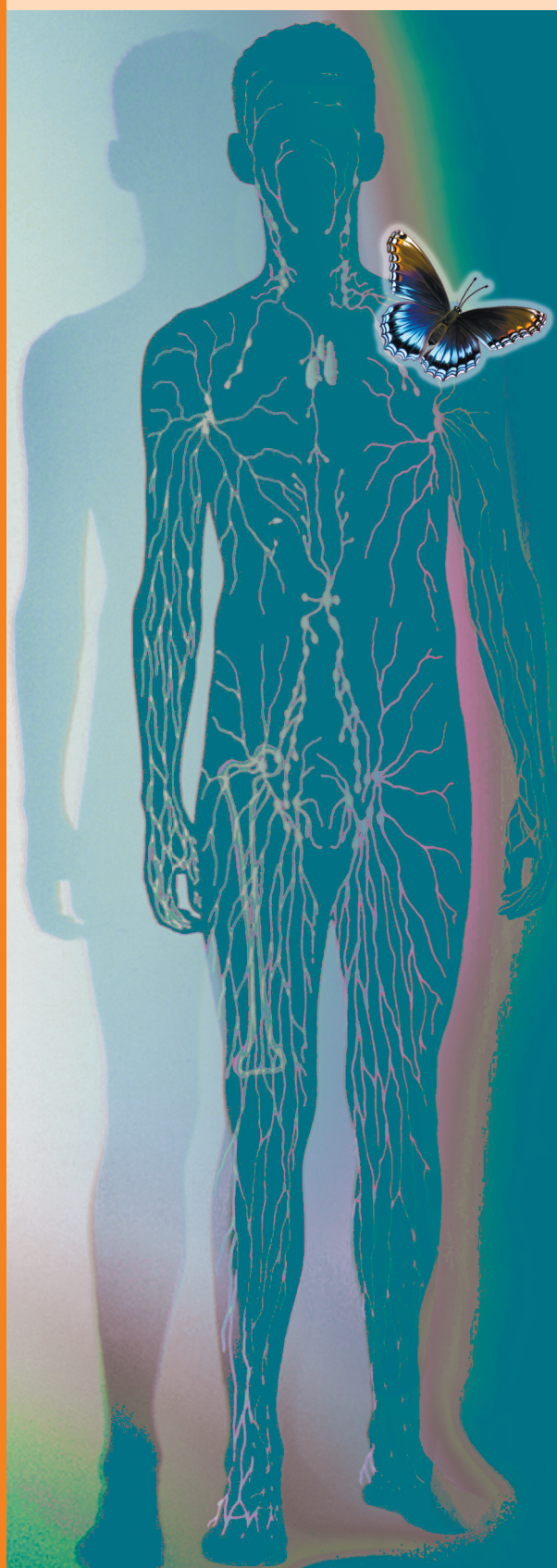


ФАРМАКО КИНЕТИКА *и* ДИНАМИКА



№4.2018



Издательство

ОКИ

Главный редактор

Жердев Владимир Павлович

д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, Москва

Зам. главного редактора

Фирсов Александр Алексеевич

член-корр. РАН, д.б.н., профессор, Москва

Ответственный секретарь

Литвин Александр Алексеевич

д.б.н., Москва

Редакционная коллегия

**Белопищевская
Вера Геннадиевна**
к.б.н., Москва

**Бондарева
Ирина Борисовна**
д.б.н., Москва

**Воронина
Татьяна Александровна**
заслуженный деятель науки
РФ, д.м.н., профессор, Москва

Громова Ольга Алексеевна
д.м.н., профессор, Москва

Дурнев Андрей Дмитриевич
член-корр. РАН, д.м.н.,
профессор, Москва

Казей Василий Игоревич
к.б.н., Москва

Ковалёв Георгий Иванович
д.м.н., профессор, Москва

**Колыванов Геннадий
Борисович**, д.б.н., Москва

Мирзоян Рубен Симонович
заслуженный деятель науки
РФ, д.м.н., профессор, Москва

**Раменская
Галина Владиславовна**
д.ф.н., профессор, Москва

**Сариев Абрек
Куангалиевич**
д.м.н., профессор, Москва

Спасов Александр Алексеевич
академик РАН, д.м.н.,
профессор, Волгоград

**Смирнов Валерий
Валерьевич**, к.ф.н., Москва

**Стародубцев
Алексей Константинович**
д.м.н., профессор, Москва

Сычёв Дмитрий Александрович
член-корр. РАН, д.м.н.,
профессор, Москва

Тюрников Иван Николаевич
член-корр. РАН, д.м.н.,
профессор, Волгоград

Чистяков Виктор Владимирович
д.ф.н., профессор, Москва

Выпускающая группа

**Белоусов
Дмитрий Юрьевич**
Ответственный за выпуск
журнала
+ 7 (910) 449-22-73
e-mail: clinvest@mail.ru

**Афанасьева
Елена Владимировна**
Генеральный директор
ООО «Издательство ОКИ»
подписка
+ 7 (916) 986-04-65
e-mail: eva88@list.ru
сайт: www.izdat-oki.ru

Жук Елена Владимировна
Дизайн и верстка
e-mail: elenazuk70@mail.ru

Подписано в печать 30.12.2018 г. Тираж 400 экз.

Типография: ООО «Буки Веди», www.bukivedi.com

115093, г. Москва, Партийный переулок, д. 1, корп. 58, стр. 3, пом. 11

Адрес редакции: 125315, Москва, ул. Балтийская, 8 ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» РАН Тел./Факс: + 7 (495) 601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

Журнал «Фармакокинетика и Фармакодинамика» является приложением к журналу «Качественная клиническая практика». Журнал «Качественная клиническая практика» зарегистрирован Комитетом РФ по печати 28.05.2001 г. Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № 77-9142. Авторские материалы не обязательно отражают точку зрения редакции. Редакция не несет ответственности за достоверность информации, содержащейся в рекламных материалах.

Сайты

www.Antibiotics-Chemotherapy.ru
www.ClinVest.ru
www.Clinical-Pharmacy.ru
www.PharmacoGenetics-PharmacoGenomics.ru

Журналы

Антибиотики и Химиотерапия
Качественная клиническая практика
Клиническая фармация
Фармакогенетика и Фармакогеномика

WEB-порталы

www.HealthEconomics.ru
www.Market-Access-Solutions.ru
www.izdat-Okii

Центр Фармакоэкономических Исследований
Market Access Solutions
Издательство ОКИ

ОБЗОРЫ

Транслокатормый белок TSPO 18 кДа и его
лиганды: перспективный подход к созданию новых
нейропсихотропных средств
Мокров Г.В., Деева О.А., Яркова М.А., Гудашева Т.А.,
Середенин С.Б. 3

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОДИНАМИКИ

Антареид — синергидная комбинация
магалдрат+симетикон с гастропротекторными
свойствами
Торшин И.Ю., Громова О.А., Трухманов А.С. 28

Цитопротекторные свойства дипептидных миметиков
фактора роста нервов и мозгового нейротрофического
фактора, ГК-2 и ГСБ-106, в модели окислительного стресса
у инфузорий
Карпухина О.В., Иноземцев А.Н., Гумаргалиева К.З.,
Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А. 37

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Эффекты аскорбата лития у пациентов
среднего возраста со стенозирующим
атеросклерозом брахиоцефальных артерий
Пепеляев Е.Г., Семенов В.А., Торшин И.Ю.,
Громова О.А. 42

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИКИ

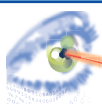
Исследование фармакокинетики
противотуберкулезного препарата Биомайрин
Шомуротов Ш.А., Султанова Э.М., Салахутдинова М.К.,
Ишимов У.Ж., Зиявитдинов Ж.Ф., Вешкурова О.Н.,
Тураев А.С. 50

МЕТОДЫ ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Применение иммуногистохимического метода оценки
цитопротективного действия антидиабетических
препаратов
Иванов С.В. 56

ПАМЯТИ КОЛЛЕГИ

Соколов А.В. 61



Издательство

ОКИ

Chief editor

Zherdev Vladimir

Ph.D., Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Moscow

Deputy chief editor

Firsov Alexander

Corresponding Member RAS, Ph.D., Professor, Moscow

Executive secretary

Litvin Alexander

Ph.D., Moscow

Editotial Board

Belolipetskaia Vera

Ph.D., Moscow

Bondareva Irina

Ph.D., Moscow

Voronina Tatiana

Honored Scientist RF, Ph.D.,
Professor, Moscow

Gromova Olga

Ph.D., Professor, Ivanovo

Durnev Andrey

Corresponding Member RAS,
Ph.D., Professor, Moscow

Kazey Vasily

Ph.D., Professor, Moscow

Kovalev Georgy

Ph.D., Professor, Moscow

Kolyanov Gennady

Ph.D., Moscow

Mirzoyan Ruben

Honored Scientist RF, Ph.D.,
Professor, Moscow

Ramenskaya Galina

Ph.D., Professor, Moscow

Sariev Abrek

Ph.D., Professor, Moscow

Spasov Alexander

RAS, Ph.D., Professor, Moscow

Smirnov Valery

Ph.D., Moscow

Starodubtcev Alex

Ph.D., Professor, Moscow

Sychev Dmitry

Corresponding Member RAS,
Ph.D., Professor, Moscow

Tyurenkov Ivan

Corresponding Member PAS,
Ph.D., Professor, Volgograd

Chistyakov Viktor

Ph.D., Professor, Moscow

Graduate group

Belousov Dmitry

Responsible for this issue
+7 (910) 449-22-73
e-mail: clinvest@mail.ru

Afanasyeva Elena

CEO in LLC «Publishing OKI»
subscription
+7(916)986-04-65
e-mail: eva88@list.ru
site:www.izdat-ok.ru

Zhuk Elena

Design and layout
e-mail: elenazuk70@mail.ru

Signed in print 30.12.2018 r. **Circulation** 400 copies.

Typography: LLC Buki Vedi, www.bukivedi.com

115093, Moscow, Partiyinyj pereulok, 1/58, bld. 3, office 11

Editorial address: 125315, Moscow, ul. Baltiyskay, 8

FSBI «ZAKUSOV INSTITUTE OF PHARMACOLOGY»

Tel./Fax: +7 (495) 601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

Journal «Pharmacokinetics and Pharmacodynamics» is a supplement to the journal «Good Clinical Practice». Journal «Good Clinical Practice» registered by Russian Committee for Press 28.05.2001 Certificate of registration of mass media PI №77-9142. Copying material does not necessarily reflect the views of the publisher. We take no responsibility for the accuracy of the information contained in promotional materials.

Sites

www.Antibiotics-Chemotherapy.ru

www.ClinVest.ru

www.Clinical-Pharmacy.ru

www.PharmacoGenetics-PharmacoGenomics.ru

Journals

Antibiotics and Chemotherapy

Good Clinical Practice

Clinical Pharmacy

Pharmacogenetics and Pharmacogenomics

WEB-portals

www.HealthEconomics.ru

www.Market-Access-Solutions.ru

www.izdat-Ok.ru

Center of Pharmacoeconomics Research

Market Access Solutions

Publisher OKI

REVIEWS

Translocator protein TSPO 18 kDa and its ligands: a promising approach to the creation of new neuropsychotropic drug
Mokrov G.V., Deeva O.A., Yarkova M.A., Gudasheva T.A., Sereidenin S.B. 3

PRECLINICAL PHARMACODYNAMICS STUDIES

Antarite – synergistic combination of «magaldrat + simethicone» with gastroprotective properties
Torshin I.Yu., Gromova O.A., Kuricina N.A. 28

Cytoprotective properties of the nerve growth factor and brain derived neurotrophic factor dipeptidic mimetics, GK-2 AND GSB-106, in the model of oxidative stress in paramecium caudatum
Karpukhina O.V., Inozemtsev A.N., Gumargalieva K.Z., Povarnina P. Yu., Gudasheva T.A. 37

CLINICAL PHARMACOLOGY

Effects of lithium ascorbate in middle-aged patients with stenosing atherosclerosis of brachiocephalic arteries
Pepelyaev E.A., Semenov V.A., Torshin I.Yu., Gromova O.A. 42

PRECLINICAL PHARMACOKINETICS STUDIES

Study of the pharmacokinetics of antituberculosis drug Biomairin
Shomurotov Sh.A., Sultanova E.M., Salakhutdinova M.K., Ishimov U.J., Ziyavitdinov J.F., Veshkurova O.N., Turaev A.S. 50

METHODS OF PHARMACODYNAMICS STUDIES

The applying of immunohistochemical method for evaluating the cytoprotective effect of antidiabetic drugs
Ivanov S.V. 56

IN MEMORY OF

Sokolov A.V. 61

Транслокаторный белок TSPO 18 кДа и его лиганды: перспективный подход к созданию новых нейропсихотропных средств

Мокров Г.В., Деева О.А., Яркова М.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Резюме. В 2018 году исполняется 41 год с момента открытия Браэстрап и Сквирес транслокаторного белка TSPO 18 кДа, известного до 2006 года под названием «периферический бензодиазепиновый рецептор» (PBR). За это время были подробно исследованы функции этого рецептора, который является важнейшим компонентом наружной мембраны митохондрий. Одной из ключевых функций TSPO является перенос холестерина от внешней к внутренней мембране митохондрий, что является лимитирующей стадией в синтезе нейростероидов. Кроме того, TSPO задействован в транспорте порфиринов, митохондриальном дыхании, открытии митохондриальных пор, апоптозе и пролиферации клеток. Настоящий обзор посвящён рассмотрению современных представлений о структуре TSPO, механизме его участия в нейростероидогенезе и эндогенных и синтетических лигандах TSPO. Особый акцент сделан на анализе подходов к дизайну синтетических лигандов и их нейропсихотропной активности *in vitro* и *in vivo*. Представленный обзор демонстрирует перспективность конструирования новых нейропсихотропных средств в ряду лигандов TSPO.

Ключевые слова: транслокаторный белок TSPO 18 кДа; лиганды TSPO; нейропсихотропная активность; дизайн новых лекарственных средств; нейростероиды

Для цитирования:

Мокров Г.В., Деева О.А., Яркова М.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Транслокаторный белок TSPO 18 кДа и его лиганды: перспективный подход к созданию новых нейропсихотропных средств // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – № 4. – С. 3–27. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10026.

Translocator protein TSPO 18 kDa and its ligands: a promising approach to the creation of new neuropsychotropic drug

Mokrov G.V., Deeva O.A., Yarkova M.A., Gudasheva T.A., Seredenin S.B.

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Resume. It is 41 years in 2018 since Braestrup and Squires opened translocator protein 18 kDa TSPO, known until 2006 as the peripheral benzodiazepine receptor (PBR). The functions of this receptor, which is one of the most important component of the outer mitochondrial membrane, have been studied in detail during this time. One of the key functions of TSPO is the transfer of cholesterol from the outer to the inner membrane of mitochondria, which is the limiting step in the synthesis of neurosteroids. In addition, TSPO is involved in porphyrin transport, mitochondrial respiration, the opening of mitochondrial pores, apoptosis and cell proliferation. This review presents the modern views on the structure of TSPO, the mechanism of its participation in neurosteroidogenesis and the endogenous and synthetic ligands of TSPO. Particular emphasis is placed on the analysis of approaches to the design of synthetic ligands and their neuropsychotropic activity *in vitro* and *in vivo*. This review demonstrates the prospects of new neuropsychotropic drugs design among TSPO ligands.

Keywords: Translocator protein TSPO 18 kDa; TSPO ligands; neuropsychotropic activity; design of new drugs; neurosteroids

For citations:

Mokrov GV, Deeva OA, Yarkova MA, Gudasheva TA, Seredenin SB. Translocator protein TSPO 18 kDa and its ligands: a promising approach to the creation of new neuropsychotropic drugs. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;4:3–27. (In Russ). DOI: 10.24411/2588-0519-2018-10026.

Строение и функции 18 кДа транслокаторного белка (TSPO)

Структура TSPO

Транслокаторный белок (18 кДа) (TSPO) — это трансмембранный полипептид, состоящий в зависимости от вида из 153–169 аминокислот, образующих пять спиральных субъединиц (TM-1 — TM-5). TSPO локализуется преимущественно на наружной мембране митохондрий стероидпродуцирующих тканей центральной и периферической нервной системы (рис. 1) [1, 2].

В течение почти трёх десятилетий после открытия TSPO был известен как периферический бензодиазепиновый рецептор (peripheral benzodiazepine receptor, PBR), но в 2006 году в свете понимания его функций, а также изучения его строения был назван транслокаторным белком TSPO [1]. Белок TSPO был выделен

как у эукариотов, так и у прокариотов. При этом аминокислотные последовательности TSPO различных видов имеют различия разной выраженности. На рис. 2 представлены аминокислотные последовательности TSPO человека, мыши, крысы и бактерий *Rhodobacter sphaeroides* и *Bacillus cereus*, где цветом отмечены различия относительно последовательности у человека [3].

В 2014 году впервые была определена 3D-структура TSPO мыши (mTSPO) в высоком разрешении в комплексе с классическим лигандом PK11195 методом ЯМР-спектроскопии (идентификатор в Protein Data Bank: 2MGY) (рис. 1) [2]. Структура mTSPO была также опубликована в отсутствие PK11195, при этом было продемонстрировано, что без лиганда белок обладает существенной конформационной гибкостью, в то время как при наличии PK11195 mTSPO принимает одну устойчивую конформацию [2, 4]. В 2015 году была

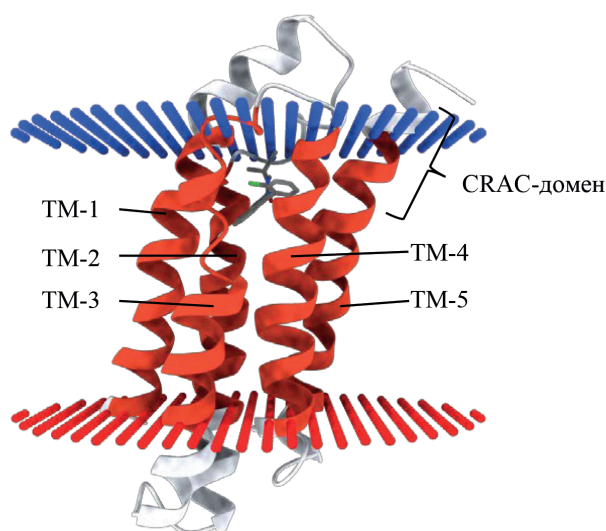


Рис. 1. 3D-структура TSPO мыши в высоком разрешении в комплексе с лигандом PK11195 (идентификатор в Protein Data Bank: 2MGY). PK11195 связывается с центральным гидрофобным сайтом, а холестерин взаимодействует с CRAC-доменом на спирали TM-V. Красным цветом отмечены трансмембранные участки пептидных спиралей TSPO [2]

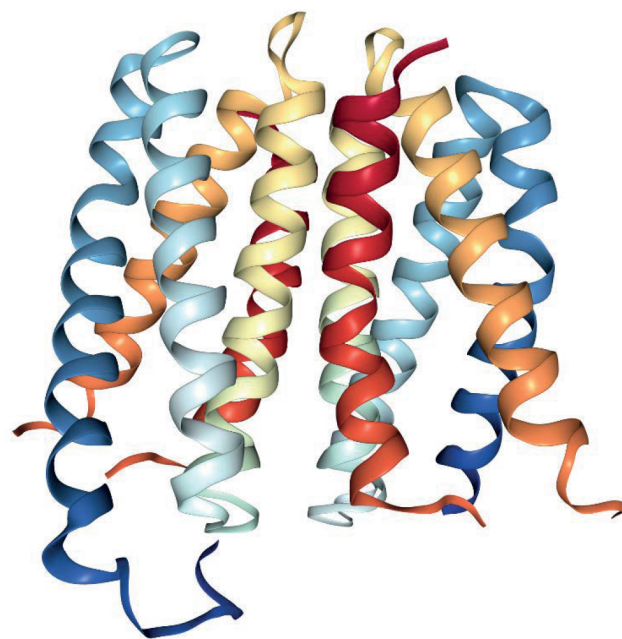


Рис. 3. 3D-структура BcTSPO в комплексе с PK11195 в димерной форме (идентификатор в Protein Data Bank: 4RYI)

	TM1		TM2	
Человек	MAPPWVPAMGFTLAPSLGCFVGSRFVHGEGLRWYAGLQKPSWHPPHWVLGPVWGTLYSAMGYGSYLWVKELGGFTEKAVVPLGLLY	85		
Мышь	MPESWVPAVGLTLVPSLGGFMGAYFVRGEGLRWYASLQKPSWHPPRWTLAPITWGTLYSAMGYGSYIWKELGGFTEKAVVPLGLLY	85		
Крыса	MSQSWVPAVGLTLVPSLGGFMGAYFVRGEGLRWYASLQKPSWHPPRWTLAPITWGTLYSAMGYGSYIWKELGGFTEKAVVPLGLLY	85		
<i>R. sphaeroides</i>	WNMDWALFLTLAAGAPATTGALLKPD...WDNLNKPWNPPPRWVFLAWTLYFLMSLAAMRWAOLEG...SGQALAFY	77		
<i>B. cereus</i>	FMKKSSITVFFLTLYGLFYVSSVLFIDR...TWYDALQKPSWTPPGMIGMIWAVLFGLLIALSVALIYNNY...FKPKTFWFL	80		

	TM3		TM4		TM5	
Человек	TGQLALNWAWPPIFFGARQMGWALVDLLLVSGAAATTVAWYQVSPLAARLLYPYLAWLAFATTLNVCVWRDNHGWRRGGRRLPE	169				
Мышь	TGQLALNWAWPPIFFGARQMGWALADLLLVSGVATATTLAWHRVSPPAARLLYPYLAWLAFATTLNVCVWRDNHGWRRGGRRLPE	169				
Крыса	TGQLALNWAWPPIFFGARQMGWALVDLLLVSGVATATTLAWHRVSPPAARLLYPYLAWLAFATTLNVCVWRDNHGWRRGGRRLPE	169				
<i>R. sphaeroides</i>	AAQLAFNTLWTFVFFGMKRMATLAVVMVMWLFVATTMWAFFQLDTWAGVLFVPLYIWAATAATGLNFEAMRLNWNRPPEARA...	158				
<i>B. cereus</i>	LLNYIFNQAFSYFQFSQKNLFLATVDCLLVAITTTLLIMFSSNLSKVSAWLLIPYFLWSAFATYLSWTIYSIN...	153				

Рис. 2. Аминокислотные последовательности TSPO человека, мыши, крысы и бактерий *Rhodobacter sphaeroides* и *Bacillus cereus*. Цифры в конце строк указывают количество аминокислот в последовательностях. Цветом выделены совпадения в последовательностях аминокислот. Синие зигзаги соответствуют пяти белковым спиральям рецептора TM1-TM5. Взято из [3]

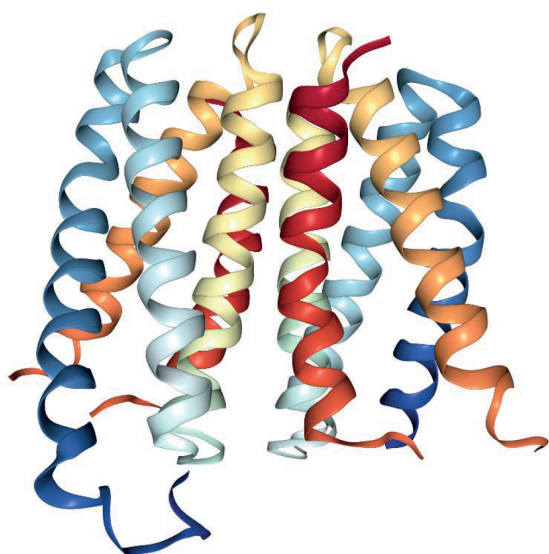


Рис. 4. 3D-структура RsTSPO в димерной форме (идентификатор в Protein Data Bank: 4UC3)

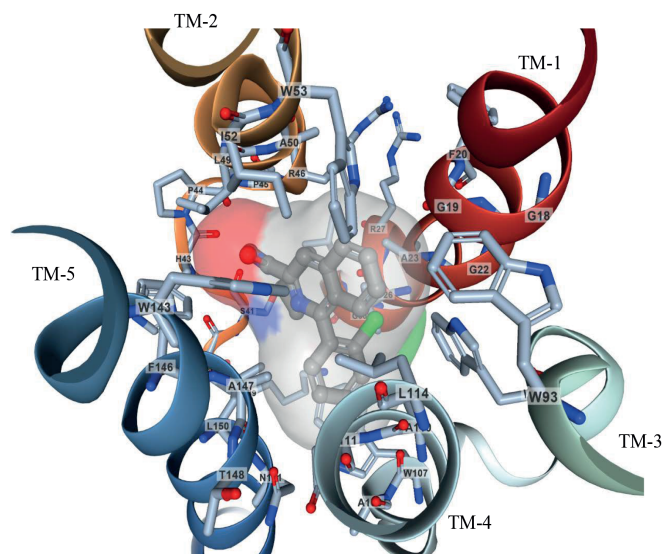


Рис. 5. Положение PK11195 в центральном сайте связывания комплекса mTSPO PK11195

опубликована кристаллическая структура высокого разрешения TSPO *Bacillus cereus* (BcTSPO) в комплексе с PK11195 (идентификатор в Protein Data Bank: 4RYI и 5DUO) (рис. 3) [5], а также кристаллическая структура TSPO *Rhodobacter sphaeroides* (RsTSPO) (идентификатор в Protein Data Bank: 4UC1, 4UC2, и 4UC3) (рис. 4) [6, 7].

Установлено, что в структурах mTSPO, и BcTSPO имеется центральная гидрофобная полость, которая является сайтом связывания лиганда PK11195. При этом в комплексе mTSPO-PK11195 сайт связывания PK11195 располагается между спиралями TM-I и TM-II, и включает следующие аминокислотные остатки белка: Ala23, Val26, Leu49, Ala50, Ile52, Trp107, Ala110, Leu114, Ala147 и Leu150 (рис. 5) [2].

В структуре комплекса BcTSPO-PK11195 выявлено подобное расположение сайта связывания PK11195 между пептидными спиралями TM-I и TM-II, включающее аминокислотные остатки Ser22, Tyr32, Pro42, Ile47, Phe55, Phe90, Ser91, Gln94, Cys107, Ala142 и Leu145. При этом отмечена возможная роль индольных NH-групп триптофановых остатков Trp51 и Trp138 в образовании водородной связи с карбонильной группой PK11195 [5] (рис. 6).

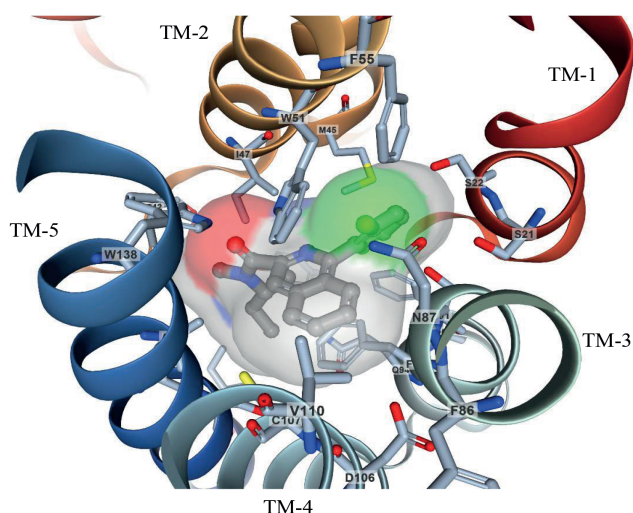


Рис. 6. Положение PK11195 в центральном сайте связывания комплекса BcTSPO PK11195. Водородные связи показаны черным пунктиром, гидрофобные взаимодействия не отмечены

Ещё один сайт связывания находится на CRAC-домене (cholesterol recognition amino acid consensus, аминокислотный участок, распознающий холестерин) спирали TM V (рис. 1). Этот сайт ответственен за связывание холестерина и холестерин-подобных лигандов [8]. Предположительно за связывание с холестерином в CRAC-домене ответственны аминокислотные остатки Tyr152 и Arg156.

Полиморфизм TSPO

В начале 2010-х годов в процессе изучения на людях меченного лиганда TSPO — соединения ^{11}C -PBR28,

использовавшегося для проведения позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ), было установлено, что связывание этого лиганда у разных людей происходит с различной эффективностью [9]. Исследования позволили разделить популяцию людей на три типа: HABs (high-affinity binders, с высоким сродством к TSPO), low-affinity binders (LABs, с низким сродством к TSPO) и mixed-affinity binders (MABs, со смешанным сродством к TSPO). Различия в аффинности лиганда PBR28 по отношению к TSPO для HABs и LABs оказались весьма существенными, константы ингибирования по отношению к ним составили ~4 нМ и ~200 нМ соответственно. В то же время для MABs были определены две константы ингибирования, составляющие ~4 и ~300 нМ. Другие лиганды TSPO, такие как DAA1106, DPA713, PBR06, PBR111, XBD173 также демонстрировали существенное различие в связывании с сайтами связывания TSPO у HABs и LABs [9, 10]. Однако было обнаружено, что лиганд PK11195 не имеет различий в аффинности по отношению к TSPO у HABs и LABs [10]. Было установлено, что различия в аффинитете к TSPO в популяции человека обусловлены полиморфизмом TSPO, а именно, различием аминокислоты в 147-м положении полипептидной цепи этого рецептора [11]. При этом у «основного TSPO» (TSPO wild type, TSPO WT) в этом положении находится аланин, а у «второго типа TSPO» — треонин (TSPO A147T). С целью исследований влияния данного полиморфизма на функции TSPO были получены кристаллические формы TSPO из бактерий *Rhodobacter sphaeroides* и созданного на его основе мутантного TSPO, имитирующего замену Ala(147) на Thr(147) у TSPO человека [6]. Было установлено, что данная мутация приводит к конформационным изменениям в области спиралей TM-II и TM-V, за счёт чего и возможно изменение конфигураций сайтов связывания на TSPO (рис. 7). Однако следует

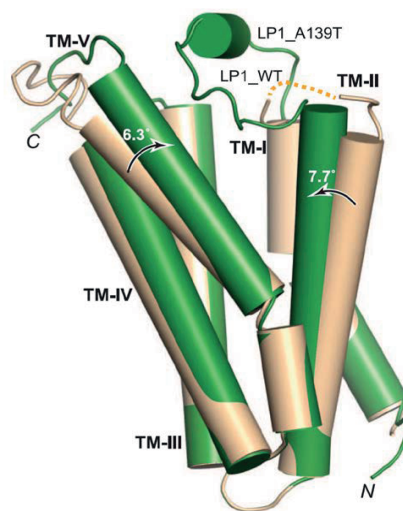


Рис. 7. Структурное наложение TSPO *Rhodobacter sphaeroides* дикого типа (WT TSPO) и мутанта (A139T TSPO). Показаны углы и направления конформационных изменений пептидных спиралей TM-II и TM-V. Взято из [6]

учитывать тот факт, что TSPO *Rhodobacter sphaeroides* имеет лишь 34 % идентичности с TSPO человека, поэтому различия в двух типах TSPO этой бактерии не может полностью объяснить различия в аффинности лигандов TSPO у человека.

Локализация, функции и физиологическая роль TSPO

TSPO представлен во многих органах, однако в наибольшей степени он обнаруживается в тканях, продуцирующих стероиды, таких как ткани надпочечников, гонад и мозга [1, 12]. В центральной нервной системе (ЦНС) TSPO обычно представлен в клетках микроглии и реактивных астроцитах [13, 14]. Также высокое содержание TSPO было обнаружено в некоторых типах нейрональных клеток, таких как нейроны обонятельной луковицы млекопитающих [15, 16], в первичной клеточной культуре корковых астроцитов и нейронов млекопитающих, в гранулярных клетках мозжечка, в глиальных клетках линии BV-2 [17] и в сенсорных нейронах спинального ганглия крыс [18]. О важнейшей роли TSPO свидетельствует тот факт, что функциональная инактивация TSPO индуцирует образование у мышей фенотипа, погибающего на эмбриональной стадии [19].

Как основной компонент наружной мембраны митохондрий, TSPO опосредует различные функций митохондрий, в том числе транспорт холестерина и синтез стероидных гормонов, транспорт порфиринов, митохондриальное дыхание, открытие митохондриальных пор, апоптоз и пролиферацию клеток [12–14, 20–22].

TSPO-опосредованный стероидогенез.

В клетках, продуцирующих стероиды, TSPO опосредует перенос холестерина от внешней к внутренней мембране митохондрий, что является лимитирующей стадией в синтезе нейростероидов [1, 12, 23]. *In vitro* эксперименты, подтвержденные методом ядерного магнитного резонанса, показали, что TSPO связывает холестерин в области карбоксильного конца цитозольного белка (CRAC), входящего в состав аминокислотного домена TSPO, в наномолярных концентрациях [24, 25].

Механизм переноса холестерина внутрь митохондрии до сих пор окончательно не ясен, однако продолжительные исследования показали, что в этот процесс вовлечены помимо TSPO множество других белковых структур. На сегодняшний день транспорт холестерина в митохондрию представляется следующим образом (рис. 8) [26, 27]. На поверхности митохондрии TSPO образует белковый комплекс, получивший название «трансдуктосома», который отвечает за перенос холестерина из цитозоля на CRAC-домен TSPO. Помимо самого TSPO в этот комплекс входят следующие компоненты: VDAC (Voltage-Dependent Anion Channel, Вольт-зависимый анионный канал), StAR (Steroidogenic acute regulatory protein, Стероидогенный острый регуляторный белок), ACBD1 (acyl-CoA binding domain 1, другое название – DBI, ингибитор связывания диазепама), ACBD3 (acyl-CoA binding domain 3, другое название – PAP7, PBR-associated protein) и регуляторная субъединица I сАМР-зависимой протеинкиназы А (РКА-RI). «Трансдуктосома» непосредственно связана с другой структурой, получившей название «метабогон» [27]. Термин «метабогон» описывает мультибелковый комплекс, который является промежуточным звеном между «трансдуктосомой» и цитохромом CYP11A1 (P450_{ssc}), обеспечивая второй этап переноса холестерина внутрь митохондрии к месту его превращения в прегненолон. «Метабогон» представляет собой 800 кДа комплекс, содержащий несколько белков TSPO, VDAC, AAA+ АТФаза (ATAD3A, белок, формирующий контакт внешней и внутренней митохондриальной мембран) и сам цитохром CYP11A1 [27]. Таким образом, TSPO и VDAC являются компонентами как «трансдуктосомы», так и «метабогона», что подчеркивает их ключевую роль в транспорте холестерина внутрь митохондрии.

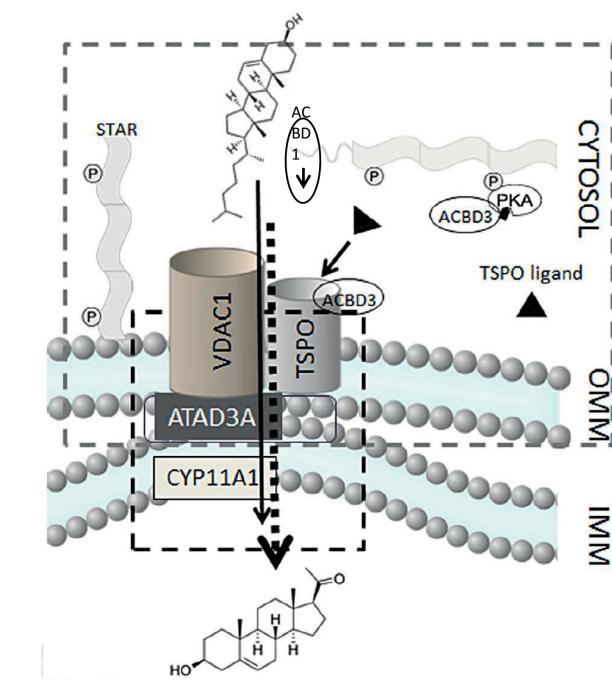


Рис. 8. Современные представления о механизме переноса холестерина внутрь митохондрии с участием рецептора TSPO.

Примечания: VDAC1 (Voltage-Dependent Anion Channel, Вольт-зависимый анионный канал), StAR (Steroidogenic acute regulatory protein, Стероидогенный острый регуляторный белок), ACBD1 (acyl-CoA binding domain 1), ACBD3 (acyl-CoA binding domain 3), PKA — сАМР-зависимая протеинкиназа А, ATAD3A — AAA + АТФаза, белок, формирующий контакт внешней и внутренней митохондриальной мембран, CYP11A1 — цитохром P450_{ssc}, ОММ — outer mitochondrial membrane, внешняя мембрана митохондрии, ИММ — inner mitochondrial membrane, внутренняя мембрана митохондрии. Серым пунктиром ограничена «трансдуктосома», а черным — «метабогон». Взято из [26]

domain 1, другое название – DBI, ингибитор связывания диазепама), ACBD3 (acyl-CoA binding domain 3, другое название – PAP7, PBR-associated protein) и регуляторная субъединица I сАМР-зависимой протеинкиназы А (РКА-RI). «Трансдуктосома» непосредственно связана с другой структурой, получившей название «метабогон» [27]. Термин «метабогон» описывает мультибелковый комплекс, который является промежуточным звеном между «трансдуктосомой» и цитохромом CYP11A1 (P450_{ssc}), обеспечивая второй этап переноса холестерина внутрь митохондрии к месту его превращения в прегненолон. «Метабогон» представляет собой 800 кДа комплекс, содержащий несколько белков TSPO, VDAC, AAA+ АТФаза (ATAD3A, белок, формирующий контакт внешней и внутренней митохондриальной мембран) и сам цитохром CYP11A1 [27]. Таким образом, TSPO и VDAC являются компонентами как «трансдуктосомы», так и «метабогона», что подчеркивает их ключевую роль в транспорте холестерина внутрь митохондрии.

На внутренней мембране митохондрии холестерин под действием фермента P450_{ssc}, расщепляющего боковую цепь холестерина и относящегося к семейству цитохромов P450, превращается в пре-

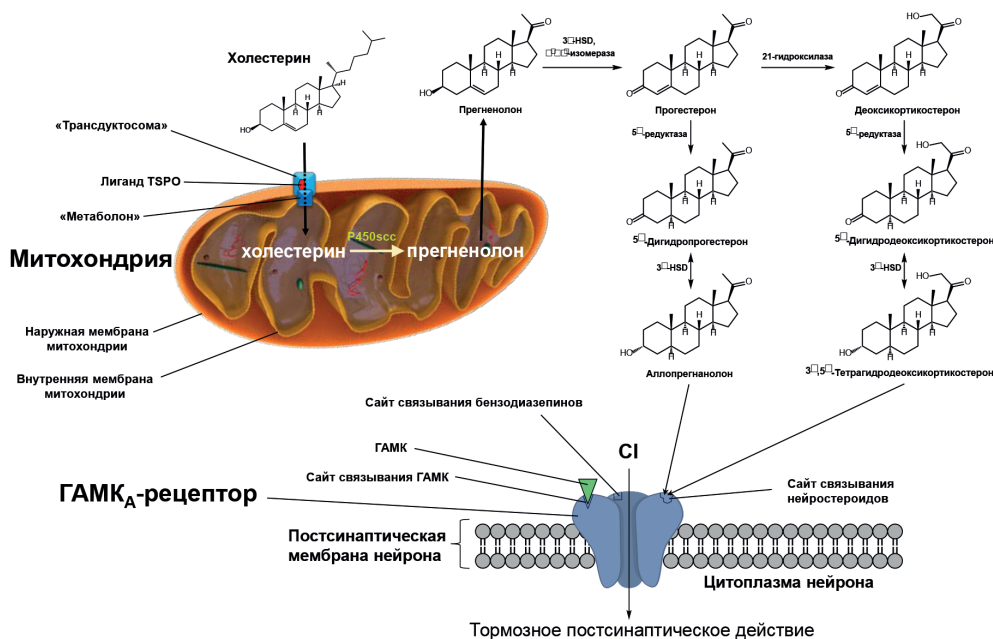


Рис. 9. Механизм нейростероидогенеза и тормозного действия нейростероидов, опосредованных модуляцией TSPO его лигандами

гненолон, который затем диффундирует в цитоплазму (рис. 9) [28]. Ферменты 3β -HSD (3β -гидроксистероиддегидрогеназа) и Δ^4 - Δ^5 -изомераза формируют прегненолон в прогестерон, который под действием 21-гидроксилазы превращается в деоксикортикостерон. 5α -редуктаза восстанавливает прогестерон и деоксикортикостерон в 5α -дигидропрогестерон и 5α -дигидродеоксикортикостерон соответственно. Последние трансформируются в аллопрегнанолон и 3α , 5α -тетрагидродеоксикортикостерон соответственно под действием 3α -HSD (3α -гидроксистероиддегидрогеназы). Нейростероиды имеют собственный, отличный от бензодиазепинового, сайт связывания на GABA_A -рецепторе, и они модулируют нейромедиаторное действие ГАМК (γ -аминомасляной кислоты), что приводит к усилению тока анионов хлора внутрь клетки нейрона, что приводит к тормозному постсинаптическому эффекту. Лиганды TSPO (эндогенные или синтетические) модулируют действие этого рецептора, активируя транспорт холестерина с внешней на внутреннюю мембрану митохондрии.

Лиганды 18 кДа транслокаторного белка TSPO

Эндогенные лиганды

Холестерин является ключевым лигандом TSPO, так как именно он является исходным веществом для дальнейшего биосинтеза нейростероидов после проникновения через мембрану митохондрии. Холестерин обладает нанолярным сродством к TSPO ($K_d < 10 \text{ nM}$) [29]. Как было показано выше, местом связывания холестерина на TSPO является CRAC-домен.

Порфирины. Ряд порфиринов являются эндогенными лигандами TSPO [30, 31], их сайт связывания имеет общую область с сайтом связывания PK11195 [5]. Наибольшим аффинитетом обладают следующие производные порфиринов: протопорфирин IX ($K_i = 14,5 \pm 10,7 \text{ nM}$ [31]), дейтеропорфирин IX ($K_i = 31,3 \pm 2 \text{ nM}$) и гемин ($K_i = 40,6 \pm 13,7 \text{ nM}$) (рис. 10) [31]. Несмотря на то, что многие порфирины обладают высокой аффинностью по отношению к TSPO, эти соединения практически не изучались на наличие био-

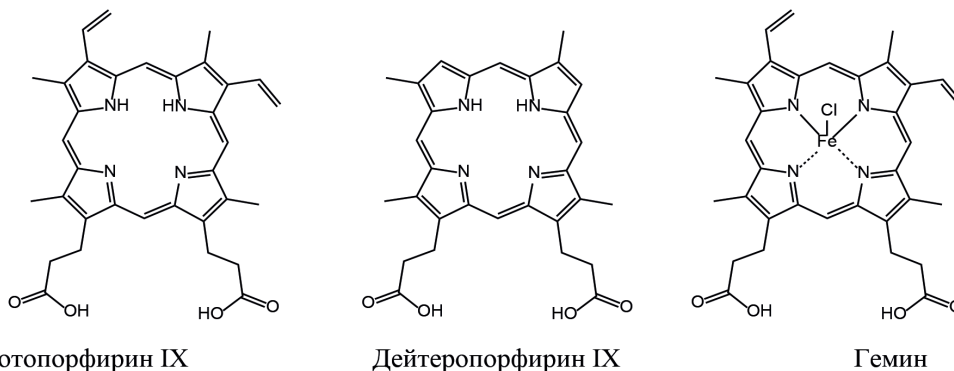


Рис. 10. Представители порфиринов, обладающих высоким сродством к TSPO

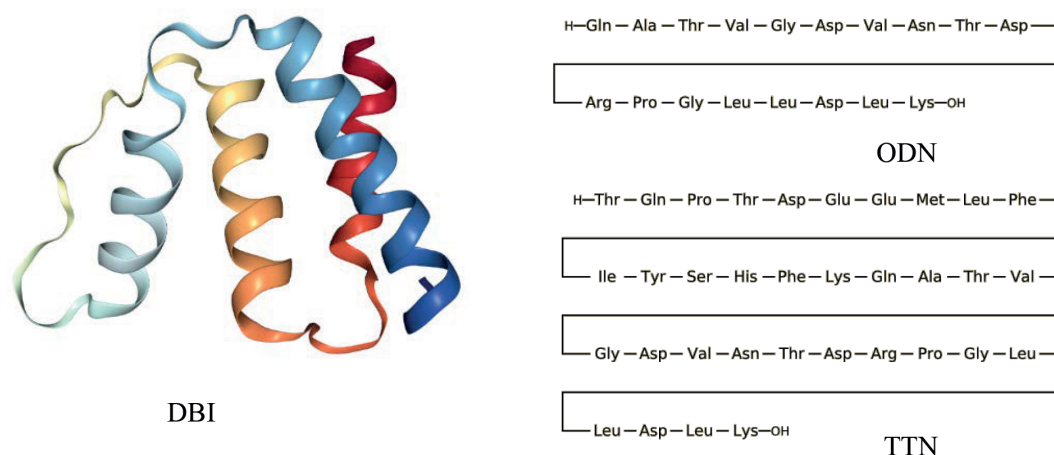


Рис. 11. Третичная структура DBI (идентификатор в Proteine Data Bank: 1HB8) и аминокислотные последовательности TTN и ODN

логических эффектов. Вероятно, родство порфиринов к TSPO обусловлено полифункциональностью этого рецептора, задействованного не только в транспорте холестерина, но и в транспорте порфиринов внутрь митохондрии, где они принимают участие в биосинтезе митохондриальных цитохромов и других порфирин-содержащих молекул [32].

DBI и его производные

В процессе поиска эндогенных лигандов TSPO было установлено, что одним из таковых является ингибитор связывания диазепама (DBI). DBI представляет собой полипептид массой 9 кДа, который был открыт в 1983 году в мозге крысы при изучении белков, ингибирующих бензодиазепиновое связывание с ГАМК_A-рецептором (рис. 11) [33]. Было установлено, что DBI способен вытеснять бензодиазепиновые лиганды из TSPO, выделенных из коры надпочечников крыс, а также что DBI содержится в высоких концентрациях клетках коры надпочечников и клетках Лейдига тестикул, которые обогащены рецепторами TSPO [34]. Также было показано, что основные посттрансляционные продукты DBI — октадеканейропептид DBI₃₃₋₅₀ (octadecaneuropeptide, ODN) и триаконтатетранейропептид DBI₁₇₋₅₀ (triacontatetranuropeptide, TTN) также обладают родством к TSPO (рис. 11) [35, 36].

В работе Papadovulos *V, et. al.* [37] было установлено, что как сам DBI, так и его производные TTN и ODN стимулируют митохондриальный биосинтез стероидов. При этом авторы показали, что максимальная стимуляция образования прегненолона под действием DBI (в три раза) достигается при концентрации белка 0,33 мкмоль. Эффективность стимуляции стероидогенеза DBI превышает этот показатель, полученный под действием производных бензодиазепинов. Анализ литературы позволяет сделать предположение, что DBI и его производные взаимодействуют с тем же сайтом

связывания на TSPO, что и синтетические лиганды. Таким образом, вероятно, синтетические лиганды TSPO полностью или частично выполняют роль DBI при взаимодействии с этим рецептором.

PAP7. В 2001 году был выявлен ещё один эндогенный белковый лиганд TSPO, получивший название «Ассоциированный с ПБР протеин» (PBR-associated protein, PAP7) [38]. Этот белок массой 52 кДа был выявлен в тканях грызунов и человека, содержащих сам TSPO. Позже было установлено, что PAP7 является важной составляющей при формировании белкового комплекса, включающего TSPO, для транспорта холестерина на внутреннюю мембрану митохондрии [39, 40].

В процессе выявления новых функций эндогенных пептидов как DBI, так и PAP7 были отнесены к общему классу белков, содержащих домен связывания ацил-кофермента A (acyl-coenzyme A binding domain containing protein, ACBD), в связи с чем были переименованы в ACBD1 и ACBD3 соответственно [39]. Эти данные позволили предположить, что ацил-КоА-связывающие белки или сам ацил-КоА регулируют митохондриальную функцию TSPO.

Синтетические лиганды TSPO

Ro 5 4864

История создания и исследования синтетических лигандов TSPO (табл. 1) начинается в 1977 году вместе с открытием самого рецептора, когда Браэстрап и Сквирес при проведении экспериментов по связыванию меченного тритием диазепама в различных тканях крыс обнаружили, что он связывается не только со своим специфическим сайтом связывания на мембранах мозга (центральный бензодиазепиновый рецептор, ЦБР (CBR)), но и с сайтом связывания, расположенным в митохондриальной фракции почек, печени и лёгких крыс [41]. В этом же исследовании авторы изучили способность различных представителей ряда

бензодиазепинов вытеснять [^3H]дiazепам из выявленных сайтов связывания. Было обнаружено, что соединение Ro 5 4864, которое практически не вытесняет [^3H]дiazепам из мембран мозга, очень активно замещает эту радиометку из митохондриальной фракции почек. Напротив, клоназепам, показавший наибольшую степень ингибирования связывания меченного diaзепам с мембранами мозга, практически не ингибировал почечное связывание. Полученные данные, а также последующие исследования позволили сделать вывод, что новый сайт связывания бензодиазепинов отличается от ЦБР и имеет собственные функции. На основании первичных данных по локализации нового бензодиазепинового сайта связывания, ему было присвоено название периферический бензодиазепиновый рецептор (ПБР, Peripheral Benzodiazepine Receptor (PBR)). В 2006 году в свете детализации молекулярных функций и структуры этого рецептора, он был переименован в транслокаторный белок (TSPO, translocator protein) [1].

Благодаря своей высокой аффинности и селективности соединение Ro 5-4864 в дальнейшем использовалось для исследования характеристик TSPO, на основании которых был сделан вывод, что этот рецептор принципиально отличается от ЦБР, имеет собственную структуру с внутриклеточной локализацией и собственные функции [42].

Производные бензодиазепинов явились первыми синтетическими лигандами TSPO, а соединение Ro 5-4864 стало классическим представителем этой группы, которое активно использовалось далее для выявления функционала TSPO и в качестве эталонного вещества при поиске новых лигандов TSPO.

Ro 5-4864 проявляет антидепрессивное действие в тесте вынужденного плавания в дозах 1,0 и 3,0 мг/кг (внутрибрюшинно, в/б), причём этот эффект блокируется при предварительном введении антагониста TSPO — соединения PK11195 [42]. Также Ro 5 4864 продемонстрировал высокий потенциал в качестве средства для лечения болезни Альцгеймера в модели на мышах в дозе 3 мг/кг (в/б) [43]. В экспериментах на крысах показана нейропротективная активность Ro 5-4864 в моделях повреждения периферической и центральной нервной системы в дозе 10 мг/кг (в/б). Это соединение способствовало регенерации двигательных нейронов и восстанавливало функцию лицевого нерва после аксотомии [44], а также препятствовало нейродегенерации седалищного нерва у стареющих крыс в дозе 3 мг/кг (8 подкожных инъекций) [45]. В модели повреждения кортекса крыс Ro 5-4864 в концентрации 100 и 150 мкмоль/л существенно увеличивал выживаемость нейронов [46], а в модели эксайтотоксичности, вызванной каинозой кислотой, это соединение защищало нейроны гиппокампа крыс от повреждения и снижало уровень реактивных астроцитов в микроглии в дозе 3 мг/кг (в/б) [47]. Показана способность Ro 5-4864 снижать развитие диабетической нейропатии за счёт активации нейростероидогенеза в модели на крысах [48].

PK11195

Производное изохинолина PK11195, открытое в 1983 году, стало первым соединением, не относящимся к классу бензодиазепинов, способным связываться с TSPO с наномолярной аффинностью при отсутствии связывания с ЦБР [49]. Авторы, впервые опубликовавшие данные о PK11195, не представили в своей работе ход дизайна данной молекулы, на основании чего можно предположить, что оно было открыто путём широкого скрининга. При сопоставлении характеристик связывания соединений PK11195 и Ro 5-4864 с TSPO в мембранах тканей почек крыс с использованием [^3H] PK11195 было показано превосходство первого соединения ($K_i = 9,3 \text{ нМ}$) перед вторым ($K_i = 23,0 \text{ нМ}$) [50]. PK11195 с момента открытия и до настоящего времени широко используется в качестве «золотого стандарта» лигандов TSPO в исследованиях, связанных с этим рецептором. Ряд фармакологических исследований позволяет утверждать, что PK11195 является антагонистом TSPO, так как он блокирует нейрорепродуктивные эффекты других лигандов TSPO, демонстрирующих агонистические свойства [42, 51–54].

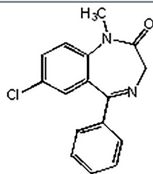
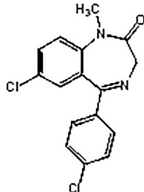
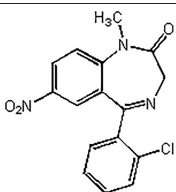
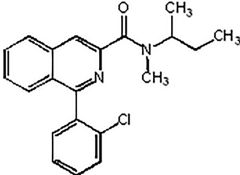
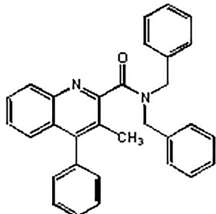
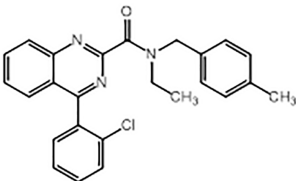
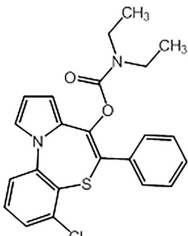
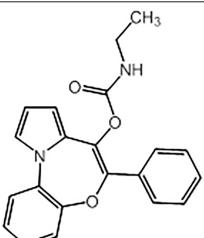
Алпидем

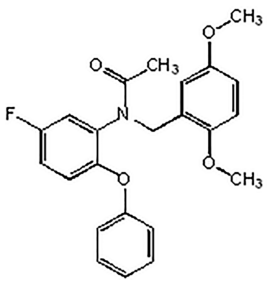
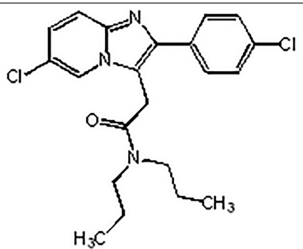
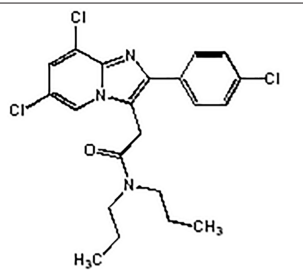
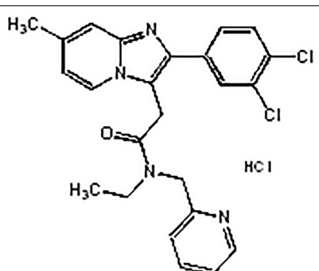
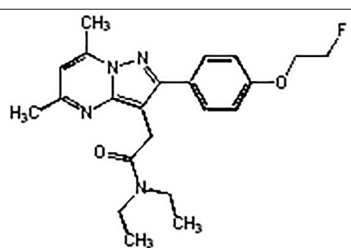
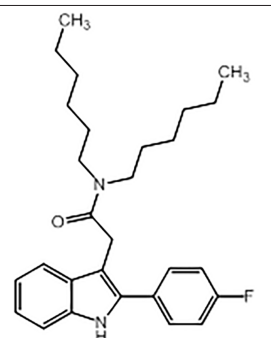
Алпидем — третий лиганд TSPO, ставший впоследствии классическим представителем этой группы. Этот препарат разрабатывался в компании Synthlabo (Франция) в качестве анксиолитического средства в конце 1980-х — начале 1990-х годов. Он был внедрен в клинику в 1991 году [55]. Алпидем был выявлен и отобран в ходе широкого скрининга производных имидазо[1,2-а]пиридинов, в котором оценивались анксиолитические, гипнотические, снотворные и противосудорожные свойства этих веществ на животных моделях на грызунах [56]. Позже было установлено, что Алпидем обладает аффинными свойствами по отношению как к TSPO, так и к ЦБР ($K_i 0,5\text{--}7 \text{ нМ}$ и $1\text{--}28 \text{ нМ}$ соответственно) [57]. Алпидем стимулирует образование прегненолона в митохондриях клеток глиомы линии C6-2B [57]. Показано, что анксиолитическое, а также антиконвульсивное действие алпидема обусловлено как его связыванием с ЦБР, так и с TSPO-рецептором с последующим образованием нейростероидов [58]. В 1994 году препарат Алпидем (таблетки, 50 мг активного компонента) был изъят из клиники вследствие обнаружения нарушения функции печени на фоне его приёма с несколькими смертельными случаями [59–61]. Следует отметить, что этот побочный эффект может быть обусловлен сродством Алпидема к ГАМКА-рецепторам, которые часто экспрессированы в тканях печени.

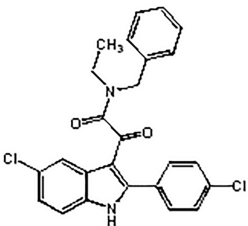
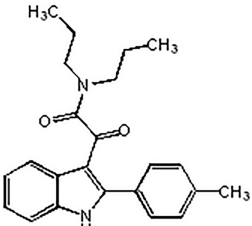
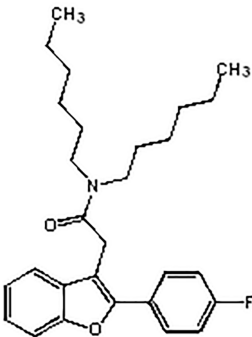
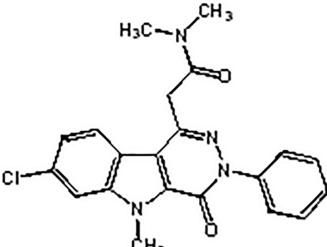
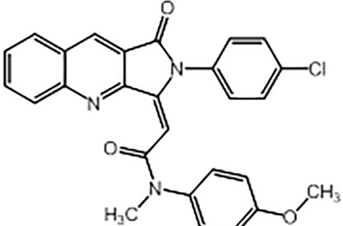
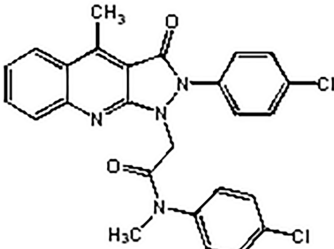
Три представленных лиганда TSPO, Ro 5 4864, PK-11195 и Алпидем, явились ключевыми родоначальниками большинства последующих синтетических лигандов TSPO, так как именно отталкиваясь от их структур, происходило конструирование новых молекул и создание фармакофорных моделей структур, обладающих аффинностью к TSPO.

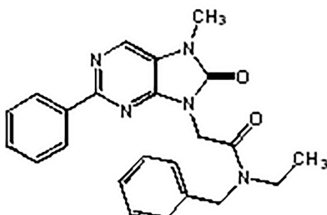
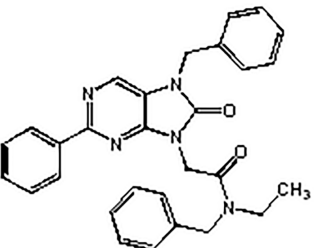
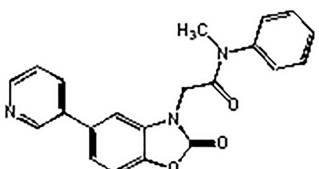
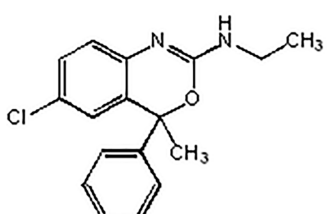
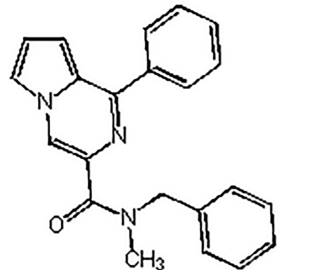
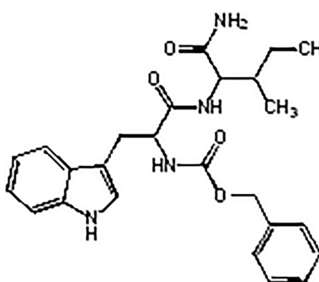
Таблица 1

Представители различных классов синтетических лигандов TSPO

Класс	Шифр	Формула	Значения IC ₅₀ /K _i	Ссылка
Бензодиазепины	Диазепам		IC ₅₀ (TSPO) 40 нМ, (CBR) 3 нМ	[41]
	Ro-5-4864		IC ₅₀ (TSPO) 4,7 нМ, (CBR) 163000 нМ	[41]
	Клоназепам		IC ₅₀ (TSPO) 2900 нМ, (CBR) 5 нМ	[41]
Изохинолины	PK11195		K _i (TSPO) 9,3 нМ, (CBR) > 10000 нМ	[50]
Хинолины	QIN-3k		K _i (TSPO) 11 нМ	[79]
Хиназолины	QZ-19		K _i (TSPO) 0,489 нМ	[80]
Бензотиазепины	THIA-4i		K _i (TSPO) 2 нМ	[64]
Бензоксазепины	BOZ-11a		K _i (TSPO) 2,26 нМ	[65]

Класс	Шифр	Формула	Значения IC ₅₀ /K _i	Ссылка
Арилокси-аналиды	DAA1106		K _i (TSPO) 0,92 нМ	[66]
Имидазо-пиридины	Алпидем		K _i (TSPO) 0,5-7 нМ (CBR) 1-28 нМ	[57]
	CB-34		IC ₅₀ (TSPO) 20 нМ, (CBR) > 10000 нМ	[84]
	YL-IPA08		IC ₅₀ (TSPO) 0,23 нМ, (CBR) > 700 нМ	[51]
Пиразоло-пиримидины	DPA-714		K _i (TSPO) 7,0 нМ, (CBR) > 10000 нМ	[85]
Индолы	FGIN-1-27		K _i (TSPO) 4,4 нМ	[53, 87]

Класс	Шифр	Формула	Значения IC ₅₀ /K _i	Ссылка
Индолы	IND-32		K _i (TSPO) 3,33 нМ, (CBR) > 10000 нМ	[90]
	MPIGA		K _i (TSPO) 5,5 нМ, (CBR) > 10000 нМ	[91]
Бензофураны	BZF-4b		K _i (TSPO) 8 нМ, (CBR) > 1000 нМ	[92]
Пиридазино-индолы	SSR180575		IC ₅₀ (TSPO) 2,5 нМ, (CBR) > 1000 нМ	[93]
Пирроло-хинолины	PRQ-4e		K _i (TSPO) 0,9-1,9 нМ	[94, 95]
Пиразоло-хинолины	PZQ-10t		K _i (TSPO) 16 нМ	[96]

Класс	Шифр	Формула	Значения IC ₅₀ /K _i	Ссылка
Пурины	AC-5216, XBD173, Эмапунил		IC ₅₀ (TSPO) 0.298 нМ, (CBR) > 10000 нМ	[54]
	ZBD-2		K _i (TSPO) 0.463 нМ	[75]
Бензоксазолон	BOZ-74		K _i (TSPO) 11 нМ, (CBR) > 10000 нМ	[77]
Бензоксазины	Этифоксин		IC ₅₀ (TSPO) 27300 нМ, (CBR) 6700 нМ	[97]
Пирроло-пиазины	ГМЛ-1		IC ₅₀ (TSPO) 54 нМ, (CBR) > 10000 нМ	[102]
Дипептидные лиганды	ГД-23		Нет данных	[110]

Дизайн лигандов TSPO на базе бензодиазепинов

В начале 1990-х годов *Campiani G, et. al.* описали группу производных бензотиазепинов, которые разрабатывались в качестве аналогов бензодиазепинов и лигандов ГАМК-рецепторов. Однако исследование характеристик связывания показало, что ряд представителей данной группы обладает высокой аффинностью и селективностью к TSPO [62]. Исследователями была сконструирована фармакофорная модель молекул, обладающих лигандными свойствами к TSPO. В неё входят следующие элементы: центроид ортоконденсированного бензольного кольца L1, центроид фенильного заместителя L3, неподеленная пара sp^2 или sp^3 гибридизованного атома кислорода, связанного с тиазепиновым кольцом (H2), и центроид пиррольного фрагмента $\pi 1$ (рис. 12).

В дальнейшем теми же авторами на основании данных структура-аффинность была предложена 3D-QSAR модель лигандов TSPO, созданная с помощью сравнительного метода анализа молекулярного поля (CoMFA) на множестве из 42 лигандов, относящихся к классу бензотиазепинов. Данная модель оказалась способной

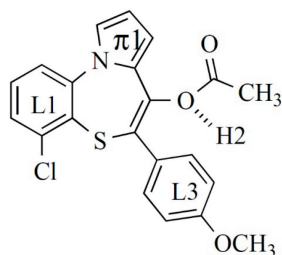


Рис. 12. Фармакофорная модель строения бензотиазепиновых лигандов TSPO

рационализировать сродство лигандов по стерическим и электростатическим параметрам со стандартной ошибкой значения pIC_{50} , не превышающей 0,648 [63].

С использованием представленной методологии дизайна группой *Campiani G, et. al.* в ряду производных бензотиазепинов были выявлены высокоаффинные

лиганды, из которых наибольший потенциал продемонстрировало соединение TH1A-4i [64].

В развитие предложенного подхода к дизайну лигандов TSPO *Campiani G, et. al.* была сконструирована группа ближайших аналогов бензотиазепинов — бензоксазепины [65], среди которых были выявлены высокоаффинные молекулы. Так, соединение **BOZ-11a** показало субнаномольное значение аффинности. Кроме того, оно в концентрации 2 мкмоль/л стимулировало образование прегненолона в клетках Лейдига MA10 с той же эффективностью, что и соединение Ro-5-4864 [65].

Однако несмотря на перспективные результаты по аффинности в разработанных классах, в литературе нет данных о доклинических исследованиях их представителей.

Okubo T and Okuyama S, et. al. с соавт. описали открытую ими группу лигандов TSPO — арилоксианилидов, сконструированную на базе бензодиазепинового лиганда Ro-5-4864. Дизайн новой группы осуществлялся путём раскрытия диазепинового цикла и введением в молекулу дополнительного арильного заместителя, что позволило создать конформационно-свободные лиганды (рис. 13) [66, 67].

Среди полученных представителей класса арилоксианилидов были выявлены высокоаффинные и высокоселективные к TSPO структуры, например DAA1106. Эксперимент по оценке связывания соединения DAA1106 с митохондриальной фракцией кортекса обезьян резус показал, что высокое сродство этого соединения к TSPO сохраняется (K_d 0,426 нМ), что свидетельствует об отсутствии видоспецифичности его взаимодействия [68]. В исследовании *Briard E, et al.* 2009 года представлены близкие данные по аффинности DAA1106 по отношению к TSPO мозга крыс, обезьян резус, а также человека, составляющие (K_i) 0,0726; 0,230 и 0,242 нМ соответственно [69].

Соединение DAA1106 показало наличие анксиолитической активности в эксперименте на мышах в тестах ПКЛ и светло-тёмная камера в дозах 0,1–3,0 мг/кг (перорально), не оказывая при этом, в отличие от диазепамов и буспилона, влияния на спонтанную двигательную активность [66].

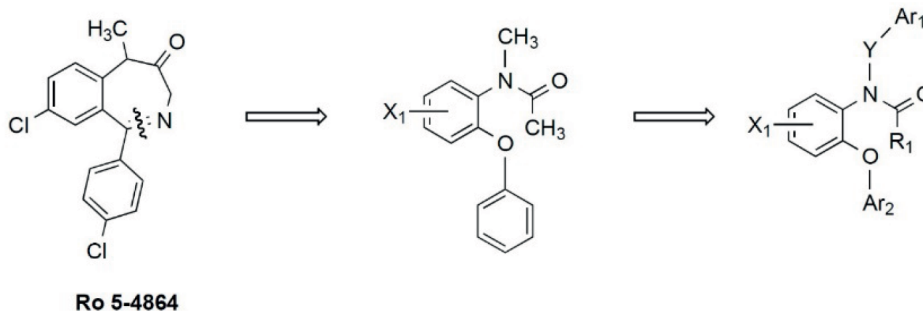


Рис. 13. Дизайн лигандов TSPO в ряду арилоксианилидов путём раскрытия бензодиазепинового цикла соединения Ro-5-4864 и последующей модификации

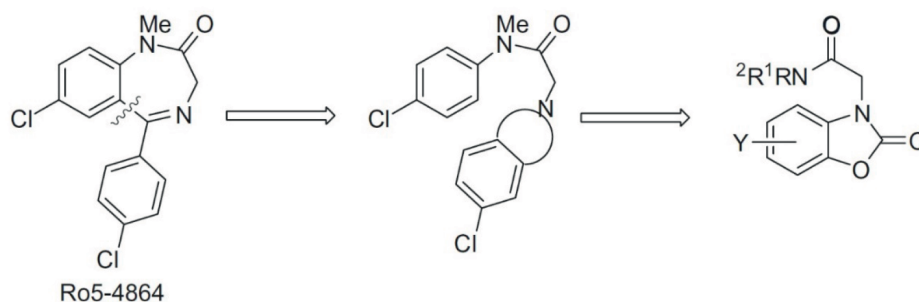


Рис. 14. Дизайн лигандов TSPO в ряду производных бензоксазолонов путём раскрытия бензодиазепинового цикла соединения Ro-5-4864 и последующей модификации

Группа учёных из Японии из компании Dainippon Pharmaceutical Co. предложила новый тип лигандов TSPO на базе пуринового гетероцикла. К сожалению, авторами не представлен ход дизайна новой группы, однако можно предположить, что конструирование велось по пути, представленному сотрудниками этой же компании в последующих работах по поиску новых лигандов TSPO (см. ниже — бензоксазолоновый лиганд **BOZ-74**), а именно путём размыкания диазепинового цикла модельного лиганда Ro-5-4864 и заменой ароматического остова пуриновым гетероциклом (см. схему по конструированию **BOZ-74**). В качестве наиболее перспективной молекулы в ряду пуриновых производных было отобрано соединение AC 5216 [54], получившее впоследствии также шифр XBD173 и название Эмапунил. Данное вещество обладает субнаномолярной аффинностью к TSPO и высокой селективностью. При этом аффинность AC 5216 была продемонстрирована как к TSPO в мозге крыс (K_i 0,297 нМ) и клетках глиомы крыс (IC_{50} 3,04 нМ), так и в клетках глиомы человека (IC_{50} 2,73 нМ). AC 5216 показал противотревожный эффект в тесте Фогеля у крыс (в дозах 0,1–3,0 мг/кг, п/о) и в тестах «светло-тёмная камера» (в дозах 0,003–0,01 мг/кг, п/о) и «социальное взаимодействие» (в дозах 0,01–0,3 мг/кг, п/о) у мышей, причём эффекты соединения полностью блокировались действием антагонистом TSPO — соединением PK11195. Выраженность эффектов AC 5216 была на уровне активности диазепама в аналогичных дозах. Также AC 5216 продемонстрировал антидепрессивную активность в дозах 3,0–30,0 мг/кг (п/о) в тесте вынужденного плавания у крыс, этот эффект также снимался действием PK11195. Выраженность антидепрессивного действия AC 5216 превышала эффект препарата дезипрамина в дозе 30 мг/кг (п/о). В отличие от бензодиазепинов, AC 5216 не обладал миорелаксantным действием, не оказывал влияния на память и на гексобарбиталовой сон у мышей, не вносил существенных изменений в электроэнцефалограмму крыс [54]. В следующей публикации японских авторов было установлено, что анксиолитическое действие AC-5216 ингибируется трилостаном, финастеридом (ингибиторы биосинтеза

нейростероидов) и пикротоксином (блокатор ионного канала ГАМКА-рецептора), что свидетельствует о реализации эффектов соединения через активацию стероидогенеза [70]. В эксперименте по хроническому введению AC-5216 мышам установлено, что он не вызывает зависимости и синдрома отмены, кроме того, он не приводит к потере массы тела [71].

В публикации *Rupprecht R, et al.* описана способность AC-5216 предотвращать панические атаки у грызунов при отсутствии седативных свойств и развития толерантности [72]. В эксперименте на людях установлено, что AC-5216 (приём по 90 мг препарата в течение 7 дней) проявляет анксиолитическую и антипаническую активность у здоровых добровольцев при использовании экспериментальной модели ССК4-индуцированной тревоги (тревоги, индуцированной тетрапептидом холецистокинина) [72]. На модели посттравматического стрессового расстройства у мышей выявлена анти-ПТСР активность AC-5216 [73]. Также AC-5216 активировал биосинтез прегненолона в клетках глиомы крыс линии С6 и в клетках микроглии мышей BV-2, а также приводил к увеличению экспрессии TSPO [74].

Соединение AC-5216 доведено компанией Novartis до II фазы клинических исследований в качестве средства для лечения генерализованных тревожных расстройств (ClinicalTrials.gov identifier: NCT00108836). В этом неопубликованном исследовании AC-5216 не показал различий с плацебо в лечении тревожных расстройств. Отсутствие активности во II стадии, возможно, связано с выбором неподходящей модели заболевания: ССК4-индуцированная тревога в большей степени моделирует панические расстройства, чем генерализованные тревожные расстройства.

Ещё одним перспективным лигандом TSPO в ряду производных пуринов является молекула ZBD-2, отличающаяся от AC-5216 наличием бензильного заместителя вместо метильного в седьмом положении гетероцикла [75]. Этот высокоаффинный лиганд продемонстрировал анксиолитическую активность на модели хронической боли у мышей в дозах 0,15–1,5 мг/кг (п/о) [75]. ZBD-2 показал также нейропротективный

эффект в моделях очаговой ишемии головного мозга и НМДА-индуцированной нейротоксичности [76].

В 2012 году группа учёных из компании Dainippon Sumitomo Pharma Co. описали группу высокоаффинных и селективных лигандов TSPO, относящихся к классу бензоксазолонов. Дизайн нового класса осуществлялся путём структурного преобразования бензодиазепинового лиганда Ro5-4864 (рис. 14). При этом диазепиновый цикл был разомкнут, а иминный фрагмент был заменен на оксазолоновый гетероцикл [77]. Заместители в образовавшемся остове были широко проварьированы.

Наибольший потенциал в группе бензоксазолонов продемонстрировало соединение **BOZ-74**. Это соединение показало в дозе 10 мг/кг (п/о) выраженную анксиолитическую активность у крыс в тесте Фогеля [77]. Кроме того, **BOZ-74** обладало хорошими фармакокинетическими показателями, демонстрируя метаболическую активность в печени крысы и человека и способность проникать в мозг при пероральном введении крысам.

Дизайн лигандов TSPO на базе структуры PK11195

Соединение PK11195 стало отправной точкой в дизайне и моделирования целого ряда родственных ему лигандов TSPO.

Так, *Capelli A, et al.* был осуществлен систематический подход к дизайну новых лигандов TSPO путём создания конформационно-жестких производных PK11195 (рис. 15). Для этого был создан пространный пул молекул с определёнными значениями диэдральных углов между ключевыми фармакофорными элементами молекул: карбонильной группой, ароматическим заместителем и другими [78].

Использование данного подхода позволило установить, что для достижения значений высокой аффинности к TSPO молекула должна обладать следующими характеристиками: карбонильная группа должна располагаться под диэдральным углом в диапазоне от 80 до 110° по отношению к гетероциклическому остову, что указывает на принципиальное участие этого фрагмента в образовании водородной связи с подходящей аминокислотой в рецепторе, кроме того, угол поворота ароматического заместителя не играет существенной роли в лигандных свойствах молекул; анализ состава амидных групп привёл к выводу, что для наличия высокой аффинности необходима объёмная липофильная третичная амидная группа, в то время как вторичные амиды обладают существенной худшими свойствами. Наконец, изменение положения гетероциклического атома азота не оказывает существенное значение на аффинность молекул.

С использованием представленного подхода группой *Cappelli A, et al.* было создано производное хинолинов QIN-3k, которое обладает высокой аффинностью к TSPO и существенно увеличивает уровень прегненолона, прогестерона и аллопрегнанола в кортексе и в плазме крыс в сравнении с контролем [79].

В 2014 году в продолжение исследований аналогов PK11195 с целью создания высокоаффинных и эффективных молекул была предпринята попытка создания 3D-фармакофорной модели лигандов TSPO с использованием пакета PHASE программного обеспечения Maestro из Schrodinger 9.1 (рис. 16) [80]. В состав предложенной модели входит акцептор водородной связи (красная сфера A), три ароматических кольца

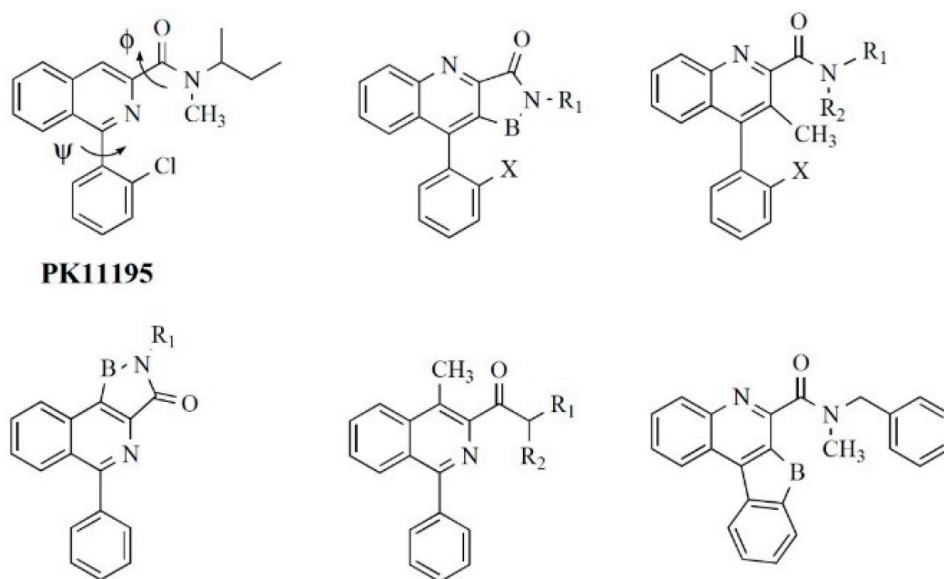


Рис. 15. Конформационно-жесткие производные PK11195, сконструированные для уточнения фармакофорной модели лигандов TSPO

(оранжевые кольца R1, R2, R3) и функции дизамещенного амида (голубые сферы X1 и X2). Кроме того, в модель были добавлены фармакофоры, учитывающие замещение в хинолиновом кольце и циклические амидные группы (жёлтые сферы). Для всех фармакофорных элементов в данной модели были заданы чёткие пространственные характеристики.

С использованием описанного подхода авторами был сконструирован ряд производных хинолинов, среди которых можно выделить соединение **QZ-19**, которое обладает субнанолярной аффинностью к TSPO и показало антипролиферативную активность на клеточной линии U343 глиобластомы человека [80].

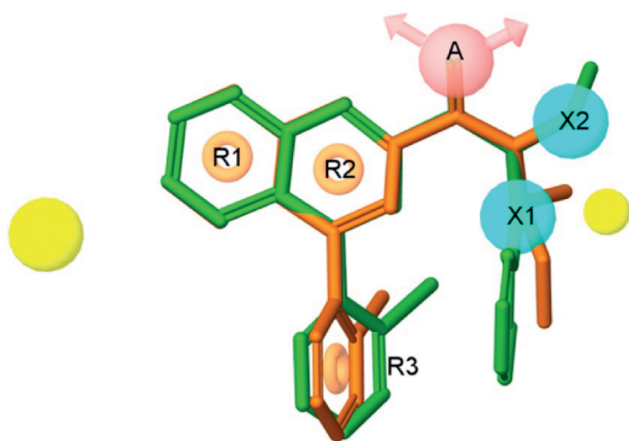


Рис. 16. 3D-фармакофорная модель хинолиновых лигандов TSPO

Дизайн лигандов TSPO на базе структуры Алпидема

В 1997 году *Trapani G, et al.* опубликовали исследование ряда производных Алпидема на базе его имидазопиридинового ядра, направленное на создание в этом ряду селективных лигандов TSPO [81].

При этом для создания новых молекул Трапани использовал подход модификации базовой молекулы Алпидема путём варьирования заместителей X, Y, Z и R гетероциклического остова (рис. 17).

Дизайн молекул осуществлялся на базе фармакофорной модели, предложенной *Bourguignon JJ* и *Wermuth CG* для лигандов TSPO [58, 82]. Эта модель основана на предположении, что Алпидем принимает две различные конформации при взаимодействии с TSPO и ЦБР за счёт различного пространственного расположения амидного заместителя. На рис. 18 схематично представлено сопоставление моделей взаимодействия Алпидема с TSPO и ЦБР. Названия областей приведено с использованием номенклатуры, предложенной *Wermuth CG* [83]: FRA, freely rotating aromatic ring region – область свободного вращения ароматического кольца, 1, electron-rich zone – электронно-обогащённая зона, OPR, out-plane region – область вне плоскости, PAR, planar aromatic region – плоская ароматическая область; LA, lipophilic area – липофильная область. *Bourguignon JJ*

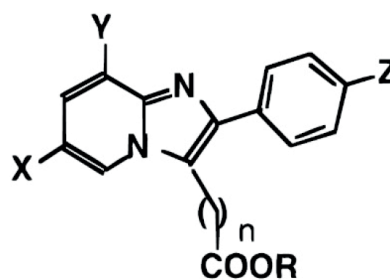


Рис. 17. Модификация Алпидема с целью поиска высокоаффинных и селективных лигандов TSPO в ряду имидазопиридинов

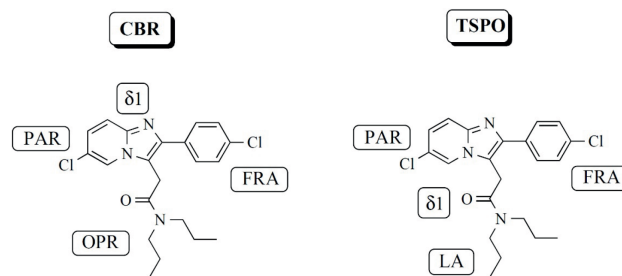


Рис. 18. Сопоставление фармакофорных моделей лигандов ЦБР и TSPO, использовавшееся для дизайна имидазопиридиновых лигандов TSPO

предложил модель взаимодействия с TSPO очень похожую на модель для ЦБР путём перемещения основных фармакофорных элементов:

При помощи представленного подхода *Serra M, et al.* был создан ряд новых лигандов TSPO, обладающих высокой аффинностью и селективностью. Одним из таких соединений стало СВ-34, отличающееся от Алпидема наличием второго атома хлора в имидазопиридиновом цикле. Было установлено, что СВ-34 эффективно стимулирует нейростероидогенез, увеличивая концентрации прегненолона, прогестерона, аллопрегнанолон и аллотетрагидродеоксикортикостерона в плазме крови и мозге крыс [84]. В тесте Фогеля СВ-34 проявляет выраженное антиконфликтное действие в дозах 25 и 50 мг/кг (в/б), сопоставимое по выраженности с эффектом диазепам в дозе 0,5 мг/кг [84].

Используя подход по конструированию структурных аналогов Алпидема, в 2014 году *Li-Ming Zhang, et al.* получили еще одно производное имидазопиридина — YL-IPA08, обладающее субнанолярной аффинностью к TSPO и высокой селективностью [51]. Это соединение увеличивает концентрации прегненолона и прогестерона в клетках астроцитов крыс [51]. Производное YL IPA08 в интервале доз от 0,1 до 10 мг/кг (п/о или в/б) демонстрирует антидепрессивный эффект на моделях принудительного плавания у крыс и мышей и в тесте «подвешивание за хвост» у мышей, а также анксиолитический эффект в тестах Vogel у крыс, в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) у мышей и в тесте «подавление нового подкрепления»

на мышах. При этом активность этого соединения блокируется предварительным введением антагониста TSPO PK11195 и не снимается антагонистами ЦБР [51]. При сопоставлении с анксиолитиком диазепамом было установлено, что в отличие от последнего, YL IPA08 не обладает миорелаксирующим действием, не влияет на двигательную координацию, память и на индуцированный гексобарбиталом сон у мышей. Также было установлено, что YL IPA08 демонстрирует анксиолитическую активность в моделях посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) у мышей, причём анти-ПТСР эффект блокируется антагонистом TSPO PK11195 [52].

Класс пиразолопиримидиновых лигандов TSPO был сконструирован в качестве азоизомеров Алпидема и его аналогов с учётом данных, полученных для имидазопиридиновых производных (рис. 19). Данный класс был предложен в 2001 году *Selleri S, et al.* [50]. Представитель класса DPA-714 показал наномолярное значение аффинности к TSPO и высокую селективность, он существенно увеличивал содержание прегненолона в клетках глиомы крыс C6 [85]. Изучение нейропротективной активности соединения DPA-714 в модели эксайтотоксической нейродегенерации, вызванной хинолиновой кислотой, у крыс, показали, что оно обладает протекторным действием, снижая активацию микроглии [86].

Поиск лигандов TSPO в ряду производных индола был начат *Kozikowski AP* и *Romeo E, et al.* в 1992-1993 годах [53, 87]. Авторы не указывают в работе, какой подход был использован для дизайна новых молекул, однако структурная близость общей формулы предложенных производных индола с Алпидемом позволяет сделать предположение, что конструирование

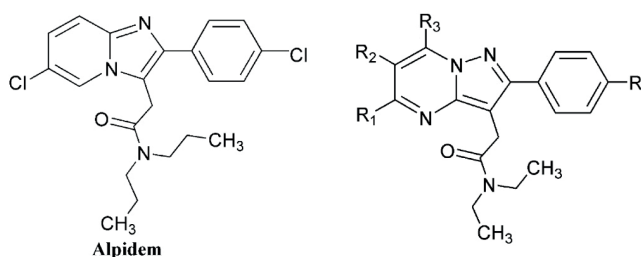


Рис. 19. Дизайн азаизомеров Алпидема в ряду пиразолопиримидинов

осуществлялось на базе его структуры. В ряду производных индола было открыто соединение FGIN 1-27, ставшее впоследствии одним из эталонных лигандов TSPO. Это соединение показало высокое значение аффинности к TSPO и высокую эффективность в активации стероидогенеза. FGIN 1-27 стимулировало синтез прегненолона более чем на 200 % относительно контроля. Также было установлено, что антагонист TSPO PK11195 ингибирует аккумуляцию прегненолона производным FGIN-1-27 [53]. FGIN 1-27 в дозе

0,5 мг/кг (п/о) проявил антинеофобическое действие в тесте ПКЛ, значительно увеличивает количество заходов в открытые рукава лабиринта и процент времени пребывания в открытых рукавах крыс при пероральном введении [53]. Было установлено, что антинеофобический эффект FGIN-1-27 в тесте ПКЛ обусловлен именно его лигандными свойствами по отношению к TSPO. Так, селективный лиганд TSPO PK11195, не проявляющий собственного эффекта в ПКЛ, блокировал антинеофобическое действие FGIN-1-27, не оказывая влияния на эффект диазепама. В то же время активность FGIN-1-27 практически не изменялась под действием антагониста ГАМКА флумазенила, который полностью снимал эффект диазепама.

Для оценки вовлеченности рецепторов TSPO периферических тканей в реализации *in vivo* эффектов FGIN-1-27 был проведен эксперимент по сопоставлению антинеофобического эффекта этого вещества у крыс, подвергнутых адреналэктомии и кастрации, что исключало участие периферических стероидных гормонов в активности соединения. Результаты эксперимента продемонстрировали отсутствие изменений в поведении животных, подвергнутых операциям, что указывает на вовлеченность именно мозгового TSPO в развитие антинеофобического эффекта FGIN-1-27.

Изучение анксиолитико-подобного действия FGIN-1-27 в тесте Vogel при внутривенном введении показало наличие выраженного антиконфликтного эффекта этого соединения в дозах 0,13-0,5 мг/кг [88]. Кроме того, FGIN-1-27 в дозе 2,5 мг/кг (в/в) продемонстрировал антиконвульсивную активность на моделях конвульсий у крыс, вызванных изониазидом и метразолом [88]. Анксиолитическое и антиконвульсивное действие FGIN-1-27 полностью блокировалось PK11195 и не снималось флумазенилом, демонстрируя вовлеченность TSPO в реализацию фармакологических эффектов соединения.

В 2000 году *Bitran D, et al.* показали наличие анксиолитико-подобного эффекта FGIN-1-27 при интрагиппокамальном методе введения (2,5 мкг/животное) в тестах ПКЛ и shock-probe burying test у крыс [89]. При этом активность этого соединения ослаблялась под действием PK11195 и блокировалась действием пикротоксина — блокатора ионного канала ГАМКА-рецептора, и 4-МА — ингибитора 5-редуктазы. В то же время флумазенил не оказывал эффекта на активность FGIN-1-27. Также показано, что FGIN-1-27 увеличивает уровень аллопрегненолона в гиппокампе и в крови. Полученные данные наглядно свидетельствуют о реализации противотревожного действия FGIN-1-27 через взаимодействие с TSPO и через активацию нейростероидогенеза.

Подробно исследованное соединение FGIN-1-27 стало базовой структурой для дизайна целого ряда новых подклассов лигандов TSPO.

Да Сеттимо с группой был получен ряд индолил-глиоксиламидных аналогов FGIN-1-27, для констру-

ирования которых была предложена фармакофорная модель, предполагающая наличие трех липофильных участков (L1-L3) и донора водородной связи (H1) (рис. 20) [90].

Среди полученных структур следует отметить соединение IND-32, показавшее наномолярную аффинность к TSPO и высокую селективность. Это вещество показало высокую стероидогенную активность, увеличивая уровень прегненолона в клетках глиомы крыс линии C6 на 171 %, а также продемонстрировало анксиолитическую активность в тесте ПКЛ, значимо

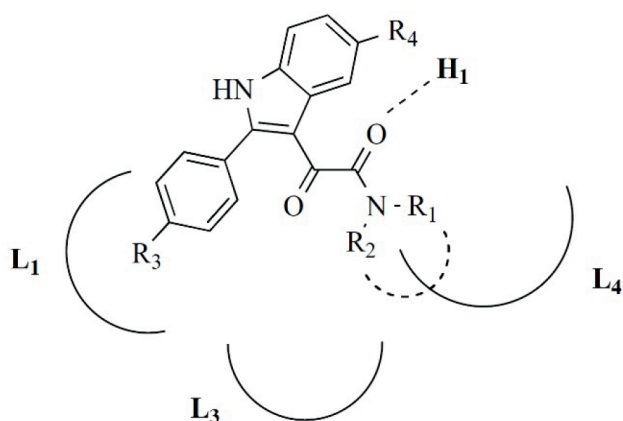


Рис. 20. Фармакофорная модель индолилглиоксиамидных лигандов TSPO

увеличивая процент времени пребывания животных и количества входов в открытые рукава лабиринта в дозе 30 мг/кг (в/б) [90].

Ещё одним перспективным индолилглиоксиамидным лигандом TSPO является соединение MPIGA [91]. Это соединение, обладая хорошим лигандным профилем, показало способность активировать биосинтез как прегненолона, так и его метаболитов прогестерона и аллопрегнанола, которые являются основными положительными аллостерическими модуляторами ГАМК-рецептора в клетках астроцитомы человека линии ADF. Также MPIGA через активацию стероидогенеза усиливал захват анионов $^{36}\text{Cl}^-$ в синапто-нейросомах коры головного мозга. Установлено, что MPIGA проявляет выраженный анксиолитический эффект у крыс в тесте ПКЛ в дозе 30 мг/кг при внутрибрюшинном введении, увеличивая процент заходов в открытые рукава лабиринта и время пребывания в них [91].

В 1998 году Liao Y, et al. представили класс аналогов индольных лигандов TSPO на базе бензофуранового гетероцикла [92], созданных методом структурной аналогии. За прототип новых структур была взята молекула FGIN-1-27. Было установлено, что бензофурановый аналог FGIN-1-27 **BZF-4b** проявляет хорошие лигандные и фармакологические свойства, сопоставимые с эффектами прототипа. Это соединение так же, как и FGIN-1-27, показало наномолярную аффинность

к TSPO и высокую селективность. У **BZF-4b** в дозе 25 мг/кг (п/о) была выявлена выраженная антинеофобическая активность: соединение значимо увеличивало количество заходов крыс в открытые рукава лабиринта и процент времени пребывания в открытых рукавах [92].

Ferzaz B, et al. в 2002 году был представлен алпидем-родственный лиганд TSPO SSR180575 — представитель группы пиридазиноиндолов [93]. В работе не представлен подход к конструированию данной молекулы, однако по её структуре можно предположить, что в дизайне соединения использовался метод структурной аналогии. Высокоаффинное и селективное соединение SSR180575 показало способность существенно увеличивать уровень прегненолона в мозге и седалищном нерве. SSR180575 проявило нейропротективные и нейрорегенеративные свойства на модели нейродегенерации двигательного нерва при аксотомии лицевого нерва у молодых крыс и на модели нейропатии, индуцированной акриламидом, у крыс [93]. В 2007 году компанией Sanofi—Aventis была инициирована II стадия клинический исследований SSR180575 в качестве средства для регенерации эпидермальных нервных волокон у больных с периферической диабетической нейропатией (ClinicalTrials.gov identifier: NCT00502515). Результаты не представлены, КИ завершено в 2009.

Группой Капелли с соавторами была предложена группа пирролохинолиновых лигандов TSPO [94, 95]. В дизайне нового класса был применен метод структурного комбинирования препаратов алпидема и зопиклона (рис. 21). Алпидем, как уже было отмечено выше, обладает высоким сродством как к TSPO, так и к CBR, в то время как зопиклон обладает высокой аффинностью по отношению к CBR, однако его сродство к TSPO минимально. В конструировании новой группы авторы использовали подход по построению селективных лигандов из неселективных родоначальных молекул. В процессе комбинирования алпидема

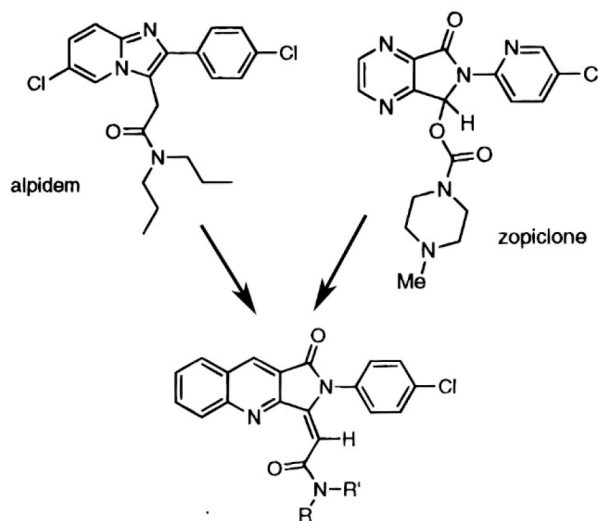


Рис. 21. Дизайн пирролохинолиновых лигандов TSPO путём комбинирования структур алпидема и зопиклона

и зопиклона оставалось минимальное количество функций, ответственных за связывание с обоими рецепторами, варьируя геометрию и липофильность боковых цепей. Кроме того, сродство молекул к TSPO увеличивалось путём добавления конденсированного бензольного кольца.

Среди серии полученных соединений были выявлены структуры с отличными лигандными характеристиками. Одной из наиболее высокоаффинных молекул явилось соединение **PRQ-4e**. Исследования влияния данных соединений на нейростероидогенез и *in vivo* активность не проводилось.

В 2011 году *Cappelli A, et al.* описали группу пиразолохинолиновых лигандов TSPO, сконструированных методом фармакофорного комбинирования с использованием молекул эмапунила, SSR180575 и пирролохинолинов в качестве модельных структур (рис. 22) [96].

Наибольший потенциал по соотношению *in vitro* и *in vivo* активности среди новой группы продемонстрировало соединение **PZQ-10t**. Оно обладает наномолярной аффинностью к TSPO и показало анксиолитическую активность в тесте светло-тёмная камера (в дозах 3,0 и 10 мг/кг, п/о) на мышах и нейропротективную активность в модели мононевропатии (в дозах 5,0 и 50 мг/кг, п/о) на крысах [96].

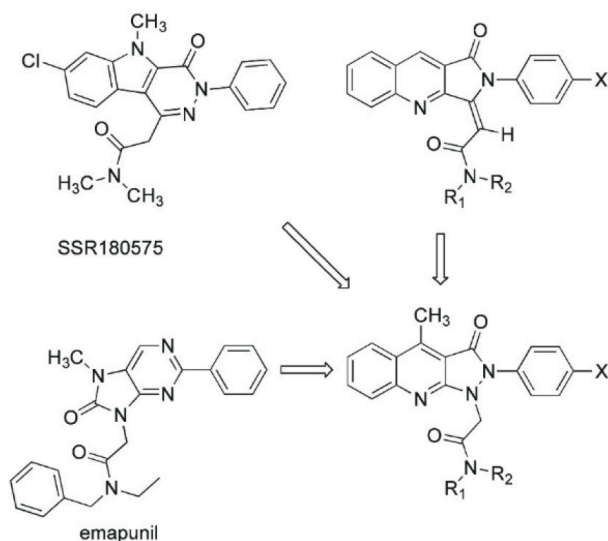


Рис. 22. Дизайн пиразолохинолиновых лигандов TSPO путём комбинирования структур эмапунила, SSR180575 и пирролохинолиновых лигандов

Одним из лигандов TSPO, использующихся в клинике, является препарат Этифоксин — производное бензоксазинов. Этот препарат был разработан немецкой компанией Hoechst AG ещё в 1960-х годах, и его лигандные свойства к TSPO были выявлены существенно позднее. Этифоксин используется в качестве небензодиазепинового анксиолитического и антиконвульсивного средства в виде таблеток, содержащих 50 мг активного вещества. Этот препарат имеет комплексный механизм действия, сочетающий его взаимодействие как с TSPO, так и с ГАМКА-рецептором [97, 98].

Этифоксин увеличивает концентрации нейростероидов (прегненолона, прогестерона, 5-дигидропрогестерона и аллопрегнанола) в мозге и в плазме крыс. При этом финастерид, один из ингибиторов биосинтеза нейростероидов, ослабляет антиконфликтное действие этифоксина [98]. В работе *Wolf L, et al.* было отмечено, что несмотря на не очень высокие лигандные свойства этифоксина к TSPO, он существенно лучше активирует нейростероидогенез, чем пуриновый высокоаффинный лиганд AC-5216 [74]. Угале с использованием ингибиторного анализа показал, что анксиолитический эффект этифоксина у крыс в тесте ПКЛ обусловлен способностью этого препарата активировать биосинтез нейростероида аллопрегнанола [99].

Показано, что этифоксин благодаря своим лигандным свойствам к TSPO снимает симптомы нейропатической боли у крыс за счёт своей способности активировать образование 3-восстановленных нейростероидов [100]. Этифоксин доказал свою эффективность в клинике в качестве препарата для лечения тревожных расстройств. По выраженности действия этифоксин демонстрирует активность, сопоставимую с бензодиазепином лоразепамом [101].

Гетероциклические и пептидные лиганды TSPO, разработанные в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова

В начале 2010-х годов *Mokrov GV, et al.* впервые в России разработали группу лигандов TSPO на базе пирроло[1,2-а]пиазина [102]. В дизайне этой группы использовался фармакофор, предложенный *Wermuth CG* [58, 82], и метод молекулярного докинга. Использование последнего оказалось возможным вследствие расшифровки в 2014 году трёхмерной структуры TSPO мыши (PDB ID: 2MGY) [2]. Кроме того, была учтена взаимосвязь структуры и аффинности известных лигандов TSPO с учётом полиморфизма этого белка [9, 11].

На рис. 23 представлена схема соответствия новых пирроло[1,2-а]пиазиновых лигандов классическому фармакофору [58, 82]. Молекула лиганда содержит необходимые фармакофорные элементы: плоский ароматический гетероцикл (ПАГ), ароматический заместитель (АЗ), карбонильную группу (КГ) и липофилизированную амидную группу (ЛАГ).

Методом молекулярного докинга с использованием программ AutoDock 4.2. и Glide Schrödinger была показана высокая теоретическая аффинность представителей предложенной группы соединений, и был определён набор наиболее перспективных молекул (рис. 24).

Дизайн новых молекул позволил создать высокоаффинные и селективные к TSPO лиганды, среди которых для дальнейшей разработки было отобрано соединение ГМЛ-1 (*N*-бензил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-а]пиазин-3-карбоксамид). Радиолигандным методом было подтверждено, что ГМЛ-1 обладает высокой аф-

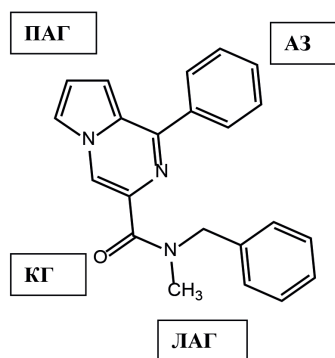


Рис. 23. Соответствие производных пирроло[1,2-а]пиризинов «классической» фармакофорной модели строения лигандов TSPO на примере соединения ГМЛ-1

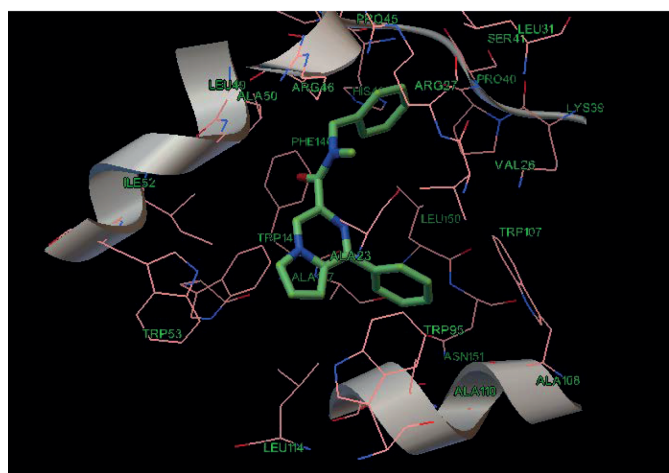


Рис. 24. Докинг молекулы ГМЛ-1 в активный центр TSPO

финностью по отношению к TSPO ($IC_{50} = 5,4 \cdot 10^{-8}$ М) и селективностью в сравнении с CBR ($IC_{50} > 10^{-6}$ М) [102].

В экспериментах *in vivo* в стандартных тестах «приподнятый крестообразный лабиринт» и «открытое поле со световой вспышкой» на грызунах было продемонстрировано, что ГМЛ-1 в интервале доз 0,05–5,0 мг/кг обладает анксиолитической активностью как при внутрибрюшинном, так и при пероральном введении. По выраженности анксиолитического эффекта ГМЛ-1 не уступал классическому транквилизатору диазепаму в дозе 1,0 мг/кг. При этом установлено, что ГМЛ-1 не обладал характерными для диазепама седативным, миорелаксантным и амнестическим побочными эффектами [103, 104]. С помощью ингибиторного анализа доказано, что механизм анксиолитического действия соединения ГМЛ 1 обусловлен его взаимодействием с TSPO. Селективный блокатор TSPO, соединение PK11195, полностью блокировал анксиолитический эффект ГМЛ-1 [104].

В пользу этого же механизма говорит то, что анксиолитическое действие ГМЛ-1 полностью блокировали ингибиторы биосинтеза нейростероидов трилостан (ингибитор 3-гидроксистероиддегидрогеназы) и фи-

настерид (ингибитор 5-редуктазы) [105]. Как известно, TSPO участвует в лимитирующей стадии синтеза нейростероидов — транспорте холестерина в митохондрии [1].

Установлено, что ГМЛ-1 обладает антидепрессивной активностью в дозе 0,5 мг/кг (в/б) при субхроническом введении [106]. Кроме того, у ГМЛ-1 выявлена ноотропная активность: в диапазоне доз 0,05–0,5 мг/кг (в/б) это соединение достоверно противодействует нарушению рабочей памяти у крыс, индуцированному скополамином, в тесте распознавания нового объекта [106].

ГМЛ-1 обладает низкой острой токсичностью, $LD_{50} > 1000$ мг/кг [104]. Фармакокинетические исследования субстанции ГМЛ-1 на крысах при внутрибрюшинном и при пероральном введении с использованием метода ВЭЖХ/МС показали, что проникает через ГЭБ. Концентрации ГМЛ-1 в образцах плазмы крови практически не меняются в течение 6 часов после введения и соединение определяется в крови в течение 10 часов.

Для ГМЛ-1 как перспективного быстродействующего анксиолитика без побочных эффектов в рамках программы Фарма-2020 проведён полный цикл доклинических исследований.

Дипептидные лиганды TSPO

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова в 2015 г. были созданы первые в мире дипептидные лиганды TSPO [107, 108].

Для получения дипептидных лигандов TSPO использовали предложенную Гудашевой Т.А. оригинальную стратегию создания коротких пептидов с заданной фармакологической активностью на основе структур непептидных фармакологически активных соединений [109–111]. Эта стратегия базируется на концепции, что многие нейрорепептидные лекарственные вещества, открытые в свое время с помощью скрининга или эвристически, являются лигандами нейрорепептидных рецепторов. Молекулярная масса синтетических нейрорепептидных лекарств редко превосходит 500 Да. Такой молекулярной массе соответствуют ди- и трипептиды.

Для создания дипептидного лиганда TSPO в качестве непептидного прототипа использовали анксиолитик алпидем, который связывается с TSPO с наномолярной аффинностью, стимулирует стероидогенез и проявляет анксиолитическую активность в эксперименте и в клинике [95] (рис. 25). Это соединение содержит два ароматических ядра — фенильное и бициклическое азотсодержащее — и разветвленную алифатическую цепь. Эти фрагменты могут имитировать боковые радикалы таких аминокислот, как фенилаланин, триптофан, лейцин или изолейцин соответственно. Кроме того, в структуру алпидема входит амидная группа, возможный прототип пептидной связи. Отметим, что подавляющее большинство существующих непептидных лигандов TSPO построены по той же структурной схеме, что и алпидем. Был сконструирован пептидный топологический аналог алпидема, представляющий собой

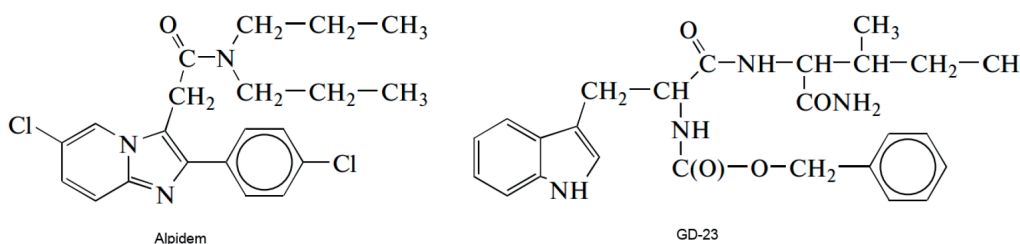


Рис. 25. Дизайн дипептидного лиганда TSPO ГД-23 на основе структуры алпидема

амид N-карбобензокси-L-триптофанил-L-изолейцина (ГД-23) [107].

Сконструированное соединение, как и алпидем, содержит два ароматических и один алифатический фармакофоры, сходным образом расположенные в пространстве относительно друг друга по данным молекулярного моделирования с помощью моделей Дрейдинга. Данные, полученные с помощью докинга молекул алпидема и ГД-23 в активный центр рецептора, подтверждают хорошее совпадение структур этих молекул в пространстве (рис. 26).

Для проведения докинга были сделаны следующие предположения: стехиометрия взаимодействия белок-лиганд составляет 1:1, дипептидный лиганд интегрирован в сайт связывания PK11195.

По результатам докинга были выявлены практически идентичные «связанные» конформации, оптимальные или близкие к оптимальным по энергии. Для анализа были выбраны комплексы с наименьшей расчётной энергией связывания. Результаты конформационного анализа выявили, что фенильные фрагменты ГД-23 и алпидема участвуют в π - π -стекинге с Trp143. Можно предположить, что π - π -стекинг с Trp143 имеет

решающее значение для связывания лиганда в активном центре TSPO, поскольку для контрольного лиганда PK 11195 также наблюдалось образование π - π -стекинга с Trp143. ГД-23 образует водородную связь между NH-группой индольного кольца и карбоксильной группой Pro44, также ГД-23 образует ароматическую водородную связь между двумя СН-группами индольного кольца и карбоксильной группой Val26.

Соединение ГД-23 проявило анксиолитическую активность в дозах 0,05–5,0 мг/кг внутривенно в стандартных фармакологических тестах открытого поля (ОП) со световой вспышкой на мышах-самцах линии Balb/C и приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) на беспородных мышах-самцах линии CD1. Активность сохранялась и при пероральном использовании.

Предварительное введение классического антагониста TSPO PK11195 полностью блокировало анксиолитический эффект ГД-23: показатели поведения животных этой группы оставались на уровне контроля и в то же время с высокой достоверностью отличались от показателей мышей группы, получавшей ГД-23 без ингибитора. Эти данные свидетельствуют о зависимости анксиолитического эффекта ГД-23 от взаимодействия с TSPO.

Установлено, что анксиолитическое действие ГД-23 зависит от биосинтеза нейростероидов. Предварительное введение ингибиторов ферментов нейростероидогенеза трилостана и финастерид предотвращало анксиолитический эффект ГД-23 [112].

Таким образом, можно заключить, что фармакологически доказана зависимость анксиолитического действия лиганда TSPO ГД-23 от биосинтеза нейростероидов. Структура ГД-23 может послужить отправной точкой для выявления эндогенных пептидных регуляторов TSPO, а синтезированный дипептид ГД-23 может стать основой для создания нового класса небензодиазепиновых быстродействующих анксиолитиков — лигандов TSPO.

Для ГД-23 была выявлена ноотропная активность: в дозах 0,05–0,5 мг/кг внутривенно он противодействует скополаминовой амнезии в тесте распознавания нового объекта у крыс, при этом антагонист TSPO PK11195 полностью блокировал этот эффект ГД-23

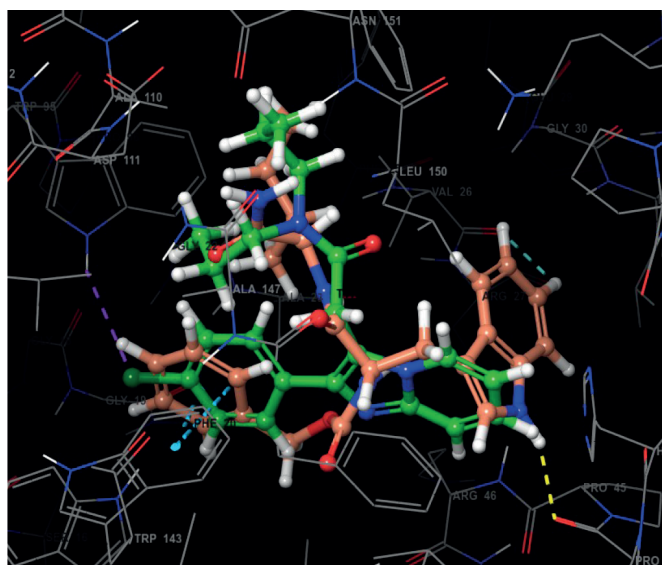


Рис. 26. Положение ГД-23 и алпидема в активном центре TSPO-рецептора

[113]. Таким образом, как и в случае анксиолитического эффекта, ноотропный эффект ГД-23 обусловлен его взаимодействием с TSPO.

Изучение связи структуры и анксиолитической активности в ряду аналогов ГД-23 показало, что уход от природной L-конфигурации любого аминокислотного остатка (L,D и D,L- диастереомеры соответственно) приводил к полной потере активности. Для выявления оптимального расстояния между N-концевым фенильным радикалом и остатком триптофана были синтезированы аналоги дипептида ГД-23 с различной длиной фенилалканоильного остатка: соединения общей формулы $\text{Ph}(\text{CH}_2)_n\text{C}(\text{O})\text{-L-Trp-L-IleNH}_2$, где $n = 1, n = 2, n = 5$. При сохранении расстояния от фенильной группы до остатка триптофана с заменой карбобензоксигруппы (ГД-23) на фенилпропионильную группу ($n = 2$) активность сохранялась. В то же время укорочение этого расстояния даже на 1 сигмасвязь ($n = 1$) приводило к полному исчезновению, а удлинение его — к резкому уменьшению активности ($n = 5$). Замена амида на С-конце дипептида ГД-23 на метиловый эфир или метиламид приводила к потере активности, тогда как при переходе к соединению со свободной карбоксильной группой наблюдалось только уменьшение активности. Таким образом, изучение связи структуры и активности показало, что для проявления активности критичным является расстояние между двумя ароматическими группами и природная конфигурация аминокислотных остатков. Последнее свидетельствует в пользу того, что полученный дипептидный лиганд может быть близок к эндогенному лиганду TSPO.

Создание дипептидных лигандов TSPO открывает новый уровень безопасности потенциальных нейропсихотропных препаратов, так как дипептиды, метаболизующиеся до природных аминокислот, обладают чрезвычайно низкой токсичностью. Будучи близкими к эндогенным лигандам, они обладают более высокой селективностью и, следовательно, меньшим числом побочных эффектов.

Заключение

Анализ литературы, посвящённой рецептору TSPO и его лигандам, свидетельствует, что этот белок в на-

стоящее время рассматривается в качестве одной из наиболее перспективных мишеней при поиске новых анксиолитических и других нейропсихотропных средств. За последние 25 лет создано порядка 20 различных классов лигандов TSPO, среди которых выявлено достаточно много молекул, обладающих анксиолитической, антидепрессивной, нейропротективной и ноотропной активностью в ряде моделей *in vivo*. В то же время, на сегодняшний день ни один из лигандов TSPO не выведен в клиническую практику в качестве препарата, что актуализирует дальнейшую разработку данной тематики по поиску клинически эффективных соединений с учётом широкого спектра необходимых требований к активности, безопасности, фармакокинетики и прочих показателей молекул.

Одним из важных выводов данного обзора является наблюдение того факта, что во многих исследованиях по поиску активных лигандов TSPO было выявлено отсутствие корреляции между значениями аффинности и селективности лигандов к TSPO *in vitro* и стероидогенной активностью или активностью в экспериментах *in vivo*. Это свидетельствует о том, что процесс дизайна и разработки новых лигандов TSPO, перспективных в качестве нейропсихотропных средств, должен включать не только анализ аффинности и селективности молекул, но и ряд других показателей, таких как растворимость, липофильность, метаболическая устойчивость, способность проникать через гемато-энцефалический барьер и ряд других. Кроме того, необходимо учитывать наличие TSPO-полиморфизма, за счёт которого один и тот же лиганд этого рецептора может оказывать эффекты различной степени выраженности. Перечисленные требования были использованы при разработке инновационных лигандов TSPO в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», в результате чего были получены две перспективные группы: пирроло[1,2-а]пиразиновые и дипептидные лиганды. Результаты *in vitro*, *in vivo*-экспериментов, токсикологические и фармакокинетические показатели свидетельствуют, что лидеры данных групп имеют значительный шанс стать первыми в классе лигандами TSPO, обладающими клинической эффективностью в качестве анксиолитических средств.

Работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных исследований № 17-04-00861 А.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мокров Григорий Владимирович
Автор, ответственный за переписку
 e-mail: g.mokrov@gmail.com
 ORCID: 0000-0003-2617-0334
 SPIN-код: 8755-7666
 к. х. н., в. н. с. лаборатории тонкого
 органического синтеза отдела химии
 лекарственных средств ФГБНУ «НИИ
 фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Деева Ольга Алексеевна
 ORCID: 0000-0002-9842-1545
 SPIN-код: 8877-9489
 н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов
 отдела химии лекарственных средств ФГБНУ
 «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»
 Москва

Яркова Милада Альнордовна
 ORCID: 0000-0002-2877-5786
 SPIN-код: 5118-1530
 д. м. н., профессор, заместитель директора по
 научной работе ФГБНУ «НИИ фармакологии
 имени В.В. Закусова», Москва

Гудашева Татьяна Александровна
 ORCID: 0000-0002-5185-4474
 SPIN-код: 4970-0006
 д. б. н., профессор, член-корреспондент РАН,
 Руководитель отдела химии лекарственных
 средств ФГБНУ «Научно-исследовательский
 институт фармакологии имени В.В. Закусова»,
 Москва

Середенин Сергей Борисович
 ORCID: 0000-0003-4482-9331
 SPIN-код: 3896-4655
 д. м. н., профессор, академик РАН
 Научный руководитель Института,
 ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
 фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Mokrov Grigory
Corresponding author
 e-mail: g.mokrov@gmail.com
 ORCID: 0000-0003-2617-0334
 SPIN-code: 8755-7666
 Candidate of Chemical Sciences
 Leading researcher of the fine organic synthesis
 laboratory at the medicinal chemistry depart-
 ment. FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology»,
 Moscow

Deeva Olga
 ORCID: 0000-0002-9842-1545
 SPIN-code: 8877-9489
 Researcher of the peptide bio regulators labora-
 tory at the medicinal chemistry department FSBI
 «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Yarkova Milada
 ORCID: 0000-0002-2877-5786
 SPIN-code: 5118-1530
 doctor of Medical Sciences, Professor,
 Deputy Director for Science FSBI «Zakusov Insti-
 tute of Pharmacology», Moscow

Gudasheva Tatiana
 ORCID: 0000-0002-5185-4474
 SPIN-code: 4970-0006
 doctor of biological Sciences, professor, RAS cor-
 responding member Head of medicinal chemistry
 department FSBI «Zakusov institute of Pharma-
 cology», Moscow

Seredenin Sergey
 ORCID: 0000-0003-4482-9331
 SPIN-code: 3896-4655
 doctor of Medical Sciences, Professor, academi-
 cian of RAS Scientific leader of FSBI «Zakusov
 institute of Pharmacology», Moscow

Литература / References

1. Papadopoulos V, Baraldi M, Guilarte TR, et al. Translocator protein (18kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends Pharmacol. Sci.* 2006;27(8):402–409. DOI: 10.1016/j.tips.2006.06.005
2. Jaremko L, Jaremko M, Giller K, et al. Structure of the mitochondrial translocator protein in complex with a diagnostic ligand. *Science.* 2014;343:1363–1366. DOI: 10.1126/science.1248725
3. Li F, Liu J, Liu N, et al. Translocator protein 18 kDa (TSPO): an old protein with new functions? *Biochemistry.* 2016;24;55(20):2821–2831. DOI: 10.1021/acs.biochem.6b00142
4. Jaremko L, Jaremko M, Giller K, et al. Conformational Flexibility in the Transmembrane Protein TSPO. *Chemistry-A European Journal.* 2015;9;21(46):16555–16563. DOI: 10.1002/chem.201502314
5. Guo YZ, Kalathur RC, Liu Q, et al. Structure and activity of tryptophan-rich TSPO proteins. *Science.* 2015;30;347(6221):551–555. DOI: 10.1126/science.aaa1534

6. Li F, Liu J, Zheng Y, et al. Crystal structures of translocator protein (TSPO) and mutant mimic of a human polymorphism. *Science.* 2015;30;347(6221):555–558. DOI: 10.1126/science.1260590
7. Korkhov VM, Sachse C, Short JM, et al. Three-dimensional structure of TSPO by electron cryomicroscopy of helical crystals. *Structure.* 2010;9;18(6):677–687. DOI: 10.1016/j.str.2010.03.001
8. Li H, Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine receptor function in cholesterol transport. Identification of a putative cholesterol recognition/interaction amino acid sequence and consensus pattern. *Endocrinology.* 1998;139:4991–4997. DOI: 10.1210/endo.139.12.6390
9. Owen DR, Gunn RN, Rabiner EA, et al. Mixed-affinity binding in humans with 18-kDa translocator protein ligands. *J. Nucl. Med.* 2011;52:24–32. DOI: 10.1007/s40336-015-0141-z
10. Owen DR, Lewis AJ, Reynolds R, et al. Variation in binding affinity of the novel anxiolytic XBD173 for the 18 kDa translocator protein in human brain. *Synapse.* 2011;65:257–259. DOI: 10.1002/syn.20884
11. Owen DR, Yeo AJ, Gunn RN, et al. An 18-kDa translocator protein (TSPO) polymorphism explains differences in binding affinity of the PET radioligand PBR28. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2012;32:1–5. DOI: 10.1038/jcbfm.2011.147

12. Lacapere JJ, Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine receptor: structure and function of a cholesterol-binding protein in steroid and bile acid biosynthesis. *Steroids* 2003; 68:569–585. DOI: 10.1016/S0039-128X(03)00101-6
13. Casellas P, Galiegue S, Basile AS. Peripheral benzodiazepine receptors and mitochondrial function. *Neurochem. Int.* 2002;40:475–486. DOI: 10.1016/S0197-0186(01)00118-8
14. Gavish M, Bachman I, Shoukrun R, et al. Enigma of the peripheral benzodiazepine receptor. *Pharmacol. Rev.* 1999;51:629–650.
15. Anholt RR, Murphy KM, Mack GE, et al. Peripheral-type benzodiazepine receptors in the central nervous system: localization to olfactory nerves. *J. Neurosci.* 1984;4:593–603. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.04-02-00593.1984
16. Bolger GT, Mezey E, Cott J, et al. Differential regulation of 'central' and 'peripheral' benzodiazepine binding sites in the rat olfactory bulb. *Eur. J. Pharmacol.* 1984;105:143–148. DOI: 10.1016/0014-2999(84)90658-7
17. Jayakumar AR, Panickar KS, Norenberg MD. Effects on free radical generation by ligands of the peripheral benzodiazepine receptor in cultured neural cells. *J. Neurochem.* 2002;83:1226–1234. DOI: 10.1046/j.1471-4159.2002.01261.x
18. Karchewski LA, Bloechlinger S, Woolf CJ. Axonal injury-dependent induction of the peripheral benzodiazepine receptor in small-diameter adult rat primary sensory neurons. *Eur. J. Neurosci.* 2004;20:671–683. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2004.03530.x
19. Papadopoulos V, Amri H, Boujrad N, et al. Peripheral benzodiazepine receptor in cholesterol transport and steroidogenesis. *Steroids*. 1997;62:21–28. DOI: 10.1016/S0039-128X(96)00154-7
20. Hirsch JD, Beyer CF, Malkowitz L, et al. Mitochondrial benzodiazepine receptors mediate inhibition of mitochondrial respiratory control. *Mol. Pharmacol.* 1989;35:157–163.
21. Corsi L, Geminiani E, Baraldi M. Peripheral benzodiazepine receptor (PBR) new insight in cell proliferation and cell differentiation review. *Curr. Clin. Pharmacol.* 2008;3:38–45. DOI: 10.2174/157488408783329878
22. Veenman L, Papadopoulos V, Gavish M. Channellike functions of the 18-kDa translocator protein (TSPO): regulation of apoptosis and steroidogenesis as part of the host-defense response. *Curr. Pharm. Des.* 2007;13:2385–2405. DOI: 10.2174/138161207781368710
23. Papadopoulos V, Liu J, Culty M. Is there a mitochondrial signaling complex facilitating cholesterol import. *Mol. Cell Endocrinol.* 2007;269:59–64. DOI: 10.1016/j.mce.2006.12.004
24. Jamin N, Neumann JM, Ostuni MA, et al. Characterization of the cholesterol recognition amino acid consensus sequence of the peripheral-type benzodiazepine receptor. *Mol. Endocrinol.* 2005;19:588–594. DOI: 10.1210/me.2004-0308
25. Murail S, Robert JC, Coic YM, et al. Secondary and tertiary structures of the transmembrane domains of the translocator protein TSPO determined by NMR. Stabilization of the TSPO tertiary fold upon ligand binding. *Biochim. Biophys. Acta.* 2008;1778:1375–1381. DOI: 10.1016/j.bbame.2008.03.012
26. Papadopoulos V, Aghazadeh Y, Fan J, et al. Translocator protein-mediated pharmacology of cholesterol transport and steroidogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2015;408:90–98. DOI: 10.1016/j.mce.2015.03.014
27. Rone MB, Midzak AS, Issop L, et al. Identification of a dynamic mitochondrial protein complex driving cholesterol import, trafficking, and metabolism to steroid hormones. *Mol. Endocrinol.* 2012; 26:1868–1882. DOI: 10.1210/me.2012-1159
28. Rupprecht R, Papadopoulos V, Rammes G, et al. Translocator protein (18 kDa)(TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nat. rev. Drug discov.* 2010;9(12):971–988. DOI: 10.1038/nrd3295
29. Bordet T, Buisson B, Michaud M, et al. Identification and characterization of cholest-4-en-3-one, oxime (TRO19622), a novel drug candidate for amyotrophic lateral sclerosis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2007;322(2):709–720. DOI: 10.1124/jpet.107.123000
30. Snyder SH, Verma A, Trifiletti RR. The peripheral-type benzodiazepine receptor: a protein of mitochondrial outer membranes utilizing porphyrins as endogenous ligands. *FASEB J.* 1987;1(4):282–288. DOI: 10.1096/fasebj.1.4.2820823
31. Verma A, Nye JS, Snyder SH. Porphyrins are endogenous ligands for the mitochondrial (peripheral-type) benzodiazepine receptor. *PNAS.* 1987;84(8):2256–2260. DOI: 10.1073/pnas.84.8.2256
32. Verma A, Snyder SH. Peripheral type benzodiazepine receptors. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1989;29:307–322. DOI: 10.1146/annurevpharmtox.29.1.307
33. Guidotti A, Forchetti CM, Corda MG, et al. Isolation, characterization, and purification to homogeneity of an endogenous polypeptide with agonistic action on BDZ receptors. *PNAS* 1983;80:3531–3533. DOI: 10.1073/pnas.80.11.3531
34. Bovolin P, Schlichting J, Miyata J, et al. Distribution and characterization of diazepam binding inhibitor (DBI) in peripheral tissues of rat. *Regul. Peptides.* 1990;29:267–281. DOI: 10.1016/0167-0115(90)90089-f
35. Ferrero P, Santi MR, Conti-Tronconi B, et al. Study of an octadecanoneuropeptide derived from diazepam binding inhibitor (DBI): biological activity and presence in rat brain. *PNAS.* 1986;83:827–831. DOI: 10.1073/pnas.83.3.827
36. Slobodyansky E, Guidotti A, Wambebe C, et al. Isolation and characterization of a rat brain triakontatetrapeptide, a posttranslational product of diazepam binding inhibitor: specific action at the Ro5-4864 recognition site. *J. Neurochem.* 1989;53:1276–1284. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1989.tb07425.x
37. Papadopoulos V, Berkovich A, Krueger KE, et al. Diazepam binding inhibitor and its processing products stimulate mitochondrial steroid biosynthesis via an interaction with mitochondrial benzodiazepine receptors. *Endocrinology.* 1991;129(3):1481–1488. DOI: 10.1210/endo-129-3-1481
38. Li H, Degahardt B, Tobin D, et al. Identification, localization, and function in steroidogenesis of PAP7: a peripheral-type benzodiazepine receptor- and PKA (RI α)-associated protein. *Mol. Endocrinology.* 2001;15:2211–2228. DOI: 10.1210/me.15.12.2211
39. Fan J, Liu J, Culty M, et al. Acylcoenzyme A binding domain containing 3 (ACBD3; PAP7; GCP60): an emerging signaling molecule. *Prog. Lipid. Res.* 2010;49:218–234. DOI: 10.1016/j.plipres.2009.12.003
40. Liu J, Rone MB, Papadopoulos V. Protein–protein interactions mediate mitochondrial cholesterol transport and steroid biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 2006;281:38879–38893. DOI: 10.1074/jbc.M608820200
41. Braestrup C, Squires RF. Specific benzodiazepine receptors in rat brain characterized by high-affinity (3H) diazepam binding. *PNAS* 1977;74:3805–3809. DOI: 10.1073/pnas.74.9.380
42. Gavioli EC, Duarte FS, Bressan E, et al. Antidepressant-like effect of Ro5-4864, a peripheral-type benzodiazepine receptor ligand, in forced swimming test. *Eur. J. Pharmacol.* 2003;471:21–26. DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01789-8
43. Barron AM, Garcia-Segura LM, Caruso D, et al. Ligand for translocator protein reverses pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 2013;33(20):8891–8897. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1350.13.2013
44. Mills C, Makwana M, Wallace A, et al. Ro5-4864 promotes neonatal motor neuron survival and nerve regeneration in adult rats. *Eur. J. Neurosci.* 2008;27:937–946. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2008.06065.x
45. Leonelli E, Yague JG, Ballabio M, et al. Ro5-4864, a synthetic ligand of peripheral benzodiazepine receptor, reduces aging-associated myelin degeneration in the sciatic nerve of male rats. *Mechanisms of Ageing and Development.* 2005;126:1159–1163. DOI: 10.1016/j.mad.2005.06.001
46. Soustiel J.F, Zaaroor M, Vlodavsky E, et al. Neuroprotective effect of Ro5-4864 following brain injury. *Exp. Neurol.* 2008;214:201–208. DOI: 10.1016/j.brainres.2008.04.078
47. Veiga S, Azcoitia I, Garcia-Segura, LM. Ro5-4864, a peripheral benzodiazepine receptor ligand, reduces reactive gliosis and protects hippocampal hilar neurons from kainic acid excitotoxicity. *J. Neurosci. Res.* 2005;80:129–137. DOI: 10.1002/jnr.20430
48. Giatti S, Pesaresi M, Cavaletti G, et al. Neuroprotective effects of a ligand of translocator protein-18 kDa (Ro5-4864) in experimental diabetic neuropathy. *Neuroscience.* 2009;164: 520–529. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2009.08.005
49. Le Fur G, Perrier ML, Vaucher N, et al. Peripheral benzodiazepine binding sites: effect of PK 11195, 1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinolinecarboxamide. *Life Sciences.* 1983;32(16): 1839–1847. DOI: 10.1016/0024-3205(83)90062-0
50. Selleri S, Bruni F, Costagli C, et al. 2-Arylpyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-ylacetamides. New potent and selective peripheral benzodiazepine receptor ligands. *Bioorg. Med. Chem.* 2001;9: 2661–2671. DOI: 10.1016/S0968-0896(01)00192-4
51. Li-Ming Zhang, Nan Zhao, Wen-Zhi Guo, et al. Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of YL-IPA08, a potent ligand for the translocator protein (18 kDa). *Neuropharmacology.* 2014;81:116–125. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.09.016
52. Li-Ming Zhang, Zhi-Kun Qiu, Nan Zhao, et al. Anxiolytic-like effects of YL-IPA08, a potent ligand for the translocator protein (18 kDa) in animal models of post-traumatic stress disorder. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2014;17:1659–1669. DOI: 10.1017/S1461145714000479
53. Kozikowski AP, Brewer J, Sun S, et al. Chemistry, binding affinities, and behavioral properties of a new class of "antineophobic" mitochondrial DBI receptor complex (mDRC) ligands. *J. Med. Chem.* 1993;36:2908–2920. DOI: 10.1021/jm00072a010

54. Kita A, Kohayakawa H, Kinoshita T, et al. Anxiolytic and antidepressant-like effects of AC-5216, a novel mitochondrial benzodiazepine receptor ligand. *British Journal of Pharmacology*. 2004;142:1059–1072. DOI .org/10.1038/sj.bjp.0705681
55. Zivkovic B, Morel E, Joly D, et al. Pharmacological and behavioral profile of alpidem as an anxiolytic. *Synthelabo Recherche, L.E.R.S., Bagneux, France*. 1990;23S.3:108–113. DOI: 10.1055/s-2007-1014545
56. Kaplan JP, George P. US Patent 4382938 A, 1983.
57. Langer SZ, Arbilla S, Benavides J, et al. Zolpidem and alpidem: two imidazopyridines with selectivity for omega 1- and omega 3-receptor subtypes. *Adv. Biochem. Psychopharmacol*. 1990;46:61–72.
58. Bourguignon JJ. Endogenous and synthetic ligands of mitochondrial benzodiazepine receptors: structure-affinity relationships. In *Peripheral benzodiazepine receptors*. Giesen-Crouse, E.; Ed.; Academic Press: London; 1993. p. 59–85.
59. Barki J, Larrey D, Pageaux G, et al. Fatal subfulminant hepatitis during treatment with alpidem (Ananxyl). *Gastroenterol. Clin. Biol*. 1993;17:872–874.
60. Baty V, Denis B, Goudot B, et al. Hepatitis induced by alpidem (Ananxyl). Four cases, one of them fatal. *Gastroenterol. Clin. Biol*. 1994;18:1129–1131.
61. Ausset P, Malavialle P, Vallet A, et al. Subfulminant hepatitis caused by alpidem and treated by liver transplantation. *Gastroenterol. Clin. Biol*. 1995;19:222–223.
62. Fiorini I, Nacci V, Ciani SM, et al. Novel ligands specific for mitochondrial benzodiazepine receptors: 6-arylpyrrolo[2,1-d][1,5]benzothiazepine derivatives. Synthesis, structure-activity relationships, and molecular modelling studies. *J. Med. Chem*. 1994;37:1427–1438. DOI .org/10.1021/jm00036a007
63. Greco G, Novellino E, Fiorini I, et al. Comparative molecular field analysis model for 6-arylpyrrolo[2,1-d][1,5]benzothiazepines binding selectively to the mitochondrial benzodiazepine receptor. *J. Med. Chem*. 1994;37:4100–4108. DOI .org/10.1021/jm00050a007
64. Campiani G, Nacci V, Fiorini I, et al. New pyrrolbenzothiazepine derivatives as molecular probes of the "peripheral-type" benzodiazepine receptor (PBR) binding site. *Eur. J. Med. Chem*. 1997;32:241–252. DOI .org/10.1016/s0223-5234(97)83975-x
65. Campiani G, Ramunno A, Fiorini I, et al. Synthesis of new molecular probes for investigation of steroid biosynthesis induced by selective interaction with peripheral type benzodiazepine receptors (PBR). *J. Med. Chem*. 2002;45:4276–4281. DOI .org/10.1021/jm0208491
66. Okuyama S, Chaki S, Yoshikawa R, et al. Neuropharmacological profile of peripheral benzodiazepine receptor agonists, DAA1097 and DAA1106. *Life Sci*. 1999;64:1455–1464. DOI .org/10.1016/s0024-3205(99)00079-x
67. Okubo T, Yoshikawa R, Chaki S, et al. Design, synthesis and structure-activity relationships of aryloxyanilide derivatives as novel peripheral benzodiazepine receptor ligands. *Bioorg. Med. Chem*. 2004;12:423–438. DOI .org/10.1016/j.bmc.2003.10.050
68. Chaki S, Funakoshi T, Yoshikawa R, et al. Binding characteristics of [3H]DAA 1106, a novel and selective ligand for peripheral benzodiazepine receptors. *Eur. J. Pharmacol*. 1999;371:197–204. DOI .org/10.1016/s0014-2999(99)00118-1
69. Briard E, Zoghbi SS, Siméon FG, et al. Single-step high-yield radiosynthesis and evaluation of a sensitive 18F-labeled ligand for imaging brain peripheral benzodiazepine receptors with PET. *J. Med. Chem*. 2009;52:688–699. DOI: 10.1021/jm8011855
70. Kita A, Furukawa K. Involvement of neurosteroids in the anxiolytic-like effects of AC-5216 in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2008;171–178. DOI: 10.1016/j.pbb.2007.12.006
71. Kita A, Kinoshita T, Kohayakawa H, et al. Lack of tolerance to anxiolysis and withdrawal symptoms in mice repeatedly treated with AC-5216, a selective TSPO ligand. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2009;33:1040–1045. DOI:10.1016/j.pnpbp.2009.05.018.
72. Rupprecht R, Rammes G, Eser D, et al. Translocator protein (18 kD) as target for anxiolytics without benzodiazepine-like side effects. *Science*. 2009;325:490–493. DOI: 10.1126/science.1175055
73. Qiu ZK, Zhang LM, Zhao N, et al. Repeated administration of AC-5216, a ligand for the 18 kDa translocator protein, improves behavioral deficits in a mouse model of post-traumatic stress disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2013; 45:40–46. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2013.04.010
74. Wolf L, Bauer A, Melchner D, et al. Enhancing neurosteroid synthesis – relationship to the pharmacology of translocator protein (18 kDa) (TSPO) ligands and benzodiazepines. *Pharmacopsychiatry*. 2015;48:72–77. DOI: 10.1055/s-0034-1398507
75. Wang DS, Tian Z, Guo YY, et al. Anxiolytic-like effects of translocator protein (TSPO) ligand ZBD-2 in an animal model of chronic pain. *Molecular Pain*. 2015;11–16. DOI: 10.1186/s12990-015-0013-6
76. Li XB, Guo HL, Shi TY, et al. Neuroprotective effects of a novel translocator protein (18 kDa) ligand, ZBD2, against focal cerebral ischemia and NMDA-induced neurotoxicity. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2015; 42(10):1068–1074. DOI: 10.1111/1440-1681.12460
77. Fukaya T, Kodo T, Ishiyama T, et al. Design, synthesis and structure-activity relationships of novel benzoxazolone derivatives as 18 kDa translocator protein (TSPO) ligands. *Bioorg. & Med. Chem*. 2012;20:5568–5582. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.07.023
78. Anzini M, Capelli A, Vomero S, et al. Mapping and Fitting the peripheral benzodiazepine receptor binding site by carboxamide derivatives. comparison of different approaches to quantitative ligand-receptor interaction modeling. *J. Med. Chem*. 2001;44:1134–1150. DOI .org/10.1021/jm0009742
79. Cappelli A, Mohr GP, Gallelli A, et al. Structure-activity relationships in carboxamide derivatives based on the targeted delivery of radionuclides and boron atoms by means of peripheral benzodiazepine receptor ligands. *J. Med. Chem*. 2003;46:3568–3571. DOI: 10.1021/jm034068b
80. Castellano S, Taliani S, Viviano M, et al. Structure activity relationship refinement and further assessment of 4-phenylquinazoline-2-carboxamide translocator protein ligands as antiproliferative agents in human glioblastoma tumors. *J. Med. Chem*. 2014;57:2413–2428. DOI: 10.1021/jm401721h
81. Trapani G, Franco M, Ricciardi L, et al. Synthesis and binding affinity of 2-Phenylimidazo[1,2-a]pyridine derivatives for both central and peripheral benzodiazepine receptors. a new series of high-affinity and selective ligands for the peripheral type. *J. Med. Chem*. 1997;40:3109–3118. DOI .org/10.1021/jm970112+
82. Lentini G, Bourguignon JJ, Wermuth CG. Ligands of the peripheral-type benzodiazepine binding site (PBS): structure-activity relationships and computer-aided conformational analysis. In *QASAR: Rational Approaches to the Design of Bioactive Compounds*; Elsevier Science Publishers B.V.: Amsterdam; 1991. p. 257–260.
83. Tebib S, Bourguignon JJ, Wermuth CG. The active analogue approach applied to the pharmacophore identification of benzodiazepine receptor ligands. *J. Comput.-Aided Mol. Des*. 1987;1:153–170. DOI .org/10.1007/bf01676959
84. Serra M, Madau P, Chessa MF, et al. 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine derivatives as ligands for peripheral benzodiazepine receptors: stimulation of neurosteroid synthesis and anticonflict action in rats. *British Journal of Pharmacology*. 1999;127:177–187. DOI: 10.1038/sj.bjp.0702530
85. James ML, Fulton RR, Vercoullie J, et al. DPA-714, a new translocator protein-specific ligand: synthesis, radiofluorination, and pharmacologic characterization. *Journal of Nuclear Medicine*. 2008;49(5):814–822. DOI: 10.2967/jnumed.107.046151
86. Leaver KR, Reynolds A, Bodard S, et al. Effects of translocator protein (18 kDa) ligands on microglial activation and neuronal death in the quinolinic-acid-injected rat striatum. *ACS Chem. Neurosci*. 2012;3:114–119. DOI: 10.1021/cn200099e
87. Romeo E, Auta J, Kozikowski A, et al. 2-Aryl-3-indoleacetamides (FGIN-1): a new class of potent and specific ligands for the mitochondrial DBI receptor (MDR). *J. Pharmacol. and Exp. Ther*. 1992;262:971–978.
88. Auta J, Romeo E, Kozikowski A, et al. Participation of mitochondrial diazepam binding inhibitor receptors in the anticonflict, antineophobic and anticonvulsant action of 2-aryl-3-indoleacetamide and imidazopyridine derivatives. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 1993;265:649–656.
89. Bitran D, Foley M, Audette D, et al. Activation of peripheral mitochondrial benzodiazepine receptors in the hippocampus stimulates allopregnanolone synthesis and produces anxiolytic-like effects in the rat. *Psychopharmacology*. 2000;151:64–71. DOI .org/10.1007/s002130000471
90. Da Settimo F, Simorini F, Taliani S, et al. Anxiolytic like effects of N,N-Dialkyl-2-phenylindol-3-ylglyoxylamides by modulation of translocator protein promoting neurosteroid biosynthesis. *J. Med. Chem*. 2008;51:5798–5806. DOI: 10.1021/jm8003224
91. Costa B, Da Pozzo E, Chelli B, et al. Anxiolytic properties of a 2-phenylindolglyoxylamide TSPO ligand: Stimulation of in vitro neurosteroid production affecting GABAA receptor activity. *Psychoneuroendocrinology*. 2011;36:463–472. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2010.07.021
92. Liao Y, Kozikowski A, Guidotti A, et al. Synthesis and pharmacological evaluation of benzofuran-acetamides as "antineophobic" mitochondrial DBI receptor complex ligands. *Bioorg. Med. Chem*. 1998;8:2099–2102. DOI .org/10.1016/s0960-894x(98)00374-6
93. Ferzaz, B, Brault E, Bourliaud G, et al. SSR180575 (7-chloro-N, N, 5-trimethyl-4-oxo-3-phenyl-3, 5-dihydro-4H-pyridazino[4, 5-b]indole-1-acetamide), a peripheral benzodiazepine receptor ligand, promotes neuronal survival and repair. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2002;301: 1067–1078. DOI .org/10.1158/1538-7445.am2014-110

94. Anzini M, Cappelli A, Vomero S, et al. Molecular Basis of peripheral vs central benzodiazepine receptor selectivity in a new class of peripheral benzodiazepine receptor ligands related to alpidem. *J. Med. Chem.* 1996;39:4275–4284. DOI: 10.1021/jm960325j
95. Cappelli A, Giuliani G, Valenti S, et al. Synthesis and structure-activity relationship studies in peripheral benzodiazepine receptor ligands related to alpidem. *Bioorg. Med. Chem.* 2008; 16:3428–3437. DOI: 10.1016/j.bmc.2007.06.044
96. Cappelli A, Bini G, Valenti S, et al. Synthesis and structure-activity relationship studies in translocator protein ligands based on a pyrazolo[3,4-b]quinoline scaffold. *J Med Chem.* 2011; 27:7165–75. DOI: 10.1021/jm200770f
97. Schlichter R, Rybalchenko V, Poisbeau P, et al. Modulation of GABAergic synaptic transmission by the non-benzodiazepine anxiolytic etifoxine. *Neuropharmacology.* 2000;39: 1523–1535. DOI: 10.1016/s0028-3908(99)00253-1
98. Verleye M, Akwa Y, Liere P, et al. The anxiolytic etifoxine activates the peripheral benzodiazepine receptor and increases the neurosteroid levels in rat brain. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2005;82:712–720. DOI: 10.1016/j.pbb.2005.11.013
99. Ugale R, Sharma A, Kokare D, et al. Neurosteroid allopregnanolone mediates anxiolytic effect of etifoxine in rats. *Brain Res.* 2007;1184:193–201. DOI: 10.1016/j.brainres.2007.09.041
100. Aouad M, Charlet A, Rodeau J, et al. Reduction and prevention of vincristine-induced neuropathic pain symptoms by the nonbenzodiazepine anxiolytic etifoxine are mediated by 3 α -reduced neurosteroids. *Pain.* 2009;147:54–59. DOI: 10.1016/j.pain.2009.08.001
101. Nguyen N, Fakra E, Pradel V, et al. Efficacy of etifoxine compared to lorazepam monotherapy in the treatment of patients with adjustment disorders with anxiety: a double-blind controlled study in general practice. *Human Psychopharmacol.* 2006;21:139–149. DOI: 10.1002/hup.757
102. Mokrov GV, Deeva OA, Gudasheva TA, et al. Design, synthesis and anxiolytic-like activity of 1-arylpyrrolo[1,2-a]pyrazine-3-carboxamides. *Bioorg. Med. Chem.* 2015;23(13):3368–3378. DOI: 10.1016/j.bmc.2015.04.049
103. Патент РФ на изобретение №2572076./ 26.03.2014. Середенин С.Б., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., и др. 1-Арилпирроло [1,2-а]пирозин-3-карбоксамиды с нейрорепрессивной активностью. [Patent Rus №2572076./ 26.03.2014. Seredenin S.B., Mokrov G.V., Gudasheva T.A., et al. 1-Arilyrrolo [1,2-a]pirazin-3-karboksamidy s nejropsihotropnoj aktivnost'yu. (in Russ).]. URL: <http://www.freepatent.ru/patents/2572076>. дата обращения 03.10.2018).
104. Ярков С.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А. и др. Фармакологическое изучение новых соединений — регуляторов 18 кДа транслокаторного белка // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* — 2016. — Т. 79. — № 1. — С. 7–11. [Yarkov SA, Mokrov GV, Gudasheva TA, et al. Pharmacological study of new compounds acting as regulators of 18-kDa translocator protein ligands. *Experimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya.* 2016. 79(1): 7–11 (in Russ).]
105. Яркова М.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А. и др. Анксиолитическое действие оригинальных производных пирроло[1,2-а]пиразина, лигандов TSPO, зависит от биосинтеза нейростероидов // *Химико-фармацевтический журнал.* — 2016. — Т. 50. — № 8. — С. 3–6. [Yarkova MA, Mokrov GV, Gudasheva TA, et al. Anxiolytic activity of original pyrrolo[1,2-a]pyrazine derivatives (TSPO ligands) depends on neurosteroid biosynthesis. *Khimiko-farmaceuticheskij zhurnal.* 2016;50(8):3–6. (in Russ).] DOI: 10.30906/0023-1134-2016-50-8-3-6
106. Яркова М.А., Поварнина П.Ю., Мокров Г.В. и др. Антидепрессивный и ноотропный эффекты оригинальных лигандов транслокаторного белка TSPO // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* — 2017. — Т. 80. — № 4. — С. 3–7. [Yarkova MA, Povarnina PYu, Mokrov GV, et al. Antidepressant and nootropic effects of original TSPO ligands. *Experimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya.* 2017;80(4):3–7 (in Russ).]
107. Гудашева Т.А., Деева О.А., Мокров Г.В. и др. Первый дипептидный лиганд транслокаторного протеина: дизайн и анксиолитическая активность // *Доклады академии наук.* — 2015. — Т. 464. — № 3. — С. 361–364. [Gudasheva TA, Deeva OA, Mokrov GV, et al. The first dipeptide ligand of translocator protein: design and anxiolytic activity. *Doklady akademii nauk.* 2015;464(3):361–364 (in Russ).] DOI: 10.7868/S0869565215270249
108. Патент РФ на изобретение №2573823./ 26.03.2014. Середенин С.Б., Деева О.А., Гудашева Т.А., и др. «Замещенные дипептиды с нейрорепрессивной активностью». [Patent Rus №2573823./ 26.03.2014 Seredenin SB, Deeva OA, Gudasheva TA, et al. Zameshchennyye dipeptidy s nejropsihotropnoj aktivnost'yu (in Russ).]. URL: <http://www.freepatent.ru/patents/2573823>. (дата обращения 03.10.2018).
109. Гудашева Т.А. Теоретические основы и технологии создания дипептидных лекарств // *Известия Академии наук. Серия химическая.* — 2015. — Т. 64. — № 9. — С. 2012–2021. [Gudasheva TA. Theoretical grounds and technologies for dipeptide drug development. *Izvestiya akademii nauk. Seriya kimicheskaya.* 2015;64(9):2012–2021 (in Russ).]
110. Gudasheva TA, Voronina TA, Ostrovskaya RU, et al. Design of N-acylprolytyrosine tripeptide analogs of neurotensin as potential atypical antipsychotic agents. *J. Med. Chem.* 1998;41:284–290. DOI: 10.1021/jm970217c
111. Гудашева Т.А. Стратегия создания дипептидных лекарств // *Вестник РАМН.* — 2011. — Т. 7. — С. 8–16 [Gudasheva TA. Strategiya sozdaniya dipeptidnyh lekarstv. *Vestnik RAMN.* 2011;7:8–16 (in Russ).]
112. Гудашева Т.А., Деева О.А., Яркова М.А. и др. Зависимость анксиолитического действия дипептидного лиганда TSPO ГД-23 от биосинтеза нейростероидов // *Доклады академии наук.* — 2016. — Т. 469. — № 5. — С. 621–624. [Gudasheva TA, Deeva OA, Yarkova MA, et al. Dependence of anxiolytic effects of the dipeptide TSPO ligand GD-23 on neurosteroid biosynthesis. *Doklady akademii nauk.* 2016;469(5):621–624. (in Russ).] DOI: 10.7868/S0869565216230274
113. Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А., Деева О.А. и др. Дипептидный лиганд транслокаторного белка ГД-23 проявляет анксиолитическую и ноотропную активности // *Acta Naturae.* — 2015. — Т. 7. — № 3 (26). — С. 120–125. [Povarnina PYu, Gudasheva TA, Deeva OA, et al. The novel dipeptide translocator protein ligand, referred to as GD-23, exerts anxiolytic and nootropic activities. *Acta Naturae.* 2015;7(3);(26):120–125. (in Russ).]

Антарейт – синергидная комбинация магалдрат+симетикон с гастропротекторными свойствами

Торшин И.Ю.¹, Громова О.А.¹, Курицына Н.А.²

¹ – Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук», Москва

² – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет» МЗ РФ, Санкт-Петербург

Резюме. Препарат «Антарейт» – комбинация магалдрата (антацида нового поколения) с симетиконом (противопенным компонентом для уменьшения метеоризма). Антацидный эффект препарата развивается быстро (1–2 мин) и действует продолжительно (до 3 часов). Магалдрат — антацид мультитаргетного воздействия, проявляющий выраженное цитопротекторное действие на слизистую оболочку желудка. При растворении магалдрата в соляной кислоте желудка кристаллическая структура этого вещества обуславливает формирование плотноупакованных частиц гидроксида алюминия. Эти частицы обволакивают область изъязвления, причём размер этих частиц (2 мкм) таков, что облегчает миграцию эпителиоцитов и фибробластов в процессе репарации стенки желудка. Дополнительные лечебные эффекты магалдрата связаны с постепенной секрецией ионов магния и алюминия (гексаакваалюминия), способствующей поддержанию оптимальных концентраций этих ионов. Биологические эффекты ионов алюминия осуществляются посредством активации G-белков и ингибирования аденилатциклаз. В результате модулируется метаболизм простагландинов, повышаются уровни вазодилатора оксида азота (NO), проявляются антигистаминные эффекты — важные составляющие мультитаргетного действия магалдрата.

Ключевые слова: антациды; G-белки; магалдрат; Антарейт; фармакокинетика; фармакодинамика; интеллектуальный анализ данных

Для цитирования:

Торшин И.Ю., Громова О.А., Курицына Н.А. Антарейт – синергидная комбинация магалдрат+симетикон с гастропротекторными свойствами // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – № 4. – С. 28–36. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10027

Antarite – synergistic combination of «magaldrat + simethicone» with gastroprotective properties

Torshin I.Yu.¹, Gromova O.A.¹, Kuricina N.A.²

¹ – Federal Research Center «Computer Science and Control» of the Russian Academy of Sciences, Moscow

² – Federal State budgetary Educational Institution of Higher Education St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint-Peterburg

Resume. The preparation "Antarite" is a combination of magaldrate (antacid of a new generation) with simethicone (antifoam component to reduce flatulence). The antacid effect of the drug develops quickly (1–2 minutes) and lasts for a long time (up to 3 hours). Magaldrate is antacid of multitarget effect, exhibiting a pronounced cytoprotective effect on the gastric mucosa. When the galdrate is dissolved in the hydrochloric acid of the stomach, the crystal structure of this substance causes the formation of tightly packed aluminum hydroxide particles. These particles envelop the area of ulceration, and the size of these particles (2 microns) is such that it facilitates the migration of epithelial cells and fibroblasts in the process of repair of the stomach wall. Additional curative effects of magaldrate are associated with the gradual secretion of magnesium and aluminum ions (hexa-aluminum), which help to maintain optimal concentrations of these ions. The biological effects of aluminum ions are accomplished by activating G-proteins and inhibiting adenylate cyclases. As a result, the metabolism of prostaglandins is modulated, the levels of the vasodilator of nitric oxide (NO) increase, and antihistamine effects are manifested – important components of the multitarget action of magaldrate.

Keywords: antacids; G-proteins; magaldrat; Antarite; pharmacokinetics; pharmacodynamics; data mining

For citations:

Torshin IYu, Gromova OA, Kuricina NA. Antarite – synergistic combination of "magaldrat + simethicone" with gastroprotective properties. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;4:28–36. (In Russ). DOI: 10.24411/2588-0519-2018-10027

Введение

Основным механизмом действия антацидных препаратов считается просто нейтрализация избытка соляной кислоты желудка. Однако имеющиеся данные фундаментальных и клинических исследований указывают на гораздо более широкий спектр биологического действия антацидов. Рассматриваемый в статье препарат Антарейт является единственным комбинированным препаратом, основанный на синергидной комбинации «новой антацидной молекулы» магалдрата и хорошо известного симетикона. Препарат показан при симптомах, связанных с повышенной кислотностью желудочного сока и рефлюкс-эзофагитом (изжога, отрыжка «кислым вкусом», нерегулярные боли в области желудка, чувство переполнения или тяжести

в эпигастральной области, метеоризм, диспепсия) и диспепсии (вызванной нарушениями в диете, приёмом некоторых лекарственных средств, злоупотреблением алкоголем, никотином или кофе).

Фармакологические свойства магалдрата принципиально отличаются от всех других антацидов. Магалдрат (алюминия магния гидроксид сульфат с формулой $\text{Al}_5\text{Mg}_{10}(\text{OH})_{31}(\text{SO}_4)_2$) развивает антацидный эффект в считанные минуты, поддерживает значение внутрижелудочного pH в диапазоне 3...4 достаточно продолжительное время (до 3 ч). Дополнительно магалдрат снижает ульцерацию стенки желудка, уровень перекисного окисления липидов [1], адсорбирует желчные кислоты, адсорбирует и инактивирует гормон пепсин [2], модулирует синтез простагландина E2, проявляет холинергическое действие, снижает количество

антральных G-клеток, блокирует H₂-рецепторы гистамина [3], участвующие в секреции соляной кислоты. Интересно также, что после нейтрализации соляной кислотой желудка гастропротекторное действие магалдрата не ослабляется, а наоборот усиливается [4].

Особенности структуры и фармакологические эффекты магалдрата

Состав антацидов на основе гидроксидов алюминия/магния значительно варьирует даже в пределах одного и того же антацидного препарата [5]. Например, альмагат и альмагит (которые считаются оригинальными фармакологическими веществами), представляют собой, в действительности, смеси из гидроталькита, гидроксикарбоната магния и/или карбоната магния и аморфного гидроксида алюминия. Из исследованных в работе [5] действующих начал различных антацидов только образцы магалдрата *содержали высокую долю основного вещества* (кристаллическая фаза $\text{Al}_5\text{Mg}_{10}(\text{OH})_{31}(\text{SO}_4)_2$) и *незначительное количество аморфного гидроксида алюминия*.

По сравнению с гидроксидами алюминия/магния, *магалдрат проявляет меньшую токсичность, ассоциированную с поступлением избытка алюминия*. Пациенты, которым предстояла операция на головном мозге, за 10 дней до операции получали антацид на основе гидроксидов алюминия/магния (Maalox-70) или магалдрат. Анализ хирургически удалённой ткани головного мозга выявил *в два раза более высокие уровни алюминия у пациентов, получавших аморфные гидроксиды алюминия/магния*, по сравнению с пациентами, получавшими магалдрат [6]. Более низкая алюмотоксичность магалдрата может быть связана с тем, что это вещество формирует упорядоченную кристаллическую структуру (рис. 1), которая более устойчива к действию соляной кислоты желудочного

сока, чем аморфные гидроксиды алюминия/магния, не образующие кристаллической структуры.

Кристаллическая решётка магалдрата растворяется медленно и обеспечивает стабильно низкое высвобождение ионов алюминия и магния, осаждающихся на поверхности слизистой оболочки. Исследование с использованием ЯМР показало, что смеси $\text{Al}(\text{OH})_3/\text{Mg}(\text{OH})_2$ показывают резкий всплеск концентраций катиона гексаакваалюминия при добавлении кислоты с последующей медленной элиминацией этого катиона из раствора. Магалдрат, наоборот, демонстрирует устойчивое увеличение катиона гексаакваалюминия при добавлении кислоты [7].

Исследования светорассеяния, которые позволяют измерить распределение размеров частиц в растворах, показали, что частицы магалдрата и смесей гидроксидов алюминия/магния действительно ведут себя по-разному при растворении в соляной кислоте. Первоначально помещённые в раствор соляной кислоты кристаллические частицы магалдрата уменьшаются в размере, причём в зависимости от концентрации соляной кислоты. При этом происходит нейтрализация всего гидроксида магния из кристаллических частиц магалдрата. Затем размер частиц в растворе увеличивается до 2 мкм и остаётся стабильным [7].

И наоборот, в случае растворения аморфных смесей $\text{Al}(\text{OH})_3/\text{Mg}(\text{OH})_2$ в соляной кислоте образуются частицы, состоящие из ядра гидроксида магния, окружённого оболочкой из гидроксида алюминия. Эти частицы демонстрируют медленную эрозию гидроксида алюминия с последующим полным распадом частиц и диссипацией ионов магния и алюминия в образующемся растворе [7]. Это формирует условие для всасывания ионов алюминия и впоследствии условие для формирования алюмотоксикоза.

Анализ молекулярных механизмов действия ионов гексаакваалюминия

Проведённый ранее анализ структуры и свойств магалдрата [4] показал, что одним из механизмов мультитаргетного действия магалдрата является формирование водного раствора ионов алюминия, причём без алюмотоксикоза. Заметим, что в водной среде ион алюминия, Al^{3+} , взаимодействует с молекулами воды и образует комплексное соединение — ион гексаакваалюминия, $\text{Al}^{3+}[\text{H}_2\text{O}]_6$. Ионы гексаакваалюминия проявляют холинергический, ГАМКергический, антигистаминный эффекты, модулируют метаболизм простагландинов, секрецию вазодилатора оксида азота (NO) и др. [8].

Установление таргетных белков алюминия проводилось методом анализа функциональных взаимосвязей [9]. В результате проведённого анализа среди известных 50 057 белков протеома человека было выделено 20 180 аннотированных белков протеома (т. е. белков, для которых известны хотя бы основные биологические роли). Среди 20 180 белков по меньшей

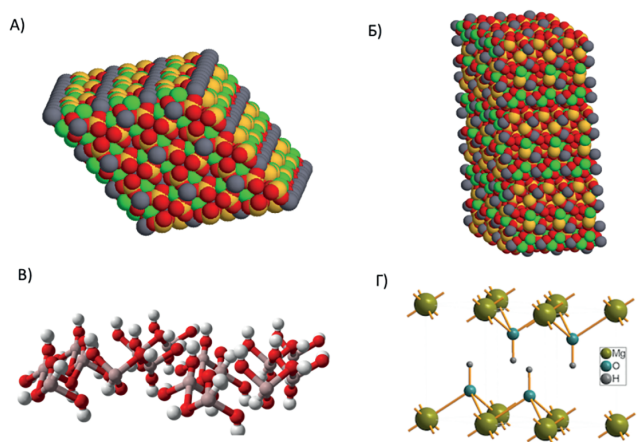


Рис. 1. Кристаллическая структура магалдрата:

А) Вид «сверху» фрагмента кристалла (вдоль оси «z»), Б) вид «сбоку» (вид вдоль оси «a»). Для сравнения приведены структуры цепей гидроксида алюминия (В) и гидроксида магния (Г), не образующие кристаллическую структуру

Таблица 1

Таргетные белки алюминия, установленные методом функционального анализа взаимосвязей

Ген	Белок	Функция белка	Роль алюминия
BECN1	Беклин-1	Аутофагия	Активация беклина-1
TF	Трансферрин	Транспорт Fe^{3+}	Транспорт Al^{3+}
GNAS1	$G_{as/Gs}$ -белок	Сигнальный белок	Активирует Gs-белок, антигистаминное действие
GNA11	$G_{aq/Gq/11}$ -белок	Сигнальный белок	Активирует Gq-белок, синтез простагландина E2, синтез NO
GNA12, GNA13	$G\alpha_{12/13}$ -белок	Сигнальный белок	Активирует $G\alpha_{12/13}$ -белки, миграция клеток
ADCY1, ADCY5, ADCY10	Аденилатциклазы	Сигнальный белок	Ингибирует аденилатциклазы, антигистаминное действие
ACHE	Ацетилхолинэстераза	Деградация ацетилхолина	Тормозит деградацию ацетилхолина

мере 10 белков являлись алюминий-зависимыми: для данных белков либо имелась информация, подтверждающая связывание одного или нескольких ионов Al^{3+} соответствующим белком, либо экспериментальная информация о воздействии (пусть даже и косвенном) ионов Al^{3+} на активность белка (табл. 1).

Активация G-белков ионами алюминия является одним из основных механизмов осуществления биологических эффектов данного микроэлемента. Как известно, G-белки или «гуанинтрифосфат (ГТФ) связывающие белки» опосредуют внутриклеточную передачу сигнала от различных типов рецепторов (гормональных, нейротрансмиттерных, ростовых факторов

и др.). Заметим, что в молекулярной биологии фторид алюминия используется как стандартный реактив для неселективной активации G-белков [10], в т. ч. участвующих в ГАМКергической нейротрансмиссии [11], модуляции метаболизма простагландинов, синтезе оксида азота и др. (рис. 2).

Влияние иона алюминия на ранозаживление и гастропротекцию через модуляцию метаболизма простагландинов

Имеющиеся данные позволяют утверждать, что эффекты ионов алюминия на метаболизм простагландинов и синтез оксида азота обусловлены именно активацией Gq-белка $G\alpha_q/11$ (см. выше). Показано, что активация G-белков (посредством их специфического эндогенного активатора, молекулы ГТФ-гамма-S), действительно повышает синтез и секрецию простагландина E2 [12]. Поскольку в обеспечении воздействия ионов алюминия на уровни простагландина E2 важную роль играет активность протеинкиназы C (PKC) [13], то это указывает на активацию ионами алюминия именно Gq-белков, а не Gs-белков (которые активируют аденилатциклазы).

Влияние ионов алюминия на метаболизм простагландинов подтверждается результатами биохимических и экспериментальных исследований. Достаточно давно известно, что секреция простагландинов в костной ткани увеличивается в результате имплантации протезов на основе алюмооксидных керамик [14]. Магалдрат стимулирует внутрижелудочную секрецию простагландина E2. Концентрация простагландина E2 значительно увеличивается уже при низких дозах алюминия (~6 мг/кг в расчёте на элементный алюминий), что способствует заживлению язв желудка [15].

Влияние алюминия на метаболизм оксида азота

Магалдрат дозозависимо предотвращают образование желудочных поражений, вызванных этанолом,

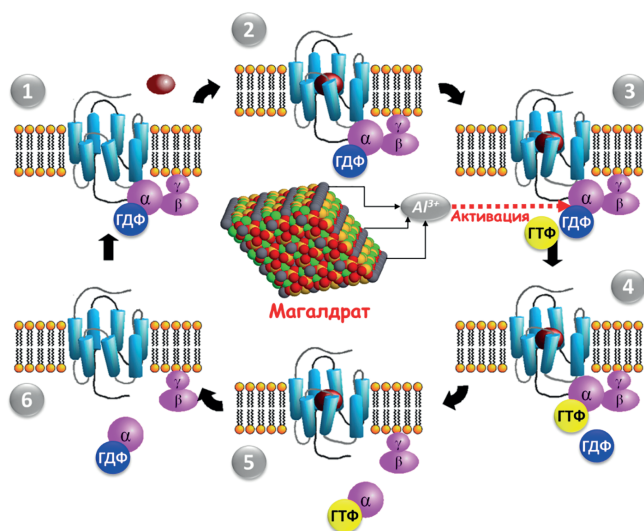


Рис. 2. Общий механизм действия G-белков и роль алюминия:

1) G-белок-зависимый рецептор связывает соответствующий сигнальный лиганд (нейротрансмиттер, гормон, фактор роста и др.). 2) Конформация молекулы рецептора изменяется. 3) G-белок активируется. Активация ионами алюминия G-белков соответствует именно этой стадии передачи сигнала и, таким образом, имитирует активацию рецепторов. 4) В структуре G-белка происходит замена ГДФ на ГТФ. 5) G-белок отсоединяется от молекулы рецептора и передаёт сигналы внутрь клетки. 6) В структуре G-белка происходит гидролиз ГТФ до ГДФ, в результате чего передача сигнала останавливается, а G-белок снова ассоциируется с рецептором для передачи сигнала.

аспирином или иммобилизационным стрессом. В эксперименте было показано, что гастропротекторные эффекты, аналогичные действию алюмо-магневых антацидов, обусловлены не только воздействием простагландина E₂, но также и воздействием эндогенного вазодилатора оксида азота (см. ранее). Стимулируемая алюминием NO-зависимая вазодилатация увеличивает микроциркуляцию крови в слизистой желудка, что повышает обеспеченность тканей желудка кислородом и нутриентами и способствует гастропротекции. И наоборот, применение селективного ингибитора NO-синтазы блокировало гастропротекторные и гиперемические эффекты алюмосодержащих антацидов [16].

Важно отметить, что воздействие иона Al³⁺ на увеличение синтеза/секреции NO установлено не только в экспериментах на животных, но и в экспериментах на растениях (проростки риса) [17]. Влияние ионов алюминия на синтез/секрецию NO на столь разных типах клеток (клеток растений, клеток животных) указывает на существование универсального молекулярного механизма, опосредующего воздействие алюминия на синтез NO.

Таким молекулярным механизмом является модуляция ионами Al³⁺ активности белков внутриклеточной передачи сигнала (прежде всего активация сигнальных G-белков). Хорошо известно, что блокада активности G-белков приводит к выраженным нарушениям синтеза и секреции NO [18]. Показано, что неспецифическая активация фторидом алюминия G-белков способствует повышению синтеза 3',5'-циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) — сигнальной молекулы, участвующей передаче сигналов от рецепторов NO-синтазы. Специфический ингибитор NO-синтазы блокировал эффекты фторида алюминия [19].

Кроме того, в результате приёма AlCl₃ в эксперименте установлено достоверное повышение экспрессии гена iNOS [20]. Поскольку в активации NO-синтазы участвует молекула инозитолтрифосфата (ИФ3) [21], то G-белком, опосредующим действие алюминия на синтез оксида азота, является белок «Gq».

Скорость миграции клеток и особенности фармакокинетики магалдрата, способствующие ускорению заживления эрозии слизистой желудочно-кишечного тракта

Процесс заживления повреждений как на коже, так и на слизистых ЖКТ включает две важные стадии: (1) воспаление и удаление бактериальных загрязнений, (2) деление и миграцию клеток, восстанавливающих структуру ткани. Эти фазы характеризуются различными типами клеток, которые передвигаются в области повреждения ткани. Сначала осуществляется инфильтрация различных воспалительных клеток (нейтрофилы, макрофаги и др.) через стенки капилляров с последующей миграцией клеток иммунной системы в область раны, где они уничтожают болез-

нетворные микроорганизмы. Затем происходит интенсификация деления фибробластов и клеток эндотелия, осуществляется их миграция к очагу повреждения для грануляции и реэпителизации области повреждения.

Обеспечение адекватной скорости миграции клеток в область повреждения имеет принципиальное значение для восстановления тканей: ведь скорость миграции клеток на место раны должна быть достаточно быстрой, чтобы избежать скарификации и низкого качества излечиваемой ткани. Принимая во внимание агрессивность среды ЖКТ (избыточный выброс соляной кислоты, желчных кислот, инфекции *H. pylori*, et al.), достаточная скорость миграции клеток для заживления эрозивных повреждений желудка и кишечника особенно важна.

Отметим, что адгезия кератиноцитов, фибробластов и других типов клеток, участвующих в заживлении ран, сильно зависит от степени «зернистости» субстрата, к которому адгезируются клетки. Например, исследования адгезии кератиноцитов и фибробластов к наноперфорированной поверхности из оксида алюминия показали, что размер пор существенно влияет на скорость миграции клеток [22].

Таким образом, для ранозаживления важны не только оптимальные концентрации иона алюминия, но и оптимальная «зернистость» субстрата, по которому передвигаются клетки (в соответствии с результатами цитированного выше исследования, размер «зёрен» должен быть не менее, чем 500 нм). Рассматриваемые ниже особенности фармакокинетики магалдрата указывают на уникальность магалдрата и с точки зрения оптимальных концентраций алюминия, и с точки зрения «зернистости» формируемого субстрата.

В отличие от многих других алюмомагневых антацидов, содержащих смеси аморфных гидроксидов алюминия и магния, магалдрат — вещество с точно известным составом (отражённым в формуле Al₃Mg₁₀(OH)₃₁(SO₄)₂), которое формирует упорядоченную кристаллическую структуру [4]. Кристаллы магалдрата более устойчивы к действию соляной кислоты желудочного сока, чем аморфные гидроксиды алюминия/магния.

Исследования светорассеяния частиц, образуемых при растворении магалдрата и смесей гидроксидов алюминия/магния в соляной кислоте, указали на важные отличия магалдрата. Сначала микрокристаллические частицы магалдрата уменьшаются в размере и происходит нейтрализация всего гидроксида магния. Затем, средний размер частиц, содержащих плотноупакованный гидроксид алюминия, достигает 2±0,5 мкм и остаётся достаточно стабильным. В то же время при растворении смесей гидроксидов алюминия/магния в соляной кислоте происходит полный распад исходных частиц соответствующего антацида, после чего ионы магния и алюминия равномерно распределяются по всему объёму образующегося раствора [23].

Из полученных в работе [23] результатов анализа динамики светорассеяния при растворении магалдрата

и гидроксидов алюминия/магния в соляной кислоте желудка следуют несколько важных выводов, качественно описывающих фармакокинетику магалдрата.

Во-первых, при растворении кристаллов магалдрата происходит быстрый переход в раствор ионов магния, чему соответствует выраженный пик концентрации магния (рис. 3).

Во-вторых, образующиеся при растворении кристаллов магалдрата частицы содержат структурированный, плотно упакованный гидроксид алюминия, поскольку, в соответствии с данными работы [23], эти частицы характеризуются стабильным размером. Поэтому секреция алюминия из этих частиц происходит постепенно и достаточно медленно (см. рис. 3), что обеспечивает поддержание нетоксических концентраций ионов алюминия.

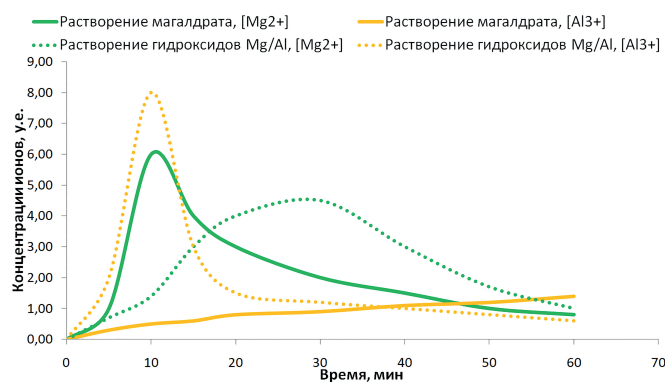


Рис. 3. Качественные особенности фармакокинетики растворения магалдрата и гидроксидов алюминия/магния в соляной кислоте (по результатам анализа светорассеяния [50])

В-третьих, растворение смесей аморфных $Al(OH)_3/Mg(OH)_2$ приводит к формированию более выраженного пика концентрации ионов алюминия (см. рис. 3), т. к., в отличие от магалдрата, в смесях $Al(OH)_3/Mg(OH)_2$ сначала растворяется алюминий. Этот вывод подтверждается результатами ЯМР исследований. Действительно, смеси $Al(OH)_3/Mg(OH)_2$ показывают резкий всплеск концентраций ионов алюминия при добавлении соляной кислоты. Магалдрат, наоборот, демонстрирует устойчивое увеличение концентрации ионов алюминия при добавлении HCl [7, 23], без резкого всплеска концентраций иона алюминия и, следовательно, без сколько-нибудь значительного риска достижения токсических уровней алюминия.

В-четвертых, как было отмечено ранее, средний размер стабильных частиц гидроксида алюминия, образуемых при растворении мелкокристаллического магалдрата, составляет $2 \pm 0,5$ мкм, где 0,5 мкм — стандартное отклонение. Это означает, что 50 % образующихся частиц менее, чем 2 мкм в диаметре — т. е. *сравнимы с размером нанопор, обеспечивающих наилучшие условия для миграции клеток* (0,5–2 мкм, см. ранее). Кроме

того, на поверхности стабильных частиц гидроксида алюминия может происходить эффективная адсорбция факторов свертывания крови II, VII, IX и X [24], что будет способствовать остановке внутрижелудочных кровотечений. В то же время частицы, образующиеся при растворении смесей $Al(OH)_3/Mg(OH)_2$, гораздо менее стабильны, полностью переходят в раствор и не могут адсорбировать факторы свертывания крови. Все эти особенности фармакокинетики магалдрата обеспечивают быстрое начало антацидного эффекта, высокий репаративный потенциал и высокую безопасность применения препарата.

Биологические роли магния и заживление эрозивных повреждений слизистой желудка

Магалдрат относится к алюмомагниевым антацидам. Помимо нейтрализации избытка соляной кислоты, воздействия ионов алюминия на заживление ран и описанных выше фармакокинетических особенностей, магалдрат также является своеобразным «донором» магния — микроэлемента, весьма важного для заживления эрозивных повреждений слизистой ЖКТ.

Магний участвует в формировании активных центров сотен ферментов, энергетическом обмене (в большинстве реакций, в которых принимает участие АТФ, истинным субстратом является комплекс АТФ-Mg), транскрипции, репликации, репарации ДНК, трансляции РНК в белки, функции митохондрий [25] и др. Дефицит магния способствует возникновению окислительного стресса (в частности, вследствие нарушения функций митохондрий). Окислительный стресс и воспаление, в свою очередь, способствуют ускорению клеточного старения через понижение стабильности генома и укорочение теломер [26]. В эксперименте местное применение солей магния оказывает стимулирующее воздействие на процессы регенерации ран и улучшает биомеханические свойства рубцовой ткани в инфицированных и неинфицированных ранах [27]. Дотации магния способствуют NO-опосредованной дилатации микрососудов, увеличивая тем самым микроциркуляцию тканей [28]. Положительное влияние магния на структуру соединительной ткани подтверждается результатами экспериментальных исследований моделей ран и ожогов [29–32].

Ионы магния также оказывают существенное воздействие на процессы репарации тканей. Например, внутривенный $MgSO_4$ ускоряет заживление ожогов плавиковой кислотой [33]. В эксперименте ионы магния проявляют противоязвенные свойства против индуцированных индометацином язв желудка. На фоне применения магния отмечалось значительное снижение балла язвы ($9,4 \pm 0,8$) по сравнению с контролем ($20,8 \pm 0,9$). При этом, возрастало число слизистых клеток ($264,6 \pm 8,3$) по сравнению с контролем ($170,0 \pm 17,7$) [34]. Топическое применение Mg-силикатного соединения (минерал смектит)

к хирургическим ранам в эксперименте ускоряло заживление, усиливая неоваскуляризацию, синтез и созревание коллагена [35].

В клинической практике хорошо известна эффективность питьевых магниевых минеральных вод при комбинированном лечении язв двенадцатиперстной кишки [36]. Пероральный приём магния в течение 12 недель среди пациентов с язвенной болезнью благотворно влиял на параметры размера язвы, сывороточный hs-CRP и общую антиоксидантную способность плазмы [37]. Таким образом, магний существенно способствует поддержанию процессов заживления эрозий и язв желудка.

Заключение

Несмотря на широкий спектр лекарственных средств, относящихся к антацидам, выбор наиболее эффективного и безопасного препарата по-прежнему актуален. Например, быстрое антацидное действие пищевой соды практически полностью нивелируется достаточно тяжёлыми побочными эффектами (алкалоз, гипертонический криз). Гидроксид алюминия, входящий в большинство антацидных средств, не приводит к алкалозу, но вызывает алюмотоксикоз, гипофосфатемию, нефрокальциноз, а при длительном применении — остеомалацию и алюминиевую энцефалопатию. Поэтому врач при выборе антацидного

препарата должен опираться не только на скорость наступления антацидного эффекта, но и на такие характеристики антацидов, как всасывание, продолжительность поддержания нужного pH, наличие у препарат нежелательных эффектов и регенераторных возможностей (табл. 2), алгелдрат (гидроокись алюминия). Препарат нейтрализует соляную кислоту (1 г гидроокиси алюминия эквивалентен 250 мл 0,1 N раствора соляной кислоты), образуя нерастворимые и невсасывающиеся соединения алюминия. Гидроокись алюминия целесообразно комбинировать с окисью магния (легко взаимодействует с соляной кислотой), так как появляющийся хлорид магния обладает послабляющими свойствами. Часто используется комбинация под названием алмагель (окись магния, окись алюминия, D-сорбит). Наряду с антацидным алмагель оказывает адсорбирующее и обволакивающее действие. D-сорбит способствует желчеотделению и дефекации. В сочетании с анестезином (алмагель А) используется при наличии болевого синдрома в эпигастральной области.

Длительное применение (более 3–4 нед.) алмагеля приводит к гипофосфатемии. Поэтому более предпочтителен (для длительного приёма) фосфалюгель (минеральный гель фосфата алюминия, органический гель, агар-агар).

Адсорбирующими, обволакивающими и антацидными свойствами обладает трисиликат магния. Коллоид, образующийся в результате взаимодействия

Таблица 2

Классификация антацидов по фармакологическим свойствам

Антацид	Всасывающийся	Скорость антацидного эффекта	Продолжительность действия	Регенераторные эффекты	Нежелательные эффекты
Натрия гидрокарбонат (пищевая сода) (в составе препаратов: таблетки Натрия бикарбонат, Натрия гидрокарбонат-Эском)	++++	++++	+	—	Газы в желудке, растяжение желудка, отрыжка, гиперсекреция HCL, алкалоз, боли в животе, гипертонический криз, тревожность
Кальция карбонат (в составе препаратов Аддитива кальций, Витакальцин, Скоралайт)	+++	+++	+	+	Газы в желудке, отрыжка, гиперсекреция HCL
Магния карбонат (в составе препаратов Аддитива, Магний Магния карбонат основной)	++++	+++	+	+	Газы в желудке, отрыжка, гиперсекреция HCL, диарея
Магния силикат (E553a)	—	+	++	—	Отрыжка, тошнота, метеоризм, запор
Альгинаты натрия (Sodium alginate). Производное альгиновой кислоты. Природный полисахарид, получаемый из бурых морских водорослей. (в составе препаратов Натальсид, Альгинатол)	+	+	++	—	Алкалоз, диспепсия, аллергические реакции
Магния оксид (E530) (в составе препаратов Антацид, многих ВМК, Кардиомагний)	+	+	++	+	Тошнота, диарея, диспепсия
Магния гидроксид (в составе препаратов Милк оф магнезия)	++++	++++	+	+	Диарея, диспепсия

Антацид	Всасывающийся	Скорость антацидного эффекта	Продолжительность действия	Регенераторные эффекты	Нежелательные эффекты
Нитрат висмута основной, карбонат магния основной, гидрокарбонат натрия, порошок корня аира, коры крушины, рутин, келлин (в составе препаратов Викалин, Ампилоп, Алантон, Викаир, Вэйтай, Вентер, Гевискон, Гастрофарм, Де-Нол, Даларгин, Каланхин, Новобисмол, Омез Д).	+	++	++++	++++	Диарея, аллергические реакции
Алюминия гидроксид	++++	++++	+	+	Гипофосфатемия, алюмотоксикоз, нефрокальциноз
Магалдрат (в составе препарата Антарейд)	++	++++	++++	++++	Запор/диарея

Примечания: Количественная оценка эффекта обозначена числом знаков «+» или знаком «-» (отсутствие). Например, «++++» соответствует сильному всасыванию, «+» — слабому всасыванию, а «-» — отсутствию всасывания

трисиликата магния и соляной кислоты, предохраняет слизистую желудка от агрессивного действия пепсина и соляной кислоты. Особенностью препарата является длительный антацидный эффект.

Экспертный анализ фармакологических свойств действующих начал антацидных препаратов (табл. 2) показывает, что магалдрат отличается наиболее благоприятным профилем антацидного действия. С одной стороны, магалдрат быстро облегчает гиперацидное состояние пациента (в течение 1...2 мин.) и способствует поддержанию компортного диапазона pH (3...4) в течение нескольких часов. С другой стороны, магалдрат не вызывает алюмотоксикоза, диспепсии и газообразования в желудке. Кроме того, магалдрат

проявляет комплексные регенераторные эффекты: облегчает миграцию эпителиоцитов и фибробластов при заживлении эрозий слизистой, модулирует метаболизм простагландинов, повышает уровни вазодилатора оксида азота, проявляет антигистаминные эффекты.

Точный состав и кристаллическая структура магалдрата обуславливают существование чёткого механизма фармакологического действия. Растворение магалдрата в соляной кислоте желудка приводит к образованию стабильных, плотноупакованных частиц гидроксида алюминия. Параллельно происходит переход в раствор значительного количества ионов магния, который является важным синергистом алюминия в заживлении ран. Эти частицы, во-первых, адсорбируются на

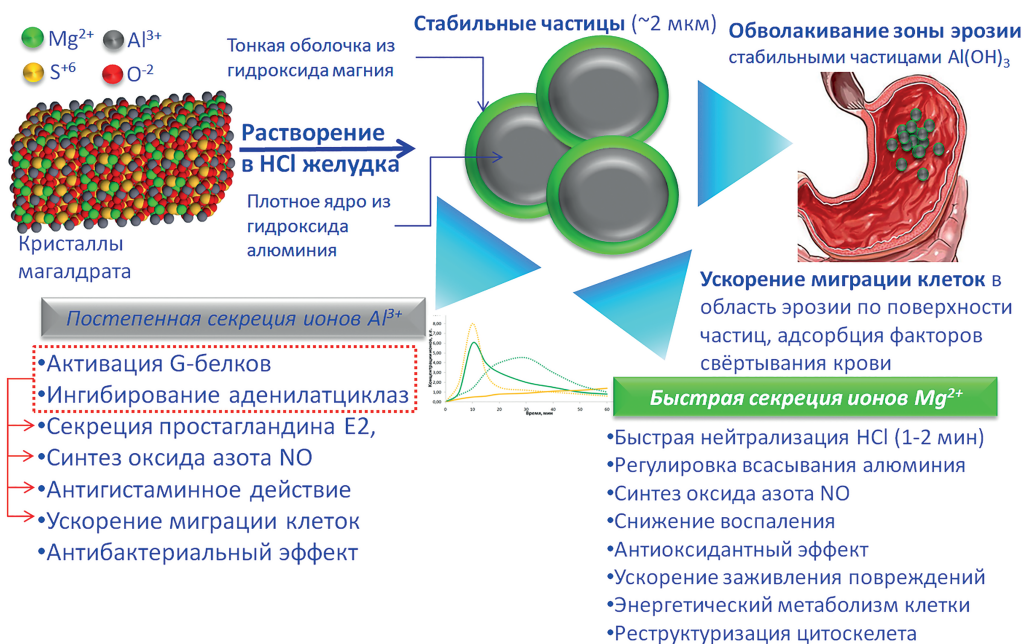


Рис. 4. Особенности фармакокинетики и фармакодинамики магалдрата

поверхности язвенного повреждения (т. к. магалдрат обладает обволакивающим эффектом), во-вторых, будучи оптимального размера, способствуют более быстрой миграции фибробластов и других видов клеток в зону эрозивного повреждения желудочной стенки.

Образованные при растворении магалдрата частицы плотноупакованного $Al(OH)_3$ постепенно секретируют ионы алюминия. Физиологические эффекты ионов алюминия осуществляются посредством активации G-белков и ингибирования аденилатциклаз. В результате модулируется метаболизм простаглан-

динов, повышаются уровни вазодилатора оксида азота (NO), проявляются антигистаминные эффекты. Кроме того, активация G-белков ионами алюминия также будет ускорять миграцию клеток. Известно, что G-белок $G\alpha_{12/13}$ участвует в сигнальном каскаде Rho ГТФаз и его активность важна для реструктурирования цитоскелета и регуляции миграции клеток [38]. Активация этого белка ионами алюминия будет способствовать ускорению процесса миграции клеток в зоне повреждения (рис. 4).

Работа выполнена по гранту 17-07-01419 РФФИ.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Громова Ольга Алексеевна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: unesco.gromova@gmail.com

ORCID: 0000-0002-7663-710X

SPIN-код: 6317-9833

д. м. н., профессор, в. н. с., Институт фармакоинформатики, ФИЦ ИУ РАН, Москва

Gromova Olga

Corresponding author

e-mail: unesco.gromova@gmail.com

ORCID: 0000-0002-7663-710X

SPIN-code: 6317-9833

DM, professor, Institute of pharmacoinformatics FRC CSC RAS, Moscow

Торшин Иван Юрьевич

ORCID: 0000-0002-2659-7998

SPIN-код: 1375-1114

к. х. н., с. н. с., ФИЦ ИУ РАН, Москва

Torshin Ivan

ORCID: 0000-0002-2659-7998

SPIN-code: 1375-1114

Candidate of Chemical Sciences, Senior researcher in of Institute of Pharmacoinformatics at the Department of Intellectual Systems FRC CSC RAS, Moscow

Курицына Наталия Андреевна

ORCID: 0000-0002-0200-5097

SPIN-код: 4361-7365

к. б. н., доцент, ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет МЗ РФ, Санкт-Петербург

Kuritsyna Nataliia

ORCID: 0000-0002-0200-5097

SPIN-code: 4361-7365

Candidate of Chemical Sciences, Senior researcher in FSE IHE St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg

Литература / References

1. Patel AV, Santani DD, Goyal RK. Antiulcer activity and the mechanism of action of magaldrate in gastric ulceration models of rat. *Indian J Physiol Pharmacol.* 2000;44(3):350–354.
2. Cousar GD, Gadacz TR. Comparison of antacids on the binding of bile salts. *Arch Surg.* 1984; 119(9):1018–1020.
3. Arnold R, Garbe I, Koop H, et al. Effect of antacid and H₂-receptor blocker treatment on gastric endocrine cells. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1984;101:31–37.
4. Громова О.А., Торшин И.Ю., Максимов В.А. Магалдрат как антацид с мульти-таргетным воздействием: клинико-фармакологическое эссе // *Лечащий врач.* — 2018. — № 2. 67 с. [Gromova OA, Torshin IYu, Maksimov VA. Magaldrat kak antatsid s mul'ti-targetnym vozdйствиem: kliniko-farmakologicheskoe esse. *Lechashchii vrach.* 2018;2(67):67. (In Russ).]
5. Peterson CL, Perry DL, Masood H, et al. Characterization of antacid compounds containing both aluminum and magnesium. I. *Crystalline powders.* *Pharm Res.* 1993;10(7):998–1004.
6. Winterberg B, Bertram H, Rolf N, et al. Differences in plasma and tissue aluminum concentrations due to different aluminum-containing drugs in patients with renal insufficiency and with normal renal function. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1987;1(2):69–72.

7. Wilson GE Jr, Falzone CJ, Johnson R, Lee HK. Action of hydrochloric acid on aluminum hydroxide-magnesium hydroxide gels and magaldrate: 27Al NMR and pH-stat studies. *J Pharm Sci.* 1985;74(10):1075–1077.
8. Graf GA, Burns PD, Silvia WJ. Oxytocin- and aluminium fluoride-induced phospholipase C activity and prostaglandin F₂ alpha secretion during the ovine luteolytic period. *J Reprod Fertil.* 1998;112(2):225–231.
9. Торшин И.Ю., Громова О.А. Экспертный анализ данных в молекулярной фармакологии. МЦНМО; 2012. [Torshin IYu, Gromova OA. *Expert Data Analysis in Molecular Pharmacology.* MTsNMO; 2012. (In Russ).]
10. Wessel K, Resch K, Kaever V. Aluminium fluoride enhances phospholipase A₂ activity and eicosanoid synthesis in macrophages. *Eicosanoids.* 1989;2(4):223–227.
11. Ong J, Kerr DI. Interactions of N-ethylmaleimide and aluminium fluoride with GABAB receptor function in rat neocortical slices. *Eur J Pharmacol.* 1995;287(2):197–200.
12. Liu P, Wen M, Hayashi J. Guanine nucleotide-binding protein stimulates arachidonic acid metabolism in TEA3A1 thymic epithelial cells by stimulating release and inhibiting incorporation of arachidonic acid. *Biochem Mol Biol Int.* 1993;31(4):613–625.
13. Rawlinson SC, Wheeler-Jones CP, Lanyon LE. Arachidonic acid for loading induced prostacyclin and prostaglandin E(2) release from osteoblasts and osteocytes is derived from the activities of different forms of phospholipase A(2). *Bone.* 2000;27(2):241–247.

14. Wittenberg JM, Wittenberg RH, Osborn JF. Prostaglandin release from rat femurs after implantation of hydroxylapatite and aluminium oxide ceramics. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1995;53(6):413–417.
15. Berstad K, Vørgin H, Postius S, et al. Gastric prostaglandin E2 release induced by aluminium hydroxide and aluminium hydroxide-containing antacids in rats. Effect of low doses and citric acid. *Scand J Gastroenterol*. 1987;22(7):884–888.
16. Konturek SJ, Brzozowski T, Majka J, et al. Nitric oxide in gastroprotection by aluminium-containing antacids. *Eur J Pharmacol*. 1992;229(2-3):155–162.
17. Yang L, Tian D, Todd CD, et al. Comparative proteome analyses reveal that nitric oxide is an important signal molecule in the response of rice to aluminum toxicity. *J Proteome Res*. 2013;12(3):1316–1330. DOI: 10.1021/pr300971n
18. Evora PR, Pearson PJ, Schaff HV. Impaired endothelium-dependent relaxation after coronary reperfusion injury: evidence for G-protein dysfunction. *Ann Thorac Surg*. 1994;57(6):1550–1556.
19. Kuchan MJ, Jo H, Frangos JA. Role of G proteins in shear stress-mediated nitric oxide production by endothelial cells. *Am J Physiol*. 1994 Sep;267(3):753–758.
20. Stevanovic ID, Jovanovic MD, Colic M, et al. Cytochrome c oxidase activity and nitric oxide synthase in the rat brain following aluminium intracerebral application. *Folia Neuropathol*. 2013;51(2):140–146.
21. Datta SR, Brunet A, Greenberg ME. Cellular survival: a play in three Akts. *Genes Dev*. 1999 Nov 15;13(22):2905–2927.
22. Parkinson LG, Giles NL, Adcroft KF, et al. The potential of nanoporous anodic aluminium oxide membranes to influence skin wound repair. *Tissue Eng Part A*. 2009;15(12):3753–3763. DOI: 10.1089/ten.tea.2008.0594
23. Guterman LR, Falzone J, Wilson GE Jr. Action of hydrochloric acid on aluminum hydroxide-magnesium hydroxide gels and magaldrate: quasi-elastic light scattering studies. *J Pharm Sci*. 1986;75(5):502–505.
24. Swart AC, Klaassen BH, Bloys-van Treslong-de, Hemker HC. The adsorption of blood coagulation factors II, VII, IX and X from human plasma to aluminium hydroxide. *Thromb Diath Haemorrh*. 1972;27(3):490–501.
25. Громова О.А., Торшин И.Ю., Рудаков К.В., и др. Систематический анализ магнийзависимых митохондриальных белков // *Кардиология*. — 2014. — Т. 54. — № 9. — С. 86–92. [Gromova OA, Torshin IYu, Rudakov KV, et al. Systematic Analysis of Magnesium Dependent Mitochondrial Proteins. *Kardiologiya*. 2014;54(9):86–92. (In Russ).] DOI: 10.18565/cardio.2014.9.86-92
26. Belin RJ, He K. Magnesium physiology and pathogenic mechanisms that contribute to the development of the metabolic syndrome. *Magnes Res*. 2007;20(2):107–129.
27. Эффективность магнийсодержащего препарата "Поликатан" в терапии гнойных ран Спасов А.А., Фомичев Е.В., Гусева Т.Н., и др. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2001. — Т. 131. — № 2. — С. 163–166. [Spasov AA, Fomichev EV, Guseva TN, et al. Efficiency of magnesium-containing preparation polykatan in therapy of purulent wounds. *Bull Exp Biol Med*. 2001;131(2):132–135. (In Russ).] DOI: 10.1023/a:1017531609786
28. Heidarianpour A, Sadeghian E, Gorzi A, Nazem F. The influence of oral magnesium sulfate on skin microvasculature blood flow in diabetic rats. *Biol Trace Elem Res*. 2011;143(1):344–350. DOI: 10.1007/s12011-010-8842-7
29. Yue H, Lee JD, Shimizu H, et al. Effects of magnesium on the production of extracellular matrix metalloproteinases in cultured rat vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*. 2003;166(2):271–277. DOI: 10.1016/s0021-9150(02)00390-8
30. Юдина Н.В., Торшин И.Ю., Громова О.А., и др. Обеспеченность ионами калия и магния — фундаментальное условие для поддержания нормального артериального давления // *Кардиология*. — 2016. — Т. 56. — № 10. — С. 80–89. [Yudina NV, Torshin IYu, Gromova OA, et al. Availability of Potassium and Magnesium Ions Is a Fundamental Condition for Maintenance of Normal Arterial Pressure. *Kardiologiya*. 2016;56(10):80–89. (In Russ).] DOI: 10.18565/cardio.2016.10.80-89
31. Громова О.А., Торшин И.Ю., Юдина Н.В., и др. Дефицит магния и нарушения регуляции тонуса сосудов // *Кардиология*. — 2014. — Т. 54. — № 7. — С. 66–72. [Gromova OA, Torshin IYu, Yudina NV. Magnesium Deficiency and Dysregulation of Vascular Tone. *Kardiologiya*. 2014;54(7):66–72. (In Russ).] DOI: 10.18565/cardio.2014.7.66-72
32. Громова О.А., Торшин И.Ю. *Магний и «болезни цивилизации»*. — М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018. [Gromova OA, Torshin IYu. *Magnii i «bolezni tsivilizatsii»*. Moscow: GEOTAR-Media; 2018/ (In Russ).]
33. Cox RD, Osgood KA. Evaluation of intravenous magnesium sulfate for the treatment of hydrofluoric acid burns. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1994;32(2):123–136.
34. Adewoye EO, Salami AT. Anti-ulcerogenic mechanism of magnesium in indomethacin induced gastric ulcer in rats. *Niger J Physiol Sci*. 2013;28(2):193–199.
35. Sasaki Y, Sathi GA, Yamamoto O. Wound healing effect of bioactive ion released from Mg-smectite. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;77:52–57. DOI: 10.1016/j.msec.2017.03.236
36. Вологжанина Л.Г., Владимирский Е.В. Эффективность применения питьевой сульфатной магниевой-кальциевой минеральной воды в комплексном лечении больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, сочетающейся с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью // *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. — 2005. — № 6. — С. 17–19 [Vologzhanina LG, Vladimirkii EV. Efficacy of the drinking magnesium-calcium sulfate mineral water in the combined treatment of duodenal ulcer comorbid with gastroesophageal reflux. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult*. 2005;(6):17–19. (In Russ).]
37. Razzaghi R, Pidar F, Momen-Heravi M, et al. Magnesium Supplementation and the Effects on Wound Healing and Metabolic Status in Patients with Diabetic Foot Ulcer: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Biol Trace Elem Res*. 2018;181(2):207–215. DOI: 10.1007/s12011-017-1056-5
38. Suzuki N, Hajicek N, Kozasa T. Regulation and physiological functions of G12/13-mediated signaling pathways. *Neurosignals*. 2009;17(1):55–70. DOI: 10.1159/000186690

Цитопротекторные свойства дипептидных миметиков фактора роста нервов и мозгового нейротрофического фактора, ГК-2 и ГСБ-106, в модели окислительного стресса у инфузорий

Карпущина О.В.¹, Иноземцев А.Н.¹, Гумаргалиева К.З.²,
Поварнина П.Ю.³, Гудашева Т.А.³

¹ – Биологический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва

² – Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва

³ – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Резюме. Актуальность. В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова были созданы димерные дипептидные миметики фактора роста нервов (nerve growth factor, NGF) и мозгового нейротрофического фактора (brain derived neurotrophic factor, BDNF), соответственно ГК-2 и ГСБ-106. Установлено подобие ГК-2 и ГСБ-106 соответствующим полноразмерным нейротрофинам по механизму действия и фармакологическим свойствам, включая выраженную нейропротекторную активность *in vitro* и *in vivo*. Целью данной работы было получение дополнительных данных о цитопротекторных свойствах ГК-2 и ГСБ-106 с использованием инфузорий. Методы. Окислительный стресс у инфузорий *Paramecium caudatum* моделировали добавлением в среду солей тяжёлых металлов (хлорид кадмия, ацетат свинца, сульфат меди, сульфат цинка) в конечных концентрациях 10 мкМ. За 45 мин до внесения инициатора окислительного стресса в среду с опытными клетками добавляли ГК-2 или ГСБ-106 в концентрациях от 10^{-5} до 10^{-8} М. Результаты. Дипептиды ГК-2 и ГСБ-106 во всех изученных концентрациях защищали клетки от гибели. Максимальный нейропротекторный эффект дипептиды проявляли в концентрации 10^{-8} М, полностью предотвращая гибель инфузорий. Заключение. ГК-2 и ГСБ-106 в концентрации 10^{-8} М полностью защищают от гибели инфузории *Paramecium caudatum* в условиях окислительного стресса, вызванного солями тяжёлых металлов.

Ключевые слова: фактор роста нервов; мозговой нейротрофический фактор; димерные дипептидные миметики; инфузории *Paramecium caudatum*; цитопротекция; окислительный стресс, вызванный солями тяжёлых металлов.

Для цитирования:

Карпущина О.В., Иноземцев А.Н., Гумаргалиева К.З., Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А. Цитопротекторные свойства дипептидных миметиков фактора роста нервов и мозгового нейротрофического фактора, ГК-2 и ГСБ-106, в модели окислительного стресса у инфузорий // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – № 4. – С. 37–41. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10028.

Cytoprotective properties of the nerve growth factor and brain derived neurotrophic factor dipeptidic mimetics, GK-2 and GSB-106, in the model of oxidative stress in paramecium caudatum

Karpukhina O.V.¹, Inozemtsev A.N.¹, Gumargaliev K.Z.², Povarnina P. Yu.³, Gudasheva T.A.³

¹ – Lomonosov Moscow State University, Moscow

² – Semenov Institute of Chemical Physics of Russian Academy of Sciences, Moscow

³ – FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Resume. *Actuality.* Dimeric dipeptide mimics of the nerve growth factor (NGF) and brain derived neurotrophic factor (BDNF), respectively GK-2 and GSB-106, were created in the V.V. Zakusov Institute of pharmacology. The similarity of GK-2 and GSB-106 to the corresponding full-sized neurotrophins by the mechanism of action and pharmacological properties, including pronounced neuroprotective activity *in vitro* and *in vivo*, has been established. *The purpose* of this study was to obtain additional data on the cytoprotective properties of GK-2 and GSB-106 using *Paramecium caudatum*. *Methods.* Oxidative stress in the *Paramecium caudatum* was induced by adding heavy metal salts (cadmium chloride, lead acetate, copper sulfate, zinc sulfate) to the medium at a final concentration of 10 μ M. GK-2 or GSB-106 in concentrations from 10^{-5} to 10^{-8} M was added into the medium with experimental cells 45 minutes before introducing the oxidative stress initiator. *Results.* Dipeptides GK-2 and GSB-106 in all studied concentrations protected cells from death. The maximum neuroprotective effect of the dipeptides showed in a concentration of 10^{-8} M, completely preventing the death of ciliates. *Conclusion.* GK-2 and GSB-106, at a concentration of 10^{-8} M, completely protect against the death *Paramecium caudatum* under conditions of oxidative stress caused by heavy metal salts.

Keywords: nerve growth factor; brain-derived neurotrophic factor; dimeric dipeptide mimetics; *Paramecium caudatum* infusoria; cytoprotection; oxidative stress induced by heavy metal salts

For citations:

Karpukhina OV, Inozemtsev AN, Gumargaliev KZ, Povarnina PYu, Gudasheva TA. Cytoprotective properties of the nerve growth factor and brain derived neurotrophic factor dipeptidic mimetics, GK-2 and GSB-106, in the model of oxidative stress in paramecium caudatum. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;4:37-41. DOI: 10.24411 / 2587-7836-2018-10028.

Введение

Нейродегенерация в головном мозге — ключевое звено патогенеза ряда широко распространённых заболеваний, таких как нарушения мозгового кровообращения, болезни Альцгеймера и Паркинсона, депрессия и др. Инвалидизация вследствие нейродегенеративных процессов представляет собой серьёзную социально-экономическую проблему, поэтому поиск высокоэффективных нейропротекторов является актуальной задачей фармакологии.

Высоким терапевтическим потенциалом обладают эндогенные нейропротекторные белки — нейротрофины, такие как мозговой нейротрофический фактор (brain derived neurotrophic factor, BDNF) и фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF) [1]. Однако клиническое применение нейротрофинов ограничено нестабильностью в биологических жидкостях, плохой способностью проникать через гематоэнцефалический барьер и побочными эффектами, обусловленными плейотропностью [2, 3].

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова на основе бета-изгибов 4 петель NGF и BDNF сконструированы и синтезированы димерные дипептиды, соответственно гексаметилендиамид бис(N-моносукцинил-L-глутамил-L-лизина (ГК-2) и гексаметилендиамид бис(N-моносукцинил-L-серил-L-лизина) (ГСБ-106) [Патент РФ №2410392, 2010; Патент США № 9683014 B2, 2017; Патент Китая №102365294 B, 2016]. Показано, что ГК-2 и ГСБ-106 активируют специфические для полноразмерного белка тирозинкиназные рецепторы, соответственно TrkA и TrkB, и обладают нейропротекторной активностью *in vitro* в микро-наномолярных концентрациях на различных клеточных моделях, в том числе на модели окислительного стресса [46]. Нейропротекторная активность ГК-2 и ГСБ-106 была подтверждена *in vivo* на модели обширного ишемического инсульта, вызванного транзиторной окклюзией средней мозговой артерии у крыс [7–9]. Для ГК-2 было показано, что он лишен основных побочных эффектов, характерных для NGF, а именно он не вызывает гипералгезии и потери веса [6].

Для получения дополнительных данных о цитопротекторных свойствах дипептидов ГК-2 и ГСБ-106 представляло интерес изучить их на модели окислительного стресса у инфузорий [10, 11]. Известно, что окислительный стресс является одним из основных механизмов повреждения нейронов при различных патологиях. Для моделирования окислительного стресса как *in vitro*, так и *in vivo* широко используются соли тяжёлых металлов [11–13] — экзотоксикантов, потенциально опасных для всех живых организмов. Ионы свинца, кадмия, цинка и других тяжёлых металлов способны инициировать генерацию избыточного количества активных форм кислорода [13–15], повышенный уровень которых в клетке способствует запуску цепных реакций окислительной деградации биомолекул.

Одноклеточные, в частности инфузории, представляют собой удобный модельный организм для фармакологических исследований, поскольку в данном случае преимущества, свойственные использованию культуры клеток, дополняются тем, что в данном случае тест-системой является одновременно и отдельная клетка, и целостный организм. Следует отметить, что для инфузорий, как и для других одноклеточных организмов, нет данных в литературе о наличии тирозинкиназных рецепторов, подобных рецепторам нейротрофинов у позвоночных, которые могли бы опосредовать фармакологические эффекты дипептидов ГК-2 и ГСБ-106. Тем не менее, у инфузорий были обнаружены ростовые факторы, регулирующие выживаемость и пролиферацию, подобные нейротрофинам [16, 17], что предполагает наличие подобных рецепторных систем.

Целью данного исследования стало изучение эффективности дипептидных миметиков нейротрофинов ГК-2 и ГСБ-106 в модели окислительного стресса у инфузорий, вызванного солями тяжёлых металлов.

Материалы и методы

Работа выполнена на культуре *Paramecium caudatum* — одном из наиболее часто используемых тест-объектов для лабораторных исследований, направленных на определение прямого действия химических соединений. Культуру клеток парамеций выращивали на среде Лозина–Лозинского с добавлением питательной среды, содержащей дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Клетки, взятые в log-фазе роста, инкубировались при температуре $24 \pm 2^\circ\text{C}$, pH = 6,8–7,0.

Окислительный стресс моделировали [10] добавлением к 1 мл среды с инфузориями *Paramecium caudatum* 1 мл водного раствора одной из солей металлов (хлорид кадмия, ацетат свинца, сульфат меди, сульфат цинка) в конечных концентрациях 1; 5; 10 и 15 мкМ. Длительность инкубирования клеток в среде, содержащей соль тяжёлого металла, составляла 15 мин, 30 мин, 45 мин, 1 час, 2 часа, 6 часов. За 45 мин до внесения инициатора окислительного стресса в среду с опытными клетками добавлялся 1 мл раствора ГК-2 или ГСБ-106 в концентрациях от 10^{-5} до 10^{-8} М. Активные концентрации ГК-2 и ГСБ-106 были выбраны на основании предыдущих экспериментов [4, 5, 18].

На всех этапах эксперимента с помощью pH-метр контроллера Kelilong PH-221 измеряли pH среды. Регистрировали численность клеток, интенсивность их деления; характер и скорость движения инфузории, изменение формы клетки. Численность клеток определяли под микроскопом при увеличении 7×10 с видеорегистрацией путём подсчёта их общего количества в 1 мл культуры.

Полученные результаты представлены как среднее арифметическое $\pm$ стандартная ошибка среднего. После проверки распределения на нормальность значимость различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Под влиянием действия ионов тяжёлых металлов численность клеток заметно снизилась, особенно выраженные последствия отмечались при концентрациях 10–15 мкМ солей тяжёлых металлов (рис. 1). При этом в клетке происходил ряд морфологических изменений, в том числе реорганизация структур цитоскелета, приводящих к клеточной гибели. Наблюдалось набухание органелл цитоплазмы, которое приводило к разрыву

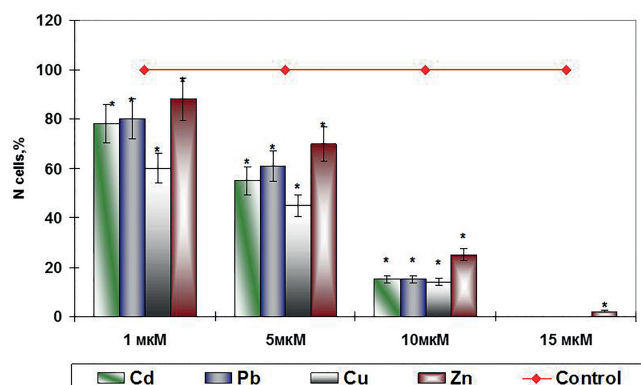


Рис. 1. Влияние солей тяжёлых металлов на выживаемость клеток *Paramecium caudatum* после 6 ч инкубации

Примечания: Соли тяжёлых металлов (хлорид кадмия, ацетат свинца, сульфат меди, сульфат цинка) в конечных концентрациях 1; 5; 10 и 15 мкМ добавляли в среду и инфузориями. Длительность инкубирования составляла 6 часов. На оси абсцисс показаны разные концентрации солей металлов; на оси ординат — число выживших клеток в % от интактного контроля. * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем (t-критерий Стьюдента). **Источник:** Карпущина О.В. и соавт., 2018.

мембраны клетки парамеций. Снижение численности опытных клеток в результате деструктивной мембранной патологии свидетельствовало об интенсификации процессов свободно-радикального окисления, вызванной ионами тяжёлых металлов. После 6 ч инкубации с растворами солей тяжёлых металлов (10 мкМ) количество выживших клеток в культуре *Paramecium caudatum* составило примерно от 15 до 25 % от пассивного контроля (без повреждения) (максимальное количество — в среде с сульфатом меди).

Дипептиды ГК-2 и ГСБ-106 во всех изученных концентрациях защищали клетки от гибели, вызванной действием тяжёлых металлов. Максимальный нейропротекторный эффект дипептиды проявляли в концентрации 10^{-8} М (рис. 2). В этой концентрации исследуемые соединения практически полностью предотвращали гибель инфузорий даже через 6 ч инкубирования с солями тяжёлых металлов (10 мкМ) (см. рис. 2).

Эффективность ГК-2 и ГСБ-106 в данной модели предполагает, что у *Paramecium caudatum* присутствуют рецепторные системы, подобные тирозинкиназным рецепторам нейротрофинов у позвоночных, что соответствует литературным данным о наличии у инфузорий ростовых факторов, регулирующих выживаемость и пролиферацию [16, 17].

Заключение

Таким образом, нами установлено, что дипептидные миметики NGF и BDNF, соответственно ГК-2 и ГСБ-106, в концентрации 10–8 М полностью защищают от

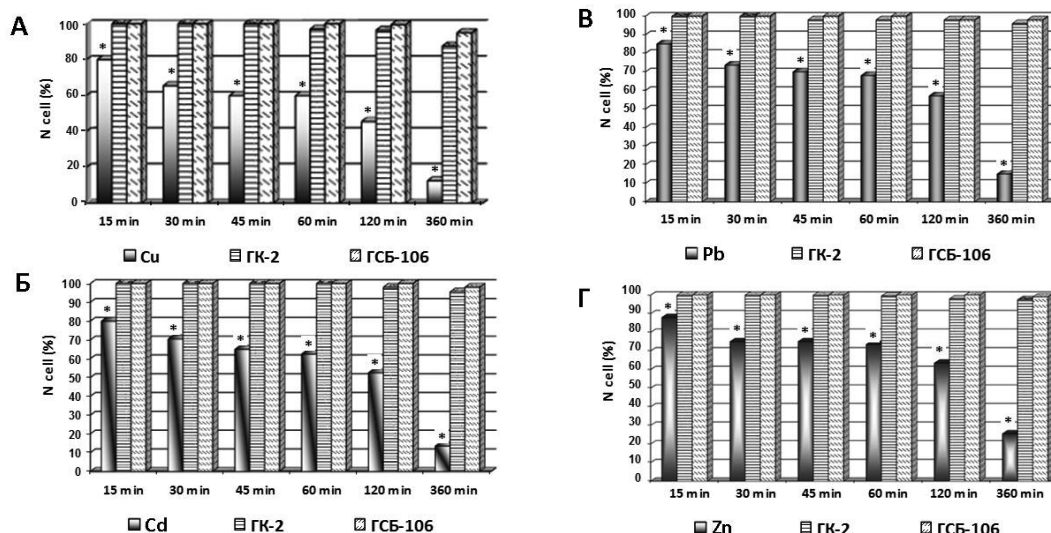


Рис. 2. Влияние димерных дипептидных миметиков NGF и BDNF, соответственно ГК-2 и ГСБ-106 в концентрациях 10^{-8} М на выживаемость клеток при окислительном стрессе, вызванном солями тяжёлых металлов (сульфат меди, хлорид кадмия, ацетат свинца, сульфат цинка) (10 мкМ) через 15, 30, 45, 60, 120 и 360 мин после инкубирования

Примечания: А — окислительный стресс вызывали сульфатом меди; Б — окислительный стресс вызывали хлоридом кадмия; окислительный стресс вызывали ацетатом свинца; Г — окислительный стресс вызывали сульфатом цинка. ГК-2 и ГСБ-106 добавляли в среду за 45 мин до токсина. На оси абсцисс показано время инкубирования с солями тяжёлых металлов; на оси ординат — число выживших клеток в % от интактного контроля. * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем (t-критерий Стьюдента). **Источник:** Карпущина О.В. и соавт., 2018.

гибели клетки *Paramecium caudatum* в условиях окислительного стресса, вызванного солями тяжёлых металлов (хлоридом кадмия, ацетатом свинца, сульфатом меди, сульфатом цинка).

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Работа была выполнена при поддержке РФФИ (проект № 18-015-00228).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов. *Поварнина П.Ю.* — разработка модели, проведение экспериментов, анализ и интерпретация результатов, написание текста; *Карпухина О.В.* — разработка модели, разработка дизайна эксперимента, анализ и интерпретация результатов, написание текста; *Иноземцев А.Н.* — разработка модели, проведение экспериментов, анализ и интерпретация результатов; *Гумаргалиева К.З.* — анализ и интерпретация результатов, написание текста; *Гудашева Т.А.* — разработка дизайна эксперимента, анализ и интерпретация результатов, редактирование, финальное утверждение.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Поварнина Полина Юрьевна
Автор, ответственный за переписку
 e-mail: povarnina@gmail.com
 ORCID: 0000-0003-3278-8915
 SPIN-код: 5498-6724
 к. б. н., с. н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Povarnina Polina
Corresponding author
 e-mail: povarnina@gmail.com
 ORCID: 0000-0003-3278-8915
 SPIN-code: 5498-6724
 PhD, Senior Researcher, Laboratory of Peptide Bioregulators, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Карпухина Ольга Вячеславовна
 ORCID: 0000-0002-9847-8058
 SPIN-код: 6762-7087
 к. б. н., в. н. с. кафедры высшей нервной деятельности Биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва

Karpukhina Olga
 ORCID: 0000-0002-9847-8058
 SPIN-code: 6762-7087
 PhD, Leading Researcher, Department of Higher Nervous Activity, Faculty of Biology of Lomonosov Moscow State University, Moscow

Иноземцев Анатолий Николаевич
 ORCID: 0000-0002-5059-3241
 SPIN-код: 7119-9015
 д. б. н., ведущий научный сотрудник кафедры высшей нервной деятельности Биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва

Inozemtsev Anatoli
 ORCID: 0000-0002-5059-3241
 SPIN-code: 7119-9015
 Grand PhD in Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Higher Nervous Activity, Faculty of Biology of Lomonosov Moscow State University, Moscow

Гумаргалиева Клара Зенноновна
 SPIN-код: 4305-2824
 д. х. н., руководитель лаборатории стабильности и устойчивости органических веществ и материалов отдела динамики химических и биологических процессов, ФГБУН «Институт химической физики имени Н.Н. Семенова» РАН, Москва

Gumargalieva Klara
 SPIN-code: 4305-2824
 PhD, Head of the Laboratory of Stability and Sustainability of Organic Substances and Materials, Department of Chemical and Biological Processes Dynamics, Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow

Гудашева Татьяна Александровна
 ORCID: 0000-0002-5185-4474
 SPIN-код: 4970-0006
 д. б. н., профессор РАН, руководитель лаборатории фармакологической регуляции состояний зависимости ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Gudasheva Tatiana
 ORCID: 0000-0002-5185-4474
 SPIN-code: 4970-0006
 Grand PhD in Biological Sciences, Professor of RAS, Head of the Laboratory of Peptide Bioregulators, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Литература / References

- Allen SJ, Watson JJ, Shoemark DK, et al. GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration. *Pharmacol Ther.* 2013;138(2):155–175. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.01.004
- Aloe L, Rocco ML, Bianchi P, Manni L. Nerve growth factor: from the early discoveries to the potential clinical use. *J Transl Med.* 2012;10(1):239. DOI: 10.1186/1479-5876-10-239
- Dunkel P, Chai CL, Sperl gh B, et al. Clinical utility of neuroprotective agents in neurodegenerative diseases: current status of drug development for Alzheimer's, Parkinson's and Huntington's diseases, and amyotrophic lateral sclerosis. *Expert Opin Investig Drugs.* 2012;21(9):1267–1308. DOI: 10.1517/13543784.2012.703178
- Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Исследование *in vitro* нейропротективных свойств нового оригинального миметика фактора роста нервов ГК-2 // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* — 2010. — Т. 150. — № 11. — С. 537–540. [Antipova TA, Gudasheva TA, Seredenin SB. *In vitro* study of neuroprotective properties of GK-2, a new original nerve growth factor mimetic. *Bulleten experimentalnoy biologii i medicini.* 2011;150(5):607–9. (in Russ).]
- Гудашева Т.А., Тарасюк А.В., Помогайбо СВ и др. Дизайн и синтез дипептидных миметиков мозгового нейротрофического фактора // *Биоорганическая химия.* — 2012. — Т. 38. — № 3. — С. 280–290. [Gudasheva TA, Tarasyuk AV, Pomogaybo SV, et al. Design and synthesis of dipeptide mimetics of brain-derived neurotrophic factor. *Bioorganicheskaya chimiya.* 2012;38(3):280–90. (In Russ).]
- Gudasheva TA, Povarnina PY, Antipova TA, et al. Dimeric dipeptide mimetics of the nerve growth factor Loop 4 and Loop 1 activate TRKA with different patterns of intracellular signal transduction. *J Biomed Sci.* 2015;22(5):106. DOI: 10.1186/s12929-015-0198-z
- Gudasheva TA, Povarnina P, Logvinov IO, et al. Mimetics of brain-derived neurotrophic factor loops 1 and 4 are active in a model of ischemic stroke in rats. *Drug Des Devel Ther.* 2016;10:3545–3553. DOI: 10.2147/DDDT.S118768
- Povarnina P, Gudasheva TA, Seredenin SB. Dimeric dipeptide mimetics of NGF and BDNF are promising agents for post-stroke therapy. *J Biomed Sci Eng.* 2018;11(5):100–107. DOI: 10.4236/jbise.2018.115009
- Середенин С.Б., Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А. Экспериментальная оценка терапевтического окна нейропротективной активности препарата ГК-2, низкомолекулярного миметика фактора роста нервов // *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова.* — 2018. — Т. 118. — № 7. — С. 49–53. DOI: 10.17116/jnevro20181187149
- Seredenin SB, Povarnina PY, Gudasheva TA, et al. An experimental evaluation of the therapeutic window of the neuroprotective activity of a low-molecular nerve growth factor mimetic GK-2. *Zhurnal Nevrol i psikiatrii im SS Korsakova.* 2018;118(7):49. (in Russ).]
- Karpukhina OV, Gumargalieva KZ, Inozemtsev AN. The effect of antioxidant compounds on oxidative stress in unicellular aquatic organisms. In: *On the borders of physics, chemistry, biology, medicine and agriculture. Research and Development. Torun: Institute for Engineering of polymer materials and Dues.* 2014:145–151.
- Morgunov IG, Karpukhina OV, Kamzolova SV, et al. Investigation of the effect of biologically active threo-Ds-isocitric acid on oxidative stress in *Paramecium caudatum*. *Prep Biochem Biotechnol.* 2018;48(1):1–5. DOI: 10.1080/10826068.2017.1381622
- Simmons SO, Fan C-Y, Yeoman K, et al. NRF2 Oxidative Stress Induced by Heavy Metals is Cell Type Dependent. *Curr Chem Genomics.* 2011;5:1–12. DOI: 10.2174/1875397301105010001
- Ercal N, Gurer-Orhan H, Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem.* 2001;1(6):529–539. DOI: 10.2174/1568026013394831
- Flora SJS, Mittal M, Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res.* 2008;128(4):501–523. DOI: 10.1093/jexbot/53.366.1
- Pryor WA. Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes, and reactions. *Annu Rev Physiol.* 1986;48:657–667. DOI: 10.1146/annurev.physiol.48.1.657
- Tanabe H, Nishi N, Takagi Y, et al. Purification and identification of a growth factor produced by *Paramecium tetraurelia*. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;170(2):786–792. DOI: 10.1016/0006-291X(90)92160-2
- Rasmussen MI, Wheatley DN. Purification and characterisation of cell survival factor 1 (TCSF1) from *Tetrahymena thermophila*. *J Cell Commun Signal.* 2007;1(3-4):185–193. DOI: 10.1007/s12079-007-0016-9
- Гудашева Т.А., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Новые низкомолекулярные миметики фактора роста нервов. *Доклады Академии Наук.* 2010;4(1):549–552. [Gudasheva TA, Antipova TA, Seredenin SB. Novel low-molecular-weight mimetics of the nerve growth factor. *Dokl Biochem Biophys.* 2010 Sep-Oct;434:262-5. (In Russ).] DOI: 10.1134/S160767291005011X

Эффекты аскорбата лития у пациентов среднего возраста со стенозирующим атеросклерозом брахиоцефальных артерий

Пепеляев Е.Г.¹, Семенов В.А.², Торшин И.Ю.³, Громова О.А.³

¹ – ФКУЗ «МСЧ МВД России по Кемеровской области»

² – ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России

³ – Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук», Москва

Резюме. Аскорбат лития представляет собой высокоусвояемую и низкотоксичную органическую соль лития. Под наблюдением находились пациенты со стенозирующим атеросклерозом брахиоцефальных артерий ($n = 70$, средний возраст 52 года, 50 % мужчин). В группе А ($n = 30$) участники получали стандартную терапию и аскорбат лития (0,78 мг/сут элементарного лития, 8 нед.), в группе Б ($n = 40$, контроль) – только стандартную терапию. Установлены эффекты курсового применения аскорбата лития на результаты нейропсихологического тестирования (методика А.Р. Лурия, таблица Шульте, шкалы MMSE, BDI, зрительно-пространственный гнозис), уровни BDNF и на уровни микроэлементов в волосах. Аскорбат лития способствовал достоверному улучшению работоспособности, настроения, снижению доли пациентов с 20 % общемозговым стенозом, повышению уровней BDNF и снижению уровней токсических микроэлементов в волосах.

Ключевые слова: церебральный атеросклероз; BDNF; микроэлементы; аскорбат лития

Для цитирования:

Пепеляев Е.Г., Семенов В.А., Торшин И.Ю., Громова О.А. Эффекты аскорбата лития у пациентов среднего возраста со стенозирующим атеросклерозом брахиоцефальных артерий // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – № 4. – С. 42–49. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10029.

Effects of lithium ascorbate in middle-aged patients with stenosing atherosclerosis of brachiocephalic arteries

Pepelyaev E.A.¹, Semenov V.A.², Torshin I.Yu.³, Gromova O.A.³

¹ – Medical-sanitary part of the Ministry of Internal Affairs of Russia for the Kemerovo region, Kemerovo

² – FSBI HPE «KemSMU» MOH Russia

³ – Federal Research Center «Computer Science and Control» of the Russian Academy of Sciences, Moscow

Resume. Lithium ascorbate is a highly digestible and low-toxic lithium salt. In this study patients with stenosing arteriosclerosis of brachiocephalic arteries were under observation ($n = 70$, mean age 52 years, 50 % men). In group A ($n = 30$), participants received standard therapy and lithium ascorbate (0.78 mg/day of elemental lithium, 8 weeks), in group B ($n = 40$, control) – only the standard therapy. Effects of the lithium ascorbate on the results of neuropsychological testing (Luria's technique, Schulte tables, MMSE and BDI scales, visual-spatial gnosis), levels of BDNF and the levels of trace elements in hair have been established. Lithium ascorbate contributed to a significant improvement in work capacity, mood, a decrease in the proportion of patients with 20 % cerebral stenosis, increased levels of BDNF and a decrease in the levels of toxic trace elements in the hair.

Keywords: cerebral atherosclerosis; BDNF; microelements; lithium ascorbate

For citations:

Pepelyaev EA, Semenov VA, Torshin IYu, Gromova OA. Effects of lithium ascorbate in middle-aged patients with stenosing atherosclerosis of brachiocephalic arteries. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;4:42–49. (In Russ). DOI: 10.24411/2588-0519-2018-10029.

Введение

Сосудистые когнитивные нарушения, возникающие на фоне хронической ишемии мозга (ХИМ), формируются в несколько этапов: (1) сердечно-сосудистые заболевания без поражения головного мозга, (2) клинически бессимптомные сосудистые поражения головного мозга, (3) лёгкие когнитивные нарушения, (4) умеренные когнитивные нарушения, (5) сосудистая деменция [1].

Важной задачей современного здравоохранения является замедление прогрессии когнитивных нарушений: в частности, перехода от лёгких когнитивных нарушений к умеренным. Тревожным фактором является то, что до 24 % лиц старше 60 лет уже имеют изменения, которые соответствуют критериям умеренных

когнитивных нарушений [2]. Более того, у 10–15 % пациентов с умеренными нарушениями всего лишь за один год развивается деменция, которая приводит к частичной или полной утрате самостоятельности пациента в социально-бытовой и профессиональной сферах [3]. Возникает вопрос — когда же лёгкие когнитивные нарушения трансформировались в умеренные?

В настоящее время понятие «лёгких» когнитивных нарушений отсутствует в международных классификациях, и учитываются только «умеренные» когнитивные нарушения и деменция. Лёгкие когнитивные нарушения трудно объективизировать, т. к. они не оказывают влияния на социальную, бытовую и профессиональную деятельность пациента. Тем не менее, крайне важно своевременно уловить трансформацию «лёгких» когнитивных нарушений в умеренные как

можно раньше — ведь недиагностированные «лёгкие» нарушения плавно перетекают в «умеренные» и затем в деменцию [4].

Лёгкие когнитивные нарушения не всегда очевидны при использовании стандартных нейропсихологических методов диагностики: зачастую не отмечается достоверных отклонений от среднестатистических нормативов. У пациентов могут наблюдаться отдельные симптомы в виде быстрой утомляемости при обычной умственной деятельности, трудности в сосредоточении на чем-либо, повышенной забывчивости. В то же время пациент, критично воспринимающий снижение своих интеллектуальных способностей по сравнению с исходным уровнем, может предъявлять субъективные жалобы. В таком случае, после оценки эмоционального статуса пациента (прежде всего с целью исключения депрессии) необходимо провести терапию, способствующую улучшению когнитивных функций [5, 6].

Формированию лёгких, а затем и умеренных когнитивных нарушений безусловно способствует атеросклеротическое поражение магистральных артерий головного мозга, в результате которого происходит формирование ХИМ, развиваются стенозирующие и окклюзионные поражения артерий головного мозга [7]. Среди факторов, способных контролировать метаболизм клеток головного мозга при гипоксии, выделяют нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), действие которого осуществляется через LINGFR и TrkB-рецепторы [8]. BDNF способствует выживанию клеток, т.е. нейропластичности и обладает широким рядом функциональных свойств. В период развития BDNF принимает участие в дифференцировке нейронов, синаптогенезе и нейропротекции [9].

Уровни и активность BDNF зависят не только от уровней пептидных факторов и аминокислот [10], но и от обеспеченности пациента такими микронутриентами, как магний [11, 12], омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты [13] и литий [14, 15]. Уровни BDNF поднимаются под воздействием препаратов лития, что ассоциировано с ингибированием гликоген-синтетазы-киназы-3 и инозитолмонофосфатазы-1 [14]. Исследования *in vitro* [16] и *in vivo* [16, 17] показали, что аскорбат лития может проявлять нейропротекторный и адаптогенный эффект. Целью настоящего исследования стало изучение воздействия аскорбата лития в составе витаминно-минерального комплекса (ВМК) «Нормотим» на уровни BDNF и на различные показатели когнитивных функций пациентов среднего возраста со стенозирующим атеросклерозом брахиоцефальных артерий.

Материалы и методы

Выборка пациентов

Подбор пациентов для проведения исследования в рамках данной работы проводился на базе клинического госпиталя ФКУЗ МСЧ МВД России по Кеме-

ровской области. В исследование были включены 70 пациентов (34 женщины, 36 мужчин) в возрасте от 40 до 60 лет с выявленными стенозами брахиоцефальных артерий, которые наблюдались у специалистов клинического госпиталя.

Критерии включения:

- Возраст пациентов: 40-60 лет;
- Информированное согласие;
- Выполнение пациентом плана лечения, запланированных визитов, лабораторных анализов и других процедур;
- Диагностировано стенозирование брахиоцефальных артерий.

Критерии исключения:

- Одновременное участие в других клинических научных исследованиях;
- Другие тяжёлые, острые или хронические заболевания, психические состояния, отклонения от нормы результатов лабораторных исследований, которые могут повысить риск, связанный с участием в исследовании или с введением исследуемого препарата, или могут оказать влияние на интерпретацию результатов исследования и, по мнению исследователя, сделают пациента непригодным для участия в данном исследовании.
- Беременные женщины; женщины, кормящие грудью;
- Диализ;
- Хроническая почечная недостаточность;
- Наличие в анамнезе инсульта мозга или ИБС;
- Наркотическая или алкогольная зависимость;
- Злокачественные новообразования.

Дизайн исследования

При наличии диагностированного стеноза брахиоцефальных артерий пациент давал информированное согласие на проведение исследования. После этого проводилось исходное клинико-лабораторное обследование (общий осмотр, неврологический статус, ОАК, ОАМ, б/х крови, кровь на BDNF, анализ волос на микроэлементный состав, ЭКГ, набор нейропсихологических тестирований). Все пациенты принимали базисную терапию для коррекции стеноза. Выборка пациентов была рандомизирована на 2 группы:

- группа А ($n = 30$) — пациенты со стандартной терапией (сосудистая, ноотропная) + литий-содержащий ВМК «Нормотим» в дозе 1 таблетка 3 раза в сутки в течение 8 недель (в одной таблетке содержится 0,26 мг элементного лития);
- группа Б ($n = 40$) — пациенты со стандартной терапией (сосудистая, ноотропная).

Пациенты обследовались до начала курса терапии. Повторный осмотр пациентов проводился через 2 месяца с момента начала терапии. Клинико-лабораторное обследование пациентов включало следующие процедуры:

- общий осмотр (антропометрия, анамнез жизни, анамнез болезни, принимаемые препараты);
- оценка неврологического статуса (головная боль, память, сон, вестибулопатия, мозжечковая атаксия, лобная атаксия, пирамидный синдром, астения, депрессия, тревожность);
- нейropsychологические тесты (методика Лурия А.Р. «10 слов», методика «таблица Шульте», MMSE, методика зрительно-пространственного гнозиса, шкала депрессии Бека (BDI), опросник качества жизни);
- общий анализ крови и мочи;
- биохимический анализ крови (билирубин, АСТ, АЛТ, креатинин, мочеви́на, липидограмма, сахар, коагулограмма, ионограмма);
- анализ крови на BDNF;
- анализ волос на микроэлементный состав;
- ЭКГ;
- дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий;
- ЭЭГ;
- МРТ головного мозга.

Для исследования уровней BDNF в плазме крови на основе количественного иммуноферментного метода сэндвичевого типа твердофазным иммуноферментным методом (ELISA) использованы наборы для количественного определения мозгового нейротрофического фактора (BDNF) человека в плазме; использовался иммуноферментный фотометр ImmunoGlum-2100 (США). Использованы стандарты — 3 флакона (8 нг/флакон), содержащих рекомбинантный человеческий BDNF в белковом буфере с консервантами, лиофилизированный на 96 проб. Предварительное одностадийное разбавление образцов в соотношении 1:20. Общее время инкубации — 210 мин при 20–25 °С. Минимальное среднее детектируемое количество BDNF — менее 20 пг/мл.

Определение уровней микроэлементов в волосах

Образцы растворялись в высокоочищенной азотной кислоте, после чего отбирались в пластиковые пробирки и разбавлялись в 5 раз бидистиллированной и деионизированной водой. При проведении масс-спектрометрии в качестве внутреннего стандарта в растворы вводили индий в концентрации 25 мкг/л. Калибровочные растворы были приготовлены из стандартных растворов фирмы VTRC с известным содержанием в диапазоне от 5–1000 мкг/л (10–7 %). Полученные растворы анализировались на масс-спектрометре с ионизацией в индуктивно-связанной плазме «Plasma Quad PQ2 Turbo» (VG Elemental, Англия). Рабочая мощность СВЧ-генератора была 1,3 кВт. Расход плазмообразующего газа (аргон) — 14 л/мин, расход транспортирующего газа — 0,89 мл/мин. Проводилось от 3 до 10 экспозиции каждого образца, время интегрирования сигнала составило 60 сек. Данный метод признан наиболее точным и производительным и позволяет с высокой точностью проводить количествен-

ный анализ содержания 68 элементов периодической системы Д.И. Менделеева в различных биосубстратах. Грант РФФИ №19-07-00356.

Методы анализа собранных данных

Для стандартной обработки результатов исследования использовались методы математической статистики, включающие расчёт числовых характеристик случайных величин, проверки статистических гипотез с использованием параметрических и непараметрических критериев, корреляционного и дисперсионного анализа. Сравнение прогнозируемых и наблюдаемых частот встречаемости исследуемых признаков проводилось с помощью критерия χ^2 , Т-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни и тест Стьюдента. Использовалась прикладная программа STATISTICA 10.0 и электронные таблицы Microsoft Excel. Помимо стандартных методов статистики, в ходе анализа данных скрининга были использованы новые математические подходы для установления интервалов информативных значений численных параметров, нахождение метрических сгущений в пространстве параметров биомедицинского исследования и построения метрических карт [18–20].

Результаты

Несмотря на проведение рандомизации пациентов на группы А и Б, на момент начала исследования между группами были отмечены несколько статистически достоверных отличий в значениях ряда параметров (табл. 1). В группе А отмечена достоверно более высокая встречаемость снижения памяти ($P = 0,007951$), работоспособности ($P = 0,000858$), настроения ($P = 0,000324$), общемозговых нарушений ($P = 0,000913$), более высокий балл по шкале депрессии BDI ($P = 0,019032$) и несколько более низкий балл по методике запоминания 10 слов ($P = 0,010354$). Микроэлементный профиль пациентов в группе А характеризовался сниженными уровнями лития и редкоземельных элементов, имеющих важное значение для функционирования мозга [21]. Таким образом, пациенты в группе А на начало исследования отличались несколько более тяжёлым состоянием. Существование перечисленных в таблице 1 различий обусловило применение (1) отдельного анализа динамики для опытной и контрольных групп и (2) разностного подхода к анализу данных рандомизированных исследований (см. далее).

Анализ состояния пациентов в контроле (группа «Б») в динамике лечения позволил установить эффекты стандартной терапии (табл. 2). Установлено достоверное повышение балла зрительно-пространственного гнозиса ($P = 0,00517$) и снижение встречаемости общемозговых нарушений ($P = 0,017549$). Однако сокращение доли пациентов с стенозом 20 % ($P = 9 \cdot 10^{-8}$) происходило за счёт увеличения пропорции пациентов с более выраженным стенозом

Таблица 1

Анализ различий между группами на начало исследования (день 0)

Показатель	Ед. изм.	Группа А		Группа Б		P
		М	m	М	m	
Шкала депрессии (BDI)	балл	10,20588	7,482421	7	5,273894	0,019032
Методика «10 слов»	балл	3,411765	0,499554	3,704545	0,593748	0,010354
Снижение памяти	%	45 %	—	19 %	—	0,007951
Снижение работоспособности	%	48 %	—	14 %	—	0,000858
Снижение настроения	%	41 %	—	7 %	—	0,000324
Общемозговые нарушения	%	65 %	—	29 %	—	0,000913
Li	мкг/кг	0,013695	0,005525	0,016303	0,006142	0,026354
Ga	мкг/кг	0,00189	0,002512	0,003633	0,003837	0,009089
Y	мкг/кг	0,001693	0,002426	0,004327	0,009356	0,039643
Nb	мкг/кг	0,00243	0,003779	0,008102	0,018877	0,029046
Ru	мкг/кг	0,000603	0,001832	0,001823	0,003558	0,026906
Pd	мкг/кг	0,001554	0,002475	0,003034	0,004359	0,031323
Tm	мкг/кг	4,85E-05	0,000275	0,000774	0,002819	0,048343
Hf	мкг/кг	0,000432	0,001749	0,007352	0,02261	0,024643
Примечания: Ед. изм., единицы измерения соответствующего показателя; М, среднее значение показателя; m — стандартное отклонение.						

Таблица 2

Динамика состояния пациентов в группе контроля (группа «Б»)

Показатель	Ед. изм.	День 60		День 0		P
		М	m	М	m	
Зрительно-пространственный гнозис	балл	8,022727	0,762146	7,272727	1,716725	0,00517
Общемозговые нарушения	%	22 %	—	30 %	—	0,017549
Стеноз 20 %	%	25 %	—	78 %	—	$9 \cdot 10^{-8}$
Стеноз 30–50 %	%	69 %	—	23 %	—	$4 \cdot 10^{-6}$
P	мкг/кг	186,4421	39,43312	169,7297	47,98169	0,044725
Ga	мкг/кг	0,001692	0,002277	0,003717	0,003841	0,002326
As	мкг/кг	0,00217	0,003355	0,004042	0,003418	0,007579
Br	мкг/кг	1,228929	2,282414	3,002821	3,162055	0,002316
Ru	мкг/кг	0,000681	0,001816	0,001866	0,003589	0,03061
Rh	мкг/кг	0,000537	0,001472	0,001677	0,002929	0,013913
Pd	мкг/кг	0,001254	0,002542	0,003105	0,004385	0,010661
Sb	мкг/кг	0,231121	0,329658	0,037361	0,15881	0,000876
Bi	мкг/кг	0,001522	0,002732	0,004715	0,011866	0,046587
Th	мкг/кг	0,000551	0,001377	0,001659	0,002586	0,008571

(30–50 %, $P = 4 \cdot 10^{-6}$). В микроэлементном профиле отмечено повышение уровней фосфора ($P = 0,044725$) и сурьмы ($P = 0,000876$) на фоне снижения уровней токсичных элементов – висмута ($P = 0,046587$) и тория ($P = 0,008571$).

Анализ состояния пациентов в группе «А» в динамике лечения показал, что дополнение стандартной терапии аскорбатом лития в составе ВМК «Нормотим» приводило к существенным отличиям в дина-

мике лечения по сравнению с динамикой в контроле (табл. 3). Помимо улучшения зрительно-пространственного гнозиса и снижения встречаемости общемозговых нарушений, приём аскорбата лития был ассоциирован с достоверным повышением работоспособности ($P = 0,000598$), улучшением настроения ($P = 0,007436$), снижением числа пациентов со стенозом 20 % ($P = 0,017883$) без достоверного увеличения числа пациентов с более выраженным стенозом (30–50 %).

Таблица 3

Динамика состояния пациентов в группе принимавших аскорбат лития в составе ВМК «Нормотим» (группа «А»)

Показатель	Ед. изм.	День 60		День 0		P
		М	m	М	m	
Зрительно-пространственный гнозис	Балл	8,029412	1,029424	7,264706	1,162777	0,002757
BDNF	пк/мл	32087,29	5759,559	29335,58	7014,79	0,0484
Снижение работоспособности	%	12 %	—	48 %	—	0,000598
Снижение настроения	%	15 %	—	41 %	—	0,007436
Общемозговые нарушения	%	15 %	—	65 %	—	$4,8 \cdot 10^{-6}$
Стеноз 20%	%	54 %	—	78 %	—	0,017883
Li	мкг/кг	0,017602	0,003557	0,01411	0,005044	0,001066
Mg	мкг/кг	46,99812	10,58348	40,88383	13,78797	0,025195
Ca	мкг/кг	844,2128	241,8128	669,2372	241,6388	0,002625
Sc	мкг/кг	0,003777	0,004908	0,008403	0,00727	0,00201
Ga	мкг/кг	0,000932	0,001646	0,001948	0,002528	0,030217
As	мкг/кг	0,000459	0,001145	0,002093	0,002631	0,001091
Zr	мкг/кг	0,009264	0,026755	0,061229	0,146999	0,026974
Pd	мкг/кг	0,000129	0,000269	0,001601	0,002498	0,000981
Ag	мкг/кг	0,000698	0,003056	0,004813	0,009576	0,012115
Cd	мкг/кг	0,000186	0,000539	0,002061	0,002879	0,000404
Sb	мкг/кг	0,001148	0,002653	0,003145	0,00356	0,006623
Ba	мкг/кг	1,759093	0,962631	2,860206	2,436917	0,010346
Hg	мкг/кг	0,000735	0,001789	0,004654	0,005855	0,000372
Bi	мкг/кг	0,000435	0,001393	0,002422	0,003584	0,002544
Th	мкг/кг	0,000139	0,000453	0,000418	0,000624	0,0232
U	мкг/кг	0,000348	0,00158	0,001756	0,002958	0,010236

Одним из важных результатов исследования эффектов аскорбата лития являлось повышение уровней лития в волосах ($P = 0,001066$), сопровождающееся повышением уровней нейротрофического фактора BDNF в крови ($P = 0,0484$) и рядом изменений микроэлементного профиля. Во-первых, на фоне приёма аскорбата лития происходило повышение уровней магния ($P = 0,025195$) и кальция ($P = 0,002625$). Во-вторых, отмечено снижение уровней токсичных мышьяка ($P = 0,001091$), кадмия ($P = 0,000404$), бария ($P = 0,010346$), ртути ($P = 0,000372$), висмута ($P = 0,002544$), тория ($P = 0,0232$) и урана ($P = 0,010236$).

Разностный анализ данных рандомизированных исследований заключается в сравнении не абсолютных значений исследуемых показателей состояния пациентов, а разностей соответствующих значений в динамике наблюдения. В случае, когда существуют отличия между группами на день «0», разностный анализ позволяет «улавливать» дополнительные эффекты от применения той или иной терапии.

Применение разностного анализа подтвердило описанные выше эффекты приёма аскорбата лития

в составе ВМК Нормотим на состояние пациентов в группе А (табл. 4). В частности, подтверждена достоверность повышения уровней BDNF (на +2180 пк/мл, контроль: +334 пк/мл, $P = 0,02092$) и параллельно уровней лития (+0,002354 мкг/кг, контроль: -0,00091 мкг/кг, $P = 0,041315$). Разностный анализ указал на повышение работоспособности (35 %, контроль: 6,8 %, $P = 0,002461$), настроения (27 %, контроль: 4,5 %, $P = 0,003893$) и позволил подтвердить достоверное снижение числа пациентов с обшемозговыми нарушениями (51 %, контроль: 18 %, $P = 0,001804$) при приёме аскорбата лития.

Кроме того, разностный анализ указал, что приём аскорбата лития повышает уровни иммуномодулирующих микроэлементов рубидия (+0,325531 мкг/кг, контроль — -0,18634 мкг/кг, $P = 0,054222$) и ниобия (0,003113 мкг/кг, контроль — -0,00467 мкг/кг, $P = 0,052262$), а также препятствует снижению уровней редкоземельных элементов в волосах пациентов. Так, в группе «А» уровни лантана ($P = 0,058946$), церия ($P = 0,063196$), европия ($P = 0,062772$), тамария ($P = 0,048343$), иттербия ($P = 0,057781$) и гафния

Таблица 4

Достоверные различия между группами, полученные в результате разностного анализа данных рандомизированного исследования

Показатель	Ед. изм.	Группа А		Группа Б		Р
		М	М	М	М	
BDNF	пК/мл	2180,147	2980,825	334,4091	4840,077	0,02092
Снижение работоспособности	%	–35 %	32 %	–6,8 %	33 %	0,002461
Снижение настроения	%	–27 %	26 %	–4,5 %	27 %	0,003893
Общемозговые нарушения	%	–51 %	50 %	–18 %	39 %	0,001804
Стеноз 20 %	%	–17,6 %	–52 %	–52 %	59 %	0,003765
Стеноз 30–50 %	%	+17,6 %	52 %	+45,5 %	62 %	0,017847
Li	мкг/кг	0,002354	0,006908	–0,00091	0,009467	0,041315
Ca	мкг/кг	120,1697	480,343	–20,9185	355,2097	0,078159
Mn	мкг/кг	0,054808	0,464322	–0,10464	0,304179	0,04421
Rb	мкг/кг	0,325531	1,41217	–0,18634	0,735404	0,054222
Nb	мкг/кг	0,003113	0,024416	–0,00467	0,01426	0,052262
Sb	мкг/кг	–0,00201	0,002927	0,163092	0,370705	0,002534
La	мкг/кг	–0,00067	0,001506	–0,00261	0,007924	0,058946
Ce	мкг/кг	–0,001	0,002204	–0,00281	0,007276	0,063196
Eu	мкг/кг	$-5,4 \cdot 10^{-5}$	0,000252	–0,00331	0,013807	0,062772
Tm	мкг/кг	$-4,8 \cdot 10^{-5}$	0,000275	–0,00077	0,002819	0,048343
Yb	мкг/кг	$-6,4 \cdot 10^{-6}$	$1,6 \cdot 10^{-5}$	–0,00283	0,01168	0,057781
Hf	мкг/кг	–0,00043	0,001749	–0,00735	0,02261	0,024643

Примечания: Группа А – стандартное лечение + приём Нормотима, Группа Б – только стандартное лечение.

($P = 0,024643$) оставались практически без изменений, в то время как в контрольной группе (группа «Б») — падали. Снижение уровней редкоземельных элементов в мозге является одним из перспективных маркёров прогрессии ишемии головного мозга [21].

Заключение

Исследованы эффекты приёма аскорбата лития (0,78 мг/сут элементного лития, 8 нед.) у лиц среднего возраста со стенозирующим атеросклерозом брахиоцефальных артерий (40–60 лет, 50 % мужчин). Важно подчеркнуть, что психиатрические применения лития (прежде всего, в форме карбоната лития) для лечения биполярного расстройства или депрессии [22, 23] осуществляются в дозах, исчисляемых сотнями миллиграмм в расчёте на элементный литий (чему соответствует 2...10 г карбоната лития). Такие дозы могут приводить к проявлению тяжёлых нежелательных эффектов во время терапии (патология почек, тератогенез). В то же время, литий — эссенциальный

микронутриент, т. е. вещество, которое обязательно должно поступать в организм с пищей/водой для поддержки физиологических функций организма. Литий воздействует на активность почти 50 белков протеома человека [14]. Физиологическая потребность организма взрослого человека в литии составляет 300...600 мкг/сут [24–26], в то время как в пищевых продуктах литий встречается в крайне малых количествах.

Таким образом, по сравнению с терапией карбонатом лития, в настоящем исследовании изучены эффекты ультрамалых доз лития в форме аскорбата лития. Дополнение стандартной терапии ультрамалыми дозами аскорбата лития (менее 1 мг/сут в расчёте на элементный литий) показало достоверное улучшение результатов нейropsychологического тестирования, повышение уровней BDNF и улучшение показателей микроэлементного профиля (в частности, снижения уровней токсических микроэлементов). В целом, аскорбат лития способствовал достоверному улучшению работоспособности, настроения, снижению доли пациентов с 20 % общемозговым стенозом.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Пепеляев Евгений Геннадьевич
Автор, ответственный за переписку
 e-mail: nevropep@yandex.ru
 ORCID: 0000-0002-9574-2474
 врач-невролог, ФКУЗ «МСЧ МВД России по Кемеровской области», Кемерово

Семенов Владимир Александрович
 ORCID: 0000-0002-2902-6816
 SPIN-код: 9741-3771
 д. м. н, профессор, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России

Торшин Иван Юрьевич
 ORCID: 0000-0002-2659-7998
 SPIN-код: 1375-1114
 к. х. н., с. н. с., ФИЦ ИУ РАН, Москва;
 с. н. с., МГУ, Москва

Громова Ольга Алексеевна
 ORCID: 0000-0002-7663-710X
 SPIN-код: 6317-9833
 д. м. н, профессор, в. н. с., Институт фармакоинформатики, ФИЦ ИУ РАН, Москва

Pepelyaev Evgenii
Corresponding author
 e-mail: nevropep@yandex.ru
 ORCID: 0000-0002-9574-2474
 neurologist, Medical-sanitary part of the Ministry of Internal Affairs of Russia for the Kemerovo region, Kemerovo

Semenov Vladimir
 ORCID: 0000-0002-2902-6816
 SPIN-code: 9741-3771
 DM, professor, FSBI HPE «KemSMU» MOH Russia

Torshin Ivan
 ORCID: 0000-0002-2659-7998
 SPIN-code: 1375-1114
 Candidate of Chemical Sciences, Senior researcher in of Institute of Pharmacoinformatics at the Department of Intellectual Systems FRC CSC RAS, Moscow; Senior Research Officer MSU, Moscow

Gromova Olga
 ORCID: 0000-0002-7663-710X
 SPIN-code: 6317-9833
 DM, professor, Institute of pharmacoinformatics FRC CSC RAS, Moscow

Литература / References

1. Яхно Н.Н., Захаров В.В., Лошкина А.Б. и др. *Деменции: руководство для врачей*. — М.: МЕД-пресс-информ, 2010. 272с. [Yakhno NN, Zakharov VV, Loshkina AB, et al. *Dementias: the management for doctors*. Moscow: HONEY - a press inform, 2010. (In Russ).]
2. Старчина Ю.А., Парфенов В.А. Когнитивные расстройства при цереброваскулярных заболеваниях: диагноз и лечение // *РМЖ. Неврология*. — 2008. — Т.16. — №12. — С.1–3. [Starchina YuA, Parfyonov WA. Cognitive frustration at tserebrovaskulyarny diseases: diagnosis and treatment. *RMJ. Neurology*. 2008;16(12):1–3. (In Russ).]
3. Petersen RS, Smith GE, Waring SC, et al. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch. Neurol.* 1999;56:303–308.
4. Парфенов В.А., Захаров В.В., Преображенская И.С. *Когнитивные расстройства*. — М.: Группа Ремедиум, 2014. 192с. [Parfyonov WA, Zakharov VV, Preobrazhenskii IS. *Cognitive frustration*. Moscow: Group Remedium, 2014. 192 pages. (In Russ).]
5. Захаров В.В. Всероссийская программа исследований эпидемиологии и терапии когнитивных расстройств в пожилом возрасте («Прометей») // *Неврологический журнал* — 2006. — Т.11. — №1. — С.27–32. [Zakharov VV. The All-Russian program of researches of epidemiology and therapy of cognitive frustration at advanced age ("Prometheus"). *Neurologic magazine*. 2006;11(1): 27–32. (In Russ).]
6. Субботин А.В., Семенов В.А., Гетманенко И.М., и др. Диагностика когнитивных нарушений на ранних стадиях сосудистых заболеваний головного мозга // *Клиническая неврология*. — 2009. — №4. — С.25–227. [Subbotin AV, Semenov WA, Getmanenko YM, et al. Diagnostics of cognitive violations at early stages of vascular diseases of a brain. *Clinical neurology*. 2009; 4: 25–227. (In Russ).]
7. Гусев Е.И., Боголепова А.Н. *Когнитивные нарушения при цереброваскулярных заболеваниях*. — М.: МЕДпресс-информ, 2013. 160 с. [Gusev EI, Bogolepova AN. *Cognitive violations at tserebrovaskulyarny diseases*. Moscow. Medical press-inform, 2013. (In Russ).]
8. Leibrock J, Lottspeich F, Hohn A, et al. Molecular cloning and expression of brain-derived neurotrophic factor. *Nature*. 1989;34(1):149–152.

9. Castren E, V ikar V, Rantam ki T. Role of neurotrophic factors in depression. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2007;7(1):18–21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2006.08.009>
10. Серкина Е.В., Громова О.А., Торшин И.Ю., и др. Церебролизин облегчает состояние больных с перинатальными поражениями ЦНС через модуляцию аутоиммунитета и антиоксидантную защиту // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. — 2008. — Т.108. — №11. — С.62–66. [Serkina EV, Gromova OA, Torshin Yu, et al. Cerebrolysin alleviates perinatal CNS disorders through the autoimmune modulation and antioxidant protection. *Journal of neurology and psychiatry S.S. Korsakov*. 2008;108(11):62–66. (In Russ).]
11. Громова О.А., Торшин И.Ю., Калачева А.Г., Курамшина Д.Б. Молекулярно-биологические основы нейропротекторных эффектов магния // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. — 2011. — Т.111. — №12. — С.90–101. [Gromova OA, Torshin Yu, Kalacheva AG, Kuramshina DB. Molecular-biological basics of neuroprotection effects of magnesium. *Journal of neurology and psychiatry S.S. Korsakov*. 2011;111(12):90–101. (In Russ).]
12. Громова О.А., Калачева А.Г., Торшин И.Ю., и др. Диагностика дефицита магния. Концентрации магния в биосубстратах в норме и при различной патологии // *Кардиология*. — 2014. — №10. — С.63–71. [Gromova OA, Kalacheva AG, Torshin IYu, et al. Diagnosis of magnesium deficiency. The concentration of magnesium in biological substrates took place in norm and at various pathologies. *Cardiology*. 2014;10:63–71. (In Russ).] DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/cardio.2014.10.63-71>
13. Громова О.А., Торшин И.Ю., Егорова Е.Ю. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты и когнитивное развитие детей // *Вопросы современной педиатрии*. — 2011. — Т.10. — №1. — С.66–72. [Gromova OA, Torshin IYu, Yegorova YeYu. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cognitive development of children. *Current pediatrics*. 2011;10(1):66–72. (In Russ).]
14. Торшин И.Ю., Громова О.А., Майорова Л.А., Волков А.Ю. О целевых белках, участвующих в осуществлении нейропротекторных эффектов цитрата лития // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. — 2017. — №9. — №1. — С.78–83. [Torshin IYu, Gromova OA, Mayorova LA, Volkov AY. Targeted proteins involved in the neuroprotective effects

of lithium citrate. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2017; 9(1):78–83. (In Russ).] DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/2074-2711-2017-1-78-83>

15. Торшин И.Ю., Громова О.А., Ковражкина Е.А., и др. Интеллектуальный анализ данных о взаимосвязях между микроэлементным составом крови и состоянием пациентов с боковым амиотрофическим склерозом указал на сниженные уровни лития и селена // *Consilium Medicum*. — 2017. — Т.19. — №9 — С.88–96. [Torshin IYu, Gromova OA, Kovrazhkina EA, et al. Data mining of the interactions between the trace element composition of the blood and the state of the patients with the lateral amyotrophic sclerosis shown lowered levels of lithium and selenium. *Consilium Medicum*. 2017;19(9):88–96. (In Russ).] DOI: 10.26442/2075-1753_19.9.88-96

16. Остренко К.С., Громова О.А., Пронин А.В., и др. Нейропротекторный и адаптогенный эффекты аскорбата лития: исследования на *in vivo* моделях и *in vitro* // *Проблемы биологии продуктивных животных*. — 2017. — №3. — С.37–47. [Ostrenko KS, Gromova OA, Pronin VA, et al. Neuroprotective and adaptogenic effects of lithium ascorbate: studies on *in vivo* models and *in vitro*. *Problems of biology of productive animals*. 2017;3: 37–47. (In Russ).]

17. Остренко К.В., Громова О.А., Сардарян И.С., и др. Эффективность аскорбата лития на модели хронической алкогольной интоксикации // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. — 2017. — №1. — С.11–21. [Ostrenko KV, Gromova OA, Sardaryan IS, et al. The effectiveness of lithium ascorbate on chronic alcohol intoxication model. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2017;1:11–21. (In Russ).]

18. Лиманова О.А., Торшин И.Ю., Сардарян И.С., и др. Обеспеченность микронутриентами и женское здоровье: интеллектуальный анализ клинико-эпидемиологических данных // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. — 2014. — Т.13. — №2. — С.5–15. [Limanova OA, Torshin IYu, Sardaryan IS, et al. Micronutrient security and women's health: intellectual analysis of clinical and epidemiological data. *Questions of gynecology, obstetrics and perinatology*. 2014;13(2):5–15. (In Russ).]

19. Торшин И.Ю., Лиманова О.А., Сардарян И.С., и др. Обеспеченность витамином D детей и подростков 7–14 лет и взаимосвязь дефицита витамина D с нарушениями здоровья детей: анализ крупномасштабной выборки пациентов посредством интеллектуального анализа данных // *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. — 2015. — Т.94. — №2. — С.175–184. [Torshin IYu, Limanova OA, Sardaryan IS, et al. Provision of vitamin D in children and adolescents aged 7 to 14 years and the relationship of deficiency of vitamin D with violations of children's health: the analysis of a large-scale sample of patients by means of data mining. *Pediatrics. Magazine them. G.N. Speransky*. 2015;94(2):175–184. (In Russ).]

20. Громова О.А., Лиманова О.А., Гоголева И.В., и др. Анализ взаимосвязи между обеспеченностью магнием и риском соматических заболеваний у россиянок 18–45 лет методами интеллектуального анализа данных // *Эффективная фармакотерапия*. — 2014. — №2. — С.10–23. [Gromova OA, Limanova IV, Gogoleva TR, et al. Yudina] Interrelation between magnesium status and risk of somatic diseases in women aged 18–45 years old in Russia: the method of database mining. *Effective pharmacotherapy*. 2014;2:10–23. (In Russ).]

21. Зангиева З.К., Гусев Е.И., Громова О.А., и др. Сравнительный анализ микроэлементных профилей 10 отделов головного мозга при ишемическом инсульте и без ишемических повреждений // *Земский врач*. — 2013. — Т.4. — С.21–30. [Zangieva ZK, Gusev EI, Gromova OA, et al. Comparative analysis of the trace element profiles of the 10 brain regions in ischemic stroke and without the ischemic injury. *Country doctor*. 2013;4: 21–30. (In Russ).]

22. Goodwin FK. Rationale for using lithium in combination with other mood stabilizers in the management of bipolar disorder. *J. Clin. Psychiatry*. 2003;64(Suppl 5):18–24.

23. Lin D, Mok H, Yatham LN. Polytherapy in bipolar disorder. *CNS. Drugs*. 2006;20:29–42.

24. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека, — М.: Медицина: 1991. [Avtsyin AP, Zhavoronkov AA, Rish MA, Strochkova LS. The microelementoses person. Moscow: Medicine: 1991. (In Russ).]

25. Зангиева З.К., Торшин И.Ю., Громова О.А. Содержание микроэлементов в нервной ткани и ишемический инсульт // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. — 2013. — Т.3. — С.30–36. [Zangieva ZK, Torshin IYu, Gromova OA, Nikonov AA. Trace elements in the nervous tissue and ischemic stroke. *Journal of neurology and psychiatry. S.S. Korsakov*. 2013;3:30–36. (In Russ).]

26. Гоголева И.В. Влияние органических солей лития, магния, селена на элементный гомеостаз головного мозга на фоне экспериментальной хронической двусторонней окклюзии общих сонных артерий. Автореф. Дис... канд. мед. наук. — Москва; 2009, [Gogoleva IV. Influence of organic salts of lithium, magnesium, selenium on the elemental homeostasis of the brain against the background of experimental chronic bilateral occlusion of common carotid arteries. Abstract of diss... candidate of medical sciences. [dissertation] Moscow; 2009. (In Russ).] URL: <http://www.dissercat.com/content/vliyanie-organicheskikh-solei-litiya-magniya-selena-na-elementnyi-gomeostaz-golovnogo-mozga-> (дата обращения 28.11.2018)

Исследование фармакокинетики противотуберкулёзного препарата Биомайрин

Шомуротов Ш.А., Султанова Э.М., Салахутдинова М.К., Ишимов У.Ж.,
Зиявитдинов Ж.Ф., Вешкурова О.Н., Тураев А.С.

Институт Биоорганической химии АН РУз, Узбекистан, Ташкент

Резюме. Представлены результаты изучения фармакокинетики противотуберкулёзного препарата Биомайрин у экспериментальных животных (крысы) после перорального введения. Сравнительный анализ фармакокинетических параметров Биомайрина с препаратом сравнения (смесь рифампицина, этамбутола и изониазида) показал, что в составе Биомайрина период полувыведения изониазида больше в четыре раза, этамбутола и рифампицина — в три раза, чем у препарата сравнения, тем самым проявляется пролонгированный эффект. Следует также отметить, что введение изониазида в полисахаридную матрицу замедляет его метаболизм в терапевтически неактивный ацетилизониазид.

Ключевые слова: Биомайрин; изониазид; этамбутол; рифампицин; ацетилизониазид

Для цитирования:

Шомуротов Ш.А., Султанова Э.М., Салахутдинова М.К., Ишимов У.Ж., Зиявитдинов Ж.Ф., Вешкурова О.Н., Тураев А.С. Исследование фармакокинетики противотуберкулёзного препарата Биомайрин // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – № 4. – С. 50–55.
DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10030.

Study of the pharmacokinetics of antituberculosis drug Biomairin

Shomurotov Sh.A., Sultanova E.M., Salakhutdinova M.K., Ishimov U.J., Ziyavitdinov J.F., Veshkurova O.N., Turaev A.S.
Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of Uzbekistan, Uzbekistan, Tashkent

Resume. The results of a studying the pharmacokinetics of the anti-tuberculosis drug Biomayrin in experimental animals (rats) after oral administration were presented. A comparative analysis of the pharmacokinetic parameters of Biomayrin with a comparing drug (a mixture of rifampicin, ethambutol and isoniazid) showed that the bioavailability of isoniazid increased four times as a part of Biomayrin, the ethambutol and rifampicin three times compared to the comparing drug, thereby showing a prolonged effect. It should also be noted that the introduction of isoniazid into the polysaccharide matrix retards its metabolism to the therapeutically inactive acetylisoniazid.

Keywords: Biomayrin; isoniazid; ethambutol; rifampicin; acetylisoniazid

For citations:

Shomurotov ShA, Sultanova EM, Salakhutdinova MK, Ishimov UJ, Ziyavitdinov JF, Veshkurova ON, Turaev AS. Study of the pharmacokinetics of antituberculosis drug Biomairin. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;4: 50–55. DOI: 10.24411 / 2587-7836-2018-10030.

Введение

Туберкулез лёгких в настоящее время остаётся одной из главных проблем здравоохранения во всем мире, от него ежегодно умирают около трёх миллионов человек [1, 2]. В комплексной терапии туберкулёза наиболее часто используют такие препараты, как изониазид, этамбутол и рифампицин. Они обладают хорошей эффективностью, но оказывают значительное токсическое воздействие на организм. Сложившаяся ситуация вынуждает искать новые подходы к лечению туберкулёза.

Для снижения токсичности лекарственных средств ведётся разработка низкодозных лекарственных препаратов, основанных на использовании метода молекулярного конструирования с природными полимерами [3, 4], каковыми являются полисахариды и их производные, такие как полигалактуроновая кислота. В отличие от синтетических полимеров они не проявляют побочных токсических эффектов. Созданные таким путём лекарственные композиции имеют существенно

меньшую терапевтическую дозу активно действующей субстанции и, следовательно, они менее токсичны. Полимерные терапевтические системы позволяют дозировать поступление лекарственного вещества, пролонгировать его действие, предохраняя лекарственное вещество от преждевременного разрушения, а также в значительной степени избегать побочного эффекта (высокой токсичности) [5, 6].

Целью исследования является изучение фармакокинетики противотуберкулёзного препарата Биомайрин, полученного путём химического связывания противотуберкулёзных препаратов изониазида, этамбутола и рифампицина посредством химической связи.

Химическую структуру Биомайрина можно представить как комплексы полигалактуроновой кислоты с гидрозона-4-пиридинкарбоновой кислотой и [S-(R*, R*)]-2,2'-(1,2-этандиилдимино)бис(1-бутанола) и полигалактуроновой кислоты с 3-[[4-метил-1-пиперазинил]имино]метил] рифампицином:

Биомайрин

Материалы и методы исследования

Изучение фармакокинетики препарата Биомайрин проводили на беспородных белых крысах самцах массой тела 180–200 г. Контрольная группа – 3 особи. На каждую временную точку по 5 крыс. 3 крысы были посажены в метаболические камеры для отбора образцов мочи.

Капсулу Биомайрина вскрывали и содержимое капсулы (600 мг) растворяли в 200 мл дистиллированной воды, перемешивали. Испытуемый препарат опытным животным вводили перорально однократно по 1 мл специальным зондом в дозе 15 мг/кг или 3 мг на крысу. Итого этамбутола 450 мкг на одну крысу, изониазида 450 мкг, рифампицина 510 мкг.

Для сравнения была составлена механическая смесь из трёх препаратов рифампицина, этамбутола и изониазида (препарат сравнения) без полимера с таким же количественным составом. Препарат сравнения 282 мг

растворяли в 200 мл дистиллированной воды и вводили опытным животным перорально однократно по 1 мл специальным зондом, в дозе 7,05 мг/кг или 1,41 мг на крысу. Итого этамбутола 450 мкг на одну крысу, изониазида 450 мкг, рифампицина 510 мкг.

Через 30 минут, 1, 2, 3, 5, 24, 48, 54, 72, 96 часов после введения препарата животных декапитировали под эфирным наркозом, отбирали кровь и органы (легкие, почки и печень). Мочу собирали через 6, 24, 30, 48, 72, 96, 120 часов, 6 и 7 дней после введения препарата. Органы взвешивали (табл. 1) и лиофильно высушивали. Высушенные органы тщательно измельчали, делили пополам на 2 равные части.

Кровь выдерживали в течение часа при комнатной температуре и центрифугировали 20 мин при 3000 об/мин. Отбирали супернатант. Мочу собирали, измеряли объем (табл. 2).

Этамбутол и изониазид экстрагировали из органов водой 1:2 из печени и 1:3 из лёгких и почек (m/v). В экстрактах осаждали белки 0,3 М трихлоруксусной

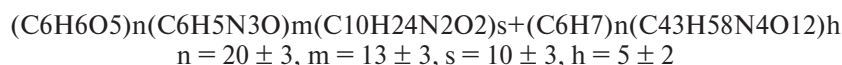
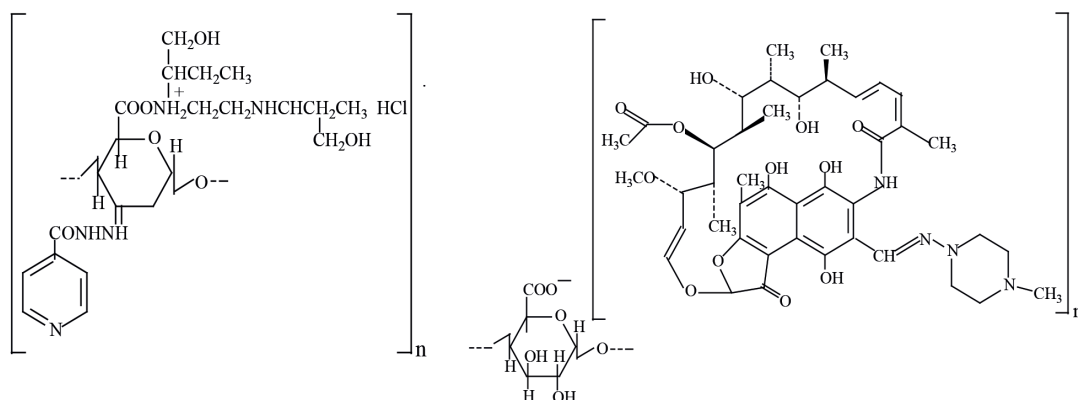


Таблица 1

Вес органов крыс (г)

Биомайрин										
Органы	Временные точки (час)									
	0,5	1	2	3	5	24	48	54	72	96
Печень	4,44±0,2	4,15±0,3	4,36±0,4	4,31±0,4	4,55±0,5	4,01±0,2	3,89±0,6	4,39±0,3	4,06±0,4	4,43±0,2
Почки	1,03±0,1	0,99±0,3	1,12±0,3	1,26±0,7	1,09±0,2	1,29±0,3	1,04±0,1	1,13±0,4	0,98±0,5	1,06±0,3
Лёгкие	0,97±0,4	1,03±0,3	1,18±0,1	0,89±0,5	1,22±0,3	1,30±0,4	1,12±0,2	0,96±0,5	1,05±0,2	1,27±0,4
Препарат сравнения										
Органы	Временные точки (час)									
	0,5	1	2	3	5	24	48	54	72	96
Печень	5,7±0,11	4,1±0,33	5,5±0,42	5,9±0,24	4,8±0,64	5,01±0,43	3,8±0,58	4,5±0,47		
Почки	0,65±0,2	0,94±0,12	0,82±0,31	0,58±0,36	0,73±0,27	0,92±0,16	0,59±0,35	0,74±0,29		
Лёгкие	1,03±0,2	1,01±0,32	0,92±0,18	1,2±0,14	0,99±0,42	0,89±0,26	0,88±0,40	1,09±0,25		

Таблица 2

Количество отобранной мочи (мл)

№	Временные точки (час)								
	6	24	30	48	72	96	120	6 дн.	7 дн.
Биомайрин									
1	12	8,3	4	6,4	2,3	3,5	11	3,9	3
2	8	11,25	5	4,5	4,5	4,6	8,5	4	5
3	9,2	15,3	3,5	7,5	3,2	2,8	6,4	2,5	6
Препарат сравнения									
1	6,8	18,3	9	12	6	5,4	—	—	—
2	3,5	20	10,5	8,2	7,2	2,8	—	—	—
3	5,1	11,5	7	6	4	1,5	—	—	—

кислотой (1:1 по v/v). Экстракты центрифугировали 20 мин при 3000 об./мин. Кровь отбирали по 1 мл и осаждали белки 0,3 М трихлоруксусной кислотой (1:1 по v/v), центрифугировали 20 мин при 3000 об./мин.

Из второй половины высушенных органов экстрагировали рифампицин смесью хлороформ:этанол (4:1) в соотношении 1:5 (m/v). Такой же смесью хлороформ:этанол (4:1 v/v) экстрагировали рифампицин из 1 мл крови и мочи опытных животных в соотношении 1:5 (m/v). Центрифугировали в течение 20 мин при 3000 об./мин, отбирали супернатант и упаривали в токе воздуха.

Для определения количественного содержания рифампицина и изониазида образцы анализировали методом ВЭЖХ. Условия ВЭЖХ: хроматограф Agilent Technologies 1200 с DAD детектором и автоматическим пробоотборником. Колонка: 4,6 × 150 мм EclipseXDBC 18,5 μm. Подвижная фаза: А: 0,05М CH₃COONa*3H₂O pH = 6, В: CH₃CN. Скорость потока — 1 мл/мин. Градиент %, в мин: 0 % — 0–4 мин; 60 % — 7 мин; 60 % — 12 мин; 0 % — 15 мин. Поглощение при 266 нм. Продолжительность анализа — 15 мин.

Этамбутол в образцах сыворотки крови, мочи и органах определяли спектрофотометрическим методом [7]. Определение основано на взаимодействии этамбутола с роданидом ртути в кислой среде с образованием окрашенного в красно-оранжевый цвет продукта реакции. Измерение оптической плотности проводили при длине волны 457 нм. Готовили растворы железоммонийных квасцов и роданистой ртути. 30,5 г железоммонийных квасцов вносили в коническую колбу, добавляли 50 мл дистиллированной воды и 155 мл концентрированной азотной кислоты. Раствор фильтровали через воронку в мерную колбу вместимостью 250 мл, и доводили водой до 250 мл. Раствор хранят в холодильнике в течение месяца. Ртуть роданистую (0,3 % спиртовой раствор) в количестве 0,30 г растворяли в 99,7 мл 95 % этилового спирта. Спустя сутки раствор пропускали через фильтр «белая лента» в мерную колбу вместимостью 100 мл. Раствор устойчив в

течение двух недель. Хранят в холодильнике. 154 мкл исследуемого раствора смешивали с 38 мкл раствора железоммонийных квасцов, перемешивали и оставляли на 5 минут. Затем вносили 8 мкл раствора роданистой ртути и через 10 минут измеряли оптическую плотность при длине волны 457 нм.

Результаты и обсуждение

После однократного перорального введения препарата сравнения в дозе 7,5 мг/кг белым крысам препарат изониазид быстро всасывается, достигая максимальной концентрации ($5,18 \pm 0,54$) в крови через 1 час, а в лёгких через 3 часа, и сохраняется в бактериостатических пределах в течение 12 часов (рис. 1). Терапевтическая доза изониазида составляет 1,5 мкг/мл

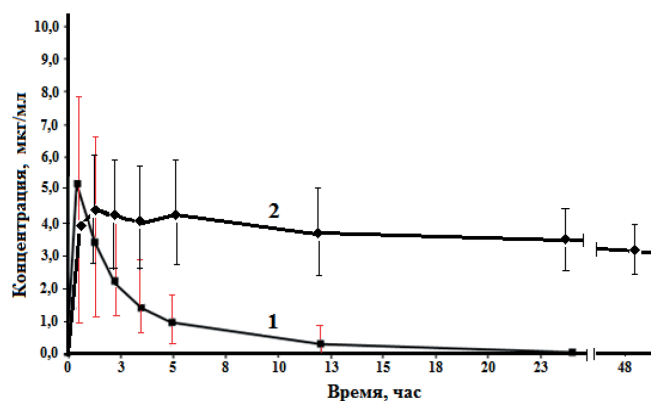


Рис. 1. Динамика концентрации изониазида в сыворотке крови после перорального введения препарата сравнения (1) и Биомайрина (2)

через 3 часа после перорального введения препарата сравнения. Бактериостатическая активность изониазида составляет 0,03 мкг/мл. Препарат проникает во все физиологические жидкости — спинномозговую жидкость, плевральную, асцитическую, молоко у кормящих матерей, притом уровень его концентрации в этих жидкостях похож на его уровень в плазме [8].

При однократном пероральном введении Биомайрина в дозе 15 мг/кг изониазид проявляется в крови крыс уже через 60 минут в концентрации ($4,68 \pm 0,57$ мкг/мл), и далее концентрация изониазида сохраняется в интервале 3,0–6,0 мкг/мл в течение 48 часов. Затем идёт плавное снижение концентрации препарата в крови до 72 часов после введения (см. рис. 1).

Аналогичное изменение концентрации изониазида наблюдалось в печени, где максимальная концентрация (38,3 мкг/на орган) проявилась через 2 часа. Исследования показали, что кинетика выведения изониазида носит двухфазный характер, происходит связывание его с рецепторами в печени и почках, а затем обратное поступление в кровь.

Максимальная концентрация изониазида в лёгких ($17,96 \pm 2,05$ на орган) наблюдается уже через 30 минут

после введения Биомайрина, и сохраняется в интервале 6,0–9,0 мкг/мл в течение 54 часов.

Изониазид выделяется преимущественно почками. Несвязанный изониазид фильтруется в клубочках, а связанный с белками сыворотки крови выделяется в канальцах. После однократной терапевтической дозы изониазида в моче определяется через 72 ч.

Как было сказано, изониазид главным образом метаболизируется в печени до ацетилизониазида с помощью ариламин N-ацетилтрансферазы второго типа (NAT2). Ацетилизониазид не проявляет противотуберкулёзную активность. Ацетилизониазид в дальнейшем гидролизуется до изоникотиновой кислоты и ацетилгидразина, оба экскретируются с мочой.

Ацетилизониазид бактериостатически не активен. Изониазид, вступивший в связь с белками крови, также утрачивает бактериостатическую активность. При гидролизе образуется гидразин, который в последующем окисляется до аммиака. Последний является причиной токсического действия изониазида. С мочой в неизменном виде ежедневно выделяется от 10 до 50 % принятой дозы, остальная часть препарата биотрансформируется и выделяется с мочой в виде метаболитов.

Далее были проведены исследования судьбы изониазида в организме после введения препарата сравнения и Биомайрина. На рис. 2 приведена динамика количественного содержания ацетилизониазида в сыворотке крови через определённые промежутки времени после перорального введения препарата сравнения и Биомайрина.

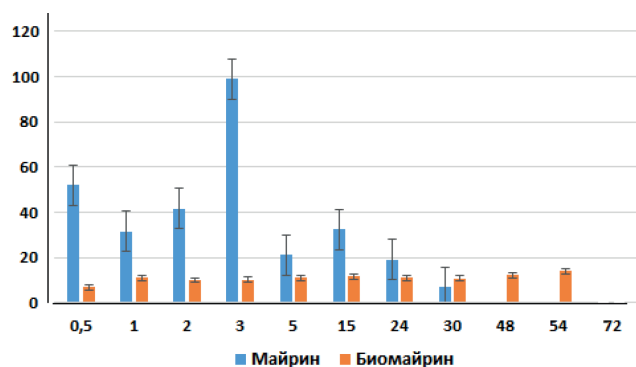


Рис. 2. Динамика концентрации ацетилизониазида в сыворотке крови после перорального введения препарата сравнения (1) и Биомайрина (2)

Как видно из рисунка, при введении Биомайрина концентрация ацетилизониазида становится меньше по сравнению с концентрацией ацетилизониазида, образованного при введении препарата сравнения. Вероятно, это связано тем, что при всасывании через энцефалитический барьер некоторая часть Биомайрина переходит в виде полимерного комплекса, где первичная аминогруппа изониазида блокирована (химически связана) с молекулой полигалактуроновой кислоты, что препятствует образованию ацетилизониазида.

После однократного перорального введения препарата сравнения в дозе в 7,5 мг/кг этамбутол быстро всасывается, и через 2 часа достигается максимальная концентрация в сыворотке до 6 мкг/мл, через 24 часа её концентрация снижается и составляет менее чем 1 мкг/мл. В организме 20–30 % этамбутаола связывается с белками плазмы. Следует отметить, что особенностью фармакокинетики этамбутаола является то, что он избирательно накапливается в эритроцитах (в 2 раза выше, чем концентрация в плазме крови).

ЭБ метаболизируется в печени до производных дикарбоксимовой кислоты. Хорошо проникает в различные органы и биологические жидкости. Наибольшая концентрация наблюдается в почках, лёгких, слюне и моче. Период полувыведения составляет 3–4 часа, а при почечной недостаточности удлиняется до 8 часов. В течение 24 часов более 50 % дозы лекарства выделяется с мочой в неизменном виде, а 8–15 % в виде неактивных метаболитов. Около 20–22 % начальной дозы препарата выделяется с калом в неизменном виде.

При введении Биомайрина максимальная концентрация этамбутаола (5,93 мкг/мл) в крови наблюдается через 3 часа после введения. В дальнейшем уровень этамбутаола в крови плавно снижается к 72 часам (рис. 3).

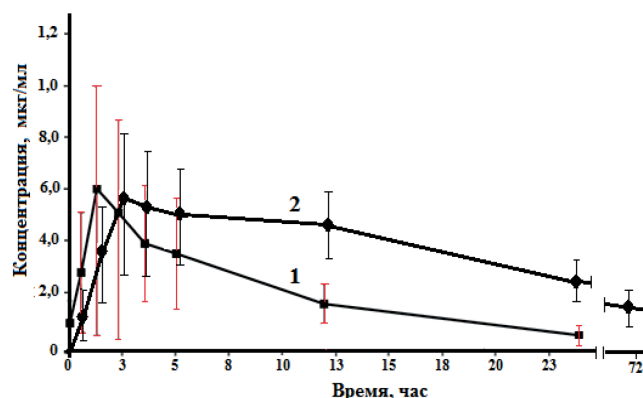


Рис. 3. Динамика концентрации этамбутаола в сыворотке крови после перорального введения препарата сравнения (1) и Биомайрина (2)

Относительно высокий уровень этамбутаола в печени через 2 часа после введения препарата коррелирует с максимальным уровнем этамбутаола в крови. В лёгких максимум концентрации этамбутаола достигает через 3 часа после введения препарата. Этамбутол выводится с мочой (50 %) в течение 78 часов.

При однократном пероральном введении препарата сравнения быстро и полно всасывается в желудочно-кишечном тракте. Максимальная концентрация рифампицина (6,3 мкг/мл) в плазме крови достигается через 2–2,5 часа после приёма внутрь (рис. 4).

Рифампицин обнаруживается в терапевтических концентрациях в плевральном экссудате, мокроте, содержимом каверн, костной ткани; наибольшая концентрация создается в печени и почках. Связывание с

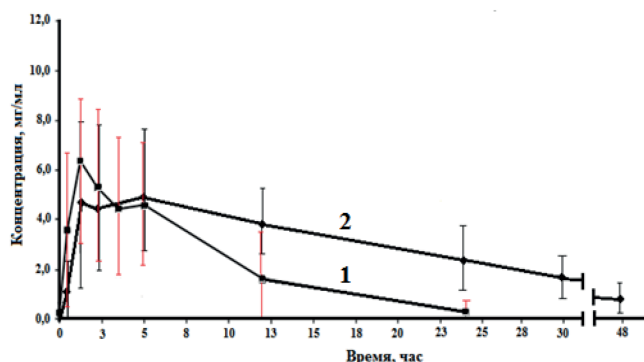


Рис. 4. Динамика концентрации рифампицина в сыворотке крови после перорального введения препарата сравнения (1) и Биомайрина (2)

белками плазмы крови составляет 80–90 %. Рифампицин проникает через гематоэнцефалический барьер, плаценту, обнаруживается в грудном молоке. Биотрансформируется в печени. Период полувыведения — 2–5 часов. На терапевтическом уровне концентрация препарата поддерживается в течение 8–12 часов после приёма, в отношении высокочувствительных возбудителей в течение 24 ч. Выводится из организма с желчью, калом и мочой.

Максимальная концентрация рифампицина (5,04 мг) в крови, после однократного перорального введения Биомайрина, наблюдается через 5 часов и снижается к 48 часам (см. рис. 4).

Уровень рифампицина в крови и органах довольно низкий, что, по-видимому, связано с его быстрым метаболизмом.

На основе полученных данных по количеству изониазида, этамбутола и рифампицина в сыворотке крови

крыс проведены расчёты фармакокинетических параметров в программе Borgia [9]. Результаты представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, при введении Биомайрина период полувыведения увеличивается для всех трёх препаратов изониазида, этамбутола и рифампицина. Скорость элиминации уменьшается. Увеличивается период полувыведения, уменьшается скорость абсорбции. Для этамбутола не меняется равновесная максимальная концентрация, для изониазида и его модифицированных форм равновесная максимальная концентрация уменьшается на 75 %, а для рифампицина и его модифицированной формы равновесная максимальная концентрация уменьшается на 92 %.

Общий клиренс у Биомайрина для изониазида увеличивается на 250 %, а для этамбутола увеличивается на 320 % и для рифампицина на 615 %. Подобная разница в величине клиренса связана с большей биодоступностью препаратов в составе Биомайрина.

Выводы

Таким образом, результаты фармакокинетических исследований показали, что в составе Биомайрина период полувыведения увеличивается для всех трёх препаратов: изониазид в четыре раза, этамбутол и рифампицин в три раза по сравнению с исходными препаратами, тем самым проявляется пролонгированный эффект. Следует также отметить, что введение изониазида в полисахаридную матрицу замедляет его метаболизм в терапевтически неактивный ацетилизониазид.

Таблица 3

Фармакокинетические параметры Биомайрина

Фармакокинетические параметры	Препарата сравнения			Биомайрин		
	изониазид	этамбутол	рифампицин	изониазид	этамбутол	рифампицин
Период полуабсорбции $T_{1/2}$ (K_a), мин	—	—	—	175,221	959,834	58,7
Период полувыведения $T_{1/2}$ (K_{el}), мин	693,000	1420,08	752,2	742,765	2887,50	1626,7
Константа абсорбции K_a	0,00640	0,00148	0,007	0,00396	0,00072	0,01
Константа скорости элиминации K_{el}	0,00100	0,00049	0,0009	0,00093	0,00024	0,0004
Период полудостижения равновесной концентрации $T_{1/2}$ C_{ssmax} , мин	0,290	0,366	0,25	0,341	0,366	0,105
Равновесная концентрация C_{ssmax} , мкг/мл	0,426	0,001	0,013	0,117	0,000	0,001
Объем распределения V_d , мл	2173,90	47559,3	145,3	5763,53	305574	2108,7
Общий клиренс Cl_t , мл/мин	2,174	23,209	0,13	5,377	73,338	0,8
Площадь под кривой «концентрация-время» AUG	230001	468,243	7465,2	92982,2	6817,8	1113,2

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шомуротов Шавкат Абдуганиевич
Автор, ответственный за переписку

e-mail: shsha@mail.ru

ORCID: 0000-0002-3890-0026

д. х. н., с. н. с. лаборатории Химии полисахаридов Института биоорганической химии АН РУз, Ташкент

Shomurotov Shavkat
Corresponding author

e-mail: shsha@mail.ru

ORCID: 0000-0002-3890-0026

Doctor of Chemical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Polysaccharides Chemistry, Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent

Султанова Эльвира Митхатовна

к. х. н., с. н. с. лаборатории Химии белков и пептидов, Института биоорганической химии АН РУз, Ташкент

Sultanova Elvira

Candidate of Chemical Senior Researcher, Laboratory of Proteins and Peptides Chemistry, Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent

Салахутдинова Малика Кабулжановна

м. н. с. лаборатории Химии белков и пептидов, Института биоорганической химии АН РУз, Ташкент

Salakhutdinova Malika

Junior Researcher, Laboratory of Proteins and Peptides Chemistry, Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent

Ишимов Учкун Жомурадович

к. х. н., с. н. с. лаборатории Химии белков и пептидов, Института биоорганической химии АН РУз, Ташкент

Ishimov Uchkun

Candidate of Chemical Senior Researcher Laboratory of Proteins and Peptides Chemistry, Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent

Зиявитдинов Жамолитдин Фазлитдинович

к. х. н., с. н. с. лаборатории Химии белков и пептидов, Института биоорганической химии АН РУз, Ташкент

Ziyavitdinov Jamolitdin

Candidate of Chemical Senior Researcher, Laboratory of Proteins and Peptides Chemistry, Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent

Вешкурова Ольга Николаевна

д. х. н., проф. лаборатории Химии белков и пептидов, Института биоорганической химии АН РУз, Ташкент

Veshkurova Olga Nikolayvnan

Doctor of Chemical Sciences, Professor, Laboratory of Proteins and Peptides Chemistry, Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent

Тураев Аббасхан Сабирханович

ORCID: 0000-0003-2915-9237

д. х. н., проф., академик АН РУз, заведующий лабораторией Химии полисахаридов, Института биоорганической химии АН РУз, Ташкент

Turaev Abbaskhan Sabirkhanovich

ORCID: 0000-0003-2915-9237

Doctor of Chemical Sciences, Professor, Academician of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Head of the Laboratory of Polysaccharide Chemistry, Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent

Литература / References

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Control: WHO Report 2018. New York: World Health Organization, WHO/CDS/CPC/TB/2018.25
2. Цыбикова Э.Б. Оценка достоверности показателя заболеваемости туберкулезом лёгких // *Туберкулёз и болезни лёгких*. — 2010. — №4. — С.3–9. [Tsybikova E.B. Estimation of the reliability of the incidence of pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis and lung disease*. 2010;(4):3–9. (In Russ)]
3. Коржавых Э., Румянцев А. Лекарственные формы с модифицированным высвобождением и действием // *Российские аптеки*. — 2003. — №4. — С.1–5. [Korjavih MV, Rumyantsev A. Lekarstvennye formi s modifitsirovannim visvobojudeniem i deystviem. *Rossiyskie aptiki*. 2003; (4):1–5. (In Russ).]
4. Толстикова Т.Г., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А. На пути к низкодозным лекарствам // *Вестник Российской Академии наук*. — 2007. — Т.77. — №10. — С.867–874. [Tolstikova TG, Tolstikov AG, Tolstikov GA. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences*. 2007;77(10):867–874. (In Russ).]
5. Платэ Н.А., Васильев В.Е. *Физиологически активные полимеры*. — М.: Химия; 1986. [Plate NA, Vasilyev VE. *Physiologically active polymers*. Moscow: Chemistry; 1986. (In Russ).]

6. Васильев Л.И., Давыдов А.Б. Макромолекулярные терапевтические системы: проблемы и перспективы // *Журнал всеююзного химического общества им. Д. И. Менделеева*. — 1985. — Т.30. — №4. — С.395–402. [Vasilyev LI., Davydov AB. Macromolecular therapeutic systems: problems and prospects. *Journal of the All-Union Chemical Society. DI. Mendeleev*. 1985;30(4):395–402. (In Russ).]
7. Сливкин А.И., Селеменев В.Ф., Суховерхова Е.А. *Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств*. — Воронеж: — ВГУ; 1999. [Slivkin AI, Selemenov VF, Sukhoverkova EA. *Physico-chemical and biological methods for assessing the quality of medicines*. Voronezh: VSU; 1999. (In Russ).]
8. Машковский М.Д. *Лекарственные средства: Справочник*. — М.: 2005. [Mashkovsky MD. *Medicines: Handbook*. Moscow: 2005 (In Russ).]
9. Laboratory of Applied Pharmacokinetics (1995) USC*Pack P.C. Collection Clinical Research Programs. Los Angeles. University of Southern California. School of Medicine. Version 10.7.

Применение иммуногистохимического метода оценки цитопротективного действия антидиабетических препаратов

Иванов С.В.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Резюме. Алкогольная кардиомиопатия (АКМП) – специфический вид дилатационной кардиомиопатии, возникающей при чрезмерном и длительном потреблении алкоголя. До настоящего времени не разработаны эффективные схемы её терапии, что связано, прежде всего, с отсутствием знаний о тонких механизмах её патогенеза. Индукция окислительного стресса, ведущего к повреждению ДНК и активации внутриклеточных сигнальных каскадов клеточной гибели, рассматривается как основной механизм этиопатогенеза алкогольной кардиомиопатии. Цель настоящего исследования – на разработанной ранее трансляционной модели АКМП у крыс оценить повреждённость ДНК и апоптоз клеток миокарда и влияние на эти показатели кардиопротективных средств. **Методы.** АКМП у крыс моделировали путём 24-недельной алкоголизации (10 % этанол как единственный источник воды; ежедневная доза этанола 5,0–6,5 г/кг). Триметазидин (20 или 30 мг/кг), фабомотизол (15 мг/кг) или их комбинацию (20+15 мг/кг) вводили внутривентрикулярно в течение последующих 4 недель абстиненции. Оценка повреждённости ДНК клеток миокарда проводили методом ДНК-комет в щелочной и нейтральной версиях. Уровень апоптоза на парафиновых срезах определяли методом TUNEL. **Результаты.** Установлено, что сформировавшаяся АКМП в период абстиненции не сопровождается увеличением уровня повреждений ДНК и апоптозом клеток миокарда. Выявлено снижение уровня кардиомиоцитов с высокой степенью фрагментации ДНК, детектируемых в виде атипичных ДНК-комет и являющихся, предположительно, клетками на стадии аутофагической фрагментации хроматина. Введение животным на фоне алкогольной абстиненции кардиопротекторов фабомотизола и триметазидина или их комбинации приводит к восстановлению уровней клеток с фрагментированной ДНК до значений контроля. **Заключение.** Полученные данные позволяют рассматривать появление кардиомиоцитов с фрагментированной ДНК как важный механизм регуляции и поддержания гомеостаза миокарда при АКМП.

Ключевые слова: диабет 2 типа; стрептозотозин; лития хлорид; лития карбонат; β -клетки; цитопroteкция

Для цитирования:

Иванов С.В. Применение иммуногистохимического метода оценки цитопротективного действия антидиабетических препаратов // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – № 4. – С.56–60. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10031.

The applying of immunohistochemical method for evaluating the cytoprotective effect of antidiabetic drugs

Ivanov S.V.

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Resume. The article describes the experience of using the immunohistochemical method of analysis with anti-insulin monoclonal antibodies to assess the cytoprotective effect of lithium salts (carbonate and chloride) on pancreatic β -cells. The main advantage of this method over the classical staining methods, which reveal all types of Langerhans' cells, is selective insulin-producing β -cells identification. On the model of streptozotocin-induced type 2 diabetes in Wistar rats, a significant reduction in the β -cells number and a violation of their morphological structure was shown. Both lithium salts are known to be the GSK-3 β inhibitors. Our experiments revealed the pronounced cytoprotective activity, consisting in restoring of the insulinocytes' morphological characteristics, increasing the β -cells absolute and relative quantity and the percentage of small and medium-sized islets. A satisfactory correlation between the degree of the lithium salts cytoprotective effect and their hypoglycemic activity has been revealed.

Keywords: diabetes 2 type; streptozotocin; GSK-3 β ; lithium salts; β -cells; cytoprotection; immunohistochemistry

For citations:

Ivanov S.V. The applying of immunohistochemical method for evaluating the cytoprotective effect of antidiabetic drugs. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;4: 56–60. DOI: 10.24411 / 2587-7836-2018-10031.

Введение

Рост заболеваемости сахарным диабетом (СД) продолжает оставаться одной из основных проблем систем здравоохранения большинства стран мира, включая Российскую Федерацию. Несмотря на значительные успехи, достигнутые в терапии заболевания, число больных, неудовлетворённых её качеством, остаётся по-прежнему высоким [1]. В этой связи разработка и создание оригинальных подходов к лечению СД является актуальной задачей медицинского сообщества.

Учитывая преобладающее значение СД второго типа (СД2) в структуре заболеваемости диабетом (более

80 % случаев), следует отметить, что инсулинорезистентность, характеризующаяся недостаточностью биологического ответа организма на инсулин при его нормальной концентрации в крови, приводит к компенсаторному усилению секреции гормона. Однако в условиях нарастающего энергодифицита возможность нормального функционирования β -клеток ограничена. Их истощение ведёт к неизбежной гибели и развитию абсолютной инсулиновой недостаточности. Перечисленные факты обуславливают перспективность применения цитопротекторных препаратов, способных предотвращать некроз β -клеток и декомпенсацию СД2 [2]. Это, в свою очередь, диктует необходимость

разработки информативной методики качественного и количественного анализа числа β -клеток.

Иммуногистохимический анализ (ИГА), основанный на обработке микропрепаратов изучаемых органов меченными антителами к выявляемому веществу (антигену), успешно применяется в лабораторной диагностике последние десятилетия. По сравнению с классическими гистологическими методами, он имеет неоспоримые преимущества, наиболее важными из которых являются высокая специфичность в отношении детектируемого объекта, чувствительность, позволяющая открывать вещество (антиген) при его низкой концентрации в ткани, а также интенсивность полученного сигнала. В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» нами начато внедрение методики ИГА панкреатических β -клеток, позволяющей оценивать влияние потенциальных антидиабетических препаратов на морфологические характеристики островков Лангерганса с использованием высокоспецифичных моноклональных антител к инсулину.

В данной статье будет приведено подробное описание этого метода, направленного на качественный и количественный анализ β -клеток поджелудочной железы и дифференциальную оценку их выживаемости на модели стрептозотоцин-индуцированного (СТЗ) СД2. В наших предыдущих исследованиях было выявлено наличие цитопротективного действия в отношении β -клеток у ряда нейропротективных веществ [4, 5]. В данной работе для верификации метода ИГА были изучены соли лития, выбор которых обусловлен наличием данных об их нейропротективном эффекте, связанным с ингибированием GSK-3 [3].

Материалы и методы

Дизайн эксперимента. Эксперимент проводили на крысах-самцах линии Wistar с исходной массой тела 300–320 г. СД2 моделировали путём однократного внутрибрюшинного введения свежеприготовленного раствора СТЗ в дозе 40 мг/кг, растворённого в холодном цитратном буфере (pH = 4,5). В эксперимент включали только животных, у которых через 72 ч после введения СТЗ уровень глюкозы в крови составлял не менее 12–15 ммоль/л ($n = 40$). Крыс делили на 4 группы по 10 крыс в каждой. Группе пассивного контроля в первый день эксперимента вводился цитратный буфер, в последующие 28 дней — физиологический раствор. Группе активного контроля вводился СТЗ, в последующие 28 дней — физиологический раствор. Экспериментальным группам с третьего дня после инъекции СТЗ вводился лития хлорид в дозе 10 мг/кг либо лития карбонат в дозе 8,9 мг/кг (эквивалентно 10 мг/кг лития хлорида) в течение 28 дней. По окончании эксперимента животных умерщвляли декапитацией.

Подготовка препаратов. Для иммуногистохимического исследования островкового аппарата поджелудочные железы крыс экспериментальных групп

фиксируют в 10 % нейтральном формалине (pH = 7,4) (Sigma, США). Обезжизнение образцов проводили в восходящем ряду спиртов (дважды в 70 %, 95 % и дважды в 100 %) и ксилоле (в течение 1 ч в каждом растворителе), после чего заливали в парафиновые блоки. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм выполняли на микротоме (Micritome Jung RM2035, Германия). Из каждого блока получали по 15–20 поперечных срезов из различных отделов поджелудочной железы и помещали их на стёкла, обработанные поли-L-лизин (Menzel-Glaser, 76 26 мм). Подготовленные микропрепараты (по 4–5 срезов на стекло) сушили на сухой бане при температуре 40° в течение 60 мин, после чего использовали для исследования.

Перед нанесением антител микропрепараты депарафинировали в двух сменах ксилола и гидратировали в нисходящем ряду спиртов (дважды в 95 % и дважды в 70 %) по 10 мин, после чего промывали в фосфатном буфере PBS (Sigma, США) (10 мин). С целью блокады эндогенных пероксидаз, способствующих неспецифическому окрашиванию ввиду высокой реакционной способности с детектирующим агентом, микропрепараты в течение 10 мин обрабатывали 3 % раствором пероксида водорода.

Иммуногистохимическая реакция. Для предотвращения неспецифического фонового окрашивания за счёт связывания первичных антител с компонентами ткани микропрепараты инкубировали с 10 % раствором нормальной козьей сыворотки (Normal Goat Serum, Abscam, Великобритания) в течение 1 ч при комнатной температуре. Далее срезы обрабатывали первичными моноклональными антителами к инсулину, полученными от морских свинок (anti-insulin GP 1:500, Abscam, Великобритания). В качестве среды для разведения антител использовали фосфатный буфер. Обработанные микропрепараты оставляли на 24 ч во влажной камере при температуре 2–4 °C.

Визуализация результатов иммуногистохимической реакции заключалась в инкубации микропрепаратов со вторичными моноклональными антителами, меченными пероксидазой (anti-insulin GP 1:500, Abscam, Великобритания) в течение 1 ч при комнатной температуре с последующим использованием набора реагентов (DAB Vector Peroxidase, США). Готовые микропрепараты вновь обезжизняли в восходящем ряду спиртов и ксилола и заключали в среду Eukitt (Panreac, Испания). Достоверность результатов исследования достигалась использованием негативных контролей антигенов и антител [6].

Микроскопический анализ. Морфометрическое исследование проводили с использованием микроскопа Aristoplan (Leitz, Германия) с цифровой камерой DCM-800 (Микромед, Россия), персонального компьютера и программного обеспечения ScopePhoto при увеличении 400, дающего информацию о площади β -клеток и микропрепарата в абсолютных единицах. Рассчитывали долю β -клеток в общей площади среза и количество

панкреатических островков. В каждом препарате анализировали все имеющиеся островки Лангерганса.

Исходя из данных литературы о неоднородности реакции β -клеток на повреждающее воздействие СТЗ [7], нами было предложено дифференцировать инсулинциты по площади, определяя процентное содержание их групп соответствующих размеров (менее 500 мкм², 501–2500 мкм², 2501–10000 мкм², более 10001 мкм²) в общем ряду.

Статистический анализ результатов проводили с помощью программы Biostat. Проводился расчёт среднего арифметического значения M и стандартной ошибки среднего арифметического SEM. Характер распределения полученных данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. Ввиду наличия нормального распределения данных, статистическую значимость различий между группами оценивали тестом ANOVA. Различие средних показателей считалось достоверным при $p < 0,05$. Для оценки взаимосвязи непараметрических количественных признаков использовался метод ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

В условиях СТЗ модели СД2 у животных группы активного контроля отмечалось повышение уровня гликемии до 24,1 ммоль/л (при уровне гликемии в группе пассивного контроля 6,1 ммоль/л). Соли лития показали гипогликемическую активность: введение лития хлорида способствовало снижению уровня сахара до

12,4 ммоль/л, лития карбоната до 12,9 ммоль/л. Кроме того, оба соединения восстанавливали положительную динамику массы тела, устраняли симптомы полифагии и полидипсии.

С целью оценки эффекта солей лития на морфологическом уровне через 24 ч после окончания терапии животные забивались декапитацией. Результаты морфометрического анализа поджелудочной железы приведены в табл. 1.

Полученные данные свидетельствуют об уменьшении числа островков, а также абсолютного и относительного количества β -клеток в группе нелеченных диабетических животных по сравнению со здоровыми (рис. 1A, 1B). Островки у диабетических крыс характеризуются снижением количества инсулинцитов, наличием вакуолизации, склерозирования и дистрофических изменений в структуре ткани. В некоторых островках сохранялись единичные разрозненные инсулин-позитивные клетки. Средняя площадь панкреатических островков у таких животных была почти в 8 раз меньше площади островков здоровых животных. Островки характеризовались неправильной формой. Процентное отношение суммарной площади β -клеток в поперечном срезе железы нелеченных диабетических крыс составляет около 9,5 %, в то время как у здоровых этот показатель достигал 28,1 %. Снижение доли β -клеток у животных активного контроля на 68 % по сравнению с пассивным контролем свидетельствует о наличии развитого СД2 и находится в полном соответствии с полученными ранее данными [8].

Таблица 1

Морфометрические показатели островков поджелудочной самцов крыс Wistar

№	Группа	Площадь β -клеток		Число островков
		абсолютная, мкм ²	в % от среза	
1	Пассивный контроль	239754,5 $\pm$ 21500,7	28,08 $\pm$ 2,29	17,8 $\pm$ 1,89
2	Активный контроль	30538,4 $\pm$ 4610,7#	9,50 $\pm$ 1,31#	7,19 $\pm$ 0,77
3	Лития карбонат	68672,7 $\pm$ 13712,9*	14,00 $\pm$ 1,79*	9,66 $\pm$ 0,98*
5	Лития хлорид	76828,5 $\pm$ 10584,9*	15,29 $\pm$ 2,57*	10,52 $\pm$ 0,91*

Примечание: * — достоверность различий между опытной группой и активным контролем, $p < 0,05$.
— достоверность различий между активным контролем и пассивным контролем, $p < 0,05$.

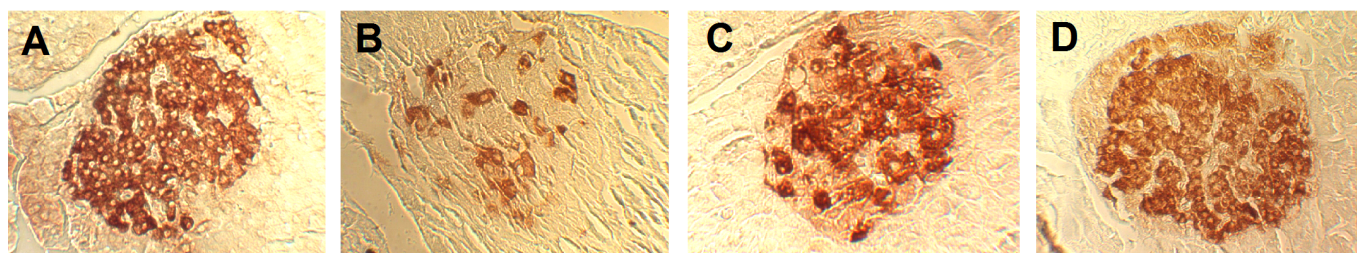


Рис. 1. Панкреатические островки животных разных групп. Ув. $\times 400$:

A — пассивный контроль; B — нелеченные диабетические крысы; C — диабетические крысы, леченные литием карбонатом; D — диабетические крысы, леченные литием хлоридом

Введение диабетическим крысам препаратов лития приводит к заметному восстановлению количества островков и морфологических характеристик β -клеток (рис. 1С, 1D). Отмечено преобладание островков округлой формы. Среднее количество островков в группе лития карбоната составляло 9,66, лития хлорида — 10,52, что в среднем в 1,5 раза превышает данный показатель у нелеченных диабетических животных. Суммарная площадь β -клеток у животных выше таковой у группы активного контроля в 1,5 раза в случае терапии карбонатом лития и в 2 раза — хлоридом лития. Вы-

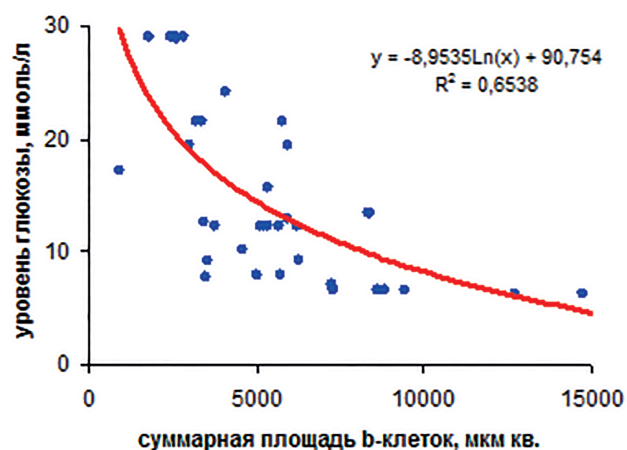


Рис. 2. Корреляционная связь площади панкреатических β -клеток в срезах с уровнем глюкозы самцов крыс Wistar

раженность показателей морфометрии коррелирует с показателями уровня глюкозы в крови: коэффициент корреляции уровня глюкозы с суммарной площадью панкреатических β -клеток составляет 0,653 (рис. 2).

Нами выполнен анализ распределения островков β -клеток по показателю суммарной площади у

животных различных групп (рис. 3). Если у здоровых животных преобладают крупные островки, площадью более 10000 мкм² и практически отсутствуют мелкие, площадью до 500 мкм², то у крыс группы активного контроля доминируют островки малых размеров. Эти данные полностью соответствуют результатам, ранее полученным в экспериментах на мышах, у которых СД моделировался гиперактивацией GSK-3 β [6]. Нами показано, что применение препаратов лития позволяет сохранить выживаемость β -клеток. Это отражает показатель количества крупных островков: у животных пассивного контроля их содержание составляло 38 %, у нелеченных диабетических крыс оно снижалось до 10 %, в то время как терапия солями лития способствовала увеличению их числа до 17–18 %.

Основное преимущество ИГА состоит в том, что он селективно выявляет инсулинопродуцирующие β -клетки, тогда как при использовании других методов, например окраски гематоксилин-эозином, имеет место неспецифическое окрашивание всех типов клеток островков Лангерганса. Если при окраске гематоксилин-эозином по Гомори нами было выявлено 23,0 % выживших клеток, то в случае применения ИГА отмечено снижение доли выживших β -клеток до 9,5 % [4]. Это сопоставление свидетельствует о более точной идентификации и дифференциации панкреатических β -клеток методом ИГА.

Таким образом, значимость метода ИГА для оценки цитопротективного действия антидиабетических препаратов подтверждена данными изучения солей лития, выбор которых обусловлен представлениями о роли гиперактивности GSK-3 в развитии СД и их способности ингибировать этот фермент [3]. Активность солей лития проявлялась в восстановлении абсолютного и относительного количества инсулинопродуцирующих клеток, увеличении доли островков средних и крупных размеров и нормализации морфологических характеристик инсулиноцитов.

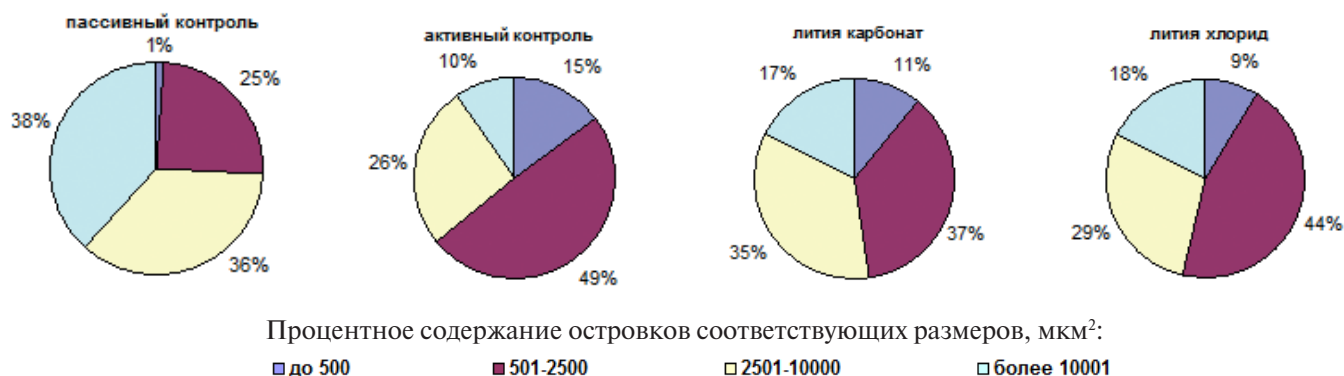


Рис. 3. Дифференциация островков β -клеток по площади у животных различных экспериментальных групп

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Иванов Сергей Витальевич
Автор, ответственный за переписку
 e-mail: ivanov-sv-tver@mail.ru
 ORCID: 0000-0003-0438-9108
 SPIN-код: 6222-8337
 м. н. с. лаборатории психофармакологии
 ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
 фармакологии имени В.В. Закусова»

Ivanov Sergey
Corresponding author
 e-mail: ivanov-sv-tver@mail.ru
 ORCID: 0000-0003-0438-9108
 SPIN-code: 6222-8337
 Research Assistant at the laboratory of psychopharmacology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Литература / References

1. Дедов И.И., Шестакова М.В. Клинические рекомендации. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом // *Сахарный диабет*. — 2015. — №18(1S). — С.1–112. [Dedov II, Shestakova MV. Standards of specialized diabetes care. *Diabetes Mellitus*. 2015;18(1S):1–112. (In Russ).] DOI: 10.14341/DM20151S1-112
2. Петеркова В.А., Лаптев Д.Н. Перспективы терапии, направленной на восстановление пула β-клеток, при сахарном диабете // *Сахарный диабет*. — 2009. — №3 — С.6–9. [Peterkova VA, Laptev DN. Prospects for therapy aimed at restoring the beta-cells pool in patients with diabetes mellitus (review of literature). *Diabetes Mellitus*. 2009;3:6–9. (In Russ).]
3. Woodgett JR. Physiological roles of glycogen synthase kinase-3: potential as a therapeutic target for diabetes and other disorders. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord*. 2003;3(4):281–290.
4. Ostrovskaya RU, Zolotov NN, Ozerova IV, et al. Noopept normalizes parameters of the incretin system in rats with experimental diabetes. *Bull Exp Biol Med*. 2014;157(3):344–349. DOI: 10.1007/s10517-014-2562-5
5. Ostrovskaya RU, Yagubova SS, Gudasheva TA, et al. Low-Molecular-Weight NGF Mimetic Corrects the Cognitive Deficit and Depression-like Behavior in Experimental Diabetes. *Acta Naturae*. 2017;9(2):94–102.
6. Снигур Г.Л., Смирнов А.В. К вопросу стандартизации патогистологической диагностики сахарного диабета // *Вестник ВолГМУ*. — 2010. — №3 (35) — С.112–118. [Snigur GL, Smirnov AV. To the question of standardization of pathohistological diagnostics of the diabetes mellitus. *Vestnik VolGMU*. 2010;3(35):112–118. (In Russ).]
7. Feng ZC, Donnelly L, Li J, et al. Inhibition of Gsk3β activity improves β-cell function in c-KitW^v/+ male mice. *Lab. Invest*. 2012;92(4):543–555. DOI: 10.1038/labinvest.2011.200
8. Novelli M, Bonamassa B, Masini M, et al. Persistent correction of hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic mice by a non-conventional radical scavenger. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*. 2010;382(2):127–137. DOI: 10.1007/s00210-010-0524-7

Соколов Андрей Владимирович



20.12.1946 — 09.01.2019

09.01.2019 г. на 73-м году ушёл из жизни доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела рациональной фармакотерапии и взаимодействия лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России Соколов Андрей Владимирович.

Трудовая деятельность Андрея Владимировича была неразрывно связана с такими учреждениями, как НИИ по БИХС, РНИМУ им. Н.И. Пирогова (кафедра клинической фармакологии), «Национальное агентство клинической фармакологии и фармации» (отдел фармакокинетики и фармации), Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (кафедра клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней). Соколов А.В. был великолепным лектором, специалистом мирового уровня в области терапевтического лекарственного мониторинга противосудорожных препаратов, принимал активное участие в изучении и развитии персонализированной медицины в России.

Андрей Владимирович — автор многих изобретений, монографий, научных статей и методических пособий по клинической фармакологии, фармакокинетики.

Светлая память выдающемуся преподавателю, учёному, Человеку!



Центр
Фармакоэкономических
Исследований

18 лет исследовательской работы

230 исследований

220 публикаций

48 партнёров

Комплексная клинико-экономическая оценка лекарственных средств для включения в ограничительные перечни

- Оценка эффективности и безопасности
 - систематический обзор
 - мета-анализ
 - не прямые и смешанные сравнения, сетевой мета-анализ
- Разработка моделей принятия решений в MS Excel
- Локальная адаптация CORE-моделей
- Клинико-экономический анализ
- Анализ влияния на бюджет
- Подготовка Предложения на включение в ограничительные перечни



Награждён в 2013 и 2014 гг. Всероссийской социальной премией в области организации здравоохранения, фармакоэкономики и рациональной фармакотерапии «Da.Signa»

Под общей редакцией
БЕЛОУСОВА Д.Ю., ЗЫРЯНОВА С.К., КОЛБИНА А.С.

Управление клиническими исследованиями



Учебное пособие
по планированию и проведению
клинических исследований
лекарственных средств

Учебное пособие «Управление клиническими исследованиями» описывает методологию эффективного управления проектом по изысканию, разработке и выводу на фармацевтический рынок лекарственных средств, начиная с этапа поиска перспективных химических соединений, проведения доклинических испытаний веществ—кандидатов, клинических исследований лекарств—кандидатов, фармаконадзора, управления данными, анализа полученных данных, составления окончательного отчёта об исследовании, получения регистрационного удостоверения, публикации результатов, заканчивая организацией пострегистрационных исследований безопасности, проведением неинтервенционных и фармакоэпидемиологических исследований, а также процесс обеспечения качества, проведения аудита и инспекций уполномоченных органов здравоохранения, создания стандартных операционных процедур, архивирования документов исследования.

Изложенный материал основывается на современных регулирующих требованиях законодательства Российской Федерации и стран — участниц Евразийского экономического союза. Кропотливая работа авторского коллектива практикующих специалистов по клиническим исследованиям позволила сделать сложные понятия ясными в изложении и простыми для понимания читателем любого уровня опыта и подготовки.

Студентам, мониторам клинических исследований, стремящимся стать проектными менеджерами, и предназначено данное учебное пособие. Также книга будет интересна тем, кто непосредственно участвует в процессе разработки новых лекарственных средств: клиническим проектным менеджерам, специалистам по клиническим исследованиям, фармаконадзору, управлению данными, статистическому анализу, обеспечению качества, медицинским писателям, регистрации, представителям регуляторных и медицинских отделов, работающих в инновационных фармацевтических компаниях и контрактных исследовательских организациях. Представленные материалы будут полезны опытным врачам-исследователям, сотрудникам научно-исследовательских институтов и организаций, участвующих в поиске новых лекарственных веществ, организующих доклинические и клинические испытания, а также служащим уполномоченных органов здравоохранения, регулирующих их проведение.

Приобрести книгу

можно в офисе ООО «Издательство ОКИ»

тел.: +7 (910) 449-22-73

e-mail: eva88@list.ru

Выходные данные

Управление клиническими исследованиями / под общ. ред. Белоусова Д.Ю., Зырянова С.К., Колбина А.С. — 1-е изд. — М.: Буки Веди: Издательство ОКИ, 2017. — 676 с.: ил. ISBN 978-5-4465-1602-5



ИЗДАТЕЛЬСТВО ОКИ

ООО «Издательство ОКИ» выпускает 4 периодических научных специализированных медико-фармацевтических журналов, предназначенных для врачей, провизоров, фармацевтов, специалистов НИИ, преподавателей и студентов медицинских и фармацевтических ВУЗов, организаторов здравоохранения, клинических исследователей, фармакологов, сотрудников фармацевтических компаний, служащих регулирующих органов, членов Комитетов по Этике.

Сайт издательства: www.izdat-oki.ru



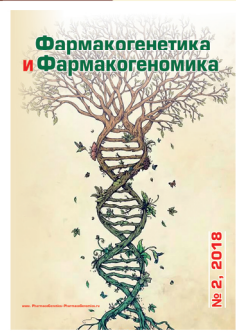
Журнал «**Качественная клиническая практика**» публикует материалы по планированию и проведению клинических исследований лекарственных средств, фармакоэкономике, фармакоэпидемиологии, биомедицинской этике, фармаконадзору, которые используются в преподавательской работе во многих медицинских ВУЗах.

Сайт журнала: www.clininvest.ru



Журнал «**Фармакокинетика и Фармакодинамика**» освещает фундаментальные и прикладные аспекты доклинических и клинических исследований фармакокинетики, в частности терапевтического лекарственного мониторинга, фармакодинамического и биофармацевтического изучения препаратов, их взаимодействия, оценки их биодоступности и биоэквивалентности.

Сайт журнала: www.pharmacokinetica.ru



Журнал «**Фармакогенетика и фармакогеномика**» публикует оригинальные статьи о проведённых клинических, клинико-экспериментальных и фундаментальных научных работах, обзоры, лекции, описания клинических случаев, а также вспомогательные материалы по всем актуальным проблемам персонализированной медицины

Сайт журнала: www.pharmacogenetics-pharmacogenomics.ru



Журнал «**Антибиотики и химиотерапия**» освещает проблемы поиска и получения новых антибиотиков, ферментов, биологически активных веществ, а также вопросы экспериментальной химиотерапии бактериальных и вирусных инфекций.

Сайт журнала: www.antibiotics-chemotherapy.ru

**Тел.: +7 (910) 449-22-73;
e-mail: clininvest@mail.ru**