонентом центральной циркадной системы [18]. Близкий аналог нобилетина, тангеретин (также являющийся флавоноидом природного происхождения с пятью метоксильными группами), демонстрировал сходные эффекты и усиливал репортерные ритмы, в то время как не имеющие метоксильные группы нарингин и нарингенин были неактивны. Соответственно, было обнаружено, что осцилляции транскрипта *Per2* и белка усиливаются в фибробластах дикого типа, не содержащих репортер, при их обработке нобилетином. В дополнение к своему первичному влиянию на амплитуду, нобилетин также изменял продолжительность и фазу, два других собственных параметра биологических часов [18, 19]. Основной реальный прогресс был достигнут тогда, когда было показано, что нобилетин прямо и эффективно связывается с ядерными рецепторами ROR α /ROR γ [18], основными компонентами вторичной петли осциллятора, определяющими стабильность и надежность функционирования циркадных ритмов. На молекулярном и клеточном уровне была подтверждена роль нобилетина как агониста этих ядерных рецепторов. Это ключевой результат, который впервые демонстрирует непосредственную белковую мишень для действия нобилетина и раскрывает молекулярную основу его циркадных функций (рисунок).



Нобилетин активирует циркадную систему для способствования нормальной биоэнергетике, метаболизму и здоровому старению. НОВ представляет собой природный флавоноид, который способен активировать рецепторы ROR в циркадном осцилляторе. НОВ усиливает циркадные ритмы *in vitro* и *in vivo* и оказывает благотворное влияние на метаболические нарушения и на системном уровне способствует здоровому старению. Биоэнергетика митохондрий может быть важным внутриклеточным механизмом, лежащим в основе эффектов нобилетина. (С цветным вариантом рисунка можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>)

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И СТАРЕНИЯ

В ряде предыдущих исследований была показана положительная роль нобилетина при метаболическом синдроме и сопутствующих заболеваниях [4, 20, 21]. Основываясь на знании того, что нобилетин специфично активирует циркадные ритмы через RORs, в нескольких исследованиях были получены данные, дающие новое понимание его функции как способствованию метаболизму. В вышеупомянутой статье [18], используя в качестве животных моделей метаболической болезни страдающих ожирением мышей вследствие приема пищи, обогащенной жирами, и мышей линии *db/db*, у которых отсутствует рецептор лептина, мы показали, что введение мышам нобилетина через пероральный желудочный зонд замедляет рост массы тела, несмотря на сопоставимый объем потребляемой пищи, и улучшает энергетический гомеостаз. Также заметно уменьшился стеатоз печени и улучшилась экспрессия генов метаболизма. Эти метаболические эффекты коррелируют с повышенным

уровнем активности мышей в ночное время (активная фаза) и колебаний экспрессии генов клеток печени, свидетельствующих об усилении поведенческих и молекулярных амплитуд соответственно. Примечательно, что эти эффекты зависят от функциональных циркадных часов, поскольку мутантные мыши *Clock Δ 19* с серьезно нарушенными циркадными ритмами в значительной степени устойчивы к тем метаболическим преимуществам, которые дает обработка нобилетином. Это контрастирует с эффектами от режима, ограниченного по времени кормления (TRF). TRF – это парадигма прерывистого голодания, которая ограничивает прием пищи активной фазой. Было обнаружено, что такой режим питания оказывает сильное профилактическое и лечебное действие против метаболических нарушений [22, 23]. В отличие от нобилетина, TRF остается эффективным у мышей с отсутствием циркадных ритмов [24], предполагая, что TRF воздействует на метаболические и поведенческие ритмы, чтобы замаскировать колебания, управляемые биологическими часами.

Известно, что старение сопровождается ослаблением циркадных ритмов, включая пони-

женную амплитуду температуры тела и секрецию гормонов в течение дня и фрагментированный сон ночью [25–27]. Нарушение циркадных ритмов вызывает ускоренное старение и повышает смертность [28–30]. Нобилетин не оказывал заметного влияния на нормальных молодых мышей, потреблявших обычную пищу. В то же время у старых мышей с нарушениями работы циркадных часов, нобилетин был способен улучшать их поведение и метаболизм, что было видно на гомеостазе глюкозы и кручении колес [31], в соответствии с представлениями, что нобилетин поддерживает работу поврежденных часов. Примечательно, что нобилетин оказался способен продлевать среднюю продолжительность жизни мышей, получавших обычную диету, более чем на один месяц при 50%-ой выживаемости. Когда старым мышам дополнительно давали пищу с высоким содержанием жиров, нобилетин способствовал улучшению ряда параметров здорового старения, включая энергетический обмен, консолидацию сна, маркеры воспаления и физическую работоспособность, о чем говорили результаты проверки силы захвата, бега в колесе и упражнений на беговой дорожке. Эти результаты, полученные на мышах, согласуются с недавно опубликованными анти-возрастными эффектами нобилетина у червей [32]. Было обнаружено, что в соответствии с обновленной физической активностью, экспрессия генов циркадных часов в скелетных мышцах была активирована [31].

Также были отмечены другие метаболические преимущества, связанные с биологическими часами. Было обнаружено, что в печени мышей, получавших пищу, обогащенную жирами или белками, нобилетин способствовал выведению аммиака, высокотоксичного побочного продукта метаболизма, через C/EBP-опосредованную активацию генов цикла мочевины, в частности, гена *Cps1*, кодирующего скорость-лимитирующий фермент карбамоилфосфатсинтетазу 1 [33]. Другой защитный эффект подтверждается снижением уровня желчных кислот в печени и активности аланинаминотрансферазы (ALT) в сыворотке возрастных мышей [34]. Например, было показано, что нобилетин понижает уровни холестерина LDL/VLDL в сыворотке крови и способствует выведению с калом желчных кислот. Было показано, что в островках поджелудочной железы больных диабетом 2-ого типа наблюдаются ослабленные циркадные колебания. Интересно, что нобилетин был способен сохранять как ритмы, так и секрецию инсулина [35]. В дополнение к его влиянию на выработку инсулина, нобилетин может также способствовать возникновению чувствитель-

ности к инсулину, так как мыши с метаболическими нарушениями, получавшие нобилетин, показали повышенную устойчивость к действию инсулина в корреляции с сильно пониженным уровнем инсулина [18]. Эти наблюдения вместе с другими [20, 36] подтверждают системный мультиорганный механизм действия нобилетина.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ ЛЕЖИТ В ОСНОВЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО БАЛАНСА И ЗДОРОВОГО СТАРЕНИЯ

Биоэнергетика митохондрий играет центральную роль в энергетическом обмене. Скелетные мышцы, крупнейший метаболический орган в нашем организме, очень богаты митохондриями. Было обнаружено, что у старых мышей, принимающих обогащенную жирами пищу, нобилетин вызывает широкую активацию экспрессии генов, кодирующих компоненты дыхательной цепи в скелетной мышце [31]. Интересно, что в то время как продукция АТФ повышалась, образование активных форм кислорода (ROS) было снижено в результате действия нобилетина, что указывает на двойное действие нобилетина, приводящее к оптимизации работы митохондрий в скелетной мышце, по крайней мере, у старых мышей с метаболическими нарушениями. Помимо повышения содержания митохондрий, одно из возможных механизмов действия нобилетина может заключаться в том, что он способствует формированию митохондриального суперкомплекса (SC). Было показано, что нобилетин способствовал повышению уровня суперкомплекса митохондриальной дыхательной цепи, содержащего множественные копии комплекса I (CI; НАДН:убихиноноксидоредуктаза) и комплекса III (CIII или III₂; убихинол:цитохром *c* оксидоредуктаза) и в то же время не содержащего комплекс IV (CIV; цитохром *c*-оксидаза, терминальная оксидоза) [23]. Это интересно, так как CI и CIII являются основными сайтами образования АФК, и их ассоциация с образованием суперкомплекса может способствовать стабилизации CI и улучшению контроля образования АФК во время процесса старения [37]. Недавно с помощью криоэлектронной микроскопии была продемонстрирована кольцевая архитектура «мегакомплекса» дыхательной цепи человека, содержащая две копии CI и CIV, которые опоясывают димер CIII, находящийся в центре, что предполагает взаимное пространственное расположение суперкомплексов для обеспечения эффективного

транспорта электронов через соответствующие каналы [38].

Димерный фосфолипид кардиолипин (CL), содержащий небольшую головку и четыре объемные полиненасыщенные ацильные цепи, синтезируется в консервативном многоэтапном ферментативном метаболическом пути и играет важную роль в поддержании целостности структуры комплексов и суперкомплексов дыхательной цепи [39]. В предыдущих работах было показано, что экспрессия генов метаболических путей кардиолипина и последующие уровни кардиолипина и его состав оказывают влияние на процесс формирования суперкомплекса дыхательной цепи при физиологических и патологических условиях, таких как синдром Барта, метаболических и сердечно-сосудистых заболеваниях и при старении [40–43]. Нами недавно было показано, что уровни кардиолипина, а также уровни экспрессии генов, участвующих в его биосинтезе, регулируются циркадными ритмами и нобилетином в миоцитах C2C12 и тканях скелетных мышц у старых мышцей, в соответствии со способностью нобилетина оказывать влияние на процесс образования суперкомплекса [44]. Несколько удивительно, но уровень кардиолипина в скелетных мышцах у старых мышцей выше по сравнению с молодыми животными, что вероятно отражает внутренний компенсаторный механизм, направленный на замедление процесса упадка функций митохондрий во время старения.

ПЕРСПЕКТИВЫ

Помимо воздействия на периферические органы, также была изучена нейропротекторная эффективность нобилетина [4, 45]. Например, было показано, что нобилетин усиливает образование АТФ в митохондриях в гиппокампе гипотиреоидных крыс [46]. Кроме того, были обнаружены перекрывающиеся эффекты нобилетина на различных моделях деменции [47], в первую очередь, на мышечных моделях болезни Альцгеймера, где были продемонстрированы перекрывающиеся эффекты нобилетина для облегчения патологических и поведенческих отклонений, обычно наблюдаемых при этом заболевании, включая образование внеклеточных амилоидных бляшек и гиперфосфорилирование белка tau, а также образование фибрилл. Например, на модели мышцей линии 3xTg-AD было показано, что обработка мышцей нобилетином в течение 3-х месяцев приводила к улучшению памяти и познавательной способности, снижению уровня растворимого β -амилоида в мозге и снижению уровня АФК в гиппокампе [48]. Инте-

ресно, что в исследовании, проведенном на небольшой группе людей, употребление ими в течение 1 года цедры цитрусовых, богатой нобилетином, вместе с ингибитором холинэстеразы донепезилом (Donepezil) приводило к значительному улучшению оценки состояния при болезни Альцгеймера (ADAS-J Cog – AD Assessment Scale-Cognitive Subscale) шести больных японцев с мягким или средним развитием болезни в сравнении с контрольными больными, которые принимали только донепезил [49]. Для изучения потенциальной роли нобилетина при возрастных нейродегенеративных заболеваниях потребуются дополнительные фундаментальные и трансляционные исследования.

Другой важный вопрос касается циркадных ритмов фармакокинетики. В предыдущих исследованиях были использованы совершенно разные режимы и графики дозирования [5, 18, 20, 21, 31]. Чтобы максимизировать эффективность препарата без повышения токсичности, необходимо системно изучить циркадные ритмы введения нобилетина. Также будет интересно изучить его взаимодействие и синергию с другими соответствующими веществами (например, мелатонин) в их различных комбинациях.

Современные общества характеризуются образом жизни, заключающимся в круглосуточной работе и без выходных, стирании границ между работой и отдыхом, питанием и голоданием, а также между бодрствованием и сном. Это игнорирование наших естественных биологических ритмов совпадает с эскалацией хронических болезней (например, метаболические нарушения, сердечно-сосудистые заболевания) в последние несколько десятилетий [50, 51]. В последние годы в области хронотерапии появилось много обнадеживающих достижений [52, 53]. Однако остаются серьезные проблемы на пути к применению в клинике терапевтических подходов, ориентированных на биологические часы [54]. По мере того, как мы получаем все больше научных данных о функциях и механизмах действия биологических часов у модельных животных, настало время предпринять согласованные действия для продвижения перспективных молекул (например, нобилетин) или других режимов времени (световая терапия, прерывание сна, ограниченное по времени потребление пищи, упражнения на время и др.) к испытаниям на людях.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке отдельных авторов в своих лабораториях: С.-Х. Ёо (S.-H.Y.) – грант AU-1971-20180324 фонда Уэлча (The Welch

Foundation), гранты Национального института здоровья R01GM114424 (NIH/NIGMS) и R03AG063286 (NIH/NIA); У. Доухан (W.D) – грант Национального института здоровья R01GM115969 (NIH/NIGMS) и грант исследовательского фонда Джона Данна (John S. Dunn Research Foundation Grant); Ж. Чен (Z.C.) – грант AU-1731-20190330 фонда Уэлча (The

Welch Foundation), гранты R01AG045828, RF1AG061901, R56AG063746, R01AG065984 Национального института здоровья (NIH/NIA).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Соблюдение этических норм. В данной работе нет исследований, в которых были бы использованы в качестве объектов люди или животные.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ben-Aziz, A. (1967) Nobiletin is main fungistat in tangerines resistant to mal secco, *Science*, **155**, 1026-1027, doi: 10.1126/science.155.3765.1026.
- Walle, T. (2007) Methoxylated flavones, a superior cancer chemopreventive flavonoid subclass? *Semin. Cancer Biol.*, **17**, 354-362, doi: 10.1016/j.semcancer.2007.05.002.
- Mulvihill, E. E., Burke, A. C., and Huff, M. W. (2016) Citrus flavonoids as regulators of lipoprotein metabolism and atherosclerosis, *Annu. Rev. Nutr.*, **36**, 275-299, doi: 10.1146/annurev-nutr-071715-050718.
- Huang, H., Li, L., Shi, W., Liu, H., Yang, J., Yuan, X., and Wu, L. (2016) The multifunctional effects of nobiletin and its metabolites *in vivo* and *in vitro*, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2016**, 2918796, doi: 10.1155/2016/2918796.
- Evans, M., Sharma, P., and Guthrie, N. (2012) *Bioavailability of Citrus Polymethoxylated Flavones and Their Biological Role in Metabolic Syndrome and Hyperlipidemia*, InTech, pp. 1-19.
- Zhang, H., Cui, J., Tian, G., DiMarco-Crook, C., Gao, W., et al. (2019) Efficiency of four different dietary preparation methods in extracting functional compounds from dried tangerine peel, *Food Chem.*, **289**, 340-350, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.03.063.
- Gloston, G. F., Yoo, S. H., and Chen, Z. J. (2017) Clock-enhancing small molecules and potential applications in chronic diseases and aging, *Front. Neurol.*, **8**, 100, doi: 10.3389/fneur.2017.00100.
- Bell-Pedersen, D., Cassone, V. M., Earnest, D. J., Golden, S. S., Hardin, P. E., Thomas, T. L., and Zoran, M. J. (2005) Circadian rhythms from multiple oscillators: lessons from diverse organisms, *Nat. Rev. Genet.*, **6**, 544-556, doi: 10.1038/nrg1633.
- Takahashi, J. S. (2017) Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock, *Nat. Rev. Genet.*, **18**, 164-179, doi: 10.1038/nrg.2016.150.
- Green, C. B., Takahashi, J. S., and Bass, J. (2008) The meter of metabolism, *Cell*, **134**, 728-742, doi: S0092-8674(08)01067-2.
- Zhang, E. E., and Kay, S. A. (2010) Clocks not winding down: unravelling circadian networks, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 764-776, doi: 10.1038/nrm2995.
- Zhang, R., Lahens, N. F., Ballance, H. I., Hughes, M. E., and Hogenesch, J. B. (2014) A circadian gene expression atlas in mammals: implications for biology and medicine, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 16219-16224, doi: 10.1073/pnas.1408886111.
- Mure, L. S., Le, H. D., Benegiamo, G., Chang, M. W., Rios, L., et al. (2018) Diurnal transcriptome atlas of a primate across major neural and peripheral tissues, *Science*, **359**, doi: 10.1126/science.aao0318.
- Mohawk, J. A., Green, C. B., and Takahashi, J. S. (2012) Central and peripheral circadian clocks in mammals, *Annu. Rev. Neurosci.*, **35**, 445-462, doi: 10.1146/annurev-neuro-060909-153128.
- Chen, Z., Yoo, S. H., and Takahashi, J. S. (2018) Development and therapeutic potential of small-molecule modulators of circadian systems, *Annu Rev Pharmacol. Toxicol.*, **58**, 231-252, doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010617-052645.
- Miller, S., and Hirota, T. (2020) Pharmacological interventions to circadian clocks and their molecular bases, *J. Mol. Biol.*, **432**, 3498-3514, doi: 10.1016/j.jmb.2020.01.003.
- He, B., and Chen, Z. (2016) Molecular targets for small-molecule modulators of circadian clocks, *Curr. Drug Metab.*, **17**, 503-512.
- He, B., Nohara, K., Park, N., Park, Y. S., Guillyory, B., et al. (2016) The small molecule nobiletin targets the molecular oscillator to enhance circadian rhythms and protect against metabolic syndrome, *Cell Metab.*, **23**, 610-621, doi: 10.1016/j.cmet.2016.03.007.
- Shinozaki, A., Misawa, K., Ikeda, Y., Haraguchi, A., Kamagata, M., Tahara, Y., and Shibata, S. (2017) Potent effects of flavonoid nobiletin on amplitude, period, and phase of the circadian clock rhythm in PER2::LUCIFERASE mouse embryonic fibroblasts, *PLoS One*, **12**, e0170904, doi: 10.1371/journal.pone.0170904.
- Mulvihill, E. E., Assini, J. M., Lee, J. K., Allister, E. M., Sutherland, B. G., et al. (2011) Nobiletin attenuates VLDL overproduction, dyslipidemia, and atherosclerosis in mice with diet-induced insulin resistance, *Diabetes*, **60**, 1446-1457, doi: 10.2337/db10-0589.
- Lee, Y. S., Cha, B. Y., Choi, S. S., Choi, B. K., Yonezawa, T., Teruya, T., Nagai, K., and Woo, J. T. (2013) Nobiletin improves obesity and insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice, *J. Nutr. Biochem.*, **24**, 156-162, doi: 10.1016/j.jnutbio.2012.03.014.
- Hatori, M., Vollmers, C., Zarrinpar, A., DiTacchio, L., Bushong, E. A., et al. (2012) Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet, *Cell Metab.*, **15**, 848-860, doi: 10.1016/j.cmet.2012.04.019.
- Chaix, A., Zarrinpar, A., Miu, P., and Panda, S. (2014) Time-restricted feeding is a preventative and therapeutic intervention against diverse nutritional challenges, *Cell Metab.*, **20**, 991-1005, doi: 10.1016/j.cmet.2014.11.001.
- Chaix, A., Lin, T., Le, H. D., Chang, M. W., and Panda, S. (2019) Time-restricted feeding prevents obesity and metabolic syndrome in mice lacking a circadian clock, *Cell Metab.*, **29**, 303-319 e304, doi: 10.1016/j.cmet.2018.08.004.
- Gibson, E. M., Williams, W. P., 3rd, and Kriegsfield, L. J. (2009) Aging in the circadian system: considerations for health, disease prevention and longevity, *Exp. Gerontol.*, **44**, 51-56, doi: 10.1016/j.exger.2008.05.007.

26. Sato, S., Solanas, G., Peixoto, F. O., Bee, L., Symeonidi, A., et al. (2017) Circadian reprogramming in the liver identifies metabolic pathways of aging, *Cell*, **170**, 664-677.e611, doi: 10.1016/j.cell.2017.07.042.
27. Kondratova, A. A., and Kondratov, R. V. (2012) The circadian clock and pathology of the ageing brain, *Nat. Rev. Neurosci.*, **13**, 325-335, doi: 10.1038/nrn3208.
28. Davidson, A. J., Sellix, M. T., Daniel, J., Yamazaki, S., Menaker, M., and Block, G. D. (2006) Chronic jet-lag increases mortality in aged mice, *Curr. Biol.*, **16**, R914-916, doi: 10.1016/j.cub.2006.09.058.
29. Kondratov, R. V., Kondratova, A. A., Gorbacheva, V. Y., Vykhovanets, O. V., and Antoch, M. P. (2006) Early aging and age-related pathologies in mice deficient in BMAL1, the core component of the circadian clock, *Genes Dev.*, **20**, 1868-1873, doi: 10.1101/gad.1432206.
30. Inokawa, H., Umemura, Y., Shimba, A., Kawakami, E., Koike, N., et al. (2020) Chronic circadian misalignment accelerates immune senescence and abbreviates lifespan in mice, *Sci. Rep.*, **10**, 2569, doi: 10.1038/s41598-020-59541-y.
31. Nohara, K., Mallampalli, V., Nemkov, T., Wirianto, M., Yang, J., et al. (2019) Nobiletin fortifies mitochondrial respiration in skeletal muscle to promote healthy aging against metabolic challenge, *Nat. Commun.*, **10**, 3923, doi: 10.1038/s41467-019-11926-y.
32. Yang, X., Wang, H., Li, T., Chen, L., Zheng, B., and Liu, R. H. (2020) Nobiletin delays aging and enhances stress resistance of *Caenorhabditis elegans*, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, doi: 10.3390/ijms21010341.
33. Nohara, K., Shin, Y., Park, N., Jeong, K., He, B., Koike, N., Yoo, S. H., and Chen, Z. (2015) Ammonia-lowering activities and carbamoyl phosphate synthetase 1 (Cps1) induction mechanism of a natural flavonoid, *Nutr. Metab. (Lond.)*, **12**, 23, doi: 10.1186/s12986-015-0020-7.
34. Nohara, K., Nemkov, T., D'Alessandro, A., Yoo, S. H., and Chen, Z. (2019) Coordinate regulation of cholesterol and bile acid metabolism by the clock modifier nobiletin in metabolically challenged old mice, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, doi: 10.3390/ijms20174281.
35. Petrenko, V., Gandasi, N. R., Sage, D., Tengholm, A., Barg, S., and Dibner, C. (2020) In pancreatic islets from type 2 diabetes patients, the dampened circadian oscillators lead to reduced insulin and glucagon exocytosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**, 2484-2495, doi: 10.1073/pnas.1916539117.
36. Qi, G., Guo, R., Tian, H., Li, L., Liu, H., Mi, Y., and Liu, X. (2018) Nobiletin protects against insulin resistance and disorders of lipid metabolism by reprogramming of circadian clock in hepatocytes, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids*, **1863**, 549-562, doi: 10.1016/j.bbalip.2018.02.009.
37. Genova, M. L., and Lenaz, G. (2015) The interplay between respiratory supercomplexes and ROS in aging, *Antioxid. Redox Signal.*, **23**, 208-238, doi: 10.1089/ars.2014.6214.
38. Guo, R., Zong, S., Wu, M., Gu, J., and Yang, M. (2017) Architecture of human mitochondrial respiratory megacomplex I2III2IV2, *Cell*, **170**, 1247-1257.e1212, doi: 10.1016/j.cell.2017.07.050.
39. Mileykovskaya, E., and Dowhan, W. (2014) Cardioliipin-dependent formation of mitochondrial respiratory supercomplexes, *Chem. Phys. Lipids*, **179**, 42-48, doi: 10.1016/j.chemphyslip.2013.10.012.
40. Mileykovskaya, E., Penczek, P. A., Fang, J., Mallampalli, V. K., Sparagna, G. C., and Dowhan, W. (2012) Arrangement of the respiratory chain complexes in *Saccharomyces cerevisiae* supercomplex III2IV2 revealed by single particle cryo-electron microscopy, *J. Biol. Chem.*, **287**, 23095-23103, doi: 10.1074/jbc.M112.367888.
41. Pfeiffer, K., Gohil, V., Stuart, R. A., Hunte, C., Brandt, U., Greenberg, M. L., and Schagger, H. (2003) Cardioliipin stabilizes respiratory chain supercomplexes, *J. Biol. Chem.*, **278**, 52873-52880, doi: 10.1074/jbc.M308366200.
42. Azuma, K., Ikeda, K., and Inoue, S. (2020) Functional mechanisms of mitochondrial respiratory chain supercomplex assembly factors and their involvement in muscle quality, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, doi: 10.3390/ijms21093182.
43. Ghosh, S., Iadarola, D. M., Ball, W. B., and Gohil, V. M. (2019) Mitochondrial dysfunctions in Barth syndrome, *IUBMB Life*, doi: 10.1002/iub.2018.
44. Nohara, K., Kim, E., Wirianto, M., Mileykovskaya, E., Dowhan, W., Chen, Z., and Yoo, S.-H. (2020) Cardioliipin synthesis in skeletal muscle is rhythmic and modifiable by age and diet, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2020**, 5304768, doi: 10.1155/2020/5304768.
45. Gile, J., Scott, B., and Eckle, T. (2018) The period 2 enhancer nobiletin as novel therapy in murine models of circadian disruption resembling delirium, *Crit. Care Med.*, **46**, e600-e608, doi: 10.1097/CCM.0000000000003077.
46. Jojua, N., Sharikadze, N., Zhuravliova, E., Zaalishvili, E., and Mikeladze, D. G. (2015) Nobiletin restores impaired hippocampal mitochondrial bioenergetics in hypothroidism through activation of matrix substrate-level phosphorylation, *Nutr. Neurosci.*, **18**, 225-231, doi: 10.1179/1476830514Y.0000000120.
47. Nakajima, A., Ohizumi, Y., and Yamada, K. (2014) Anti-dementia activity of nobiletin, a citrus flavonoid: a review of animal studies, *Clin. Psychopharmacol. Neurosci.*, **12**, 75-82, doi: 10.9758/cpn.2014.12.2.75.
48. Nakajima, A., Aoyama, Y., Shin, E. J., Nam, Y., Kim, H. C., et al. (2015) Nobiletin, a citrus flavonoid, improves cognitive impairment and reduces soluble Abeta levels in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease (3XTg-AD), *Behav. Brain Res.*, **289**, 69-77, doi: 10.1016/j.bbr.2015.04.028.
49. Seki, T., Kamiya, T., Furukawa, K., Azumi, M., Ishizuka, S., Takayama, S., Nagase, S., Arai, H., Yamakuni, T., and Yaegashi, N. (2013) Nobiletin-rich Citrus reticulata peels, a kampo medicine for Alzheimer's disease: a case series, *Geriatr. Gerontol. Int.*, **13**, 236-238, doi: 10.1111/j.1447-0594.2012.00892.x.
50. Bass, J., and Takahashi, J. S. (2010) Circadian integration of metabolism and energetics, *Science*, **330**, 1349-1354, doi: 10.1126/science.1195027.
51. Nohara, K., Yoo, S. H., and Chen, Z. J. (2015) Manipulating the circadian and sleep cycles to protect against metabolic disease, *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, **6**, 35, doi: 10.3389/fendo.2015.00035.
52. Cederroth, C. R., Albrecht, U., Bass, J., Brown, S. A., Dyhrfeld-Johnsen, J., et al. (2019) Medicine in the fourth dimension, *Cell Metab.*, **30**, 238-250, doi: 10.1016/j.cmet.2019.06.019.
53. Montaigne, D., Marechal, X., Modine, T., Coisne, A., Mouton, S., et al. (2018) Daytime variation of perioperative myocardial injury in cardiac surgery and its prevention by Rev-Erbalpha antagonism: a single-centre propensity-matched cohort study and a randomised study, *Lancet*, **391**, 59-69, doi: 10.1016/S0140-6736(17)32132-3.
54. Chen, Z. (2017) What's next for chronobiology and drug discovery, *Expert Opin. Drug Discov.*, **1-5**, doi: 10.1080/17460441.2017.1378179.

**NOBILETIN: TARGETING THE CIRCADIAN NETWORK
TO PROMOTE BIOENERGETICS AND HEALTHY AGING****Review****E. Mileykovskaya*, S.-H. Yoo, W. Dowhan, and Zh. Chen****Department of Biochemistry and Molecular Biology, The University of Texas Health Science Center at Houston, 6431 Fannin St., Houston, TX 77030; E-mail: eugenia.mileykovskaya@uth.tmc.edu; Zheng.chen.1@uth.tmc.edu*

Received July 6, 2020

Revision received August 21, 2020

Accepted August 21, 2020

The circadian clock is the biological mastermind governing orderly execution of bodily processes throughout the day. In recent years, an emerging topic of broad interest is clock-modulatory agents, including small molecules both of synthetic and natural origins, and their potential applications in disease models. Nobiletin is a naturally occurring flavonoid with the greatest abundance found in citrus peels. Extensive research has shown that Nobiletin is endowed with a wide range of biological activities, yet its mechanism of action remains unclear. We recently found through unbiased chemical screening that Nobiletin impinges on the clock machinery to activate temporal control of downstream processes within the cell and throughout the body. Using animal models of diseases and aging, we and others illustrate potent beneficial effects of Nobiletin on cellular energetics in both periphery and brain to promote healthy aging. Given its excellent safety profile, Nobiletin may represent a promising candidate molecule for development of nutraceutical and chronotherapeutic agents against chronic and age-related neurodegenerative diseases.

Keywords: nobiletin, circadian clock, ROR receptors, metabolism, mitochondria, healthy aging