



2023 Том / Volume XI

№ 1

Научно-практический журнал
Scientific and Practical Journal

ISSN 2307-9266
e-ISSN 2413-2241

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACY & PHARMACOLOGY



Обзоры, лекции
Reviews, Lectures

Фармакогнозия, ботаника
Pharmacognosy, Botany

**Фармацевтическая технология
и биотехнология**
Pharmaceutical Technology
and Biotechnology

**Фармацевтическая
и токсикологическая химия**
Pharmaceutical and Toxicological
Chemistry

**Фармакология и клиническая
фармакология**
Pharmacology and Clinical
Pharmacology

**Информационные технологии
в фармации**
Information Technologies in Pharmacy

**Организация и экономика
фармацевтического дела**
Organization and Economy
of Pharmacy

**Экономика и менеджмент
медицины**
Economy and Management
of Medicine

Фармацевтическое образование
Pharmaceutical Education

**Дискуссии, рецензии, юбилеи,
научные школы, история
фармации и фармакологии**
Discussions, Referee Reports,
Anniversaries, Schools
of Thought, History
of Pharmacy and
Pharmacology





Р-ФАРМ
Инновационные
технологии
здоровья

www.artlegia.com



Узнать больше

АРТЛЕГИА

Олокизумаб

Одобрённое показание — патогенетическая терапия синдрома высвобождения цитокинов при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) среднетяжелого и тяжелого течения ^[1]



Артлегия включена в рекомендованные схемы терапии госпитализированных пациентов с COVID-19 ^[2]:

легкого течения

(пациенты с высоким индексом коморбидности)



среднетяжелого течения



тяжелого и крайне тяжелого течения



^[1] Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Артлегия, регистрационное удостоверение ЛП-006218 от 21.05.2020.

^[2] Временные методические рекомендации МЗ РФ «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 16 от 18.08.2020

Краткая инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата АРТЛЕГИА

АРТЛЕГИА (олокизумаб), 160 мг/мл, 0,4 мл, раствор для подкожного введения

Регистрационный номер: ЛП-006218

Фармакотерапевтическая группа: антитела моноклональные

Показания к применению:

Терапия пациентов старше 18 лет с ревматоидным артритом средней или высокой степени активности в комбинации с метотрексатом, при недостаточной эффективности монотерапии метотрексатом или ингибиторами фактора некроза опухоли (ИФНО). Патогенетическая терапия синдрома высвобождения цитокинов при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) среднетяжелого и тяжелого течения.

Противопоказания:

Гиперчувствительность к олокизумабу, любому компоненту препарата в анамнезе.

Активные инфекционные заболевания (в том числе и туберкулез). Детский возраст до 18 лет. Наследственная непереносимость фруктозы (препарат содержит сорбитол). Период грудного вскармливания.

С осторожностью:

У пациентов с серьезными или оппортунистическими инфекциями в анамнезе; с сопутствующими заболеваниями и состояниями, являющимися факторами риска развития инфекций (сахарный диабет, почечная недостаточность, прием иммуносупрессивных препаратов,

пожилой возраст и др.). У пациентов, контактировавших с больными туберкулезом; с дивертикулитом или перфорацией кишечника в анамнезе и другими факторами риска перфорации кишечника; с нарушениями функции печени и печеночной недостаточностью. Применение у беременных систематически не изучалось. Если пациентка, получающая олокизумаб, забеременеет, она должна немедленно прекратить применение и обратиться к врачу. Предполагается, что ИЛ-6 играет важную роль в раскрытии шейки матки, поэтому применение олокизумаба может нарушать родовую деятельность. Не следует применять олокизумаб во время беременности за исключением тех случаев, когда имеется очевидная клиническая необходимость. Проникновение олокизумаба в грудное молоко не изучалось. Клинические данные о влиянии олокизумаба на фертильность у человека отсутствуют. В исследованиях на животных отрицательного воздействия олокизумаба на фертильность самцов и самок яванских макаков не обнаружено.

Побочное действие:

Нежелательные реакции, отмечавшиеся при терапии олокизумабом: **очень часто**: повышение активности АЛТ; **часто**: латентный туберкулез, фарингит, конъюнктивит, лейкопения, нейтропения, тромбоцитопения; повышение содержания липидов в крови; гипертония; диарея, боль в животе; повышенная концентрация прямого и непрямого билирубина; повышенная активность печеночных ферментов, печеночных трансаминаз, АСТ; сыпь, дерматит; скелетно-мышечная боль; реакции в месте инъекции; повышение уровня ГГТ; **иногда**: сепсис; грибковая инфекция кожи; лекарственная гиперчувствительность; гипотиреоз; сахарный диабет; мигрень; стенокардия; фибрилляция предсердий; тромбоз глубоких вен; интерстициальное заболевание легких; гастрит; микоз; почечная колика; маточное кровотечение.

Взаимодействие с другими лекарственными средствами:

Специальные клинические исследования лекарственных взаимодействий олокизумаба не проводились. Концентрация следующих препаратов может снизиться при применении олокизумаба: статины (симвастатин, ловастатин, аторвастатин); оральные контрацептивы; блокаторы кальциевых каналов; глюкокортикоиды (дексаметазон, метилпреднизолон); варфарин; хинидин; теофиллин; тизанидин; фенитоин; пимозид; циклоспорин; сиролимус; такролимус; бензодиазепины (например, диазепам, алпразолам, триазолам, мидазолам, бромизепам).

Особые указания:

Анафилактические или анафилактоидные реакции: инфекции; не следует начинать терапию пациентам с инфекциями в активной фазе; туберкулезная инфекция; риск перфорации желудочно-кишечного тракта; почечная недостаточность; нарушения функции печени.

Производитель:

Российская Федерация, Ярославская обл., г.о. г. Ярославль, г. Ярославль, ул. Громова, д. 15. Тел./факс: +7 (4852) 40-30-20

Администрация Алтея, Инк., 11040 Розелле Стрит, Сан-Диего (Калифорния), Соединенные Штаты Америки

Владелец регистрационного удостоверения/Организация, принимающая претензии от потребителя:

АО «Р-Фарм», Российская Федерация, 123154, г. Москва, ул. Берзарина, д. 19, корп. 1 Тел. +7 (495) 956-79-37, факс: +7 (495) 956-79-38, E-mail: info@rpharm.ru

ДАННЫЙ МАТЕРИАЛ ЯВЛЯЕТСЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫМ ИЗДАНИЕМ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ, НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ИНСТРУКЦИЕЙ И НИ В КОЕЙ МЕРЕ ЕЁ НЕ ЗАМЕНЯЕТ. ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ СЛЕДУЕТ ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ПРЕПАРАТА АРТЛЕГИА®

На правах рекламы

Научно-практический журнал

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Периодичность 6 номеров в год

Том 11, Выпуск 1, 2023

Свидетельство регистрации СМИ:
ПИ №ФС77–67428 от 13.10.2016 г.

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Главный редактор

Петров Владимир Иванович академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Заместители главного редактора

Озеров Александр Александрович доктор химических наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Черников Максим Валентинович доктор медицинских наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Редакционная коллегия

Фармакогнозия, ботаника

Куркин Владимир Александрович доктор фармацевтических наук, профессор, г. Самара, Россия

Зилфикаров Ифрат Назимович профессор РАН, доктор фармацевтических наук, г. Москва, Россия

Фармацевтическая технология и биотехнология

Саканян Елена Ивановна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Москва, Россия

Фармацевтическая и токсикологическая химия / Информационные технологии в фармации

Вавер Ивона PhD, профессор, г. Варшава, Польша

Фармакология и клиническая фармакология

Ханферьян Роман Авакович доктор медицинских наук, профессор, г. Москва, Россия

Буске Паскаль MD, профессор, г. Страсбург, Франция

Кампизи Коррадино MD, PhD, профессор, г. Генуя, Италия

Организация и экономика фармацевтического дела / Экономика и менеджмент медицины

Наркевич Игорь Анатольевич доктор фармацевтических наук, профессор, г. Санкт-Петербург, Россия

Егорова Светлана Николаевна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Казань, Россия

Сомасундарам Субраманиан MD, Россия/Индия

Статьи, представленные в разделы **Обзоры, лекции / Фармацевтическое образование / Дискуссии, рецензии, юбилеи, научные школы, история фармации и фармакологии** могут быть рассмотрены любыми членами редакционной коллегии.

Ответственный секретарь: Корянова Ксения Николаевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Корректор: Мищенко Екатерина Сергеевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Переводчик: Давыденко Любовь Григорьевна, кандидат филологических наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Технический редактор: Доценко Марина Александровна, г. Пятигорск, Россия

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

Адрес издательства: 357532, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, 11.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России

Телефон: +7 (8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Объединенный каталог. Пресса России. Газеты и журналы. Индекс 94183

Формат А4, тираж 1000 экз. Цена свободная.

Журнал «Фармация и фармакология» включен в перечень рецензируемых научных изданий, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (Перечень ВАК), Scopus, Web of Science (ESCI), РИНЦ, eLibrary, ВИНТИ, РГБ, КиберЛенинка, Соционет, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Отпечатано в соответствии с предоставленными материалами в ООО «Амирит»,
410004, г. Саратов, ул. Чернышевского, 88.

© ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный
медицинский университет» Минздрава России, 2023
© Пятигорский медико-фармацевтический институт –
филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, 2023
© Авторы, 2023

Scientific and Practical Journal

PHARMACY & PHARMACOLOGY

Scientific and practical journal

Volume XI, Issue 1, 2023

The mass media registration certificate:

ПИ №ФС77–67428 от 13.10.2016

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Editor-in-Chief

Vladimir I. Petrov

Academian RAS, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Volgograd, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Aleksandr A. Ozerov

Doctor of Sciences (Chemistry), Professor, Volgograd, Russia

Maxim V. Chernikov

Doctor of Sciences (Medicine), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Editorial Board

Pharmacognosy, Botany

Vladimir A. Kurkin

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Samara, Russia

Ifrat N. Zilfikarov

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor of RAS, Moscow, Russia

Pharmaceutical Technology and Biotechnology

Elena I. Sakanyan

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Moscow, Russia

Pharmaceutical and Toxicological Chemistry / Information Technologies in Pharmacy

Iwona Wawer

PhD, Professor, Warsaw (Poland)

Pharmacology and Clinical Pharmacology

Roman A. Khanfer`yan

Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Moscow, Russia

Pascal Bousquet

MD, PhD, Professor, Strasbourg, France

Campisi Corradino

MD, PhD, Professor, Genoa, Italy

Organization and Economy of Pharmacy / Economy and Management of Medicine

Igor A. Narkevich

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Saint-Petersburg, Russia

Svetlana. N. Egorova

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Kasan, Russia

Somasundaram Subramanian

MD, Russia/India

Manuscripts presented in sections **Reviews, Lectures / Pharmaceutical Education / Brief Reports / Discussions, Referee Reports, Anniversaries, School of Thought, History of Pharmacy and Pharmacology** can be considered by any members of the editorial board.

Executive Editor: Koryanova Ksenia N., Candidate of Sciences (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Proofreader: Mischenko Ekaterina S., Candidate of Sciences (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Translator: Davydenko Lubov G., Candidate of Sciences (Philology), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Technical editor: Dotsenko Marina A., Pyatigorsk, Russia

Founder: Volgograd State Medical University. 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

Editors office address: 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University

Phone number: +7(8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Union catalogue. Russian Press / Newspapers and journals. Code 94183

A4 size, 1000 issues circulation. Price free

Journal "Pharmacy & Pharmacology" is recommended International Committee Of Medical Journal Editors and included in Higher Attestation Commission, Scopus, Web of Science (ESCI), Russian citation database, eLibrary, ARISTI (All-Russian Institute of Scientific and Technical Information), RSL (Russian State Library), CyberLeninka, Socionet, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Printed in the LLC "Amirit" in accord with provided materials, 410004, Saratov, 88, Chernishevsky Str.

© Volgograd State Medical University, 2023

© Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University, 2023

©Authors, 2023

СОДЕРЖАНИЕ / Contents

ОБЗОРЫ / REVIEWS

К.Ю. Калитин, А.А. Спасов, О.Ю. Муха

Подходы к изучению каппа-опиоидных лигандов
на моделях нейровоспаления4

K.Yu. Kalitin, A.A. Spasov, O.Yu. Mukha

Models of neuroinflammation for the assessment
of kappa-opioid receptor ligands.....4Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.И. Морковин, А.В. Стрыгин,
Ю.В. Горбунова, Е.В. Волотова, И.И. Макаренко,
В.Б. Сапарова, Р.В. Драй, В.И. ПетровФизиология, фармакология и перспективы
применения ингибиторов дипептидилпептидазы-419D.V. Kurkin, D.A. Bakulin, E.I. Morkovin, A.V. Strygin,
Yu.V. Gorbunova, E.V. Volotova, I.I. Makarenko,
V.B. Saparova, R.V. Drai, V.I. PetrovPhysiology, pharmacology and prospects
for dipeptidylpeptidase-4 inhibitors use19

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ / RESEARCH ARTICLE

Фармакология и клиническая фармакология / Pharmacology and Clinical Pharmacology

А.П. Даниленко, К.С. Трунов, М.В. Покровский,
Л.М. Даниленко, М.В. Корокин, О.С. Гудырев, А.А. Хентов,
Н.П. Масалытина, И.А. Татаренкова, А.В. Чередниченко,
Е.В. Боева, И.С. Коклин, Э.И. ТаранПротективная роль производных 3-оксипиридина
при стероид-индуцированном остеопорозе у крыс,
связанная со снижением оксидативного стресса
и восстановлением образования оксида азота48A.P. Danilenko, K.S. Trunov, M.V. Pokrovsky,
L.M. Danilenko, M.V. Korokin, O.S. Gudyrev, A.A. Khentov,
N.P. Masalytina, I.A. Tatarenkova, A.V. Cherednichenko,
E.V. Boeva, I.S. Koklin, E.I. TaranProtective role of 3-oxypyridine derivatives
in rats' steroid-induced osteoporosis associated
with reduced oxidative stress and recovery
of nitric oxide formation.....48Р.А. Осешнюк, А.Г. Никифорова, А.Ю. Бородулева,
П.Д. Соболев, С.А. Лесничук, Б.Б. Гаряев, А.А. Абрамова,
В.Г. Мозговая, О.В. Филон, А.В. Зинковская,
А.Н. Долгорукова, Е.К. Ханонина, В.Г. Игнатиев,
М.Ю. СамсоновИсследование биоэквивалентности воспроизведенного
препарата нирматрелвира у здоровых добровольцев.....62R.A. Osesnyuk, A.G. Nikiforova, A.Yu. Boroduleva,
P.D. Sobolev, S.A. Lesnichuk, B.B. Garyaev, A.A. Abramova,
V.G. Mozgovaya, O.V. Filon, A.V. Zinkovskaya,
A.N. Dolgorukova, E.K. Khanonina, V.G. Ignatiev,
M.Yu. SamsonovBioequivalence study of generic nirmatrelvir in healthy
volunteers.....62Л.А. Балькова, О.А. Радаева, К.Я. Заславская,
А.В. Таганов, П.А. Белый, К.А. Захаров,
В.В. Попова, Т.И. Чудиновских, С.В. Теплых, И.В. Балабан,
Р.С. Козлов, Н.В. Кириченко, Е.Н. Симакина,
К.Н. Корянова, Д.Ю. ПушкарПостконтактная профилактика COVID-19: результаты
двойного слепого плацебо-контролируемого
многоцентрового клинического исследования
по оценке эффективности и безопасности применения
препарата РНК двуспиральной натриевой соли72L.A. Balykova, O.A. Radaeva, K.Ya. Zaslavskaya,
A.V. Taganov, P.A. Bely, K.A. Zakharov,
V.V. Popova, T.I. Chudinovskikh, S.V. Teplykh, I.V. Balaban,
R.S. Kozlov, N.V. Kirichenko, E.N. Simakina,
K.N. Koryanova, D.Yu. PushkarPost-exposure prophylaxis of COVID-19: results
of double-blind, placebo-controlled,
multicenter clinical study evaluation of efficacy
and safety of double-stranded sodium
salt RNA drug.....72

Фармацевтическая и токсикологическая химия / Pharmaceutical and Toxicological Chemistry

И.П. Кодониди, А.В. Бичеров, Э.А. Манвелян,
А.А. Колодина, А.А. Бичеров, М.М. Манвелян,
А.В. Ивченко, Н.Н. Вдовенко-Мартынова,
А.Т. Навалиева, М.М. МанвелянСинтез 2-фенил- и 2-бензилпроизводных
4(3H)-хиназолинона, обладающих
анальгезирующей активностью.....89I.P. Kodonidi, A.V. Bicherov, E.A. Manvelyan,
A.A. Kolodina, A.A. Bicherov, M.M. Manvelyan,
A.V. Ivchenko, N.N. Vdovenko-Martynova,
A.T. Navalieva, M.M. ManvelyanSynthesis of 2-phenyl- and 2-benzyl
derivatives of 4(3H)-quinazolinone
with analgesic activity89

УДК 615.21



Подходы к изучению каппа-опиоидных лигандов на моделях нейровоспаления

К.Ю. Калитин^{1,2}, А.А. Спасов^{1,2}, О.Ю. Муха¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,
400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

² Государственное бюджетное учреждение «Волгоградский медицинский научный центр»,
400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

E-mail: olay.myha14@gmail.com

Получена 13.06.2022

После рецензирования 15.01.2023

Принята к печати 10.02.2023

Разработка новых препаратов для коррекции нейровоспаления вызывает повышенный интерес, поскольку открывает возможности лечения широкого ряда заболеваний, включая болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, эпилепсию, шизофрению, депрессию и др. Каппа-опиоидные агонисты представляют собой перспективный класс соединений, обладающих высоким потенциалом применения при патологических состояниях, сопровождающихся развитием нейровоспаления.

Цель. Резюмировать информацию о текущих стратегиях, используемых для оценки нейротропных противовоспалительных эффектов каппа-опиоидных лигандов у лабораторных животных с индуцированным нейровоспалением.

Материалы и методы. В качестве средств поиска использовались поисковые системы и базы данных Google Scholar, PubMed, ScienceDirect, Scopus, e-Library. Поиск проводился по следующим ключевым словам и словосочетаниям: kappa opioids + neuroinflammation; kappa opioid receptors + neuroinflammation; neuroinflammation models; neuroinflammation models in rat; neuroinflammation models in mice, а также по их русскоязычным аналогам. Были найдены 148 релевантных статей, из которых 122 были включены в настоящий обзор.

Результаты. В настоящем обзоре были рассмотрены различные экспериментальные модели нейровоспаления, индуцированного химическими агентами и бактериальным эндотоксином, а также травматические и генетические модели на мышах и крысах. Кроме того, были критически оценены сильные стороны и ограничения каждой модели для определения наиболее подходящей стратегии исследования взаимосвязей между нейровоспалением и сигнальными путями каппа-опиоидной рецепторной системы.

Заключение. Рассмотрены особенности нейротропной противовоспалительной активности каппа-опиоидных лигандов. В обзоре обсуждаются как экспериментальные модели, в которых изучались эффекты агонистов каппа-опиоидных рецепторов, так и модели, в которых противовоспалительные свойства агонистов каппа-опиоидов еще не изучены.

Ключевые слова: нейровоспаление; экспериментальная фармакология; экспериментальные модели; нейроиммунные процессы; микроглия; каппа-опиоидные рецепторы; каппа-опиоидные агонисты; липополисахарид

Список сокращений: Аβ – бета-амилоид; АКТ (PKB) – протеинкиназа В; CD – кластер дифференцировки; CDK5 – циклинзависимая киназа 5; ERK – киназы, регулируемые внеклеточными сигналами; GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок; GluT3 – глюкозный транспортер тип 3; GluT4 – глюкозный транспортер тип 4; GPCR – рецепторы, сопряженные с G-белком; GSK3β – киназа гликогенсинтазы-3 бета; IFN – интерферон; IL – интерлейкин; iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота; IRF2 – регуляторный фактор интерферона 2; JNK – c-Jun N-концевая киназа; LPS – липополисахарид; MDA5 – белок, ассоциированный с дифференцировкой меланомы 5; MIP – воспалительный белок макрофагов; mPGES-1 – микросомальная простагландин Е-синтаза-1; NF-κB – ядерный фактор каппа-би; NGF – фактор роста нервов; NLRP3 – белок семейства Nod-подобных рецепторов с пириновым доменом 3; NO – оксид азота (II); nor-BNI – норбиналторфимин; APK – митоген-активируемая протеинкиназа; poly(I:C) – полиинозиновая-полицитидиловая кислота; STAT3 – сигнальный белок и активатор транскрипции 3; PI3K – фосфоинозитид-3-киназы; TLR3 – толл-подобный рецептор 3; TLR4 – толл-подобный рецептор 4; TNF-α – фактор некроза опухоли-альфа; TGF-β – трансформирующий фактор роста бета; АТФ – аденозинтрифосфат; АФК – активные формы кислорода; БА – болезнь Альцгеймера; БП – болезнь Паркинсона; ГКС – глюкокортикостероиды; ГЭБ – гематоэнцефалический барьер; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота; КОР – каппа-опиоидные рецепторы; КПО – клетка-предшественник олигодендроцитов; ОК – омега-3 жирная кислота; ОРЭМ – острый рассеянный энцефаломиелит; РНК – рибонуклеиновая кислота; РС – рассеянный склероз; цАМФ – циклический аденозинмонофосфат; ЧМТ – черепно-мозговая травма; ЦНС – центральная нервная система; ЦОГ-2 – циклооксигеназа 2; ЭАЭ – экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит.

Для цитирования: К.Ю. Калитин, А.А. Спасов, О.Ю. Муха. Подходы к изучению каппа-опиоидных лигандов на моделях нейровоспаления. *Фармация и фармакология*. 2023;11(1):4-18. DOI:10.19163/2307-9266-2023-11-1-4-18

© К.Ю. Калитин, А.А. Спасов, О.Ю. Муха, 2023

For citation: K.Yu. Kalitin, A.A. Spasov, O.Yu. Mukha. Models of neuroinflammation for the assessment of kappa-opioid receptor ligands. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(1):4-18. DOI:10.19163/2307-9266-2023-11-1-4-18

models of neuroinflammation for the assessment of kappa-opioid receptor ligands

K.Yu. Kalitin^{1,2}, A.A. Spasov^{1,2}, O.Yu. Mukha¹

¹ Volgograd State Medical University,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

² Volgograd Medical Research Center,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

E-mail: olay.myha14@gmail.com

Received 13 June 2022

After peer review 15 Jan 2023

Accepted 10 Feb 2023

The development of new drugs to combat neuroinflammation is highly relevant as it opens up possibilities for the treatment of a wide range of diseases, including Alzheimer's disease, Parkinson's disease, epilepsy, schizophrenia, depression, and others. Kappa-opioid agonists represent a promising class of compounds with a high potential to be used in the treatment of neurological conditions accompanied by neuroinflammation.

The aim of the study was to provide a summary of the current strategies employed to evaluate the neurotropic anti-inflammatory effects of kappa-opioid ligands in laboratory animals with induced neuroinflammation.

Materials and methods. The databases, such as Google Scholar, PubMed, ScienceDirect, Scopus, e-Library were used as search tools. The search comprised the following keywords and phrases in Russian and English: kappa opioids + neuroinflammation; kappa opioid receptors + neuroinflammation; neuroinflammation models; neuroinflammation models in rats, neuroinflammation models in mice. 148 relevant articles were found, 122 were included in this review.

Results. Various experimental models of neuroinflammation, including chemically-induced and bacterial endotoxin-induced neuroinflammation, as well as traumatic and genetic models in mice and rats were evaluated. In addition, the strengths and limitations of each model were critically assessed to identify the most appropriate and reliable approach for investigating the relationship between neuroinflammation and signaling pathways associated with kappa-opioid receptors.

Conclusion. The neurotropic anti-inflammatory activity of kappa-opioid ligands have been comprehensively described. The review discusses both experimental models where the effects of kappa-opioid agonists have been investigated, as well as the models where the anti-inflammatory properties of kappa-opioid agonists have not been studied yet.

Keywords: neuroinflammation; experimental models; neuroimmune processes; microglia; kappa-opioid receptors; kappa-opioid agonists; lipopolysaccharide

Abbreviations: A β – amyloid beta; AKT (PKB) – protein kinase B; CD – cluster of differentiation; CDK5 – cyclin dependent kinase 5; ERK – extracellular signal-regulated kinases; GFAP – glial fibrillary acidic protein; GluT3 – glucose transporter 3; GluT4 – glucose transporter 4; GPCR – G-protein-coupled receptors; GSK3 β – glycogen synthase kinase-3 beta; IFN – interferon; IL – interleukin; iNOS – Inducible nitric oxide synthase; IRF2 – interferon regulatory factor 2; JNK – c-Jun N-terminal kinase; LPS – lipopolysaccharides; MDA5 – melanoma differentiation-associated protein 5; MIP – macrophage inflammatory protein; mPGES-1 – microsomal prostaglandin E synthase-1; NF- κ B – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; NGF – nerve growth factor; NLRP3 – nod-like-receptor family pyrin domain containing 3; NO – nitric oxide (II); nor-BNI – norbinaltorphimine; MAPK – mitogen-activated protein kinase; poly(I:C) – polyinosinic:polycytidylic acid; STAT3 – signal transducer and activator of transcription 3; PI3K – phosphoinositide 3-kinases; TLR3 – toll-like receptor 3; TLR4 – toll-like receptor 4; TNF- α – tumor necrosis factor alpha; TGF- β – transforming growth factor beta; ATP – adenosine triphosphate; ROS – reactive oxygen species; AD – Alzheimer's disease; PD – Parkinson's disease; GKS – glucocorticosteroids; BBB – blood-brain barrier; DNA – deoxyribonucleic acid; KOR – kappa opioid receptors; OPC – oligodendrocyte progenitor cell; OA – okadaic acid; ADEM – acute disseminated encephalomyelitis; RNA – ribonucleic acid; MS – multiple sclerosis; cAMP – cyclic adenosine monophosphate; TBI – traumatic brain injury; CNS – central nervous system; COX-2 – cyclooxygenase-2; EAE – experimental autoimmune encephalomyelitis.

ВВЕДЕНИЕ

Нейровоспаление – это типичная реакция в головном или спинном мозге, возникающая в ответ на инфекционные агенты, черепно-мозговую травму, инсульт, действие токсинов и ряд других провоцирующих факторов. Воспаление является неотъемлемым компонентом процесса восстановления после травмирующего воздействия, однако в результате нарушений в регуляции иммунного ответа воспаление может приобретать патологический характер [1].

Нейровоспаление проявляется на

биохимическом, гистологическом и органном уровнях [2]. Процессы нейровоспаления тесно связаны с продукцией цитокинов, хемокинов и активных форм кислорода (АФК) астроцитами и микроглией, что приводит к повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера, инфильтрации иммунных клеток в нервную ткань, отеку мозга, повреждению нервной ткани и, как следствие, гибели клеток. Проявления острого нейровоспаления крайне разнообразны и зависят от локализации пораженного участка ткани, но, как правило, включают в себя хроническую

нейропатическую боль [3], когнитивный дефицит и апатию [4].

Центральная роль в развитии нейровоспаления принадлежит микроглии, которая представлена резидентными макрофагами головного мозга. В норме микроглия участвует в функционировании синапсов, апоптозе клеток и нейрональной активности. В нервной системе выделяют два основных фенотипа микроглии – M_1 и M_2 . M_1 , или провоспалительная микроглия, обеспечивает продукцию провоспалительных цитокинов – интерлейкина-1 β (IL-1 β), фактора некроза опухоли- α (TNF- α), STAT3, IL-6, IL-12, IL-23 и АФК. В то же время M_2 опосредует противовоспалительные и репаративные процессы за счет высвобождения IL-10, IL-4, IL-13 и трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) [5].

Развитие нейровоспаления связывают не только с продукцией микроглией провоспалительных медиаторов, но и с миграцией В-лимфоцитов, что приводит к продукции антител, тропных к миелиновой оболочке, которые обуславливают процессы демиелинизации нервной ткани [6]. Кроме того, возможно поступление цитокинов из системного кровотока через гематоэнцефалический барьер, что создает прочную взаимосвязь между периферическим и центральным иммунными ответами [7].

С клинической точки зрения нейровоспаление рассматривается как важнейший патологический компонент широкого ряда психоневрологических и нейродегенеративных заболеваний. Нейровоспаление вносит существенный вклад в развитие шизофрении, рассеянного склероза и болезни Альцгеймера (БА) [8]. Установлено, что при БА наблюдается отложение в межклеточном пространстве агрегатов β -амилоида с формированием сенильных бляшек и нейрофибриллярных клубков тау-белка, которые способствуют активации провоспалительной микроглии [9]. При посмертном анализе пациентов с БА, а также в экспериментальных моделях БА выявляются морфологические изменения, свидетельствующие об активации микроглии и воспалении в окружающих амилоидные бляшки тканях.

Имеются доказательства активации микроглии и высвобождения провоспалительных цитокинов при болезни Паркинсона (БП), которая характеризуется дегенерацией дофаминергических нейронов черной субстанции и наличием агрегированного α -синуклеина в тельцах Леви пораженных нейронов. Кроме того, зафиксировано увеличение концентрации провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , IL-1 β и IL-6 и активация соответствующих рецепторов [10].

К настоящему времени накоплен большой массив данных, подтверждающих вовлеченность иммунной системы при психиатрических заболеваниях. Выявлены генетические ассоциации большого

депрессивного расстройства с регуляторными нарушениями нескольких иммунных каскадов, а также цитокиновым дисбалансом [11–13]. Отмечается увеличение риска развития депрессии среди пациентов, страдающих хроническими воспалительными заболеваниями (например, аутоиммунными), что обусловлено не только психологически предрасполагающим характером самой патологии, но и повышением уровня провоспалительных цитокинов в этих условиях [14].

Также в литературе приводятся сведения о развитии депрессии на фоне иммунотерапии, однако точный механизм этого явления неясен. Введение провоспалительных цитокинов может приводить к развитию депрессивного состояния у животных, которая является частым побочным эффектом лечения интерферонами [15]. В иных случаях предполагается, что периферические иммунные клетки и цитокины могут проникать через гематоэнцефалический барьер и воздействовать на основные системы нейротрансмиттеров, задействованных в патогенезе депрессии – моноаминергическую, глутаматергическую и ГАМК-ергическую передачу [16].

Нейровоспалительный компонент имеет место в том числе при эпилепсии. Считается, что процесс эпилептогенеза ведет к повреждению тканей ЦНС, формируя очаги воспаления с преобладанием провоспалительного фенотипа микроглии, которая характеризуется повышенной экспрессией генов ряда белков, включая индуцибельную синтазу оксида азота и антитела CD16/32, а также повышая высвобождение некоторых воспалительных факторов, таких как IL-1 β , IL-6 и TNF- α [17].

На данный момент использование существующих лекарственных препаратов для лечения заболеваний ЦНС, связанных с нейровоспалением, в значительной степени потерпело неудачу из-за недостаточной эффективности или неблагоприятных побочных эффектов. Современная терапия, как правило, включает нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), глюкокортикостероиды (ГКС) и другие иммунодепрессанты [18]. В существующих исследованиях хоть и показана эффективность НПВП в терапии различных нейродегенеративных процессов, тем не менее их использование до сих пор не носит рекомендательного характера и, учитывая потенциальный вред, их не следует использовать для лечения или профилактики деменции или когнитивных нарушений. Также несмотря на непревзойденную эффективность ГКС в подавлении воспалительных процессов, такая терапия сопровождается множественными побочными эффектами. В частности, длительное применение высоких доз приводит к расстройствам настроения, желудочно-кишечным и головной болям, а хронический прием может – к остеопорозу, диабету и повышенной восприимчивости к инфекционным заболеваниям.

В связи с чем требуется поиск альтернативных агентов, направленных на предотвращение нейровоспаления, в частности, перспективным представляется класс каппа-агонистов, которые продемонстрировали способность значительно уменьшать нейровоспалительные процессы и снижать тяжесть течения заболеваний [19].

ЦЕЛЬ. Резюмировать информацию о текущих стратегиях, используемых для оценки нейротропных противовоспалительных эффектов каппа-опиоидных лигандов у лабораторных животных с индуцированным нейровоспалением.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материалов для анализа использовали сведения научной литературы из поисковых систем и курируемых баз данных Google Scholar, PubMed, ScienceDirect, Scopus, e-Library, по релевантным ключевым словам и словосочетаниям, приведенным на рисунке 1. Предпочтение отдавалось моделям, использующим в качестве лабораторных животных крыс и мышей в связи с высокой доступностью и изученностью особенностей их метаболизма.

В результате было найдено 148 статей в период с 1975 по 2022 год. После первичного анализа заголовков и аннотаций было удалено 26 повторяющихся и нерелевантных статей, дизайн которых не включал в себя описания аспектов или закономерностей процесса нейровоспаления, эффектов каппа-опиоидных рецепторов, а также экспериментальных животных моделей, применяемых для моделирования подобных патологических состояний. Итого в обзор было включено 122 публикации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Общая характеристика каппа-опиоидных рецепторов

Опиоидные рецепторы сопряжены с G-белком и локализованы преимущественно в нервной системе. Выделяют четыре основных вида опиоидных рецепторов – дельта (δ), каппа (κ), мю (μ) и ноцицептивные [20]. Опиоидные рецепторы опосредуют ряд клинически-значимых фармакологических эффектов – обезболивающий [21], противосудорожный [22], седативный [23], нейропротекторный [24] и некоторые другие. Также в исследованиях установлено, что каппа-опиоидные рецепторы экспрессируются на иммунных клетках [25], и их активация ведет к снижению секреции IL-6, TNF- α и IL-1 β , что способствует подавлению развития иммунного ответа [26].

Внутриклеточный механизм реализации эффекта активации КОР связан с диссоциацией двух субъединиц G-белка – $G\alpha_i$ и $G\beta_\gamma$. Первая из них приводит к ингибированию аденилатциклазы, которая участвует в синтезе цАМФ, и осуществляет активацию калиевых каналов в постсинаптическом

нейроне. В то же время субъединица $G\beta_\gamma$ обуславливает закрытие потенциал-зависимых кальциевых каналов в пресинаптическом нейроне. Суммарно это приводит к уменьшению чувствительности нейрона к возбуждающим нейромедиаторам и снижению их выброса [27].

Ряд каппа-опиоидных агонистов способен проявлять смещенный агонизм [28], что связано с наличием нескольких параллельных пострецепторных сигнальных путей, среди которых можно выделить ингибирование аденилатциклазы и активацию β -аррестинового пути. При этом второй сигнальный путь вызывает фосфорилирование митоген-активируемой протеинкиназы p38 (p38 MAPK) и ее активацию, что приводит к транслокации гена SERT и развитию дисфории.

Кроме того, сообщалось о способности агонистов КОР влиять на процессы нейродегенерации и нейровоспаления [29, 30]. Предполагается, что воздействие происходит за счет активации p-STAT3 и подавления каспазы-3. Также агонисты КОР снижают эксайтотоксичность глутамата, ингибируя рост уровня свободного Ca^{2+} в синапсоммах и высвобождение пресинаптического глутамата за счет закрытия Ca^{2+} каналов N-типа и ограничения его поступления [31–33].

Необходимо отметить, что кроме влияния на воспалительные процессы, агонисты КОР способствуют ремиелинизации и созреванию олигодендроцитов, тем самым подтверждая свои аутоиммунные свойства. Предполагается, что данный эффект обусловлен активацией киназы GPCR, семейства MAPK (ERK 1/2, p38 и JNK), а также каскада JAK2/STAT3 и IRF2 [27]. Наиболее перспективными с точки зрения фармакологического воздействия представляются пути ERK 1/2 и JAK2/STAT3, т.к. клетки-предшественники олигодендроцитов (КПО) после повреждения нервной ткани увеличивают экспрессию pSTAT3 в областях усиленного олигодендрогенеза, а делеция STAT3 в КПО снижает дифференцировку олигодендроцитов во время роста и развития клеток [31]. Таким образом, если КОР специфически запускают фосфорилирование STAT3 в клетках линии олигодендроцитов, это может быть одним из путей, посредством которого КОР-агонисты реализуют свои промиелинизирующие эффекты в сочетании с передачей сигналов ERK1/2 [34].

2. Механизмы нейровоспаления на различных экспериментальных моделях

2.1. Модели, основанные на иммунном ответе

2.1.1. LPS-индуцированное нейровоспаление

Данная модель является одной из наиболее широко используемых моделей, доступных для применения как в условиях *in vivo*, так и *in vitro*. Введение липополисахарида (LPS) сопряжено с образованием комплекса LPS-CD14, который активирует микроглию и вызывает высвобождение

провоспалительных медиаторов: цитокинов, хемокинов и белков системы комплемента. В зависимости от режима и длительности введения, а также от возраста животных, картина LPS-индуцированного воспаления может существенно различаться.

Ключевая роль в развитии нейровоспаления отводится микроглии, которая реагирует на повреждение головного мозга и прочие стрессовые факторы активацией с переходом в M_1 -подобный (провоспалительный) или альтернативный M_2 -подобный (противовоспалительный) фенотипы. Фенотип M_1 ассоциирован с продукцией провоспалительных цитокинов, которые могут приводить к повреждению нервных клеток, апоптозу астроцитов и нарушению гематоэнцефалического барьера, в то время как фенотип M_2 играет противоположную роль [35].

Взаимосвязь нейровоспаления, вызванного LPS, с каппа-опиоидной рецепторной системой к настоящему времени достаточно хорошо изучена. LPS снижает экспрессию KOR. Предполагается, что снижение функции KOR стимулирует продукцию провоспалительных цитокинов в головном мозге преимущественно за счет воздействия на микроглию [36].

Динорфины, как основные лиганды KOR, вызывают M_2 поляризацию микроглии за счет подавления TLR4/NF- κ B пути, что было показано на BV-2 микроглиальных клетках, стимулированных LPS. Наряду с этим обратный эффект достигался в результате применения ингибитора KOR GNTI [19].

Важно отметить, что после введения динорфина-А (эндогенного агониста KOR) происходило ингибирование LPS-индуцированной экспрессии CD16/32 и подавлялась продукция M_1 цитокинов (IL-1 β и IL-6). Аналогичный эффект развивался при использовании селективного каппа-агониста U50,488 и блокировался антагонистом KOR норбинаторфимином (nor-BNI) [37]. Также динорфин-А увеличивал экспрессию CD206 и продукцию M_2 -связанных цитокинов (IL-4 и IL-10) в клетках BV-2, стимулированных LPS. В отличие от динорфина-А, специфический антагонист KOR GNTI вызывал противоположные эффекты и предотвращал опосредованную динорфином-А поляризацию микроглии BV-2 в фенотип M_2 [19].

Важно отметить, что микроглия неравномерно распределена по центральной нервной системе [38]. Показано, что содержание мРНК, кодирующей KOR в микроглии, наиболее высоко в области полосатого тела [39]. Учитывая это, есть необходимость в дальнейших исследованиях, чтобы понять существуют ли региональные различия реакции микроглии в ответ на стимуляцию или блокирование KOR. Кроме того, неясно насколько велика роль KOR микроглии в регуляции нейровоспаления, которое, помимо прочего, может также зависеть

от влияния циркулирующих провоспалительных цитокинов, высвобождаемых другими иммунными клетками [36]. Немаловажное значение имеют возраст и половая принадлежность особей, которые подвергаются воздействию LPS, поскольку раннее введение LPS может провоцировать (в зависимости от пола) разные реакции в поведении и относительных уровнях экспрессии про- и противовоспалительных факторов [40, 41]. Сообщается, что у молодых крыс, в отличие от более зрелых, при формировании нейровоспаления повышался уровень IL-1 β , но уровень интерферона- γ возрастает заметно медленнее [42].

Показано, что LPS повышает уровни TNF- α и IL-1 β за счет взаимодействия с Toll-подобным рецептором 4 (TLR4) [43]. Уровни TNF- α и IL-1 β регулируются ядерным фактором κ B (NF- κ B). Хотя эти цитокины являются ключевыми элементами врожденного иммунного ответа, их избыточная экспрессия может привести к эндотоксемии. В исследованиях показано, что каппа-опиоидные агонисты U50,488 и сальвинорин-А снижают уровни TNF- α и IL-10 (но не IL-1 β) в перитонеальных макрофагах, стимулированных LPS [44, 45].

В заключение можно отметить, что несмотря на достаточно глубокую изученность модели необходимы дальнейшие исследования для выявления полной сети взаимодействия между KOR и путями LPS-индуцированного нейровоспаления.

2.1.2. Нейровоспаление, индуцированное полирибонуклеиновой-полирибонуклеотидовой кислотой

Полирибонуклеиновая-полирибонуклеотидовая кислота (poly(I:C)) представляет собой комплекс синтетических нуклеиновых кислот, формирующих двухцепочечную молекулу РНК, которая при введении экспериментальным животным вызывает формирование системного воспаления, которое в свою очередь приводит к развитию нейровоспаления [46].

На основании этого была предложена модель, предполагающая однократную внутривенную инъекцию poly(I:C), вводимую беременным самкам мышей на 17 сут гестации (GD17). Системная иммунная провокация на поздних сроках беременности (GD17) повышала вероятность формирования возраст-зависимой патологии головного мозга, а также когнитивных нарушений [47].

Механизм развития нейровоспаления в данном случае опосредуется TLR3-индуцированной активацией микроглии [48], за которой следует NF- κ B-зависимая индукция провоспалительных цитокинов, включая IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α и интерфероны типа I и II [49]. В свою очередь каппа-опиоидные агонисты способны подавлять развитие воспаления за счет снижения уровня перечисленных цитокинов, а именно IL-1 α , IL-1 β , IL-2 и IL-17 [50].

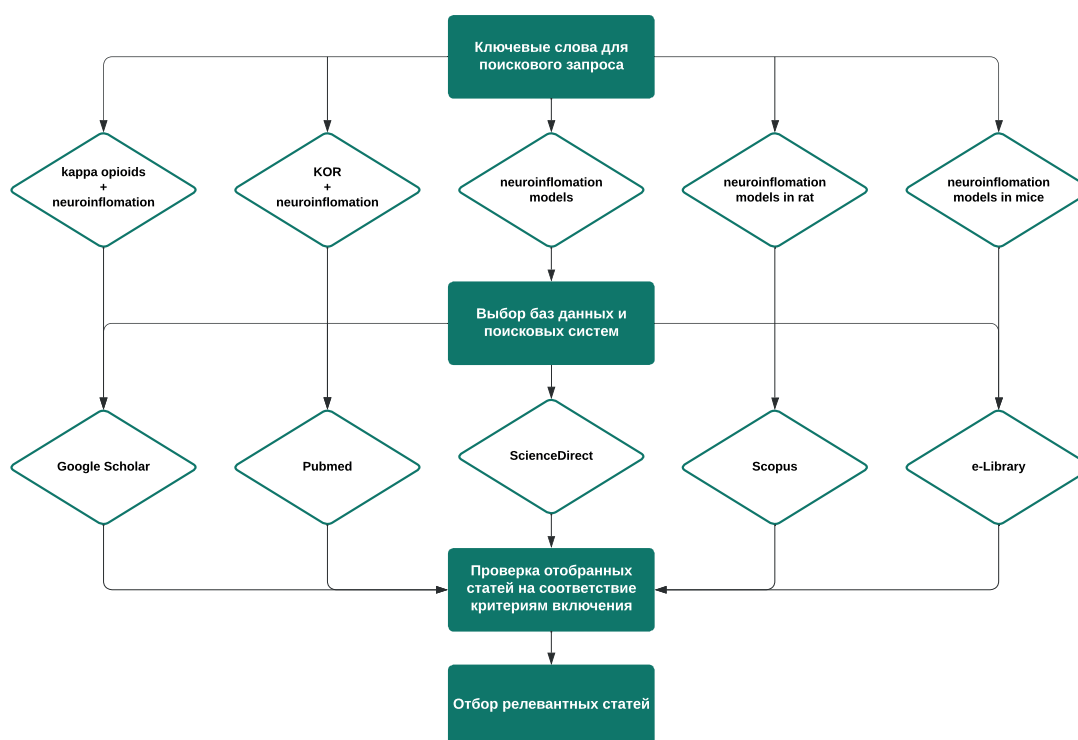


Рисунок 1 – Блок-схема с описанием методологии поиска и отбора литературных источников

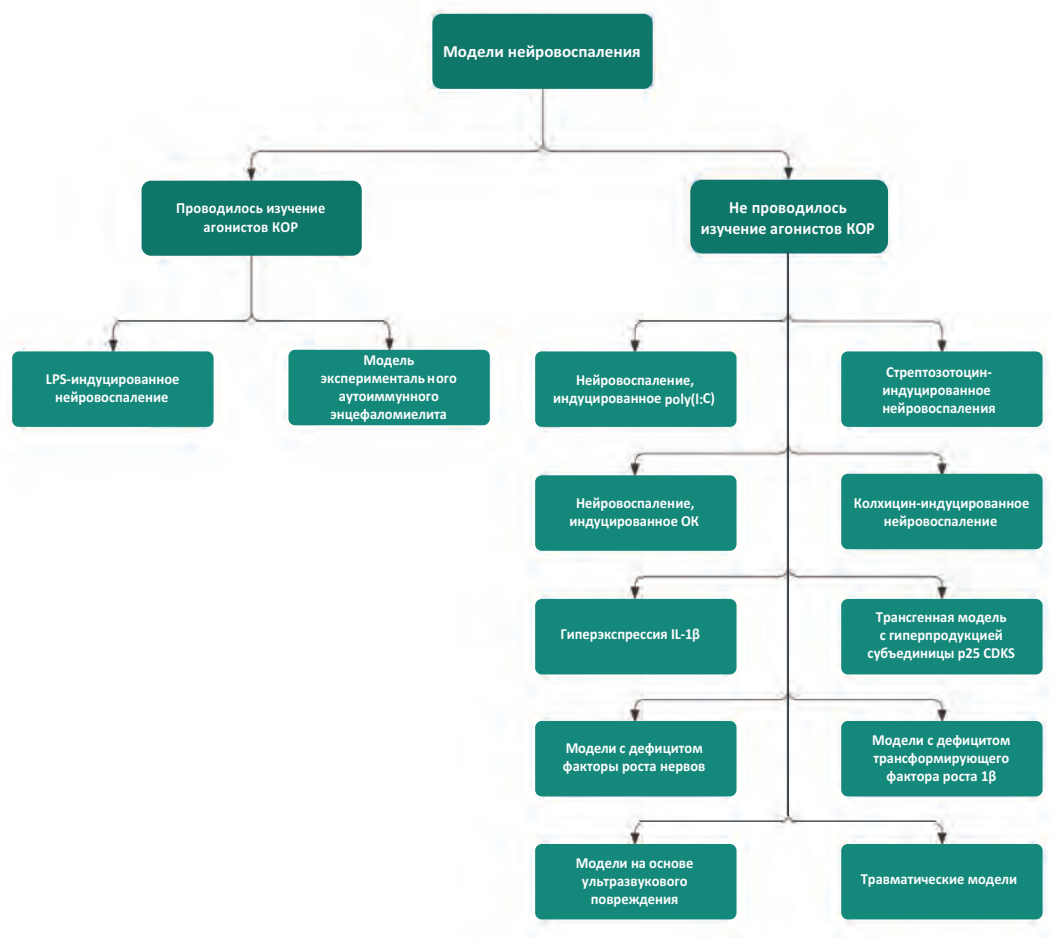


Рисунок 2 – Блок-схема с экспериментальными моделями нейровоспаления, которые представляются перспективными для изучения эффективности каппа-опиоидных агонистов

Сообщается, что poly(I:C) усиливает синтез ферментов, связанных с образованием простагландина E2 благодаря активации различных сигнальных путей микроглии. Кроме того, усиливается TLR4-ассоциированный сигналинг, который играет важную роль в синтезе ЦОГ-2 и mPGES-1. Таким образом, предполагается, что два этих механизма TLR3-независимо опосредуют нейропатологические эффекты poly(I:C) [51, 52].

Poly(I:C) может быть связана и с другими мишенями. Например, у мышей с инактивированным геном MDA5 (MDA5^{-/-}), ассоциированным с дифференцировкой меланомы, который представляет собой цитозольный рецептор опознавания паттерна (распознает вирусную РНК). Было показано, что у мышей MDA5^{-/-} введение poly(I:C) не приводило к повышению уровня IFN- γ в сыворотке по сравнению с мышами дикого типа. Продукция IL-6 и IL-12p40 также была нарушена у мышей MDA5^{-/-} [51]. Более того, poly(I:C) может также запускать формирование инфламماسом NLRP3 за счет TLR3- и MDA5-независимых путей [54]. При этом недавние исследования показали, что нейровоспаление, опосредованное NLRP3, тесно связано со вторичным повреждением головного мозга после внутримозгового кровоизлияния [55].

Poly(I:C) активирует MAPK, которые являются важными регуляторами экспрессии медиаторов воспаления [52]. Например, активация ERK способствует повышению продукции оксида азота и IL-1 β в макрофагах [56].

2.1.3. Модель экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита

Модель экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЭАЭ) в основном используется в качестве животной модели аутоиммунных воспалительных заболеваний ЦНС, как правило, в исследованиях рассеянного склероза (РС) для изучения патогенеза, а также тестирования новых терапевтических подходов к профилактике и лечению данного заболевания. Некоторые варианты исполнения данной модели воспроизводят и другие менее распространенные воспалительные заболевания ЦНС, такие как монофазный острый диссеминированный энцефаломиелит (ОРЭМ) или оптикомиелит (болезнь Девика).

ЭАЭ включает две фазы: индуцированную и эффекторную. Фаза индукции включает примирование специфичных к миелиновому эпитопу CD4⁺ Т-клеток путем инъекции миелина или миелинового антигена. Во время эффекторной фазы активированные миелин-специфические Т-клетки мигрируют в ЦНС, продуцируя хемокины и цитокины, которые способствуют притоку периферических мононуклеарных фагоцитов в ЦНС. Цитокины, продуцируемые Т-клетками, также активируют

периферические моноциты и резидентные клетки микроглии. В результате формируется аксональная демиелинизация, опосредованная фагоцитарной активностью активированных мононуклеарных клеток, а также воспалительного и цитотоксического действия цитокинов (например, IFN- γ , TNF- β , IL-17, TNF- α и NO), высвобождаемых из активированных CD4⁺ Т-клеток и моноцитов [57]. Как правило, через 7–12 сут после иммунизации инфильтрирующие воспалительные клетки разрушают миелиновую оболочку, что приводит к двигательным нарушениям и прогрессирующему параличу задних конечностей [58]. Пассивный или адаптивный переносной ЭАЭ (ап-ЭАЭ) может быть индуцирован у животных-реципиентов путем переноса патогенных, миелин-специфических CD4⁺ Т-клеток, генерируемых у животных-доноров путем активной иммунизации, включает только эффекторную фазу [59].

Ранее проведенные исследования свидетельствуют о том, что активация КОР препятствует прогрессированию рассеянного склероза. Например, введение налфурафина и U50,488 способствовало восстановлению и ремиелинизации нервной ткани после ЭАЭ. Данный эффект блокировался КОР антагонистом, *nor*-BNI, что указывает на то, что налфурафин опосредует восстановление после ЭАЭ непосредственно через КОР. Кроме того, применение налфурафина уменьшало инфильтрацию ЦНС, особенно CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетками, и способствовало улучшению иммунорегуляторной среды за счет подавления Th17 ответов [2].

2.2. Нейротоксические модели

2.2.1. Стрептозотоцин-индуцированное нейровоспаление

В настоящее время стрептозотоцин в основном используется при изучении сахарного диабета [60]. Непосредственное воздействие стрептозотоцина на клетки головного мозга при системном введении невозможно в связи с неспособностью молекулы проходить через гематоэнцефалический барьер [61]. Однако некоторые исследования свидетельствуют о развитии у лабораторных животных дегенерации нейронов в лобных долях и атрофии гиппокампа как следствия развития сахарного диабета [62]. Предполагается, что этот эффект связан с такими патологическими процессами, как оксидативный стресс, вызванный образованием пероксида водорода и оксида азота, а также повреждение ДНК клеток [63, 64].

Моделирование нейровоспаления проводится путем внутривенной или интрацеребровентрикулярной инъекции стрептозотоцина. Инъекция стрептозотоцина (1–3 мг/кг) вызывала формирование нейродегенеративных симптомов, схожих с болезнью Альцгеймера (БА) [65].

Развитие требуемых проявлений нейродегенерации занимает от 1 до 6 недель в зависимости от используемого вида лабораторных животных и их индивидуальных особенностей [66, 67]. Также необходимо отметить, что в данной модели формируется не только нейровоспаление, но и иные проявления, характерные для БА.

Ряд авторов предполагают, что ключевым механизмом развития заболевания при БА у человека, а также в модели стрептозотцин-индуцированного нейровоспаления, является снижение сигнальной активности PI3K/AKT и внутринейронального метаболизма глюкозы [68]. В экспериментальных исследованиях эпилепсии показано, что динорфин, действуя на КОР, активирует пути PI3K/AKT, благодаря чему оказывает нейропротективное действие [69].

На периферии основная роль инсулина заключается в снижении концентрации глюкозы в крови за счет увеличения экспрессии GluT4, который в большей степени локализован в жировой и мышечной ткани, однако он также был обнаружен в гиппокампе головного мозга. В связи с чем исследователи предположили, что в условиях повышенной энергетической потребности GluT4 также участвует в переносе глюкозы в клетки мозга, выполняя вспомогательную функцию, наряду с основным транспортером нервной ткани GluT3. GluT4 играет важную роль в процессах памяти, в связи с чем снижение количества данного транспортера может лежать в основе когнитивных нарушений, возникающих на фоне резистентности к инсулину [70]. В свою очередь, агонисты КОР способны уменьшать проявления сахарного диабета за счет транслокации Glut4 и фосфорилирования адипонектина [71], в том числе обусловленные сахарным диабетом нейровоспалительные процессы.

Нейропротективное действие каппа-опиоидных агонистов также связано со снижением концентрации АФК и оксидативного стресса, что является одним из ключевых составляющих нейровоспаления в стрептозотцин-индуцированной модели [72]. Как минимум в одном исследовании было обнаружено, что агонисты КОР за счет активации JNK стимулировали продукцию АФК, однако остается неясным, при каких условиях продукция АФК опосредуется КОР и какой вклад КОР-индуцированные АФК вносят в нейротоксичность [73].

2.2.2. Нейровоспаление, индуцированное омега-3 кислотой

Омега-3 кислота (ОК) избирательно ингибирует активность протеинфосфатазы 2A [74], что является одним из элементов патогенеза БА и в ряде исследований ассоциируется с нейровоспалением [75]. Нейротоксическое действие ОК способствует нейродегенерации наряду с гиперфосфорилированием тау-белка, апоптозом

клеток, отложением бета-амилоида, окислительным стрессом, нейровоспалением, [76-78] которые клинически сопровождаются когнитивными нарушениями, в частности расстройствами памяти [79, 80].

В некоторых публикациях [81, 82] указывается на высокую эффективность препаратов, предназначенных для терапии деменции в отношении симптомов, формируемых введением ОК. Это позволяет предположить, что нейровоспаление является вторичным по отношению к нейродегенерации. В связи с этим предложена экспериментальная модель синтагиппокампальным введением ОК, направленная на формирование оксидативного стресса [79].

В исследованиях было обнаружено, что каппа-опиоидный агонист U50,488H снижает сывороточные уровни TNF- α , IL-1 β и IL-6, подавляет экспрессию NF- κ B в гиппокампе, а также скорость апоптоза нейронов гиппокампа у крыс посредством активации КОР, что служит свидетельством его эффективности в отношении борьбы с оксидативным стрессом и нейровоспалением [83]. Указанные цитокины могут быть использованы в качестве маркеров при изучении каппа-опиоидных лигандов в модели нейровоспаления, индуцированного ОК.

2.2.3. Колхицин-индуцированное нейровоспаление

Известно, что колхицин, как цитотоксический агент, вызывает нарушение аксоплазматического транспорта, что приводит к гибели нейронов [84]. Однако в недавних исследованиях было также показано, что при системном введении колхицина наблюдается повышение концентрации ЦОГ-2 в цитоплазме клеток [85]. Подобная реакция ведет к развитию нейровоспаления с проявлением характерных когнитивных и поведенческих симптомов [82].

В модели колхицин-индуцированного нейровоспаления основные нейропротекторные эффекты КОР могут быть связаны с уменьшением избыточной продукции iNOS, ЦОГ-2, TNF- α и IL-1 β , что наблюдалось при исследовании LPS-индуцированного воспаления в альвеолярных макрофагах [86]. Также, как было описано выше, КОР влияют на оксидативный стресс, в частности одним из эффектов эндогенного агониста КОР динорфина-А было снижение оксидативного стресса при эпилептиформном повреждении нейронов гиппокампа [69].

2.3. Генетически обусловленные модели

2.3.1. Гиперэкспрессия IL-1 β

Характерным проявлением нейровоспаления является повышенная продукция IL-1 β [87], что послужило основанием для создания модели,

основанной на использовании трансгенных мышей с эксцизионной активацией гена IL-1 β [88]. Повышенный уровень IL-1 β приводил к развитию микроглиоза, астроглиоза и хронического повышения провоспалительных агентов. Тем не менее, в данной модели практически не изменялся синтез предшественника β -амилоида, а количество амилоидных бляшек даже снижалось [89], что заметно отличает данную модель от прочих. При этом в данной модели гистологически не обнаруживался апоптоз нейронов, несмотря на значительные когнитивные нарушения [90]. Таким образом, данный метод может служить для воспроизведения нейровоспаления без нейродегенеративных изменений.

Воздействие агонистов KOP в данной модели может заключаться в их способности подавлять проявления воспалительного процесса за счет снижения уровня IL-1 α , IL-1 β , IL-2 и IL-17 [91] и ингибирования Nod-подобного рецептора семейства NALP – NLRP3.

2.3.2. Трансгенная модель с гиперпродукцией субъединицы p25 циклинзависимой киназы 5 (CDK5)

Согласно литературным данным изменения в экспрессии отдельных специфических белков клеточного цикла могут служить как биомаркером, так и причиной развития нейровоспалительных процессов. Особое внимание уделяется циклинам и циклинзависимым киназам, в частности CDK5 [92].

В норме, в клетках головного мозга экспрессируется субъединица p35, которая, образуя комплекс с CDK5, участвует в кортикогенезе, регуляции метаболизма синаптических везикул, высвобождении нейротрансмиттеров и передаче сигналов [93]. При патологии активируется расщепление субъединицы p35 до p25 за счет воздействия кальций-зависимой киназы, что приводит к дисрегуляции CDK5 и развитию нейротоксических эффектов [94]. Примечательно, что в условиях нейротоксичности происходит усиление конверсии p35 в p25, таким образом формируется порочный цикл [95].

Кроме того, подобные явления наблюдались и у пациентов с нейродегенеративными заболеваниями [94]. Считается, что комплекс p25-CDK5 индуцирует гиперфосфорилирование тау-белка [96]. В свою очередь, у модельных животных (в частности, мышей) эта реакция развивается вторично по отношению к нейровоспалению, которое характеризуется астроцитозом и повышенным уровнем провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , IL-1 β и MIP-1 α [97].

Если рассматривать хронологическую последовательность изменений у мышей, то, в первую очередь, формируется нейровоспаление

(приблизительно через 1 неделю), затем гиперфосфорилирование тау-белка (5-я неделя), когнитивный дефицит (7-я неделя) и накопление амилоида (9-я неделя) [98, 99].

2.3.3. Модели с дефицитом фактора роста нервов

В основе данной модели лежит создание трансгенных лабораторных животных, в организме которых экспрессируются антитела к фактору роста нервов (NGF). У таких животных наблюдается развитие нейродегенеративных процессов, которые характеризуются дефицитом зрительного распознавания и пространственной памяти, дегенерацией нейронов, холинергическим дефицитом, гиперфосфорилированием тау-белка и появлением бляшек β -амилоида [100, 101]. На биохимическом уровне также наблюдается экспрессия ряда провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 β , TNF- α и IFN- γ -индуцированная АТФаза, за счет развития аутоиммунной реакции [102].

Агонисты KOP способны подавлять развитие данного процесса за счет ингибирования TLR4-зависимого сигнального пути в нейронах периферической нервной системы, что приводит к подавлению выработки провоспалительных интерлейкинов и реализации иммуносупрессивного эффекта [103].

2.3.4. Модели с дефицитом трансформирующего фактора роста β

Трансформирующий фактор роста- β (TGF- β) – цитокин, задействованный в различных звеньях воспалительного процесса. Его эффекты зависят от вида клеток-мишеней, клеточной среды, а также степени и продолжительности воздействия [104]. В ЦНС TGF- β продуцируется как нейронами, так и клетками глии [105]. В частности, TGF- β 1 оказывает протекторное воздействие при нейропатиях за счет предотвращения активации глии, снижения степени высвобождения провоспалительных цитокинов, а также уменьшения инфильтрации Т-лимфоцитов и макрофагов в периферическую нервную систему. Примечательно, что умеренная аугментация синтеза TGF- β 1 в астроглии увеличивала клиренс А β у старых трансгенных мышей с экспрессией гена белка-предшественника человеческого β -амилоида [106], подтверждая нейропротекторную роль TGF- β . Напротив, у лабораторных животных с нокаутом гена TGF- β полностью отсутствуют описанные выше нейропротекторные эффекты и выявляется выраженная нейродегенерация [107].

Тем не менее, при изучении образцов аутопсического материала, взятого у пациентов с БА, был обнаружен повышенный уровень TGF- β в сосудах головного мозга, что способствовало высвобождению провоспалительных цитокинов, таких как TNF- β и

IL-1 β , из эндотелиальных клеток головного мозга [108]. Это согласуется с экспериментальными данными, полученными на трансгенных мышах, где продолжительная гиперэкспрессия TGF- β коррелирует с усилением периваскулярного амилоидогенеза [109]. Приведенные данные ставят под сомнение нейропротекторную роль TGF- β и, как следствие, репрезентативность модели.

2.4. Физические модели

2.4.1. Модели на основе ультразвукового повреждения

Перечисленные выше модели воздействуют на организм лабораторных животных системно, вовлекая в патологический процесс различные органы и ткани, в том числе за пределами нервной системы. Изолированное воздействие на головной мозг может быть достигнуто с помощью методики, предложенной Kovacs Z.I. и соавторами, сущность которой состоит в применении сфокусированных ультразвуковых импульсов [110]. Воздействие высокочастотного звука приводило к эффекту акустической кавитации и возникновению стерильного повреждения ГЭБ с развитием воспалительной реакции в паренхиме головного мозга, что биохимически подтверждалось повышением уровня белка теплового шока 70, IL-1, IL-18, TNF α и экспрессией pAKT, и pGSK3 β . Однако активация иных сигнальных путей, таких как p38-MAPK, pERK и pJNK, не была подтверждена.

Данный подход предложен для терапии опухолевых заболеваний [111], а также в качестве метода, облегчающего проникновение лекарственных средств через ГЭБ [112]. Тем не менее, можно полагать, что локальное развитие нейровоспаления, сопровождающее разрушение участка ГЭБ, может быть использовано для изучения свойств потенциальных нейропротекторных препаратов, в том числе агонистов КОР.

2.4.2. Травматические модели

Альтернативным вариантом физического воздействия может являться модель механического повреждения головного мозга или черепно-мозговой травмы (ЧМТ). Нейровоспаление в данном случае развивается во время острой фазы и сохраняется на протяжении хронической фазы [113]. Важно отметить, что воспаление может сопутствовать восстановительным процессам после ЧМТ, что нередко приводит к развитию вторичных нежелательных эффектов, связанных с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов [114].

В результате ЧМТ наблюдается активация глиальных клеток, высвобождение провоспалительных медиаторов, рекрутирование лейкоцитов (ускоряется миграция периферических иммунных клеток к пораженному участку)

[115, 116]. Происходит активация микроглии с развитием дисбаланса между M₁ и M₂ фенотипами [117]. Данные процессы повышают вероятность развития цитотоксичности и долгосрочных нейродегенеративных процессов.

Помимо ЧМТ нейровоспаление может развиваться вследствие иных травм. Так, например, предложена модель перелома большеберцовой кости у крыс [118]. В приведенном исследовании указывается, что подобная травма приводит к увеличению уровня IL-1 β и маркера астроглиоза GFAP, а также к экспрессии микроглиального и астроцитарного ответов в гиппокампе, однако точный механизм развития данного явления не вполне очевиден. В более ранних публикациях также указывалось на взаимосвязь перелома большеберцовой кости и тяжести последствий ЧМТ [119]. Авторы отмечают более выраженные признаки нейровоспаления и отека мозга у животных, подверженных сочетанному травматическому воздействию. Предположительно, гиперпродукцию медиаторов воспаления в головном мозге можно связать с развитием системного воспаления, которое возникает в результате перелома крупных костей [120], и, как следствие, более выраженными последствиями ЧМТ.

Учитывая, что воспаление после ЧМТ реализуется через типовые сигнальные пути, предполагается, что воздействие агонистов КОР будет оказывать выраженный нейропротекторный эффект. Активация КОР в данном случае приводит к подавлению выработки провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6, вызывая смещение баланса в пользу нейропротекторного фенотипа M₂. Принимая во внимание высокую распространенность ЧМТ в России [121] и мире [122], оценка терапевтической ценности каппа-опиоидных агонистов в данной модели представляется особенно перспективной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На фоне заболеваний, связанных с нейровоспалительными процессами в головном мозге, повышается плотность иммунореактивной микроглии, олигодендроглия претерпевает дистрофические, апоптотические и некротические изменения, наблюдается демиелинизация и дегенерация аксонов, развивается дисбаланс цитокинов. Учитывая трудности лечения заболеваний, связанных с нейровоспалением, возникает необходимость поиска и разработки новых лекарственных средств.

К настоящему времени противовоспалительные эффекты каппа-опиоидных агонистов при нейровоспалении четко установлены в исследованиях. В реализацию данных эффектов может быть вовлечено несколько механизмов, которые связаны с воздействием на нейроны, глию

(в первую очередь микроглию), а также клетки иммунной системы (как в пределах ЦНС, так и на периферии). Тем не менее, клинический потенциал применения капта-опиоидных агонистов при состояниях, сопровождающихся нейровоспалением, еще недостаточно изучен.

Наиболее хорошо изучена модель нейровоспаления, вызванного LPS, в том числе на ней показана противовоспалительная активность КОР-агонистов. Также в настоящее время активно применяются методы, основанные на генетической модификации животных, а также различные варианты

физических и травматических моделей, тем не менее их репрезентативность (способность наиболее полно и адекватно воспроизводить конкретную патологию) может вызывать сомнения, как закономерное следствие избыточного редукционизма, поскольку нейровоспаление отличается крайне сложным патогенезом и этиологией (Рис. 2).

Имеется ряд моделей, в которых активность лигандов КОР ранее не оценивалась. Это открывает пул возможностей для дальнейшего изучения противовоспалительных свойств данного класса соединений.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

К.Ю. Калитин – постановка задач, концепция, анализ научной и методической литературы, написание и редактирование статьи; А.А. Спасов – критический пересмотр черновика рукописи с внесением замечаний интеллектуального содержания, финальное утверждение рукописи; О.Ю. Муха – сбор материала, написание, редактирование и оформление текста рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Григорьев Е.В., Шукевич Д.Л., Плотников Г.П., Хуторная М.В., Цепочкина А., Радивилко А.С. Нейровоспаление в критических состояниях: механизмы и протективная роль гипотермии // *Фундаментальная и клиническая медицина*. – 2016. – Т. 1, № 3. – С. 88–96.
2. Denny L., Al Abadey A., Robichon K., Templeton N., Prinszano T.E., Kivell B.M., La Flamme A.C. Nalfurafine reduces neuroinflammation and drives remyelination in models of CNS demyelinating disease // *Clinical & translational immunology*. – 2021. – Vol. 10, No. 1. – Art. ID: e1234. DOI:10.1002/cti.1234
3. Campos A.C.P., Antunes G.F., Matsumoto M., Pagano R.L., Martinez R.C.R. Neuroinflammation, pain and depression: an overview of the main findings // *Frontiers in Psychology*. – 2020. – Vol. 11. – Art. ID: 1825. DOI:10.3389/fpsyg.2020.01825
4. Zindler E., Zipp F. Neuronal injury in chronic CNS inflammation // *Best. Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* – 2010. – Vol. 24, No.4. – P. 551–562. DOI:10.1016/j.bpa.2010.11.001
5. Boche D., Perry V.H., Nicoll J.A. Review: activation patterns of microglia and their identification in the human brain // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* – 2013. – Vol. 39, No. 1. – P. 3–18. DOI:10.1111/nan.12011
6. Ahn J.J., Abu-Rub M., Miller R.H. B Cells in Neuroinflammation: New Perspectives and Mechanistic Insights // *Cells*. – 2021. – Vol. 10, No. 7. – Art. ID: 1605. DOI:10.3390/cells10071605
7. Lenz K.M., Nelson L.H. Microglia and Beyond: Innate Immune Cells As Regulators of Brain Development and Behavioral Function // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – Art. ID: 698. DOI:10.3389/fimmu.2018.00698
8. DiSabato D.J., Quan N., Godbout J.P. Neuroinflammation: the devil is in the details // *J. Neurochem.* – 2016. – Vol. 139, Suppl. 2. – P. 136–153. DOI:10.1111/jnc.13607
9. Wang W.Y., Tan M.S., Yu J.T., Tan L. Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease // *Ann. Transl. Med.* – 2015. – Vol. 3, No. 10. – Art. ID: 136. DOI:10.3978/j.issn.2305-5839.2015.03.49
10. Wang Q., Liu Y., Zhou J. Neuroinflammation in Parkinson's disease and its potential as therapeutic target // *Transl. Neurodegener.* – 2015. – Vol. 4. – Art. ID: 19. DOI:10.1186/s40035-015-0042-0
11. Levey D.F., Stein M.B., Wendt F.R., Pathak G.A., Zhou H., Aslan M., Quaden R., Harrington K.M., Nuñez Y.Z., Overstreet C., Radhakrishnan K., Sanacora G., McIntosh A.M., Shi J., Shringarpure S.S.; 23andMe Research Team; Million Veteran Program; Concato J., Polimanti R., Gelernter J. Bi-ancestral depression GWAS in the Million Veteran Program and meta-analysis in >1.2 million individuals highlight new therapeutic directions // *Nat. Neurosci.* – 2021. – Vol. 24, No. 7. – P. 954–963. DOI:10.1038/s41593-021-00860-2
12. Wittenberg G.M., Greene J., Vértés P.E., Drevets W.C., Bullmore E.T. Major Depressive Disorder Is Associated With Differential Expression of Innate Immune and Neutrophil-Related Gene Networks in Peripheral Blood: A Quantitative Review of Whole-Genome Transcriptional Data From Case-Control Studies // *Biol. Psychiatry*. – 2020. – Vol. 88, No. 8. – P. 625–637. DOI:10.1016/j.biopsych.2020.05.006
13. Hodes G.E., Pfau M.L., Leboeuf M., Golden S.A., Christoffel D.J., Bregman D., Rebusi N., Heshmati M., Aleyasin H., Warren B.L., LeBonté B., Horn S., Lapidus K.A., Stelzhammer V., Wong E.H., Bahn S., Krishnan V., Bolaños-Guzmán C.A., Murrough J.W., Merad M., Russo S.J. Individual differences in the peripheral immune system promote resilience versus susceptibility to social stress // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. – 2014. – Vol. 111, No. 45. – P. 16136–16141. DOI:10.1073/pnas.1415191111
14. Troubat R., Barone P., Leman S., Desmidt T., Cressant A., Atanasova B., Brizard B., El Hage W., Surget A., Belzung C., Camus V. Neuroinflammation and depression: A review // *Eur. J. Neurosci.* – 2021. – Vol. 53, No. 1. – P. 151–171. DOI:10.1111/ejn.14720
15. Lotrich F.E. Major depression during interferon-alpha treatment: vulnerability and prevention // *Dialogues Clin. Neurosci.* – 2009. – Vol. 11, No. 4. – P. 417–425. DOI:10.31887/DCNS.2009.11.4/felotrich

16. Khansari P.S., Sperlagh B. Inflammation in neurological and psychiatric diseases // *Inflammopharmacology*. – 2012. – Vol. 20, No. 3. – P. 103–107. DOI:10.1007/s10787-012-0124-x
17. Liu L., Xu Y., Dai H., Tan S., Mao X., Chen Z. Dynorphin activation of kappa opioid receptor promotes microglial polarization toward M2 phenotype via TLR4/NF- κ B pathway // *Cell Biosci.* – 2020. – Vol. 10. – Art. ID: 42. DOI:10.1186/s13578-020-00387-2
18. Kip E., Parr-Brownlie L.C. Reducing neuroinflammation via therapeutic compounds and lifestyle to prevent or delay progression of Parkinson's disease // *Ageing Res. Rev.* – 2022. – Vol. 78. – Art. ID: 101618. DOI:10.1016/j.arr.2022.101618
19. Tangherlini G., Kalinin D.V., Schepmann D., Che T., Mykicki N., Ständer S., Loser K., Wünsch B. Development of Novel Quinoxaline-Based κ -Opioid Receptor Agonists for the Treatment of Neuroinflammation // *J. Med. Chem.* – 2019. – Vol. 62, No. 2. – P. 893–907. DOI:10.1021/acs.jmedchem.8b01609
20. Peng J., Sarkar S., Chang S.L. Opioid receptor expression in human brain and peripheral tissues using absolute quantitative real-time RT-PCR // *Drug Alcohol. Depend.* – 2012. – Vol. 124, No. 3. – P. 223–228. DOI:10.1016/j.drugalcdep.2012.01.013
21. Stein C., Schäfer M., Machelka H. Attacking pain at its source: new perspectives on opioids // *Nat. Med.* – 2003. – Vol. 9, No. 8. – P. 1003–1008. DOI:10.1038/nm908
22. Kalitin K.Y., Grechko O.U., Spasov A.A., Anisimova V.A. Anticonvulsant Effect of Novel Benzimidazole Derivative (RU-1205) in Chronic Intermittent Ethanol Vapor Exposure Model in Mice // *Eksp. Klin. Farmakol.* – 2015. – Vol. 78, No. 4. – P. 3–5.
23. Paton K.F., Atigari D.V., Kaska S., Prisinzano T., Kivell B.M. Strategies for Developing κ Opioid Receptor Agonists for the Treatment of Pain with Fewer Side Effects // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2020. – Vol. 375, No. 2. – P. 332–348. DOI:10.1124/jpet.120.000134
24. Hauser K.F., Aldrich J.V., Anderson K.J., Bakalkin G., Christie M.J., Hall E.D., Knapp P.E., Scheff S.W., Singh I.N., Vissel B., Woods A.S., Yakovleva T., Shippenberg T.S. Pathobiology of dynorphins in trauma and disease // *Front. Biosci.* – 2005. – Vol. 10. – P. 216–235. DOI:10.2741/1522
25. Rogers T.J. Kappa Opioid Receptor Expression and Function in Cells of the Immune System // *Handb. Exp. Pharmacol.* – 2022. – Vol. 271. – P. 419–433. DOI:10.1007/164_2021_441
26. Schank J.R., Goldstein A.L., Rowe K.E., King C.E., Marusich J.A., Wiley J.L., Carroll F.I., Thorsell A., Heilig M. The kappa opioid receptor antagonist JD1c attenuates alcohol seeking and withdrawal anxiety // *Addict. Biol.* – 2012. – Vol. 17, No. 3. – P. 634–647. DOI:10.1111/j.1369-1600.2012.00455.x
27. Al-Hasani R., Bruchas M.R. Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior // *Anesthesiology*. – 2011. – Vol. 115, No. 6. – P. 1363–1381. DOI:10.1097/ALN.0b013e318238bba6
28. Bruchas M.R., Chavkin C. Kinase cascades and ligand-directed signaling at the kappa opioid receptor // *Psychopharmacology (Berl.)*. – 2010. – Vol. 210, No. 2. – P. 137–147. DOI:10.1007/s00213-010-1806-y
29. Machelka H., Stein C. Leukocyte-derived opioid peptides and inhibition of pain // *J. Neuroimmune Pharmacol.* – 2006. – Vol. 1, No. 1. – P. 90–97. DOI:10.1007/s11481-005-9002-2
30. Borniger J.C., Hesp Z.C. Enhancing Remyelination through a Novel Opioid-Receptor Pathway // *J. Neurosci.* – 2016. – Vol. 36, No. 47. – P. 11831–11833. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2859-16.2016
31. Macdonald R.L., Werz M.A. Dynorphin A decreases voltage-dependent calcium conductance of mouse dorsal root ganglion neurons // *J. Physiol.* – 1986. – Vol. 377. – P. 237–249. DOI:10.1113/jphysiol.1986.sp016184
32. Rusin K.I., Giovannucci D.R., Stuenkel E.L., Moises H.C. Kappa-opioid receptor activation modulates Ca^{2+} currents and secretion in isolated neuroendocrine nerve terminals // *J. Neurosci.* – 1997. – Vol. 17, No. 17. – P. 6565–6574. DOI:10.1523/JNEUROSCI.17-17-06565.1997
33. Gannon R.L., Terrian D.M. Kappa opioid agonists inhibit transmitter release from guinea pig hippocampal mossy fiber synaptosomes // *Neurochem. Res.* – 1992. – Vol. 17, No. 8. – P. 741–747. DOI:10.1007/BF00969007
34. Hauser K.F., Aldrich J.V., Anderson K.J., Bakalkin G., Christie M.J., Hall E.D., Knapp P.E., Scheff S.W., Singh I.N., Vissel B., Woods A.S., Yakovleva T., Shippenberg T.S. Pathobiology of dynorphins in trauma and disease // *Front. Biosci.* – 2005. – Vol. 10. – P. 216–235. DOI:10.2741/1522
35. Li R., Zhou Y., Zhang S., Li J., Zheng Y., Fan X. The natural (poly)phenols as modulators of microglia polarization via TLR4/NF- κ B pathway exert anti-inflammatory activity in ischemic stroke // *Eur. J. Pharmacol.* – 2022. – Vol. 914. – Art. ID: 174660. DOI:10.1016/j.ejphar.2021.174660
36. Missig G., Fritsch E.L., Mehta N., Damon M.E., Jarrell E.M., Bartlett A.A., Carroll F.I., Carlezon W.A. Jr. Blockade of kappa-opioid receptors amplifies microglia-mediated inflammatory responses // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 2022. – Vol. 212. – Art. ID: 173301. DOI:10.1016/j.pbb.2021.173301
37. Parkhill A.L., Bidlack J.M. Reduction of lipopolysaccharide-induced interleukin-6 production by the kappa opioid U50,488 in a mouse monocyte-like cell line // *Int. Immunopharmacol.* – 2006. – Vol. 6, No. 6. – P. 1013–1019. DOI:10.1016/j.intimp.2006.01.012
38. Tan Y.L., Yuan Y., Tian L. Microglial regional heterogeneity and its role in the brain // *Mol. Psychiatry*. – 2020. – Vol. 25, No. 2. – P. 351–367. DOI:10.1038/s41380-019-0609-8
39. Saunders A., Macosko E.Z., Wysoker A., Goldman M., Krienen F.M., de Rivera H., Bien E., Baum M., Bortolin L., Wang S., Goeva A., Nemesh J., Kamitaki N., Brumbaugh S., Kulp D., McCarroll S.A. Molecular Diversity and Specializations among the Cells of the Adult Mouse Brain // *Cell*. – 2018. – Vol. 174, No. 4. – P. 1015–1030.e16. DOI:10.1016/j.cell.2018.07.028
40. Carlezon W.A. Jr., Kim W., Missig G., Finger B.C., Landino S.M., Alexander A.J., Mokler E.L., Robbins J.O., Li Y., Bolshakov V.Y., McDougall C.J., Kim K.S. Maternal and early postnatal immune activation produce sex-specific effects on autism-like behaviors and neuroimmune function in mice // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, No. 1. – Art. ID: 16928. DOI:10.1038/s41598-019-53294-z
41. Conway S.M., Puttick D., Russell S., Potter D., Roitman M.F., Chartoff E.H. Females are less sensitive than males to the motivational- and dopamine-suppressing effects of kappa opioid receptor activation // *Neuropharmacology*. – 2019. – Vol. 146. – P. 231–241. DOI:10.1016/j.neuropharm.2018.12.002
42. Bardou I., Kaercher R.M., Brothers H.M., Hopp S.C., Royer S., Wenk G.L. Age and duration of inflammatory environment differentially affect the neuroimmune response and catecholaminergic neurons in the midbrain and brainstem // *Neurobiol. Aging*. – 2014. – Vol. 35, No. 5. – P. 1065–1073. DOI:10.1016/j.neurobiolaging.2013.11.006
43. Kotanidou A., Xagorari A., Bagli E., Kitsanta P., Fotsis T., Papapetropoulos A., Roussos C. Luteolin reduces lipopolysaccharide-induced lethal toxicity and expression of proinflammatory molecules in mice // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 165, No. 6. – P. 818–823. DOI:10.1164/ajrccm.165.6.2101049
44. Aviello G., Borrelli F., Guida F., Romano B., Lewellyn K., De Chiara M., Luongo L., Zjawiony J.K., Maione S., Izzo A.A., Capasso R. Ultrapotent effects of salvinorin A, a

- hallucinogenic compound from *Salvia divinorum*, on LPS-stimulated murine macrophages and its anti-inflammatory action in vivo // *J. Mol. Med. (Berl.)*. – 2011. – Vol. 89, No. 9. – P. 891–902. DOI:10.1007/s00109-011-0752-4
45. Cario E., Podolsky D.K. Differential alteration in intestinal epithelial cell expression of toll-like receptor 3 (TLR3) and TLR4 in inflammatory bowel disease // *Infect. Immun.* – 2000. – Vol. 68, No. 12. – P. 7010–7017. DOI:10.1128/IAI.68.12.7010-7017.2000
46. Krstic D., Knuesel I. Deciphering the mechanism underlying late-onset Alzheimer disease // *Nat. Rev. Neurol.* – 2013. – Vol. 9, No. 1. – P. 25–34. DOI:10.1038/nrneuro.2012.236
47. Krstic D., Madhusudan A., Doeberner J., Vogel P., Notter T., Imhof C., Manalastas A., Hilfiker M., Pfister S., Schwerdel C., Riether C., Meyer U., Knuesel I. Systemic immune challenges trigger and drive Alzheimer-like neuropathology in mice // *J. Neuroinflammation*. – 2012. – Vol. 9. – Art. ID: 151. DOI:10.1186/1742-2094-9-151
48. Town T., Jeng D., Alexopoulou L., Tan J., Flavell R.A. Microglia recognize double-stranded RNA via TLR3 // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 176, No. 6. – P. 3804–3812. DOI:10.4049/jimmunol.176.6.3804
49. De Miranda J., Yaddanapudi K., Hornig M., Villar G., Serge R., Lipkin W.I. Induction of Toll-like receptor 3-mediated immunity during gestation inhibits cortical neurogenesis and causes behavioral disturbances // *mBio*. – 2010. – Vol. 1, No. 4. – Art. ID: e00176–10. DOI:10.1128/mBio.00176-10
50. Giridharan V.V., Scaini G., Colpo G.D., Doifode T., Pinjari O.F., Teixeira A.L., Petronilho F., Macêdo D., Quevedo J., Barichello T. Clozapine Prevents Poly (I:C) Induced Inflammation by Modulating NLRP3 Pathway in Microglial Cells // *Cells*. – 2020. – Vol. 9, No. 3. – Art. ID: 577. DOI:10.3390/cells9030577
51. de Oliveira A.C., Yousif N.M., Bhatia H.S., Hermanek J., Huell M., Fiebich B.L. Poly (I:C) increases the expression of mPGES-1 and COX-2 in rat primary microglia // *J. Neuroinflammation*. – 2016. – Vol. 13. – Art. ID: 11. DOI:10.1186/s12974-015-0473-7
52. Steer S.A., Moran J.M., Christmann B.S., Maggi L.B. Jr., Corbett J.A. Role of MAPK in the regulation of double-stranded RNA- and encephalomyocarditis virus-induced cyclooxygenase-2 expression by macrophages // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177, No. 5. – P. 3413–3420. DOI:10.4049/jimmunol.177.5.3413
53. Kato H., Takeuchi O., Sato S., Yoneyama M., Yamamoto M., Matsui K., Uematsu S., Jung A., Kawai T., Ishii K.J., Yamaguchi O., Otsu K., Tsujimura T., Koh C.S., Reis e Sousa C., Matsuura Y., Fujita T., Akira S. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses // *Nature*. – 2006. – Vol. 441, No. 7089. – P. 101–105. DOI:10.1038/nature04734
54. Rajan J.V., Warren S.E., Miao E.A., Aderem A. Activation of the NLRP3 inflammasome by intracellular poly I:C // *FEBS Lett.* – 2010. – Vol. 584, No. 22. – P. 4627–4632. DOI:10.1016/j.febslet.2010.10.036
55. Ren H., Han R., Chen X., Liu X., Wan J., Wang L., Yang X., Wang J. Potential therapeutic targets for intracerebral hemorrhage-associated inflammation: An update // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2020. – Vol. 40, No. 9. – P. 1752–1768. DOI:10.1177/0271678X20923551
56. Moore T.C., Petro T.M. IRF3 and ERK MAP-kinases control nitric oxide production from macrophages in response to poly-I:C // *FEBS Lett.* – 2013. – Vol. 587, No. 18. – P. 3014–3020. DOI:10.1016/j.febslet.2013.07.025
57. Miller S.D., Karpus W.J., Davidson T.S. Experimental autoimmune encephalomyelitis in the mouse // *Current protocols in immunology*. – 2010 Feb. – Vol. 88, No. 1. – P. 1–20. DOI:10.1002/0471142735.im1501s88
58. Shahi S.K., Freedman S.N., Dahl R.A., Karandikar N.J., Mangalam A.K. Scoring disease in an animal model of multiple sclerosis using a novel infrared-based automated activity-monitoring system // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, No. 1. – Art. ID: 19194. DOI:10.1111/j.1476-5381.2011.01302.x
59. Constantinescu C.S., Farooqi N., O'Brien K., Gran B. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS) // *Br. J. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 164, No. 4. – P. 1079–1106. DOI:10.1111/j.1476-5381.2011.01302.x
60. Like A.A., Rossini A.A. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus // *Science*. – 1976. – Vol. 193, No. 4251. – P. 415–417. DOI:10.1126/science.180605
61. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes // *Diabetologia*. – 2008. – Vol. 51, No. 2. – P. 216–226. DOI:10.1007/s00125-007-0886-7
62. Wang J.Q., Yin J., Song Y.F., Zhang L., Ren Y.X., Wang D.G., Gao L.P., Jing Y.H. Brain aging and AD-like pathology in streptozotocin-induced diabetic rats // *J. Diabetes Res.* – 2014. – Vol. 2014. – Art. ID: 796840. DOI:10.1155/2014/796840
63. Turk J., Corbett J.A., Ramanadham S., Bohrer A., McDaniel M.L. Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1993. – Vol. 197, No. 3. – P. 1458–1464. DOI:10.1006/bbrc.1993.2641
64. Takasu N., Komiya I., Asawa T., Nagasawa Y., Yamada T. Streptozotocin- and alloxan-induced H₂O₂ generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H₂O₂ as mediator for DNA fragmentation // *Diabetes*. – 1991. – Vol. 40, No. 9. – P. 1141–1145. DOI:10.2337/diab.40.9.1141
65. Nazem A., Sankowski R., Bacher M., Al-Abed Y. Rodent models of neuroinflammation for Alzheimer's disease // *J. Neuroinflammation*. – 2015. – Vol. 12. – Art. ID: 74. DOI:10.1186/s12974-015-0291-y
66. Chen Y., Liang Z., Blanchard J., Dai C.L., Sun S., Lee M.H., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Liu F., Gong C.X. A non-transgenic mouse model (icv-STZ mouse) of Alzheimer's disease: similarities to and differences from the transgenic model (3xTg-AD mouse) // *Molecular neurobiology*. – 2013. – Vol. 47. – P. 711–725. DOI:10.1007/s12035-012-8375-5
67. Liu P., Zou L.B., Wang L.H., Jiao Q., Chi T.Y., Ji X.F., Jin G. Xanthoceraside attenuates tau hyperphosphorylation and cognitive deficits in intracerebroventricular-streptozotocin injected rats // *Psychopharmacology*. – 2014. – Vol. 231. – P. 345–356. DOI:10.1007/s00213-013-3240-4
68. Grieb P. Intracerebroventricular streptozotocin injections as a model of Alzheimer's disease: in search of a relevant mechanism // *Mol. Neurobiol.* – 2016. – Vol. 53. – P. 1741–1752. DOI:10.1007/s12035-015-9132-3
69. Dai H., Wang P., Mao H., Mao X., Tan S., Chen Z. Dynorphin activation of kappa opioid receptor protects against epilepsy and seizure-induced brain injury via PI3K/Akt/Nrf2/HO-1 pathway // *Cell Cycle*. – 2019. – Vol. 18, No. 2. – P. 226–237. DOI:10.1080/15384101.2018.1562286
70. McNay E.C., Pearson-Leary J. GluT4: A central player in hippocampal memory and brain insulin resistance // *Exp. Neurol.* – 2020. – Vol. 323. – Art. ID: 113076. DOI:10.1016/j.expneurol.2019.113076
71. Shang Y., Guo F., Li J., Fan R., Ma X., Wang Y., Feng N., Yin Y., Jia M., Zhang S., Zhou J., Wang H., Pei J. Activation of κ -opioid receptor exerts the glucose-homeostatic effect in streptozotocin-induced diabetic mice // *J. Cell Biochem.* – 2015. – Vol. 116, No. 2. – P. 252–259. DOI:10.1002/jcb.24962
72. Kong C., Miao F., Wu Y., Wang T. Oxycodone suppresses the apoptosis of hippocampal neurons induced by oxygen-glucose deprivation/recovery through caspase-dependent and caspase-independent pathways via κ - and δ -opioid receptors in rats // *Brain Res.* – 2019. – Vol. 1721. – Art. ID: 146319. DOI:10.1016/j.brainres.2019.146319

73. Schattauer S.S., Bedini A., Summers F., Reilly-Treat A., Andrews M.M., Land B.B., Chavkin C. Reactive oxygen species (ROS) generation is stimulated by κ opioid receptor activation through phosphorylated c-Jun N-terminal kinase and inhibited by p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) activation // *J. Biol. Chem.* – 2019. – Vol. 294, No. 45. – P. 16884–16896. DOI:10.1074/jbc.RA119.009592
74. Tapia R., Peña F., Arias C. Neurotoxic and synaptic effects of okadaic acid, an inhibitor of protein phosphatases // *Neurochem. Res.* – 1999. – Vol. 24, No. 11. – P. 1423–1430. DOI:10.1023/a:1022588808260
75. Sontag J.M., Sontag E. Protein phosphatase 2A dysfunction in Alzheimer's disease // *Front. Mol. Neurosci.* – 2014. – Vol. 7. – Art. ID: 16. DOI:10.3389/fnmol.2014.00016
76. Arendt T., Holzer M., Fruth R., Brückner M.K., Gärtner U. Phosphorylation of tau, A β -formation, and apoptosis after in vivo inhibition of PP-1 and PP-2A // *Neurobiol. Aging.* – 1998. – Vol. 19, No. 1. – P. 3–13. DOI:10.1016/s0197-4580(98)00003-7
77. Lee J., Hong H., Im J., Byun H., Kim D. The formation of PHF-1 and SMI-31 positive dystrophic neurites in rat hippocampus following acute injection of okadaic acid // *Neurosci. Lett.* – 2000. – Vol. 282, No. 1-2. – P. 49–52. DOI:10.1016/s0304-3940(00)00863-6
78. Kamat P.K., Rai S., Nath C. Okadaic acid induced neurotoxicity: an emerging tool to study Alzheimer's disease pathology // *Neurotoxicology.* – 2013. – Vol. 37. – P. 163–172. DOI:10.1016/j.neuro.2013.05.002
79. Costa A.P., Tramontina A.C., Biasibetti R., Batassini C., Lopes M.W., Wartchow K.M., Bernardi C., Tortorelli L.S., Leal R.B., Gonçalves C.A. Neuroglial alterations in rats submitted to the okadaic acid-induced model of dementia. // *Behav. Brain Res.* – 2012. – Vol. 226, No. 2. – P. 420–427. DOI:10.1016/j.bbr.2011.09.035
80. Kamat P.K., Tota S., Saxena G., Shukla R., Nath C. Okadaic acid (ICV) induced memory impairment in rats: a suitable experimental model to test anti-dementia activity // *Brain Res.* – 2010. – Vol. 1309. – P. 66–74. DOI:10.1016/j.brainres.2009.10.064
81. Kamat P.K., Rai S., Swarnkar S., Shukla R., Ali S., Najmi A.K., Nath C. Okadaic acid-induced Tau phosphorylation in rat brain: role of NMDA receptor // *Neuroscience.* – 2013. – Vol. 238. – P. 97–113. DOI:10.1016/j.neuroscience.2013.01.075
82. Kumar A., Seghal N., Naidu P.S., Padi S.S., Goyal R. Colchicine-induced neurotoxicity as an animal model of sporadic dementia of Alzheimer's type // *Pharmacol. Rep.* – 2007. – Vol. 59, No. 3. – P. 274–283.
83. Ding G., Li D., Sun Y., Chen K., Song D. Healthcare Engineering JO. Retracted: κ -Opioid Receptor Agonist Ameliorates Postoperative Neurocognitive Disorder by Activating the Ca²⁺/CaMKII/CREB Pathway // *J. Healthc. Eng.* – 2022. – Vol. 2022. – Art. ID: 9841213. DOI:10.1155/2022/9841213
84. Tilson H.A., Rogers B.C., Grimes L., Harry G.J., Peterson N.J., Hong J.S., Dyer R.S. Time-dependent neurobiological effects of colchicine administered directly into the hippocampus of rats // *Brain Res.* – 1987. – Vol. 408, No. 1-2. – P. 163–172. DOI:10.1016/0006-8993(87)90368-4
85. Sil S., Ghosh T. Role of cox-2 mediated neuroinflammation on the neurodegeneration and cognitive impairments in colchicine induced rat model of Alzheimer's Disease // *J. Neuroimmunol.* – 2016. – Vol. 291. – P. 115–124. DOI:10.1016/j.jneuroim.2015.12.003
86. Zeng S., Zhong Y., Xiao J., Ji J., Xi J., Wei X., Liu R. Kappa Opioid Receptor on Pulmonary Macrophages and Immune Function // *Transl. Perioper. Pain Med.* – 2020. – Vol. 7, No. 3. – P. 225–233. DOI:10.31480/2330-4871/117
87. Alboni S., Cervia D., Sugama S., Conti B. Interleukin 18 in the CNS // *J. Neuroinflammation.* – 2010. – Vol. 7. – Art. ID: 9. DOI:10.1186/1742-2094-7-9
88. Shaftel S.S., Kyrkanides S., Olschowka J.A., Miller J.N., Johnson R.E., O'Banion M.K. Sustained hippocampal IL-1 beta overexpression mediates chronic neuroinflammation and ameliorates Alzheimer plaque pathology // *J. Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117, No. 6. – P. 1595–1604. DOI:10.1172/JCI31450
89. Matousek S.B., Ghosh S., Shaftel S.S., Kyrkanides S., Olschowka J.A., O'Banion M.K. Chronic IL-1 β -mediated neuroinflammation mitigates amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease without inducing overt neurodegeneration // *J. Neuroimmune Pharmacol.* – 2012. – Vol. 7, No. 1. – P. 156–164. DOI:10.1007/s11481-011-9331-2
90. Moore A.H., Wu M., Shaftel S.S., Graham K.A., O'Banion M.K. Sustained expression of interleukin-1beta in mouse hippocampus impairs spatial memory // *Neuroscience.* – 2009. – Vol. 164, No. 4. – P. 1484–1495. DOI:10.1016/j.neuroscience.2009.08.073
91. Giridharan V.V., Scaini G., Colpo G.D., Doifode T., Pinjari O.F., Teixeira A.L., Petronilho F., Macêdo D., Quevedo J., Barichello T. Clozapine Prevents Poly (I:C) Induced Inflammation by Modulating NLRP3 Pathway in Microglial Cells // *Cells.* – 2020. – Vol. 9, No. 3. – Art. ID: 577. DOI:10.3390/cells9030577
92. Morgan D.O. Cyclin-dependent kinases: engines, clocks, and microprocessors // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* – 1997. – Vol. 13. – P. 261–291. DOI:10.1146/annurev.cellbio.13.1.261
93. Kamei H., Saito T., Ozawa M., Fujita Y., Asada A., Bibb J.A., Saido T.C., Sorimachi H., Hisanaga S. Suppression of calpain-dependent cleavage of the CDK5 activator p35 to p25 by site-specific phosphorylation // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 282, No. 3. – P. 1687–1694. DOI:10.1074/jbc.M610541200
94. Patrick G.N., Zukerberg L., Nikolic M., de la Monte S., Dikkes P., Tsai L.H. Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration // *Nature.* – 1999. – Vol. 402, No. 6762. – P. 615–622. DOI:10.1038/45159
95. Lee M.S., Kwon Y.T., Li M., Peng J., Friedlander R.M., Tsai L.H. Neurotoxicity induces cleavage of p35 to p25 by calpain // *Nature.* – 2000. – Vol. 405, No. 6784. – P. 360–364. DOI:10.1038/35012636
96. Ahljanian M.K., Barrezueta N.X., Williams R.D., Jakowski A., Kowsz K.P., McCarthy S., Coskran T., Carlo A., Seymour P.A., Burkhardt J.E., Nelson R.B., McNeish J.D. Hyperphosphorylated tau and neurofilament and cytoskeletal disruptions in mice overexpressing human p25, an activator of cdk5 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – Vol. 97, No. 6. – P. 2910–2915. DOI:10.1073/pnas.040577797
97. Sundaram J.R., Chan E.S., Poore C.P., Pareek T.K., Cheong W.F., Shui G., Tang N., Low C.M., Wenk M.R., Kesavapany S. Cdk5/p25-induced cytosolic PLA2-mediated lysophosphatidylcholine production regulates neuroinflammation and triggers neurodegeneration // *J. Neurosci.* – 2012. – Vol. 32, No. 3. – P. 1020–1034. DOI:10.1523/JNEUROSCI.5177-11.2012
98. Fischer A., Sananbenesi F., Pang P.T., Lu B., Tsai L.H. Opposing roles of transient and prolonged expression of p25 in synaptic plasticity and hippocampus-dependent memory // *Neuron.* – 2005. – Vol. 48, No. 5. – P. 825–838. DOI:10.1016/j.neuron.2005.10.033
99. Muyllaert D., Terwel D., Kremer A., Sennvik K., Borghgraef P., Devijver H., Dewachter I., Van Leuven F. Neurodegeneration and neuroinflammation in cdk5/p25-inducible mice: a model for hippocampal sclerosis and neocortical degeneration // *Am. J. Pathol.* – 2008. – Vol. 172, No. 2. – P. 470–485. DOI:10.2353/ajpath.2008.070693
100. De Rosa R., Garcia A.A., Braschi C., Capsoni S., Maffei L., Berardi N., Cattaneo A. Intranasal administration of

- nerve growth factor (NGF) rescues recognition memory deficits in AD11 anti-NGF transgenic mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2005. – Vol. 102, No. 10. – P. 3811–3816. DOI:10.1073/pnas.0500195102
101. Capsoni S., Giannotta S., Cattaneo A. Beta-amyloid plaques in a model for sporadic Alzheimer's disease based on transgenic anti-nerve growth factor antibodies // *Mol. Cell Neurosci.* – 2002. – Vol. 21, No. 1. – P. 15–28. DOI:10.1006/mcne.2002.1163
 102. D'Onofrio M., Arisi I., Brandi R., Di Mambro A., Felsani A., Capsoni S., Cattaneo A. Early inflammation and immune response mRNAs in the brain of AD11 anti-NGF mice // *Neurobiol. Aging*. – 2011. – Vol. 32, No. 6. – P. 1007–1022. DOI:10.1016/j.neurobiolaging.2009.05.023
 103. Zhang P., Yang M., Chen C., Liu L., Wei X., Zeng S. Toll-Like Receptor 4 (TLR4)/Opioid Receptor Pathway Crosstalk and Impact on Opioid Analgesia, Immune Function, and Gastrointestinal Motility // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – Art. ID: 1455. DOI:10.3389/fimmu.2020.01455
 104. Flanders K.C., Ren R.F., Lippa C.F. Transforming growth factor-betas in neurodegenerative disease // *Prog. Neurobiol.* – 1998. – Vol. 54, No. 1. – P. 71–85. DOI:10.1016/S0304-0082(97)00066-X
 105. Unsicker K., Kriegstein K. TGF-betas and their roles in the regulation of neuron survival // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2002. – Vol. 513. – P. 353–374. DOI:10.1007/978-1-4615-0123-7_13
 106. Wyss-Coray T., Lin C., Yan F., Yu G.Q., Rohde M., McConlogue L., Masliah E., Mucke L. TGF-beta1 promotes microglial amyloid-beta clearance and reduces plaque burden in transgenic mice // *Nat. Med.* – 2001. – Vol. 7, No. 5. – P. 612–618. DOI:10.1038/87945
 107. Buckwalter M.S., Wyss-Coray T. Modelling neuroinflammatory phenotypes in vivo // *J. Neuroinflammation*. – 2004. – Vol. 1, No. 1. – Art. ID: 10. DOI:10.1186/1742-2094-1-10
 108. Grammas P., O'vase R. Cerebrovascular transforming growth factor-beta contributes to inflammation in the Alzheimer's disease brain // *Am. J. Pathol.* – 2002. – Vol. 160, No. 5. – P. 1583–1587. DOI:10.1016/S0002-9440(10)61105-4
 109. Ueberham U., Ueberham E., Brückner M.K., Seeger G., Gärtner U., Gruschka H., Gebhardt R., Arendt T. Inducible neuronal expression of transgenic TGF-beta1 in vivo: dissection of short-term and long-term effects // *Eur. J. Neurosci.* – 2005. – Vol. 22, No. 1. – P. 50–64. DOI:10.1111/j.1460-9568.2005.04189.x
 110. Kovacs Z.I., Kim S., Jikaria N., Qureshi F., Milo B., Lewis B.K., Bresler M., Burks S.R., Frank J.A. Disrupting the blood-brain barrier by focused ultrasound induces sterile inflammation // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. – 2017. – Vol. 114, No. 1. – P. 75–84. DOI:10.1073/pnas.1614777114
 111. Kaplan A., Li M.J., Malani R. Treatments on the Horizon: Breast Cancer Patients with Central Nervous System Metastases // *Curr. Oncol. Rep.* – 2022. – Vol. 24, No. 3. – P. 343–350. DOI:10.1007/s11912-022-01206-2
 112. Aryal M., Arvanitis C.D., Alexander P.M., McDannold N. Ultrasound-mediated blood-brain barrier disruption for targeted drug delivery in the central nervous system // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* – 2014. – Vol. 72. – P. 94–109. DOI:10.1016/j.addr.2014.01.008
 113. Lozano D., Gonzales-Portillo G.S., Acosta S., de la Pena I., Tajiri N., Kaneko Y., Borlongan C.V. Neuroinflammatory responses to traumatic brain injury: etiology, clinical consequences, and therapeutic opportunities // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* – 2015. – Vol. 11. – P. 97–106. DOI:10.2147/NDT.S65815
 114. Woodcock T., Morganti-Kossmann M.C. The role of markers of inflammation in traumatic brain injury // *Front. Neurol.* – 2013. – Vol. 4. – Art. ID: 18. DOI:10.3389/fneur.2013.00018
 115. Tweedie D., Rachmany L., Kim D.S., Rubovitch V., Lehrmann E., Zhang Y., Becker K.G., Perez E., Pick C.G., Greig N.H. Mild traumatic brain injury-induced hippocampal gene expressions: The identification of target cellular processes for drug development // *J. Neurosci. Methods*. – 2016. – Vol. 272. – P. 4–18. DOI:10.1016/j.jneumeth.2016.02.003
 116. Tweedie D., Rachmany L., Rubovitch V., Li Y., Holloway H.W., Lehrmann E., Zhang Y., Becker K.G., Perez E., Hoffer B.J., Pick C.G., Greig N.H. Blast traumatic brain injury-induced cognitive deficits are attenuated by preinjury or postinjury treatment with the glucagon-like peptide-1 receptor agonist, exendin-4 // *Alzheimers Dement.* – 2016. – Vol. 12, No. 1. – P. 34–48. DOI:10.1016/j.jalz.2015.07.489
 117. Harry G.J. Microglia during development and aging // *Pharmacol. Ther.* – 2013. – Vol. 139, No. 3. – P. 313–326. DOI:10.1016/j.pharmthera.2013.04.013
 118. Zhu Y.J., Peng K., Meng X.W., Ji F.H. Attenuation of neuroinflammation by dexmedetomidine is associated with activation of a cholinergic anti-inflammatory pathway in a rat tibial fracture model // *Brain Res.* – 2016. – Vol. 1644. – P. 1–8. DOI:10.1016/j.brainres.2016.04.074
 119. Shultz S.R., Sun M., Wright D.K., Brady R.D., Liu S., Beynon S., Schmidt S.F., Kaye A.H., Hamilton J.A., O'Brien T.J., Grills B.L., McDonald S.J. Tibial fracture exacerbates traumatic brain injury outcomes and neuroinflammation in a novel mouse model of multitrauma // *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* – 2015. – Vol. 35, No. 8. – P. 1339–1347. DOI:10.1038/jcbfm.2015.56
 120. Schindeler A., McDonald M.M., Bokko P., Little D.G. Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture // *Semin. Cell Dev. Biol.* – 2008. – Vol. 19, No. 5. – P. 459–466. DOI:10.1016/j.semcdb.2008.07.004
 121. Сабиров Д.М., Росстальная А.Л., Махмудов М.А. Эпидемиологические особенности черепно-мозгового травматизма // *Вестник экстренной медицины*. – 2019. – Т. 12, № 2. – С. 61–66.
 122. Dewar M.C., Rattani A., Gupta S., Baticulon R.E., Hung Y.C., Punchak M., Agrawal A., Adeleye A.O., Shrimel M.G., Rubiano A.M., Rosenfeld J.V., Park K.B. Estimating the global incidence of traumatic brain injury // *J. Neurosurg.* – 2018. – P. 1–18. DOI:10.3171/2017.10.JNS17352

АВТОРЫ

Калитин Константин Юрьевич – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии ГБУ ВМНЦ. ORCID ID: 0000-0002-0079-853X. E-mail: kkonst8@ya.ru

Спасов Александр Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН;

заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; заведующий лабораторией экспериментальной фармакологии ГБУ ВМНЦ. ORCID ID: 0000-0002-7185-4826. E-mail: aaspasov@volgmed.ru

Муха Ольга Юрьевна – студент ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0429-905X. E-mail: olay.myha14@gmail.com

УДК 615:591.147.7



Физиология, фармакология и перспективы применения ингибиторов дипептидилпептидазы-4

Д.В. Куркин¹, Д.А. Бакулин¹, Е.И. Морковин¹, А.В. Стрыгин¹, Ю.В. Горбунова¹, Е.В. Волотова¹,
И.И. Макаренко³, В.Б. Сапарова^{2,3}, Р.В. Драй³, В.И. Петров¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20/1

³ Закрытое акционерное общество «Фарм-Холдинг»,

198515, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Стрельна, ул. Связи, д. 34-А

E-mail: strannik986@mail.ru

Получена 28.08.2022

После рецензирования 07.12.2022

Принята к печати 15.02.2023

Современные требования к терапии сахарного диабета 2 типа (СД 2) включают не только достижение гликемического контроля, но и снижение риска развития сердечно-сосудистых осложнений. Ингибиторы дипептидилпептидазы 4 (ДПП-4) уступают по эффективности некоторым другим активно развивающимся группам гипогликемических препаратов (ингибиторы SGLT2 и агонисты рецепторов ГПП-1), однако представляются актуальными и в настоящее время.

Цель. Проанализировать данные литературы о терапевтическом потенциале и результатах исследований ингибиторов ДПП-4.

Материалы и методы. При поиске материала для написания обзорной статьи использовали реферативные базы PubMed, Google Scholar и e-Library. Поиск осуществлялся по публикациям за период с 2006 по 2022 год, с использованием следующих ключевых слов: ингибиторы ДПП-4; глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1); глюкозозависимый инсулиноотропный пептид (ГИП); ситаглиптин и другие препараты.

Результаты. ДПП-4 принадлежит к семейству сериновых протеаз и участвует в деградации некоторого количества хемокинов и пептидных гормонов, в том числе и инкретинов, секретируемых L- и K-клетками кишечника: ГПП-1 и ГИП, которые регулируют постпрандиальную секрецию инсулина и функцию β -клеток, модулируют тощаковую и постпрандиальную секрецию глюкагона, регулируют пищевое поведение и оказывают множество плеiotропных эффектов (иммуномодулирующее, противовоспалительное, антифибротическое действие и др.). Ингибиторы ДПП-4 снижают активность фермента на 70–90%, повышая уровень инкретинов в плазме в 2–4 раза и применяются для лечения СД 2 с 2006 года. Сейчас на рынке разных стран присутствуют 13 ингибиторов ДПП-4, различающихся прежде всего фармакокинетическими параметрами. Они активно используются в комбинированной терапии СД 2, повышая эффективность гликемического контроля без увеличения риска развития гипогликемии. Появляются данные о терапевтическом потенциале ингибиторов ДПП-4 при COVID-19.

Заключение. Пероральная форма, возможность создавать эффективные комбинации с другими гипогликемическими препаратами без увеличения риска гипогликемии, плеiotропные эффекты ингибиторов ДПП-4 делают данную группу актуальной и в настоящее время.

Ключевые слова: сахарный диабет; дипептидилпептидаза 4; глюкагоноподобный пептид-1; глюкозозависимый инсулиноотропный пептид; ситаглиптин; COVID-19

Список сокращений: FAP- α – фибробласт-активирующий белок альфа; FDA – Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США; FGF2 – основной фактор роста фибробластов; GRP – гастрин-рилизинг пептид; MCP-1 – моноцитарный хемотаксический протеин-1; MDC – макрофагальный хемокин; MIP-1 α – макрофагальный воспалительный протеин 1 α ; NHE3 – натрий-водородный обменник 3 подтипа; NPY – нейропептид Y; PAI-1 – ингибитор активации плазминогена 1 типа; PYY – пептид YY; SDF-1 α – фактор стромальных клеток 1 альфа; TGF β – трансформирующий фактор роста бета; APF2 – ангиотензинпревращающий фермент 2; БА – болезнь Альцгеймера; ГИП – глюкозозависимый инсулиноотропный пептид; ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1; ГЭБ – гематоэнцефалический барьер; ДПП-4 – дипептидилпептидаза 4; иДПП-4 – ингибитор дипептидилпептидазы-4; КИ – клинические исследования; НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; ОКС – острый коронарный синдром; СД – сахарный диабет; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ХПН – хроническая почечная недостаточность.

Для цитирования: Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.И. Морковин, А.В. Стрыгин, Ю.В. Горбунова, Е.В. Волотова, И.И. Макаренко, В.Б. Сапарова, Р.В. Драй, В.И. Петров. Физиология, фармакология и перспективы применения ингибиторов дипептидилпептидазы-4. *Фармация и фармакология*. 2023;11(1):19-47. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-19-47

© Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.И. Морковин, А.В. Стрыгин, Ю.В. Горбунова, Е.В. Волотова, И.И. Макаренко, В.Б. Сапарова, Р.В. Драй, В.И. Петров, 2023

For citation: D.V. Kurkin, D.A. Bakulin, E.I. Morkovin, A.V. Strygin, Yu.V. Gorbunova, E.V. Volotova, I.I. Makarenko, V.B. Saparova, R.V. Drai, V.I. Petrov. Physiology, pharmacology and prospects for dipeptidylpeptidase-4 inhibitors use. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(1):19-47. DOI:10.19163/2307-9266-2023-11-1-19-47

Physiology, pharmacology and prospects for dipeptidylpeptidase-4 inhibitors use

D.V. Kurkin¹, D.A. Bakulin¹, E.I. Morkovin¹, A.V. Strygin¹, Yu.V. Gorbunova¹, E.V. Volotova¹,
I.I. Makarenko³, V.B. Saparova^{2,3}, R.V. Drai³, V.I. Petrov¹

¹ Volgograd State Medical University,

1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

² Moscow State Medical and Dental University named after A.I. Evdokimov,

Bld. 1, 20, Delegatskaya Str., Moscow, Russia 127473

³ Farm-Holding,

Bld. A, 34, Svyaz Str., Strelina Vil., St. Petersburg, Russia, 198515

E-mail: strannik986@mail.ru

Received 28 July 2022

After peer review 07 Dec 2022

Accepted 15 Feb 2023

Modern requirements for the treatment of type 2 diabetes mellitus (DM2) include not only achieving a glycemic control, but also reducing the risk of developing cardiovascular complications. Dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) inhibitors are inferior in the effectiveness to some other actively developing groups of hypoglycemic drugs (SGLT2 inhibitors and GLP-1 receptor agonists); however, they seem relevant at the present time.

The aim of the study is to analyze the literature data on the therapeutic potential and results of the of DPP-4 inhibitors research.

Materials and methods. When searching for the review article materials, the abstracting databases of PubMed, Google Scholar and e-Library were used. The search was carried out on the publications for the period from 2006 to 2022, using the following keywords: DPP-4 inhibitors; glucagonlike peptide-1 (GLP-1); glucose-dependent insulintropic peptide (GIP); sitagliptin, and other drugs.

Results. DPP-4 belongs to the serine proteases family and is involved in the degradation of various chemokines and peptide hormones, including incretins secreted by intestinal L- and K-cells – GLP-1 and GIP. They regulate a postprandial insulin secretion and a β -cell function, modulate a fasting and postprandial glucagon secretion, regulate the eating behavior and have many pleiotropic (immunomodulatory, anti-inflammatory, antifibrotic, etc.) effects. DPP-4 inhibitors reduce an enzyme activity by 70–90%, increasing plasma incretin levels by 2–4 times and have been used to treat DM2 since 2006. Now there are 13 DPP-4 inhibitors on the market in different countries, differing primarily in pharmacokinetic parameters. They are actively used in the combination therapy for type 2 diabetes, increasing the glycemic control effectiveness without increasing the risk of hypoglycemia. The evidence is emerging about the therapeutic potential of DPP-4 inhibitors in COVID-19.

Conclusion. A peroral form, an ability to create effective combinations with other hypoglycemic drugs without increasing the risk of hypoglycemia, the pleiotropic effects of DPP-4 inhibitors, make this group relevant at the present time.

Keywords: diabetes mellitus; dipeptidyl peptidase 4; glucagonlike peptide-1; glucose-dependent insulintropic peptide; sitagliptin; COVID-19

Abbreviations: FAP- α – fibroblast activator protein- α ; FDA – Federal Food and Drug Administration of the USA; bFGF2 – basic fibroblast growth factor; GRP – gastrin-releasing peptide; MCP-1 – monocyte chemotactic protein-1; MDC – macrophage-derived chemokine; MIP-1 α – macrophage inflammatory protein 1 α ; NHE3 – subtype 3 sodium-hydrogen exchanger; NHE3 NPY – neuropeptide Y; PAI-1 – type 1 plasminogen activation inhibitor; PYY – peptide YY; SDF-1 α – Stromal Derived Factor-1 α ; TGF β – transforming growth factor beta; ATE2 – angiotensin transforming enzyme 2; AD – Alzheimer's disease; GIP – glucose-dependent insulintropic peptide; GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; GLP-1 – glu1cagonlike peptide-1; BBB – blood-brain barrier; DPP-4 – dipeptidyl peptidase 4; iDPP-4 – dipeptidyl peptidase-4 inhibitor; CTs – clinical trials; NAFLD – non-alcoholic fatty liver disease; ACS – acute coronary syndrome; DM – Diabetes mellitus; GFR – glomerular filtration rate; COPD – chronic obstructive pulmonary disease; CRF – chronic renal failure.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) и родственные ему заболевания, очевидно, в течение еще многих десятилетий будут оставаться серьезной угрозой жизни и здоровью населения практически всех стран. В 2021 г. по оценкам Международной диабетической федерации количество больных СД в мире превысило 536 млн, а в 2045 г. по предварительным подсчетам составит 783,2 млн человек. Современные рекомендации по терапии СД указывают на целесообразность раннего начала лечения с использованием рациональных комбинаций

препаратов с высоким профилем безопасности, а также отмечают важность профилактики сосудистых осложнений СД [1, 2].

Ингибиторы фермента дипептидилпептидазы-4 (иДПП-4) уже более 30 лет разрабатываются во всем мире и остаются востребованными в настоящее время. В 2019 году мировой рынок ингибиторов ДПП-4 и их комбинаций превысил 12 млрд долларов США [3]. В России данная группа активно используется в терапии СД. Характеристики отечественного рынка иДПП-4 обобщены на рисунке 1.

Фермент ДПП-4 в 1966 году Hopsu-Havu и Glenner идентифицировали как глицилпролин-наптиламидазу. Из печени крысы ДПП-4 впервые получен в 1967 г., из почки свиньи в 1968 г. ДПП-4 является внутримембранным гликопротеином и сериновой экзопептидазой подсемейства S9B, состоит из 766 аминокислот. Активный фермент у крыс, мышей и человека обнаружен в эпителиальных клетках кишечника, почек, печени, легких, тимуса, селезенки. Также представителями подсемейства протеаз S9B, помимо ДПП-4, являются фибробласт-активирующий белок (FAP- α), ДПП-6, ДПП-8, ДПП-9. Однако ДПП-4 является основным ферментом, под действием которого происходит физиологическая деградация гормонов инкретинового ряда [4].

Функции всех изоферментов до конца не изучены, предполагается, что FAP отвечает за рост клеток, а их ингибирование оказывает токсическое действие, вызывая тромбоцитопению, спленомегалию, ретикулоцитопению, патологию различных органов, что обуславливает важность селективности ингибирующего действия для представителей лекарственных средств с подобным механизмом действия [5]. ДПП-4 представляет собой тетрамер, в котором каждая субъединица состоит из двух доменов, N-терминального β -винтового (β -propeller) домена и C-концевого каталитического домена, которые охватывают внутреннюю полость с активным центром. Эта полость соединена с основной частью активного центра посредством «открытого винта/пропеллера» и «бокового отверстия». Субстраты и ингибиторы ДПП-4 входят и выходят из активного центра через это боковое отверстие [6]. Основными частями для связывания с лигандами ДПП-4 являются S1 гидрофобный карман, который определяет субстратную специфичность ДПП-4, гидрофобный S2 карман с участками ионного взаимодействия, и карман S3. Участок S1 у ДПП-4, ДПП-8 и ДПП-9 практически идентичен, в то время как S2 у ДПП-4 меньше. Участки S1 и S1' немного отличаются по составу и конформации – в отличие от ДПП-8 и ДПП-9 к S1' у ДПП-4 присоединяются относительно отрицательно заряженные группы. Участок S3 наиболее вариативен у каждого изофермента, у ДПП-4 к нему присоединяются группы лигандов меньшего по сравнению с ДПП-8 и ДПП-9 размера [7].

Фермент ДПП-4 расщепляет многие физиологически активные вещества, в том числе и гормоны, секретируемые L- и K-клетками кишечника – глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1) и глюкозозависимый инсулиноотропный пептид (ГИП), которые регулируют постпрандиальную секрецию инсулина и участвуют в поддержании углеводного гомеостаза. Кроме того, эти инкретины регулируют биосинтез инсулина глюкозозависимым образом, подавляют секрецию глюкагона, подавляют глюкогенез в печени, способствуют регенерации и дифференциации островковых β -клеток, играют

важную роль в регуляции пищевого поведения: формировании чувства насыщения и замедлении опорожнения желудка [5].

Ингибиторы ДПП-4, как и агонисты рецепторов ГПП-1, хорошо переносятся и не вызывают гипогликемию. Однако после выхода на рынок препаратов на основе инкретинов были зарегистрированы случаи острого панкреатита и в 2013 г. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) сообщило о повышенном риске возникновения панкреатита и предраковых клеточных изменений (метаплазии) протоков поджелудочной железы на фоне их применения. Кроме того, FDA предупреждает, что пациенты с панкреатитом в анамнезе подвержены повышенному риску рецидива панкреатита при лечении данными препаратами, поэтому их следует назначать с осторожностью. Последующие многочисленные исследования за прошедшее время не смогли однозначно доказать связь применения инкретиномиметиков с развитием отмеченных патологий. При этом все авторы указывают на необходимость более длительного наблюдения и проведения дополнительных исследований для формирования окончательных выводов [8–10].

Необходимо отметить, что ингибирование ДПП-4 также влияет на элиминацию большого количества субстратов: инкретины (ГПП-1, ГПП-2, ГИП, гастрин-рилизинг пептид (GRP), пептид YY (PYY)); цитокины (интерлейкин-3, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), эритропоетин, основной фактор роста фибробластов (FGF2) и др.); хемокины (моноцитарный хемотаксический протеин-1 (MCP-1), макрофагальный воспалительный протеин 1 α . (MIP-1 α), фактор стромальных клеток 1 (SDF-1), макрофагальный хемокин (MDC)) и др.); нейропептиды (нейропептид Y (NPY), субстанция (вещество) P) [11].

Также ДПП-4 (также именуемый CD26) экспрессируется на поверхности клеток иммунной системы (T- и B-лимфоцитах, NK-клетках, дендритных клетках и макрофагах [11]. Однако регуляторная функция ДПП-4 (CD26) в отношении данных клеток раскрыта неполностью [8, 11]. Таким образом, потенциал плейотропного действия ингибиторов ДПП-4 требует дальнейшей оценки.

ЦЕЛЬ. Проанализировать данные литературы о терапевтическом потенциале и результатах исследований ингибиторов ДПП-4.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При поиске материала для написания обзорной статьи использовали реферативные базы PubMed, Google Scholar и e-Library. Поиск осуществлялся по публикациям за период с 2006 по 2022 год, с использованием следующих ключевых слов:

ингибиторы ДПП-4 (DPP-4 inhibitors); ГПП-1 (GLP-1); ГИП (GIP); ситаглиптин (sitagliptin); вилдаглиптин (vildagliptin); дутоглиптин (dutogliptin); саксаглиптин (saxagliptin); линаглиптин (linagliptin); алоглиптин (alogliptin); гемиглиптин (gemigliptin); тенелиглиптин (teneligliptin); анаглиптин (anagliptin); омариглиптин (omarigliptin); госоглиптин (gosogliptin); денаглиптин (denagliptin); мелоглиптин (melogliptin); трелаглиптин (trelagliptin); ретаглиптин (retagliptin); эвоглиптин (evogliptin); кармеглиптин (carmegliptin). Было проанализировано 522 источника, после систематизации были удалены статьи, имеющие сходный характер информации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Физиология ДПП-4

Нативный ГПП-1 имеет короткое время полувыведения (около 1–2 мин) из-за его разрушения ферментом ДПП-4 или выведения из кровотока почками. ДПП-4 расщепляет ГПП-1 (7-36амид) и ГПП-1 (7-37) по N-концевому дипептиду с образованием соответствующих неактивных метаболитов: ГПП-1 (9-36амид) или ГПП-1 (9-37), которые далее также выводятся почками. Клиренс ГПП-1 и его метаболитов замедляется у пациентов с почечной недостаточностью [12, 13].

ДПП-4 существует в двух формах: трансмембранный белок и растворимая форма, циркулирующая в крови. В кишечнике ДПП-4 высоко экспрессируется в щеточной кайме энтероцитов и в эндотелиальных клетках, поэтому большая часть секреторируемого ГПП-1 уже разрушается в капиллярах дистального отдела кишечника. При этом приблизительно только 25% активного ГПП-1 достигает печени и порядка 10–15% распределяется в плазме [13].

Активность ДПП-4 может меняться под действием различных стимулов. Так гипергликемия, вызванная введением дексаметазона, сопровождается гиперацетилизацией гистонов промоторной области гена DPP-4 с увеличением его экспрессии, что может быть дополнением к знаниям об уже известных механизмах развития стероидного диабета, а также новой целью фармакотерапии [14].

2. Фармакология иДПП-4

Ингибиторы ДПП-4 улучшают контроль уровня глюкозы у пациентов с СД 2 типа. Таким образом, иДПП-4 оказывают большое число биологических эффектов, в отличие от других противодиабетических средств, не вызывают таких нежелательных явлений, как увеличение массы тела и развития состояния гипогликемии. Поэтому эти препараты находятся в центре исследований и разработок многих фармацевтических компаний и научных центров, что и привело к появлению на фармацевтическом рынке такого большого количества лекарственных средств группы иДПП-4. Из них в настоящее время 13 утверждены и применяется для терапии СД 2 типа, в

то время, как 6 других (кармеглиптин, ретаглиптин, мелоглиптин, денаглиптин и дутоглиптин) находятся на предварительной регистрации/фазе 2,3 и/или ждут утверждения.

Исходя из международных непатентованных названий, общим фрагментом которых является «глиптин», всю группу ингибиторов ДПП-4 принято называть глиптинами. Препараты этой группы снижают активность фермента на 70–90%, не оказывают прямого влияния на чувство сытости или на скорость опорожнения желудка. При отсутствии данных о прохождении ингибиторами ДПП-4 через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), они способны усиливать центральное действие ГПП-1 повышая его уровень в плазме в 2–4 раза [15, 16]. Несмотря на одинаковое действие, различные глиптины отличаются по своим фармакодинамическим и фармакокинетическим свойствам, которые могут быть клинически значимыми для некоторых категорий пациентов (с почечной или печёночной недостаточностью, панкреатитом, сердечно-сосудистыми заболеваниями и т.д.).

Основными преимуществами лекарственных средств перед другими гипогликемическими препаратами с ингибирующей в отношении ДПП-4 активностью являются умеренная эффективность, более высокая безопасность: низкий риск развития гипогликемии, сердечно-сосудистых осложнений, не вызывает отеки и увеличения массы тела. Препараты из группы иДПП-4 обладают рядом классспецифических свойств, которые заключаются в двойном механизме действия (на функцию α - и β -клеток), что приводит к улучшению постпрандиального профиля паттернов секреции глюкагона и инсулина. Ингибирование разрушения ГПП-1 оказывает положительное влияние на гомеостаз глюкозы, повышая уровень инсулина и подавляя секрецию глюкагона, замедляет опорожнение желудка и снижает аппетит. Ингибиторы ДПП-4 характеризуются нейтральным влиянием на массу тела, не провоцируют гипогликемию [17, 18]. Их применение у пациентов с СД 2-го типа приводит к устойчивому снижению концентрации HbA1c, уровня глюкозы в крови натощак и после приема пищи. В работе Корбута А.И. и Климонтова В.В. [19] суммированы данные о влиянии аналогов ГПП-1 и иДПП-4 на структурные и функциональные изменения в почках при СД. При экспериментальной и клинической нефропатии диабетической и не диабетической природы аналоги ГПП-1 и иДПП-4 замедляют развитие фиброза и снижение функции почек. Их нефропротективное действие обусловлено уменьшением гипергликемии, увеличением экскреции натрия, подавлением воспалительных и фиброгенных сигнальных путей, окислительного стресса и апоптоза в почках.

Важно отметить, что влияние инкретинов (ГПП-1 и ГИП) на секрецию инсулина и глюкагона зависит от уровня гликемии. В условиях нормогликемии повышение ГПП-1 и ГИП не влияет на секрецию инсулина, при этом ГИП стимулирует секрецию глюкагона при гликемии натощак и гипогликемии [20].

Повышение уровня глюкозы выше физиологических значений приводит к стимуляции секреции инсулина (ГПП-1 и ГИП) и подавлению продукции глюкагона (ГПП-1). При этом в условиях гипогликемии ГИП значительно повышает секрецию глюкагона, способствует сохранению гомеостаза глюкозы и предотвращает дальнейшее развитие гипогликемии. Ингибиторы ДПП-4 посредством повышения уровня ГПП-1 и ГИП, обладающих глюкозозависимым механизмом действия, могут способствовать нормализации баланса инсулин/глюкагон и улучшению гомеостаза глюкозы у пациентов с СД 2 типа без повышения риска гипогликемии [18, 21]. Исходя из вышесказанного и учитывая принятые в мире рекомендации в отношении применения комбинированной терапии СД 2 типа, можно предположить, что добавление иДПП-4 к препаратам, которым свойственно вызывать гипогликемию (производные сульфонилмочевины и тиазолидиндионы) будет снижать вероятность ее развития, что часто отмечается в клинических исследованиях (КИ).

2.1. Классификация иДПП-4

Kushwaha R.N. и соавт. [22] разделяют глиптины на несколько групп на основе их химического скелета:

- ситаглиптин и родственные ему глиптины включают ретаглиптин, гемиглиптин, омариглиптин и эвоглиптин, которые разрабатывались на основе производных триазолопиперазина. Ситаглиптин является первым глиптином класса иДПП-4, одобренным для лечения СД 2 типа;
- глиптины на основе цианопирролидина включают вилдаглиптин, саксаглиптин, анаглиптин, денаглиптин и мелоглиптин. Вилдаглиптин является первым на рынке ингибитором этого класса;
- тенелиглиптин и госоглиптин являются глиптинами на основе дипролила;
- линаглиптин относится к классу глиптинов на основе ксантина, в то время как алоглиптин и трелаглиптин – на основе пиримидиндиона;
- дутаглиптин и кармеглиптин относятся к глиптинам на борной и трициклической основе соответственно.

Nabeno M. и соавт. [6] классифицируют иДПП-4 на три класса в зависимости от их режимов связывания в активном центре ДПП-4:

Класс 1 содержит вилда- и саксаглиптин, которые связываются с подсайтами S1 и S2 и образуют ковалентную связь с нитрильной группой их цианпирролидинового фрагмента с участком Ser630 из ДПП-4. Саксаглиптин в пять раз сильнее чем вилдаглиптин ингибирует ДПП-4.

Класс 2 содержит ало- и линаглиптин, которые взаимодействуют с «дочерними» подсайтами S1', а в случае линаглиптина с S1' и S2', в дополнении к S1 и S2. Урацильные кольца обоих глиптинов вызывают конформационные изменения в Tyr-547 в дочернем S1'. Из-за дополнительного взаимодействия линаглиптина с дочерним S2', он в 8 раз более активен, чем алоглиптин.

Класс 3 обладает самой высокой ингибирующей активностью по отношению к ДПП-4, так как сита- и тенелиглиптин взаимодействуют не только с S1 и S2 участками ДПП-4 (как класс 1), но и с экстенсивным подсайтом S2. Тенелиглиптин имеет уникальную структуру, характеризующуюся J-образной формой и узловым замковым доменом (anchor-lock domain), что объясняет сильную ингибирующую активность и низкое значение IC_{50} (0,37 нМ) этого препарата. Связывание с экстенсивным подсайтом S2 некоторых ингибиторов также обуславливает их высокую специфичность по отношению к ДПП-4, так как у других родственных пептидаз (ДПП-8, ДПП-9 и FAP) этот участок отсутствует.

Также иДПП-4 можно разделить по продолжительности эффекта, выделив препараты с пролонгированным действием для перорального введения 1 раз в неделю: омариглиптин (MK-3102, Marizev®, Merck) и трелаглиптин (SYR-472, Zafatec®, Takeda/Furiex), которые одобрены для применения в Японии [23, 24].

В 2006 году FDA был одобрен к применению первый ингибитор ДПП-4 – ситаглиптин. После этого разработки препаратов данной группы были продолжены и на сегодняшний день существуют 17 препаратов данной группы [22].

2.2. Плейотропные свойства ингибиторов ДПП-4

ДПП-4 (CD26) экспрессируется клетками эндотелия сосудов, легких, почек, печени, тонкого кишечника и сердца, а также клетках иммунной системы [11]. В обзорной статье Zou H. и соавт. [25] рассматриваются биологические функции, ключевые молекулярные пути, взаимодействия и ассоциации ДПП-4 в контексте разработки новых методов лечения заболеваний легких, таких как астма, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и рак. Авторы отмечают, что ДПП-4 может регулировать иммунный ответ через активацию Т-клеток и модулирование хемотаксиса, а также участвовать в развитии астмы и ХОБЛ. Ингибирование ДПП-4 может замедлить пролиферацию гладкомышечных клеток и облегчить ремоделирования легочных артерий, а также повысить общую выживаемость пациентов с раком легкого.

ДПП-4 конститутивно экспрессируется на фибробластах легких и участвует в регуляции их функциональной активности (синтез коллагена и секреция воспалительных цитокинов). В условиях легочной гипертензии ингибирование ДПП-4 замедляет переход из обратимой в необратимую стадию ремоделирования сосудов, благодаря комплексному антиоксидантному, противовоспалительному и антифибротическому действию, а также замедляя пролиферацию и миграцию фибробластов [26].

В исследовании Zhang S. и соавт. [27], было доказано, что анаглиптин снижает повреждение легких у мышей, подвергшихся хроническому переменному стрессу в течение 2 недель.

Хронический стресс индуцировал воспаление и окислительный стресс, приводя к повреждению легких. Это сопровождалось повышением активности ДПП-4 в плазме, увеличением экспрессии генов некоторых провоспалительных цитокинов, молекул адгезии и ингибитора активатора плазминогена-1 (MCP-1, Vcam-1, Icam-1 и PAI-1), а также снижением экспрессии белков eNOS, Sirt1 и Bcl-2. Ингибирование ДПП-4 как введением анаглиптина, так и при создании генетических нокауты (DPP-4^{-/-}) предотвращало обусловленном стрессом повреждении легких, связанное с воспалением окислительным стрессом и апоптозом.

В работе Patel P.M. и соавт. [28] обсуждается роль ДПП-4 в развитии различных кожных заболеваний благодаря его экспрессии влиянии на функцию меланоцитов, кератиноцитов и фибробластов, а также участия в формировании баланса между регуляторными Т-лимфоцитами (Treg) и эффекторными Т-лимфоцитами. При кожных заболеваниях возможно опосредованное ДПП-4 нарушение иммуносупрессии со стороны Treg, способствующее развитию воспаления. Исследуется терапевтический потенциал ингибиторов ДПП-4 при различных воспалительных заболеваниях кожи (псориаз, атопический дерматит, фиброзирующие заболевания и др.).

В исследовании, опубликованном в 2011 г. было отмечено повышение экспрессии ДПП-4/CD26 у пациентов с атопическим дерматитом. В экспериментальной части работы у животных нокауты (DPP-4^{-/-}) индуцировали воспаление кожи с преобладанием Т-хелперов 1 (Th1) или 2-го типа (Th2), соответственно с преобладанием клеточного или гуморального иммунного ответа. У животных без ДПП-4 была обнаружена сниженная кожная воспалительная реакция в модели Th2-воспаления, которое лежит в основе таких заболеваний, как атопический дерматит, бронхиальная астма и др. С другой стороны, у животных без ДПП-4 в модели с преобладанием Th1 кожная воспалительная реакция была повышена [29]. Можно предположить, что при воспалительных заболеваниях кожи ингибирование ДПП-4 может иметь как потенциальную пользу, так и вред, что требует учета индивидуальных особенностей пациента. На момент написания данного обзора вышло немного публикаций о связи применения ингибиторов ДПП-4 с воспалительными заболеваниями кожи. Однако в одной из работ показано, что использование ингибиторов ДПП-4 (вилдаглиптин и линаглиптин) было ассоциировано с 3-кратным повышением риска буллезного пемфигоида и отмена терапии была ассоциирована с улучшением клинических исходов [30].

Значительное число цитокинов среди субстратов разрушаемых ДПП-4 указывает на перспективность исследования иДПП-4 для коррекции хронического воспаления при аутоиммунных ревматических заболеваниях [31]. Однако настоящий момент информации недостаточно и встречаются противоречивые данные как о позитивном [32], так

и негативном [33] влиянии ингибиторов ДПП-4 на течение ревматоидного артрита в эксперименте.

Для снижения потенциальных негативных эффектов иДПП-4, связанных с замедлением элиминации определенных цитокинов, рассматривается возможность применения антагонистов соответствующих рецепторов [34].

Обсуждается возможность применения иДПП-4 в иммунной регуляции и терапии аутоиммунных ревматических заболеваний

Ингибиторы ДПП-4 могут оказывать протективное действие при прогрессировании почечной недостаточности, включая антифиброзные эффекты при диабетической нефропатии [35]. ДПП-4 влияет на транспорт натрия в почках, поскольку натрий-водородный обменник 3 подтипа (NHE3) в мембранах щеточной каемки эпителия проксимальных канальцев существует в комплексе с ДПП-4, а снижение/подавление экспрессии/передачи сигналов и/или активности ДПП-4 может приводить к увеличению экскреции натрия и воды [36]. Min H.S. и соавт. [37], исследуя эффекты гемиглиптина у мышей в модели обструкции мочеточника, обнаружили, что у животных, получавших гемиглиптин в дозе 150 мг/кг перорально с пищей, в течение 14 сут наблюдалось уменьшение протеинурии и структурных изменений в почках. На фоне введения препарата у мышей снизилась экскреция с мочой 8-изопростана (маркера уровня окислительного стресса). Авторы отмечают, что нефропротективный эффект гемиглиптина реализуется с помощью нескольких механизмов, связанных с фиброзом, воспалением и окислительным повреждением, независимо от его гипогликемических эффектов.

Как было указано выше, мишенями для ДПП-4 также являются колониестимулирующие факторы и различные цитокины, что может иметь значительный потенциал при трансплантации органов и тканей (островковых клеток поджелудочной железы, легких, кожи, гемопоэтических стволовых клеток и др.) [11, 38].

Повышенная экспрессия ДПП-4 в печени способствует развитию неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и резистентности к инсулину. Это связывают со сниженным уровнем ГПП-1, а также с ауто- и паракринными эффектами ДПП-4. В экспериментальных исследованиях гемиглиптин снижал выраженность воспаления, окислительного стресса и облегчал течение фиброза печени. ДПП-4 рассматривается в качестве перспективной мишени для лечения НАЖБП [39].

Jung E. и соавт. [40] исследовали действие гемиглиптина на ретинальные перициты и процесс неоваскуляризации на модели ишемической пролиферативной ретинопатии у мышей склонных к развитию СД 2 типа (db/db). Введение гемиглиптина в течение 12 недель приводило к значительному снижению интенсивности апоптоза перицитов сетчатки и улучшало ретинальную неоваскуляризацию. Авторы отмечают выраженное ретинопротекторное действие гемиглиптина

вследствие подавления ДПП-4 и подавления экспрессии активатора плазминогена-1 (PAI-1).

В обзорной работе [41] обобщены результаты исследований, свидетельствующие о способности иДПП-4 препятствовать возникновению и прогрессированию диабетической микроангиопатии.

Некоторые известные препараты обладают ингибирующей активностью в отношении ДПП-4 – митоксантрон обладает значительной ингибирующей активностью в отношении ДПП-4 как *in vitro*, так и *in vivo* [42], бестатин и бацитрацин являясь ингибиторами металлоаминопептидаз и бактериальных протеаз, также ингибируют активность ДПП-4 и поэтому рассматриваются в качестве структурного элемента для создания новых соединений [43]. Окситоцин рассматривается в качестве пептидного эндогенного ингибитора активности ДПП-4 [44]. Ингибирующая активность в отношении ДПП-4 была обнаружена у гидролизатов α -лактальбумина крупного рогатого скота [45].

Куркумин, сириновая кислота, ресвератрол [46], берберин [47], экстракт чеснока [48] обладают высоким сродством к ферменту ДПП-4, что повышает интерес к данным продуктам природного происхождения.

В настоящее время, несмотря на открытие достаточно большого количества веществ, проявляющих ингибирующую активность в отношении ДПП-4, медицинская химия продолжает разрабатывать новые соединения

2.3. Потенциал использования ингибиторов ДПП-4 при COVID-19

Особый интерес направлен к потенциальному использованию ингибиторов ДПП-4 в комплексном лечении COVID-19. Предполагается, что иДПП-4 могут играть роль в снижении тяжести течения COVID-19 путем препятствия проникновению вируса в клетки. Это стало основой гипотезы о том, что применение ингибиторов ДПП-4 может быть оптимальной стратегией лечения COVID-19 у пациентов с диабетом, у которых при этом удвоен риск тяжелого течения инфекции [49, 50].

Моделирование *in silico* спайкового белка SARS-CoV-2 предсказало его потенциальное взаимодействие с ДПП-4 в дополнение к ангиотензинпревращающему ферменту 2 (АПФ2, ACE2) [51]. Данные модели предполагают, что ДПП-4 может быть корцептором для проникновения вируса SARS-CoV-2. ДПП-4 (мембранная и растворимая форма) служит мишенью не только для SARS-CoV-2, но и для MERS-CoV [52]. В литературе рассматривалась возможность использования моноклонального антитела к CD26 (бегеломаб) для блокирования взаимодействия SARS-CoV-2 с ДПП-4, однако данные о клинических исследованиях данного подхода отсутствуют [53].

Тот факт, что ДПП-4 существует в растворимой и мембранной форме усложняет понимание потенциала иДПП-4 при COVID-19. Предыдущие исследования показали, что растворимая форма

ДПП-4 действует как молекула-приманка для MERS-CoV, как и для SARS-CoV-2, блокируя связывание вирусного S-белка с клеточной поверхностью [54, 55]. Исследование Schlicht K. и соавт. [56] у пациентов с тяжелой формой COVID-19 показало сниженный уровень растворимого ДПП-4, который коррелировал с тяжестью заболевания. Однако неясно, было ли снижение уровня растворимого ДПП-4 следствием заболевания или индивидуальным исходным состоянием, обуславливающим повышенную восприимчивость к MERS-CoV или SARS-CoV-2. Уровень растворимого ДПП-4 в сыворотке также может быть снижен при различных клинических заболеваниях, таких как СД, ожирение и метаболический синдром, что может обуславливать тяжелое течение инфекционного заболевания [4]. При этом повысить уровень растворимого ДПП-4 способно введение ингибиторов ДПП-4 [57]. Таким образом, существует гипотеза о том, что ингибиторы ДПП-4 могут способствовать задержке вирусных частиц в кровотоке, увеличивая уровень растворимого ДПП-4, что в свою очередь может ограничить размножение вируса в теле человека.

ДПП-4 экспрессируется клетками иммунной системы и участвует в регуляции воспалительных процессов. Противовоспалительные эффекты ингибиторов ДПП-4 могут быть полезны у пациентов с COVID-19 для профилактики «цитокинового шторма» с целью снижения тяжести заболевания [49, 58]. Также ДПП-4 усиливает активацию фибробластов за счет повышения трансформирующего фактора роста β (TGF β), что указывает на антифибротический потенциал ингибиторов ДПП-4, подтвержденный экспериментальными моделями легочного и кожного фиброза [59].

3. Представители группы ингибиторов ДПП-4

Обобщенная информация о представителях ингибиторов ДПП-4 приведена в таблице 1.

3.1. Ситаглиптин (МК-0431, Januvia®, Merck)

Ситаглиптин разработан фармацевтической компанией Merck (Германия) на основе триазолопиперазина. С 2006 года одобрен FDA к применению при СД 2 типа. Он является высокоактивным в отношении ДПП-4 (IC_{50} =18 нМ) и селективным (в отношении ДПП-8 – 48000 нМ, ДПП-9 – >100000 нМ), улучшает функции β -клеток поджелудочной железы, а также гликемический контроль натощак и после приема пищи у пациентов с СД 2 типа. Наличие трифторметиловой группы в триазольном кольце улучшает его биодоступность [22]. Ситаглиптин дозозависимо ингибирует активность ДПП-4 в плазме до 80 и 47% при измерении активности фермента на 2-й и 24-й ч соответственно после введения однократной дозы 25 мг (у пациентов с СД 2 типа) [60]. Лишь незначительная часть препарата метаболизируется с участием ферментов CYP3A4 и CYP2C8. Метаболиты представляют собой конъюгаты N-сульфата и N-карбамоилглюкуроновой кислоты исходного лекарственного средства,

смесь гидроксированных производных, эфир глюкуронида гидроксированного метаболита и два метаболита, образованных окислительной десатурацией пиперазинового кольца с последующей циклизацией. Все 6 метаболитов не обладают ДПП-4-ингибирующей активностью. Ситаглиптин является самым изученным ингибитором ДПП-4 и активно исследуется эффективность его комбинаций с гипогликемическими препаратами других групп.

Ноу L. и соавт. [61] провели мета-анализ исследований, опубликованных по 2012 г., в которых оценивали эффективность и безопасность комбинированной терапии метформин+ситаглиптин и комбинации метформина (≥ 1500 мг) и производных сульфонилмочевины (глипизид, глибеперид, глибенкламид) у больных с СД 2 типа и недостаточным гликемическим контролем. Авторы показали, что ситаглиптин и препараты сульфонилмочевины сопоставимы по эффективности (в снижении HbA1c) при добавлении базовой терапии метформин. Однако при комбинированной терапии метформин и препаратами сульфонилмочевины риск развития гипогликемии оставался высоким в то время, как добавление ситаглиптина к метформину не увеличивало риск развития гипогликемического состояния.

Hayes J. и соавт. [62] в своем исследовании оценивали эффективность и безопасность комбинации ситаглиптин+метформин при лечении пациентов с СД 2 типа. Авторы сравнивали результаты 11 исследований продолжительностью от 24 до 104 недель. В данное исследование включали работы, в которых применялись: ситаглиптин и метформин в качестве фиксированных доз по отдельности или двойной терапии; ситаглиптин и метформин по сравнению с другими гипогликемическими препаратами и метформин; ситаглиптин и метформин в составе тройной комбинированной терапии (ситаглиптин+метформин+препарат сульфонилмочевины или инсулин). Авторы обнаружили, что сочетание ситаглиптина и метформина снижало уровень HbA1c и другие параметры гликемии лучше, чем любой из препаратов по отдельности. Данное сочетание было отличалось высоким профилем безопасности и хорошо переносилось пациентами. Риск гипогликемии был ниже при комбинации метформина и ситаглиптина, чем при сочетании метформина, глипизид или глиперимида.

Fonseca V. и соавт. [63] оценивали эффективность и безопасность ситаглиптина в тройной комбинированной терапии с метформин (≥ 1500 мг/сут) и пиоглитазоном (≥ 30 мг/сут) у пациентов с СД 2 типа (HbA1c=7,5–11%) в ходе плацебо-контролируемого, двойного слепого исследования в течение 26 недель. Добавление ситаглиптина приводило к значительным ($p < 0,001$) изменениям от базовой линии по сравнению с плацебо HbA1c (-0,7%), глюкозы в плазме натощак (-1,0 ммоль/л) и через 2 ч после приема пищи

(-2,2 ммоль/л). У пациентов с изначальным уровнем HbA1c $\geq 9,0\%$ средние изменения от базовой линии HbA1c составили -1,6 и -0,8% для групп ситаглиптина и плацебо соответственно (разница между группами составляла -0,8%; $p < 0,001$). Частота нежелательных явлений в целом была сопоставима между группами лечения, эпизоды гипогликемии наблюдались у 4,5 и 3,8% в группах ситаглиптина и плацебо соответственно ($p=0,786$). Авторы заключают, что добавление ситаглиптина к комбинированной терапии метформин и пиоглитазоном приводило к улучшению гликемического контроля и в целом хорошо переносилось.

В отечественной многоцентровой наблюдательной программе «Диа-Да» у больных СД 2 типа и концентрацией HbA1c=7–8%, которые 6 мес получали терапию ситаглиптином в дозировке 100 мг/сут в комбинации с метформин отмечалось снижение уровня HbA1c на 1,1%, у пациентов с более выраженным нарушением углеводного обмена (HbA1c $> 10\%$) снижение этого показателя составило 4,1%. В среднем, за 6 мес лечения уровень HbA1c уменьшился в среднем на -1,7%. Уровень глюкозы в плазме крови натощак в комбинации ситаглиптин+метформин также снизился: с исходного уровня 8,8 до 6,1 ммоль/л через 6 мес [64].

Ситаглиптин способствует уменьшению депо висцерального жира у пациентов с СД 2 типа при добавлении к метформину, что было отмечено в исследовании Аметова А.С. с соавт. [65]. Через 6 мес лечения, помимо улучшения гликемических параметров (уровней глюкозы, измеренных натощак и после приема пищи, а также HbA1c), наблюдалось снижение уровня индекса массы тела (ИМТ) в среднем на 5,29% в группе ситаглиптин+метформин, а в группе монотерапии метформин на 1,96%. Площадь висцерального жира уменьшилась в среднем на 7,52% в группе комбинированной терапии ($p < 0,001$), в то время как в группе на монотерапии метформин она уменьшилась в среднем на 1,76% ($p < 0,001$).

Представленные выше результаты показывают, что включение ситаглиптина в состав гипогликемической терапии приводит к достоверному повышению эффективности контроля метаболизма глюкозы и безопасности лечения в целом. Необходимо отметить, что ситаглиптин является самым изученным представителем данной фармакотерапевтической группы и в то же время интерес исследователей и врачей к нему не снижается.

3.2. Вилдаглиптин (LAF-237, Galvus®, Novartis)

Вилдаглиптин – представитель первого поколения ингибиторов и первый глиптин класса цианопирролидина, разработан компанией Novartis (Швейцария), одобрен для лечения СД 2 типа. Активный ($IC_{50}=3,5$ нМ) и умеренно селективный в отношении ДПП-4 против ДПП-8 (> 250 раз) и ДПП-9 (> 23 раза), но гораздо более избирателен к ДПП-2 и

FAP. Период полувыведения вилдаглиптина составляет 1,5 ч, биодоступность 85%, он улучшает гликемический контроль (снижает уровни HbA1c на 0,7%), вызывает ингибирование ДПП-4 на 80% в течение 7 ч и сохраняется на 40% через 24 ч после однократной дозы в 100 мг. Биотрансформации подвергается 69% от полученной дозы препарата, основной метаболит – LAY151 (57% дозы) фармакологически неактивен и является продуктом гидролиза цианокомпонента. Он улучшает функцию β -клеток и чувствительность к инсулину. Используется в монотерапии и в комбинации с другими противодиабетическими препаратами. Препарат одобрен Европейским агентством по лекарственным средствам в 2008 году для использования в Европейском союзе [22].

Многочисленные КИ показали эффективность добавления вилдаглиптина к терапии метформином, инсулином, производными сульфонилмочевины и тиазолидиндионами. Уровень гликированного гемоглобина снижался в среднем на 0,6–1,1%. У большинства пациентов масса тела оставалась стабильной, а в некоторых случаях наблюдалась тенденция к ее снижению, особенно при сочетании с метформином [66].

Azuma K. с соавт. [67] исследовали влияние вилдаглиптина 100 мг/сут на функцию β -клеток у пациентов с СД 2 типа. На фоне применения вилдаглиптина увеличивалась концентрация постпрандиального ГПП-1 и ГИП в 3 и 2 раза соответственно, а секреция инсулина на 50% ($p < 0,01$), концентрация глюкозы в плазме крови измеренной натощак и после приема пищи снижалась на $1,3 \pm 0,3$ и $1,6 \pm 0,3$ ммоль/л ($p < 0,01$) соответственно, а глюкагона (после приёма пищи) на 16% ($p < 0,01$). Авторы установили, что на фоне применения вилдаглиптина постпрандиальная концентрация глюкагона была на 41% ниже, чем в группе плацебо. Также было обнаружено, что в условиях гипогликемии разница между уровнем глюкагона и инсулина составляла 38%, что свидетельствовало о повышении функции α -клеток. Авторы заключают, что вилдаглиптин усиливал реакцию α -клеток как на подавляющий эффект глюкагона в условиях гипергликемии, так и на его стимулирующее действие в условиях гипогликемии, указывая на эффективность и безопасность при СД 2 типа.

Odawara M. и соавт. [68] рассматривали два открытых исследования, проведенных на пациентах с недостаточно контролируемым СД 2 типа и принимающих один из пероральных гипогликемических препаратов сульфонилмочевины, метформина, тиазолидиндиона, ингибитора α -глюкозидазы и глинида. Добавление вилдаглиптина (50 мг 2 р/день) к этим препаратам, через 52 недели лечения, снижало уровень HbA1c по сравнению с монотерапией на -0,64, -0,75%, -0,92, -0,94 и -0,64% соответственно. Эпизоды гипогликемии были редкими, с небольшим преимуществом в группе сульфонилмочевины. Снижение концентрации HbA1c при комбинированном применении

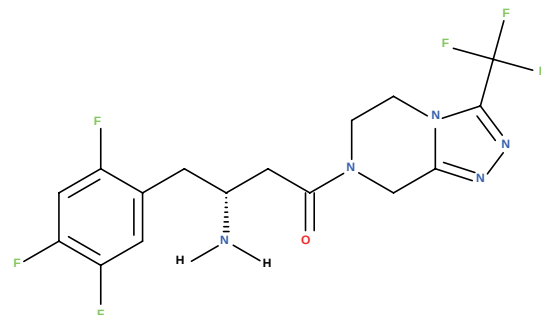
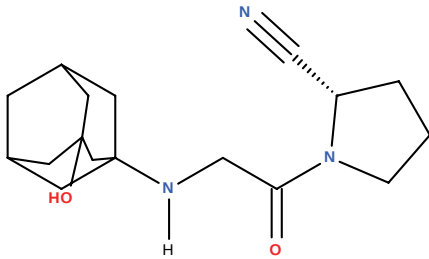
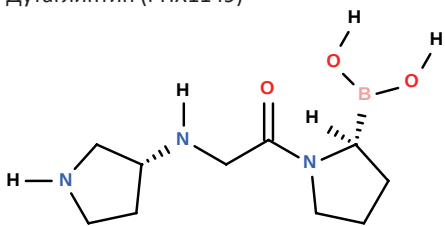
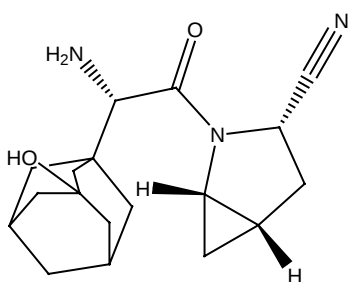
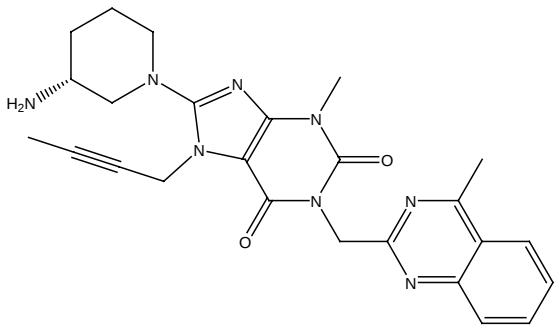
вилдаглиптина с секретогенами инсулина (препараты сульфонилмочевины или глиниды) было меньше по сравнению его комбинацией с другими препаратами. Во всех группах комбинированной терапии средняя концентрация глюкозы, измеренной натощак снижалась, так же, как и уровни триглицеридов и холестерина. Индекс HOMA- β увеличивался только у пациентов, получавших вилдаглиптин/сульфонилмочевина, у остальных этот показатель снижался. Авторы заключают, что вилдаглиптин обладает хорошим профилем переносимости у пациентов с СД 2 типа.

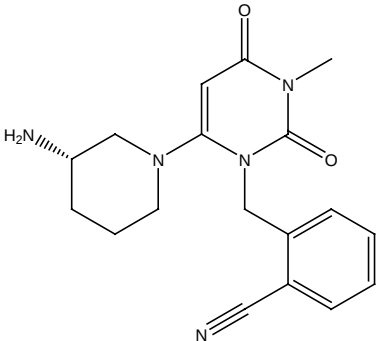
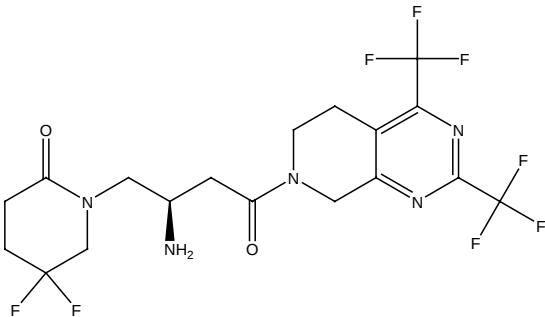
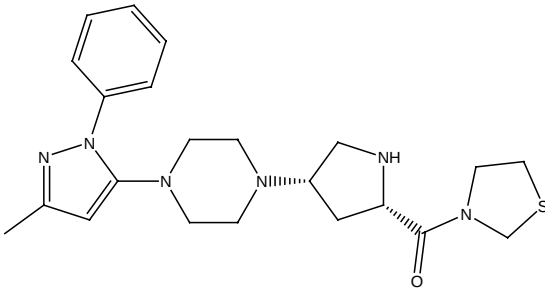
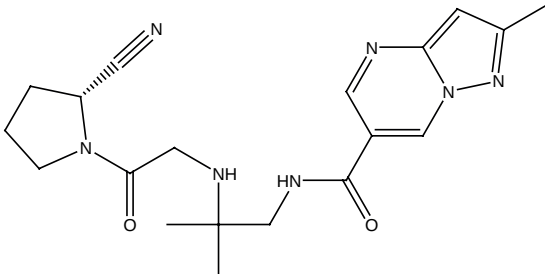
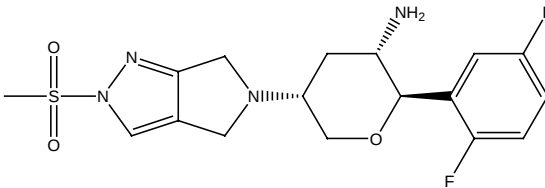
Аметов А.С. [69] сообщил о результатах нескольких исследований вилдаглиптина, в рамках одного из которых изучали эффективность и безопасность добавления вилдаглиптина к базовой терапии. В исследовании были определены три группы пациентов, которые получали различные виды терапии: 1-я группа – метформин в дозе ≥ 1500 мг/сут; 2-я группа – гликлазид МВ в дозе 90–120 мг/сут; 3-я группа – комбинированная терапия метформин+гликлазид МВ в максимальных терапевтических дозах. Через 24 недели терапии в группах 1, 2 и 3 снижение уровня HbA1c составило -1,2, -1,32 и -1,26% соответственно, а целевые значения HbA1c $\leq 7,0\%$ были достигнуты у 54, 60 и 32%. Даже у пациентов, получавших гликлазид, при использовании вилдаглиптина не увеличивался риск гипогликемии. Также было отмечено значимое снижение вариабельности гликемии во всех трех группах, что позволяет улучшить отдаленный прогноз заболевания.

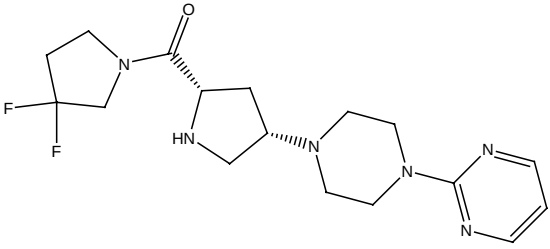
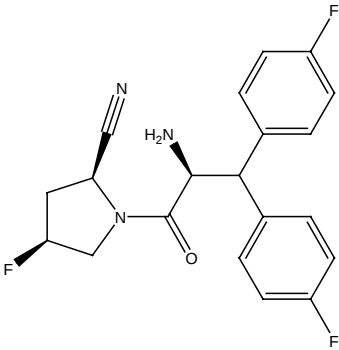
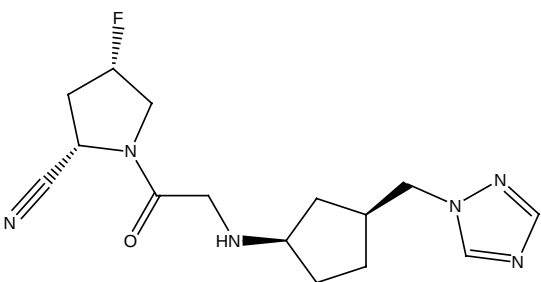
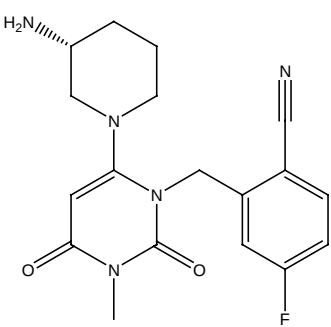
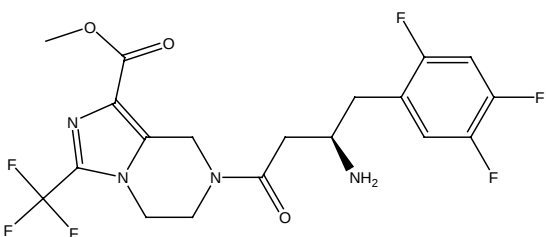
Kosaraju J. и соавт. [70] изучая влияние вилдаглиптина на крыс со смоделированной стрептозотоцином болезнью Альцгеймера (БА): через 3 мес после индукции БА, вилдаглиптин вводили перорально в дозах 2,5, 5 и 10 мг/кг/сут в течение 30 сут. Лечение животных вилдаглиптином приводило к увеличению концентрации ГПП-1, снижению выраженности когнитивного дефицита и дозозависимому снижению тау-фосфорилирования, A β и воспалительных маркеров. На основании вышесказанного авторы делают вывод о выраженных нейропротекторных свойствах вилдаглиптина.

Arruda-Junior D.F. и соавт. [71] исследовали эффекты вилдаглиптина у крыс со смоделированной сердечной недостаточностью. Через 6 недель после операции, крысам в течение 28 дней перорально вводили вилдаглиптин 120 мг/кг/сут. У крыс, не получавших лечение, была нарушена почечная функция, о чем свидетельствовала задержка жидкости, низкая скорость клубочковой фильтрации (СКФ) и высокий уровень экскреции белка с мочой. Лечение вилдаглиптином восстанавливало СКФ, экскрецию белка и Na⁺. Восстановление функции почек у крыс было связано с повышенным уровнем активного ГПП-1, подавлением активности ДПП-4 и повышением протеинкиназы А в корковом веществе почек. На основании этого авторы сделали вывод о рено- и кардиопротективном эффекте вилдаглиптина.

Таблица 1 – Ингибиторы ДПП-4, общая информация

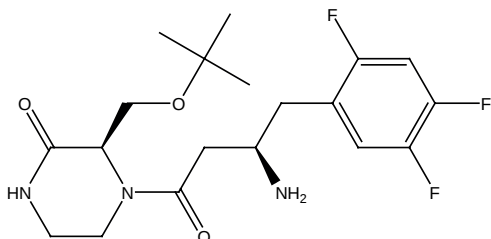
Лекарственные препараты	Общая информация
Ситаглиптин (МК-0431, Januvia®) 	$IC_{50}=18$ нМ; производится компанией Merck, зарегистрирован более чем в 40 странах, включая США и страны Евросоюза; биодоступность составляет 87%; после введения однократной дозы 25 мг, активность фермента ДПП-4 ингибируется на 80 и 47% на второй и 24 ч, соответственно; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 и ДПП-9 >2600 раз; $T_{1/2}$ – 12 ч; снижает содержание гликированного гемоглобина в дозе 100 мг/сут -0,8%; метаболизируется незначительная часть препарата; в процессе участвуют ферменты CYP3A4 и CYP2C8. Обнаружены 6 метаболитов, которые не обладают ДПП-4-ингибирующей активностью [22, 60].
Вилдаглиптин (LAF-237, Galvus®) 	$IC_{50}=3,5$ нМ; производится компанией Novartis, зарегистрирован более, чем в 78 странах, включая США и страны Евросоюза; биодоступность составляет 85%; после приема однократной дозе 100 мг активность фермента ДПП-4 ингибируется на 80% в течение 7 ч и сохраняет 40% после 24 ч; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 >250 раз и ДПП-9 в 23 раза; $T_{1/2}$ – 3 ч; снижает содержание гликированного гемоглобина в дозе 25 мг/сут – 0,6%; биотрансформации подвергается 69% от дозы препарата, основной метаболит – LAY151 (57% дозы) фармакологически неактивен и является продуктом гидролиза цианокомпонента [22].
Дутаглиптин (PHX1149) 	$IC_{50}=25$ нМ; производится компанией Phenomix Corp, проходит 3-ю стадию КИ; активность фермента ДПП-4 ингибируется на 90% при использовании препарата в дозе 400 мг в течении 24 ч, и на 50% в течении 24 ч если доза составляет 100 мг; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 и ДПП-9 >400 раз; $T_{1/2}$ – 10-13 ч; снижает содержание гликированного гемоглобина в дозе 400 мг через 12 недель – 0,52%, в дозе 200 мг – -0,35%; выводится в неизменном виде через почки [72, 73].
Саксаглиптин (BMS-477118, Onglyza®) 	$IC_{50}=26$ нМ; производится компанией Bristol-Myers Squibb, зарегистрирован в 56 странах, включая США, Канаду, Мексику, 30 входящих в ЕС стран, Чили, Индию, Бразилию, Аргентину и Швейцарию; биодоступность составляет 67%; ингибирует активность ДПП-4 на 80 и 57% до 90 мин и 24 ч соответственно в однократной дозе 10 мг В однократной дозе 100 мг он ингибирует активность ДПП-4 более чем на 95%; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 >390 раз и ДПП-9 >77 раз; снижает содержание гликированного гемоглобина в дозе 2,5–10 мг ~ 1%; метаболизируется до активного метаболита M_2. $T_{1/2}$ – 2–4 ч для саксаглиптина и 3–7 ч для метаболита M_2 [13].
Линаглиптин (BI-1356, Tradjenta®) 	$IC_{50}=1,0$ нМ; производится компанией Boehringer Ingelheim, зарегистрирован в Австрии, Австралии, Бразилии, Великобритании, Греции, Испании, Индии, Канаде, Коре, Мексике, США, Сингапуре, Японии, России; биодоступность составляет 30%; в разовой дозе 10,0 мг/кг ингибирование плазменного ДПП-4 составляет ≥80% в течение 24 ч; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 и ДПП-9 >10000 раз; $T_{1/2}$ – 113-131 ч; снижает содержание гликированного гемоглобина в дозе 5 мг через 24 недели на -0,69%; практически не метаболизируется в организме, известен один основной метаболит линаглиптина, который не обладает фармакологической активностью [83].

Лекарственные препараты	Общая информация
Алоглиптин (SYR-322, Nesina® в США и Vipidia® в Европе) 	IC_{50} = 7,0 нМ; производится компанией Takeda, зарегистрирован в США, странах ЕС, России, Китае, Японии, Корее; биодоступность составляет 100%; применение вызывает более чем 90% ингибирование ДПП-4 в течение 24 ч в дозе 25 мг/сут; высокоселективен (>10000 раз) в отношении ДПП-4 по сравнению с другими изоферментами (ДПП-2, ДПП-8, ДПП-9 и др; $T_{1/2}$ – 21 ч; в дозе 25 мг через 26 недель – 0,6%; не подвергается интенсивному метаболизму, 60–71% алоглиптина выводится в неизменном виде почками. Есть два второстепенных метаболита – N-деметилованный алоглиптин (менее 1% исходного соединения) и N-ацетилованный алоглиптин (менее 6% исходного соединения). N-деметилованный метаболит активен, является ингибитором ДПП-4. Около 10–20% дозы препарата метаболизируется в печени под действием цитохромов CYP3A4 и CYP2D6 [89].
Гемиглиптин (LC15-0444, Zemiglo®) 	IC_{50} = 6,3 нМ; производится компанией LG Life Sciences, зарегистрирован в Корее, Индии, Колумбии, Коста-Рике, Панаме и Эквадоре; биодоступность составляет более 63%; в дозе 200 мг ингибирует активность ДПП-4 в плазме более чем на 80% в течение 24 ч, в дозе 400 мг – в течение 36 ч, 600 мг – 48 ч; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 >27000 раз, ДПП-9 >23000 раз, к FAP-α >41000 раз; $T_{1/2}$ – 17 ч, для активного метаболита – 24 ч; в дозе 50 мг/сут через 24 недели снижение гликированного гемоглобина составляет – 0,71%; около 10% дозы метаболизируется при участии цитохрома CYP3A4 до LC15-0636, гидроксированного гемиглиптина [97].
Тенелиптин (MP-0513, Tenelia®) 	IC_{50} = 1,8 нМ; производится компанией Mitsubishi Tanabe, зарегистрирован в Японии, Корее, Индии; биодоступность составляет 63–85%; ингибирует активность плазменного ДПП-4 более чем на 50% в течение 24 ч после однократного приема 1 мг/кг; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 >703 раз и ДПП-9 >1460 раз; $T_{1/2}$ – 8–16 ч; снижение гликированного гемоглобина составляет 0,9 в дозах 10 и 20 мг, на 1% при 40 мг через 12 недель; метаболизируется около 65,6% дозы [100].
Анаглиптин (SK-0403, Suiny®) 	IC_{50} = 3,8 нМ; производится компанией Sanwa Kagaku Kenkyusho, зарегистрирован в Японии, Корее; биодоступность составляет 73%; ингибирует активность ДПП-4 на 95% в дозе 3 мг/кг; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 и ДПП-9 >10000 раз; в дозе 100 мг через 24 недели вызывает снижение гликированного гемоглобина на 0,5%; метаболит M_1 (карбоксилат) составляет 29,2% от дозы, доля других метаболитов около 1%. $T_{1/2}$ – 4,37 ч, M_1 - 9,88 ч [108].
Омарилиптин (MK-3102, Marizev®) 	IC_{50} = 1,6 нМ; производится компанией Merck, одобрен для применения в Японии; биодоступность составляет 74%; вызывает ингибирование плазменного ДПП-4 на 77–89% до 168 ч; высокоспецифичен относительно других протеаз, включая ДПП-8, ДПП-9, QPP, FAP, PER; $T_{1/2}$ – 68 ч; в дозе 25 мг/нед через 54 недели вызывает снижение гликированного гемоглобина на 0,3%; не метаболизируется, выводится в основном через почки в неизменном виде, через кишечник – около 3% [113].

Лекарственные препараты	Общая информация
Госоглиптин (PF-00734200, Saterex®, SatRx® или Сатерекс®) 	$IC_{50}=13$ нМ; разработан компанией Pfizer, зарегистрирован в России в 2016 году; его биодоступность составляет более 99%; вызывает ингибирование ДПП-4 на 75% через 24 ч; более, чем 100-кратная селективность в отношении ДПП-2, ДПП-3, ДПП-8 и ДПП-9; $T_{1/2}$ – 2,7 ч; в дозе 10 мг/сут через 12 недель вызывает снижение гликированного гемоглобина на 0,7%; основной метаболический путь госоглиптина у человека связан с гидроксилированием пиримидиновой группы (M_5). Другие метаболиты связаны с гидролизом амидов, глюкуронизацией карбамоила, конъюгацией с формамидом, глюкозой и креатинином. Выведение: 48,5% – в неизменном виде. Имеет 8 метаболитов, причем 17,9% от дозы составляет метаболит M_5 [117].
Денаглиптин (GSK-823093, GW823093) 	$IC_{50}=22$ нМ; производится компанией GlaxoSmithKline, проходит 3-ю стадию КИ; максимальное ингибирование ДПП-4 через 30 мин и более чем на 85% через 24 ч в дозе 25 мг; в дозе 45 мг на 12 неделе лечения вызывает снижение гликированного гемоглобина на 0,84%; имеет печеночный и внепеченочный метаболизм, 13 метаболитов [22].
Мелоглиптин (GRC 8200, EMD-675992) 	$IC_{50}=1,61$ нМ; производится компанией Glenmark, проходит 3-ю стадию КИ; биодоступность составляет 60, 90 и 94% у крыс, собак и обезьян соответственно (в дозе 5 мг/кг). Данные по людям не опубликованы; вызывает ингибирование ДПП-4 на более чем 90% в течение 1 ч; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 и ДПП-9 >10000 раз; снижает содержание гликированного гемоглобина на 0,75 и 0,60% в дозе 50 мг 2 р/сут и в дозе 100 мг/сут [22].
Трелаглиптин (SYR-472, SYR111472, TAK-472, Zafatec®) 	$IC_{50}=4,2$ нМ; производится компанией Takeda/Furiex; одобрен для применения в Японии и Корее; биодоступность у крыс 50,3%; после приема 100 мг вызывает 70% ингибирование активности плазменного ДПП-4, которое сохраняется через 168 ч; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 и ДПП-9 >10000 раз; $T_{1/2}$ – 72–168 ч; в дозе 100 мг/нед через 52 недели снижает содержание гликированного гемоглобина на 0,57%; метаболизируется с помощью цитохрома P450 (CYP2D6), выводится в основном через почки [22].
Ретаглиптин (SP-2086) 	$IC_{50}=8$ нМ; производится компанией Jiangsu Hengrui Medicine, проходит 3-ю стадию КИ; селективность в отношении родственных ферментов: ДПП-8 >3263 раз и ДПП-9 >9438 раз; $T_{1/2}$ – 1,5 ч [22].

Лекарственные препараты

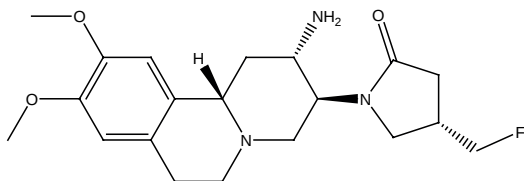
Эвоглиптин (DA-1229, Suganone®, Evodine® или Эводин®)



Общая информация

IC_{50} = 0,98 нМ; производится компанией Dong-A Pharmaceutical, зарегистрирован в Южной Корее, реализуется препарат на территории России; биодоступность составляет 50,2%; вызывает ингибирование ДПП-4 более чем на 80% после однократного приема 5 мг; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 и ДПП-9 >6000 раз; $T_{1/2}$ – 30 ч; снижает уровень HbA1c на 0,56% в дозе 2,5 мг и на 0,61% в дозе 5 мг; метаболизируется путем процессов окисления, глюкуронизации и сульфатирования. Имеет 4 метаболита [22].

Кармеглиптин (R-1579)



IC_{50} = 6,8 нМ; производится компанией F. Hoffmann-La Roche Ltd., проходит 3-ю стадию КИ; биодоступность 33% в дозе 1 мг/кг у обезьян, у крыс – 28%, данных по людям нет; снижает активность плазменного ДПП-4 на 40 и 60% через 24 и 48 ч соответственно после однократного перорального приема в дозе 3 мг/кг; селективность в отношении родственных ферментов ДПП-8 и ДПП-9 >10000 раз, ДПП-2 >2000 раз; $T_{1/2}$ – 6,8 ч. Не метаболизируется, выводится в неизменном виде через печень и почки [129].

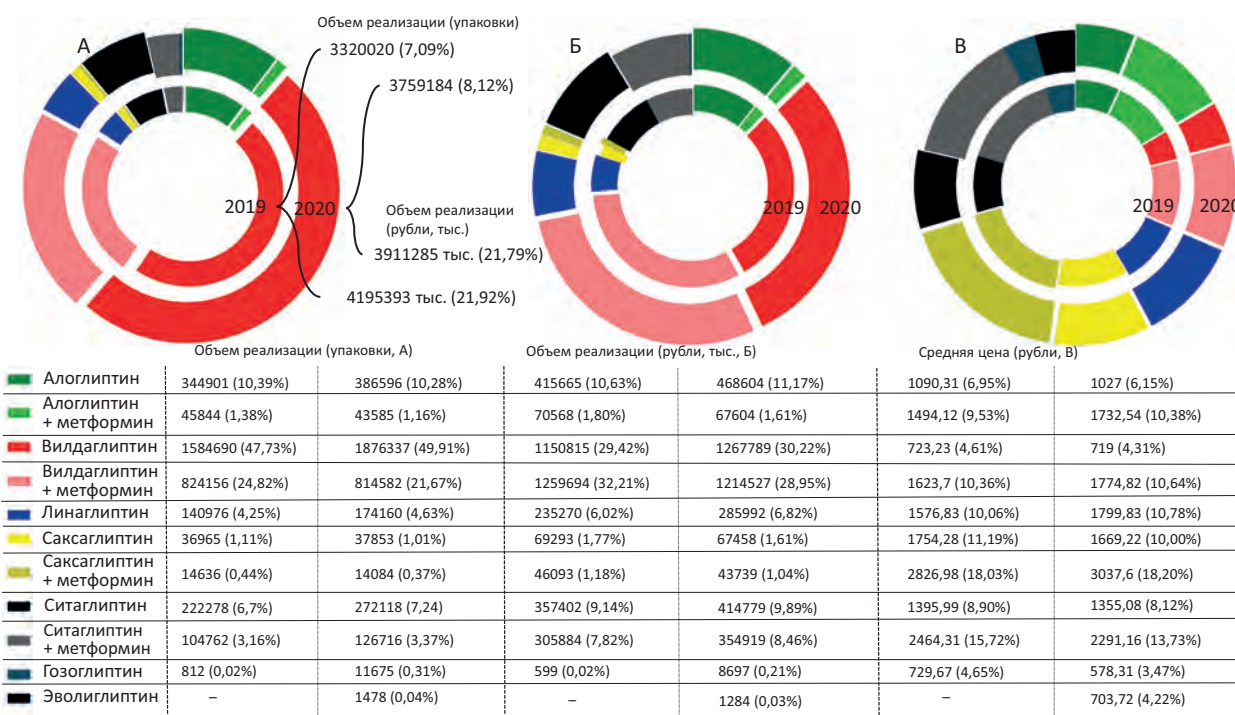


Рисунок 1 – Некоторые показатели отечественного рынка иДПП-4 (по данным DSM Group)¹

Примечание: данные представлены в российских рублях, на 1 августа 2022 г. 1 доллар США (USD) соответствовал 61,3 российским рублям (RUB).

¹ Данные были официально приобретены у компании DSM Group, на их основе произведены расчёты и представлены диаграммы.

3.3. Дутоглиптин (PNX1149, Phenomix Corp)

Дутоглиптин – производное борной кислоты и представитель второго поколения иДПП-4. Активный ($IC_{50}=25$ нМ) и высокоселективный для ДПП-4 (в отличие от ДПП-8 и ДПП-9 (в 400 раз), ингибирует действие фермента до 50 и 80% соответственно у собак и обезьян даже при измерении после 24 ч при разовой дозе 9 мг/кг. У людей в дозе 400 мг наблюдалось 90% ингибирование фермента в течение 24 ч, в дозе 100 мг – 50% ингибирование в течение 24 ч [72]. Выводится в неизменном виде через почки, период полувыведения составляет 10–13 ч [73]. В настоящее время находится в фазе III КИ.

Pattzi H.M. и соавт. [74] определяли эффективность и переносимость дутоглиптина у пациентов с СД 2 типа в 12-недельном, многоцентровом рандомизированном, двойном слепом, плацебо-контролируемом исследовании. Пациенты с индексом массы тела 25–48 кг/м² и начальным уровнем HbA1c=7,3–11,0% были рандомизированы на следующие группы: исследуемый препарат 200 или 400 мг/сут, либо плацебо в дополнение к приему метформина, тиазолидиниона, либо их комбинации. Применение дутоглиптина в обеих дозировках через 12 недель позволило добиться снижения уровня HbA1c на 0,52 и 0,35% в группах, получавших его в дозах 400 мг ($p<0,001$) и 200 мг ($p=0,006$, плацебо-скорректированные величины) соответственно. Доля пациентов, которые дополнительно получали 400 и 200 мг дутоглиптина или плацебо и достигших целевого уровня HbA1c <7% составила 27, 21 и 12% соответственно. Уровни глюкозы в плазме крови натощак были значительно ниже в обеих группах комбинированного лечения по сравнению с плацебо: плацебо-скорректированная разница составила -1,00 ммоль/л ($p<0,001$) для группы, получавшей 400 мг дутоглиптина и -0,88 ммоль/л ($p=0,003$) для группы 200 мг. Дутоглиптин вызывал значительное снижение постпрандиальной AUC_{0-120} глюкозы в обеих группах 400 и 200 мг (плацебо-скорректированные значения составили -2,58 и -1,63 ммоль/л/ч, соответственно). Авторы заключают, что лечение дутоглиптином в комбинированной терапии с метформином и/или тиазолидинионом в течение 12 недель улучшало гликемический контроль у пациентов с СД 2 типа.

Garcia-Soria G. и соавт. [75] определяли эффективность и переносимость дутоглиптина (PNX1149) у пациентов с СД 2 типа в многоцентровом, рандомизированном, двойном слепом плацебо-контролируемом 4-недельном исследовании. Пациенты с базовым уровнем HbA1c от 7,3 до 11% были рандомизированы на 4 группы: дутоглиптин 100, 200 или 400 мг/сут, либо плацебо на фоне постоянной терапии метформином, либо метформин+глитазон. Во всех группах, получавших дутоглиптин, наблюдалось значительное снижение AUC_{0-120} глюкозы (приблизительно на 20%). Наблюдалось повышение AUC_{0-120} ГПП-1 после приема пищи

на $3,90\pm 2,83$ пмоль/л/ч в группе плацебо, $11,63\pm 2,86$ пмоль/л/ч в группе 100 мг, $16,42\pm 2,72$ пмоль/л/ч в группе 200 мг и $15,75\pm 2,71$ пмоль/л/ч в группе, получавшей 400 мг дутоглиптина. Уровень HbA1c был снижен во всех группах, получавших дутоглиптин; плацебо-скорректированное изменение в группе, получавшей 400 мг составило 0,28%. Частота нежелательных явлений не отличалась между группами, получавшими дутоглиптин, и плацебо. Авторы пришли к выводу, что добавление дутоглиптина к постоянной терапии метформином или метформин+глитазон у пациентов с СД 2 типа хорошо переносится и улучшает гликемический контроль.

Schenk R. и Nix D. [76] исследовали влияние дутоглиптина в монотерапии и в комбинации с гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ), который мобилизует стволовые клетки из костного мозга в периферическое кровообращение. Дутоглиптин, по сообщению авторов, предотвращает расщепление фактора SDF-1 стволовых клеток. Введение высокой/низкой дозы дутоглиптина в сочетании с Г-КСФ в течение 28 сут после моделированного инфаркта миокарда значительно улучшало выживаемость животных и ремоделирование миокарда сокращало размер инфаркта по сравнению с дутоглиптином и Г-КСФ, применяемыми по отдельности. Авторы сообщают о планируемом КИ для оценки влияния дутоглиптина в сочетании с Г-КСФ у пациентов с инфарктом миокарда.

3.4. Саксаглиптин (BMS-477118, Onglyza®, Bristol-Myers Squibb)

Саксаглиптин – это первый иДПП-4 на основе метанопирролидина. По сравнению с ДПП-8 и ДПП-9) саксаглиптин селективен и высокоактивен ($IC_{50}=26$ нМ). Саксаглиптин ингибирует активность ДПП-4 на 80 и 57% до 90 мин и 24 ч соответственно, при приеме однократно в дозе 10 мг, а в однократной 100 мг снижает активность ДПП-4 более, чем на 95%. Биодоступность около 67% [13]. Метаболизируется до активного метаболита (M_2). $T_{1/2}$ – 2–4 ч для саксаглиптина и 3–7 ч для метаболита M_2 . Применение препарата значительно снижает концентрацию HbA1c. Одобрен FDA (США) в 2009 года.

Rosenstock J. и соавт. [77] провели 12-недельное, многоцентровое, рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование на пациентах с СД 2 типа (HbA1c=6,8–9,7%). Пациенты в течение 12 недель (группа с низкой дозой) получали саксаглиптин в дозах 2,5, 5, 10, 20 или 40 мг 1 р/сут. Во второй группе пациенты в течение 6 недель получали саксаглиптин в дозировке 100 мг 1 р/сут (группа с высокой дозой). Во всех группах лечения саксаглиптин значительно снижал уровень HbA1c на 0,7–0,9% от средней базовой линии по сравнению с плацебо (-0,3%). При этом эффект не зависел от дозы. Саксаглиптин значительно снижал концентрацию глюкозы, измеренной

натошак (на 0,8–1,4 ммоль/л). Постприандиальный уровень глюкозы через 60 мин после приема пищи был ниже, чем в группе, принимавшей плацебо на 1,33–1,28 ммоль/л. Саксаглиптин улучшал функцию β -клеток (НОМА) во всех дозах. Побочные эффекты (гипогликемия, головная боль, диспепсические явления) были сходны с плацебо во всех группах лечения.

Matthaei S. и соавт. [78] исследовали эффективность применения саксаглиптина 5 мг/сут (в сравнении с плацебо) у пациентов с СД 2 типа (средний HbA1c=7,9%), получавших дапаглифлозин 10 мг/сут и метформин в течение 52-х недель. Скорректированное среднее изменение концентрации HbA1c по сравнению с исходным на 52-й неделе было более выраженным в группе саксаглиптина, чем плацебо (-0,38% против 0,05%). Также количество пациентов, которые достигли целевого уровня HbA1c <7% в группе, получавшей саксаглиптин по сравнению с плацебо (29% против 13%) было больше. Снижение массы тела ($\leq 1,5$ кг) наблюдалось в обеих группах. Сопоставимое число пациентов сообщили об одном или нескольких нежелательных явлениях (58%). Авторы заключают, что тройная терапия с саксаглиптином в дополнение к дапаглифлозину и метформину в течение 52-х недель улучшала гликемический контроль без увеличения массы тела и повышения риска развития нежелательных явлений.

Часра А.Р. и соавт. [79] оценивали эффективность и безопасность саксаглиптина в комбинации с глибуридом против монотерапии у пациентов с СД 2 типа. Пациенты получали саксаглиптин в дозах 2,5 или 5 мг в комбинации с глибуридом (7,5 мг), а группа сравнения в течение 24-х недель получала только глибурид (10 мг). В группах, пациенты которых получали саксаглиптин наблюдалась более выраженное снижение концентрации HbA1c (-0,54% в группе 2,5 мг, -0,64% в группе 5 мг против +0,08% группы глибурида; $p < 0,0001$) и глюкозы, измеренной натощак (-0,389, -0,556 ммоль/л против +0,056 ммоль/л). Число пациентов, которые достигали целевого уровня HbA1c <7% в группе саксаглиптина (2,5 и 5 мг) было больше по сравнению с глибуридом (22,4 и 22,8% против 9,1%; $p < 0,0001$).

При исследовании безопасности саксаглиптина у пациентов, которые принимали его в дозе 5 мг/сут в течение 2-х лет, число пациентов, которые были госпитализированы по поводу сердечной недостаточности в группе саксаглиптина, оказалось больше, чем в группе плацебо (3,5 против 2,8%). При отсутствии влияния на частоту случаев ишемии, частота госпитализации по поводу сердечной недостаточности была незначительно выше. В 2016 году FDA, ссылаясь на это исследование, сообщили, что саксаглиптин может повышать риск развития сердечной недостаточности, особенно у пациентов, которые уже имеют заболевания сердца или почек. В связи с этим FDA рекомендует специалистам здравоохранения рассмотреть вопрос о прекращении

применения препаратов, содержащих саксаглиптин, пациентами, у которых развивается или имеет место сердечная недостаточность [80].

Петунина Н.А. и Бращенкова А.В. в обзорном исследовании, посвященном саксаглиптину [81], обобщили ряд зарубежных исследований этого препарата. Авторы сообщают не только об эффективности саксаглиптина, но и его высокой безопасности. Так, назначение саксаглиптина пациентам с СД 2 типа и хронической болезнью почек возможно на любой стадии заболевания, включая терминальную. Применение саксаглиптина также оправдано и в случае нарушения функции печени, включая любую степень печеночной недостаточности. Очень важным преимуществом саксаглиптина можно также считать его кардиоваскулярную безопасность, подтвержденную результатами мета-анализа 8 КИ.

Kosaraju J. и соавт. [82] изучали влияние саксаглиптина на крыс со стрептозоцин-индуцированной болезнью Альцгеймера (БА). Три месяца спустя после индукции БА, животным перорально вводили саксаглиптин (0,25, 0,5 и 1 мг/кг) в течение 60 сут. Саксаглиптин минимизировал когнитивный дефицит, что может быть связано со снижением концентрации амилоида, фосфорилирования тау-белка и нейровоспаления, а также проявлял нейропротекторные свойства.

3.5. Линаглиптин (BI-1356, Tradjenta®, Boehringer Ingelheim)

Линаглиптин – представитель второго поколения ингибиторов ДПП-4 на основе ксантина. Один из самых высокоактивных ($IC_{50}=1,0$ нМ) и селективных в отношении ДПП-4 (по сравнению с ДПП-8 и ДПП-9 >10000 раз). Биодоступность составляет примерно 30%, $T_{1/2}$ составляет 113–131 ч. При разовой дозе 10 мг/кг ингибирование плазменного ДПП-4 составляет $\geq 80\%$ и сохраняется в течение 24 ч. Одобрен FDA в США в 2011 году. В отличие от других ингибиторов активно связывается с белками плазмы крови ($>80\%$), практически не метаболизируется. Линаглиптин выводится в основном с желчью (84,7% после перорального приема и 58,2% после внутривенного введения) и меньше через почки (5,4% после перорального приема и 30,8% после внутривенного введения). Таким образом, корректировка дозы с учетом почечной недостаточности практически не требуется, что может быть важным преимуществом для пациентов с СД 2 типа и нефропатией [83].

В исследовании del Prato S. и соавт. [84] изложены результаты 3 фазы многоцентрового рандомизированного исследования линаглиптина. Дозировка препарата составляла 5 мг/сут для пациентов с СД 2 типа, получавших препарат в течение 24 недель. Среднее снижение концентрации HbA1c, по сравнению с начальными значениями, составило -0,69% ($p < 0,0001$). Выраженность гипогликемического действия зависела от исходного

уровня HbA1c. Так, для группы с начальным уровнем HbA1c <7,5% – его снижение после лечения составило -0,57%, при HbA1c 7,5–8% – -0,55% ($p < 0,005$), при HbA1c 8–9% – -0,71% ($p < 0,0001$), а при HbA1c $\geq 9\%$ снижение было 1,1% ($p < 0,0001$). В группе, получавшей линаглиптин также наблюдалось более значительное снижение концентрации глюкозы, измеренной натощак (1,3 ммоль/л; $p < 0,0001$) и через 2 ч после приема пищи (3,2 ммоль/л; $p < 0,0001$). Число пациентов, достигших уровня HbA1c <7% после 24 недель лечения в группе линаглиптина составило 25,2%, а в группе плацебо – только 11,6% ($p = 0,0006$).

Taskinen M.R. и соавт. [85] исследовали действие линаглиптина 5 мг/сут у пациентов с некомпенсированным СД 2 типа, получавших метформин в дозе ≥ 1500 мг/сут в течение 24 недель. У пациентов получающих дополнительно к метформину линаглиптин наблюдалось более значительное снижение уровня HbA1c по сравнению с плацебо скорректированными средними изменениями от начального (-0,49 против 0,15% плацебо), глюкозы, измеренной натощак (-0,59 против 0,58 ммоль/л плацебо) и уровня глюкозы через 2 ч после приема пищи (-2,7 против 1,0 ммоль/л в группе плацебо); $p < 0,0001$. Эпизоды гипогликемии наблюдались у 3-х пациентов (0,6%), получавших линаглиптин, и 5-ти пациентов (2,8%) в группе плацебо. Авторы заключают, что добавление линаглиптина в дозе 5 мг один раз в день пациентам с СД 2 типа, приводило к клинически значимому улучшению гликемического контроля без повышения риска гипогликемии.

Forst T. и соавт. [86] сравнивали эффекты линаглиптина в дозах 1, 5 и 10 мг 1 р/сут, глимепирида (1–3 мг 1 р/сут) и плацебо у пациентов с СД 2 типа с неадекватным гликемическим контролем (HbA1c от $\geq 7,5$ до $\leq 10\%$) при монотерапии метформином. Через 12 недель лечения плацебо-скорректированное среднее изменение уровня HbA1c в группе, получавшей 1 мг линаглиптина, составило -0,40%, 5 мг -0,73%, 10 мг -0,67%. Для глимепирида изменение в среднем плацебо-скорректированном уровне HbA1c по сравнению с начальным составило -0,9%. Частота нежелательных явлений была низкой и сопоставимой во всех группах. В группах, получавших линаглиптин или плацебо, не наблюдалось эпизодов гипогликемии, в отличие от группы глимепирида (5%).

В работе Owens D.R. и соавт. [87] сообщали о результатах многоцентрового, 24-недельного, рандомизированного, двойного слепого КИ, проведенного на пациентах с СД 2 типа, принимавших линаглиптин в дозе 5 мг/сут или плацебо при добавлении их к основной терапии метформином или препаратом сульфонилмочевины. На 24-й неделе изменение в среднем плацебо-скорректированном уровне HbA1c, по сравнению с начальным, составило -0,62% ($p < 0,0001$). Больше количество пациентов с начальным уровнем HbA1c $\geq 7,0\%$ достигли уровня HbA1c <7,0% в группе линаглиптина по сравнению с плацебо (29,2 против 8,1%; $p < 0,0001$). Концентрация

глюкозы в плазме крови, измеренной натощак, была ниже в группе, получавшей линаглиптин по сравнению с плацебо ($p < 0,0001$). Также в группе, пациенты которой помимо метформина или препарата сульфонилмочевины принимали и линаглиптин, были отмечены значимые улучшения функции β -клеток ($p < 0,001$). Доля пациентов с серьезными нежелательными реакциями была низкой в обеих группах (линаглиптин 2,4%, плацебо 1,5%). Эпизоды гипогликемии наблюдались у 16,7 и 10,3% пациентов в группах линаглиптина и плацебо соответственно. Гипогликемия была в основном легкой или умеренной; тяжелая гипогликемия была отмечена у 2,7 и 4,8% участников в группах линаглиптина и плацебо соответственно. Авторы отмечают, что у пациентов с СД 2 типа, добавление линаглиптина к комбинированной терапии метформином и препаратами сульфонилмочевины значительно улучшало гликемический контроль и хорошо переносилось.

В ходе двухлетнего исследования эффективности линаглиптина (5 мг/сут) и глимепирида (1–4 мг/сут) в комбинации с метформином у пациентов с некомпенсированным СД 2 типа среднее снижение HbA1c при применении линаглиптина составило -0,16%, а глимепирида -0,36%. Уровень HbA1c менее 7% на 104 неделе лечения был отмечен у 30% пациентов в группе линаглиптина и у 35% в группе глимепирида. В группе, получавшей линаглиптин, отмечалось меньшее число эпизодов гипогликемии по сравнению с глимепиридом (7 и 36% соответственно) [88].

Kosaraju J. и соавт. [15] изучили эффективность линаглиптина у мышей 3хTg-AD (трансгенная линия мышей с БА). Мышам в течение 8 недель вводили перорально линаглиптин (5, 10 и 20 мг/кг). Авторы установили, что лечение линаглиптином в течение 8 недель дозозависимо снижало когнитивный дефицит, повышало концентрацию инкретинов в головном мозге (ГМ) и снижало процессы тау-фосфорилирования, нейровоспаления и β -амилоидирования. Авторы отметили, что линаглиптин обладает ноотропными свойствами, которые могут быть объяснены переходом большего количества ГПП-1 и ГИП через ГЭБ и повышением концентрации инкретинов в ГМ.

3.6. Алоглиптин (SYR-322, Nesina® в США и Vipidia® в Европе, Takeda)

Алоглиптин является представителем третьего поколения ингибиторов ДПП-4, созданных на основе пиримидиниона ($IC_{50} = 7$ нМ) [89]. Он высокоселективен ($>10\,000$ раз) в отношении ДПП-4 (по сравнению с другими изоферментами, такими как ДПП-2, ДПП-8, ДПП-9 и др.), ингибирует ДПП-4 более, чем на 90%. Эффект сохраняется в течение 24 ч при использовании в дозе 25 мг/сут. Алоглиптин не подвергается интенсивному метаболизму: 60–71% его выводится в неизменном виде почками. Есть два

второстепенных метаболита – N-деметилованный алоглиптин (менее 1% исходного соединения) и N-ацетилованный алоглиптин (менее 6% исходного соединения). N-деметилованный метаболит активен, является ингибитором ДПП-4. Около 10–20% дозы препарата метаболизируется в печени под действием цитохромов CYP3A4 и CYP2D6. Биодоступность алоглиптина составляет приблизительно 100%. Одобрен FDA с 2013 года.

DeFronzo R.A. и соавт. [90] провели 26-недельное, двойное, слепое, плацебо-контролируемое исследование на пациентах с некомпенсированным СД 2 типа и средним исходным уровнем HbA1c=7,9%, установили, что при применении алоглиптина в дозах 12,5, 25 мг, или плацебо 1 р/сут, приводило к существенному снижению концентрации HbA1c и глюкозы, измеренной натощак по сравнению с плацебо. У пациентов, получавших 25 мг алоглиптина наблюдалось снижение концентрации HbA1c на 0,6%. При этом 44% пациентов на 26 неделе лечения достигали уровня HbA1c≤7%. Значительные изменения в концентрации глюкозы натощак и HbA1c отмечались уже на 1-й неделе. Частота возникновения побочных эффектов (67,4–70,3%) и гипогликемии (1,5–3,0%) была сходна во всех группах лечения. Авторы пришли к выводу, что алоглиптин в монотерапии у пациентов с СД 2 типа хорошо переносится и значительно улучшает гликемический контроль, не повышая частоту развития гипогликемических состояний.

Rosenstock J. и соавт. [91] также в 26-недельном, двойном слепом исследовании изучали эффекты алоглиптина у пациентов с некомпенсированным СД 2 типа с уровнем HbA1c около 8,8%. Пациенты получали алоглиптин в дозе 25 мг/сут, пиоглитазон 30 мг/сут, алоглиптин/пиоглитазон 12,5/30 мг или алоглиптин/пиоглитазон 25/30 мг/сут. Комбинированная терапия алоглиптин/пиоглитазон 25/30 мг вызывала более значительное снижение концентрации HbA1c ($-1,7 \pm 0,1\%$), по сравнению с другими группами (алоглиптин 25 мг – $-1,0 \pm 0,1\%$, $p < 0,001$; пиоглитазон 30 мг – $-1,2 \pm 0,1\%$, $p < 0,001$ и глюкозы, измеренной натощак ($-2,8 \pm 0,2$ ммоль/л) против группы алоглиптин 25 мг ($-1,4 \pm 0,2$ ммоль/л; $p < 0,001$) или пиоглитазон 30 мг ($-2,1 \pm 0,2$ ммоль/л; $p = 0,006$). Комбинация алоглиптина (25 мг) и пиоглиптона (30 мг) при приеме 1 р/сут приводила к более значительному (чем при монотерапии) снижению концентрации HbA1c в плазме (на 1,7%) и глюкозы, измеренной натощак (-24 мг/дл, что соответствует $1,33$ ммоль/л).

Chen X.W. и соавт. [92] сообщили о результатах многоцентрового, рандомизированного, двойного-слепого, плацебо-контролируемого, 26-недельного применения алоглиптина у пациентов с СД 2 типа (средний исходный уровень HbA1c=8,4%). Пациенты были рандомизированы на следующие группы: плацебо; метформин 500 или 1000 мг 2 р/сут; алоглиптин 12,5 мг 2 р/сут; алоглиптин 25 мг 1 р/сут; алоглиптин 12,5 мг с метформином 500 мг

2 р/сут или алоглиптин 12,5 мг с метформином 1000 мг 2 р/сут. Оба варианта комбинированной терапии (алоглиптин 12,5 мг и метформин 500 или 1000 мг) вызывали статистически значимое улучшение показателей HbA1c и концентрации глюкозы натощак по сравнению с монотерапией. Также в группах, получавших комбинированную терапию, число пациентов, достигших целевых уровней HbA1c (по сравнению с монотерапией) 47 и 59% против 20-34% было больше. Авторы пришли к выводу, что алоглиптин в комбинации с метформином значительно улучшал гликемический контроль у пациентов СД 2 типа.

Pratley R.E. и соавт. [93] представили результаты 26-недельного плацебо-контролируемого исследования у пациентов с некомпенсированным СД 2 типа, получавших пиоглитазон в монотерапии или в комбинации с метформином или сульфонилмочевинной (10 мг) (начальный уровень HbA1c=8%). Добавление алоглиптина 25 мг/сут к терапии пиоглиптоном приводило к статистически значимым улучшениям от начальных значений HbA1c и снижению концентрации глюкозы, измеренной натощак, по сравнению с плацебо. Клинически значимое снижение уровня HbA1c наблюдалось в комбинации с алоглиптином по сравнению с плацебо независимо от того, получали ли испытуемые одновременно метформин или препарат сульфонилмочевины (0,2% плацебо против 0,9% алоглиптин) или пиоглитазон (0% плацебо против 0,52% алоглиптин).

Безопасность алоглиптина исследовали у пациентов с СД 2 типа в сочетании с острым коронарным синдромом (ОКС). Пациенты в течение 18 мес получали алоглиптин или плацебо в дополнение к гипогликемической терапии. Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний составляла в группе алоглиптина – 4,1%, плацебо – 4,9%. Госпитализация по поводу сердечной недостаточности понадобилась 3,9% пациентов, принимавших алоглиптин по сравнению с 3,3% в группе плацебо [94]. Ссылаясь на это исследование, FDA в 2016 году зафиксировало, что алоглиптин (так же, как и саксаглиптин) может повышать риск развития сердечной недостаточности, особенно у пациентов, которые уже имеют заболевания сердца или почек. В итоге FDA рекомендовало специалистам здравоохранения рассмотреть вопрос о прекращении применения препаратов, содержащих алоглиптин пациентами, у которых есть риск возникновения сердечной недостаточности.

Мкртумян А.М., заведующий кафедрой эндокринологии и диабетологии лечебного факультета ФГБРУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России опубликовал ряд обзорных статей, посвященных эффективности и безопасности алоглиптина, как в монотерапии, так и в комбинации с другими противодиабетическими препаратами [95, 96]. Было сделано заключение

о том, что применение алоглиптина у пациентов с высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний не сопряжено с развитием новых событий, а после недавно перенесенного ОКС риск смерти от сердечно-сосудистых осложнений на фоне терапии алоглиптином не выше, чем у пациентов принимавших плацебо.

3.7. Гемиглиптин (LC15-0444, Zemiglo®, LG Life Sciences)

Гемиглиптин является структурным аналогом ситаглиптина, обладает длительным ингибирующим действием в отношении ДПП-4 ($IC_{50}=6,3$ нМ), с высокой селективностью против изоферментов ДПП-8 (более 27000 раз), ДПП-9 (более 23000 раз), FAP-α (более 41000 раз). После перорального приема метаболизируется около 10% дозы до активного метаболита LC15-0636, который по силе действия в два раза превышает гемиглиптин. Абсолютная биодоступность составляет более 63%, ингибирует активность ДПП-4 более, чем на 80%, эффект сохраняется в течение 24 ч. Одобен для лечения СД 2 типа в Южной Корее [97].

Rhee E.J. и соавторы в двойном слепом рандомизированном исследовании в течение 12 недель изучили действие разных доз гемиглиптина 50, 100 и 200 мг/сут [98]. Все три дозы гемиглиптина значительно снизили уровень HbA1c от начального (-0,06% в группе плацебо против -0,98, -0,78 и -0,74% в группах 50, 100 и 200 мг, соответственно), без значимых различий между дозами. У пациентов с более высоким начальным уровнем HbA1c ($\geq 8,5\%$) наблюдалось большее его снижение. После 12 недель лечения значительно улучшались чувствительность к инсулину и его секреция, в группах, получавших 50 и 200 мг/сут также снизилась концентрация общего холестерина и липопротеинов низкой плотности по сравнению с группой плацебо. Авторы заключают, что лечение гемиглиптином в дозе 50 мг/сут в течение 12 недель снижает концентрацию HbA1c и глюкозы, измеренной натощак, улучшает чувствительность к инсулину и функцию β-клеток, а также хорошо переносится пациентами.

В рандомизированном, двойном слепом исследовании (III фаза) оценивалась эффективность гемиглиптина в комбинации с метформином [99]. Пациентов рандомизировали на получавших гемиглиптин 50 мг/сут, метформин (продолгованный) или их комбинацию 1 р/сут. Средняя суточная доза метформина на 24 неделе составляла 1,7 мг в комбинации с гемиглиптином и 1,9 мг в группе монотерапии метформином соответственно. Среднее изменение уровня HbA1c от начального составляло -2,1% в группе гемиглиптин+метформин по сравнению с -1,2% для группы гемиглиптина и -1,5% для группы метформина, соответственно ($p < 0,0001$). Различия в достижении целевого уровня HbA1c=6–7% также были статистически значимы ($p < 0,0001$) между группами, получавшими комбинированную и монотерапию.

Авторы делают вывод, что гемиглиптин и метформин являются эффективными средствами лечения СД 2 типа.

3.8. Тенелиглиптин (MP-0513, Tenelia®, Mitsubishi Tanabe)

Тенелиглиптин является бициклическим производным гетероарилпиперазина. Он обладает высокой активностью ($IC_{50}=1,8$ нМ) и селективностью к ДПП-4 по сравнению с ДПП-8 более, чем в 700 раз, а ДПП-9 более, чем в 1460 раз. Период полувыведения у крыс составляет 8–16 ч, биодоступность в дозе 0,1–1,0 мг/кг перорально – 63–85%. Метаболизируется 65,6% дозы препарата. Ингибирует активность плазменного ДПП-4 более, чем на 50% в течение 24 ч после однократного приема 1 мг/кг и значительно дозозависимо снижает концентрацию глюкозы в крови [100]. Тенелиглиптин одобрен в Японии для лечения СД 2 типа в 2012 году.

Kadowaki T. и Kondo K. [101] исследовали различные дозы тенелиглиптина (10, 20 и 40 мг/сут) в сравнении с плацебо у пациентов с некомпенсированным СД 2 типа в монотерапии на протяжении 12 недель. Во всех группах, за исключением плацебо, наблюдалось снижение концентрации HbA1c и глюкозы, измеренной натощак. Разница в снижении HbA1c была незначительной между группами, получавшими различные дозы тенелиглиптина составляла -0,9% для доз 10 и 20 мг, а для 40 мг -1,0%. Разница в снижении концентрации глюкозы, измеренной натощак между плацебо и группами, получавшими 10, 20 и 40 мг тенелиглиптина, составляла -17,8 мг/дл (0,9 ммоль/л), -16,9 мг/дл (0,9 ммоль/л) и -20,0 мг/дл (1,1 ммоль/л) соответственно ($p < 0,001$).

Otsuki H. и соавт. [102] изучили эффекты тенелиглиптина в дозировке 20 мг/сут у пациентов с СД 2 типа и терминальной стадией почечной недостаточности. Через 4 недели лечения концентрация глюкозы в плазме крови снизилась на 36,7 мг/дл (2,0 ммоль/л), а разница HbA1c (на 24 неделе) между группой, получавшей тенелиглиптин, и контрольной составляла -3,1% ($p < 0,05$) и -0,57% ($p=0,057$) соответственно. Эти параметры также снижались у пациентов, которые начали принимать тенелиглиптин вместо voglibose 0,2 мг 3 р/сут или villogliptin 50 мг/сут вследствие недостаточного контроля гликемии. Авторы заключили, что тенелиглиптин (20 мг/сут) хорошо переносится, безопасен, значительно улучшает гликемический контроль и является более эффективным, чем voglibose или villogliptin.

Hashikata T. и соавт. [103] исследовали влияние тенелиглиптина на функцию эндотелия и левого желудочка у пациентов с СД 2 типа, которые принимали препарат в дозах 20 или 40 мг/сут в течение 3-х месяцев. По сравнению с начальными уровнями, концентрация HbA1c снизилась (с $7,6 \pm 1,0$ до $6,9 \pm 0,7\%$; $p < 0,01$). Через 3 мес после лечения окончания лечения, отмечалось улучшение

систолической и диастолической функции левого желудочка, улучшение функции эндотелия: RH-PAT индекс (Reactive Hyperemia Peripheral Arterial Tonometry) вырос с $1,58 \pm 0,47$ до $2,01 \pm 0,72\%$; $p < 0,01$). Кроме того, концентрация циркулирующего адипонектина увеличилась с $27,0 \pm 38,5$ до $42,7 \pm 33,2$ пг/мл, что соответствует $0,09 \pm 0,13$ и $0,15 \pm 0,12$ нмоль/л соответственно ($p < 0,01$) без изменений массы тела пациентов. Авторы заключают, что лечение тенелиглиптином улучшало функцию левого желудочка и эндотелия, а также увеличивало концентрацию адипонектина в сыворотке крови. Эти результаты подтверждают кардиопротективные эффекты тенелиглиптина у пациентов с СД 2 типа.

Kadowaki T. и Kondo K. [104] сообщили о результатах двойного слепого плацебоконтролируемого исследования, в котором пациенты с СД 2 типа получали тенелиглиптин в дозе 20 мг/сут в сочетании с глимепиридом (1–4 мг/сут). Через 12 недель лечения в группе, получавшей комбинированную терапию снизилась: концентрация HbA1c, глюкозы, измеренной натощак и через 2 ч после приема пищи (разница с группой, получавшей плацебо и глимепирид, составляла -1,0% HbA1c, -1,5 ммоль/л глюкозы, измеренной натощак и -2,7 ммоль/л после приема пищи). Всё исследование длилось 52 недели, к концу этого периода наблюдалось значительное ($p < 0,001$) снижение уровня HbA1c по сравнению с начальным значением, и улучшение показателей гликемического контроля ($p < 0,05$).

В другом исследовании Kadowaki T. и Kondo K. [105] изучали эффективность совместного применения тенелиглиптина 20 мг/сут и пиоглитазона (15–30 мг/сут) у пациентов с СД 2 типа в течение 12 недель. В группе, получавшей комбинированную терапию было отмечено снижение концентрации HbA1c, глюкозы, измеренной натощак и через 2 ч после приема пищи (разница с группой, получавшей плацебо и пиоглитазон составляла -0,7% HbA1c, -16,4 мг/дл (или 0,911 ммоль/л) и -51,3 мг/дл (или 2,85 ммоль/л) для концентрации глюкозы, измеренной натощак и через 2 ч после приема пищи соответственно).

При изучении эффективности комбинированной терапии тенелиглиптином (20 мг/сут) и метформином (≥ 1000 мг/сут) у пациентов с СД 2 типа в течение 16 недель была отмечена разница между группами, получавшими тенелиглиптин и плацебо в отношении изменения концентрации HbA1c и глюкозы, измеренной натощак составили -0,78% и -1,24 ммоль/л (22,42 мг/дл) соответственно [106].

Tanaka K. и соавт. [107] изучали эффекты тенелиглиптина (20 мг/сут) и линаглиптина (5 мг/сут) у пациентов с СД 2 типа и хронической почечной недостаточностью (ХПН) в перекрестном исследовании в течение 12 сут. Пациенты принимали тенелиглиптин или линаглиптин в течение 6 сут, а затем меняли препарат. Средняя амплитуда изменений концентрации глюкозы составляла $83,8 \pm 34,0$ мг/дл

($4,7 \pm 1,9$ ммоль/л) в группе линаглиптина и $82,6 \pm 32,6$ мг/дл ($4,6 \pm 1,8$ ммоль/л) тенелиглиптина. Оба препарата сопоставимо снижали среднюю 24-часовую концентрацию глюкозы, в максимальной и минимальной концентрации глюкозы между ними не было существенной разницы. Авторами сделан вывод, что у пациентов с СД 2 типа и ХПН тенелиглиптин или линаглиптин сопоставимо снижают концентрацию глюкозы в крови, имея одинаковый профиль безопасности.

3.9. Анаглиптин (SK-0403, Suiny®, Sanwa Kagaku Kenkyusho)

Анаглиптин является 2-метил-пиразолопиримидин-производным цианопирролидина, обладает высокой активностью ($IC_{50} = 3,8$ нМ) и селективностью в отношении ДПП-4 по сравнению с ДПП-8 и ДПП-9 (более чем в 10000 раз), биодоступность около 73%. Метаболит M_1 (карбоксилат) составляет 29,2% от дозы, доля других метаболитов около 1%. Период полувыведения анаглиптина – 4,4 ч, для M_1 – 9,9 ч [108]. Дозозависимо ингибирует активность ДПП-4 на 95% в дозе 3 мг/кг, повышает уровень ГПП-1, инсулина и улучшает гликемический контроль. Анаглиптин одобрен в Японии для лечения СД 2 типа в 2013 году.

Kaku K. с соавт. [109] опубликовали данные о результатах мультицентрового рандомизированного двойного слепого плацебоконтролируемого исследования анаглиптина у пациентов с СД 2 типа. Пациенты принимали анаглиптин от 25 до 200 мг 2 раза/сут или плацебо на протяжении 12 недель. Концентрация HbA1c была значительно и дозозависимо ниже (25–100 мг) в группах, получавших анаглиптин, а разница между группами 100 и 200 мг составляла только 0,07%. В подгруппе с начальным уровнем HbA1c=8,4% и более, снижение концентрации HbA1c было значительно больше в группе 200 мг, чем в группе, пациенты которой получали препарат в дозе 100 мг дважды в день. Тем не менее, авторы заключают, что оптимальной является доза 100 мг 2 р/сут, а у пациентов с высоким уровнем HbA1c также может применяться доза 200 мг 2 р/сут.

Yang H.K. и соавт. [110] сообщили о результатах двойного слепого рандомизированного плацебо-контролируемого исследования, в котором пациенты принимали 100 или 200 мг анаглиптина дважды в день, или плацебо в течение 24-х недель. Концентрация HbA1c в конце исследования была значительно ниже в группах, получавших анаглиптин в дозе 100 ($-0,50 \pm 0,45\%$) и 200 мг ($-0,51 \pm 0,55\%$). В группе плацебо концентрация HbA1c за этот же период увеличилась (на $0,23 \pm 0,62\%$). Обе дозы анаглиптина значительно снижали концентрацию глюкозы в плазме крови, измеренной натощак ($-0,53 \pm 1,25$ и $-0,72 \pm 1,25$ ммоль/л, соответственно) и соотношение проинсулин/инсулин ($-0,04 \pm 0,15$ и $-0,07 \pm 0,18$ ммоль/л, соответственно) по сравнению с плацебо. Никакого значимого изменения массы

тела от начального уровня во всех 3-х группах не наблюдалось. Активность ДПП-4 в плазме крови после 24 недель лечения анаглиптином была существенно ниже и составляла >75% для 100 и >90% для 200 мг. Авторы пришли к выводу, что анаглиптин в дозах 100 и 200 мг 2 р/сут эффективно улучшает гликемический контроль у пациентов с СД 2 типа.

Kakuda H. и соавт. [111] исследовали влияние анаглиптина на метаболизм глюкозы и липидов, а также развитие оксидативного стресса у пациентов с СД 2 типа. Пациенты принимали 200 мг анаглиптина в день перорально в течение 12 недель, после чего наблюдались еще в течение 12 недель (всего исследование длилось 24 недели). На 12 неделе исследования было обнаружено повышение показателя ранней фазы секреции инсулина, снижение НОМА-R и концентрации глюкозы, измеренной натощак, что свидетельствует о положительном влиянии анаглиптина на инсулинорезистентность и секрецию инсулина. Через 12 недель лечения анаглиптин снижал концентрацию глюкозы в плазме, триглицеридов, атерогенных липопротеинов и ЛПНП, которые возвращались к уровню на 24 неделе (после отмены препарата). Авторы резюмируют, что так как постпрандиальная (алиментарная) липидемия способствует продукции провоспалительных цитокинов, развитию оксидативного стресса, и как результат возникновению эндотелиальной дисфункции, применение анаглиптина может замедлять развитие этих состояний.

Каку К. и соавт. [112] исследовали эффекты анаглиптина в комбинированной терапии с ингибитором α -глюкозидазы, метформином, препаратами сульфонилмочевины (глимепирид, глибенкламид) или тиазолидиндионом (пиоглитазон) у пациентов с некомпенсированным СД 2 типа ($HbA1c=6,9-10,4\%$) в течение 52-х недель. Пациентам к основной терапии добавляли дополнительно 200 мг анаглиптина в сут (100 мг 2 р/сут) или плацебо. Авторы отмечали сопоставимое между группами получавшими анаглиптин и достоверно отличающееся от плацебо улучшение гликемических параметров ($HbA1c$) уже на 12-й неделе.

3.10. Омариглиптин (МК-3102, Marizev®, Merck)

Омариглиптин разработан компанией Merck, в 2015 году одобрен к применению в Японии. Препарат является аналогом ситаглиптина на основе аминотетрагидропирана, у которого центральная основа ситаглиптина изменена на жесткий циклогексиламин. Он высокоактивен ($IC_{50}=1,6$ нМ) и селективен в отношении изоферментов ДПП-4. Омариглиптин имеет уникальный фармакокинетический профиль: период полувыведения составляет порядка 68 ч, препарат принимается один раз в неделю, биодоступность около 74% [113]. В течение 12 недельного исследования было показано, что его применение в дозе 25 мг снижает концентрацию глюкозы крови

и $HbA1c$. Ингибирует плазменный ДПП-4 на 77–89% длительностью после однократного приёма до 168 ч и повышает концентрацию ГПП-1 почти в 2 раза. Высокоспецифичен относительно других протеаз ($IC_{50} > 67$ μ М), включая ДПП-8, ДПП-9, QPP, FAP, PER, фармакокинетический профиль двухфазный, I фаза α (40–50 ч) и I фаза β (93–116 ч). Выводится в основном через почки в неизменном виде, через кишечник – около 3%. $C_{max}=750$ нмоль/л, период полувыведения порядка 68 ч, $T_{max}=0,75-4$ ч [113].

Sheu W. и соавт. [114] исследовали эффекты омариглиптина в дозах 0,25, 1, 3, 10 и 25 мг в неделю в течение 78 недель сравнивая с плацебо у пациентов с СД 2 типа. Через 12 недель после начала лечения омариглиптин дозозависимо снижал уровень $HbA1c$ (доза 0,25 мг была минимально эффективная). Также омариглиптин снижал концентрацию глюкозы, измеренной натощак (-1,3 ммоль/л) и через 2 ч после приема пищи (-2,5 ммоль/л). Все дозы препарата хорошо переносились, а частота возникновения нежелательных реакций не зависела от дозы. Авторы отмечают, что уровень ингибирующей активности омариглиптина в дозе 25 мг в неделю мало отличался от такового у ситаглиптина, принимаемого в дозе 100 мг (измерения проводили через 168 ч после приема омариглиптина и через 24 ч после приема ситаглиптина) и составлял более 90%.

Evans P. и Bain S. [115] в своей работе показали, что применение омариглиптина в дозах 10–100 мг у здоровых добровольцев приводило к более, чем двукратному увеличению уровня ГПП-1. При этом сопоставимое повышение ГПП-1 наблюдалось у лиц с ожирением, диабетом или без него. Авторы сообщают, что в 24-недельном исследовании у пациентов с недостаточно контролируемым СД 2 типа и получавшими метформин, омариглиптин в дозе 25 мг в неделю снижался $HbA1c$ на уровне сопоставимом с ситаглиптином (-0,47 омариглиптин и -0,43% ситаглиптин). Также авторы сообщают о 54-недельном сравнительном исследовании омариглиптина 25 мг/нед и глимепирида (6 мг/сут) у пациентов с некомпенсированным СД 2 типа и получающих метформин. Глимепирид эффективнее снижал уровень $HbA1c$ (омариглиптин -0,30%, глимепирид -0,48%), так же, как и концентрацию глюкозы, измеренную натощак (омариглиптин -0,15 ммоль/л, глимепирид -0,46 ммоль/л), однако у пациентов в группе глимепирида значительно чаще возникала гипогликемия (26,7 и 5% соответственно).

Tan X. [116] сообщает о результате 12-недельного исследования омариглиптина в дозах (0,25, 1, 3, 10 или 25 мг) или плацебо у пациентов с СД 2 типа. Пероральное применение омариглиптина в дозе 25 мг в неделю продемонстрировало значительное снижение уровня $HbA1c$ по сравнению с плацебо ($p < 0,001$) уже на 12 неделе лечения. Значительно большая часть пациентов, получавших омариглиптин 25 мг достигла целевых уровней $HbA1c$ по сравнению с плацебо (<7% 33,6% против 21,8% в

группе плацебо и <6,5-13,6% против 4,5% плацебо), что обусловлено снижением активности ДПП-4 в плазме на 80,7% через 12 недель лечения.

3.11. Госоглиптин (PF-00734200, Saterex®, SatRx® или Сатерекс®, Pfizer)

Препарат был разработан компанией Pfizer, которая в последующем передала эксклюзивные права на молекулу российскому ИИХР «Химфар», который в настоящее время зарегистрирован (в конце 2016 года) и одобрен к применению на территории РФ в качестве гипогликемического лекарственного средства. Госоглиптин является дипролил-производным пиперазина с высокой активностью ($IC_{50}=13$ нМ) и селективностью к ДПП-4 в отличие от ДПП-2 и ДПП-8 (в 100 раз), имеет период полувыведения 2,7 ч, его биодоступность составляет более 99%. Ингибирует ДПП-4 на 75% через 24 ч. Основной метаболический путь госоглиптина у человека связан с гидроксированием пиримидиновой группы, с образованием метаболита M_5 (17,9% от дозы). Другие 8 метаболитов [117] связаны с гидролизом амидов, глюкуронизацией карбамоила, конъюгацией с формамидом, конъюгацией с глюкозой и с креатином. После приема внутрь около 77% дозы госоглиптина выводится почками, причем 48,5% – в неизменном виде, ещё 10,5% выводится через кишечник, при этом значительная доля приходится на метаболиты госоглиптина. Период полувыведения после приема внутрь составляет около 20 ч.

По сообщению Muto С. и соавт. [118] у здоровых добровольцев госоглиптин увеличивал уровень ГПП-1 в дозе 10 мг/кг в два раза и ингибировал активность ДПП-4 на 75%, даже через 24 ч.

Rosenstock J. и соавт. [119] исследовали эффекты госоглиптина в дозах 20 и 30 мг у пациентов с некомпенсированным СД 2 типа уже получавших метформин в течение 12 недель (плацебо-контролируемое, двойное слепое, рандомизированное, мультицентровое исследование). У пациентов, получавших госоглиптин, значительно улучшался гликемический контроль: концентрация HbA_{1c} снижалась по сравнению с плацебо на -0,79% (что соответствует 8,6 ммоль/моль) в группе больных, принимавших госоглиптин в дозе 20 мг, и на -0,92% (что соответствует 10,1 ммоль/моль) в группе, получавшей 30 мг. Позитивные эффекты госоглиптина не зависели от дозы, в отличие от побочных. Авторы заключают, что доза 20 мг госоглиптина является предпочтительной.

Terra S.G. и соавт. [120] изучали действие госоглиптина у пациентов с некомпенсированным СД 2 типа ($HbA_{1c}=7-11\%$) в мультицентровом, рандомизированном, двойной слепом, плацебоконтролируемом исследовании. В течение 12 недель пациенты принимали метформин и

плацебо, либо госоглиптин в дозах 2, 5, 10 или 20 мг/сут. Госоглиптин в дозе 5 мг/сут при монотерапии вызывал статистически значимое снижение HbA_{1c} по сравнению с плацебо. Снижение уровня HbA_{1c} наблюдалось на -0,31% (2 мг), -0,74% (5 мг), -0,70% (10 мг) и -0,75% (20 мг). Авторы отмечают, что доза 20 мг/сут обеспечивает лучший гликемический контроль по сравнению с другими дозами и плацебо.

В России оценивалась эффективность и безопасность госоглиптина по сравнению с вилдаглиптином в качестве монотерапии у пациентов с СД 2 типа в 26 клинических центрах с участием 299 пациентов [121]. Участники получали госоглиптин 20 мг/сут (с титрацией до 30 мг/сут) или вилдаглиптин 50 мг/сут (с титрацией до 100 мг/сут) в течение 36 недель. Среднее снижение HbA_{1c} после 12 недель монотерапии госоглиптином составило 0,93 ($p<0,05$) и 1,03% ($p<0,05$) – в группе вилдаглиптина. Побочные эффекты и эпизоды гипогликемии были нечастыми и мало отличались между группами. Авторы пришли к выводу, что госоглиптин имеет сопоставимый с вилдаглиптином профиль эффективности и безопасности.

3.12. Денаглиптин (GSK-823093, GW823093C, GlaxoSmithKline)

С 2010 года компанией GlaxoSmithKline (Великобритания) проводятся КИ денаглиптина. Данное соединение является представителем класса цианофторопирролидина, существенно ингибирует ДПП-4 ($IC_{50}=22$ нМ), селективен более, чем в 100 раз к другим изоформам ДПП-4. Максимальное ингибирование ДПП-4 наблюдается через 30 мин после введения в дозе 25 мг и более, чем на 85% сохраняется через 24 ч. Повышает уровни ГПП-1/инсулина и снижает концентрацию глюкозы в плазме крови. Имеет печеночный и внепеченочный метаболизм и 13 метаболитов [22].

Как сообщается Lotfy M. и соавт. [73], фармакокинетический профиль, побочные эффекты и клиническое действие денаглиптина аналогичны вилдаглиптину и саксаглиптину, однако данные исследований не опубликованы (литературные источники отсутствуют). Клинические исследования продолжаются.

3.13. Мелоглиптин (GRC 8200, GlenMark)

Мелоглиптин является триазолосодержащим ингибитором ДПП-4 ($IC_{50}=1,61$ нМ), обладает высокой селективностью по отношению к изоферментам (в 10000 раз). Период полувыведения составляет 1,28 ч, 4,31 ч и 2,15 ч; биодоступность – 60, 90 и 94% у крыс, собак и обезьян соответственно (при дозе 5 мг/кг) [22].

По сообщению Kushwaha R.N. и соавт. [22] при введении мышам db/db мелоглиптин вызывает снижение концентрации глюкозы на

30% и увеличивает уровень инсулина в 2 раза (в однократной дозе 3 мг/кг вводимой перорально). Однократная доза 5 мг/кг полностью ингибирует активность ДПП-4 у собак в течение 1 ч и более, чем на 90% при анализе через 6 ч. Клинические исследования мелоглиптина продолжаются.

3.14. Трелаглиптин (SYR-472, Zafatec®, Takeda/Furiex)

Трелаглиптин является ингибитором ДПП-4 на основе пиримидиндиона ($IC_{50}=4,2$ нМ), высокоселективен в отношении изоферментов (в 10000 раз). Биодоступность у крыс составляет – 50,3%, у собак – 29,8%, данные по людям не опубликованы [22]. Также, как омариглиптин, трелаглиптин принимается 1 р/нед и имеет схожий фармакологический профиль. Одобен для лечения СД 2 типа в Японии с 2015 года.

McKeage K. [122] сообщил, что у здоровых добровольцев через 7 сут после однократного приема трелаглиптина в дозе 100 мг (за 30 мин до еды) средняя максимальная концентрация в плазме (C_{max}) через 1,3 ч составляла 619,4 нг/мл. Средний период полувыведения 72–168 ч, трелаглиптин связывается с белками плазмы крови на 22–28%, метаболизируется с помощью цитохрома P450 (CYP2D6), выводится в основном через почки.

Grimshaw C.E. и соавт. [123] сообщают, что концентрация в плазме трелаглиптина через 168 ч после введения 100 мг достаточна для поддержания его фармакодинамического эффекта, ингибирование активности плазменного ДПП-4 происходит на 70%. Авторы выяснили, что трелаглиптин имеет более медленную скорость диссоциации по сравнению с алоглиптином (примерно в 8 раз), а также, в отличие от саксаглиптина и вилдаглиптина (являются ковалентными ингибиторами ДПП-4), трелаглиптин связывается с ДПП-4 нековалентно.

В 2016 году Inagaki N. и соавт. [124] исследовали эффекты трелаглиптина 100 мг/нед у пациентов с некомпенсированным СД 2 типа, уже получавших ранее пероральные гипогликемические препараты (комбинация с препаратами сульфонилмочевины, глинидом, ингибитором α -глюкозидазы, бигуанидом или тиазолидиндионом), и в монотерапии в течение 52-х недель. Среднее изменение в HbA1c от базовой линии в конце лечения составляло -0,57 в группе монотерапии трелаглиптином и -0,37, -0,25, -0,67, -0,31, и -0,74% в группах комбинированной терапии с препаратом сульфонилмочевины, глинидом, ингибитором α -глюкозидазы, бигуанидом и тиазолидиндионом соответственно. Число пациентов, достигших уровня HbA1c <7,0% в конце лечения, составляло 36% для монотерапии трелаглиптином, 22,7, 34,4, 35,0, 46,9 и 44,6% для комбинированной терапии с препаратом сульфонилмочевины, глинидом, ингибитором

α -глюкозидазы, бигуанидом и тиазолидиндионом соответственно. Ингибирование активности ДПП-4 измеряли через 7 сут после приема препарата. Было установлено, что она сохранялась на протяжении 52 недель и составляла 76,48–79,6% в конце лечения. Авторы заключают, что трелаглиптин является высокоэффективным препаратом для лечения СД 2 типа в монотерапии и в комбинации с существующими гипогликемическими препаратами, а прием 1 раз в неделю является эффективным и обоснованным.

3.15. Ретаглиптин (SP-2086, Jiangsu Hengrui Medicine)

Ретаглиптин является производным тетрагидроимидазоло[1,5-а]пиразина ($IC_{50}=8$ нМ), высокоселективен в отношении ДПП-4 по сравнению с ДПП-8 (в 3263 раз) и ДПП-9 (9438 раз) [22]. Период полувыведения составляет 1,5 ч. Снижает концентрацию глюкозы и её изменение в ходе перорального теста толерантности к глюкозе. Клинические исследования продолжаются.

Yong X. и соавт. исследовали совместное применение ретаглиптина и метформина на здоровых добровольцах (ретаглиптин 100 мг, метформин 1500 мг или ретаглиптин 100 мг + метформин 1500 мг). Авторы установили, что сочетание ретаглиптин+метформин не приводило к клинически значимым изменениям в фармакокинетике ретаглиптина или метформина, по сравнению с их применением в одиночку. $AUC_{0-\infty}$ и C_{max} ретаглиптина, применяемого в комбинации, были на 16,49% и 25,88% выше, чем для ретаглиптина в монотерапии, $AUC_{0-\infty}$ метформина в комбинации с ретаглиптином была на 22,06% больше, чем при монотерапии метформином. Авторы заключают, что при совместном применении этих препаратов не требуется коррекция дозы ни одного из них [125].

3.16. Эвоглиптин (DA-1229, Suganone®, Evodine® или Эводин®, Dong-A Pharmaceutical)

Эвоглиптин является β -аминоамидным производным ($IC_{50}=0,98$ нМ) и высоко селективен в отношении изоферментов (в 6000 раз). Введение препарата ингибирует ДПП-4 более чем на 80% после однократного приема 5 мг, значительно снижает уровень HbA1c на 0,56% в дозе 2,5 мг и на 0,61% в дозе 5 мг. Период полувыведения составляет около 30 ч и не зависит от приема пищи, биодоступность – 50,2% [22]. Метаболизируется путем процессов окисления, глюкуронизации и сульфатирования. Имеет 4 метаболита. Одобен для лечения СД 2 типа в Корее в 2015 году. Российская фармацевтическая компания «ГероФарм» получила разрешение на проведение международного многоцентрового КИ (III фаза) и реализует этот препарат на территории России.

Chae Y.N. и соавт. [126] исследовали действие эвоглиптина на модели индуцированного диетой ожирения у мышей. После 2-недельного лечения в дозах 20, 60 и 200 мг/кг он вызывал дозозависимое снижение жировой массы и уменьшал средний размер адипоцитов. Авторы предполагают, что часть эвоглиптин-индуцированной потери жира может быть связана с ускоренным метаболизмом, который связан не только с увеличением ГПП-1.

Cho J.M. и соавт. [127] на мышах C57BL/6 исследовали эффекты эвоглиптина со стрептозотоцин-индуцированным диабетом (100 мг/кг стрептозотоцина внутривенно) после 1 недели без лечения, мыши получали эвоглиптин в дозе 300 мг/кг. Интраперитонеальный тест толерантности к глюкозе (IPGTT) проводили через 10 недель после лечения эвоглиптином путем внутривенного (а не перорального, в отличие от перорального теста) введения 1 г/кг глюкозы натощак. Значительное ($p < 0,05-0,005$) снижение концентрации глюкозы в крови в отличие от контрольной группы наблюдалось у мышей, получавших лечение эвоглиптином. Относительно низкие концентрации глюкозы сохранялись у животных даже через 6 недель после лечения эвоглиптином. Уровни инсулина в плазме крови до (0 мин) и через 15 мин после ввода глюкозы были достоверно выше у мышей, получавших лечение эвоглиптином, по сравнению с контролем ($p < 0,005$). Кроме того, в группе, получавшей эвоглиптин, масса β -клеток поджелудочной железы, их пролиферация и неогенез была выше.

Gu N. и соавт. [128] исследовали эвоглиптин на здоровых добровольцах. В дозе 5–20 мг он ингибировал активность ДПП-4 более, чем на 80% в течение 24 ч во всех группах независимо от дозы, и увеличивал постпрандиальный уровень ГПП-1 в 1,5–2,4 раза по сравнению с плацебо.

3.17. Кармеглиптин (R-1579, F. Hoffmann-La Roche)

Кармеглиптин ($IC_{50}=6,8$ нМ) имеет трициклическую основу, селективно ингибирует ДПП-4 по сравнению с ДПП-8, ДПП-9 (более чем в 100 раз) и ДПП-2 (более чем в 2000 раз). Период полувыведения составляет 6–8 ч, биодоступность при дозе 1 мг/кг у обезьян составляет 33%, у крыс – 28% [134 Mattei]. Не метаболизируется, выводится в неизменном виде через печень и почки. Его применение (однократно перорально в дозе 3 мг/кг) существенно снижает концентрацию глюкозы в крови, ингибирует активность плазменного ДПП-4 на 40 и 60% через 24 и 48 ч соответственно.

Mattei P. и соавт. [129] в ходе перорального глюкозотолерантного теста у крыс линии ZFR после введения 10 мг/кг кармеглиптина наблюдали улучшение толерантности к глюкозе (на 30%

по сравнению с контролем), у db/db мышей значительное ($p \leq 0,05$) снижение концентрации глюкозы, измеренной натощак через 2 часа после его введения по сравнению с контрольной группой. Авторы также исследовали эффективность кармеглиптина у крыс ZFR в дозе 20 мг/кг, вводимой в течение 7 сут в модели эугликемии (Euglycemic Hyperinsulinemic Clamp). В этом эксперименте кармеглиптин повышал чувствительность к инсулину, что проявлялось сохранением нормального значения концентрации глюкозы в крови после её перорального введения по сравнению с контрольной группой.

Kuhlmann O. и соавт. [130] отмечали, что после введения кармеглиптина у здоровых добровольцев снижалась концентрация глюкозы в плазме, измеренной натощак и после приема пищи, увеличивалась секреция ГПП-1 и инсулина, а также снижалась масса тела, улучшался липидный обмен и состояние β -клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на достаточно большое количество зарегистрированных иДПП-4, интерес исследователей к этой терапевтической мишени не угасает. Обозначенные выше иДПП-4 имеют разную химическую структуру, но общим для них является умеренная гипогликемическая активность, выражающаяся в снижении уровня HbA1c и AUC глюкозы после приема пищи или проведении перорального теста толерантности к глюкозе. Для препаратов этой группы отмечается высокая безопасность их применения, отсутствие влияния на массу тела пациентов и возможность эффективного комбинирования с другими гипогликемическими лекарственными средствами. Многие из них уже применяется для лечения СД 2 типа, другие находятся на разных фазах КИ. Препараты различаются селективностью в отношении изоформ ДПП-4, метаболизмом и фармакокинетическим профилем, что обуславливает их индивидуальные преимущества в конкретных клинических случаях.

Серьезными препятствиями, из-за которых разрабатываемые новые ингибиторы ДПП-4 могут потерпеть неудачу в ходе КИ, являются фармакокинетический профиль, ингибирование ферментов системы цитохрома P450 и селективность в отношении изоферментов ДПП-4, которые зависят от химической структуры конкретного соединения. Этот класс препаратов является перспективным как в монотерапии СД 2 типа, так и при комбинировании с другими гипогликемическими препаратами. Интерес к разработке подобных препаратов подогревают результаты исследований, раскрывающих широту их плейотропных эффектов обусловленных спектром биологических эффектов этой группы ферментов.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 20-75-10013).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Д.В. Куркин – идея и планирование структуры работы, оформление графического материала;
Д.А. Бакулин, Ю.В. Горбунова, В.Б. Сапарова – сбор материала и написание черновика рукописи;
Е.И. Морковин, А.В. Стрыгин, Е.В. Волотова – редактирование финальной версии рукописи;
И.И. Макаренко, Р.В. Драй, В.И. Петров – консультации по узкоспециализированным вопросам,
редактирование и утверждение финальной версии рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю., Мокрышева Н.Г., Викулова О.К., Галстян Г.Р., Кураева Т.Л., Петеркова В.А., Смирнова О.М., Старостина Е.Г., Суркова Е.В., Сухарева О.Ю., Токмакова А.Ю., Шамхалова М.Ш., Ярек-Мартынова И.Я., Артемова Е.В., Бешлиева Д.Д., Бондаренко О.Н., Волеводз Н.Н., Гомова И.С., Григорян О.Р., Джемилова З.Н., Есаян Р.М., Ибрагимов Л.И., Калашников В.Ю., Кононенко И.В., Лаптев Д.Н., Липатов Д.В., Мельникова О.Г., Михина М.С., Мичурова М.С., Мотовилин О.Г., Никонова Т.В., Роживанов Р.В., Скляник И.А., Шестакова Е.А. «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом». Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. 10-й выпуск // Сахарный диабет. – 2021. – Т. 24, № 1S. – С. 1–148. DOI:10.14341/DM12802
2. Sun H., Saeedi P., Karuranga S., Pinkepank M., Ogurtsova K., Duncan B.B., Stein C., Basit A., Chan J.C.N., Mbanya J.C., Pavkov M.E., Ramachandran A., Wild S.H., James S., Herman W.H., Zhang P., Bommer C., Kuo S., Boyko E.J., Magliano D.J. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2022. – Vol. 183. – Art. ID: 109119. DOI:10.1016/j.diabres.2021.109119
3. Hu Y., Chen Y. Overview of Type 2 Diabetes Drugs on the Market // J. Biosci. Med. – 2020. – Vol. 8, No. 8. – P. 1–14. DOI:10.4236/jbm.2020.88001.
4. Röhrborn D., Wronkowitz N., Eckel J. DPP4 in Diabetes // Front. Immunol. – 2015. – Vol. 6. – Art. ID: 386. DOI:10.3389/fimmu.2015.00386
5. Drucker D.J. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition and the treatment of type 2 diabetes: preclinical biology and mechanisms of action // Diabetes Care. – 2007. – Vol. 30, No. 6. – P. 1335–1343. DOI:10.2337/dc07-0228
6. Nabeno M., Akahoshi F., Kishida H., Miyaguchi I., Tanaka Y., Ishii S., Kadowaki T. A comparative study of the binding modes of recently launched dipeptidyl peptidase IV inhibitors in the active site // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2013. – Vol. 434, No. 2. – P. 191–196. DOI:10.1016/j.bbrc.2013.03.010
7. Matteucci E., Giampietro O. Dipeptidyl peptidase-4 (CD26): knowing the function before inhibiting the enzyme // Curr. Med. Chem. – 2009. – Vol. 16, No. 23. – P. 2943–2951. DOI:10.2174/092986709788803114
8. Saisho Y. Incretin-based therapy and pancreatitis: accumulating evidence and unresolved questions // Ann. Transl. Med. – 2018. – Vol. 6, No. 7. – Art. ID: 131. DOI:10.21037/atm.2018.02.24
9. Kubota S., Haraguchi T., Kuwata H., Seino Y., Murotani K., Tajima T., Terashima G., Kaneko M., Takahashi Y., Takao K., Kato T., Shide K., Imai S., Suzuki A., Terauchi Y., Yamada Y., Seino Y., Yabe D. Association of dipeptidyl peptidase-4 inhibitor use and risk of pancreatic cancer in individuals with diabetes in Japan // J. Diabetes Investig. – 2023. – Vol. 14, No. 1. – P. 67–74. DOI:10.1111/jdi.13921
10. Dicembrini I., Montereggi C., Nreu B., Mannucci E., Monami M. Pancreatitis and pancreatic cancer in patients treated with Dipeptidyl Peptidase-4 inhibitors: An extensive and updated meta-analysis of randomized controlled trials // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2020. – Vol. 159. – Art. ID: 107981. DOI:10.1016/j.diabres.2019.107981
11. Shao S., Xu Q., Yu X., Pan R., Chen Y. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors and their potential immune modulatory functions // Pharmacol. Ther. – 2020. – Vol. 209. – Art. ID: 107503. DOI:10.1016/j.pharmthera.2020.107503
12. Mentlein R. Mechanisms underlying the rapid degradation and elimination of the incretin hormones GLP-1 and GIP // Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. – 2009. – Vol. 23, No. 4. – P. 443–452. DOI:10.1016/j.beem.2009.03.005
13. Duez H., Cariou B., Staels B. DPP-4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes // Biochem. Pharmacol. – 2012. – Vol. 83, No. 7. – P. 823–832. DOI:10.1016/j.bcp.2011.11.028
14. Uto A., Miyashita K., Endo S., Sato M., Ryuzaki M., Kinouchi K., Mitsuishi M., Meguro S., Itoh H. Transient Dexamethasone Loading Induces Prolonged Hyperglycemia in Male Mice With Histone Acetylation in Dpp-4 Promoter // Endocrinology. – 2021. – Vol. 162, No. 12. – P. bqab193. DOI:10.1210/endo/bqab193. Erratum in: Endocrinology. – 2022. – Vol. 163, No. 11.
15. Kosaraju J., Holsinger R.M.D., Guo L., Tam K.Y. Linagliptin, a Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor, Mitigates Cognitive Deficits and Pathology in the 3xTg-AD Mouse Model of Alzheimer's Disease // Mol. Neurobiol. – 2017. – Vol. 54, No. 8. – P. 6074–6084. DOI:10.1007/s12035-016-0125-7
16. Avogaro A., Fadini G.P. The pleiotropic cardiovascular effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors // Br. J. Clin. Pharmacol. – 2018. – Vol. 84, No. 8. – P. 1686–1695. DOI:10.1111/bcp.13611
17. Бирюкова Е.В., Шинкин М.В. Практика сахароснижающей терапии: выбор оптимального препарата из группы ингибиторов дипептидилпептидазы 4 // Эффективная фармакотерапия. – 2022. – Т. 18, № 6. – С. 20–30. DOI:10.33978/2307-3586-2022-18-6-20-30
18. Лазарева Н.Б. Ингибиторы дипептидилпептидазы-4: взгляд клинического фармаколога // Медицинский совет. – 2016. – № 19. – С. 114–121. DOI:10.21518/2079-701X-2016-19-114-121
19. Корбут А.И., Климонтов В.В. Терапия, основанная на инкретинах: почечные эффекты // Сахарный диабет. – 2016. – Т. 19, № 1. – С. 53–63. DOI:10.14341/DM7727
20. Gasbjerg L.S., Bergmann N.C., Stensen S., Christensen M.B., Rosenkilde M.M., Holst J.J., Nauck M., Knop F.K. Evaluation of the incretin effect in humans using GIP and GLP-1 receptor antagonists // Peptides. – 2020. – Vol. 125. – Art. ID: 170183. DOI:10.1016/j.peptides.2019.170183

21. Deacon C.F. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes mellitus // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2020. – Vol. 16, No. 11. – P. 642–653. DOI:10.1038/s41574-020-0399-8
22. Kushwaha R.N., Haq W., Katti S.B. Discovery of 17 Gliptins in 17-Years of Research for the Treatment of Type 2 Diabetes: A Synthetic Overview // *Chemistry & Biology Interface.* – 2014. – Vol. 4. – P. 137–162.
23. Goldenberg R., Gantz I., Andryuk P.J., O'Neill E.A., Kaufman K.D., Lai E., Wang Y.N., Suryawanshi S., Engel S.S. Randomized clinical trial comparing the efficacy and safety of treatment with the once-weekly dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitor omarigliptin or the once-daily DPP-4 inhibitor sitagliptin in patients with type 2 diabetes inadequately controlled on metformin monotherapy // *Diabetes Obes. Metab.* – 2017. – Vol. 19, No. 3. – P. 394–400. DOI:10.1111/dom.12832
24. Stoimenis D., Karagiannis T., Katsoula A., Athanasiadou E., Kazakos K., Bekiari E., Matthews D.R., Tsapas A. Once-weekly dipeptidyl peptidase-4 inhibitors for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis // *Expert Opin. Pharmacother.* – 2017. – Vol. 18, No. 9. – P. 843–851. DOI:10.1080/14656566.2017.1324848
25. Zou H., Zhu N., Li S. The emerging role of dipeptidyl-peptidase-4 as a therapeutic target in lung disease // *Expert Opin. Ther. Targets.* – 2020. – Vol. 24, No. 2. – P. 147–153. DOI:10.1080/14728222.2020.1721468
26. Anderluh M., Kocic G., Tomovic K., Kocic H., Smelcerovic A. DPP-4 inhibition: A novel therapeutic approach to the treatment of pulmonary hypertension? // *Pharmacol. Ther.* – 2019. – Vol. 201. – P. 1–7. DOI:10.1016/j.pharmthera.2019.05.007
27. Zhang S., Li P., Xin M., Jin X., Zhao L., Nan Y., Cheng X.W. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition prevents lung injury in mice under chronic stress via the modulation of oxidative stress and inflammation // *Exp. Anim.* – 2021. – Vol. 70, No. 4. – P. 541–552. DOI:10.1538/expanim.21-0067
28. Patel P.M., Jones V.A., Kridin K., Amber K.T. The role of Dipeptidyl Peptidase-4 in cutaneous disease // *Exp. Dermatol.* – 2021. – Vol. 30, No. 3. – P. 304–318. DOI:10.1111/exd.14228
29. Tasic T., Bäumer W., Schmiedl A., Schwichtenhövel F., Pabst R., Raap U., von Hörsten S., Stephan M. Dipeptidyl peptidase IV (DPP4) deficiency increases Th1-driven allergic contact dermatitis // *Clin. Exp. Allergy.* – 2011. – Vol. 41, No. 8. – P. 1098–1107. DOI:10.1111/j.1365-2222.2011.03778.x
30. Kridin K., Bergman R. Association of Bullous Pemphigoid With Dipeptidyl-Peptidase 4 Inhibitors in Patients With Diabetes: Estimating the Risk of the New Agents and Characterizing the Patients // *JAMA Dermatol.* – 2018. – Vol. 154, No. 10. – P. 1152–1158. DOI:10.1001/jamadermatol.2018.2352
31. Huang J., Liu X., Wei Y., Li X., Gao S., Dong L., Rao X., Zhong J. Emerging Role of Dipeptidyl Peptidase-4 in Autoimmune Disease // *Front Immunol.* – 2022. – Vol. 13. – Art. ID: 830863. DOI:10.3389/fimmu.2022.830863
32. Guo Q., Zhang S., Huang J., Liu K. Alogliptin inhibits IL-1 β -induced inflammatory response in fibroblast-like synoviocytes // *Int. Immunopharmacol.* – 2020. – Vol. 83. – Art. ID: 106372. DOI:10.1016/j.intimp.2020.106372
33. Han C.K., Lee W.F., Hsu C.J., Huang Y.L., Lin C.Y., Tsai C.H., Huang C.C., Fong Y.C., Wu M.H., Liu J.F., Tang C.H. DPP4 reduces proinflammatory cytokine production in human rheumatoid arthritis synovial fibroblasts // *J. Cell Physiol.* – 2021. – Vol. 236, No. 12. – P. 8060–8069. DOI:10.1002/jcp.30494
34. Jackson E.K. Context-dependent effects of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* – 2017. – Vol. 26, No. 2. – P. 83–90. DOI:10.1097/MNH.0000000000000303
35. Gupta S., Sen U. More than just an enzyme: Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) and its association with diabetic kidney remodelling // *Pharmacol. Res.* – 2019. – Vol. 147. – P. 104391. DOI:10.1016/j.phrs.2019.104391
36. Allada R., Ren J., Restrepo R., Nistala R. Role of Dipeptidyl Peptidase 4 and Effects of a Western Diet in Renal Sodium Transport and Tubular Injury // *FASEB.* – 2022. – Vol. 36, No. S1. DOI:10.1096/fasebj.2022.36.s1.r5683
37. Min H.S., Kim J.E., Lee M.H., Song H.K., Kang Y.S., Lee M.J., Lee J.E., Kim H.W., Cha J.J., Chung Y.Y., Hyun Y.Y., Han J.Y., Cha D.R. Dipeptidyl peptidase IV inhibitor protects against renal interstitial fibrosis in a mouse model of ureteral obstruction // *Lab. Invest.* – 2014. – Vol. 94, No. 6. – P. 598–607. DOI:10.1038/labinvest.2014.50
38. O'Leary H., Ou X., Broxmeyer H.E. The role of dipeptidyl peptidase 4 in hematopoiesis and transplantation // *Curr. Opin. Hematol.* – 2013. – Vol. 20, No. 4. – P. 314–319. DOI:10.1097/MOH.0b013e32836125ac
39. Bae J.C. DPP-4 Inhibitor in Type 2 Diabetes Mellitus Patient with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Achieving Two Goals at Once? // *Endocrinol. Metab. (Seoul).* – 2022. – Vol. 37, No. 6. – P. 858–860. DOI:10.3803/EnM.2022.605
40. Jung E., Kim J., Kim C.S., Kim S.H., Cho M.H. Gemigliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, inhibits retinal pericyte injury in db/db mice and retinal neovascularization in mice with ischemic retinopathy // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2015. – Vol. 1852, No. 12. – P. 2618–2629. DOI:10.1016/j.bbdis.2015.09.010
41. Avogaro A., Fadini G.P. The effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibition on microvascular diabetes complications // *Diabetes Care.* – 2014. – Vol. 37, No. 10. – P. 2884–2894. DOI:10.2337/dc14-0865
42. Bazhin A.A., Chambon M., Vesin J., Bortoli J., Collins J.W., Turcatti G., Chou C.J., Goun E.A. A Universal Assay for Aminopeptidase Activity and Its Application for Dipeptidyl Peptidase-4 Drug Discovery // *Anal. Chem.* – 2019. – Vol. 91, No. 1. – P. 1098–1104. DOI:10.1021/acs.analchem.8b04672
43. Méndez L.R., Arrebola Y., Valdés-Tresanco M.E., Díaz-Guevara L., Bergado G., Sánchez B., Charli J.L., Pascual Alonso I. Bestatin and bacitracin inhibit porcine kidney cortex dipeptidyl peptidase IV activity and reduce human melanoma MeWo cell viability // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2020. – Vol. 164. – P. 2944–2952. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.08.157
44. Chittepu V.C.S.R., Kalhotra P., Osorio-Gallardo T., Jiménez-Martínez C., Torre R.R.R., Gallardo-Velazquez T., Osorio-Revilla G. New Molecular Insights into the Inhibition of Dipeptidyl Peptidase-4 by Natural Cyclic Peptide Oxytocin // *Molecules.* – 2019. – Vol. 24, No. 21. – Art. ID: 3887. DOI:10.3390/molecules24213887
45. Gao J., Gong H., Mao X. Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibitory Activity and Related Molecular Mechanism of Bovine α -Lactalbumin-Derived Peptides // *Molecules.* – 2020. – Vol. 25, No. 13. – Art. ID: 3009. DOI:10.3390/molecules25133009
46. Huang P.K., Lin S.R., Chang C.H., Tsai M.J., Lee D.N., Weng C.F. Natural phenolic compounds potentiate hypoglycemia via inhibition of Dipeptidyl peptidase IV // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, No. 1. – Art. ID: 15585. DOI:10.1038/s41598-019-52088-7
47. Wang J., Dai G., Li W. Berberine regulates glycemia via local inhibition of intestinal dipeptidyl peptidase-IV // *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2016. – Vol. 45, No. 5. – P. 486–492. DOI:10.3785/j.issn.1008-9292.2016.09.06. Chinese
48. Kalhotra P., Chittepu V.C.S.R., Osorio-Revilla G., Gallardo-Velazquez T. Phytochemicals in Garlic Extract Inhibit Therapeutic Enzyme DPP-4 and Induce Skeletal Muscle Cell Proliferation: A Possible Mechanism of

- Action to Benefit the Treatment of Diabetes Mellitus // Biomolecules. – 2020. – Vol. 10, No. 2. – Art. ID: 305. DOI:10.3390/biom10020305
49. Narayanan N., Naik D., Sahoo J., Kamalanathan S. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors in COVID-19: Beyond glycemic control // World J Virol. – 2022. – Vol. 11, No. 6. – P. 399–410. DOI:10.5501/wjv.v11.i6.399
50. Ортенберг Э.А., Суплотова Л.А. Ингибиторы дипептидилпептидазы-4: очевидное и вероятное (обзор литературы) // Медицинский совет. – 2022. – Т. 16, № 10. – С. 40–45. DOI:10.21518/2079-701X-2022-16-10-40-45
51. Vankadari N., Wilce J.A. Emerging WuHan (COVID-19) coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26 // Emerg. Microbes. Infect. – 2020. – Vol. 9, No. 1. – P. 601–604. DOI:10.1080/22221751.2020.1739565
52. Li Y., Zhang Z., Yang L., Lian X., Xie Y., Li S., Xin S., Cao P., Lu J. The MERS-CoV Receptor DPP4 as a Candidate Binding Target of the SARS-CoV-2 Spike // iScience. – 2020. – Vol. 23, No. 6. – Art. ID: 101160. DOI:10.1016/j.isci.2020.101160. Erratum in: iScience. – 2020. – Vol. 23, No. 8. – Art. ID: 101400.
53. Sebastián-Martín A., Sánchez B.G., Mora-Rodríguez J.M., Bort A., Díaz-Laviada I. Role of Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP4) on COVID-19 Physiopathology // Biomedicines. – 2022. – Vol. 10, No. 8. – Art. ID: 2026. DOI:10.3390/biomedicines10082026
54. Krejner-Bienias A., Grzela K., Grzela T. DPP4 Inhibitors and COVID-19-Holy Grail or Another Dead End? // Arch Immunol Ther Exp (Warsz). – 2021. – Vol. 69, No. 1. – P. 1. DOI:10.1007/s00005-020-00602-5
55. Dastan F., Abedini A., Shahabi S., Kiani A., Saffaei A., Zare A. Sitagliptin Repositioning in SARS-CoV-2: Effects on ACE-2, CD-26, and Inflammatory Cytokine Storms in the Lung // Iran J. Allergy Asthma Immunol. – 2020. – Vol. 19, No. S1. – P. 10–12. DOI:10.18502/ijaai.v19i(s1.r1).2849
56. Schlicht K., Rohmann N., Geisler C., Hollstein T., Knappe C., Hartmann K., Schwarz J., Tran F., Schunk D., Junker R., Bahmer T., Rosenstiel P., Schulte D., Türk K., Franke A., Schreiber S., Laudes M. Circulating levels of soluble Dipeptidylpeptidase-4 are reduced in human subjects hospitalized for severe COVID-19 infections // Int. J. Obes. (Lond). – 2020. – Vol. 44, No. 11. – P. 2335–2338. DOI:10.1038/s41366-020-00689-y. Erratum in: Int. J. Obes. (Lond). – 2022. – Vol. 46, No. 1. – Art. ID: 243.
57. Varin E.M., Mulvihill E.E., Beaudry J.L., Pujadas G., Fuchs S., Tanti J.F., Fazio S., Kaur K., Cao X., Baggio L.L., Matthews D., Campbell J.E., Drucker D.J. Circulating Levels of Soluble Dipeptidyl Peptidase-4 Are Dissociated from Inflammation and Induced by Enzymatic DPP4 Inhibition // Cell Metab. – 2019. – Vol. 29, No. 2. – P. 320–334.e5. DOI:10.1016/j.cmet.2018.10.001
58. Kifle Z.D., Woldeyohanin A.E., Demeke C.A. SARS-CoV-2 and diabetes: A potential therapeutic effect of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors in diabetic patients diagnosed with COVID-19 // Metabol. Open. – 2021. – Vol. 12. – Art. ID: 100134. DOI:10.1016/j.metop.2021.100134
59. Soare A., Györfi H.A., Matei A.E., Dees C., Rauber S., Wohlfahrt T., Chen C.W., Ludolph I., Horch R.E., Bäuerle T., von Hörsten S., Mihai C., Distler O., Ramming A., Schett G., Distler J.H.W. Dipeptidylpeptidase 4 as a Marker of Activated Fibroblasts and a Potential Target for the Treatment of Fibrosis in Systemic Sclerosis // Arthritis. Rheumatol. – 2020. – Vol. 72, No. 1. – P. 137–149. DOI:10.1002/art.41058
60. Herman G.A., Bergman A., Stevens C., Kotey P., Yi B., Zhao P., Dietrich B., Golor G., Schrodter A., Keymeulen B., Lasseret K.C., Kipnes M.S., Snyder K., Hilliard D., Tanen M., Cilissen C., De Smet M., de Lepeleire I., Van Dyck K., Wang A.Q., Zeng W., Davies M.J., Tanaka W., Holst J.J., Deacon C.F., Gottesdiener K.M., Wagner J.A. Effect of single oral doses of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, on incretin and plasma glucose levels after an oral glucose tolerance test in patients with type 2 diabetes // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2006. – Vol. 91, No. 11. – P. 4612–4619. DOI:10.1210/jc.2006-1009
61. Hou L., Zhao T., Liu Y., Zhang Y. Efficacy and safety of sitagliptin compared with sulfonylurea therapy in patients with type 2 diabetes showing inadequately controlled glycosylated hemoglobin with metformin monotherapy: A meta-analysis // Exp. Ther. Med. – 2015. – Vol. 9, No. 4. – P. 1528–1536. DOI:10.3892/etm.2015.2277
62. Hayes J., Anderson R., Stephens J.W. Sitagliptin/metformin fixed-dose combination in type 2 diabetes mellitus: an evidence-based review of its place in therapy // Drug Des. Devel. Ther. – 2016. – Vol. 10. – P. 2263–2270. DOI:10.2147/DDDT.S93076
63. Fonseca V., Staels B., Morgan J.D. 2nd, Shentu Y., Golm G.T., Johnson-Levonas A.O., Kaufman K.D., Goldstein B.J., Steinberg H. Efficacy and safety of sitagliptin added to ongoing metformin and pioglitazone combination therapy in a randomized, placebo-controlled, 26-week trial in patients with type 2 diabetes // J. Diabetes Complications. – 2013. – Vol. 27, No. 2. – P. 177–183. DOI:10.1016/j.jdiacomp.2012.09.007
64. Шестакова М.В. Опыт применения ситаглиптина (первого ингибитора ДПП-4) в лечении сахарного диабета 2 типа в российской федерации: результаты наблюдательной программы «Диа-Да» // Сахарный диабет. – 2010. – Т. 13, № 3. – С. 57–60. DOI:10.14341/2072-0351-5489
65. Аметов А.С., Гусенбекова Д.Г. Роль ингибиторов ДПП-4 в коррекции нарушений жирового обмена у пациентов с СД 2 типа и ожирением // Сахарный диабет. – 2015. – Т. 18, № 3. – С. 85–92. DOI:10.14341/DM2015385-92
66. Павлова М.Г. Вилдаглиптин - новые возможности в терапии сахарного диабета 2 типа // Фарматека. – 2022. – Т. 29, № 11/12. – С. 36–40. DOI:10.18565/pharmateca.2022.11-12.36-40
67. Azuma K., Rádiková Z., Mancino J., Toledo F.G., Thomas E., Kangani C., Dalla Man C., Cobelli C., Holst J.J., Deacon C.F., He Y., Ligueros-Saylan M., Serra D., Foley J.E., Kelley D.E. Measurements of islet function and glucose metabolism with the dipeptidyl peptidase 4 inhibitor vildagliptin in patients with type 2 diabetes // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2008. – Vol. 93, No. 2. – P. 459–464. DOI:10.1210/jc.2007.1369
68. Odawara M., Sagara R. Effects of vildagliptin as add-on treatment in patients with type 2 diabetes mellitus: insights from long-term clinical studies in Japan // J. Diabetes Metab. Disord. – 2016. – Vol. 15. – Art. ID: 21. DOI:10.1186/s40200-016-0240-z
69. Аметов А.С. Галвус. 5 лет в России // Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение. – 2014. – № 3 (8). – С. 10–16.
70. Kosaraju J., Murthy V., Khatwal R.B., Dubala A., Chinni S., Muthureddy Nataraj S.K., Basavan D. Vildagliptin: an anti-diabetes agent ameliorates cognitive deficits and pathology observed in streptozotocin-induced Alzheimer's disease // J. Pharm. Pharmacol. – 2013. – Vol. 65, No. 12. – P. 1773–1784. DOI:10.1111/jphp.12148
71. Arruda-Junior D.F., Martins F.L., Dariolli R., Jensen L., Antonio E.L., Dos Santos L., Tucci P.J., Girardi A.C. Dipeptidyl Peptidase IV Inhibition Exerts Renoprotective Effects in Rats with Established Heart Failure // Front Physiol. – 2016. – Vol. 7. – Art. ID: 293. DOI:10.3389/fphys.2016.00293
72. O'Farrell A.M., van Vliet A., Abou Farha K., Cherrington J.M., Campbell D.A., Li X., Hanway D., Li J., Guler H.P.

- Pharmacokinetic and pharmacodynamic assessments of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor PHX1149: double-blind, placebo-controlled, single- and multiple-dose studies in healthy subjects // *Clin. Ther.* – 2007. – Vol. 29, No. 8. – P. 1692–1705. DOI:10.1016/j.clinthera.2007.08.005
73. Lotfy M., Singh J., Kalász H., Tekes K., Adeghate E. Medicinal Chemistry and Applications of Incretins and DPP-4 Inhibitors in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus // *Open Med. Chem. J.* – 2011. – Vol. 5, No. 2. – P. 82–92. DOI:10.2174/1874104501105010082
 74. Pattzi H.M., Pitale S., Alpizar M., Bennett C., O'Farrell A.M., Li J., Cherrington J.M., Guler H.P., PHX1149-PROT202 Study Group. Dutogliptin, a selective DPP4 inhibitor, improves glycaemic control in patients with type 2 diabetes: a 12-week, double-blind, randomized, placebo-controlled, multicentre trial // *Diabetes Obes. Metab.* – 2010. – Vol. 12, No. 4. – P. 348–355. DOI:10.1111/j.1463-1326.2010.01195.x
 75. Garcia-Soria G., Gonzalez-Galvez G., Argoud G.M., Gerstman M., Littlejohn T.W. 3rd, Schwartz S.L., O'Farrell A.M., Li X., Cherrington J.M., Bennett C., Guler H.P. The dipeptidyl peptidase-4 inhibitor PHX1149 improves blood glucose control in patients with type 2 diabetes mellitus // *Diabetes Obes. Metab.* – 2008. – Vol. 10, No. 4. – P. 293–300. DOI:10.1111/j.1463-1326.2008.00868.x
 76. Schenk R., Nix D. TCT-180 Impact of the novel DPP-IV-inhibitor Dutogliptin in combination with G-CSF on survival rates and cardiac remodelling after acute myocardial infarction // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2016. – Vol. 68, Suppl. 18. – Art. ID: B74. DOI:10.1016/j.jacc.2016.09.322
 77. Rosenstock J., Sankoh S., List J.F. Glucose-lowering activity of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor saxagliptin in drug-naïve patients with type 2 diabetes // *Diabetes Obes. Metab.* – 2008. – Vol. 10, No. 5. – P. 376–386. DOI:10.1111/j.1463-1326.2008.00876.x
 78. Matthaai S., Aggarwal N., Garcia-Hernandez P., Iqbal N., Chen H., Johnsson E., Chin A., Hansen L. One-year efficacy and safety of saxagliptin add-on in patients receiving dapagliflozin and metformin // *Diabetes Obes. Metab.* – 2016. – Vol. 18, No. 11. – P. 1128–1133. DOI:10.1111/dom.12741
 79. Chacra A.R., Tan G.H., Apanovitch A., Ravichandran S., List J., Chen R.; CV181-040 Investigators. Saxagliptin added to a submaximal dose of sulphonylurea improves glycaemic control compared with uptitration of sulphonylurea in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial // *Int. J. Clin. Pract.* – 2009. – Vol. 63, No. 9. – P. 1395–1406. DOI:10.1111/j.1742-1241.2009.02143.x. Erratum in: *Int. J. Clin. Pract.* – 2010. – Vol. 64, No. 2. – Art. ID: 277.
 80. Huang J., Jia Y., Sun S., Meng L. Adverse event profiles of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: data mining of the public version of the FDA adverse event reporting system // *BMC Pharmacol. Toxicol.* – 2020. – Vol. 21, No. 1. – Art. ID: 68. DOI:10.1186/s40360-020-00447-w
 81. Петунина Н.А., Бращенко А.В. Саксаглиптин в концепции эффективного управления сахарным диабетом 2 типа // *Фарматека.* – 2011. – № 16 (229). – С. 12–19.
 82. Kosaraju J., Gali C.C., Khatwal R.B., Dubala A., Chinni S., Holsinger R.M., Madhunapantula V.S., Muthureddy Nataraj S.K., Basavan D. Saxagliptin: a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor ameliorates streptozotocin induced Alzheimer's disease // *Neuropharmacology.* – 2013. – Vol. 72. – P. 291–300. DOI:10.1016/j.neuropharm.2013.04.008
 83. Verspohl E.J. Novel pharmacological approaches to the treatment of type 2 diabetes // *Pharmacol. Rev.* – 2012. – Vol. 64, No. 2. – P. 188–237. DOI:10.1124/pr.110.003319
 84. Del Prato S., Barnett A.H., Huisman H., Neubacher D., Woerle H.J., Dugi K.A. Effect of linagliptin monotherapy on glycaemic control and markers of β -cell function in patients with inadequately controlled type 2 diabetes: a randomized controlled trial // *Diabetes Obes. Metab.* – 2011. – Vol. 13, No. 3. – P. 258–267. DOI:10.1111/j.1463-1326.2010.01350.x
 85. Taskinen M.R., Rosenstock J., Tamminen I., Kubiak R., Patel S., Dugi K.A., Woerle H.J. Safety and efficacy of linagliptin as add-on therapy to metformin in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled study // *Diabetes Obes. Metab.* – 2011. – Vol. 13, No. 1. – P. 65–74. DOI:10.1111/j.1463-1326.2010.01326.x
 86. Forst T., Uhlig-Laske B., Ring A., Graefe-Mody U., Friedrich C., Herbach K., Woerle H.J., Dugi K.A. Linagliptin (BI 1356), a potent and selective DPP-4 inhibitor, is safe and efficacious in combination with metformin in patients with inadequately controlled Type 2 diabetes // *Diabet Med.* – 2010. – Vol. 27, No. 12. – P. 1409–1419. DOI:10.1111/j.1464-5491.2010.03131.x
 87. Owens D.R., Swallow R., Dugi K.A., Woerle H.J. Efficacy and safety of linagliptin in persons with type 2 diabetes inadequately controlled by a combination of metformin and sulphonylurea: a 24-week randomized study // *Diabet. Med.* 2011. – Vol. 28, No. 11. – P. 1352–1361. DOI:10.1111/j.1464-5491.2011.03387.x. Erratum in: *Diabet. Med.* – 2012. – Vol. 29, No. 1. – Art. ID: 158.
 88. Gallwitz B., Rosenstock J., Rauch T., Bhattacharya S., Patel S., von Eynatten M., Dugi K.A., Woerle H.J. 2-year efficacy and safety of linagliptin compared with glimepiride in patients with type 2 diabetes inadequately controlled on metformin: a randomised, double-blind, non-inferiority trial // *Lancet.* – 2012. – Vol. 380, No. 9840. – P. 475–483. DOI:10.1016/S0140-6736(12)60691-6
 89. Gupta R., Walunj S.S., Tokala R.K., Parsa K.V., Singh S.K., Pal M. Emerging drug candidates of dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) inhibitor class for the treatment of Type 2 Diabetes // *Curr. Drug. Targets.* – 2009. – Vol. 10, No. 1. – P. 71–87. DOI:10.2174/138945009787122860
 90. DeFronzo R.A., Fleck P.R., Wilson C.A., Mekki Q., Alogliptin Study 010 Group. Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor alogliptin in patients with type 2 diabetes and inadequate glycemic control: a randomized, double-blind, placebo-controlled study // *Diabetes Care.* – 2008. – Vol. 31, No. 12. – P. 2315–2317. DOI:10.2337/dc08-1035
 91. Rosenstock J., Rendell M.S., Gross J.L., Fleck P.R., Wilson C.A., Mekki Q. Alogliptin added to insulin therapy in patients with type 2 diabetes reduces HbA(1C) without causing weight gain or increased hypoglycaemia // *Diabetes Obes. Metab.* – 2009. – Vol. 11, No. 12. – P. 1145–1152. DOI:10.1111/j.1463-1326.2009.01124.x
 92. Chen X.W., He Z.X., Zhou Z.W., Yang T., Zhang X., Yang Y.X., Duan W., Zhou S.F. Clinical pharmacology of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors indicated for the treatment of type 2 diabetes mellitus // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2015. – Vol. 42, No. 10. – P. 999–1024. DOI:10.1111/1440-1681.12455
 93. Pratley R.E., Reusch J.E., Fleck P.R., Wilson C.A., Mekki Q. Alogliptin Study 009 Group. Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor alogliptin added to pioglitazone in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled study // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2009. – Vol. 25, No. 10. – P. 2361–2371. DOI:10.1185/03007990903156111
 94. Trujillo J.M., Wettergreen S.A., Nuffer W.A., Ellis S.L., McDermott M.T. Cardiovascular Outcomes of New Medications for Type 2 Diabetes // *Diabetes Technol. Ther.* – 2016. – Vol. 18, No. 12. – P. 749–758. DOI:10.1089/dia.2016.0295
 95. Мкртумян А.М. Алоглиптин – эффективный и

- безопасный ингибитор дипептидилпептидазы-4 в терапии больных сахарным диабетом 2 типа // Фарматека. – 2015. – № 5 (298). – С. 20–27.
96. Мкртумян А.М., Егшатын Л.В. Алоглиптин – высокоселективный ингибитор ДПП-4 с фокусом на кардиоваскулярную безопасность // Медицинский совет. – 2016. – № 5. – С. 104–107. DOI:10.21518/2079-701X-2016-05-104-107
97. Kim S.H., Jung E., Yoon M.K., Kwon O.H., Hwang D.M., Kim D.W., Kim J., Lee S.M., Yim H.J. Pharmacological profiles of gemigliptin (LC15-0444), a novel dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, in vitro and in vivo // Eur. J. Pharmacol. – 2016. – Vol. 788. – P. 54–64. DOI:10.1016/j.ejphar.2016.06.016
98. Rhee E.J., Lee W.Y., Yoon K.H., Yoo S.J., Lee I.K., Baik S.H., Kim Y.K., Lee M.K., Park K.S., Park J.Y., Cha B.S., Lee H.W., Min K.W., Bae H.Y., Kim M.J., Kim J.A., Kim D.K., Kim S.W. A multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind phase II trial evaluating the optimal dose, efficacy and safety of LC 15-0444 in patients with type 2 diabetes // Diabetes Obes. Metab. – 2010. – Vol. 12, No. 12. – P. 1113–1119. DOI:10.1111/j.1463-1326.2010.01303.x
99. Lim S., Han K.A., Yu J., Chamnan P., Kim E.S., Yoon K.H., Kwon S., Moon M.K., Lee K.W., Kim D.J., Kim M., Wongtanate M., Kim E.Y., Kim S.H., Lee M.K., INICOM Study Group. Efficacy and safety of initial combination therapy with gemigliptin and metformin compared with monotherapy with either drug in patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial (INICOM study) // Diabetes Obes. Metab. – 2017. – Vol. 19, No. 1. – P. 87–97. DOI:10.1111/dom.12787
100. Maladkar M., Sankar S., Kamat K. Teneigliptin: heralding change in type 2 diabetes // J. Diabetes Mellitus. – 2016. – Vol. 6. – P. 113–131. DOI:10.4236/jdm.2016.62012
101. Kadowaki T., Kondo K. Efficacy, safety and dose-response relationship of teneigliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus // Diabetes Obes Metab. – 2013. – Vol. 15, No. 9. – P. 810–818. DOI:10.1111/dom.12092
102. Otsuki H., Kosaka T., Nakamura K., Shimomura F., Kuwahara Y., Tsukamoto T. Safety and efficacy of teneigliptin: a novel DPP-4 inhibitor for hemodialysis patients with type 2 diabetes // Int Urol Nephrol. – 2014. – Vol. 46, No. 2. – P. 427–432. DOI:10.1007/s11255-013-0552-6
103. Hashikata T., Yamaoka-Tojo M., Kakizaki R., Nemoto T., Fujiyoshi K., Namba S., Kitasato L., Hashimoto T., Kameda R., Maekawa E., Shimohama T., Tojo T., Ako J. Teneigliptin improves left ventricular diastolic function and endothelial function in patients with diabetes // Heart Vessels. – 2016. – Vol. 31, No. 8. – P. 1303–1310. DOI:10.1007/s00380-015-0724-7. Erratum in: Heart Vessels. – 2016. – Vol. 31, No. 8. – P. 1311–1312.
104. Kadowaki T., Kondo K. Efficacy and safety of teneigliptin added to glimepiride in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind, placebo-controlled study with an open-label, long-term extension // Diabetes Obes. Metab. – 2014. – Vol. 16, No. 5. – P. 418–425. DOI:10.1111/dom.12235
105. Kadowaki T., Kondo K. Efficacy and safety of teneigliptin in combination with pioglitazone in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus // J. Diabetes Investig. – 2013. – Vol. 4, No. 6. – P. 576–584. DOI:10.1111/jdi.12092
106. Kim M.K., Rhee E.J., Han K.A., Woo A.C., Lee M.K., Ku B.J., Chung C.H., Kim K.A., Lee H.W., Park I.B., Park J.Y., Chul Jang H.C., Park K.S., Jang W.I., Cha B.Y. Efficacy and safety of teneigliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, combined with metformin in Korean patients with type 2 diabetes mellitus: a 16-week, randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial // Diabetes Obes Metab. – 2015. – Vol. 17, No. 3. – P. 309–312. DOI:10.1111/dom.12424
107. Tanaka K., Okada Y., Mori H., Inada Y., Suzuka K., Uriu K., Tanaka Y. Efficacy of linagliptin and teneigliptin for glycemic control in type 2 diabetic patients with chronic kidney disease: assessment by continuous glucose monitoring; a pilot study // Diabetol. Int. – 2016. – Vol. 7, No. 4. – P. 368–374. DOI:10.1007/s13340-016-0258-y
108. Furuta S., Smart C., Hackett A., Benning R., Warrington S. Pharmacokinetics and metabolism of [14C]anagliptin, a novel dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, in humans // Xenobiotica. – 2013. – Vol. 43, No. 5. – P. 432–442. DOI:10.3109/00498254.2012.731618
109. Kaku K. Dose-ranging study of anagliptin in Japanese patients with type 2 diabetes: a multi-centre, randomized, placebo-controlled, double-blind, parallel-group study // Jpn Pharmacol Ther. – 2012. – Vol. 40. – P. 973–984.
110. Yang H.K., Min K.W., Park S.W., Chung C.H., Park K.S., Choi S.H., Song K.H., Kim D.M., Lee M.K., Sung Y.A., Baik S.H., Kim I.J., Cha B.S., Park J.H., Ahn Y.B., Lee I.K., Yoo S.J., Kim J., Park I.B., Park T.S., Yoon K.H. A randomized, placebo-controlled, double-blind, phase 3 trial to evaluate the efficacy and safety of anagliptin in drug-naïve patients with type 2 diabetes // Endocr. J. – 2015. – Vol. 62, No. 5. – P. 449–462. DOI:10.1507/endocrj.EJ14-0544
111. Kakuda H., Kobayashi J., Kakuda M., Yamakawa J., Takekoshi N. The effect of anagliptin treatment on glucose metabolism and lipid metabolism, and oxidative stress in fasting and postprandial states using a test meal in Japanese men with type 2 diabetes // Endocrine. – 2015. – Vol. 48, No. 3. – P. 1005–1009. DOI:10.1007/s12020-014-0376-x
112. Kaku K. Efficacy and safety of anagliptin add-on therapy in Japanese patients with type 2 diabetes // Jpn Pharmacol Ther. – 2012. – Vol. 40, No. 9. – P. 745–770.
113. Burness C.B. Omarigliptin: first global approval // Drugs. – 2015. – Vol. 75, No. 16. – P. 1947–1952. DOI:10.1007/s40265-015-0493-8
114. Sheu W.H., Gantz I., Chen M., Suryawanshi S., Mirza A., Goldstein B.J., Kaufman K.D., Engel S.S. Safety and Efficacy of Omarigliptin (MK-3102), a Novel Once-Weekly DPP-4 Inhibitor for the Treatment of Patients With Type 2 Diabetes // Diabetes Care. – 2015. – Vol. 38, No. 11. – P. 2106–2114. DOI:10.2337/dc15-0109
115. Evans P.M., Bain S.C. Omarigliptin for the treatment of type 2 diabetes mellitus // Expert. Opin. Pharmacother. – 2016. – Vol. 17, No. 14. – P. 1947–1952. DOI:10.1080/14656566.2016.1218472
116. Tan X. Omarigliptin for the treatment of type 2 diabetes // Endocrine. – 2016. – Vol. 54, No. 1. – P. 24–31. DOI:10.1007/s12020-016-1011-9
117. Sharma R., Sun H., Piotrowski D.W., Ryder T.F., Doran S.D., Dai H., Prakash C. Metabolism, excretion, and pharmacokinetics of ((3,3-difluoropyrrolidin-1-yl)((2S,4S)-4-(4-(pyrimidin-2-yl)piperazin-1-yl)pyrrolidin-2-yl)methanone, a dipeptidyl peptidase inhibitor, in rat, dog and human // Drug Metab. Dispos. – 2012. – Vol. 40, No. 11. – P. 2143–2161. DOI:10.1124/dmd.112.047316
118. Muto C., Dai H., Teeter J.G., Johnson S., Cropp A.B., Chiba K., Suwa T. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of PF-00734200, a DPP-IV inhibitor, in healthy Japanese subjects // Int J Clin Pharmacol Ther. – 2012. – Vol. 50, No. 7. – P. 505–509. DOI:10.5414/CP201614
119. Rosenstock J., Lewin A.J., Norwood P., Somayaji V., Nguyen T.T., Teeter J.G., Johnson S.L., Dai H., Terra S.G. Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor PF-734200 added to metformin in Type 2 diabetes // Diabet. Med. – 2011. – Vol. 28, No. 4. – P. 464–469. DOI:10.1111/j.1464-5491.2010.03181.x
120. Terra S.G., Somayaji V., Schwartz S., Lewin A.J., Teeter J.G., Dai H., Nguyen T.T., Calle R.A. A Dose-Ranging Study of the DPP-IV Inhibitor PF-734200 Added to Metformin in

- Subjects With Type 2 Diabetes // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. – 2011. – Vol. 119, No. 7. – P. 401–407. DOI:10.1055/s-0031-1273737
121. Галстян К.О., Недосугова Л.В., Петунина Н.А., Трахтенберг Ю.А., Востокова Н.В., Караваева О.В., Часовская Т.Е. Первый отечественный ингибитор ДПП-4 гомоглиптин в сравнении с вилдаглиптином при лечении пациентов с сахарным диабетом 2 типа // *Сахарный диабет*. – 2016. – Т. 19, № 1. – С. 89–96. DOI:10.14341/DM7233
122. McKeage K. Trelagliptin: First Global Approval // *Drugs*. – 2015. – Vol. 75, No. 10. – P. 1161–1164. DOI:10.1007/s40265-015-0431-9
123. Grimshaw C.E., Jennings A., Kamran R., Ueno H., Nishigaki N., Kosaka T., Tani A., Sano H., Kinugawa Y., Koumura E., Shi L., Takeuchi K. Trelagliptin (SYR-472, Zafatek), Novel Once-Weekly Treatment for Type 2 Diabetes, Inhibits Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) via a Non-Covalent Mechanism // *PLoS One*. 2016. – Vol. 11, No. 6. – Art. ID: e0157509. Published – 2016. DOI:10.1371/journal.pone.0157509
124. Inagaki N., Sano H., Seki Y., Kuroda S., Kaku K. Long-term safety and efficacy of a novel once-weekly oral trelagliptin as monotherapy or in combination with an existing oral antidiabetic drug in patients with type 2 diabetes mellitus: A 52-week open-label, phase 3 study // *J. Diabetes Investig.* – 2016. – Vol. 7, No. 5. – P. 718–726. DOI:10.1111/jdi.12499
125. Yong X., Hu T., Feng S., Du X., Shi H., Feng W. Synergism in Pharmacokinetics of Retagliptin and Metformin Observed during Clinical Trials of their Combination Therapy // *Trop J. Pharm. Res.* – 2015. – Vol. 14, No. 8. – P. 1481–1486. DOI:10.4314/tjpr.v14i8.22
126. Chae Y.N., Kim T.H., Kim M.K., Shin C.Y., Jung I.H., Sohn Y.S., Son M.H. Beneficial Effects of Evogliptin, a Novel Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibitor, on Adiposity with Increased Ppargc1a in White Adipose Tissue in Obese Mice // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10, No. 12. – Art. ID: e0144064. DOI:10.1371/journal.pone.0144064
127. Cho J.M., Jang H.W., Cheon H., Jeong Y.T., Kim D.H., Lim Y.M., Choi S.H., Yang E.K., Shin C.Y., Son M.H., Kim S.H., Kim H.J., Lee M.S. A novel dipeptidyl peptidase IV inhibitor DA-1229 ameliorates streptozotocin-induced diabetes by increasing β -cell replication and neogenesis // *Diabetes Res Clin Pract.* – 2011. – Vol. 91, No. 1. – P. 72–79. DOI:10.1016/j.diabres.2010.10.012
128. Gu N., Park M.K., Kim T.E., Bahng M.Y., Lim K.S., Cho S.H., Yoon S.H., Cho J.Y., Jang I.J., Yu K.S. Multiple-dose pharmacokinetics and pharmacodynamics of evogliptin (DA-1229), a novel dipeptidyl peptidase IV inhibitor, in healthy volunteers // *Drug Des. Devel. Ther.* – 2014. – Vol. 8. – P. 1709–1721. DOI:10.2147/DDDT.S65678
129. Mattei P., Boehringer M., Di Giorgio P., Fischer H., Hennig M., Huwyler J., Koçer B., Kuhn B., Loeffler B.M., Macdonald A., Narquizian R., Rauber E., Sebkova E., Sprecher U. Discovery of carmegliptin: a potent and long-acting dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2010. – Vol. 20, No. 3. – P. 1109–1113. DOI:10.1016/j.bmcl.2009.12.024
130. Kuhlmann O., Carlile D., Noe J., Bentley D. Interaction potential of Carmegliptin with P-glycoprotein (Pgp) transporter in healthy volunteers // *J. Drug Assess.* – 2014. – Vol. 3, No. 1. – P. 28–37. DOI:10.3109/21556660.2014.900065

АВТОРЫ

Куркин Денис Владимирович – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: strannik986@mail.ru

Бакулин Дмитрий Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4694-3066. E-mail: mbfdoc@gmail.com

Морковин Евгений Игоревич – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией нейропсихофармакологии НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7119-3546. E-mail: e.i.morkovin@gmail.com

Стрыгин Андрей Валерьевич – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель директора НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6997-1601. E-mail: drumsav@mail.ru

Горбунова Юлия Васильевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: yvgorbunova@yandex.ru

Волотова Елена Владимировна – доктор

медицинских наук, профессор, институт НМФО ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3916-7249. E-mail: a-zlato@mail.ru

Макаренко Игорь Евгеньевич – кандидат медицинских наук, руководитель медицинского департамента, ЗАО «Фарм-Холдинг»; научный сотрудник ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-2308-0608. E-mail: Igor.Makarenko@geropharm.com

Сапарова Валерия Бяшимовна – руководитель лаборатории фармакологии, ЗАО «Фарм-Холдинг»; научный сотрудник ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-8445-1129. E-mail: Valeriya.Saparova@geropharm.com

Драй Роман Васильевич – кандидат медицинских наук, директор, ЗАО «Фарм-Холдинг». ORCID: 0000-0003-4594-6097. E-mail: roman.drai@geropharm.com

Петров Владимир Иванович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; директор НЦИЛС ВолгГМУ, главный внештатный специалист – клинический фармаколог Министерства здравоохранения РФ, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный врач РФ. ORCID ID: 0000-0002-0258-4092. E-mail: brain@sprintnet.ru

УДК 616.71-007.234:542.943-92.78



Протективная роль производных 3-оксипиридина при стероид-индуцированном остеопорозе у крыс, связанная со снижением оксидативного стресса и восстановлением образования оксида азота

А.П. Даниленко¹, К.С. Трунов², М.В. Покровский¹, Л.М. Даниленко¹, М.В. Корокин¹,
О.С. Гудырев¹, А.А. Хентов³, Н.П. Масальтина¹, И.А. Татаренкова⁴, А.В. Чередниченко¹,
Е.В. Боева¹, И.С. Коклин¹, Э.И. Таран¹

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», 308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, д. 85

² Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская больница № 2 г. Белгорода», 308031, Россия, г. Белгород, ул. Губкина, д. 46

³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница им. С.С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы», 115446, Россия, г. Москва, ул. Коломенский проезд, д. 4

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305004, Россия, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

E-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru

Получена 20.09.2022

После рецензирования 21.12.2022

Принята к печати 10.02.2023

С точки зрения рассматриваемых механизмов реализации патогенетических звеньев развития стероид-индуцированного остеопороза особый интерес представляет повышенный риск окислительного стресса в остеобластах, а также развитие эндотелиальной дисфункции сосудов микроциркуляторного русла костной ткани, приводящее к нарушению трофики костной ткани и прогрессированию остеопороза.

Цель. Изучить остеопротекторные эффекты композиции производных 3-оксипиридина на модели стероид-индуцированного остеопороза.

Материалы и методы. Для моделирования патологии остеопороза животным (самцы крыс линии Wistar) внутрибрюшинно в течение 5 недель вводили метилпреднизолон (МП) в дозе 5 мг/кг каждые 5 дней. В качестве неселективного ингибитора NO-синтазы в работе использовали L-NAME в дозе 25 мг/кг, внутрибрюшинно. Производные 3-оксипиридина (в дальнейшем по тексту как композиция № 1), вводились в дозе 50 мг/кг перорально. Во всех экспериментальных группах проводилась оценка уровня микроциркуляции и минеральной плотности костной ткани, анализ гистоморфологических и биохимических проб.

Результаты. Результаты показали, что композиция № 1 (50 мг/кг) оказывала остеопротекторное действие, эффективно предотвращала снижение уровня регионарной микроциркуляции в костной ткани и развитие эндотелиальной дисфункции, что позволило увеличить минеральную плотность костей и замедлить истончение костных трабекул. Кроме того, композиция № 1 (50 мг/кг) снижала выработку активных форм кислорода и увеличивала биодоступность NO.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что изучаемая композиция производных 3-оксипиридина, считается перспективным соединением для профилактики и лечения стероид-индуцированного остеопороза.

Ключевые слова: производные 3-оксипиридина; остеопороз; активные формы кислорода; оксидативный стресс; оксид азота; эндотелий

Список сокращений: АФК – активные формы кислорода; МП – метилпреднизолон; L-NAME – L-нитро-L-аргининметилэфир; NO – оксид азота; ГК – глюкокортикоид; NF-κB – ядерный фактор-κB; RANK – активатор рецептора NF-κB; RANKL – активатор рецептора лиганда NF-κB; OPG – остеопротегерин; NOS – NO-синтаза; СОД – супероксиддисмутаза; МДА – малоновый диальдегид; КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции; ПОД – перекисное окисление липидов; ГП – глутатионпероксидаза; CSF – колониестимулирующий фактор; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; NOX – никотинамидадениндинуклеотидфосфатоксидаза.

Для цитирования: А.П. Даниленко, К.С. Трунов, М.В. Покровский, Л.М. Даниленко, М.В. Корокин, О.С. Гудырев, А.А. Хентов, Н.П. Масальтина, И.А. Татаренкова, А.В. Чередниченко, Е.В. Боева, И.С. Коклин, Э.И. Таран. Протективная роль производных 3-оксипиридина при стероид-индуцированном остеопорозе у крыс, связанная со снижением оксидативного стресса и восстановлением образования оксида азота. *Фармация и фармакология*. 2023;11(1):48-61. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-48-61

© А.П. Даниленко, К.С. Трунов, М.В. Покровский, Л.М. Даниленко, М.В. Корокин, О.С. Гудырев, А.А. Хентов, Н.П. Масальтина, И.А. Татаренкова, А.В. Чередниченко, Е.В. Боева, И.С. Коклин, Э.И. Таран, 2023

For citation: A.P. Danilenko, K.S. Trunov, M.V. Pokrovsky, L.M. Danilenko, M.V. Korokin, O.S. Gudyrev, A.A. Khentov, N.P. Masalytina, I.A. Tatarenkova, A.V. Cherednichenko, E.V. Boeva, I.S. Koklin, E.I. Taran. Protective role of 3-oxypyridine derivatives in rats' steroid-induced osteoporosis associated with reduced oxidative stress and recovery of nitric oxide formation. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(1):48-61. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-48-61

Protective role of 3-oxypyridine derivatives in rats' steroid-induced osteoporosis associated with reduced oxidative stress and recovery of nitric oxide formation

A.P. Danilenko¹, K.S. Trunov², M.V. Pokrovsky¹, L.M. Danilenko¹, M.V. Korokin¹,
O.S. Gudyrev¹, A.A. Khentov³, N.P. Masalytina¹, I.A. Tatarenkova⁴, A.V. Cherednichenko¹,
E.V. Boeva¹, I.S. Koklin¹, E.I. Taran¹

¹ Belgorod State National Research University,
85, Pobeda Str., Belgorod, Russia, 308015

² City Hospital No. 2, Belgorod,
46, Gubkin Str., Belgorod, Russia, 308031

³ City CLinical Hospital named after S.S. Yudin, Moscow City Health Department,
4, Kolomensky Dwy, Moscow, Russia, 115446

⁴ Kursk State Medical University,
3, Karl Marx Str., Kursk, Russia 305041

E-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru

Received 20 Sep 2022

After peer review 21 Dec 2022

Accepted 10 Feb 2023

From the point of view of the mechanisms for the implementation of pathogenetic links in the development of steroid-induced osteoporosis considered in the paper, the increased risk of the oxidative stress in osteoblasts, as well as the development of the vessels endothelial dysfunction of the microcirculatory bloodstream in the bone tissue, are of particular interest. They lead to the impaired bone tissue trophism and progression of osteoporosis.

The aim of the study was research of the osteoprotective effects of a 3-hydroxypyridine derivatives composition on the model of steroid-induced osteoporosis.

Materials and methods. To model osteoporosis pathology, the animals (male Wistar rats) were injected with methylprednisolone (MP) at the dose of 5 mg/kg (intraperitoneally) every 5th day for 5 weeks. As a non-selective blocker of NO synthase, L-NAME was used at the dose of 25 mg/kg (intraperitoneally). Derivatives of 3-hydroxypyridine (hereinafter referred to as composition No. 1) were administrated at the dose of 50 mg/kg (*per os*) In all experimental groups, the level of microcirculation and the bone mineral density, as well as the analysis of histomorphological and biochemical samples, were assessed.

Results. The study results showed that composition No. 1 (50 mg/kg) has an osteoprotective activity, effectively prevents a decrease in the level of the regional bone tissue microcirculation and in the development of an endothelial dysfunction. That makes it possible to increase the bone mineral density and to slow down the thinning of bone trabeculae. In addition, composition No. 1 (50 mg/kg) reduces the production of reactive oxygen species and increases the NO bioavailability.

Conclusion. The data obtained indicate that the studied composition of 3-hydroxypyridine derivatives is considered a promising compound for the prevention and treatment of steroid-induced osteoporosis.

Keywords: 3-hydroxypyridine derivatives; osteoporosis; reactive oxygen species; oxidative stress; nitric oxide; endothelium

Abbreviations: ROS – reactive oxygen species; MP – methylprednisolone; L-NAME – L-Nitro-arginine methyl ester; NO – nitric oxide; GC – glucocorticoid; NFκB – nuclear factor-κB; RANK – receptor activator for nuclear factor kappa B; RANKL – ligand of receptor activator for nuclear factor kappa B; OPG – osteoprotegerin; NOS – NO-synthase; SOD – superoxide dismutase; MDA – malondialdehyde; EDC – endothelial dysfunction coefficient; LPO – lipid peroxidation; GP – glutathione peroxidase; CSF – colony-stimulating factor; eNOS – endothelial NO-synthase; NOX – nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase.

ВВЕДЕНИЕ

Глюкокортикоиды (ГК) остаются одним из эффективных способов терапии многих воспалительных и аутоиммунных заболеваний, находя широкое применение в различных областях медицины (ревматологии, пульмонологии, гематологии, гастроэнтерологии, дерматологии, трансплантологии) [1]. Однако длительная терапия ГК имеют ряд побочных эффектов, среди которых одним из значимых является стероид-индуцированный остеопороз, который является

наиболее распространенной формой ятрогенного и вторичного остеопороза [2], вызывающего снижение минерализации костной ткани и, как следствие, переломы у 30–50% пациентов. По распространенности стероид-индуцированный остеопороз занимает второе место среди всех форм остеопороза, уступая только постменопаузальному и старческому [3]. Патофизиология остеопороза, вызванного ГК, обусловлена различными факторами [4–8], в том числе значительная роль отводится рецептору-активатору ядерного фактора-κB (RANK),

его лиганду (RANKL), и остеопротегерину (OPG). RANKL, как член надсемейства фактора некроза опухоли (TNF), регулирует дифференцировку, активацию и выживание остеокластов посредством связывания с родственным ему рецептором RANK, который может взаимодействовать с несколькими факторами, ассоциированными с рецептором TNF (TRAF), активируя сигнальные молекулы [9]. Активные формы кислорода (АФК) считаются основными факторами в RANKL-индуцированном влиянии на костную ткань, в том числе и при стероид-индуцированном остеопорозе [10–12], что позволяет определить одну из важнейших терапевтических стратегий для коррекции данной патологии.

Еще одной потенциальной мишенью для лечения остеопороза может являться оксид азота (NO). Эндогенный NO образуется из L-аргинина в результате реакции, катализируемой ферментом семейства кальмодулин-зависимых NO-синтаз (NOS). Из трех изоформ NOS наибольший вклад в развитие остеопороза вносит эндотелиальная NOS (eNOS). Убедительные подтверждения роли NO в функции остеобластов получены в исследованиях на животных с нокаутом eNOS, где сообщается о серьезных дефектах формирования кости и активности остеобластов в исследованиях *in vivo* и *in vitro*. [13]. Кроме того, превентивное введение донаторов NO (нитроглицерина и L-аргинина) предотвращает потерю костной массы, увеличивает прочность костей путем снижения развития остеопороза [14, 15].

Рекомендации по лечению остеопороза, вызванного ГК, включают рутинные добавки кальция и витамина D, терапию бисфосфонатами, селективными модуляторами рецептора эстрогена, применение моноклональных человеческих антител к RANKL и его внутриклеточному фактору, а также рекомбинантный паратиреоидный гормон [16–18]. Все фармакологические подходы до сих пор носят спорный характер и показывают противоречивые и изменчивые результаты, которые могут зависеть от возраста, пола, дозы и продолжительности лечения. Кроме того, длительное применение ряда препаратов может привести к серьезным осложнениям, включая повреждение почек, венозный тромбоз и повышенный риск развития опухолей.

В связи с этим поиск новых эффективных подходов для коррекции стероид-индуцированного остеопороза представляется весьма перспективным направлением в фармакологии.

Производные 3-гидроксипиридина относятся к простейшим гетероциклическим аналогам ароматических фенолов и имеют широкий спектр действия, который включает антиоксидантную, антигипоксическую, противовоспалительную, противоишемическую [19], кардио- и

эндотелиопротекторную активность [20]. Огромный перечень видов фармакологического воздействия позволяет предположить, что новый комплекс производных 3-оксипиридина, состоящий из одной молекулы 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина 3-пиридинокарбоноата и трех молекул 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина N-ацетил-6-аминогексаноата (в дальнейшем по тексту – композиция № 1), полученный путем топомимического синтеза (АО «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ», г. Старая Купавна, Россия) может стать перспективным соединением для профилактики и лечения стероид-индуцированного остеопороза.

ЦЕЛЬ. Изучить остеопротекторные эффекты композиции производных 3-оксипиридина на модели стероид-индуцированного остеопороза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Методика получения и анализ

Химические реактивы необходимые для получения соединения были приобретены у коммерческих поставщиков, которые имеют сертификат на химическую продукцию (Sigma-Aldrich, США). Путь синтеза композиции № 1 заключался в следующих этапах: в гомогенизатор загружали 26,0 г (0,1 г/моль) 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина 3-пиридинокарбоноата, при перемешивании постепенно добавляли 93,2 г (0,3 г/моль) 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина N-ацетил-6-аминогексаноата. Массу гомогенизировали в течение 10–15 мин при 300–400 об/мин. Далее проверяли размер частиц полученного порошка, который должен составлять не более 10 мкм, при необходимости дополнительно гомогенизировали. На выходе получали 119,0 г белого мелкокристаллического порошка с $T_{пл.} = 139–143^{\circ}\text{C}$. Полученное соединение растворимо в воде с легкой опалесценцией. Найдено, %: С 62,48; Н 7,98; N 9,39 С62 Н94 N8O15; м.м. 1191,46. Вычислено, %: С 62,50; Н 7,95; N 9,41; O 20,14. Химическая формула соединения (композиция № 1) представлена на рисунке 1.

Дизайн исследования

Все экспериментальные исследования проведены в соответствии с Правилами лабораторной практики, утвержденными приказом Минздрава России от 23.08.2010 № 708н, при строгом соблюдении Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или других научных целей (Директива 2010/63/ЕС). Экспериментальные исследования одобрены Биоэтической комиссией ФГБОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минздрава России (протокол

№ 11/9 от 12.02.2022). Вивисекцию проводили в соответствии с этическими принципами обращения с лабораторными животными, изложенными в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (CETS No. 123).

Эксперименты выполнены на 60 здоровых неморбидных крысах-самцах линии Wistar массой 220–300 г. Животные были получены из питомника «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА (Московская область), содержались в стандартных условиях, соответствующих санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) № 1045-73.

На первом этапе лабораторные животные случайным образом были разделены на 6 экспериментальных групп: I группа – интактные животные, внутрибрюшинно (в/б) вводили физраствор; II группа – в/б метилпреднизолон (МП) в дозе 5 мг/кг в течение 5 недель каждые 5 дней; III группа – L-NAME в/б в дозе 25 мг/кг в течение 35 сут; IV группа – метилпреднизолон (МП) в дозе 5 мг/кг + L-NAME 25 мг/кг в/б в течение 35 сут; V группа – МП + «композиция № 1» внутривенно в дозе 50 мг/кг 1 р/сут в течение 35 дней; VI группа – МП + L-NAME + «композиция № 1» внутривенно в дозе 50 мг/кг 1 р/сут в течение 35 дней.

На 36 день животные выводились из эксперимента с дальнейшей оценкой показателей денситометрии, функциональных, биохимических и гистоморфометрических проб. Дизайн эксперимента представлен на рисунке 2.

Исследование плотности костной ткани

Денситометрию у животных проводили после предварительного введения животных в состояние наркоза раствором тилетамина, золазепам (60 мг/кг) и хлоралгидрата (300 мг/кг). Показатель выражали в г/см³, он определялся для проксимального метафиза, диафиза и дистального метафиза бедренной кости. Оценка плотности костной ткани (Bone Density, BD) была проведена с помощью мультифункциональной лабораторной рентгеновской установки IN-VIVO MS FX PRO производства компании Bruker (США) с системой молекулярной визуализации при помощи лицензированного программного обеспечения Bone Density Software.

Проведение сосудистых проб

Воздействие на микроциркуляторное русло костной ткани является одним из перспективных подходов в коррекции остеопороза, в связи с чем во всех экспериментальных группах проводили оценку микроциркуляции в губчатой

костной ткани проксимального метафиза правой бедренной кости. Для получения данных о костной микроциркуляции использовали оборудование BIOPAC Systems (США): полиграф MP100-150 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии LDF100C и датчиком TSD144. Результаты лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) записывали с помощью программы Acq Knowledge (версии 3.8–4.2). Показатели микроциркуляции выражали в перфузионных единицах (п.е.). После измерения внутрикостного уровня микроциркуляции, проводилась проба на эндотелий-зависимую вазодилатацию (ацетилхолин внутривенно (в/в) 40 мкг/кг) и эндотелий-независимую вазодилатацию (натрия нитропруссид в/в 30 мкг/кг), с дальнейшим определением коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) [21].

Биохимический анализ крови

Для оценки биохимических показателей после проведения сосудистых проб у животных экспериментальных групп проводился забор крови с помощью шприца из хвостовой вены с последующим определением содержания общего кальция (ммоль/л) в плазме крови методом колориметрии с о-крезолфталейном и щелочной фосфатазы (Ед/л) в сыворотке крови (колориметрический, кинетический метод), на спектрофотометре СФ-46 (ОАО «ЛОМО», Россия). Уровни супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (GSH-Px) и малонового диальдегида (МДА) (Nanjing Jiancheng Biological Engineering Research Institute, Китай) в сыворотке крови определяли в соответствии с инструкциями производителя [22].

Морфофункциональная оценка состояния костной ткани

Объектом исследования для гистологического анализа были выбраны большеберцовые кости, которые изначально фиксировали в 10% формалине. Из фиксированных костей иссекали проксимальный отрезок на протяжении 1 см от суставной поверхности мыщелков. Материал декальцинировали в жидкости «Surgipath Decalcifier II» (Leica, Германия) по рекомендуемому протоколу¹. Декальцинированные фрагменты автоматическим способом заливали в парафин с последующей окраской срезов толщиной 7 мкм гематоксилином и эозином по Маллори. Микропрепараты изучали сканирующим способом под микроскопом «Микмед» с видеокамерой «DV1000». С помощью программы «McrAView 7.3.1.7» (АО «ЛОМО», Россия) производили измерение толщины костных трабекул и кортикальной кости диафиза.

¹ Decalcification. Cardiovascular Pathology (5th Edition), 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/decalcification>

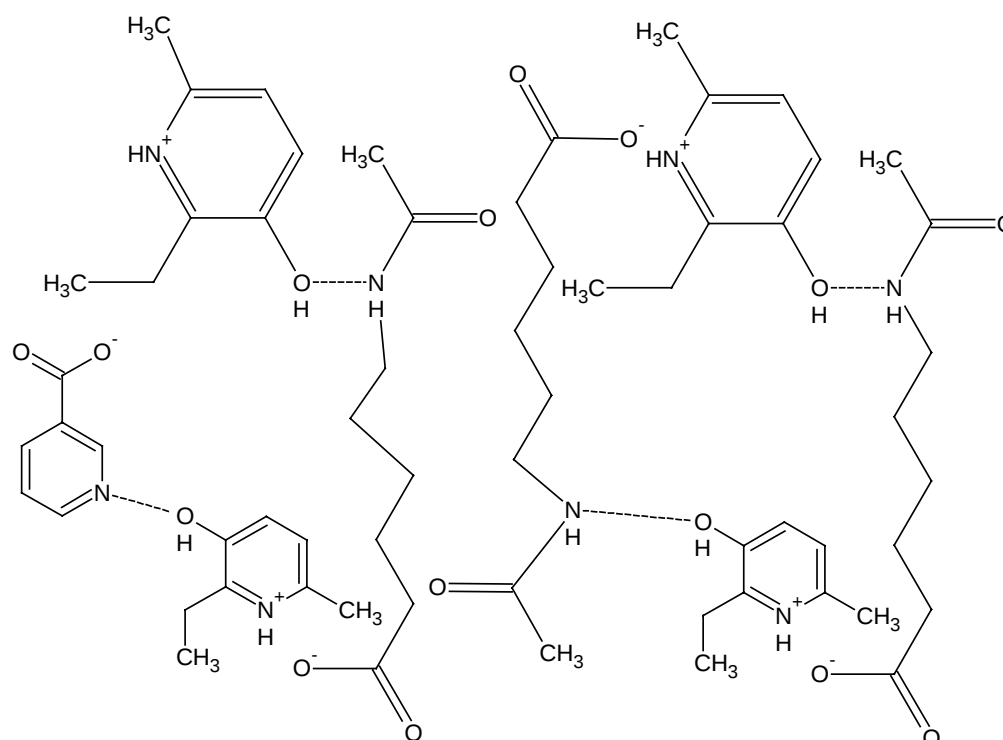


Рисунок 1 – Структурная формула соединения (композиция № 1)

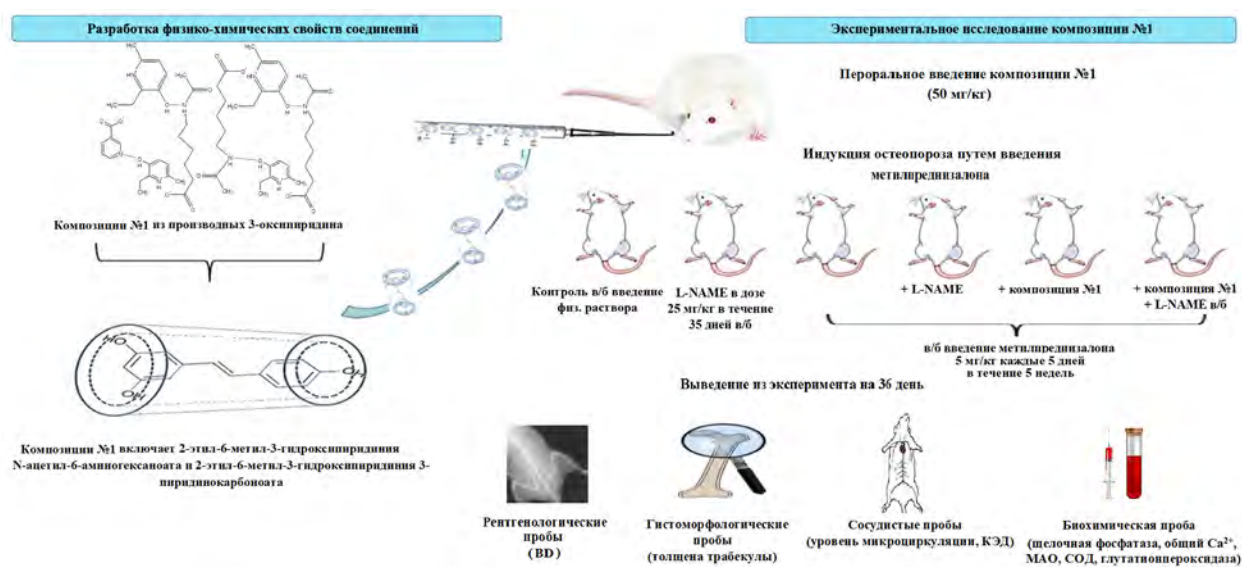


Рисунок 2 – Дизайн эксперимента

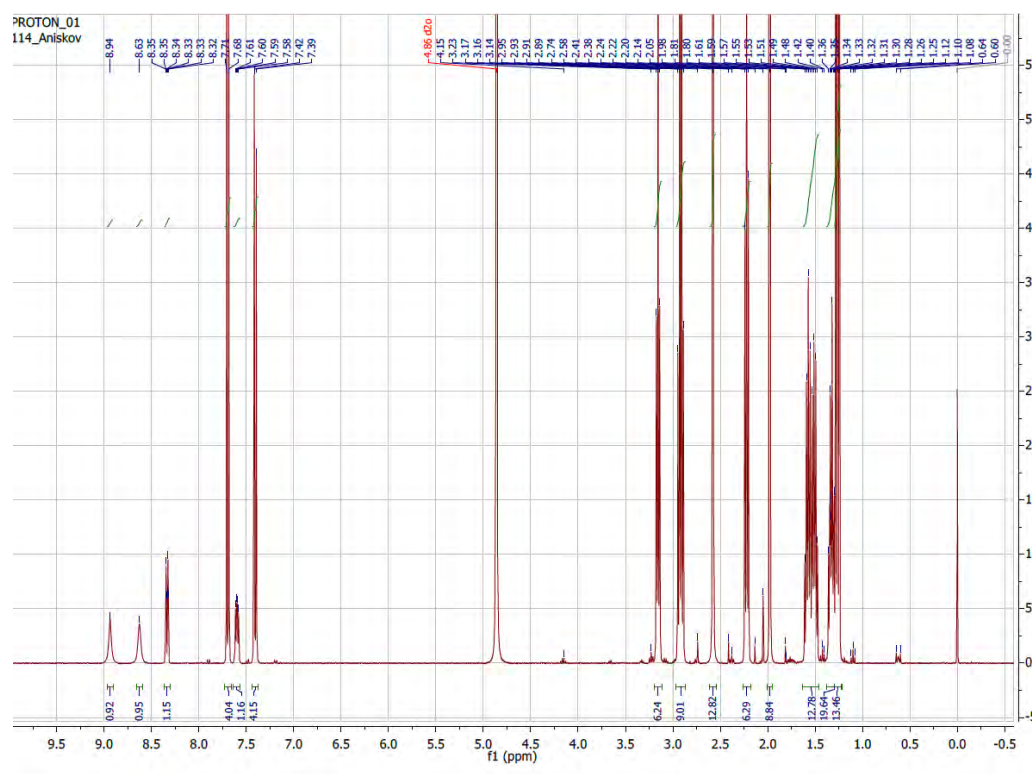
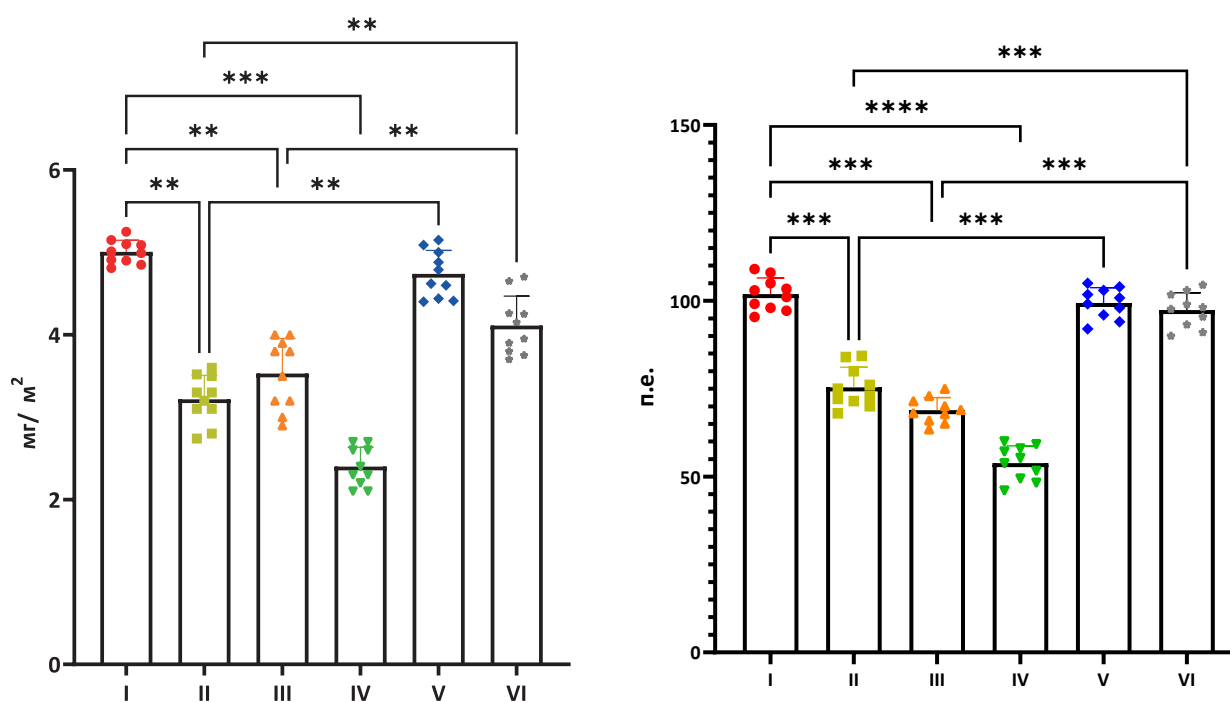
Рисунок 3 – Спектр ЯМР ^1H композиции № 1

Рисунок 4 – Влияние композиции № 1 на BD (А) и уровень микроциркуляции (Б) при стероид-индуцированном остеопорозе

Примечание (здесь и на Рис. 3–5): I – интактные; II – МП; III – L-NAME; IV – МП+L-NAME; V – МП+композиция № 1; VI – МП+L-NAME+композиция № 1.

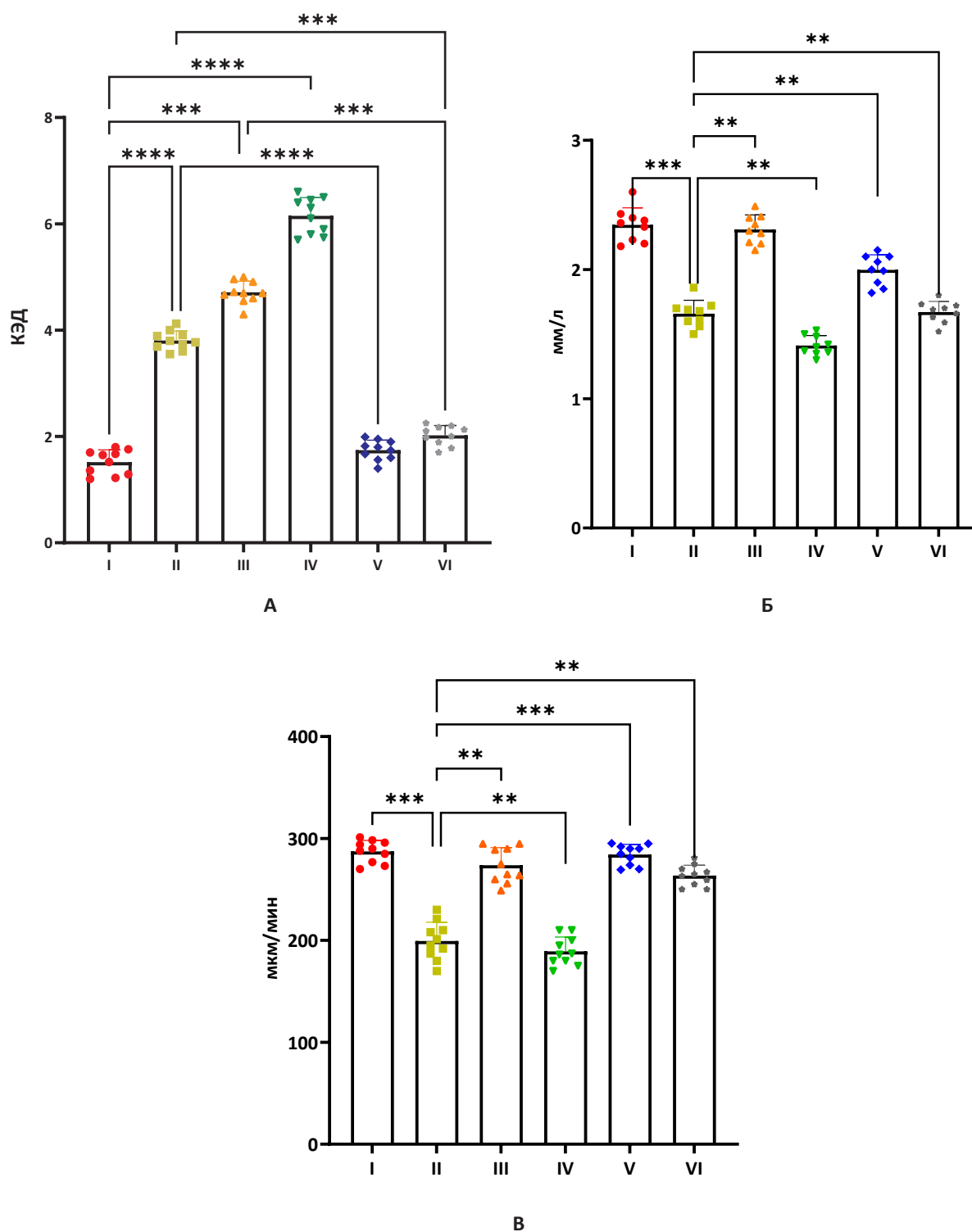


Рисунок 5 – Влияние композиции № 1 на коэффициент эндотелиальной дисфункции (А), уровень щелочной фосфатазы (Б) и содержание кальция в сыворотке крови (В)

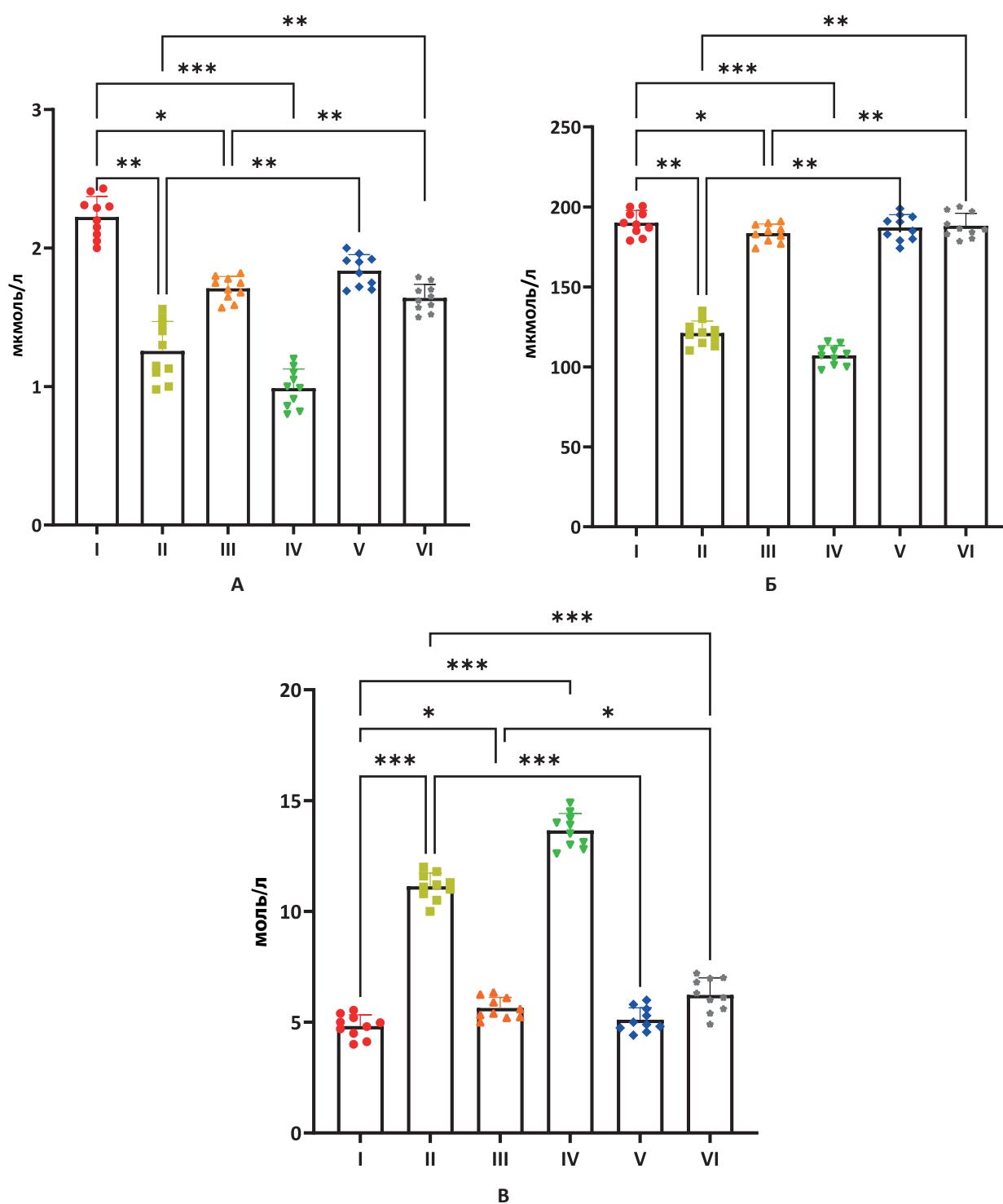


Рисунок 6 – Влияние композиции № 1 на содержание СОД (А), уровень глутатионпероксидазы (Б) и малонового диальдегида (В)

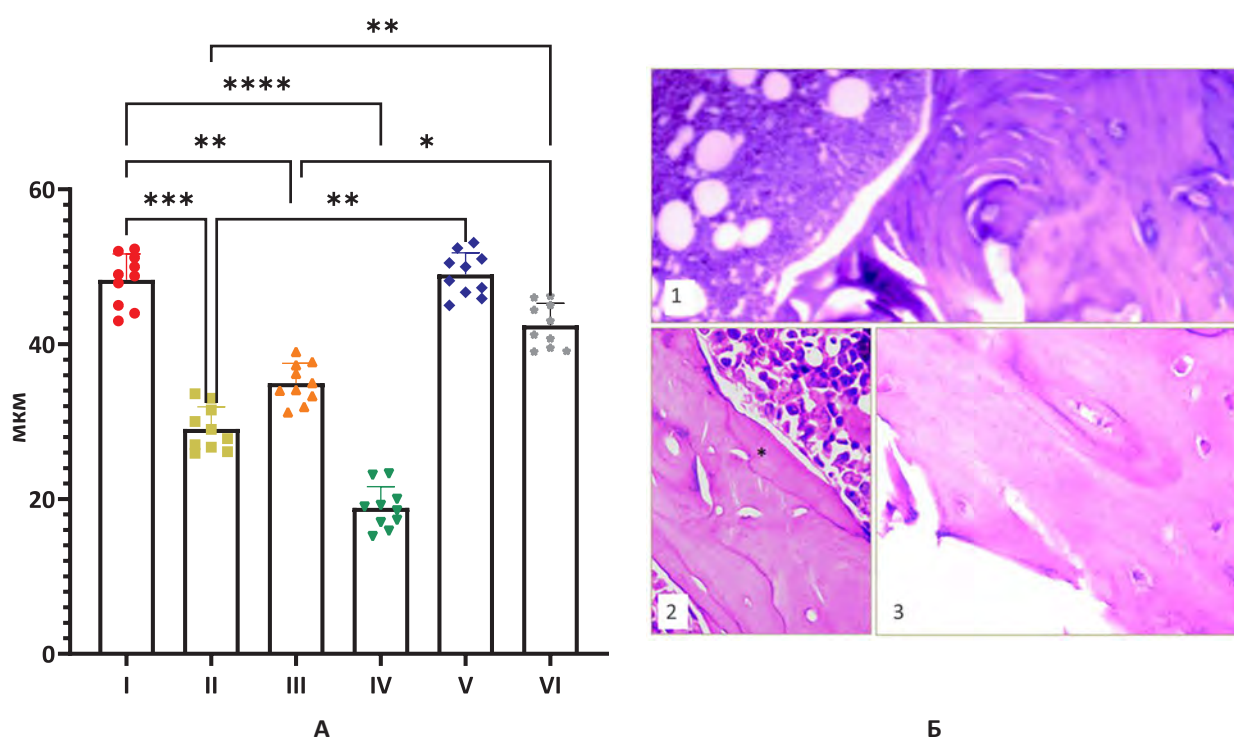


Рисунок 7 – Влияние композиции № 1 на толщину костных трабекул (А) и микроструктуру большеберцовой кости (Б)

Примечание: микроструктура большой берцовой кости в группе VI: МП+композиция № 1+L-NAME; 1 – кортикальная кость и прилежащий участок губчатого вещества без специфических изменений; 2 – балка* губчатого вещества с новообразованным пластом пластинчатой костной ткани; 3 – интактная внутренняя структура костной балки. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$ (А), $\times 400$ (Б).

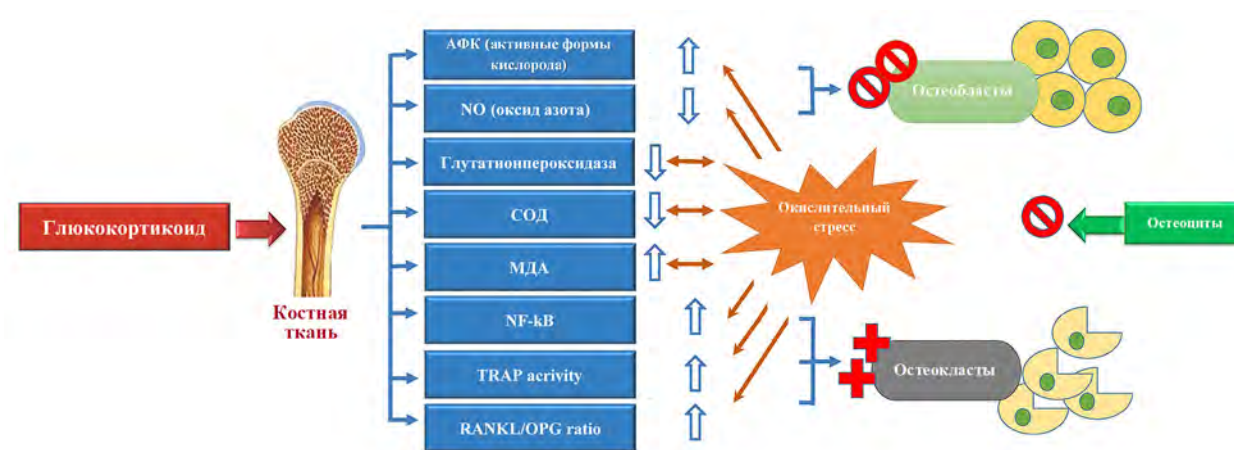


Рисунок 8 – Возможные механизмы повреждения костной ткани при стероид-индуцированном остеопорозе

Статистический анализ

Данные были проверены на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. Данные с нормальным распределением сравнивались с использованием обычного одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) с post-hoc тестом Тьюки. Данные с ненормальным распределением сравнивались с помощью теста Крускала-Уоллеса и непараметрического post-hoc теста Данна. Различия были определены на уровне значимости 0,05. Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 9.2.0 (GraphPad Software, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Структура супрамолекулярного комплекса (композиция № 1) подтверждалась на основе спектроскопических данных: ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3412 (ОН) 3290 (NH), 2941 (CH), 2673 (N^+), 1781 ($\text{C}=\text{N}-$), 1634 ($\text{C}=\text{C}$), 1561 ($\text{COO}-$). Масс-спектр комплекса в режиме сканирования положительных ионов $[\text{M}+\text{H}]^+$ составлял m/z 1195,46 (что соответствует м.м. 1191,46). Спектры ЯМР ^1H представлены на рисунке 3.

В ЯМР ^1H спектре образца композиции № 1 отмечены ключевые сигналы, ассоциированные с никотинат анионом: 8.94 (уш с, 0.25H), 8.63 (уш с, 0.25H), 8.34 (дт, $J=8.0$, 1.8 Гц, 0.25H) 7.60 (дд, $J=7.9$, 5.1 Гц, 0.25H) и 6-ацетигексаноат анионом 3.16 (т, $J=6.9$ Гц, 2H), 2.58 (с, 3H), 2.22 (т, $J=7.4$ Гц, 2H), 1.98 (с, 9H), 1.63–1.46 (м, 4H), 1.38–1.29 (м, 4H). Соотношение анионных остатков составляет 1:3 (никотинат/гексаноат). Отмечены ключевые сигналы 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина: 7.69 (д, $J=8.7$ Гц, 1H), 7.40 (д, $J=8.7$ Гц, 1H), 2.92 (кв, $J=7.6$ Гц, 2H, (2-этил (CH_2))), 1.26 (т, $J=7.6$ Гц, 4H, 2-этил (CH_3)).

Композиция производных 3-окипиридина предотвращает развитие стероид-индуцированного остеопороза

Значимых различий в исходных показателях плотности костной ткани в начале эксперимента не было отмечено ни в одной из 6 экспериментальных групп животных. Средние значения плотности бедренной кости во всех экспериментальных группах составили $4,91 \pm 1,03$ мг/см², что подтверждает отсутствие клинических признаков остеопороза у всех экспериментальных животных в начале эксперимента (Рис. 2А). Однако через 5 недель эксперимента было отмечено значительное и достоверное снижение плотности костной ткани на 37% ($p < 0,05$) во II группе; на 29% ($p < 0,05$) в III группе и на 52% ($p < 0,05$) в IV группе соответственно. Комбинированное применение МП+L-NAME (группа IV) способствовало максимальному снижению показателей плотности костной ткани (Рис. 4А). Введение композиции № 1 приводило к предотвращению снижения плотности костной ткани, приближая значения к группе интактных животных (Рис. 4А).

При анализе показателей микроциркуляции проксимального метафиза бедренной кости у животных в интактной группе данный показатель составил $101,1 \pm 4,15$ п.е. (Рис. 4Б), тогда как в группе II он достоверно снижался до значений $72,09 \pm 3,26$ п.е. ($p < 0,05$); группе III – до $67,8 \pm 4,12$ п.е. ($p < 0,05$); в группе IV отмечалось максимальное снижение показателя микроциркуляции до значений $55,3 \pm 4,12$ п.е. ($p < 0,05$). Исследуемое соединение композиция № 1 эффективно предотвращало снижение уровня регионарного кровотока костной ткани бедра на фоне введения МП и L-NAME. Показатель уровня микроциркуляции в группе МП+композиции № 1 (группа V) составил $100,8 \pm 3,23$ п.е., МП+L-NAME+композиция № 1 (группа VI) составил $98,1 \pm 4,79$ п.е. соответственно ($p < 0,05$) (Рис. 4Б).

При проведении пробы с эндотелий-зависимой (в/в введение ацетилхолина) и эндотелий-независимой (в/в введение натрия нитропруссиды) вазодилатацией с расчетом коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) было установлено его значение: $1,22 \pm 0,01$ ($p < 0,05$) в группе интактных животных; $3,6 \pm 0,07$ ($p < 0,05$) в группе с МП; $4,66 \pm 0,09$ ($p < 0,05$) в группе с L-NAME; $6,31 \pm 0,04$ ($p < 0,05$) в группе МП+L-NAME (Рис. 5А).

Введение композиции № 1 способствовало коррекции повреждения эндотелия. Так в группе МП+композиции № 1, КЭД снизился до значений $1,4 \pm 0,02$, в группе МП+L-NAME+композиции № 1 до значений $2,1 \pm 0,03$ соответственно, что подтверждает повышение биодоступности NO при введении композиции № 1.

Для биохимического анализа процессов костного метаболизма определяли концентрацию Ca^{2+} и костной щелочной фосфатазы (маркер остеосинтеза). В группах с МП и МП+L-NAME отмечалось статистически значимое снижение уровня кальция в сыворотке крови на 33 и 41% ($p < 0,05$) соответственно. В остальных экспериментальных группах статистически значимого отличия не наблюдалось. Введение композиции № 1 способствовало предотвращению потери Ca^{2+} , вызванной введением МП и L-NAME (Рис. 5Б).

После двух недель эксперимента в группах с МП и МП+L-NAME продемонстрировано значительное снижение ($p < 0,05$) уровня щелочной фосфатазы в сыворотке. После 5 недель лечения животных композицией № 1 уровни щелочной фосфатазы в сыворотке крови оставались значительно ниже, чем в группах с МП и МП+L-NAME, что подтверждает эффективность композиции № 1 в лечении нарушения метаболизма костной ткани (Рис. 5В).

При изучении влияния композиции № 1 на маркеры окислительного стресса в сыворотке крови было обнаружено, что изначально содержание СОД и глутатионпероксидазы в группах с МП и МП+L-NAME были достоверно ниже в сравнении с группой интактных животных ($p < 0,05$) на 32 и 41,3% соответственно (Рис. 6А).

Введение животным композиции № 1 позволило статистически значимо увеличить концентрацию СОД и глутатионпероксидазы относительно группы животных с МП и МП+L-NAME (Рис. 6А и 6Б). Отмечено изменение уровня малонового диальдегида (МДА) у группы животных МП и МП+L-NAME, в виде достоверного повышения секреции до уровня $4,9 \pm 0,1$ и $5,2 \pm 0,2$ моль/л ($p < 0,05$) соответственно (Рис. 6В). Применение в качестве фармакологической поддержки композиции № 1 позволило статистически значимо сократить концентрацию продукта перекисного окисления липидов – МДА относительно группы животных с моделированием патологии (группа II и IV) (Рис. 6В).

Для подтверждения морфофункциональных и биохимических проб были проведены гистоморфологические исследования проксимальных отделов бедренных костей животных. При изучении материала от интактных животных каких-либо особенностей, отличающих строение изученных участков большеберцовых костей от типичной структуры, обнаружено не было (Рис. 7А).

Толщина костных трабекул составила в среднем $47,9 \pm 1,8$ мкм. При ведении МП и МП+L-NAME было достигнуто воспроизведение свойственных остеопорозу костных изменений. Толщина костных трабекул снижалась и составила $31,5 \pm 2,2$ и $23,1 \pm 1,3$ мкм соответственно (Рис. 7А), что характеризует истончение балки губчатого вещества.

О корректирующем эффекте изучаемой композиции № 1 свидетельствуют как качественные, так и морфометрические показатели трабекул губчатого вещества. Общая архитектура кортикальной кости и губчатого вещества в группе МП+композиция № 1 приближалась к интактным животным. В группе имелись как клеточные проявления остеопластической активности, так и результат несовершенного остеогенеза в виде пластинчатых костных структур на поверхности балок (Рис. 7Б).

Разнообразие биологических эффектов стероидных гормонов и сложность путей их метаболизма вызывают трудности в окончательном понимании патогенетических аспектов развития и прогрессирования стероид-индуцированного остеопороза. Из многих факторов, способствующих развитию стероид-индуцированного остеопороза, центральную роль может играть окислительный стресс, что подтверждено в ряде экспериментальных исследований [23].

Для фармакологической коррекции окислительного стресса при стероид-индуцированном остеопорозе изучается влияние антиоксидантов различной химической природы, а именно природного происхождения. Однако их остеопротекторная активность является не достаточной и требует дальнейших экспериментальных подтверждений [24, 25].

Для создания новых лекарственных средств остается актуальным выбор в качестве предшественника соединений хорошо изученных химических структур, в частности производных пиридина [19]. Обоснованность данного направления заключается в том, что пиридины проявляют широкий спектр фармакологической активности, обладая при этом низкой токсичностью. Изучаемый в работе супрамолекулярный комплекс (композиция № 1) представлен в виде одной молекулы 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния 3-пиридинокарбоноата и трёх молекул 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноата. У 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния 3-пиридинокарбоноата доказана антигипоксическая, антиоксидантная, эндотелиопротекторная активность. Второй компонент – соединение 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноат известен как средство способное ускорять очищение раневой поверхности от некротических масс, уменьшать экссудативные процессы, активировать рост грануляционной ткани, васкуляризацию и эпителизацию ран, а также стимулировать образование костного мозга, ускоряя процессы заживления переломов костей [26].

Принимая во внимание взаимосвязь оксидативного стресса и развития эндотелиальной дисфункции в нарушении процессов костного ремоделирования, в рамках данного исследования мы попытались дать оценку влияния обеих факторов на повреждение костной ткани. Как известно, строение микроциркуляторного русла костной ткани существенно отличается от морфологии сосудистого русла остальных тканей организма. Костные микрососуды имеют только эндотелий и не имеют мышечного и соединительнотканного слоев. Таким образом, именно эндотелий опосредует всю гуморальную регуляцию обмена между остеобластами, остеокластами и кровью. Для подтверждения вклада NO в развитие остеопороза животным вводили селективный ингибитор eNOS, соединение L-NAME. Внутривентральное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг ежедневно в течение 35 сут приводило к снижению плотности костной ткани, что сопровождалось статистически значимым снижением уровня микроциркуляции в кости и повышением КЭД, что свидетельствует о причастности эндотелиальной дисфункции в развитии остеопороза. Комбинированное введение глюкокортикостероида МП в дозе 5 мг/кг внутривентрально через каждые 5 сут в течение 5 недель и L-NAME внутривентрально в дозе 25 мг/кг в течение 35 сут увеличивало повреждение костной ткани, при этом значительно снижая показатели микроциркуляции и повышая КЭД.

В силу высокой реакционной способности свободных радикалов их действие в организме контролируется эндогенными и экзогенными антиоксидантами, а также ферментами

антиоксидантной системы. Эндогенная антиоксидантная система не всегда справляется с этим процессом, приводя к развитию различных патологических состояний. В ходе проведения исследования было установлено, что композиция № 1 в условиях введения МП и L-NAME способствовала сохранению активности ферментов эндогенной антиоксидантной защиты, снижению интенсивности ПОЛ, что выражалось в повышении активности СОД, глутатионпероксидазы и снижении образования МДА относительно группы животных с моделированием стероид-индуцированного остеопороза. Однако в группе, которой вводили МП, было отмечено более выраженное снижение количества антиоксидантных ферментов СОД и ГП, а также повышение уровня МДА. Введение L-NAME на уровень антиоксидантных ферментов статистически значимого влияния не оказывало.

Известно, что колониестимулирующий фактор (CSF) и рецептор-активатор лиганд NF- κ B (RANKL) оказывают влияние на дифференцировку остеокластов и приводят к аномальной резорбции костной ткани. Важность RANKL индуцировать продукцию АФК в модулировании дифференцировки остеокластов хорошо известна [27]. Стимуляция RANKL вызывает значительное увеличение внутриклеточных АФК за счет активации, ассоциированного с рецептором фактора некроза опухоли (TNF- α) и никотинамидадениндинуклеотидфосфатоксидазы (NOX) [28]. Подтверждением тому служит и ряд работ подтверждающих остеопротекторную активность антиоксидантов при остеопорозе, в частности при применении N-ацетил-L-цистеина и аскорбиновой кислоты [29].

Следовательно, нацеливание на внутриклеточные АФК может представлять собой потенциальный терапевтический подход к предотвращению резорбции костей и лечению нарушений костного метаболизма. Еще одним важным звеном в патогенезе остеопороза является снижение кровоснабжения костей, сопровождающееся нарушением функции

эндотелия и приводящее к торможению активности остеобластов, а также к усиленной деятельности остеокластов [30]. На сегодняшний день известно, что NO оказывает прямое стимулирующее действие на остеобласты, что положительно влияет на костную ткань. При этом многие работы показывают зависимость между окислительным стрессом и наличием эндотелиальной дисфункции [31, 32].

Окислительный стресс влечет за собой снижение образования эндотелиального NO, что, в свою очередь, нарушает микроциркуляцию в поврежденной костной ткани, в том числе при стероид-индуцированном остеопорозе. Таким образом, сгенерированный введением МП окислительный стресс в сочетании с блокадой eNOS путем введения L-NAME подтверждают гипотезу о пагубном влиянии на костную ткань ГК посредством повышения АФК и снижения выработки NO (Рис. 8).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, подводя итог исследования об остеопротекторном эффекте нового соединения на основе производных 3-оксипиридина, композиции № 1 (50 мг/кг), можно сделать заключение, что изучаемое соединение предотвращает снижение уровня микроциркуляции в костной ткани бедра, проявляет выраженное эндотелиопротективное действие, повышая биодоступность NO, а также улучшает показатели биохимических и морфометрических проб на фоне стероид-индуцированного остеопороза. Наблюдаемые улучшения можно ассоциировать с влиянием соединения на снижение выработки АФК и ингибирование RANKL-индуцированной активации NF- κ B. Однако для выяснения точного механизма действия соединения требуются дальнейшие углубленные исследования. Полученные же данные характеризуют перспективность изучения композиции № 1 для коррекции и профилактики стероид-индуцированного остеопороза.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено за счет гранта РФФИ № 22-25-00376 (Режим доступа: <https://rscf.ru/project/22-25-00376>).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.П. Даниленко – написание статьи, разработка дизайна исследования; К.С. Трунов – оценка и интерпретация результатов; М.В. Покровский – планирование исследования и всех этапов эксперимента; Л.М. Даниленко – написание статьи, интерпретация результатов; М.В. Корокин – статистическая обработка данных, редактирование текста; О.С. Гудырев – разработка методологии, проведение исследования; А.А. Хентов – интерпретация полученных результатов исследования; Н.П. Масальтина – забор образцов для гистоморфологического и биохимического исследования, анализ литературных источников; И.А. Татаренкова – анализ литературных источников, редактирование текста; А.В. Чередниченко – моделирование патологии, проведение экспериментальной работы; Е.В. Боева – моделирование патологии, проведение экспериментальной работы; И.С. Коклин – анализ литературы, подготовка графического материала; Э.И. Таран – анализ литературы, подготовка графического материала.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Compston J. Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update // *Endocrine*. - 2018. - Vol. 1, No. 61. - P. 7–16. DOI:10.1007/s12020-018-1588-2
2. Weinstein R.S. Glucocorticoid-induced osteoporosis and osteonecrosis // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* - 2012. - Vol. 41, No. 3. - P. 595–611. DOI:10.1016/j.ecl.2012.04.004
3. Cho S.K., Sung Y.K. Update on Glucocorticoid Induced Osteoporosis. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2021 Jun;36(3):536–543. DOI:10.3803/EnM.2021.1021
4. Ohnaka K., Tanabe M., Kawate H., Nawata H., Takayanagi R. Glucocorticoid suppresses the canonical Wnt signal in cultured human osteoblasts // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 2005. - Vol. 329, No. 1. - P. 177–181. DOI:10.1016/j.bbrc.2005.01.117
5. Swanson C., Lorentzon M., Conaway H.H., Lerner U.H. Glucocorticoid regulation of osteoclast differentiation and expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF-kappaB in mouse calvarial bones // *Endocrinology*. - 2006. - Vol. 147, No. 7. - P. 3613–3622. DOI:10.1210/en.2005-07176
6. Jiang H.T., Ran C.C., Liao Y.P., Zhu J.H., Wang H., Deng R., Nie M., He B.C., Deng Z.L. IGF-1 reverses the osteogenic inhibitory effect of dexamethasone on BMP9-induced osteogenic differentiation in mouse embryonic fibroblasts via PI3K/AKT/COX-2 pathway // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* - 2019. - Vol. 191. - Art. ID: 105363. DOI:10.1016/j.jsbmb.2019.04.012
7. Xie B., Zhou H., Liu H., Liao S., Zhou C., Xu D. Salidroside alleviates dexamethasone-induced inhibition of bone formation via transforming growth factor-beta/Smad2/3 signaling pathway // *Phytother. Res.* - 2022. DOI:10.1002/ptr.7711
8. Korokin M.V., Gudyrev O.S., Lebedev P.R., Kuzubova E.V., Radchenko A.I., Koklin I.S., Taran E.I., Kochkarov A.A. Characteristics of the state of bone tissue in genetically modified mice with impaired enzymatic regulation of steroid hormone metabolism // *Research Results in Pharmacology*. - 2022. - Vol. 8, No. 4. - P. 157–166. DOI:10.3897/rpharmacology.8.98779
9. Tolba M.F., El-Serafi A.T., Omar H.A. Caffeic acid phenethyl ester protects against glucocorticoid-induced osteoporosis in vivo: Impact on oxidative stress and RANKL/OPG signals // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 2017. - Vol. 324. - P. 26–35. DOI:10.1016/j.taap.2017.03.021
10. Arafa E.A., Elgendy N.O., Elhemely M.A., Abdelaleem E.A., Mohamed W.R. Diosmin mitigates dexamethasone-induced osteoporosis in vivo: Role of Runx2, RANKL/OPG, and oxidative stress // *Biomed. Pharmacother.* - 2023. - Vol. 161. - Art. ID: 114461. DOI:10.1016/j.biopha.2023.114461. Ahead of Print
11. Fan Z.Q., Bai S.C., Xu Q., Li Z.J., Cui W.H., Li H., Li X.H., Zhang H.F. Oxidative Stress Induced Osteocyte Apoptosis in Steroid-Induced Femoral Head Necrosis // *Orthop. Surg.* - 2021. - Vol. 13, No. 7. - P. 2145–2152. DOI:10.1111/os.13127
12. Agidigbi T.S., Kim C. Reactive Oxygen Species in Osteoclast Differentiation and Possible Pharmaceutical Targets of ROS-Mediated Osteoclast Diseases // *Int. J. Mol. Sci.* - 2019. - Vol. 20, No. 14. - Art. ID: 3576. DOI:10.3390/ijms20143576
13. Jeddi S., Yousefzadeh N., Kashfi K., Ghasemi A. Role of nitric oxide in type 1 diabetes-induced osteoporosis // *Biochem. Pharmacol.* - 2022. - Vol. 197. - Art. ID: 114888. DOI:10.1016/j.bcp.2021.114888
14. Wimalawansa S., Chapa T., Fang L., Yallampalli C., Simmons D., Wimalawansa S. Frequency-dependent effect of nitric oxide donor nitroglycerin on bone // *J. Bone Miner. Res.* - 2000. - Vol. 15, No. 6. - P. 1119–1125. DOI:10.1359/jbmr.2000.15.6.1119
15. Baecker N., Boese A., Schoenau E., Gerzer R., Heer M. L-arginine, the natural precursor of NO, is not effective for preventing bone loss in postmenopausal women // *J. Bone Miner. Res.* - 2005. - Vol. 20, No. 3. - P. 471–479. DOI:10.1359/JBMR.041121
16. Shum L.C., White N.S., Mills B.N., Bentley K.L., Eliseev R.A. Energy metabolism in mesenchymal stem cells during osteogenic differentiation // *Stem. Cells Dev.* - 2016. - Vol. 25, No. 2. - P. 114–122. DOI:10.1089/scd.2015.0193
17. Ekeuku S.O., Mohd Ramli E.S., Abdullah Sani N., Abd Ghafar N., Soelaiman I.N., Chin K.Y. Tocotrienol as a Protecting Agent against Glucocorticoid-Induced Osteoporosis: A Mini Review of Potential Mechanisms // *Molecules*. - 2022. - Vol. 27, No. 18. - Art. ID: 5862. DOI:10.3390/molecules27185862
18. Marcucci G., Domazetovic V., Nediani C., Ruzzolini J., Favre C., Brandi M.L. Oxidative Stress and Natural Antioxidants in Osteoporosis: Novel Preventive and Therapeutic Approaches // *Antioxidants (Basel)*. - 2023. - Vol. 12, No. 2. - Art. ID: 373. DOI:10.3390/antiox12020373
19. Trunov K.S., Danilenko A.P., Pokrovsky V.M., Peresypkina A.A., Soldatov V.O., Konovalova E.A., Danilenko L.M., Denisuk T.A., Povetkin S.V., Zhernakova N.I. Endothelioprotective Impact of 2-Ethyl-3-Hydroxy-6-Methylpyridine Nicotinate // *J. Computation. Theoretic. Nanoscienc.* - 2020. - Vol. 17, No. 9–10. - P. 4746–4750. DOI:10.1166/jctn.2020.9372
20. Kesarev O.G., Danilenko L.M., Pokrovskii M.V., Timokhina A.S., Khovanskii A.V. Study of dose-dependent effect of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate on the contractile function of isolated rat heart // *Research Results in Pharmacology*. - 2017. - Vol. 3, No. 1. - P. 3–9. DOI:10.18413/2500-235X-2017-3-1-3-9
21. Sobolev M.S., Faitelson A.V., Gudyrev O.S., Rajkumar D.S.R., Dubrovin G.M., Anikanov A.V., Koklina N.U., Chernomortseva E.S. Study of Endothelio – and Osteoprotective Effects of Combination of Rosuvastatin with L-Norvaline in Experiment // *J. Osteoporos.* - 2018. - Vol. 2018. - Art. ID: 1585749. DOI:10.1155/2018/1585749
22. Liu M., Yang C., Chu Q., Fu X., Zhang Y., Sun G. Superoxide Dismutase and Glutathione Reductase as Indicators of Oxidative Stress Levels May Relate to Geriatric Hip Fractures' Survival and Walking Ability: A Propensity Score Matching Study // *Clin. Interv. Aging*. - 2022. - Vol. 17. - P. 1081–1090. DOI:10.2147/CIA.S370970
23. Mandal C.C., Ganapathy S., Gorin Y., Mahadev K., Block K., Abboud H., Harris S.E., Ghosh-Choudhury G., Ghosh-Choudhury N. Reactive oxygen species derived from Nox4 mediate BMP2 gene transcription and osteoblast differentiation // *Biochem. J.* - 2011. - Vol. 433, No. 2. - P. 393–402. DOI:10.1042/BJ20100357
24. Xuhao Y., Tianlong J., Yu W., Lei G. The Role and Mechanism of SIRT1 in Resveratrol-regulated Osteoblast Autophagy in Osteoporosis Rats // *Sci. Rep.* - 2019. - Vol. 9, No. 1. - Art. ID: 18424. DOI:10.1038/s41598-019-44766-3

25. Martiniakova M., Babikova M., Omelka R. Pharmacological agents and natural compounds: available treatments for osteoporosis // J. Physiol. Pharmacol. – 2020. – Vol. 71, No. 3. DOI:10.26402/jpp.2020.3.01
26. Yamaguchi M., Uchiyama S. Preventive effect of zinc acexamate administration in streptozotocin-diabetic rats: Restoration of bone loss // Int. J. Mol. Med. - 2003. – Vol. 12, No. 5. – P. 755–761.
27. Sun J., Chen W, Li S., Yang S., Zhang Y., Hu X., Qiu H., Wu J., Xu S., Chu T. Nox4 Promotes RANKL-Induced Autophagy and Osteoclastogenesis via Activating ROS/PERK/eIF-2 α /ATF4 Pathway // Front. Pharmacol. – 2021. – Vol. 12. – Art. ID: 751845. DOI:10.3389/fphar.2021.751845
28. Muzaffar S., Shukla N., Angelini G.D., Jeremy J.Y. Prednisolone augments superoxide formation in porcine pulmonary artery endothelial cells through differential effects on the expression of nitric oxide synthase and NADPH oxidase // Br. J. Pharmacol. – 2005. – Vol. 145, No. 5. – P. 688–697. DOI:10.1038/sj.bjp.0706235
29. Chen L., Wang G., Wang Q., Liu Q., Sun Q., Chen L. N-acetylcysteine prevents orchietomy-induced osteoporosis by inhibiting oxidative stress and osteocyte senescence // Am. J. Transl. Res. – 2019. – Vol. 11, No. 7. – P. 4337–4347.
30. Jeddi S., Yousefzadeh N., Kashfi K., Ghasemi A. Role of nitric oxide in type 1 diabetes-induced osteoporosis // Biochem. Pharmacol. – 2022. – Vol. 197. – Art. ID: 114888. DOI:10.1016/j.bcp.2021.114888
31. Hu X.F., Xiang G., Wang T.J., Ma Y.B., Zhang Y., Yan Y.B., Zhao X., Wu Z.X., Feng Y.F., Lei W. Impairment of type H vessels by NOX2-mediated endothelial oxidative stress: critical mechanisms and therapeutic targets for bone fragility in streptozotocin-induced type 1 diabetic mice // Theranostics. – 2021. – Vol. 11, No. 8. – P. 3796–3812. DOI:10.7150/thno.50907
32. Корокин М.В., Солдатов В.О., Гудырев О.С., Коклин И.С., Таран Э.И., Мишенин М.О., Корокина Л.В., Кочкаров А.А., Покровский М.В., Вараксин М.В., Чупахин О.Н. Роль метаболизма кортизола в реализации патогенетических звеньев развития остеопороза – обоснование поиска новых фармакотерапевтических мишеней (обзор) // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2022. – Т. 8, № 4. – С. 457–473. DOI:10.18413/2658-6533-2022-8-4-0-5

АВТОРЫ

Даниленко Антон Павлович – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0009-0001-2419-8109. E-mail: anton.step2016@yandex.ru

Трунов Константин Сергеевич – ортопед-травматолог ОГБУЗ «Городская больница № 2 г. Белгорода». ORCID ID: 0009-0009-0658-3722. E-mail: trunov587@gmail.com

Покровский Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, руководитель НИИ фармакологии живых систем, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-2761-6249. E-mail: mpokrovsky@yandex.ru

Даниленко Людмила Михайловна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-6101-8712. E-mail: MilaDanilenko@yandex.ru

Корокин Михаил Викторович – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, руководитель НИИ фармакологии живых систем, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-5402-0697. E-mail: mkorokin@mail.ru

Гудырев Олег Сергеевич – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0003-0097-000X. E-mail: gudyrev@mail.ru

Хентов Алексей Александрович – врач-травматолог-ортопед, ГБУЗ г. Москвы «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ». ORCID ID: 0009-0006-4315-0828. E-mail: alexeyhentov@gmail.com

Масальтина Наталья Петровна – студентка 6-го курса, специальность «Лечебное дело», ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0009-0005-5838-7660. E-mail: 1246988@bsu.edu.ru

Татаренкова Ирина Александровна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6477-1934. E-mail: irtalex@yandex.ru

Чередниченко Альбина Вячеславовна – студентка 4-го курса, специальность «Лечебное дело», ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0003-0162-9196. E-mail: cherednichenko.albina@gmail.com

Боева Елизавета Валерьевна – студентка 4-го курса, специальность «Лечебное дело», ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-4802-172X. E-mail: liza.boeva31@gmail.com

Коклин Иван Сергеевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник НИИ фармакологии живых систем ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-1560-4195. E-mail: ikoklin@mail.ru

Таран Эдуард Игоревич – научный сотрудник НИИ фармакологии живых систем ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-7880-6686. E-mail: mdtaraneduard@gmail.com

УДК 615.03:615.72



Исследование биоэквивалентности воспроизведенного препарата нирматрелвира у здоровых добровольцев

Р.А. Осешнюк¹, А.Г. Никифорова², А.Ю. Бородулева², П.Д. Соболев², С.А. Лесничук³,
Б.Б. Гаряев³, А.А. Абрамова⁴, В.Г. Мозговая⁵, О.В. Филон⁵, А.В. Зинковская⁵,
А.Н. Долгорукова⁵, Е.К. Ханонина^{3,5}, В.Г. Игнатьев⁵, М.Ю. Самсонов⁵

¹ Общество с ограниченной ответственностью «Научно-исследовательский центр Эко-безопасность», 196143, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Юрия Гагарина, д. 65

² Общество с ограниченной ответственностью «Экзакт Лабс», 117246, Россия, г. Москва, Научный пр-д, 20, стр. 2

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

⁴ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», 125009, Россия, г. Москва, Брюсов пер., д. 21

⁵ Акционерное общество «Р-Фарм», 123154, Россия, г. Москва, ул. Берзарина, д. 19, корп. 1

E-mail: khanonina@rpharm.ru

Получена 05.02.2023

После рецензирования 28.02.2023

Принята к печати 05.03.2023

Нирматрелвир представляет собой противовирусный препарат, который в сочетании с ритонавиром является эффективным средством для этиотропной терапии пациентов с COVID-19 легкого и среднетяжелого течения.

Цель. Оценить биоэквивалентность воспроизведенного препарата нирматрелвира Арпаксел в сочетании с ритонавиром и оригинального препарата Пакслювид, представляющего собой комбинацию нирматрелвир/ритонавир, при однократном применении здоровыми добровольцами.

Материалы и методы. Данное исследование представляло собой открытое рандомизированное простое перекрестное исследование биоэквивалентности. Оно включало 2 периода, в каждом из которых добровольцы получали либо исследуемый препарат (нирматрелвир в дозе 300 мг) в комбинации с ритонавиром (100 мг), либо референтный препарат (комбинация нирматрелвира 300 мг и ритонавира 100 мг) однократно. Отмывочный период между каждым из приемов составил 7 сут. Отбор образцов плазмы крови для определения концентрации нирматрелвира производили в интервале от 0 до 36 ч в каждом из периодов исследования. Концентрацию нирматрелвира определяли валидированным методом ВЭЖХ-МС/МС с нижним пределом количественного определения 10 нг/мл. Для оценки биоэквивалентности проводили сопоставление 90% доверительных интервалов (ДИ) для отношения средних геометрических $AUC_{(0-36)}$ и C_{max} препаратов с установленными пределами эквивалентности 80,00–125,00%.

Результаты. В исследование были включены 68 здоровых добровольцев, из них в популяцию для оценки биоэквивалентности вошли 67 участников. Фармакокинетические параметры препаратов были сопоставимы между собой. Доверительный интервал 90% для отношения средних геометрических показателей максимальной концентрации препарата в плазме крови и площади под фармакокинетической кривой «концентрация-время» от нуля до последнего отбора крови в пределах 36 ч нирматрелвира составили 87,26–100,83 и 93,27–103,74%, что соответствует критериям оценки биоэквивалентности. Препараты исследования хорошо переносились добровольцами. Частота нежелательных явлений была схожей для исследуемого и референтного препаратов. В течение всего исследования не было зарегистрировано ни одного серьезного нежелательного явления.

Заключение. В результате данного исследования была установлена биоэквивалентность исследуемого и референтного препаратов.

Ключевые слова: COVID-19; биоэквивалентность; фармакокинетика; нирматрелвир; ритонавир; воспроизведенный препарат

Для цитирования: Р.А. Осешнюк, А.Г. Никифорова, А.Ю. Бородулева, П.Д. Соболев, С.А. Лесничук, Б.Б. Гаряев, А.А. Абрамова, В.Г. Мозговая, О.В. Филон, А.В. Зинковская, А.Н. Долгорукова, Е.К. Ханонина, В.Г. Игнатьев, М.Ю. Самсонов. Исследование биоэквивалентности воспроизведенного препарата нирматрелвира у здоровых добровольцев. *Фармация и фармакология*. 2023;11(1):62-71. DOI:10.19163/2307-9266-2023-11-1-62-71

© Р.А. Осешнюк, А.Г. Никифорова, А.Ю. Бородулева, П.Д. Соболев, С.А. Лесничук, Б.Б. Гаряев, А.А. Абрамова, В.Г. Мозговая, О.В. Филон, А.В. Зинковская, А.Н. Долгорукова, Е.К. Ханонина, В.Г. Игнатьев, М.Ю. Самсонов, 2023

For citation: R.A. Osesnyuk, A.G. Nikiforova, A.Yu. Boroduleva, P.D. Sobolev, S.A. Lesnichuk, B.B. Garyaev, A.A. Abramova, V.G. Mozgovaya, O.V. Filon, A.V. Zinkovskaya, A.N. Dolgorukova, E.K. Khanonina, V.G. Ignatiev, M.Yu. Samsonov. Bioequivalence study of generic nirmatrelvir in healthy volunteers. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(1):62-71. DOI:10.19163/2307-9266-2023-11-1-62-71

Список сокращений: COVID-19 – новая коронавирусная инфекция; ДИ – доверительный интервал; AUC – площадь под кривой «концентрация–время»; AUC_{0-36} – площадь под фармакокинетической кривой «концентрация–время» от нуля до последнего отбора крови при котором концентрация препарата равна или выше нижнего предела количественного определения в пределах 36 ч; $AUC_{0-\infty}$ – площадь под фармакокинетической кривой «концентрация–время», начиная с нулевого значения времени, экстраполированная до бесконечности; C_{max} – максимальная концентрация препарата в плазме крови; T_{max} – время достижения максимальной концентрации; ВЭЖХ–МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemной масс–спектрометрией; НЯ/СНЯ – нежелательное/серьезное нежелательное явление; ИМТ – индекс массы тела; ФК – фармакокинетика; ЭКГ – электрокардиография.

Bioequivalence study of generic nirmatrelvir in healthy volunteers

R.A. Oseshnyuk¹, A.G. Nikiforova², A.Yu. Boroduleva², P.D. Sobolev², S.A. Lesnichuk³,
B.B. Garyaev³, A.A. Abramova⁴, V.G. Mozgovaya⁵, O.V. Filon⁵, A.V. Zinkovskaya⁵,
A.N. Dolgorukova⁵, E.K. Khanonina^{3,5}, V.G. Ignatiev⁵, M.Yu. Samsonov⁵

¹ Limited Liability Company “Eco-Safety Scientific Research Center”,
65, Yuri Gagarin Ave., St. Petersburg, Russia, 196143

² Limited Liability Company “Exacte Labs”,
Bldg 2, 20, Nauchny driveway, Moscow, Russia, 117246

³ First Moscow State Medical University (Sechenov University),
Bldg 2, 8, Trubetskaya Str., Moscow, Russia, 119991

⁴ Peoples’ Friendship University of Russia,
21, Bryusov driveway, Moscow, Russia, 125009

⁵ Joint-Stock Company “R-Pharm”,
Bldg 1, 19, Berzarin Str., Moscow, Russia, 123154

E-mail: khanonina@rpharm.ru

Received 05 Feb 2023

After peer review 28 Feb 2023

Accepted 05 March 2023

Nirmatrelvir is an antiviral drug that, in combination with ritonavir, is an effective agent for the etiotropic therapy of patients with mild to moderate COVID-19.

The aim of the study was to evaluate bioequivalence of the generic drug nirmatrelvir Arpaxel in combination with ritonavir and the original drug Paxlovid, which is a combination of nirmatrelvir/ritonavir, in a single dose administration to healthy volunteers.

Materials and methods. This research was an open-label, randomized, two-period crossover bioequivalence study. It included 2 periods, in each of which the volunteers received either a test drug (nirmatrelvir at the dose of 300 mg) in combination with ritonavir (100 mg), or a reference drug (a combination of nirmatrelvir 300 mg and ritonavir 100 mg), given as a single dose. A wash-out period between each of the administrations was 7 days. The blood sampling to determine the concentration of nirmatrelvir was carried out in the range from 0 to 36 h in each of the study periods. A nirmatrelvir concentration was determined by a validated HPLC-MS/MS method with a lower quantitation limit of 10 ng/mL. Bioequivalence was assessed by comparing 90% confidence intervals (CIs) for the ratio of geometric means of $AUC_{(0-16)}$ and C_{max} of the test drug and reference drugs with the established equivalence limits of 80.00–125.00%.

Results. In the study were included 68 healthy volunteers, 67 participants of which were included in the bioequivalence population. The pharmacokinetic parameters of the drugs were comparable to each other. The 90% confidence interval for the ratio of the geometric mean of the maximum drug concentration in the blood plasma and the area under the pharmacokinetic curve «concentration-time» from zero to the last blood draw within 36 hours of nirmatrelvir was 87.26–100.83 and 93.27–103.74%, which meets the criteria for assessing bioequivalence. The test drugs were well tolerated by the volunteers. The incidence of adverse events was similar for the test and reference drugs. No serious adverse events were recorded during the entire study.

Conclusion. As a result of this study, bioequivalence of the test and reference drugs has been established.

Keywords: COVID-19; bioequivalence; pharmacokinetics; nirmatrelvir; ritonavir; generic drug

Abbreviations: COVID-19 – a novel coronavirus infection; CI – confidence interval; AUC – area under the concentration-time curve; AUC_{0-36} – area under the pharmacokinetic «concentration-time» curve from zero to the last blood sampling at which the concentration of the drug is equal to or higher than the lower limit of quantification within 36 hours; $AUC_{0-\infty}$ – area under the pharmacokinetic «concentration-time» curve, starting from the zero value of the time, extrapolated to infinity; C_{max} – the maximum concentration of the drug in the blood plasma; T_{max} – time to reach the maximum concentration; HPLC-MS/MS – high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; AE/SAE – adverse event/serious adverse event; BMI – body mass index; PK – pharmacokinetics; ЭКГ – electrocardiography.

ВВЕДЕНИЕ

Нирматрелвир является противовирусным препаратом, эффективным в отношении SARS-CoV-2, механизм действия которого реализуется

путем ингибирования вирусной протеазы 3CLpro SARS-CoV-2 и блокирования репликации вируса [1–3]. Для повышения системной экспозиции нирматрелвира, его применяют в комбинации

с ритонавиром, который является сильным ингибитором CYP3A4 и значительно замедляет метаболизм нирматрелвира [4]. Таким образом, в данной комбинации ритонавир выступает в роли фармакокинетического усилителя (бустера). Для ритонавира не была обнаружена собственная клиническая эффективность в отношении COVID-19.

Оригинальный препарат нирматрелвира Паксловид¹ был разработан компанией Pfizer, США и выпускается в виде совместно упакованной комбинации таблеток нирматрелвира 150 мг и таблеток ритонавира 100 мг. Фармакодинамические свойства нирматрелвира² были подтверждены в ходе доклинических и клинических исследований [5–7]. Данные *in vitro* подтверждают селективность действия нирматрелвира в отношении 3CLpro SARS-CoV-2 [8, 9]. В ходе клинических разработок была доказана эффективность комбинации нирматрелвир/ритонавир в терапии COVID-19 лёгкого и среднетяжёлого течения [10, 11].

Наиболее масштабное рандомизированное плацебо-контролируемое исследование эффективности и безопасности препарата Паксловид EPIC-HR было проведено с участием 2 246 пациентов [12]. По результатам оценки первичной конечной точки данного исследования, в популяции пациентов, у которых симптомы начались не более чем за 3 дня до рандомизации, частота госпитализации, связанной с COVID-19, или смерти от любых причин в течение 28 дней, составила 0,717% (5/697) в группе исследуемого препарата и 6,452% (44/682) в группе плацебо. Разница между группами была статистически значима ($p < 0,001$). Кроме того, в группе исследуемого препарата не было зарегистрировано ни одного летального исхода, в то время как в группе плацебо их наблюдалось 9 (1,32%). Также стоит отметить, что в ходе клинических исследований нирматрелвир в сочетании с ритонавиром переносился хорошо и демонстрировал благоприятный профиль безопасности.

Кроме того, эффективность комбинации нирматрелвира/ритонавира подтверждается данными, полученными в реальной клинической практике [13–16].

Оригинальный препарат, содержащий комбинацию нирматрелвир/ритонавир, на данный момент не зарегистрирован в России несмотря на то, что разрешен для применения во многих странах, в том числе в США, Австралии и Европе. Разработка и выход на рынок воспроизведенных препаратов данной комбинации позволит удовлетворить высокую потребность в эффективной этиотропной терапии COVID-19 в условиях пандемии [17–19].

ООО «Технология лекарств» (ГК «Р-Фарм») разработала воспроизведенный препарат нирматрелвира под названием Арпаксел, содержащий 150 мг нирматрелвира в форме таблеток, покрытых пленочной оболочкой. Упаковка разработанного препарата не содержит совместно упакованный препарат ритонавира, поскольку его монопрепараты являются коммерчески доступными. С целью подтверждения биоэквивалентности разработанного воспроизведенного и оригинального препаратов было проведено настоящее исследование биоэквивалентности.

ЦЕЛЬ. Оценить биоэквивалентность воспроизведенного препарата нирматрелвира Арпаксел в сочетании с ритонавиром и оригинального препарата Паксловид, представляющего собой комбинацию нирматрелвир/ритонавир, при однократном применении здоровыми добровольцами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Данное клиническое исследование биоэквивалентности № CJ051032185 представляло собой открытое рандомизированное простое перекрестное исследование с участием здоровых добровольцев. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Исследование было проведено на базе клинического центра ООО «НИЦ Эко-безопасность». Клинический этап исследования проводили в период с ноября 2022 по январь 2023 года.

Исследование полностью соответствовало этическим принципам, изложенным в Хельсинкской декларации последнего пересмотра, правилам Надлежащей клинической практики Евразийского Экономического Союза, правилам надлежащей клинической практики Международного совета по гармонизации (ICH E6 GCP R2), а также другим законодательным актам, применимым к данному исследованию. Протокол клинического исследования был одобрен Минздравом России (разрешение № 640 от 07.11.2022 года) и Советом по этике (выписка из протокола № 317 от 06.09.2022 г.), а также локальным этическим комитетом при исследовательском центре (выписка из протокола № 262 от 17.11.2022 г.).

Объекты исследования

Всего в исследование было включено 68 здоровых добровольцев. Критерии включения: мужской пол, возраст 18–45 лет, верифицированный диагноз «здоров», индекс массы тела (ИМТ) 18,5–30 кг/м². К основным критериям не включения относили наличие хронических заболеваний различных систем органов, психических заболеваний, гиперчувствительности к препаратам исследования, непереносимость лактозы, прием препаратов запрещенной терапии до начала исследования или наличие положительного ПЦР-теста на SARS-CoV-2. Добровольца исключали из исследования

¹ European Medicines Agency. Paxlovid 150+100 mg film-coated tablets: summary of product characteristics, 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/paxlovid-epar-product-information_en.pdf.

² European medicines agency. Committee for Medicinal Products for Human Use. Assessment report EMA/95110/2022 – Rev.1. Paxlovid. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/paxlovid-epar-public-assessment-report_en.pdf.

в случае отзыва им информированного согласия, приема запрещенной терапии, грубых нарушений требований и процедур протокола, возникновения нежелательных явлений, при которых дальнейшее участие добровольца в исследовании может быть небезопасным, или смерти. Перед началом исследования все участники ознакомились с порядком проведения исследования и подписали форму информированного согласия. Рандомизацию в группы проводили в соотношении 1:1 с помощью метода рандомизационных конвертов.

Прием препаратов

В качестве исследуемого препарата использовали Арпаксел (таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 150 мг), в сочетании с препаратом Норвир® (ритонавир), таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 100 мг. Референтным препаратом был выбран оригинальный препарат нирматрелвир/ритонавир – Паксловид, таблетки, покрытые пленочной оболочкой (150+100 мг). Добровольцы были рандомизированы в одну из групп – TR или RT. В группе 1 (TR) добровольцы в 1 периоде получали исследуемый препарат в сочетании с ритонавиром, а во 2 периоде – референтный препарат. В группе 2 (RT) препараты принимали в обратной последовательности. Добровольцы принимали каждый из препаратов однократно натощак в дозе 300 мг нирматрелвира (2 таблетки) и 100 мг ритонавира (1 таблетка). Отмывочный период между приемами препаратов составил 7 дней. Согласно литературным данным, период полувыведения ($T_{1/2}$) нирматрелвира при однократном приеме в сочетании с ритонавиром составил 6–7 ч [20]³. Таким образом для того, чтобы минимизировать риски влияния первого приема препаратов на фармакокинетику (ФК) нирматрелвира во 2 периоде, отмывочный период должен быть не менее 5 периодов полувыведения, а именно не менее 36 ч.

Прием препаратов осуществлялся под наблюдением медицинского персонала. В ходе исследования соблюдали специальный режим приема пищи и питья. В течение исследования был запрещен прием лекарственных препаратов и биологически активных добавок, которые могли оказывать выраженное влияние на гемодинамику или функцию печени, являются ингибиторами или индукторами CYP3A4 или P-гликопротеина, лекарственных средств, повышающих pH желудочного сока, а также регулярное применение внутрь или патентерально других лекарственных средств и биологически активных добавок.

Отбор проб и пробоподготовка

Для оценки концентрации нирматрелвира в крови добровольцев производили забор венозной

крови в следующих временных точках: перед приемом препарата, затем через 15, 30, 45 мин, 1 ч, 1 ч 15 мин, 1 ч 30 мин, 1 ч 45 мин, 2 ч, 2 ч 15 мин, 2 ч 30 мин, 2 ч 45 мин, 3 ч, 3 ч 15 мин, 3 ч 30 мин, 3 ч 45 мин, 4 ч, 4 ч 30 мин, 5, 6, 8, 10, 12, 24 и 36 ч после приема. Временные точки отбора биообразцов для анализа ФК выбраны таким образом, чтобы получить наиболее полные сведения в каждом из фрагментов фармакокинетической кривой. Учитывая, что медиана времени достижения максимальной концентрации (T_{max}) нирматрелвира по данным литературы составляет 3 ч [24], выбранный подход соответствует рекомендациям по выбору временных точек: не менее чем в 3-х точках начальной фазы возрастания концентрации, а также не менее чем в 5 точках фазы снижения концентрации.

В случае отклонения времени забора биообразцов от должной точки, необходимо было зарегистрировать его фактическое время. Для расчетов ФК параметров использовали фактическое время отбора биообразцов.

Отбор крови производили в пробирки, содержащие K_2 ЭДТА в качестве антикоагулянта. После этого образцы центрифугировали на центрифуге фирмы Biosan LMC-3000 (Biosan, Латвия) с ускорением 2000 g в течение 15 мин для отделения плазмы. Полученные образцы хранили в замороженном виде при температуре не выше -65°C .

Аналитический метод

Концентрацию нирматрелвира в плазме крови определяли валидированным методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС).

Пробоподготовку проводили путем осаждения белков плазмы крови охлажденным ацетонитрилом (LC/MS, Biosolve B.V., Нидерланды), содержащим 0,1% муравьиной кислоты. Для проведения исследования использовалась система ВЭЖХ системы Sciex 5500 (SCIEX, США) и гибридного масс-спектрометра с тройным квадруполом и ионизацией электроспреем QTRAP 5500 (SCIEX, США). Хроматографическое разделение проводили при помощи хроматографической колонки Waters Acquity BEH C18, S-1.7 мкм, 50×2,1 мм в градиентном режиме элюирования со скоростью потока 0,5 мл/мин. В качестве подвижной фазы А использовали раствор аммония формиата (Sigma-Aldrich, США) и муравьиной кислоты (PA-ACS, Panreac, Испания) в воде, а в качестве фазы Б – раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле (HPLC-S, Biosolve B.V., Нидерланды). В 1-ю мин анализа вводили 45% фазы А и 55% фазы Б. В течение 2-й мин вводили только фазу Б, а по окончании 2 мин и до конца анализа вводили 45% фазы А и 55% фазы Б. В качестве внутреннего стандарта использовали эзетимиб. Время удерживания нирматрелвира составило 0,5 мин, эзетимиба – 0,6 мин. Общее время анализа составило 2,5 мин. Нижний предел количественного определения нирматрелвира был равен 10 нг/мл.

³ WHO/PQT: medicines Guidance Document 28 April 2022 Notes on the design of bioequivalence study: Nirmatrelvir+ritonavir. URL: https://extranet.who.int/pqweb/sites/default/files/documents/BE_Nirmatrelvir_Ritonavir_28April2022.pdf

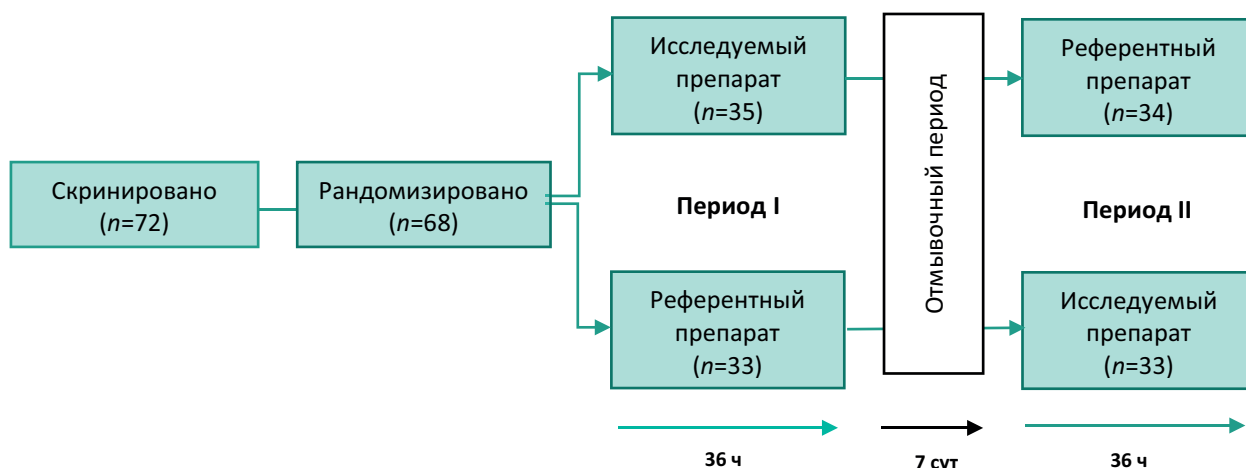


Рисунок 1 – Дизайн исследования CJ051032185

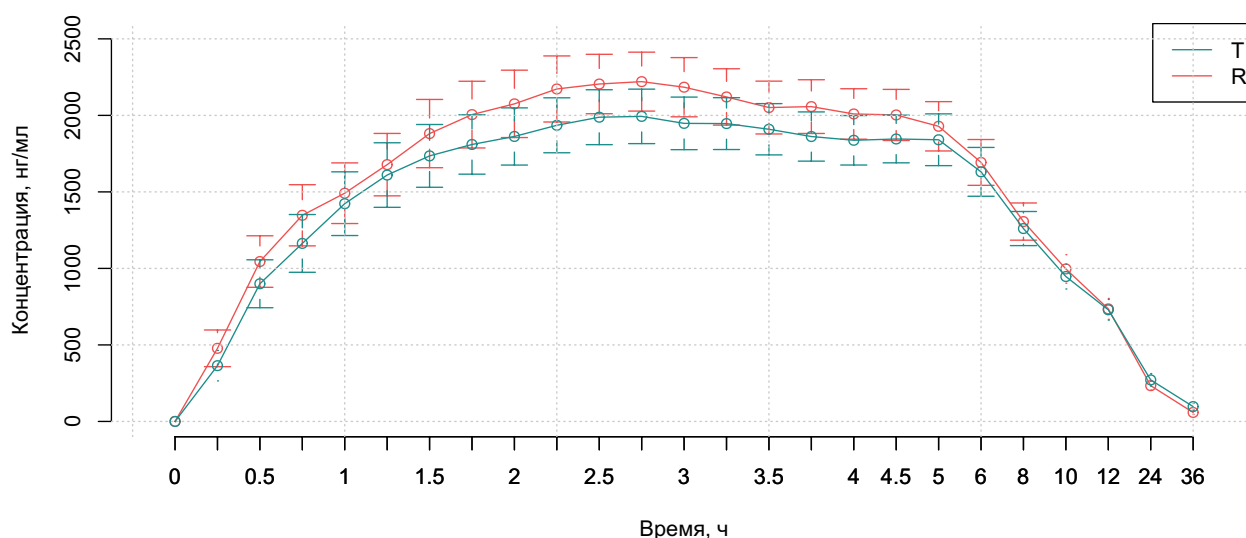


Рисунок 2 – Динамика концентрации нирматрелвира (средние±95% ДИ) после приема исследуемого препарата в сочетании с ритонавиром (Т) (n=68) и референтного препарата Паксловид (R) (n=67)

Примечание: R – референтный препарат, Т – исследуемый препарат+ритонавир.

Таблица 1 – Полученные значения фармакокинетических параметров после приема исследуемого и референтного препаратов (N=68)

Фармакокинетические параметры	Исследуемый препарат (Т) (n=68)	Референтный препарат (R) (n=67)
$AUC_{(0-36)'} (нг/мл)*ч$	24 902,7±7 959,97	25 343,81±7 789,17
$C_{max}' (нг/мл)$	2 411,17±808,21	2 580,54±869
$AUC_{(0-\infty)'} (нг/мл)*ч$	25 930,98±8 594,38	25 981,73±7 981,04
$T_{max}' ч$	2,5 [1,7; 3,25]	2,25 [1,75; 3]
$T_{1/2}' ч$	7,73±2,85	6,46±1,75

Примечание: n – число наблюдений; C_{max} – максимальная концентрация; T_{max} – время достижения C_{max} ; $T_{1/2}$ – период полувыведения; $AUC_{(0-36)}$ – суммарная площадь под кривой «концентрация–время» в интервале времени от 0 до 36 ч; $AUC_{(0-\infty)}$ – площадь под кривой «концентрация–время» в интервале времени от 0 до бесконечности. Все значения показателей представлены в виде среднего арифметического (стандартное отклонение), кроме T_{max} , который представлен в виде медианы (минимум – максимум).

Таблица 2 – Значения рассчитанных 90% ДИ для отношений фармакокинетических показателей нирматрелвира после приема исследуемого и референтного препаратов

Показатель	Соотношение средних геометрических T/R	Рассчитанные значения 90% ДИ	CV _{intra} ¹
AUC _(0–36)	98,4	93,27–103,74	18,57
C _{max}	93,8	87,26–100,83	25,43

Примечание: CV_{intra}¹ – интраиндивидуальный коэффициент вариальности; ДИ – доверительные интервалы; Т – исследуемый препарат+ритонавир; R – референтный препарат.

Таблица 3 – Сводная таблица частоты НЯ после приема каждого из препаратов

Нежелательное явление	Исследуемый препарат (Т) (N=68), n (%)	Референтный препарат (R) (N=67), n (%)	Значение p ¹
Лабораторные и инструментальные данные			
Повышение уровня билирубина в крови	1 (1,47)	0 (0,00)	0,317
Снижение числа тромбоцитов	2 (2,94)	1 (1,47)	0,564
Увеличение числа лимфоцитов	0 (0,00)	1 (1,47)	0,317
Нарушения со стороны кроветворной системы			
Анемия	0 (0,00)	3 (4,41)	0,083
Нарушения со стороны нервной системы			
Головная боль	0 (0,00)	1 (1,47)	0,317
Дисгевзия	7 (10,29)	4 (5,88)	0,317
Сосудистые нарушения			
Гипертензия	20 (29,41)	17 (25,00)	0,67
Общие нарушения и реакции в месте введения			
Астения	0 (0,00)	1 (1,47)	0,317

Примечание: 1 – уровень значимости при сравнении частоты возникновения хотя бы одного указанного нежелательного явления (НЯ) после приема препаратов (критерий Мак-Немара). N – число субъектов, принявших указанный препарат или любой из препаратов как минимум один раз. При расчете частоты (%) за 100% принимается число добровольцев в общей популяции. Все НЯ, приведенные в таблице, относятся к 1 степени тяжести.

Анализ данных проводили при помощи программного обеспечения Analyst 1.7.2 Software (SCIEX, США). Концентрацию ананта определяли по калибровочной кривой зависимости соотношения площадей хроматографических пиков ананта и внутреннего стандарта от номинальной концентрации. Для построения калибровочной кривой использовали линейную регрессию с нормированием $1/x^2$. Коэффициент корреляции составил не менее 0,99.

Оценка безопасности

Конечные точки для оценки безопасности включали в себя частоту и тяжесть всех случаев нежелательных явлений (НЯ) и серьезных нежелательных явлений (СНЯ). Частоту НЯ 3–4 степени определяли по общим терминологическим критериям нежелательных явлений (CTCAE 5.0), частоту нежелательных явлений, которые привели к досрочному прекращению участия в исследовании, а также частоту НЯ, связанных с приемом препаратов исследования.

Для тщательного мониторинга безопасности в данном исследовании производилась периодическая оценка жизненно-важных показателей, лабораторных показателей (клинического и биохимического анализов крови, общего анализа мочи), физикальный осмотр, ЭКГ. Все НЯ регистрировались от начала

приема препаратов исследования и до конца наблюдения. НЯ кодировали при помощи словаря медицинских терминов для нормативно-правовой деятельности MedDRA [21].

Статистический анализ

Для расчета размера выборки использовали следующие параметры: мощность исследования – 0,8 (80%); уровень статистической значимости α – 0,05 (5%); интраиндивидуальный коэффициент вариации для C_{max} нирматрелвира по данным литературных источников – 0,36 (36%). С учетом потенциального риска выбывания до 25% добровольцев в исследование планировалось включить 68 добровольцев.

Статистический анализ был выполнен с использованием свободно распространяемого программного пакета для статистического анализа R-4.2.0 (R Foundation for Statistical Computing, Австрия).

Оценку фармакокинетики нирматрелвира проводили при помощи следующих параметров: AUC_(0–36) – площадь под кривой «концентрация–время» в интервале времени от 0 до 36 ч; C_{max} – максимальная концентрация; T_{max} – время достижения C_{max}; T_{1/2} – период полувыведения; AUC_(0–∞) – площадь под кривой «концентрация–время» в интервале времени от 0 до бесконечности.

Сравнение ФК параметров препаратов производили при помощи теста Уилкоксона для связанных выборок. Частоты нежелательных явлений сравнивали с использованием теста Мак-Немара. Для оценки биоэквивалентности использовался дисперсионный анализ (ANOVA), который является параметрическим методом, применяемым к логарифмически преобразованным ФК показателям (AUC и C_{max}). В ходе статистического анализа также учитывались различные источники вариабельности, которые могли влиять на изучаемые переменные. В качестве фиксированных факторов для построения модели ANOVA использовали следующие параметры: последовательность применения препаратов; период и лекарственный препарат; субъект исследования, вложенный в последовательность; когорта; субъект, вложенный в последовательность, вложенную в когорт; последовательность, вложенная в когорт.

На основании остаточной вариации, полученной в результате ANOVA, строили 90% ДИ для отношения геометрических средних логарифмически преобразованных показателей основных ФК показателей ($AUC_{(0-36)}$ и C_{max}), рассчитанных для исследуемого и референтного препаратов. Для установления биоэквивалентности полученные ДИ сравнивали с установленными границами биоэквивалентности, равными 80,00–125,00%.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Популяция

Всего в исследование было включено 68 добровольцев мужского пола: 35 в группу TR и 33 в группу RT. Поскольку госпитализация всех 68 добровольцев в клинический центр для проведения процедур исследования была затруднительна, добровольцы были разделены на 2 когорты, которые были включены в исследование с разницей в 9 дней. Все добровольцы получили хотя бы одну дозу исследуемых или референтного препаратов, в связисчем были включены в популяцию безопасности. В популяцию для анализа фармакокинетики были включены все 68 добровольцев. В популяцию для оценки биоэквивалентности вошли 67 добровольцев, так как 1 доброволец из группы TR выбыл из исследования до начала 2 периода по причине отзыва информированного согласия. Все кроме одного добровольца, который принадлежал к монголоидной расе, были европеоидной расы. Средний возраст добровольцев составил 27,10 ($\pm 5,75$) лет, масса тела – 74,74 ($\pm 9,57$) кг, а ИМТ – 23,37 ($\pm 2,51$) кг/м². Демографические и исходные характеристики добровольцев не отличались между группами.

Фармакокинетика и биоэквивалентность

Фармакокинетические параметры нирматрелвира после применения исследуемого или референтного препаратов представлены в таблице 1. На рисунке 2 представлен график средних концентраций нирматрелвира после приема препаратов исследования.

Показатель $AUC_{(0-36)}$ после приема исследуемого препарата был равен 24 902,7 $\pm$ 7 959,97 нг*ч/мл, а после приема референтного препарата – 25 343,81 $\pm$ 7 789,17 нг*ч/мл. Максимальная концентрация C_{max} нирматрелвира составила 2 411,17 $\pm$ 808,21 нг/мл и 2 580,54 $\pm$ 869 нг/мл для исследуемого и референтного препаратов соответственно. Значения основных ФК параметров, полученных после применения исследуемого и референтного препаратов, в целом, были сопоставимы между собой. Статистически значимые различия между препаратами наблюдались по показателю $T_{1/2}$ ($p=0,01$), однако следует отметить, что данный показатель не влияет на оценку биоэквивалентности препаратов, и значимой разницы между основными параметрами ФК (C_{max} и AUC) отмечено не было.

Для оценки биоэквивалентности препаратов был использован показатель $AUC_{(0-36)}$, поскольку полученные значения для данного показателя составляли более 80% от значений $AUC_{(0-\infty)}$. Рассчитанный 90% ДИ для отношения средних геометрических $AUC_{(0-36)}$ исследуемого и референтного препаратов составил 93,27–103,74%. Для соотношения средних геометрических C_{max} сравниваемых препаратов 90% ДИ был равен 87,26–100,83%. Интервалы, полученные в ходе исследования, полностью соответствовали установленному пределу эквивалентности для $AUC_{(0-36)}$ и C_{max} = 80,00–125,00%, что наглядно демонстрировало биоэквивалентность исследуемого и референтного препаратов (табл. 2).

Результаты ANOVA показали, что такие источники вариации, как различия между лекарственными средствами, когорты и период не оказывали значимого влияния на оцениваемые переменные. Однако было выявлено, что последовательность введения лекарственных средств оказывает статистически значимое влияние на $AUC_{(0-36)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$, а период, вложенный в когорт – на C_{max} .

При анализе полученных результатов был сделан вывод, что выявленное в ходе дисперсионного анализа статистически значимое влияние последовательности введения лекарственных средств и периода в рамках когорты обусловлено внешними случайными факторами и клинического значения не имеет.

Безопасность

Всего в исследовании было зарегистрировано 61 НЯ у 43 добровольцев. Данные о НЯ представлены в таблице 3. К наиболее частым НЯ (более 5% в любой из групп) относились дисгевзия и гипертензия. Дисгевзия наблюдалась у 7 (10,29%) добровольцев после приема исследуемого препарата и у 4 (5,55%) добровольцев после приема референтного препарата. Гипертензия отмечалась у 20 (29,41%) и 17 (25,00%) добровольцев после приема исследуемого и референтного препаратов соответственно. Не отмечалось значимых различий между сравниваемыми препаратами по частоте регистрации нежелательных явлений ($p>0,05$). Все НЯ, зарегистрированные в ходе исследования, были отнесены к 1 степени тяжести по СТСАЕ 5.0. НЯ 2–5 степени зарегистрировано не было.

По мнению исследователей, менее половины зарегистрированных НЯ были связаны с исследуемым препаратом. Для большинства НЯ степень связи с исследуемым препаратом была расценена как «сомнительная». Связь НЯ с приемом препаратов установлена у 14 (20,59%) и 13 (19,12%) добровольцев после приема исследуемого препарата в сочетании с ритонавиром и референтного препарата соответственно. Во время исследования связь НЯ с приемом препаратов исследования классифицирована как «возможная» для 1 случая анемии, 1 случая астении и 14 случаев гипертензии (7 после приема исследуемого препарата в сочетании с ритонавиром и 7 после приема референтного препарата). Связь с приемом препаратов классифицирована как вероятная для 1 случая НЯ (головная боль). Связь с приемом препаратов классифицирована как определенная для всех 11 случаев НЯ (дисгевзия). Частоты этих событий были сопоставимы между препаратами. Зарегистрированные НЯ, которые исследователи сочли связанными с приемом препаратов, соответствовали спектру нежелательных реакций препаратов нирматрелвира/ритонавира.

ОБСУЖДЕНИЕ

Нирматрелвир проявляет противовирусную активность в отношении SARS-CoV-2 за счет ингибирования основной вирусной протеазы 3CLpro. Ингибирование 3CLpro нирматрелвиром приводит к нарушению перерабатывания полипротеиновых предшественников, в результате чего прекращается репликация вируса [22, 23]. В связи с тем, что нирматрелвир является субстратом для фермента CYP3A4, рекомендуется принимать его одновременно с фармакокинетическим усилителем ритонавиром. Ритонавир, в свою очередь, является ингибитором CYP3A4, то есть снижает скорость метаболизма нирматрелвира и тем самым увеличивает его системную экспозицию [24, 25]. В России ритонавир зарегистрирован в составе комбинированных препаратов, а также в виде самостоятельного лекарственного препарата. В связи с тем, что монопрепараты ритонавира являются коммерчески доступными. Компания ООО «Технология лекарств» разработала воспроизведенный препарат нирматрелвира, в состав которого не входят таблетки с нирматрелвиром. В целях осуществления государственной регистрации препарата было проведено клиническое исследование биоэквивалентности.

Результаты проведенного клинического исследования показали, что ФК параметры воспроизведенного препарата нирматрелвира при совместном применении с ритонавиром сопоставимы с ФК параметрами оригинального препарата нирматрелвира/ритонавира. При проведении статистического анализа биоэквивалентности, полученные 90% ДИ для отношений средних геометрических значений AUC и C_{max} нирматрелвира не выходят за пределы заданных интервалов 80,00–125,00% для этих показателей, что подтверждает

биоэквивалентность исследуемого и референтного препаратов.

Данные, полученные в результате исследования, также соответствуют имеющейся в литературе информации о ФК оригинального препарата нирматрелвира/ритонавира. Согласно информации, содержащейся в информационном листке для медицинских работников FDA оригинального препарата Паксловид⁴, а также в официальных инструкциях по медицинскому применению препаратов нирматрелвира, размещенных в Государственном реестре лекарственных средств, среднегеометрическое значение C_{max} нирматрелвира после однократного применения натошак в сочетании с ритонавиром составляет 2,21 мкг/мл, то есть около 2 210 нг/мл. В настоящем исследовании среднее геометрическое значение C_{max} воспроизведенного препарата нирматрелвира практически не отличалось от литературных данных и было равно 2 274 нг/мл. Среднее геометрическое $AUC_{(0-\infty)}$ оригинального препарата по данным литературы и воспроизведенного препарата по данным нашего исследования равны 23,01 мкг*ч/мл (23 010 нг*ч/мл) и 24 596 нг*ч/мл соответственно. Медиана T_{max} и среднее значение $T_{1/2}$ оригинального препарата, согласно литературным данным, составляют 3,00 и 6,05 ч соответственно. Воспроизведенный препарат в данном исследовании показал аналогичные показатели – 2,5 и 7,7 ч для медианы T_{max} и среднего значения $T_{1/2}$.

Исследуемый и референтный препараты хорошо переносились добровольцами. Частота возникновения НЯ после приема исследуемого и референтного препаратов не имела статистически значимых различий. НЯ, которые были охарактеризованы исследователями как связанные с приемом препаратов, соответствовали опубликованным данным о безопасности препаратов нирматрелвира/ритонавира. Наиболее частыми НЯ, которые возникали более чем у 5% участников, были дисгевзия и гипертензия. Согласно информации, указанной в инструкции по медицинскому применению лекарственных препаратов нирматрелвира, дисгевзия является частой (1–10%) нежелательной реакцией при применении этих препаратов. Гипертензия относилась к частым нежелательным реакциям (1–10%) для препаратов ритонавира, который в комбинации нирматрелвир/ритонавир применяется в качестве фармакокинетического усилителя для нирматрелвира.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в данном исследовании 90% ДИ для отношения средних геометрических $AUC_{(0-36)}$ и C_{max} полностью укладываются в диапазон 80,00–125,00%, в соответствии с протоколом и требованиями для подтверждения биоэквивалентности двух лекарственных препаратов согласно

⁴ FDA. Fact sheet for healthcare providers. 2023. <https://www.fda.gov/media/155050/download>. Accessed 21 Feb 2023.

международным руководствам и требованиям законодательства ЕАЭС. Таким образом, можно заключить, что исследуемый и референтный препарат нирматрелвира биоэквивалентны. Также стоит отметить, что сравниваемые препараты демонстрировали хорошую переносимость и сопоставимые профили безопасности.

На основании полученных результатов исследования биоэквивалентности препарат нирматрелвира Арпаксел был зарегистрирован на территории Российской Федерации по процедуре регистрации препаратов, предназначенных для применения в условиях угрозы возникновения и ликвидации чрезвычайных ситуаций.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнялась при финансировании группы компаний АО «Р-Фарм».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Клиническое исследование было организовано спонсором АО «Р-Фарм». Авторы статьи – В.Г. Мозговая, О.В. Филон, А.В. Зинковская, А.Н. Долгорукова, Е.К. Ханонина, В.Г. Игнатьев, М.Ю. Самсонов – являются сотрудниками компании АО «Р-Фарм».

ВКЛАД АВТОРОВ

Р.А. Осешнюк – проведение исследования; А.Ю. Бородулаева, П.В. Соболев, А.Г. Никифорова – разработка, валидация аналитической части, анализ биообразцов; В.Г. Мозговая – разработка дизайна исследования, написание и редактирование текста; С.В. Лесничук, Б.Б. Гаряев, А.А. Абрамова – анализ результатов, написание и редактирование текста; Филон О.В. – разработка дизайна исследования, написание и редактирование текста; Е.К. Ханонина – анализ литературных источников, написание и редактирование текста; А.В. Зинковская, А.Н. Долгорукова – статистическая обработка результатов исследования; В.Г. Игнатьев, М.Ю. Самсонов – постановка цели, разработка дизайна исследования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Joyce R.P., Hu V.W., Wang J. The history, mechanism, and perspectives of nirmatrelvir (PF-07321332): an orally bioavailable main protease inhibitor used in combination with ritonavir to reduce COVID-19-related hospitalizations // *Med. Chem. Res.* – 2022. – Vol. 31, No. 10. – P. 1637–1646. DOI:10.1007/s00044-022-02951-6
2. Vangeel L., Chiu W., De Jonghe S., Maes P., Slechten B., Raymenants J., André E., Leyssen P., Neyts J., Jochmans D. Remdesivir, Molnupiravir and Nirmatrelvir remain active against SARS-CoV-2 Omicron and other variants of concern // *Antiviral. Res.* – 2022. – Vol. 198. – Art. ID: 105252. DOI:10.1016/j.antiviral.2022.105252
3. Marzi M., Vakil M.K., Bahmanyar M., Zarenezhad E. Paxlovid: Mechanism of Action, Synthesis, and *In Silico* Study // *Biomed. Res. Int.* – 2022. – Vol. 2022. – Art. ID: 7341493. DOI:10.1155/2022/7341493
4. Singh R.S.P., Toussi S.S., Hackman F., Chan P.L., Rao R., Allen R., Van Eyck L., Pawlak S., Kadar E.P., Clark F., Shi H., Anderson A.S., Binks M., Menon S., Nucci G., Bergman A. Innovative Randomized Phase I Study and Dosing Regimen Selection to Accelerate and Inform Pivotal COVID-19 Trial of Nirmatrelvir // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2022. – Vol. 112, No. 1. – P. 101–111. DOI:10.1002/cpt.2603
5. Vangeel L., Chiu W., De Jonghe S., Maes P., Slechten B., Raymenants J., André E., Leyssen P., Neyts J., Jochmans D. Remdesivir, Molnupiravir and Nirmatrelvir remain active against SARS-CoV-2 Omicron and other variants of concern // *Antiviral. Res.* – 2022. – Vol. 198. – Art. ID: 105252. DOI:10.1016/j.antiviral.2022.105252
6. Catlin N.R., Bowman C.J., Campion S.N., Cheung J.R., Nowland W.S., Sathish J.G., Stethem C.M., Updyke L., Cappon G.D. Reproductive and developmental safety of nirmatrelvir (PF-07321332), an oral SARS-CoV-2 M^{pro} inhibitor in animal models // *Reprod. Toxicol.* – 2022. – Vol. 108. – P. 56–61. DOI:10.1016/j.reprotox.2022.01.006
7. Jeong J.H., Chokkakula S., Min S.C., Kim B.K., Choi W.S., Oh S., Yun Y.S., Kang D.H., Lee O.J., Kim E.G., Choi J.H., Lee J.Y., Choi Y.K., Baek Y.H., Song M.S. Combination therapy with nirmatrelvir and molnupiravir improves the survival of SARS-CoV-2 infected mice // *Antiviral. Res.* – 2022. – Vol. 208. – Art. ID: 105430. DOI:10.1016/j.antiviral.2022.105430
8. Greasley S.E., Noell S., Plotnikova O., Ferre R., Liu W., Bolanos B., Fennell K., Nicki J., Craig T., Zhu Y., Stewart A.E., Stepan C.M. Structural basis for the *in vitro* efficacy of nirmatrelvir against SARS-CoV-2 variants // *J. Biol. Chem.* – 2022. – Vol. 298, No. 6. – Art. ID: 101972. DOI:10.1016/j.jbc.2022.101972
9. Owen D.R., Allerton C.M.N., Anderson A.S., Aschenbrenner L., Avery M., Berritt S., Boras B., Cardin R.D., Carlo A., Coffman K.J., Dantonio A., Di L., Eng H., Ferre R., Gajiwala K.S., Gibson S.A., Greasley S.E., Hurst B.L., Kadar E.P., Kalgutkar A.S., Lee J.C., Lee J., Liu W., Mason S.W., Noell S., Novak J.J., Obach R.S., Ogilvie K., Patel N.C., Pettersson M., Rai D.K., Reese M.R., Sammons M.F., Sathish J.G., Singh R.S.P., Stepan C.M., Stewart A.E., Tuttle J.B., Updyke L., Verhoest P.R., Wei L., Yang Q., Zhu Y. An oral SARS-CoV-2 M^{pro} inhibitor clinical candidate for the treatment of COVID-19 // *Science.* – 2021. – Vol. 374, No. 6575. – P. 1586–1593. DOI: 10.1126/science.abl4784
10. Wen W., Chen C., Tang J., Wang C., Zhou M., Cheng Y., Zhou X., Wu Q., Zhang X., Feng Z., Wang M., Mao Q. Efficacy and safety of three new oral antiviral treatment (molnupiravir, fluvoxamine and Paxlovid) for COVID-19: a meta-analysis // *Ann. Med.* – 2022. – Vol. 54, No. 1. – P. 516–523. DOI:10.1080/07853890.2022.2034936
11. Drożdżał S., Rosik J., Lechowicz K., Machaj F., Szostak B., Przybyciński J., Lorzadeh S., Kotfis K., Ghavami S., Łos M.J. An update on drugs with therapeutic potential for SARS-CoV-2 (COVID-19) treatment // *Drug Resist. Updat.* – 2021. – Vol. 59. – Art. ID: 100794. DOI: 10.1016/j.drug.2021.100794
12. Hammond J., Leister-Tebbe H., Gardner A., Abreu P., Bao W., Wisemandle W., Baniecki M., Hendrick V.M., Damle B., Simón-Campos A., Pypstra R., Rusnak J.M.; EPIC-HR Investigators. Oral Nirmatrelvir for High-Risk, Nonhospitalized Adults with Covid-19 // *N. Engl. J. Med.* – 2022. – Vol. 386, No. 15. – P. 1397–1408. DOI: 10.1056/NEJMoa2118542

13. Wong C.K.H., Au I.C.H., Lau K.T.K., Lau E.H.Y., Cowling B.J., Leung G.M. Real-world effectiveness of molnupiravir and nirmatrelvir plus ritonavir against mortality, hospitalisation, and in-hospital outcomes among community-dwelling, ambulatory patients with confirmed SARS-CoV-2 infection during the omicron wave in Hong Kong: an observational study // *Lancet*. – 2022. – Vol. 400, No. 10359. – P. 1213–1222. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)01586-0
14. Wong C.K.H., Au I.C.H., Lau K.T.K., Lau E.H.Y., Cowling B.J., Leung G.M. Real-world effectiveness of early molnupiravir or nirmatrelvir-ritonavir in hospitalised patients with COVID-19 without supplemental oxygen requirement on admission during Hong Kong's omicron BA.2 wave: a retrospective cohort study // *Lancet Infect. Dis.* – 2022. – Vol. 22, No. 12. – P. 1681–1693. DOI: 10.1016/S1473-3099, No. 22)00507-2
15. Najjar-Debbiny R., Gronich N., Weber G., Khoury J., Amar M., Stein N., Goldstein L.H., Saliba W. Effectiveness of Paxlovid in Reducing Severe Coronavirus Disease 2019 and Mortality in High-Risk Patients // *Clin. Infect. Dis.* – 2023. – Vol. 76, No. 3. – P. 342–349. DOI:10.1093/cid/ciac443. Erratum in: *Clin Infect Dis.* – 2023. – Vol. 76, No. 6. – P. 1158–1159.
16. Dryden-Peterson S., Kim A., Kim A.Y., Caniglia E.C., Lennes I.T., Patel R., Gainer L., Dutton L., Donahue E., Gandhi R.T., Baden L.R., Woolley A.E. Nirmatrelvir Plus Ritonavir for Early COVID-19 in a Large U.S. Health System: A Population-Based Cohort Study // *Ann. Intern. Med.* – 2023. – Vol. 176, No. 1. – P. 77–84. DOI:10.7326/M22-2141
17. Yuan Y., Jiao B., Qu L., Yang D., Liu R. The development of COVID-19 treatment // *Front. Immunol.* – 2023. – Vol. 14. – Art. ID: 1125246. DOI:10.3389/fimmu.2023.1125246
18. Zhang J.J., Dong X., Liu G.H., Gao Y.D. Risk and Protective Factors for COVID-19 Morbidity, Severity, and Mortality // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* – 2023. – Vol. 64, No. 1. – P. 90–107. DOI:10.1007/s12016-022-08921-5
19. Lipsitch M., Krammer F., Regev-Yochay G., Lustig Y., Balicer R.D. SARS-CoV-2 breakthrough infections in vaccinated individuals: measurement, causes and impact // *Nat. Rev. Immunol.* – 2022. – Vol. 22, No. 1. – P. 57–65. DOI:10.1038/s41577-021-00662-4
20. Reis S., Metzendorf M.I., Kuehn R., Popp M., Gagyor I., Kranke P., Meybohm P., Skoetz N., Weibel S. Nirmatrelvir combined with ritonavir for preventing and treating COVID-19 // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2022. – Vol. 9, No. 9. – Art. ID: CD015395. DOI: 10.1002/14651858.CD015395.pub2
21. Große-Michaelis I., Proestel S., Rao R.M., Dillman B.S., Bader-Weder S., Macdonald L., Gregory W. MedDRA Labeling Groupings to Improve Safety Communication in Product Labels // *Ther. Innov. Regul. Sci.* – 2023. – Vol. 57, No. 1. – P. 1–6. DOI:10.1007/s43441-022-00393-1
22. Joyce R.P., Hu V.W., Wang J. The history, mechanism, and perspectives of nirmatrelvir (PF-07321332): an orally bioavailable main protease inhibitor used in combination with ritonavir to reduce COVID-19-related hospitalizations // *Med. Chem. Res.* – 2022. – Vol. 31, No. 10. – P. 1637–1646. DOI:10.1007/s00044-022-02951-6
23. Ullrich S., Nitsche C. The SARS-CoV-2 main protease as drug target // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2020. – Vol. 30, No. 17. – Art. ID: 127377. DOI:10.1016/j.bmcl.2020.127377
24. Eng H., Dantonio A.L., Kadar E.P., Obach R.S., Di L., Lin J., Patel N.C., Boras B., Walker G.S., Novak J.J., Kimoto E., Singh R.S.P., Kalgutkar A.S. Disposition of Nirmatrelvir, an Orally Bioavailable Inhibitor of SARS-CoV-2 3C-Like Protease, across Animals and Humans // *Drug Metab. Dispos.* – 2022. – Vol. 50, No. 5. – P. 576–590. DOI:10.1124/dmd.121.000801
25. Loos N.H.C., Beijnen J.H., Schinkel A.H. The Mechanism-Based Inactivation of CYP3A4 by Ritonavir: What Mechanism? // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23, No. 17. – Art. ID: 9866. DOI:10.3390/ijms23179866

АВТОРЫ

Осешнюк Родион Александрович – главный исследователь, заместитель управляющего ООО «НИЦ Эко-безопасность». ORCID ID: 0000-0002-6645-9397. E-mail: rao81@mail.ru

Никифорова Айына Григорьевна – руководитель отдела биоаналитики ООО «Экзактэ Лабс». ORCID ID: 0000-0002-5719-0787. E-mail: aiyyana.nikiforova@exactelabs.com

Бородулева Анна Юрьевна – старший химик-аналитик ООО «Экзактэ Лабс». ORCID ID: 0000-0003-1074-5551. E-mail: anna.boroduleva@exactelabs.com

Соболев Павел Дмитриевич – заведующий лабораторией биоаналитики ООО «Экзактэ Лабс». ORCID ID: 0000-0003-3634-596X. E-mail: pavel.sobolev@exactelabs.com

Лесничук Светлана Анатольевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии ФГАОУ «Первый МГМУ им. Сеченова» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5785-7297. E-mail: lesnichuk_s_a@staff.sechenov.ru

Гаряев Баир Басангович – студент 4-го курса института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ «Первый МГМУ им. Сеченова» Минздрава России. ORCID ID: 0009-0006-0558-8159. E-mail: garyaev_b_b@student.sechenov.ru

Абрамова Анна Андреевна – аспирант медицинского института, ФГАОУ ВО РUDH. ORCID ID: 0009-0003-5739-4610. E-mail: 1032172704@pfur.ru

Мозговая Валентина Геннадьевна – научный советник департамента доклинической и

клинической разработки АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0002-8934-8884. E-mail: mozgovay@rpharm.ru

Филон Ольга Владимировна – директор департамента доклинической и клинической разработки АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0002-8735-7429. E-mail: ov.filon@rpharm.ru

Зинковская Анна Васильевна – руководитель группы биостатистики департамента доклинической и клинической разработки АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0002-7028-0496. E-mail: zinkovskaya@rpharm.ru

Долгорукова Антонина Николаевна – биостатистик департамента доклинической и клинической разработки АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0003-4189-7910. E-mail: dolgorukova@rpharm.ru

Ханонина Елизавета Константиновна – медицинский писатель департамента доклинической и клинической разработки АО «Р-Фарм»; студентка 2-го курса института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ «Первый МГМУ им. Сеченова» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5848-0869. E-mail: khanonina@rpharm.ru

Игнатьев Василий Геннадьевич – кандидат медицинских наук, генеральный директор АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0003-2818-6583. E-mail: info@rpharm.ru

Самсонов Михаил Юрьевич – кандидат медицинских наук, доцент, медицинский директор, АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0003-2685-1623. E-mail: samsonov@rpharm.ru

УДК 615.275.4



Постконтактная профилактика COVID-19: результаты двойного слепого плацебо-контролируемого многоцентрового клинического исследования по оценке эффективности и безопасности применения препарата РНК двуспиральной натриевой соли

Л.А. Балыкова¹, О.А. Радаева¹, К.Я. Заславская¹, А.В. Таганов², П.А. Белый³,
К.А. Захаров⁴, В.В. Попова^{5,6}, Т.И. Чудиновских⁷, С.В. Теплых⁸, И.В. Балабан⁹,
Р.С. Козлов¹⁰, Н.В. Кириченко¹¹, Е.Н. Симакина¹², К.Н. Корянова¹³, Д.Ю. Пушкар^{3,14}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва» 430005, Россия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

⁴ Общество с ограниченной ответственностью «Научно-исследовательский центр Эко-безопасность» 196143, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Юрия Гагарина, д. 65

⁵ Общество с ограниченной ответственностью «Госпиталь ОрКли» 199178, Россия, г. Санкт-Петербург, Средний проспект В.О., д. 48, пом. 20Н, литера А

⁶ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 194100, Россия, г. Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2

⁷ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 610027, Россия, г. Киров, ул. К. Маркса, д. 112

⁸ Общество с ограниченной ответственностью «Профессорская клиника» 614070, Россия, г. Пермь, ул. Дружбы, д. 15А

⁹ Общество с ограниченной ответственностью «Аврора МедФорт» 194156, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Новороссийская, д. 28, к. 2, лит. А, пом. 2-Н

¹⁰ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 214019, Россия, г. Смоленск, ул. Крупской, д. 28

¹¹ Областное бюджетное учреждение здравоохранения «Ивановская клиническая больница» 153025, Россия, г. Иваново, ул. Ермака, д. 52/2

¹² Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Клиническая больница № 1» 214006, Россия, г. Смоленск, ул. Фрунзе, д. 40

Для цитирования: Л.А. Балыкова, О.А. Радаева, К.Я. Заславская, А.В. Таганов, П.А. Белый, К.А. Захаров, В.В. Попова, Т.И. Чудиновских, С.В. Теплых, И.В. Балабан, Р.С. Козлов, Н.В. Кириченко, Е.Н. Симакина, К.Н. Корянова, Д.Ю. Пушкар. Постконтактная профилактика COVID-19: результаты двойного слепого плацебо-контролируемого многоцентрового клинического исследования по оценке эффективности и безопасности применения препарата РНК двуспиральной натриевой соли. *Фармация и фармакология*. 2023;11(1):72-88. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-72-88

© Л.А. Балыкова, О.А. Радаева, К.Я. Заславская, А.В. Таганов, П.А. Белый, К.А. Захаров, В.В. Попова, Т.И. Чудиновских, С.В. Теплых, И.В. Балабан, Р.С. Козлов, Н.В. Кириченко, Е.Н. Симакина, К.Н. Корянова, Д.Ю. Пушкар, 2023

For citation: L.A. Balykova, O.A. Radaeva, K.Ya. Zaslavskaya, A.V. Taganov, P.A. Bely, K.A. Zakharov, V.V. Popova, T.I. Chudinovskikh, S.V. Teplykh, I.V. Balaban, R.S. Kozlov, N.V. Kirichenko, E.N. Simakina, K.N. Koryanova, D.Yu. Pushkar. Post-exposure prophylaxis of COVID-19: results of double-blind, placebo-controlled, multicenter clinical study evaluation of efficacy and safety of double-stranded sodium salt RNA drug. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(1):72-88. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-72-88

¹³ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования
«Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
357532, Россия, г. Пятигорск, пр-т Калинина, д. 11

¹⁴ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы
«Городская клиническая больница имени С.И. Спасокукоцкого
Департамента здравоохранения города Москвы»
127206, Россия, г. Москва, ул. Вучетича, д. 21

E-mail: larisabalykova@yandex.ru

Получена 08.02.2023

После рецензирования 25.02.2023

Принята к печати 20.03.2023

Цель. Оценка эффективности и безопасности применения препарата РНК двуспиральной натриевой соли, лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и подкожного введения, в качестве средства постконтактной профилактики COVID-19 в сравнении с плацебо.

Материал и методы. Проведено двойное слепое плацебо-контролируемое многоцентровое рандомизированное клиническое исследование III фазы по оценке эффективности и безопасности применения препарата РНК двуспиральной натриевой соли (РАДАМИН®ВИРО), лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и подкожного введения в качестве средства постконтактной профилактики COVID-19. Исследование проведено в 10 исследовательских центрах на территории РФ в период с 31.05.2022 г. по 17.01.2023 г. В исследование включались мужчины и женщины в возрасте ≥ 18 лет, совместно проживающие с лицом с документально подтвержденным диагнозом COVID-19 и не имеющие симптомов, характерных для COVID-19. На этапе рандомизации субъекты распределялись в одну из двух групп: 1 группа ($n=400$) получала исследуемый препарат РАДАМИН®ВИРО по 5 мг (1 флакон) внутримышечно однократно; 2 группа ($n=400$) получала плацебо по 1 флакону внутримышечно однократно. Общая продолжительность исследования для каждого субъекта составляла не более 30 дней.

Результаты. В группе препарата РНК двуспиральной натриевой соли доля субъектов с подтвержденным COVID-19 и наличием как минимум 1 симптома, характерного для COVID-19, к 10–11 сут составила 5,76% (23/399), а в группе плацебо – 11,03% (44/399). Разница в долях между группами исследуемого препарата и плацебо составила 0,0526 (5,26%), 95% доверительный интервал (ДИ) [0,0123; 0,0937]. Более чем у 94% субъектов, которым однократно вводили лекарственный препарат, не наблюдалось заражение COVID-19 с проявлением каких-либо симптомов в течение 11 дней наблюдения. В результате сравнительного анализа было показано, что частота заражения в группе исследуемого препарата была статистически значимо (практически в 2 раза) меньше, чем в группе сравнения, что говорит о высокой эффективности и целесообразности применения препарата РНК двуспиральной натриевой соли в качестве средства постконтактной профилактики COVID-19.

Заключение. Таким образом, была продемонстрирована эффективность и целесообразность применения исследуемого препарата РНК двуспиральной натриевой соли в качестве средства постконтактной профилактики COVID-19 вне зависимости от наличия вакцинации не только в медицинских учреждениях (амбулаториях и стационарах), но и у субъектов, осуществляющих уход и/или контактировавших с больными COVID-19, а также в организациях и на предприятиях при возникновении угрозы массового заражения и наличия соответствующего медицинского персонала.

Ключевые слова: коронавирус; COVID-19; РНК двуспиральной натриевой соли; РАДАМИН®ВИРО; профилактика; индуктор интерферонов

Список сокращений: ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения; НЯ – нежелательное явление; СНЯ – серьезные нежелательные явления; АПФ2 – ангиотензинпревращающий фермент 2; ВМР – Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции»; ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция; СЗ – сопутствующие заболевания; МАНК – метод амплификации нуклеиновых кислот; НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты; MedDRA – медицинский словарь терминов международной медицинской терминологии; ДИ – доверительный интервал; COVID-19 – коронавирусная инфекция; SARS-CoV-2 – коронавирус, возбудитель COVID-19; КИ – клинические исследования; IWRS – модуль рандомизации пациентов; э-ИРК – электронная индивидуальная регистрационная карта; СКФ – скорость клубочковой фильтрации.

Post-exposure prophylaxis of COVID-19: results of double-blind, placebo-controlled, multicenter clinical study evaluation of efficacy and safety of double-stranded sodium salt RNA drug

L.A. Balykova¹, O.A. Radaeva¹, K.Ya. Zaslavskaya¹, A.V. Taganov², P.A. Bely³,
K.A. Zakharov⁴, V.V. Popova^{5,6}, T.I. Chudinovskikh⁷, S.V. Teplykh⁸, I.V. Balaban⁹,
R.S. Kozlov¹⁰, N.V. Kirichenko¹¹, E.N. Simakina¹², K.N. Koryanova¹³, D.Yu. Pushkar^{3,14}

¹ National Research Ogarev Mordovia State University,
68, Bol'shevistskaya Str., Saransk, Republic of Mordovia, Russia, 430005

² Peoples' Friendship University of Russia,

40, Miklukho-Maklay Str., Moscow, Russia, 117198

³ Moscow State Medical and Dental University named after A.I. Evdokimov,

Bld. 1, 20, Delegatskaya Str., Moscow, Russia, 127473

⁴ LLC "Eco-Safety" Research & Development Center,

65, Yuri Gagarin Ave., St. Petersburg, Russia, 196143

⁵ LLC OrKli Hospital Company,

A, office 20N, 48, Middle Ave. V.O, St. Petersburg, Russia, 199178

⁶ St. Petersburg State Pediatric Medical University,

2, Litovskaya Str., St. Petersburg, Russia, 194100

⁷ Kirov State Medical University,

112, Karl Marx Str., Kirov, Russia, 610027

⁸ LLC "Professor's Clinic",

15A, Druzhba Str., Perm, Russia, 614070

⁹ LLC Aurora MedFort,

Office 2-N, A, Bld. 2, 28, Novorossiyskaya Str., St. Petersburg, Russia, 194156

¹⁰ Smolensk State Medical University,

28, Krupskaya Str., Smolensk, Russia, 214019

¹¹ Ivanovo Clinical Hospital,

Bld. 2, 52, Ermak Str., Ivanovo, Russia, 153025

¹² Smolensk Clinical Hospital No. 1,

40, Frunze Str., Smolensk, Russia, 214006

¹³ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University,

11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

¹⁴ City Clinical Hospital named after S.I. Spasokukotsky, Moscow City Health Department,

21, Vuchetich Str., Moscow, Russia, 127206

E-mail: larisabalykova@yandex.ru

Received 08 Feb 2023

After peer review 25 Feb 2023

Accepted 20 March 2023

The aim of the study was to evaluate the efficacy and safety of an RNA double-stranded sodium salt drug, a lyophilisate for a solution preparation for an intramuscular and subcutaneous administration, as a means of post-exposure COVID-19 prophylaxis in comparison with placebo.

Material and methods. A double-blind, placebo-controlled, multicenter, randomized phase III clinical trial was conducted to evaluate the efficacy and safety of a double-stranded sodium salt RNA drug (RADAMIN®VIRO), a lyophilisate for preparing a solution for intramuscular and subcutaneous administration as a means of post-exposure prophylaxis of COVID-19. The study was conducted in 10 research centers in the Russian Federation from May 31, 2022 to January 17, 2023. The study included men and women aged ≥18 years who cohabitate with a person with a documented COVID-19 diagnosis and do not have symptoms characteristic of COVID-19. At the randomization stage, the subjects were assigned to one of two groups: group 1 ($n=400$) received a study drug RADAMIN®VIRO 5 mg (1 vial) intramuscularly once a day; group 2 ($n=400$) received placebo 1 vial intramuscularly once a day. The total duration of the study for each subject was no more than 30 days.

Results. By day 10–11, in the double-stranded sodium salt RNA drug group, the proportion of the subjects with confirmed COVID-19 and at least 1 symptom characteristic of COVID-19 was 5.76% (23/399), and in the placebo group – 11.03% (44/399). The difference in proportions between the study drug and placebo groups was 0.0526 (5.26%), the 95% confidence interval (CI) for the difference in proportions between the groups was [0.0123;0.0937]. More than 94% of single-dose subjects did not become infected with COVID-19 with any symptoms during the 11 days of the follow-up. As a result of a comparative analysis, it was shown that the infection frequency in the study drug group was statistically significantly (almost twice) less than in the comparison group, which indicates a high efficiency and expediency of using the double-stranded sodium salt RNA drug as a means of the post-exposure COVID-19 prophylaxis.

Conclusion. Thus, regardless of the vaccination availability, the effectiveness and feasibility of using the study double-stranded sodium salt RNA drug as a means of the post-exposure COVID-19 prophylaxis was demonstrated not only in medical institutions (outpatient clinics and hospitals), but also in caregivers and/or the persons in contact with COVID-19 patients. The situation was the same in the organizations and enterprises in case of evolution of a mass infection threat and the availability of appropriate medical personnel.

Keywords: coronavirus; COVID-19; RNA double-stranded sodium salt; RADAMIN®VIRO; prophylaxis; interferon inducer

Abbreviations: WHO – World Health Organization; AE – adverse events; SAE – serious adverse events; IG – Interim guidelines "Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection"; CCs – comorbid conditions; ARI – acute respiratory infection; NAAT – nucleic acid amplification test; NSAIDs – non-steroidal anti-inflammatory drugs; MedDRA – Medical Dictionary for Regulatory Activities; CI – confidence interval; COVID-19 – coronavirus disease; SARS-CoV-2 – coronavirus, the causative agent of COVID-19; CTs – clinical trials, IWRS – Interactive Web Randomization System; eIRC – electronic individual registration card; GFR – glomerular filtration rate.

ВВЕДЕНИЕ

Пандемия COVID-19 нанесла серьезный урон многим аспектам жизни общества, но в тоже время явилась мощным драйвером развития фармацевтической отрасли, в частности, разработки и внедрения в практику эффективных препаратов для лечения и профилактики коронавирусной инфекции. При этом несмотря на то, что в период пандемии ускорилось проведение клинических исследований и упростилась процедура регистрации новых препаратов, проводился тщательный мониторинг безопасности и эффективности применяемых лекарственных средств [1, 2].

Новая коронавирусная инфекция (COVID-19), перешедшая в марте 2020 в масштаб пандемии, характеризовалась высокой контагиозностью, поражением не только легких, но и других органов и систем (пищеварительного тракта, сердечно-сосудистой системы, почек) и летальностью около 2%¹. SARS-CoV-2 – одноцепочечный РНК-вирус, попадая в организм человека связывается с рецептором ACE2 на клеточной мембране, проникает в клетку, размножается с высвобождением новых вирионов из инфицированной клетки, развитием местного и системного воспалительного ответа, с поражением целевых органов [3].

Несмотря на то, что в настоящее время эпидемиологическая ситуация перешла в «управляемый» режим, благодаря мутациям вируса (снижению вирулентности), а также росту коллективного иммунитета, за счет увеличения количества привитых и переболевших COVID-19, риск инфицирования, особенно новыми сублиниями SARS-CoV-2, сохраняется, а поиск новых средств и методов лечения и профилактики новой коронавирусной инфекции является актуальным и в настоящее время [4–6]. Социальное дистанцирование (самоизоляция, закрытие школ, общественных мест и предприятий, отмена массовых мероприятий), а также карантинные меры, ограниченные фиксированием случаев заболевания, изоляцией тяжелых больных в стационаре, в легких случаях – в домашних условиях и отслеживанием контактов², исторически были первыми подходами к профилактике COVID-19, но имели ограниченный эффект [7] и не позволили взять под полный контроль распространение инфекции³.

Наличие «ниш» циркуляции вируса SARS-CoV-2 даже вне пандемических волн среди бессимптомных носителей и/или болеющих в

легкой форме с симптоматикой сезонных ОРВИ [8, 9], объясняло невысокую эффективность мер социальной профилактики и диктовало необходимость иммунизации и других способов предупреждения инфекции [10, 11]. Однако ряд проблем вакцинации от новой коронавирусной инфекции остается нерешенными [12, 13]. Одной из причин этого является высокая контагиозность SARS-CoV-2 – «омикрон» и его субвариантов⁴. Более того, вирус обладает сниженной «узнаваемостью» постинфекционными и поствакцинальными антителами [14].

Часть пациентов (в т.ч. вакцинированных) переносит новую коронавирусную инфекцию бессимптомно или в легкой форме, однако распространение вируса человеком в это время продолжается [15]. Не следует забывать о «суперинфекторах», которые вследствие высокой репликации вируса в полости рта, носоглотке и ротоглотке при дыхании могут выделять большие концентрации вируса во время близкого контакта при чихании и кашле [16, 17].

Кроме того, в семьях всегда есть члены, вовлеченные в непрерывное производство, вынужденные присутствовать на рабочих местах (медики, фармацевты, сотрудники силовых ведомств, аварийных служб, транспорта) и заболевание одного члена семьи ставит под угрозу заражения всех других членов семьи [18]. Поиск способов медикаментозной профилактики, влияющих на сигнальные пути интерферона оказывающих иммуномодулирующее и раннее противовирусное действие после контакта с больными COVID-19, является крайне актуальным и особенно значимым для контроля заболеваемости у контактных лиц в семье, в трудовых коллективах, местах массовых скопления людей и среди медицинских работников [19].

К мерам неспецифической профилактики, направленным на источник инфекции, относятся ранняя диагностика и активное выявление инфицированных, в том числе бессимптомных, изоляция больных и лиц с подозрением на заболевание, назначение этиотропной терапии [20, 21]. Цитокины – регуляторные пептиды, продуцируемые клетками организма, играют одну из главных ролей в индивидуальной реактивности, связанной с клиническими проявлениями.

Противовирусный ответ, опосредованный интерферонами, имеет прямую взаимосвязь с вирусной нагрузкой, которая зависит от заражающей дозы и степени иммунного контроля репликации [22].

На ранних стадиях заражения применение препаратов на основе РНК двуспиральной натриевой соли может выступить фактором, определяющим контроль репликации вируса и в тоже время, сохранить механизм эндогенного контроля содержания интерферонов в организме не выше протективных концентраций [23].

В Российской Федерации зарегистрирован лекарственный препарат на основе натриевой соли

¹ WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://covid19.who.int/>

² European Centre for Disease Prevention and Control. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: increased transmission in the EU/EEA and the UK – seventh update; 2020 March 25. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/RRA-seventh-update-Outbreak-of-coronavirus-disease-COVID-19.pdf>

³ Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19». Версия № 17 (от 09.12.2022). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attach/000/061/252/original/BMP_COVID-19_V17.pdf

⁴ Weekly epidemiological update on COVID-19 – 26 October 2022. Edition 115. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---26-october-2022>.

двуспиральной РНК (ЛС-000381 от 27.12.2021 года) РАДАМИН®ВИРО, применяемый для лечения и профилактики гриппа и других ОРВИ, а также в профилактике и лечении других инфекционно-воспалительных заболеваний, в т.ч. вызываемых вирусами простого, генитального, опоясывающего герпеса и хламидиями.

ЦЕЛЬ. Оценить эффективность и безопасность применения препарата РНК двуспиральной натриевой соли в качестве средства постконтактной профилактики COVID-19 в сравнении с плацебо.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эффективность и безопасность применения препарата РНК двуспиральной натриевой соли (лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и подкожного введения), в качестве средства постконтактной профилактики COVID-19, изучалась в рамках двойного слепого плацебо-контролируемого рандомизированного многоцентрового сравнительного клинического исследования III фазы (РКИ №263 от 12 апреля 2022 года).

Исследование проводилось с 31.05.2022 по 17.01.2023 года в 10 исследовательских центрах РФ:

1. ООО «Научно-исследовательский центр Эко-безопасность», г. Санкт-Петербург;
2. ООО «Госпиталь ОрКли», г. Санкт-Петербург;
3. ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Киров;
4. ООО «Профессорская клиника», г. Пермь;
5. ООО «Аврора МедФорт», г. Санкт-Петербург;
6. ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва», г. Саранск;
7. ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Смоленск;
8. ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.И. Спасокукоцкого Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва;
9. ОГБУЗ «Ивановская клиническая больница», г. Иваново;
10. ОГБУЗ «Клиническая больница № 1», г. Смоленск.

Данное исследование проводилось в соответствии с правилами Надлежащей клинической практики международной конференции по гармонизации (ICH GCP), этическими принципами, изложенными в Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (Форталеа, 2013) и требованиями Российского законодательства.

Протокол исследования, брошюра исследователя, информационный листок субъекта с формой информированного согласия на участие в исследовании, были одобрены Советом по этике до начала включения субъектов в исследование (Протокол №307 от 05.04.2022 года). При согласии субъекта на участие в данном исследовании им подписывалась форма информированного согласия.

Рандомизация субъектов исследования по группам

В исследовании прошли процедуры скрининга 804 субъекта, из них было рандомизировано 800 субъектов (4 субъекта не были рандомизированы по причине выявления критериев невключения; Рис. 1).

Рандомизация субъектов осуществлялась посредством интерактивной online системы рандомизации (Interactive Web Randomization System – IWRS), встроенной в электронную индивидуальную регистрационную карту (э-ИРК). Перед началом исследования каждому врачу-исследователю, которому делегирована обязанность переноса данных в э-ИРК, был передан код доступа (комбинация имени пользователя и пароля) к э-ИРК, а также подробные письменные инструкции по работе с э-ИРК, включая процедуру рандомизации. Рандомизация проводилась по следующему алгоритму: каждому субъекту, соответствующему всем критериям включения и не соответствующему ни одному из критериев невключения, посредством системы IWRS присваивался трехзначный рандомизационный номер. Рандомизационный номер субъекта и другие соответствующие данные вносились врачом-исследователем в Журнал скрининга/рандомизации субъектов исследования. Если субъект преждевременно прекращал участие в исследовании, его рандомизационный номер повторно не использовался, и субъект впоследствии уже не мог принять участие в исследовании. Ни врач-исследователь, ни субъект не знали, какую терапию получал субъект.

Дизайн исследования

В исследование включались мужчины и женщины ($n=800$) в возрасте от 18 до 80 лет, совместно проживающие с лицом с документально подтвержденным диагнозом COVID-19 и имеющие симптомы, характерные для COVID-19, соответствующие критериям включения и не соответствующие критериям невключения. Субъекты прошли процедуру скрининга и были рандомизированы в 2 группы в соотношении 1:1. Выбор препарата для пациентов осуществлялся в соответствии с рандомизационным номером, который присваивался пациентам на момент рандомизации.

В зависимости от рандомизации субъекты исследования получали либо исследуемый препарат РНК двуспиральной натриевой соли, либо плацебо. На этапе рандомизации субъекты распределялись в 1 из 2 групп:

1 группа ($n=400$) получала исследуемый препарат РНК двуспиральной натриевой соли (РАДАМИН®ВИРО, АО «Биохимик», серия 010122) по 5 мг (1 флакон) внутримышечно однократно;

2 группа ($n=400$) получала плацебо (натрия хлорид, АО «Биохимик», Россия, серия 010122) по 1 флакону внутримышечно однократно.

Введение исследуемого препарата/плацебо осуществлялось медицинским персоналом исследовательского центра в верхний наружный

квадрант ягодицы. В исследовании предусмотрено однократное внутримышечное введение препарата РАДАМИН®ВИРО в дозе 5 мг, что обусловлено его лекарственной формой и режимом дозирования, одобренным действующей инструкцией по применению данного препарата для профилактики и лечения гриппа и ОРВИ⁵. В качестве препарата сравнения использовали плацебо, что позволило получить объективные результаты данного исследования. Участники исследования, у которых был выявлен COVID-19, могли получать стандартную терапию в соответствии с действующими на момент проведения исследования ВМР. Ввиду отсутствия одобренных препаратов для постконтактной профилактики COVID-19, которые возможно было бы использовать в качестве препаратов сравнения, а также во избежание систематической ошибки при сборе/оценке данных в ходе исследования, в качестве препарата сравнения в данном исследовании использовано плацебо.

Клиническое исследование включало в себя следующие этапы (Рис. 2):

- скрининг – не более 24 ч;
- рандомизация – не более 1 сут;
- терапия исследуемым препаратом/плацебо – 1 сут;
- постнаблюдение – 28 сут.

Продолжительность исследования для субъектов составляла не более 30 дней, из которых период терапии исследуемым препаратом/плацебо составлял 1 сут. В случае выявления у субъекта в ходе исследования COVID-19 по результатам анализов РНК SARS-CoV-2 методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), на усмотрение врача-исследователя ему могла быть назначена стандартная терапия, представленная в актуальной версии ВМР.

В зависимости от степени тяжести COVID-19, лечение могло осуществляться как на дому, так и в условиях стационара. На Визитах 2 и 3 вне зависимости от наличия/отсутствия симптомов COVID-19 с целью его выявления у субъектов отбирался мазок из носоглотки и/или ротоглотки для определения РНК SARS-CoV-2 методом МАНК.

Кроме того, если до 29 сут после введения исследуемого препарата/плацебо у субъекта исследования возникали симптомы, характерные для COVID-19, ему проводился Визит подтверждения COVID-19. При этом, если симптомы, характерные для COVID-19, появлялись у субъекта после установления диагноза COVID-19 на основании результатов РНК SARS-CoV-2 методом МАНК, Визит подтверждения COVID-19 не проводился.

В случае отсутствия необходимости госпитализации субъекта по причине развития COVID-19, он не исключался из исследования, за ним продолжалось наблюдение. В случае необходимости госпитализации субъекта в ходе исследования – его исключали.

При выявлении у субъекта COVID-19 ему на усмотрение врача-исследователя могли быть

проведены дополнительные процедуры вне рамок Протокола в соответствии с клинической практикой исследовательского центра.

Отбор субъектов для анализа

Первичный и вторичный показатели эффективности анализировались с использованием набора данных участников исследования, отбираемых по принципу соответствия Протоколу, т.е. все пациенты, завершившие исследование в соответствии с Протоколом исследования. Участник исключался из набора данных в случае соответствия критерию исключения. В набор данных оценки безопасности вошли все рандомизированные пациенты, которые подверглись воздействию изучаемого препарата, независимо от степени следования Протоколу в ходе исследования.

В исследовании прошло процедуры скрининга 804 субъекта, из них было рандомизировано 800 субъектов, 4 субъекта не были рандомизированы по причине выявления критериев невключения. В ходе исследования был исключен 1 субъект из группы препарата РНК двуспиральной натриевой соли по причине соответствия критерию исключения №4 «Ошибочное включение субъекта, несоответствующего критериям включения и/или соответствующего критериям невключения», а именно проживание с 2-мя и более лицами с документально подтвержденным COVID-19 на момент скрининга. У одного субъекта группы плацебо наблюдался положительный результат анализа РНК SARS-CoV-2 методом МАНК на скрининге.

Критерии включения

В исследование включались субъекты, отвечающие следующим критериям включения:

1. Мужчины и женщины в возрасте от 18 до 80 лет включительно (субъекты) на момент подписания формы информированного согласия.

2. Субъект проживает с лицом с документально подтвержденным COVID-19, соответствующим обоим следующим критериям:

– первый положительный результат лабораторного исследования на наличие РНК SARS-CoV-2 с применением МАНК или антигена SARS-CoV-2 с применением иммунохроматографического анализа в течение не более 72 ч до рандомизации субъекта, принимавшего участие в данном исследовании;

– наличие как минимум 1 из симптомов, характерных для COVID-19, с появлением симптомов не более чем за 5 сут до рандомизации субъекта, принимавшего участие в данном исследовании.

3. Отрицательный результат на наличие антигена SARS-CoV-2 с применением иммунохроматографического анализа.

4. Отсутствие симптомов, характерных для COVID-19.

5. Ожидается, что субъект продолжит проживать с лицом с документально подтвержденным COVID-19 на протяжении всего участия в клиническом исследовании, отсутствие необходимости госпитализации лица.

⁵ ГРЛС. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата РАДАМИН®ВИРО. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=2e3ad776-6616-4e43-99c1-3133cd95b280

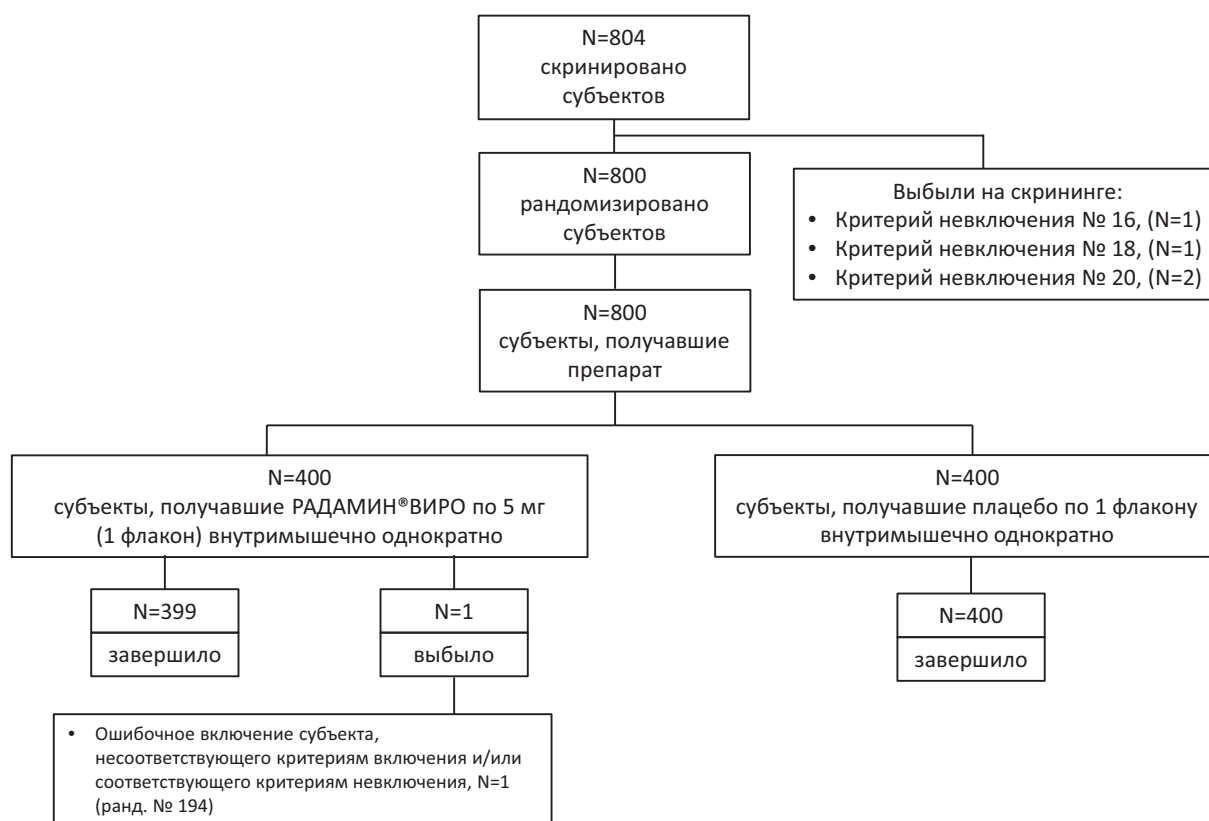
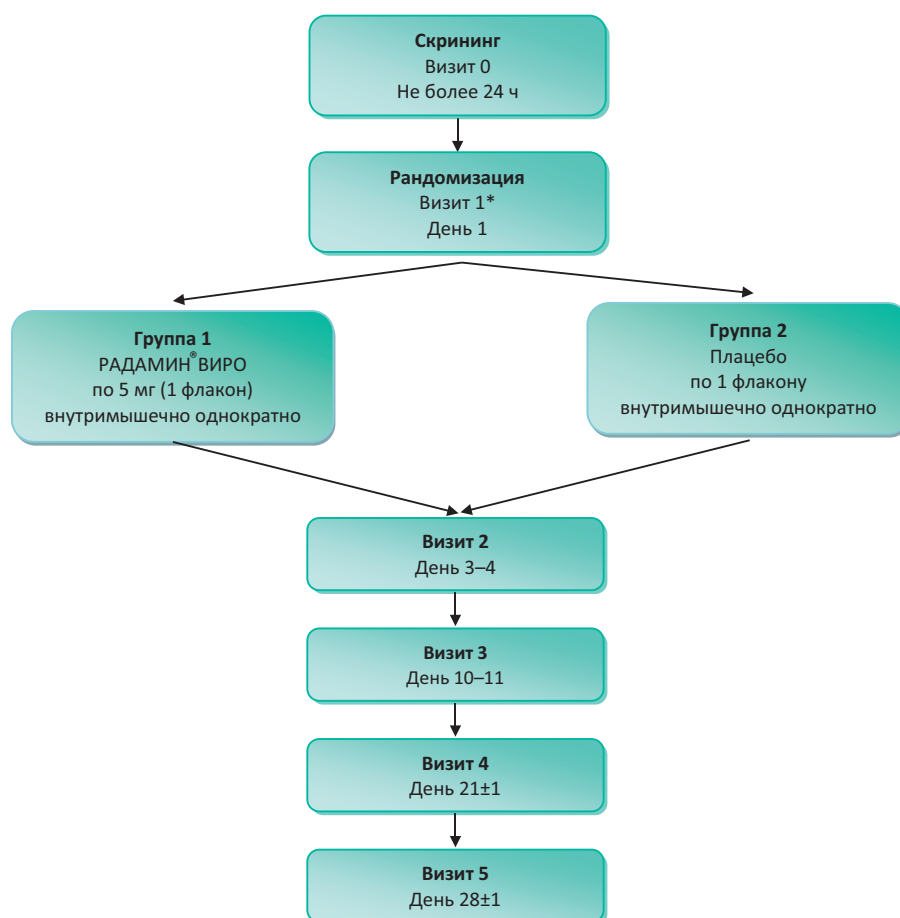


Рисунок 1 – Распределение субъектов по группам

Таблица 1 – Критерии оценки эффективности

№ п/п	Критерий эффективности	Конечная точка
Первичный критерий эффективности		
1.	Частота субъектов с подтвержденным COVID-19 и наличием как минимум 1 симптома, характерного для COVID-19*	Визит 3
Вторичные критерии эффективности		
2.	Частота субъектов с подтвержденным COVID-19 и наличием как минимум 1 симптома, характерного для COVID-19**	Визиты 2, 4, 5
3.	Частота субъектов с подтвержденным COVID-19 и отсутствием симптомов, характерных для COVID-19**	Визиты 2, 3
4.	Частота субъектов с подтвержденным COVID-19 с и без наличия симптомов, характерных для COVID-19**	Визиты 2–5
5.	Время до заражения COVID-19* Под заражением понимался момент появления симптома, характерного для COVID-19, или момент выявления РНК SARS-CoV-2 методом МАНК в зависимости от того, что выявлено ранее.	–
6.	Оценка выраженности симптомов, характерных для COVID-19* Оценка проводилась только для субъектов, у которых в ходе исследования появились симптомы COVID-19 до Визита 3 включительно.	Визиты 2–5
7.	Длительность симптомов, характерных для COVID-19** Оценка проводилась только для субъектов, у которых в ходе исследования появились симптомы COVID-19 до Визита 3 включительно. Оценка представлялась для симптомов, которые завершились до окончания участия субъекта в исследовании.	–
8.	Оценка степени тяжести COVID-19 ** Оценка проводилась только для субъектов, у которых в ходе исследования выявлен COVID-19.	к Визитам 2–5
9.	Частота субъектов, которым потребовалась госпитализация по причине развития COVID-19.	–

Примечание: * – в анализ входят субъекты с отрицательным результатом анализа РНК SARS-CoV-2 методом МАНК, отобранного на скрининге; ** – оценка проводилась как с, так и без учета субъектов, у которых на момент скрининга выявлен положительный анализ РНК SARS-CoV-2 методом МАНК. В оценку включались в том числе субъекты, для которых между визитами проведен визит подтверждения COVID-19 и выявлен положительный результат анализа РНК SARS-CoV-2 методом МАНК.

**Рисунок 2 – Дизайн исследования**

Примечание: * – визит 1 мог совпадать с Визитом 0. Если Визит 1 и Визит 0 совпадали, то физикальный осмотр, пульсоксиметрия с измерением SpO₂, оценка жизненно важных показателей, регистрация сопутствующей терапии повторно не проводились, оценка критериев включения и невключения проводилась непосредственно перед рандомизацией, а критерии исключения оценивались после применения препарата. Проведение визитов могло осуществляться в исследовательском центре или на дому. При возникновении до 29 дня после введения исследуемого препарата/плацебо у субъекта исследования симптомов, характерных для COVID-19, для такого субъекта при необходимости проводился Визит подтверждения COVID-19. Визит проводился как можно скорее, но не позднее 3 дней с момента развития первого симптома COVID-19.

Таблица 2 – Исходные демографические, антропометрические и клинические характеристики пациентов

Характеристика	РНК двуспиральной натриевая соль, n=400	Плацебо, n=400
Возраст, лет (M±SD)	44,68±15,60	45,96±14,86
Пол	мужской, n (%)	174 (43,50%)
	женский, n (%)	226 (56,50%)
Вес, кг (M ±SD)	74,80±13,39	75,84±13,71
Рост, см (M ±SD)	171,41±8,00	171,44±8,18
ИМТ, кг/м ² (M ±SD)	25,41±4,00	25,74±3,99
Коморбидные состояния, в т.ч.:	121 (30,33%)	128 (32,00%)
	ожирение	52 (13,00%)
	артериальная гипертензия	90 (22,50%)
Вакцинирование от COVID-19	284 (71%)	291 (72,75%)

Примечание: ИМТ – индекс массы тела.

Таблица 3 – Обобщенные данные сравнительной оценки эффективности РНК
двуспиральной натриевой соли

Контрольная точка	Группы	
	Плацебо	РНК двуспиральной натриевой соли
Первичный критерий эффективности		
Частота субъектов с подтвержденным COVID-19 и наличием как минимум 1 симптома, характерного для COVID-19*		
Визит 3	11,03% (44/399)	5,76% (23/399)
Вторичные критерии эффективности		
Частота субъектов с подтвержденным COVID-19 и наличием как минимум 1 симптома, характерного для COVID-19**		
Визит 2	7,00% (28/400)	3,51% (14/399)
Визит 4	11,50% (46/400)	6,02% (24/399)
Визит 5	11,50% (46/400)	6,27% (25/399)
Частота субъектов с подтвержденным COVID-19 и отсутствием симптомов, характерных для COVID-19**		
Визит 2	0,25% (1/400)	0,75% (3/399)
Визит 3	0,00% (0/400)	0,50% (2/399)
Частота субъектов с подтвержденным COVID-19 с и без наличия симптомов, характерных для COVID-19**		
Визит 2	7,25% (29/400)	4,26% (17/399)
Визит 3	11,25% (45/400)	6,27% (25/399)
Визит 4	11,50% (46/400)	6,52% (26/399)
Визит 5	11,50% (46/400)	6,77% (27/399)
Частота заражения COVID-19 к 11 дню исследования**		
Визит 3	11,25% (45/400)	6,27% (25/399)
Частота субъектов с симптомами COVID-19, появившимися до Визита 3*		
Визиты 2-5	9,02% (36/399)	17,04% (68/399)
Длительность симптомов, характерных для COVID-19**		
Боль в горле, дни	4,68±2,53	3,06±1,25
Изменение обоняния	2,25±1,26	11,13±6,45
Оценка степени тяжести COVID-19**		
Контрольная точка	Легкое течение	Бессимптомное течение/ завершенный случай
Визит 2	100% (28/28)	0,00% (0/28)
Визит 3	47,73% (21/44)	52,27% (23/44)
Визит 4	17,78% (8/45)	82,22% (37/45)
Визит 5	15,56% (7/45)	84,44% (38/45)
Частота субъектов, которым потребовалась госпитализация по причине развития COVID-19		
Визиты 1–5	0,00% (0/45)	0,00% (0/27)

Примечание: * – в анализ входят субъекты с отрицательным результатом анализа РНК SARS-CoV-2 методом МАНК, отобранного на скрининге; ** – оценка проводилась как с, так и без учета субъектов, у которых на момент скрининга выявлен положительный анализ РНК SARS-CoV-2 методом МАНК. В оценку включались в том числе субъекты, для которых между визитами проведен визит подтверждения COVID-19 и выявлен положительный результат анализа РНК SARS-CoV-2 методом МАНК.

Таблица 4 – Выраженность симптомов, характерных для COVID-19

Контрольная точка	Плацебо			РНК двуспиральной натриевой соли		
	Степень тяжести симптомов			Степень тяжести симптомов		
	Отсутствие	Умеренная	Выраженная	Отсутствие	Умеренная	Выраженная
Боль в горле						
Визит 2	94,99% (379/399)	4,76% (19/399)	0,25% (1/399)	97,49% (389/399)	2,51% (10/399)	0,00% (0/399)
Визит 3*	97,24% (388/399)	2,76% (11/399)	0,00% (0/399)	99,25% (396/399)	0,75% (3/399)	0,00% (0/399)
Визит 4	99,75% (398/399)	0,25% (1/399)	0,00% (0/399)	100% (399/399)	0,00% (0/399)	0,00% (0/399)
Визит 5	100% (399/399)	0,00% (0/399)	0,00% (0/399)	100% (399/399)	0,00% (0/399)	0,00% (0/399)
Утомляемость						
Визит 2	94,24% (376/399)	4,76% (19/399)	1,00% (4/399)	96,49% (385/399)	2,76% (11/399)	0,75% (3/399)
Визит 3**	96,24% (384/399)	3,76% (15/399)	0,00% (0/399)	98,50% (393/399)	1,50% (6/399)	0,00% (0/399)
Визит 4	99,75% (398/399)	0,25% (1/399)	0,00% (0/399)	100% (399/399)	0,00% (0/399)	0,00% (0/399)
Визит 5	100% (399/399)	0,00% (0/399)	0,00% (0/399)	100% (399/399)	0,00% (0/399)	0,00% (0/399)
Озноб						
Визит 2***	98,25% (392/399)	1,75% (7/399)	0,00% (0/399)	99,75% (398/399)	0,25% (1/399)	0,00% (0/399)
Визит 3	99,25% (396/399)	0,75% (3/399)	0,00% (0/399)	99,50% (397/399)	0,50% (2/399)	0,00% (0/399)
Визит 4	100% (399/399)	0,00% (0/399)	0,00% (0/399)	100% (399/399)	0,00% (0/399)	0,00% (0/399)
Визит 5	100% (399/399)	0,00% (0/399)	0,00% (0/399)	100% (399/399)	0,00% (0/399)	0,00% (0/399)

Примечание: * – статистически значимая разница между группами, $p=0,0314$; ** – статистически значимая разница между группами, $p=0,0472$; *** – статистически значимая разница между группами, $p=0,0191$.

Таблица 5 – Описание общего числа НЯ, зарегистрированных у субъектов в исследуемых группах

НЯ (РТ по MedDRA)*	Количество НЯ, абс. (% от общего числа)		
	Всего (n=400)	Группа плацебо (n=200)	Группа РАДАМИН® ВИРО (n=200)
Астения	3 (4,92%)	3 (7,14%)	0 (0,00%)
Боль	1 (1,64%)	1 (2,38%)	0 (0,00%)
Боль в месте инъекции	2 (3,28%)	2 (4,76%)	0 (0,00%)
Боль в ротоглотке (орофарингеальная)	1 (1,64%)	1 (2,38%)	0 (0,00%)
Вирусная инфекция дыхательных путей	6 (9,84%)	2 (4,76%)	4 (21,05%)
Головная боль	14 (22,95%)	10 (23,81%)	4 (21,05%)
Заложенность носа	6 (9,84%)	3 (7,14%)	3 (15,79%)
Кашель	3 (4,92%)	2 (4,76%)	1 (5,26%)
Орофарингеальный дискомфорт	1 (1,64%)	1 (2,38%)	0 (0,00%)
Першение в горле	2 (3,28%)	2 (4,76%)	0 (0,00%)
Пирексия	4 (6,56%)	3 (7,14%)	1 (5,26%)
Ринит	3 (4,92%)	3 (7,14%)	0 (0,00%)
Ринорея	2 (3,28%)	1 (2,38%)	1 (5,26%)
Тензионная головная боль	1 (1,64%)	0 (0,00%)	1 (5,26%)
Тошнота	1 (1,64%)	1 (2,38%)	0 (0,00%)
Уплотнение в месте инъекции	2 (3,28%)	2 (4,76%)	0 (0,00%)
Усталость	7 (11,48%)	3 (7,14%)	4 (21,05%)
Эритема в месте инъекции	2 (3,28%)	2 (4,76%)	0 (0,00%)
ИТОГО	61 (100%)	42 (100%)	19 (100%)

Таблица 6 – Частота нежелательных реакций по классификации ВОЗ

Системно-органный класс и предпочтительный термин MedDRA	Количество событий, абс. (%)		Значение <i>p</i> (критерий хи-квадрат Пирсона)
	РАДАМИН® ВИРО (<i>n</i> =400)	Плацебо (<i>n</i> =400)	
Инфекции и инвазии			
Вирусная инфекция дыхательных путей	0 (0)	1 (0,3) нечастые	0,3170
Нарушения со стороны нервной системы			
Головная боль	0 (0)	1 (0,3) нечастые	0,3170
Общие нарушения и реакции в месте инъекции			
Эритема	0 (0)	2 (0,5) нечастые	0,1568
Боль	0 (0)	2 (0,5) нечастые	0,1568
Уплотнение	0 (0)	2 (0,5) нечастые	0,1568

6. Согласие субъекта использовать надежные методы контрацепции на протяжении всего исследования и в течение 3 недель после его окончания. Надежными средствами контрацепции являются: половой покой, использование презерватива в сочетании со спермицидом. В исследовании также могут принять участие женщины, неспособные к деторождению (в анамнезе: гистерэктомия, перевязка маточных труб, бесплодие, менопауза более 2-х лет), а также мужчины с бесплодием или перенесенной вазэктомией в анамнезе.

7. Наличие подписанной и датированной субъектом формы информированного согласия.

8. Наличие подписанной и датированной лицом с документально подтвержденным COVID-19 формы информированного согласия на сбор информации по COVID-19.

Критерии не включения

В исследование не включались субъекты, имеющие хотя бы один из следующих критериев не включения:

1. Гиперчувствительность к компонентам исследуемого препарата, прокаину.

2. Наличие противопоказаний к проведению внутримышечных инъекций.

3. Контакт с 2 и более лицами с подтвержденным COVID-19 в течение 1 мес до скрининга или проживание с 2-мя и более лицами с документально подтвержденным COVID-19 на момент скрининга.

4. Совместное проживание с >10 людьми.

5. Наличие в течение 6 мес до рандомизации лабораторно подтвержденного случая COVID-19.

6. Вакцинация против COVID-19 в течение менее 4-х недель до скрининга.

7. Применение на момент скрининга или потребность в применении препаратов из списка запрещенной терапии.

8. Применение иммуностимулирующих, иммуномодулирующих или иммуносупрессивных лекарственных средств в течение 3 мес до скрининга.

9. Субъекты, получавшие заместительную почечную терапию или имевшие в анамнезе тяжелую почечную недостаточность (расчетная скорость клубочковой фильтрации (СКФ) <30 мл/мин/1,73 м², рассчитанная по формуле CKD-EPI, в течение 6 мес до скрининга).

10. Первичный билиарный цирроз печени класса С по классификации Чайлд-Пью или хронический или активный гепатит В или С в анамнезе.

11. Положительный результат анализа на наличие ВИЧ, сифилиса, гепатитов В и/или С на скрининге.

12. Хроническая сердечная недостаточность III–IV ФК по функциональной классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA).

13. Наличие в анамнезе злокачественных новообразований, за исключением субъектов, у которых заболевание не наблюдалось в течение последних 5 лет, субъектов с полностью излеченным базальноклеточным раком кожи или полностью излеченной карциномой *in situ*.

14. Алкогольная, фармакологическая и/или наркотическая зависимость в анамнезе и/или на момент скрининга.

15. Шизофрения, шизоаффективное расстройство, биполярное расстройство или другая психическая патология в анамнезе или подозрение на их наличие на момент скрининга.

16. Любые данные анамнеза, которые, по мнению врача-исследователя, могут привести к осложнению интерпретации результатов исследования или создать дополнительный риск для субъекта в результате его участия в исследовании.

17. Нежелание или неспособность субъекта соблюдать процедуры Протокола (по мнению врача-исследователя).

18. Беременные или кормящие женщины, или женщины, планирующие беременность.

19. Участие в другом клиническом исследовании в течение 3 мес до включения в данное исследование.

20. Прочие условия, которые препятствуют включению субъекта в исследование.

Критерии исключения

Решение об исключении субъекта из исследования принимал врач-исследователь. Субъект выводился из исследования сразу при возникновении любой из следующих ситуаций:

1. Появление в ходе исследования любых заболеваний или состояний, которые ухудшают прогноз субъекта, а также делают невозможным дальнейшее участие субъекта в клиническом исследовании. При выявлении у субъекта COVID-19 по результатам анализов РНК SARS-CoV-2 методом МАНК, отобранных как на этапе скрининга, так и после него, и отсутствии необходимости госпитализации субъекта, он не исключался из исследования, за ним продолжалось наблюдение. В случае необходимости госпитализации субъекта в ходе исследования, он исключался из исследования.

2. Прием препаратов запрещенной терапии или необходимость их назначения.

3. Беременность (для участниц исследования).

4. Ошибочное включение субъекта, несоответствующего критериям включения и/или соответствующего критериям невключения.

5. Другие нарушения Протокола, которые по мнению врача-исследователя являются значительными.

6. Отказ субъекта от участия в исследовании.

7. Другие административные причины.

Критерии оценки эффективности

Первичная конечная точка для данного исследования была выбрана на основании Рекомендации FDA по разработке лекарственных средств для лечения и профилактики COVID-19⁶. В анализ первичного критерия эффективности входили случаи развития COVID-19 до Визита 3 (10–11 сут). Случай COVID-19 в данном исследовании определялся как отсутствие на этапе скрининга положительного анализа РНК SARS-CoV-2 методом МАНК, появление в ходе исследования у субъекта как минимум одного симптома, характерного для COVID-19, и выявление в ходе исследования положительного результата на РНК SARS-CoV-2 методом МАНК. Оценка основного исхода проводилась до Визита 3 (10–11 сут), что представляло собой достаточное время для надежной оценки эффективности однократного применения препарата РАДАМИН®ВИРО с учетом инкубационного периода SARS-CoV-2. При этом наблюдение за субъектами исследования проводилось в течение 28 сут после применения препарата. В рамках вторичных критериев эффективности оценивались следующие показатели: частота развития случаев COVID-19 как с, так и без симптомов на протяжении всего периода участия субъекта в исследовании; степень тяжести развившегося заболевания COVID-19; частота госпитализаций по причине COVID-19; оценка выраженности и длительности симптомов. Выбор данных критериев также был основан на Рекомендации FDA по разработке лекарственных средств для лечения и профилактики COVID-19.

Конечные точки по оценке эффективности терапии представлены в таблице 1.

Критерии оценки безопасности

- Общее количество нежелательных явлений (НЯ), стратифицированных по тяжести и частоте.
- Частота нежелательных реакций.
- Частота серьезных нежелательных явлений (СНЯ), в том числе связанных с применением исследуемого препарата/плацебо.
- Доля субъектов, у которых зарегистрировано как минимум одно НЯ.

Статистический анализ

Для статистического анализа использовалось программное обеспечение с валированными

⁶ COVID-19: Developing Drugs and Biological Products for Treatment or Prevention, Guidance for Industry / U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, 2021. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/covid-19-developing-drugs-and-biological-products-treatment-or-prevention>

алгоритмами для выполнения статистических анализов и надлежащего документального оформления StatSoft Statistica 13.3.

Описательная статистика представлена для всех собранных в ходе исследования показателей эффективности и безопасности. Непрерывные (количественные) данные представлены с помощью количества наблюдений, среднего арифметического, 95% доверительного интервала (ДИ) для среднего, стандартного (среднеквадратического) отклонения, медианы, межквартильного размаха (25-го и 75-го процентиля), минимума и максимума.

Порядковые и качественные данные представлены в виде абсолютных частот (количества наблюдений), относительных частот (процентов) и 95% ДИ (если не указано иное).

Проверка на нормальность распределения проводилась одним из общепринятых методов (критерий Шапиро-Уилка). В случае не Гауссовского распределения для сравнения показателей использовались непараметрические методы оценки.

Уровни значимости и доверительные интервалы рассчитывались, как двусторонние, и статистическая значимость различий относилась к уровню значимости 0,05 (если не указано дополнительно).

Демографические данные (возраст, пол), данные исходного состояния представлены для популяции safety в виде абсолютных частот (количества наблюдений), относительных частот (процентов) или при помощи среднего арифметического, 95%ДИ для среднего, стандартного (среднеквадратического) отклонения, медианы, межквартильного размаха (25-го и 75-го процентиля), минимума и максимума в зависимости от типа переменной. Для проверки гипотезы об однородности групп исследование в исходном периоде проводилось тестирование нулевых гипотез (об отсутствии различий между группами) при помощи критерия Манна-Уитни (для ординальных показателей или для интервальных показателей с распределением, отличающимся от нормального) или критерия χ^2 (для качественных признаков). В случае нахождения статистически значимых различий между группами, производилась оценка величины различий между группами исследования при помощи доверительных интервалов.

Для анализа первичного критерия использовалось межгрупповое сравнение долей при помощи критерия χ^2 («хи-квадрат»), так как все ожидаемые значения в ячейках таблицы сопряженности для данного анализа составляли 5 и более. Доля субъектов с подтвержденным COVID-19 и наличием как минимум 1 симптома, характерного для COVID-19, к Визиту 3 представлена с двусторонним 95%ДИ по исследуемым группам. Для итогового анализа (на целевом наборе субъектов) и промежуточного анализа (на 50% субъектов от целевого набора) тестирование гипотезы по первичной конечной точке проводилось при 2,5%-ном уровне значимости. Представлены различия в долях между исследуемыми группами и 95% двусторонний ДИ для разницы в долях, рассчитанный по методу Ньюкомба-Вилсона.

Для анализа вторичных параметров эффективности, представленных качественными

величинами, использовалось межгрупповое сравнение долей при помощи двустороннего варианта точного теста Фишера (или критерия χ^2 («хи-квадрат») в случае, если все ожидаемые значения в ячейках таблицы сопряженности для данного анализа составляли 5 и более). Для оценки параметров, представленных порядковыми величинами, использованы непараметрические методы анализа: для сравнения показателей между группами использован критерий Манна-Уитни, для оценки динамики показателя внутри каждой группы – критерий Фридмана для нескольких зависимых переменных, для сравнения между начальной и конечной точкой внутри каждой группы – критерий Вилкоксона для двух зависимых переменных. Также для анализа могли быть использованы точный тест Фишера или критерий χ^2 («хи-квадрат»), в случае если все ожидаемые значения в ячейках таблицы сопряженности для данного анализа составят 5 и более.

Для сравнения между группами непрерывных количественных показателей был использован t -критерий Стьюдента или критерий Манна-Уитни (в зависимости от принятого заключения о характере распределения).

Для оценки времени до события (time-to-event) с учетом цензурированных наблюдений в качестве описательных методов анализа использован метод Каплан-Мейера и построение таблиц дожития, для сравнительной оценки времени между исследуемыми группами использован критерий Кокса-Ментела. Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Для всех показателей безопасности, собранных в ходе исследования, представлена описательная статистика (средние значения, показатели разброса, частота, 95%ДИ, медиана, квартили, минимальные и максимальные значения или абсолютные частоты (количество наблюдений), относительные частоты (проценты)). Сравнение групп по частотным показателям проводилось с помощью точного критерия Фишера, либо критерия χ^2 («хи-квадрат»), в зависимости от ожидаемого значения в ячейках таблицы сопряженности. Для количественных результатов лабораторных исследований сравнение между группами на соответствующих визитах проводилось при помощи критерия Манна-Уитни. Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исходные характеристики пациентов

В исследовании приняли участие 800 субъектов мужского и женского пола. Средний возраст субъектов в популяции составил $45,32 \pm 15,24$ лет (от 18 до 80 лет), средний вес тела оказался равным $75,32 \pm 13,55$ кг (от 44,70 до 130 кг), рост $171,42 \pm 8,08$ см (от 150 до 192 см), средний показатель индекса массы тела (ИМТ) составил $25,58 \pm 3,99$ кг/м² (от 16,16 до 46,87 кг/м²).

В результате сравнительного анализа демографических и антропометрических данных субъектов не было выявлено межгрупповых статистических различий (табл. 2).

Стоит отметить, что средний ИМТ популяции свидетельствовал о том, что большинство пациентов имели избыточную массу тела, а значит имели повышенный риск заражения новой коронавирусной инфекцией и осложненного течения заболевания.

Всего в исследовании приняли участие 575 субъектов, вакцинированных от новой коронавирусной инфекции: 284 вакцинированных субъекта в группе исследуемого препарата и 291 субъект в группе плацебо.

У 344 субъектов (43,00%) были выявлены сопутствующие заболевания. В группе исследуемого препарата частота субъектов с сопутствующими заболеваниями составила 174 (43,50%), в группе плацебо – 170 (42,5%).

Всего в исследовании наблюдалось 249 субъектов с коморбидными состояниями, такими как ожирение, сахарный диабет 2 типа, гипертензия, хронический пиелонефрит, бронхит хронический, цистит, нарушенная толерантность к глюкозе, простатит, хронический тонзиллит, ревматоидный артрит, псориаз, хронический синусит, стенокардия, хроническая сердечная недостаточность, астма, хроническая обструктивная болезнь легких, диабетическая нейропатия, дислипидемия, неалкогольная жировая болезнь печени, герпесвирусные часто рецидивирующие поражения слизистых половых органов (рецидивов за период наблюдения не регистрировалось). В группе исследуемого препарата частота субъектов с данными заболеваниями составила 121 (30,33%), в группе плацебо – 128 (32,00%).

Среди выявленных патологий наиболее часто наблюдались такие состояния, как гипертензия и ожирение. В группе исследуемого препарата РНК двуспиральной натриевой соли частота субъектов с гипертензией составила 81 (20,30%), в группе плацебо – 90 (22,50%). В группе исследуемого препарата частота субъектов с ожирением составила 45 (11,28%), в группе плацебо – 52 (13,00%).

Первичный критерий эффективности

В анализ вошли субъекты ($n=798$) с отрицательным результатом анализа РНК SARS-CoV 2 методом МАНК, отобранного на скрининге: группа препарата РНК двуспиральной натриевой соли ($n=399$) и группа плацебо ($n=399$).

В группе препарата РНК двуспиральной натриевой соли доля субъектов с подтвержденным COVID-19 и наличием как минимум 1 симптома, характерного для COVID-19, к Визиту 3 составила 5,76% (23/399), а в группе плацебо – 11,03% (44/399). Разница в долях между группами препарата РНК двуспиральной натриевой соли и плацебо составила 0,0526 (5,26%), 95%ДИ [0,0123;0,0937]. В результате сравнительного анализа частоты субъектов с подтвержденным COVID-19 и наличием как минимум 1 симптома, характерного для COVID-19, к Визиту 3 (10–11 сут) в группах исследуемого препарата и плацебо были выявлены статистически значимые различия между исследуемыми группами ($p=0,0074$).

Несмотря на тесный контакт с больным с подтвержденной новой коронавирусной инфекцией, однократное применение исследуемого лекарственного препарата на основе РНК

двуспиральной натриевой соли позволило предотвратить заражение и развитие каких-либо симптомов более, чем у 94% субъектов, в течение 11 сут наблюдения. В результате сравнительного анализа было показано, что частота заражения в группе исследуемого препарата была статистически значимо (практически в 2 раза) меньше, чем в группе сравнения, что говорит о высокой эффективности и целесообразности применения препарата РНК двуспиральной натриевой соли в качестве средства постконтактной профилактики COVID-19.

Дополнительно был проведен анализ первичной конечной точки с учетом фактора вакцинации.

Всего в исследовании приняли участие 575 субъектов, вакцинированных от новой коронавирусной инфекции: 284 вакцинированных субъекта в группе исследуемого препарата 291 субъект в группе плацебо. В группе препарата РНК двуспиральной натриевой соли доля вакцинированных субъектов с подтвержденным COVID-19 и наличием как минимум 1 симптома, характерного для COVID-19, к Визиту 3 составила 5,28% (15/284), а в группе плацебо – 10,65% (31/291). В результате проведенного анализа были выявлены статистически значимые различия между исследуемыми группами ($p=0,017$).

Таким образом, была продемонстрирована эффективность и целесообразность применения исследуемого препарата РНК двуспиральной натриевой соли в качестве средства постконтактной профилактики COVID-19 вне зависимости от наличия вакцинации.

Вторичные критерии эффективности

Частота субъектов с подтвержденным COVID-19 и наличием как минимум 1 симптома, характерного для COVID-19. В результате сравнительного анализа частоты субъектов с подтвержденным COVID-19 и наличием как минимум 1 симптома, характерного для COVID-19, в группах препарата РНК двуспиральной натриевой соли и плацебо были выявлены статистически значимые различия между исследуемыми группами к Визиту 2 ($p=0,0270$), к Визиту 4 ($p=0,0061$), к Визиту 5 ($p=0,0093$). Статистически значимое снижение частоты заражения COVID-19 в группе исследуемого препарата по сравнению с группой плацебо, как в краткосрочной перспективе (3–4 день наблюдения), так и в течение длительного времени (28 дней наблюдения), позволяют сделать вывод об эффективности и обоснованности применения изучаемого метода профилактики заражения новой коронавирусной инфекцией.

Частота субъектов с подтвержденным COVID-19 и отсутствием симптомов, характерных для COVID-19. В группе препарата РАДАМИН®ВИРО частота субъектов с симптомами COVID-19, появившимися до Визита 3 включительно, составила 9,02% (36/399), в группе плацебо – 17,04% (68/399). В результате сравнительного анализа частоты субъектов с «подтвержденным COVID-19» и «не имеющих симптомов, характерных для COVID-19», к Визиту 2 и 3 в группах препарата РНК двуспиральной натриевой соли и плацебо статистически значимые различия между исследуемыми группами выявлены не были.

Частота субъектов с подтвержденным COVID-19 с и без наличия симптомов, характерных для COVID-19. В результате сравнительного анализа частоты субъектов с подтвержденным COVID-19 с и без наличия симптомов, характерных для COVID-19, в группах препарата РНК двуспиральной натриевой соли и плацебо были выявлены статистически значимые различия между исследуемыми группами к Визиту 3 ($p=0,0127$), к Визиту 4 ($p=0,0139$), к Визиту 5 ($p=0,0203$). Таким образом, было показано, что у субъектов, получавших исследуемый препарат РНК двуспиральной натриевой соли в качестве средства постконтактной профилактики COVID-19, не только значительно реже выявлялся положительный тест к COVID-19, но и реже проявлялись симптомы заболевания, что говорит о снижении тяжести течения заболевания, что может быть связано с развитием адекватного иммунного ответа на фоне применения изучаемого препарата.

Время до заражения COVID-19. В результате проведенного анализа было показано, что к 11-му дню (Визит 3) в группе препарата РНК двуспиральной натриевой соли заражение наступило у 6,27% (25/399) субъектов, а в группе плацебо – у 11,25% (45/400). Кроме того, среди всех зараженных субъектов в группе исследуемого препарата, у 75% заражение наступало до 7 дня, в то время как в группе плацебо – до 5 дня. Таким образом, было показано, что у субъектов, получавших плацебо, заражение происходило раньше, чем у субъектов, получавших препарат РНК двуспиральной натриевой соли. Медиана времени до заражения COVID-19 в группе исследуемого препарата и в группе плацебо составила 3 дня. В результате сравнительного анализа были выявлены статистически значимые различия по времени до заражения COVID-19 между группами препарата РНК двуспиральной натриевой соли и плацебо ($p=0,0249$). В результате проведенного анализа показано, что при применении исследуемого препарата наблюдается отсрочка в заражении субъектов, проходящих профилактику COVID-19, что может быть важно с точки зрения снижения уровня вирусной нагрузки в момент заражения и снижения риска развития осложненного течения заболевания.

Оценка выраженности симптомов, характерных для COVID-19. Оценка проводилась только для субъектов, у которых в ходе исследования появились симптомы COVID-19 до Визита 3 включительно. В группе препарата РНК двуспиральной натриевой соли частота субъектов с симптомами COVID-19, появившимися до Визита 3 включительно, составила 9,02% (36/399), в группе плацебо – 17,04% (68/399). В результате сравнительного анализа по частоте субъектов с симптомами COVID-19, появившимися до Визита 3 включительно, вне зависимости от наличия лабораторно подтвержденного COVID-19, были выявлены статистически значимые различия между группой препарата РНК двуспиральной натриевой соли и группой плацебо ($p=0,0008$), что говорит о высокой эффективности исследуемого препарата в профилактике заражения новой коронавирусной инфекцией и снижении тяжести течения заболевания. В популяции были выявлены статистически значимые различия между группой исследуемого препарата и группой плацебо по частоте субъектов с симптомами

COVID-19, появившимися до Визита 3 включительно ($p=0,0006$); по частоте субъектов с различной степенью тяжести симптома «Боль в горле» к Визиту 3 ($p=0,0314$); по частоте субъектов с различной степенью тяжести симптома «Утомляемость» к Визиту 3 ($p=0,0472$) по частоте субъектов с различной степенью тяжести симптома «Озноб» к Визиту 2 ($p=0,0191$) (табл. 4). По симптомам заложенность носа и насморк, одышка или затрудненное дыхание при нагрузках, кашель, боль в мышцах и во всем теле, головная боль, лихорадка (температура тела $>38^{\circ}\text{C}$), обоняние за последние 24 ч, статистически значимых различий между группами не наблюдалось. При этом, ни в одной из групп не было отмечено таких симптомов, как: рвота, диарея, изменение вкусовой чувствительности.

Длительность симптомов, характерных для COVID-19. В результате сравнительного анализа были выявлены статистически значимые различия между группами по длительности симптомов, характерных для COVID-19, а именно «Боль в горле» ($p=0,0173$) и «Обоняние за последние 24 ч» ($p=0,0214$). Не было отмечено статистически значимых отличий между группами по длительности следующих симптомов: заложенность носа или насморк, одышка или затрудненное дыхание при нагрузках, кашель, утомляемость, боль в мышцах или во всем теле, головная боль, озноб, лихорадка (температура тела $>38^{\circ}\text{C}$).

Оценка степени тяжести COVID-19. Оценка проведена только для субъектов, у которых в ходе исследования был выявлен COVID-19. Значимые различия по степени тяжести COVID-19 между исследуемыми группами не обнаружены ($p\geq 0,05$).

Частота субъектов, которым потребовалась госпитализация по причине развития COVID-19. В ходе исследования не было зафиксировано случаев госпитализации субъектов по причине развития COVID-19.

Результаты оценки безопасности

Частота субъектов с зарегистрированными случаями НЯ составила 5,13% (41/800). Всего у 41 субъекта отмечалось 61 НЯ. Частота субъектов группы исследуемого препарата РНК двуспиральной натриевой соли с зарегистрированными случаями НЯ составила 4,0% (16/400). Всего у 16 субъектов группы исследуемого препарата отмечалось 19 НЯ. Частота субъектов группы плацебо с зарегистрированными случаями НЯ составила 6,25% (25/400). Всего у 25 субъектов группы плацебо отмечалось 42 НЯ. Все зарегистрированные НЯ у субъектов группы исследуемого препарата и плацебо были легкой степени тяжести (табл. 5).

По оценке врачей-исследователей, причинно-следственная связь с терапией исследуемым препаратом была оценена как «не связано» в 26,32% (5/19) случаев, как «сомнительная» – в 73,68% (14/19) случаев; причинно-следственная связь с плацебо была оценена как «не связано» в 52,38% (22/42) случаев, как «сомнительная» – в 28,57% (12/42) случаев, как «вероятная» – в 7,14% (3/42) случаев, как «возможная» – в 11,90% (5/42) случаев.

Анализ частоты исходов НЯ у субъектов,

получавших исследуемый препарат РНК двуспиральной натриевой соли, показал, что «выздоровление без последствий» отмечалось в 94,74% (18/19) случаев и «улучшение состояния» – в 5,26% (1/19) случаев; у субъектов, получавших плацебо, во всех случаях отмечалось «выздоровление без последствий».

Анализ частоты проводимых мероприятий в отношении НЯ у субъектов, получавших исследуемый препарат, показал, что «лечение не проводилось» в 52,63% (10/19) случаев, потребовалась «местная терапия» – в 15,79% (3/19) случаев и потребовалась «системная терапия» – в 31,58% (6/19) случаев; у субъектов, получавших плацебо, «лечение не проводилось» в 59,52% (25/42) случаев, потребовалась «местная терапия» – в 21,43% (9/42) случаев и потребовалась «системная терапия» – в 19,05% (8/42) случаев.

Статистически значимых различий между исследуемыми группами по наличию НЯ не наблюдалось ($p \geq 0,05$). В результате проведенного анализа были выявлены статистически значимые различия между группами терапии по связи НЯ с препаратом ($p=0,0078$), с преобладанием НЯ, связанных с препаратом, в группе плацебо.

Стоит отметить, что на фоне фармакотерапии исследуемым препаратом, не было отмечено рецидивов хронических, а также перенесенных ранее заболеваний. В некоторых статьях инфекция COVID-19 связана с коинфекцией или реактивацией вирусов герпеса человека [24, 25]. Так, известно, что инфекция COVID-19 может вызвать реактивацию латентных вирусов простого герпеса человека, в т.ч. урогенитального, путем усиления экспрессии литических генов и поддержки антеградного продвижения активированных вирусов к эпителиальным тканям [24]. При этом, в ходе настоящего исследования не было отмечено случаев рецидивов у пациентов с урогенитальным герпесом в анамнезе.

В ходе исследования не было зарегистрировано нежелательных реакций, связанных с применением исследуемого препарата РНК двуспиральной натриевой соли.

В ходе исследования не было зарегистрировано ни одного подтвержденного случая пирогенности (повышения температуры тела), встречающегося при применении данной группы препаратов. Данный эффект связан с инновационной технологией получения активного действующего вещества, в рамках которой особое внимание уделяется очистке

получаемой субстанции от белковых компонентов и примесей, образуемых при микробиологическом синтезе двуспиральной РНК [26–28].

В ходе проведения исследования случаев СНЯ зарегистрировано не было.

В ходе проведения исследования случаев возникновения беременности субъекта/половой партнерши участника исследования зарегистрировано не было.

Дополнительно был проведен анализ возможных нежелательных реакций, связанных с применением препаратов исследования (табл. 6).

В анализ обеих групп были включены НЯ с определенной вероятной и возможной связью с препаратом. Таким образом, связанных с применением исследуемого препарата нежелательных реакций, выявлено не было. Изучаемый лекарственный препарат на основе натриевой соли двуспиральной РНК обладает высоким благоприятным и прогнозируемым профилем безопасности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Особенности иммунного ответа при вирусном инфицировании, в частности, при проникновении SARS-CoV-2, определяют как риск инициации заболевания с клиническими проявлениями, так и тяжесть течения инфекции, в том числе риск развития осложнений. Результаты проведенного плацебо-контролируемого исследования убедительно доказывают эффективность применения препарата РАДАМИН®ВИРО в профилактике заражения новой коронавирусной инфекцией вне зависимости от наличия факта вакцинации, пола, возраста, и сопутствующих заболеваний, в т.ч. таких как избыточная масса тела и ожирение. При этом в случае заражения COVID-19 симптомы заболевания развивались реже, чем у пациентов группы плацебо. Снижение частоты развития, длительности и степени выраженности симптомокомплекса, характерного для COVID-19, говорит о высокой эффективности профилактического эффекта, снижении риска осложненного течения заболевания, ускорении выздоровления и положительном влиянии лекарственного препарата РАДАМИН®ВИРО на качество жизни пациентов. Таким образом, является целесообразным включение изученного лекарственного препарата в схемы профилактики новой коронавирусной инфекции, применяемые в лечебных учреждениях или на предприятиях при выявлении случаев заболевания и высоком риске его массовой распространенности.

ФИНАСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Клиническое исследование проводилось при поддержке компании ООО «ПРОМОМЕД РУС».

Спонсор не оказывал влияния на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Л.А. Балыкова – разработка и реализация дизайна исследования, написание и редактирование текста;

О.А. Радаева – разработка дизайна исследования, анализ результатов, редактирование текста;

К.Я. Заславская – разработка дизайна исследования, редактирование текста, анализ литературных источников; А.В. Таганов – реализация дизайна исследования, обработка данных; П.А. Белый – разработка дизайна исследования, анализ результатов, редактирование текста; К.А. Захаров – реализация дизайна

исследования, обработка данных; В.В. Попова – реализация дизайна исследования, обработка данных; Т.И. Чудиновских – реализация дизайна исследования, обработка данных; С.В. Теплых – реализация дизайна исследования, обработка данных; И.В. Балабан – реализация дизайна исследования, обработка данных; Р.С. Козлов – реализация дизайна исследования, обработка данных; Н.В. Кириченко – реализация дизайна исследования, обработка данных; Е.Н. Симаккина – реализация дизайна исследования, обработка данных; К.Н. Корянова – сбор источников, обработка данных, написание статьи; Д.Ю. Пушкарь – разработка дизайна исследования, реализация дизайна исследования, обработка данных.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Баклаушев В.П., Кулемзин С.В., Горчаков А.А., Лесняк В.Н., Юсубалиева Г.М., Сотникова А.Г. COVID-19. Этиология, патогенез, диагностика и лечение // Клиническая практика. – 2020. – Т. 11, № 1. – С. 7–20. DOI: 10.17816/clinpract26339
2. Самойлова А.В. Роль Росздравнадзора в обеспечении качественной и безопасной медицинской помощи в период распространения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) // Национальное здравоохранение. – 2020. – Т. 1, № 1. – С. 16–22.
3. Смирнов В.С., Ленева И.А., Кудрявцева Т.А., Файзулов Е.Б., Заплутанов В.А., Петленко С.В., Карташова Н.П., Грачева А.В., Корчевая Е.Р. Возможности подавления цитопатогенного действия коронавируса SARS-CoV-2 по результатам изучения противовирусной активности препарата Цитовир®-3 *in vitro* // Антибиотики и Химиотерапия. – 2021. – Т. 66, № 5–6. – С. 4–10. DOI: 10.37489/0235-2990-2021-66-5-6-4-10
4. Солдатов А.А., Авдеева Ж.И., Горенков Д.В., Хантимирова Л.М., Парамонова Ю.С., Смолина Е.М., Бондарев В.П., Меркулов В.А. Эффективность применения препаратов на основе иммуноглобулинов плазмы и моноклональных антител для лечения и профилактики COVID-19 // Иммунология. – 2022. – Т. 43, № 5. – С. 485–503. DOI: 10.33029/0206-4952-2022-43-5-485-503
5. Усенко Д.В. Перспективы поиска средств неспецифической профилактики инфекции COVID-19 // Медицинский Совет. – 2022. – № 6. – С. 36–42. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-6-36-42
6. Земсков Д.Н., Балькова Л.А., Радаева О.А., Заславская К.Я., Белый П.А., Семенова Е.В., Ширманкина М.В., Корянова К.Н. Актуальные аспекты этиотропной терапии COVID-19 // Фармация и фармакология. – 2022. – Т. 10, № 5. – С. 432–445. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-432-445
7. Tindale L.C., Stockdale J.E., Coombe M., Garlock E.S., Lau W.Y.V., Saraswat M., Zhang L., Chen D., Wallinga J., Colijn C. Evidence for transmission of COVID-19 prior to symptom onset // Elife. – 2020. – Vol. 9. – Art. ID: e57149. DOI: 10.7554/elife.57149
8. Яцышина С.Б., Мамошина М.В., Елькина М.А., Шарух Г.В., Распопова Ю.И., Фольмер А.Я., Агапов К.А., Владимиров И.М., Зубарева О.В., Новикова И.С., Бондарева О.Б., Гиль В.А., Козловских Д.Н., Романов С.В., Диконская О.В., Пономарева А.В., Чистякова И.В., Кочнева Н.И., Юровских А.И., Кадникова Е.П., Киячина А.С., Лучина С.В., Косарева Р.Р., Чиркова Г.Г., Валеулина Н.Н., Лебедева Л.А., Детковская Т.Н., Аббасова Е.И., Романова О.Б., Пятрова Е.В., Акимкин В.Г. Распространённость возбудителей ОРВИ, гриппа и COVID-19 у лиц без симптомов респираторной инфекции // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2021. – Т. 98, № 4. – С. 383–396. DOI: 10.36233/0372-9311-152
9. Тамм М.В. Коронавирусная инфекция в Москве: прогнозы и сценарии // ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. – 2020. – Т. 13, № 1. – С. 43–51. DOI: 10.17749/2070-4909.2020.13.1.43-51
10. Гипаева Г.А. Профилактика COVID-19 и ее эффективность: обзор литературы // Наука и социум: материалы XV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (2 декабря 2020 г.) / отв. ред. Е.Л. Сорокина. – Новосибирск: Изд-во АНО ДПО «СИППИС». – 2020. – С. 44–50. DOI: 10.38163/978-5-6043859-4-4_2020_44
11. Külper-Schick W., Piechotta V., Pilic A., Batke M., Dreveton L.S., Geurts B., Koch J., Köppe S., Treskova M., Vygen-Bonnet S., Waize M., Wichmann O., Harder T. Facing the Omicron variant-how well do vaccines protect against mild and severe COVID-19? Third interim analysis of a living systematic review // Front Immunol. – 2022. – Vol. 13. – Art. ID: 940562. DOI: 10.3389/fimmu.2022.940562
12. Brüssow H. COVID-19: vaccination problems // Environ. Microbiol. – 2021. – Vol. 23, No. 6. – P. 2878–2890. DOI: 10.1111/1462-2920.15549
13. Авдеева М.Г., Белоусова О.Н., Орлова Е.А., Хамитов Р.Ф., Шварц Ю.Г., Кравченко И.Э. Неспецифическая профилактика COVID-19 в период вакцинации против новой коронавирусной инфекции: результаты многоцентрового двойного слепого плацебо-контролируемого рандомизированного клинического исследования // Терапевтический архив. – 2022. – Т. 94, № 11. – С. 1268–1277. DOI: 10.26442/00403660.2022.11.201980
14. Tay M.Z., Poh C.M., Rénia L., MacAry P.A., Ng L.F.P. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention // Nat. Rev. Immunol. – 2020. – Vol. 20, No. 6. – P. 363–374. DOI: 10.1038/s41577-020-0311-8
15. Медуницын Н.В. Проблемы коррекции иммунитета при вакцинации // Иммунология. – 2017. – Т. 38, № 3. – С. 148–154. DOI: 10.18821/0206-4952-2017-38-3-148-154
16. Абакушина Е.В. Иммунологические аспекты коронавирусной болезни, вызванной SARS-CoV-2 // Гены и Клетки. – 2020. – Т. 15, № 3. – С. 14–21. DOI: 10.23868/202011002
17. Kirtipal N., Bharadwaj S., Kang S.G. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses // Infect. Genet. Evol. – 2020. – Vol. 85. – Art. ID: 104502. DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104502
18. Петров В.И., Рязанова А.Ю., Привальцева Н.С., Некрасов Д.А. Полипрагмазия при лечении стационарных больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 // Фармация и фармакология. – 2022. – Т. 10, № 3. – С. 267–277. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-3-267-277
19. Logunov D.Y., Dolzhikova I.V., Shcheblyakov D.V., Tukhvatulin A.I., Zubkova O.V., Dzharullaeva A.S., Kovyrshina A.V., Lubenets N.L., Grousova D.M., Erokhova A.S., Botikov A.G., Izhaeva F.M., Popova O., Ozharovskaya T.A., Esmagambetov I.B., Favorskaya I.A., Zrelkin D.I., Voronina D.V., Shcherbinin D.N., Semikhin A.S., Simakova Y.V., Tokarskaya E.A., Egorova D.A., Shmarov M.M., Nikitenko N.A., Gushchin V.A., Smolyarchuk E.A., Zyryanov S.K., Borisevich S.V., Naroditsky B.S., Gintsburg A.L.; Gam-COVID-Vac Vaccine Trial Group. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia // Lancet. – 2021. – Vol. 397, No. 10275. – P. 671–681. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00234-8. Erratum in: // Lancet. – Vol. 397, No. 10275. – Art. ID: 670.
20. Мордык А.В., Сайфулина М.Л., Багешева Н.В., Антипова Е.П. Профилактика COVID-19 в семейных очагах // Лечащий врач. – 2021. – Т. 2, № 24. – С. 61–63. DOI: 10.26295/OS.2021.92.25.012

21. Брико Н.И., Каграманян И.Н., Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Чернявская О.П., Полежаева Н.А. Пандемия COVID-19. Меры борьбы с её распространением в Российской Федерации // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 4–12. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-4-12
22. Радаева О.А., Таганов А.В., Рогожина Е.А. Перспективы использования индукторов интерферона на основе двуспиральной РНК для лечения вирусных и бактериальных инфекций // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2022. – Т. 6, № 11. – С. 643–649. DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-11-643-649
23. Li R., Pei S., Chen B., Song Y., Zhang T., Yang W., Shaman J. Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2) // Science. – 2020. – Vol. 368, No. 6490. – P. 489–493. DOI: 10.1126/science.abb3221
24. Shanshal M., Ahmed H.S. COVID-19 and Herpes Simplex Virus Infection: A Cross-Sectional Study // Cureus. – 2021. – Vol. 13, No. 9. – Art. ID: e18022. DOI: 10.7759/cureus.18022
25. Navarro-Bielsa A., Gracia-Cazaña T., Aldea-Manrique B., Abadías-Granado I., Ballano A., Bernad I., Gilaberte Y. COVID-19 infection and vaccines: potential triggers of Herpesviridae reactivation // An. Bras. Dermatol. – 2023. – Vol. 98, No. 3. – P. 347–354. DOI: 10.1016/j.abd.2022.09.004. Epub ahead of print.
26. Белый П.А., Королев В.Л., Лопатухин Э.Ю., Заславская К.Я., Рогожина Е.А., Левина Е.А.; ООО «ПРОМОМЕД РУС». Способ получения суммарной рибонуклеиновой кислоты из биомассы клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Патент Российской Федерации RU2781832C1. 2022.
27. Белый П.А., Королев В.Л., Лопатухин Э.Ю., Заславская К.Я., Рогожина Е.А., Левина Е.А.; ООО «ПРОМОМЕД РУС». Способ получения двуспиральной рибонуклеиновой кислоты из клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Патент Российской Федерации RU2781833C1. Заявл. 19.08.2022; Опубл. 18.10.2023.
28. Белый П.А., Заславская К.Я., Лопатухин Э.Ю., Королев В.Л., Рогожина Е.А., Левина Е.А.; ООО «ПРОМОМЕД РУС». Новое применение природных двуспиральных РНК для лечения и/или профилактики вирусных инфекций. Патент Российской Федерации RU2781903C1. Заявл. 12.08.2022; Опубл. 19.10.2022.

АВТОРЫ

Балыкова Лариса Александровна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой педиатрии, директор Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-2290-0013. E-mail: larisabalykova@yandex.ru

Радаева Ольга Александровна – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии, Медицинский институт ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0003-1383-2474. E-mail: radaevamed@mail.ru

Заславская Кира Яковлевна – ассистент кафедры биологической и фармацевтической химии с курсом организации и управления фармацией Медицинский институт ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-7348-9412. E-mail: kiryonok@yandex.ru

Таганов Алексей Викторович – доктор медицинских наук, профессор кафедры дерматовенерологии с курсом косметологии факультета непрерывного медицинского образования медицинского института ФГАОУ ВО РУДН. ORCID ID: 0000-0001-5056-374X. E-mail: matis87177@yandex.ru

Белый Петр Александрович – кандидат медицинских наук, старший лаборант кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии ФГБОУ ВО МГМУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5998-4874. E-mail: pbely@ncpharm.ru

Захаров Константин Анатольевич – кандидат медицинских наук, заместитель управляющего, ООО «Научно-исследовательский центр Эко-безопасность», г. Санкт-Петербург. E-mail: konstantin.zakharov@mail.ru

Попова Варвара Валерьевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры семейной медицины ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России; заведующая отделением клинических исследований,

ООО «Госпиталь ОрКли», г. Санкт-Петербург. ORCID ID: 0000-0001-6524-1575. E-mail: varvara-pa@mail.ru

Чудиновских Татьяна Ивановна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры госпитальной терапии КирГМУ Минздрава России. ORCID: 0000-0002-7515-2215. E-mail: tanuha_07@mail.ru

Теплых Светлана Валерьевна – генеральный директор, врач акушер-гинеколог, ООО «Профессорская клиника», г. Пермь. E-mail: profklinika@mail.ru

Балабан Игорь Вячеславович – врач-психиатр, психиатр-нарколог, главный специалист, ООО «Аврора МедФорт», г. Санкт-Петербург. E-mail: igorbalaban.81@mail.ru

Козлов Роман Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, ректор ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России; член-корреспондент РАН. ORCID ID: 0000-0001-8728-1113. E-mail: roman.kozlov@antibiotic.ru

Кириченко Наталья Вячеславовна – заместитель главного врача по медицинской части, ОБУЗ «Ивановская клиническая больница», г. Иваново. E-mail: doctor-kirichenko@mail.ru

Симакина Елена Николаевна – врач-инфекционист, заведующая инфекционным отделением ОБУЗ «Клиническая больница № 1», г. Смоленск. ORCID ID: 0000-0002-5709-8913. E-mail: e.simakina@mail.ru

Корянова Ксения Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1571-9301. E-mail: kskor-16@mail.ru

Пушкарь Дмитрий Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой урологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России; врач-уролог ГКБ им. С.И. Спасокукоцкого Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва; академик РАН. ORCID ID: 0000-0002-6096-5723. E-mail: pushkardm@mail.ru

УДК 547.85



Синтез 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она, обладающих анальгезирующей активностью

И.П. Кодониди¹, А.В. Бичеров², Э.А. Манвелян³, А.А. Колодина², А.А. Бичеров², М.М. Манвелян⁴,
А.В. Ивченко¹, Н.Н. Вдовенко-Мартынова¹, А.Т. Навалиева, М.М. Манвелян⁴

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования

«Волгоградский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

357732, Россия, г. Пятигорск, пр-т Калинина, д. 11

² Научно-исследовательский институт физической и органической химии

федерального государственного автономного образовательного учреждения

высшего образования «Южный федеральный университет»,

344090, Россия, г. Ростов-на-Дону, пр-т Стачки, д. 194/2

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

«Северо-Кавказский федеральный университет»,

355017, Россия, г. Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Ставропольский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

355017, Россия, г. Ставрополь, ул. Мира, д. 310

E-mail: kodonidiip@mail.ru

Получена 21.06.2022

После рецензирования 12.12.2022

Принята к печати 20.01.2023

Известно, что производные хиназолин-4(3H)-она обладают широким спектром фармакологических свойств, среди которых наиболее значимым является выраженное влияние на центральную нервную систему. В связи с этим нами выполнено молекулярное конструирование биологически активных соединений, обладающих анальгезирующей активностью за счет образования лиганд-рецепторных комплексов с ноцицептивными и дофаминовыми рецепторами. **Цель.** Молекулярное конструирование и последующий целенаправленный синтез 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она, обладающих анальгезирующей активностью, а также создание математической модели с целью выявления значимых молекулярных дескрипторов.

Материалы и методы. Молекулярное конструирование проводилось с помощью логико-структурного подхода посредством программы PASS с выявлением биологической активности прогнозируемых структур, а также расчетом энергии лиганд-рецепторного взаимодействия. Синтез 2-фенилпроизводных хиназолин-4(3H)-она осуществляли взаимодействием 2-аминобензамида с ароматическими альдегидами в полифосфорной кислоте при нагревании, а 2-бензилпроизводных – сплавлением амидов антралиновой и гомовератровой кислот с последующим сульфированием серной кислотой. Анальгезирующую активность синтезированных соединений изучали на моделях ноцицептивных реакций, вызванных химическими стимулами (формалиновый тест и «уксусные корни»).

Результаты. Молекулярное конструирование позволило выявить перспективные структуры в ряду производных хиназолин-4(3H)-она, влияющие на ноцицептивные и дофаминовые рецепторы и обладающие анальгезирующей активностью. Осуществлена модификация синтеза 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она с целью повышения выхода целевых продуктов посредством более простого и экономически выгодного способа. Прогнозируемые соединения синтезированы циклоконденсацией амида антралиновой кислоты с ароматическими альдегидами или с амидом гомовератровой кислоты. Из результатов первичных фармакологических исследований следует, что синтезированные вещества перспективны с точки зрения создания на их основе обезболивающих средств. Выявлена взаимосвязь структура-активность между молекулярными дескрипторами, в значительной степени отвечающими за анальгезирующую активность, и результатами биологических тестов.

Для цитирования: И.П. Кодониди, А.В. Бичеров, Э.А. Манвелян, А.А. Колодина, А.А. Бичеров, М.М. Манвелян, А.В. Ивченко, Н.Н. Вдовенко-Мартынова, А.Т. Навалиева, М.М. Манвелян. Синтез 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она, обладающих анальгезирующей активностью. *Фармация и фармакология*. 2023;11(1):89-100. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-89-100

© И.П. Кодониди, А.В. Бичеров, Э.А. Манвелян, А.А. Колодина, А.А. Бичеров, М.М. Манвелян, А.В. Ивченко, Н.Н. Вдовенко-Мартынова, А.Т. Навалиева, М.М. Манвелян, 2023

For citation: I.P. Kodonidi, A.V. Bicherov, E.A. Manvelyan, A.A. Kolodina, A.A. Bicherov, M.M. Manvelyan, A.V. Ivchenko, N.N. Vdovenko-Martynova, A.T. Navalieva, M.M. Manvelyan. Synthesis of 2-phenyl- and 2-benzyl derivatives of 4(3H)-quinazolinone with analgesic activity. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(1):89-100. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-89-100

Закключение. Использование компьютерного моделирования позволило выявить аминокислотные остатки, участвующие в образовании лиганд-рецепторного комплекса с ноцицептивным рецептором и построить математическую модель, позволяющую объяснить обезболивающую активность 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она. Предлагаются модифицированные методики синтеза целевых соединений. Полученные коэффициенты аппроксимации между теоретическими значениями и данными фармакологического эксперимента позволяют констатировать достаточную достоверность проведенных исследований.

Ключевые слова: молекулярное конструирование; производные хиназолин-4(3H)-она; дофаминергические соединения; ноцицептивные рецепторы; анальгезирующая активность; реакция циклоконденсации; антранилиамид; ароматические альдегиды; амид гомовератровой кислоты; молекулярные дескрипторы

Список сокращений: ЦНС – центральная нервная система; БАС – биологически активные соединения; ПФК – полифосфорная кислота; НСМО – низшая свободная молекулярная орбиталь; ДМСО – диметилсульфоксид.

Synthesis of 2-phenyl- and 2-benzyl derivatives of 4(3H)-quinazolinone with analgesic activity

I.P. Kodonidi¹, A.V. Bicherov², E.A. Manvelyan³, A.A. Kolodina², A.A. Bicherov², M.M. Manvelyan⁴, A.V. Ivchenko¹, N.N. Vdovenko-Martynova¹, A.T. Navalieva, M.M. Manvelyan⁴

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

² Research Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University, Bld. 2, 192, Stachki Ave., Rostov-on-Don, Russia, 344090

³ North Caucasian Federal University, 1, Pushkin Str., Stavropol, Russia, 355017

⁴ Stavropol State Medical University, 310, Mira Str., Stavropol, Russia, 355017

E-mail: kodonidiip@mail.ru

Received 21 June 2022

After peer review 12 Dec 2022

Accepted 20 Jan 2023

Quinazolin-4(3H)-one derivatives are characterized by a wide range of pharmacological properties, among which the most significant one is a pronounced effect on the central nervous system. In this regard, a molecular design of biologically active compounds that have an analgesic activity due to the formation of ligand-receptor complexes with nociceptive and dopamine receptors, has been performed.

The aim of the study was a molecular design and a subsequent targeted synthesis of 2-phenyl- and 2-benzyl derivatives of 4(3H)-quinazolinone with an analgesic activity, as well as the creation of a mathematical model in order to identify significant molecular descriptors.

Materials and methods. A molecular design was carried out by a logical-structural approach using the PASS program with the identification of the biological activity of the predicted structures, as well as the energy calculation of the ligand-receptor interaction. The synthesis of 2-phenyl derivatives of 4(3H)-quinazolinone was carried out by the reaction of 2-aminobenzamide with aromatic aldehydes in polyphosphoric acid when heated, while the 2-benzyl derivatives were synthesized by fusing amides of anthranilic and homoveratric acids followed by sulfonation with sulfuric acid. The analgesic activity of the synthesized compounds was studied in the models of nociceptive reactions induced by chemical stimuli (a formalin test and "acetic acid writhings").

Results. A molecular design made it possible to identify promising structures in the series of 4(3H)-quinazolinone derivatives that affect nociceptive and dopamine receptors and have an analgesic activity. A modification was made to the synthesis of 2-phenyl- and 2-benzyl derivatives of 4(3H)-quinazolinone in order to increase the yield of the target products by a simpler and more cost-effective method. The predicted compounds were synthesized by cyclocondensation of anthranilic acid amide with aromatic aldehydes or with homoveratric acid amide. It follows from the primary pharmacological studies results that the synthesized substances are promising from the point of view of creating painkillers based on them. A structure-activity relationship between the molecular descriptors, which are largely responsible for the analgesic activity, and the results of biological tests, has been revealed.

Conclusion. The use of computer modelling made it possible to identify the amino acid residues involved in the formation of the ligand-receptor complex with the nociceptive receptor, and to construct a mathematical model to explain the analgesic activity of 2-phenyl- and 2-benzyl derivatives of 4(3H)-quinazolinone. Modified procedures for the synthesis of target compounds have been proposed. The obtained coefficients of the approximation between the theoretical values and the data of the pharmacological experiment make it possible to state a sufficient reliability of the carried out studies.

Keywords: molecular design; quinazolin-4(3H)-one derivatives; dopaminergic compounds; nociceptive receptors; analgesic activity; cyclocondensation; anthranilamide; aromatic aldehydes; homoveratric acid amide; molecular descriptors

Abbreviations: CNS – central nervous system; BACs – biologically active compounds; PPA – polyphosphoric acid; LUMO – lowest unoccupied molecular orbital; DMSO – dimethyl sulfoxide.

ВВЕДЕНИЕ

Целенаправленный поиск новых высокоэффективных и безопасных субстанций лекарственных препаратов, влияющих на ЦНС, является актуальной задачей фармации [1–3]. Эмпирический подход, применяемый при синтетическом получении новых соединений с биологической активностью, недостаточно продуктивен и эффективен [4–7]. Существенно повысить результативность изыскания биологически активных соединений (БАС) возможно при молекулярном моделировании, направленном на поиск структур с заданным фармакологическим действием [8–11]. При конструировании веществ, оказывающих влияние на ЦНС, особое внимание уделяется прогнозированию лиганд-рецепторных взаимодействий, что позволяет не только целенаправленно синтезировать новые фармакологически активные соединения, но и эффективно спланировать фармакологический эксперимент.

Показано нейротропное действие ряда производных хиназолин-4(3H)-она; вызывает значительный интерес поиск среди данной группы веществ БАС, проявляющих анальгезирующую активность [12, 13]. Модифицированная методика синтеза, приведенная в статье, позволяет расширить границы препаративных возможностей получения 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она, что приводит к синтезу целевых продуктов заданными фармакологическими свойствами. Введение заместителей в положение 2 пиримидинового ядра, содержащих гидрокси- и метоксигруппы, приводит к моделированию и достройке дополнительных циклов в создании значительных по объему рядов полигетероциклических и координационных соединений. Выявленные взаимосвязи структура-активность и молекулярные дескрипторы, отвечающие за действие на ЦНС, в дальнейшем позволят более эффективно осуществлять поиск БАС, обладающих обезболивающим действием, содержащим классические фармакофорные фрагменты, присущие анестетикам.

Выбор гидроксильных и метоксильных заместителей в синтезированных нами 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она в фенильном и бензильном фрагментах обусловлен близостью их по электронным эффектам, что позволило выявить корреляционную зависимость между значениями, полученными в ходе молекулярного конструирования и результатами фармакологического эксперимента. Кроме того, поскольку гидроксильные и метоксильные заместители являются электронодонорными, это обеспечит возможность варьировать строение полученных хиназолинов в достаточно широких пределах за счет электрофильного замещения в фенильных и бензильных фрагментах в положении 2, в том числе, и с последующей гетероциклизацией

на один из атомов азота [14–17]. Примечательно, что в одной из последних работ, в которой *in silico* оценивалась перспективность использования ряда азотсодержащих гетероциклов, в качестве лидера был выявлен 2-(4-метоксифенил)-3-амино(3,4,5-тригидроксибензилиден)-хиназолин-4(3H)-он, обладающий именно такими заместителями [18].

Неослабевающий интерес к производным хиназолинона вызван широким спектром их биологической активности, который начался с фармакогностического изучения экстрактов растений, содержащих алкалоиды, структурной основой которых служит ядро этого гетероцикла. Одним из первых таких алкалоидов, который был выделен в чистом виде из экстракта *Glycosmis arborea* (Roxb.) DC. и других растений этого рода [19], является арборин, представляющий собой 2-бензилхиназолинон.

Также интенсивно исследуется возможность использования хиналиновых и хиназолиновых алкалоидов в борьбе с COVID-19 [20], в том числе на базе теоретического изучения структура-активность.

В последние годы интерес к производным хиназолинона был значительно стимулирован поиском и изучением их люминесцентных свойств [21]. Новым трендом в этой области является синтез лигандных систем и получение на их основе многофункциональных координационных соединений, обладающих рядом практически значимых свойств [22, 23].

ЦЕЛЬ. Молекулярное конструирование с последующим синтезом 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она, обладающих анальгезирующей активностью, а также построение математической модели на основе выявленных молекулярных дескрипторов, обуславливающих биологическую активность.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Прогностическая часть

Предварительный прогноз биологической активности осуществлен посредством веб-сервиса программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances, Россия; Protected Online PASS Application) [24].

Оптимизация геометрии, расчет энтальпии и низшей свободной молекулярной орбитали (НСМО) исследуемых структур осуществлялись полумпирическими методом AM1 и методом Монте-Карло посредством программы HyperChem 6.0.9. (в свободном доступе). Для моделирования лиганд-рецепторного взаимодействия с дофаминовыми и ноцицептивными рецепторами методом молекулярного докинга применялась программа Molegro Virtual Docker 6.0.1 (демонстрационная версия), расчеты которой основаны на алгоритме молекулярных вычислений – MolDockScore. Посредством этой

программы осуществлено моделирование 50 наиболее стабильных конформаций исследуемых веществ в активном центре дофаминового и ноцицептивного рецептора. Полученные результаты оптимизировали в соответствии с опубликованными экспериментальными данными рентгеноструктурного анализа белок-лигандного комплекса [25]. Для изучения энергетических составляющих пространственно-конформационных взаимодействий 2-фенил- и 2-бензилпроизводных 4 хиназолин-4(3H)-она с сайтом связывания дофаминового рецептора применялась 3D-структура комплекса белок-лиганд с идентификационным кодом 5WIU и ноцицептивным рецептором 4EA3. Данные белок-лигандные комплексы представлены в базе данных RCSB Protein Data Bank.

Синтетическая часть

Общая методика синтеза соединений III–VII. Раствор, состоящий из смеси 0,01 моль 2-аминобензамида (I) и 0,01 моль соответствующего ароматического альдегида (II) в 50 г полифосфорной кислоты нагревали 30 мин при температуре 80–90°C. Образовавшийся после гидролиза реакционной смеси осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали из ледяной уксусной кислоты. Выходы продуктов реакций составили 75–82%.

Синтез 2-(3,4-диметоксибензил)-4(3H)хиназолинона VIII. Расплав смеси 19,5 г (0,1 моль) амида гомовератровой (3,4-диметоксифенилуксусной) кислоты и 15,2 г (0,11 моль) 2-аминобензамида (I) нагревали в открытом сосуде при 110–120°C до прекращения выделения паров воды (~40–60 мин). Расплав охлаждали до 90–70°C и разбавляли 100 мл уксусной кислоты, нагретой до той же температуры. Выпавший после охлаждения кристаллический осадок отфильтровывали, дважды промывали холодным изопропиловым спиртом и высушивали при комнатной температуре. Выход 79–82%, $T_{пл.} = 225–226^\circ\text{C}$ (бесцветные кристаллы).

Спектр ^1H ЯМР (300 МГц), δ , м.д., $\text{DMSO}-d_6$: 3,70 (с, 3H, OCH_3), 3,74 (с, 3H, OCH_3), 3,00 (с, 2H, CH_2), 6,91 (д, 1H, Ar), 6,93 (д, 1H, Ar), 7,07 (с, 1H, Ar), 7,58 (т, 1H, Ar), 7,67 (д, 1H, Ar), 7,88 (т, 1H, Ar), 8,11 (д, 1H, Ar).

Синтез 6-сульфо-2-(3,4-диметоксибензил)-хиназолин-4(3H)-она IX. При комнатной температуре и помешивании растворяли 3,0 г (0,01 моль) 2-(3,4-диметоксибензил)хиназолин-4(3H)-она (VIII) в 15 мл концентрированной серной кислоты. Гомогенную реакционную смесь выдерживали 10–12 ч при комнатной температуре и вводили в 150 г смеси воды со льдом. Образовавшийся бесцветный осадок отфильтровывали и тщательно промывали водой и изопропиловым спиртом. Выход 80%, $T_{пл.} > 300^\circ\text{C}$.

^1H ЯМР (600 МГц), δ , м.д., $\text{DMSO}-d_6$: 3,55 (с, 6H, 2OCH_3), 4,70 (с, 2H, CH_2), 6,94 (с, 1H, Ar), 7,38 (с, 1H, Ar), 7,20–7,55 (d+t, 2H, Ar), 7,83 (т, 1H, Ar), 8,25 (д, 2H, Ar). Высушенный на воздухе продукт дальше использовали без дополнительной очистки.

Исследования *in vivo*

Исследуемые животные

Первичный фармакологический скрининг выполнен на белых половозрелых крысах-самках линии Wistar массой 200–220 г (178 животных по 9–10 в группе, сформированных случайным образом). Животные содержались в свободном доступе к воде и пище в стандартных условиях вивария. Требования к уходу за животными осуществлялись согласно Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для научных экспериментов.

Эксперименты были выполнены в соответствии со стандартами законодательства Российской Федерации (ГОСТ Р 33044-2014, ГОСТ Р 33647-2015), Правилами надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза (ICH GCP). Исследования проведены с соблюдением биоэтических норм, одобрены локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» (Протокол № 89 от 18 марта 2020 г.).

Изучение специфической активности

Оценку периферического уровня болевой чувствительности и, следовательно, величину анальгезирующей активности синтезированных соединений определяли на моделях ноцицептивных реакций¹, вызванных химическими стимулами (формалиновый тест и «уксусные корчи») [26].

Для оценки соматической боли использовали формалиновый тест. В данном тесте гипералгезию моделировали субплантарным введением инсулиновым шприцем («Елец МПК», Россия) 50 мкл 2% водного раствора формалина (ЗАО «База № 1 Химреактивов», Россия) в тыльную поверхность правой задней лапки. Фазы ноцицептивного ответа регистрировали по количеству болевых реакций («flinches»: поднятие лапки, облизывание, покусывание места инъекции) с момента введения формалина и на протяжении всего времени наблюдения – 60 мин. Величину обезболивающей активности исследуемых веществ оценивали суммарно, а также отдельно для I (первые 10 мин) и II (с 10-й по 60-ю мин) фаз ноцицептивного ответа по уменьшению числа болевых реакций в сравнении с показателями у контрольных животных, принятых за 100%.

С помощью теста «уксусные корчи» оценивали перитовисцеральную боль, вызванную альгогенами. Этот тест является моделью висцеральной ноцицепции и используется для изучения периферической анальгетической активности новых веществ посредством метода химического раздражения ноцицепторов брюшины и соответствующих двигательных ответов². Такую болевую реакцию вызывали внутрибрюшинным

¹ Воронина Т.А., Гузевых Л.С. Методические рекомендации по изучению анальгетической активности лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под общей редакцией А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 197–218.

² Там же.

введением 1% раствора уксусной кислоты («Лаверна», Россия). Анальгетическую активность оценивали по уменьшению количества «корчей» («корчи» – сокращения абдоминальных мышц, чередующиеся с их расслаблением, вытягиванием задних конечностей, прогибом спины, напоминая боль при перитоните) за 15-минутный период наблюдения после введения раствора уксусной кислоты в % по отношению к показателям контрольной группы животных, принятым за 100%.

Исследуемые соединения (лабораторные шифры: III, IV, V, VI, VII, VIII, IX) изучали в дозе 2/10 от молекулярной массы в мг/кг (III – 47,6 мг/кг; IV – 53,6 мг/кг; V – 53,6 мг/кг; VI – 53,6 мг/кг; VII – 56,4 мг/кг; VIII – 59,2 мг/кг; IX – 75,2 мг/кг). В качестве референтного препарата применяли лидокаин (раствор для инъекций 20 мг/мл, 2 мл, «Дальхимфарм», Россия) в дозе 1 мг/кг. Все соединения исследуемого ряда, референтный препарат, физиологический раствор (ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь) контрольным животным (0,4 мл) вводились внутривенно однократно за 40 мин до химических раздражителей. Дозы изучаемых веществ и препарата сравнения подбирались с учетом данных литературы [27, 28] и методом титрования доз.

Статистическая обработка результатов

Статистический анализ результатов проведен с применением пакетов компьютерных программ: «Microsoft Excel 2010» (Microsoft Office, США), «Statistica 10» (Statsoft, США), «BIOSTAT» (Glantz, McGraw Hill, США). Определяли нормальность распределения полученных данных с применением критерия Шапиро-Уилка. При сравнении независимых нормально распределенных данных использовали однофакторный дисперсионный анализ с тестом Даннета (множественное сравнение с контрольной группой). При распределении данных исследования, отличных от нормального, применяли критерий Краскела-Уоллиса с постобработкой тестом Данна. Статистически значимыми приняты отличия при $p < 0,05$.

Прогностический эксперимент *in silico*

Молекулярные дескрипторы рассчитывались посредством программы T.E.S.T. (Toxicity Estimation Software Tool. EPA, США), которая содержит информацию о 794 дескрипторах, связанных с 2D-структурой соединений. Корреляционный анализ осуществлялся между зависимыми переменными, представляющими данные биологической активности и независимыми переменными, включающими энергию взаимодействия с аминокислотными остатками, величины энергии (Total Energy), а также молекулярные дескрипторы. В построении математической модели использовали методы линейной регрессии и наименьших квадратов, а также скользящий контроль по отдельным объектам (Leave-One-Outcross-Validation).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании логико-структурного подхода была сформирована группа виртуальных производных хиназолин-4(3H)-она. На первом этапе компьютерного моделирования структур осуществлялся прогноз биологической активности посредством программы PASS, результаты которого для наиболее перспективных соединений приведены в таблице 1.

Исходя из данных таблицы 1 видно, что практически все выделенные из общего массива гидроксифенильные производные могут характеризоваться влиянием на ЦНС, обладать бронхолитическим, противоязвенным и антиишемическим действием. Структуры, содержащие гидроксиметоксифенильные остатки (IV, V, VI) и диметоксибензильный фрагмент, кроме структуры 2-диметоксифенильного замещенного VII, могут влиять на высвобождение дофамина. Все прогнозируемые соединения, кроме вещества VII, возможно, обладают противовирусной активностью и кардиопротекторным действием. Введение в ароматическое ядро 2-диметоксибензильного фрагмента сульфогруппы может привести к усилению противоязвенной активности и потере стимулирующего влияния на высвобождение нейромедиаторов – дофамина и серотонина.

Результаты молекулярного докинга в ряду производных хиназолин-4(3H)-она с ноцицептивным и дофаминовым рецепторами представлены в таблице 2.

Значения минимальных и средних энергий взаимодействия с ноцицептивным и дофаминовым рецепторами для 2-фенильных и 2-бензильных производных хиназолин-4(3H)-она позволяют предположить, что наибольшую дофаминергическую активность проявляет соединение IX, так как его лиганд-рецепторный комплекс с дофаминовым рецептором характеризуется наибольшей устойчивостью. Это соединение, возможно, превосходит остальные прогнозируемые 2-фенилпроизводные, а соединение VIII образует менее устойчивые лиганд-рецепторные комплексы в сравнении с веществом IX.

Для синтеза 2-фенилпроизводных III–VII была разработана модифицированная методика, не требующая использования окислителя.

Описаны синтезы 2-фенилзамещенных производных хиназолин-4(3H)-онов, реализованные циклоконденсацией азометинов антралиновой кислоты, которые легко образуются взаимодействием альдегидов и ее N-ацилированными амидами. Однако сам процесс циклизации протекает достаточно трудно в присутствии сильных окислителей диацетатаиодозобензола или перманганата калия [29, 30].

Предлагаемая оптимизированная методика синтеза гидрокси- и метоксифенилпроизводных хиназолин-4(3H)-она основана на взаимодействии эквимольных количеств амида антралиновой кислоты и соответствующих ароматических альдегидов в среде полифосфорной кислоты (ПФК).

Необходимый эффект достигается благодаря тому, что в отличие от ароматических карбоновых кислот, соответствующие им альдегиды хорошо растворимы в ПФК.

Схема получения целевых соединений (III–VII) приведена ниже (Рис. 1).

С целью увеличения выхода целевых 2-фенилпроизводных хиназолин-4(3H)-она используется метод синтеза с применением полифосфорной кислоты. Этот метод более простой и позволяет получать целевые продукты с выходами, варьирующимися от 79 до 82%.

Синтез 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она осуществлялся путем сплавления амидов антралиновой и гомовератровой кислот и приводил к формированию соединения VIII с последующим сульфированием серной кислотой и образованием вещества IX (Рис. 2).

Для подтверждения достоверности молекулярного конструирования проведено исследование фармакологических свойств синтезированных веществ. Ранее экспериментально было показано антикаталептическое действие прогнозируемых 2-фенильных и 2-бензильных производных хиназолин-4(3H)-она, а также влияние на свертываемость крови [12, 31].

В продолжение данных исследований мы сочли целесообразным изучить их анальгезирующую активность. Под влиянием изучаемых соединений у самок животных наблюдалось статистически значимое уменьшение числа болевых ответов при применении вещества VIII на протяжении всех этапов тестирования с формалином (табл. 3).

В тесте «уксусные корчи» производные хиназолин-4(3H)-она – III, VIII и IX статистически значимо ограничивали частоту болевых ответных реакций у самок крыс. При этом эффект вещества III был наиболее выражен, а соединения VIII и IX превосходили по действию препарат сравнения лидокаин.

На основании данных фармакологических исследований следует, что соединения III, VIII, IX уменьшают частоту ноцицептивных ответов у самок крыс, проявляя анальгезирующее действие.

Далее нами осуществлено изучение количественных соотношений структура-активность в ряду 2-фенильных и 2-бензильных производных хиназолин-4(3H)-она, позволяющее выявить молекулярные дескрипторы, характеризующие обезболивающую активность.

Оценку достоверности результатов молекулярного конструирования следует подтвердить корреляционным анализом. Данный анализ проводился между теоретически вычисленными энергиями образования лиганд-рецепторного комплекса и молекулярными дескрипторами с экспериментально полученными результатами анальгетической активности. В качестве экспериментальных значений для указанных расчетов использовали значения болевых ответных реакций у самок крыс.

Коэффициент аппроксимации (R^2) между минимальными энергиями связывания исследуемых молекул с ноцицептивным рецептором и результатами формалинового теста составил 93,9%, а средними значениями энергий образования лиганд-рецепторного комплекса – 82,3%. Коэффициент аппроксимации между минимальной энергией связывания прогнозируемых структур с дофаминовым рецептором и результатами формалинового теста многократно меньше, поэтому они не приводятся. Этот факт позволяет предположить большой вклад взаимодействия исследуемых веществ с ноцицептивным рецептором, проявляющийся в обезболивающей активности 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она. Наиболее устойчивые лиганд-рецепторные комплексы соединения-лидера (VIII) в участке связывания с дофаминовым и ноцицептивным рецепторами представлены на рисунке 3.

Коэффициент аппроксимации между минимальной энергией связывания исследуемых молекул с ноцицептивным рецептором и значениями теста «уксусных корчей» составлял 75,48%. Вместе с тем, коэффициент аппроксимации между энергиями связывания исследуемых молекул с дофаминовым рецептором и результатами теста был незначителен, т.е. корреляция отсутствовала.

В дальнейшем для выявления корреляционной зависимости между квантово-химическими и топологическими дескрипторами с результатами обезболивающей активности использовались программы HyperChem (расчет энергии) и Т.Е.С.Т. (Toxicity Estimation Software Tool) [32] (табл. 4).

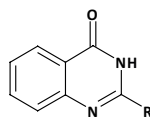
В таблице 5 приведены значения энергии наиболее устойчивых конформаций с выделенными аминокислотными остатками в центре связывания БАС и ноцицептивного рецептора.

Для выбора наиболее значимых аминокислотных остатков при построении математической модели в программе Molegro Data Modeller рассчитывали матрицу корреляций для результатов проведенных тестов. Матрица приводится ниже в таблице 6.

Исходя из количества веществ в выборке и данных матрицы корреляций формалинового теста, для построения математической модели выбраны следующие аминокислотные остатки: **Gln 280, Ile 219, Met 134, Phe 215**; для теста «уксусные корчи» – **Asp 130, Phe 215, Met 134, Val 202**. Кроме указанных энергий взаимодействия наиболее актуальными при построении прогностической модели оказались две независимые переменные Total Energy и SdO (табл. 7).

Предлагаемая прогностическая модель может использоваться для молекулярного конструирования высокоэффективных и безопасных БАС, так как она характеризуется достаточно высокими коэффициентами аппроксимации и позволяет судить о значительной достоверности осуществленных исследований.

Таблица 1 – Прогнозируемые виды биологической активности гидрокси- и метоксифенильных, а также диметоксибензильных производных хиназолин-4(3H)-она



Заместитель R	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Биологическая активность							
	Pa, %						
Бронхолитическая	86,3	81,2	75,1	75,1	80,7	55,7	40,5
Психотропная (стимулятор высвобождения дофамина)	39,8	57,4	64,2	64,2	–	60,5	35,9
Психотропная (стимулятор высвобождения серотонина)	54,6	50,3	56,5	56,5	61,2	44,7	–
Противовирусная	89,4	84,2	73,4	73,4	–	64,8	52,4
Антиишемическая	61,2	65,4	70,3	70,3	67,4	59,7	64,8
Ингибитор гистамина	54,1	50,3	51,2	51,2	–	50,1	46,5
Нейропротекторная	51,6	52,7	56,8	56,8	63,5	57,3	32,7
Противоязвенная	47,3	61,4	62,6	62,6	62,1	–	85,7
Кардиопротекторная	54,6	58,9	65,7	65,7	–	57,6	51,9

Примечание: Pa (%) характеризует вероятность проявления фармакологической активности.

Таблица 2 – Минимальные и средние значения энергии взаимодействия с ноцицептивными и дофаминовыми рецепторами 2-фенильных и 2-бензильных производных хиназолин-4(3H)-она

Вещества	Минимальная энергия (ноцицептивный рецептор), ккал/моль	Средняя энергия (ноцицептивный рецептор), ккал/моль	Минимальная энергия (дофаминовый рецептор), ккал/моль	Средняя энергия (дофаминовый рецептор), ккал/моль
III	-98,443	-75,808	-94,905	-83,205
IV	-99,098	-74,455	-110,399	-93,380
V	-106,250	-78,909	-108,822	-93,935
VI	-99,595	-73,997	-108,96	-92,002
VII	-105,502	-81,574	-106,676	-94,181
VIII	-111,212	-87,347	-110,732	-99,709
IX	-115,508	-91,058	-126,920	-111,839
Лидокаин	-88,152	-68,476	-87,250	-70,356

Таблица 3 – Влияние 2-фенильных и 2-бензильных производных хиназолин-4(3H)-она на показатели формалинового теста и число «уксусных корчей» у самок крыс (в % к данным контрольной группы)

Вещества	Формалиновый тест			Уксусные корчи
	Весь период	1 фаза (10 мин)	2 фаза (50 мин)	
III	68,0	65,9	69,3	11,7*
IV	71,3	64,5	75,2	45,6
V	111,0	42,9	150,7	63,6
VI	96,7	71,9	111,1	75,6
VII	96,2	71,0	110,8	82,0
VIII	17,0*	29,1*	10,0*	19,5*
IX	43,5	49,2	40,2	32,0*
Лидокаин	50,3	61,4	43,8	39,4*

Примечание: достоверно относительно контрольной группы самок крыс: * – $p < 0,05$ (критерий Краскелла-Уоллиса с посттестом Данна).

Таблица 4 – Тотальная энергия образования, вычисленная методом Монте-Карло и молекулярные электротопологические индексы для 2-фенильных и 2-бензильных производных хиназолин-4(3H)-она

Вещества	Энергия, ккал/моль	SdO	SHssNH	Формалиновые корчи	Уксусные корчи
III	-3216,51	11,907	2,0492	68,0	11,7
IV	-3582,71	11,9981	2,0621	71,3	45,6
V	-3582,87	12,0181	2,0631	111,0	63,6
VI	-3836,77	12,0989	2,0662	96,7	75,6
VII	-3574,60	12,0302	2,0866	96,2	82,0
VIII	-4115,67	12,073	2,0158	17,0	19,5
IX	-4471,47	35,7029	2,1112	43,5	32,0
Лидокаин	-3232,35	11,8923	1,8784	50,3	39,4

Таблица 5 – Энергии взаимодействия 2-фенильных и 2-бензильных производных 4(3H)-хиназолинона с аминокислотными остатками ноцицептивного рецептора

Вещества	Аминокислотные остатки								
	Ala216	Gln280	Ile219	Leu284	Met134	Phe215	Phe220	Ser223	Val202
III	-0,655	-7,449	-20,062	-9,307	-6,349	-3,098	-9,962	-4,889	0
IV	-13,857	-9,791	-17,865	-1,903	-1,694	-19,934	-3,943	-0,903	-0,3986
V	-11,549	-10,136	-19,453	-8,007	-0,311	-22,050	-9,408	-0,661	-1,7388
VI	-11,974	-5,023	-13,882	-10,253	0	-23,701	-6,637	-0,811	-3,7199
VII	-8,713	-4,146	-19,999	-8,621	0	-22,635	-9,043	-0,581	-3,9376
VIII	-7,605	-22,105	-8,656	-9,932	-12,806	-4,417	-8,089	-2,506	0
IX	-8,843	-13,104	-13,042	-5,753	-6,222	-10,783	-5,317	-1,357	0
Лидокаин	-9,059	-19,582	-14,256	-9,166	-2,763	-3,876	-8,039	-1,298	0

Таблица 6 – Результаты математической модели по значимым аминокислотным остаткам 2-фенильных и 2-бензильных производных хиназолин-4(3H)-она

Биологическая активность	Аминокислотные остатки								
	Ala216	Asp130	Gln280	Ile219	Met134	Phe135	Phe215	Ser223	Val202
Формалиновый тест	0,099	0,421	0,670	0,570	0,780	0,039	0,648	0,162	0,553
Уксусные корчи	0,390	0,583	0,356	0,115	0,682	0,453	0,801	0,633	0,834

Таблица 7 – Результаты построения прогностической модели обезболивающей активности для 2-фенильных и 2-бензильных производных хиназолин-4(3H)-она

Биологическая активность	R ²	R ² для скользящего контроля	Модель
Формалиновый тест	0,915	0,877	Активность = 0,00398328×Total Energy–0,271986×SdO+1,24195×Gln280–1,58577×Ile219+2,06023×Met134–1,04422×Phe215+70,3678
«Уксусные корчи»	0,954	0,886	Активность=–0,00667588×Total Energy–0,158964×SdO+1,72064×Asp130+1,14011×Met134–0,852054×Phe215–5,75385×Val202+12,5588

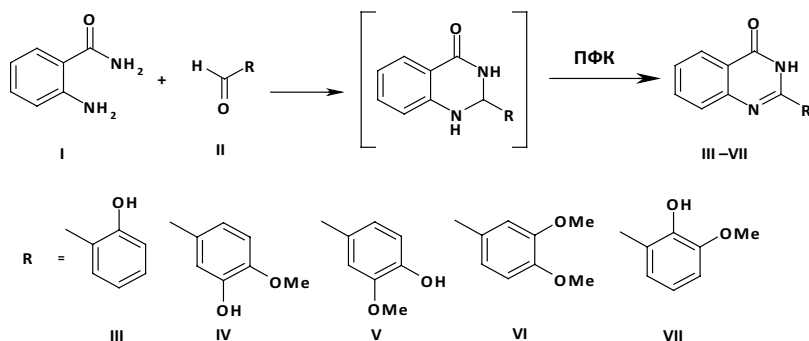


Рисунок 1 – Схема синтеза 2-фенилпроизводных хиназолин-4(3H)-она III-VII

Примечание: ПФК – полифосфорная кислота.

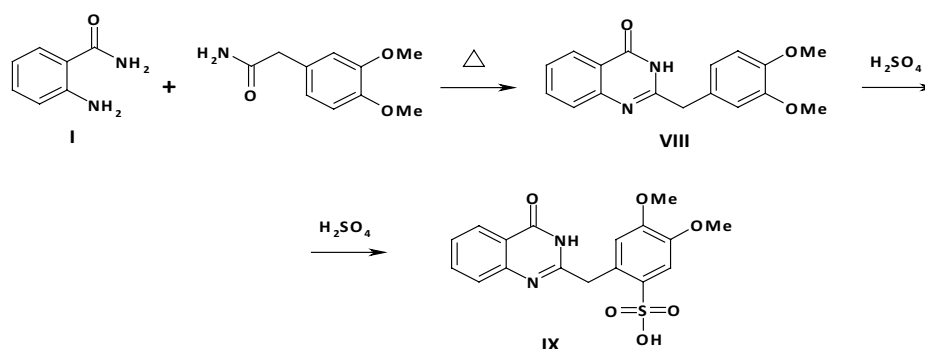


Рисунок 2 – Схема синтеза 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она VIII и IX

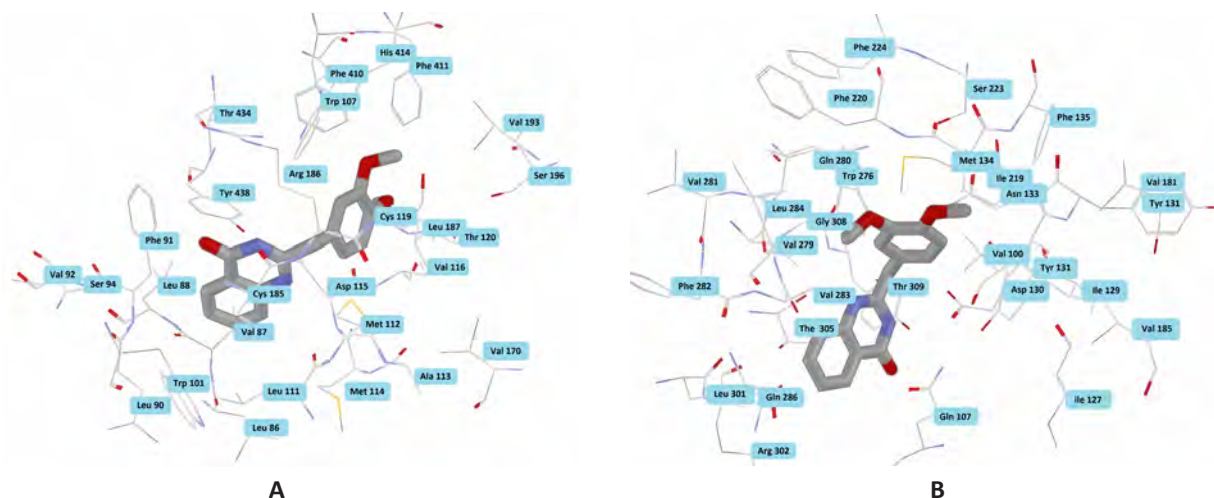


Рисунок 3 – Лиганд-рецепторные комплексы соединения-лидера (VIII), обладающих наибольшей устойчивостью, с дофаминовым (А) и ноцицептивным (В) рецепторами

ОБСУЖДЕНИЕ

Нейропротекторная активность может проявляться в стимулирующем влиянии на нейромедиаторные системы, что стало основанием для молекулярного докинга прогнозируемых веществ с ноцицептивным и дофаминовым рецепторами.

Формалин, в первую очередь, оказывает свое фармакологическое действие через активацию каналов переменного рецепторного потенциала ангирина 1 – TRPA1, которые в нормальном состоянии реагируют на холод и стимулируют развитие воспаления [33–35]. Согласно экспериментальным исследованиям в механизме формалинового теста можно выделить две фазы. Препараты, относящиеся к местным анестетикам, влияют на первую фазу ноцицептивного ответа, а нестероидным противовоспалительным средствам присуще подавление в основном второй фазы формалинового теста [26, 36–38].

Изучаемые соединения, предположительно, обладают дофаминергической активностью, которая выражается в антикаталептическом действии, выявленном для 2-фенильных и 2-бензилных производных хиназолин-4(3H)-она в предыдущих исследованиях [12]. Известны две группы дофаминовых рецепторов: группа D₁-типа (D₁ и D₅) и группа D₂-типа (D₂, D₃ и D₄), которые

являются противоположными по механизму действия и по-разному воздействуют на клеточные процессы. Дофаминовые рецепторы связаны с G-белками. Группа рецепторов D₁-типа обладают активирующим действием на аденилатциклазу, в тоже время рецепторы, относящиеся к D₂-типу, угнетают её активность, что приводит к снижению концентрации цАМФ в клетках и активации калиевых каналов [39, 40].

По отношению к ноцицептивному рецептору все прогнозируемые структуры характеризуются большей энергией связывания с рецептором, чем препарат сравнения – лидокаин. Сопоставляя результаты молекулярного докинга 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она, можно сделать предположение о выраженной обезболивающей активности последних. Величины минимальных и средних энергий формирования лиганд-рецепторного комплекса с ноцицептивным рецептором соизмеримы для структур VIII и IX.

Модификация препаративных исследований заключается в проведении реакции в среде полифосфорной кислоты, что позволяет без дополнительной стадии окисления образующийся промежуточный дигидрохиназолинон превращать в целевой гетероцикл хиназолин-4(3H)-она. Нами показано, что при проведении реакции в среде

ПФК дополнительный процесс окисления отпадает. Тот факт, что выходы реакции превышают 50% при эквимольном соотношении реагентов, позволяет исключить возможность протекания реакции через диспропорционирование. Возможно, роль окислителя выполняет атмосферный кислород, либо пентавалентный фосфор ПФК.

Важным требованием, предъявляемым к кандидатам в лекарственные препараты, является их водорастворимость, повышение которой заключается, в том числе, и во введении в состав молекулы высоко полярных группировок. Исходя из этого, для повышения растворимости субстанции в воде получены структуры, образующие внутренние соли. Наиболее простой путь к этой цели заключается в сульфировании активированного ароматического ядра азотсодержащего гетероцикла, гетероциклический фрагмент которого играет роль акцептора протона. Хиназолины, содержащие два атома азота, в этом плане представляются достаточно хорошей моделью.

Из данных таблицы 3 следует, что обезболивающая активность наблюдается у 2-фенильных и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она в формалиновом тесте и в тесте «уксусные корчи». Следует отметить, что обезболивающий эффект вещества VIII был стабилен и выражен в обеих использованных методиках тестирования, по сравнению с активностью других исследованных соединений и референтного препарата. В тесте «уксусные корчи» наибольшее анальгезирующее влияние отмечалось у вещества III, причем эффект здесь более выражен, чем у лидокаина.

Поскольку соединение VIII активно в первую фазу формалинового теста, то можно предположить, что оно проявляет антиноцицептивное действие, оказывая местноанестезирующее влияние. Соединение VIII блокирует и вторую фазу теста

у животных, что позволяет предположить в механизме обезболивающего действия данного вещества сочетание местноанестезирующей и противовоспалительной активности. Возможно, анальгетическая активность исследуемого соединения реализуется путем воздействия на С-полимодалные ноцицепторы, чувствительные к химическим стимулам, в частности, к формалину.

Корреляционный анализ квантово-химических параметров структур и результатов фармакологических тестов показал, что наибольший коэффициент аппроксимации наблюдался для 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она и препарата сравнения лидокаина при использовании в расчетах тотальной энергии и результатов формалинового теста (96,08%), однако для теста «уксусные корчи» коэффициент значительно меньше (69,58%). Соответственно, эти данные позволяют выявить различия тестов формалиновых и «уксусных корчей» для оценки анальгезирующей активности и перспективность их использования в прогнозировании обезболивающей активности для 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Посредством молекулярного конструирования осуществлен целенаправленный синтез 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она, обладающих анальгезирующей активностью. Результаты корреляционных исследований позволили выявить молекулярные дескрипторы и создать прогностическую модель для поиска новых обезболивающих соединений в ряду производных хиназолин-4(3H)-она. Достоверность молекулярного конструирования виртуальных молекул с заданными фармакологическими свойствами в определенной мере доказана экспериментально.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (государственное задание в области научной деятельности Южного федерального университета на 2020 год, проект № FENW-2020-0031 (0852-2020-0031).

ВКЛАД АВТОРОВ

И.П. Кодониди – идея исследования и методология молекулярного конструирования биологически активных веществ и расчеты QSAR молекулярных дескрипторов; А.В. Бичеров – разработка методов синтеза 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она; Э.А. Манвелян – построение стратегии фармакологических исследований, интерпретация результатов, редактирование и утверждение фармакологической части рукописи; А.А. Колодина – интерпретация ЯМР-спектров, очистка производных хиназолин-4(3H)-она; А.А. Бичеров – синтез 2-фенил- и 2-бензилпроизводных хиназолин-4(3H)-она; М.М. Манвелян – проведение фармакологических исследований, статистический анализ и интерпретация результатов, написание фармакологической части рукописи; А.В. Ивченко – анализ взаимосвязи структура-анальгетическая активность; Н.Н. Вдовенко-Мартынова – интерпретация результатов расчета молекулярных дескрипторов; А.Т. Навалиева – анализ прогностических моделей; М.М. Манвелян – проведение фармакологических исследований.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Amrutkar R.D., Ranawat M.S. Microwave Assisted Synthesis and Molecular Docking Studies of Some 4-(3H)-quinazolinone Derivatives as Inhibitors of Human Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, the GABA (A)R-BETA3 Homopentamer // *Med. Chem.* – 2021. – Vol. 17, No. 5. – P. 453–461. DOI: 10.2174/1573406416666191216121442
- Chiriapkin A.S., Kodonidi I.P., Pozdnyakov D.I. Synthesis and evaluation of cerebroprotective activity of novel 6,7-dimethoxyquinazolin-4(3H)-one derivatives containing residues of amino acids and dipeptides // *Chimica Techno Acta.* – 2022. – Vol. 9, No. 2. – Art. ID: 20229212. DOI: 10.15826/chimtech.2022.9.2.12
- El-Badry Y.A., El-Hashash M.A., Al-Ali K. Synthesis of bioactive quinazolin-4(3H)-one derivatives via microwave activation tailored by phase-transfer catalysis // *Acta Pharm.* – 2020. – Vol. 70, No. 2. – P. 161–178. DOI: 10.2478/acph-2020-0001
- He J., Wang X., Zhao X., Liang Y., He H., Fu L. Synthesis and antitumor activity of novel quinazolinone derivatives containing thiosemicarbazide moiety // *Eur. J. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 54. – P. 925–930. DOI: 10.1016/j.ejmech.2012.06.003
- Haffner C.D., Becherer J.D., Boros E.E., Cadilla R., Carpenter T., Cowan D., Deaton D.N., Guo Y., Harrington W., Henke B.R., Jeune M.R., Kaldor I., Milliken N., Petrov K.G., Preugschat F., Schulte C., Shearer B.G., Shearer T., Smalley T.L. Jr., Stewart E.L., Stuart J.D., Ulrich J.C. Discovery, Synthesis, and Biological Evaluation of Thiazoloquinazolinones as Potent CD38 Inhibitors // *J. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 58, No. 8. – P. 3548–3571. DOI: 10.1021/jm502009h
- Sheorey R.V., Thangathiruppathy A., Alagarsamy V. Synthesis and pharmacological evaluation of 3-propyl-2-substitutedamino-3h-quinazolin-4-ones as analgesic and anti-inflammatory agents // *J. Heterocyclic Chem.* 2016. – Vol. 53, No. 5. – P. 1371–1377. DOI: 10.1002/jhet.1973
- Hrast M., Rožman K., Jukić M., Patin D., Gobec S., Sovà M. Synthesis and structure-activity relationship study of novel quinazolinone-based inhibitors of MurA // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2017. – Vol. 27, No. 15. – P. 3529–3533. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.05.064
- Obafemi G.A., Fadare O.A., Jasinski J.P., Millikan S.P., Obuotor E.M., Iwalewa E.O., Famuyiwa S.O., Sanusi K., Yilmaz Y., Ceylan U. Microwave-assisted synthesis, structural characterization, DFT studies, antibacterial and antioxidant activity of 2-methyl-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolin-2-carboxylic acid // *J. Molecul. Structur.* – 2018. – Vol. 1155. – P. 610–622. DOI: 10.1016/j.molstruc.2017.11.018
- Hieu D.T., Anh D.T., Tuan N.M., Hai P.T., Huong L.T., Kim J., Kang J.S., Vu T.K., Dung P.T.P., Han S.B., Nam N.H., Hoa N.D. Design, synthesis and evaluation of novel N-hydroxybenzamides/N-hydroxypropenamides incorporating quinazolin-4(3H)-ones as histone deacetylase inhibitors and antitumor agents // *Bioorg. Chem.* – 2018. – Vol. 76. – P. 258–267. DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.12.007
- El-Badry Y.A., Anter N.A., El-Sheshtawy H.S. Synthesis and evaluation of new polysubstituted quinazolinone derivatives as potential antimicrobial agents // *DetPharmaChemica.* – 2012. – Vol. 4, No. 3. – P. 1361–1370.
- Ma J., Li P., Li X., Shi Q., Wan Z., Hu D., Jin L., Song B. Synthesis and antiviral bioactivity of novel 3-((2-((1E,4E)-3-oxo-5-aryl-penta-1,4-dien-1-yl)phenoxy)methyl)-4(3H)-quinazolinone derivatives // *J. Agric. Food Chem.* – 2014. – Vol. 62, No. 36. – P. 8928–8934. DOI: 10.1021/jf502162y
- Овакимян А.Г. Бичеров А.А., Кодониди И.П., Оганесян Э.Т., Манвелян Э.А., Бичеров А.В., Зайченко С.Б., Тюрин Р.В., Манвелян М.М. Прогноз, синтез и изучение дофаминергической активности гидроксид- и метоксифенильных производных 4-(3)хиназолинона // *Современные проблемы науки и образования.* – 2015. – № 2–2.
- Sarraz M., Sultana N., Rashid U., Akram M.S., Sadiq A., Tariq M.I. Synthesis, biological evaluation and docking studies of 2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-one derivatives as inhibitors of cholinesterases // *Bioorg. Chem.* – 2017. – Vol. 70. – P. 237–244. DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.01.004
- Chiriapkin A., Kodonidi I., Pozdnyakov D. Targeted Synthesis and Study of Anti-tyrosinase Activity of 2-Substituted Tetrahydrobenzo[4,5]Thieno[2,3-d]Pyrimidine-4(3H)-One // *Iran J. Pharm. Res.* – 2022. – Vol. 21, No. 1. – Art. ID: e126557. DOI: 10.5812/ijpr-126557
- Chiriapkin A.S., Kodonidi I.P., Pozdnyakov D.I., Zolotych D.S. Synthesis and QSAR of new azomethine derivatives as agents for the treatment of Alzheimer's disease // *Pharmacologyonline.* – 2021. – Vol. 3. – P. 563–584.
- Чиряпкин А.С., Кодониди И.П., Ларский М.В. Целенаправленный синтез и анализ биологически активных азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* – 2021. – Т. 10, № 2. – С. 19–25. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-00-00.
- Chiriapkin A.S., Kodonidi I.P., Pozdnyakov D.I., Glushko A.A. Synthesis, in vitro and docking studies of 2-substituted 5,6,7,8-tetrahydrobenzo[4,5]thieno[2,3-d]pyrimidine-4(3H)-one derivatives as agents for the treatment of Alzheimer's disease // *Chimica Techno Acta.* – 2022. – Vol. 9, No. 2. – P. 20229204. DOI: 10.15826/chimtech.2022.9.2.04
- Mansour M.A., AboulMagd A.M., Abdel-Rahman H.M. Quinazoline-Schiff base conjugates: in silico study and ADMET predictions as multi-target inhibitors of coronavirus (SARS-CoV-2) proteins // *RSC Adv.* – 2020. – Vol. 10. – P. 34033–34045. DOI: 10.1039/d0ra06424f
- Dutta T., Chowdhury S.K., Ghosh N.N., Das M., Chattopadhyay A.P., Mandal V. Green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles using fruit extract of *Glycosmis pentaphylla* and its theoretical explanations // *Journal of Molecular Structure.* – 2022. – Vol. 1247. – Art. ID: 131361. P. 131361. DOI: 10.1016/j.molstruc.2021.131361
- Ismail E.M.O.A., Shantier S.W., Mohammed M.S., Musa H.H., Osman W., Mothana R.A. Quinoline and Quinazoline Alkaloids against COVID-19: An In Silico Multitarget Approach // *Journal of Chemistry.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 3613268. DOI: 10.1155/2021/3613268
- Xing Z., Wu W., Miao Y., Tang Y., Zhou Y., Zheng L., Fu Y., Song Z., Peng Y. Recent advances in quinazolinones as an emerging molecular platform for luminescent materials and bioimaging // *Organic Chemistry Frontiers.* – 2021. – Vol. 8. – P. 1867–1889. DOI: 10.1039/D0QO01425G
- Tabrizi L., Yang W. S., Chintia C., Morrison L., Samali A., Ramos J. W., Erxleben A. Gold (I) Complexes with a Quinazoline Carboxamide Alkynyl Ligand: Synthesis, Cytotoxicity, and Mechanistic Studies // *European Journal of Inorganic Chemistry.* – 2021. – Vol. 20. – P. 1921–1928. DOI: 10.1002/ejic.202100120
- Kazemnejadi M., Nasser M.A., Sheikh S., Rezazadeh Z., Gol S.A.A. Fe₃O₄@Sap/Cu(II): an efficient magnetically recoverable green nanocatalyst for the preparation of acridine and quinazolinone derivatives in aqueous media at room temperature // *RSC Adv.* – 2021. – Vol. 11, No. 26. – P. 15989–16003. DOI: 10.1039/d1ra01373d
- Филимонов Д.А., Порошков В.В. Прогноз спектров биологической активности органических соединений // *Рос. хим. журн.* – 2006. – Т. 50, № 2. – С. 66–75.
- Кодониди И.П., Оганесян Э.Т., Рябухин Ю.И., Смирнова Л.П., Лысенко Т.А., Кулешова С.А., Жогло Е.Н., Ивашев М.Н. Синтез и биологическая активность N-гетероциклических производных 1,4-дигидро-4-оксопиримидина // *Вопросы*

- биологической медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 4. – С. 19–27.
26. Hunskaar S., Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain // *Pain*. – 1987. – Vol. 30, No. 1. – P. 103–114. DOI: 10.1016/0304-3959(87)90088-1
 27. Берестовицкая В.М., Васильева О.С., Остроглазов Е.С., Александрова С.М., Тюренков И.Н., Меркушенкова О.В., Багметова В.В. Синтез и нейрорепрессивная активность индолсодержащих производных γ-аминомасляной кислоты // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2018. – Т. 52, № 5. – С. 10–14. DOI: 10.30906/0023-1134-2018-52-5-10-14.
 28. Галенко-Ярошевский А.П., Анисимова В.А., Минкин В.И., Толпыгин И.Е., Варлашкина И.А., Футорянская Т.Н., Подтынных Е.В., Алферова Г.А. Средство, обладающее местноанестезирующим действием. Патент № 2313341 С1, А61К 31/4188 2006140600/15. Заявл. 16.11.2006; Опубл. 27.12.2007.
 29. Connolly D.J., Cusack D., O'Sullivan T.P., Guiry P.J. Synthesis of quinazolinones and quinazolines // *Tetrahedron*. – 2005. – Vol. 61. – P. 10153–10202. DOI: 10.1002/CHIN.200603235
 30. Martin T.M., Harten P., Venkatapathy R., Das S., Young D.M. A hierarchical clustering methodology for the estimation of toxicology // *Toxic. Mech. Methods*. – 2008. – Vol. 18, No. 2. – P. 251–266. DOI: 10.1080/15376510701857353
 31. Манвелян М.М., Призова Е.Ю., Семенова И.А., Шевцова Ю.А., Стоногина Т.А., Манвелян Э.А. Влияние производных хинолинона-4 на свертывающую способность крови // *Материалы I научно-практической конференции с международным участием «Деадаптация различного генеза и пути ее фармакологической коррекции» (2–3 ноября 2015 г., г. Пятигорск). Фармация и фармакология*. – 2015. – Т. 3, № 5с. – С. 70–71. DOI: 10.19163/2307-9266-2015-3-5с-1-128
 32. Melnikov F., Kostal J., Voutchkova-Kostal A., Zimmerman J.B., Anastas P.T. Assessment of predictive models for estimating the acute aquatic toxicity of organic chemicals // *Green Chem.* – 2016. – Vol. 18. – P. 4432–4445. DOI: 10.1039/C6GC00720A
 33. McNamara C.R., Mandel-Brehm J., Bautista D.M., Siemens J., Deranian K.L., Zhao M., Hayward N.J., Chong J.A., Julius D., Moran M.M., Fanger C.M. TRPA1 mediates formalin-induced pain // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 2007. – Vol. 104, No. 33. – P. 13525–13530. DOI: 10.1073/pnas.0705924104
 34. Yao K., Dou B., Zhang Y., Chen Z., Li Y., Fan Z., Ma Y., Du S., Wang J., Xu Z., Liu Y., Lin X., Wang S., Guo Y. Inflammation-the role of TRPA1 channel // *Front Physiol*. 2023. – Vol. 14. – Art. ID: 1093925. DOI: 10.3389/fphys.2023.1093925
 35. Li J., Zhang H., Du Q., Gu J., Wu J., Liu Q., Li Z., Zhang T., Xu J., Xie R. Research Progress on TRPA1 in Diseases // *J. Membr. Biol.* – 2023. DOI: 10.1007/s00232-023-00277-x
 36. Nilius B., Owsianik G., Voets T., Peters J.A. Transient receptor potential cation channels in disease // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87, No. 1. – P. 165–217. DOI: 10.1152/physrev.00021.2006
 37. Hunskaar S., Berge O.G., Hole K. Dissociation between antinociceptive and anti-inflammatory effects of acetylsalicylic acid and indomethacin in the formalin test // *Pain*. – 1986. – Vol. 25, No. 1. – P. 125–132. DOI: 10.1016/0304-3959(86)90014-X
 38. Jølsen A., Berge O. G., Hunskaar S., Rosland J. H., Hole K. The formalin test: an evaluation of the method // *Pain*. – 1992. – Vol. 51, No. 1. – P. 5–17. DOI: 10.1016/0304-3959(92)90003-T
 39. Катунина Е.А., Титова Н.В., Бездольный Ю.Н., Шиккеримов Р.К., Гасанов М.Г., Бурд С.Г., Лебедева А.В., Бойко А.Н. Агонисты дофаминовых рецепторов: новые формы и новые возможности в лечении болезни Паркинсона // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. – 2015. – Т. 115, № 5. – С. 34–40. DOI: 10.17116/jnevro20151155134-40
 40. Колотилова О.И., Коренько И.И., Хусаинов Д.Р., Черетаев И.В. Дофаминергическая система мозга // *Вестник Брянского государственного университета*. – 2014. – № 4. – С. 97–106.

АВТОРЫ

Кодониди Иван Панайотович – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры органической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1333-3472. E-mail: kodonidiip@mail.ru

Бичеров Александр Викторович – кандидат химических наук, научный сотрудник НИИ ФОХ ФГАОУ ВО ЮФУ. ORCID ID: 0000-0003-2034-409X. E-mail: avbichеров@yandex.ru

Манвелян Элеонора Аслибековна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической химии и технологии лекарств ФГАОУ ВО СКФУ. ORCID ID: 0000-0001-6936-0192. E-mail: e_manveljan@mail.ru

Колодина Александра Александровна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории фитохимии НИИ ФОХ ФГАОУ ВО ЮФУ. ORCID ID: 0000-0003-0485-7223. E-mail: akolodina@sfedu.ru

Бичеров Александр Александрович – младший научный сотрудник НИИ ФОХ ФГАОУ ВО ЮФУ. ORCID ID: 0000-0001-8058-5149. E-mail: aabichеров@yandex.ru

Манвелян Микаэль Михайлович – аспирант кафедры клинической фармакологии с курсом дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России. E-mail: mik.manvelyan@mail.ru

Ивченко Александр Владимирович – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры органической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-9339-498X. E-mail: a.v.ivchenko@pmedpharm.ru

Вдовенко-Мартынова Наталия Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6425-4315. E-mail: martynovann@yandex.ru

Навалиева Аида Тимуровна – независимый исследователь. ORCID ID: 0000-0001-8011-4849. E-mail: navalievaaida@mail.ru

Манвелян Мария Михайловна – студентка 2-го курса лечебного факультета ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0008-9864-0765. E-mail: manvelyn_masha@mail.ru

Индуктор эндогенных интерферонов I и II типов (α, β, γ)



Быстрое контролируемое действие

Продукция интерферонов через 2-6 часов после введения и возврат к фоновым значениям в течение 2-х суток¹

Возможность комплексного лечения и профилактики

Применение в комплексной терапии с антибиотиками и противовирусными средствами позволяет повысить эффективность лечения¹

Гибкие схемы терапии

Грипп, ОРВИ – 1 инъекция, генитальный и опоясывающий герпес – 3 инъекции, инфекционные урогенитальные заболевания (в том числе хламидоз – 4 инъекции)¹

Механизм¹ действия Радамина Виро:

1

Оптимизация воспалительной реакции

2

Активация синтеза белков, тормозящих процесс производства вирусных копий в пораженных клетках

3

Стимуляция репаративных и регенеративных процессов

4

Активация неспецифической резистентности организма



¹ Инструкция по медицинскому применению

РУ: ЛС-000381 от 27.12.2021
ООО ПРОМОМЕД ДМ, 129090,
г. Москва, Проспект Мира, д.13, стр.1, офис 106,
тел. +7(495)640 25 28

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ СИСТЕМЫ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ. ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ РЕКОМЕНДУЕТСЯ ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ

 PROMOMED

