

ISSN 2587-7836 (print)
ISSN 2686-8830 (online)

ФАРМАКОКИНЕТИКА и ДИНАМИКА

Включен в перечень рецензируемых
научных журналов ВАК РФ

журналу *Зем*



№1.2024



Главный редактор

Жердев Владимир Павлович

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

Зам. главного редактора

Смирнов Валерий Валерьевич

д. фарм. н., Москва

Ответственный секретарь

Литвин Александр Алексеевич

д. б. н., Москва

Редакционная коллегия

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

Дорофеев Владимир Львович

д. фарм. н., профессор, Москва

Дурнев Андрей Дмитриевич

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

Ковалёв Георгий Иванович

д. м. н., профессор, Москва

Колик Лариса Геннадьевна

д. б. н., профессор РАН, Москва

Колыванов Геннадий

Борисович, д. б. н., Москва

Мирзоян Рубен Симонович

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

Мирошниченко Игорь Иванович

д. м. н., Москва

Рудакова Алла Всеволодовна

д. фарм. н., профессор,
Санкт-Петербург

Раменская

Галина Владиславовна

д. фарм. н., профессор, Москва

Спасов Александр Алексеевич

академик РАН, д. м. н.,
профессор, Волгоград

Стародубцев

Алексей Константинович

д. м. н., профессор, Москва

Сычёв Дмитрий Алексеевич

академик РАН, д. м. н.,
профессор, Москва

Тюрников Иван Николаевич

член-корр. РАН, д. м. н.,
профессор, Волгоград

д. б. н., профессор РАН, Москва

Хохлов Александр Леонидович

академик РАН, д. м. н.,
профессор, Ярославль

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 31.03.2024 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 ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Заскусова». Тел./Факс: + 7 (495) 601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

Оформить подписку можно через «Агентство «Книга-Сервис» или каталог «Пресса России» — подписной индекс Е45072

Сайт журнала: www.PharmacoKinetics.ru Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор) 04.02.2021 года свидетельство о регистрации СМИ ПИ № ФС 77-80349. ISSN 2587-7836. Журнал включен в перечень ВАК. 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.MyRWD.ru
www.Patient-Oriented.ru
www.PharmacoGenetics-Pharmacogenomics.ru

Журналы

Антибиотики и Химиотерапия
Качественная клиническая практика
Реальная клиническая практика: данные и доказательства
Пациентоориентированная медицина и фармация
Фармакогенетика и Фармакогеномика

WEB-порталы

www.HealthEconomics.ru
www.izdat-Oki

Центр Фармакоэкономических Исследований
Издательство ОКИ

ОТ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Жердев В. П. 3

АКТУАЛЬНЫЕ ОБЗОРЫ

Систематический анализ фармакологии миоинозитола и D-хироинозитола

Богачева Т. Е., Громова О. А., Торшин И. Ю. 4

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОДИНАМИКИ

Изучение мнемотропной и антидепрессантоподобной активности низкомолекулярного миметика фактора роста нервов дипептида ГК-2 в условиях экспериментального ишемического инсульта у крыс

Поварнина П. Ю., Сазонова Н. М., Никифоров Д. М.,
Гудашева Т. А., Дорофеев В. Л. 14

К возможности расчёта оптимальных доз в комбинированных лекарственных средствах (рабочая гипотеза)

Цорин И. Б., Крыжановский С. А. 23

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИКИ

Экспериментальная фармакокинетика нового противопаркинсонического средства АДК-1113

Кравцова О. Ю., Дворянинов Д. А., Колыванов Г. Б.,
Литвин А. А., Грибакина О. Г., Жердев В. П. 27

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИКИ

Оценка влияния демографических и антропометрических показателей на вариабельность фармакокинетических параметров

Васильев В. Б., Верведа А. Б., Фарапонова М. В.,
Сыраева Г. И. 32

ПОИСК НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Анализ соответствия оригинальных соединений ряда бис-арилазаазлканов расчетным фармакофорным моделям биароматических лигандов биомиметической кардиопротекторных средств

Мокров Г. В., Пантеев А. С., Воробьева Т. Ю.,
Бирюкова В. Е., Крыжановский С. А., Дорофеев В. Л. 45

Фармакоинформационные, фундаментальные и клинические исследования 7-гидроксиматаирезинола в контексте поиска эффективных и безопасных терапевтических подходов к лечению мастопатии

Рубашкина А. Н., Торшин И. Ю., Громова О. А. 66

НЕКРОЛОГ

ПАМЯТИ Владимира Григорьевича Кукеса 77



Chief editor

Vladimir P. Zherdev

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

Deputy chief editor

Valery V. Smirnov

Ph.D., Moscow

Executive secretary

Alexander A. Litvin

Ph.D., Moscow

EDITORIAL BOARD

Irina B. Bondareva

Ph.D., Moscow

Tatiana A. Voronina

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

Olga A. Gromova

Ph.D., Professor, Ivanovo

Vladimir L. Dorofeev

Ph.D., Professor, Moscow

Andrey D. Durnev

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

Georgiy I. Kovalev

Ph.D., Professor, Moscow

Larisa G. Colic

Ph.D., Professor, Moscow

Gennady B. Kolyvanov

Ph.D., Moscow

Ruben S. Mirzoyan

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

Igor I. Miroshnichenko

Ph.D., Moscow

Alla V. Rudakova

Ph.D., Professor, St. Petersburg

Galina V. Ramenskaya

Ph.D., Professor, Moscow

Alexander A. Spasov

Academician RAS, Ph.D.,
Professor, Moscow

Alex K. Starodubtsev

Ph.D., Professor, Moscow

Dmitry A. Sychev

Academician RAS,
Ph.D., Professor, Moscow

Ivan N. Tyurenkov

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

Alexander L. Khokhlov

Academician RAS, Ph.D.,
Professor, Yaroslavl

ISSUING GROUP

Dmitry Yu. Belousov

Managing Editor
+7 (910) 449-22-73
e-mail: clinvest@mail.ru

Elena V. Afanaseva

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

Elena V. Zhuk

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

Signed in print 31.03.2024. **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. Baltiyskaya, 8 Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies

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

Website: www.Pharmacokinetics.ru The journal was registered with the Federal Service for Supervision in the Sphere of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor) on 02/04/2021, the certificate of registration of the mass media PI No. FS 77-80349. ISSN 2587-7836. **The journal is included in the list of Higher Attestation Commission (HAC) of Russian Federation.** 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.MyRWD.ru
www.Patient-Oriented.ru
www.Pharmacogenetics-Pharmacogenomics.ru

Journals

Antibiotics and Chemotherapy
Good Clinical Practice
Real-World Data & Evidence
Patient-Oriented Medicine and Pharmacy
Pharmacogenetics and Pharmacogenomics

WEB-portals

www.HealthEconomics.ru
www.izdat-OkI.ru
Center of Pharmacoeconomics Research
Publisher OKI

FROM EDITOR-IN-CHIEF

Zherdev VP 3

REVIEW

Systematic analysis of the pharmacology of myo-inositol
and D-chiro-inositol

Bogacheva TE, Gromova OA, Torshin IYu 4

PRECLINICAL PHARMACODYNAMIC STUDIES

A study on the mnemotropic and antidepressant-like effects
of the low-molecular-weight mimetic of nerve growth factor,
dipeptide GK-2, in experimental ischemic stroke

Povarnina PYu, Sazonova NM, Nikiforov DM,
Gudasheva TA, Dorofeev VL 14

The possibility of calculating optimal doses in combined
medicinal product (Working hypothesis)

Tsorin IB, Kryzhanovskii SA 23

PRECLINICAL PHARMACOKINETIC STUDIES

Experimental pharmacokinetics of a new antiparkinsonian
drug ADK-1113

Kravtsova OYu, Dvoryaninov DA, Kolyvanov GB,
Litvin AA, Gribakina OG, Zherdev VP 27

CLINICAL PHARMACOKINETIC RESEARCH

Assessment of the influence of demographic and anthropometric
indicators on the variability of pharmacokinetic parameters

Vasilyuk VB, Verveda AB, Faraponova MV, Syraeva GI 32

SEARCH FOR NEW DRUGS

Analysis of original bis-arylazazkanes derivatives compliance
with the calculated pharmacophoric models of biaromatic
ligands of cardioprotective drugs biotargets

Mokrov GV, Pantileev AS, Vorobieva TYu, Biryukova VE,
Kryzhanovskiy SA, Dorofeev VL 45

Pharmacoinformational, basic and clinical studies of 7-hydroxy-
matairesinol in the context of searching for effective and safe
therapeutic approaches to the treatment of mastopathy

Rubashkina AN, Torshin IYu, Gromova OA 66

OBITUARY

In Memory of Vladimir G. Kukes 77

К 20-летию юбилею журнала «Фармакокинетика и фармакодинамика»

© Жердев В. П.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

**Поздравляю членов редакционной коллегии, издательскую группу
и всех читателей журнала «Фармакокинетика и фармакодинамика»
с 20-летним юбилеем.**



Начало организации журнала было связано с публикациями исключительно по фармакокинетическим исследованиям вследствие того, что это научное направление тогда бурно развивалось. Мы считали, что наибольшее внимание необходимо уделять изучению и описанию именно клинической фармакокинетики как новых фармакологических веществ, так и широко применяемых в медицинской практике лекарственных средств. Название журнала отражало общее направление публикаций — «Клиническая фармакокинетика». Далее «жизнь заставила» расширить границы научных публикаций в направлении фармакодинамических и токсикологических исследований, и журнал в 2011 году был зарегистрирован уже под новым названием — «Фармакокинетика и фармакодинамика». Публикации стали охватывать практически весь спектр фармакологических исследований и в основном посвящены созданию и внедрению новых отечественных оригинальных и перспективных лекарственных средств. При этом следует отметить, что статьям, посвящённым изучению экспериментальной и клинической фармакокинетики, уделялось и уделяется большое внимание, так как информация, приведённая в них, может быть напрямую использована на практике (в аннотации к лекарственным средствам, в терапии и т. д.).

В отличие от европейских стран и США, в Российской Федерации практически отсутствуют специализированные журналы, посвящённые фармакокинетике. Наш журнал можно считать «флагманом» в этой области на всём «постсоветском пространстве». Это явилось одной из причин включения его с 25.05.2022 года в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук РФ (категория K1). Это можно считать нашим маленьким достижением.

Надеюсь на дальнейшее плодотворное сотрудничество в области изучения фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных средств. Ждём новых научных публикаций.

С наилучшими пожеланиями,

Жердев Владимир Павлович
заслуженный деятель науки РФ, д. м. н., профессор
ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных
биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва



Систематический анализ фармакологии миоинозитола и D-хироинозитола

© Богачева Т. Е.¹, Громова О. А.², Торшин И. Ю.²

¹ — ФГБОУ ВО «Ивановский государственный медицинский университет» Минздрава России, Иваново, Российская Федерация

² — ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» РАН» (ФИЦ ИУ РАН), Москва, Российская Федерация

Аннотация. В статье представлен анализ публикаций по миоинозитолу с целью уточнения возможностей назначения препаратов на его основе. Миоинозитол — один из эндогенных метаболитов человека, оказывающий существенное воздействие на функционирование клеток и тканей всего тела. Основной функцией миоинозитола и его производных является участие во внутриклеточной передаче сигнала и обеспечение функционирования таких важнейших рецепторов, как рецепторы инсулина, катехоламинов, метаботропные рецепторы различных нейромедиаторов, факторов роста и др. Миоинозитол — основа для синтеза важной группы сигнальных молекул, инозитолфосфатов, которые опосредуют передачу сигнала от рецепторов ростовых факторов и нейротрансмиттеров. Большинство инозитолзависимых белков с известными функциями необходимы для жизнедеятельности сердечно-сосудистой, иммунной системы, для структуры соединительной ткани. Не менее важна роль миоинозитола в поддержании функционирования ЦНС (включая нейротрофические и нейропротекторные роли), обмене сахаров (прежде всего сигнальном каскаде инсулина) и функционировании почек и печени. Дотации миоинозитола способствуют профилактике фолатрезистентных пороков развития и нейропротекции мозга в условиях стресса.

Ключевые слова: миоинозитол; D-хироинозитол; гепатопротекция; нейрцитология; нейропротекция; стеатогепатит; метаболизм

Для цитирования:

Богачева Т. Е., Громова О. А., Торшин И. Ю. Систематический анализ фармакологии миоинозитола и D-хироинозитола. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2024;(1):4–13. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-4-13>. EDN: GCGFPS

Поступила: 02.03.2024. **В доработанном виде:** 10.03.2024. **Принята к печати:** 27.03.2024. **Опубликована:** 31.03.2024.

Systematic analysis of the pharmacology of myoinositol and D-chiroinositol

© Tatiana E. Bogacheva¹, Olga A. Gromova², Ivan Yu. Torshin²

¹ — FSBEI HE «Ivanovo State Medical University» of MOH of Russia, Ivanovo, Russian Federation

² — FRC "Computer Science and Control" RAS, Moscow, Russian Federation

Abstract

The article presents an analysis of publications on myoinositol in order to clarify the possibilities of prescribing drugs based on it. Myoinositol is one of the endogenous human metabolites that has a significant effect on the functioning of cells and tissues of the whole body. The main function of myoinositol and its derivatives is to participate in intracellular signal transmission and ensure the functioning of such important receptors as insulin receptors, catecholamines, metabotropic receptors of various neurotransmitters, growth factors, etc. (Myoinositol is the basis for the synthesis of an important group of signaling molecules, inositol phosphates, which mediate signal transmission from growth factor receptors and neurotransmitters). Most inositol-dependent proteins with known functions are necessary for the vital functions of the cardiovascular, immune system, and connective tissue structure. Equally important is the role of myoinositol in maintaining the functioning of the central nervous system (including neurotrophic and neuroprotective roles), sugar metabolism (primarily the signaling cascade of insulin) and the functioning of the kidneys and liver. Myoinositol subsidies contribute to the prevention of folate-resistant malformations and neuroprotection of the brain under stress.

Keywords: myoinositol; D-chiro inositol; hepatoprotection; neurocytology; neuroprotection; steatohepatitis; metabolism

For citations:

Bogacheva TE, Gromova OA, Torshin IYu. Systematic analysis of the pharmacology of myoinositol and D-chiroinositol. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2024;(1):4–13. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-4-13>. EDN: GCGFPS

Received: 02.03.2024. **Revision received:** 10.03.2024. **Accepted:** 27.03.2024. **Published:** 31.03.2024.

Введение / Introduction

Юстус фон Либих, немецкий химик, в 1848 г. открыл инозитол в проростках пшеницы. Инозитолы (циклогексан-1,2,3,4,5,6-гексолы) имеют девять стереоизомеров, из которых миоинозитол (МИ) и D-хироинозитол (ДХИ) показывают большую метаболическую активность (рис. 1). Фермент эпимераза конвертирует МИ в ДХИ и обратно.

Основными источниками МИ являются злаки, бобовые, масличные семена и орехи [1], однако большая часть суточной потребности образуется в организме, в почках (около 4 г в день). Миоинозитол синтезируется из глюкозо-6-фосфата, который изомеризуется в инозитол-3-фосфат с помощью фермента D-3-миоинозитол-фосфатсинтазы [2], затем дефосфорилируется с помощью инозитолмонофосфатазы-1 в свободный МИ [3]. Свободный МИ также образуется путём дефосфорилирования инозитол-1,4,5-трифосфата и инозитол-1,4-бисфосфата.

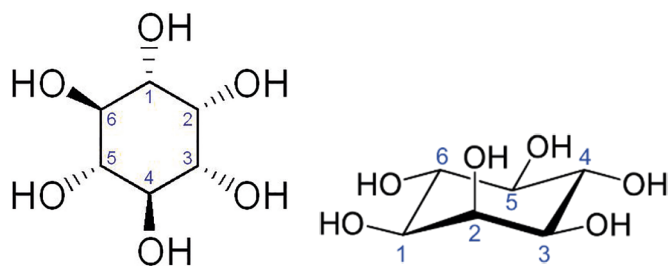


Рис. 1. Химическая структура миоинозитола (цис-1,2,3,5-транс-4,6-циклогексангексол)

Fig. 1. Chemical structure of myo-inositol (cis-1,2,3,5-trans-4,6-cyclohexanhexol)

Миоинозитол (витамин B₈) оказывает важное значение для функционирования всех видов клеток, выполняя роль переносчиков сигнала во внутриклеточных сигнальных каскадах (инозитолфосфаты, фосфатидилинозитоловые липиды).

МИ — это органический метаболит, регулирующий клеточный ответ на окружающую гипертоническую среду. При повышении внеклеточного давления МИ поступает в клетки как путём простой диффузии, так и с помощью сложной системы транспортёров: натриевых транспортёров МИ и H⁺-связанных транспортёров МИ [4–6]. Транспортёры инозитола были обнаружены в таких тканях, как почки, мозг, печень, поджелудочной железе, плаценте, сердце и скелетных мышцах [7, 8].

Инозитол является важным компонентом структурных липидов, а именно фосфатидилинозитола и его различных фосфатов, включая липиды фосфатидилинозитол фосфата [9]. МИ является компонентом мембраны эукариотических клеток в виде фосфатидил-миоинозитола, предшественника инозитол-3-фосфата, который действует как вторичный мессен-

джер в передаче нескольких эндокринных сигналов (внутриклеточного сигнала) от рецепторов.

По данным литературы известно, что десятки разновидностей рецепторов (например, рецепторы ГНРГ, ФСГ, ЛГ, гистаминовые, ГАМК и т. д.), будучи активированными, активируют специальные сигнальные белки фосфоинозитолкиназы (в т. ч. PI3K), приводящие к секреции кальция из эндоплазматического ретикулума клетки в цитозоль [10]. Кальций, диацилглицерол, циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) и различные фосфат-производные миоинозитола (фосфатидилинозитол и пр.) являются эссенциальными «вторичными сигналами», участвующими в регуляции каскадных механизмов, выполняющих биологические роли соответствующих рецепторов.

На сегодняшний день в литературе имеется большое количество публикаций о молекулярных механизмах действия миоинозитола и его клинических эффектах. В работе [11] представлены данные анализа публикаций по МИ, проведённого посредством современных методов интеллектуального анализа данных. Указано, что производные МИ участвуют в передаче сигналов от рецепторов ростовых факторов, рецептора инсулина [12], расщеплении жиров и снижении уровня холестерина в крови [13], модуляции активности нейротрансмиттеров [14] и др. Установлено, что миоинозитол вызывал достоверные изменения транскрипции (в среднем более 50 % на 10 мкмоль) 6516 генов, так что экспрессия 4085 генов повысилась, а экспрессия 2431 генов снизилась. D-хироинозитол стимулировал изменения транскрипции 6087 генов (экспрессия 4364 генов повысилась, экспрессия 1723 генов снизилась). D-хироинозитол является важным синергистом миоинозитола в 6 функциональных группах генов: (1) обмен жиров, (2) углеводный обмен, (3) функция щитовидной железы, (4) морфогенез, дифференцировка и выживание клеток, (5) нейропро-

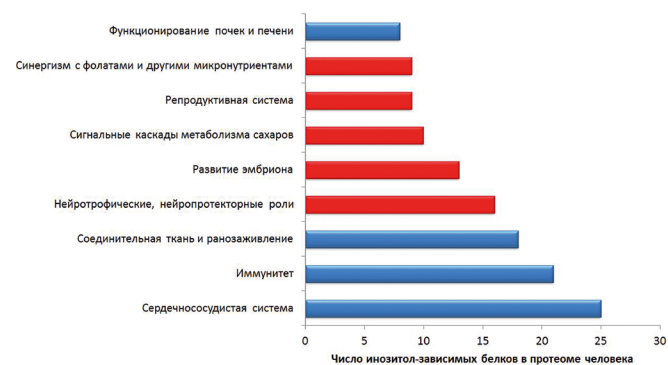


Рис. 2. Результаты анализа биологических и физиологических ролей белков, участвующих во внутриклеточной передаче сигнала посредством производных миоинозитола

Fig. 2. Results of the analysis of the biological and physiological roles of proteins involved in intracellular signal transmission through myo-inositol derivatives

текция и нейротрофичность, (6) структура и функция сосудов. Миоинозитола и D-хироинозитола изменяли экспрессию генов, вовлечённых в отклик организма на 49 лекарственных препаратов [15].

Анализ 120 миоинозитол-зависимых белков протеома человека показал, что более половины из этих белков включаются в работу иммунной, сердечно-сосудистой систем и соединительно-тканых структур (оказывая эффекты на поддержание состояния костей, хряща, кожи и процессы заживления ран). Между тем важно участие МИ в обмене сахаров (прежде всего, сигнальном каскаде инсулина) и в поддержании работы центральной нервной системы (включая нейротрофические и нейропротекторные роли, рис. 2) [10].

Участие миоинозитола в обмене сахаров / The participation of myoinositol in the exchange of sugars

МИ, являясь так называемым вторичным сигналом, совместно с ионами кальция и магния осуществляет передачу сигнала от инсулинового рецептора внутрь клеток различных тканей. Эти внутриклеточные процессы приводят к повышению экспрессии транспортера глюкозы (GLUT4), инициируют процессы адсорбции рецептора инсулина, стимулируют переработку углеводов и жиров для поддержания энергетического метаболизма клетки, тем самым снижая риск развития инсулинорезистентности, диабета, избыточной массы и ожирения. Ткани с высоким уровнем потребления глюкозы, такие как мозг и сердце, содержат большое количество МИ [16].

Уровни различных форм инозитола в моче являются биомаркерами для сахарного диабета (СД) 2 типа. В исследовании уровни МИ в моче у пациентов с СД были значительно выше (37 ± 37 нг/л), чем в контрольной группе (8 ± 13 нг/л, $p < 0,001$). Прогностическая значимость распознавания пациентов с СД по произведению уровней МИ на уровни коитинозитола в моче составила 84 % (доверительный интервал 79–89 %, $p < 0,001$) [17]. В исследовании 48 пациентов с СД 1 типа ($n = 24$) и 2 типа ($n = 24$) было показано, что у пациентов с уровнем HbA1c более 9 % уровни МИ плазмы, эритроцитов и тромбоцитов были значительно выше, чем значения в группе пациентов с уровнем HbA1c менее 9 % ($p < 0,01$) [18]. Повышение уровней МИ в крови и в моче при СД может объясняться по меньшей мере тремя различными точками зрения. Во-первых, повышение уровней МИ в моче может отображать насыщение тканей избытком МИ. Во-вторых, повышенные концентрации МИ и его производных в моче могут рассматриваться как некоторая защитная реакция организма на прогрессирующий СД. В-третьих, при СД может наблюдаться ускоренная элиминация МИ (вследствие потерь при нарастающей дисфункции почек), что обуславливает необходимость его восполнения за

счёт приёма специальных препаратов и продуктов питания. Имеющиеся данные экспериментальных и клинических работ по изучению уровней МИ при СД позволяют предположить большую вероятность именно последней гипотезы. Производные МИ обеспечивают передачу сигнала от рецепторов инсулина. Было изучено влияние приёма МИ на уровень инсулинорезистентности у пациенток с гестационным диабетом ($n = 69$). Пациентки были рандомизированы на получение МИ 4 саше (МИ 4000 мг/сут и фолиевая кислота 400 мкг/сут) или только фолиевой кислоты (контроль). Исследование показало, что приём МИ приводил к снижению уровней глюкозы натощак и инсулина. Резистентность к инсулину снизилась у 50 % участниц в основной группе и только у 29 % в контроле ($p = 0,0001$). МИ также способствовал повышению уровня адипонектина ($p = 0,009$) [19].

Миоинозитол и функционирование печени и почек / Myoinositol and liver and kidney function

МИ оказывает значительное воздействие на функционирование печени, способствуя реализации биологических эффектов фактора роста гепатоцитов, стимулирует секрецию желчи, профилактирует развитие стеатогепатита и цирроза печени.

МИ поддерживает функции почечных канальцев, осуществляющих реабсорбцию необходимых организму макро- и микронутриентов из первичной мочи. По данным исследования [20] в плазме крови МИ обнаруживается в концентрации 0,37–0,76 мг/дл (20,6–42,2 мкмоль/л, в среднем 28 мкмоль/л). Элиминация МИ с мочой резко возрастает при нарушениях обмена сахаров и при патологии почек: средний уровень МИ в моче у здоровых лиц составляет 5,6 мкг/мл, а у больных с почечной недостаточностью — 29 мкг/мл. Клиренс МИ у здоровых лиц составляет 2,8 мл/мин (при уровне реабсорбции 97 %), а у пациентов с почечной недостаточностью может достигать 17 мл/мин, что свидетельствует о повышении его выведения с мочой [21]. Пациенты с заболеваниями печени и почек должны быть знакомы со значением уровня МИ для поддержки здоровья.

Иммунная система и миоинозитол / The immune system and myoinositol

МИ важен для функционирования Т- и В-лимфоцитов, NK-лейкоцитов, макрофагов, нейтрофилов, тучных клеток, гранулоцитов, системы комплемента, интерферонов. Для МИ характерен и противовоспалительный эффект. Секреция провоспалительных факторов простагландина E2 (PGE2) и лейкотриена B4 (LTB4) мононуклеарными клетками периферической крови снижается при добавлении 600 мкмоль/л МИ в культуру [22].

МИ ингибирует киназы Akt и ERK, участвующие в онкопролиферативных процессах, что способствует

регрессии повреждений бронхов при употреблении никотина.

Изучались 206 биоптатов бронхов от пациентов с большим стажем курения ($n = 21$, возраст — 40–74 года, индекс курильщика >30 пачка/лет). В результате лечения МИ выявлено уменьшение фосфорилирования Akt ($p < 0,01$) и ERK ($p < 0,05$) [23].

Концентрация МИ в белом веществе мозга была повышена у исследуемых с рассеянным склерозом по сравнению с группой контроля ($3,31 \pm 0,86$ мМ и $3,82 \pm 1,06$ мМ, соответственно, $p = 0,001$) [24]. Энтеральный приём МИ повышал показатели нервной проводимости за счёт снижения аутоиммунного воспаления [25], активации антионкологического иммунитета [23].

Нарушение обмена МИ коррелируют с когнитивными нарушениями [26], депрессией [27], диабетической нейропатией [28] и др. Фундаментальные и клинические исследования доказали, что МИ необходим для поддержки нейрональной функции, включая синаптическую передачу и реализацию физиологических эффектов таких нейротрансмиттеров, как серотонин, дофамин, ГАМК, нейромедин. Миоинозитол необходим для нейрогенеза (нейротрофический эффект), нейропротекции (в т. ч. защиты клеток сетчатки глаза), осуществления процессов зрения, слуха, вкуса и долговременной потенциации в гиппокампе (поддержка памяти).

Нейротрофическое и нейропротекторное действие миоинозитола / Neurotrophic and neuroprotective effect of myo-inositol

Исследования пациентов с умеренными когнитивными нарушениями методом магнитно-резонансной спектроскопии, позволяющим оценивать уровни таких молекул, как N-ацетиласпартат, холин, МИ, глутамин, в ткани головного мозга пациентов указывают на значимые различия ($p < 0,05$) в значении отношения «МИ / вода» в левой лобной доле при когнитивных нарушениях при сравнении с контролем [26]. У пациентов с болезнью Альцгеймера выявлено повышение уровня МИ и соотношения «МИ / креатин» в теменной доле серого вещества [29].

Уровень МИ в головном мозге, определяемый посредством протонной магнитно-резонансной спектроскопии, считается маркером функции глиальных клеток [30, 31], непосредственно участвующим в процессах компенсации для снижения токсического воздействия печёночных метаболитов, которые преодолели гематоэнцефалический барьер. У пациентов с печёночной энцефалопатией отмечено значимое уменьшение соотношения концентрации МИ к креатину [32].

У пациентов с СД высокая вероятность развития таких нервно-психических заболеваний, как демен-

ция и депрессия. Изучение префронтальных уровней МИ и зрительно-пространственных функций среди пациентов СД с депрессией указало, что регуляция уровней нейронально-глиального метаболита МИ нарушена при когнитивных расстройствах, депрессии и диабете [33]. Отмечено снижение уровней МИ в префронтальной коре при большом депрессивном расстройстве. Исследования *postmortem* указали на существенные потери глии префронтальной коры при большом депрессивном расстройстве. Протонная магнитно-резонансная спектроскопия показала значительно более низкую пропорцию «МИ / креатин» у пациентов с большим депрессивным расстройством ($0,94 \pm 0,23$) по сравнению с группой контроля ($1,32 \pm 0,37$, $p = 0,016$). Снижение уровней МИ в префронтальной/передней поясной извилине при большом депрессивном расстройстве может быть следствием как потерь глии, так и изменённого глиального метаболизма [27]. Абнормальные уровни МИ наблюдаются при височной эпилепсии. Измерения посредством магнитно-резонансной спектроскопии указали на повышенные уровни МИ в височной доле, ипсилатеральной к очагу. В то же время содержание МИ было снижено в лобной доле [34]. Одним из возможных объяснений повышения уровня необходимого для глии и нейронов МИ при патологиях коры может являться воздействие патологии на МИ регулирующие гены/белки. Так, например, экспрессия (уровни мРНК) натрий-миоинозитол-котранспортёра SMIT-1 мРНК увеличивается в нейтрофилах пациентов с биполярным расстройством и уменьшается при лечении стабилизаторами настроения (карбонат лития и др.) [35]. Воздействие МИ и его 1,2,6-трифосфата на нервную проводимость изучалось на моделях стрептозотоцинового диабета. Три недели экспериментально вызванного сахарного диабета приводили к значительному снижению скорости нервной проводимости по сравнению с контрольной группой. В то же время приём добавок МИ (2000 мг/кг/сут) в ходе всего исследования достоверно предотвращал это снижение [36]. Нарушения проводимости нерва при диабетической нейропатии у человека также связывают с нарушениями метаболизма МИ [28]. Воздействие миоинозитола на метаболизм и биологическую активность возбуждающих и тормозящих нейротрансмиттеров позволяет предположить, что МИ может быть рекомендован пациентам с нейрехимическими нарушениями (как правило, это психиатрические пациенты). Предварительные результаты исследований показали, что высокие дозы очищенного МИ могут назначаться при булимии, паническом расстройстве, обсессивно-компульсивном расстройстве, агорафобии, однополярной и биполярной депрессии. Например, в двойном слепом исследовании эффективность МИ (18 г/сут) в отношении улучшения симптомов обсессивно-компульсивного расстройства была сопоставима с повсеместно используемыми, но более опасными селективными ингибиторами обратного захвата серо-

тонина, при этом побочные эффекты от приёма МИ практически отсутствовали [37]. В другом двойном слепом контролируемом исследовании МИ (18 г/сут) показал лучшую эффективность, чем флувоксамин (с точки зрения снижения количества приступов паники и других побочных эффектов) [38]. Применение 12 г/сут МИ в двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании у пациентов с депрессией привело к значительному улучшению симптомов, без негативных изменений в печени, почках или гематологических функциях [39].

Миоинозитол и эмбриогенез и развитие плода / Myoinositol and embryogenesis and fetal development

Нарушения нейруляции связаны с недостатком не только фолатов, но и витаминов А, В₆, В₁₂, цинка и МИ [40]. Важность применения МИ для профилактики ДНТ связано с тем, что производные МИ принимают комплексное участие в функционировании репродуктивной системы (формировании овуляторных циклов, зрелых ооцитов, эмбриогенезе и развитии плода [41]), применяются для профилактики экстрагенитальной патологии у беременной. Участие МИ и его производных в обеспечении функционирования рецепторов инсулина, гонадолиберина, ФСГ, ЛГ, факторов роста нервной ткани и др. обеспечивает не только нормальный ход эмбриогенеза и развития плода, но и функционирование сердечно-сосудистой, нервной систем, печени и почек [10].

В экспериментальных работах изучена эффективность введения МИ для профилактики пороков развития. Фермент инозитол 1,3,4-трифосфат 5/6-киназа (ген *Itpk1*) является ключевым регуляторным ферментом синтеза сигнальной молекулы инозитолгексакисфосфата (IP₆) — внутриклеточной сигнальной молекулы, участвующей в регуляции ионных каналов, транспорте нутриентов и строительных материалов через клеточную мембрану (эндоцитоз, экзоцитоз), транскрипции и репарации ДНК [42]. При делеции/инактивации гена *Itpk1* в эмбрионах животных часто обнаруживали дефекты нервной трубки (ДНТ), осевые дефекты скелета, замедленный рост и повышенную гибель нейронов. Миоинозитол-зависимый фермент *Itpk1* необходим для адекватного развития нервной трубки и профилактики ДНТ [43]. В эксперименте ДХИ был более эффективен, чем МИ, в профилактике фолат-резистентных ДНТ у мышей. ДХИ уменьшал риск развития *spinabifida* у мышей на 73–86 %, а МИ — только на 53–56 % [44]. МИ защищает нейроны от глутамата [45].

Большая роль МИ в профилактике ВПР, связанных с инсулинорезистентностью: МИ участвуют в процессах передачи сигнала от инсулинового рецептора [46]. Истощение миоинозитола в эмбриональной ткани на этапе органогенеза играет, по всей види-

мости, важную роль в индуцировании эмбриопатий, вызываемых гипергликемией. В эксперименте с моделями стрептозоцинового диабета содержание миоинозитола в эмбрионах было снижено на 36 % ($p = 0,01$) по сравнению с контролем и было ассоциировано с задержкой развития (длина эмбриона $3,37 \pm 0,04$ мм, контроль — $3,87 \pm 0,03$ мм, $p = 0,01$; число сомитов — $27,5 \pm 0,2$, контроль — $29,1 \pm 0,2$, $p = 0,01$) и значительно повышенной частотой нейронных повреждений (17,6 %, контроль — 1,9 %, $p < 0,001$) [47].

МИ способствует снижению инсулинорезистентности и одновременно весьма важен для преодоления негативного воздействия повышенных уровней глюкозы на нейроны. В эксперименте, приём МИ приводил к значительному снижению частоты развития ДНТ в модели стрептозоцинового диабета (9,5 %, контроль — 20,4 %, $p < 0,05$) [48].

Воздействие МИ на процессы роста эмбриона неразрывно связано с активностью сигнального белка *протеинкиназы С*, которая поддерживает передачу сигнала от белковых ростовых факторов, гормонов и нейротрансмиттеров (простагландинов, адреналина, ацетилхолина, серотонина, ангиотензина и др.), регулирует вазодилатацию и гликолиз, и принципиально важна для процессов роста эмбриона. В эксперименте, проведённом во время нейруляции, было установлено, что противодействие МИ формированию ДНТ связано с активностью РКС-бета1 и РКС-гамма [49].

Особым преимуществом профилактики ВПР МИ является его высокий уровень безопасности — в дозе 12 г/сут МИ вызывает лёгкие нежелательные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта (тошнота, метеоризм, диарея) у отдельных пациенток [50]. В клинической практике препараты МИ назначаются в дозах от 0,5 до 4,0 г/сут.

Роль D-хироинозитола в организме человека / The role of D-chiroinositol A in the human body

За последние годы отмечен рост количества исследований ДХИ (в 2016 г. — 20 исследований, в 2022 г. — 322 исследования). Был проведён систематический компьютерный анализ 45 600 публикаций о биологической роли инозитолов методами топологической теории распознавания и системно-биологического анализа белков протеома человека. В ходе систематического анализа литературы выделены 45 информативных биомедицинских терминов, характерных для публикаций по ДХИ (запрос D-chiroinositol OR D-chiroinositol OR 1D-chiroinositol в базе данных PubMed) по сравнению с публикациями по МИ (статьи, найденные по запросу myoinositol NOT D-chiroinositol NOT D-chiroinositol NOT 1D-chiroinositol).

Обмен ДХИ тесно взаимосвязан с такими процессами, как инсулино- и глюкозорезистентность, воспаление, метаболизм андрогенов и эстрогенов,

созревание ооцитов, нарушения обмена нейротрансмиттеров. Обмен ДХИ и МИ нарушается на фоне инсулинорезистентности (ИР), в том числе у пациенток с синдромом поликистозных яичников (СПЯ) [51].

В эксперименте указано, что ДХИ значительно улучшал обмен глюкозы у мышей линии Db/Db с СД [52]. У пациенток с инсулинозависимым СД повышалась суточная экскреция ДХИ с мочой [53]. Важной особенностью ДХИ является его роль в реализации клинических эффектов метформина [51].

Дотации ДХИ у пациенток с СПЯ приводят к понижению уровней антимюллерова гормона (АМГ) в сыворотке и улучшению параметров обмена инсулина [54]. Дотации ДХИ (600 мг/сут в течение 6–8 нед.) у женщин с СПЯ и нормальным ИМТ улучшали результаты нагрузочного теста глюкозой ($p = 0,03$), снижали уровень сывороточного тестостерона и способствовали восстановлению овуляции [55]. Дотация ДХИ в большей дозе (1200 мг/сут, 6–8 нед.) усиливала эффекты инсулина у пациенток с СПЯ [56]. ДХИ обладает гепатопротективными свойствами [57]: он улучшал секрецию желчных кислот и ослаблял холестаз после перевязки желчных протоков у крыс в исследовании [58]. Дотации ДХИ и МИ способствуют повышению чувствительности клеток к инсулину и нормализации метаболизма андрогенов [51]. ДХИ является важным синергистом МИ в 6 функциональных группах генов.

Миоинозитол и ДХИ оказывают положительное действие на состояние кожи, волос и ногтей за счёт нормализации передачи «инсулиновых» сигналов и поддержки процессов дифференцировки и роста различных типов клеток кожи (кератиноцитов, фибробластов, эпителиоцитов и т. д.). В области раны электротаксис кератиноцитов осуществляется через миоинозитол-зависимый белок PI3K γ . Делеция гена PI3K γ уменьшает способность кератиноцитов передвигаться под воздействием электрического поля и нарушает процесс заживления ран [59].

Нейроцитологическое исследование нейропротекторного эффекта миоинозитола / A neurocytological study of the neuroprotective effect of myo-inositol

Нейроцитологические исследования позволяют установить прямые нейропротекторные эффекты препаратов при разных стрессорных воздействиях (при ишемии головного мозга таковыми являются энергетический дефицит, нейротоксичность глутамата, окислительный стресс, дисфункция митохондрий, метаболический ацидоз) [60] и выявлять действие препаратов на конкретные факторы стресса, доказать непосредственное действие исследуемого препарата именно на выживание нейронов (а не на другие типы клеток) [61, 62].

Большое количество эндогенных активностей МИ позволяет предположить, что МИ может оказывать и

более определённые влияния на сигнальные каскады выживания нейронов в условиях стресса.

В эксперименте методом нейроцитологии проведена валидация нейропротекторных эффектов МИ в условиях глутаматного стресса при внутриутробном развитии головного мозга [45].

Исследования проводились на зернистых нейронах мозжечка новорождённых крыс, выращиваемых в культуре в условиях глутаматного стресса. Количественную оценку выживаемости клеток производили с помощью прямого подсчёта живых нейронов. Клетки-зерна легко идентифицировать прижизненно как небольшие, 7–10 мкм в диаметре, округлые или овальные нейроны. При окраске фиксированных культур трипановым синим хорошо видны ядра КЗН, занимающие большую часть тел нейронов и окруженные тонким ободком цитоплазмы (рис. 3). В ходе исследования было использовано 1 920 культур и произведены подсчёты более чем для 200 тыс. нейронов.

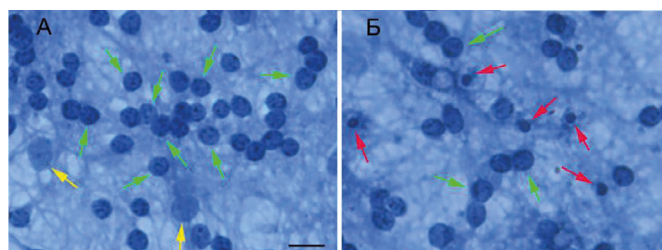


Рис. 3. Первичная диссоциированная фиксированная культура клеток мозжечка, окрашенная трипановым синим. А — контроль, Б — обработка 24 ч глутаматом (L-Glutamic acid monosodium salt 99–100 %, Sigma, USA, N.G-1626)

Fig. 3. Primary dissociated fixed culture of cerebellar cells stained with trypan blue. A — control, B — 24-hour treatment with glutamate (L-Glutamic acid monosodium salt 99–100 %, Sigma, USA, N.G-1626)

Примечания: Зелёные стрелки указывают на зернистые нейроны с нормальной морфологией, жёлтые — на ядра глиальных клеток, красные показывают пикнотические ядра погибших нейронов. Масштаб 15 мкм.

Notes: Green arrows indicated granular neurons with normal morphology, yellow ones indicated the nuclei of glial cells, red ones showed the pycnotic nuclei of dead neurons. The scale is 15 microns

Миоинозитол не проявлял токсических эффектов и не влиял на выживаемость КЗН в контрольной группе (т. е. без добавления глутамата, рис. 4). При воздействии глутамата миоинозитол в концентрации 0,2–0,5 мМ достоверно повышал выживаемость нейронов на 12...17 %, $p = 0,01$ (0,2 мМ миоинозитола — $54,9 \pm 2,6$ %; 0,5 мМ миоинозитола — $59,1 \pm 2,9$ %, контроль — $42,6 \pm 2,2$ %, рис. 4). Примеры изображений обсеянных культур нейронов приведены на рис. 5.

Результаты исследования доказывают прямое нейропротекторное действие МИ на нейроны мозга плода. Во-первых, воспроизведение глутаматного стресса физиологически адекватно моделирует условия умеренной ишемии мозга, возникающей при

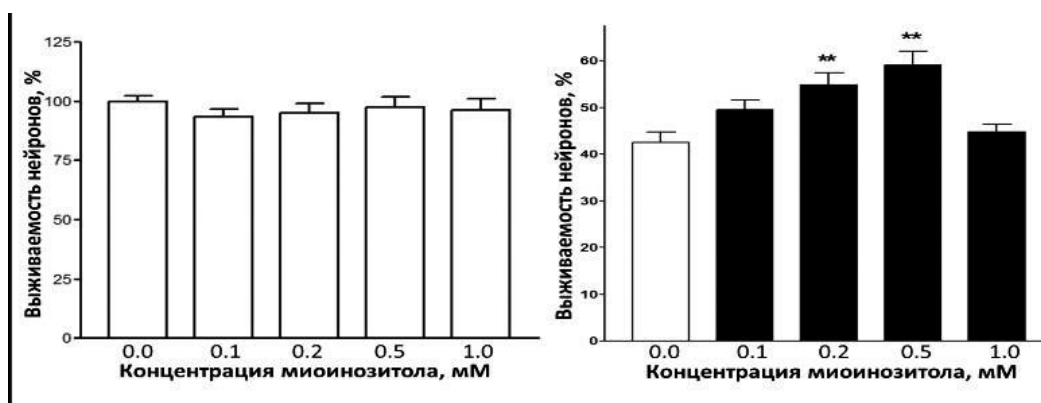


Рис. 4. Результаты нейробиологических исследований миоинозитола

Fig. 4. The results of neurophysiological studies of myoinositol

Примечания: Белые столбики — результаты «холостого эксперимента» (в отсутствие глутамата), чёрные — действие миоинозитола в условиях глутаматной токсичности (100мкМ). ** — $p < 0,01$ по сравнению с действием глутамата без добавления вещества. Количество просчитанных полей зрения — 36–45.

Notes: The white columns are the results of the "idle experiment" (in the absence of glutamate), the black ones are the effect of myoinositol under conditions of glutamate toxicity (100 microns). ** — $p < 0.01$ compared to the action of glutamate without the addition of a substance. The number of calculated fields of views is 36–45.

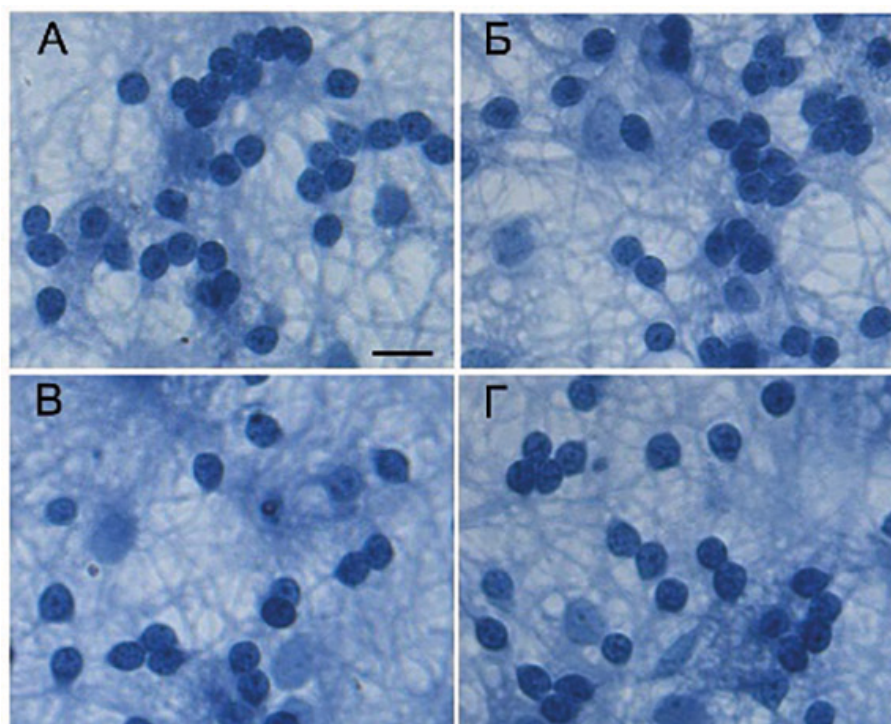


Рис. 5. Действие миоинозитола на выживаемость КЗН при глутаматной токсичности: А — контроль; Б — №3 (0,5 мМ); В — глутамат (100 мкМ); Г — №3 (0,5 мМ) на фоне глутамата (100 мкМ)

Fig. 5. The effect of myonositol on the survival of KZN with glutamate toxicity: А — control; Б — No. 3 (0.5 mM); В — glutamate (100 mkM); Г — No. 3 (0.5 mM) on the background of glutamate (100 mkM)

Примечания: Фиксированные культуры, окрашенные трипановым синим. Масштаб — 15 мкм.
Notes: Fixed crops colored with trypan blue. The scale is 15 microns.

внутриутробном развитии плода. Во-вторых, изучение воздействия МИ непосредственно на нейроны, без прохождения через центральное кровообращение, печень и другие системы организма, позволяет доказать, что именно МИ проявляет нейропротекторное действие [45].

Заключение / Conclusion

Миоинозитол необходим для синтеза инозитол-фосфатов и фосфатидилинозитоловых липидов, которые опосредуют передачу сигнала от рецепторов ростовых факторов и нейротрансмиттеров внутрь клетки. Эти производные миоинозитола крайне важны для мозга, т. к. обеспечивают адекватную коммуникацию между нейронами, снижают хроническую ишемию нейронов и противодействуют глюкозотолератности.

Кроме того, миоинозитол за счёт реализации биологических эффектов фактора роста гепатоцитов, стимуляции секреции желчи, противовоспалительного компонента может использоваться для профилактики развития стеатогепатита и цирроза печени. Возможно использование МИ как для профилактики гестационного диабета и лечения синдрома поликистозных яичников у женщин с ожирением и стеатогепатитом.

Из-за сложных механизмов действия инозитола его терапевтический потенциал всё ещё находится в стадии изучения. Продолжаются исследования по выявлению неизученных функций и механизмов действия инозитола при лечении заболеваний связанных с перегрузкой железом печени и других органов, которые откроют новые перспективы его применения в клинической практике.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Богачева Татьяна Евгеньевна

к. м. н., доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО Ивановский ГМУ Минздрава России, Иваново, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5042-4886>

Tatiana E. Bogacheva

PhD, Cand. Sci. Med., Associate Professor of the Department of Pharmacology of the FSBEI HE «Ivanovo SMU» of MOH of Russia, Ivanovo, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5042-4886>

Громова Ольга Алексеевна

Автор, ответственный за переписку

д. м. н., профессор, в. н. с. ФИЦ ИУ РАН, Москва, Российская Федерация
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>
РИНЦ SPIN-код: 6317-9833

Olga A. Gromova

Corresponding author

Dr. Sci. (Med.), Professor, Leading researcher FRC CSC RAS, Moscow, Russian Federation
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>
RSCI SPIN code: 6317-9833

Торшин Иван Юрьевич

к. ф.-м. н., к. х. н., в. н. с. ФИЦ ИУ РАН, Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>
РИНЦ SPIN-код: 1375-1114

Ivan Yu. Torshin

PhD, Cand. Physico-Mathematical Sci., Cand. Chemical Sci., Leading researcher FRC CSC RAS, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>
RSCI SPIN code: 1375-1114

Список литературы / References

1. Dinicola S, Minini M, Unfer V, et al. Nutritional and Acquired Deficiencies in Inositol Bioavailability. Correlations with Metabolic Disorders. *Int J Mol Sci*. 2017 Oct 20;18(10):2187. doi: 10.3390/ijms18102187.
2. Wong YH, Kalmbach SJ, Hartman BK, Sherman WR. Immunohistochemical staining and enzyme activity measurements show myo-inositol-1-phosphate synthase to be localized in the vasculature of brain. *J Neurochem*. 1987 May;48(5):1434-42. doi: 10.1111/j.1471-4159.1987.tb05682.x.
3. Loewus MW, Loewus FA, Brillinger GU, et al. Stereochemistry of the myo-inositol-1-phosphate synthase reaction. *J Biol Chem*. 1980 Dec 25;255(24):11710-2.

4. Kwon HM, Yamauchi A, Uchida S, et al. Cloning of the cDNA for a Na⁺/myo-inositol cotransporter, a hypertonicity stress protein. *J Biol Chem*. 1992 Mar 25;267(9):6297-301.
5. Hitomi K, Tsukagoshi N. cDNA sequence for rKST1, a novel member of the sodium ion-dependent glucose cotransporter family. *Biochim Biophys Acta*. 1994 Mar 23;1190(2):469-72. doi: 10.1016/0005-2736(94)90110-4.
6. Garzon S, Laganà AS, Monastera G. Risk of reduced intestinal absorption of myo-inositol caused by D-chiro-inositol or by glucose transporter inhibitors. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2019 Sep;15(9):697-703. doi: 10.1080/17425255.2019.1651839.
7. Berry GT, Mallee JJ, Kwon HM, et al. The human osmoregulatory Na⁺/myo-inositol cotransporter gene (SLC5A3): molecular cloning and

- localization to chromosome 21. *Genomics*. 1995 Jan 20;25(2):507-13. doi: 10.1016/0888-7543(95)80052-n.
8. Miyakawa H, Woo SK, Dahl SC, et al. Tonicity-responsive enhancer binding protein, a rel-like protein that stimulates transcription in response to hypertonicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Mar 2;96(5):2538-42. doi: 10.1073/pnas.96.5.2538.
9. Majumder A, Biswas B. (Eds.) Biology of inositols and phosphoinositides. Subcellular Biochemistry. Springer: New York, NY, USA, 2006.
10. Лиманова О.А., Громова О.А., Торшин И.Ю., и др. Систематический анализ молекулярно-физиологических эффектов мио-инозитола: данные молекулярной биологии, экспериментальной и клинической медицины. *Эффективная фармакотерапия*. 2013;28:32-41. [Limanova OA, Gromova OA, Torshin IYu, et al. Systematic analysis of molecular mechanisms and physiological effects of myo-inositol: findings of molecular biology, experimental and clinical medicine. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2013;28:32-41. (In Russ.)].
11. Larner J. D-chiro-inositol--its functional role in insulin action and its deficit in insulin resistance. *Int J Exp Diabetes Res*. 2002;3(1):47-60. doi: 10.1080/15604280212528.
12. Rapijko PJ, Northup JK, Evans T, et al. G-proteins of fat-cells. Role in hormonal regulation of intracellular inositol 1,4,5-trisphosphate. *Biochem J*. 1986 Nov 15;240(1):35-40. doi: 10.1042/bj2400035.
13. Clements RS Jr, Darnell B. Myo-inositol content of common foods: development of a high-myo-inositol diet. *Am J Clin Nutr*. 1980 Sep;33(9):1954-67. doi: 10.1093/ajcn/33.9.1954.
14. Hurrell RF. Influence of vegetable protein sources on trace element and mineral bioavailability. *J Nutr*. 2003 Sep;133(9):2973S-7S. doi: 10.1093/jn/133.9.2973S.
15. Торшин И.Ю., Громова О.А., Тетруашвили Н.К. Хемотранскриптомный анализ синергизма D-хироинозитола и миоинозитола в контексте постгеномной фармакологии. *Акушерство и гинекология*. 2022;(9):135-145. [Torshin IYu, Gromova OA, Tetruashvili NK. Chemotranscriptome analysis of synergism between D-chiroinositol and myoinositol in the context of postgenomic pharmacology. *Obstetrics and gynecology*. 2022;(9):135-145. (In Russ.)]. doi: 10.18565/aig.2022.9.135-145.
16. Bevilacqua A, Bizzarri M. Inositols in Insulin Signaling and Glucose Metabolism. *Int J Endocrinol*. 2018 Nov 25;2018:1968450. doi: 10.1155/2018/1968450.
17. Hong JH, Jang HW, Kang YE, et al. Urinary chiro- and myo-inositol levels as a biological marker for type 2 diabetes mellitus. *Dis Markers*. 2012;33(4):193-9. doi: 10.3233/DMA-2012-0925.
18. Hacibekiroğlu M, Akçay T. The role of plasma, erythrocyte and platelet myo-inositol levels in the development of diabetic microangiopathy. *Diabetes Res*. 1994;25(4):173-9.
19. Corrado F, D'Anna R, Di Vieste G, Giordano D, Pintauro B, Santamaria A, Di Benedetto A. The effect of myoinositol supplementation on insulin resistance in patients with gestational diabetes. *Diabet Med*. 2011 Aug;28(8):972-5. doi: 10.1111/j.1464-5491.2011.03284.x.
20. Доброхотова Ю.Э., Громова О.А., Духанин А.С. и др. Инозитолы: фармакология и данные клинических исследований. Современное состояние вопроса и перспективы. *РМЖ. Мать и дитя*. 2022;5(4):309-319. [Dobrokhotova YuE, Gromova OA, Dukhanin AS et al. Inositols: pharmacology and findings of clinical trials. Current evidence and prospects. *Russian Journal of Woman and Child Health*. 2022;5(4):309-319 (In Russ.)]. doi: 10.32364/2618-8430-2022-5-4-309-319.
21. Melmed S, Lewin LM, Bank H. Myo-inositol clearance in renal failure and in patients with normal kidney function. *Am J Med Sci*. 1977 Jul-Aug;274(1):55-9. doi: 10.1097/0000441-197707000-00007.
22. Rysz J, Bartnicki P, Błaszczyk R, Kujawski K, Ciałkowska-Rysz A, Olszewski R, Markuszewski L. Przeciwpalne działanie mioinozytolu w przewlekłej niewydolności nerek [Anti-inflammatory action of myoinositol in renal insufficiency]. *Pol Merkur Lekarski*. 2006 Feb;20(116):180-3. Polish.
23. Han W, Gills JJ, Memmott RM, et al. The chemopreventive agent myoinositol inhibits Akt and extracellular signal-regulated kinase in bronchial lesions from heavy smokers. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2009 Apr;2(4):370-6. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-08-0209.
24. Fernando KT, McLean MA, Chard DT, et al. Elevated white matter myo-inositol in clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Brain*. 2004 Jun;127(Pt 6):1361-9. doi: 10.1093/brain/awh153.
25. Young GB, Hader WJ, Hiscock M, et al. The role of myo-inositol in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1986 Mar;49(3):265-72. doi: 10.1136/jnnp.49.3.265.
26. Walecki J, Barcikowska M, Ćwikła JB, Gabryelewicz T. N-acetylaspartate, choline, myoinositol, glutamine and glutamate (glx) concentration changes in proton MR spectroscopy (1H MRS) in patients with mild cognitive impairment (MCI). *Med Sci Monit*. 2011 Dec;17(12):MT105-11. doi: 10.12659/msm.882112.
27. Coupland NJ, Ogilvie CJ, Hegadoren KM, et al. Decreased prefrontal Myo-inositol in major depressive disorder. *Biol Psychiatry*. 2005 Jun 15;57(12):1526-34. doi: 10.1016/j.biopsych.2005.02.027.
28. Holub BJ. Metabolism and function of myo-inositol and inositol phospholipids. *Annu Rev Nutr*. 1986;6:563-97. doi: 10.1146/annurev.nu.06.070186.003023.
29. Zhu X, Schuff N, Kornak J, et al. Effects of Alzheimer disease on fronto-parietal brain N-acetyl aspartate and myo-inositol using magnetic resonance spectroscopic imaging. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2006 Apr-Jun;20(2):77-85. doi: 10.1097/01.wad.0000213809.12553.fc.
30. Kallenberg K, Bock HC, Helms G, et al. Untreated glioblastoma multiforme: increased myo-inositol and glutamine levels in the contralateral cerebral hemisphere at proton MR spectroscopy. *Radiology*. 2009 Dec;253(3):805-12. doi: 10.1148/radiol.2533071654.
31. Siger M, Schuff N, Zhu X, et al. Regional myo-inositol concentration in mild cognitive impairment Using 1H magnetic resonance spectroscopic imaging. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2009 Jan-Mar;23(1):57-62. doi: 10.1097/WAD.0b013e3181875434.
32. Herman-Mioinoytolu w widmie metabolicznym mózgowia (HMRS) u pacjentów z encefalopatią wątrobową [Myoinositol trends in HMRS brain spectrum of patients with hepatic encephalopathy]. *Przegl Lek*. 2010;67(4):247-50. Polish.
33. Haroon E, Watari K, Thomas A, et al. Prefrontal myo-inositol concentration and visuospatial functioning among diabetic depressed patients. *Psychiatry Res*. 2009 Jan 30;171(1):10-9. doi: 10.1016/j.psychres.2008.03.006.
34. Wellard RM, Briellmann RS, Prichard JW, et al. Myoinositol abnormalities in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2003 Jun;44(6):815-21. doi: 10.1046/j.1528-1157.2003.44102.x.
35. Willmroth F, Drieling T, Lamla U, et al. Sodium-myo-inositol co-transporter (SMIT-1) mRNA is increased in neutrophils of patients with bipolar I disorder and down-regulated under treatment with mood stabilizers. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2007 Feb;10(1):63-71. doi: 10.1017/S1461145705006371.
36. Carrington AL, Calcutt NA, Ettlinger CB, et al. Effects of treatment with myo-inositol or its 1,2,6-trisphosphate (PP56) on nerve conduction in streptozotocin-diabetes. *Eur J Pharmacol*. 1993 Jun 24;237(2-3):257-63. doi: 10.1016/0014-2999(93)90277-o.
37. Fux M, Levine J, Aviv A, Belmaker RH. Inositol treatment of obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry*. 1996 Sep;153(9):1219-21. doi: 10.1176/ajp.153.9.1219.
38. Palatnik A, Frolov K, Fux M, Benjamin J. Double-blind, controlled, crossover trial of inositol versus fluvoxamine for the treatment of panic disorder. *J Clin Psychopharmacol*. 2001 Jun;21(3):335-9. doi: 10.1097/00004714-200106000-00014.
39. Levine J, Barak Y, Gonzales M, et al. Double-blind, controlled trial of inositol treatment of depression. *Am J Psychiatry*. 1995 May;152(5):792-4. doi: 10.1176/ajp.152.5.792.
40. Cavalli P, Tonni G, Grosso E, Poggiani C. Effects of inositol supplementation in a cohort of mothers at risk of producing an NTD pregnancy. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2011 Nov;91(11):962-5. doi: 10.1002/bdra.22853.
41. Beemster P, Groenen P, Steegers-Theunissen R. Involvement of inositol in reproduction. *Nutr Rev*. 2002 Mar;60(3):80-7. doi: 10.1301/00296640260042748.
42. Majerus PW, Wilson DB, Zhang C, et al. Expression of inositol 1,3,4-trisphosphate 5/6-kinase (ITPK1) and its role in neural tube defects. *Adv Enzyme Regul*. 2010;50(1):365-72. doi: 10.1016/j.advenzreg.2009.10.017.
43. Wilson MP, Hugge C, Bielinska M, et al. Neural tube defects in mice with reduced levels of inositol 1,3,4-trisphosphate 5/6-kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Jun 16;106(24):9831-5. doi: 10.1073/pnas.0904172106.
44. Cogram P, Tesh S, Tesh J, et al. D-chiro-inositol is more effective than myo-inositol in preventing folate-resistant mouse neural tube defects. *Hum Reprod*. 2002 Sep;17(9):2451-8. doi: 10.1093/humrep/17.9.2451.
45. Калачева А.Г., Торшин И.Ю., Стельмашук Е.В., и др. Нейропротекторное действие миоинозитола на клеточной модели глутаматного стресса как основа для профилактики нарушений внутриутробного развития головного мозга. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2018;(3):9-20. [Kalacheva AG, Torshin IYu, Stelmashuk EV, et al. Neuroprotective effect of myoinositol on the cellular model of glutamate stress as a basis for the prevention of disorders of intrauterine development of the brain. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2018;(3):9-20. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2587-7836-2018-10018.

46. Eriksson UJ, Wentzel P. Diabetic embryopathy. *Methods Mol Biol.* 2012;889:425-36. doi: 10.1007/978-1-61779-867-2_26.
47. Akashi M, Akazawa S, Akazawa M, et al. Effects of insulin and myo-inositol on embryo growth and development during early organogenesis in streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes.* 1991 Dec;40(12):1574-9. doi: 10.2337/diab.40.12.1574.
48. Khandelwal M, Reece EA, Wu YK, Borenstein M. Dietary myo-inositol therapy in hyperglycemia-induced embryopathy. *Teratology.* 1998 Feb;57(2):79-84. doi: 10.1002/(SICI)1096-9926(199802)57:2<79::AID-TERA6>3.0.CO;2-1.
49. Cogram P, Hynes A, Dunlevy LP, et al. Specific isoforms of protein kinase C are essential for prevention of folate-resistant neural tube defects by inositol. *Hum Mol Genet.* 2004 Jan 1;13(1):7-14. doi: 10.1093/hmg/ddh003.
50. Carlomagno G, Unfer V. Inositol safety: clinical evidences. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2011 Aug;15(8):931-6. PMID: 21845803.
51. Громова О.А., Торшин И.Ю., Уварова Е.В. и др. Систематический анализ биологических ролей и фармакологических свойств D-хироинозитола. *Гинекология.* 2020;22(3):21-28. [Gromova OA, Torshin IYu, Uvarova EV, et al. Systematic analysis of the biological roles and pharmacological properties of D-chiro-inositol. *Gynecology.* 2020;22(3):21-28. (In Russ.)]. doi: 10.26442/20795696.2020.3.200210.
52. Fan C, Liang W, Wei M, et al. Effects of D-Chiro-Inositol on Glucose Metabolism in db/db Mice and the Associated Underlying Mechanisms. *Front Pharmacol.* 2020 Mar 26;11:354. doi: 10.3389/fphar.2020.00354.
53. Ostlund RE Jr, McGill JB, Herskowitz I, et al. D-chiro-inositol metabolism in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 Nov 1;90(21):9988-92. doi: 10.1073/pnas.90.21.9988.
54. La Marca A, Grisendi V, Dondi G, et al. The menstrual cycle regularization following D-chiro-inositol treatment in PCOS women: a retrospective study. *Gynecol Endocrinol.* 2015 Jan;31(1):52-6. doi: 10.3109/09513590.2014.964201.
55. Iuorno MJ, Jakubowicz DJ, Baillargeon JP, et al. Effects of d-chiro-inositol in lean women with the polycystic ovary syndrome. *Endocr Pract.* 2002 Nov-Dec;8(6):417-23. doi: 10.4158/EP.8.6.417.
56. Nestler JE, Jakubowicz DJ, Reamer P, et al. Ovulatory and metabolic effects of D-chiro-inositol in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med.* 1999 Apr 29;340(17):1314-20. doi: 10.1056/NEJM199904293401703.
57. Cheng F, Han L, Xiao Y, et al. d- chiro-Inositol Ameliorates High Fat Diet-Induced Hepatic Steatosis and Insulin Resistance via PKCε-PI3K/AKT Pathway. *J Agric Food Chem.* 2019 May 29;67(21):5957-5967. doi: 10.1021/acs.jafc.9b01253.
58. Zhao SS, Li NR, Zhao WL, et al. D-chiro-inositol effectively attenuates cholestasis in bile duct ligated rats by improving bile acid secretion and attenuating oxidative stress. *Acta Pharmacol Sin.* 2018 Feb;39(2):213-221. doi: 10.1038/aps.2017.98.
59. Zhao M, Song B, Pu J, et al. Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase-gamma and PTEN. *Nature.* 2006 Jul 27;442(7101):457-60. doi: 10.1038/nature04925.
60. Guo MF, Yu JZ, Ma CG. Mechanisms related to neuron injury and death in cerebral hypoxic ischaemia. *Folia Neuropathol.* 2011;49(2):78-87.
61. Функциональная ангиоархитектоника головного мозга / И.В. Ганнушкина, В.П. Шафранова, Т.В. Рясина ; Акад. мед. наук СССР. Москва : Медицина, 1977. 240 с. [Funkcional'naya angioarhitektonika golovnogo mozga. Gannushkina IV, Shafranova VP, Riasina TV. AMN SSSR. Moscow: Medicina. 1977. (In Russ.)].
62. Hernández-Fonseca K, Cárdenas-Rodríguez N, Pedraza-Chaverri J, Massieu L. Calcium-dependent production of reactive oxygen species is involved in neuronal damage induced during glycolysis inhibition in cultured hippocampal neurons. *J Neurosci Res.* 2008 Jun;86(8):1768-80. doi: 10.1002/jnr.21634.



Изучение мнемотропной и антидепрессантоподобной активности низкомолекулярного миметика фактора роста нервов дипептида ГК-2 в условиях экспериментального ишемического инсульта у крыс

© Поварнина П. Ю., Сазонова Н. М., Никифоров Д. М., Гудашева Т. А., Дорофеев В. Л.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF), обладающий нейропротекторными и нейрорегенеративными свойствами, перспективен для разработки на его основе препаратов для лечения постинсультного состояния. ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» был сконструирован и синтезирован димерный дипептидный миметик NGF, получивший лабораторный шифр ГК-2, который в условиях экспериментальной церебральной ишемии выраженно снижал объем инфаркта мозга и стимулировал нейро- и синаптогенез.

Цель. Целью настоящего исследования стало изучение действия ГК-2 в отношении экспериментальной постинсультной деменции и депрессии.

Методы. Ишемический инсульт моделировали с помощью окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА) на крысах Wistar. ГК-2 вводили в дозе 0,5 мг/кг, внутрибрюшинно, в течение 21 дня после ОСМА. Через 30–40 дней после ОСМА кратковременную и долговременную память животных оценивали в тесте распознавания нового объекта, депрессивноподобное состояние — в тесте вынужденного плавания и тесте предпочтения раствора сахара.

Результаты. У животных группы «ОСМА» по сравнению с ложнооперированными животными была статистически значимо ухудшена (на 80 %) кратковременная и долговременная память, а также наблюдались поведенческие признаки депрессивноподобного состояния (увеличение времени имобильности на 50 % и снижение предпочтения раствора сахара на 30 %). Дипептид ГК-2 полностью предотвращал развитие всех этих нарушений.

Заключение. Таким образом, дипептидный миметик NGF ГК-2 противодействует развитию когнитивных и психоэмоциональных нарушений в условиях экспериментального инсульта.

Ключевые слова: NGF; дипептидный миметик; ишемический инсульт; антидепрессантоподобная активность; мнемотропная активность

Для цитирования:

Поварнина П. Ю., Сазонова Н. М., Никифоров Д. М., Гудашева Т. А., Дорофеев В. Л. Изучение мнемотропной и антидепрессантоподобной активности низкомолекулярного миметика фактора роста нервов дипептида ГК-2 в условиях экспериментального ишемического инсульта у крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2024;(1):14–22. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-14-22>. EDN: LBOTWJ.

Поступила: 01.03.2024. **В доработанном виде:** 10.03.2024. **Принята к печати:** 24.03.2024. **Опубликована:** 31.03.2024.

A study on the mnemotropic and antidepressant-like effects of the low-molecular-weight mimetic of nerve growth factor, dipeptide GK-2, in experimental ischemic stroke

© Polina Yu. Povarnina, Nellya M. Sazonova, Dmitriy M. Nikiforov, Tatiana A. Gudasheva, Vladimir L. Dorofeev

FSBSI "Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies", Moscow, Russian Federation

Abstract

Relevance. The nerve growth factor (NGF), possessing neuroprotective and neuroregenerative properties, holds promise for the development of medications for the treatment of post-stroke conditions. At the Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, a dimeric dipeptide mimic of NGF with the laboratory code GK-2 was designed and synthesized. Under conditions of experimental cerebral ischemia, it significantly reduced the volume of brain infarction and stimulated neuro- and synaptogenesis.

Objective. The aim of this study was to investigate the effects of GK-2 on experimental post-stroke dementia and depression.

Methods. Ischemic stroke was induced by occlusion of the middle cerebral artery (MCAO) in Wistar rats. GK-2 was administered intraperitoneally at a dose of 0.5 mg/kg for 21 days post MCAO. Short-term and long-term memory of the animals were assessed 30–40 days post MCAO using the novel object recognition test. Depressive-like state was evaluated through the forced swimming test and sucrose preference test.

Results. In animals subjected to MCAO, both short-term and long-term memory exhibited a statistically significant decline of 80 %, along with a depressive-like state characterized by a 50 % increase in total immobility time and a 30 % reduction in sucrose preference, when compared to the sham-lesioned group. Dipeptide GK-2 completely averted the onset of these impairments.

Conclusion. The dipeptide mimic of NGF, GK-2, mitigates the development of cognitive and psychomotorial impairments in the setting of experimental stroke.

Keywords: NGF; dipeptide mimetic; post-stroke depression; post-stroke dementia

For citations:

Povarnina PYu, Sazonova NM, Nikiforov DM, Gudasheva TA, Dorofeev VL. A study on the mnemotropic and antidepressant-like effects of the low-molecular-weight mimetic of nerve growth factor, dipeptide GK-2, in experimental ischemic stroke. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2024;(1):14–22. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-14-22>. EDN: LBOTWJ.

Received: 01.03.2024. **Revision received:** 10.03.2024. **Accepted:** 24.03.2024. **Published:** 31.03.2024.

Введение / Introduction

Разработка новых стратегий лечения ишемического инсульта, сочетающих нейропротекцию и нейрорегенерацию, является одной из наиболее актуальных проблем фармакологии. Как перспективные объекты для разработки рассматриваются нейротрофины, эндогенные регуляторные белки, основные функции которых состоят в защите нервной ткани от повреждающих факторов и в стимуляции репаративных процессов в случае её повреждения. В условиях экспериментального ишемического инсульта нейротрофины оказывают нейропротекторное и нейрорегенеративное действие [1–3].

Полноразмерные нейротрофины имеют серьёзные ограничения для клинического применения в связи с их неудовлетворительными фармакокинетическими свойствами и риском развития побочных эффектов, обусловленных плейотропностью действия [4]. Преодолеть эти ограничения возможно с помощью низкомолекулярных системно-активных миметиков нейротрофинов, обладающих желательным набором фармакологических эффектов из спектра физиологической активности нативных белков и в то же время лишённых их побочных эффектов.

В ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» создан системно-активный димерный дипептидный миметик 4-й петли фактора роста нервов (nerve growth factor, NGF) гексаметилендиамид бис-(моносукцинил-L-глутамил-L-лизина), получивший лабораторный шифр ГК-2 (рис. 1) [Патент РФ №2410392, 2010; Патент ЕПВ EP 2397488, 2019; Патент КНР CN 102365294 B, 2016; Патент Индии 296506, 2018].

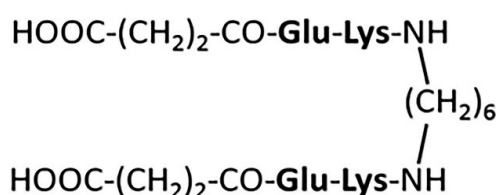


Рис. 1. Димерный дипептидный миметик 4-й петли NGF ГК-2

Fig. 1. Dimeric dipeptide mimetic of the NGF 4th loop compound GK-2

В экспериментах *in vitro* ГК-2 проявлял нейропротекторную активность в микро-наномолярных концентрациях [5]. С помощью Вестерн-блот анализа *in vitro* было установлено, что ГК-2 активирует специфические для полноразмерного фактора роста нервов тирозинкиназные TrkA рецепторы и их PI3K/Akt и PLC-γ пострецепторные пути трансдукции сигнала [6]. Селективность взаимодействия ГК-2 с TrkA рецепторами была подтверждена с помощью нокаутных по-

генам *trka* и *trkb* мышинных гиппокампальных клеток линии НТ-22 [7]. В экспериментах *in vivo* ГК-2 на ряде моделей фокальной и глобальной церебральной ишемии продемонстрировал выраженные нейропротекторные эффекты [8–11]. В условиях транзиторной окклюзии средней мозговой артерии ГК-2 снижал объём инфаркта мозга с эффективностью до 60 %, при этом сохранял активность даже при отставленном на 24 ч после моделирования ишемического инсульта старте введения [11], когда зона инфаркта практически сформирована, что позволило предположить нейрорегенеративные свойства дипептида. Действительно, было установлено, что ГК-2 в условиях экспериментального инсульта стимулирует нейро- и синаптогенез [12].

Поскольку хорошо известно, что когнитивные нарушения и депрессия являются распространёнными осложнениями после инсульта [13, 14], в настоящем исследовании в продолжение определения терапевтического потенциала ГК-2 мы изучили его влияние при хроническом внутрибрюшинном (в/б) введении на развитие экспериментальной постинсультной деменции и депрессии на модели окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА) у крыс.

Материалы и методы / Materials and methods

Вещества. ГК-2, гексаметилендиамид бис-(моносукцинил-L-глутамил-L-лизина), синтезирован в отделе химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», как описано ранее [15]. Хроматографическая чистота, по данным ОФ ВЭЖХ при λ 220 нм, равна 97,4 %; $[\alpha]^{22}_D = -47,0^\circ$ при $c = 0,1$ % (m/v) в H_2O . Т.пл. = 120–128 °С.

Хлоральгидрат был приобретён у компании PanReac AppliChem (Дармштадт, Германия).

Животные. Эксперименты были проведены на 35 крысах-самцах линии Вистар массой 220–250 г на момент начала эксперимента. Животных содержали в условиях вивария при естественной смене светового режима со свободным доступом к стандартному гранулированному корму и воде. Эксперименты с животными проводили в соответствии с «Руководством по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований» (ПРИЛОЖЕНИЕ к Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 года № 33). Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (Протокол №5 от 19.04.2022 г.).

Моделирование ОСМА проводили как описано [16]. Все манипуляции осуществляли с помощью титановых микрохирургических инструментов. Крыс вводили в наркоз 5 % раствором хлоральгидрата (350 мг/кг, в/б). Выполняли срединный разрез в области шеи, выделяли

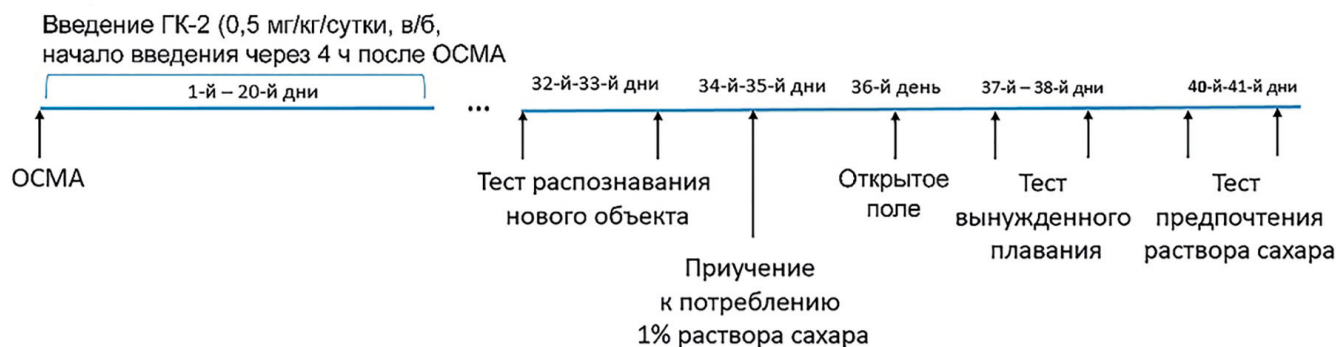


Рис. 2. Схема эксперимента. ОСМА — окклюзия средней мозговой артерии
Fig. 2. Experimental design. OCMA — middle cerebral artery occlusion

общую, наружную и внутреннюю сонные артерии. На общую сонную артерию на 1,5 см ниже её бифуркации накладывали микрохирургическую сосудистую клипсу. На внешнюю сонную артерию накладывали хлопчатобумажную нить, плотно затягивали. Крыло-нёбную артерию коагулировали электрокаутером. На внутреннюю сонную артерию накладывали викариловую нить, затягивали не плотно, после чего перерезали внешнюю сонную артерию проксимальнее наложения нити. Гепаринизированную нейлоновую нить диаметром 0,25 мм вводили через культю внешней сонной артерии во внутреннюю сонную артерию на глубину 19–21 мм (до перекрытия средней мозговой артерии) и фиксировали микрососудистой клипсой. Перекрытие кровотока осуществляли в течение 60 мин, после чего нить извлекали из сосуда, восстанавливая кровоснабжение в бассейне средней мозговой артерии. После извлечения нити культю внешней сонной артерии закрывали коагуляцией электрокаутером.

Дизайн эксперимента. Крыс случайным образом разделили на 3 группы: «ложная операция» ($n = 10$), «ОСМА» ($n = 13$) и «ОСМА+ГК-2» ($n = 12$). В первые несколько суток после ОСМА погибли по 3 животных из групп «ОСМА» и «ОСМА+ГК-2», выжило, соответственно, 10 и 9 крыс. Дипептид ГК-2 в водном растворе вводили в/б в дозе 0,5 мг/кг в течение 21 дня после операции. Первое введение было через 4 ч после операции. Доза ГК-2 была выбрана как наиболее активная на основании предыдущих экспериментов [12, 17]. Поскольку хорошо известно, что когнитивные нарушения и депрессивноподобное поведение на животных моделях ишемии мозга развиваются примерно через месяц после повреждения [18–20], тестирование на эти нарушения в нашем эксперименте мы проводили на 32–33-й дни после операции в тесте распознавания нового объекта (память), на 36-й день в тесте Открытое поле (двигательная активность) и на 37–38-й дни в тесте вынужденного плавания (депрессивноподобное поведение). Кроме того, мы выявляли агедонию (один из основных симптомов депрессии)

на 40–41-й дни с использованием теста предпочтения раствора сахара. Крыс взвешивали каждые 3 дня на протяжении первых 3 недель после операции. Схема эксперимента представлена на рис. 2.

Тест распознавания нового объекта [21] проводили в клетках Т4, идентичных домашним клеткам, в которых содержали животных на протяжении исследования. В ходе теста в клетки помещали объекты трёх разных типов, которые отличались друг от друга цветом, формой и материалом и были близки по размеру — герметичные чёрные жестяные банки цилиндрической формы с жидкостью, бутылочки из бесцветного прозрачного стекла вытянутой формы с оранжевой жидкостью, ёмкости с водой в форме прямоугольного параллелепипеда из прозрачного бесцветного полипропилена с синей этикеткой. Крысу помещали в пустую клетку с опилками на 4 мин для адаптации. Затем в два ближайших угла клетки помещали два одинаковых объекта (фаза ознакомления). Через 4 мин крысу возвращали в домашнюю клетку. Через 1 и 24 ч проводили тестирование для регистрации соответственно кратковременной (Тест 1) и долговременной (Тест 2) памяти. Для этого крысу снова помещали в клетку Т4, в которой в тех же углах уже находилась пара объектов, один из которых был идентичен объектам, предъявлявшимся в фазу ознакомления, а второй был незнакомым. В течение 4 мин регистрировали время исследования объектов. В Тесте 1 и Тесте 2 использовались разные незнакомые объекты. Для исключения влияния предпочтения животными какого-либо из объектов, разным животным предъявляли разный тип объектов в качестве знакомых и незнакомых. Для исключения предпочтения места позиции знакомого и нового объектов (правый и левый угол клетки) меняли от животного к животному. Перед каждым тестом объекты протирали спиртом для уничтожения меток, оставленных предыдущим животным. Обработку видеоданных осуществляли с помощью программы RealTimer (ООО "НПК Открытая Наука", Москва, Россия). Регистрировали время исследования живот-

ными каждого из объектов. Исследованием считали обнюхивание, когда нос животного находился на расстоянии не более 2 см от объекта. В качестве критерия памяти использовали коэффициент дискриминации [22], который рассчитывали по формуле:

$$Кд = (Тнов - Тзн) / (Тнов + Тзн),$$

где Тнов — время исследования нового объекта; Тзн — время исследования знакомого объекта; значения Кд > 0 означают, что животное помнит объект, предъ-являвшийся в фазу ознакомления.

Открытое поле широко используется для регистрации двигательной и исследовательской активности [23]. Установка для проведения теста (ООО «НПК Открытая наука», Москва, Россия) представляла собой круглую арену из белого непрозрачного пластика. Диаметр арены 90 см, высота стенок 40 см. Пол арены расчерчен на 19 квадратов примерно одинаковой площади и имеет 13 небольших круглых отверстий. Животное помещали на пол в центре арены и на протяжении 4 мин регистрировали число пересечённых квадратов и вертикальных стоек, а также число актов обнюхивания отверстий.

Тест вынужденного плавания [24] проводили как описано [25]. В первый день крыс помещали в сосуды цилиндрической формы диаметром 20 см и высотой 60 см, заполненные на 2/3 водой температурой 24 °С на 10 мин. Через 24 ч проводили тестовую посадку — животных помещали в те же условия на 5 мин, поведение животных регистрировали при помощи видеокамеры. Обработку видеоданных осуществляли с помощью программы RealTimer (ООО "НПК Открытая Наука", Москва, Россия). Регистрировали суммарное время иммобильности.

Тест предпочтения раствора сахара широко используется для оценки агедонии (один из основных признаков депрессивно-подобного состояния) у грызунов [26]. Сначала животных приучали к потреблению раствора сахара. Для этого им предоставляли в течение 2 суток свободный доступ одновременно к двум бутылкам, одна из которых содержала 1 % раствор сахара, а другая — обычную воду. Тест проводили через 4 суток после приучения к раствору сахара, на 39–40-й дни после ОСМА. Крыс рассаживали индивидуально и предоставляли в течение 20 ч доступ к двум бутылкам — с водой и с раствором сахара. Потребление воды и раствора сахара оценивали путём взвешивания бутылок до и после теста. Предпочтение раствора сахара вычисляли по следующей формуле:

$$\frac{(\text{Мпотреблённого раствора сахара})}{(\text{Мпотреблённого раствора сахара} + \text{Мпотреблённой воды})} \cdot 100 \%,$$

где М — масса.

Статистический анализ данных проводили с помощью компьютерной программы GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, США). Для проверки нор-

мальности распределения использовали W-критерий Шапиро–Уилка. Поскольку выборки имели нормальное распределение, статистическую значимость межгрупповых различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующими попарными межгрупповыми сравнениями с помощью теста Даннета либо двухфакторного дисперсионного анализа с последующими попарными межгрупповыми сравнениями с использованием теста Тьюки. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

Результаты исследования / Research results

Динамика массы тела крыс после ОСМА

У крыс в первую неделю после операции выражено снизилась масса тела, со второй недели они начали набирать массу (рис. 3). Статистически значимая разница по массе тела наблюдалась только между группами «л.о.» и «ОСМА» на 18- и 21-й дни после операции. Хотя ГК-2 и не оказывал статистически значимого эффекта на массу тела крыс, из рис. 3 видно, что динамика массы в группе «ОСМА+ГК-2» более близка к таковой у ложнооперированных животных, чем у животных из группы «ОСМА».

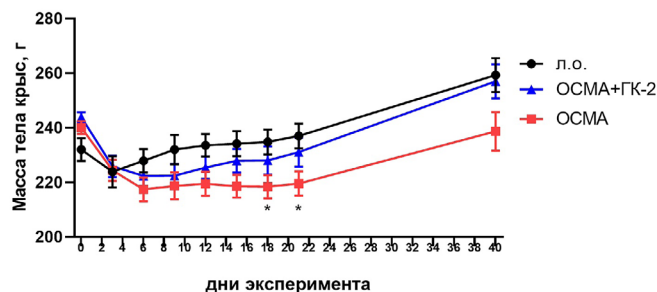


Рис. 3. Динамика массы тела крыс после ОСМА

Fig. 3. Dynamics of body weight in rats after ОСМА

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с группой «л.о.» (двухфакторный дисперсионный анализ, тест Тьюки).

Note: * $p < 0.05$ compared to the control group (two-way analysis of variance, Tukey's test).

Дипентид ГК-2 корректирует нарушения памяти

В тесте распознавания нового объекта ложнооперированные животные хорошо помнили объект как через 1 ч (Тест 1, кратковременная память), так и через 24 ч (Тест 2, долговременная память) после ознакомления с ним. Кд в группе ложнооперированных животных составлял в среднем $0,42 \pm 0,06$ и $0,67 \pm 0,03$, соответственно. У животных в группе «ОСМА» была ухудшена кратковременная и долговременная память по сравнению с ложнооперированными. Кд в группе «ОСМА» был снижен примерно на 80 % как в Тесте 1 (до $0,08 \pm 0,06$; $p = 0,0014$ по сравнению с группой

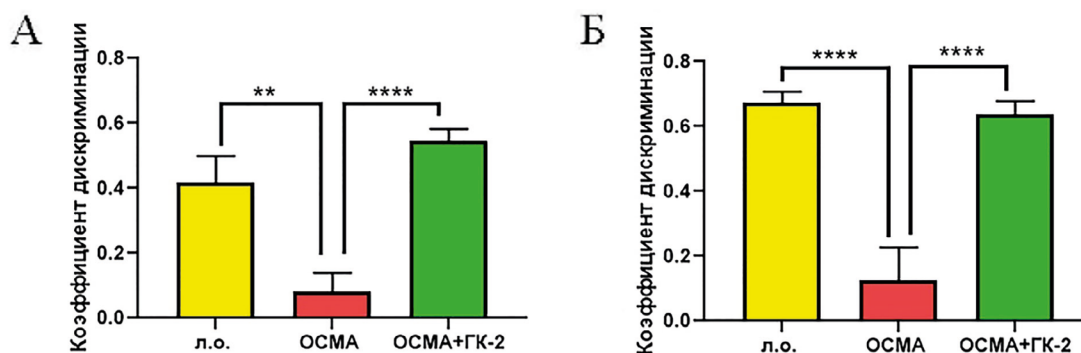


Рис. 4. Дипептид ГК-2 при хроническом в/б введении предотвращает развитие нарушений памяти, вызванных ОСМА, в тесте распознавания нового объекта. Тест проводили через 1 ч и 24 ч после ознакомления животных с объектами для регистрации, соответственно, кратковременной (А) и долговременной (Б) памяти

Fig. 4. Dipeptide GK-2 prevents the development of memory impairments induced by OCMA in the novel object recognition test following chronic ip administration. The test was conducted at 1 h and 24 h after the animals were exposed to the objects to respectively assess short-term (A) and long-term (B) memory

Примечания: Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего. ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$ по сравнению с группой «ОСМА» (однофакторный дисперсионный анализ, тест Даннета).

Notes: Data are presented as means and standard errors of the mean. ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$ compared to the "OCMA" group (one-way analysis of variance, Dunnett's test).

«л.о.»), так и в Тесте 2 (до $0,13 \pm 0,1$; $p < 0,0001$ по сравнению с группой «л.о.»). Дипептид ГК-2 полностью предотвращал ухудшение кратковременной памяти (Кд в группе «ОСМА+ГК-2» составил $0,55 \pm 0,04$; $p < 0,0001$ по сравнению с группой «ОСМА»), а также долговременной памяти (Кд в группе «ОСМА+ГК-2» составил $0,64 \pm 0,04$; $p < 0,0001$ по сравнению с группой «ОСМА») (рис. 4).

Таким образом, ГК-2 при хроническом введении предотвращал развитие нарушений как кратковременной, так и долговременной памяти у крыс после ОСМА.

Дипептид ГК-2 предотвращает развитие депрессивноподобного поведения

У ложнооперированных животных время иммобильности в тесте вынужденного плавания составило в среднем $135,6 \pm 13,3$ с. В группе «ОСМА» время иммобильности было статистически значимо ($p < 0,0001$) увеличено примерно на 50 % по сравнению с ложнооперированными животными до $203,1 \pm 8,5$ с, что свидетельствует о депрессивноподобном состоянии. Дипептид ГК-2 статистически значимо ($p = 0,005$) снижал время иммобильности до $156,3 \pm 5,7$ с (рис. 5).

Для исключения артефактов в тесте вынужденного плавания (угнетающее действие «ОСМА» и стимулирующий эффект ГК-2) мы изучили двигательную активность животных в тесте «Открытое поле». В этом тесте не было выявлено межгрупповых различий ни по одному из изученных параметров (табл. 1), что позволяет считать интерпретацию результатов теста вынужденного плавания корректной.

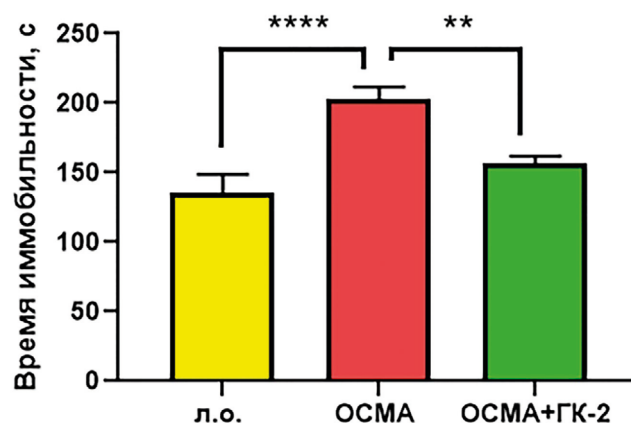


Рис. 5. Дипептид ГК-2 при хроническом в/б введении предотвращает увеличение времени иммобильности в условиях ОСМА в тесте вынужденного плавания.

Fig. 5. Dipeptide GK-2 prevents the increase in immobility time under FST conditions in the forced swim test.

Примечания: Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего; ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$ по сравнению с группой «ОСМА» (однофакторный дисперсионный анализ, тест Даннета).

Notes: Data are presented as means and standard errors of the mean. ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$ compared to the "FST" group (one-way analysis of variance, Dunnett's test).

Ещё один показатель депрессивноподобного состояния — агедония — мы оценивали в тесте предпочтения раствора сахара. Согласно данным литературы, критерием агедонии в данном тесте считают предпочтение раствора сахара $< 65\%$ [26]. Агедонии

Таблица 1

Двигательная активность крыс в тесте «Открытое поле»

Table 1

Locomotor activity of rats in the “Open Field” test

Группа	Горизонтальная двигательная активность (количество пересечённых квадратов)	Вертикальная двигательная активность (количество стоек)	Количество обнюхиваний отверстий
Л.о.	66,1±3,8	5,2±1,0	10,8±1,9
ОСМА	69,1±8,0	5,6±3,7	10,0±1,4
ОСМА+ГК-2	64,0±4,7	8,7±1,7	8,2±1,5

Примечание: Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.
Note: Data are presented as means and standard errors of the mean.

не наблюдалось в группе ложнооперированных животных и у животных, получавших ГК-2 (табл. 2), в обеих этих группах предпочтение раствора сахара составляло около 73 %. Лишь в группе «ОСМА» показатель потребления раствора сахара (около 50 %) соответствовал критериям агедонии ($p = 0,064$ по сравнению с ложнооперированными животными). Эффект ГК-2 был статистически значимым ($p = 0,046$ по сравнению с группой «ОСМА»).

Таблица 2

Результаты теста предпочтения раствора сахара

Table 2

Results of the sucrose preference test

Группа	Предпочтение раствора сахара, %
Л.о.	73,1±6,3
ОСМА	50,3±8,3 #
ОСМА+ГК-2	73,5±4,2 *

Примечания: Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего; # $p = 0,069$ по сравнению с группой «л.о.»; * $p < 0,05$ по сравнению с группой «ОСМА» (однофакторный дисперсионный анализ, тест Даннета).
Notes: Data are presented as means and standard errors of the mean; # $p = 0,069$ compared to the “control” group; * $p < 0,05$ compared to the “CMS” group (one-way analysis of variance, Dunnett’s test).

Таким образом, ГК-2 предотвращал развитие депрессивноподобного поведения у крыс после ОСМА по показателям как агедонии, так и «поведенческого отчаяния».

Обсуждение / Discussion

В настоящем исследовании установлено, что у крыс в условиях ОСМА в отдалённом периоде развивались нарушения кратковременной и долговременной памяти в тесте распознавания нового объекта

и депрессивноподобное состояние, выразившееся в увеличении времени иммобильности в тесте вынужденного плавания и агедонии в тесте предпочтения раствора сахара. Дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 при хроническом введении после моделирования инсульта полностью противодействовал развитию всех этих нарушений. Для ГК-2 ранее были выявлены мнемотропные эффекты в физиологических условиях [27] и в условиях фокальной ишемии, вызванной фототромбозом коры головного мозга [8]. Дипептид ГК-2 проявлял в физиологических условиях и слабую антидепрессантоподобную активность при субхроническом введении [28].

Корректирующее действие ГК-2 в отношении когнитивных и психоэмоциональных нарушений в условиях ОСМА согласуются с данными литературы об эффектах полноразмерного NGF. Так, на модели ОСМА у крыс было показано, что увеличение экспрессии NGF в головном мозге с помощью внесения псевдолентивирусного вектора, содержащего ген *ngf*, способствует практически полному восстановлению ухудшенной памяти в водном лабиринте Морриса [1]. Такой же эффект был получен при внесении лентивирусного вектора, содержащего ген *ngf*, в гиппокамп крыс после травмы мозга [29]. В клинических исследованиях было установлено, что низкий уровень NGF в плазме крови ассоциирован с высокой вероятностью развития постинсультной депрессии [30].

Предполагают [31], что одним из основных механизмов развития постинсультных когнитивных и психоэмоциональных нарушений является ухудшение нейропластичности гиппокампа, который является ключевой структурой, отвечающей за формирование памяти и эмоциональных состояний [32]. Посмертные исследования показали, что объём гиппокампа снижен у пациентов с постинсультной деменцией по сравнению с теми, у кого не наблюдалось нарушения когнитивных функций после инсульта [33]. В другом исследовании была установлена корреляция между снижением объёма гиппокампа (по данным МРТ), увеличением концентрации маркеров воспаления в плазме крови и когнитивным дефицитом через 6 и 12 месяцев после перенесённого инсульта [34]. Выявлена в посмертных исследованиях также взаимосвязь между снижением объёма гиппокампа и депрессией [35]. Вторичная нейродегенерация в гиппокампе после ишемического инсульта может быть обусловлена угнетением гиппокампального нейрогенеза вследствие воздействия глюкокортикоидов на фоне хронического стресса [36], а также нейровоспаления [37, 38]. Хорошо известно [39], что гиппокампальный нейрогенез играет важную роль как в процессах памяти, так и в поддержании эмоционального статуса.

Показано [40], что NGF участвует в регуляции гиппокампального нейрогенеза, способствуя поддержанию жизнеспособности нейробластов. Также установлено [41], что NGF вовлечён в регуляцию си-

наптической пластичности в гиппокампе, в частности он необходим для индукции долговременной потенциации, лежащей в основе формирования памяти. Нормализующие эффекты NGF в отношении постинсультной депрессии и деменции могут быть опосредованы не только его прямым действием на синаптическую пластичность и гиппокампальный нейрогенез, но и способностью стимулировать синтез мозгового нейротрофического фактора, одного из основных регуляторов нейропластичности гиппокампа [42, 43].

Нами ранее было показано, что в условиях ОСМА ГК-2 полностью восстанавливает угнетённый гиппокампальный нейрогенез (по маркеру пролиферации Ki-67) [12]. Этот эффект ГК-2 может лежать в основе нормализующего действия дипептида в отношении экспериментальной постинсультной депрессии и когнитивных нарушений.

Следует отметить, что в условиях ОСМА ГК-2 при хроническом введении не способствовал снижению

массы тела — динамика массы тела крыс, получавших ГК-2, не отличалась от таковой у ложнооперированных животных. В то же время катастрофическое снижение массы тела является одним из основных побочных эффектов полноразмерного NGF [44, 45]. Ранее нами было показано в физиологических условиях, что ГК-2 при хроническом введении не влияет на массу тела крыс [6].

Заключение / Conclusion

Таким образом, димерный дипептидный миметик NGF ГК-2 при хроническом в/б введении после экспериментального инсульта полностью противодействует развитию нарушений памяти и депрессивноподобного поведения у крыс подобно полноразмерному нейротрофину, что расширяет возможности потенциального применения дипептида для лечения постинсультного состояния.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов.

Участие авторов

Поварнина П. Ю. — дизайн эксперимента, выполнение экспериментальной работы, анализ и интерпретация результатов, написание текста; *Сазонова Н. М.* — синтез дипептида ГК-2; *Никифоров Д. М.* — выполнение экспериментальной работы, статистический анализ данных; *Гудашева Т. А.* — постановка задачи, координация работы исследователей, редактирование текста; *Дорофеев В. Л.* — обсуждение результатов, редактирование текста.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Authors' participation

Povarnina PYu — experimental design, execution of experimental work, analysis and interpretation of results, manuscript writing; *Sazonova NM* — synthesis of the dipeptide GK-2; *Nikiforov DM* — execution of experimental work, statistical analysis of data; *Gudasheva TA* — task formulation, coordination of researchers' work, manuscript editing; *Dorofeev VL* — discussion of results, manuscript editing.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Поварнина Полина Юрьевна

Автор, ответственный за переписку

к. б. н., в. н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: povarnina_pyu@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3278-8915>
РИНЦ SPIN-код: 5498-6724

Polina Yu. Povarnina

Corresponding author

PhD, Cand. Sci. (Biol.), Leading Research Scientist of the Laboratory of Peptide Bioregulators of the Medicinal Chemistry Department Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: povarnina_pyu@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3278-8915>
RSCI SPIN code: 5498-6724

Сазонова Нелля Михайловна

к. х. н., с. н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7608-7419>

Nellya M. Sazonova

PhD, Cand. Sci. (Chemistry), Senior Research Scientist of the Laboratory of Peptide Bioregulators of the Medicinal Chemistry Department Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7608-7419>

Никифоров Дмитрий Михайлович

м. н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8901-3101>
РИНЦ SPIN-код: 7028-8335

Dmitriy M. Nikiforov

Junior Research Scientist of the Laboratory of Peptide Bioregulators of the Medicinal Chemistry Department Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8901-3101>
RSCI SPIN code: 7028-8335

Гудашева Татьяна Александровна

д. б. н., профессор, член-корреспондент РАН, руководитель отдела химии лекарственных средств «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5185-4474>
РИНЦ SPIN-код: 4970-0006

Tatiana A. Gudasheva

PhD, Dr. Sci. (Biology), Professor, RAS corresponding member, Head of medicinal chemistry department Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5185-4474>
RSCI SPIN code: 4970-0006

Дорофеев Владимир Львович

д. фарм. н., профессор, и/о генерального директора «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>

Vladimir L. Dorofeev

PhD, Dr. Sci. (Pharm), Professor, Acting General Director of Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>

Список литературы / References

1. Cao JY, Lin Y, Han YF, et al. Expression of nerve growth factor carried by pseudotyped lentivirus improves neuron survival and cognitive functional recovery of post-ischemia in rats. *CNS Neurosci Ther.* 2018;24(6):508-518. doi: 10.1111/cns.12818.
2. Guan J, Tong W, Ding W, et al. Neuronal regeneration and protection by collagen-binding BDNF in the rat middle cerebral artery occlusion model. *Biomaterials.* 2012;33(5):1386-1395. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.073.
3. Zhu W, Cheng S, Xu G, et al. Intranasal nerve growth factor enhances striatal neurogenesis in adult rats with focal cerebral ischemia. *Drug Deliv.* 2011;18(5):338-343. doi: 10.3109/10717544.2011.557785.
4. El Ouamari Y, Van den Bos J, Willekens B, et al. Neurotrophic Factors as Regenerative Therapy for Neurodegenerative Diseases: Current Status, Challenges and Future Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 15;24(4):3866. doi: 10.3390/ijms24043866.
5. Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Исследование *in vitro* нейропротективных свойств нового оригинального миметика фактора роста нервов ГК-2. *Бюлл. эксп. биол. мед.* 2010;150(11):537-540. [Antipova TA, Gudasheva TA, Seredenin SB. *In vitro* study of neuroprotective properties of GK-2, a new original nerve growth factor mimetic. *Bull Exp Biol Med.* 2011;150(5):607-609. (In Russ.)]. doi: 10.1007/s10517-011-1202-6.
6. 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;22:106. doi: 10.1186/s12929-015-0198-z.

7. Антипова Т.А., Деев И.Е., Гудашева Т.А. и др. Доказательство селективности взаимодействия дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 с TrkA-рецептором с использованием нокаутных по генам *trka* и *trkb* клеток линии НТ-22. *Химико-фармацевтический журнал.* 2022;56(12):18-22. [Antipova TA, Deev IE, Gudasheva TA, et al. Evidence of the selectivity of interaction of nerve growth factor dipeptide mimetic GK-2 with TrkA receptor using *TrkA* and *TrkB* knockout HT-22 cells. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2023;56:1568-1572. (In Russ.)]. doi: 10.1007/s11094-023-02828-x.
8. Середенин С.Б., Романова Г.А., Гудашева Т.А. и др. Нейропротективное и антиамнестическое действие дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 при экспериментальном ишемическом инфаркте коры головного мозга. *Бюлл. эксп. биол. мед.* 2010;150(10):406-409. [Seredenin SB, Romanova GA, Gudasheva TA, et al. Neuroprotective and antiamnestic effect of nerve growth factor dipeptide mimetic GK-2 in experimental ischemic infarction of brain cortex. *Bull Exp Biol Med.* 2011;150(4):432-435. (In Russ.)]. doi: 10.1007/s10517-011-1161-y.

9. Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А., Воронцова О.Н. и др. Нейропротекторные эффекты димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 на модели двусторонней необратимой перевязки сонных артерий у крыс. *Экспериментальная и Клиническая Фармакология.* 2012;75(9):15-20. [Povarnina PYu, Gudasheva TA, Vorontsova ON, et al. Neuroprotective effects of a dipeptide mimetic on the GK-2 nerve growth factor in model of permanent

common carotid artery occlusion in rats. *Exper Clin Pharmacol*. 2012;75(9):15-20. (In Russ.]. doi: 10.30906/0869-2092-2012-75-9-15-20.

10. Зарзешский Ю.В., Аврущенко М.Ш., Мороз В.В., и др. Эффективность миметика фактора роста нервов ГК-2 для предупреждения постреанимационных изменений мозга. *Бюлл. экп. биол. мед.* 2015;159(4):442-445. [Zarzhetskiy YuV, Avruschenko MSh, Moroz VV, et al. Effectiveness of GK-2, a Nerve Growth Factor Mimetic, in Preventing Post-Resuscitation Changes in the Brain. *Bull Exp Biol Med*. 2015 Aug;159(4):453-455. (In Russ.]. doi: 10.1007/s10517-015-2989-3.

11. Середенин С.Б., Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А. Экспериментальная оценка терапевтического окна нейротропной активности препарата ГК-2, низкомолекулярного миметика фактора роста нервов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2018;118(7):49-53. [Seredenin SB, Povarnina PYu, Gudasheva TA. An experimental evaluation of the therapeutic window of the neuroprotective activity of a low-molecular nerve growth factor mimetic GK-2. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2018;118(7):49-53. (In Russ.]. doi: 10.17116/jnevro20181187149.

12. Гудашева Т.А., Поварнина П.Ю., Волкова А.А. и др. Дипептидный миметик фактора роста нервов стимулирует нейрогенез и синаптогенез в гиппокампе и стриатуме взрослых крыс с фокальной церебральной ишемией. *Acta Naturae*. 2019;11(3):37-43. [Gudasheva TA, Povarnina PY, Volkova AA, et al. A Nerve Growth Factor Dipeptide Mimetic Stimulates Neurogenesis and Synaptogenesis in the Hippocampus and Striatum of Adult Rats with Focal Cerebral Ischemia. *Acta Naturae*. 2019 Jul-Sep;11(3):31-37. (In Russ.]. doi: 10.32607/20758251-2019-11-3-31-37.

13. Ayerle L, Ayis S, Wolfe CD, Rudd AG. Natural history, predictors and outcomes of depression after stroke: systematic review and meta-analysis. *Br J Psychiatry*. 2013;202(1):14-21. doi: 10.1192/bjp.bp.111.107664.

14. Pendlebury ST, Rothwell PM. Prevalence, incidence, and factors associated with pre-stroke and post-stroke dementia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2009;8(11):1006-1018. doi: 10.1016/S1474-4422(09)70236-4.

15. Сазонова Н.М., Тарасюк А.В., Курилов Д.В. и др. Синтез димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2, потенциального нейротропного препарата. *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(7):10-19. [Sazonova NM, Tarasyuk AV, Kurilov DV, et al. Synthesis of two-dimensional dipeptide mimetic of nerve growth factor: new potential neuroprotective drug. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015;49(7):10-19. (In Russ.]. doi: 10.1007/s11094-015-1301-1.

16. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989;20(1):84-91. doi: 10.1161/01.str.20.1.84.

17. Середенин С.Б., Гудашева Т.А. Создание фармакологически активной малой молекулы, обладающей свойствами фактора роста нервов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015;115(6):63-70. [Seredenin SB, Gudasheva TA. The development of a pharmacologically active low-molecular mimetic of the nerve growth factor. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2015;115(6):63-70. (In Russ.]. doi: 10.17116/jnevro20151156163-70.

18. Li W, Huang R, Shetty RA, et al. Transient focal cerebral ischemia induces long-term cognitive function deficit in an experimental ischemic stroke model. *Neurobiol Dis*. 2013;59:18-25. doi: 10.1016/j.nbd.2013.06.014.

19. Kuts R, Melamed I, Shiyntum HN, et al. A Middle Cerebral Artery Occlusion Technique for Inducing Post-stroke Depression in Rats. *J Vis Exp*. 2019 May 22;(147). doi: 10.3791/58875.

20. Ifergane G, Boyko M, Frank D, et al. Biological and Behavioral Patterns of Post-Stroke Depression in Rats. *Can J Neurol Sci*. 2018;45(4):451-461. doi: 10.1017/cjn.2017.302.

21. Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. I: Behavioral data. *Behav Brain Res*. 1988;31(1):47-59. doi: 10.1016/0166-4328(88)90157-x.

22. Beldjoud H, Barsegyan A, Roozendaal B. Noradrenergic activation of the basolateral amygdala enhances object recognition memory and induces chromatin remodeling in the insular cortex. *Front Behav Neurosci*. 2015;9:108. doi: 10.3389/fnbeh.2015.00108.

23. Henry BL, Minassian A, Young JW, et al. Cross-species assessments of motor and exploratory behavior related to bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010;34(8):1296-1306. doi: 10.1016/j.neubiorev.2010.04.002.

24. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol*. 1978;47(4):379-391. doi: 10.1016/0014-2999(78)90118-8.

25. Kawai H, Kodaira N, Tanaka C, et al. Time of Administration of Acute or Chronic Doses of Imipramine Affects its Antidepressant Action in Rats. *J Circadian Rhythms*. 2018;16:5. doi: 10.5334/jcr.156.

26. Scheggi S, De Montis MG, Gambarana C. Making Sense of Rodent Models of Anhedonia. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2018 Nov 1;21(11):1049-1065. doi: 10.1093/ijnp/ryu083.

27. Волкова А.А., Поварнина П.Ю., Никифоров Д.М. и др. Сравнительное изучение мнемотропной активности димерных дипептидных миметиков отдельных петель NGF и BDNF в тесте распознавания нового объекта у крыс. *Химико-фармацевтический журн.* 2022;56(4):3-6 [Volkova AA, Povarnina PY, Nikiforov DM et al. Comparative study of the mnemotropic activity of dimeric dipeptide mimetics of individual NGF and BDNF loops using a new-object recognition test in rats. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2022;56:429-432. (In Russ.]. doi: 10.1007/s11094-022-02656-5.

28. Mezhlumyan AG, Tallerova AV, Povarnina PY, et al. Antidepressant-like Effects of BDNF and NGF Individual Loop Dipeptide Mimetics Depend on the Signal Transmission Patterns Associated with Trk. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022;15(3):284. doi: 10.3390/ph15030284.

29. Lin Y, Wan JQ, Gao G, et al. Direct hippocampal injection of pseudo lentivirus-delivered nerve growth factor gene rescues the damaged cognitive function after traumatic brain injury in the rat. *Biomaterials*. 2015;69:148-157. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.08.010.

30. Meng G, Ma X, Li L, et al. Predictors of early-onset post-ischemic stroke depression: a cross-sectional study. *BMC Neurol*. 2017;17(1):199. doi: 10.1186/s12883-017-0980-5.

31. Шишкина Г.Т., Калинина Т.С., Гуляева Н.В. и др. Изменение экспрессии генов и нейровоспаление в гиппокампе после фокальной ишемии мозга: участие в индукции длительных когнитивных и психоэмоциональных нарушений. *Биохимия*. 2021; 86(6):805-815. doi: 10.31857/S032097252106004X. [Shishkina GT, Kalinina TS, Gulyaeva NV, et al. Changes in gene expression and neuroinflammation in the hippocampus after focal brain ischemia: involvement in the long-term cognitive and mental disorders. *Biochemistry*. 2021;86(6):657-666. (In Russ.]. doi: 10.1134/S0006297921060043.

32. Phelps EA. Human emotion and memory: interactions of the amygdala and hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol*. 2004 Apr;14(2):198-202. doi: 10.1016/j.conb.2004.03.015.

33. Gemmell E, Bosomworth H, Allan L, et al. Hippocampal neuronal atrophy and cognitive function in delayed poststroke and aging-related dementias. *Stroke*. 2012 Mar;43(3):808-14. doi: 10.1161/STROKEAHA.111.636498.

34. Kliper E, Bashat DB, Bornstein NM, et al. Cognitive decline after stroke: relation to inflammatory biomarkers and hippocampal volume. *Stroke*. 2013;44(5):1433-1435. DOI:10.1161/STROKEAHA.111.000536.

35. Cobb JA, Simpson J, Mahajan GJ, et al. Hippocampal volume and total cell numbers in major depressive disorder. *J Psychiatr Res*. 2013;47(3):299-306. doi: 10.1016/j.jpsychires.2012.10.020.

36. Odaka H, Adachi N, Numakawa T. Impact of glucocorticoid on neurogenesis. *Neural Regen Res*. 2017;12(7):1028-1035. doi: 10.4103/1673-5374.211174.

37. Monje ML, Toda H, Palmer TD. Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. *Science*. 2003;302(5651):1760-1765. doi: 10.1126/science.1088417.

38. Vasic V, Schmidt MHH. Resilience and Vulnerability to Pain and Inflammation in the Hippocampus. *Int J Mol Sci*. 2017;18(4):739. doi: 10.3390/ijms18040739.

39. Anacker C, Hen R. Adult hippocampal neurogenesis and cognitive flexibility – linking memory and mood. *Nat Rev Neurosci*. 2017;18(6):335-346. doi: 10.1038/nrn.2017.45.

40. Frielingsdorf H, Simpson DR, Thal LJ, Pizzo DP. Nerve growth factor promotes survival of new neurons in the adult hippocampus. *Neurobiol Dis*. 2007;26(1):47-55. doi: 10.1016/j.nbd.2006.11.015.

41. Conner JM, Franks KM, Titterness AK, et al. NGF is essential for hippocampal plasticity and learning. *J Neurosci*. 2009;29(35):10883-10889. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2594-09.2009.

42. Tirassa P. The nerve growth factor administered as eye drops activates mature and precursor cells in subventricular zone of adult rats. *Arch Ital Biol*. 2011;149(2):205-213. doi: 10.4449/aib.v149i1.1359.

43. Patz S, Wahle P. Neurotrophins induce short-term and long-term changes of cortical neurotrophin expression. *Eur J Neurosci*. 2004;20(3):701-708. doi: 10.1111/j.1460-9568.2004.03519.x.

44. Eriksdotter Jönhagen M, Nordberg A, Amberla K, et al. Intracerebroventricular infusion of nerve growth factor in three patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 1998 Sep-Oct;9(5):246-57. doi: 10.1159/000017069.

45. Tagliatala G, Foreman PJ, Perez-Polo JR. Effect of a long-term nerve growth factor treatment on body weight, blood pressure, and serum corticosterone in rats. *Int J Dev Neurosci*. 1997;15(6):703-710. doi: 10.1016/s0736-5748(97)00032-4.



К возможности расчёта оптимальных доз в комбинированных лекарственных средствах (рабочая гипотеза)

© Цорин И. Б., Крыжановский С. А.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Цель исследования теоретическое обоснование (рабочая гипотеза) возможного подхода к расчёту доз в комбинированном лекарственном средстве, содержащем 2 действующие фармацевтические субстанции. Предложена математическая модель, являющаяся уравнением множественной регрессии от двух переменных, которое представляет собой квадратный полином. Предложенная модель позволяет с помощью дальнейшего дифференцирования уравнения регрессии в частных производных рассчитать оптимальные дозы фармацевтических субстанций в комбинированном лекарственном средстве. Представлены два примера расчёта доз.

Ключевые слова: комбинированное лекарственное средство; множественный регрессионный анализ; квадратный полином; частные производные

Для цитирования:

Цорин И. Б., Крыжановский С. А. К возможности расчёта оптимальных доз в комбинированных лекарственных средствах (рабочая гипотеза). *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2024;(1):23–26 <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-23-26>. EDN: RIPRNC

Поступила: 12.02.2024. **В доработанном виде:** 25.02.2024. **Принята к печати:** 25.02.2024. **Опубликована:** 31.03.2024.

The possibility of calculating optimal doses in combined medicinal product (Working hypothesis)

© Iosif B. Tsorin, Sergey A. Kryzhanovskii

FSBSI "Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies", Moscow, Russian Federation

Abstract

The purpose of the study is a theoretical justification (working hypothesis) of a possible approach to calculating doses in a combined medicinal product containing 2 pharmaceutical substances. A mathematical model is proposed, which is a multiple regression equation from two variables, which is a square polynomial. The proposed model makes it possible to calculate the optimal doses of pharmaceutical substances in a combined drug by further differentiating the regression equation in partial derivatives. Two examples of dose calculation are presented.

Keywords: combined medicinal product; multiple regression analysis; quadratic polynomial; partial derivatives

For citations:

Tsorin IB, Kryzhanovskii SA. The possibility of calculating optimal doses in combined medicinal product (Working hypothesis). *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2024;(1):23–26. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-23-26>. EDN: RIPRNC

Received: 12.02.2024. **Revision received:** 25.02.2024. **Accepted:** 12.03.2024. **Published:** 31.03.2024.

Введение / Introduction

На современном этапе комбинированные лекарственные средства (фиксированные комбинации), содержащие в своём составе две или более активные фармацевтические субстанции, в случае отсутствия эффекта от монотерапии, достаточно широко используются при лечении пациентов, страдающих самыми разнообразными хроническими заболеваниями [1]. Более того, интерес к этой группе препаратов постоянно растёт [1], поскольку использование фиксированных комбинаций лекарственных средств (ФЛС) имеет ряд существенных преимуществ перед полипрагмазией:

- улучшено соблюдение режима приёма ФЛС за счёт снижения бремени приёма пациентами различных таблеток;
- снижение риска применения нерациональной комбинации ЛС;
- простота титрования дозы ФЛС;
- выбор оптимального и безопасного режима дозирования ФЛС;
- большая безопасность и лучшая переносимость ФЛС (при сопоставимой эффективности) за счёт применения более низких доз одного или нескольких компонентов входящих в ФЛС;

— возможность осуществлять терапию ФЛС одновременно существующих (сопутствующих) заболеваний с различным патогенезом;

— относительно невысокая цена ФЛС по сравнению со стоимостью каждого отдельного её компонента;

— повышение комплаенса (приверженности) к лечению [2–8].

Однако подбор доз действующих фармацевтических субстанций, входящих в ФЛС, представляет определённые трудности. В большинстве случаев к этой проблеме подходят чисто эмпирически, исходя из усреднённых доз монокомпонентных средств, входящих в состав комбинации, или используют 1/2 от эффективной дозы (классический пример тиазидный диуретик гидрохлоротиазид (гипотиазид), который в большинстве гипотензивных ФЛС используют в дозе 12,5 мг, что составляет 1/2 от эффективной). В лучшем случае на уровне доклиники испытывают экспериментально 3–4 соотношения доз и выбирают из них лучшее. Вместе с тем, используя математическое моделирование, с помощью многофакторного регрессионного анализа, исходя из результатов экспериментальных исследований, можно рассчитать наиболее оптимальные дозы фармацевтических субстанций [9].

Целью данной статьи является теоретическое обоснование (рабочая гипотеза) возможного подхода к расчёту доз в комбинированном лекарственном средстве, содержащем 2 действующие фармацевтические субстанции, поскольку увеличение количества действующих соединений усложняет расчёты, однако принципиально подход остаётся тем же самым.

Результаты / Results

Одной из возможных математических моделей для анализа комбинированного действия двух фармацевтических субстанций является уравнение множественной регрессии от двух переменных, представляющее собой квадратный полином общего вида:

$$Z(d_1, d_2) = b_0 + b_1 d_1 + b_2 d_2 + b_{11} d_1^2 + b_{22} d_2^2 + b_{12} d_1 d_2, \quad (1)$$

где d_1, d_2 дозы фармацевтических субстанций, $b_0, b_1, b_2, b_{11}, b_{22}, b_{12}$ коэффициенты множественной регрессии.

После дифференцирования приведённого выше уравнения 1 в частных производных первого порядка получаются две линейных функции от двух переменных. Приравнивание частных производных к нулю даёт систему линейных уравнений:

$$\begin{cases} \frac{\partial Z}{\partial d_1} = b_1 + 2b_{11}d_1 + b_{12}d_2 = 0 \end{cases} \quad (2)$$

$$\begin{cases} \frac{\partial Z}{\partial d_2} = b_2 + 2b_{22}d_2 + b_{12}d_1 = 0 \end{cases} \quad (3)$$

Корни этой системы являются координатами экстремума, который у квадратного полинома только один. Эти координаты и являются наиболее эффективными дозами.

Решение системы уравнений выглядит следующим образом:

Из уравнения 3 получаем $d_2 = (-b_1 - 2b_{11}d_1)/b_{12}$, тогда из уравнения 4 получаем

$$b_2 + 2b_{22}(-b_1 - 2b_{11}d_1)/b_{12} + b_{12}d_1 = 0$$

$$b_2 b_{12} - 2b_{22}b_1 - 4b_{11}b_{22}d_1 + b_{12}^2 d_1 = 0$$

$$(b_{12}^2 - 4b_{11}b_{22})d_1 = 2b_{22}b_1 - b_2 b_{12}$$

$$d_1 = \frac{2b_{22}b_1 - b_2 b_{12}}{b_{12}^2 - 4b_{11}b_{22}}.$$

Приведём гипотетические примеры такого рода экспериментов.

Пример 1. Анализируется влияние комбинации 2 фармацевтических субстанций на артериальное давление. Изучается 3 дозы каждой субстанции, каждое сочетание в трёх повторностях (табл. 1).

Таблица 1

Пример 1. Комбинации двух фармацевтических субстанций в различных дозах, понижающих артериальное давление

Table 1

Example 1. Combinations of 2 pharmaceutical substances in different doses that lower blood pressure

Случаи Cases	d_1	d_2	Изменение АД Change in BP
1	0,0	0,0	0,0
2	0,0	5,0	-10,0
3	0,0	10,0	-10,0
4	0,0	0,0	0,0
5	0,0	5,0	-8,0
6	0,0	10,0	-9,0
7	0,0	0,0	0,0
8	0,0	5,0	-7,0
9	0,0	10,0	-8,5
10	12,5	0,0	-15,0
11	12,5	5,0	-25,0
12	12,5	10,0	-30,0
13	12,5	0,0	-17,0
14	12,5	5,0	-22,0
15	12,5	10,0	-28,0
16	12,5	0,0	-14,0
17	12,5	5,0	-26,0
18	12,5	10,0	-32,0
19	25,0	0,0	-20,0
20	25,0	5,0	-25,0
21	25,0	10,0	-25,0
22	25,0	0,0	-22,0
23	25,0	5,0	-26,0
24	25,0	10,0	-25,0
25	25,0	0,0	-21,0
26	25,0	5,0	-24,0
27	25,0	10,0	-28,0

Примечания: d_1, d_2 — дозы в мг/кг; изменения АД в мм рт.ст.
Notes: d_1, d_2 , doses in mg/kg; changes in blood pressure in mmHg.

Множественный регрессионный анализ, проведённый в ППП “Statistica-10”, показал, что приведённые данные хорошо аппроксимируются полиномом 2-й степени:

$$BP = 0,78 - 2,14d_1 - 2,09d_2 + 0,05d_1^2 + 0,09d_2^2 + 0,017d_1d_2. \quad (4)$$

Коэффициент множественной корреляции $R = 0,977, p < 0,001$ (рис. 1).

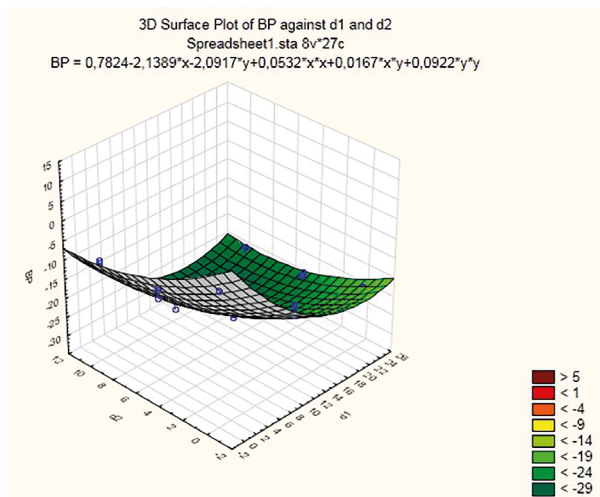


Рис. 1. График функции, полученной с помощью множественного регрессионного анализа данных примера 1. По осям абсцисс — дозы фармацевтических субстанций (мг/кг), по оси ординат — изменение АД в мм рт.ст.
Fig. 1. Graph of the function obtained using multiple regression analysis of the data in Example 1. Along the axes of the abscissa of the dose of pharmaceutical substances (mg / kg), along the ordinate axis, the change in blood pressure in mmHg.

Дифференцирование уравнения 5 в частных производных и приравнивание полученных математических выражений к 0 приводит к следующей системе линейных уравнений:

$$\begin{cases} \frac{\partial BP}{\partial d_1} = -2,14 + 0,1d_1 + 0,017d_2 = 0 \\ \frac{\partial BP}{\partial d_2} = -2,09 + 0,18d_2 + 0,017d_1 = 0 \end{cases}$$

Решив данную систему, как описано выше, получаем оптимальные дозы: $d_1 = 19,7$ мг/кг и $d_2 = 9,8$ мг/кг.

Пример 2. Анализируется влияние 2 фармацевтических субстанций на фракцию выброса левого желудочка сердца. Изучается 5 доз каждой субстанции, каждое сочетание в одной повторности (табл. 2).

Множественный регрессионный анализ, проведённый в ППП “Statistica-10”, показал, что приведённые данные хорошо аппроксимируются полиномом 2-й степени:

$$EF = -0,94 + 1,05d_1 + 1,47d_2 - 0,009d_1^2 - 0,03d_2^2 - 0,008d_1d_2. \quad (5)$$

Коэффициент множественной корреляции $R = 0,978, p < 0,001$ (рис. 2).

Таблица 2

Пример 2. Комбинации двух фармацевтических субстанций в различных дозах, повышающих фракцию выброса левого желудочка сердца

Table 2

Example 2. Combinations of 2 pharmaceutical substances in different doses that increase the ejection fraction of the left ventricle of the heart

Случаи Cases	d_1	d_2	EF
1	0,0	0,0	0,0
2	0,0	5,0	5,0
3	0,0	10,0	10,0
4	0,0	15,0	15,0
5	0,0	30,0	15,0
6	12,5	0,0	10,0
7	12,5	5,0	17,0
8	12,5	10,0	25,0
9	12,5	15,0	25,0
10	12,5	30,0	25,0
11	25,0	0,0	15,0
12	25,0	5,0	25,0
13	25,0	10,0	30,0
14	25,0	15,0	30,0
15	25,0	30,0	30,0
16	35,0	0,0	25,0
17	35,0	5,0	32,0
18	35,0	10,0	35,0
19	35,0	15,0	35,0
20	35,0	30,0	35,0
21	50,0	0,0	30,0
22	50,0	5,0	35,0
23	50,0	10,0	35,0
24	50,0	15,0	35,0
25	50,0	30,0	35,0

Примечания: d_1, d_2 дозы в мг/кг; изменения FE в %.
Notes: d_1, d_2 doses in mg/kg; FE changes in %.

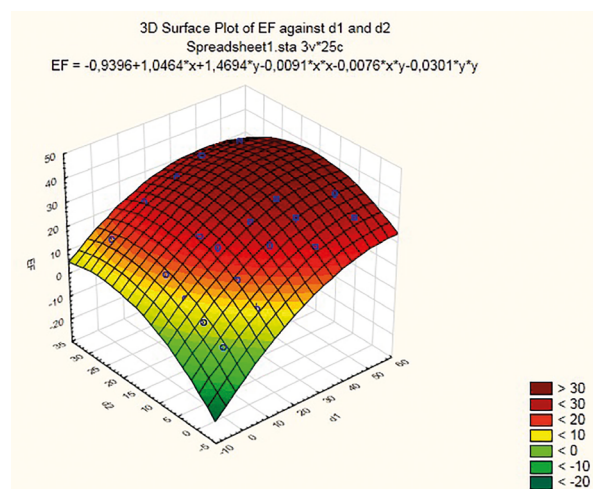


Рис. 2. График функции, полученной с помощью множественного регрессионного анализа данных примера 2. По осям абсцисс — дозы фармацевтических субстанций (мг/кг), по оси ординат — изменение фракции выброса левого желудочка сердца (%)

Fig. 2. Graph of the function obtained using multiple regression analysis of the data in Example 2. Along the axes of the abscissa of the dose of pharmaceutical substances (mg/kg), along the ordinate axis, the ejection fraction of the left ventricle of the heart (%) changes

Дифференцирование уравнения 6 в частных производных и приравнивание полученных математических выражений к 0 приводит к следующей системе линейных уравнений:

$$\begin{cases} \frac{\partial EF}{\partial d_1} = 1,05 - 0,018d_1 - 0,008d_2 = 0, \\ \frac{\partial EF}{\partial d_2} = 1,47 - 0,06d_2 - 0,008d_1 = 0. \end{cases}$$

Решив данную систему, как описано выше, получаем оптимальные дозы: $d_1 = 50,4$ мг/кг и $d_2 = 17,8$ мг/кг.

Приведённые выше гипотетические примеры являются некоторым упрощением, сделанным с целью облегчения расчётов. В реальных исследованиях следует анализировать не менее 5 комбинаций различных доз в 5–6 повторностях. При проведении исследований следует всегда определять коэффициент множественной корреляции регрессионного уравнения.

Заключение / Conclusion

Таким образом, с помощью множественного регрессионного анализа можно рассчитать оптимальные дозы для комбинированных лекарственных средств.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Цорин Иосиф Борисович

Автор, ответственный за переписку

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: tsorin_ib@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3988-7724>
РИНЦ SPIN-код: 4015-3025

Iosif B. Tsorin

Corresponding author

PhD, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher of Laboratory of Circulation Pharmacology Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: tsorin_ib@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3988-7724>
RSCI SPIN code: 4015-3025

Крыжановский Сергей Александрович

д. м. н., зав. лабораторией фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2832-4739>
РИНЦ SPIN-код: 6596-4865

Sergey A. Kryzhanovskii

PhD, Dr. Sci. (Biology), Head of Laboratory of Circulation Pharmacology Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2832-4739>
RSCI SPIN code: 6596-4865

Список литературы / References

1. Добровольский АВ. Подходы к клинической разработке комбинированных лекарственных препаратов в Российской Федерации и Евразийском экономическом союзе с учетом требований действующего законодательства. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(1):14-27. [Dobrovolskiy AV. Approaches to clinical development of combination medicines in the Russian Federation and the Eurasian Economic Union in view of the requirements of the current legislation. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(1):14-27. (In Russ.).] doi: 10.30895/1991-2919-2019-9-1-14-27.
2. Vrijens B, Antoniou S, Burnier M, et al. Current Situation of Medication Adherence in Hypertension. *Front Pharmacol*. 2017 Mar 1;8:100. doi: 10.3389/fphar.2017.00100.
3. Wirtz VJ, Kaplan WA, Kwan GF, Laing RO. Access to Medications for Cardiovascular Diseases in Low- and Middle-Income Countries. *Circulation*. 2016 May 24;133(21):2076-85. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.008722.
4. Sylvester KW, Cheng JW, Mehra MR. Esomeprazole and aspirin fixed combination for the prevention of cardiovascular events. *Vasc Health Risk Manag*. 2013;9:245-54. doi: 10.2147/VHRM.S44265.

5. Roberts DN, Miner PB. Safety aspects and rational use of a naproxen + esomeprazole combination in the treatment of rheumatoid disease. *Drug Healthc Patient Saf*. 2011;3:1-8. doi: 10.2147/DHPS.S7329.
6. Devabhaktuni M, Bangalore S. Fixed combination of amlodipine and atorvastatin in cardiovascular risk management: patient perspectives. *Vasc Health Risk Manag*. 2009;5(1):377-87. doi: 10.2147/vhrm.s3339.
7. McDonagh M, Peterson K, Thakurta Sg, Dana T. Drug class review: fixed dose combination drug products for the treatment of type 2 diabetes and hyperlipidemia: final report [internet]. Portland (OR): Oregon Health & Scienc University; 2007 Oct. PMID: 20496342
8. Steinberg H, Anderson MS, Musliner T, et al. Management of dyslipidemia and hyperglycemia with a fixed-dose combination of sitagliptin and simvastatin. *Vasc Health Risk Manag*. 2013;9:273-82. doi: 10.2147/VHRM.S44330.
9. Рафалес-Ламарка Э.Э., Николаев В.Г. Некоторые методы планирования и математического анализа биологических экспериментов. Киев: Наукова думка; 1971. 117 с. [Rafales-Lamarka EE, Nikolaev VG. Some methods of planning and mathematical analysis of biological experiments. Kiev: Scientific Thought, 1971. (In Russ.).]



Экспериментальная фармакокинетика нового противопаркинсонического средства АДК-1113

© Кравцова О. Ю., Дворянинов Д. А., Колыванов Г. Б., Литвин А. А.,
Грибакина О. Г., Жердев В. П.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Изучена фармакокинетика нового противопаркинсонического средства АДК-1113 после однократных внутривенного и внутрижелудочного введения мышам в дозах 10 и 20 мг/кг, соответственно. Абсолютная биодоступность составила 10,1–16,3 %, что говорит о потенциальной возможности разработки лекарственной формы для приёма внутрь.

Ключевые слова: АДК-1113; противопаркинсоническое средство; высокоэффективная жидкостная хроматография tandemная масс-спектрометрия (ВЭЖХ-МС/МС); доклиническая фармакокинетика; абсолютная биодоступность

Для цитирования:

Кравцова О. Ю., Дворянинов Д. А., Колыванов Г. Б., Литвин А. А., Грибакина О. Г., Жердев В. П. Экспериментальная фармакокинетика нового противопаркинсонического средства АДК-1113. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2024;(1):27–31. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-27-31>. EDN: KNFZMY

Поступила: 03.03.2024. **В доработанном виде:** 03.03.2024. **Принята к печати:** 27.03.2024. **Опубликована:** 31.03.2024.

Experimental pharmacokinetics of a new antiparkinsonian drug ADK-1113

© Oxana Yu. Kravtsova, Dmitriy A. Dvoryaninov, Gennadiy B. Kolyvanov, Alexander A. Litvin, Oxana G. Gribakina, Vladimir P. Zherdev
FSBSI "Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies", Moscow, Russian Federation

Abstract

The pharmacokinetics of a new antiparkinsonian drug ADK-1113 after single intravenous and intragastric administrations in mice at doses of 10 and 20 mg/kg was studied. The absolute bioavailability was 10.1–16.3 % that indicates on potential possibility of preparing a dosage form for oral administration.

Keywords: antiparkinsonian drug (ADK-1113); preclinical pharmacokinetics; tandem-HPLC-mass spectrometry; absolute bioavailability

For citations:

Kravtsova OYu, Dvoryaninov DA, Kolyvanov GB, Litvin AA, Gribakina OG, Zherdev VP. Experimental pharmacokinetics of a new antiparkinsonian drug ADK-1113. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2024;(1):27–31. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-27-31>. EDN: KNFZMY

Received: 03.03.2024. **Revision received:** 13.03.2024. **Accepted:** 27.03.2024. **Published:** 31.03.2024.

Введение / Introduction

В ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», в результате исследований в ряду производных адамантана, было выявлено соединение 5-этоксип-2-[N-(адамант-1-ил)-N-метиламино]-этилтиобензимидазол (в виде дигидрохлорида) с рабочим шифром АДК-1113 (рис. 1), которое по своей противопаркинсонической активности, изученной в экспериментальных моделях паркинсонического синдрома, как минимум, не уступает другому производному адамантана — гимантану (N-(2-адамантил)-гексаметиленмин гидрохлорид) [1, 2].

Необходимым этапом разработки оригинального лекарственного средства (ЛС) является доклиническое изучение его фармакокинетики (ФК) [3].

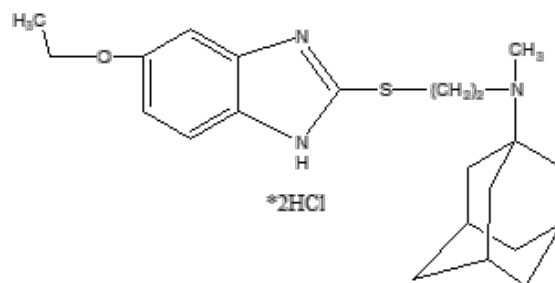


Рис. 1. Структурная формула АДК-1113 (в виде дигидрохлорида)

Fig. 1. Structural formula of ADK-1113 (dihydrochloride)

Цель данного исследования — методом высокоэффективной жидкостной хроматографии tandemной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС) изучить ФК АДК-1113 в плазме крови мышей после однократных внутривенного (в/в) и внутрижелудочного (в/ж) введений и определить его абсолютную биодоступность.

Методика исследования / Study method

Исследование проведено на половозрелых беспородных мышках-самцах с массой тела 21 ± 2 г. Животные содержались в лабораторном виварии при $20-22^\circ\text{C}$, относительной влажности воздуха 45–65 %, имели свободный доступ к корму и воде. Эксперименты проводили в соответствии с «Руководством по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований» (Рекомендации коллегии Совета Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 г. № 33).

Фармацевтическую субстанцию АДК-1113 вводили животным однократно в физиологическом растворе (истинный раствор) в/ж в дозе 20 мг/кг и в/в — 10 мг/кг. Содержание АДК-1113 определяли в плазме крови до введения (контроль) и через 0,083; 0,25; 0,5; 1; 2; 4 и 6 ч после введения. Поскольку на каждую временную точку использовали по 5 животных, результирующая ФК кривая была построена по усреднённым концентрациям, поэтому при расчётах ФК параметров отсутствует статистическая обработка результатов.

Пробы крови мышей получали декапитацией животных с последующим центрифугированием при 13500 об/мин в течение 15 мин для отделения плазмы (антикоагулянт — 5 % $\text{K}_2\text{ЭДТА}$). Далее образцы плазмы крови замораживали при -40°C и хранили без добавления консервантов до анализа.

Количественное определение АДК-1113 в плазме крови животных осуществляли с помощью валидированной методики ВЭЖХ-МС/МС (масс-спектрометр — тройной квадруполь TSQ Altis, Thermo Scientific, США) [4]. Детектирование АДК-1113 проводили методом ионизации электроспрей, регистрируя положительные ионы в MRM-режиме (MRM — Multiple Reaction Monitoring — режим мониторинга множественных реакций). MRM переход целевого соединения: $386,3 \rightarrow 192,2$ m/z . Хроматографическое разделение осуществляли на колонке Luna C18(2), 3,0 мкм, $20 \times 4,0$ мм (Phenomenex, США) в градиентном режиме элюирования (скорость потока 1 мл/мин, общее время анализа 3,5 мин). Подвижная фаза состояла из ацетонитрила и воды, содержащих 0,1 % муравьиной кислоты. В этих условиях время удерживания АДК-1113 составило $0,95 \pm 0,02$ мин. Для извлечения АДК-1113 из биоматериала и осаждения белков плазмы крови использовали ацетонитрил. Нижний предел количественного определения АДК-1113 в плазме крови животного составлял 2,5 нг/мл.

На основании данных «концентрация (С, нг/мл) — время (t, ч)» непараметрическим методом интегральных статистических моментов были рассчитаны следующие ФК параметры [5, 6]:

$\text{AUC}_{0 \rightarrow t}$ (нг×ч/мл) — площадь под ФК кривой «концентрация ЛС — время». $\text{AUC}_{0 \rightarrow t}$ рассчитывается с использованием линейно-логарифмического метода трапеций от момента введения до конкретного временного интервала;

$\text{AUC}_{0 \rightarrow \infty}$ (нг×ч/мл) — площадь под ФК кривой «концентрация ЛС — время». $\text{AUC}_{0 \rightarrow \infty}$ рассчитывается с использованием линейно-логарифмического метода трапеций от момента введения до бесконечности (сумма $\text{AUC}_{0 \rightarrow t}$ и экстраполируемой площади, вычисленной на основании значения последней наблюдаемой концентрации и k_{el});

C_0 (нг/мл) — концентрация ЛС в плазме крови сразу после импульсного (болюсного) внутрисосудистого введения. Определяется как величина отрезка, отсекаемого на оси ординат при экстраполяции прямой (линейной зависимости в координатах $\lg[C(t)] - t$) к точке $t = 0$;

$C_{\max}$ (нг/мл) — максимальная концентрация ЛС в плазме крови при внесосудистом введении;

$T_{\max}$ (ч) — время достижения максимальной концентрации ЛС в плазме крови при внесосудистом введении;

$C_{\max}/\text{AUC}$ (1/ч) — ФК параметр, характеризующий скорость всасывания ЛС в системный кровоток при внесосудистом введении;

k_{el} (1/ч) — константа скорости элиминации — параметр, характеризующий скорость выведения вещества из плазмы крови — абсолютное значение наклона конечного логарифмически линейного участка, идентифицированного на ФК кривой;

$t_{1/2}$ (ч) — период полувыведения — период, за который выводится половина введённой и всосавшейся дозы ЛС — рассчитывается как $t_{1/2} = \ln 2/k_{el}$;

V_d (л/кг) — кажущийся объём распределения — мера кажущегося пространства, в котором были бы равномерно распределены молекулы ЛС, если бы они имели ту же концентрацию (C_0), что и в плазме крови, $V_d = D/\text{AUC} \times k_{el}$, где D — доза (после внутрисосудистого введения);

Cl (л/ч/кг) — клиренс — объём плазмы, который очищается от препарата в единицу времени, $\text{Cl} = V_d \times k_{el}$ или $\text{Cl} = D/\text{AUC}$ (после внутрисосудистого введения);

f_a (%) — абсолютная биодоступность — степень абсорбции ЛС в системный кровоток при внесосудистом введении. Существуют разные подходы для расчёта абсолютной биодоступности, наиболее общий:

$$f_a = \frac{\text{AUC}_{\text{EV}} \times D_{\text{IV}}}{\text{AUC}_{\text{IV}} \times D_{\text{EV}}}, \quad (1)$$

где AUC_{EV} и AUC_{IV} — соответственно площади под кривыми зависимости «концентрация (С, нг/мл) —

время (t, ч)» после внесосудистого и внутривенного введений ($AUC_{0 \rightarrow \infty}$); D_{IV} и D_{EV} — соответственно величины доз для соответствующих путей введения (использовали $AUC_{0 \rightarrow \infty}$).

Однако, чтобы результаты исследований были достоверны, как внутрисосудистое, так и внесосудистое введение изучаемого ЛС должно проводиться на одних и тех же объектах исследования. Реально используются разные группы животных (внутри- и межиндивидуальные вариации в элиминации), поэтому проводится коррекция по наблюдаемой терминальной константе скорости элиминации (k_{el}) [7], а именно:

$$f_a = \frac{(k_{el} \times AUC)_{EV} \times D_{IV}}{(k_{el} \times AUC)_{IV} \times D_{EV}}, \quad (2)$$

где AUC_{EV} и AUC_{IV} — соответственно площади под кривыми зависимости «концентрация (C, нг/мл) — время (t, ч)» после внесосудистого и в/в введений ($AUC_{0 \rightarrow \infty}$); D_{IV} и D_{EV} — величины доз для соответствующих путей введения; $k_{el EV}$ и $k_{el IV}$ — величины констант скоростей элиминации для соответствующих путей введения.

Результаты и их обсуждение / Results and discussion

Усреднённые ФК профили АДК-1113 в плазме крови мышей после однократных в/ж и в/в введений представлены на рис. 2. ФК характеристики исследуемого соединения в плазме крови животных после однократного в/ж и в/в введений представлены в табл. 1.

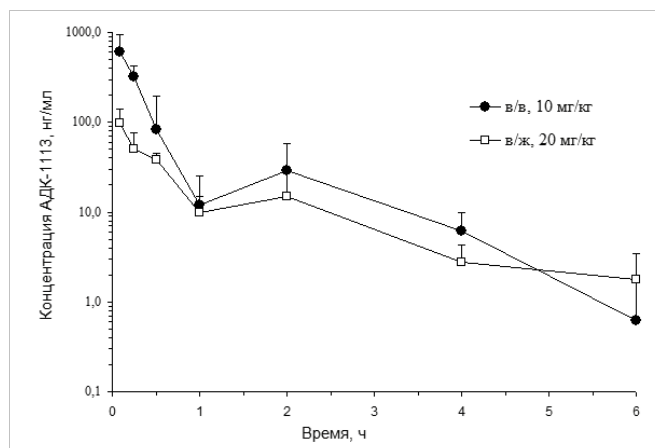


Рис. 2. Усреднённые фармакокинетические профили АДК-1113 в плазме крови мышей после однократных внутривенного (доза 10 мг/кг) и внутрижелудочного (доза 20 мг/кг) введений фармацевтической субстанции ($n = 5$; среднее $\pm$ стандартное отклонение)

Fig. 2. Average pharmacokinetic profiles of ADK-1113 in the mice blood plasma after single intravenous (dose 10 mg/kg and intragastral (dose 20 mg/kg) administrations of pharmaceutical substance ($n = 5$; mean $\pm$ standard deviation)

Таблица 1

Фармакокинетические параметры АДК-1113 в плазме крови мышей после однократных внутрижелудочного (в/ж) и внутривенного (в/в) введений

Table 1

Pharmacokinetic parameters of ADK-1113 in the mice blood plasma after single intragastral (i/g) and intravenous (i/v) administrations of pharmaceutical substance

Параметр	Ед. изм.	Путь введения	
		в/ж	в/в
Доза	мг/кг	20	10
C_{max} , C_0	нг/мл	97,6	965,0
T_{max}	ч	0,083	—
AUC_{0-t}	нг/мл $\times$ ч	68	218
$AUC_{0-\infty}$	нг/мл $\times$ ч	71	218
$C_{max}/AUC_{0-\infty}$	1/ч	1,375	--
$t_{1/2}$	ч	1,15	0,71
k_{el}	1/ч	0,603	0,975
V_d	л/кг	—	47,1
Cl	л/ч/кг	—	45,9
f_a (1)	%	16,3	—
f_a (2)		10,1	--

После в/ж введения мышам соединение АДК-1113 быстро всасывалось из желудочно-кишечного тракта. Максимальная концентрация (C_{max} — 97,6 нг/мл) в плазме крови регистрировалась через 0,083 ч (T_{max}), а параметр, характеризующий скорость всасывания, $C_{max}/AUC_{0-\infty}$, составил 1,375 1/ч. Соединение АДК-1113 определялось в плазме крови на протяжении 6 ч. Учитывая, что период полуэлиминации ($t_{1/2el}$) составил 1,2 ч, АДК-1113 можно условно отнести к группе «долгоживущих» ЛС [8].

После в/в введения АДК-1113, так же как и в случае в/ж введения, определялся в плазме крови на протяжении 6 ч ($t_{1/2}$ составил 0,7 ч). Кажущаяся начальная концентрация (C_0) АДК-1113 в плазме крови мышей составила 965,0 нг/мл. Величина кажущегося объёма распределения (V_d) АДК-1113 после в/в введения равнялась 47,1 л/кг. V_d обычно не эквивалентен физиологическому объёму, а отражает распределение препарата и степень его связывания в организме. Так, если ЛС связывается преимущественно белками крови, V_d будет меньше, чем реальный. С другой стороны, преимущественное связывание ЛС во внесосудистом пространстве приводит к превышению значения V_d над реальным объёмом. В нашем случае, расчёт величины V_d показал достаточно высокие значения, указывающие на то, что АДК-1113 распределяется во внесосудистом пространстве (органах) животных и может накапливаться в тканях [6, 8], так же как и гимантан, V_d которого в организме крыс после однократного в/в введения в 2 раза больше и составляет 94,4 л/кг. Сравнивая ФК параметры гимантана после одно-

кратного в/ж введения крысам, стоит отметить, что по сравнению с АДК-1113, он всасывается медленнее ($T_{\max} = 0,25$ ч против $0,083$ ч; скорость всасывания в $3,3$ раза меньше) и более медленно выводится ($t_{1/2} = 3,5$ ч, что в 3 раза дольше) [9].

Несмотря на большие различия в скорости всасывания сравниваемых ЛС, степень их биодоступности была соизмерима. Так, величина абсолютной биодоступности АДК-1113 после в/ж введения, рассчитанная без и с учётом наблюдаемой терминальной константы скорости элиминации (уравнения 1 и 2, соответственно) составила $16,3$ и $10,1$ % и для гимантана — $14,1$ и $8,2$ % [9].

Заключение / Conclusion

В целом можно заключить, что АДК-1113 по своим ФК характеристикам и профилю является конкурентноспособным в сравнении со своим прототипом — гимантаном. Также необходимо отметить, что абсолютная биодоступность соединения АДК-1113 после в/ж введения, говорит о потенциальной возможности разработки его лекарственной формы для приёма внутрь.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Финансирование

Работа выполнена без спонсорской поддержки.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

Authors' participation

All authors made a significant contribution to the preparation of the work, read and approved the final version of the article before publication.

Financing

The work was carried out without sponsorship.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Кравцова Оксана Юрьевна

к. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0693-2007>
РИНЦ SPIN-код: 1733-2330

Oxana Yu. Kravtsova

PhD, Cand. Sci. (Biology), leading research scientist of the laboratory of pharmacokinetics Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0693-2007>
RSCI SPIN code: 1733-2330

Дворянинов Дмитрий Александрович

м. н. с. лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
РИНЦ SPIN-код: 4126-9549

Dmitriy A. Dvoryaninov

Junior researcher of the laboratory of pharmacokinetics Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
RSCI SPIN code: 4126-9549

Колыванов Геннадий Борисович

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2571-0047>
РИНЦ SPIN-код: 2538-8639

Gennady B. Kolyvanov

PhD, Dr. Sci. (Biology), leading researcher of the laboratory of pharmacokinetics Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2571-0047>
RSCI SPIN code: 2538-8639

Литвин Александр Алексеевич

Автор, ответственный за переписку

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных
биомедицинских и фармацевтических
технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: litbiopharm@yandex.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2818-3457>
РИНЦ SPIN-код: 6193-5770

Alexander A. Litvin

Corresponding author

PhD, Dr. Sci. (Biology), Leading researcher of the
laboratory of pharmacokinetics Federal Research
Center for Innovator and Emerging Biomedical and
Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian
Federation
e-mail: litbiopharm@yandex.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2818-3457>
RSCI SPIN code: 6193-5770

Грибакина Оксана Геннадьевна

к. б. н., с. н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных
биомедицинских и фармацевтических
технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4604-4346>
РИНЦ SPIN-код: 6266-8161

Oxana G. Gribakina

PhD, Cand. Sci. (Biology), senior research scien-
tist of the laboratory of pharmacokinetics Federal
Research Center for Innovator and Emerging Bio-
medical and Pharmaceutical Technologies, Moscow,
Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4604-4346>
RSCI SPIN code: 6266-8161

Жердев Владимир Павлович

д. м. н., профессор, заведующий лабораторией
фармакокинетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных
и перспективных биомедицинских и фармацев-
тических технологий», Москва, Российская
Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2710-7134>
РИНЦ SPIN-код: 2213-9592

Vladimir P. Zherdev

PhD, Dr. Sci. (Med.), professor, Head of laboratory
pharmacokinetics Federal Research Center for In-
novator and Emerging Biomedical and Pharmaceu-
tical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2710-7134>
RSCI SPIN code: 2213-9592

Список литературы / References

1. Капица И.Г., Воронина Т.А. Антипаркинсоническая активность адамантильного производного бензимидазола АДК-1113. *Экспер. и клин фармакол.* 2023;86(11S):68-68. [Kapitsa IG, Voronina TA. Antiparkinsonicheskaya aktivnost adamantyl'nogo proizvodnogo benzimidazola ADK-1113. *Exper. Clin. Pharmacol.* 2023;86(11S):68-68. (In Russ.).] doi: 10/30906/ekf-2023-86s-68a.
2. Ragshaniya A, Kumar V, Tital RK, Lal K. Nascent pharmacological advancement in adamantane derivatives. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2024 Mar;357(3):e2300595. doi: 10.1002/ardp.202300595.
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Методические рекомендации по проведению доклинических исследований фармакокинетики новых лекарственных средств / Миронов А. Н. (ред.). М.: Гриф и К, 2012. С. 865-880. [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. Metodicheskie rekomendacii po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy farmakokinetiki novykh lekarstvennykh sredstv. Mironov AN. Moscow: Grif and K, 2012. P. 865-880. (In Russ.).]
4. Кравцова О.Ю., Дворянинов Д.А., Колыванов Г.Б. и др. Количественное определение нового противопаркинсонического средства АДК-1113 в плазме крови мышей методом высокоэффективной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. *Экспер. и клин фармакол.* 2024;87(2):6-12. [Kravtsova OYu, Dvoryaninov DA, Kolyvanov GB, et al. Quantification of a new antiparkinsonian agent ADK-1113 in mouse blood plasma by high performance liquid chromatography –

tandem mass spectrometry. *Exper. Clin. Pharmacol.* 2024;87(2):6-12. (In Russ.).] doi: 10/30906/0869-2092-2024-87-2-6-12.

5. Основы фармакокинетики / И.И. Мирошниченко. — Москва : ГЭОТАР-МЕД, 2002 (ООО Момент). 185, [3] с. [Osnovy farmakokinetiki. Miroshnichenko II. Geotar-Med. Moscow: 2002 (In Russ.).] ISBN 5-9231-0211-0.

6. Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение / Сергиенко В. И., Джеллифф Р., Бондарева И. Б.; Рос. акад. мед. наук. Москва : Изд-во Рос. акад. мед. наук, 2003. 208 с. [Prikladnaya farmakokinetika: osnovnye polozheniya i klinicheskoe primeneniye. Sergienko VI, Gelliff R, Bondareva IB. Moscow: Izd-vo Ros. akad. med. nauk. 2003. (In Russ.).] ISBN 5790100317.

7. Фармакокинетика / Н.Н. Каркищенко, В.В. Хоронько, С.А. Сергеева, В.Н. Каркищенко. Ростов н/Д : Феникс, 2001. 381 с. [Farmakokinetika. Karkishenko NN, Khoronko VV, Sergeeva SA, Karkishenko VN. Rostov-na-Donu: 2001. (In Russ.).] ISBN: 5-222-01504-1.

8. Edward H. Kerns and Li Di. Drug-like properties: concepts, structure design and methods: from ADME to toxicity optimization, 1st ed., Elsevir, Amsterdam-Boston-London, 2008.

9. Литвин Е.А. Биотрансформация и фармакокинетика нового противопаркинсонического препарата гимантана (экспериментальное исследование). Автореф. дис. канд. биол. наук. М.; 2012. [Litvin EA. Biotrasformaciya i farmakokinetika novogo protivoparkinsonicheskogo preparata gimantana (experimentalnoe issledovanie). Autoabstract diss. candidate of biological sciences. Moscow; 2012. (In Russ.).] <https://elck.ru/3A9NQ7>.



Оценка влияния демографических и антропометрических показателей на вариабельность фармакокинетических параметров

© Васильюк В. Б.^{1,2}, Верведа А. Б.^{1,3}, Фарапонова М. В.¹, Сыраева Г. И.^{1,4}

¹ — ООО «НИЦ Эко-безопасность», Санкт-Петербург, Российская Федерация

² — ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ — ФГБУН «НИИ промышленной и морской медицины» ФМБА России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴ — ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Планирование дизайна клинических исследований биоэквивалентности воспроизведённых высоковариабельных лекарственных средств требует нестандартных подходов — использование репликативного (повторного) или адаптивного дизайна при планировании исследования. Однако оба подхода влекут за собой увеличение организационных, временных и финансовых затрат, в связи с чем становится актуальным поиск способов предварительного отбора добровольцев с более низким исходным уровнем вариабельности фармакокинетических параметров для возможного сокращения числа субъектов исследования.

Цель. Определение потенциальных субъектов клинического исследования с низким исходным уровнем вариабельности фармакокинетических параметров с использованием методов оценки исходных гендерно-возрастных, антропометрических и клинико-лабораторных показателей.

Материалы и методы. Для анализа были использованы данные клинических исследований биоэквивалентности лекарственных средств (МНН: валганцикловир, карэбастин и ралтегравир) с различным уровнем вариабельности, проведённые в период 2020–2022 гг. на территории Российской Федерации. Для решения поставленной цели была разработана модель группировки фармакокинетических параметров (ФКП) при известных демографических и клинико-лабораторных показателях с использованием дискриминантного анализа. Дискриминацию проводили между двумя подгруппами — оптимальной фармакокинетики (ОФ) и вариабельной фармакокинетики (ВФ). Математико-статистический анализ результатов осуществляли с помощью Microsoft Excel 2013 и Statistica 10.0.

Результаты. В ходе исследования за основу были приняты показатели вариабельности максимальной концентрации препарата в плазме (C_{max}), включая его логарифмические значения. Уровни внутрииндивидуальной вариабельности (CV_{intra}), являющиеся основной характеристикой вариабельности препарата, в группе ОФ были в несколько раз ниже в сравнении с ВФ для всех изучаемых препаратов, но для высоковариабельного препарата ралтегравир различались почти в 10 раз.

Заключение. Таким образом, было показано, что использование только традиционных гендерно-возрастных и антропометрических показателей не позволяет получить разделение групп ОФ и ВФ для анализируемых препаратов с высокой вариабельностью ФКП.

Ключевые слова: высоковариабельный препарат; фармакокинетические параметры; возраст; антропометрические характеристики; здоровые добровольцы; биоэквивалентность; клинические исследования

Для цитирования:

Васильюк В. Б., Верведа А. Б., Фарапонова М. В., Сыраева Г. И. Оценка влияния демографических и антропометрических показателей на вариабельность фармакокинетических параметров. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2024;(1):32–44. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-32-44>. EDN: BDNQTT

Поступила: 20.12.2023. В доработанном виде: 20.01.2024. Принята к печати: 17.03.2024. Опубликовано: 31.03.2024.

Assessment of the influence of demographic and anthropometric indicators on the variability of pharmacokinetic parameters

© Vasilyuk V. B.^{1,2}, Aleksey B. Verveda^{1,3}, Maria V. Farapontova¹, Gulnara I. Syraeva^{1,4}

¹ — Scientific Research Center Eco-Safety LLC, Saint-Petersburg, Russian Federation

² — North-Western State Medical University named I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russian Federation

³ — Research Institute of Industrial and Maritime Medicine of Federal Medical Biological Agency, Saint-Petersburg, Russian Federation

⁴ — FSBEI HE "Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University" of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Saint-Petersburg, Russian Federation

Abstract

Relevance. Planning the design of bioequivalence clinical studies of generic highly variable drugs requires non-standard approaches — the use of replicative (repeated) or adaptive design. However, both approaches entail an increase in organizational, time, and financial costs. Therefore, it becomes relevant to search for ways to pre-select volunteers with a lower initial level of variability in pharmacokinetic parameters to reduce the number of subjects.

Objective. The aim of this study was to determine the potential subjects in clinical trials with a low initial level of variability in pharmacokinetic parameters using methods for assessing initial gender — age and anthropometric and clinical laboratory parameters.

Material and methods. Data from clinical studies of the bioequivalence of drugs (valganciclovir, carebasteine and raltegravir) with different levels of variability conducted in the period 2020–2022 in Russia were used for analysis. To achieve this goal, a model for grouping pharmacokinetic parameters (PhK) with known demographic and clinical laboratory parameters was developed using discriminant analysis. Discrimination was performed between optimal pharmacokinetics (OPhK) and variable pharmacokinetics (VPhK). Mathematical and statistical analyses of the results were performed using Microsoft Excel 2013 and Statistica 10.0.

Results. During the study, the variability of the maximum concentration of the drug in plasma (C_{max}), including its logarithmic values, was used as a basis. The levels of intra-individual variability (CV_{intra}), which is the main characteristic of drug variability, in the OPhK group were several times lower than those in the VPhK group for all studied drugs, but for the highly variable drug raltegravir, they differed by almost 10 times.

Conclusion. Therefore, the obtained results indicated that using traditional gender — age and anthropometric indicators alone is impossible to separate the OPhK and VPhK groups for the analyzed drugs with high PhK variability.

Keywords: highly variable drug; pharmacokinetic parameters; age; anthropometric characteristics; healthy volunteers; bioequivalence; clinical studies

For citations:

Vasilyuk VB, Verveda AB, Faraponova MV, Syraeva GI Assessment of the influence of demographic and anthropometric indicators on the variability of pharmacokinetic parameters. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2024;(1):32–44. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-32-44>. EDN: BDNQIT

Received: 20.12.2023. **Revision received:** 20.01.2024. **Accepted:** 17.03.2024. **Published:** 31.03.2024.

Введение / Introduction

В настоящее время существует ряд лекарственных препаратов, которые выделяются в отдельную группу [1] за счёт своих фармакокинетических свойств, а именно показывают вариабельность $> 30 \%$ таких параметров, как площадь под фармакокинетической кривой (AUC) и максимальная (или пиковая) концентрация препарата в сыворотке крови (C_{max}). Поскольку высоковариабельные препараты занимают важное место в структуре воспроизведённых препаратов [2], неотъемлемой частью стратегии их вывода на рынок являются исследования биоэквивалентности. При этом планирование таких исследований, с учётом особенностей препаратов, не может проводиться согласно стандартным российским и международным рекомендациям. Основным фактором является большой объём выборки, требуемый для достижения необходимой мощности исследования и уровня значимости соответствующих статистических тестов.

Одним из вариантов решения данной проблемы является использование репликативного (повторного) или адаптивного дизайна при планировании исследования. Репликативный подход характеризуется минимум двукратным приёмом одного из препаратов с использованием 3- или 4-периодной перекрёстной схемы. Адаптивный дизайн включает возможность модификации одного или нескольких элементов на основе промежуточного анализа данных. Оба подхода, помимо объективных плюсов (в том числе уменьшение объёма выборки), влекут за собой также увеличение организационных, временных и финансовых затрат при планировании и проведении исследования.

Актуальной научной задачей является поиск способов и методов предварительного отбора добровольцев с более низким исходным уровнем вариабельности фармакокинетических параметров для возможного сокращения числа субъектов исследования.

Цель / Objective

Определить основные направления решения вопроса скрининга в клинические исследования лекарственных препаратов потенциальных субъектов с низким исходным уровнем вариабельности фармакокинетических параметров с использованием методов оценки исходных гендерно-возрастных, антропометрических и клиничко-лабораторных показателей.

Материалы и методы / Materials and methods

Для выполнения поставленной цели были выбраны исследования препаратов с различным уровнем вариабельности, а именно следующие международные непатентованные наименования (МНН): валганцикловир, карэбастин и ралтегравир, проведённые в период 2020–2022 гг. в соответствии с регуляторными и этическими требованиями РФ.

Математико-статистический анализ результатов осуществляли с использованием пакетов R 4.3.1 и Statistica 10.0, а также Microsoft Excel 2013 для построения графиков и таблиц. Для представления данных рассчитывали среднее арифметическое (Mean), стандартное отклонение среднего результата (SD), коэффициент вариации (CV), медиану (Me), верхний (UQ) и нижний квартиль (LQ). Приводили минимальные (Min) и максимальные (Max) значения показателя.

Для решения задачи разработки модели группировки фармакокинетических параметров (ФКП) при известных демографических и клиничко-лабораторных показателях использовали дискриминантный анализ (ДА).

Дискриминацию проводили между двумя подгруппами — оптимальной фармакокинетики (ОФ) и вариабельной фармакокинетики (ВФ). Для получения подгрупп при двухпериодном исследовании из логарифмически преобразованного значения основных ФКП референсного препарата (R) вычитали

соответствующее значение тестового препарата (Т), получали разность и ранжировали по модулю разности. В подгруппу ОФ входила первая половина добровольцев из группы R, у которых уровни разницы ФКП были ближе к нулевым значениям, а в подгруппу ВФ — более удалённые от нулевого значения. В случае полного репликативного дизайна разницу получали путём вычитания из значений для препарата R, полученных во время 1–2 периодов, значений периодов 3–4. Для установления различий коэффициентов вариации в ОФ и ВФ использовали аппроксимативный F-критерий для сравнения двух коэффициентов вариации по Форкману [3].

Также ДА использовали для поиска информативных переменных, позволяющих отнести наблюдения (добровольцев) в одну из исследуемых групп (ОФ или ВФ) по совокупности результатов демографических (пол (П), возраст (В)) и антропометрических исследований (масса тела (МТ), рост (Р), индекс массы тела (ИМТ)) и клинико-лабораторных показателей. Ввиду того, что не все признаки отвечали критерию нормальности, а также анализировали качественные переменные (пол), был использован непараметрический вариант дискриминантного анализа, представленный в модуле GDA — Общие модели дискриминантного анализа (ОМДА) программы STATISTICA 10.0 [4].

На первом этапе ДА использовали для принятия решения о том, какие переменные различают (дискриминируют) исследуемые группы. В качестве критериев для отбора информативных дискриминантных переменных применяли статистику частная лямбда Уилкса (ЧЛУ). Значение ЧЛУ может изменяться от 1.0 (нет никакой дискриминации) до 0.0 (полная дискриминация), т. е. чем меньше ЧЛУ, тем информативность показателя выше. Дополнительно оценивали уровень суммы квадратов отклонений, обусловленных различием средних значений между группами (SS) — чем больше значение, тем больше вклад эффекта в процедуру дискриминации.

На втором этапе с использованием ДА для каждого препарата проводили оценку эффективности классификации по совокупности всех анализируемых гендерно-возрастных и клинико-лабораторных показателей.

Результаты / Results

1. Оценка вариабельности и биоэквивалентности фармакокинетических параметров после приёма однократной дозы лекарственного препарата здоровыми добровольцами

Для оценки возможности разделения добровольцев на исследуемые подгруппы были проанализированы препараты с различным уровнем вариабельности — низковариабельные, средневариабельные (около 30 %) и высоковариабельные (более 30 %). Анализ проводили на основе данных референтных препаратов,

используемых в исследованиях биоэквивалентности. Фармакокинетические параметры исследуемых препаратов под торговыми наименованиями (ТН) Вальцит® (МНН: валганцикловир), Кестин® (МНН: карэбастин) и Исентресс® (МНН: ралтегравир) рассчитывали внемоделными методами [5] с использованием программы PKSolver [6].

Для изучения вариабельности ФКП были выделены 2 параметра, используемые для оценки биоэквивалентности — максимальную концентрацию в плазме (C_{max}) и площадь под кривой «плазменная концентрация–время» (AUC_{0-t}). Анализ показателей вариабельности ФКП (табл. 1) позволил установить, что наиболее вариабельным из изучаемых параметров был показатель C_{max} , превышающий или находящийся на уровне AUC_{0-t} по общему коэффициенту вариации (CV_{total}) и заметно превышающий значения AUC_{0-t} по внутрииндивидуальному коэффициенту вариации (CV_{intra}), являющемуся основной характеристикой вариабельности препарата. Поэтому для дальнейшего анализа использовали только C_{max} .

В таблице 2 представлены расчётные характеристики C_{max} , включая логарифмически преобразованные значения C_{max} , а также сравнительная оценка

Таблица 1

Исходные показатели вариабельности изучаемых препаратов

Table 1

Initial indicators of variability of the studied drugs

Препарат Studied Drug	CV_{total}	CV_{intra}
C_{max}		
ТН: Вальцит® (МНН: валганцикловир) TN: Valcyte® (INN: valganciclovir)	28,0 %	14,6 %
ТН: Кестин® (МНН: карэбастин) TN: Kestin® (INN: carebastin)	38,7 %	29,3 %
ТН: Исентресс® (МНН: ралтегравир) TN: Isentress® (INN: raltegravir)	111,0 %	84,6 %
AUC_{0-t}		
ТН: Вальцит® МНН: валганцикловир) TN: Valcyte® (INN: valganciclovir)	28,9 %	9,9 %
ТН: Кестин® (МНН: карэбастин) TN: Kestin® (INN: carebastin)	36,1 %	20,7 %
ТН: Исентресс® (МНН: ралтегравир) TN: Isentress® (INN: raltegravir)	87,1 %	65,8 %
Примечания: ТН — торговое наименование; МНН — международное непатентованное наименование; C_{max} — максимальная концентрация препарата в сыворотке крови; CV_{total} — общий коэффициент вариации; CV_{intra} — внутрииндивидуальный коэффициент вариации. Notes: TN — trade name; INN — international nonproprietary name; C_{max} — the maximum concentration of the drug in the blood serum; CV_{total} — overall coefficient of variation; CV_{intra} — intra-individual coefficient of variation.		

Таблица 2

Сравнительные характеристики варибельности значений $C_{\max}$ у добровольцев групп ВФ и ОФ для исследуемых препаратов

Table 2

Comparative characteristics of the variability of $C_{\max}$ values in volunteers of the variable pharmacokinetics and optimal pharmacokinetics groups for the studied drugs

Показатель Indicator	Группа Group	Расчётные параметры показателя Calculated parameters of the indicator									p¹
		N	Mean	Me	Min	Max	LQ	UQ	SD	CV, %	
ТН: Вальцит® (МНН: валганцикловир) TN: Valcyte® (INN: valganciclovir)											
C _{max} , МКГ/МЛ	ВФ VPhK	9	3463,4	3498,0	2043,0	4957,0	2747,0	4212,0	1064,6	31	0,051
	ОФ OPhK	10	4254,6	4620,5	2654,0	4924,0	3786,0	4769,0	726,0	17	
LnC _{max}	ВФ VPhK	9	8,11	8,16	7,62	8,51	7,92	8,35	0,31	3,9	0,072
	ОФ OPhK	10	8,34	8,44	7,88	8,50	8,24	8,47	0,19	2,3	
ТН: Кестин® (МНН: карэбастин) TN: Kestin® (INN: carebastin)											
C _{max} , МКГ/МЛ	ВФ VPhK	13	146,0	157,0	42,4	220,0	129,0	189,0	57,6	39	0,086
	ОФ OPhK	13	152,3	136,0	115,0	235,0	124,0	161,0	40,0	26	
LnC _{max}	ВФ VPhK	13	4,87	5,06	3,75	5,39	4,86	5,24	0,55	11,2	0,003*
	ОФ OPhK	13	5,00	4,91	4,74	5,46	4,82	5,08	0,24	4,8	
ТН: Исентресс® (МНН: ралтегравир) TN: Isentress® (INN: raltegravir)											
C _{max} , МКГ/МЛ	ВФ VPhK	56	5229,9	5205,0	568,0	7841,0	4426,5	6549,5	1658,0	32	0,928
	ОФ OPhK	56	5125,2	5344,5	609,0	7985,0	3820,0	6934,5	1982,7	39	
LnC _{max}	ВФ VPhK	56	7,93	8,19	5,61	8,98	7,47	8,56	0,85	10,7	менее 0,0001*
	ОФ OPhK	56	8,53	8,61	7,49	8,97	8,36	8,84	0,37	4,3	
Примечания: ¹ — p—значение аппроксимативного F-критерия; * — различия статистически значимы (p ≤ 0,05); ВФ — вариабельная фармакокинетика; ОФ — оптимальная фармакокинетика; ТН — торговое наименование, МНН — международное непатентованное наименование; C _{max} — максимальная концентрация препарата в сыворотке крови; CV — коэффициент вариации; Me — медиана; Mean — среднее арифметическое; Max — максимальные значения показателя; Min — минимальные значения показателя; LQ — нижний квартиль; SD — стандартное отклонение среднего результата; UQ — верхний квартиль. Notes: ¹ — p—value of approximation F-test; * — differences are statistically significant (p ≤ 0.05); VPhK — variable pharmacokinetics; OPhK — optimal pharmacokinetics; TN — trade name; INN — international nonproprietary name; C _{max} — the maximum concentration of the drug in the blood serum; CV — coef ficient of variation; Me — median; Mean — arithmetic mean; Max — maximum values of the indicator; Min — minimum values of the indicator; LQ — lower quartile; SD — standard deviation of the average result; UQ — upper quartile											

коэффициента вариации (CV) в группах ОФ и ВФ для анализируемых препаратов.

Анализ представленных в табл. 2 данных показал, что коэффициенты вариации для $C_{\max}$ логарифмически преобразованных значений у исследуемых препаратов статистически значимо не различались между группами ОФ и ВФ. Напротив, CV_{total} логарифмически преобразованных значений максимальной концентрации статистически очень высокозначимо различались

у сформированных групп ОФ и ВФ для препарата Исентресс® (МНН: ралтегравир, высоковарибельный препарат), высокозначимо — для препарата Кестин® (МНН: карэбастин, препарат средней варибельности) и значимо не различались у препарата Вальцит® (МНН: валганцикловир, препарат низкой варибельности). Полученные результаты позволяют констатировать корректность подхода по разделению исходных данных на группы ОФ и ВФ, т. к. выраженные различия по

уровню индивидуального разброса данных ожидалось для высоковариабельных препаратов.

Дополнительно к анализу общих коэффициентов вариации была проведена оценка биоэквивалентности препаратов в сформированных группах ОФ и ВФ и, соответственно, получение CV_{intra} . Важно отметить, что для препарата Исентресс® применяли не «классическую» оценку биоэквивалентности (сравнение препаратов Т и R), а сравнение значений в разные периоды, возможное только при полном репликативном дизайне, т. к. целью работы являлось изучение индивидуальной вариабельности.

Результаты статистической оценки биоэквивалентности (табл. 3) свидетельствовали о том, что после

разделения добровольцев на группы ОФ и ВФ, т. е. сокращение вдвое объема выборки, для группы оптимальной фармакокинетики получены значения 90 % доверительных интервалов, позволяющие прийти к заключению о биоэквивалентности препаратов. Уровни CV_{intra} в группе ОФ были в несколько раз ниже в сравнении с ВФ для всех изучаемых препаратов, но для высоковариабельного препарата Исентресс® (МНН: ралтегравир) различались почти в 10 раз. Необходимо также отметить, что после разделения общей выборки в группе ОФ уровни C_{max} были в среднем (среднее геометрическое — G_{mean}) выше, чем в ВФ, независимо от принадлежности к группе низко-, средне- и высоковариабельных препаратов.

Таблица 3

Результаты статистической оценки биоэквивалентности исследуемых препаратов по параметру C_{max} в объединённой группе, группах ОФ и ВФ

Table 3

Results of statistical assessment of the bioequivalence of the studied drugs according to the C_{max} parameter in the combined group, the variable pharmacokinetics and optimal pharmacokinetics groups

ФКП РКР	Среднее геометрическое для тестового препарата Geometric mean for test drug (T)	Среднее геометри- ческое для референтного препарата Geometric mean for references drug (R)	Отношение среднего геоме- трического, % Geometric mean ratio, %	90 % ДИ CI, %	CV _{intra} , %	
ТН: Вальцит® (МНН: валганцикловир) TN: Valcyte® (INN: valganciclovir)						
C _{max}	3625,6	3750,9	96,7	89,1	104,9	14,6
C _{max} ОФ C _{max} OPhK	4171,0	4189,5	99,6	96,5	102,7	3,7
C _{max} ВФ C _{max} VPhK	3151,6	3317,3	95,0	78,4	115,1	21,8
ТН: Кестин® (МНН: карэбастин) TN: Kestin® (INN: carebastin)						
C _{max}	137,3	139,2	98,6	85,8	113,4	29,3
C _{max} ОФ C _{max} OPhK	150,3	148,1	101,5	90,8	113,4	15,9
C _{max} ВФ C _{max} VPhK	124,5	130,8	95,2	71,0	127,5	41,1
ТН: Исентресс® (МНН: ралтегравир)* TN: Isentress® (INN: raltegravir)*						
C _{max} **	3561,1	3957,6	90,0	73,1	110,8	73,4
C _{max} ОФ C _{max} OPhK	4990,7	5110,5	97,7	91,7	104,0	13,8
C _{max} ВФ C _{max} VPhK	2541,0	3064,9	82,9	54,4	126,3	116,0
<i>Примечания:</i> * — представлены результаты только для референтного препарата (получены на основе данных полного репликативного дизайна TRTR/RTTR); ** — в качестве среднего геометрического для тестового препарата представлены данные за периоды 1 и 2, для среднего геометрического референтного препарата — периоды 3 и 4; ВФ — вариабельная фармакокинетика; ДИ — доверительный интервал; ОФ — оптимальная фармакокинетика; ТН — торговое наименование; МНН — международное непатентованное наименование; ФКП — фармакокинетические параметры; CV _{intra} — внутрииндивидуальный коэффициент вариации. <i>Notes:</i> * — results are presented only for the reference drug (obtained based on data from the full TRTR/RTTR replication design); ** — Geometric mean for test drug represents data for periods 1 and 2, geometric mean for references drug — periods 3 and 4; VPhK — variable pharmacokinetics; CI — confidence interval; OPhK — optimal pharmacokinetics; TN — trade name; INN — international nonproprietary name; PkPs — pharmacokinetic parameters; CV _{intra} — intra-individual coefficient of variation						

2. Оценка информативности и дискриминационной значимости гендерно-возрастных и клинико-лабораторных показателей

Для оценки информативности отдельных гендерно-возрастных и клинико-лабораторных показателей использовали ДА (ОМДА). Дискриминантный анализ выполняли с оценкой всех эффектов при построении модели.

В качестве критериев для оценки информативности отдельных показателей применяли статистику ЧЛУ, SS и уровень статистической значимости показателя. Статистически значимым принимали уровень меньше или равный 0,05.

Показателем информативности совокупности дискриминантных переменных и полезности применения дискриминантной функции для интерпретации межгрупповых различий явился процент правильно распознанных объектов с использованием дискриминантных функций. Доля правильно распознанных объектов свидетельствует о степени соответствия дискриминантной модели эмпирическим данным.

На первом этапе анализа использовали только обязательные для получения на этапе скрининга гендерно-возрастные и антропометрические показатели добровольцев, дискриминирующие группы ОФ и ВФ по параметру максимальная плазменная концентрация. В табл. 4 и последующих таблицах, приведённых для характеристики информативности, показатели представлены в порядке убывания их эффективности дискриминировать группы ОФ и ВФ (в порядке возрастания величины ЧЛУ) с присвоением соответствующих ранговых мест.

Анализ данных табл. 4 показал, что отдельные гендерно-возрастные и антропометрические показатели, как правило, не вносили статистически значимый вклад в дискриминацию групп ОФ и ВФ, а также существенно (по уровню ЧЛУ) не различались между собой и были близки к 1 (низкий дискриминирующий уровень). Исключение составил только показатель возраст, который для препарата Вальцит® (МНН: валганцикловир) вносил статистически значимый вклад в дискриминацию групп ОФ и ВФ ($p = 0,017$), хотя уровень ЧЛУ (0,675) был недостаточно высок для отнесения к категории высокоинформативных переменных (близкий к 0). Необходимо отметить, что два первых ранговых места по информативности у всех изучаемых препаратов занимали возраст и индекс массы тела, что может свидетельствовать о целесообразности использования этих признаков для разделения исходной группы добровольцев.

С использованием совокупности гендерно-возрастных и антропометрических показателей были рассчитаны функции классификации и построены матрицы классификации выборок (табл. 5).

Анализ данных, представленных в табл. 5, позволил установить тенденцию к уменьшению уровня эффективности классификации групп ОФ и ВФ по

показателю $C_{\max}$ с использованием совокупности гендерно-возрастных и антропометрических показателей по мере увеличения степени вариабельности.

Высокий уровень правильной классификации для низковарибельного препарата Вальцит® (МНН: валганцикловир) — в среднем 85 %, на наш взгляд, связан с особенностями анализируемой выборки и, в частности, случайными различиями в возрасте сформированных групп ОФ и ВФ, который статистически значимо различался. Также необходимо учитывать, что полученные значения правильной классификации получены на т. н. «обучающей» выборке. При использовании «экзаменующей» выборки, выделение которой из общего объёма данных затруднено из-за малой численности обследованных добровольцев, итоговые значения эффективности классификации с высокой вероятностью были бы значительно меньше.

Для препарата со средней вариабельностью Кестин® (МНН: карэбастин) доля правильной классификации составила немногим более 70 %, а для высоковарибельного препарата Исентресс® (МНН: ралтегравир) находились на уровне случайных различий.

Полученные результаты свидетельствовали о том, что только с использованием традиционных гендерно-возрастных и антропометрических показателей не представлялось возможным получить качественно разделение групп ОФ и ВФ для анализируемых препаратов с высокой вариабельностью ФКП.

Для изучения возможности повышения качества классификации (разделение на подгруппы по критерию вариабельность $C_{\max}$) были дополнительно проанализированы переменные, получаемые во время скрининга добровольцев — жизненно-важные показатели (ЖВП), результаты клинического (КАК) и биохимического (БАК) анализа крови.

Из совокупности всех показателей в результате нескольких итераций для каждого препарата были отобраны наиболее информативные переменные, имеющие статистически значимый уровень F-статистики или значения SS более 0,1.

Характеристика минимизированной по объёму совокупности антропометрических и клинико-лабораторных показателей, отвечающих установленным критериям, представлена в табл. 6.

Приведённые в табл. 6 данные свидетельствовали о том, что для разных препаратов состав комплекса информативных переменных заметно различался, и их количество увеличивалось с возрастанием уровня вариабельности. Поэтому выбор необходимых показателей и построений функций классификации, на наш взгляд, целесообразно проводить для относящихся к одной категории вариабельности и, что наиболее вероятно, относящихся к сходным фармакологическим группам лекарственных средств.

Важно отметить, что степень информативности отдельных переменных может изменяться в зависи-

Таблица 4

Характеристика гендерно-возрастных и антропометрических показателей исследуемых препаратов, дискриминирующих группы
ОФ и ВФ для параметра C_{max}

Table 4

Characteristics of gender-age and anthropometric indicators of the studied drugs, discriminating between the variable pharmacokinetics
and optimal pharmacokinetics groups for the C_{max} parameter

Показатель Indicator	Результаты дискриминантного анализа Results of discriminant analysis				Ранговое место Rank
	частная лямбда Уилкса Wilkes's partial lambda	SS	F-статистика F-statistic	p	
ТН: Вальцит® (МНН: валганцикловир) TN: Valcyte® (INN: valganciclovir)					
Возраст Age	0,675	1,253	7,220	0,017*	1
ИМТ BMI	0,821	0,567	3,270	0,091	2
Рост Height	0,825	0,554	3,190	0,094	3
Масса Weight	0,837	0,506	2,913	0,108	4
ТН: Кестин® (МНН: карэбастин) TN: Kestin® (INN: carebастin)					
Возраст Age	0,852	0,939	3,481	0,077	1
ИМТ BMI	0,975	0,150	0,506	0,485	2
Рост Height	0,973	0,147	0,555	0,465	3
Масса Weight	0,973	0,136	0,547	0,468	4
Пол Gender	0,978	0,121	0,449	0,511	5
ТН: Исентресс® (МНН: ралтегравир) TN: Isentress® (INN: raltegravir)					
Возраст Age	0,985	0,204	0,774	0,383	1
ИМТ BMI	0,996	0,047	0,180	0,673	2
Масса Weight	0,997	0,042	0,159	0,692	3
Рост Height	0,999	0,018	0,069	0,794	4
Примечания: * — F-статистика статистически значима ($p \leq 0,05$); ВФ — вариабельная фармакокинетика; ДИ — доверительный интервал; ИМТ — индекс массы тела; ОФ — оптимальная фармакокинетика; ТН — торговое наименование; МНН — международное непатентованное наименование; ФКП — фармакокинетические параметры; SS — различия средних значений между группами. Notes: * — F-statistic is statistically significant ($p \leq 0,05$); VPhK — variable pharmacokinetics; CI — confidence interval; BMI — Body Mass Index; OPhK — optimal pharmacokinetics; TN — trade name; INN — international nonproprietary name; PKP — pharmacokinetic parameters; SS — differences in means between groups.					

Таблица 5

Наблюдаемое и предсказанное распределение по исследуемым группам с использованием гендерно-возрастных и антропометрических показателей на этапе скрининга добровольцев по параметру $C_{\max}$ (матрица классификации)

Table 5

Observed and predicted distribution by study groups using gender-age and anthropometric indicators at the stage of screening volunteers according to the $C_{\max}$ parameter (classification matrix)

Характеристика матрицы классификации Characteristics of the classification matrix				
Наблюдаемое распределение Observed distribution		Предсказанное распределение Predicted distribution		Доля правильной классификации, % Proportion of correct classification, %
Группа добровольцев Group of volunteers	Количество субъектов в группе Number of subjects per group	Группа добровольцев Group of volunteers		
		ОФ OPhK	ВФ VPhK	
ТН: Вальцит® (МНН: валганцикловир) TN: Valcyte® (INN: valganciclovir)				
ОФ OPhK	10	8	2	80,0
ВФ VPhK	10	1	9	90,0
Всего Total				85,0
ТН: Кестин® (МНН: карэбастин) TN: Kestin® (INN: carebabin)				
ОФ OPhK	13	10	3	76,9
ВФ VPhK	13	4	9	69,2
Всего Total				73,1
ТН: Исентресс® (МНН: ралтегравир) TN: Isentress® (INN: raltegravir)				
ОФ OPhK	28	15	13	53,6
ВФ VPhK	28	15	13	46,3
Всего Total				50,0
Примечания: ВФ — вариабельная фармакокинетика; ОФ — оптимальная фармакокинетика; ТН — торговое наименование; МНН — между-народное непатентованное наименование. Notes: VPhK — variable pharmacokinetics; OPhK — optimal pharmacokinetics; TN — trade name; INN — international nonproprietary name.				

Таблица 6

Характеристика антропометрических и клинико-лабораторных показателей исследуемых препаратов, дискриминирующих группы ОФ и ВФ для параметра C_{max}

Table 6

Characteristics of anthropometric and clinical laboratory parameters of the studied drugs, discriminating between the variable pharmacokinetics and optimal pharmacokinetics groups for the C_{max} parameter

Показатель Indicator	Результаты дискриминантного анализа Results of discriminant analysis				Ранговое место Rank
	частная лямбда Уилкса Wilkes's partial lambda	SS	F-статистика	p	
ТН: Вальцит® (МНН: валганцикловир) TN: Valcyte® (INN: valganciclovir)					
Лейкоциты Leukocytes	0,528	1,312	11,621	0,005*	1
Гемоглобин Hemoglobin	0,656	0,769	6,812	0,022*	2
Гематокрит Hematocrit	0,663	0,746	6,609	0,023*	3
Мочевина Urea	0,737	0,524	4,639	0,051	4
Частота сердечных сокращений Heart rate	0,842	0,275	2,435	0,143	5
ИМТ BMI	0,883	0,195	1,728	0,211	6
ТН: Кестин® (МНН: карэбастин) TN: Kestin® (INN: carebastin)					
Возраст Age	0,757	1,000	5,767	0,027*	1
Гематокрит Hematocrit	0,858	0,515	2,973	0,102	2
Щелочная фосфатаза Alkaline phosphatase	0,864	0,492	2,837	0,109	3
АЛТ ALT	0,868	0,474	2,736	0,115	4
Эритроциты Red blood cells	0,900	0,346	1,997	0,175	5
Общий билирубин Total bilirubin	0,924	0,255	1,472	0,241	6
Частота сердечных сокращений Heart rate	0,957	0,141	0,812	0,379	7
ТН: Исентресс® (МНН: ралтегравир) TN: Isentress® (INN: raltegravir)					
Температура тела Body temperature	0,818	1,732	10,454	0,002*	1
Креатинин Creatinine	0,869	1,179	7,114	0,010*	2
Продолжительность QTC Duration of QTC	0,926	0,618	3,730	0,059	3
Мочевина Urea	0,932	0,572	3,449	0,070	4
Частота дыхательных движений Respiratory rate	0,937	0,524	3,163	0,082	5
ИМТ BMI	0,972	0,224	1,351	0,251	6
Эритроциты Red blood cells	0,979	0,168	1,013	0,319	7
Лейкоциты Leukocytes	0,987	0,105	0,633	0,430	8
Примечания: * — F-статистика статистически значима (p ≤ 0;05); ВФ — вариабельная фармакокинетика; ИМТ — индекс массы тела; ОФ — оптимальная фармакокинетика; ТН — торговое наименование; МНН — международное непатентованное наименование; SS — различия средних значений между группами. Notes: * — F-statistic is statistically significant (p ≤ 0;05); VPhK — variable pharmacokinetics; BMI — body mass index; OPhK — optimal pharmacokinetics; TN — trade name; INN — international nonproprietary name; SS — differences in mean values between groups.					

мости от комбинации признаков, используемых для дискриминации групп. На примере показателя Возраст (препарат Кестин®), информация об информативности которого представлена в табл. 4 и 6, можно заключить, что различные комбинации переменных влияют как на уровень ЧЛУ (0,852 и 0,757), так и на значимость вклада показателя — уровень p (0,077 и 0,027).

С использованием расширенной совокупности антропометрических и клинико-лабораторных показателей, приведённых в таблице 6, были рассчитаны функции классификации и построены матрицы классификации выборок (табл. 7).

Анализ приведённых в табл. 7 данных показал, что для низко- и средневариабельных препаратов общая

эффективность классификации превысила 95 %. Однако, как указывалось ранее, значения правильной классификации получены на «обучающей» выборке, что при использовании другого набора данных с высокой вероятностью снизит полученные уровни качества дискриминации.

Для препарата Исентресс® (МНН: ралтегравир) включение дополнительных клинико-лабораторных показателей существенно увеличило эффективность разделения выборки на группы ОФ и ВФ с 50 до более чем 80 %.

С целью решения задачи возможности разделения добровольцев на стадии анализа отдельных первичных показателей, полученных на этапе скрининга, были

Таблица 7

Наблюдаемое и предсказанное распределение по исследуемым группам с использованием антропометрических и клинико-лабораторных параметров на этапе скрининга добровольцев по параметру C_{max} (матрица классификации)

Table 7

Observed and predicted distribution by study groups using anthropometric and clinical laboratory parameters at the stage of screening volunteers according to the C_{max} parameter (classification matrix)

Характеристика матрицы классификации Characteristics of the classification matrix				
Наблюдаемое распределение Observed distribution		Предсказанное распределение Predicted distribution		Доля правильной классификации, % Proportion of correct classification, %
Группа добровольцев Volunteer group	Число субъектов в группе Number of subjects per group	Группа добровольцев Volunteer group		
		ОФ	ВФ	
ТН: Вальцит® (МНН: валганцикловир) TN: Valcyte® (INN: valganciclovir)				
ОФ OPhK	10	10	0	100,0
ВФ VPhK	10	1	9	90,0
Всего Total				95,0
ТН: Кестин® (МНН: карэбастин) TN: Kestin® (INN: carebастин)				
ОФ OPhK	13	12	1	92,3
ВФ VPhK	13	0	13	100.0
Всего Total				96,2
ТН: Исентресс® (МНН: ралтегравир) TN: Isentress® (INN: raltegravir)				
ОФ OPhK	28	23	5	82,1
ВФ VPhK	28	5	23	82,1
Всего Total				82,1
Примечания: ВФ — вариабельная фармакокинетика; ОФ — оптимальная фармакокинетика; ТН — торговое наименование; МНН — международное непатентованное наименование. Notes: VPhK — variable pharmacokinetics; OPhK — optimal pharmacokinetics; TN — trade name; INN — international nonproprietary name.				

рассчитаны референтные интервалы (РИ) для каждого из показателей, включённых в таблицу 6 для препарата Исентресс® (МНН: ралтегравир). Принимая во внимание небольшой объём выборки нижнюю (НГ) и верхнюю (ВГ) границы референтного интервала получали с использованием робастных методов для исходных (в случае нормального распределения) или преобразованных с использованием метода Бокса–Кокса данных (в случае ассиметричного распределения). Для сравнения были использованы утверждённые в организации уровни РИ.

Анализ РИ, рассчитанных для каждой группы, показал (табл. 8), что диапазоны показателей видимо не различались по всем изучаемым переменным. В то же время необходимо учитывать, что границы колебания уровней показателей установлены только для лабораторных признаков и с учётом гендерных различий. Для полноценного сопоставления РИ у добровольцев с прогнозируемо высоким или низким уровнем индивидуальной вариабельности и установления специфических референтных интервалов целесообразно получение референтных уровней для всех показателей, получаемых на этапе скрининга,

а также их стратификация с учётом возраста, пола, ИМТ, сезона и других признаков.

Выводы / Conclusions

Принимая во внимание, что целью настоящей работы являлась оценка принципиальной возможности разделения добровольцев на группы по уровню индивидуальной вариабельности основных ФКП, были определены только основные направления решения возникающих при этом вопросов.

Использование подхода, основанного на разделении общей группы добровольцев на две совокупности с учётом разницы логарифмически преобразованных индивидуальных ФКП для исследуемых препаратов (в разные периоды обследования), позволяет получать подгруппы, различающиеся по уровню внутрииндивидуального коэффициента вариации. Однако выраженные уровни статистической значимости различий подгрупп установлены только для высоковариабельных и близких к выбранному критерию индивидуальной вариабельности (около 30 %) препаратов.

Высокий уровень информативности показателя ИМТ обуславливает целесообразность расширения

Таблица 8

Референтные интервалы антропометрических и клинико-лабораторных показателей групп ОФ и ВФ, полученные по результатам исследования препарата с ТН: Исентресс® (МНН: ралтегравир)

Table 8

Reference intervals of anthropometric and clinical laboratory parameters of the variable pharmacokinetics and optimal pharmacokinetics groups, obtained from the results of the study of the drug TN: Isentress® (INN: raltegravir)

Показатель Indicator	ОФ OPhK		ВФ VPhK		Референтные интервалы организации Reference intervals of the organization	
	НГ РИ LL RI	ВГ РИ UL RI	НГ РИ LL RI	ВГ РИ UL RI	НГ РИ LL RI	ВГ РИ UL RI
Температура тела Body temperature	36,14	36,81	35,73	36,93	—	—
Креатинин Creatinine	55,6	101,0	62,4	110,9	62,0	115,0
Продолжительность QTC Duration of QTC	328,8	406,7	337,1	437,0	—	—
Мочевина Urea	1,77	6,68	2,43	7,40	1,70	8,30
Частота дыхательных движений Respiratory rate	15,96	19,55	15,97	19,82	—	—
ИМТ BMI	16,97	30,30	16,82	29,79	—	—
Эритроциты Red blood cells	4,34	5,71	4,03	5,61	4,00	5,50
Лейкоциты Leukocytes	4,04	9,10	3,26	8,71	4,00	9,00

Примечания: ВФ — вариабельная фармакокинетика; ВГ РИ — верхняя граница референтного интервала; ИМТ — индекс массы тела; НГ РИ — нижняя граница референтного интервала; ОФ — оптимальная фармакокинетика; ТН — торговое наименование; МНН — международное непатентованное наименование.

Notes: VPhK — variable pharmacokinetics; UL RI — upper limit of the reference interval; BMI — body mass index; LL RI — lower limit of the reference interval; OPhK — optimal pharmacokinetics; TN — trade name; INN — international nonproprietary name.

объёма рекомендуемого обследования добровольцев на этапе скрининга для решения задач предварительного отбора добровольцев. В качестве одного из таких методов может выступать биоимпедансометрия, позволяющая получить дополнительные показатели, с высокой вероятностью коррелирующие с уровнем индивидуальной вариабельности ФКП.

Полученные данные о низкой эффективности классификации при использовании только антропологических показателей для препарата Исентресс® (МНН: ралтегравир) свидетельствуют не об отсутствии целесообразности их использования для разделения условно «высоковариабельных» и «низковариабельных» добровольцев, а о необходимости применения методов математико-статистической обработки для выделения соответствующих групп по совокупности информативных переменных. Важно отметить, что информативность отдельных показателей может изменяться в зависимости от комбинации используемых признаков, что требует дополнительных исследований для поиска «оптимальных» комбинаций с учётом особенностей фармакокинетики отдельных

препаратов или фармакологических групп, а также расширением методов математико-статистической обработки для дискриминации исходных данных.

Целесообразно получение РИ для всех основных показателей, а не только лабораторных, используемых при проведении скрининга добровольцев. Стратификация клинико-лабораторных показателей по полу, возрасту и ряду других критериев может позволить установить особенности и референтные пределы, характерные для лиц с различным уровнем индивидуальной вариабельности ФКП.

Для установления реального уровня качества классификации подгрупп добровольцев целесообразно объединение данных, полученных при исследовании разных высоковариабельных препаратов, с последующим выделением «обучающей» и «экзаменующей» выборок. Учитывая различия в количественных значениях исходных данных (концентрации) для расчёта ФКП, объединение целесообразно проводить с использованием различных способов стандартизации (нормализации) анализируемых ФКП.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией. *Василюк В. Б.* — автор научной идеи, дизайна, общей концепции исследования, занимался обработкой, интерпретацией полученных данных и окончательной корректурой статьи. *Верведа А. Б.* работал с математико-статистическим анализом результатов. *Фарапонова М. В.* и *Сыраева Г. И.* провели литературный поиск методик оценки индивидуальной вариабельности основных фармакокинетических параметров. *Василюк В. Б.*, *Верведа А. Б.*, *Фарапонова М. В.* осуществили получение объектов исследования, подготовку проекта рукописи, поиск литературы по научному направлению и редакторские правки.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The team of authors declares that there is no conflict of interest in the preparation of this article.

Authors' participation

All the authors made a significant contribution to the preparation of the work, read and approved the final version of the article before publication. *Vasilyuk VB* — the author of the scientific idea, design, the general research concept, he provided processing, interpretation of the data obtained and the final article editing. *Verveda AB* — worked with mathematical and statistical analysis of the results. *Faraponova MV* and *Syraeva GI* — carried out a literature search for methods for assessing individual variability of the main pharmacokinetic parameters. *Vasilyuk VB*, *Verveda AB*, *Faraponova MV* carried out the recruitment of research objects, preparation of the draft manuscript, literature search in the scientific field and editorial changes.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Васильюк Василий Богданович

д. м. н., профессор кафедры токсикологии, экстремальной и водолазной медицины ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация; Управляющий ООО «НИЦ Эко-безопасность», Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2503-4402>
РИНЦ SPIN-код: : 1459-5548

Верведа Алексей Борисович

к. м. н., в. н. с. ФГБУН НИИ ПММ ФМБА России, Санкт-Петербург, Российская Федерация; с. н. с., научно-исследовательского отдела ООО «НИЦ Эко-безопасность», Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4029-3170>
РИНЦ SPIN-код: 5448-0433

Фарапонова Мария Валерьевна

заместитель управляющего по научной работе ООО «НИЦ Эко-безопасность», Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4212-5453>
РИНЦ SPIN-код: 9006-2074

Сыраева Гульнара Ислямовна

Автор, ответственный за переписку
заместитель управляющего по качеству ООО «НИЦ Эко-безопасность», Санкт-Петербург, Российская Федерация; очный аспирант кафедры клинической фармакологии и доказательной медицины, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
e-mail: syraevagulnara@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6635-9786>
РИНЦ SPIN-код: 9650-5671

Vasiliy B. Vasilyuk

Dr. Sci. (Med.), professor of the Department of Toxicology, Extreme and Diving Medicine North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia; Manager, Scientific Research Center Eco-Safety LLC, Saint-Petersburg, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2503-4402>
RSCI SPIN code: 1459-5548

Aleksey B. Verveda

PhD, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, RIIMM FMBA OF RUSSIA, Saint-Petersburg, Russian Federation; Senior Researcher of Scientific Work the Scientific Research Center Eco-Safety LLC, Saint-Petersburg, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4029-3170>
RSCI SPIN code: 5448-0433

Maria V. Farapontova

Deputy Manager for Scientific Work the Scientific Research Center Eco-Safety LLC, Saint-Petersburg, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4212-5453>
RSCI SPIN code: 9006-2074

Gulnara I. Syraeva

Corresponding author
Deputy Quality Manager, Scientific Research Center Eco-Safety LLC, Saint-Petersburg, Russian Federation; full-time postgraduate student of the Department of Clinical Pharmacology and Evidence-based Medicine FSBEI HE I.P. Pavlov SPbSMU MOH Russia, Saint-Petersburg, Russian Federation
e-mail: syraevagulnara@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6635-9786>
RSCI SPIN code: 9650-5671

Список литературы / References

1. Shah VP, Yacobi A, Barr WH, et al. Evaluation of orally administered highly variable drugs and drug formulations. *Pharm Res.* 1996 Nov;13(11):1590-4. doi: 10.1023/a:1016468018478. PMID: 8956322.
2. Davit BM, Conner DP, Fabian-Fritsch B, et al. Highly variable drugs: observations from bioequivalence data submitted to the FDA for new generic drug applications. *AAPS J.* 2008;10(1):148-56. doi: 10.1208/s12248-008-9015-x.
3. Forkman FJ. Coefficients of Variation — an Approximate F-Test. Licentiate thesis. 2005. 63 p.

4. Общий дискриминантный анализ [интернет]. Интеллектуальный Портал Знаний. [доступ 19.10.2023]. Доступ по ссылке: <http://statistica.ru/textbook/obshchij-diskriminantnyy-analiz/> [Obshchij diskriminantnyy analiz [Internet]. Intellektual'nyy Portal Znaniy statistica.ru. [cited 2023 Oct 19]. Available from: <http://statistica.ru/textbook/obshchij-diskriminantnyy-analiz/>
5. Мирошниченко И.И. Основы фармакокинетики. — М.: ГЭОТАР-МЕД; 2002. 192 с. [Miroshnichenko I.I. Osnovy farmakokinetiki. Moscow: GEOTAR-MED; 2002. (In Russ.)].
6. Zhang Y, Huo M, Zhou J, Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed.* 2010 Sep;99(3):306-14. doi: 10.1016/j.cmpb.2010.01.007.



Анализ соответствия оригинальных соединений ряда бис-арилазаазлканов расчётным фармакофорным моделям биароматических лигандов биомиметических кардиопротекторных средств

© Мокров Г. В., Пантеев А. С., Воробьева Т. Ю., Бирюкова В. Е.,
Крыжановский С. А., Дорофеев В. Л.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

В работе отобраны восемь важнейших биомиметических биароматических кардиопротекторных средств: кальциевый Cav1.2-канал, натриевый Nav1.5-канал, калиевые hERG-канал и Kv1.5-канал, HCN-канал, β_1 -адренорецептор, рианодиновый RyR2-рецептор и σ_1 -рецептор. Для каждой из них был проведён сбор баз данных биароматических лигандов, на основании которых в программе Phase Schrödinger осуществлён расчёт их фармакофорных моделей. С использованием функции PhaseScore проведён анализ соответствия ранее синтезированных и исследованных нами бис-арилазаазлканов расчётным фармакофорным моделям. Установлено, что подавляющее большинство молекул имеет соответствие всем моделям более 50 %, что свидетельствует о высокой вероятности вовлечённости этих биомиметических в возможные кардиопротекторные эффекты бис-арилазаазлканов, а также подтверждает гипотезу о мультитаргетности веществ такого строения.

Ключевые слова: *in silico* исследования; биароматические кардиопротекторы; мультитаргетный механизм действия; фармакофорное моделирование; АЛМ-802

Для цитирования:

Мокров Г. В., Пантеев А. С., Воробьева Т. Ю., Бирюкова В. Е., Крыжановский С. А., Дорофеев В. Л. Анализ соответствия оригинальных соединений ряда бис-арилазаазлканов расчётным фармакофорным моделям биароматических лигандов биомиметических кардиопротекторных средств. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2024;(1):45–65. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-45-65>. EDN: PBYOPW

Поступила: 05.03.2024. В доработанном виде: 15.03.2024. Принята к печати: 15.03.2024. Опубликовано: 31.03.2024.

Analysis of original bis-arylazaazkanes derivatives compliance with the calculated pharmacophoric models of biaromatic ligands of cardioprotective drugs biotargets

© Grigory V. Mokrov, Adrey S. Pantileev, Tatyana Yu. Vorobieva, Valentina E. Biryukova, Sergey A. Kryzhanovskii, Vladimir L. Dorofeev
Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Eight important biotargets of biaromatic cardioprotective drugs were selected in this work: calcium Cav1.2-channel, sodium Nav1.5-channel, potassium hERG-channel and Kv1.5-channel, HCN-channel, β_1 -adrenergic receptor, ryanodine RyR2-receptor and σ_1 -receptor. Biromatic ligands databases were collected for each of them, on the basis of which their pharmacophore models were calculated in the Phase Schrödinger program. Using the PhaseScore function, we analyzed the correspondence of previously synthesized and studied bis-arylazaazkanes to calculated pharmacophore models. It was found that the vast majority of molecules have a correspondence of more than 50 % to all models, which indicates a high probability of the involvement of these biotargets in the possible cardioprotective effects of bis-arylazaazkanes, and also confirms the hypothesis of the multitargetability of substances with this structure.

Keywords: *in silico* studies; biaromatic cardioprotectors; multitarget mechanism of action; pharmacophore modeling; ALM-802

For citations:

Mokrov GV, Pantileev AS, Vorobieva TYu, Biryukova VE, Kryzhanovsky SA, Dorofeev VL. Analysis of original bis-arylazaazkanes derivatives compliance with the calculated pharmacophoric models of biaromatic ligands of cardioprotective drugs biotargets. *Farmakokinetika i farmakodinamika* = *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2024;(1):45–65. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-45-65>. EDN: PBYOPW

Received: 01.03.2024. Revision received: 10.03.2024. Accepted: 24.03.2024. Published: 31.03.2024.

Введение / Introduction

В современной медицинской химии активно осуществляется поиск новых подходов к конструированию потенциальных лекарственных средств, отвечающих требованиям эффективности и безопасности. Среди таких подходов — дизайн соединений с мультитаргетными механизмами действия, который в том числе востребован при создании новых кардиопротекторов. К препаратам этого типа относятся средства, уменьшающие воздействие экзо- и эндогенных факторов на кардиомиоциты или опосредованно снижающие нагрузку на сердечную мышцу, в том числе, антагонисты кальция и β -блокаторы. Подход мультитаргетного дизайна позволяет получать потенциальные препараты с минимальным количеством побочных эффектов и улучшенной эффективностью за счёт синергизма действия по различным механизмам [1].

В последние несколько лет в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» активно развивается программа по конструированию перспективных кардиопротекторных средств на основе концепции универсального биароматического фармакофора. Основанием для этой концепции послужил тот факт, что вещества с кардиопротекторными свойствами весьма различных механизмов действия соответствуют единой обобщённой фармакофорной модели, содержащей два ароматических ядра, связанных линейным линкером длиной от 5 до 15 связей, который содержит один или несколько гетероатомов (рис. 1).

В серии ранее опубликованных нами обзоров подробно проанализирован широкий спектр отвечающих выявленной фармакофорной модели классов соединений с кардиопротекторной активностью, включающий блокаторы HCN-каналов (пример — ивабрадин) [2], блокаторы кальциевых каналов L-типа и T-типа (примеры — верапамил и мибекрадил) [3], блокаторы натриевых Nav1.5 каналов (пример — ранолазин) [4], блокаторы калиевых hERG и Kv1.5 каналов (пример — дофетилид) [5, 6], β -адреноблокаторы (пример — карведилол) [7], ингибиторы рианодиновых RyR2-рецепторов (например, JTV-519) [8]. Более детальный анализ данных литературы позволил существенно расширить спектр биомишеней биароматических лигандов указанного фармакофорного строения. Среди них натриевые каналы (Nav1.1–Nav1.8); калиевые каналы (Kv1.3–Kv1.8; Kv2.1; Kv3.1; Kv4.3; Kv7.1; Kv11.1; Kir2.1; Kir2.3; KATP; K2P3.1); кальциевые каналы (Cav1.1–Cav1.3; Cav2.1, Cav2.2; Cav3.1, Cav3.2); α -адренорецепторы (α 1A– α 1D; α 2A– α 2C); серотониновые рецепторы (5-HT1–5-HT7); серотониновый транспортер (SERT); мускариновые рецепторы (M_1 – M_3); дофаминовые рецепторы (D1–D3); гистаминовые рецепторы (H_1 , H_2); σ 1-рецепторы [9].

Проведённый анализ позволил нам выдвинуть гипотезу об универсальности выявленного биароматического фармакофора для соединений с кардиопротекторной активностью и о возможности его использования в качестве «базового фармакофора» для конструирования новых потенциальных мультитаргетных кардиопротекторных средств.

Для доказательства этой гипотезы в обзоре [9] нами был проведён детальный анализ спектра биологических мишеней для пяти наиболее известных и наиболее изученных кардиопротекторных препаратов (карведилол, ивабрадин, небиволол, ранолазин и верапамил), соответствующих биароматической фармакофорной модели, а также их вовлечённости в биологические эффекты препаратов. Как и ожидалось, было установлено, что данные лекарственные средства, позиционирующиеся в целом как монотаргетные и селективные препараты, в реальности имеют широкий спектр биомишеней из набора, перечисленного выше, для многих из которых были получены доказательства вовлечённости в их терапевтическое действие (рис. 2, интенсивность цвета соответствует величинам pKi препаратов в отношении подтверждённых биомишеней). Так, например, кардиопротекторные свойства называемого в литературе «селективного и специфического блокатора HCN каналов» ивабрадина обусловлены, в том числе, его блокирующим действием в отношении калиевых hERG-каналов [10] и натриевых Nav1.5-каналов [11]. Антиаритмические свойства «блокатора натриевых каналов» ранолазина во многом определяются его сродством к нескольким подвидам калиевых каналов [12]. А среди ключевых биомишеней «блокатора кальциевых каналов» верапамила присутствует калиевый hERG-канал и несколько подтипов серотониновых 5-HT-рецепторов. Важно отметить, что, вопреки тому, что верапамил является одним из сильнейших блокаторов hERG, он не имеет присущих hERG-блокаторам проаритмических свойств. Отсутствие этого нежелательного эффекта как раз связано с комбинированным действием верапамила на hERG и кальциевый Cav1.2 канал: блокирование входящих токов предотвращает раннюю деполяризацию, которая запускает пируэтную тахикардию [13–15]. В то же время сродство к серотониновым (5-HT) рецепторам позволяет верапамилу ингибировать 5-HT-индуцированную агрегацию тромбоцитов [16].

Целью настоящей работы явилось построение фармакофорных моделей наиболее распространённых в кардиопротекции классов биароматических лигандов, соответствующих обобщённой модели, изображённой на рис. 1, как для оценки сходства и различия между ними, так и для анализа соответствия этим моделям ранее синтезированных активных веществ и для их дальнейшего использования в дизайне новых активных соединений.

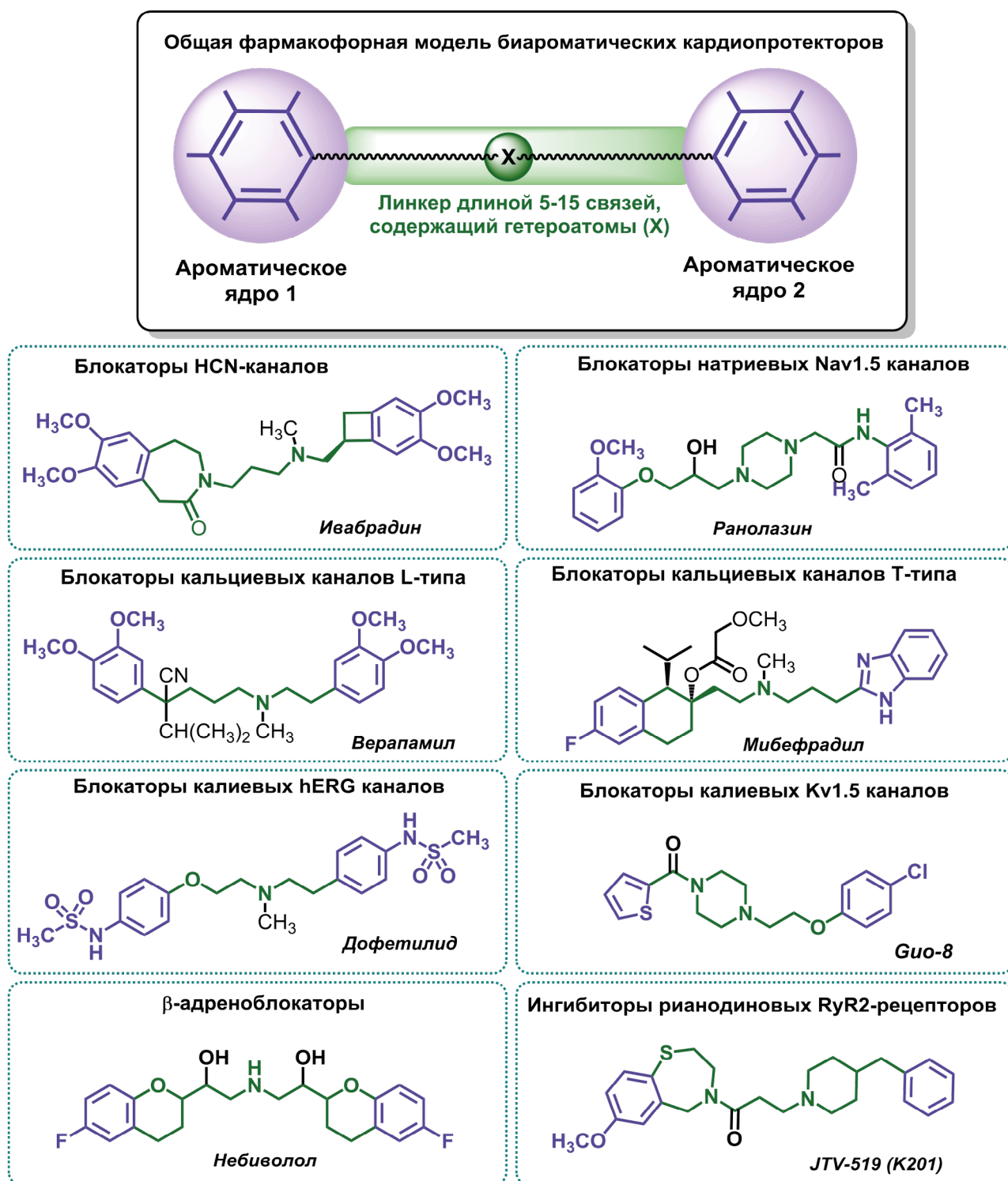


Рис. 1. Обобщённая фармакофорная модель биароматических кардиопротекторов и примеры соединений с кардиопротекторной активностью с различными механизмами действия

Fig. 1. Generalized pharmacophore model of biaromatic cardioprotectors and examples of compounds with cardioprotective activity with different mechanisms of action

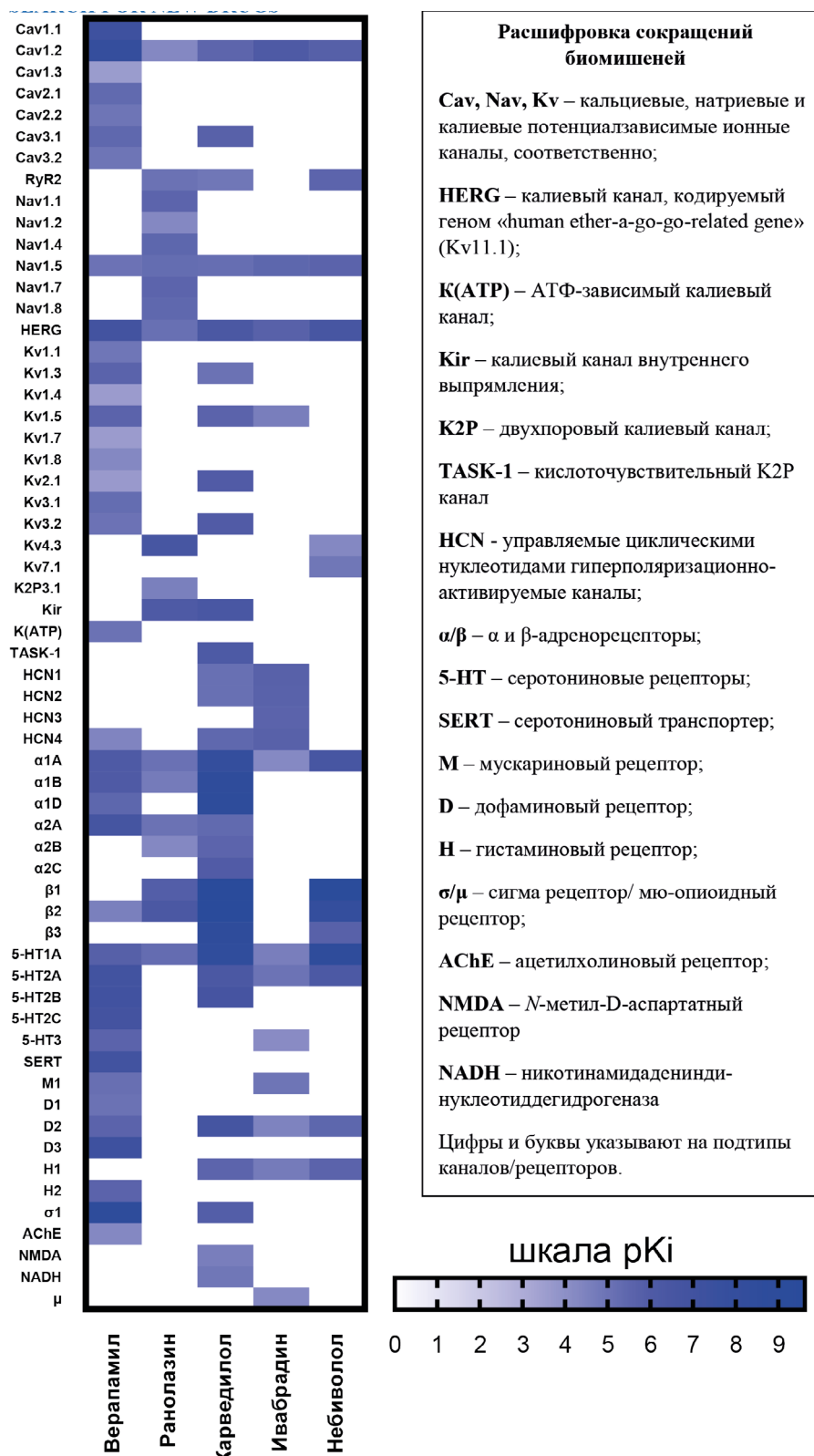


Рис. 2. Спектры биомишеней кардиопротекторных препаратов верапамил, ранолазин, карведилол, ивабрадин и небиволол. Интенсивность цвета соответствует величине pKi. Более высокие значения pKi соответствуют большей степени связывания соединений с соответствующими биомишенями

Fig. 2. Spectra of biotargets of cardioprotective drugs verapamil, ranolazine, carvedilol, ivabradine and nebivolol. The color intensity corresponds to the pKi value. Higher pKi values correspond to a greater degree of compounds binding to their biotargets

Материалы и методы / Materials and methods

Сбор библиотек блокаторов кальциевых каналов L-типа (Cav1.2), натриевых каналов Nav1.5, калиевых hERG-каналов и Kv1.5-каналов, HCN-каналов, ингибиторов β_1 -адренорецепторов и рианодиновых RyR2-рецепторов, лигандов $\sigma 1$ -рецепторов осуществлялся с использованием баз данных ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>), BindingDB (<https://www.bindingdb.org/>), ZINC (<https://zinc.docking.org/>), Guide to Pharmacology (<https://www.guidetopharmacology.org/>), а также с использованием данных литературы.

Фармакофорное моделирование проводилось в программе Phase Schrödinger (<https://www.schrodinger.com/products/phase>) [17]. Для анализа соответствия молекул выявленным фармакофорным моделям использовалась специальная функция PhaseScore, которая комбинирует в себе меры сходства по форме, фармакофорным компонентам и общей энергии анализируемых конформаций.

Для анализа соответствия фармакофорным моделям использовались структуры соединений ранее полученных в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» групп: диарилметильные производные бис-(аминоалкил)аминов [18, 19]; диарилметильные производные диаминоалканов [20, 21]; 1-(алкоксибензил)-4-[2-((алкоксибензил)амино)этил]пиперазины [22]; 1-(алкоксибензил)-4-[2-((алкоксибензил)амино)этил]пиперазин-2,3-дионы [23]; диарилметиламиноалкиловые эфиры и тиоэфиры [24].

Результаты исследования / Research results

На первом этапе работы был осуществлён анализ биомишеней биароматических кардиопротекторов с целью отбора наиболее значимых из них для построения фармакофорных моделей их лигандов. Таких биомишеней было отобрано восемь: кальциевый канал L-типа (Cav1.2), натриевый канал Nav1.5, калиевые hERG-канал и Kv1.5-канал, HCN-канал, β_1 -адренорецептор, рианодиновый RyR2-рецептор и $\sigma 1$ -рецептор. Ниже кратко описаны основные функции этих биомишеней в сердечно-сосудистой системе и терапевтический эффекты их блокаторов/лигандов.

Ток ионов Ca^{2+} через медленные L-кальциевые каналы формирует плато потенциала действия (ПД). В синатриальном узле (САУ) ионы кальция принимают участие в обеспечении функции водителя ритма, в атриовентрикулярном (АВ) соединении регулируют проведение возбуждения. В гладкомышечной ткани каналы L-типа необходимы для электромеханического сопряжения процессов возбуждения и сокращения. Блокирование медленных Ca^{2+} -каналов препятствует поступлению ионов кальция в клетку и угнетает или полностью блокирует сокращение без существенного влияния на ПД [25–27].

Каналы Nav1.5 являются основными натриевыми каналами, продуцирующими ионный ток натрия I_{Na} в сердце. Они играют ключевую роль в создании ПД и быстрой деполяризации [28]. Nav1.5 предпочтительно экспрессируется в предсердиях, волокнах Пуркинье и желудочках, в то время, их экспрессия в САУ и атриовентрикулярном узле низка [29]. Важной составной частью натриевого тока является поздний ток I_{Na} , величина которого относительно мала по сравнению с амплитудой быстрого натриевого тока, но вносит значительный вклад в форму и продолжительность ПД. Именно эта составляющая I_{Na} преимущественно блокируется соединениями биароматического ряда, что делает их эффективными средствами для лечения некоторых аритмий, таких как желудочковая тахикардия.

Калиевый канал hERG (Kv11.1) в процессе ПД опосредует реполяризующий ток I_{Kr} , который обладает координирующим влиянием на частоту сердечного ритма [30]. I_{Kr} вносит большой вклад в фазу реполяризации сердечного ПД, эффективно контролируя длительность ПД и наблюдаемый на электрокардиограммах интервал QT [31]. Блокаторы hERG обеспечивают пролонгацию эффективного рефрактерного периода, благодаря чему используются для купирования фибрилляций и трепетаний предсердий.

Kv1.5 является предсердно-селективным калиевым каналом, который обеспечивает сверхбыстрый ток замедленного выпрямления I_{Kur} [32–34]. Благодаря тому, что ток I_{Kur} действует избирательно в клетках предсердий человека, канал Kv1.5 является перспективной биомишенью для разработки безопасных и эффективных лекарств для профилактики предсердных аритмий [35].

Управляемые циклическими нуклеотидами гиперполяризационно-активируемые каналы HCN (прежде всего HCN4) локализованы в САУ, где играют ключевую роль в контроле над сердечной ритмической активностью, обеспечивая функционирование тоководителей ритма (I_{r}). Каналы HCN активируются за счёт гиперполяризации после сердечного ПД, проводят направленный внутрь ток и деполяризуют клетку, что приводит к активации потенциалзависимых Ca^{2+} каналов и обеспечивает срабатывание следующего ПД [36, 37]. Блокаторы HCN-каналов обладают брадикардическим действием и эффективны в терапии стабильной хронической сердечной недостаточности.

β_1 -адренорецепторы играют важнейшую роль в регуляции функции сердца. Активация этих рецепторов агонистами приводит к стимуляции сердечной деятельности, включая увеличение частоты и силы сердечных сокращений, ускорение расслабления и автоматизма [38]. Блокаторы β_1 -адренорецепторов, предотвращающие гиперстимуляцию сердца избытком катехоламинов, используются при лечении хронической сердечной недостаточности и гипертензии, а также имеют антиаритмические свойства [39].

Рианодиновые рецепторы (RyR) представляют собой семейство ионных каналов, которые играют важную роль в передаче сигналов Ca^{2+} в сердечно-сосудистой системе (преимущественно, RyR2-подтип). Эти каналы локализованы в саркоплазматическом ретикулуме (СР) клеток сердца и скелетных мышц, где они опосредуют высвобождение ионов Ca^{2+} из СР в цитоплазму в ответ на ПД. Высвобождение Ca^{2+} инициирует сокращение мышц и играет важную роль в регуляции сердечной функции [40]. Блокада аномального высвобождения Ca^{2+} через RyR2-рецептор предотвращает развитие желудочковых аритмий и внезапную сердечную смерть [41].

Рецептор сигма-1 ($\sigma 1$) представляет собой белок-шаперон, который модулирует передачу сигнала во время клеточных стрессовых процессов. Хотя роль этих рецепторов в большей степени была исследована в отношении ЦНС, было обнаружено, что они присутствуют во многих других тканях, включая сердечно-сосудистую систему, причём уровень содержания белка $\sigma 1$ -рецептора ткани сердца оказался даже выше, чем в ткани мозга. Лигандное воздействие на $\sigma 1$ -рецепторы приводит к специфическим клеточным реакциям, среди которых увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , модуляция активности ионных каналов и нейромедиаторных систем. Благодаря активации $\sigma 1$ -опосредованных сигнальных путей, его лиганды имеют кардиопротекторное действие, препятствуют ишемическим повреждениям, гипертрофии и ремоделированию желудочков [42, 43].

Для построения фармакофорных моделей нами был осуществлён сбор баз данных биароматических кардиопротекторов, для которых были экспериментально определены характеристики их связывания с соответствующими биологическими мишенями. Для каждой биомишени были собраны библиотеки, содержащие до 200 молекул с доказанными характеристиками связывания. На их основании с использованием программы Phase Schrödinger были определены наиболее вероятные фармакофорные гипотезы строения биароматических лигандов отобранного набора биомишеней. При этом в расчёте было задано условие по минимальной степени соответствия активных лигандов биомишени результирующей фармакофорной модели в 30 %. В качестве примеров на рисунках 3–10 (части А рисунков) приведены по 8 представителей биароматических лигандов выбранных для анализа биомишеней с указанием их характеристик связывания (величины полумаксимального ингибирования IC_{50}). На частях В рис. 3–10 приведены наложения небольших частей выборок биароматических лигандов (около 10 соединений) соответствующих биомишеней в конформациях, соответствующих их расчётным фармакофорным моделям, приведённым на заднем плане, а на частях С рисунков — финальные фармакофорные модели с указанием расстояний между фармакофорами (в Å).

Ключевым результатом вычислений явилось то, что во всех рассчитанных фармакофорных моделях присутствует два ароматических фармакофора (оранжевые тороиды) с различными расстояниями между ними. Также в большинстве моделей присутствует гидрофобный фармакофор (зелёная сфера), расположенный между ароматическими группами. В модели блокаторов кальциевых Cav1.2-каналов (рис. 3) расстояние между ароматическими фармакофорами составляет 10,17 Å. Также в ней присутствует гидрофобная группа Н7, удалённая на 2,5 и 9,34 Å от арильных групп. В модели блокаторов натриевых Nav1.5-каналов (рис. 4) расстояние между ароматическими фармакофорами существенно меньше и составляет 6,42 Å. Гидрофобная группа Н7 удалена от них на 3,65 и 7,61 Å. Сходная модель с теми же элементами фиксируется и для блокаторов hERG-каналов (рис. 5). Арильные кольца расположены на расстоянии 9,88 Å друг от друга, а гидрофобный фармакофор — на расстоянии 3,22 и 8,33 от ароматических групп. Модель блокаторов Kv1.5-каналов (рис. 6) достаточно сходна с моделью Nav1.5-блокаторов. В ней расстояние между ароматическими фармакофорами составляет 7,28 Å, а между гидрофобным элементом и кольцами — 4,03 и 5,64 Å. В модели блокаторов HCN-каналов (рис. 7), помимо ароматических ядер, расположенных на удалении 12,64 Å друг от друга, имеются три гидрофобных фармакофора, расположенных вокруг одного из колец на удалении 2,69–3,59 Å, а также акцептор водородной связи возле второго арильного кольца на расстоянии 2,77 Å. Модель ингибиторов RyR2-рецептора (рис. 8) содержит ароматические фармакофоры с расстоянием 11,81 Å между ними и два гидрофобных элемента вблизи первого кольца на удалении 2,61 и 3,59 Å. В фармакофорной модели β_1 -адреноблокаторов (рис. 9), помимо двух ароматических ядер, расстояние между которыми составляет 12,49 Å, присутствуют два акцептора водородных связей (розовые сферы), удалённых на 2,77 и 5,36 Å от одного из арилов. Наконец, модель лигандов $\sigma 1$ -рецептора (рис. 10) содержит ароматические ядра на расстоянии 8,76 Å друг от друга, и два гидрофобных фрагмента между ними на расстоянии 2,17 и 5,13 Å (Н3) и 5,13 и 4,52 Å (Н4) от колец.

Ранее нами на основании концепции универсального биароматического фармакофора были предложены и синтезированы несколько групп соединений, соответствующих общей формуле 1, в которой два ароматических ядра связаны линейным линкером длиной от 8 до 12 связей, содержащим минимум два атома азота (рис. 11). При этом были получены биароматические производные, содержащие в качестве связывающего арильные ядра линкера три- и диазаалканы [18–21], оксо- и тиодиазаалканы [24], аминокилпиперазины [22] и аминокилпиперазин-2,3-дионы [23]. Всего было синтезировано более 40 соединений общей формулы 1, их строение приведено в табл. 1. Скрининг антиаритмической и антиише-

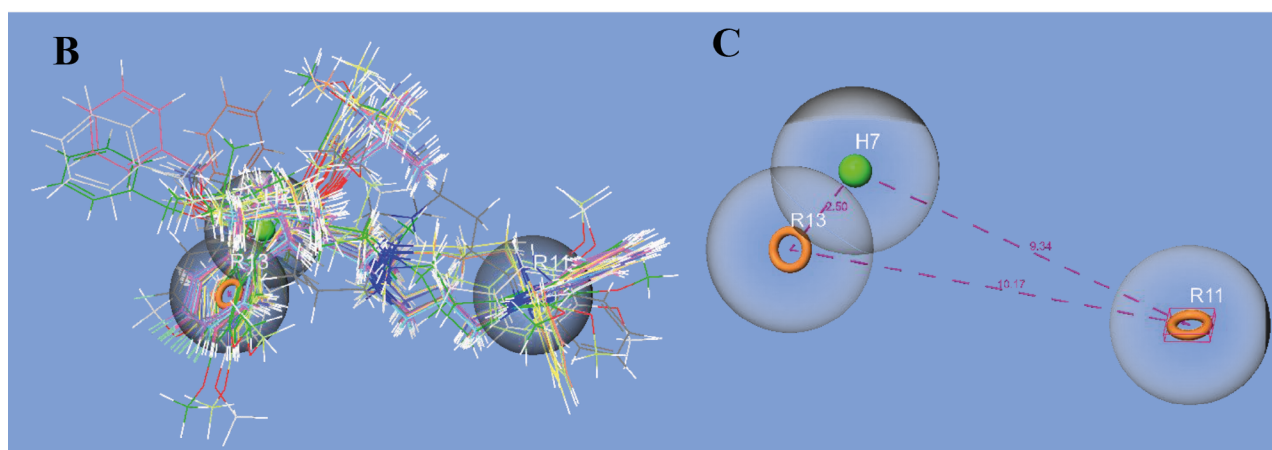
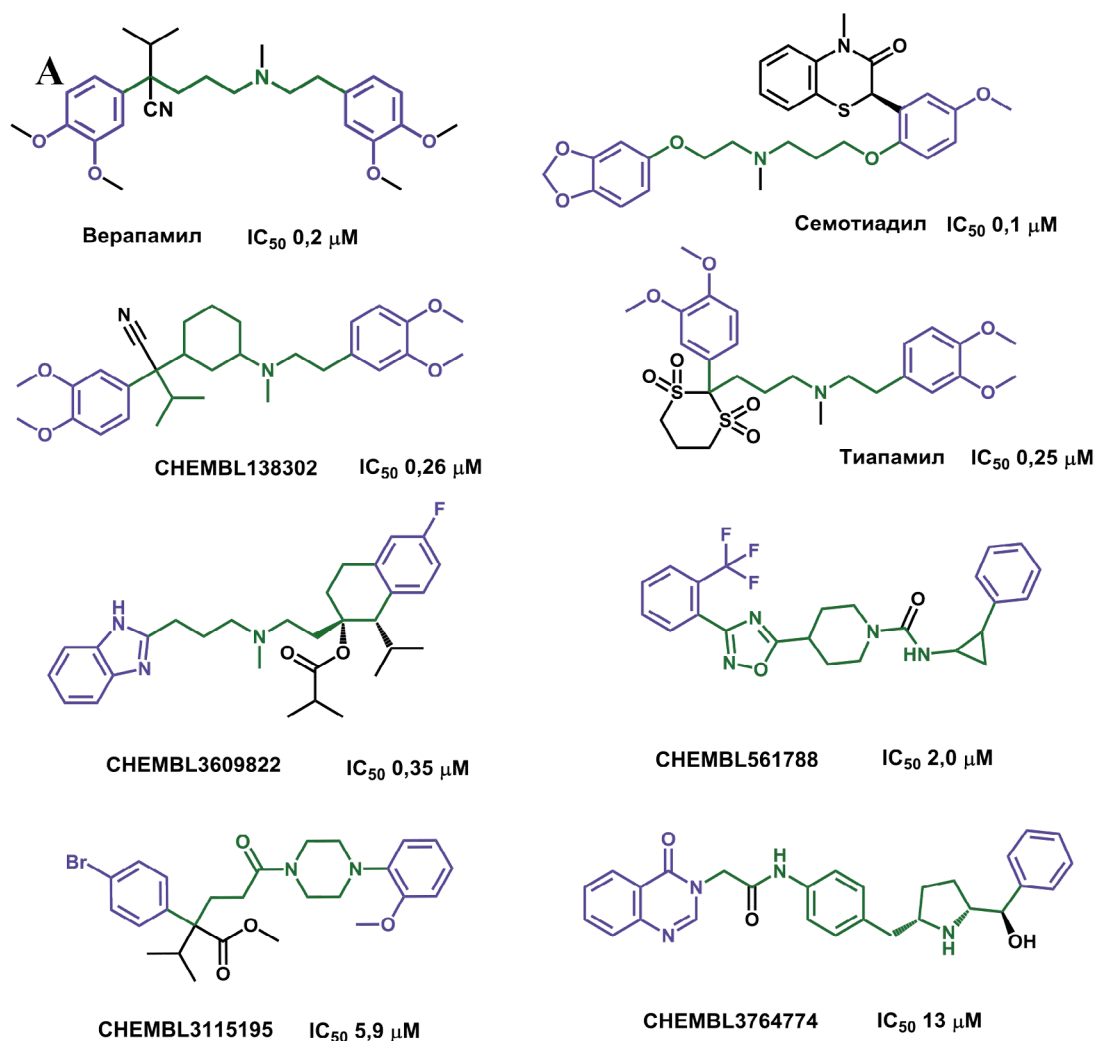


Рис. 3. А. Представители биароматических блокаторов кальциевых Cav1.2-каналов (L типа). В. Наложение части выборки блокаторов кальциевых Cav1.2-каналов в конформациях, соответствующих их расчётной фармакофорной модели, приведённой на заднем плане. С. Фармакофорная модель блокаторов кальциевых Cav1.2-каналов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å)

Fig. 3. A. Representatives of biaromatic blockers of calcium Cav1.2 channels (L-type). B. Overlay of a subset of Cav1.2 calcium channel blockers in conformations consistent with their estimated pharmacophore model shown in the background. C. Pharmacophore model of Cav1.2 calcium channel blockers, indicating the distances between pharmacophores (in Å)

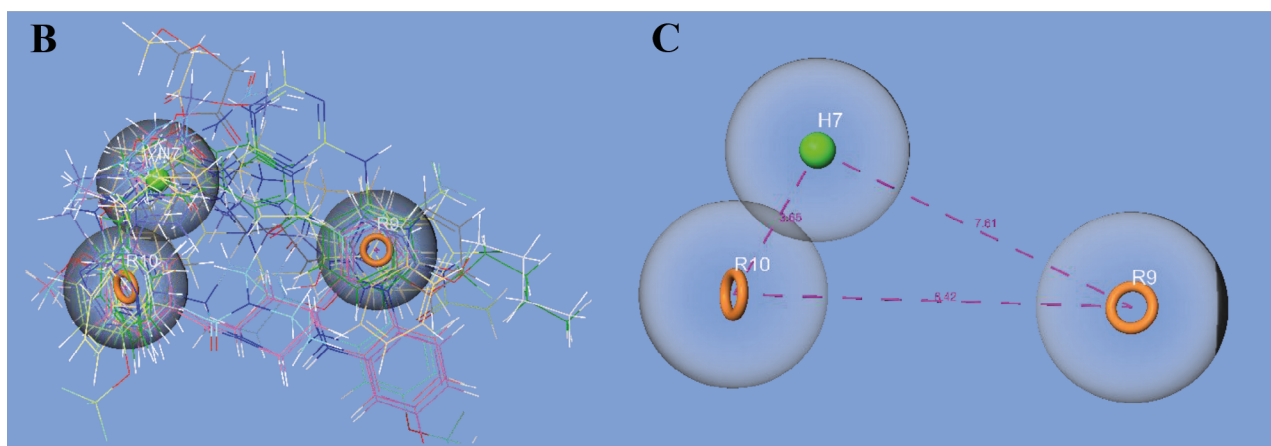
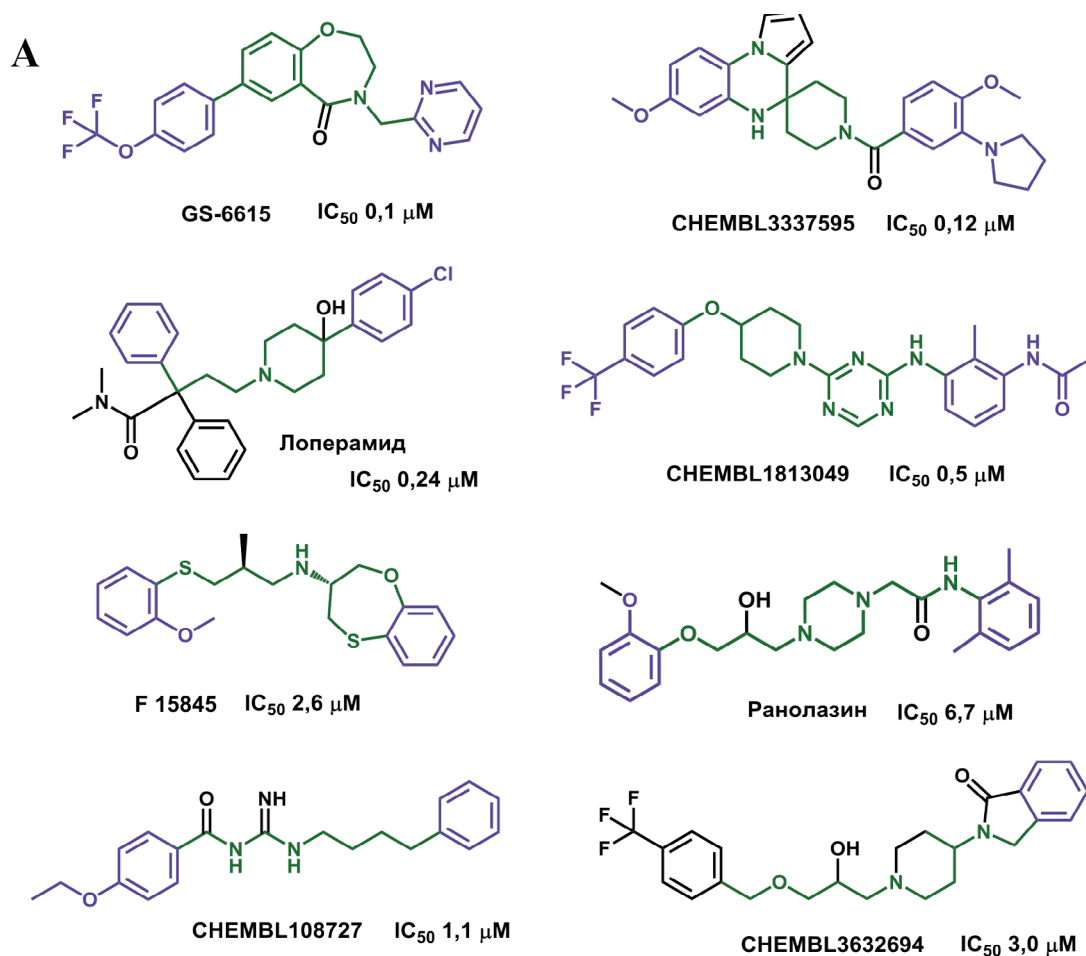


Рис. 4. А. Представители биароматических блокаторов натриевых Nav1.5-каналов. В. Наложение части выборки блокаторов натриевых Nav1.5-каналов в конформациях, соответствующих их расчётной фармакофорной модели, приведённой на заднем плане. С. Фармакофорная модель блокаторов натриевых Nav1.5-каналов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å)

Fig. 4. A. Representatives of biaromatic blockers of sodium Nav1.5 channels. B. Overlay of a subset of sodium Nav1.5 channel blockers in conformations consistent with their calculated pharmacophore model shown in the background. C. Pharmacophore model of sodium Nav1.5 channel blockers, indicating the distances between pharmacophores (in Å)

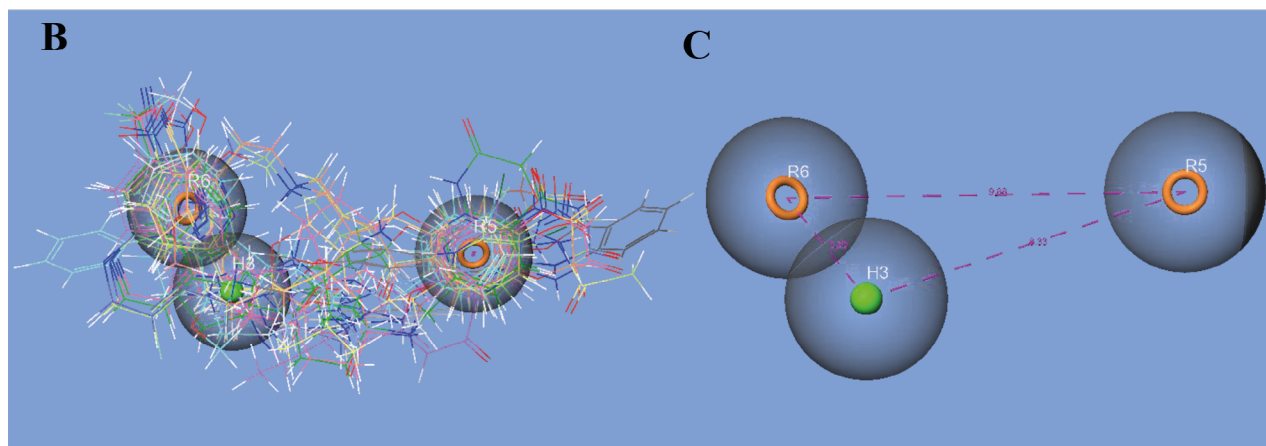
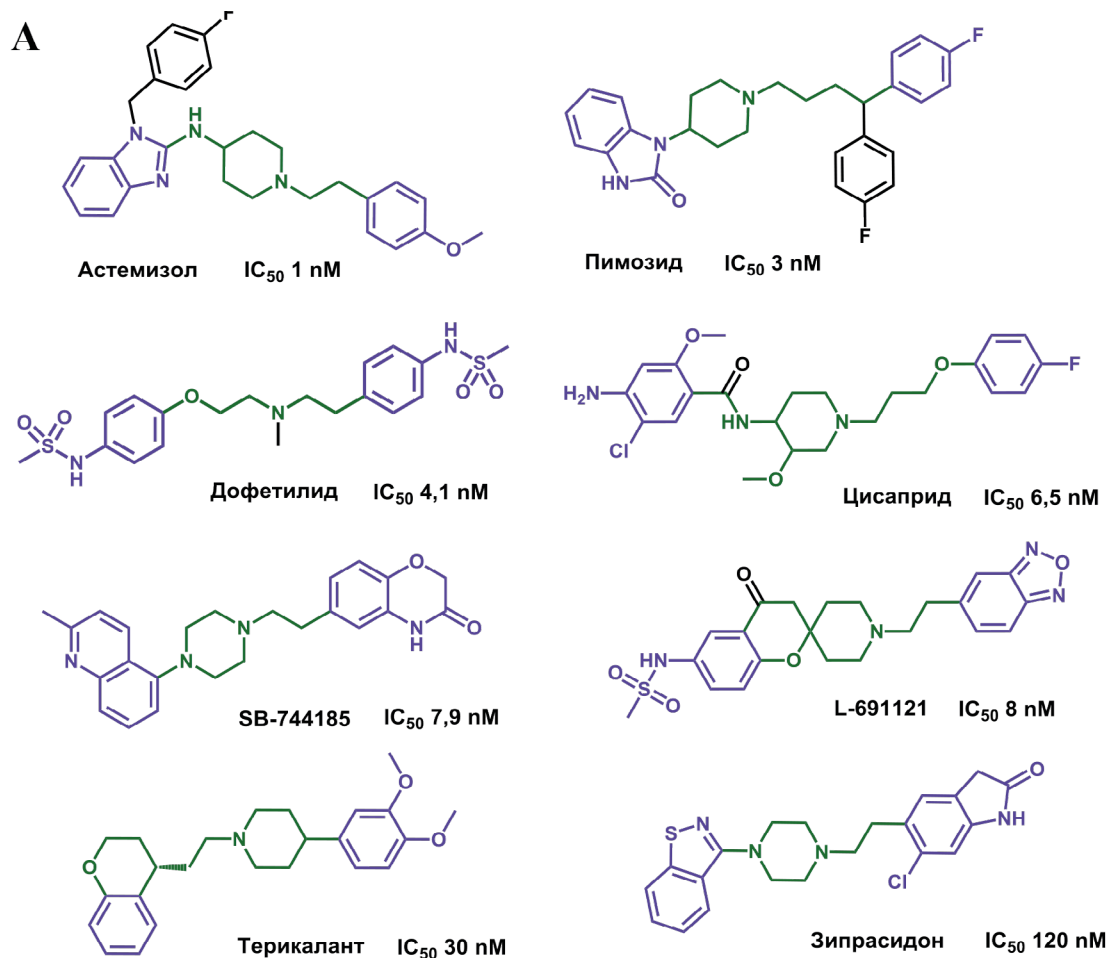


Рис. 5. А. Представители биароматических блокаторов калиевых hERG-каналов (Kv11.1). В. Наложение части выборки блокаторов калиевых hERG-каналов в конформациях, соответствующих их расчётной фармакофорной модели, приведённой на заднем плане. С. Фармакофорная модель блокаторов калиевых hERG-каналов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å)

Fig. 5. A. Representatives of biaromatic blockers of potassium hERG channels (Kv11.1). B. Overlay of a subset of hERG potassium channel blockers in conformations consistent with their estimated pharmacophore model shown in the background. C. Pharmacophore model of potassium hERG channel blockers, indicating the distances between pharmacophores (in Å)

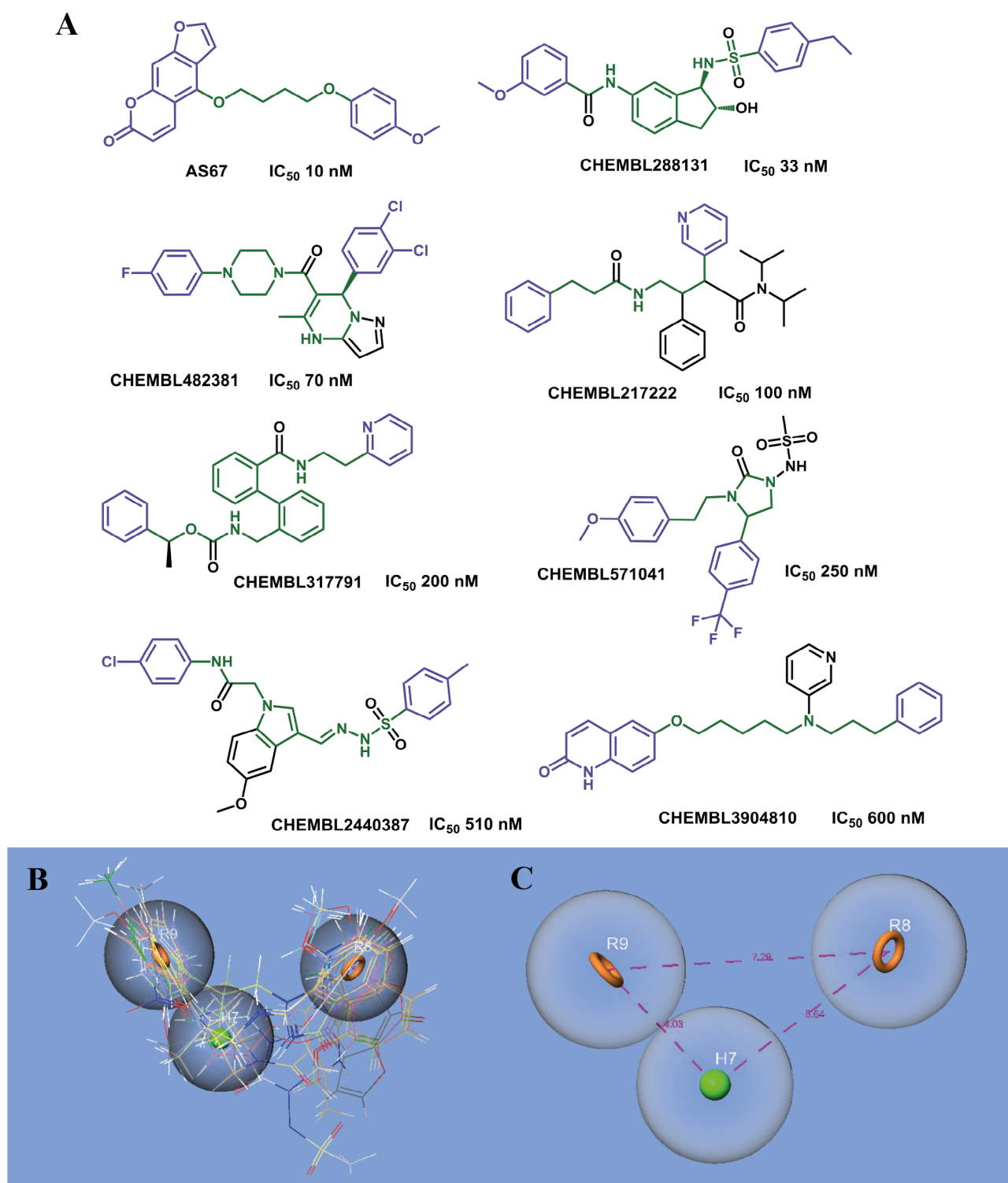


Рис. 6. А. Представители биароматических блокаторов калиевых Kv1.5-каналов. В. Наложение части выборки блокаторов калиевых Kv1.5-каналов в конформациях, соответствующих их расчётной фармакофорной модели, приведённой на заднем плане. С. Фармакофорная модель блокаторов калиевых Kv1.5-каналов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å)

Fig. 6. A. Representatives of biaromatic blockers of potassium Kv1.5 channels. B. Overlay of a subset of Kv1.5 potassium channel blockers in conformations consistent with their calculated pharmacophore model shown in the background. C. Pharmacophore model of potassium Kv1.5 channel blockers, indicating the distances between pharmacophores (in Å)

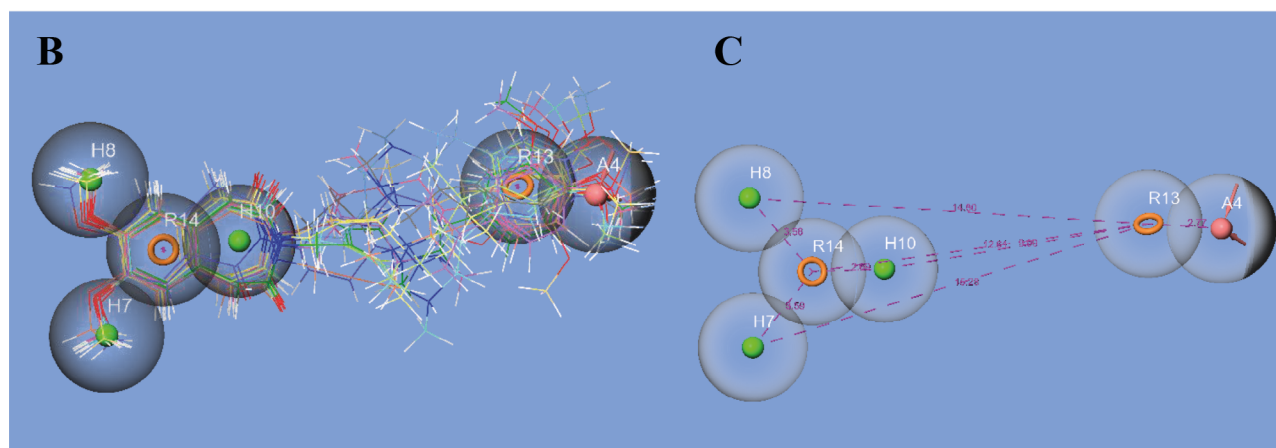
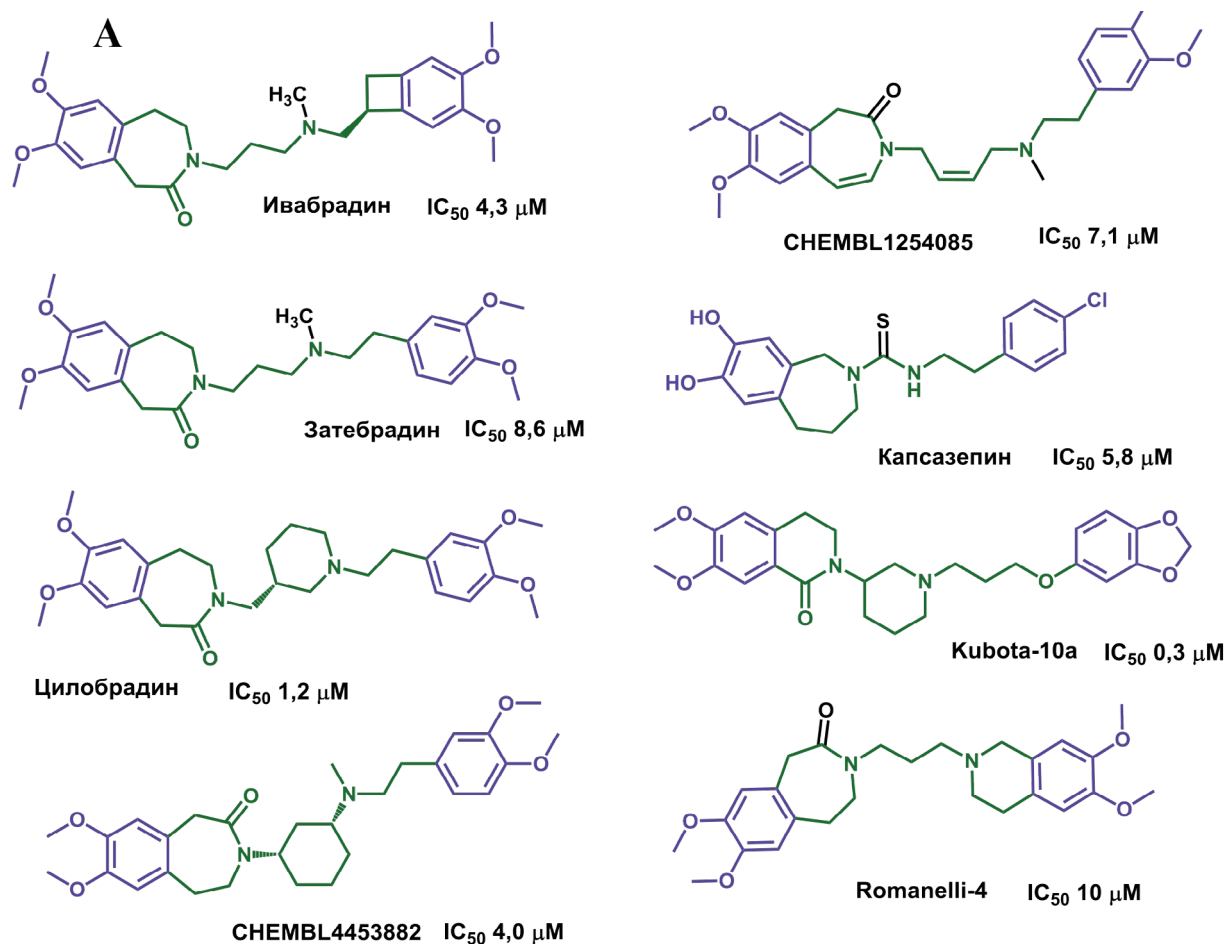
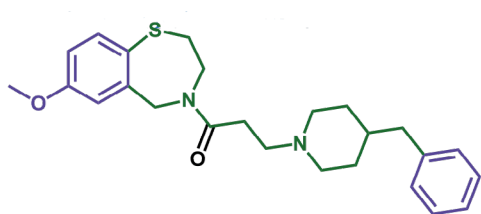
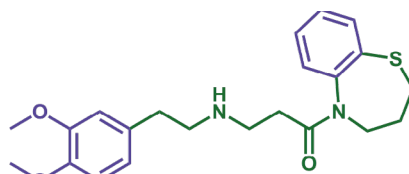


Рис. 7. А. Представители биароматических блокаторов HCN-каналов. В. Наложение части выборки блокаторов HCN-каналов в конформациях, соответствующих их расчётной фармакофорной модели, приведённой на заднем плане. С. Фармакофорная модель блокаторов HCN-каналов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å)
Fig. 7. A. Representatives of biaromatic HCN channel blockers. B. Overlay of a subset of HCN channel blockers in conformations corresponding to their calculated pharmacophore model shown in the background. C. Pharmacophore model of HCN channel blockers, indicating the distances between pharmacophores (in Å)

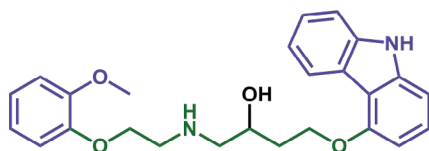
A



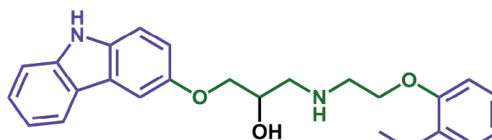
JTV-519 (K201) IC_{50} 0,1 μ M



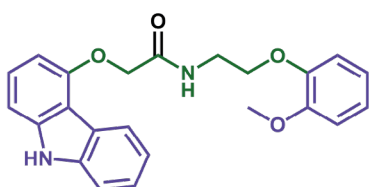
KT-362 IC_{50} 0,6 μ M



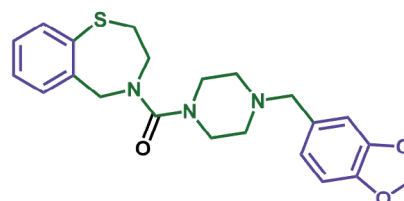
VK-II-86 IC_{50} 1 μ M



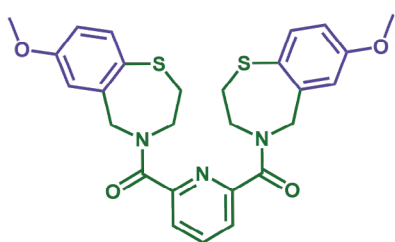
CS-I-34 IC_{50} 2 μ M



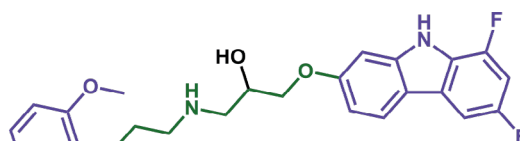
Smith-93 IC_{50} 3,6 μ M



CHEMBL3909873 IC_{50} 0,1 μ M

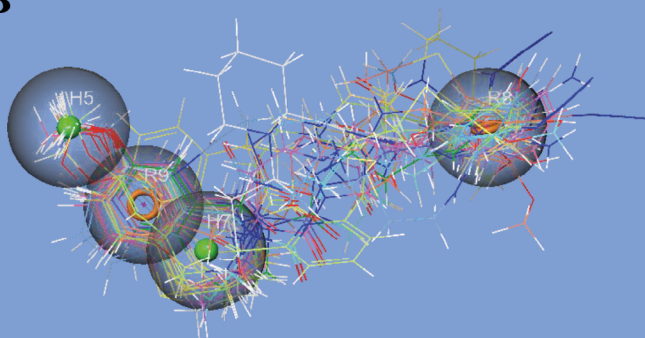


CHEMBL3949995 IC_{50} 0,4 μ M



Smith-54 IC_{50} 4,4 μ M

B



C

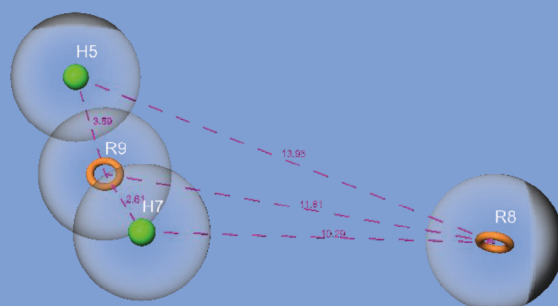


Рис. 8. А. Представители биароматических ингибиторов рианодиновых RyR2-рецепторов. В. Наложение части выборки ингибиторов RyR2-рецепторов в конформациях, соответствующих их расчётной фармакофору модели, приведённой на заднем плане. С. Фармакофорная модель ингибиторов RyR2-рецепторов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å)

Fig. 8. A. Representatives of biaromatic inhibitors of ryanodine RyR2 receptors. B. Overlay of a subset of RyR2 receptor inhibitors in conformations consistent with their calculated pharmacophore model shown in the background. C. Pharmacophore model of RyR2 receptor inhibitors, indicating the distances between pharmacophores (in Å)

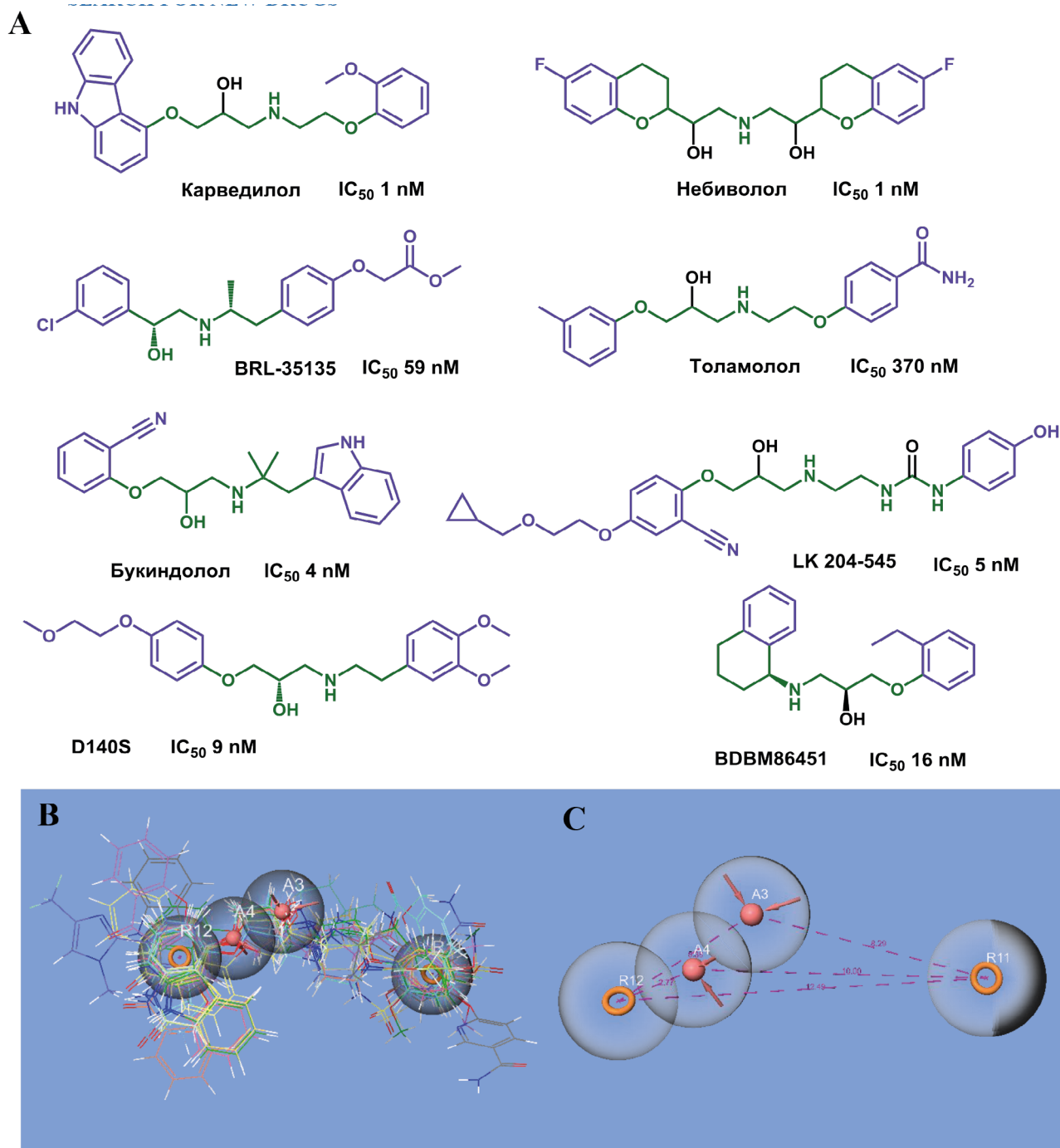
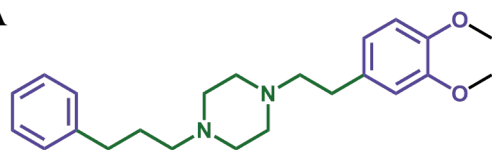


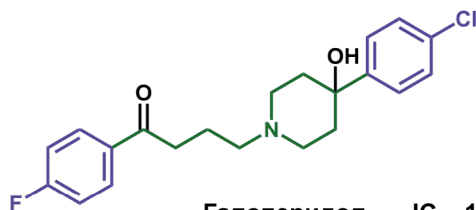
Рис. 9. А. Представители биароматических β_1 -адреноблокаторов. В. Наложение части выборки β_1 -адреноблокаторов в конформациях, соответствующих их расчётной фармакофорной модели, приведённой на заднем плане. С. Фармакофорная модель β_1 -адреноблокаторов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å)

Fig. 9. A. Representatives of biaromatic β_1 -blockers. B. Overlay of a subset of β_1 -blockers in conformations corresponding to their estimated pharmacophore model shown in the background. C. Pharmacophore model of β_1 -blockers indicating the distances between pharmacophores (in Å)

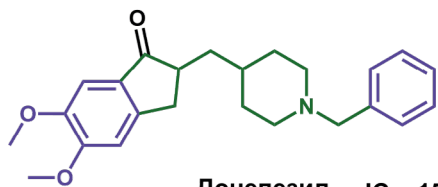
A



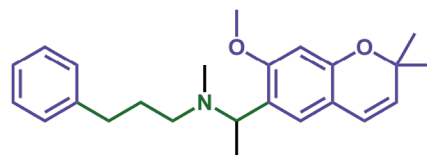
Кутамесин IC_{50} 5 nM



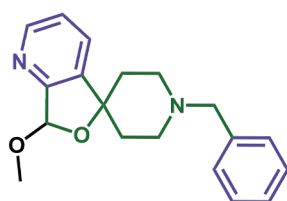
Галоперидол IC_{50} 1 nM



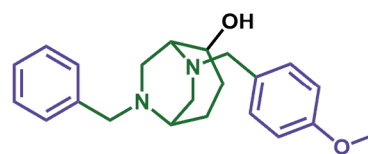
Донепезил IC_{50} 15 nM



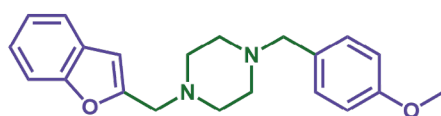
AAA-15 IC_{50} 1 nM



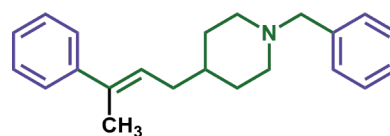
Maier-49 IC_{50} 5 nM



DBP-1 IC_{50} 7 nM

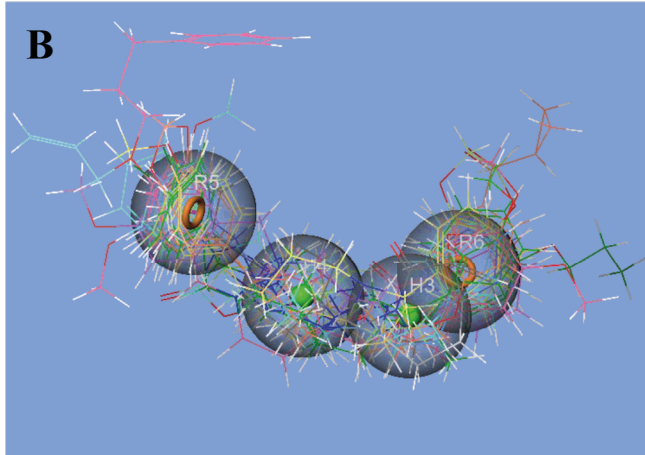


Moussa-23 IC_{50} 3 nM



Ye-SA-a9 IC_{50} 1 nM

B



C

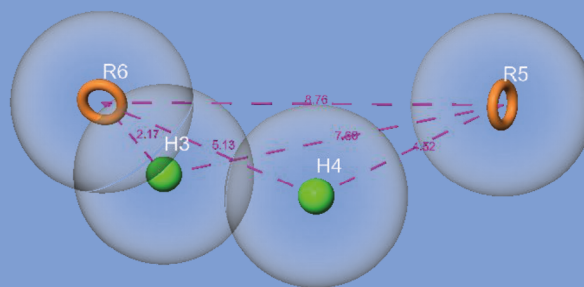


Рис.10. А. Представители биароматических лигандов σ_1 -рецептора. **В.** Наложение части выборки лигандов σ_1 -рецептора в конформациях, соответствующих их расчётной фармакофорной модели, приведённой на заднем плане. **С.** Фармакофорная модель лигандов σ_1 -рецептора с указанием расстояний между фармакофорами (в Å)

Fig. 10. A. Representatives of biaromatic ligands of the σ_1 -receptor. **B.** Overlay of a subset of σ_1 -receptor ligands in conformations corresponding to their calculated pharmacophore model shown in the background. **C.** Pharmacophore model of σ_1 -receptor ligands indicating the distances between pharmacophores (in Å)

мической активности соединений **1** показал, что их подавляющее большинство обладает кардиотропной активностью хотя бы в одной модели, при этом многие соединения показали сочетание антиаритмических и антиишемических свойств. В качестве моделей аритмии использовались следующие: модель аконтиновой аритмии, активность в которой показывают, как правило, антиаритмики I класса по классификации Vaughan–Williams (блокаторы натриевых каналов); модели хлоридкальциевой аритмии и реперфузионных фибрилляций сердца, характерные для антиаритмиков I и IV (блокаторы кальциевых каналов) классов; модель электрической фибрилляции сердца; модель изопротереноловой ишемии.

Факт выявления кардиотропной активности в различных моделях для большинства сконструированных биароматических соединений группы **1** в целом подтвердил эффективность использования концепции «универсального биароматического фармакофора». В связи с этим следующим этапом исследования явился анализ соответствия соединений группы **1** расчётным фармакофорным моделям биароматических лигандов кальциевых каналов L-типа (Cav1.2), натриевых каналов Nav1.5, калиевых hERG-каналов и Kv1.5-каналов, HCN-каналов, β_1 -адренорецепторов, рианодиновых RyR2-рецепторов и $\sigma 1$ -рецепторов. Такой скрининг проводился с использованием программы Phase Screen, которая ранжирует молекулы по их степени соответствия фармакофорной гипотезе. Для оценки степени соответствия молекулы моделям использовалась специальная функция PhaseScore, которая комбинирует в себе меры сходства по фор-

ме, фармакофорным компонентам и общей энергии анализируемых конформаций.

В табл. 1 приведены результаты анализа процентов соответствия соединений сконструированных групп расчётным моделям по показателю PhaseScore. Степень соответствия в таблице 1 обозначена цветовой шкалой: зелёным цветом отмечены лучшие значения соответствия, красным — худшие. Промежуточные значения обозначены жёлтым цветом. Установлено, что подавляющее большинство молекул имеет соответствие всем фармакофорным моделям более 50 %. В среднем сконструированные молекулы соответствуют фармакофорным моделям биароматических лигандов выбранных кардиопротекторных биомошеней на 52–68 %, что свидетельствует о высокой вероятности вовлечённости этих биомошеней в возможные кардиопротекторные эффекты новых соединений, а также подтверждает гипотезу о мульти-таргетности веществ такого строения. Наибольшие значения степени соответствия фиксировались для моделей блокаторов Nav1.5-каналов (от 60,5 до 75,3 %) и калиевых hERG-каналов (от 60,7 до 77,5 %), далее следует модель блокаторов Cav1.2-каналов (от 52,4 до 62,9 %), калиевых Kv1.5-каналов (от 46,8 до 75,2 %) и лигандов $\sigma 1$ -рецепторов (от 42,4 до 62,0 %). Несколько меньшая степень соответствия наблюдалась для моделей ингибиторов RyR2-рецепторов (от 36,9 до 63,9 %), для блокаторов HCN4-каналов (от 38,5 до 65,3 %) и β_1 -адреноблокаторов (от 27,5 до 64,4 %).

В качестве примера визуализации соответствия сконструированных молекул расчётным фармакофорным моделям на рис. 12 приведены результаты

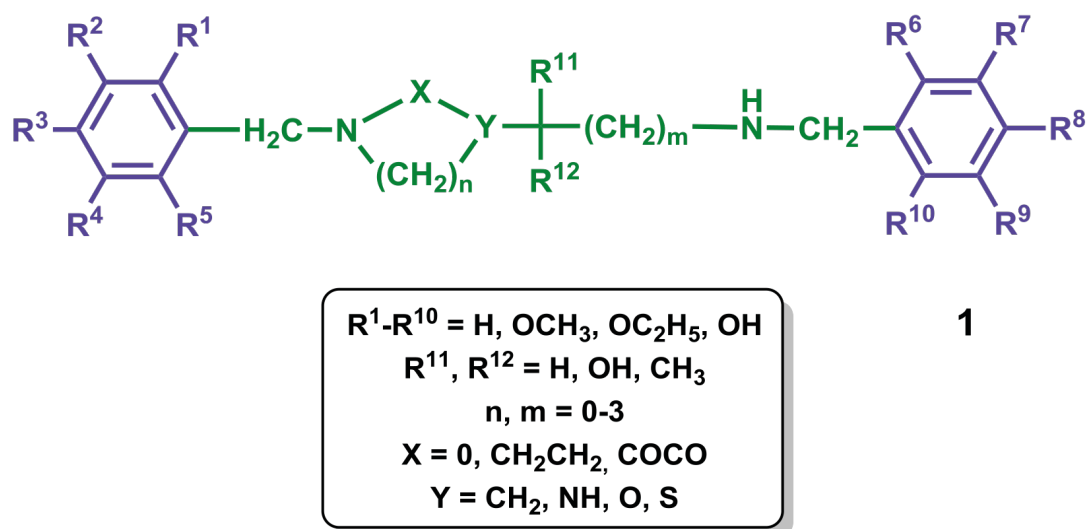


Рис. 11. Общая формула соединений (**1**), сконструированных в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» на основании концепции «универсального биароматического фармакофора»

Fig. 11. General formula of compounds (**1**) designed at the Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies based on the concept of a «universal biaromatic pharmacophore»

Таблица 1
Результаты расчётов степени соответствия (в %) соединений группы 1 фармакофорным моделям биароматических лигандов кардиопротекторных биомиметов (по показателю PhaseScore)
Table 1
Calculations of the compliance degree (in %) of compounds 1 with pharmacophore models of biaromatic ligands of cardioprotective biotargets (according to the PhaseScore function)

Шифр	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ⁸	R ⁹	R ¹⁰	R ¹¹	R ¹²	n	m	X	Y	a	Cav1.2	Nav1.5	hERG	Kv1.5	HCN	RyR2	Beta1	Sigma1	Cpneum
АЛМ-802	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	60.0	68.5	73.7	59.4	54.1	51.2	55.2	52.0	57.6
АЛМ-803	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	59.4	66.6	70.8	74.3	54.1	56.3	60.5	51.6	58.9
АЛМ-805	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	3	2	-	N	3	60.3	63.8	67.4	69.8	46.3	50.1	59.6	58.8	56.6
АЛМ-806	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	3	2	-	N	3	56.7	73.0	65.0	75.2	45.6	52.7	54.5	53.3	57.7
АЛМ-807	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	3	2	-	N	3	59.2	70.3	68.5	62.6	56.5	36.9	53.6	46.6	53.8
АЛМ-811	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	2	-	N	3	58.3	71.2	68.5	64.8	52.0	56.5	57.1	52.0	59.4
АЛМ-812	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	3	2	-	N	3	61.8	70.4	63.5	59.6	53.1	46.8	57.9	52.3	57.4
АЛМ-819	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	57.7	70.9	65.7	65.3	51.8	58.7	64.4	51.9	60.6
АЛМ-820	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	61.4	69.7	66.7	69.7	50.3	54.0	56.5	57.7	59.2
АЛМ-821	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	60.7	70.1	67.4	69.8	48.3	60.3	57.1	56.2	60.4
АЛМ-822	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	Н	3	2	-	N	3	58.6	67.0	64.1	60.5	49.1	42.2	61.8	50.4	54.8
АЛМ-824	ОС ₂ H ₅	Н	Н	Н	Н	ОС ₂ H ₅	Н	Н	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	57.9	65.2	65.4	61.6	51.4	62.6	60.3	62.0	60.9
АЛМ-830	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	2	1	-	N	3	54.4	66.1	77.5	65.3	52.9	63.9	56.9	49.7	59.2
АЛМ-831	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	62.9	69.3	69.6	68.0	57.9	60.9	61.1	53.2	61.9
АЛМ-832	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	Н	Н	2	1	CO-CO	N	1	56.3	61.4	60.7	59.0	53.5	57.5	58.3	53.1	57.4
АЛМ-833	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	CO-CO	N	1	62.0	67.9	63.0	66.6	57.7	55.0	47.6	54.3	58.4
АЛМ-835	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	CO-CO	N	1	57.3	62.9	70.5	46.8	57.4	38.8	45.5	51.6	51.9
АЛМ-836	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	CO-CO	N	1	56.4	60.5	67.6	74.3	60.8	51.2	55.4	50.3	55.8
АЛМ-838	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	CH ₂ CH ₂	N	3	61.0	67.4	65.9	68.8	60.7	42.9	58.4	47.8	56.1
АЛМ-839	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	2	1	CH ₂ CH ₂	N	3	60.4	70.8	69.4	67.4	59.2	54.4	59.9	48.5	59.8
АЛМ-840	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	CH ₂ CH ₂	N	3	60.5	66.7	66.0	67.9	55.3	57.3	55.2	53.5	59.1
АЛМ-841	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	Н	Н	2	1	CH ₂ CH ₂	N	3	57.0	71.3	68.4	61.9	53.9	58.7	63.2	43.6	59.7
АЛМ-842	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	CH ₂ CH ₂	N	3	61.4	65.6	68.1	64.9	54.0	49.2	59.9	53.2	57.3
АЛМ-843	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	52.4	67.2	66.6	66.4	65.3	43.3	62.2	54.1	56.9
АЛМ-844	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	-	CH	2	54.1	65.3	67.4	64.5	55.6	44.9	54.1	60.6	55.6
АЛМ-845	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	2	-	CH	2	59.4	66.9	70.4	64.7	53.5	58.4	59.0	58.6	60.2
АЛМ-847	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	1	1	-	CH	2	59.6	65.6	64.0	70.6	41.4	52.9	56.4	50.2	55.6
АЛМ-850	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОН	Н	0	1	-	CH	2	59.5	63.6	66.6	63.8	49.5	52.9	35.1	46.5	52.9
АЛМ-851	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	0	1	-	CH	2	59.0	68.8	71.2	63.5	47.6	50.3	57.2	47.7	56.2
АЛМ-861	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	CH ₃	CH ₃	0	1	-	CH	2	56.5	71.1	67.1	62.8	52.0	50.4	56.6	50.5	57.3
АЛМ-863	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	-	O	2	62.9	73.2	67.1	59.3	44.2	48.1	27.5	53.2	53.8
АЛМ-864	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	61.8	62.3	68.0	59.7	38.5	50.3	57.9	42.4	53.3
АЛМ-865	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	0	1	-	CH	2	60.8	68.5	67.2	63.2	55.3	50.5	61.2	44.2	57.4
АЛМ-866	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	0	1	-	CH	2	60.7	65.5	73.1	67.0	47.1	56.9	55.9	44.1	56.6
АЛМ-867	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	-	S	2	59.4	69.1	68.3	71.0	48.5	56.1	48.5	47.7	56.8
АЛМ-868	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	ОН	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	56.7	75.3	69.8	60.6	57.7	60.8	57.1	47.3	61.4
АЛМ-869	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	ОСН ₃	ОН	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	57.3	70.1	73.0	61.8	53.5	55.3	58.5	51.7	59.0
АЛМ-870	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОН	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	60.8	73.0	70.9	71.3	44.9	50.6	63.4	52.0	58.6
АЛМ-871	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	61.8	71.2	72.7	63.9	46.9	55.1	62.0	56.3	59.9
АЛМ-872	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	57.4	69.7	72.1	61.3	52.1	62.5	58.3	52.5	60.6
АЛМ-873	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	ОСН ₃	Н	Н	Н	Н	2	1	-	N	3	61.8	75.0	70.5	74.4	52.9	48.8	58.7	49.4	58.8

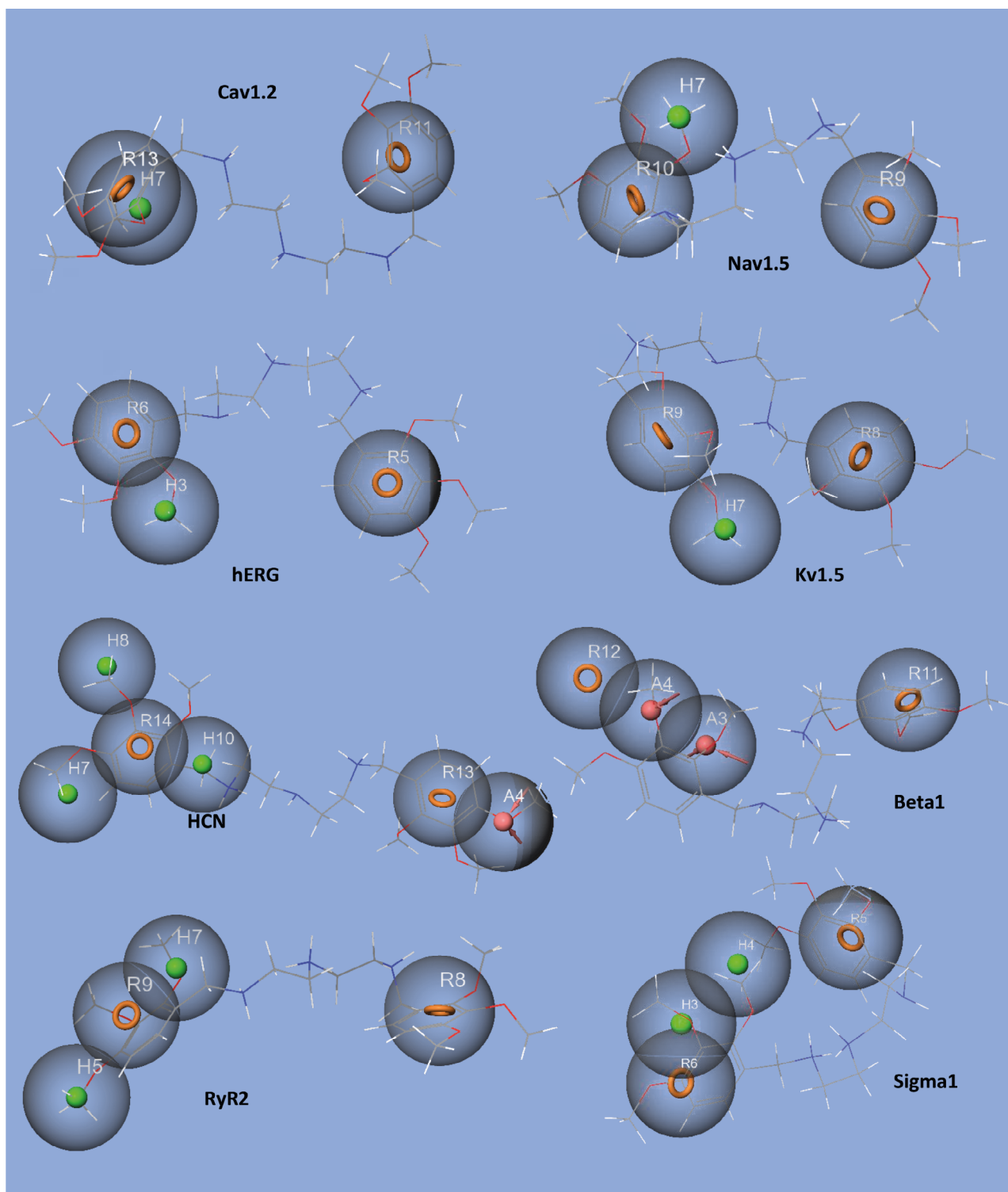


Рис. 12. Наложение пространственной структуры соединения АЛМ-802 на фармакофорные модели биароматических лигандов кардиопротекторных биомишеней

Fig. 12. Superposition of the spatial structure of the ALM-802 molecule on pharmacophore models of biaromatic ligands of cardioprotective biotargets

наложения пространственной структуры соединения-лидера из группы 1 АЛМ-802 на эти модели. Во всех случаях, кроме модели биароматических ингибиторов β_1 -адренорецепторов, ароматические кольца молекулы АЛМ-802 накладываются на сферы наиболее вероятного расположения ароматических групп лигандов соответствующих биомишеней. С остальными фармакофорными элементами моделей также наблюдается соответствие различных групп соединения АЛМ-802.

Выявленное *in silico* соответствие структуры АЛМ-802 расчётным фармакофорным моделям отобранных 8 биомиметических во многом подтверждается экспериментальными данными, полученными при исследовании механизмов действия соединения АЛМ-802. В частности, методом patch-clamp в конфигурации whole cell на культуре нейронов гиппокампа крыс было установлено, что АЛМ-802 эффективно блокирует трансмембранные потенциалзависимые натриевые Nav1.5 каналы ($IC_{50} = 94 \text{ } \mu\text{M}$) и калиевые hERG-каналы ($IC_{50} = 67 \text{ } \mu\text{M}$) [44]. В концентрации $10 \text{ } \mu\text{M}$ АЛМ-802 на 30 % снижает специфическое связывание радиолиганда $\sigma 1$ -рецептора $[^3\text{H}]$ пентазоцина. В экспериментах на модели хронической постинфарктной сердечной недостаточности у крыс методом ПЦР в реальном масштабе времени показано, что соединение АЛМ-802 (ежедневно в дозе 2 мг/кг , в/б, в течение 28 суток, с 91-х суток от момента воспроизведения инфаркта миокарда) восстанавливает в миокарде уровень экспрессии генов β_1 - и β_2 -адренорецепторов, а также риаудиновых рецепторов 2-го типа, сниженную у контрольных животных [45]. Кроме того, соединение АЛМ-802 в экспериментах *in vitro*, выполненных на изолированной полоске миокарда, полностью блоки-

рует её положительный инотропный ответ на кофеин (агонист RyR2), что позволяет предположить, что оно обладает свойствами антагониста RyR2 [46]. Полученные данные свидетельствуют о том, что соединение АЛМ-802, как минимум, сочетает свойства антиаритмических средств I и III классов по классификации Vaughan—Williams и проявляет антагонистическую активность в отношении RyR2.

Заключение / Conclusion

Таким образом, на основании собранных нами баз данных биароматических лигандов восьми важнейших биомишеней кардиопротекторных средств (кальциевый Cav1.2-канал, натриевый Nav1.5-канал, калиевые hERG-канал и Kv1.5-канал, HCN-канал, β_1 -адренорецептор, рианодиновый RyR2-рецептор и σ_1 -рецептор) в программе Phase Schrödinger был осуществлён расчёт их фармакофорных моделей. Ключевым результатом вычислений явилось наличие двух ароматических фармакофоров во всех полученных моделях, что подтвердило выдвинутую нами гипотезу об универсальности биароматического фармакофора. С использованием функции PhaseScore был проведён анализ соответствия ранее синтезированных и исследованных нами бис-арилазаазлканов общей формулы **1** расчётным фармакофорным моделям. Установлено, что подавляющее большинство молекул имеет соответствие всем моделям более 50 %, что свидетельствует о высокой вероятности вовлечённости этих биомишеней в возможные кардиопротекторные эффекты соединений **1**, а также подтверждает гипотезу о мультитаргетности веществ такого строения.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Мокров Григорий Владимирович

Автор, ответственный за переписку

К. Х. Н., руководитель лаборатории

тонкого органического синтеза отдела

химии лекарственных средств ФГБНУ

«ФИЦ оригинальных и перспективных

биомедицинских и фармацевтических

технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: mokrov_gv@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2617-0334>

РИНЦ SPIN-код: 8755-7666

Grigory V. Mokrov

Corresponding author

PhD, Cand. Chemical Sci., Head of the Fine Organic Synthesis Laboratory at the Drug Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: mokrov_gv@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2617-0334>

RSCI SPIN code: 8755-7666

Пантилеев Андрей Сергеевич

н. с. лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: pantileev_as@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9288-594X>

Adrey S. Pantileev

Researcher of the Fine Organic Synthesis Laboratory at the drug Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: pantileev_as@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9288-594X>

Воробьева Татьяна Юрьевна

м. н. с. лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-6710-3597>
РИНЦ SPIN-код: 7892-5349

Tatyana Yu. Vorobieva

Junior Research Scientist of the Fine Organic Synthesis Laboratory at the Drug Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-6710-3597>
RSCI SPIN code: 7892-5349

Бирюкова Валентина Евгеньевна

м. н. с. лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0000-9586-6971>

Valentina E. Biryukova

Junior Research Scientist of the Fine Organic Synthesis Laboratory at the Drug Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0000-9586-6971>

Крыжановский Сергей Александрович

д. м. н., зав. лабораторией фармакологического скрининга ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2832-4739>
РИНЦ SPIN-код: 6596-4865

Sergey A. Kryzhanovskii

Dr. Sci (Med.), Head of laboratory of pharmacological screening Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2832-4739>
RSCI SPIN code: 6596-4865

Дорофеев Владимир Львович

д. фарм. н., профессор, и/о генерального директора ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>

Vladimir L. Dorofeev

PhD, Dr. Sci. (Pharm), Professor, Acting General Director of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>

Список литературы / References

- Zhou J, Jiang X, He S, et al. Rational Design of Multitarget-Directed Ligands: Strategies and Emerging Paradigms. *J Med Chem.* 2019;62(20):8881-8914. doi: 10.1021/ACS.JMEDCHEM.9B00017.
- Мокров Г.В. Кардиопротекторные средства с биароматической структурой. Часть 2. Блокаторы HCN-каналов. *Фармакокинетика и Фармакодинамика.* 2022;(2):03-10. [Mokrov GV. Cardioprotective agents with a biaromatic structure. Part 2. HCN channel blockers. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics.* 2022;(2):03-10. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2022-2-03-10.
- Мокров Г.В. Кардиопротекторные средства с биароматической структурой. Часть 1. Блокаторы кальциевых каналов. *Фармакокинетика и Фармакодинамика.* 2021;(4):3-17. [Mokrov GV. Cardioprotective agents with a biaromatic structure. Part 1. Calcium channel blockers. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics.* 2021;(4):3-17. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2021-4-3-17.
- Мокров Г.В. Кардиопротекторные средства с биароматической структурой. Часть 3. Блокаторы натриевых каналов. *Фармакокинетика и Фармакодинамика.* 2022;(3):3-9. [Mokrov GV. Cardioprotective agents with a biaromatic structure. Part 3. Sodium channel blockers. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics.* 2022;(3):3-9. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2022-3-3-9.
- Мокров Г.В. Кардиопротекторные средства с биароматической структурой. Часть 4. Блокаторы и модуляторы калиевых hERG-каналов. *Фармакокинетика и Фармакодинамика.* 2022;(4):3-19. [Mokrov GV. Cardioprotective agents with a biaromatic structure. Part 4. Potassium hERG channels blockers and modulators. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics.* 2022;(4):3-19. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2022-4-3-19.
- Мокров Г.В. Кардиопротекторные средства с биароматической структурой. Часть 5. Блокаторы калиевых каналов Kv1.5. *Фармакокинетика и Фармакодинамика.* 2023;(2):3-13. [Mokrov GV. Cardioprotective agents with a biaromatic structure. Part 5. Kv1.5 potassium channel blockers. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics.* 2023;(2):3-13. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2023-2-3-13.
- Мокров Г.В. Кардиопротекторные средства с биароматической структурой. Часть 6. Бета-блокаторы. *Фармакокинетика и Фармакодинамика.* 2023;3:3-11. [Mokrov GV. Cardioprotective agents with a biaromatic structure. Part 6. Beta blockers. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics.* 2023;3:3-11. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2023-3-3-11.
- Mokrov GV. Linked biaromatic compounds as cardioprotective agents. *Arch Pharm (Weinheim).* 2022 Apr;355(4):e2100428. doi: 10.1002/ardp.202100428.
- Mokrov GV. Multitargeting in cardioprotection: An example of biaromatic compounds. *Arch Pharm (Weinheim).* 2023;356(9):e2300196. doi: 10.1002/ardp.202300196.
- Melgari D, Brack KE, Zhang C, et al. hERG potassium channel blockade by the HCN channel inhibitor bradycardic agent ivabradine. *J Am Heart Assoc.* 2015;4(4):e001813. doi: 10.1161/JAHA.115.001813.
- Accessdata.fda.gov. PHARMACOLOGY REVIEW. Ivabradine. Published 2014. Accessed December 30, 2022. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/206143Orig1s000PharmR.pdf
- Ratte A, Wiedmann F, Kraft M, et al. Antiarrhythmic Properties of Ranolazine: Inhibition of Atrial Fibrillation Associated TASK-1 Potassium Channels. *Front Pharmacol.* 2019;10:1367. doi: 10.3389/FPHAR.2019.01367.
- Wiśniewska B, Mendyk A, Fijorek K, et al. Predictive model for L-type channel inhibition: multichannel block in QT prolongation risk assessment. *J Appl Toxicol.* 2012;32(10):858-866. doi: 10.1002/JAT.2784.
- Orvos P, Kohajda Z, Szlovák J, et al. Evaluation of Possible Proarrhythmic Potency: Comparison of the Effect of Dofetilide, Cisapride, Sotalol, Terfenadine, and Verapamil on hERG and Native IKr Currents and on Cardiac Action Potential. *Toxicol Sci.* 2019;168(2):365-380. doi: 10.1093/TOXSCI/KFY299.
- Johannessen L, Vicente J, Mason JW, et al. Differentiating drug-induced multichannel block on the electrocardiogram: Randomized study of dofetilide, quinidine, ranolazine, and verapamil. *Clin Pharmacol Ther.* 2014;96(5):549. doi: 10.1038/clpt.2014.155.
- Glusa E, Bevan J, Heptinstall S. Verapamil is a potent inhibitor of 5-HT-induced platelet aggregation. *Thromb Res.* 1989;55(2):239. doi: 10.1016/0049-3848(89)90441-6.
- Schrödinger Release 2024-1: Phase, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2024.
- Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Барчуков В.В., и др. Синтез и кардиотропная активность линейных метоксифенилтриазаалканов. *Химико-фармацевтический журнал.* 2019;53(6):16-23. [Mokrov GV, Likhosherstov AM, Barchukov VV, et al. Synthesis and cardiotropic activity of linear methoxyphenyl triazaalkanes. *Khim.-Pharm. Journal.* 2019;53(6):16-23. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0023-1134-2019-53-6-16-23.
- Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Пантилеев А.С., и др. Влияние строения ароматических групп алкоксифенилтриазаалканов на их кардиотропную активность. *Химико-фармацевтический журнал.* 2020;54(4):3-9. [Mokrov GV, Likhosherstov AM, Pantileev AS, et al. Influence of aromatic groups of alkoxyphenyl triazaalkanes on their cardiotropic activity. *Khim.-Pharm. Journal.* 2020;54(4):3-9. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0023-1134-2020-54-4-3-9.
- Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Барчукова Е.И., и др. Синтез и кардиотропная активность бис-(2,3,4-триметоксифенил)алканди-аминов. *Химико-фармацевтический журнал.* 2021;55(4):19-24. [Mokrov GV, Likhosherstov AM, Barchukova EI, et al. Synthesis and cardiotropic activity of bis-(2,3,4-trimethoxybenzyl)alkanediamines. *Khim.-Pharm. Journal.* 2021;55(4):19-24. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0023-1134-2021-55-4-19-24.
- Мокров Г.В., Воробьева Т.Ю., Бирюкова В.Е., и др. Синтез и кардиотропная активность N,N'-диарилпропан-1,3-диаминов. *Химико-фармацевтический журнал.* 2023;57(7):7-12. [Mokrov GV, Vorobyova TY, Biryukova VE, et al. Synthesis and cardiotropic activity of N,N'-diarylpropane-1,3-diamines. *Khim.-Pharm. Journal.* 2023;57(7):7-12. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0023-1134-2023-57-7-7-12.
- Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Барчуков В.В., и др. Синтез и кардиотропная активность 1-(метоксифенил)-4-[2-((метоксифенил)-амино)этил]пиперазинов. *Химико-фармацевтический журнал.* 2019;53(9):9-14. [Mokrov GV, Likhosherstov AM, Barchukov VV, et al. Synthesis and cardiotropic activity of 1-(methoxybenzyl)-4-[2-((methoxybenzyl)-amino)ethyl]piperazines. *Khim.-Pharm. Journal.* 2019;53(9):9-14. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0023-1134-2019-53-9-9-14.
- Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Барчуков В.В., и др. Синтез и кардиотропная активность циклических метоксифенилтриазаалканов. *Химико-фармацевтический журнал.* 2019;53(7):7-12. [Mokrov GV, Likhosherstov AM, Barchukov VV, et al. Synthesis and cardiotropic activity of cyclic methoxyphenyl triazaalkanes. *Khim.-Pharm. Journal.* 2019;53(7):7-12. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0023-1134-2019-53-7-7-12.
- Мокров Г.В., Воробьева Т.Ю., Бирюкова В.Е., и др. Изучение влияния строения центрального атома бис (2,3,4-триметоксифенил) азаалканов на их кардиотропную активность. *Химико-фармацевтический журнал.* 2023;57(9):3-9. [Mokrov GV, Vorobyova TY, Biryukova VE, et al. The influence of bis-(2,3,4-trimethoxyphenyl)azaalkanes central atom type on their cardiotropic activity. *Khim.-Pharm. Journal.* 2023;57(9):3-9.]. doi: 10.30906/0023-1134-2023-57-9-3-9
- Szentandrassy N, Nagy D, Hegyi B, et al. Class IV Antiarrhythmic Agents: New Compounds Using an Old Strategy. *Curr Pharm Des.* 2015;21(8):977-1010. doi: 10.2174/1381612820666141029105910.
- Godfraind T. Discovery and Development of Calcium Channel Blockers. *Front Pharmacol.* 2017 May 29;8:286. doi: 10.3389/FPHAR.2017.00286.
- Njelic A, Wilson C, Cartwright EJ. Targeting Ca²⁺ + Handling Proteins for the Treatment of Heart Failure and Arrhythmias. *Front Physiol.* 2020;11:1068. doi: 10.3389/FPHYS.2020.01068.
- Beyder A, Rae JL, Bernard C, et al. Mechanosensitivity of Nav1.5, a voltage-sensitive sodium channel. *J Physiol.* 2010;588(24):4969-4985. doi: 10.1113/JPHYSIOL.2010.199034
- Remme CA, Verkerk AO, Hoogaars WMH, et al. The cardiac sodium channel displays differential distribution in the conduction system and transmural heterogeneity in the murine ventricular myocardium. *Basic Res Cardiol.* 2009;104(5):511-522. doi: 10.1007/S00395-009-0012-8/FIGURES/6.
- Vandenberg JJ, Perry MD, Perrin MJ, et al. hERG K⁺ Channels: Structure, Function, and Clinical Significance. *Physiol Rev.* 2012;92(3):1393-1478. doi: 10.1152/PHYSREV.00036.2011.
- Butler A, Helliwell MV, Zhang Y, et al. An Update on the Structure of hERG. *Front Pharmacol.* 2020 Jan 24;10:1572. doi: 10.3389/fphar.2019.01572.
- Wang Z, Fermini B, Nattel S. Sustained depolarization-induced outward current in human atrial myocytes. Evidence for a novel delayed rectifier K⁺ current similar to Kv1.5 cloned channel currents. *Circ Res.* 1993 Dec;73(6):1061-76. doi: 10.1161/01.res.73.6.1061.
- Feng J, Wible B, Li GR, et al. Antisense oligodeoxynucleotides directed against Kv1.5 mRNA specifically inhibit ultrarapid delayed rectifier K⁺ current in cultured adult human atrial myocytes. *Circ Res.* 1997 Apr;80(4):572-9. doi: 10.1161/01.res.80.4.572.

34. Nattel S, Yue L, Wang Z. Cardiac ultrarapid delayed rectifiers: a novel potassium current family of functional similarity and molecular diversity. *Cell Physiol Biochem*. 1999;9(4-5):217-26. doi: 10.1159/000016318.
35. Vos MA. Atrial-specific drugs: the way to treat atrial fibrillation? *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2004 Dec;15(12):1451-2. doi: 10.1046/j.1540-8167.2004.04569.x.
36. Roubille F, Tardif JC. New Therapeutic Targets in Cardiology. *Circulation*. 2013;127(19):1986-1996. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000145.
37. Novella Romanelli M, Sartiani L, Masi A, et al. HCN Channels Modulators: The Need for Selectivity. *Curr Top Med Chem*. 2016;16(16):1764-91. doi: 10.2174/1568026616999160315130832.
38. Fisker FY, Grimm D, Wehland M. Third-Generation Beta-Adrenoceptor Antagonists in the Treatment of Hypertension and Heart Failure. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2015;117(1):5-14. doi: 10.1111/BCPT.12396.
39. Velmurugan BK, Baskaran R, Huang CY. Detailed insight on β -adrenoceptors as therapeutic targets. *Biomed Pharmacother*. 2019;117:109039. doi: 10.1016/J.BIOPHA.2019.109039.
40. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*. 2002;415(6868):198-205. doi: 10.1038/415198a.
41. Van Der Werf C, Kannankeril PJ, Sacher F, et al. Flecainide therapy reduces exercise-induced ventricular arrhythmias in patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(22):2244-2254. doi: 10.1016/J.JACC.2011.01.026.
42. Munguia-Galaviz FJ, Miranda-Diaz AG, Cardenas-Sosa MA, Echavarria R. Sigma-1 Receptor Signaling: In Search of New Therapeutic Alternatives for Cardiovascular and Renal Diseases. *Int J Mol Sci*. 2023;24(3):1997. doi: 10.3390/IJMS24031997.
43. Lewis R, Li J, McCormick PJ, L-H Huang C, Jeevaratnam K. Is the sigma-1 receptor a potential pharmacological target for cardiac pathologies? A systematic review. *Int J Cardiol Heart Vasc*. 2019 Dec 28;26:100449. doi: 10.1016/j.ijcha.2019.100449. Erratum in: *Int J Cardiol Heart Vasc*. 2020 Dec 19;32:100700.
44. Цорин И.Б., Теплов И.Ю., Зинченко В.П., и др. Механизмы антиаритмического действия соединения АЛМ-802. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2022;174(8):179-183. [Tsorin IB, Teplov IYu, Zinchenko VP, et al. Mechanisms underlying the antiarrhythmic action of the compound alm-80. *Bull Exp Biol Med*. 2022;174(8):179-183. (In Russ.)]. doi: 10.47056/0365-9615-2022-174-8-179-183.
45. Кожевникова Л.М., Барчуков В.В., Семенова Н.П., и др. Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия соединения АЛМ-802. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020;179(9):301-305. [Kozhevnikova LM, Barchukov VV, Semenova NP, et al. Study of the molecular mechanisms underlying the cardioprotective action of the compound ALM-802. *Bull Exp Biol Med*. 2020;179(9):301-305. (In Russ.)]. doi: 10.47056/0365-9615-2020-170-9-301-305.
46. Крыжановский С.А., Зинченко В.П., Цорин И.Б., и др. К механизму антиаритмического действия соединения АЛМ-802: роль рианодиновых рецепторов. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2022;174(12):705-709. [Kryzhanovsky SA, Zinchenko VP, Tsorin IB, et al. On the mechanism of antiarrhythmic action of the compound ALM-802: the role of ryanodine receptors. *Bull Exp Biol Med*. 2022;174(12):705-709. (In Russ.)]. doi: 10.47056/0365-9615-2022-174-12-705-709.



Фармакоинформационные, фундаментальные и клинические исследования 7-гидроксиматаирезинола в контексте поиска эффективных и безопасных терапевтических подходов к лечению мастопатии

© Рубашкина А. Н.¹, Торшин И. Ю.², Громова О. А.²

¹ — ФГБОУ ВО «Ивановский государственный медицинский университет» Минздрава России, Иваново, Российская Федерация

² — ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» РАН» (ФИЦ ИУ РАН), Москва, Российская Федерация

Аннотация

7-гидроксиматаирезинол (7(OH)MP) — основной лигнан экстрактов ели, характеризующийся онкопротективными и противовоспалительными свойствами. Результаты хемореактивного моделирования позволили сформулировать молекулярные механизмы осуществления фармакологических эффектов 7(OH)MP для противовоспалительных (ингибирование 5-липоксигеназы, матричной металлопротеиназы MMP2, митоген-активируемой киназы p38-альфа, рецептора лейкотриена b4, рецептора простаглицлина), онкопротективных (антиоксидантный эффект за счёт ингибирования гемоксигеназы-2, ингибирование циклин-зависимых киназ 3 и 4, фактора роста эпидермиса, белка mTOR). Оценка транскриптомных эффектов 7(OH)MP в клетках рака молочной железы показала достоверные дозозависимые эффекты на транскрипцию 3468 из 12700 генов. Молекула 7(OH)MP, снижая экспрессию пролиферативных генов (401 ген) и хроническое воспаление (148 генов), параллельно повышая транскрипцию генов онкопротективного иммунитета (100 генов), тормозит пролиферацию опухолевых клеток. Эксперименты на солидной карциноме Эрлиха показали достоверный онкопротективный эффект 7(OH)MP в дозах 60, 120 мг/сут, даже на фоне приёма эстрогенов ($p = 0,007$). Клиническое исследование показало, что 7(OH)MP (60 мг/сут, 1 мес.) способствует нормализации метаболизма эстрогенов (МЭ) и улучшению клинической симптоматики мастопатии.

Ключевые слова: мастопатия; лигнаны; патогенетическая терапия; фармакоинформатика; протеом человека; транскриптомика

Для цитирования:

Рубашкина А. Н., Торшин И. Ю., Громова О. А. Фармакоинформационные, фундаментальные и клинические исследования 7-гидроксиматаирезинола в контексте поиска эффективных и безопасных терапевтических подходов к лечению мастопатии. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2024;(1):66–76. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-66-76>. EDN: AQCTAJ

Поступила: 20.02.2024. **В доработанном виде:** 01.03.2024. **Принята к печати:** 23.03.2024. **Опубликована:** 31.03.2024.

Pharmacoinformational, basic and clinical studies of 7-hydroxymatairesinol in the context of searching for effective and safe therapeutic approaches to the treatment of mastopathy

© Anna N. Rubashkina¹, Ivan Yu. Torshin², Olga A. Gromova²

¹ — FSBEI HE «Ivanovo State Medical University» of MOH of Russia, Ivanovo, Russian Federation

² — FRC "Computer Science and Control" RAS, Moscow, Russian Federation

Abstract

7-hydroxymatairesinol (7(OH)MR) is the main lignan of spruce extracts, characterized by oncoprotective and anti-inflammatory properties. The results of chemoreactome modeling made it possible to formulate the molecular mechanisms of the pharmacological effects of 7(OH)MR for anti-inflammatory (inhibition of 5-lipoxygenase, matrix metalloproteinase MMP2, mitogen-activated kinase p38-alpha, leukotriene b4 receptor, prostacyclin receptor), oncoprotective (antioxidant effect due to inhibition heme oxygenase-2, inhibition of cyclin-dependent kinases 3 and 4, epidermal growth factor, mTOR protein). An assessment of the transcriptomic effects of 7(OH)MR in breast cancer cells showed significant dose-dependent effects on the transcription of 3468 of 12700 genes. The 7(OH)MR molecule, reducing the expression of proliferative genes (401 genes) and chronic inflammation (148 genes), while simultaneously increasing the transcription of oncoprotective immunity genes (100 genes), inhibits the proliferation of tumor cells. Experiments on solid Ehrlich carcinoma showed a significant oncoprotective effect of 7(OH)MR at doses of 60, 120 mg/day, even while taking estrogen ($p = 0.007$). A clinical study showed that 7(OH)MR (60 mg/day, 1 month) helps normalize estrogen metabolism and improve the clinical symptoms of mastopathy.

Keywords: mastopathy; lignans; pathogenetic therapy; pharmacoinformatics; human proteome; transcriptomics

For citations:

Rubashkina AN, Torshin IYu, Gromova OA. Pharmacoinformational, basic and clinical studies of 7-hydroxymatairesinol in the context of searching for effective and safe therapeutic approaches to the treatment of mastopathy. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2024;(1):66–76. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-66-76>. EDN: AQCTAJ

Received: 20.02.2024. **Revision received:** 01.03.2024. **Accepted:** 23.03.2024. **Published:** 31.03.2024.

Введение / Introduction

7-гидроксиматаирезинол (7(OH)MP) и другие лигнаны растений (матаирезинол, ларициресинол, медиресинол, пинорезинол, сезаминол) проявляют антиоксидантные, противовоспалительные, противомикробные и онкопротективные свойства [1, 2]. Под воздействием кишечной флоры 7-гидроксиматаирезинол трансформируется в энтеролактон, способствующий снижению частоты сосудистых пароксизмов в перименопаузальном периоде [3].

Высокая безопасность применения 7(OH)MP является его важной особенностью. В исследованиях хронической токсичности 7(OH)MP был, по существу, нетоксичным при назначении крысам (2000 мг/кг/сут, 28 сут) и собакам (665 мг/кг/сут, 28 сут), несмотря на то, что 7(OH)MP хорошо всасывается (>50 % дозы) и быстро элиминируется. 7(OH)MP не влияет на репродуктивную функцию и не вызывает тератогенеза [4–6]. Дозы 7(OH)MP до 72 мг/сут в течение 8 недель были безопасными и хорошо переносились пациентками [3].

Результаты исследований (экспериментальных и клинических) указали на перспективность 7(OH)MP как противовоспалительного и онкопротективного средства. Однако молекулярные механизмы осуществления этих и других возможных фармакологических эффектов 7(OH)MP не вполне изучены.

В настоящей работе представлены результаты фармакоинформационных исследований 7-гидроксиматаирезинола: хемореактомного моделирования воздействия 7(OH)MP на протеом в сравнении с контрольными молекулами (молекулами сравнения — 17-эстрадиол, фитоэстроген, бетаситостирол, эпигаллокатехин-3-галлат) и хемотранскриптомного исследования (оценка воздействия на экспрессию генов). Результаты исследований *in silico* подтверждены экспериментальными и клиническими исследованиями.

Материалы и методы / Materials and methods

Настоящее исследование включило изучение 7(OH)MP *in silico* (хемореактомный и хемотранскриптомный анализ), *in vivo* (изучение модели карциномы Эрлиха) и *in clinico* (сбор и анализ данных пациенток с мастопатией).

Хемореактомный анализ / Chemoreactomic analysis

Анализ 7(OH)MP проведён на основе хемоинформационного подхода (сопоставление химической структуры молекулы-запроса с неизвестными фармакологическими свойствами со структурами молекул в базе данных, для которых свойства были изучены). Хемореактомный анализ основан на новейших технологиях машинного обучения (МО): комбинаторной

теории разрешимости и топологической теории распознавания [7–10]. Объектами исследования являются *хемографы* — особая разновидность графа (математического объекта, совокупности множества вершин и множества рёбер) [11]. На основании фундаментальных теоретических результатов (теорема о полноте инварианта и критериях разрешимости/регулярности) и комбинаторное тестирование локальной полноты) определяется метрическое расстояние $d_x(X_1, X_2)$ между хемографами X_1, X_2 , которое используется для решения задачи поиска молекул, структурно схожих с 7(OH)MP. На основании списка схожих молекул осуществляется прогноз фармакологической активности.

Хемотранскриптомный анализ / Chemotranscriptome analysis

Нами был выполнен хемотранскриптомный анализ. Результаты транскриптомных экспериментов в базе данных GEO (Gene Expression Omnibus, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) представлены в виде таблиц, столбцам которой соответствуют гены, а строкам соответствующие воздействия на клетку (например, те или иные молекулы). При задании (1) типа клеток (например, фибробласты), (2) концентрации и (3) времени воздействия каждый столбец такой таблицы соответствует химической реакции «Ген_{*i*} → мРНК_{*k*}», в результате которой осуществляется синтез *i*-й молекулы мРНК_{*k*}, соответствующей *i*-му гену (Ген_{*i*}). Расстояние d_x является настраиваемой метрикой, т. к. содержит произвольно настраиваемые параметры — массы ω_k . По этим данным настраиваются расстояния $d_x(X_1, X_2)$ между хемографами, на основании которых затем и оцениваются изменения экспрессии каждого *i*-го гена. Более детальное описание методологии хемотранскриптомного анализа представлено в работе [12]. Списки генов с достоверным повышением или снижением экспрессии генов, которые были получены в результате применения хемотранскриптомного подхода, анализировались посредством метода функционального связывания [13, 14].

Экспериментальные исследования 7(OH)MP на модели карциномы Эрлиха / Experimental studies 7(OH)MP on the Ehrlich carcinoma model

Детальное описание методологии приведено в работе [15]. Исследования проведены в 5 группах неродственно скрещиваемых мышей ($n = 15$ в каждой группе) со свободным доступом к воде и корму. Трансплантацию солидной карциномы Эрлиха (СКЭ) проводили подкожным введением $2,5 \cdot 10^6$ опухолевых клеток в 0,1 мл суспензии в область латеральной поверхности правого бедра. Группа 1: с 7 по 21-е сутки роста СКЭ ежедневно однократно внутривенно (в/ж) вводили 60 мг/кг 7(OH)MP. Группа 2: с 7 по 21-е сутки роста СКЭ ежедневно однократно в/ж вводили 7(OH)MP в дозе 120 мг/кг. Группа 3: на 5-е и 6-е сутки роста СКЭ вводили эстрадиол (0,51 мг/кг

Прогинова с добавлением TWIN 80, однократно в/ж), с 7 по 21-е сутки эстрадиол (0,51 мг/кг) и через 30 минут 120 мг/кг 7(OH)MP. Группа 4: с 7 по 21-е сутки однократно вводили эстрадиол (0,51 мг/кг). Группа 5: контроль, только модель СКЭ. Опухоли измеряли калипером, объём рассчитывали стандартно по формуле $V = (L \times W^2) \times (\pi/6)$. Строили кривые выживаемости Каплана–Мейера; оценки значимости проводили критерием Колмогорова–Смирнова, кривых выживаемости — по F-критерию Кокса. Расчёты выполнены с помощью программного пакета Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США) и электронных таблиц Microsoft Excel.

Клиническое исследование эффектов 7(OH)MP у пациенток с мастопатией / Clinical study of the effects of 7(OH)MP in patients with mastopathy

В исследование включены пациентки с фиброзно-кистозной мастопатией (ФКМ, $n = 60$, $53 \pm 0,8$ лет) и контрольная группа участниц без патологии молочной железы ($n = 30$, $57 \pm 0,5$ лет). У каждой из участниц измерены метаболиты эстрогенов (16а-гидроксиэстроген-1, 2-гидроксиэстроген-2, 2-гидроксиэстроген-1, 2-оксометилэстроген-1, 4-оксометилэстроген-2, 4-гидроксиэстроген-1, соотношение 2-гидроксиэстроген-1/16а-гидроксиэстроген-1, 2-гидроксиэстроген-1/2-оксометилэстроген-1 и 4-оксометилэстроген-1/4-оксометилэстроген-1) в суточной моче с использованием иммуноферментного анализа. Пациентки получали 7(OH)MP (60 мг/сут, 1 мес.) в составе комплексной терапии. Сравнение прогнозируемых и наблюдаемых частот встречаемости исследуемых признаков проводилось с помощью критерия χ -квадрат, Т-критерия Вилкоксона–Манна–Уитни и теста Стьюдента. Использовалась прикладная программа STATISTICA 10.0 и электронные таблицы Microsoft Excel. Использованы новые математические подходы для установления интервалов информативных значений численных параметров, нахождение метрических сгущений в пространстве параметров биомедицинского исследования [16] и построения метрических карт [17].

Результаты / Results

Фармакоинформационные исследования включили хемореактомное моделирование эффектов действия 7(OH)MP на протеом и хемотранскриптомный анализ молекулы. Результаты подтверждены экспериментальными и клиническими исследованиями.

Хемореактомный анализ 7(OH)MP / Chemoreactomic analysis of 7(OH)MP

Хемореактомный анализ молекулы 7-гидроксима-таирезинола был проведён нами ранее. Хемореактомные оценки свойств молекулы 7(OH)MP сравнили с оценками для 17-эстрадиола, фитоэстрогена, бетаситостирола и эпигаллокатехин-3-галлата позволили сформулировать молекулярные механизмы противовоспалительных (ингибирование 5-липоксигеназы, матричной металлопротеиназы MMP2, митоген-активируемой киназы p38-альфа, рецептора лейкотриена b4, рецептора простаглицлина), онкопротективных (антиоксидантный эффект за счёт ингибирования гемоксигеназы-2, ингибирование циклин-зависимых киназ 3 и 4, фактора роста эпидермиса, белка mTOR), вазодилаторных (ингибирование адренорецепторов и ренина), а также антибактериальных и противовирусных свойств молекулы 7(OH)MP. Рассмотрим противовоспалительные и онкопротективные эффекты [11].

Хемореактомное моделирование: противовоспалительные свойства 7(OH)MP / Chemoreactomic modeling: anti-inflammatory properties of 7(OH)MP

Результаты хемореактомного моделирования (ХМ) указали на *противовоспалительные эффекты 7(OH)MP*, обусловленные ингибированием окисления арахидоновой кислоты 5-липоксигеназой, матричной MMP2 и MAPK14 (рис. 1). Значение константы ингибирования 5-липоксигеназы было в несколько раз ниже для 7(OH)MP ($IC_{50} = 213 \pm 169$ нМ), чем для молекул сравнения ($IC_{50} = 608...887$ нМ). Ингибирование синтеза провоспалительных простагландинов в каскаде арахидоновой кислоты неизбежно сопровождается снижением отёка в каррагинановой модели (7(OH)MP — на 56 %, контроль: 6,4...37 %)

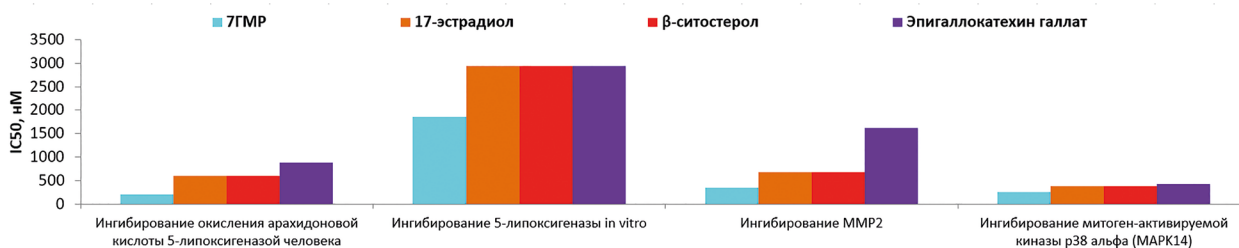


Рис. 1. Результаты хемореактомного моделирования противовоспалительных эффектов 7(OH)MP молекул сравнения

Fig. 1. Results of chemoreactomic modeling of anti-inflammatory effects 7(OH)MP of comparison molecules

Для 7(ОН)МР характерно ингибирование киназы МАРК14 ($IC_{50} = 261 \pm 292$ нМ, контрольные молекулы — 376...425 нМ). Известно, что МАР-киназы 11, 12, 13 и 14 участвуют в передаче сигнала от провоспалительных цитокинов, так что ингибиторы этих киназ — противовоспалительные средства [11].

Фармакопротеомное моделирование (т. е. хемореактомные оценки взаимодействий молекул с белками протеома) показало, что 7(ОН)МР может связываться с рецептором лейкотриена b4 (LTB4R, противовоспалительное действие), рецептором простаглицина (PTGIR, противовоспалительное и вазодилаторное

действие), прооксидантным ферментом гемоксигеназой-2. Высокие значения вероятности ингибирования были получены для циклин-зависимой киназы CDK3 (онкопротективное действие) и киназы МАР3К2 (онкопротективное действие, рис. 2А) [11]. На рис. 2Б приведены примеры сравнительных оценок различных фармакологических активностей 7(ОН)МР, связанных с ингибированием перечисленных выше белков.

Противовоспалительные эффекты 7(ОН)МР могут способствовать увеличению продолжительности жизни модельных животных. На рис. 2В приведены хемореактомные оценки эффектов воздействия молекул

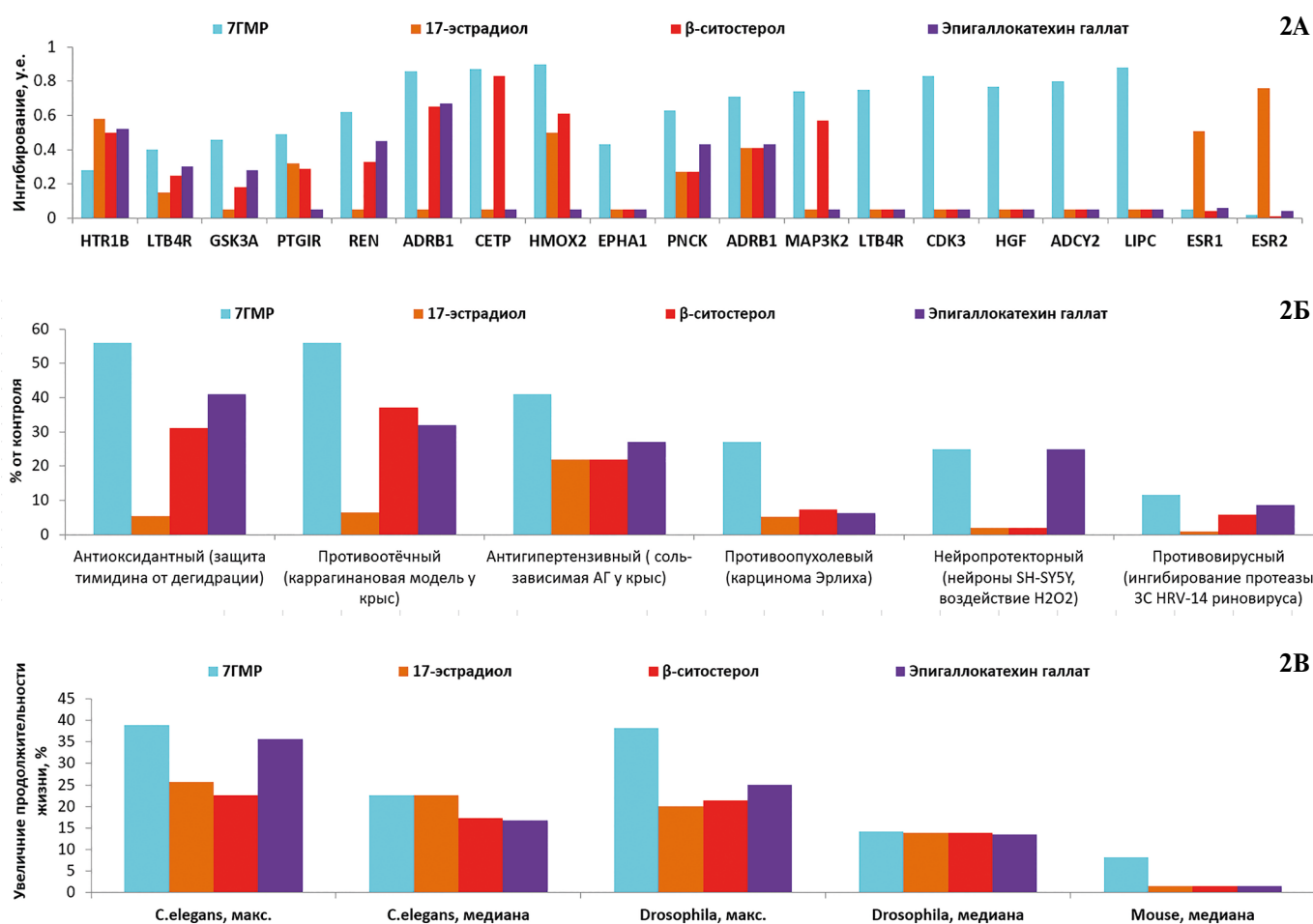


Рис. 2. Фармакопротеомное моделирование 7(ОН)МР (оценки вероятности связывания различных белков протеома. А) Приведены оценки вероятностей связывания отдельных белков. Б) Примеры оценок фармакологических эффектов 7(ОН)МР и других молекул. Указаны значения эффекта в процентах от контрольного эксперимента. В) Воздействие на продолжительность жизни

Fig. 2. Pharmacoproteomic modeling 7(OH)MR (estimates of the probability of binding of various proteins of the proteome. А) Estimates of the probabilities of binding of individual proteins are given. Б) Examples of assessments of pharmacological effects 7(OH)MR and other molecules. The effect values are indicated as a percentage of the control experiment. В) Impact on life expectancy

Обозначения: HTR1B, 5-гидрокситриптаминный рецептор-1b; LTB4R, Рецептор лейкотриена b4; GSK3A, Гликогенсинтетаза киназа-3 альфа; PTGIR, Рецептор простаглицина; REN, Ренин; ADRB1, Бета-1 адренергический рецептор; CETP, Белок-транспортёр холестерина эфиров; HMOX2, Гемоксигеназа-2; EPHA1, Эфринный рецептор-1; PNCK, Са-кальмодулин протеинкиназа 1b; ADRB1, Бета-1 адренергический рецептор; MAP3K2, Митоген-активированная протеинкиназа 2; LTB4R, Рецептор лейкотриена b4; CDK3, Циклинзависимая киназа 3.

Designations: HTR1B, 5-hydroxytryptamine receptor-1b; LTB4R, Leukotriene receptor b4; GSK3A, Glycogen Synthetase kinase-3 alpha; PTGIR, Prostacyclin receptor; REN, Renin; ADRB1, Beta-1 adrenergic receptor; CETP, Cholesterol ester transporter protein; HMOX2, Hemoxigenase-2; EPHA1, Ephrine the receptor-1; PNCK, Ca-calmodulin protein kinase 1b; ADRB1, Beta-1 adrenergic receptor; MAP3K2, Mitogen-activated protein kinase 2; LTB4R, Leukotriene receptor b4; CDK3, Cyclin-dependent kinase 3.

на продолжительность жизни червей *C. Elegans*, мух дрозофил и мышей. Очевидно, что среди исследованных молекул именно 7(OH)MP (в меньшей степени, эпигаллокатехин галлат) способствовал увеличению максимальной продолжительности жизни у *C. Elegans* и дрозофил. Только 7(OH)MP способствовал существенному увеличению медианной продолжительности жизни у мышей (+8 %).

Таким образом, ХМ указало на противовоспалительную активность 7(OH)MP, осуществляемую по различным молекулярным механизмам. Экспериментальные исследования подтверждают этот результат. В моноцитах 7(OH)MP дозозависимо ингибировал синтез/секрецию ФНО α , а в гранулоцитах — снижал уровни активных форм кислорода и провоспалительного интерлейкина IL-8 [18]. 7(OH)MP приводил к снижению ФНО α -индуцированной адгезии моноцитов к эндотелиоцитам сосудов, снижению активации NF-kB [19]. 7(OH)MP дозозависимо тормозил ФНО α -индуцированное фосфорилирование внеклеточной сигнально-регулируемой киназы 1/2 ERK (MAPK) и Akt, что важно для торможения роста опухолевых клеток (ОК) [2], повышал экспрессию ферментов антиоксидантной защиты [20].

Хемореактомное моделирование: онкопротективные эффекты 7(OH)MP / Chemoreactomic modeling: oncoprotective effects of 7(OH)MR

ХМ подтвердило наличие у молекул 7(OH)MP *прямых онкопротективных эффектов* и позволило установить наиболее вероятные молекулярные механизмы осуществления этих эффектов (рис. 3). Моделирование показало более выраженный про-апоптотический эффект в ОК HCT116 (колоректальный рак, EC₅₀ = 59 нМ, контроль: EC₅₀ = 972...1735), K562 (лейкемия миелоидная, увеличение апоптоза на 44 %, контроль: 13...36 %), антиангиогенную активность (7(OH)MP — 65 %, контроль: 5...6 %) и торможение роста опухолей у мышей с СКЭ (на 27±15 %, контроль: 5...7 %)[11].

Хемореактомный анализ (ХА) показал, что 7(OH)MP может ингибировать циклин-зависимую киназу CDK4 (Ki = 1427 нМ, остальные: >3000 нМ), рецептор фактора роста эпидермиса (EGFR, IC₅₀ = 244 нМ, остальные:

255...477 нМ), белка mTOR (IC₅₀ = 632 нМ, остальные: >2000 нМ)[11]. Ингибиторы CDK4 используются в терапии опухолей [21]. Ингибиторы EGFR используются в терапии рака лёгких и прямой кишки [22]. Ингибиторы mTOR — группа онкопротективных средств, также проявляющих антигиперинсулинемические, противовоспалительные и геропротекторные свойства [23]. Таким образом, ХА указывает на выраженные онкопротективные эффекты 7(OH)MP.

Хемотранскриптомный анализ и долговременные механизмы осуществления онкопротективных эффектов 7(OH)MP / Chemotranscriptome analysis and long-term mechanisms of oncoprotective effects 7(OH)MR

ХА указал на возможные онкопротективные эффекты 7(OH)MP, связанные с ингибированием белков протеома. Установление эффектов онкопротективных средств на транскриптом (т. е. совокупность мРНК всех генов, экспрессируемых в заданном типе клеток) — важная процедура постгеномной фармакологии, необходимая для комплексной оценки желательных и нежелательных эффектов лекарств. Важной особенностью действия молекул-кандидатов на транскриптом является долговременность формируемых таким образом эффектов.

В результате проведения хемотранскриптомного анализа 7(OH)MP влияние на экспрессию генов в клетках опухоли МЖ (линия MCF7) было найдено для 27 % изученных генов (3468/12700). Лигнан 7(OH)MP снижал экспрессию пролиферативных генов ($n = 401$), синтез и деградацию белка ($n = 266$), энергетический метаболизм опухолевых клеток ($n = 91$) и хроническое воспаление ($n = 148$), повышая экспрессию генов онкопротективного иммунитета ($n = 100$). Примеры функциональных групп генов, транскрипция которых достоверно изменялась приведены на рис. 4.

Установленные изменения транскрипции важны для: (1) снижения интенсивности внутриклеточного гомеостаза белков (что косвенно снижает синтез АТФ), (2) прямого снижения обеспеченности опухолевых клеток АТФ (снижение транскрипции генов, функционирующих в митохондриях), (3) ингибирования генов, непосредственно вовлечённых в пролиферацию

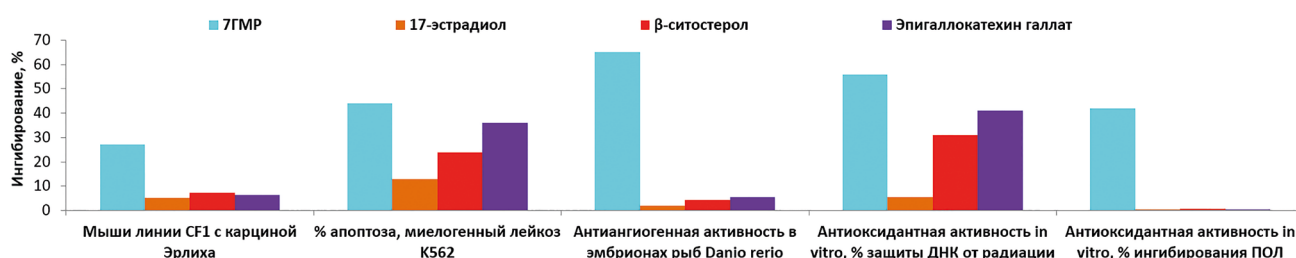


Рис. 3. Результаты хемореактомного моделирования онкопротективных эффектов 7(OH)MP

Fig. 3. Results of chemoreactomic modeling of oncoprotective effects of 7(OH)MR

Сокращение: ПОЛ — перекисное окисление липидов.

Abbreviation: ПОЛ — lipid peroxidation.

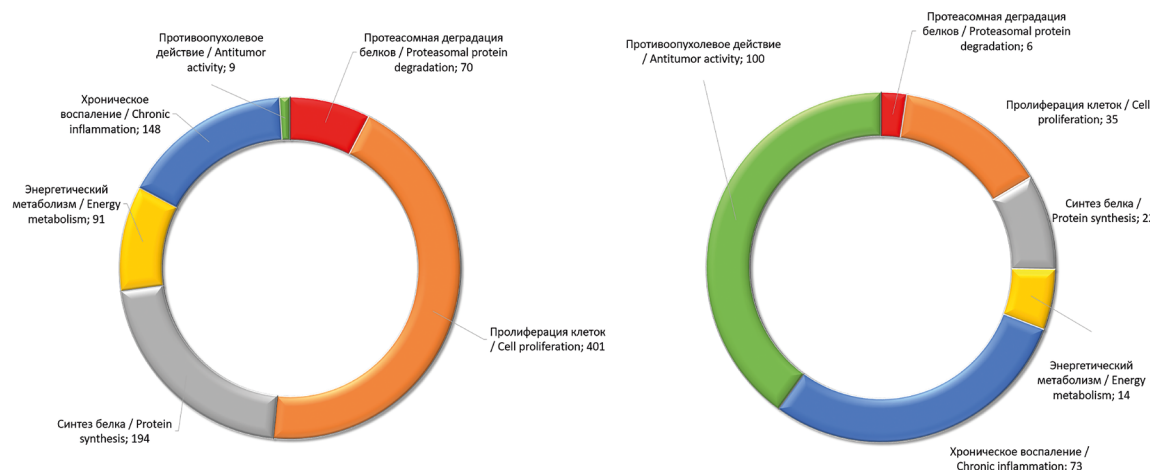


Рис. 4. Процентные соотношения встречаемости функциональных групп генов со сниженной (слева) и с повышенной (справа) транскрипцией при воздействии 7(ОН)МР на онкоклетки линии MCF7 (по результатам хемотранскриптомного анализа)

Fig. 4. Percentages of occurrence of functional groups of genes with reduced (left) and increased (right) transcription when exposed to 7 (OH)MR for MCF7 cancer cells (based on the results of chemotranscriptome analysis)

(поддержание теломер, ремонт и репликация ДНК, деление клеток), (4) ингибирования каскада NF- κ B посредством предотвращения деградации белка I κ B, ингибирующего NF- κ B, (5) повышения транскрипции онкопротективных генов. К белкам, кодируемым онкопротективными генами, относятся, в частности, интерферон-гамма (стимулирует апоптоз опухолевых клеток), ферменты биосинтеза тиреоидных гормонов (ингибируют рост онкоклеток линии MCF7) [24], рецепторные системы онкопротективных витаминов А, D и С (стимулирует апоптоз опухолевых клеток MCF7 [25]) и др.

В эксперименте онкопротективный эффект 7(ОН)МР наблюдался в дозе 5 мг/кг/сут [26]. Показано, что 7(ОН)МР и его метаболит энтеролактон уменьшают рост и метастазирование опухолей печени [27], предстательной железы [28], матки [29] и аденоматозной полипозной кишечной неоплазии [30]. Приём 30 мг/кг/сут 7(ОН)МР ингибировал рост опухолей МЖ у крыс. 7(ОН)МР уменьшал образование полипов и предотвращал накопление бета-катенина в ядре (патологическая метка образования полипов) [2, 30].

Нами было проведено экспериментальное исследование, показавшее, что 7(ОН)МР в дозах 60 и 120 мг/сут тормозит рост СКЭ даже при провокации эстрадиолом. Онкопротективный эффект 7(ОН)МР был наиболее выражен при использовании более высокой дозы (120 мг/сут): на 21-е сутки объём опухолевого узла (ОУ) снижался, в среднем, на 620 мм³ по сравнению с контролем ($p = 0,00036$). Анализ динамики ОУ показал, что применение 7(ОН)МР тормозило скорость роста опухолей (рис. 5А, Б). Приём 120 мг/сут 7(ОН)МР достоверно тормозил интенсивность роста ОУ на фоне приёма эстрогенов [11] (рис. 5В, Г). Различия

были статистически достоверны на 10-е, 13-е, 17-е и 21-е сутки.

Анализ выживаемости мышей при приёме 7(ОН)МР показал, что у единичных особей, получавших 7(ОН)МР, отмечалось существенное повышение продолжительности жизни (рис. 6). Два из 14 животных, получавших 120 мг/сут 7(ОН)МР на фоне приёма эстрадиола, выжили в течение 3 мес. после начала эксперимента. В контроле все животные погибли через 90 суток от начала эксперимента. Данный результат интересно сопоставить с результатами ХА, указавшим на выраженный эффект 7(ОН)МР на увеличение продолжительности жизни модельных животных (рис. 3В). Таким образом, препарат 7(ОН)МР в дозах 60 и 120 мг/кг/сут оказывает достоверное онкопротективное воздействие на рост СКЭ.

О роли 7(ОН)МР в модуляции метаболизма эстрогенов и терапии мастопатии / About Role 7(HE)MR in the modulation of estrogen metabolism and mastopathy therapy

Хемореактомный и хемотранскриптомный анализы, подтвержденные результатами экспериментальных исследований, показали перспективность клинических применений 7(ОН)МР у пациенток с предраковым состоянием — ФКМ. Исследование пациенток с ФКМ показало, что 7(ОН)МР в дозе 60 мг/сут (длительность курсового приёма 1 мес.) способствовал нормализации метаболизма эстрогенов и улучшению клинической симптоматики ФКМ. В ходе проведения исследования была собрана информация о возрасте, анамнезе, уровнях различных МЭ, до и после приёма 7(ОН)МР. В результате приёма 7(ОН)МР были отмечены комплексные изменения концентраций

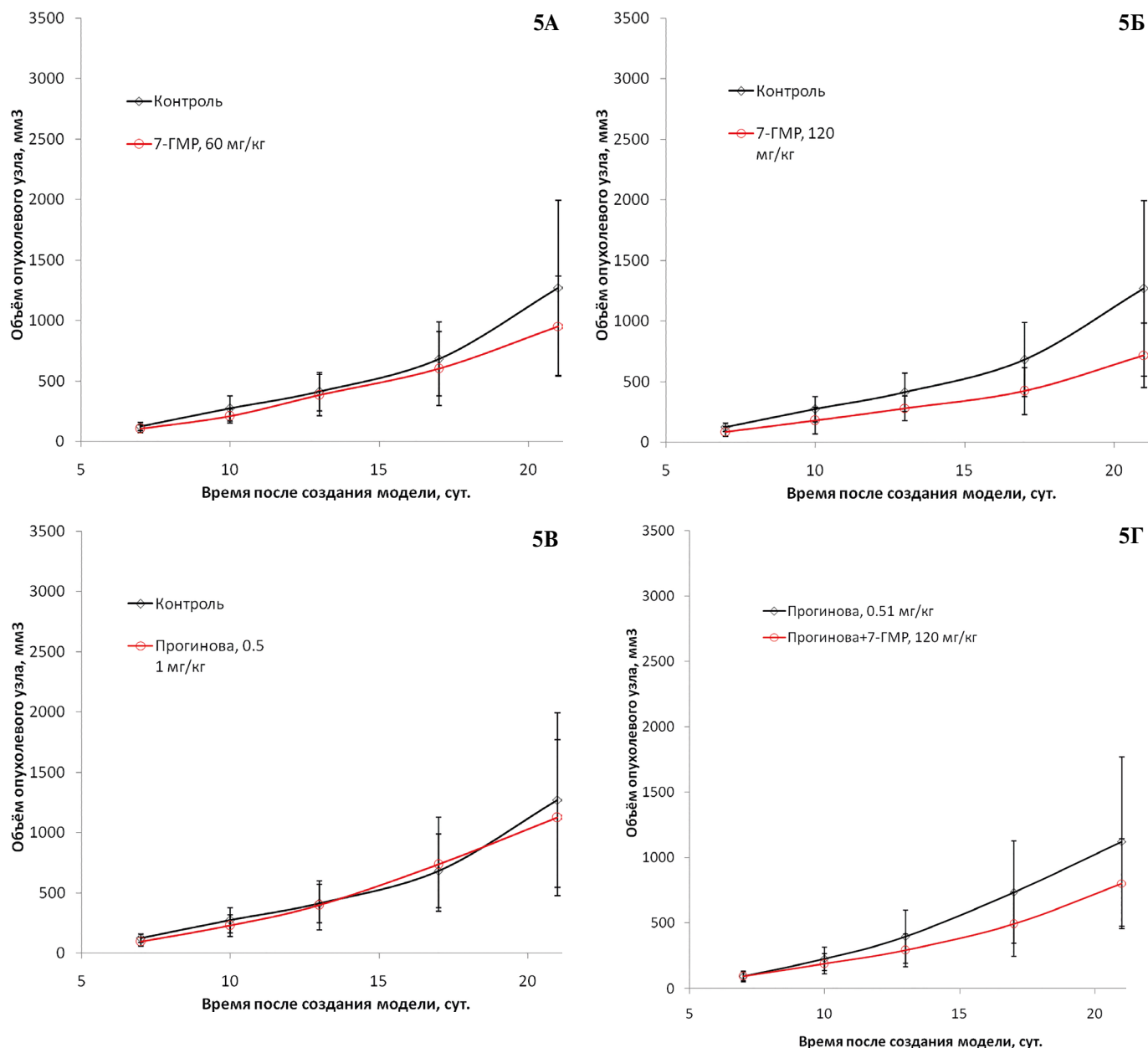


Рис. 5. Динамика роста среднего объёма опухолевого узла (усреднённые кривые) при воздействии 7(ОН)МР. А) 60 мг/кг. Б) 120 мг/кг 7(ОН)МР. В) на фоне приёма эстрогена (Прогинова, 0,51 мг/кг). Г) Эстрогены + 120 мг/кг 7(ОН)МР. **Fig. 5.** Dynamics of growth of the average volume of the tumor node (averaged curves) under the influence of 7 (OH)MR. А) 60 mg/kg. Б) 120 mg/kg 7(ОН)MR. В) against the background of taking estrogen (Proginova, 0.51 mg / kg). Г) Estrogens + 120 mg/kg

МЭ в суточной моче. Для представления динамики этих изменений в целом мы построили метрические карты, точки которых соответствуют определённым МЭ [31] (рис. 7).

В результате анализа метрических диаграмм на день «0» и день «30» очевидно, что комплексным изменениям уровней МЭ соответствовало «центростремительное» движение точек, обозначающих отдельные метаболиты, в область центрального кластера [31]. Другими словами, на день «0» значения параметров,

соответствующих точкам на диаграмме (уровни различных метаболитов эстрогенов), были достаточно хаотично распределены на плоскости, что указывает на слабые корреляции между этими параметрами и, соответственно, на нарушения эстрогенового метаболизма. В результате лечения 7(ОН)МР точки-параметры в некотором роде «концентрировались» в центре диаграммы, формируя кластер высокоррелирующих между собой параметров (рис. 7Б). Таким образом, 7(ОН)МР способствовал повышению координации

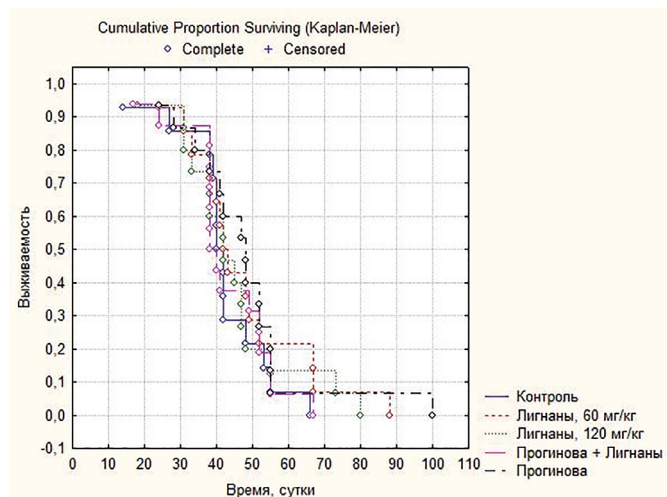
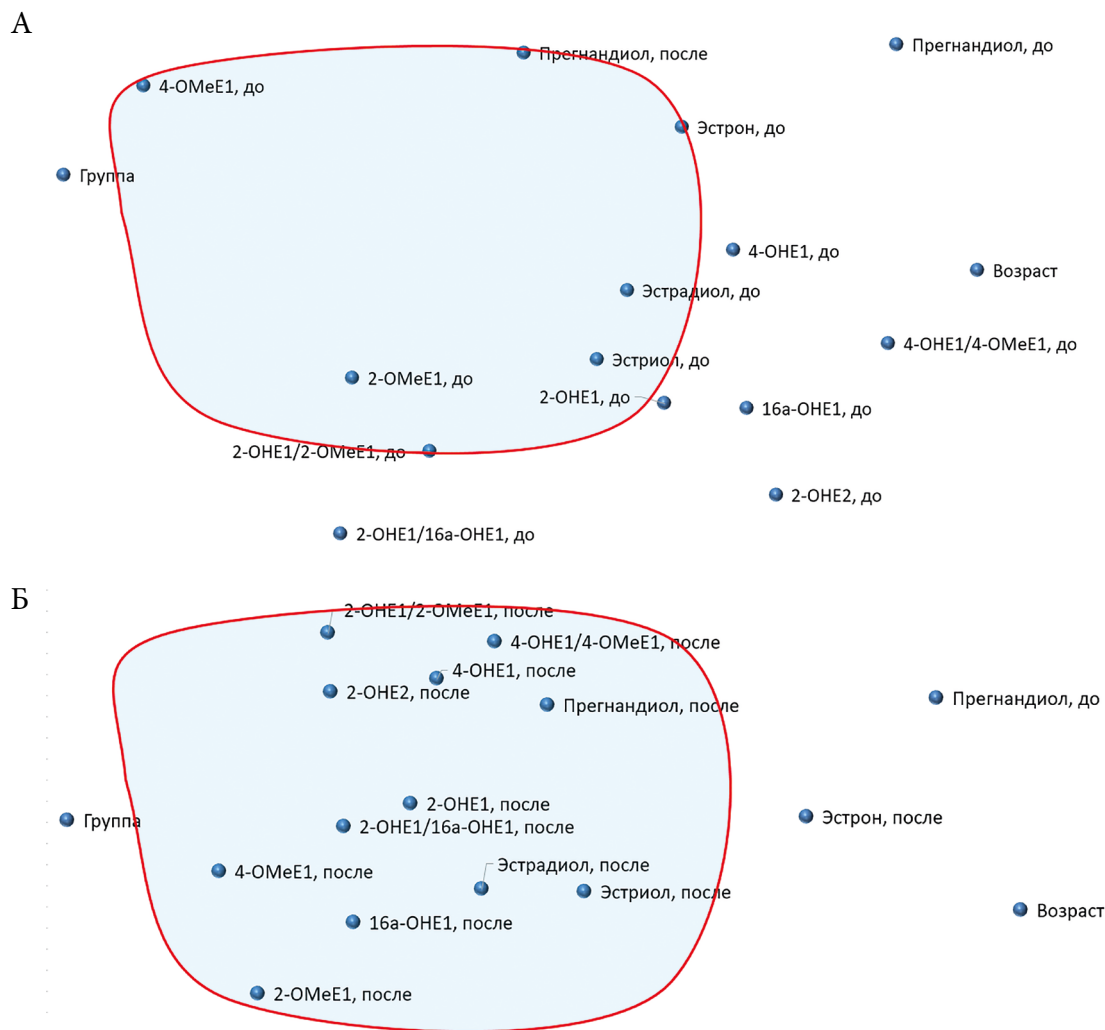


Рис. 6. Диаграммы выживаемости Каплана–Мейера мышей-опухоленосителей в экспериментальных группах
Fig. 6. Kaplan-Meier survival diagrams of tumor-bearing mice in experimental groups

метаболизма эстрогенов и, как следствие, гармонизации метаболизма эстрогенов.

По результатам ХА, молекула 7(ОН)МР способствовала повышению транскрипции генов LATS1 (негативный регулятор сигнального пути Hippo, ограничивающий пролиферацию клеток и стимулирующий регенерацию рецептора эстрогенов ESR1 [33]), NR2C2 и SAFB2 (ко-репрессоры рецепторов эстрогенов [34]), BCAR3 (адаптерный белок, снижающий пролиферацию клеток при РМЖ за счёт анти-эстрогенового действия [35]). Описанные изменения транскрипции соответствуют усилению контроля МЭ и усилению корреляций между уровнями различных МЭ [31] (на что и указывает «центробежное» движение точек на диаграмме на рис. 7).

В результате применения 7(ОН)МР ранее, нами было выявлено снижение содержания $C_{18}H_{24}O_2$ (исх. $14,05 \pm 4,5$ мкг/сут.; после приёма 7(ОН)МР — $1,57 \pm 0,1$ мкг/сут.; контроль — $2,91 \pm 0,9$ мкг/сут.; $p_{\text{исх.}-\text{после.леч.}} < 0,05$), $C_{18}H_{22}O_2$ (исх. — $13,59 \pm 3,01$ мкг/сут.;



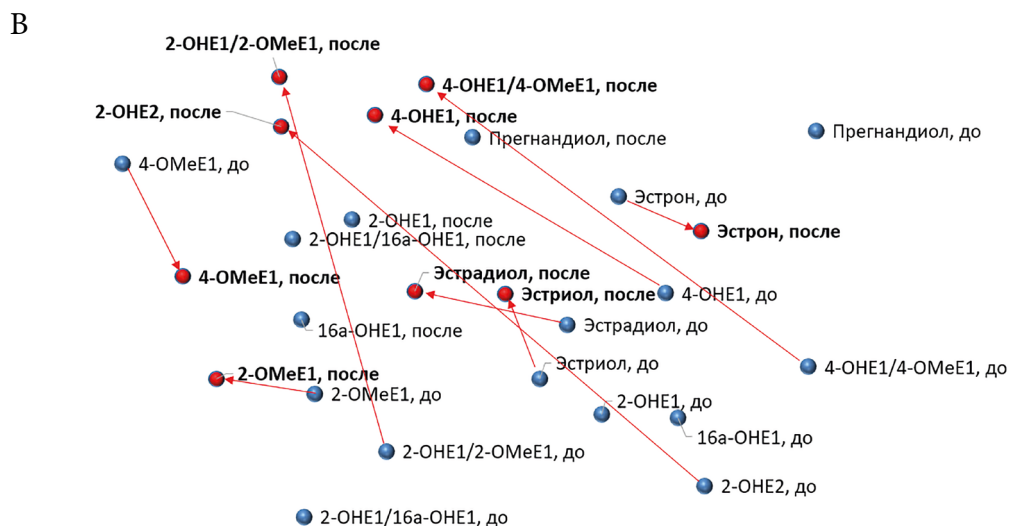


Рис. 7. Метрическая карта взаимодействий комплексных изменений концентраций МЭ в динамике лечения пациенток с ФКМ. Расстояние между любой парой точек на диаграмме соответствует степени «взаимодействия» показателей: чем ближе точки, тем сильнее взаимодействуют (коррелируют) соответствующие показатели. Выделен кластер, соответствующий корреляциям концентраций МЭ. А) Метрическая диаграмма, день «0»; Б) Метрическая диаграмма, день «30»; В) Динамика перемещения точек, соответствующих различным метаболитам эстрогенов. Стрелками отмечены статистически достоверные изменения показателей МЭ

Fig. 7. Metric map of interactions of complex changes in ME concentrations in the dynamics of treatment of patients with FCM. The distance between any pair of points on the diagram corresponds to the degree of "interaction" of the indicators: the closer the points are, the more strongly they interact (correlate) relevant indicators. A cluster corresponding to correlations of ME concentrations has been identified. A) Metric chart, day "0"; Б) Metric chart, day "30"; В) Dynamics of movement of points corresponding to different metabolites of estrogens. The arrows indicate statistically significant changes in ME indicators

после приёма Л. — $2,37 \pm 0,01$ мкг/сут.; контроль — $2,23 \pm 0,75$ мкг/сут.; $p_{\text{исх.-после}} < 0,05$) и $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$ в суточной моче (исх. — $13,58 \pm 2,58$ мкг/сут.; после леч. — $3,17 \pm 0,35$ мкг/сут.; контроль — $6,48 \pm 0,04$ мкг/сут.; $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$; $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$) в группе пациенток с ФКМ [31].

С клинической точки зрения, применение 7(OH)MP в группе пациенток с ФКМ приводил к снижению (а) болевых ощущений в МЖ, (б) повышенной чувствительности кожи, (в) нагрубания и отёчности МЖ. Эти изменения соответствуют установленному снижению избыточной эстрогенной активности, подтверждённому результатами измерения МЭ в суточной моче пациенток [31].

Закключение / Conclusion

Онкопротективные и противовоспалительные свойства 7-гидроксиматаирезинола, специфического лигнана ели обыкновенной, указывают на перспективность использования 7(OH)MP в клинической практике онколога и гинеколога. Хемоинформационный анализ 7(OH)MP показал, что схожие с 7(OH)MP

молекулы характеризуются онкопротективным, антибактериальным, противовирусным, гепатопротекторным, противовоспалительным, вазодилатирующим, гиполипидемическим, антитромботическим, антиоксидантным, противодиабетическим и нейропротекторным эффектами [11]. Хемотранскриптомный анализ 7(OH)MP в опухолевых клетках рака молочной железы (MCF7) указал на снижение транскрипции генов пролиферации, синтеза и протеасомной деградации белков, энергетического метаболизма и воспаления, при повышении экспрессии онкопротективных генов. Экспериментальные исследования 7(OH)MP показали достоверное снижение объёма опухолевого узла, даже при провокации эстрадиолом ($p = 0,007$) и повышение продолжительности жизни мышей (более 3 мес.). Лигнан 7(OH)MP, влияя на профиль МЭ, способствует снижению опухолевых рисков, связанных с гиперэстрогенией при мастопатии. Таким образом, 7(OH)MP является перспективной молекулой-кандидатом для лечения фиброзно-кистозной мастопатии и профилактики рака молочной железы, особенно в климактерическом периоде.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов

Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи..

Финансирование

Работа выполнена по гранту Российского научного фонда (проект №23-21-00154).

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' participation

The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Financing

This work was supported by a grant from the Russian Science Foundation (project No23-21-00154).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Рубашкина Анна Николаевна

аспирант ФГБОУ ВО Ивановский ГМУ
Минздрава России, Иваново, Российская
Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9639-2525>

Anna N. Rubashkina

graduate student of the FSBEI HE «Ivanovo SMU»
of MOH of Russia, Ivanovo, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9639-2525>

Торшин Иван Юрьевич

к. ф-м. н., к. х. н., в. н. с. ФИЦ ИУ РАН, Москва,
Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>
РИНЦ SPIN-код: 1375-1114

Ivan Yu. Torshin

PhD, Cand. Physico-Mathematical Sci., Cand.
Chemical Sci., Leading researcher FRC CSC RAS,
Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>
RSCI SPIN code: 1375-1114

Громова Ольга Алексеевна

Автор, ответственный за переписку
д. м. н, профессор, в. н. с. ФИЦ ИУ РАН, Москва,
Российская Федерация
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>
РИНЦ SPIN-код: 6317-9833

Olga A. Gromova

Corresponding author
Dr. Sci. (Med.), Professor, Leading researcher FRC
CSC RAS, Moscow, Russian Federation
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>
RSCI SPIN code: 6317-9833

Список литературы / References

1. Gerstenmeyer E, Reimer S, Berghofer E, et al. Effect of thermal heating on some lignans in flax seeds, sesame seeds and rye. *Food Chem.* 2013 Jun 1;138(2-3):1847-55. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.117.
2. Громова О.А., Торшин И.Ю., Рубашкина А.Н., и др. Систематический анализ фундаментальных и клинических исследований лигнана 7-гидроксиматаирезинола. *Эффективная фармакотерапия.* 2019;15(13):34-41. [Gromova OA, Torshin IYu, Rubashkina AN, et al. Systematic Analysis of Fundamental and Clinical Studies of Lignan 7-Hydroxymatairesinol. *Effective pharmacotherapy.* 2019;15(13):34-41. (In Russ.)]. doi: 10.33978/2307-3586-2019-15-13-34-41.
3. Udani JK, Brown DJ, Tan MO, Hardy M. Pharmacokinetics and bioavailability of plant lignan 7-hydroxymatairesinol and effects on serum enterolactone and clinical symptoms in postmenopausal women: a single-

blinded, parallel, dose-comparison study. *J Am Coll Nutr.* 2013;32(6):428-35. doi: 10.1080/07315724.2013.849578.

4. Lina B, Korte H, Nyman L, Unkila M. A thirteen week dietary toxicity study with 7-hydroxymatairesinol potassium acetate (HMRlignan) in rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2005 Feb;41(1):28-38. doi: 10.1016/j.yrtph.2004.09.001.

5. Wolterbeek AP, Roberts A, Korte H, et al. Prenatal developmental toxicity study with 7-hydroxymatairesinol potassium acetate (HMRlignan) in rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2004 Aug;40(1):1-8. doi: 10.1016/j.yrtph.2004.04.001.

6. Saarinen NM, Wärrä A, Mäkelä SI, et al. Hydroxymatairesinol, a novel enterolactone precursor with antitumor properties from coniferous tree (*Picea abies*). *Nutr Cancer.* 2000;36(2):207-16. doi: 10.1207/S15327914NC3602_10.

7. Журавлёв Ю.И., Рудаков К.В., Торшин И.Ю. Алгебраические критерии локальной разрешимости и регулярности как инструмент

исследования морфологии аминокислотных последовательностей. *Труды МФТИ*. 2011;3(4):67-76. [Zhuravlev YuI, Rudakov KV, Torshin IYu. Algebraic criteria of local solvability and regularity as a tool for studying the morphology of amino acid sequences. *Proceedings of MIPT*. 2011;3(4):67-76. (In Russ.)].

8. Torshin IYu, Rudakov KV. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs. Part 1: fundamentals of modern chemical bonding theory and the concept of the chemograph. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2014;24(1):11-23. doi: 10.1134/S1054661814010209.

9. Torshin IYu. On solvability, regularity, and locality of the problem of genome annotation. *Pattern Recognition and Image Analysis*. 2010;20(3):386-395. doi: 10.1134/S1054661810030156.

10. Торшин И.Ю., Громова О.А. Экспертный анализ данных в молекулярной фармакологии. М.: МЦНМО, 2012. 747 с. [Torshin IYu, Gromova OA. Expert data analysis in molecular pharmacology. Moscow: Ed. MCNMO, 2012. (In Russ.)]. ISBN 978-5-4439-0051-3.

11. Торшин И.Ю., Рубашкина А.Н., Лапочкина Н.П., Громова О.А. Хемореактивный анализ 7-гидроксиматаирезинола, 17-эстрадиола, фитостерола β -ситостериола и эпигаллокатехин-3-галлата. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2020;14(3):347-360. [Torshin IYu, Rubashkina AN, Lapochkina NP, Gromova OA. Chemoreactome analysis of 7-hydroxymatairesinol, 17-estradiol, phytoestrogen β -sitosterol and epigallocatechin-3-gallate. *Akusherstvo, Ginekologiya i Reproduktsiya = Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2020;14(3):347-360. (In Russ.)]. doi: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.152.

12. Торшин И.Ю., Громова О.А., Фролова Д.Е., Гришина Т.Р., Лапочкина Н.П. Дозозависимый хемотранскриптомный анализ дифференциального действия витамина D на экспрессию генов в клетках предшественников нейронов NPC и в опухолевых клетках MCF7 человека. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2018;(2):35-51. [Torshin IYu, Gromova OA, Frolova DE, Grishina TR, Lapochkina NP. Dose-dependent chemotranscriptomics analysis of the differential effects of vitamin D3 on gene expression in human neuronal progenitor cells NPC and in MCF7 tumor cells. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2018;(2):35-51. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2587-7836-2018-10013.

13. Torshin IYu. Bioinformatics in the post-genomic era: sensing the change from molecular genetics to personalized medicine. New York: Nova biomedical books, 2009. ISBN: 978-1-60692-217.

14. Торшин И.Ю., Рубашкина А.Н., Громова О.А. Хемотранскриптомный анализ эффектов молекулы 7-гидроксиматаирезинола на опухолевые клетки молочной железы человека линии MCF7. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2023;17(5):584-596. [Torshin IYu, Rubashkina AN, Gromova OA. Chemotranscriptomic analysis of 7-hydroxymatairesinol-related effects on MCF7 human breast tumor cells. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2023;17(5):584-596. (In Russ.)]. doi: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.409.

15. Громова О.А., Фролова Д.Е., Торшин И.Ю., и др. Противоопухолевые эффекты витамина B₁₂ *in vitro*, *in vivo*, *in silico*. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2024: [принятая рукопись]. [Gromova OA, Frolova DE, Torshin IYu, et al. Antitumor effects of vitamin B12 *in vitro*, *in vivo*, *in silico*. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoeconomika i farmakoepidemiologiya / FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2024: [accepted manuscript]. (In Russ.)]. doi: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2024.231.

16. Torshin IYu, Rudakov KV. On metric spaces arising during formalization of problems of recognition and classification. part 2: density properties. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2016;26(3):483-496. doi: 10.1134/S1054661816030202

17. Torshin IYu, Rudakov KV. Combinatorial analysis of the solvability properties of the problems of recognition and completeness of algorithmic models. part 2: metric approach within the framework of the theory of classification of feature values. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2017;27(2):184-199. doi: 10.1134/S1054661817020110.

18. Cosentino M, Marino F, Maio RC, et al. Immunomodulatory activity of the lignan 7-hydroxymatairesinol potassium acetate (HMR/lignan)

extracted from the heartwood of Norway spruce (*Picea abies*). *Int Immunopharmacol*. 2010 Mar;10(3):339-43. doi: 10.1016/j.intimp.2009.12.005.

19. Spilioti E, Holmbom B, Papavassiliou AG, Moutsatsou P. Lignans 7-hydroxymatairesinol and 7-hydroxymatairesinol 2 exhibit anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Mol Nutr Food Res*. 2014 Apr;58(4):749-59. doi: 10.1002/mnfr.201300318.

20. Yang D, Xiao CX, Su ZH, Huang MW, Qin M, Wu WJ, Jia WW, Zhu YZ, Hu JF, Liu XH. (-)-7(S)-hydroxymatairesinol protects against tumor necrosis factor- α -mediated inflammation response in endothelial cells by blocking the MAPK/NF- κ B and activating Nrf2/HO-1. *Phytomedicine*. 2017 Aug 15;32:15-23. doi: 10.1016/j.phymed.2017.04.005.

21. Samson K. LEE011 CDK Inhibitor Showing Early Promise in Drug-Resistant Cancers. *Oncology Times*. 2014;36(3):39-40. doi: 10.1097/01.COT.0000444043.33304.c1.

22. Liang W, Wu X, Fang W, et al. Network meta-analysis of erlotinib, gefitinib, afatinib and icotinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer harboring EGFR mutations. *PLoS One*. 2014 Feb 12;9(2):e85245. doi: 10.1371/journal.pone.0085245.

23. Lamming DW, Ye L, Sabatini DM, Baur JA. Rapalogs and mTOR inhibitors as anti-aging therapeutics. *J Clin Invest*. 2013 Mar;123(3):980-9. doi: 10.1172/JCI64099. PMID: 23454761.

24. Rogowski M, Gollahon L, Chellini G, Assadi-Porter FM. Uptake of 3-iodothyronamine hormone analogs inhibits the growth and viability of cancer cells. *FEBS Open Bio*. 2017 Mar 6;7(4):587-601. doi: 10.1002/2211-5463.12205. Erratum in: *FEBS Open Bio*. 2017 May 22;7(6):887.

25. Aouad P, Saikali M, Abdel-Samad R, et al. Antitumor activities of the synthetic retinoid ST1926 in two-dimensional and three-dimensional human breast cancer models. *Anticancer Drugs*. 2017 Aug;28(7):757-770. doi: 10.1097/CAD.0000000000000511.

26. Saarinen NM, Huovinen R, Wärrä A, et al. Uptake and metabolism of hydroxymatairesinol in relation to its anticarcinogenicity in DMBA-induced rat mammary carcinoma model. *Nutr Cancer*. 2001;41(1-2):82-90. doi: 10.1080/01635581.2001.9680616.

27. Miura D, Saarinen NM, Miura Y, et al. Hydroxymatairesinol and its mammalian metabolite enterolactone reduce the growth and metastasis of subcutaneous AH109A hepatomas in rats. *Nutr Cancer*. 2007;58(1):49-59. doi: 10.1080/01635580701308133.

28. Bylund A, Saarinen N, Zhang JX, et al. Anticancer effects of a plant lignan 7-hydroxymatairesinol on a prostate cancer model *in vivo*. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2005 Mar;230(3):217-23. doi: 10.1177/153537020523000308.

29. Katsuda S, Yoshida M, Saarinen N, et al. Chemopreventive effects of hydroxymatairesinol on uterine carcinogenesis in Donryu rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2004 May;229(5):417-24. doi: 10.1177/153537020422900510.

30. Oikarinen SI, Pajari A, Mutanen M. Chemopreventive activity of crude hydroxymatairesinol (HMR) extract in Apc(Min) mice. *Cancer Lett*. 2000 Dec 20;161(2):253-8. doi: 10.1016/s0304-3835(00)00662-5.

31. Рубашкина А.Н., Лапочкина Н.П., Торшин И.Ю., Громова О.А. Роль 7-гидроксиматаирезинола в модуляции метаболизма эстрогенов и терапии мастопатии. *Гинекология*. 2020;22(4):43-48. [Rubashkina AN, Lapochkina NP, Torshin IYu, Gromova OA. The role of 7-hydroxymatairesinol in modulation of estrogen metabolism and therapy for mastopathy. *Gynecology*. 2020;22(4):43-48. (In Russ.)]. doi: 10.26442/20795696.2020.4.200183.

32. Kangas L, Saarinen N, Mutanen M, et al. Antioxidant and antitumor effects of hydroxymatairesinol (HM-3000, HMR), a lignan isolated from the knots of spruce. *Eur J Cancer Prev*. 2002 Aug;11 Suppl 2:S48-57.

33. Britschgi A, Duss S, Kim S, et al. The Hippo kinases LATS1 and 2 control human breast cell fate via crosstalk with ER α . *Nature*. 2017 Jan 26;541(7638):541-545. doi: 10.1038/nature20829.

34. Lee YF, Young WJ, Lin WJ, Shyr CR, Chang C. Differential regulation of direct repeat 3 vitamin D3 and direct repeat 4 thyroid hormone signaling pathways by the human TR4 orphan receptor. *J Biol Chem*. 1999 Jun 4;274(23):16198-205. doi: 10.1074/jbc.274.23.16198.

35. van Agthoven T, van Agthoven TL, Dekker A, et al. Identification of BCAR3 by a random search for genes involved in antiestrogen resistance of human breast cancer cells. *EMBO J*. 1998 May 15;17(10):2799-808. doi: 10.1093/emboj/17.10.2799.

ПАМЯТИ

Кусеса Владимира Григорьевича

8 сентября 1934 г. — 5 февраля 2024 г.

In Memory of Vladimir G. Kukes

(18.09.1934 — 05.02.2024)



Один из основоположников клинической фармакологии в России — *Владимир Григорьевич Кукес* — скончался 5 февраля 2024 года на 90-м году жизни.

Кукес Владимир Григорьевич родился 8 сентября 1934 г. в г. Ленинграде в семье служащих. В годы Великой Отечественной войны был с родителями эвакуирован в Свердловск.

В 1957 г. *Кукес В.Г.* окончил лечебный факультет 1-го Московского медицинского института им. И.М. Сеченова.

Свою профессиональную деятельность начал в качестве врача Магаданской областной больницы (1957–1960 гг.), куда был направлен по распределению после окончания института.

Вся дальнейшая трудовая и научная деятельность была связана с 1-м ММИ (сейчас это Сеченовский университет).

С 1961 по 1964 гг. прошёл аспирантуру на кафедре пропедевтической терапии у зав. кафедрой Василенко В.Х.

После защиты кандидатской диссертации работал ассистентом кафедры пропедевтической терапии 1964–1971 гг. 1-го ММИ под руководством Сивкова И.И.

В 1970 году *Кукес В.Г.* защитил докторскую диссертацию, профессор.

В 1971 г. по его инициативе в 1-м ММИ им. И.М. Сеченова был организован отдел клинической фармакологии, который явился первым подразделением клинической фармакологии в СССР.

В 1974 году *Кукесу В.Г.* было присвоено учёное звание профессора.

В 1979 году он возглавил отдел клинической фармакологии 1-го ММИ им. И.М. Сеченова, и создал экспериментальный курс клинической фармакологии, который в дальнейшем был реорганизован в 1985 г. в кафедру клинической фармакологии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова.

В 1993 году *Кукес В.Г.* был избран член-корр. РАМН; в 1995 г. — получил звание заслуженный деятель науки, а в 1999 г. — был избран академиком РАМН; в 2013 г. стал академиком Российской академии наук в рамках присоединения к ней РАМН и РАСХН.

Под руководством *В.Г. Кусеса* были созданы учебные программы и методические разработки по преподаванию этой дисциплины в медицинских ВУЗах страны, написаны учебник «Внутренние болезни» (1981, 1986 гг.) на русском и испанском языках, учебник для лечебных факультетов «Клиническая фармакология», который выдержал 5 переизданий (1991, 1999, 2003, 2006, 2008, 2014 гг.), учебник для

фармацевтических факультетов «Клиническая фармакология и фармакотерапия» (2003, 2008, 2013 гг.), Практикум по клинической фармакологии (2011, 2013 гг.), подготовлено «Положение о специалисте — клиническом фармакологе» (2020 г.).

Под руководством *Кукеса В.Г.* выполнено более 25 докторских и более 110 кандидатских диссертаций. Некоторые из его учеников возглавляют ведущие кафедры страны и ближнего зарубежья, работают клиническими фармакологами во многих странах СНГ. *Кукес В.Г.* подготовил блестящую плеяду учеников, в число которых входят доктора наук, профессора — Стародубцев А.К., Цой А.Н., Ших Е.В., Раменская Г.В., Журавлева М.В., Сулейманов С.Ш., Сычев Д.А., Лазарева Н.Б., Смирнов В.В., и многие другие. Среди специалистов, подготовленных *В.Г. Кукесом* и его учениками, есть граждане стран ближнего (страны СНГ) и дальнего зарубежья (Китай, Тайвань, Иран, Марокко).

Основные научно-исследовательские работы *Кукеса В.Г.* носят фундаментально-прикладной характер и посвящены наиболее приоритетным проблемам клинической фармакологии. Впервые в стране им было предложено изучение комплексных вопросов клинической фармакологии, включающее исследование фармакокинетики, фармакодинамики, взаимодействия и побочного действия лекарственных средств, разработаны и внедрены методы определения концентрации отечественных и зарубежных лекарственных средств в различных биологических средах организма, доказана необходимость проведения острого лекарственного теста для подбора эффективной и безопасной дозы препарата, прогнозирования его клинического эффекта и риска возможного побочного действия. Под его руководством и при непосредственном участии впервые в стране стали изучаться метаболизм и биоритмология лекарственных средств, методы гено- и фенотипирования ферментов биотрансформации и транспортёров лекарственных средств, их клиническое значение для оптимизации фармакотерапии, лежащих в основе клинической фармакогенетики, молеку-

лярные механизмы взаимодействия лекарственных препаратов, клиническая фармакология блокаторов медленных кальциевых каналов, β -адреноблокаторов, антидепрессантов, витаминов в комплексных лекарственных препаратах и биологических жидкостях.

Кукес В.Г. активно развивал методологию персонализированной медицины с позиции клинической фармакологии: использование фармакогенетического тестирования, оценки активности изоферментов цитохрома P450 и транспортёров лекарственных средств для персонализации фармакотерапии пациентов с социально-значимыми заболеваниями. Под руководством *Кукеса В.Г.* активно вёлся поиск и оценка лекарственных средств, модулирующих активность системы элиминации ксенобиотиков и других функциональных систем.

Кукес В.Г. внёс большой вклад в развитие отечественной фарминдустрии, принимая участие в создании оригинальных отечественных лекарственных средств: форидона, ортофена, метиоприла, квидитена, этмозина, этацизина, в изучении фармакокинетики и фармакодинамики небинтана, проксадолола, этосидола и ряда других лекарственных препаратов. Эти разработки позволили пациентам получить препараты мирового уровня по доступным ценам.

Кукес В.Г. являлся автором более 580 научных публикаций, 44 из которых опубликованы в иностранных журналах. Под его непосредственным руководством было выпущено 21 монография, 8 учебников, 52 методических и учебных пособий для студентов медицинских ВУЗов и практических врачей. *Кукес В.Г.* — автор 16 изобретений и патентов.

Нельзя не отметить не только высочайший профессионализм *Владимира Григорьевича* как учёного, врача, педагога, но и его человеческие качества. *Кукес В.Г.* помог очень многим людям в жизненных ситуациях, нет человека, который обратился бы к нему и кому он бы отказал в помощи в любой ситуации. Неравнодушные *Владимир Григорьевич* к делу и своим коллегам вызывает восхищение.

Светлая память

Владимиру Григорьевичу Кукесу!

