2023 Том / Volume XI

№ 5

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

Научно-практический журнал

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Периодичность 6 номеров в год

Том 11, Выпуск р, 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 ВолгГМУ 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. Дата подписания в печать 25.12.2023 выход в свет 30.12.2023

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, ВИНИТИ, 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 «Бюро новостей», 355000, г. Ставрополь, ул. Серова, 278А.

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

16+

Scientific and Practical Journal

PHARMACY & PHARMACOLOGY

Scientific and practical journal

Volume XI, Issue 5, 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 an journals. Code 94183
A4 size, 1000 issues circulation. Price free

Journal "Pharmacy & Pharmacology" is recommended International Comittee 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 "Buro novostey" in accord with provided materials. 278A, Serova Str., Stavropol, 355000.

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

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENS

ОБЗОРЫ / REVIEWS

Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Д.А. Бакулин, А.В. Заборовский, И.Е. Макаренко, Р.В. Драй, А.Г. Солодовников, В.И. Петров, К.Н. Корянова, Н.А. Лычева, С.А. Воскресенский, А.В. Стрыгин, Ю.А. Колосов, Ю.В. Горбунова, О.В. Иванова
Методологические и регуляторные аспекты фармацевтической разработки биопрепаратов 384

D.V. Kurkin, E.I. Morkovin, D.A. Bakulin, A.V. Zaborovsky, I.E. Makarenko, R.V. Drai, A.G. Solodovnikov, V.I. Petrov, K.N. Koryanova, N.A. Lycheva, S.A. Voskresensky, A.V. Strygin, Yu.A. Kolosov, Yu.V. Gorbunova, O.V. Ivanova
Methodological and regulatory aspects of pharmaceutical development of biological products.....384

В.А. Куркин, Н.Р. Варина, Е.В. Авдеева, И.В. Рузаева
Фенилпропаноиды как класс природных биологически активных соединений – органопротекторов.....399

V.A. Kurkin, N.R. Varina, E.V. Avdeeva, I.V. Ruzaeva
Phenylpropanoids as a class of natural biologically active organo-protective compounds.....399

Е.А. Егорова, А.М. Бейтуллаев, А.В. Матвеев, К.Н. Корянова
Обзор опыта использования системы проблем, связанных с применением лекарственных препаратов, на примере фармакотерапии остеопороза.....412

E.A. Egorova, A.M. Beytullaev, A.V. Matveev, K.N. Koryanova
Review of publications on drug-related problems investigations in osteoporosis patients 412

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ / RESEARCH ARTICLE

Д.И. Поздняков, К.Н. Корянова, К.К. Арустамян, Ч.М. Маргушев, В.С. Баскаева, В.М. Руковицина, Х.Н. Насрулаева, Е.А. Олохова
Противовоспалительные и антирезорбтивные эффекты ацилзамещенных производных хромона в условиях экспериментального ревматоидного артрита 422

D.I. Pozdnyakov, K.N. Koryanova, K.K. Arustamyan, Ch.M. Margushev, V.S. Baskaeva, V.M. Rukovitsina, H.N. Nasrulaeva, E.A. Olokhova
Anti-inflammatory and antiresorptive effects of acyl substitution chromone derivatives in experimental model of rheumatoid arthritis.....422

К.Ю. Калитин, О.Ю. Муха, А.А. Спасов
Электрофизиологическое исследование каппа-опиоидного анальгетика РУ-1205 с применением методов машинного обучения.....432

K.Yu. Kalitin, O.Yu. Mukha, A.A. Spasov
Electrophysiological effects of kappa-opioid analgesic, RU-1205, using machine learning methods 432

ОБЗОРЫ

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК: 615.19:615.085.2

Check for updates

CC BY

Методологические и регуляторные аспекты фармацевтической разработки биопрепаратов

Д.В. Куркин[1,2], Е.И. Морковин[2,4], Д.А. Бакулин[1], А.В. Заборовский[1], И.Е. Макаренко[1,3], Р.В. Драй[3], А.Г. Солодовников[4], В.И. Петров[2], К.Н. Корянова[5], Н.А. Лычева[1], С.А. Воскресенский[2], А.В. Стрыгин[2], Ю.А. Колосов[1], Ю.В. Горбунова[1], О.В. Иванова[1]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20/1

[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

[3] Закрытое акционерное общество «Фарм-Холдинг», 198515, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Стрельна, ул. Связи, д. 34А

[4] Общество с ограниченной ответственностью «Статэндокс» 620102, Россия, г. Екатеринбург, ул. Белореченская, д. 34, к. 2

[5] 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-кт Калинина, д. 11

E-mail: strannik986@mail.ru

Получена 20.10.2023 После рецензирования 15.11.2023 Принята к печати 20.12.2023

Цель. Провести анализ текущего состояния и актуальных тенденций в одобрении лекарственных препаратов, а также некоторых аспектов методологии их разработки на основе биологических молекул и регистрации.

Материалы и методы. Материал для анализа брали в реферативных базах PubMed, Google Scholar и e-library.ru. Поиск осуществляли по публикациям за период с 2008 по 2023 год, с использованием следующих ключевых слов: «biologicals», «new drug approval», «drug authorization», «drug development», «biosimilar», учитывали различные варианты их написания.

Результаты. Последние 15 лет ученые наблюдают за революционными тенденциями и процессами в области разработки лекарств, особенно биофармацевтических. Значительные успехи достигнуты в генной, иммунной и клеточной терапии, что привело к более чем удвоению одобрения подобных лекарств за последние десять лет. Разработка биологических препаратов включает идентификацию, проверку молекулярных мишеней, требует глубокого понимания строения и функционирования вовлеченных в развитие эффекта полипептидов. Особенностями этих активных фармацевтических субстанций являются высокая молекулярная масса, сложная трехмерная структура и высокий иммуногенный потенциал. Доклинические и клинические исследования биологических препаратов имеют уникальные особенности. Выбор соответствующих видов животных, понимание иммуногенности, оценка фармакодинамики и токсикологических свойств требуют многоуровневого, детализированного подхода. В статье обсуждается нормативно-правовая база, в соответствие с требованиями которой осуществляют регистрацию этих препаратов, кратко излагаются руководящие принципы, предоставленные международными организациями, такими как Международный совет по гармонизации и различными национальными агентствами.

Заключение. Проведенный анализ отмечает имеющиеся успехи и перспективы в области разработки биопрепаратов, подчеркивая их ключевую роль в будущих преобразованиях в области лечения редких и онкологических заболеваний,

Для цитирования: Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Д.А. Бакулин, А.В. Заборовский, И.Е. Макаренко, Р.В. Драй, А.Г. Солодовников, В.И. Петров, К.Н. Корянова, Н.А. Лычева, С.А. Воскресенский, А.В. Стрыгин, Ю.А. Колосов, Ю.В. Горбунова, О.В. Иванова. Методологические и регуляторные аспекты фармацевтической разработки биопрепаратов. *Фармация и фармакология.* 2023;11(5):384-398. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2023-11-5-384-398

© Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Д.А. Бакулин, А.В. Заборовский, И.Е. Макаренко, Р.В. Драй, А.Г. Солодовников, В.И. Петров, К.Н. Корянова, Н.А. Лычева, С.А. Воскресенский, А.В. Стрыгин, Ю.А. Колосов, Ю.В. Горбунова, О.В. Иванова, 2023

For citation: D.V. Kurkin, E.I. Morkovin, D.A. Bakulin, A.V. Zaborovsky, I.E. Makarenko, R.V. Drai, A.G. Solodovnikov, V.I. Petrov, K.N. Koryanova, N.A. Lycheva, S.A. Voskresensky, A.V. Strygin, Yu.A. Kolosov, Yu.V. Gorbunova, O.V. Ivanova. Methodological and regulatory aspects of pharmaceutical development of biological products. *Pharmacy & Pharmacology.* 2023;11(5):384-398. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2023-11-5-384-398

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-384-398

приближая эру персонализированной медицины. Отслеживание направлений разработки и технологические подходы, а также приверженность мировым методологическим и регуляторным аспектам может стать катализатором в развитии российской фармакологии.
Ключевые слова: биологические препараты; биоаналоги; биомолекулы; регулирование; разработка и регистрация; U.S. Food and Drug Administration
Список сокращений: ЛС – лекарственные средства; ADA – антилекарственные антитела; EMA – Европейское агентство по лекарственным средствам; FDA – Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (США); GPCR – рецепторы, сопряженные с G-белком; ICH – Международный совет по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения; IPO – первичное размещение акций компании на фондовом рынке; АФС – активная фармацевтическая субстанция; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота; НИОКР – научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы; ЯМР – ядерный магнитный резонанс.

Methodological and regulatory aspects of pharmaceutical development of biological products

D.V. Kurkin[1,2], E.I. Morkovin[2,4], D.A. Bakulin[1], A.V. Zaborovsky[1], I.E. Makarenko[1,3], R.V. Drai[3], A.G. Solodovnikov[4], V.I. Petrov[2], K.N. Koryanova[5], N.A. Lycheva[1], S.A. Voskresensky[2], A.V. Strygin[2], Yu.A. Kolosov[1], Yu.V. Gorbunova[1], O.V. Ivanova[1]

[1] Russian University of Medicine,
Bld. 1, 20, Delegatskaya Str., Moscow, Russia, 127473
[2] Volgograd State Medical University,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131
[3] Closed Joint-Stock Company “Pharm-Holding”,
Bld. A, 34, Svyaz Str., Strelna Vill., St. Petersburg, Russia, 198515
[4] Limited Liability Company “Statandocs”,
Bld. 2, 34, Belorechenskaya Str., Yekaterinburg, Russia, 620102
[5] Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University,
11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

E-mail: strannik986@mail.ru

Received 20 Oct 2023 After peer review 15 Nov 2023 Accepted 20 Dec 2023

The aim of the work was to conduct an analysis of the current state and current trends in the approval of drugs, as well as some aspects of the methodology for their development based on biological molecules and registration.
Materials and methods. The material for the analysis was taken from the abstract databases of PubMed, Google Scholar and e-library.ru. The search was carried out using publications for the period from 2008 to 2023, the keywords were as follows: “biologicals”, “new drug approval”, “drug authorization”, “drug development”, “biosimilar”, taking into account various spellings.
Results. Over the past 15 years, scientists have been observing revolutionary trends and processes in the field of the drug development, especially biopharmaceuticals. Significant advances have been made in gene, immune and cell therapies, resulting in the approval of such drugs more than doubling over the past ten years. The development of biological drugs includes the identification and testing of molecular targets and requires a deep understanding of the structure and functioning of the polypeptides involved in the development of the effect. The features of these active pharmaceutical substances are a high molecular weight, a complex three-dimensional structure and a high immunogenic potential. Preclinical and clinical studies of biologics have unique challenges. Selecting appropriate animal species, understanding the immunogenicity, and assessing pharmacodynamics and toxicological properties require a multilevel, detailed approach. The article discusses the regulatory framework under which these drugs are registered, summarizing the guidelines provided by international organizations such as the International Council for Harmonization and various national agencies.
Conclusion. The analysis highlights the current advances and prospects in the development of biologics, highlighting their key role in future transformations in the treatment of rare diseases and oncology, approaching the era of personalized medicine. Monitoring the development directions and technological approaches, as well as the commitment to global methodological and regulatory aspects can become a catalyst in the development of the Russian pharmacology.
Keywords: biologics; biosimilars; biomolecules, regulation; development and registration; U.S. Food and Drug Administration
Abbreviations: ADA – anti-drug antibodies; EMA – European Medicines Agency; FDA – U.S. Food and Drug Administration (USA); GPCRs – G-protein coupled receptors; ICH – International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, IPO – initial public offering (of company shares on the stock market); API – active pharmaceutical substance; DNA – desoxynucleic acid; R&D – research and development work; NMR – nuclear magnetic resonance.

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241
Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

ВВЕДЕНИЕ

В течение последних 15 лет специалисты в области естественно-научных дисциплин наблюдают новый виток эволюции в области разработки лекарств, драйверами которой порой выступают революционные события. Количество ежегодно разрабатываемых лекарств увеличилось, а сроки их создания стали заметно короче, что отчетливо видно на примере препаратов, применяемых в онкологии. Регуляторы стали более открытыми, а требования к регистрации лекарственных средств (ЛС) более доступными и лояльными. Инвестиции в научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы (НИОКР) в области фармацевтических разработок стали чуть ли не самыми масштабными в промышленности, а процедура свободного акционирования (IPO) стала доступна даже компаниям с малой капитализацией, что существенно облегчило привлечение финансирования и соответственно увеличило число участников, а значит и конкуренцию. Развитие технологий в значительной степени упростило не только разработку и создание лекарств, но и позволило сократить сроки исследований препаратов, значительно повысив их качество и информативность [1, 2].

За последние несколько десятилетий человечество достигло значительного научного прогресса, основываясь на том, что генная терапия [3, 4], иммунотерапия [5, 6] и клеточная терапия [7] – это новые рубежи фармакологии. Наряду с разработкой новых лекарств, в следующем десятилетии основа фармакологии будет строиться на рациональной комбинированной терапии существующими средствами. Перепрофилирование известных лекарств отчасти воспринимается как решение проблемы высокого уровня неудач, значительных затрат и медленных темпов открытия новых лекарств [8–10].

Широкое внедрение подходов, ориентированных на человека (пациент-центрированная модель, клиентоориентированность и прочее), позволяет утверждать, что помимо традиционно основных качеств, предъявляемых ЛС, таких как безопасность и эффективность, все большее значение будут приобретать свойства, наличие которых ожидает пациент – сумма качеств, определяющих удобство применения, доступность и стоимость. В то же время можно отметить, что современное состояние науки и технологий позволяет создавать все больше лекарств для действенной, но пока крайне дорогостоящей терапии (терапия редких и ранее неизлечимых заболеваний) [11].

Известно, что фармацевтическая промышленность является одним из самых важных и быстрорастущих сегментов мирового рынка. Инвестиции именно в эту область можно назвать основой эффективной профилактики перенакопления капитала, поскольку, с одной стороны, фармацевтическая разработка часто сопровождается развитием научного и технологического сектора, а с другой – имеет большой трансляционный потенциал, поскольку высоко интегрирована с другими сферами. В частности, разработка ЛС для лечения орфанных или редких заболеваний, хоть и является рискованной, поскольку надежный прогноз сроков достижения и конечный результат гарантировать сложно, все же относится к быстро развивающимся направлениям: отмечается выраженный рост подобных стартапов и инвестиций в них, так как стоимость успеха многократно превышает самые смелые расходы. Обозначенное обстоятельство (большое количество участников и масштабы инвестиций), наряду с эффективностью на уровне полного излечения, позволили компаниям разработчикам объяснить стоимость препарата в суммах с более чем шестизначными цифрами [12, 13].

Миллиарды долларов, инвестируемые после IPO инновационных компаний, способствуют научным прорывам. Среди ключевых направлений выделяются генная терапия, редактирование генома, клеточная терапия и использование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Ожидается, что эти направления сохранят свою значимость в ближайшем будущем [14, 15]. Обширное финансирование инновационных проектов со стороны фармацевтических компаний, государств и фондов способствует высокой конкуренции среди стартапов и поступательному развитию технологий. Многие из этих технологий демонстрируют потенциал для экспоненциального роста с труднопредсказуемым финалом.

В области создания новых ЛС уже давно исследователи выделяют некоторый тренд, наличие которого в значительной степени объясняется вышеизложенным. Как известно все новые ЛС можно условно поделить на: содержащие малые молекулы или препараты, созданные на основании биологического подхода. При этом широкое распространение биотехнологии до недавнего времени ограничивалось уровнем развития технологий и стоимостью, но при этом практически все участники сходились во мнении, что биотехнология рано или поздно предоставит больше возможностей для фармацевтической разработки, чем медицинская химия [16–18]. В то же время разработка лекарств на основе химического синтеза и медицинская химия как наука претерпели и продолжают претерпевать ряд существенных изменений. Например, стоимость синтеза и производства уже не является столь значимым фактором, влияние которого определяет перспективность идеи, даже скорее наоборот – чем сложнее синтез и разработка, тем перспективнее выглядит идея продукта поскольку это обстоятельство позволяет приобретать дополнительные гарантии безопасности от воспроизводства другими игроками, наряду с практикой стратегического патентования с созданием сети вторичных патентов, практикой «искусственного» продления исключительных прав («вечнозеленый патент») [19, 20]. С этой позиции биопрепараты также остаются привлекательными

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-384-398

для инвестиций. За последние несколько лет в области разработки ЛС методами биотехнологии произошёл колоссальный подъем: так количество их одобрений за 10 лет выросло более чем в 2 раза (с 23% одобряемых в 2013 до 54% в 2022 г.) (Рис. 1).

Настоящий обзор посвящен анализу основных тенденций, методологических и регуляторных аспектов фармацевтической разработки биопрепаратов.

ЦЕЛЬ. Проанализировать текущее состояние и актуальные тенденции в одобрении лекарственных препаратов, а также некоторых аспектов методологии их разработки на основе биологических молекул и регистрации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для сбора материала использовали реферативные базы PubMed, Google Scholar и e-library.ru, а также официальные сайты FDA и EMA. Поиск осуществляли по публикациям за период с 2008 по 2023 год, с использованием следующих ключевых слов: «biologicals», «new drug approval», «drug authorization», «drug development», «biosimilar», учитывали различные варианты их написания. Критериями исключения были более ранние публикации и статьи, не затрагивающие напрямую тему обзора. Было проанализировано 160 источников и после систематизации удалены статьи разных авторов, содержащие схожую информацию. После проверки 50 источников были признаны пригодными для включения в обзор.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Виды биологических препаратов

Исторически общие подходы к разработке ЛС регулярно пересматривались, следуя за достижениями в смежных научных областях, и новые технологии, входя в практику исследователей, создавали предпосылки для появления ЛС, принципиально отличающихся от существовавших ранее. В частности, усовершенствование методов органического синтеза позволило перейти от эпохи «случайных» открытий ЛС, выделенных из природных источников, к направленному синтезу малых молекул, созданию библиотек веществ для последующего скрининга биологической активности, а также, в целом, к доминированию подхода «структура – активность» в соответствующих научных работах. Прогресс в области молекулярной биологии и биотехнологии, в свою очередь, открыл пути к широкому внедрению в клиническую практику ЛС, производство которых методами химического синтеза либо чрезвычайно затратно, либо принципиально невозможно из-за сложности молекулярной структуры [23, 24].

Биологические лекарственные препараты (биопрепараты) представляют собой в достаточной степени гетерогенную группу лекарственных препаратов (ЛП), общим признаком которых является производство или выделение их действующих веществ из биологического источника, не относящегося к растениям. В настоящее время, согласно Решению Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 года № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических ЛС Евразийского экономического союза»[1], к биопрепаратам относятся:

– иммунологические (иммунобиологические) лекарственные препараты – ЛП, предназначенные для формирования активного или пассивного иммунитета, или диагностики наличия иммунитета, или диагностики (выработки) специфического приобретенного изменения иммунологического ответа на аллергизирующие вещества;

– биотехнологические лекарственные препараты – ЛП, произведенные при помощи биотехнологических процессов и применения методов с использованием технологии рекомбинантной ДНК, контролируемой экспрессии генов, кодирующих выработку биологически активных белков, гибридомных технологий, моноклональных антител или других биотехнологических процессов;

– лекарственные препараты, полученные из плазмы человека;

– препараты пробиотиков (эубиотиков);

– препараты бактериофагов;

– высокотехнологичные лекарственные препараты: генотерапевтические ЛП; ЛП на основе соматических клеток; тканеинженерные лекарственные препараты (препараты тканевой инженерии);

– лекарственные препараты, содержащие следующие активные фармацевтические субстанции (АФС): нерекомбинантного происхождения, произведенные или выделенные из биологических источников (тканей, жидкостей и органов человека, сырья животного происхождения, микроорганизмов или продуктов их жизнедеятельности), за исключением антибиотиков.

Идея применения действующих веществ животного происхождения в качестве ЛС не нова, и ряд ЛС, например вакцины, нефракционированный гепарин, лизоцим, инсулин, панкреатин, тироксин, витамин Д и др., имеют опыт применения, который сопоставим с опытом применения наиболее ранних из современных ЛС, полученных с помощью химического синтеза, или даже более длительный. В частности, первые упоминания о практике вариоляции относятся уже к VII в., а первые вакцины появились в XVIII в., что позволяет считать историю вакцин более длительной, чем, например, историю появления препаратов местных анестетиков и нестероидных противовоспалительных средств, появившихся в конце XIX в. (например, столбнячная сыворотка) [25, 26].

[1] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза». Совет Евразийской экономической комиссии. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://docs.cntd.ru/document/456026116

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

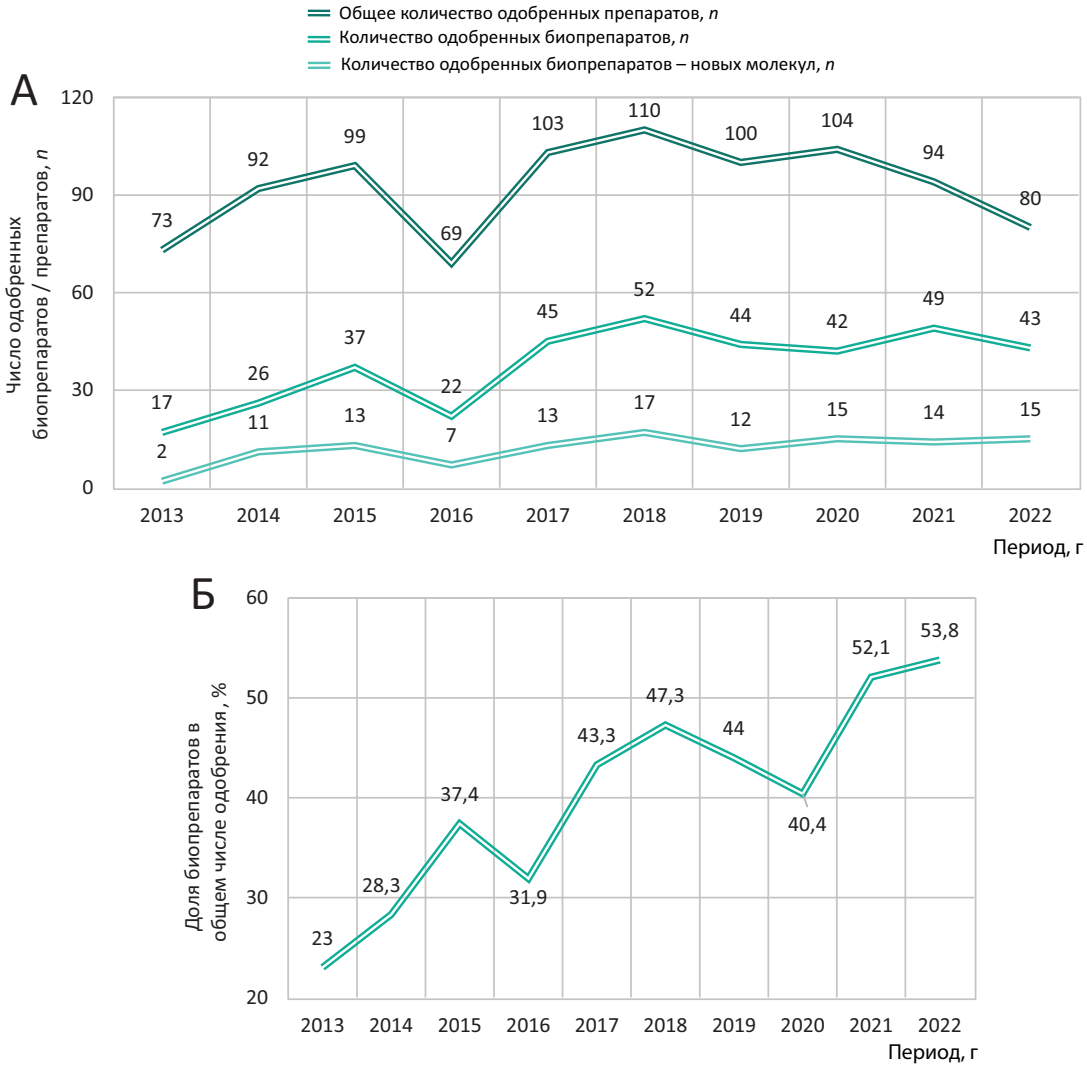


Рисунок 1 – Число одобренных FDA препаратов – новых молекулярных соединений и биопрепаратов за период с 2013 по 2022 г.

Примечание: FDA – Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (США).
Представленные графики представляют собой адаптированные данные из [21, 22].

1	**Выбор конвенциональных видов животных**					
	Мыши		Крысы	Кролики	Собаки	Нечеловекообразные приматы
2	**Оценка молекулярно-биологических характеристик**					
	Идентичность аминокислотных последовательностей		Экспрессия	Связывание и аффинность	Величина эффекта	Наличие вторичных мишеней
3	**Наличие релевантного вида (с совпадением характеристик)**					
	Да			**Нет**		
	Проведение исследований на 1 виде грызунов и на 1 виде животных, не относящихся к грызунам	или	Проведение исследования на одном виде животных	Выбор «суррогатных» видов для оценки отдельных эффектов	Использование трансгенных моделей	Использование данных *in vitro*

Рисунок 2 – Схема выбора релевантных видов животных для фармакодинамических исследований

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-384-398

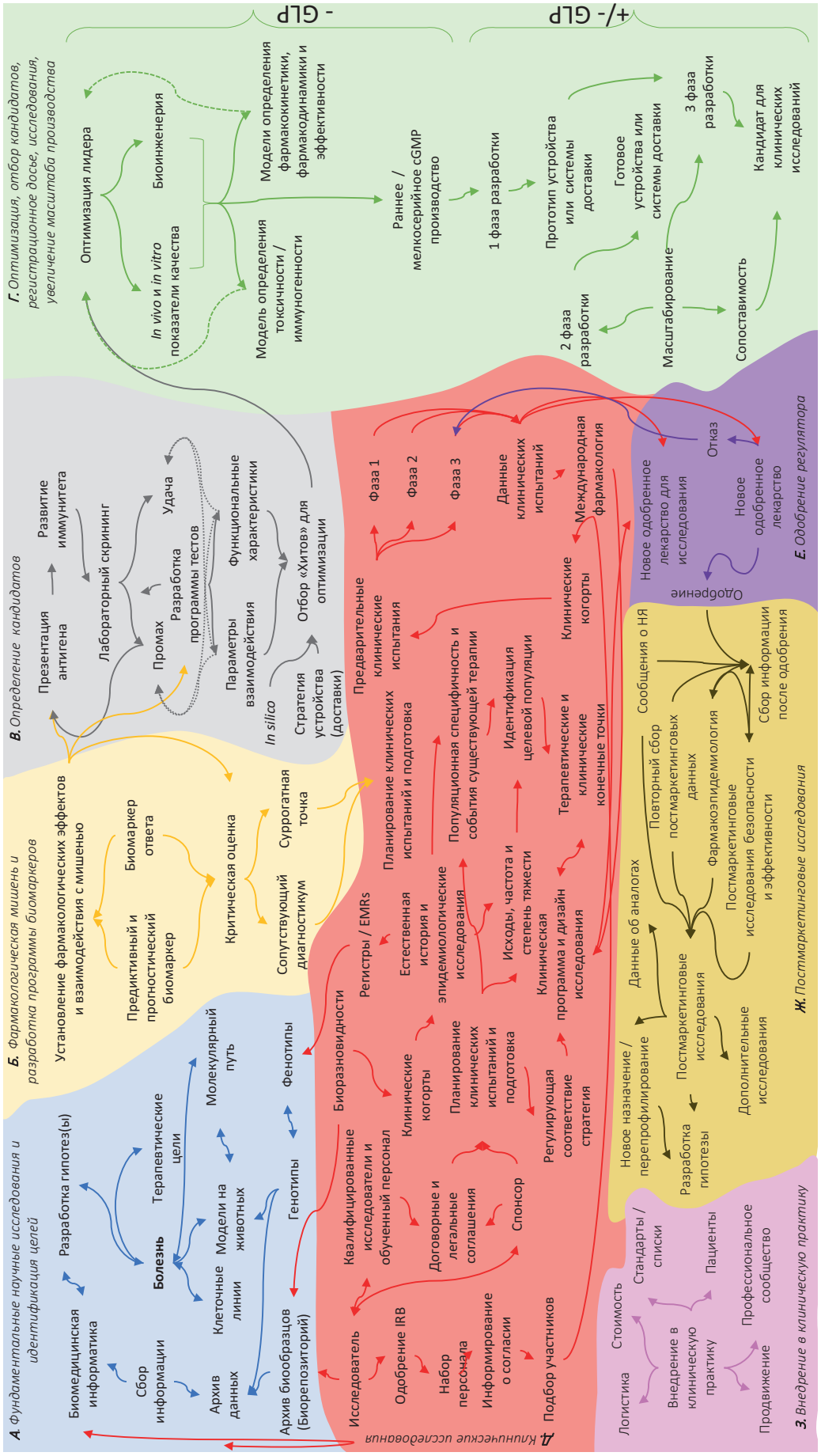


Рисунок 3 – Обобщенная схема разработки биологического лекарственного препарата

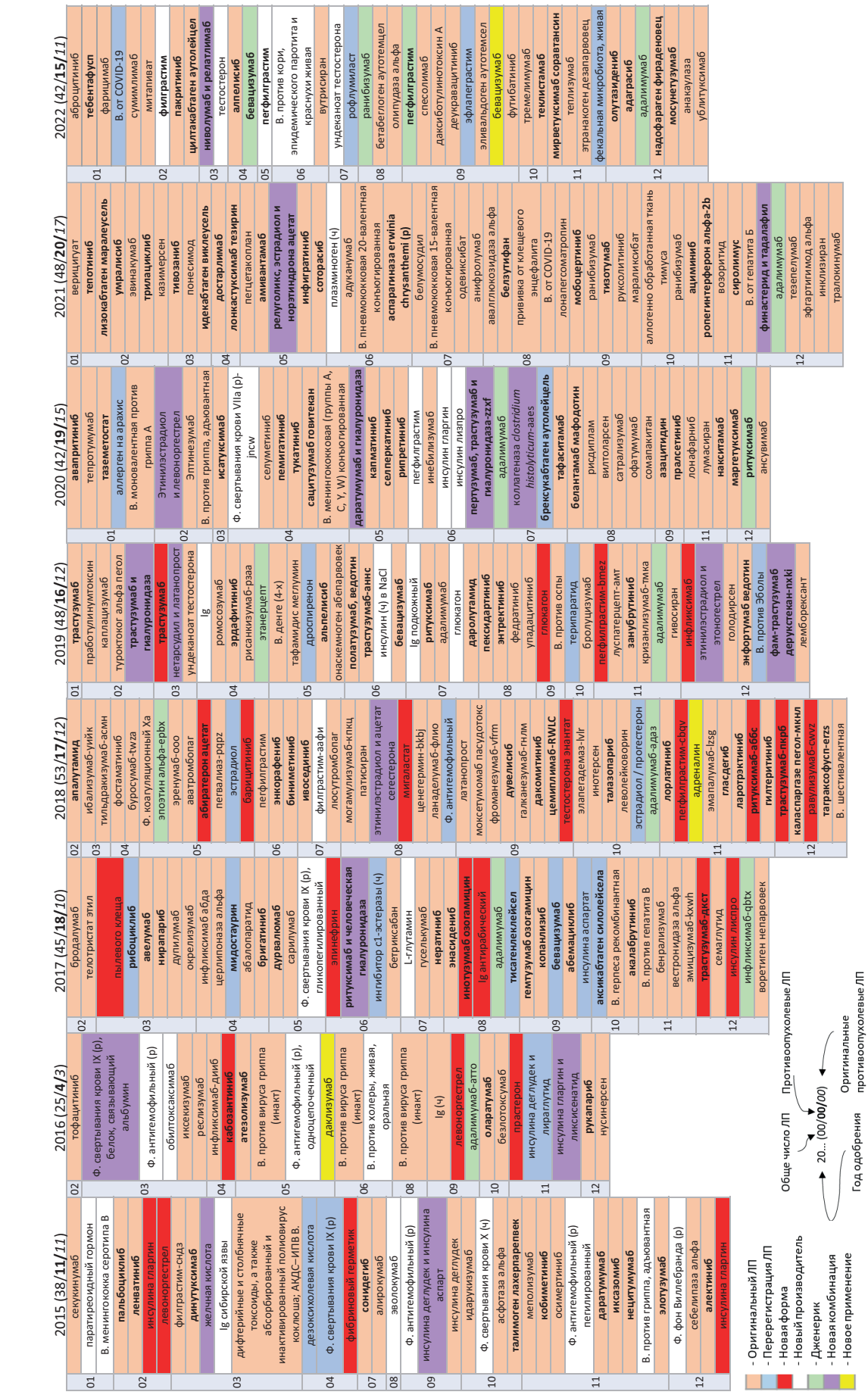


Рисунок 4 – Перечень биофармацевтических лекарственных препаратов одобренных FDA с 2015 по 2022 гг.

Примечание: цифрами отмечены год (горизонтально) или месяц (вертикально) одобрения, общее число препаратов, выделено полужирным число одобренных препаратов для лечения онкологических заболеваний, курсивом отмечено количество оригинальных препаратов, применяемых при онкологических заболеваниях. Значение цветовых индикаторов приведено в рисунке.

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-384-398

Разработка и валидация молекулярных мишеней

В настоящее время наиболее стремительно развивающимся сегментом в области биопрепаратов является разработка биотехнологических ЛП, пионером в области которой выступала компания Eli Lilly (Индия), впервые освоившая выпуск рекомбинантного инсулина (хумулина) в 1982 г. Эта технология основывается на использовании «обратного инжиниринга», который в той или иной степени применим для разработки любого современного биотехнологического препарата. После изучения молекулярных аспектов патогенеза заболевания становится возможным выделить вещества, недостаток (например, недостаток определенных ферментов при ферментопатиях) или избыток (например, избыток цитокинов при ревматологических заболеваниях) которых играет ключевую роль в прогрессировании заболевания [27, 28]. Для того чтобы в достаточной степени охарактеризовать потенциальную мишень, применяется сочетание множества методов различных областей наук: структурной биологии (рентгеноструктурного анализа, ЯМР, криоэлектронной микроскопии) – для выявления функциональных участков и сайтов связывания биомолекул; молекулярной биологии и генетики (секвенирование нуклеиновых кислот) – для поиска выраженных взаимосвязей между генотипом и фенотипом; протеомных технологий (масс-спектрометрия, хроматография, двумерный электрофорез) – для сопоставления протеомных карт, полученных у здоровых лиц и при патологиях; флуоресцентной микроскопии – для выявления внутриклеточного расположения отдельных белков и их колокализации с другими белками; вычислительной биологии – для моделирования структуры и динамики биомолекул *in silico*, т.е. без проведения трудоёмких экспериментов [29–32]. На следующем этапе необходимо валидировать найденную мишень, т.е. подтвердить ее значимость для развития заболевания на адекватной экспериментальной модели и выявить ключевые маркеры, которые могут быть использованы для последующей оценки выраженности заболевания [33–35].

Как правило, в роли мишеней для ЛС выступают полипептиды, обладающие собственной функциональной активностью: гормоны, рецепторы, транспортные белки и ферменты. По различным подсчетам, применяющиеся в настоящее время ЛС, в совокупности имеют в качестве мишеней до 400 различных белков, и еще не менее 700 белков были идентифицированы при помощи биоинформатических подходов. Мишеней, на которые направлены молекулы, получаемые химическим синтезом, относительно немного: в частности, изучение функциональных характеристик и внутриклеточных каскадов рецепторов, связанных с G-белками (GPCR), стало основой разработки примерно одной трети существующих ЛС. Транспортные белки (ионные каналы) и ферменты являются мишенями 29 и 15% существующих ЛС [36, 37].

При необходимости заместительной терапии задача разработчика становится в достаточной степени простой: воспроизвести полипептид, не функционирующий должным образом, в организме больного. По указанной логике производилась разработка не только инсулинов различных классов, но также ряда иных ЛС, например, идурсульфазы – фермента, предназначенного для заместительной терапии у пациентов с мукополисахаридозом II типа (синдромом Хантера). В то же время принцип «структура – активность» применим и в области биопрепаратов. В частности, его иллюстрацией является целый класс ЛП моноклональных антител, примерами которых являются как ингибиторы ферментов (иматиниб), так и блокаторы определенных цитокинов (инфликсимаб, адалимумаб, дупилумаб), широко применяющихся в терапии онкологических и аутоиммунных заболеваний. Принципиально биопрепараты, обладая более высокой молекулярной массой, в подобных случаях имеют преимущества перед малыми молекулами, поскольку они оказываются способными высоко и специфично связаться с более крупными структурами, в т.ч. даже с такими сложными мишенями, как растворимые белки [38, 39].

Доклинические и клинические исследования

Роль доклинических исследований в разработке биопрепаратов неоднозначна, поскольку многое будет зависеть от баланса между чувствительностью экспериментальной модели и возможностью экстраполяции результатов эксперимента на клинические характеристики АФС. В частности, исследования *in vitro* будут уступать по значимости для прогнозирования клинических характеристик тестам *in vivo*. Однако они, обладая достаточной воспроизводимостью и наиболее высокой чувствительностью к изменениям молекулярной структуры АФС, становятся незаменимым инструментом для контроля качества готового продукта. Возможности для исследований *in vivo* зависят от доступности подходящей экспериментальной модели, релевантной по отношению к человеку и учитывающей возможные плейотропные эффекты, видоспецифичность и иммуногенность исследуемого ЛС, а также позволяющей в достаточной степени оценивать зависимости «доза – эффект» и «плазменная концентрация – эффект». Например, для оценки фармакологических эффектов биологических молекул с достаточно высокой степенью консервативности (инсулин и другие пептидные гормоны) могут подходить любые виды лабораторных животных, в то время как для

исследований препаратов моноклональных антител предпочтительными видами становятся нечеловекообразные приматы[2].

Как правило, под релевантным видом понимают животных, у которых ЛС проявляет соответствующую фармакологическую активность за счет взаимодействия с рецептором, активным центром или эпитопом определенного белка, поэтому для поиска релевантных видов используются различные методы, в том числе иммунохимические и функциональные тесты, необходимые для оценки распределения мишеней в тканях. В частности, при исследованиях моноклональных антител релевантными видами становятся животные, имеющие экспрессию необходимого эпитопа и аналогичный профиль перекрестной реактивности в тканях (при сравнении с тканями человека). Другим значимым аспектом выбора является потенциальная иммуногенность биологических молекул, в особенности терапевтических белков. Иммуногенность может приводить не только к тяжелым, потенциально смертельным нежелательным реакциям (анафилактический шок, цитокиновый шторм), но и к снижению эффективности ЛС за счет появления антилекарственных антител (Antidrug Antibodies, ADAs), способных блокировать связывание ЛС с мишенью или изменять скорость его выведения из организма. На иммуногенный потенциал биопрепарата влияет его источник получения и особенности структуры: например, высоко иммуногенные мышиные антитела последовательно заменяли на химерные, гуманизированные и полностью человеческие антитела для снижения вероятности выработки ADAs у человека, однако подобные модификации могут приводить к большей иммуногенности у животных. Поэтому для правильной интерпретации результатов исследований с многократным дозированием становится важной оценка гуморального иммунного ответа на введение исследуемого ЛС: например, титр антител, количество животных, у которых зарегистрирована выработка антител, свойства индуцированных антител (нейтрализующая активность или её отсутствие), а также его корреляцию с изменениями фармакологических и/или токсических свойств. Выявление антител у животных не позволяет прогнозировать развитие иммунного ответа у человека, в связи с чем данное явление не должно выступать как единственная причина досрочного прекращения доклинических исследований или изменения их продолжительности, за исключением случаев, когда развитие иммунного ответа является причиной модификации эффектов препарата у значительной части животных [40, 41].

Для выбора релевантных видов лабораторных животных следует применять многоуровневый подход, учитывающий как наличие соответствующих мишеней, так и возможный профиль иммуногенности, способный повлиять на результаты исследований с многократным дозированием (Рис. 2).

На первом этапе следует оценить идентичность мишени на уровне аминокислотной последовательности, на следующем – экспрессию мишени, а также наличие аналогичных лигандов и рецепторных сигнальных путей в целевых тканях и нецелевых тканях, в т.ч. для оценки возможной перекрестной реактивности. Далее требуется оценить сопоставимость характеристик мишени у рассматриваемого вида животных и человека, что, как правило, осуществляется в ходе исследований *in vitro*, необходимых для оценки аффинности связывания, активности и фармакодинамического ответа как на клеточном, так и на организменном уровне. При отсутствии релевантных биологических видов и/или при наличии должного обоснования, допустимо использование альтернативных подходов: использование вместо целевой АФС гомологичных молекул, применение гуманизированных (в т.ч. трансгенных) животных или использование исключительно данных *in vitro* (неприменимых для обоснования отсутствия токсикологических исследований)[3].

В токсикологических исследованиях, напротив, использование гомологов не допускается, поскольку в них тестированию подлежит конечный продукт (как правило, уже в готовой лекарственной форме, которую предполагается использовать в клинических испытаниях). Выбор видов для токсикологических исследований, как правило, основывается на тех же принципах, что и для фармакодинамических, при этом необходимо, чтобы токсикологические исследования проводились как минимум на одном виде, у которого была продемонстрирована фармакологическая активность. В то же время требования к токсикологическим исследованиям биопрепаратом можно назвать менее строгими, чем к исследованиям малых молекул: проведения исследований мутагенности и канцерогенности не требуется, в то время как необходимость в исследованиях репродуктивной токсичности определяется в зависимости от свойств ЛС, планируемых показаний к применению и характеристик целевой популяции пациентов [42, 43].

Тем не менее, даже выбор наиболее релевантной модели не может гарантировать успех клинических исследований: с одной стороны, это связано с невозможностью получения адекватных данных об иммуногенности человеческих или гуманизированных белков у человека, а с другой – с межвидовыми различиями в строении и/или экспрессии определенных белков. В частности, известен печальный пример провала в 2006 году исследования I фазы ЛС терализумаба (TGN1412) – гуманизированного моноклонального антитела,

[2] Там же.

[3] Там же.

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-384-398

предназначавшегося для лечения В-клеточного хронического лимфоцитарного лейкоза и ревматоидного артрита. Введение препарата в дозе, которая была в 500 раз ниже признанной безопасной у животных, спровоцировало у добровольцев синдром высвобождения цитокинов, что было обусловлено отсутствием экспрессии молекул CD28 (мишень терализумаба) на CD4+-лимфоцитах яванских макак, использовавшихся в доклинических исследованиях безопасности препарата. [44, 45]. Примечательно, что в исследовании 2016 года, выполненного на гуманизированных мышах, способность терализумаба вызывать синдром высвобождения цитокинов, разрушение лейкоцитов и другие нежелательные эффекты, также была подтверждена [46]. Хотя этот прецедент привел к более настороженному отношению к исследованиям биопрепаратов, общий принцип проведения исследований I–III фаз существенно не отличается от такового при проведении исследований ЛП, содержащих АФС, полученные методами химического синтеза: во всех случаях суть испытаний сводится к последовательной оценке безопасности, взаимосвязи между фармакокинетикой и фармакодинамикой, подбору оптимальной дозы при целевых показаниях к применению и подтверждению клинической значимости наблюдаемых проявлений с оценкой общей эффективности и безопасности. Единственным принципиальным отличием является обязательное включение в программу клинической разработки любого биотехнологического препарата (включая биоаналоги) оценки иммуногенности (клинически значимых случаях образования титров антител и сохранения их титра в течение определенного времени), в т.ч. и в пострегистрационном периоде[4].

Активные фармацевтические субстанции биологического происхождения

Контроль качества биопрепаратов требуется для подтверждения преемственности между каждым из последовательных этапов его разработки, описанных выше. Обеспечение и контроль качества для биотехнологических продуктов сложнее, чем для малых молекул, что связано как с большей сложностью химической структуры, так и непосредственно с производственными процессами. Как правило, производство биопрепаратов, в сравнении с ЛС из группы так называемых малых молекул, более продолжительно, требует большего количества сырья и отличается существенно большим количеством критических технологических стадий, требующих учета большего количества факторов при прогнозировании возможных рисков[5].

Ключевыми особенностями биологических АФС являются высокая молекулярная масса, сложная трехмерная структура (в т.ч. в связи с наличием третичной / четвертичной структуры, определенного соотношения изоформ, высокой гетерогенности, а также процессов гликозилирования), уникальность исходных материалов (в т.ч. используемых клеточных линий и вирусных векторов), высокая чувствительность к условиям хранения и термолабильность, а также высокий потенциал иммуногенности. Указанное выше диктует особые требования к организации и качеству производства на всех этапах, доклинических и клинических исследований АФС биотехнологического происхождения, поскольку даже незначительные изменения производственного процесса (в т.ч. при масштабировании или трансфере) могут существенно повлиять не только на профиль примесей в АФС, но также на ее структуру и, следовательно, на возможную эффективность и безопасность. Поэтому важное внимание в документах, регламентирующих разработку и регистрацию биопрепаратов, отводится исследованиям сопоставимости (подтверждение отсутствия клинически значимых различий между биопрепаратами после внесения изменений в технологию производства относительно биологического ЛП, произведенного по неизмененной технологии). Для ЛП, содержащих АФС, полученные методами химического синтеза, как правило, подобные подтверждения сводятся к анализу идентичности / сопоставимости готовых лекарственных форм. Исследования проводят по показателям, заявленным в спецификации, а в отдельных случаях могут требоваться результаты теста сравнительной кинетики растворения или клинического исследования биоэквивалентности. Данные испытания направлены на подтверждение сопоставимости скорости высвобождения и абсорбции АФС из готовой лекарственной формы, которые, в случае успеха, позволяют в полной мере экстраполировать ранее полученные сведения об эффективности и безопасности готового препарата на его обновленную версию[6]. Биотехнологические препараты в абсолютном большинстве случаев представляют собой водные растворы в момент введения. В случае с АФС, полученных путем химического синтеза, такая лекарственная форма позволяла бы полностью избежать исследований биоэквивалентности. Однако для подтверждения их сопоставимости будет требоваться целый комплекс испытаний, что особенно важно для разработки биоаналогичных ЛП – биопрепаратов, содержащих версию действующего вещества зарегистрированного оригинального (референтного) биопрепарата, для которого продемонстрировано сходство (подобие) на основе сравнительных исследований по показателям качества, биологической активности, эффективности и безопасности. Важно также отметить, что выбор методов изучения и/или подтверждения заявленных физико-химических, биологических и клинических характеристик биопрепарата определяется не только актуальными руководствами и/или рекомендациями,

[4] Там же.
[5] Там же.
[6] Там же.

но также и общим уровнем научных знаний. Применимость подхода биоаналогичности к конкретному биопрепарату зависит от доступности современных аналитических методов, использованных производственных процессов, а также наличия клинических моделей для оценки сопоставимости[7].

Существующие руководства Международного совета по гармонизации технических требований к регистрации ЛС для медицинского применения (The International Council for Harmonisation, ICH)[8], лежащие в основе регуляторных требований к разработке ЛП, включают отдельные руководства, применимые исключительно к биопрепаратам (например, руководство по доклинической оценке безопасности биотехнологических ЛС (S6(R1))[9], руководства по вирусной безопасности (Q5A)[10], анализу экспрессионных конструкций (Q5B)[11], оценке стабильности получаемого продукта (Q5C)[12], характеристике используемых клеточных линий (Q5D)[13], проверке сопоставимости продуктов при изменении производственного процесса (Q5E)[14], а также отдельное руководство по подготовке спецификаций на биопрепараты (Q6B)[15]). Регуляторные агентства также публикуют собственные руководства, посвященные отдельным подгруппам биологических средств; например, Европейским агентством ЛС (European Medicines Agency, EMA) опубликовано более 40 руководств, подавляющее большинство которых также посвящено аспектам качества биопрепаратов: способам выражения активности при указании дозировки, характеристике используемых векторных конструкций, составлению спецификаций на моноклональные антитела, валидации производственного процесса, контролю качества отдельных групп биопрепаратов (вакцин, продуктов, получаемых из плазмы крови человека, генотерапевтических средств и др.), а также ряд других частных руководств[16].

Биопрепараты, в отличие от малых молекул, лишены полной зависимости между структурными и функциональным свойствами, а аналитические методы не позволяют в полной мере изучить все параметры, значимые для безопасности и эффективности, что делает «классические» спецификации (с такими показателями, как описание, количественное определение, микробиологическая чистота, родственные примеси и др.) менее универсальными инструментами в обеспечении качества. Главными параметрами биотехнологических продуктов становятся подлинность, чистота, иммуногенность, биологическая активность и стабильность[17].

Для определения подлинности проводят тщательное изучение физико-химических свойств, в рамках которого используется сочетание различных методов анализа: например, колориметрические методы используют для определения общей концентрации белка; иммуноферментный анализ – для подтверждения иммунохимической подлинности; хроматографические методы, электрофорез и различные виды блоттинга – для определения молекулярной массы, профиля заряженных вариантов, профиля посттрансляционных модификаций и др.; масс-спектрометрию – для определения молекулярной массы, профиля гликозилирования, правильности образования дисульфидных связей, а также N- и С-терминальное секвенирование в сочетании с пептидным картированием – для определения первичной пептидной последовательности. При этом подлинность необходимо определять на всех стадиях фармацевтической разработки, в том числе как для рутинного контроля серий при коммерческом производстве, так и на этапах доклинических исследований[18].

Требования к чистоте[19] биопрепарата отличаются от таковых для малых молекул, поскольку примеси в них могут быть как вариантами целевого продукта,

[7] Там же.

[8] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Official web site. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.ich.org/

[9] ICH Harmonised Tripartite Guideline. S6(R1) Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals (2011). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://database.ich.org/sites/default/files/S6_R1_Guideline_0.pdf

[10] ICH harmonised guideline. Q5A(R2) Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived From Cell Lines of Human or Animal Origin (2023). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q5A%28R2%29_Guideline_2023_1101.pdf

[11] ICH Harmonised Tripartite Guideline. Q5B Quality of Biotechnological Products: Analysis of the Expression Construct in Cells Used for Production of R-Dna Derived Protein Products (1995). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://database.ich.org/sites/default/files/Q5B%20Guideline.pdf

[12] ICH Harmonised Tripartite Guideline. Q5C Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products (1995). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://database.ich.org/sites/default/files/Q5C%20Guideline.pdf

[13] ICH Harmonised Tripartite Guideline. Q5D Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products (1997). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://database.ich.org/sites/default/files/Q5D%20Guideline.pdf

[14] ICH Harmonised Tripartite Guideline. Q5E Comparability of Biotechnological/Biological Products Subject to Changes in their Manufacturing Process (2004). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://database.ich.org/sites/default/files/Q5E%20Guideline.pdf

[15] ICH Harmonised Tripartite Guideline. Q6B Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products (1999). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://database.ich.org/sites/default/files/Q6B%20Guideline.pdf

[16] Biological Guidelines | European Medicines Agency. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/research-and-development/scientific-guidelines/biological-guidelines

[17] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза». Совет Евразийской экономической комиссии. 3 ноября 2016 г.

[18] Там же.

[19] Там же.

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-384-398

так и производственными примесями. Полное удаление примесей, как правило, невозможно, поэтому они должны быть охарактеризованы в аспекте их влияния на профиль эффективности и безопасности ЛП. Наиболее часто для контроля чистоты биопрепаратов применяют сочетание нескольких методов: эксклюзионной хроматографии (для определения агрегатов и возможных продуктов расщепления), капиллярного электрофореза (для определения продуктов химической модификации белка и низкомолекулярных продуктов его деградации), пептидного картирования (для выявления изменений аминокислотного состава), хроматографии высокого разрешения (для определения прочих белковых и низкомолекулярных примесей).

Вирусная безопасность[20] обеспечивается путем проверки исходных материалов на наличие вирусов, валидации производственного процесса в аспекте влияния на количество вирусных частиц, а также путем тестирования продуктов разных стадий производства на наличие вирусов.

Иммуногенность[21], под которой понимается способность ЛС вызывать иммунный ответ, наиболее часто возникает при использовании терапевтических белков. Значительное влияние на иммуногенность белков могут оказывать различные посттрансляционные модификации, в т.ч. гликозилирование, образование агрегатов и химические модификации, для контроля которых оценивается при определении подлинности и чистоты. В то же время методы выявления ADAs (как правило, при помощи иммуноферментного анализа) и оценки их нейтрализующей активности по отношению к ЛС также должны входить в спецификацию на биотехнологические препараты.

Биологическая активность[22] является ключевым показателем качества биопрепарата, поскольку она коррелирует с его клинической эффективностью. Как правило, используется несколько методик, однако все они так или иначе должны проводиться в живых системах – клетках и культурах тканей *in vitro* или на лабораторных животных *in vivo*. Очевидно, что результаты проведения подобных испытаний могут быть вариабельными, поэтому разработка подходящих методик, способных обеспечивать надежность, воспроизводимость и точность результатов измерений, начинается вместе с разработкой препарата, в т.ч. в ходе доклинических исследований, и может продолжаться вплоть до начала клинических исследований III фазы (Рис. 3).

Как отмечено выше, биопрепараты могут быть чувствительны к свету, механическим воздействиям и колебаниям температуры, поэтому испытания стабильности[23] отличаются от таковых, проводимых для малых молекул. В частности, результаты ускоренного эксперимента по определению стабильности биопрепарата не могут быть экстраполированы на более длительный срок хранения, поэтому для регистрации потребуется данные по стабильности в течение всего предполагаемого срока хранения в реальных условиях. Оценка стабильности биопрепаратов обязательно будет включать оценку подлинности, чистоты (особенно продуктов деградации) и биологической активности в течение минимум 6 мес.

Биопрепараты, одобренные FDA с 2015 по 2022 гг.

За период с 2015 по 2022 гг. FDA одобрило применение 341 ЛП, созданного биотехнологическим путем, 120 из них ориентировано на лечение онкологических заболеваний, 91 – представлены оригинальными молекулами (Рис. 4). Это свидетельствует о том, что, с одной стороны, проблема распространения онкологических заболеваний продолжает оставаться серьёзной угрозой, поиск и разработка средств борьбы с ней имеют достаточное финансирование, а с другой – указывает на значительные успехи в области фундаментальных представлений о патогенезе заболевания и прогрессе в области технологий управления им. Анализируя количество одобрений препаратов по годам, можно сделать вывод об их равномерном распределении с отчетливой тенденцией к постепенному увеличению. В основном одобренные ЛП представлены оригинальными продуктами (в количестве 230), 92 из которых относится к препаратом для лечения онкологических заболеваний, 25 представлены новыми лекарственными формами (за 2020, 2021 и 2022 гг. нет одобрений, связанных с регистрацией препаратов в новой лекарственной форме), 14 – дженериками, 3 из которых относятся к препаратам для лечения онкологических заболеваний, 3 препарата одобрено в связи с внесением нового показания к применению, 22 – в связи с перерегистрацией, 28 – смена производителя и 17 препаратов были одобрены, как новые комбинации, 8 из которых применяют при лечении онкологических заболеваний. Анализируя эти данные, можно сделать вывод, подтверждающий утверждение об устойчивом росте фармацевтического рынка, основным драйвером которого являются оригинальные ЛП, новые комбинации и лекарственные формы, а также расширение показаний к применению уже известных лекарств [47–50].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные биологические препараты, разрабатываемые методами обратного инжиниринга, представляют собой апогей развития подхода «структура – активность», применявшегося ранее

[20] Там же.
[21] Там же.
[22] Там же.
[23] Там же.

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

при разработке малых молекул. Биотехнологические препараты могут представлять собой незаменимые средства таргетной и персонифицированной терапии, однако их разработка усложнена необходимостью тщательного отбора релевантных биологических видов и экспериментальных моделей, применяемых не только в рамках доклинических исследований, но и для рутинного контроля качества готовых продуктов. Контроль качества биопрепаратов является наиболее значимым аспектом их разработки. Проведенный анализ отмечает имеющиеся успехи и перспективы в области разработки биопрепаратов, подчеркивая их ключевую роль в будущих преобразованиях в области лечения редких и онкологических заболеваний, приближая эру персонализированной медицины. Отслеживание направлений разработки и технологические подходы, а также приверженность мировым методологическим и регуляторным аспектам может стать катализатором в развитии российской фармакологии.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

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, О.В. Иванова, Н.А. Лычева, С.А. Воскресенский – сбор материала и написание черновика рукописи; Е.И. Морковин, А.В. Стрыгин, Ю.А. Колосов, К.Н. Корянова – анализ, редактирование и утверждение финальной версии рукописи; А.Г. Солодовников, А.В. Заборовский, И.И. Макаренко, Р.В. Драй, В.И. Петров – написание материала по узкоспециализированным разделам, утверждение финальной версии рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Huayamares S.G., Lokugamage M.P., Da Silva Sanchez A.J., Dahlman J.E. A systematic analysis of biotech startups that went public in the first half of 2021 // Current Research in Biotechnology. – 2022. – Vol. 4. – P. 392–401. DOI: 10.1016/j.crbiot.2022.09.004
2. Frame N., Casasanta M., Ben-Joseph O. The winding journey of biotech capital raising: deciphering the jargon // Trends in Biotechnology. – 2023. – Vol. 41, No. 10. – P. 1213–1215. DOI: 10.1016/j.tibtech.2023.06.011
3. Kohn D.B., Chen Y.Y., Spencer M.J. Successes and challenges in clinical gene therapy // Gene Ther. – 2023. – Vol. 30, No. 10–11. – P. 738–746. DOI: 10.1038/s41434-023-00390-5
4. Sayed N., Allawadhi P., Khurana A., Singh V., Navik U., Pasumarthi S.K., Khurana I., Banothu A.K., Weiskirchen R., Bharani K.K. Gene therapy: Comprehensive overview and therapeutic applications // Life Sci. – 2022. – Vol. 294. – Art. ID: 120375. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120375
5. Esfahani K., Roudaia L., Buhlaiga N., Del Rincon S.V., Papneja N., Miller W.H. Jr. A review of cancer immunotherapy: from the past, to the present, to the future // Curr Oncol. – 2020. – Vol. 27, Suppl 2. – P. S87–S97. DOI: 10.3747/co.27.5223
6. Hegde P.S., Chen D.S. Top 10 Challenges in Cancer Immunotherapy // Immunity. – 2020. – Vol. 52, No. 1. – P. 17–35. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.12.011
7. El-Kadiry A.E., Rafei M., Shammaa R. Cell Therapy: Types, Regulation, and Clinical Benefits // Front Med (Lausanne). – 2021. – Vol. 8. – Art. ID: 756029. DOI: 10.3389/fmed.2021.756029
8. Weth F.R., Hoggarth G.B., Weth A.F., Paterson E., White M.P.J., Tan S.T., Peng L., Gray C. Unlocking hidden potential: advancements, approaches, and obstacles in repurposing drugs for cancer therapy // British Journal of Cancer. – 2023. DOI: 10.1038/s41416-023-02502-9
9. Spellicy S.E., Hess D.C. Recycled Translation: Repurposing Drugs for Stroke // Transl Stroke Res. – 2022. – Vol. 13, No. 6. – P. 866–880. DOI: 10.1007/s12975-022-01000-z
10. Куркин Д.В., Морковин Е.И., Бакулин Д.А., Горбунова Ю.В., Колосов Ю.А., Джавахян М.А., Макаренко И.Е., Драй Р.В., Заборовский А.В., Шаталова О.В., Стрыгин А.В., Петров В.И., Плетень А.П., Прокопов А.А., Татаренко-Козмина Т.Ю. Обзор лекарственных средств, одобренных FDA в 2022 году // Фармация и фармакология. – 2023. – Т. 11. – № 3. – С. 193–210. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-193-210
11. Mello M.M. Barriers to Ensuring Access to Affordable Prescription Drugs // Annu Rev Pharmacol Toxicol. – 2020. – Vol. 60. – P. 275–289. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010919-023518
12. Zimmermann B.M., Eichinger J., Baumgartner M.R. A systematic review of moral reasons on orphan drug reimbursement // Orphanet J Rare Dis. – 2021. – Vol. 16, No. 1. – Art. ID: 292. DOI: 10.1186/s13023-021-01925-y
13. Althobaiti H., Seoane-Vazquez E., Brown L.M., Fleming M.L., Rodriguez-Monguio R. Disentangling the Cost of Orphan Drugs Marketed in the United States // Healthcare (Basel). – 2023. – Vol. 11, No. 4. – Art. ID: 558. DOI: 10.3390/healthcare11040558
14. Paolini Sguazzi G., Muto V., Tartaglia M., Bertini E., Compagnucci C. Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) and Gene Therapy: A New Era for the Treatment of Neurological Diseases // Int J Mol Sci. – 2021. – Vol. 22, No. 24. – Art. ID: 13674. DOI: 10.3390/ijms222413674
15. Chavez M., Chen X., Finn P.B., Qi L.S. Advances in CRISPR therapeutics // Nat Rev Nephrol. – 2023. – Vol. 19, No. 1. – P. 9–22. DOI: 10.1038/s41581-022-00636-2

16. Ниязов Р.Р., Драницына М.А., Васильев А.Н., Гавришина Е.В. Биоаналоги: воспроизведение клинического профиля с помощью современных биотехнологий // Ремедиум. – 2021. – № 2. – С. 8–24. DOI: 10.21518/1561-5936-2021-2-8-24
17. Yuan S., Shen D.D., Jia R., Sun J.S., Song J., Liu H.M. New drug approvals for 2022: Synthesis and clinical applications // Med Res Rev. – 2023. – Vol. 43, No. 6. – P. 2352–2391. DOI: 10.1002/med.21976
18. Chia C.S.B. A Patent review on FDA-approved antibody-drug conjugates, their linkers and drug payloads // ChemMedChem. – 2022. – Vol. 17, No. 11. – Art. ID: e202200032. DOI: 10.1002/cmdc.202200032
19. Gurgula O. Strategic patenting by pharmaceutical companies – should competition law intervene? // IIC Int Rev Ind Prop Copyr Law. – 2020. – Vol. 51, No. 9. – P. 1062–1085. DOI: 10.1007/s40319-020-00985-0
20. Орлова А.И. Патентные стратегии в фармацевтике: «патентное озеленение» // Журнал Суда по интеллектуальным правам. – 2019. – № 26. – С. 83–89.
21. Martins A.C., Albericio F., de la Torre B.G. FDA Approvals of Biologics in 2022 // Biomedicines. – 2023. – Vol. 11, No. 5. – Art. ID: 1434. DOI: 10.3390/biomedicines11051434
22. Mullard A. 2023 FDA approvals // Nature Reviews Drug Discovery. – 2024. DOI: 10.1038/d41573-024-00001-x
23. Sharma K., Sharma K.K., Sharma A., Jain R. Peptide-based drug discovery: Current status and recent advances // Drug Discov Today. – 2023. – Vol. 28, No. 2. – Art. ID: 103464. DOI: 10.1016/j.drudis.2022.103464
24. Berdigaliyev N., Aljofan M. An overview of drug discovery and development // Future Med Chem. – 2020. – Vol. 12, No. 10. – P. 939–947. DOI: 10.4155/fmc-2019-0307
25. Kayser V., Ramzan I. Vaccines and vaccination: history and emerging issues // Hum Vaccin Immunother. – 2021. – Vol. 17, No. 12. – P. 5255–5268. DOI: 10.1080/21645515.2021.1977057
26. Alamgir A.N.M. Bioactive compounds and pharmaceutical excipients derived from animals, marine organisms, microorganisms, minerals, synthesized compounds, and pharmaceutical drugs. therapeutic use of medicinal plants and their extracts: volume 2. – 2018. – P. 311–406. DOI: 10.1007/978-3-319-92387-1_4
27. Bellinvia S., Edwards C.J. Explaining biosimilars and how reverse engineering plays a critical role in their development // Expert Opin Drug Discov. – 2020. – Vol. 15, No. 11. – P. 1283–1289. DOI: 10.1080/17460441.2020.1796627
28. Motika S.E., Hergenrother P.J. Re-engineering natural products to engage new biological targets // Nat Prod Rep. – 2020. – Vol. 37, No. 11. – P. 1395–1403. DOI: 10.1039/d0np00059k
29. David F., Davis A.M., Gossing M., Hayes M.A., Romero E., Scott L.H., Wigglesworth M.J. A perspective on synthetic biology in drug discovery and development-current impact and future opportunities // SLAS Discov. – 2021. – Vol. 26, No. 5. – P. 581–603. DOI: 10.1177/24725552211000669
30. Robertson M.J., Meyerowitz J.G., Skiniotis G. Drug discovery in the era of cryo-electron microscopy // Trends Biochem Sci. – 2022. – Vol. 47, No. 2. – P. 124–135. DOI: 10.1016/j.tibs.2021.06.008
31. Santos I.C., Brodbelt J.S. Recent developments in the characterization of nucleic acids by liquid chromatography, capillary electrophoresis, ion mobility, and mass spectrometry (2010-2020) // J Sep Sci. – 2021. – Vol. 44, No. 1. – P. 340–372. DOI: 10.1002/jssc.202000833
32. Campuzano I.D.G., Sandoval W. Denaturing and Native Mass Spectrometric Analytics for Biotherapeutic Drug Discovery Research: Historical, Current, and Future Personal Perspectives // J Am Soc Mass Spectrom. – 2021. – Vol. 32, No. 8. – P. 1861–1885. DOI: 10.1021/jasms.1c00036
33. Akkapeddi P., Teng K.W., Koide S. Monobodies as tool biologics for accelerating target validation and druggable site discovery // RSC Med Chem. – 2021. – Vol. 12, No. 11. – P. 1839–1853. DOI: 10.1039/d1md00188d
34. Sim D.S., Kauser K. *In vivo* target validation using biological molecules in drug Development // Handb Exp Pharmacol. – 2016. – Vol. 232. – P. 59–70. DOI: 10.1007/164_2015_17
35. Loewa A., Feng J.J., Hedtrich S. Human disease models in drug development // Nat Rev Bioeng. – 2023. – P. 1–15. DOI: 10.1038/s44222-023-00063-3
36. Bull S.C., Doig A.J. Properties of protein drug target classes // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, No. 3. – Art. ID: e0117955. DOI: 10.1371/journal.pone.0117955
37. Cheng L., Xia F., Li Z., Shen C., Yang Z., Hou H., Sun S., Feng Y., Yong X., Tian X., Qin H., Yan W., Shao Z. Structure, function and drug discovery of GPCR signaling // Mol Biomed. – 2023. – Vol. 4, No. 1. – Art. ID: 46. DOI: 10.1186/s43556-023-00156-w
38. Wang L., Wang N., Zhang W., Cheng X., Yan Z., Shao G., Wang X., Wang R., Fu C. Therapeutic peptides: current applications and future directions // Signal Transduct Target Ther. – 2022. – Vol. 7, No. 1. – Art. ID: 48. DOI: 10.1038/s41392-022-00904-4
39. Alejandra W.P., Miriam Irene J.P., Fabio Antonio G.S., Patricia R.R., Elizabeth T.A., Aleman-Aguilar J.P., Rebeca G.V. Production of monoclonal antibodies for therapeutic purposes: A review // Int Immunopharmacol. – 2023. – Vol. 120. – Art. ID: 110376. DOI: 10.1016/j.intimp.2023.110376
40. Bussiere J.L. Species selection considerations for preclinical toxicology studies for biotherapeutics // Expert Opin Drug Metab Toxicol. – 2008. – Vol. 4, No. 7. – P. 871–877. DOI: 10.1517/17425255.4.7.871
41. Vaisman-Mentesh A., Gutierrez-Gonzalez M., DeKosky B.J., Wine Y. The molecular mechanisms that underlie the immune biology of anti-drug antibody formation following treatment with monoclonal antibodies // Front Immunol. – 2020. – Vol. 11. – Art. ID: 1951. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01951
42. Prior H., Haworth R., Labram B., Roberts R., Wolfreys A., Sewell F. Justification for species selection for pharmaceutical toxicity studies // Toxicol Res (Camb). – 2020. – Vol. 9, No. 6. – P. 758–770. DOI: 10.1093/toxres/tfaa081
43. Namdari R., Jones K., Chuang S.S., Van Cruchten S., Dincer Z., Downes N., Mikkelsen L.F., Harding J., Jäckel S., Jacobsen B., Kinyamu-Akunda J., Lortie A., Mhedhbi S., Mohr S., Schmitt M.W., Prior H. Species selection for nonclinical safety assessment of drug candidates: Examples of current industry practice // Regul Toxicol Pharmacol. – 2021. – Vol. 126. – Art. ID: 105029. DOI: 10.1016/j.yrtph.2021.105029
44. Attarwala H. TGN1412: From Discovery to Disaster // J Young Pharm. – 2010. – Vol. 2, No. 3. – P. 332–336. DOI: 10.4103/0975-1483.66810
45. Eastwood D., Findlay L., Poole S., Bird C., Wadhwa M., Moore M., Burns C., Thorpe R., Stebbings R. Monoclonal antibody TGN1412 trial failure explained by species differences in CD28 expression on CD4+ effector memory

T-cells // Br J Pharmacol. – 2010. – Vol. 161, No. 3. – P. 512–526. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.00922.x
46. Weißmüller S., Kronhart S., Kreuz D., Schnierle B., Kalinke U., Kirberg J., Hanschmann K.M., Waibler Z. TGN1412 induces lymphopenia and human cytokine release in a humanized mouse model // PLoS One. – 2016. – Vol. 11, No. 3. – Art. ID: e0149093. DOI: 10.1371/journal.pone.0149093
47. Bhutani P., Joshi G., Raja N., Bachhav N., Rajanna P.K., Bhutani H., Paul A.T., Kumar R. U.S. FDA approved drugs from 2015-june 2020: A perspective // J Med Chem. – 2021. – Vol. 64, No. 5. – P. 2339–2381. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c01786
48. Brown B.L., Mitra-Majumdar M., Joyce K., Ross M., Pham C., Darrow J.J., Avorn J., Kesselheim A.S. Trends in the quality of evidence supporting FDA drug approvals: results from a literature review // J Health Polit Policy Law. – 2022. – Vol. 47, No. 6. – P. 649–672. DOI: 10.1215/03616878-10041093
49. Passi I., Salwan S., Kumar B. US-FDA approved drugs in 2020 and 2021: A review // Mini Rev Med Chem. – 2023. – Vol. 23, No. 12. – P. 1273–1297. DOI: 10.2174/1389557523666221208104530
50. Al-Madhagi H.A. FDA-approved drugs in 2022: A brief outline // Saudi Pharm J. – 2023. – Vol. 31, No. 3. – P. 401–409. DOI: 10.1016/j.jsps.2023.01.007

АВТОРЫ

Куркин Денис Владимирович – доктор фармацевтических наук, доцент, директор Научно-образовательного института фармации им. К.М. Лакина, ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии, ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: strannik986@mail.ru

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

Бакулин Дмитрий Александрович – кандидат медицинских наук, руководитель Межкафедрального научно-образовательного центра фармации, Научно-образовательный институт фармации им. К.М. Лакина, ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4694-3066. E-mail: mbfdoc@gmail.com

Заборовский Андрей Владимирович – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии, ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7923-9916. E-mail: azabor@mail.ru

Макаренко Игорь Евгеньевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник, Научно-образовательный институт фармации им. К.М. Лакина, ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; руководитель медицинского департамента, ЗАО «Фарм-Холдинг». ORCID ID: 0000-0003-2308-0608. E-mail: Igor.Makarenko@geropharm.com

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

Солодовников Александр Геннадьевич – кандидат медицинских наук, доцент, директор по управлению качеством, ООО «Статэндокс». ORCID ID: 0000-0002-4564-2168. E-mail: asolodovnikov@statandocs.com

Петров Владимир Иванович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии и интенсивной терапии, ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; 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

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

Лычева Наталья Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник, Научно-образовательный институт фармации им. К.М. Лакина, ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; руководитель медицинского департамента, ЗАО «Фарм-Холдинг». ORCID ID: 0000-0002-5842-5728. E-mail: Natalia.lycheva@yandex.ru

Воскресенский Сергей Андреевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник, НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. E-mail: Voskresenskiy_1983@mail.ru

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

Колосов Юрий Анатольевич – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель директора по учебной работе, Научно-образовательный институт фармации им. К.М. Лакина, ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1506-2565. E-mail: tronk79@gmail.com

Горбунова Юлия Васильевна – кандидат фармацевтических наук, заведующая лабораторией, Научно-образовательный институт фармации им. К.М. Лакина, ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: yvgorbunova@yandex.ru

Иванова Ольга Викторовна – кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник, Научно-образовательный институт фармации им. К.М. Лакина, ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4333-322X. E-mail: ovivanova134@mail.ru

Scientific and Practical Journal
PHARMACY & PHARMACOLOGY

REVIEWS

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-399-411

УДК 615.32: 547.97

Check for updates

CC BY

Фенилпропаноиды как класс природных биологически активных соединений – органопротекторов

В.А. Куркин[1], Н.Р. Варина[1], Е.В. Авдеева[1], И.В. Рузаева[2]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

[2] Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева», 443000, Россия, г. Самара, Московское шоссе, д. 34

E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Получена 25.10.2023 После рецензирования 24.11.2023 Принята к печати 15.12.2023

Цель. Анализ современного состояния исследований фенилпропаноидов как самостоятельного класса биологически активных соединений и перспектив их использования для разработки лекарственных средств и биологически активных добавок.

Материалы и методы. Были изучены работы за период с 1968 по 2023 гг. в базах данных Scopus, ScienceDirect, PubMed, Google Scholar, e-library.ru, научно-информационной сети ResearchGate. Для поиска были использованы следующие ключевые слова: «фенилпропаноиды», «антиоксиданты», «гепатопротекторы», «иммуномодуляторы», «органопротекторы», «анксиолитики», «адаптогены», «профилактическая медицина», «саногенез», «лекарственные препараты», «биологически активные добавки к пище», «спортивная медицина» и их англоязычные аналоги.

Результаты. В работе рассмотрены ключевые этапы и результаты изучения класса фенилпропаноидов в следующих аспектах: химическая структура и классификация, биосинтез и роль в биогенезе других классов фенольных соединений, распространение в растительном мире, биологическая и фармакологическая активность, поиск растительных источников и их использование в медицине и фармации. Обсуждены существующие и потенциальные возможности применения фенилпропаноидов в профилактических и терапевтических целях.

Заключение. Анализ научных публикаций по фармакогностическому и медико-биологическому изучению лекарственных растений, содержащих фенилпропаноиды, обосновывает целесообразность их рассмотрения как самостоятельного класса биологически активных соединений. Органопротекторный профиль действия и широкий спектр специфической фармакологической активности фенилпропаноидов связан общими звеньями саногенеза системы «прооксидант – антиоксидант». С позиции зависимости: «химический состав – структура соединений – спектр активности» обоснован выбор перспективных растительных источников для разработки лекарственных средств и биологически активных соединений с заданными свойствами.

Ключевые слова: фенилпропаноиды; антиоксиданты; гепатопротекторы; иммуномодуляторы; органопротекторы; анксиолитики; адаптогены; профилактическая медицина; саногенез; лекарственные препараты; биологически активные добавки к пище; спортивная медицина

Список сокращений: АФК – активные формы кислорода; БАД – биологически активная добавка к пище; БАС – биологически активное соединение(я); ЛП – лекарственный препарат; ЛРС – лекарственное растительное сырье; ЛС – лекарственное средство; ЦНС – центральная нервная система.

Для цитирования: В.А. Куркин, Н.Р. Варина, Е.В. Авдеева, И.В. Рузаева. Фенилпропаноиды как класс природных биологически активных соединений – органопротекторов. *Фармация и фармакология.* 2023;11(5):399-411. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2023-11-5-399-411

© В.А. Куркин, Н.Р. Варина, Е.В. Авдеева, И.В. Рузаева, 2023

For citation: V.A. Kurkin, N.R. Varina, E.V. Avdeeva, I.V. Ruzaeva. Phenylpropanoids as a class of natural biologically active organo-protective compounds. *Pharmacy & Pharmacology.* 2023;11(5):399-411. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2023-11-5-399-411

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Phenylpropanoids as a class of natural biologically active organo-protective compounds

V.A. Kurkin[1], N.R. Varina[1], E.V. Avdeeva[1], I.V. Ruzaeva[2]

[1] Samara State Medical University
89, Chapaevskaya Str., Samara, Russia, 443099
[2] Samara University,
34 Moskovskoe Hwy, Samara, Russia, 443000

E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Received 25 Oct 2023 After peer review 24 Nov 2023 Accepted 15 Dec 2023

The aim of the work was to analyze the current research state of phenylpropanoids as a special specific class of biologically active compounds and the prospects for their use for the development of medicines and biologically active food additives.

Materials and methods. The scientific data for the period from 1968 to 2023 were studied in the databases of Scopus, ScienceDirect, PubMed, Google Scholar, e-library.ru, ResearchGate – a scientific information network. Herewith, the following keywords were used: “phenylpropanoids”, “antioxidants”, “hepatoprotectors”, “immunomodulators”, “organoprotectors”, “anxiolytics”, “adaptogens”, “preventive medicine”, “sanogenesis”, “medicines”, “biologically active food additives”, “sports medicine” and their English-language analogues.

Results. This scientific research examines the main stages and results of studying the class of phenylpropanoids in the following aspects: a chemical structure and classification, biosynthesis and its role in the biogenesis of other classes of phenolic compounds, their distribution, biological and pharmacological activity in the plant world, the search for plant sources and their use in medicine and pharmacy. The existing and potential applications of phenylpropanoids for preventive and therapeutic purposes are discussed.

Conclusion. The analysis of the scientific publications on the pharmacognostic and biomedical studies of the medicinal plants containing phenylpropanoids, substantiates the expediency of considering them as an autonomous specific class of biologically active compounds. The organoprotective profile of their action and a wide range of specific pharmacological activities of phenylpropanoids are connected by common links of the sanogenesis in the “prooxidant–antioxidant” system. The choosing of promising plant sources for the development of medicines and biologically active compounds with specified properties is justified from the dependence position of “chemical composition – structure of compounds – spectrum of activity”.

Keywords: phenylpropanoids; antioxidants; hepatoprotectors; immunomodulators; organoprotectors; anxiolytics; adaptogens; preventive medicine; sanogenesis; medicines; biologically active food additives; sports medicine

Abbreviations: ROS – reactive oxygen species; BAFA – biologically active food additives; BAC(s) – biologically active compound(s); MPRMs – medicinal plant raw materials; MR – medicinal remedy; CNS – central nervous system.

ВВЕДЕНИЕ

Процессы биосинтеза в растениях приводят к накоплению первичных и вторичных метаболитов, многие из которых представляют высокую ценность для применения в медицинских целях. К таковым относятся фенилпропаноиды, которые представляют собой ароматические, в основном, фенольные соединения, содержащие в структуре один или несколько фрагментов фенилпропана (C_6–C_3) [1].

К настоящему времени усилиями отечественных и зарубежных ученых накоплен значительный объем данных по обсуждаемым биологически активным соединениям (БАС), в том числе ранее обобщенных и систематизированных в ряде монографий и обзорных работ. Они преимущественно посвящены рассмотрению фенилпропаноидов как класса химических соединений природного происхождения [2]. Текущий запрос научного сообщества состоит в том, чтобы на основе имеющихся знаний о химической структуре, физико-химическим свойствам, сведений о химическом составе видов лекарственного растительного сырья (ЛРС), накопленного опыта медицинского применения перейти к оценке текущего состояния фармакогностических и медико-биологических данных, а также перспективам реализации лечебно-профилактического потенциала фенилпропаноидов.

Данный обзор с позиций преемственности в накоплении научного знания на основе принципов доказательной фармации и медицины должен послужить ориентиром для создания органопротекторных лекарственных препаратов (ЛП) и биологически активных добавок (БАД) на основе фенилпропаноидов и их производных для терапии и профилактики широкого нозологического спектра, в т.ч. в области спортивной медицины.

ЦЕЛЬ. Анализ современного состояния исследований фенилпропаноидов как самостоятельного класса природных соединений и перспектив их использования для разработки лекарственных средств и биологически активных добавок.

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-399-411

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализ и систематизация материала осуществлялись с помощью научных баз данных Scopus, ScienceDirect, PubMed, Google Scholar, e-library.ru, а также научно-информационной сети ResearchGate (из более 350 статей отобраны как наиболее значимые 56 публикаций). Временной период охвата опубликованных научных данных составил интервал с 1968 по 2023 годы. Информационный поиск проводился по следующим ключевым словам: «фенилпропаноиды», «антиоксиданты», «гепатопротекторы», «иммуномодуляторы», «органопротекторы», «анксиолитики», «адаптогены», «профилактическая медицина», «саногенез», «лекарственные препараты», «биологически активные добавки к пище», «спортивная медицина» и их англоязычные аналоги.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Историческая справка

Разноплановое изучение фенилпропаноидов и их производных профессиональным научным сообществом проводится на протяжении последних 70–80 лет [1, 3–5].

Само название «фенилпропаноиды», также как и такие понятия как «фенилэтаноиды» и их производные (гидроксифенилпропаноидные и фенилэтаноидные гликозиды), «простые фенольные соединения», «фенолкарбоновые кислоты», «коньюгаты кофейной кислоты» и ряд других обозначений использовались широко в научной литературе, начиная с 1950-х годов прошлого столетия и часто накладывались по смыслу (иногда с подменой понятий: например, гидроксикоричные кислоты назывались карбоновыми кислотами), что требовало стройной химической систематизации с позиций структурных особенностей названных групп соединений. Химическая классификация соединений фенольной природы с учетом органической связи между соединениями и последовательности их биосинтеза появилась только на рубеже веков и в настоящее время является основополагающей в современной фармакогнозии [1]. Принципиальной позицией является собственно классификация самих фенилпропаноидов – соединений на основе фенилпропанового фрагмента, а также их положение в общей классификации соединений фенольной природы в логике биосинтеза и усложнения структуры углеродного скелета. Это стало возможным по мере накопления данных для широкого круга выделенных соединений фенольной природы с использованием структурных методов анализа [1].

В 2000-х годах в продолжение фундаментальных работ по изучению фенилпропаноидов на основе изучения медико-биологических свойств и установления характерного профиля активности понимание фенилпропаноидов расширилось до обозначения как самостоятельного класса природных биологически активных соединений (БАС). В это же время получил развитие системный подход к изучению химического состава, стандартизации и поиску перспективных сырьевых источников с позиций выявленного спектра фармакологической активности лекарственных растений, содержащих фенилпропаноиды. Обнаружение новых свойств данного класса БАС, в том числе их роли для самих растений, например, в качестве УФ-протекторов (что пока не перенесено в медицинскую практику) [6, 7], данных по распространенности, а также перекрывание научных областей: данных по поддержанию системы гомеостаза, и, в частности, иммунного гомеостаза, понимания механизмов пато- и саногенеза и непосредственно фармакогностического знания существенно расширили спектр представлений о возможностях использования фенилпропаноидов, о чем свидетельствует мировой публикационный поток [8–11].

Речь идет о параллельном во времени с успехами в фармакогнозии изучении фундаментальных основ жизнедеятельности организма, системы гомеостаза, что, в свою очередь, послужило методологическим обоснованием для изучения медико-биологических свойств нового класса соединений БАС. Последние десятилетия прошлого века и первые десятилетия XXI века ознаменовались глубоким, на молекулярном уровне изучением системы «прооксидант – антиоксидант», иммунного гомеостаза, модуляции управляющих сигналов, белок-белкового взаимодействия и позволило углубить понимание организма как целостной системы. В частности, в широком смысле повреждающие факторы внешней и внутренней среды, инфекционной и неинфекционной природы вызывают совокупность ответных реакций на разных уровнях организации живого, формируя этиопатогенетические кластеры [12]. На эту совокупность патологических реакций (звенья патогенеза) организм отвечает активацией соответствующих звеньев саногенеза. Далеко не всегда организм может справиться сам, что приводит к формированию патологических состояний и болезней различных систем и органов, что диктует необходимость комплексного противостояния, в т.ч. медикаментозного органопротекторного воздействия. Оно призвано компенсировать недостаточность эндогенных факторов биорегуляции и защиты (специфической и неспецифической), истощение антиоксидантного потенциала организма, адаптационных возможностей [12–14]. Именно в этом направлении большинством исследовательских коллективов рассматривается лечебно-профилактический потенциал фенилпропаноидов, а также связанные через звенья саногенеза виды специфической фармакологической активности.

Работы в основном отечественных ученых последних десятилетий в отношении более 20 видов растений, содержащих преимущественно (в качестве ведущей группы БАС) фенилпропаноиды

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241
Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

и их производные, привели к получению ценных прикладных данных и линейки ЛП. Для выделенных индивидуальных соединений фенилпропаноидной природы и суммарных нативных комплексов действующих веществ было конкретизировано антиоксидантное, гепатопротекторное, нейротропное и иммуномодулирующее действие в зависимости от структуры действующих веществ [15–18]. Показано, что спектр указанной активности напрямую зависит от принадлежности соединений к классификационным группам фенилпропаноидов (производные коричных спиртов, кислот, неолигнаны, лигнаны, флаволигнаны и др.) и особенностей химического строения: антиоксидантная активность и иммуномодулирующее действие – общие характерные признаки класса БАС; адаптогенные свойства – в разных аспектах также присущи большинству выделенных и изученных соединений и суммарному нативному комплексу действующих веществ растений, но более выражены для производных коричных спиртов, для этой группы – как простых, так и сложных фенилпропаноидов, наиболее выражены стимулирующие ЦНС свойства, лидерами по гепатопротекторной активности являются флаволигнаны. Эти данные с позиции взаимосвязи: «химическая структура – фармакологическое действие – применение» по поводу воздействия фенилпропаноидов на звенья антиоксидантной защиты, модуляции иммунного ответа и в целом активации неспецифической сопротивляемости и систем адаптации организма позволили обосновать рациональное использование соответствующих растительных источников для получения разнообразных фитосубстанций для клинического применения и профилактики целого ряда заболеваний [19–22]. Это является, на наш взгляд, текущим итогом сегодняшнего дня, а также отправной точкой для дальнейших работ.

Рассмотрим различные аспекты современных представлений о фенилпропанодах, как основание для реализации дальнейших перспектив их рационального использования в медицине и фармации.

Представление о классе фенилпропаноидов

Фенилпропаноиды широко распространены в растительном мире, но поскольку в качестве самостоятельного класса природных БАС были введены в фармакогнозию сравнительно недавно, данные соединения можно рассматривать, несмотря на длительную историю интереса к ним, как относительно молодой класс вторичных метаболитов [1, 2]. Для них усилиями отечественных и зарубежных ученых углубленно изучены структурные особенности и физико-химические свойства. В частности, для фенилпропаноидов показано, что наиболее значимыми для установления химического строения является спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), которая в совокупности с данными масс-спектрометрии, УФ-спектрометрии и результатами химических реакций позволяют однозначно установить структуру. Так, на спектрах ^{1}Н-ЯМР на шкале химических сдвигов в области 6,7–7,3 присутствуют сигналы резонанса ароматических протонов и в области 8,5 и 6,3 м.д. алифатических протонов [1, 5].

Предложена классификация фенилпропаноидов и их производных на основе данных о структуре соединений и биосинтезе, что в 1996 г. привело к пересмотру всей химической классификации фенольных соединений. В соответствие с данной классификацией фенилпропаноиды целесообразно не только выделять в отдельный класс БАС, но и внутри класса по продуктам биосинтеза делить на подгруппы по нескольким основаниям: по числу фенилпропановых фрагментов – на простые и сложные (лигнаны), в зависимости от функциональной группы пропанового фрагмента еще на несколько групп, из которых наибольшее медико-профилактическое значение имеют коричные спирты и коричные кислоты, а также выделяются органически связанные небольшие по количеству группы БАС, как правило, образованные путем окислительного сочетания фенилпропанового фрагмента с другими классами соединений (флаволигнаны, кумаринолигнаны, ксантонолигнаны, алкалоидолигнаны), есть и некоторые другие основания для классификации [1].

Все это принципиально важно с позиции установления зависимости: «структура – активность», в т.ч. биологическая активность и фармакологические эффекты как исходных соединений, так и их производных. Исследования зарубежных ученых показывают, что высокой метаболической активностью обладают гликозиды п-кумаровой, кофейной и феруловой кислот, являющихся важнейшими метаболитами природных БАС. Если же рассматривать коричные спирты, то по результатам наших исследований установлено, что реакционная способность растет в ряду: коричный спирт – п-кумаровый спирт – конифериловый спирт – синаповый спирт, поскольку в данном ряду растет число функциональных групп, участвующих в реакциях окислительного сочетания, результатом чего является образование молекул лигноидов и лигнанов. Указанное выше объясняет тот факт, что в природе чаще всего встречаются указанные сложные фенилпропаноиды на основе конифериловой или синапового спиртов [1, 11, 21].

Биосинтез фенилпропаноидов и их биогенетическая роль в синтезе других фенольных соединений, распространение в растительном мире

Простые фенилпропаноиды, прежде всего, п-кумаровая (гидроксикоричная) кислота образуются шикиматным путем из фенилаланина и тирозина, а также из промежуточных соединений на пути их образования (хинная и шикимовая кислоты).

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-399-411

Из гидроксикоричной кислоты под влиянием гидроксилирующих (гидроксилаза коричной кислоты и полифенолоксидаза) и метилирующих ферментов образуются с соответствующими функциональными группами представители данного класса БАС [1, 4].

Биосинтез простых фенилпропаноидов можно рассматривать как первую ступень синтеза целого ряда фенольных соединений, относящихся к другим самостоятельным классам фенольных соединений. Так, в структуре ряда простых фенольных соединений, кумаринов, флавоноидов, дубильных веществ конденсированной природы обнаруживаются фенилпропановые фрагменты, что указывает на роль фенилпропанодов как биогенетического предшественника. При этом, в образовании углеродных скелетов указанных самостоятельных классов и групп фенольных соединений процессы биосинтеза идут по ацетатно–шикиматному пути в результате халкон-синтетазной реакции, реакций гидроксилирования и изомеризации, конденсации и др. В отношении сочетаний фенилпропаноидов между собой и с веществами иной природы (не только фенольной), выделяются, соответственно, лигнаны и лигноиды, объединенные общим понятием сложных фенилпропаноидов. В основе их биосинтеза, как отмечалось ранее, реализуется окислительное сочетание, преимущественно по пропановому фрагменту молекулы со стороны фенилпропаноида [4, 5, 11].

На сегодняшний день литературные данные и собственные исследования показывают, что фенилпропаноиды наиболее широко распространены и в значительных количествах до 3–4% накапливаются в растениях следующих семейств: сложноцветных, или астровых (*Asteraceae*), аралиевых (*Araliaceae*), толстянковых (*Crassulaceae*), ивовых (*Salicaceae*), подорожниковых (*Plantaginaceae*), губоцветных, или яснотковых (*Lamiaceae*), маслинных (*Oleaceae*) и др. [2, 5, 23]. При этом, связь между таксономическими единицами и классификационными подгруппами фенилпропаноидов не выявлена. Вероятно, фенилпропаноиды как биогенетические предшественники, особенно родоначальники рядов коричных кислот и спиртов, уже выявлены и ожидаемы во всех растениях, содержащих разнообразный спектр соединений фенольной природы. Открытым остается только вопрос о конечном накоплении вторичных метаболитов в ЛРС. Есть примеры нахождения одного и того же фенилпропаноида в представителях далеких в таксономическом отношении семейств: гликозид синапового спирта под названиями сирингин и элеутерозид В в разное время выделен и независимо назван исследователями созвучно сырьевым источникам – кора сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) и корневища элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticocus* (Rupr. Et Maxim.) Maxim.), соответственно. Есть примеры только единичного нахождения сложных фенилпропаноидов в конкретных растениях – например, флаволигнаны расторопши; единичны случаи обнаружения алкалоидолигнанов и ксантонолигнанов. Однако в этом вопросе точку ставить рано с учетом биогенетической роли фенилпропаноидов [2].

Из всего разнообразия достаточно глубоко на сегодняшний день изучены растения, на наш взгляд, представленные следующими видами сырья: плоды расторопши пятнистой – *Silybum marianum* (L.) Gaertn., корневища с корнями левзеи сафлоровидной (рапонтикум сафлоровидный) – *Rhaponticum carthamoides* (Willd) DS, трава эхинацеи пурпурной – *Echinacea purpurea* (L.) Moench., сем. сложноцветные, или астровые (*Asteraceae)*; корневища с корнями элеутерококка колючего – *Eleutherococcus senticocus* (Rupr. Et Maxim.) Maxim., сем. аралиевые (*Araliaceae*); корневища и корни родиолы розовой – *Rhodiola rosea* L., сем. толстянковые (*Crossulariaceae*); кора видов ивы – *Salix species*, сем. ивовые (*Salicaceae*); мелисса лекарственная – *Melissa officinalis* L., сем. губоцветные (*Lamiaceae*); сирень обыкновенная – *Syringa vulgaris* L., сем. маслинные (*Oleaceae*); лимонник китайский – *Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill., сем. лимонниковые (*Schizandraceae*) [23–25].

Остановимся на данной выборке растительных источников с позиции научного обоснования для разработки ЛП и БАД в аспектах: химический состав, подходы к выделению и анализу действующих веществ (целевых групп БАС и ведущей группы – аналитов), решение проблемы стандартизации, обоснование применения в медицинской практике [26].

Фитохимические аспекты изучения и решения вопросов стандартизации избранных видов

К числу наукоемких этапов исследований, но совершенно необходимых с позиции понимания потенциала ЛРС, его стандартизации, получения различных фитосубстанций относится изучение химического состава. В случае с выделением в индивидуальном виде фенилпропаноидных соединений и их производных задача представляется сложной и многостадийной: не все соединения кристаллические, много сопутствующих по полярности и хроматографическому поведению; вещества вступают в реакции с этиловым спиртом, есть и ряд других сложностей. Однако к настоящему времени учеными выработаны принципиальные схемы для выделения группы коричных спиртов и коричных кислот. Установлен диапазон концентраций этилового спирта – 40–70% (по нашим наблюдениям, предпочтительнее 70% спирт этиловый, особенно если стоит задача максимально извлечь большинство соединений фенольной природы). Для разделения исходного извлечения используется адсорбционная колоночная хроматография. В качестве сорбента используют силикагель и полиамид (по нашим наблюдениям, достаточно невысоких слоев сорбента, в приоритете – диаметр слоя сорбента), в качестве системы элюентов –

растворители и их смеси по возрастанию полярности в ряду: *n*-гексан, хлороформ, спирт этиловый, вода. Полученные целевые фракции (контроль методом ТСХ) подвергаются рехроматографии, кристаллизации и перекристаллизации из соответствующих растворителей. В случае с производным гидроксикоричных кислот (некристаллические соединения) дополнительно используется сефадекс (молекулярные сита). Таким образом, получены государственные стандартные образцы (ГСО) коричных спиртов кристаллической природы – розавин, триандрин, сирингин, силибина, тогда как индивидуальные соединения являются представителями группы коричных кислот (кофейная, розмариновая, цикориевая и другие кислоты) имеют статус только рабочих стандартных образцов [1, 2].

Современные инструментальные возможности значительно упрощают рутинную практику выделения и очистки соединений – большинство фенилпропаноидных гликозидов получены к настоящему времени с использованием препаративной ВЭЖХ. Однако тонкие моменты изучения полного спектра БАС растений, а также получения веществ-стандартов по-прежнему требуют тонкой работы по разделению веществ путем рехроматографии и перекристаллизации веществ из разных растворителей [1].

Для обнаружения фенилпропаноидов в сырье и экстракционных (галеновых) препаратах хорошо себя зарекомендовал ТСХ-анализ с использованием системы: «хлороформ–метанол–вода» (26:14:3) или «хлороформ–этанол–вода» (26:13:4), при этом показатель R_f находится в диапазоне 0,4–0,5. Последующий просмотр хроматографических пластин проводится в ультрафиолетовом свете при длине волны 365 и 254 нм. Фенилпропаноиды имеют голубовато-фиолетовую флуоресценцию (облучение при 365 нм) или при наличии свободных фенольных гидроксильных групп обнаруживаются в виде фиолетово-малиновых пятен (облучение при 254 нм). Для соединений с низкой полярностью, в частности, флаволигнанов, эффективное разделение достигается в системе: «циклогексан–ацетонитрил» (6:4). Просмотр в УФ-свете при 254 нм позволяет выявить фиолетовые пятна в аналитической области хроматограммы. Помимо ТСХ-анализа для целей качественного анализа сырья и препаратов активно используется УФ-спектр. Он является характерным для производных коричных спиртов – наблюдается единственный максимум поглощения в диапазоне 250–270 нм, точное значение зависит в основном от наличия количества свободных гидроксильных радикалов в фенольном фрагменте; для производных коричных кислот характерно несколько максимумов поглощения – при 235, 242, 325–330 нм (основной) [2, 27].

Описанные характеристики хроматографического поведения, в том числе реализованные и в ВЭЖХ-анализе [28, 29], и данные электронных спектров фенилпропаноидов служат основой для разработки унифицированных методик анализа для лекарственного растительного сырья и препаратов, находят отражение в т.ч. в нормативной документации (соответствующие разделы Государственной фармакопеи Российской Федерации последних изданий) и при поиске перспективных сырьевых источников для разработки ЛС и БАД, подтверждается многочисленными публикациями по определению суммы гидроксикоричных кислот и производных коричных спиртов [30–32].

При этом в предложенных методиках качественного и количественного анализа используются вещества-стандарты (их разработка традиционно считается одной их наиболее наукоемких задач в фармакогнозии). На сегодняшний день предложены способы получения веществ-стандартов. Последовательность следующая:

– Определение в ходе фитохимических исследований сырья доминирующих и диагностически значимых веществ – потенциальные кандидаты на статус стандартных веществ;
– Оценка возможности их выделения в индивидуальном виде – задача существенно облегчается в случае кристаллической природы вещества (как для очистки соединения с минимизацией потерь, так и последующего изучения физико-химических характеристик, можно использовать температуру плавления в качестве одного из критериев чистоты соединения и ряд других преимуществ);
– Определение физико-химических констант соединений, разработка методик оценки показателей их качества.

Далее следует этап использования веществ-стандартов в аналитических целях – выбор аналитических методов и разработка методик качественного и количественного анализа по ведущей группе соединений [1, 2].

В частности, для обсуждаемой приоритетной группы растительных источников обоснованы следующие подходы: ведущей группой БАС для сырья и препаратов родиолы розовой, элеутерококка колючего и сирени обыкновенной являются гликозиды коричных спиртов. Соответственно, веществами стандартами для них являются ГСО розавин и сирингин; оценка качества сырья и препаратов расторопши пятнистой должна проводиться по сумме флаволигнанов – предложен ГСО силибин, и определение суммы флаволигнанов ведется в пересчете на силибин; в отношении сырья и препаратов мелиссы лекарственной и эхинацеи пурпурной – аналитами являются гидроксикоричные кислоты, поэтому с использованием соответствующих РСО ведется пересчет на розмариновую или цикориевую кислоту, но возможна замена на кофейную кислоту – ведущая и анализируемая группа для эхинацеи и анализируемая для мелиссы (эфирные масла) [2, 33, 34].

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-399-411

Медико-биологические свойства фенилпропаноидов и теоретические предпосылки их использования в медицинской практике

При выборе потенциального круга лекарственных растений, которые могли бы служить источником получения лечебных и профилактических средств для применения при широком нозологическом спектре заболеваний, а также при повышенных физических и интеллектуальных нагрузках, связанных со стрессовым фактором, в т.ч. при хронической усталости, истощении внутренних резервов антиоксидантой защиты, механизмов адаптации важно привлекать БАС, активирующие или модулирующие звенья саногенеза [14, 26].

Изучение антиоксидантных, гепатопротекторных, адаптогенных, иммуномодулирующих и нейротропных свойств различных фитосубстанций и индивидуальных фенилпропаноидных соединений и их производных, а также подтвержденная безопасность (класс малотоксичных соединений) позволяют отнести их к ценным органопротекторам. При этом, для конкретных назначений важно учесть профиль специфической фармакологической активности и с опорой на знание химического состава изучить зависимость «структура соединения – биологическая активность» и «химический состав – фармакологическое действие». Такие работы велись многими отечественными и зарубежными учеными, что на сегодняшний день позволяет сгруппировать растительные источники, содержащие фенилпропаноиды и их производные по перспективам использования в лечебно-профилактических целях [2, 23].

Антиоксидантная активность ярче всего проявляется (по влиянию на АФК и процессы ПОЛ, негативные последствия данных процессов – ловушки свободных радикалов, активаторы ряда антиоксидантных ферментов) у веществ с наибольшим числом фенольных –ОН и $–OCH_3$ групп, а также при наличии системы сопряженных двойных связей. Какие-либо особенности и трансформации пропанового фрагмента в эффект не вносят. Другими словами, антиоксидантную активность можно считать характерным свойством всех фенилпропаноидов. Приоритетной группой веществ являются флаволигнаны расторопши, причем в природном комплексе флаволигнаны+флавоноиды фитосубстанции растения активнее. Для них отмечена и самая высокая гепатопротекторная активность [35].

Иммуномодулирующая активность отмечена у всех фенилпропаноидов, что можно объяснить, как минимум, общим благотворным антиокислительным эффектом, в т.ч. на иммунную систему. Исходя из этого, следует от всех обсуждаемых объектов ожидать в той или иной мере иммунокоррекции (описаны влияние на клеточное и гуморальное звено иммунитета, активизация фагоцитоза). Четкой зависимости «структура – активность» пока не выявлено. При этом признанным лидером в иммуномодулирующем действии являются препараты эхинацеи пурпурной, в траве которой накапливаются цикориевая кислота и другие коньюгаты кофейной кислоты. Определенный вклад в иммунотропное действие вносят гетерополисахариды растений с иммуностимулирующими свойствами [22, 36, 37].

Тонизирующие и адаптогенные свойства наиболее присущи группе коричных спиртов, которые являются основными действующими веществами сырья родиолы розовой, лимонника китайского, элеутерококка колючего, сирени обыкновенной. В данной группе прослеживается связь: гликозиды активнее соответствующих агликонов [38–41]. Самый широкий спектр нейротропной активности присущ препаратам родиолы розовой (за счет содержания розавина и других простых и сложных фенилпропаноидов). Определенный вклад вносит фенилэтаноид салидрозид (актопротекторная активность) [38, 42].

Анаболические и общестимулирующие свойства связывают с содержанием экдистероидов в левзее сафлоровидной, что представляет интерес для подготовки спортсменов и лиц, ведущих активный образ жизни [43–45].

У коричных кислот активизирующего действия на ЦНС нет, но есть другое ценное свойство – они являются анксиолитиками (в частности, мелисса лекарственная и мята перечная) [46–48].

Для получения лекарственных препаратов из ЛРС, содержащего фенилпропаноиды, ученые идут разными путями. Традиционный и при этом современный подход – экстрагирование нативной гаммы действующих веществ [2, 49, 50]. При этом, исследователи принимают во внимание биосинтетическую обусловленность совместного присутствия фенилпропаноидов и других групп взаимосвязанных с ними фенольных соединений (кумаринов, флавоноидов, дубильных веществ и др. классов) в лекарственных растениях, что также является немаловажным фактором при выборе того или иного растительного объекта в качестве источника получения БАС для создания новых ЛС и БАД. Основание: нативные гаммы БАС различных классов в качестве целевых групп действующих веществ имеют преимуществом комплексное воздействие, т.е. поддерживают нормальное состояние и работу функциональных систем организма при воздействии различных негативных факторов внешней и внутренней среды, инфекционной и неинфекционной природы, так как во многих случаях отмечается синергетическое влияние различных видов биологической активности, присущих одному виду ЛРС и сонаправлено действующих на организм (нежели их алгебраическая сумма), и, соответственно, ведущая к усилению основного фармакологического эффекта [22–25].

Кроме того, представляется перспективным

создание комплексных фитосубстанций на основе комбинации видов ЛРС – их суммарных извлечений и очищенных сумм соединений, а также индивидуальных веществ растительного и иного происхождения. Это витамины и витаминоподобные вещества, аминокислоты, макро- и микроэлементы, металлорганические соединения и ряд других ценных ингредиентов и условно-вспомогательных веществ. Данный подход, отталкиваясь от традиционного получения экстракционных препаратов, сейчас наиболее активно развивается в профилактическом направлении, в секторе БАД [20, 26, 49].

Наряду с экстракционными способами получения ЛП используется и биотехнологический подход, особенно если есть цель повысить выход конкретных действующих веществ в суммарных извлечениях или получить их в индивидуальном виде. Подход представляется актуальным, например, для такого редкого и ценного растения, как родиола розовая («золотой корень»), а также близкородственных видов (ввиду высокой стоимости, трудоемкости процесса препаративного разделения нативной гаммы или выделения индивидуальных природных соединений) [33, 42, 51, 52]. Также есть попытки получения дериватов и иных продуктов превращения соединений фенилпропаноидной природы методами синтеза и полусинтеза [23, 31]. Как например, получение водорастворимой соли – гемисукцината силибина, оказавшего при инъекционном введении мощный антитоксический эффект в отношении выделенных ядов бледной поганки в опытах на животных [2].

Разработка лекарственных препаратов и БАД на основе фенилпропаноидов

Как показано в работе многочисленных авторов, лекарственные растения, содержащие фенилпропаноды, являются ценным источником для получения ЛП и БАД для профилактики и лечения широкого нозологического спектра заболеваний, причиной или следствием которых является нарушение системы «прооксидант – антиоксидант», наблюдается смещение равновесия в сторону прооксиданта при истощении внутренних звеньев ферментативной и неферментативной антиоксидантной защиты. Одним из общих звеньев патогенеза широкого нозологического спектра является свободнорадикальный механизм повреждения клеточных мембран. При этом, в организме образуется избыточное количество свободных радикалов, в частности АФК, организм утрачивает способность поддерживать баланс свободных радикалов, что приводит к поражению клетки, формированию патологических процессов, окислительному стрессу и различным клиническим проявлениям (нарушениям нормальной работы нервной, сердечно-сосудистой, гепатобилиарной систем, снижению специфической и неспецифической сопротивляемости организма, ускорению процесса старения и возрастанию угрозы развития онкопатологии). В данном случае фенилпропаноиды и их производные, выступая в роли «ловушки свободных радикалов», предотвращая при этом негативное воздействие свободных радикалов, АФК и других повреждающих агентов на клетки организма, усиливают собственную антиоксидантную защиту организма и создают благоприятные условия для формирования эффективного иммунного ответа [12–14, 17].

Для всех рассматриваемых в настоящем обзоре видов ЛРС характерно антиоксидантное действие, что нами рассматривается как ключевой фактор обеспечения органопротекторного действия ЛП и БАД на их основе.

Ряд из далее приведенных примеров в зависимости от ранее рассмотренных структурных особенностей фенилпропаноидов и их производных имеют наряду с общим антиоксидантным звеном воздействия и более узкие сферы применения. Рассмотрим данный спектр с указанием основных действующих веществ (они, соответственно, предложены в качестве СО для решения вопросов стандартизации ЛРС и соответствующих препаратов):

- Родиола розовая – нейротропная и тонизирующая активность (розавин), актопротекторная активность (салидрозид); противоонкологическое действие (лигнан ларицирезинол) [38].
- Лимонник китайский – стимулирующее ЦНС и общетонизирующее действие (γ-схизандрин) [41, 53].
- Элеутерококк колючий – нейротропная активность (элеутерозид В), в т.ч. обладает стимулирующим ЦНС действием, иммуномодулятор [39, 50].
- Сирень обыкновенная – нейротропная активность (элеутерозид В, сирингин); иммуномодулятор [40, 54, 55].
- Расторопша пятнистая – мощный гепатопротектор (силибин, силидианин, силикристин, дегидросилибин и др. флаволигнаны); иммуномодулятор [35].
- Эхинацея пурпурная – преимущественно иммуномодулирующее действие (цикориевая кислота и эхинакозид) [36, 37].
- Левзея сафлоровидная – общетонизирующее, стимулирующее ЦНС средство с анаболической активностью, противораковое в отношении некоторых видов лейкемий и аденосаркомы (экдистероиды, лигнаны) [43, 56].
- Мелисса лекарственная – анксиолитическое действие и менее выраженное седативное; иммуномодулятор (розмариновая, кофейная и другие гидроксикоричные кислоты); антигистаминное и спазмолитическое действие (эфирные масла) [46, 48].

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-399-411

В частности, при изучении гепатопротекторных свойств флаволигнанов расторопши пятнистой, терапевтическое действие которых основано на антиоксидантном и антиокислительном действии, было конкретизировано действие БАС на разные звенья патогенеза и уровни повреждения [35], что для удобства восприятия отражено нами на схеме (Рис. 1) гепатопротекторного воздействия фенилпропаноидов, реализуемого за счет антиокислительного (доноры Н), антиоксидантного, антифиброзного (интерфероногенность), репаративного (стимуляция синтеза РНК) механизмов действия на некоторые патологические звенья окислительного стресса, описанные в ряде работ [12, 18, 23].

Направленный поиск и создание безопасных ЛС и БАД с антиоксидантным действием, предотвращающих гиперлипопероксидацию, деструкцию мембран клеток, и одновременно повышающих собственные ферментативные и неферментативные антиоксидантные системы организма, привел к созданию серии эффективных препаратов на основе флаволигнанов расторопши. Наши данные показывают, что в сравнении с традиционным подходом использования очищенной силимариновой смеси трех доминирующих флаволигнанов, преимущества имеет вся нативная гамма соединений. Это достигается за счет увеличения биодоступности и наиболее полного использования антиоксидантного потенциала БАС, поскольку все флаволигнаны (их более 20) обладают гепатопротекторной активностью. Это показано и в опытах на животных, и при последующем клиническом применении: статистически значимое повышение активности каталазы и супероксидисмутазы и уменьшение уровня накопления малонового диальдегида под влиянием суммарного экстракта – нативного комплекса, полученного на 80% спирте этиловом, превышающие таковые показатели под действием препаратов сравнения «Карсил» и «Легалон» [35].

В отношении сочетания антиоксидантной и иммуномодулирующей активности можно проследить синергетическую связь в антиокислительном действии фенилпропаноидов и их модулирующем влиянии на иммунную систему: фенилпропаноиды активизируют интерфероногенез, фагоцитоз, в т.ч. кислородозависимый, и приводят параметры специфической защиты к нормальному иммунному гомеостазу [22]. Модулируют фенилпропаноиды и иммунный надзор в части антибластомной защиты – это преимущественно производные коричного и синапового спирта. Однако, с учетом не до конца изученного влияния антиоксидантного воздействия на опухолевый рост, еще предстоит подвергнуть дополнительному изучению вопрос применения в онкологии по лечебным схемам. Пока не вызывает сомнения профилактический потенциал фенилпропаноидов [2, 23].

В плане вторичных иммунодефицитных состояний хорошо себя зарекомендовала эхинацея пурпурная, но условием ее эффективности служит получение всей нативной гаммы, в частности, фенилпропаноидов, представленных конъюгатами кофейной кислоты с сахарами, хинной и винной кислотами. Особо ценной является цикориевая (2,3-О-дикофеилвинная) кислота, которая обладает иммуномодулирующими свойствами, а также служит рабочим стандартным образцом в аналитических целях. Заслуживает внимание и эхинакозид, который совместно с цикориевой кислотой также проявляет антибактериальные свойства по отношению к кокковой микрофлоре (золотистый стафилококк и стрептококк). Вклад алкиламинов усиливает указанные виды активности, а также противовоспалительное действие препаратов растения [2, 36, 37].

В контексте создания ЛП и БАД адаптогенного действия оправдали себя и имеют потенциал дальнейшего раскрытия полезных свойств родиола розовая, элеутерококк колючий, сирень обыкновенная, лимонник китайский, левзея сафлоровидная, позволяющие организму быстрее приспособиться за счет активации нейрогормональной регуляции. Показаниями к применению ЛП и БАД на их основе являются: астеновегетативный синдром, усталость, явления гипоксии, профилактика и терапия инфекционно-воспалительных заболеваний [38, 40, 41].

В отношении тонизирующих свойств растений адаптогенов принято считать, что оно связано с активирующим воздействием на восходящую ретикулярную формацию головного мозга и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему. За счет ингибирования фермента катехол-О-метилтрансферазы (разрушает адреналин и норадреналин) усиливается доминирование симпатической нервной системы. В этой связи использование адаптогенов желательно ограничивать и исключить вечерний прием [12, 23]. Тем не менее, для достижения высоких спортивных результатов в период активных тренировок потенциальная польза при рациональном применении не вызывает сомнения [8, 19, 44, 45].

В ряду растений-адаптогенов выделяется родиола розовая своим широким спектром нейротропной активности (положительное влияние на когнитивные способности, антигипногенные свойства), а также редким свойством нормализовывать артериальное давление; как отмечалось, описаны и противораковые свойства. Причина такого диапазона эффектов в уникальном химическом составе – простые фенилпропаноды розавин, розин и розиридин, как и содержащийся фенилэтаноид салидрозид, вместе формируют адаптогенные свойства, в т.ч. повышение умственной и физической активности, выносливости; несколько меньшая активность отмечена у розарина и коричного спирта [24, 38].

Рисунок 1 – Схема действия фенилпропаноидов-гепатопротекторов на некоторые патологические звенья окислительного стресса

Примечание: АФК – активные формы кислорода; ПОЛ – перекисное окисление липидов; РНК – рибонуклеиновая кислота; СОД – супероксиддисмутаза; Доноры Н – доноры протонов водорода. Материал для схемы адаптирован из [12, 18, 23, 35].

Для фитопрепаратов на основе элеутерококка колючего характерен целый спектр ценных свойств (адаптоген, тоник и иммуномодулятор), что достигается сочетанием содержащегося глюкозида синапового спирта сирингином (элеутерозид В) и диглюкозида лигнана сирингарезинола (элеутерозид D) [39, 50].

Также следует отметить перспективность разработки фитопрепаратов на основе коры сирени обыкновенной, в которой также содержится сирингин, причем на порядок выше, чем в корневищах элеутерококка. Кроме того, обнаружен и салидрозид, вклад которого в действие препаратов родиолы розовой уже упоминался, что в итоге усиливает адаптогенную и тонизирующую активность. Ряд авторов полагает кору сирени очень перспективным источником для получения фармацевтических субстанций [34, 40, 54].

Возвращаясь к вопросу противоопухолевых свойств фенилпропаноидов, необходимо отметить, что фитосубстанциям элеутерококка колючего и сирени обыкновенной, также как и родиолы розовой и левзеи сафлоровидной, присущи противобластомные свойства. Основание для этого – выделенный из указанных видов элеутерококка, сирени и родиолы лигнан – ларицирезинол, для которого и были выявлены противоопухолевые свойства. Фитопрепараты, полученные из этих растений, могут служить целям профилактики онкологических заболеваний, особенно для людей старших возрастных категорий [25, 56].

Лимонник китайский содержит фенилпропаноиды, представленные лигнанами, наиболее характерными являются схизандрин и ɣ-схизандрин. Наряду с типовым профилем адаптогенной активности, препараты данного растения (плодов и семян) повышают артериальное давление, усиливают амплитуду сердечных сокращений и уменьшают их частоту, а также возбуждают дыхательный центр, обладают выраженными гепатопротекторными свойствами [41, 53].

Левзея сафлоровидная, для которой за счет содержания лигнанов характерно общетонизирующее и стимулирующее ЦНС действие, а вследствие наличия экдистероидов свойственна анаболическая активность. Препараты левзеи сафлоровидной рекомендуются не только пациентам, но также здоровым людям при астении, пониженной работоспособности и скорости белок-синтезирующих процессов, а также и для людей, чья профессиональная деятельность требует повышенной физической выносливости. Очевидны перспективы для разработки ЛП и БАД левзеи для спортивной медицины, особенно для тех видов спорта, где требуется быстрая адаптация к физическим нагрузкам, ускорение белкового обмена, быстрый набор мышечной массы [43–45].

Мелисса лекарственная служит источником получения ЛС с противоположным влиянием на ЦНС – анксиолитическим и в меньшей степени – седативным действием, однако, и в

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-399-411

плане иммуномодулирующего и антиоксидантного влияния растение, видимо, является недооцененным. Широкий спектр активности сырья и препаратов мелиссы лекарственной реализуется за счет разнообразного химического состава: кофейная кислота и неолигнан на ее основе – розмариновая кислота обусловливают иммуномодулирующее и антиоксидантное действие, а также анксиолитическое; эфирное масло, основными компонентами которого являются цитраль, цитронеллаль, линалоол, гераниол, нерол и др., в основном ответственны за седативное и спазмолитическое действие [46, 47].

Таким образом, уникальность по профилю биологической и фармакологической активности класса фенилпропаноидов позволяет рассматривать ЛРС соответствующих растений в качестве перспективных сырьевых источников для получения органопротекторов, актуальных для применения в медицинских и профилактических целях, эффективно воздействующих не только на основные патогенетические звенья при развитии заболевания, но и, что немаловажно, через механизмы саногенеза запускающих активацию собственных защитных систем организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ научной литературы показал высокую изученность фенилпропаноидов, рассматриваемых в качестве самостоятельного класса природных соединений, в плане особенностей их химического строения, биосинтеза, классификации, распространения в мире растений, использования в медицинской практике.

Раскрыт характерный профиль медико-биологических свойств класса фенилпропаноидов – показана целесообразность их рассмотрения в качестве органопротекторов, действие которых на организм реализуется через механизмы антиоксидантной защиты, поддержания специфической и неспецифической резистентности организма, системы гомеостаза, в т.ч. в условиях повышенных умственных и физических нагрузок.

К наиболее характерным видам специфической фармакологической активности отнесены: гепатопротекторное, иммуномодудирующее, тонизирующее (для производных коричных спиртов) действие; показаны преимущества в использовании нативного комплекса соединений при разработке лекарственных средств.

На основании анализа данных литературы и собственных опубликованных экспериментальных материалов в обзоре сформулированы предпосылки для дальнейшей разработки ЛП и БАДов на основе ЛРС, содержащих фенилпропаноиды, с позиции взаимосвязи «химическая структура – фармакологическое действие – применение».

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный и равнозначный вклад в подготовку публикации. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение поиска литературы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). В.А. Куркин – методология и научное руководство ходом работы, систематизация данных мирового публикационного потока, написание и редактирование рукописи; Н.Р. Варина – поиск научной литературы, отбор и критический анализ материала, его изложение, написание рукописи; Е.В. Авдеева – ответственная за концепцию обзора и блок данных по препаративному изучению, биологической и фармакологической активности фенилпропаноидов, составитель указанных разделов, написание текста рукописи; И.В. Рузаева – написание раздела по распространению фенилпропаноидов в растительном мире.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Kurkin V.A. Phenylpropanoids from medicinal plants: Distribution, classification, structural analysis, and biological activity // Chemistry of Natural Compounds. – 2003. – Vol. 39, No. 2. – P. 123–153. DOI: 10.1023/A:1024876810579
2. Kurkin V.A. Phenylpropanoids as the biologically active compounds of the medicinal plants and phytopharmaceuticals // Advances in Biological Chemistry. – 2013. – Vol. 3, No. 1. – P. 26–28. DOI: 10.4236/ABC.2013.31004
3. Biala W., Jasiтnski M. The Phenylpropanoid case – it is transport that matters // Front Plant Sci. – 2018. – Vol. 9, Art. ID: 1610. DOI: 10.3389/fpls.2018.01610
4. Ferreira S.S., Antunes M.S. Re-engineering plant phenylpropanoid metabolism with the aid of synthetic biosensors // Front Plant Sci. – 2021. No. 12. – Art. ID: 701385. DOI: 10.3389/fpls.2021.701385
5. Yang C., Jiang H., Mao H., Zhang Y., Cao Y., Zhang Y., Dong X., Tao L. Phenylpropanoids from Strophioblachia fimbricalyx and their chemotaxonomical significance // Biochemical Systematics and Ecology. – 2023. – Vol. 110. – Art. ID: 104705. DOI: 10.1016/j.bse.2023.104705
6. Singh P., Singh A., Kumar Choudhary K. Revisiting the

role of phenylpropanoids in plant defense against UV-B stress // Plant Stress. – 2023. – Vol. 7. – Art. ID: 100143. DOI: 10.1016/j.stress.2023.100143

7. Немятых О.Д., Тернинко И.И., Сабитов А.С., Ляшко А.И., Сакипова З.Б. Оценка потенциала растительных UV-фильтров в свете современной концепции фотозащиты кожи // Фармация и фармакология. – 2022. – Т. 10, № 4. – С. 308–319. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-4-308-319
8. Hyskova V., Ryslava H. Antioxidant properties of phenylpropanoids // Biochem Anal Biochem. – 2019. – Vol. 8, No. 3. – Art. ID: e171. DOI: 10.35248/2161-1009.19.8.e171
9. Abdelmohsen U.R., Bayoumi S.A.L., Mohamed N.M., Mostafa Y.A., Ngwa C.J., Pradel G., Farag S.F. Naturally occurring phenylethanoids and phenylpropanoids: antimalarial potential // RSC Adv. – 2023. – Vol. 13, No. 38. – P. 26804–26811. DOI: 10.1039/d3ra04242a
10. Nguyen T.V.A., Nguyen T.M.H., Le H.L., Bui D.H. Potential antithrombotic effect of two new phenylpropanoid sucrose esters and other secondary metabolites of *Canna indica* L. rhizome // Nat Prod Res. – 2023. – P. 1–9. DOI: 10.1080/14786419.2023.2262712
11. Мирович В.М., Оленников Д.Н., Петухова С.А., Посохина А.А. Флавоноиды и фенилпропаноиды надземных органов володушки многожилковой (*Bupleurum multinerve* DC.) флоры Прибайкалья // Химия растительного сырья. – 2020. – № 4. – С. 121–128. DOI: 10.14258/jcprm.2020047530.
12. Kovač Z. Pathophysiological Body Reactivity and Interactions in Comorbidities. Synergism Versus Antagonism of Disease Pathways and Etiopathogenetic Clusters in Comorbidity Conditions // Psychiatr Danub. – 2021. – Vol. 33, Suppl. 4. – P. 414–426.
13. Panossian A.G., Efferth T., Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Kuchta K., Mukherjee P.K., Banerjee S., Heinrich M., Wu W., Guo D.A., Wagner H. Evolution of the adaptogenic concept from traditional use to medical systems: Pharmacology of stress-and aging-related diseases // Medicinal Research Reviews. – 2021. – Vol. 41, No. 1. – P. 630–703. DOI: 10.1002/med.21743
14. Кольтовер В.К. Свободнорадикальная теория старения: современное состояние и перспективы // Успехи геронтологии. – 1998. – Вып. 2. – С. 273.
15. Другова Е.С., Кушнерова Н.Ф., Мерзляков В.Ю., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Момот Т.В. Растительные фенольные соединения в профилактике метаболических нарушений при интоксикации оксидами азота в эксперименте // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2020. – № 1. – С. 44–54. DOI: 10.31549/2542-1174-2020-1-44-54
16. Гунина Л.М. Механизмы влияния антиоксидантов при физических нагрузках // Наука в Олимпийском спорте. – 2016. – № 1. – С. 25–32.
17. Калинкин Л.А, Стаценко Е.А., Пономарева А.Г., Морозов В.Н., Кутняхова Л.В., Кривощапов М.В., Руммо Д.В., Костюк З.М. Окислительный стресс при занятиях физической культурой: методы диагностики и коррекции антиоксидантного статуса // Вестник спортивной науки. – 2014. – № 1. – С. 31–35.
18. Корнякова В.В., Конвай В.Д., Ашвиц И.В., Муратов В.А. Фармакологическая регуляция окислительного стресса при физическом утомлении в эксперименте // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – № 1-2. – С. 270–272.
19. Касьянов Г.И., Гринченко В.С., Фомин С.В. Пути повышения стрессоустойчивости организма спортсменов игровых команд // Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта. – 2022. – № 9. – С. 188–192. DOI: 10.34835/issn.2308-1961.2022.9.p188-193
20. Жуковская Е.В., Петрушкина Н.П., Звягина Е.В., Симонова Н.А. Экологические аспекты выбора растительных препаратов в системе восстановления спортсменов и адаптивной физической культуры // International Journal of Medicine and Psychology. – 2023. – № 3. – С. 43–50. DOI: 10.14300/mnnc.2018.13035
21. Богдашев Н.Н., Туховская Н.А., Погребняк А.В. Физико-химическое изучение производных коричной кислоты. Взаимосвязь антиоксидантной активности с физико-химическими свойствами // Химико-фармацевтический журнал. – 1998. – № 2. – С. 31–33.
22. Harmatha J., Zidek Z., Kmonickova E., Smidrkal J. Immunobiological properties of selected natural and chemically modified phenylpropanoids // Interdisciplinary toxicology. – 2011. – Vol. 4. – P. 5–10. DOI: 10.2478/v10102-011-0002-1
23. Neelam, Khatkar A., Sharma K.K. Phenylpropanoids and its derivatives: biological activities and its role in food, pharmaceutical and cosmetic industries // Crit Rev Food Sci Nutr. – 2020. – Vol. 60, No. 16. – P. 2655–2675. DOI: 10.1080/10408398.2019.1653822
24. Бальхаев И.М., Шантанова Л.Н., Тулесонова А.С. Актопротекторная активность адаптогенов природного происхождения // Сибирский медицинский журнал. – 2014. – № 1. – С. 100–102.
25. Бочарова О.А., Карпова Р.В., Бочаров Е.В., Вершинская А.А., Барышникова М.А., Казеев И.В., Кучеряну В.Г., Киселевский М.В. Фитоадаптогены в биотерапии опухолей и гериатрии (Часть 1) // Российский биотерапевтический журнал. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 13–21. DOI: 10.17650/1726-9784-2019-19-2-13-21
26. Тутельян В.А., Киселева Т.Л., Кочеткова А.А., Смирнова Е.А., Киселева М.А., Саркисян В.А. Перспективные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов с модифицированным углеводным профилем: опыт традиционной медицины // Вопросы питания. – 2016. – № 4. – С. 46–60.
27. Компанцева Е.В., Саушкина А.С. Бумажная и тонкослойная хроматография в идентификации гидроксикоричных кислот в растительном сырье (обзор). Сообщение 1 // Химия растительного сырья. – 2023. – № 3. – С. 27–45. DOI: 10.14258/jcprm.20230312090
28. Bladt S., Wagner H., Woo W.S. HPLC fingerprint analysis and standardisation of *Eleutherococcus* (Acanthopanax) Extracts // Planta Med. – 1990. – Vol. 56, No. 6. – Art. ID: 566. DOI: 10.1055/s-2006-961157
29. Wagner H., Heur Y.H., Obermeier A., Tittel G., Bladt S. Die DC- and HPLC-Analyse der *Eleutherococcus* Droge [DC- and HPLC-Analysis of *Eleutherococcus*.] // Planta Med. – 1982. – Vol. 44, No. 4. – P. 193–198. DOI: 10.1055/s-2007-971445
30. Нестерова Н.В., Самылина И.А., Бобкова Н.В., Кузьменко А.Н., Краснюк И.И., Евграфов А.А. Количественное определение гидроксикоричных кислот и анализ динамики их накопления в листьях яблони лесной // Вестник Московского университета. – 2019. – Т. 60, – № 1. – С. 60–64.
31. Tuncay A.O., Tatli I. Analysis of phenylethanoids and their glycosidic derivatives // Recent Advances in Natural Products Analysis. – 2020. – P. 221–254. DOI: 10.1016/B978-0-12-816455-6.00005-6
32. Курдюков Е.Е., Водопьянова О.А., Митишев А.В., Моисеев Я.П., Семенова Е.Ф. Методика количественного определения суммы фенилпропаноидов в сырье стевии // Химия растительного сырья. – 2020. – № 3. – С. 115–121. DOI: 10.14258/jcprm.2020037141
33. Vardanyan A., Ghalachyan L., Tadevosyan A., Baghdasaryan V., Stepanyan A., Daryadar M. The phytochemical study of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim) leaves in hydroponics and soil culture // Functional Foods in Health and Disease. – 2023. – Vol. 13, No. 11. – P. 574–583. DOI: 10.31989/ffhd.v13i11.1183

34. Machida K., Kaneko A., Hosogai T., Kakuda R., Yaoita Y., Kikuchi M. Studies on the Constituents of *Syringa* Species. X. Five New Iridoid Glycosides from the Leaves of *Syringa reticulata* (BLUME) HARA // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. – 2002. – Vol. 50, No. 4. – P. 493–497 DOI: 10.1248/cpb.50.493
35. Куркин В.А., Авдеева Е.В., Правдивцева О.Е., Куркина А.В., Рыжов В.М., Росихин Д.В., Агапов А.И. Кулагин О.Л. Сравнительное исследование антиоксидантной активности некоторых флавоноидов и гепатопротекторных лекарственнных препаратов на основе плодов расторопши пятнистой // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6.
36. Cheminat A., Zawatzky R., Becker H. Caffeoyl conjugates from *Echinacea* species: structures and biological activity // Phytochemistry. – 1988. – Vol. 27, No. 9. – P. 2787–2794. DOI: 10.1016/0031-9422(88)80664-2
37. Burlou-Nagy C., Bănică F., Jurca T., Vicaș L.G., Marian E., Muresan M.E., Bácskay I., Kiss R., Fehér P., Pallag A. *Echinacea purpurea* (L.) Moench: Biological and pharmacological properties. A review // Plants. – 2022. – Vol. 11, No. 9. – Art. ID: 1244. DOI: 10.3390/plants11091244
38. Zapesochnaya G.G., Kurkin V.A. Glycosides of cinnamyl alcohol from the rhizomes of *Rhodiola rosea* // Chemistry of Natural Compounds. – 1982. – Vol. 18, No. 6. – P. 685–688. DOI: 10.1007/BF00579423
39. Bohn B. Nebe C.T., Birr C. Flow-cytomeric studies with *Eleutherococcus senticosus* extract as an immunostimulatory agent // Arzneimittel-Forschung (Drug Research). – 1987. – Vol. 37, No. 10. – P. 1193–1196.
40. Su. G., Cao. Y., Li. C., Yu X., Gao X., Tu P., Chai X. Phytochemical and pharmacological progress on the genus *Syringa* //Chemistry Central Journal. – 2015. – Vol. 9, No. 2. – P. 1–12. DOI: 10.1186/s13065-015-0079-2
41. Sowndhararajan K., Deepa P., Kim M., Kim S. An overview of neuroprotective and cognitive enhancement properties of lignans from *Schisandra chinensis* // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2018. – No. 97. – P. 958–968. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.145
42. Rattan S., Warghat R.A. Integration of biotechnological approaches for the production of phenylethanoids and phenylpropanoids *in vitro* cultures of *Rhodiola* sp. a comprehensive review // Industrial Crops and Products. – 2023. – Vol. 206. – Art. ID. 117625. DOI: 10.1016/j.indcrop.2023.117625
43. Шантанова Л.Н., Матханов И.Э., Николаев С.М., Николаева И.Г., Хитрихеев В.Е. Стресспротективная активность экстрактов сухих из корневищ и надземной части *Rhaponticum uniflorum* L. // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2020. – № 2. – С. 4–10. DOI: 10.34907/JPQAI.2020.25.88.001.
44. Халикова Д.А., Аньков С.В., Мешкова Ю.В., Толстикова Т.Г. Анаболическая активность растительной композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы // Сибирский научный медицинский журнал. – 2021. – № 6. – С. 45–50. DOI: 10.18699/SSMJ20210604.
45. Хабибуллин Р.М., Миронова И.В., Хабибуллин И.М., Дашкин А.Х., Ягафаров Р.Р., Алексеев О.В., Юрьева М.Н. Влияние левзеи сафлоровидной и физических нагрузок на организм // Наука и спорт: современные тенденции. – 2022. – Т. 10. – № 1. – С. 55. DOI: 10.36028/2308-8826-2022-10-1-55-61
46. Koch-Heitzmann I., Schultze W. *Melissa officinalis* // Phytotherapie. – 1988. – Vol. 9, No. 3. – P. 77–85.
47. Koch-Heitzmann I., Schultze W. Eine alte Arzneipflanze mitneuen therapeutischen Wirkungen // Deutsche Apotheker Zeitung. – 1984. – Vol. 124, No 11. – P. 2137–2145.
48. Petrisor G., Motelica L., Craciun L.N., Oprea O.C., Ficai D., Ficai A. *Melissa officinalis*: Composition, pharmacological effects and derived release systems-A Review // Int J Mol Sci. – 2022. – Vol. 23, No. 7. – Art. ID: 3591. DOI: 10.3390/ijms23073591
49. Имамалиев Б.А., Арипова Н.Б., Ганиев У.Х. Изучение ноотропной активности комплексной фармацевтической субстанции растительного происхождения на основе настоек гинкго билоба, боярышника, валерианы, мелиссы, пустырника // Фармация. – 2022. – Т. 71, № 3. – С. 48–51. DOI: 10/29296/25419218-2022-03-08
50. Позняковский В.М., Толмачев О.А. Разработка спортивного напитка с элеутерококком и пантогематогеном для повышения физической работоспособности и сохранения здоровья // Вестник Восточно-Сибирского государственного университета. – 2020. – № 2 (77). – С. 18–24.
51. Davydov M., Krikorian A.D. *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (*Araliaceae*) as an adaptogen: a closer look // Journal of Ethnopharmacology. – 2000. – Vol. 72, No. 3. – P. 345–393. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00181-1
52. Ellis B.E. Production of hydroxyphenylethanol glycosides in suspension cultures of *Syringa vulgaris* // Phytochemistry. – 1983. – Vol. 22, No. 9. – P. 1941–1943. DOI: 10.1016/0031-9422(83)80018-1
53. Сатдарова Ф.Ш., Куркин В.А. Лигнаны CO_2-экстракта плодов лимонника китайского // Химия растительного сырья. – 2008. – № 3. – С. 59–63.
54. Birkofer L., Kaiser C., Thomas U. Acteosid und Neoacteosid; Zuckerester aus *Syringa vulgaris* L. // Z. Naturforscung. – 1968. – Vol. 23, No. 7/8. – P. 1051–1058. DOI: 10.1515/znb-1968-0806
55. Пупыкина К.А., Полякова Н.В., Кудашкина Н.В., Красюк Е.В. Сравнительный анализ компонентного состава цветков некоторых представителей рода *Syringa* (*Oleacaea*) // Растительные ресурсы. – 2023. – Т. 59, № 2. – С. 152–163. DOI: 10.31857/S0033994623020103.
56. Skała E., Synowiec E., Kowalczyk T., Śliwiński T., Sitarek P. *Rhaponticum carthamoides* transformed root extract has potent anticancer activity in human leukemia and lung adenocarcinoma cell lines // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2018. – Vol. 2018. – Art. ID: 8198652. DOI: 10.1155/2018/8198652

АВТОРЫ

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «СамГМУ» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7513-9352. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Варина Наталья Рашидовна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «СамГМУ» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1183-7044. E-mail: n.r.varina@samsmu.ru

Авдеева Елена Владимировна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «СамГМУ» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3425-7157. E-mail: e.v.avdeeva@samsmu.ru

Рузаева Ирина Васильевна – кандидат биологических наук, начальник отдела флоры Ботанического сада ФГАОУ ВО «Самарский университет им. Королева». ORCID ID: 0000-0001-7710-6098. E-mail: ruzaeva.iv@ssau.ru

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 615.065

Check for updates

CC BY

Обзор опыта использования системы проблем, связанных с применением лекарственных препаратов, на примере фармакотерапии остеопороза

Е.А. Егорова[1], А.М. Бейтуллаев[1], А.В. Матвеев[2], К.Н. Корянова[3]

[1] Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт им. С.И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», 295021, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, б-р Ленина, д. 5/7

[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125993, Россия, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

[3] 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-кт Калинина, д. 11

E-mail: egorovapharm@mail.ru

Получена 30.11.2023 После рецензирования 15.12.2023 Принята к печати 28.12.2023

Хронический характер остеопороза (ОП) обосновывает проведение длительной фармакотерапии пациентов, что увеличивает вероятность возникновения нежелательных реакций (НР) при применении лекарственных препаратов (ЛП). Повышение требований к качеству проводимого мониторинга безопасности в рамках осуществления фармаконадзора и выявленные проблемы требуют совершенствования системы контроля качества ЛП.

Цель. Обзор применения перспективного метода мониторинга безопасности ЛП – системы проблем, связанных с применением ЛП (drug-related problems, DRP), при проведении фармакотерапии ОП.

Материалы и методы. Для поиска научных работ российских и зарубежных авторов были использованы следующие базы данных и поисковые системы: PubMed, elibrary.ru, Google Scholar, КиберЛенинка, Российская национальная библиотека. Поиск источников информации осуществляли по следующим ключевым словам и словосочетаниям: «drug-related problems», «проблемы, связанные с применением ЛП», «безопасность применения ЛС», «остеопороз» (в русском и английском варианте, соответственно), а также соответствующих MeSH терминов.

Результаты. Рассмотрен опыт применения системы DRP в сфере здравоохранения разных стран, изучены факторы риска возникновения проблем, связанных с применением ЛП, соответствующие вмешательства при выявлении высоких значений DRP. Исследования проблем, связанных с применением ЛП для лечения ОП при проведении комплексной фармакотерапии, позволили определить целесообразность использования данного метода в целях повышения безопасности и эффективности проводимого лечения у пациентов.

Заключение. Анализ возникающих DRP позволяет повысить приверженность пациентов к лечению и купировать возникающие НР, что улучшает качество жизни пациентов и повышает результативность проводимой фармакотерапии. Внедрение такого метода исследования безопасности ЛП в систему фармаконадзора Российской Федерации является важным шагом в развитии персонализированной медицины. Дальнейшее изучение проблем, связанных с применением ЛП, у пациентов с ОП также позволит снизить риски, возникающие при проведении комбинированной фармакотерапии.

Ключевые слова: проблемы, связанные с применением лекарственных препаратов; остеопороз; нежелательные реакции; фармаконадзор

Список сокращений: НР – нежелательная реакция; ЛП – лекарственный препарат; ЛС – лекарственное средство; ОП – остеопороз; DRP – проблемы, связанные с применением лекарственных препаратов; PCNE – Европейская сеть фармацевтической помощи.

Для цитирования: Е.А. Егорова, А.М. Бейтуллаев, А.В. Матвеев, К.Н. Корянова. Обзор опыта использования системы проблем, связанных с применением лекарственных препаратов, на примере фармакотерапии остеопороза. *Фармация и фармакология.* 2023;11(5):412-421. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2023-11-5-412-421

© Е.А. Егорова, А.М. Бейтуллаев, А.В. Матвеев, К.Н. Корянова, 2023

For citation: E.A. Egorova, A.M. Beytullaev, A.V. Matveev, K.N. Koryanova. Review of publications on drug-related problems investigations in osteoporosis patients. *Pharmacy & Pharmacology.* 2023;11(5):412-421. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2023-11-5-412-421

Scientific and Practical Journal
PHARMACY & PHARMACOLOGY

REVIEWS

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-412-421

Review of publications on drug-related problems investigations in osteoporosis patients

E.A. Egorova[1], A.M. Beytullaev[1], A.V. Matveev[2], K.N. Koryanova[3]

[1] Order of the Red Banner of Labour Medical Institute named after S.I. Georgievsky of Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky, 5/7, Lenin Blvd., Simferopol, Republic of Crimea, Russia, 295021
[2] Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Bld. 1, 2/1, Barrikadnaya Str., Moscow, Russia, 125993
[3] Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

E-mail: egorovapharm@mail.ru

Received 30 Nov 2023 After peer review 15 Dec 2023 Accepted 28 Dec 2023

A chronic form of osteoporosis (OP) substantiates a long-term pharmacotherapy of patients, which increases the risk of adverse drug reactions (ADRs) during the therapy. The enhancement of requirements to the quality of safety monitoring carried out in the context of pharmacovigilance and the newly identified safety problems require an improvement of the system of quality control of medicinal products (MPs).

The aim of the work was to review the application of a new promising method for monitoring the drug safety – the system of Drug-Related Problems (DRP) in the osteoporosis pharmacotherapy.

Materials and methods. The following databases and search engines were used to retrieve scientific papers by Russian and foreign authors: PubMed, elibrary.ru, Google Scholar, CyberLeninka, Russian National Library. The information sources were searched using the following keywords and word combinations: “drug-related problems”, “drug safety”, “osteoporosis” (in Russian and English, respectively), as well as the corresponding MeSH terms.

Results. The application of DRP system in the health care of different countries was reviewed, and the risk factors of the problems associated with the use of MPs, the appropriate interventions in case of the detection of high DRP values were investigated. The study of the problems associated with the use of MPs for the treatment of OP during the complex pharmacotherapy made it possible to determine the feasibility of using this method to improve the safety and effectiveness of this kind of treatment in patients.

Conclusion. The analysis of emerging DRPs makes it possible to increase patients’ adherence to the treatment and stop the ADRs. This improves the quality of life of patients and increases the effectiveness of pharmacotherapy. The introduction of such a method of the drug safety research into the system of pharmacovigilance of the Russian Federation is an important step in the development of personalized medicine. A further study of problems associated with the use of drugs in OP patients will also help to reduce the risks arising during the combination pharmacotherapy.

Keywords: drug-related problems; osteoporosis; adverse reactions; pharmacovigilance

Abbreviations: ADR – adverse drug reaction; MP – medicinal product; OP – osteoporosis; DRP – drug-related problems; PCNE – Pharmaceutical Care Network Europe.

ВВЕДЕНИЕ

Болезни костно-мышечной системы, согласно Международной классификации болезней 10-го пересмотра[1], представляют собой комплекс синдромов и нозологических форм, вызванных поражением структуры опорно-двигательного аппарата воспалительного и метаболического характера [1], которые имеют существенное негативное влияние на трудовой, экономический и психологический потенциал современного общества [2]. Данная группа заболеваний занимает одно из ведущих мест в структуре заболеваемости взрослого населения Российской Федерации, уступая только болезням системы кровообращения и органов дыхания[2] [3]. Рост первичной и общей заболеваемости населения болезнями костно-мышечной системы, а также высокие показатели инвалидности и временной нетрудоспособности вследствие патологии указанной системы органов делают проблему лечения и профилактики данной группы заболеваний приоритетной в здравоохранении Российской Федерации [4], в особенности в связи с широким охватом различных возрастных групп и длительной реабилитацией [5].

Остеопатии и хондропатии занимают лишь около 2% среди общего числа болезней костно-мышечной системы [3], однако данные невысокие показатели можно объяснить, с одной стороны, ограниченными возможностями диагностики заболевания во многих субъектах Российской Федерации, а с другой – длительным, незаметным развитием заболевания, что приводит к позднему обращению пациентов за медицинской помощью [1].

Остеопороз (ОП) – метаболическое заболевание скелета, характеризующееся снижением костной

[1] Международная классификация болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://icd.who.int/browse10/2019/en
[2] Здравоохранение в России. 2023: Федеральная служба государственной статистики. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://rosstat.gov.ru/folder/210/document/13218

массы, нарушением микроархитектоники костной ткани и, как следствие, возможностью развития переломов при минимальной травме[3] [6]. Ежегодно приводя к миллионам переломов во всем мире, а также к ухудшению физического и психологического здоровья, снижению качества жизни и сокращению её продолжительности, данное заболевание представляет собой серьезную проблему системы здравоохранения [7–9]. ОП является распространённым в Российской Федерации заболеванием [10–12], по некоторым оценкам им страдают около 14 миллионов человек, что составляет примерно 10% населения страны [13]. Группой риска развития ОП являются в основном пациенты пожилого возраста. Распространение ОП в этой когорте пациентов обусловлено не только изменениями образа жизни и диеты, но и физиологическими изменениями в организме пациента, что связано с активацией иммунной системы и развитием воспаления, что напрямую влияет на прочность и качество костной ткани. В патогенез ОП вовлечены различные патогенные факторы, включая кишечный микробиом, аутофагию, аномальный метаболизм железа, старение и стресс [6]. Кроме того, в развитии ОП большую роль играет сочетание биологических, экологических и поведенческих факторов. Среди биологических факторов стоит выделить возраст, пол, генетику и постменопаузальный статус. К поведенческому и экологическому фактору стоит отнести диету с низким содержанием кальция, курение, чрезмерное употребление алкоголя, гиподинамию, ограничение подвижности на свежем воздухе. Отдельного внимания заслуживают факторы, которые влияют на скелетную систему посредством патофизиологического или анатомического воздействия на структуру и прочность костей. Такими факторами являются минеральная плотность костной ткани, микроархитектура кости, геометрия скелета и мышечная масса [7].

Хронический характер данного заболевания определяет проведение длительной фармакотерапии пациентов, что, соответственно, увеличивает вероятность возникновения нежелательных реакций (НР) при применении лекарственных препаратов (ЛП).

Выявление НР, а также способы их оценки, предупреждения и снижения рисков их развития представляет собой основу системы фармаконадзора[4], проведение которого является обязательным для всех субъектов обращения ЛП[5].

Несмотря на ежегодное повышение количества поступающих в Федеральную службу по надзору в сфере здравоохранения (Росздравнадзор) спонтанных сообщений о НР [14], система мониторинга эффективности и безопасности ЛП в России по-прежнему сталкивается с некоторыми трудностями, например, такими как сокращение региональных центров мониторинга безопасности лекарственных средств (ЛС), в сообщениях которых традиционно содержится более детальная информация [15], а также с недостаточным качеством и количеством периодических отчетов по безопасности, получаемых от фармацевтических компаний – держателей регистрационных удостоверений [14]. Повышение требований к качеству проводимого мониторинга эффективности и безопасности, обусловленные в том числе недавним обновлением Правил надлежащей практики фармаконадзора[6], и выявляемые проблемы требуют совершенствования системы обеспечения и контроля безопасности ЛП.

Проблемы, связанные с применением ЛП (Drug-Related Problems, DRP), определяют как событие или обстоятельство, связанное с употреблением пациентом ЛП, которое фактически или потенциально препятствует получению желаемых результатов от применения ЛС [16]. DRP связаны с увеличением затрат на здравоохранение и госпитализацией пациентов, длительным пребыванием в больнице, снижением качества их жизни и увеличением смертности. Возникновение проблем со здоровьем при наличии DRP является серьезной проблемой как для пациентов, так и для системы здравоохранения, а экономические затраты со стороны государства и самих пациентов, вызванные этими проблемами, являются значительными [17, 18]. Выявление и изучение DRP, определение групп ЛП и отдельных ЛС, имеющих высокий риск развития проблем, связанных с применением ЛП, играют важную роль в терапии пациентов, так как позволяют снизить количество возникающих НР и, соответственно, смертность больных, повысить уровень приверженности пациента к лечению [19]. Исследование проблем, связанных с применением ЛП, в Российской Федерации практически не проводится – имеются лишь немногочисленные научные работы, посвященные этой проблеме [16, 20–22]. Изучение зарубежного опыта использования системы DRP для осуществления контроля безопасности использования ЛП, применяющихся для лечения хронических заболеваний, в том числе ОП, позволит усовершенствовать существующие подходы к безопасному применению ЛП, проводить более детальный и глубокий анализ возникающих НР, и в итоге может привести к разработке новых и улучшению уже используемых методов предотвращения развития нежелательных явлений.

[3] World Health Organization (2007) Assessment of osteoporosis at the primary health care level. Summary Report of a WHO Scientific Group. WHO, Geneva. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://frax.shef.ac.uk/FRAX/pdfs/WHO_Technical_Report.pdf

[4] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 87 (ред. от 19.05.2022 г.) «Об утверждении Правил надлежащей практики фармаконадзора Евразийского экономического союза».

[5] Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 № 61-ФЗ.

[6] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 87 (ред. от 19.05.2022 г.).

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-412-421

В соответствии с Указом Президента РФ от 1 декабря 2016 г. № 642[7], одним из приоритетов научно-технологического развития Российской Федерации является переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и здоровьесберегающим технологиям, в том числе за счет рационального применения ЛП. Развитие и совершенствование системы фармаконадзора неизбежно приводит к повышению уровня обоснованного применения ЛП и развитию здравоохранения, что подчёркивает актуальность настоящего исследования.

ЦЕЛЬ. Обзор имеющегося опыта применения перспективного метода мониторинга безопасности ЛП – системы анализа проблем (DRP), связанных с применением ЛП, при фармакотерапии ОП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор литературных источников проводился каждым автором независимо, после чего коллегиально принималось решение о включении статьи в анализ. Для поиска результатов исследований российских и зарубежных авторов использовали следующие базы данных и поисковые системы: PubMed, elibrary.ru, Google Scholar, КиберЛенинка, Российская национальная библиотека. Поиск источников информации осуществляли по следующим ключевым словам и словосочетаниям: «проблемы, связанные с применением ЛП», «безопасность применения ЛС», «остеопороз» (в русском и английском варианте, соответственно), а также соответствующих MeSH терминов[8]. Период поиска составил весь период упоминания соответствующих ключевых слов, доступных в базах данных – с 1 января 1886 г. по 31 октября 2023 г. Процесс отбора исследований, посвященных системе DRP при фармакотерапии ОП, отражен на рисунке 1, построенном по рекомендациям системы PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses, предпочтительные элементы отчетности для систематических обзоров и мета-анализов) 2020 г. [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Система анализа проблем, связанных с применением ЛП

Первое упоминание о DRP появилось в исследовании 1973 г., в котором проблемы, связанные с применением ЛП, определяются как «любое первичное или вторичное состояние, возникающее в результате немедицинского употребления ЛП, которое заставляет человека или его партнеров обращаться за помощью» [24]. С развитием в мировом здравоохранении в конце 1980-х – начале 1990-х годов клинической фармации – отрасли фармации, в которой клинические фармацевты оказывают непосредственную помощь пациентам, что оптимизирует использование ЛП и способствует укреплению здоровья, улучшению самочувствия пациентов и профилактике заболеваний [25], DRP обретают свое современное истолкование [26]. Проблемы, связанные с применением ЛП, были классифицированы по восьми параметрам, таким как неправильное назначение ЛП при установленной патологии, заболевание, возникшее в результате развития НР, и так далее, и прежде всего, как и в настоящее время, основная роль в их выявлении, купировании последствий и предотвращении возникающих DRP отведена фармацевтическим работникам, которые должны быть вовлечены в систему оказания помощи пациентам в совместной работе с медицинскими работниками [26].

С этапа зарождения системы DRP стоял вопрос об унификации классификации для удобства применения в практическом здравоохранении. В 1994 году была создана Европейская сеть фармацевтической помощи (Pharmaceutical Care Network Europe, PCNE), которая в 2004 году стала официальной ассоциацией фармацевтических работников стран Европы для совместных исследований в рамках оказания фармацевтической помощи пациентам, включая выявление проблем, связанных с применением ЛП, но не ограничиваясь лишь ими[9]. PCNE разрабатывает, утверждает и корректирует классификационную систему DRP на основании постоянно поступающих данных от различных медицинских учреждений и фармацевтических работников уже не только для стран Европы, но и всего мирового сообщества.

Самой широко используемой системой для изучения частоты и тяжести DRP и анализа проблем, связанных с ЛП, в настоящий момент является система DRP PCNE V.9.1[10] 2020 г. В основе данной системы лежит классифицирование DRP по 5 основным категориям: P (Problems) – проблемы, C (Causes) – причины, I (Planned Interventions) – вмешательства, A (Intervention Acceptance) – принятие вмешательства и O (Status of the DRP, Outcomes) – последствия. Исследователь может выявлять DRP или на основе анализа анкет, полученных от пациентов и врачей, или же опираясь на спонтанные сообщения о НР, полученные от медицинских, фармацевтических организаций, держателей регистрационных удостоверений. Данная система удобна для использования в клинической практике и периодически обновляется на основании результатов публикаций, связанных с применением ЛП. Актуальная версия классификатора бесплатна и доступна для загрузки на официальном сайте PCNE[11]. В 2021 году DRP PCNE V.9.1[12] прошла второй раунд валидации с участием 158 фармацевтов из 12 стран мира.

[7] Указ Президента РФ от 1 декабря 2016 г. № 642 «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации».
[8] Medical Subject Headings, 2023. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://meshb.nlm.nih.gov
[9] Pharmaceutical Care Network Europe Foundation. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.pcne.org
[10] PCNE Classification for Drug-Related Problems V9.1. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.pcne.org/upload/files/417_PCNE_classification_V9-1_final.pdf
[11] Pharmaceutical Care Network Europe Foundation.
[12] PCNE Classification for Drug-Related Problems V9.1.

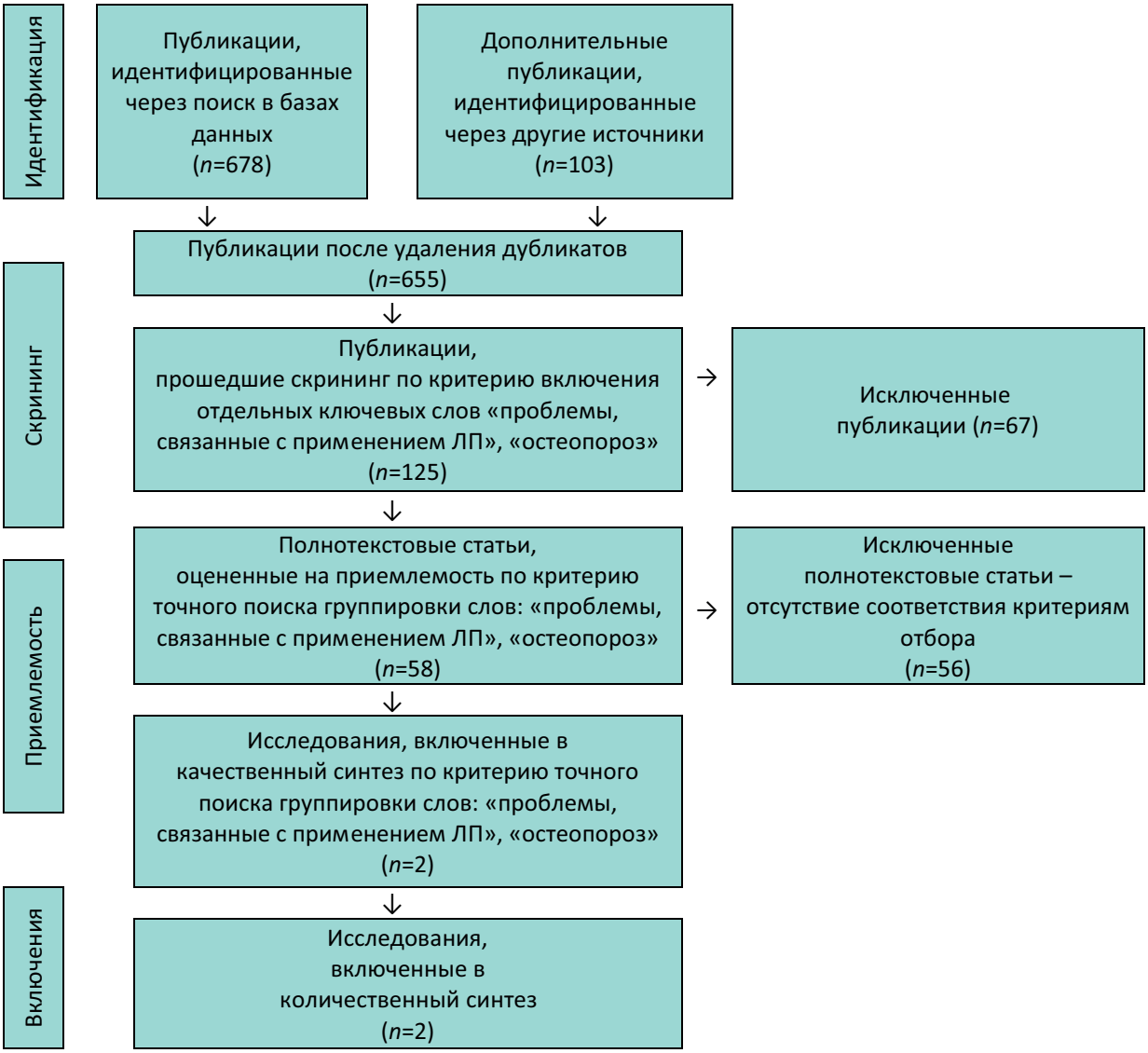


Рисунок 1 – Блок-схема PRISMA, отражающая количество отобранных в исследовании публикаций

Несмотря на указанное выше влияние, которое оказывают проявления DRP на систему здравоохранения, большинство таких проблем предсказуемы или потенциально предотвратимы [27, 28]. Одним из методов повышения выявляемости DRP и, как следствие, их предотвращения является включение фармацевтических работников в систему оказания помощи пациентам [29–31]. Вмешательства, описанные в обнаруженных исследованиях DRP, являются достаточно разнообразными и охватывают большое количество аспектов терапии, такие как проблемы приверженности пациента лечению, совместимости (взаимодействия) ЛС, коррекции назначенных доз ЛП [32–34].

На проявление DRP могут влиять различные факторы, например, особенности организма, такие как женский пол, возраст старше 65 лет, а также различия в знаниях фармакологии у медицинских работников, в результате чего возрастает риск полипрагмазии [35–37]. Различные исследователи указывают на высокий риск развития проблем, связанных с применением ЛП, которые имеют преимущественно почечный путь экскреции (антикоагулянты или диуретики) [38, 39]. Указанные клинические и фармакологические факторы риска, а также количество используемых ЛП значительно влияют на численность выявляемых DRP [40].

Выявление и характеристика DRP, изучение их причин и оценка сопутствующих вмешательств представляют особый интерес в повседневной клинической практике, особенно в стационарных отделениях медицинских учреждений из-за высокого риска развития ятрогении. Для адекватной оценки проблем, связанных с применением ЛП, следует учитывать системы классификации DRP, прошедшие валидацию, репрезентативные выборки

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-412-421

и достаточно длительные периоды исследования, чтобы делать обоснованные выводы [41].

Проблема остеопороза

ОП является самым распространенным метаболическим заболеванием костей [42, 43]. Данное заболевание характеризуется низкой минеральной плотностью костной ткани, что делает пораженные кости уязвимыми для переломов. По состоянию на 2019 год по всему миру было зарегистрировано около 42 млн. пациентов с диагнозом ОП, по некоторым оценкам к 2034 году это число может превысить 200 млн. человек [44]. Большое количество пациентов и существенное ухудшение качества жизни больных требуют усиленного внимания системы здравоохранения на данную патологию.

В соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра, выделяют более 20 форм ОП[13], наиболее распространенной формой первичного ОП из них является постменопаузальный ОП, который вызван снижением секреции эстрогенов в периоде постменопаузы [45]. ОП в постменопаузе диагностируется на основании наличия хрупкого перелома или показателя минеральной плотности костной ткани позвоночника, бедренной кости или ее шейки, который по меньшей мере на 2,5 стандартных отклонения ниже среднего значения в контрольной популяции взрослых людей, измеренной с использованием денситометрии [46]. После перелома шейки бедра у многих женщин так и не восстанавливается способность самостоятельно передвигаться, 20% больных подвергаются лечению в стационарах, а риск смерти пациентов в течение одного года удваивается в сравнении с периодом до перелома [47]. Женщины крайне предрасположены к развитию ОП и, как следствие, осложнений его развития в виду снижения секреции прогестерона, количество которого снижается по достижении 40–45 лет, и эстрогена (количество снижается к 45–52 годам), причем достижение 27 лет рассматривается как критическая точка современного старения [48].

На основе различных механизмов регуляции костного гомеостаза в клинической практике применяется ряд фармакологических групп препаратов, направленных на лечение остеопороза: бисфосфонаты, селективные модуляторы рецепторов эстрогена, кальцитонин, препараты молекулярного действия и т.д. Основными препаратами является ЛС группы бисфосфонатов [49, 50]. Бисфосфонаты являются синтетическими аналогами эндогенного регулятора минерализации костей – пирофосфата. Данная группа препаратов действует на уровне остеокластов, нарушая их метаболизм, адгезию опухолевых клеток к костному матриксу, тем самым подавляя их миграцию, инвазию и ангиогенез. Бисфосфонаты часто используются при лечении метаболических заболеваний костей, таких как потеря костной массы, вызванная использованием глюкокортикоидов и других гормональных средств [51]. Основная цель лечения – предотвратить переломы у пациентов из группы высокого риска до их первого перелома (первичная профилактика) или до последующего перелома (вторичная профилактика) [47]. Максимальное подавление костной резорбции наступает примерно в течение 3-х месяцев после начала пероральной терапии бисфосфонатами, принимаемыми ежедневно, еженедельно или ежемесячно, и остается примерно постоянным на протяжении всего лечения [51]. Несмотря на эффективность этого класса ЛС при ОП, проявляющуюся в виде существенного снижения риска развития различных переломов [52], для них характерно развитие частых, а также серьезных и тяжелых НР – остеонекроза челюсти, фибрилляции предсердий, атипичных переломов бедренной кости [53–55], что, в свою очередь, является основанием для дополнительного контроля безопасности фармакотерапии при применении данной группы ЛП. Парентеральное введение бисфосфонатов может быть сопряжено с развитием лихорадки, головной боли, повышенной утомляемости, боли в мышцах и боли в костях [54].

DRP при фармакотерапии остеопороза

На основе вышеупомянутой классификации DRP PCNE V.9.1, в учебной больнице Китая было проведено проспективное исследование для выявления и анализа DRP многопрофильной командой специалистов, состоящей из одного врача и шести фармацевтов, которые были вовлечены в программу комплексной фармацевтической помощи [56]. В анализ были включены данные 219 пациентов с ОП. Информация, необходимая для проведения оценки DRP, была получена из электронных медицинских записей, непосредственного наблюдения за пациентами во время их посещения врачом. Всего было выявлено 343 DRP, в среднем 1,57 DRP на пациента. Наиболее распространенными DRP в выборке были: «безопасность лечения, P2» (66,8%; 229 случаев), «другие DRP, P3» (21,0%; 72 случая) и «эффективность лечения, P1» (12,2%; 42 случая). Основными причинами возникновения DRP являлись: «выбор дозы, C3» (35,9%; 211 случаев), «процесс употребления ЛП, C6» (28,9%; 170 случаев) и «выбор препарата, C1» (12,6%; 74 случая). Для разрешения возникших DRP было предложено 711 вмешательств, в среднем 2,1 вмешательства на каждую из зарегистрированных

[13] Международная классификация болезней 10-го пересмотра (МКБ-10).

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241
Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

DRP. Из предпринятых медицинскими работниками вмешательств 91,0% были полностью реализованы, в результате только 30 DRP остались не решенными до выписки пациента.

Кроме того, было обнаружено, что количество принимаемых одновременно ЛП было статистически значимо связано с количеством DRP (p=0,023). Это может быть объяснено тем, что по мере увеличения количества ЛС возрастает вероятность межлекарственных взаимодействий и повышается риск ошибок при их применении, что напрямую связано с возникновением большого количества DRP, в связи с чем пациентам с полипрагмазией медицинские работники должны оказывать своевременную помощь для выявления и решения DRP.

В представленном выше исследовании организаторами также была предложена программа комплексной фармацевтической помощи, которая включала в себя предварительную проверку перед назначением ЛС с помощью специально разработанного программного обеспечения и фармацевтической экспертизы рецепта, проверку совместимости ЛП клиническими фармацевтами и обсуждение результатов фармакотерапии перед выпиской пациентов многопрофильной командой, состоящей из врачей и клинических фармацевтов. Команда также осуществляла сбор данных по DRP и предлагала меры помощи пациентам по их разрешению, такие как уменьшение дозы ЛП или замена ЛС. Рекомендации фармацевтов оказались эффективными в решении проблем, связанных с применением ЛП, что позволило повысить приверженность пациентов к лечению [56].

В январе 2014 года в Сербии было проведено проспективное исследование среди амбулаторных пациентов с ОП на базе трех различных медицинских учреждений [49]. Пациентам старше 50 лет было предложено ответить на открытые вопросы анонимной анкеты. В исследовании приняли участие 355 человек: 329 (92,7%) женщин и 26 (7,3%) мужчин. Пациенты, перенесшие по крайней мере один остеопоротический перелом (208 пациентов), были значительно менее привержены к терапии, реже занимались спортом и регулярными физическими нагрузками и были более склонны к питанию с недостаточным содержанием кальция и витамина D, чем пациенты без переломов (147 пациентов). Исследователи также обнаружили, что эффективность лечения ОП снижается из-за ряда проблем, связанных с применением ЛП, с которыми сталкиваются как врачи, так и пациенты. К ним относятся развитие НР при использовании ЛП, предубеждения пациентов в отношении эффективности и безопасности ЛС, несоблюдение рекомендаций врача в отношении немедикаментозной терапии (поддержание диеты, регулярные физические нагрузки). Стоит отметить, что значительное количество пациентов не придерживалось и прямых рекомендаций врача в отношении приема ЛП, что свидетельствует о низкой приверженности больных к лечению. Основными причинами отказа от фармакотерапии, которые называли пациенты, являлись опыт возникновения побочных эффектов (48,5% от общего числа пациентов, которые не придерживались назначенной терапии), убеждение в том, что ЛП для терапии ОП приносят больше вреда, чем пользы (68,9%), пренебрежение влияния ОП и его осложнений на общее состояние здоровья (57,3%) [57].

Несмотря на преимущества и успехи применения системы классификации PCNE, одинаково удобной для всех исследователей метода анализа DRP на сегодняшний день нет. В исследовании, проводимом в Финляндии, авторы обращают внимание на несоответствие существующих систем классификации заболеваний и вмешательств возникающим DRP. В связи с этим, исследователи провели адаптацию классификации DRP, добавив причины возникновения DRP и меры вмешательства для купирования этих проблем [58]. Стоит отметить, что благодаря таким исследованиям, упомянутая классификация PCNE периодически обновляется, дополняя необходимыми пунктами имеющийся классификатор.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотренные исследования по выявлению проблем, связанных с применением ЛП для лечения ОП при проведении комплексной фармакотерапии, позволили выявить целесообразность использования данного метода для повышения безопасности и эффективности проводимого лечения.

Внедрение современного метода исследования безопасности ЛП в систему фармаконадзора РФ, с точки зрения авторов, является важным шагом в развитии персонализированной медицины. Дальнейшее изучение проблем, связанных с применением ЛП, у пациентов с ОП позволит снизить существующие риски, возникающие при проводимой моно- и комбинированной фармакотерапии. Следует помнить, что эти риски могут быть обусловлены также возрастными особенностями пациентов с ОП, среди которых стоит выделить мультиморбидную полипрагмазию, возрастные физиологические изменения, особенности фармакокинетики и фармакодинамики ЛП. Таким образом, выявление, анализ и профилактика возникновения DRP у пациентов с ОП имеют важное значение в повышении приверженности пациентов к лечению, результативности проводимой фармакотерапии и, как следствие, улучшению качества их жизни.

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-412-421

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данный обзор не имел финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный и равнозначный вклад в подготовку публикации. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение поиска литературы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Е.А. Егорова – идея и планирование структуры работы, оформление графического материала, написание статьи, А.М. Бейтуллаев – сбор материала и написание черновика рукописи; А.В. Матвеев – анализ литературы, написание статьи; К.Н. Корянова – анализ, редактирование и утверждение финальной версии рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Балабанова Р.М., Дубинина Т.В., Демина А.Б., Кричевская О.А. Заболеваемость болезнями костно-мышечной системы в Российской Федерации за 2015-2016 гг. // Научно-практическая ревматология. – 2018. – Т. 56, № 1. – С. 15–21. DOI: 10.14412/1995-4484-2018-15-21
2. Титова Л.В., Макарова М.В., Смирнова А.А., Обухова И.В., Иванова С.Н. Эпидемиологическая характеристика болезней костно-мышечной системы // Здравоохранение Российской Федерации. – 2018. – Т. 62, № 1. – С. 13–17. DOI: 10.18821/0044-197X-2018-62-1-13-17
3. Балабанова Р.М., Дубинина Т.В. Динамика пятилетней заболеваемости болезнями костно-мышечной системы и их распространенности среди взрослого населения России за 2013–2017 гг // Современная ревматология. – 2019. – Т. 13, № 4. – С. 11–17. DOI: 10.14412/1996-7012-2019-4-11-17
4. Челищева М.Ю. Условия труда и заболеваемость болезнями костно-мышечной системы работников металлургов // Медицина труда и промышленная экология. – 2009. – Т. 10. – С. 31–36.
5. Олейникова Т.А., Пожидаева Д.Н., Орешко А.Ю. Мониторинг заболеваемости патологиями костно-мышечной системы и соединительной ткани в Российской Федерации // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. – 2019. – Т. 12, № 1 – С. 5–13. DOI: 10.17749/2070-4909.2019.12.1.5-13
6. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis // Am J Med. – 1993. Vol. 94, No. 6. – P. 646–650. DOI: 10.1016/0002-9343(93)90218-e
7. Compston J., Cooper A., Cooper C., Gittoes N., Gregson C., Harvey N., Hope S., Kanis J.A., McCloskey E.V., Poole K.E.S., Reid D.M., Selby P., Thompson F., Thurston A., Vine N.; National Osteoporosis Guideline Group (NOGG). UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis // Arch Osteoporos. – 2017. – Vol. 12. – P. 43. DOI: 10.1007/s11657-017-0324-5
8. Sözen T., Özışık L., Başaran N. An overview and management of osteoporosis // Eur J Rheumatol. – 2017. – Vol. 4. – P. 46–56. DOI: 10.5152/eurjrheum.2016.048
9. Johnell O., Kanis J.A. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures // Osteoporos Int. – 2006. – Vol. 17. – P. 1726–1733. DOI: 10.1007/s00198-006-0172-4
10. Кравцов В.И., Ахвердян Ю.Р., Фофанова Н.А. Остеопороз, его распространенность и факторы риска развития в Волгоградской области // Сборник статей международной научно-практической конференции «Современные научные исследования: проблемы и перспективы». – Уфа, 2015. – С. 192–195.
11. Фомина Л.А., Зябрева И.А. Эпидемиология остеопороза и остеопении // Тверской медицинский журнал. 2015. – Т. 1. – С. 63–73.
12. Вербовой А.Ф., Пашенцева А.В., Шаронова Л.А. Остеопороз: современное состояние проблемы // Терапевтический архив. – 2017. – Т. 89, № 5. – С. 90–97. DOI: 10.17116/terarkh201789590-97
13. Лесняк О.М., Баранова И.А., Белова К.Ю., Гладкова Е.Н., Евстигнеева Л.П., Ершова О.Б., Каронова Т.Л., Кочиш А.Ю., Никитинская О.А., Скрипникова И.А., Торопцова Н.В., Арамисова Р.М. Остеопороз в Российской Федерации: эпидемиология, медико-социальные и экономические аспекты проблемы (обзор литературы) // Травматология и ортопедия России. – 2018. – Т. 24, № 1. – С. 155–168. DOI: 10.21823/2311-2905-2018-24-1-155-16814
14. Глаголев С.В., Горелов К.В., Чижова Д.А. Российский фармаконадзор в условиях нового регулирования – итоги двух лет и перспективы // Ремедиум. – 2019. – Т. 3. – С. 8–14. DOI: 10.21518/1561-5936-2019-3-8-14
15. Олефир Ю.В., Романов Б.К., Аляутдин Р.Н., Лепахин В.К., Крашенинников А.Е., Шубникова Е.В. Оценка отчетности по фармаконадзору в России // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2018. – Т. 6, № 4. – С. 150–154. DOI: 10.30895/2312-7821-2018-6-4-150-154
16. Матвеев А.В., Крашенинников А.Е., Егорова Е.А., Коняева Е.И. Применение системы проблем, связанных с лекарственными препаратами (Drug-Related Problems), на примере группы нестероидных противовоспалительных средств // Фармация и фармакология. – 2019. – Т. 7, № 4. – С. 215–223. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-4-215-223
17. Pfister B., Jonsson J., Gustafsson M. Drug-related problems and medication reviews among old people with dementia // BMC Pharmacol Toxicol. – 2017. – Vol. 8. – Art. ID: 52. DOI: 10.1186/s40360-017-0157-2
18. Fog A.F., Kvalvaag G., Engedal K., Straand J. Drug-related problems and changes in drug utilization after medication reviews in nursing homes in Oslo, Norway // Scand J Prim Health Care. – 2017. – Vol. 35, No. 4. – P. 329–335. DOI: 10.1080/02813432.2017.1397246

19. Ayalew M.B., Megersa T.N., Mengistu Y.T. Drug-related problems in medical wards of Tikur Anbessa specialized hospital, Ethiopia // J ResPharmPract. – 2015. – Vol. 4, No.4. – P. 216–221. DOI: 10.4103/2279-042X.167048

20. Матвеев А.В., Крашенинников А.Е., Егорова Е.А., Коняева Е.И. Ретроспективный анализ карт-извещений о нежелательных реакциях антибиотиков пенициллинового ряда с применением метода системы проблем, связанных с лекарственными препаратами // Фармация и фармакология. – 2020. – Т. 8, № 1. – С. 57–64. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-1-57-64

21. Матвеев А.В., Егорова Е.А., Коняева Е.И., Бекирова Э.Ю., Аджимамутова Л.А. Изучение безопасности применения антианемических препаратов с использованием метода системы проблем, связанных с лекарственными препаратами // Фармация и фармакология. – 2021. – Т. 9, № 1. – С. 73–83. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-1-73-83

22. Чернов А.А., Клейменова Е.Б., Сычев Д.А., Абильмажинова А.А., Яшина Л.П., Отделенов В.А., Пающик С.А. Причины геморрагических осложнений у пациентов стационара, получающих лечебные дозы антикоагулянтов // Клиническая фармакология и терапия. – 2018. – Т. 27, № 5. – С. 23–29. DOI: 10.32756/0869- 5490-2018-5-23-29

23. Page M.J., McKenzie J.E., Bossuyt P.M. Boutron I., Hoffmann T.C., Mulrow C.D., Shamseer L., Tetzlaff J.M., Akl E.A., Brennan S.E., Chou R., Glanville J., Grimshaw J.M., Hróbjartsson A., Lalu M.M., Li T., Loder E.W., Mayo-Wilson E., McDonald S., McGuinness L.A., Stewart L.A., Thomas J., Tricco A.C., Welch V.A., Whiting P., Moher D. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews // BMJ. – 2021. – Vol. 372. – Art. ID: n71. DOI: 10.1136/bmj.n71

24. Rootman I. Drug-related problems and the physician: the Calgary experience // Can Fam Physician. – 1973. – Vol. 19, No. 11. – P. 66–68.

25. American College of Clinical Pharmacy. The definition of clinical pharmacy // Pharmacotherapy. – 2008. Vol. 28, No. 6. – P. 816–817. DOI: 10.1592/phco.28.6.816

26. Strand L.M., Morley P.C., Cipolle R.J., Ramsey R., Lamsam G.D. Drug-related problems: their structure and function // DICP. – 1990. – Vol. 24, No. 11. – P. 1093–1097. DOI: 10.1177/106002809002401114

27. Pirmohamed M., James S., Meakin S., Green C., Scott A.K., Walley T.J., Farrar K., Park B.K., Breckenridge A.M. Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18 820 patients // BMJ. – 2004. – Vol. 329, No. 7456. – P. 15–19. DOI: 10.1136/bmj.329.7456.15

28. Howard R.L., Avery A.J., Slavenburg S., Royal S., Pipe G., Lucassen P., Pirmohamed M. Which drugs cause preventable admissions to hospital? A systematic review // Br J Clin Pharmacol. – 2007. – Vol. 63, No. 2. – P. 136–147. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2006.02698.x

29. Delgado Silveira E., Fernandez-Villalba E.M., García-Mina Freire M., Albiñana Pérez M.S., Casajús Lagranja M.P., Peris Martí J.F. Impacto de la Intervención Farmacéutica en el tratamientodel paciente mayor pluripatológico [The impact of Pharmacy Intervention on the treatment of elderly multi-pathological patients] // Farm Hosp. – 2015. – Vol. 39, No. 4. – P. 192–202. DOI: 10.7399/fh.2015.39.4.8329

30. Guignard B., Bonnabry P., Perrier A., Dayer P., Desmeules J., Samer C.F. Drug-related problems identification in general internal medicine: The impact and role of the clinical pharmacist and pharmacologist // Eur J Intern Med. – 2015. – Vol. 26, No. 6. – P. 399–406. DOI: 10.1016/j.ejim.2015.05.012

31. Bedouch P., Sylvoz N., Charpiat B., Juste M., Roubille R., Rose F.X., Bosson J.L., Conort O., Allenet B.; French Society of Clinical Pharmacy's Act-IP© Group. Trends in pharmacists' medication order review in French hospitals from 2006 to 2009: analysis of pharmacists' interventions from the Act-IP© website observatory // J Clin Pharm Ther. – 2015. – Vol. 40, No. 1. – P. 32–40. DOI: 10.1111/jcpt.12214

32. Shanika L.G.T., Coombes J., Perera D., Mohamed F., Coombes I., De Silva H.A., Dawson A.H. Ward-based clinical pharmacists and hospital readmission: a non-randomized controlled trial in Sri Lanka // Bull World Health Organ. – 2018. – Vol. 96. – P. 155–164. DOI: 10.2471/BLT.17.198366. Erratum in: Bull World Health Organ. – 2018. – Vol. 96, No. 5. – Art. ID: 368.

33. Stuhec M., Bratović N., Mrhar A. Impact of clinical pharmacist's interventions on pharmacotherapy management in elderly patients on polypharmacy with mental health problems including quality of life: A prospective non-randomized study // Sci Rep. – 2019. – Vol. 9, No. 1. – Art. ID: 16856. DOI: 10.1038/s41598-019-53057-w

34. Tefera G.M., Zeleke A.Z., Jima Y.M., Kebede T.M. Drug Therapy Problems and the Role of Clinical Pharmacist in Surgery Ward: Prospective Observational and Interventional Study // Drug Healthc Patient Saf. – 2020. – Vol. 12. – P. 71–83. DOI: 10.2147/DHPS.S251200

35. Kaufmann C.P., Stämpfli D., Hersberger K.E., Lampert M.L. Determination of risk factors for drug-related problems: a multidisciplinary triangulation process // BMJ Open. – 2015. – Vol. 5, No. 3. – Art. ID: e006376. DOI: 10.1136/bmjopen-2014-006376

36. Keijsers C.J., Leendertse A.J., Faber A., Brouwers J.R., de Wildt D.J., Jansen P.A. Pharmacists' and general practitioners' pharmacology knowledge and pharmacotherapy skills // J Clin Pharmacol. – 2015. – Vol. 55, No. 8. – P. 936–943. DOI: 10.1002/jcph.500

37. Freyer J., Hueter L., Kasprick L., Frese T., Sultzer R., Schiek S., Bertsche T. Drug-related problems in geriatric rehabilitation patients after discharge - A prevalence analysis and clinical case scenario-based pilot study // Res Social Adm Pharm. – 2018. – Vol. 14, No. 7. – P. 628–637. DOI: 10.1016/j.sapharm.2017.07.009

38. Krähenbühl-Melcher A., Schlienger R., Lampert M., Haschke M., Drewe J., Krähenbühl S. Drug-related problems in hospitals: a review of the recent literature // Drug Saf. – 2007. – Vol. 30, No. 5. – P. 379–407. DOI: 10.2165/00002018-200730050-00003

39. Abunahlah N., Elawaisi A., Velibeyoglu F.M., Sancar M. Drug related problems identified by clinical pharmacist at the Internal Medicine Ward in Turkey // Int J Clin Pharm. – 2018. – Vol. 40, No. 2. – P. 360–367. DOI: 10.1007/s11096-017-0585-5

40. Blix H.S., Viktil K.K., Reikvam A., Moger T.A., Hjemaas B.J., Pretsch P., Vraalsen T.F., Walseth E.K. The majority of hospitalised patients have drug-related problems: results from a prospective study in general hospitals // Eur J Clin Pharmacol. – 2004. – Vol. 60, No. 9. – P. 651–658. DOI: 10.1007/s00228-004-0830-4

41. Garin N., Sole N., Lucas B., Matas L., Moras D., Rodrigo-Troyano A., Gras-Martin L., Fonts N. Drug related problems in clinical practice: a cross-sectional study on their

prevalence, risk factors and associated pharmaceutical interventions // Sci Rep. – 2021. – Vol. 11, No. 1. – Art. ID: 883. DOI: 10.1038/s41598-020-80560-2
42. Song S., Guo Y., Yang Y., Fu D. Advances in pathogenesis and therapeutic strategies for osteoporosis // Pharmacol Ther. – 2022. – Vol. 237 – Art. ID: 108168. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2022.108168
43. Khandelwal S., Lane N.E. Osteoporosis: Review of Etiology, Mechanisms, and Approach to Management in the Aging Population // Endocrinol Metab Clin North Am. – 2023. – Vol. 52, No. 2. – P. 259–275. DOI: 10.1016/j.ecl.2022.10.009
44. Zhu Z., Yu P., Wu Y., Wu Y., Tan Z., Ling J., Ma J., Zhang J., Zhu W., Liu X. Sex specific global burden of osteoporosis in 204 countries and territories, from 1990 to 2030: An age-period-cohort modeling study // J Nutr Health Aging. – 2023. – Vol. 27, No. 9. – P. 767–774. DOI: 10.1007/s12603-023-1971-4
45. Compston J.E., McClung M.R., Leslie W.D. Osteoporosis // Lancet. – 2019. – Vol. 393, No. 10169. – P. 364–376. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32112-3
46. Walker M.D., Shane E. Postmenopausal Osteoporosis // N Engl J Med. – 2023. – Vol. 389, No. 21. – P. 1979–1991. DOI: 10.1056/NEJMcp2307353
47. Dyer S.M., Crotty M., Fairhall N., Magaziner J., Beaupre L.A., Cameron I.D., Sherrington C.; Fragility Fracture Network (FFN) Rehabilitation Research Special Interest Group. A critical review of the long-term disability outcomes following hip fracture // BMC Geriatr. – 2016. – Vol. 16, No. 1. – Art. ID: 158. DOI: 10.1186/s12877-016-0332-0
48. Савченко Т.Н., Агаева М.И., Носова Л.А., Шаповалова Ю.О. Профилактика остеопороза у женщин // РМЖ. – 2017. – Т. 12. – С. 879–883.
49. Oryan A., Sahvieh S. Effects of bisphosphonates on osteoporosis: Focus on zoledronate // Life Sci. – 2021. – Vol. 264. – Art. ID: 118681. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118681
50. McClung M., Harris S.T., Miller P.D., Bauer D.C., Davison K.S., Dian L., Hanley D.A., Kendler D.L., Yuen C.K., Lewiecki E.M. Bisphosphonate therapy for osteoporosis: benefits, risks, and drug holiday // Am J Med. – 2013. – Vol. 126, No. 1. – P. 13–20. DOI: 10.1016/j.amjmed.2012.06.023
51. Drake M.T., Clarke B.L., Khosla S. Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice // Mayo Clin Proc. – 2008. – Vol. 83, No. 9. – P. 1032–1045. DOI: 10.4065/83.9.1032
52. Adler R.A., El-Hajj Fuleihan G., Bauer D.C., Camacho P.M., Clarke B.L., Clines G.A., Compston J.E., Drake M.T., Edwards B.J., Favus M.J., Greenspan S.L., McKinney R. Jr., Pignolo R.J., Sellmeyer D.E. Managing osteoporosis in patients on long-term bisphosphonate treatment: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research // J Bone Miner Res. – 2016. – Vol. 31, No. 1. – P. 16–35. DOI: 10.1002/jbmr.2708
53. Khosla S., Burr D., Cauley J., Dempster D.W., Ebeling P.R., Felsenberg D., Dempster D.W., Ebeling P.R., Felsenberg D., Gagel R.F., Gilsanz V., Guise T., Koka S., McCauley L.K., McGowan J., McKee M.D., Mohla S., Pendrys D.G., Raisz L.G., Ruggiero S.L., Shafer D.M., Shum L., Silverman S.L., Van Poznak C.H., Watts N., Woo S.B., Shane E.; American Society for Bone and Mineral Research. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research // J Bone Miner Res. – 2007. – Vol. 22, No. 10. – P. 1479–1491. DOI: 10.1359/jbmr.0707onj
54. Shane E., Burr D. Ebeling P.R., Abrahamsen B., Adler R.A., Brown T.D., Cheung A.M., Cosman F., Curtis J.R., Dell R., Dempster D., Einhorn T.A., Genant H.K., Geusens P., Klaushofer K., Koval K., Lane J.M., McKiernan F., McKinney R., Ng A., Nieves J., O'Keefe R., Papapoulos S., Sen H.T., van der Meulen M.C., Weinstein R.S., Whyte M.; American Society for Bone and Mineral Research. Atypical subtrochanteric and diaphyseal femoral fractures: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research // J Bone Miner Res. – 2010. – Vol. 25, No. 11. – P. 2267–2294. DOI: 10.1002/jbmr.253
55. Schilcher J., Michaëlsson K., Aspenberg P. Bisphosphonate use and atypical fractures of the femoral shaft // N Engl J Med. – 2011. – Vol. 364, No. 18. – P. 1728–1737. DOI: 10.1056/NEJMoa1010650
56. Chen W., Zhang H., Jiang J., Zhang X., Ding J., Liu Y., Dang H. Application of comprehensive pharmaceutical care program in identifying and addressing drug-related problems in hospitalized patients with osteoporosis // BMC Health Serv Res. – 2022. – Vol. 22, No. 1. – P. 1438. DOI: 10.1186/s12913-022-08862-x
57. Ilić D., Bukumirić Z., Janković S. Drug-related problems in patients with osteoporosis // Vojnosanit Pregl. – 2016. – Vol. 73, No. 3. – P. 261–265. DOI: 10.2298/vsp140909090i
58. Linden-Lahti C., Takala A., Holmström A.R., Airaksinen M. Applicability of drug-related problem (DRP) classification system for classifying severe medication errors // BMC Health Serv Res. – 2023. – Vol. 23. – Art. ID: 743. DOI: 10.1186/s12913-023-09763-3

АВТОРЫ

Егорова Елена Александровна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры базисной и клинической фармакологии Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». ORCID ID: 0000-0003-4012-2523. E-mail: egorovapharm@mail.ru

Бейтуллаев Асан Марленович – аспирант 1-го года обучения, ассистент кафедры базисной и клинической фармакологии Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». ORCID ID: 0000-0002-8059-7075. E-mail: asan25.2001@gmail.com

Матвеев Александр Васильевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии и терапии, руководитель Учебно-образовательного центра фундаментальной и трансляционной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6636-3950.E-mail: avmcsmu@gmail.com.

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

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 616.72-002-031.13

Check for updates

CC BY

Противовоспалительные и антирезорбтивные эффекты ацилзамещенных производных хромона в условиях экспериментального ревматоидного артрита

Д.И. Поздняков[1], К.Н. Корянова[1], К.К. Арустамян[1], Ч.М. Маргушев[1], В.С. Баскаева[1], В.М. Руковицина[1], Х.Н. Насрулаева[2], Е.А. Олохова[3]

[1] 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-кт Калинина, д. 11

[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дагестанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 367000, Россия, г. Махачкала, пл. Ленина, д. 1

[3] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 660005, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Получена 10.09.2023 После рецензирования 12.11.2023 Принята к печати 23.12.2023

Ревматоидный артрит (РА) – системное воспалительное заболевание, поражающее преимущественно мелкие и крупные суставы. Поиск новых лекарственных средств для лечения РА ведется постоянно, при этом перспективным направлением для создания новых противоревматических средств можно считать целенаправленный синтез политаргетных малых молекул.

Цель. Оценить противовоспалительное и антирезорбтивное действие ацилзамещенных производных хромона в условиях экспериментального ревматоидного артрита у крыс.

Материалы и методы. РА моделировали у крыс путем введения суспензии человеческого коллагена II типа и полного адъюванта Фрейнда (в соотношении 1:1) под подошвенный апоневроз задней конечности животного. Анализируемые вещества с шифрами Х3А7 и Х3А9 в дозе 20 мг/кг и препарат сравнения дексаметазон в дозе 3 мг/кг вводили внутрибрюшинно на протяжении 28-ми дней с момента воспроизведения РА. На 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день эксперимента определяли выраженность клинических проявлений РА. По истечении 28-ми дней у крыс в сыворотке крови оценивали изменение содержания цитокинов: фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α), интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-12). В синовиальных тканях определяли изменение активности миелопероксидазы и концентрации матриксных металлопротеназ (ММП) 2-го и 9-го типа.

Результаты. В ходе исследования было показано, что применение анализируемых соединений Х3А7 и Х3А9, а также препарата сравнения способствовало уменьшению выраженности клинических проявлений РА, начиная с 14-го дня эксперимента. В дальнейшем было продемонстрировано, что у животных, получавших дексаметазон, содержание цитокинов в сыворотке крови уменьшилось по отношению к нелеченым животным: ФНО-α – на 57,8% (p <0,05), ИЛ-1 – 64,1% (p <0,05), ИЛ-6 – 59,1% (p <0,05) и ИЛ-12 – 72,3% (p <0,05), при повышении уровня ИЛ-10 – на 75,4% (p <0,05). Аналогично изменялся цитокиновый профиль сыворотки крови при введении животным исследуемых соединений. Также стоит отметить, что на фоне введения дексаметазона, веществ Х3А7 и Х3А9 активность миелопероксидазы снизилась на 41,7 (p <0,05), 61,7 (p <0,05) и 65,0% (p <0,05) соответственно, тогда как концентрация ММП2 уменьшилась на 24,0 (p <0,05), 38,5 (p <0,05) и 34,4% (p <0,05) соответственно, а ММП9 – на 13,5 (p <0,05), 37,9 (p <0,05) и 35,6% (p <0,05).

Для цитирования: Д.И. Поздняков, К.Н. Корянова, К.К. Арустамян, Ч.М. Маргушев, В.С. Баскаева, В.М. Руковицина, Х.Н. Насрулаева, Е.А. Олохова. Противовоспалительные и антирезорбтивные эффекты ацилзамещенных производных хромона в условиях экспериментального ревматоидного артрита. *Фармация и фармакология.* 2023;11(5):422-431. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2023-11-5-422-431

© Д.И. Поздняков, К.Н. Корянова, К.К. Арустамян, Ч.М. Маргушев, В.С. Баскаева, В.М. Руковицина, Х.Н. Насрулаева, Е.А. Олохова, 2023

For citation: D.I. Pozdnyakov, K.N. Koryanova, K.K. Arustamyan, Ch.M. Margushev, V.S. Baskaeva, V.M. Rukovitsina, H.N. Nasrulaeva, E.A. Olokhova. Anti-inflammatory and antiresorptive effects of acyl substitution chromone derivatives in experimental model of rheumatoid arthritis. *Pharmacy & Pharmacology.* 2023;11(5):422-431. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2023-11-5-422-431

Scientific and Practical Journal
PHARMACY & PHARMACOLOGY

RESEARCH ARTICLE

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-422-431

Заключение. Проведенное исследование показало, что введение анализируемых производных хромона X3A7 и X3A9 подавляет реакции воспаления и резорбтивные процессы в синовиальных тканях, что может служить основанием для их дальнейшего изучения в качестве противоревматических средств.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; производные хромона; цитокины; матриксные металлопротеиназы; миелопероксидаза

Список сокращений: РА – ревматоидный артрит; ФПС – фибробластоподобные синовиоциты; МПС – макрофагальноподобные синовиоциты; ФНО – фактор некроза опухоли; ИЛ – интерлейкин; ИЖ – интактные животные; НК – негативный контроль; МПО – миелопероксидаза; ММП – матриксная металлопротеиназа; Nf-kb – ядерный фактор каппа бета; МАРК – митоген-активируемая протеинкиназа; ANOVA – однофакторный дисперсионный анализ; АФК – активные формы кислорода.

Anti-inflammatory and antiresorptive effects of acyl substitution chromone derivatives in experimental model of rheumatoid arthritis

D.I. Pozdnyakov[1], K.N. Koryanova[1], K.K. Arustamyan[1], Ch.M. Margushev[1], V.S. Baskaeva[1], V.M. Rukovitsina[1], H.N. Nasrulaeva[2], E.A. Olokhova[3]

[1] Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532
[2] Dagestan State Medical University, 1, Lenin Sq., Makhachkala, Russia, 367000
[3] Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky, 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russia, 660005

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Received 10 Sep 2023 After peer review 12 Nov 2023 Accepted 23 Dec 2023

Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic inflammatory disease affecting mainly small and major joints. The development for new drugs for the treatment of RAs is constantly underway, while the purposeful synthesis of multi-targeted small molecules can be considered a promising direction for the synthesis of new anti-rheumatic drugs.

The aim. To evaluate the anti-inflammatory and antiresorptive effects of acyl substituted chromone derivatives in experimental animal model for rheumatoid arthritis.

Materials and methods. RA was modeled in rats by injection of a suspension of human type II collagen and a complete Freunds adjuvant (in a ratio of 1:1) under plantar aponeurosis of the hind limb of the animal. The analyzed substances under ciphers X3A7 and X3A9 at a dose of 20 mg/kg and the reference drug dexamethasone at a dose of 3 mg/kg were administered intraperitoneally for 28 days from the moment of RA modeling. On the 7th, 14th, 21st and 28th days of the experiment, the severity of the clinical manifestations of RA was determined. After 28 days, changes in the content of cytokines in the rats blood serum were assessed: tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukins (IL-1, IL-6, IL-10 and IL-12). Changes of myeloperoxidase activity and concentrations of matrix metalloproteinases (MMPs) of type 2 and 9 were determined in synovial tissues.

Results. During the study, it was shown that the use of the tested compounds X3A7 and X3A9, as well as the reference, contributed to a decrease in the severity of clinical manifestations of RA, starting from the 14th day of the experiment. Subsequently, it was demonstrated that in animals treated with dexamethasone, the cytokine content in blood serum decreased in relation to untreated animals: TNF-α – by 57.8% (p <0.05), IL-1 – 64.1% (p <0.05), IL-6 – 59.1% (p <0.05) and IL-12 – 72.3% (p <0.05), with an increase in the level of IL-10 – by 75.4% (p <0.05). The cytokine profile of the blood serum changed similarly when the studied compounds were administered to animals. It worth be noting that against the background of the administration of dexamethasone, X3A7 and X3A9 substances, the activity of myeloperoxidase decreased by 41.7 (p <0.05), 61.7 (p <0.05) and 65.0% (p <0.05), respectively, while the concentration of MMP2 decreased by 24.0 (p <0.05), 38.5 (p <0.05) and 34.4% (p <0.05), respectively, and MMP9 – by 13.5 (p <0.05), 37.9 (p <0.05) and 35.6% (p <0.05).

Conclusion. The study showed that the administration of the analyzed chromone derivatives X3A7 and X3A9 suppresses inflammatory reactions and resorptive processes in synovial tissues, which can serve as a basis for their further study as antirheumatic agents.

Keywords: rheumatoid arthritis; chromone derivatives; cytokines; matrix metalloproteinases; myeloperoxidase

Abbreviations: RA – rheumatoid arthritis; FLSs – fibroblast-like synoviocytes; MLSs – macrophage–like synoviocytes; TNF – tumor necrosis factor; IL – interleukin; INs – intact animals; NC – negative control; MP – myeloperoxidase; MMP – matrix metalloproteinase; Nfkb – nuclear factor kappa beta; MAPK – mitogen-activated protein kinase; ANOVA – analysis of variance; ROS – reactive oxygen species.

ВВЕДЕНИЕ

Ревматоидный артрит (РА) – хроническое аутоиммунное заболевание суставов с высоким риском системных осложнений, а также со значительным ухудшением качества жизни и ранней инвалидизации. Эпидемиологические исследования показывают, что распространённость РА в общей популяции составляет 0,5–1%, причем отмечается наличие четко оформленных гендерных и генетических коррелятов [1]. Так Ngo S.T. и соавт. в своей работе продемонстрировали, что риск развития РА в течение жизни у женщин выше, чем у мужчин (3,6 против 1,7%) [2]. Генетические детерминанты отмечаются в более чем 60% случаев РА, на что указывает исследование Wen Y.P. и Yu Z.G. [3]. В Российской Федерации заболеваемость РА достигает 610 случаев на 100 000 человек, что является вторым по значимости эпидемиологическим показателем среди ревматических заболеваний, уступая только остеоартриту (13 000 на 100 000 человек) [4]. Стоит отметить, что заболеваемость РА с каждым годом только увеличивается, что, вероятно, опосредуется влиянием эколого-социальных факторов, таких как курение, запыленность и задымленность городских агломераций, стрессы и заболевания пародонта [5].

Клинически РА протекает в виде симметричного полиартрита, поражающего мелкие и крупные суставы с развитием околосуставных, суставных и системных осложнений. Патогенетически РА опосредуется дисфункцией синовиальной ткани. Известно, что при РА отмечается активация макрофагально- (МПС) и фибробластоподобных (ФПС) синовиоцитов, являющихся первичными источниками цитокинов и иммуноглобулинов. Помимо цитокин-синтетических функций МПС и ФПС активируют протеазы и другие ферменты резорбции. При этом, наблюдается выраженная патогенетическая дихотомия синовиоцитов: ФПС – продуцируют различные провоспалительные цитокины, например, интерлейкин (ИЛ)-1β, ИЛ-6, фактор некроза опухоли альфа (ФНО)-α, тогда как МПС помимо синтеза цитокинов обеспечивают активацию матриксных металлопротеиназ (ММП), преимущественно 2-го и 9-го типов [6]. Вышеперечисленные изменения приводят к образованию характерного «ревматоидного паннуса», который опосредует образование эрозий на поздних стадиях РА.

Учитывая особенности патогенеза РА, а именно аутоагрессию иммунной системы по отношению к синовиальной ткани, в терапии данного состояния используются лекарственные препараты с преимущественным противовоспалительным и иммуносупрессорным действием: кортикостероиды, лефлуномид, метотрексат, препараты моноклональных антител (сарилумаб, канакинумаб, адалимумаб, цертолизумаб, инфликсимаб, тоцилизумаб и секукинумаб) [7]. Однако в большинстве случаев клинический ответ на стандартную терапию является недостаточным, что определяет необходимость комбинированного применения противоревматических средств.

По данным Smolen J.S. и соавт. для достижения оптимального эффекта необходимо применение 3-х противоревматических средств, при этом наиболее рациональные комбинации включают: кортикостероид+метотрексат+тоцилизумаб; кортикостероид+метотрексат+ритуксимаб; кортикостероид+метотрексат+тофацитиниб. Но даже при использовании данного подхода у ряда пациентов не удается достигнуть необходимой клинической эффективности [8].

В связи с этим, научным и практическим медицинским сообществом ведется изучение новых биомишеней и фармакологически активных молекул, дальнейшее внедрение которых позволит расширить спектр лекарственных препаратов для лечения РА. В контексте мишень-ориентированного подхода к созданию противоревматических средств выделяют несколько перспективных таргетов, включающих макромолекулярные и низкомолекулярные комплексы. Макромолекулярные компартменты представлены как правило, белковыми ферментативными мишенями (ММП, янус-киназы, цитокины), тогда как низкомолекулярные комплексы подразумевают под собой простагландины, липоксины, оксид азота и активные формы кислорода (АФК) [9].

В ранее проведенных исследованиях было показано, что некоторые производные хромона обладают комплексным характером фармакологического действия, включающего антицитокиновые и антиоксидантные свойства, что делает данную группу соединений перспективной для изучения в качестве возможных средств коррекции РА. При этом, наиболее высоким уровнем активности обладали ацилзамещенные соединения, которые и были выбраны в качестве анализируемых объектов в данной работе [10].

ЦЕЛЬ. Оценить противовоспалительное и антирезорбтивное действие ацилзамещенных производных хромона в условиях ревматоидного артрита у крыс в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Исследование выполнено на 50 половозрелых крысах-самцах Wistar массой тела 220–240 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Россия). Во время эксперимента животные содержались в стандартных условиях вивария Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета (ПМФИ) в полипропиленовых боксах по 5 особей. Доступ крыс к полнорационному экструдированному корму и воде не ограничивали.

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-422-431

Подстил (гранулированную фракцию твердых пород древесины) меняли не реже чем 1 раз в 3 дня. Условия содержания исключали стрессирование животных: температура окружающего воздуха – 22±2°C, относительной влажности – 55–65% и 12-часовой суточной цикл. Оперативные манипуляции выполнены под хлоралгидратной анестезией (внутрибрюшинное введение хлоралгидрата (PanReac Applichem, Испания) в дозе 350 мг/кг). Эвтаназию животных осуществляли после анестезии и забора биоматериала путем цервикальной дислокации. Концепция работы была одобрена Локальным этическим комитетом ПМФИ (протокол № 7 от 01.06.2023). Работа соответствовала положениям Директивы ЕС 2010/63[1] и принципам ARRIVE 2.0 [11].

Экспериментальная модель РА

РА моделировали у крыс путем введения человеческого коллагена II типа 2 мг/мл (Sigma-Aldrich, Германия) и неполного адъюванта Фрейнда (Sigma-Aldrich, Германия) в соотношении 1:1. Компоненты смешивали в фосфатно-солевом буферном растворе с pH=7,4 до образования стабильной суспензии и вводили субплантарно в объеме 0,2 мл. Через 7 дней инъекцию повторяли, при этом вводимый объем был сокращен до 0,1 мл [12].

Анализируемые соединения

Исследуемые соединения 3-формил-4-оксо-4H-1-бензопиран-7-ил ацетат (шифр – ХЗА7) и 3-формил-4-оксо-4H-1-бензопиран-6-ил ацетат (шифр – ХЗА9) были получены на кафедре органической химии ПМФИ. Идентификация структуры анализируемых веществ проводили методом ИК, УФ и ЯМР-спектроскопии [13]. Исследуемые соединения вводили внутрибрюшинно в дозе 20 мг/кг в виде тонкодисперсной суспензии, приготовленной *ex tempore* на основе фосфатно-солевого буферного раствора с pH=7,4 [14]. В качестве препарата сравнения использовали дексаметазон (KRKA, Словения) в дозе 3 мг/кг, интраперитонеально [15]. Продолжительность введения изучаемых веществ и референта была аналогичной и составила 28 дней с момента моделирования РА.

Экспериментальные группы

Все животные были рандомизированны по массе тела (не более 10% отклонения в группе и между группами) на 5 равных групп по 10 особей в каждой: интактные животные (ИЖ); негативный контроль (НК); группа животных, получавшая референтный препарат (дексаметазон); группа животных, получавшая анализируемое соединение под шифром ХЗА7; группа животных, получавшая анализируемое соединение под шифром ХЗА9. Крысам всех групп, за исключением ИЖ, моделировали РА по описанной выше методике. Группе ИЖ вместо индуктора РА вводили эквивалентный объем фосфатного буферного раствора.

Оценка клинических признаков РА

Изучение клинических проявлений РА у животных производили согласно балльной шкале, представленной E. Moases Ghaffary и S.M. Abtahi Froushani [16]. Согласно данной процедуре о выраженности клинических признаков РА судят по сумме баллов, где каждый балл соответствует одному из симптомов РА: 0 баллов – лапа без отека и покраснения; 1 балл – лапа с гиперемией и слабым отеком; 2 балла – лапа с умеренным отеком; 3 балла – лапа с выраженным отеком, подвижность сустава ограничена; 4 балла – лапа с сильным отеком и полным отсутствием подвижности сустава. Оценку клинической выраженности РА у крыс осуществляли на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день исследования [16].

Подготовка биоматериала

На 28-й день эксперимента у крыс под хлоралгидратной анестезией в пробирки с этилендиаминтетраацетатом натрия производили забор крови из брюшной части аорты. Далее цельную кровь центрифугировали (центрифуга Armed LC-04A, Россия, 1000 g в течение 10 мин), получали сыворотку, в которой оценивали изменение уровня цитокинов: ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-12. После забора крови у крыс выделяли сустав задней конечности, который рассекали и производили взятие синовиальных тканей. Синовиальные ткани гомогенизировали в фосфатно-солевом буфере с pH=7,4. Гомогенат центрифугировали в режиме 10 000 g, 20 мин. и в полученном супернатанте оценивали изменение концентрации ММП2, ММП9 и миелопероксидазы (МПО).

Оценка активности МПО

Активность МПО оценивали спектрофотометрически при 450 нм с применением микропланшетного ридера Infinite F50 (Tecan, Австрия). Ход анализа: к 10 мкл анализируемого образца добавляли 80 мкл раствора пероксида водорода (0,75 мМ), 40 мкл 2,9 мМ раствора тетраметилбензидина, 10 мкл 14,5% раствора диметилсульфоксида, 60 мкл фосфатного буферного раствора с pH=7,4. Пробы инкубировали при 37°C в течении 15 мин, затем добавляли 50 мкл раствора серной кислоты (2мМ). Активность МПО оценивали по стандартной кривой зависимости «оптическая плотность–активность фермента» и выражали в МЕ×10^{-3}/мл [17].

[1] Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях / пер. с англ. / под ред. М.С. Красильщиковой, И.В. Белозерцевой. – Санкт-Петербург, 2012. – 48 с.

Определение уровня цитокинов в крови и ММП в синовиальных тканях

Содержание цитокинов в сыворотке крови и ММП в синовиальных тканях определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием видоспецифичных наборов реактивов. Наборы для анализа были предоставлены Cloud Clone Corp. (США). Ход анализа соответствовал рекомендациям производителя. Аналитический сигнал считывали с применением микропланшетного ридера Infinite F50 (Tecan, Австрия).

Статистический анализ

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики с применением возможностей программного комплекса «StatPlus 7.0» (AnalystSoft Inc., США, лицензия 16887385). Полученные данные были проверены на нормальность распределения согласно критерию Шапиро–Уилка. Для сравнения групп средних применяли параметрические методы ANOVA с пост-тестом Ньюмена-Кейлса и непараметрические методы статического анализа – тест Крускалла–Уоллиса. Отличия считались статистически значимыми при p <0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние анализируемых соединений и референта на изменение клинической выраженности РА у крыс

В ходе исследования было показано, что у НК группы крыс отмечено прогрессирующее ухудшение течения РА, что отражалось в повышении показателей балльной шкалы оценки выраженности РА (Рис. 1) в сравнении с ИЖ на 7-й день исследования в 13,0 раз (p <0,05); на 14-й день – в 12,0 раза (p <0,05); на 21-й день – в 21,3 раза (p <0,05) и на 28 день – в 14,3 раза (p <0,05). На фоне применения дексаметазона, начиная с 14-го дня эксперимента, наблюдалось уменьшение выраженности клинических симптомов РА у животных, при этом суммарный балл шкалы, используемой в данной работе, был меньше, чем у НК группы на 14-й, 21-й и 28-й день исследования на 33,3, 46,9, и 36,4% соответственно (для всех показателей p <0,05). Аналогичная тенденция отмечена и при введении крысам анализируемых соединений. Так у животных, получавших соединение Х3А7, клиническая выраженность РА снизилась по отношению к НК группы крыс на 14-й день – на 25,0% (p <0,05); на 21-й день – 34,4% (p <0,05) и на 28-й день – на 33,3% (p <0,05). При применении соединения Х3А9 на 14-й, 21-й и 28-й день эксперимента сумма баллов шкалы оценки клинических симптомов РА была ниже, чем у НК группы на 27,1 (p <0,05), 35,3 (p <0,05) и 32,1% (p <0,05) соответственно. Стоит отметить, что достоверных отличий между группами животных, которым вводили дексаметазон и исследуемые соединения, установлено не было.

Влияние анализируемых соединений и референта на изменение концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс с РА

Анализ изменения концентрации цитокинов в крови у крыс с РА (табл. 1) позволил установить, что у НК группы животных содержание ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-12 увеличилось относительно ИЖ в 2,3 (p <0,05), 3,1 (p <0,05), 3,0 (p <0,05) и 2,6 (p <0,05) раза соответственно, тогда как уровень ИЛ-10, напротив, снизился на 35,4% (p <0,05). При применении дексаметазона наблюдалось уменьшение концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови крыс: ФНО-α – на 57,8% (p <0,05), ИЛ-1 – 64,1% (p <0,05), ИЛ-6 – 59,1% (p <0,05) и ИЛ-12 – 72,3% (p <0,05), при повышении уровня ИЛ-10 – на 75,4% (p <0,05). У крыс, получавших соединения Х3А7 и Х3А9, по отношению к НК группе животных отмечено снижение содержания ФНО-α – на 20,8 (p <0,05) и 19,6% (p <0,05); ИЛ-1 на 45,2 (p <0,05) и 38,4% (p <0,05); ИЛ-6 – на 28,3 (p <0,05) и 22,0% (p <0,05); ИЛ-12 – на 27,9 (p <0,05) и 31,3% (p <0,05) соответственно. В тоже время, на фоне введения веществ Х3А7 и Х3А9 концентрация ИЛ-10 увеличилась в сравнении с нелеченными крысами на 51,5 (p <0,05) и 56,2% (p <0,05) соответственно.

Влияние анализируемых соединений и референта на изменение концентрации матриксных металлопротеиназ в синовиальных тканях крыс с РА

В ходе данного исследовательского блока было установлено, что у НК группы крыс в синовиальных тканях концентрация ММП2 и ММП9 (Рис. 2) превосходила аналогичные показатели ИЖ группы крыс в 6,8 (p <0,05) и 6,9 (p <0,05) раза соответственно. На фоне применения дексаметазона наблюдалось уменьшение (относительно НК группы крыс) концентрации ММП2 на 24,0% (p <0,05) и ММП9 – на 13,5% (p <0,05). В тоже время у животных, которым вводили соединение Х3А7, содержание ММП2 и ММП9 было ниже аналогичного у НК группы крыс на 38,5 (p <0,05) и 37,9% (p <0,05) соответственно, тогда как при введении вещества Х3А9 снижение составило 34,4 (p <0,05) и 35,6% (p <0,05) соответственно. Стоит отметить, что концентрация ММП9 у крыс, получавших Х3А7 и Х3А9, была на 28,3 (p <0,05) и 25,5% (p <0,05) ниже, чем у группы животных, которым вводили дексаметазон (Рис. 2).

Влияние анализируемых соединений и референта на изменение концентрации миелопероксидаз в синовиальных тканях крыс с РА

В ходе исследования было показано, что концентрация МПО (Рис. 3) у НК группы крыс превосходила таковую у ИЖ в 6,0 раз (p <0,05), тогда как при применении дексаметазона, соединения Х3А7 и Х3А9, активность МПО уменьшилась относительно НК группы животных на 41,7 (p <0,05), 61,7 (p <0,05) и 65,0% (p <0,05) соответственно.

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-422-431

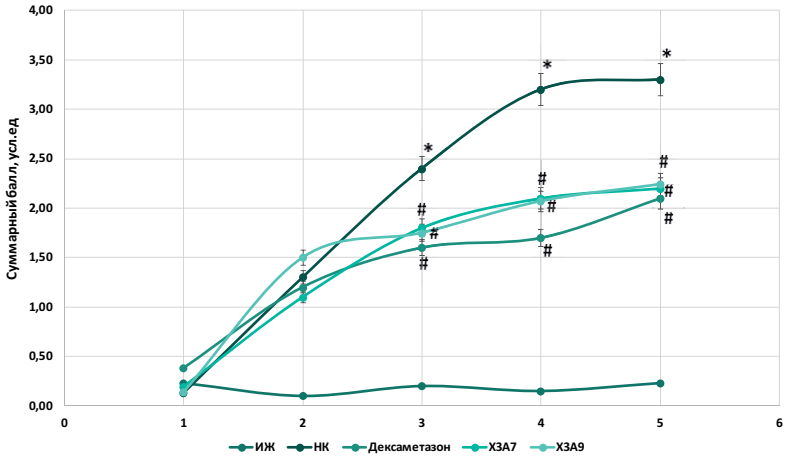


Рисунок 1 – Влияние анализируемых соединений и референта на изменение клинической выраженности РА у крыс

Примечание: ИЖ – интактные животные; НК – негативный контроль; * – достоверно относительно ИЖ (критерий Ньюмена–Кейлса, p <0,05); # – достоверно относительно НК (критерий Ньюмена–Кейлса, p <0,05).

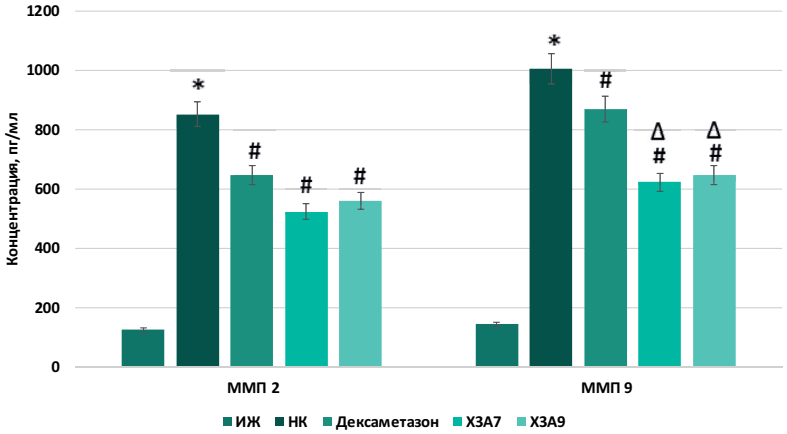


Рисунок 2 – Влияние анализируемых соединений и референта на изменение концентрации матриксных металлопротеиназ в синовиальных тканях крыс с РА

Примечание: ИЖ – интактные животные; НК – негативный контроль; ММП2, ММП9 – матрикная металлопротеиназа 2 и 9; * – достоверно относительно группы интактных животных (критерий Ньюмена-Кейлса, p <0,05); # – достоверно относительно группы негативного контроля (критерий Ньюмена–Кейлса, p <0,05); Δ – достоверно относительно группы животных, получавших дексаметазон (критерий Ньюмена–Кейлса, p <0,05).

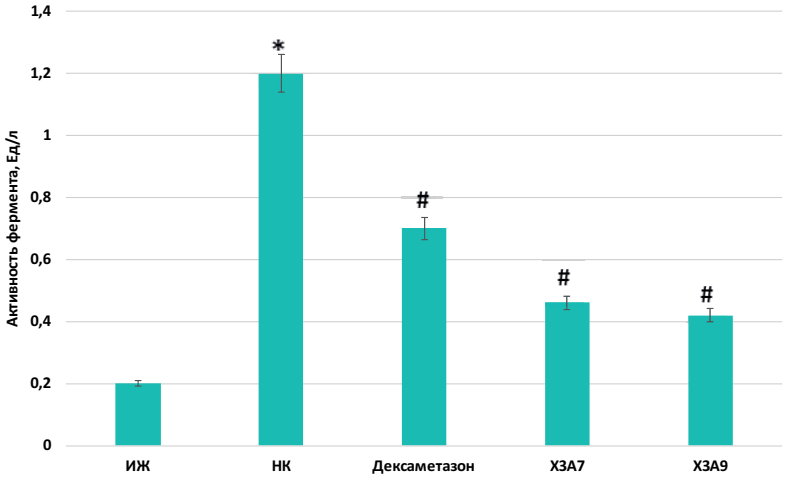


Рисунок 3 – Влияние анализируемых соединений и референта на изменение концентрации МПО в синовиальных тканях крыс с РА

Примечание: ИЖ – интактные животные; НК – негативный контроль ; * – достоверно относительно ИЖ (критерий Ньюмена–Кейлса, p <0,05); # – достоверно относительно НК (критерий Ньюмена–Кейлса, p <0,05).

Таблица 1 – Влияние анализируемых соединений и дексаметазона на изменение концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс с РА

Группа	ФНО-α, нг/мл	ИЛ-1, нг/мл	ИЛ-6, нг/мл	ИЛ-12, нг/мл	ИЛ-10, нг/мл
ИЖ	2,47±0,29	2,4±0,31	2,47±0,24	3,38±0,25	3,67±0,34
НК	5,62±0,18*	7,3±0,53*	7,5±0,6*	8,83±0,69*	1,3±0,14*
Дексаметазон	2,37±1,15#	2,62±0,45#	3,07±0,76#	2,45±0,67#	2,28±0,15#
Х3А7	4,45±0,36#	4±0,49#	5,38±0,53#	6,37±0,56#	1,97±0,19#
Х3А9	4,52±0,32#	4,5±0,62#	5,85±0,60#	6,07±0,72#	2,03±0,15#

Примечание: ИЖ – интактные животные; НК – негативный контроль; ФНО-α – фактор некроза опухоли альфа; ИЛ – интерлейкин; * – достоверно относительно ИЖ (критерий Ньюмена–Кейлса, p <0,05); # – достоверно относительно НК (критерий Ньюмена–Кейлса, p <0,05).

ОБСУЖДЕНИЕ

Лечение аутоиммунных заболеваний, таких как РА, представляет собой сложную клиническую задачу, поскольку в ряде случаев необходимо учитывать полиэтиологический характер заболевания и его комплексный патогенез. Несмотря на наличие достаточно обширного спектра лекарственных препаратов для терапии РА поиск новых средств ведется постоянно [18].

Во многом это связано с высоким риском осложнений, возникающих в воде лечения РА и низкой эффективностью препаратов. Например, по данным Wang S.S. и соавт. частота терапевтических неудач, как в случае применения классических противоревматических средств, так и современных таргетных препаратов, остается достаточно высокой [19].

В последнее время все большее внимание сосредоточено на разработке перорально активных низкомолекулярных соединений, которые сопоставимы по эффективности с биологическими препаратами. В силу своей низкой молекулярной массы они легко проникают в клетку, связываются с внутриклеточными сигнальными молекулами и ингибируют ключевые молекулы-мишени, ответственные за развитие РА. Примером таких лекарственных препаратов, внедренных в клиническую практику, являются ингибиторы янус-киназ: тофацитиниб, пефицитиниб и упадацитиниб [20]. В тоже время препараты на основе малых молекул могут воздействовать на иные биомишени, которые опосредуют формирование патогенеза РА, например ММП [21].

ММП представляют собой семейство кальций-зависимых эндопептидаз. Активный центр ферментов представлен цинк-связывающим доменом. В настоящее время идентифицировано более 20 различных ММП, классифицированных в зависимости от конкретных субстратов: коллагеназы, стромелизины, желатиназы, матрилизины, ММП мембранного типа и др. Помимо ферментативной активности ММП способствуют высвобождению факторы роста, цитокинов и хемокинов, инактивируют ингибиторы протеиназ. В организме человека ММП синтезируются в виде проферментов в лейкоцитах, макрофагах, эндотелиальных клетках, хондроцитах и синовиоцитах [22].

ММП играют одну из ключевых ролей в патогенезе РА. ФПС, имеющие опухолеподобный вид, секретируют различные протеазы, в том числе ММП, которые разрушают компоненты внеклеточного матрикса, главным образом протеогликаны и коллаген суставного хряща. В хрящевой ткани при РА повышается активность ММП13, ММП6, ММП9 и ММП13. ММП3. Также ММП1 и ММП2 способны активировать резорбцию хряща, путем коллагенолиза и деградации синовиальных протеогликанов [23]. В тоже время как потенциальные противоревматические таргеты выделяют ММП2 и ММП9, что отражено в работе Li N. и соавт. [24].

Проведенное исследование показало, что применение анализируемых производных хромона способствует снижению концентрации ММП2 и ММП9 в синовиальных тканях у крыс. Данный факт может быть связан как с прямым фермент-блокирующим действием, так и опосредованным уменьшением активности за счет наличия антицитокиновой активности. При этом, непосредственная блокада МПП производными хромона, вероятно, связана с особенностями структуры веществ. Например, ММП-блокирующие свойства были установлены для нарингенина, который имеет схожий с исследуемыми соединениями скаффолд [25]. Аналогичная активность была исследована Lim H. и соавт. для апигенина и вогонина. В данном исследовании было показано, что апигенин и вогонин уменьшали активность ММП, блокируя c-Fos / активатор белка-1 (AP-1) и янус-киназу 2 [26]. Необходимо подчеркнуть, что влияние анализируемых веществ на активность ММП9 статистически достоверно превосходило эффект дексаметазона. Данный факт особенно важен в контексте антирезорбтивного действия производных хромона, поскольку именно ММП9 носит отчетливо патологический характер при РА. Так Itoh T. и соавт. продемонстрировали, что у нокаутных по ММП9 мышей, симптомы РА могут спонтанно уменьшаться, тогда как при полном дефиците ММП2 симптоматика может только усиливаться, свидетельствуя о более высокой патогенетической значимости МПП9 [27].

Также стоит отметить и антицитокиновые эффекты анализируемых производных хромона. Так в проведенном исследовании было показано, что применение соединение Х3А7 и Х3А9

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-422-431

способствовало уменьшению концентрации провоспалительных (ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-12) и повышению содержания противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10), что предполагает наличие у данных веществ противовоспалительной и вероятной иммуносупрессивной активности. В контексте данного исследования детальный механизм реализации данных эффектов остается открытым, но учитывая влияние производных хромона на МПО можно предполагать, что снижение уровня провоспалительных цитокинов происходит за счет блокады данного фермента. Известно, что МПО — гемсодержащая пероксидаза, экспрессируемая преимущественно в нейтрофилах и в меньшей степени в моноцитах. В присутствии перекиси водорода и галогенидов МПО катализирует образование АФК, в том числе хлорноватистой кислоты (HOCl), играя ведущую роль в иммунном ответе, опосредованном нейтрофилами. Кроме того, в условиях РА повышенная активность МПО способствует гиперпродукции цитокинов, выступая в качестве эндогенного провоспалительного медиатора, уменьшение активности которого может препятствовать воспалительному повреждению суставов [28]. В тоже время нельзя отрицать наличие других потенциальных механизмов антицитокинового действия изучаемых ацилзамещенных производных хромона. Анализ противовоспалительной и иммуносупрессивной активности родственных изучаемым соединениям структур позволил установить, что снижение продукции цитокинов может быть связано с влиянием на ряд внутриклеточных сигнальных механизмов, включая Nf-κb, янус-киназы, индуцибельную синтазу оксида азота и p38-МАРК [29]. Например, Liu H. и соавт. было показано, что дифенольное производное хромона подавляет реакции воспаления в культуре клеток RAW264.7 за счет блокады *toll*-подобных рецепторов и снижения внутриклеточного провоспалительного ответа, опосредованного Nf-κb и p38-МАРК [30]. Аналогичные результаты были получены Xing T. и соавт., продемонстрировавших, что амидзамещенные производные хромона снижают интенсивность липополисахарид-индуцированного воспаления в сопоставимой степени с ибупрофеном [31]. Однако стоит отметить, что влияние исследуемых в данной работе производных хромона на внутриклеточные сигнальные провоспалительные пути требует отдельного изучения.

Ограничения исследования

В исследовании не представлены данные о механизмах противовоспалительного действия производных 3-формилхромона. В дальнейшем необходимо сравнить эффективность анализируемых производных хромона с противоревматическими препаратами биологического происхождения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение анализируемых производных хромона в условиях экспериментального РА сопровождается комплексным влиянием на синовиальные ткани крыс, что выражается в снижении интенсивности реакций воспаления и концентрации ферментов резорбции хрящевого матрикса– ММП2 и ММП9, что свидетельствует о наличии антирезорбтивного действия. Полученные результаты предполагают актуальность дальнейшего изучений ацилзамещенных производных хромона в качестве средств комплексной патогенетической терапии РА с преобладающим антирезорбтивным эффектом.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный и равнозначный вклад в подготовку публикации. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Д.И. Поздняков – разработка концепции исследования, проведение эксперимента, подготовка рукописи; К.Н. Корянова – систематизация материала, подготовка рукописи; К.К. Арустамян – проведение эксперимента, подготовка рукописи; Ч.М. Маргушев – проведение эксперимента, подготовка рукописи; В.С. Баскаева – проведение эксперимента, анализ данных; В.М. Руковицина – разработка концепции исследования, статистический анализ данных; Х.Н. Насрулаева – статистический анализ данных, подготовка рукописи; Е.А. Олохова – статистический анализ данных, подготовка рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Cush J.J. Rheumatoid Arthritis: Early Diagnosis and Treatment // Rheum Dis Clin North Am. – 2022. – Vol. 48, No. 2. – P. 537–547. DOI: 10.1016/j.rdc.2022.02.010
2. Ngo S.T., Steyn F.J., McCombe P.A. Gender differences in autoimmune disease // Front Neuroendocrinol. – 2014. – Vol. 35, No. 3. – P. 347–369. DOI: 10.1016/j.yfrne.2014.04.004
3. Wen Y.P., Yu Z.G. Identifying shared genetic loci and common risk genes of rheumatoid arthritis associated with three autoimmune diseases based on large-scale cross-trait genome-wide association studies //

Front Immunol. – 2023. – Vol. 14. – Art. ID: 1160397. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1160397

4. Галушко Е.А., Насонов Е.Л. Распространенность ревматических заболеваний в России // Альманах клинической медицины. – 2018. – Т. 46, № 1. – С. 32–39. DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46- 1-32-39
5. Jang S., Kwon E.J., Lee J.J. Rheumatoid arthritis: pathogenic roles of diverse immune cells // Int J Mol Sci. – 2022. – Vol. 23, No. 2. – Art. ID: 905. DOI: 10.3390/ijms23020905.
6. Yoshitomi H. Regulation of immune responses and chronic inflammation by fibroblast-like synoviocytes // Front Immunol. – 2019. – Vol. 10. – Art. ID: 1395. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01395
7. Cush JJ. Rheumatoid Arthritis: Early Diagnosis and Treatment. Med Clin North Am. – 2021. – Vol. 105, No. 2. – P. 355–365. DOI: 10.1016/j.mcna.2020.10.006
8. Smolen J.S., Landewé R.B.M., Bijlsma J.W.J., Burmester G.R., Dougados M., Kerschbaumer A., McInnes I.B., Sepriano A., van Vollenhoven R.F., de Wit M., Aletaha D., Aringer M., Askling J., Balsa A., Boers M., den Broeder A.A., Buch M.H., Buttgereit F., Caporali R., Cardiel M.H., De Cock D., Codreanu C., Cutolo M., Edwards C.J., van Eijk-Hustings Y., Emery P., Finckh A., Gossec L., Gottenberg J.E., Hetland M.L., Huizinga T.W.J., Koloumas M., Li Z., Mariette X., Müller-Ladner U., Mysler E.F., da Silva J.A.P., Poór G., Pope J.E., Rubbert-Roth A., Ruyssen-Witrand A., Saag K.G., Strangfeld A., Takeuchi T., Voshaar M., Westhovens R., van der Heijde D. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update // Ann Rheum Dis. – 2020. – Vol. 79, No. 6. – P. 685–699. DOI: 10.1136/annrheumdis-2019-216655
9. Huang J., Fu X., Chen X., Li Z., Huang Y., Liang C. Promising therapeutic targets for treatment of rheumatoid arthritis // Front Immunol. – 2021. – Vol. 12. – Art. ID: 686155. DOI: 10.3389/fimmu.2021.686155
10. Pozdnyakov D.I., Zolotych D.S., Rukovitsyna V.M., Oganesyan E.T. Chromone derivatives suppress neuroinflammation and improve mitochondrial function in the sporadic form of Alzheimer's disease under experimental conditions // Iran J Basic Med Sci. – 2022. – Vol. 25, No.7. – P. 871–881. DOI: 10.22038/IJBMS.2022.65377.14387
11. Percie du Sert N., Hurst V., Ahluwalia A., Alam S., Avey M.T., Baker M., Browne W.J., Clark A., Cuthill I.C., Dirnagl U., Emerson M., Garner P., Holgate S.T., Howells D.W., Karp N.A., Lazic S.E., Lidster K., MacCallum C.J., Macleod M., Pearl E.J., Petersen O.H., Rawle F., Reynolds P., Rooney K., Sena E.S., Silberberg S.D., Steckler T., Würbel H. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research // PLoS Biol. – 2020. – Vol. 18, No. 7. – Art. ID: e3000410. DOI: 10.1371/journal.pbio.3000410
12. Jin H., Ma N., Li X., Kang M., Guo M., Song L. Application of GC/MS-based metabonomic profiling in studying the therapeutic effects of *Aconitum carmichaeli* with ampelopsis japonica extract on collagen-induced arthritis in rats // Molecules. – 2019. – Vol. 24, No. 10. – Art. ID: 1934. DOI: 10.3390/molecules24101934
13. Rukovitsina V., Oganesyan E., Pozdnyakov D. Synthesis and study of the effect of 3-substituted chromone derivatives on changes in the activity of mitochondrial complex III under experimental cerebral ischemia // J Res Pharm. – 2022. – Vol. 26, No. 2. – P. 408–420. DOI: 10.29228/jrp.138
14. Черников М.В., Поздняков Д.И., Руковицина В.М., Оганесян Э.Т. Антицитокиновые эффекты аналогов халкона при экспериментальном «цитокиновом шторме» у крыс // Медицинский академический журнал. – 2021. – Т. 21, № 1. – С. 31–38. DOI 10.17816/MAJ60081
15. Xiao J., Lin F., Pan L., Dai H., Jing R., Lin J., Liang F. [Dexamethasone on alleviating lung ischemia/reperfusion injury in rats by regulating PI3K/AKT pathway] // Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue. – 2020. – Vol. 32, No. 2. – P. 188–193. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20190723-00035. Chinese
16. Moases Ghaffary E., Abtahi Froushani S.M. Immunomodulatory benefits of mesenchymal stem cells treated with Caffeine in adjuvant-induced arthritis // Life Sci. – 2020. – Vol. 246. – Art. ID: 117420. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117420
17. Abtahi Froushani S.M., Mashhouri S. The effect of mesenchymal stem cells pulsed with 17 beta-estradiol in an ameliorating rat model of ulcerative colitis // Zahedan J Res Med Sci. – 2019. – Vol. 21, No. 4. – Art. ID: e83762. DOI: 10.5812/zjrms.83762
18. Blüml S. Biologika und "small molecules" bei der rheumatoiden Arthritis [Biologicals and small molecules for rheumatoid arthritis] // Z Rheumatol. – 2020. – Vol. 79, No. 3. – P. 223–231. DOI: 10.1007/s00393-020-00766-7
19. Wang S.S., Lewis M.J., Pitzalis C. DNA methylation signatures of response to conventional synthetic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) in rheumatoid arthritis // Biomedicines. – 2023. – Vol. 11, No. 7. – Art. ID: 1987. DOI: 10.3390/biomedicines11071987
20. Tanaka Y. Recent progress in treatments of rheumatoid arthritis: an overview of developments in biologics and small molecules, and remaining unmet needs // Rheumatology (Oxford). – 2021. – Vol. 60 (Suppl 6). – P. vi12–vi20. DOI: 10.1093/rheumatology/keab609
21. Stojanovic S.K., Stamenkovic B.N., Cvetkovic J.M., Zivkovic V.G., Apostolovic M.R.A. Matrix metalloproteinase-9 level in synovial fluid-association with joint destruction in early rheumatoid arthritis // Medicina (Kaunas). – 2023. – Vol. 59, No. 1. – Art. ID: 167. DOI: 10.3390/medicina59010167
22. de Almeida L.G.N., Thode H., Eslambolchi Y., Chopra S., Young D., Gill S., Devel L., Dufour A. Matrix metalloproteinases: from molecular mechanisms to physiology, pathophysiology, and pharmacology // Pharmacol Rev. – 2022. – Vol. 74, No. 3. – P. 712–768. DOI: 10.1124/pharmrev.121.000349
23. Malemud C.J. Matrix metalloproteinases and synovial joint pathology // Prog Mol Biol Transl Sci. – 2017. – Vol. 148. – P.305–325. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2017.03.003
24. Li N., Qiao Y., Xue L., Xu S., Zhang N. Targeted and MMP-2/9 responsive peptides for the treatment of rheumatoid arthritis // Int J Pharm. – 2019. – Vol. 569. – Art. ID: 118625. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.118625
25. Pulik Ł., Łęgosz P., Motyl G. Matrix metalloproteinases in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: a state of the art review // Reumatologia. – 2023. – Vol. 61, No. 3. – P. 191–201. DOI: 10.5114/reum/168503
26. Lim H., Park H., Kim H.P. Effects of flavonoids on matrix metalloproteinase-13 expression of interleukin-1β-treated

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-422-431

articular chondrocytes and their cellular mechanisms: inhibition of c-Fos/AP-1 and JAK/STAT signaling pathways // J Pharmacol Sci. – 2011. – Vol. 116, No. 2. – P. 221–231. DOI: 10.1254/jphs.11014fp

27. Itoh T., Matsuda H., Tanioka M., Kuwabara K., Itohara S., Suzuki R. The role of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in antibody-induced arthritis // J Immunol. – 2002. – Vol. 169, No. 5. – P. 643–647. DOI: 10.4049/jimmunol.169.5.2643
28. Aratani Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function // Arch Biochem Biophys. – 2018. – Vol. 640. – P. 47–52. DOI: 10.1016/j.abb.2018.01.004
29. Silva C.F., Pinto D.C., Silva A.M. Chromones: a promising ring system for new anti-inflammatory drugs // Chem Med Chem. – 2016. – Vol. 11, No. 20. – P. 2252–2260. DOI: 10.1002/cmdc.201600359
30. Liu H., Xu R., Feng L., Guo W., Cao N., Qian C., Teng P., Wang L., Wu X., Sun Y., Li J., Shen Y., Xu Q. A novel chromone derivative with anti-inflammatory property via inhibition of ROS-dependent activation of TRAF6-ASK1-p38 pathway // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, No. 8. – Art. ID: e37168. DOI: 10.1371/journal.pone.0037168
31. Xing T., Yu S., Qin M., Zhang M., Ma Y., Xiao Z. Synthesis, anti-inflammatory activity, and conformational relationship studies of chromone derivatives incorporating amide groups // Bioorg Med Chem Lett. – 2023. – Vol. 96. – Art. ID: 129539. DOI: 10.1016/j.bmcl.2023.129539

АВТОРЫ

Поздняков Дмитрий Игоревич – кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологи с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5595-8182. E-mail pozdniackow.dmitry@yandex.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

Арустамян Каринэ Камоевна – студентка 5-го курса лечебного факультета ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0009-9892-0326. E-mail: karaaruskara@yandex.ru

Маргушев Черим Минщурович – студент 5-го курса лечебного факультета ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0007-5838-3154. E-mail: Funny.day.15@mail.ru

Баскаева Валерия Сергеевна – студентка 6-го курса лечебного факультета ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0003-8909-7389. E-mail: baskaevavaleria@yandex.ru

Руковицина Виктория Михайловна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры органической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4104-9217. E-mail: rucovitcinavika@mail.ru

Насрулаева Хаписат Насрулаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО ДМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6011-370X. E-mail lisst32@mail.ru

Олохова Елена Александровна – ассистент кафедры фармакологии и фармацевтического консультирования с курсом ПО, ФГБОУ ВО КМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6605-6814. E-mail: tabletka@yandex.ru

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 615.212.7

Check for updates

CC BY

Электрофизиологическое исследование каппа-опиоидного анальгетика РУ-1205 с применением методов машинного обучения

К.Ю. Калитин[1,2], О.Ю. Муха[1], А.А. Спасов[1,2]

[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] Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 400087, Россия, г. Волгоград, ул. Новороссийская, д. 39

E-mail: olay.myha14@gmail.com

Получена 14.09.2023 После рецензирования 12.12.2023 Принята к печати 27.12.2023

Исследование посвящено изучению нового каппа-опиоидного агониста РУ-1205, который проявляет анальгетическое действие, при этом не вызывает дисфорических или аверсивных эффектов. Предполагается, что это может быть обусловлено функциональной селективностью, либо наличием дополнительного механизма действия, который связан с блокированием p38 митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK).

Цель. Экспериментальное выявление механизмов действия соединения РУ-1205, связанных с ингибированием MAPK p38 и функциональной селективностью в отношении каппа-опиоидных рецепторов.

Материалы и методы. Крысам массой 260–280 г (n=62) имплантировали хронические корковые и глубокие электроды, выполняли регистрацию LFP-активности после интрацеребровентрикулярного введения веществ с хорошо изученными фармакологическими свойствами (селективный каппа-опиоидный агонист U-50488 100 мкг и блокатор MAPK p38 SB203580 1 мкг), а также изучаемого соединения РУ-1205 350 мкг. Рассчитывали взвешенный индекс фазовой задержки (WPLI), после чего применяли методы машинного обучения с целью снижения размерности и получения интегративных характеристик коннективности (метод главных компонент), затем выполняли классификацию сигналов (модели на основе гауссовских процессов). С помощью метода локальной фиксации потенциала в конфигурации “whole-cell” исследовали спайковую активность пирамидных нейронов базолатеральной миндалины. Нейроны идентифицировали по их свойствам аккомодации. После локальной перфузии исследуемых соединений были получены 3 кривые доза-эффект для: (1) U-50488 в концентрациях от 0,001 до 10 мкМ; (2) комбинации U-50488 (0,001–10 мкМ) и РУ-1205 (10 мкМ); и (3) комбинации U-50488 (0,01–10 мкМ) и РУ-1205 (100 мкМ).

Результаты. Разработанные модели позволили с высокой вероятностью классифицировать соединение РУ-1205 как «неингибитор» MAPK p38. Полученные результаты находят подтверждение в экспериментах «Patch Clamp» на живых срезах мозга, где было продемонстрировано, что U-50488 статистически значимо увеличивает спайковую активность пирамидных нейронов базолатеральной миндалины (p <0,05), при этом РУ-1205 взаимодействует с U-50488, конкурентно подавляя его действие на спайковую активность нейронов.

Заключение. Таким образом, это позволяет предполагать, что соединение РУ-1205 проявляет функциональную каппа-агонистическую активность и не оказывает значимого влияния на MAPK p38. Исследование демонстрирует возможность интеграции электрофизиологических измерений и передовых методов анализа данных для глубокого понимания нейрональных механизмов фармакологического действия, а также подчеркивает перспективность дальнейших исследований в данном направлении.

Ключевые слова: каппа-опиоидные анальгетики; электрофизиология; коннективность мозга; патч-зажим; методы машинного обучения; p38 MAPK

Список сокращений: ГЭБ – гематоэнцефалический барьер; ЦНС – центральная нервная система; ACSF – искусственная спинномозговая жидкость; BLA – базолатеральная миндалина; LFP – локальный полевой потенциал; p38 MAPK – p38 митоген-активируемая протеинкиназа; WPLI – взвешенный индекс фазовой задержки.

Для цитирования: К.Ю. Калитин, О.Ю. Муха, А.А. Спасов. Электрофизиологическое исследование каппа-опиоидного анальгетика РУ-1205 с применением методов машинного обучения. *Фармация и фармакология.* 2023;11(5):432-442. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2023-11-5-432-442

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

For citation: K.Yu. Kalitin, O.Yu. Mukha, A.A. Spasov. Electrophysiological effects of kappa-opioid analgesic, RU-1205, using machine learning methods. *Pharmacy & Pharmacology.* 2023;11(5):432-442. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2023-11-5-432-442

Scientific and Practical Journal
PHARMACY & PHARMACOLOGY

RESEARCH ARTICLE

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-432-442

Electrophysiological effects of kappa-opioid analgesic, RU-1205, using machine learning methods

K.Yu. Kalitin[1,2], O.Yu. Mukha[1], A.A. Spasov[1,2]

[1] Volgograd State Medical University,
1, Pavshih Borcov Sq., Volgograd, Russia, 400131
[2] Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production of Volgograd State Medical University,
39, Novorossiyskaya Str., Volgograd, Russia, 400087

E-mail: olay.myha14@gmail.com

Received 14 Sep 2023 After peer review 12 Dec 2023 Accepted 27 Dec 2023

The study is focused to the investigation of a new kappa-opioid agonist RU-1205, which exhibits an analgesic effect without causing dysphoric or aversive actions. It is assumed that this effects may be due to its functional selectivity, or the presence of an additional mechanism of action that involves blocking p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK).

The aim of the study was an experimental identification of RU-1205 mechanisms of action associated with the inhibition of MAPK p38 and functional selectivity for kappa opioid receptors.

Materials and methods. The LFP activity was recorded in the male rats weighing 260–280 g (*n*=62) and implanted with chronic cortical and deep electrodes, after the intracerebroventricular administration of the well-studied reference substances: the selective kappa-opioid agonist U-50488 100 μg; the MAPK p38 blocker SB203580 1 μg; and the investigational compound RU-1205 at 350 μg. The weighted phase lag index (WPLI) was calculated. Subsequently, machine learning methods were employed to reduce the dimensionality and extract connectivity features using the principal component analysis method, then a signal classification was performed (models based on Gaussian processes). Using the local patch-clamp technique in the "whole-cell" configuration, the spike activity of pyramidal neurons in the basolateral amygdala was studied. Neurons were identified by their accommodation properties. After local perfusion of the test compounds, 3 dose-response curves were obtained for: (1) U-50488 at concentrations ranging from 0.001 to 10 μM; (2) combinations of U-50488 (0.001–10 μM) and RU-1205 (10 μM); and (3) the combinations of U-50488 (0.01–10 μM) and RU-1205 (100 μM).

Results. The developed models made it possible to classify the compound RU-1205 as a "non-inhibitor" of MAPK p38 with a high probability. The results obtained were confirmed in patch-clamp experiments on acute brain slices where it was demonstrated that U-50488 statistically significantly increases the spike activity of pyramidal neurons of the basolateral amygdala (p <0.05), and RU-1205 interacts with U-50488, competitively suppressing its effect on the spike activity of neurons.

Conclusion. The findings suggest that compound RU-1205 displays properties consistent with a functional kappa agonist activity and does not have a significant effect on MAPK p38. The study demonstrates the possibility of integrating electrophysiological measurements and advanced data analysis methods for a deep understanding of drug action and underscores the potential for further research in this area.

Keywords: kappa-opioid analgesics; electrophysiology; brain connectivity; patch-clamp; machine learning methods; p38 MAPK

Abbreviations: BBB – blood-brain barrier; CNS – central nervous system; ACSF – artificial cerebrospinal fluid; BLA – basolateral amygdala; LFP – local field potential; p38 MAPK – p38 mitogen-activated protein kinase; WPLI – weighted phase lag index.

ВВЕДЕНИЕ

Среди наиболее распространенных медицинских проблем болевой синдром занимает ведущее место [1]. Независимо от локализации боли, а также ее характера (острый или хронический), наиболее доступным методом борьбы с ней остается применение анальгетиков [2].

Большая часть наркотических анальгетиков, используемых в клинической практике, действует на мю-опиоидный тип рецепторов, однако применение этих препаратов связано с серьезными побочными эффектами, такими как развитие зависимости, тошнота, угнетение дыхания, констипация и др. [3] При этом было установлено, что агонисты каппа-опиоидных рецепторов оказывают обезболивающее действие, не вызывая побочных реакций со стороны дыхания и желудочно-кишечного тракта, а также имеют низкий наркогенный потенциал [4]. Тем не менее, их применение ограничено, поскольку они могут повлечь за собой аверсивные эффекты, включая депрессию, дисфорию и галлюцинации [5].

Каппа-опиоидные рецепторы локализованы в центральной и периферической нервной системе. Они участвуют в регуляции боли, настроения, поведения, двигательной активности, выполняют нейропротекторные и нейроэндокринные функции [5, 6]. Активные конформации рецептора обеспечивают рекрутинг эффекторных молекул, основными из которых являются G-белки и бета-аррестины. Предполагается, что анальгетическое действие каппа-агонистов связано с активацией G-белков и последующим ингибированием

аденилатциклазы, усилением калиевой и ослаблением кальциевой проводимости [7]. Активация бета-аррестинового пути ведет к подавлению G-белкового сигналинга, десенсибилизации и интернализации каппа-опиоидного рецептора, что является одной из причин развития толерантности. Кроме того, бета-аррестины могут инициировать протеинкиназу p38, которая является важным компонентом механизма развития аверсивных побочных эффектов [8].

В настоящее время актуальной задачей является поиск более безопасных агонистов каппа-опиоидных рецепторов с анальгетической активностью [9]. Среди решений этой задачи можно выделить следующие направления: 1) создание препаратов, которые обладают только периферическим действием, то есть не проникают через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и не действуют на центральную нервную систему (ЦНС); 2) поиск функционально селективных веществ, активирующих определенный сигнальный путь (например, G-белки, не задействуя бета-аррестины) [10]. Предполагается, что особенности конформации рецептора при связывании с агонистом определяют функциональную селективность.

Настоящая работа посвящена изучению активности нового каппа-опиоидного агониста РУ-1205. В отличие от классических представителей данного класса, соединение РУ-1205 проявляет выраженное анальгетическое, противосудорожное [11, 12] и нейропротекторное [13] действие, при этом не вызывает дисфорических или аверсивных эффектов. Это свойство может быть обусловлено функциональной селективностью, либо наличием дополнительного механизма действия, который связан с блокированием митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK) p38, поскольку ранее было показано, что ингибитор p38 SB203580 может полностью устранять аверсивное действие каппа-опиоидных агонистов [14].

Поскольку аверсивные эффекты могут проявляться как на клеточном, так и на системном уровне нейрональной организации, нами использованы метод локальной фиксации потенциала и регистрация локальных полевых потенциалов (LFP) с последующим расчетом взвешенного индекса фазовой задержки (WPLI) и применением машинного обучения (ML), в качестве инструмента для определения отличий и сходств лигандов с хорошо изученными фармакологическими свойствами, таких как U-50488, а также ингибитор MAPK p38 SB203580.

ЦЕЛЬ. Выявление механизмов действия РУ-1205, связанных с ингибированием MAPK p38 и функциональной селективностью.

Результаты данного исследования позволят расширить понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе анальгетических и побочных эффектов при применении каппа-опиоидных агонистов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Исследование включало в себя два основных этапа. На первом этапе регистрировали локальный полевой потенциал (LFP) после введения исследуемых веществ, затем рассчитывали взвешенный индекс фазовой задержки и анализировали данные с помощью методов ML.

На втором этапе методом локальной фиксации потенциала изучалось взаимодействие соединения РУ-1205 с U-50488 на клеточном уровне с целью уточнения механизма действия вещества РУ-1205 и дополнительной валидации результатов классификации LFP.

Исследуемые соединения

В качестве исследуемых объектов использовали соединение 9-(2-морфолиноэтил)-2-(4-фторфенил) имидазо[1,2-a]бензимидазол – РУ-1205 (синтезировано в НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, Россия); соединение U-50488 (Sigma Aldrich, США); соединение SB203580 (Sigma Aldrich, США).

Продолжительность исследования и условия проведения

Исследование проводилось в период с мая по сентябрь 2023 года. Все экспериментальные процедуры выполнялись в условиях лаборатории электрофизиологических исследований Научного центра инновационных лекарственных средств Волгоградского государственного медицинского университета (НЦИЛС ВолгГМУ).

Этическая экспертиза

Эксперименты на животных проводились в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, принципам надлежащей лабораторной практики (GLP) (ГОСТ 33044-2014, 2021), а также руководящих принципов ARRIVE (Animal Research: Reporting of *in vivo* Experiments). Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (Регистрационный номер IRB00005839 IORG0004900, справка № 2022/096 от 21.01.2022).

Животные

Для проведения эксперимента использовали белых крыс-самцов весом 260–280 г (n=62). Животных содержали в стандартных условиях вивария при 12-часовом режиме, диапазон температур составлял 22±2°C, со свободным доступом к пище и воде. Животные были воспроизведены в виварном блоке НЦИЛС ВолгГМУ.

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-432-442

Оперативные вмешательства

Имплантация электродов из нержавеющей стали (⌀ 0,1 мм) проводилась в условиях изофлуранового наркоза (Laboratories Karizoo, S.A., Испания) с использованием системы ингаляционной анестезии для грызунов (Ugo Basile Veterinary anesthesia workstation 21100, Италия). После выполнения трепанационных отверстий электроды размещали в соответствии со стереотаксическими координатами относительно брегмы.

Корковые электроды: F – переднезадняя ось (AP)=0,00; медиолатеральная ось (ML)=2,00; P – AP=-4,08, ML=2,00; O – AP=-7,08, ML=2,00.

Глубокие электроды: прелимбическая кора (PrL) – AP=+2,7 мм, ML=0,8 мм; дорсовентральная (DV)=3,8 мм; базолатеральная миндалина (BLA) – AP=-2,8 мм, ML=5–5,3 мм, DV=8,8 мм; гиппокамп (Hipp) – AP=-4,9 мм, ML=4,8 мм, DV=6,0 мм; вентральная область покрышки (VTA) – AP=-5,2 мм, ML=1,0 мм, DV=8,6 мм; прилежащее ядро (NAc) – AP=+1,8 мм, ML=1,6 мм, DV=7,3 мм.

Имплантация направляющей канюли из нержавеющей стали 21 калибра для интрацеребровентрикулярных инъекций исследуемых соединений проводилась в левый боковой желудочек головного мозга по стереотаксическим координатам относительно брегмы: AP=-0,6 мм, ML=1,6 мм, DV=4,0 мм. Интрацеребровентрикулярный путь введения был выбран с целью повышения биодоступности веществ, а также исключения развития эффектов за пределами ЦНС, которые могут опосредовать вторичное воздействие на функции головного мозга и искажать результаты эксперимента. Электроды и канюля фиксировались на черепе самотвердеющей пластмассой (Протакрил-М, Украина) и двумя винтами из нержавеющей стали. После операции животные содержались в индивидуальных клетках. На протяжении двух дней животным проводилась антибиотикопрофилактика ципрофлоксацином 50 мг/кг в/б. Послеоперационный период составлял 5–7 дней.

Регистрация LFP сигнала и введение изучаемых веществ

После адаптации животным (n=30) вводили ACSF 5 мкл (контрольная выборка), при регистрации опытных выборок сигналов животные получали: соединение РУ-1205 350 мкг, соединение U-50488 100 мкг, соединение SB203580 1 мкг, комбинацию SB203580+U-50488 (100 мкг+1 мкг) интрацеребровентрикулярно. Между введениями веществ соблюдались интервалы в 7 дней для достижения полного выведения из организма (не менее 97% на основании периода полувыведения). Дозы для соединений U-50488 [15] и SB203580 [16] подобраны на основании литературных данных. Соединение РУ-1205 вводилось в дозе эквивалентной $ЭД_{80}$ в моделях боли. Через 30 минут после введения соединений проводилась запись LFP в течение 10 минут. LFP регистрировали в монополярном монтаже с общим усредненным референтом при помощи лабораторного электроэнцефалографа NVX-36 (МКС, Россия). Сигналы оцифровывались с частотой дискретизации 500 Гц.

WPLI анализ сигнала

Чтобы оценить функциональную связанность между парами электродов использовали взвешенный индекс фазовой задержки (Рис. 1). Расчет WPLI между парами электродов проводили с использованием пакета программного обеспечения MNE Python v.1.6.1[1] (BSD-3-Clause license) для следующих частотных диапазонов: дельта 0,5–4 Гц, тета 4–8 Гц, альфа 8–12 Гц, бета 12–30 Гц и гамма 30–50 Гц. Полученные данные анализировали методом главных компонент с помощью программы Graphpad Prism 10.1 с academic license (Dotmatics, США).

Построение ML-модели классификатора

При построении моделей на основе алгоритмов ML использовали открытую библиотеку Python scikit-learn v.1.3.2[2] (New BSD License). Реализовали метод классификации на основе гауссовских процессов, были построены две модели: GPC-BO-v.02.10-5.2308 (Gaussian Process Classifier с параметрами 10.0 * RBF(5.0), optimizer=None) и GPC-BO-v.02.10-10.2308 (Gaussian Process Classifier с параметрами 10.0 * RBF(10.0), optimizer=None). После обучения моделей строили матрицы несоответствий и проводили 5-кратную кросс-валидацию.

Локальная фиксация потенциала клетки в конфигурации «целая клетка»

Корональные срезы мозга толщиной 500 мкм, были выполнены на уровне базолатерального комплекса 2,5–3,5 мм каудальнее брегмы с использованием вибратома (Campden 7000smz-2, Великобритания). Каждый срез помещали в регистрационную камеру, заполненную искусственной спинномозговой жидкостью (ACSF) (117 мМ натрия хлорида, 4,7 мМ калия хлорида, 1,2 мМ натрия дигидрофосфата, 2,5 мМ кальция хлорида, 1,2 мМ магния хлорида, 25 мМ натрия гидроарбоната и 11 мМ глюкозы, аэрированный смесью 95% кислорода и 5% углекислого газа при pH=7,4) при температуре 31±1°C со скоростью потока 2 мл/мин.

[1] Zenodo. MNE-Python (v1.6.1). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://zenodo.org/records/10519948
[2] Scikit-learn. Machine Learning in Python. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://scikit-learn.org/stable/index.html

Регистрация спайковой активности нейронов базолатерального миндалевидного тела (BLA) проводилась с использованием водно-иммерсионного объектива ×40 микроскопа (Olympus BX51, Япония) стандартным методом фиксации потенциала на целой клетке («Patch Clamp» в конфигурации «whole-cell»). Пирамидные клетки в области BLA были идентифицированы по свойствам аккомодации к устойчивой деполяризующей интрацеллюлярной инъекции (200 пА, 500 мс). Микропипетки (сопротивление наконечника 3–5 МОм), изготовленные из боросиликатного стекла, заполняли внутриклеточным раствором, содержащим: 122 мМ К-глюконата, 5 Мм натрия хлорида, 0,3 мМ кальция хлорида, 2 мМ магния хлорида, 1 мМ этиленгликоль-тетрауксусной кислоты (EGTA), 10 мМ 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты (HEPES), 5 мМ динатриевой соли аденозин-5-трифосфата (Na_2-ATP) и 0,4 мМ натриевой соли гуанозин-5-трифосфата (Na_2-GTP), pH регулировали в пределах 7,2–7,3 с использованием гидроксида калия (осмолярность регулировалась до 280 мОсм/кг с использованием сахарозы). Сбор данных и анализ сигналов осуществляли с помощью усилителя HEKA Patch Clamp EPC10 USB (HEKA Electronik, США), ПК Asus microXperts (ASUS, Тайвань), ПО PatchMaster (HEKA Electronik, США).

Были получены три кривые дозозависимости с оценкой воздействия агониста каппа-опиоидных рецепторов U-50488 на активность пирамидных нейронов в присутствии соединения РУ-1205 и без. Было выделено три группы: (1) локальная перфузия соединения U-50488 в концентрациях от 0,001 до 10 мкМ (n=8); (2) комбинация U-50488 (0,001–10 мкМ) и РУ-1205 (10 мкМ) (n=8); (3) комбинация U-50488 (0,01–10 мкМ) и РУ-1205 (100 мкМ) (n=8). Регистрировали только один нейрон в каждом срезе после аппликации возрастающих доз. ACSF использовался в качестве контроля во всех экспериментах.

Статистическая обработка

Выполнялся логистический регрессионный анализ с построением кривых «доза–эффект» и расчетом максимального эффекта (E_{max}), коэффициента детерминации (R^2) – статистического показателя качества моделей и углового коэффициента («slope»), отражающего величину, на которую изменяется расчетный целевой показатель в среднем при изменении регрессора. После верификации нормальности распределения по тесту Шапиро–Уилка проводили сравнение групп с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) для повторных измерений с последующим тестом Даннета с помощью программы GraphPad Prism 10.1. Полученные данные представлены в виде Me±SEM. Различия считались достоверными при уровне значимости p <0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рассчитаны значения WPLI для 64 электродных пар по 5 основным ритмам (140 параметров для каждого сигнала). С учетом наличия мультиколлинеарности между признаками, дальнейший анализ выполнялся методом главных компонент с целью сокращения числа переменных путем их объединения в интегративные характеристики коннективности на основании структуры взаимосвязей между ними. Выделено 2 первые наиболее значимые компоненты, которые объясняют 58,32% вариативности (собственные значения >1).

Ранее было установлено, что аверсивный эффект каппа-опиоидных агонистов тесно связан с миндалевидным телом [17]. Локальная микроинъекция SB203580 (ингибитора p38 MAPK) в миндалевидное тело приводила к устранению аверсивного действия соединения U-50488 (активатора p38 MAPK) [18]. Нами выявлено усиление связей миндалевидного тела с различными областями мозга после введения U-50488 (ΔWPLI >0,3 по сравнению с контролем). Подобных изменений коннективности миндалевидного тела не наблюдалось при сочетании SB203580 с U-50488, что подтверждает антагонистическое взаимодействие между этими препаратами. Учитывая, что параметры WPLI, связанные с миндалевидным телом, имели высокие коэффициенты нагрузки (>0,7) на 1 компоненту, можно предполагать сохранение признаков сигнала, связанных влиянием на p38 MAPK.

Следующим шагом для оценки вероятности принадлежности соединения РУ-1205 к классам «ингибитор» и «неингибитор» построены модели классификатора (Рис. 2). С целью повышения стабильности, прогностической надежности и робастности была выбрана модель с ядерной функцией на основе гауссовских процессов (Gaussian Process Classifier).

Согласно полученным прогнозным оценкам, соединение РУ-1205 не проявляет MAPK p38-ингибирующей активности в ЦНС с уровнем средней вероятности не ниже 89,44% по результатам прогноза наиболее робастной модели. Для подтверждения валидности полученных моделей представлена матрица несоответствий и результаты 5-кратной кросс-валидации (Рис. 3, 4).

Второй этап работы основан на исследовании, где было установлено, что блокирование каппа-опиоидных рецепторов в миндалине приводит к снижению спайковой активности пирамидных нейронов [19]. Аналогичный эффект наблюдался при блокировании CRF1 рецепторов, которые (так же как каппа-опиоидные рецепторы), реализуют свой эффект через бета-аррестиновый путь и активацию MAPK p38 [20]. Также было достоверно показано полное устранение аверсивного эффекта U-50488 при введении вещества SB203580 в миндалину [18].

Scientific and Practical Journal
PHARMACY & PHARMACOLOGY

RESEARCH ARTICLE

DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-432-442

Рисунок 1 – Схема последовательности математического анализа электрофизиологических данных
Примечание: после расчета взвешенного индекса фазовой задержки (WPLI), отражающего коннективность между отделами головного мозга, включая кору, гиппокамп, миндалину, вентральную область покрышки, прелимбическую кору и прилежащее ядро (8×8 электродов ×5 ритмов). Данные обрабатывали методом главных компонент и затем подавали на вход классификатора ("Gaussian Process Classifier", scikit-learn).

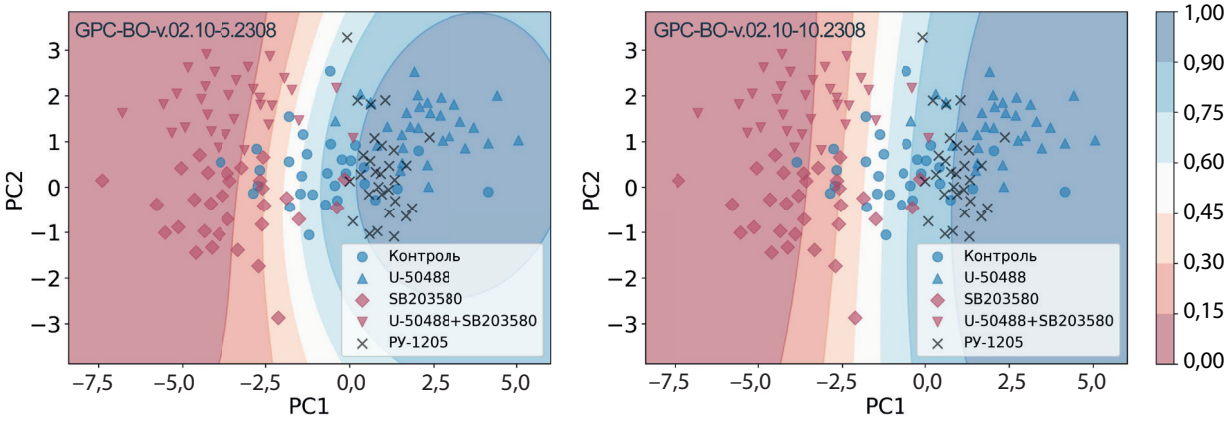


Рисунок 2 – Карты принятия решений, построенные на основе «Gaussian Process Classifier» (scikit-learn)
Примечание: красным цветом отмечены «ингибиторы» MAPK p38 – группы «SB203580» и «SB203580+U-50488»; синим цветом отмечены «неингибиторы» MAPK p38 – группа «контроля», группа «U-50488». Получены прогнозные координаты для сигналов группы «РУ-1205». Средняя вероятность принадлежности сигналов после введения РУ-1205 к классу «неингибиторы»: 0,922584 и 0,894469 для моделей «GPC-BO-v.02.10-5.2308» (слева) и «GPC-BO-v.02.10-10.2308» (справа).

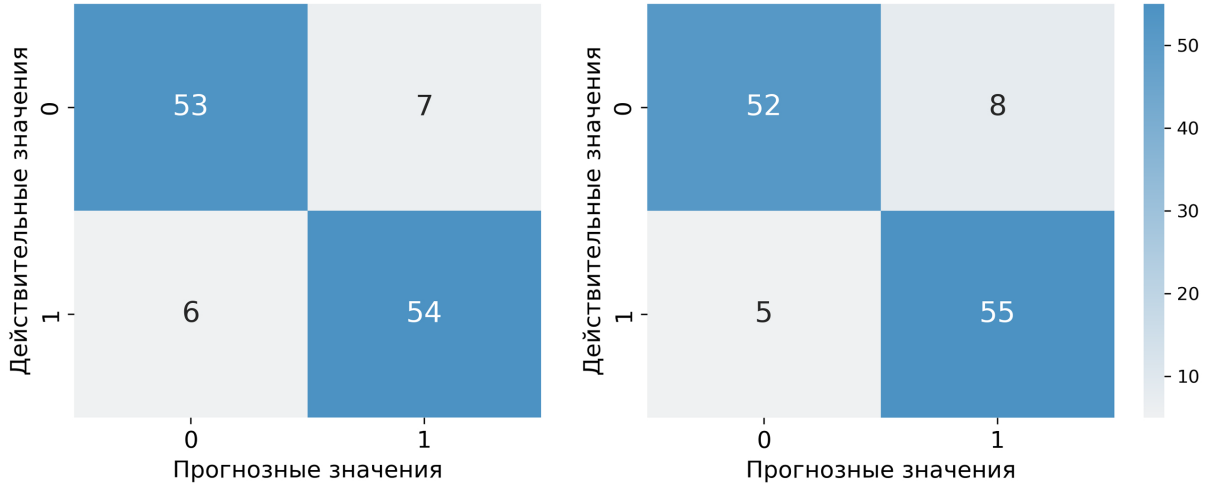


Рисунок 3 – Матрицы несоответствий для модели «GPC-BO-v.02.10-5.2308» (слева) и «GPC-BO-v.02.10-10.2308» (справа)
Примечание: класс 0 – «ингибиторы» p38 MAPK; класс 1 – «неингибиторы» p38 MAPK.

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

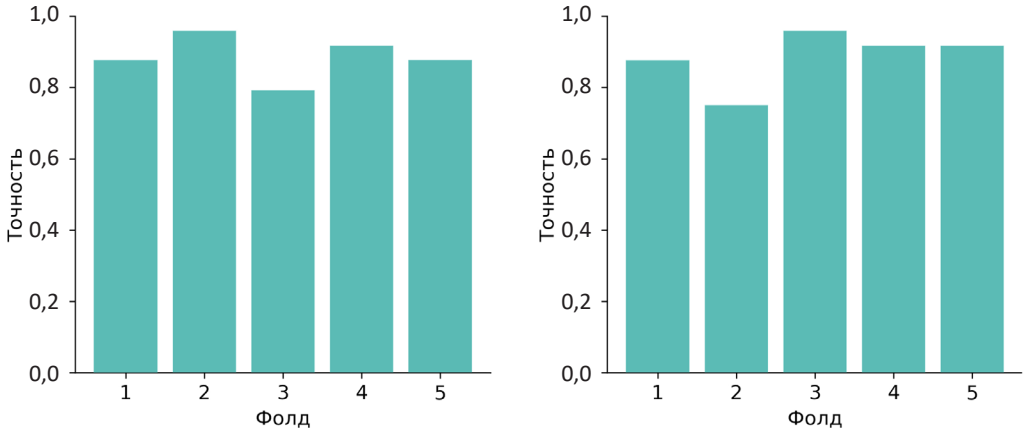


Рисунок 4 – Результаты 5-кратной кросс-валидации модели «GPC-BO-v.02.10-5.2308» (слева) и «GPC-BO-v.02.10-10.2308» (справа)

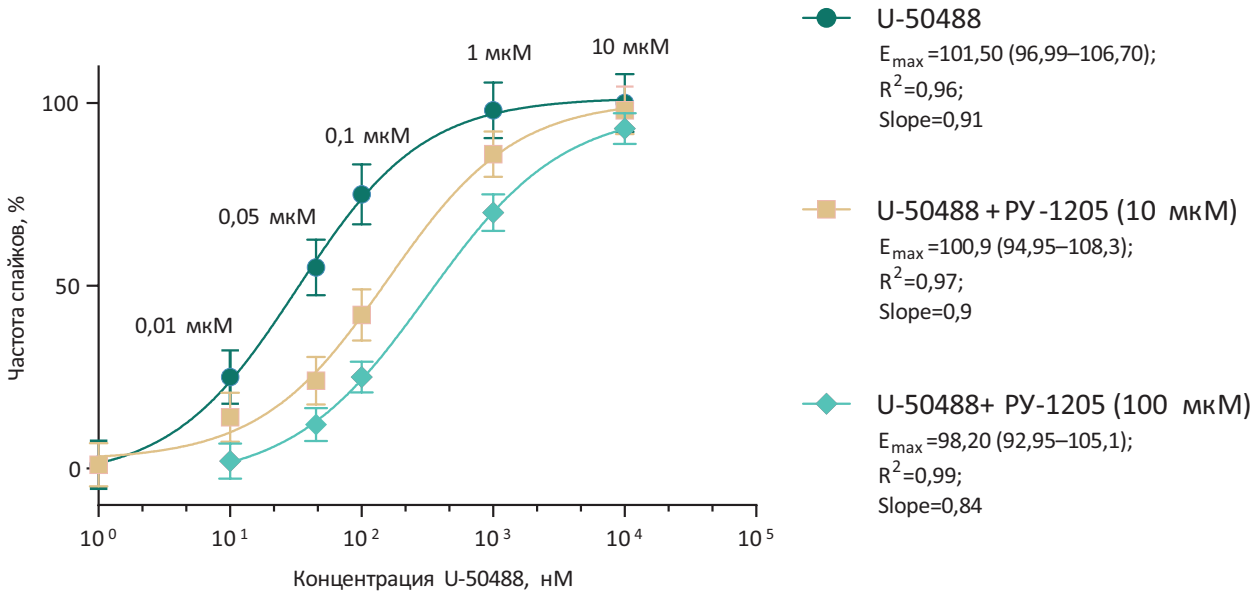


Рисунок 5 – Дозозависимые эффекты соединения U-50488 (концентрации показаны на графике) на спайковую активность пирамидных нейронов миндалины в комбинации с соединением РУ-1205 (концентрация соединения РУ-1205 – 0, 10, 100 мкМ)

Для определения эффекта соединения РУ-1205 (в концентрации 10 и 100 мкМ) на U-50488-индуцированную спайковую активность пирамидных нейронов базолатеральной миндалины вещество апплицировалось в комбинации с возрастающими концентрациями U-50488.

Было установлено, что U-50488 дозозависимо увеличивает частоту спайковой активности пирамидных нейронов BLA, начиная с концентрации 0,01 мкМ (p <0,05). Полученные дозозависимые кривые (Рис. 5) позволяют заключить, что при комбинировании вещества U-50488 и РУ-1205 вступают в конкурентный антагонизм, о чем свидетельствует смещение кривой вправо (без значимого изменения «slope» кривой) и сохранение величины максимального эффекта (плато).

В различных исследованиях было показано, что каппа-опиоидные агонисты способны влиять на биоэлектрическую активность мозга [21]. Действие опиоидных средств наиболее выражено в таких структурах мозга, как кора [22], гиппокамп [23], мезолимбическая система [24, 25] и миндалина [26], в связи с этим имплантация глубоких электродов выполнена в эти зоны. Ранее установлено, что ингибитор p38 MAPK изменяет нейрональную активность в гиппокампе, а также снижает мощность ЭЭГ в диапазоне гамма-частот у мышей [27]. Исходя из этого, было выдвинуто предположение, что анализ влияния каппа-опиоидных агонистов и блокаторов p38 на LFP может дать понимание о механизме действия производного бензимидазола РУ-1205 со схожим профилем активности. Учитывая, что спектральные изменения LFP носят неспецифический характер, нами предпринята

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-432-442

попытка извлечь признаки фармакологического действия из системных параметров функциональной коннективности мозга. В качестве метода оценки коннективности выбран WPLI ввиду более высокой устойчивости к искажениям объемной проводимости и меньшей чувствительности к шуму [28]. WPLI широко используется в электроэнцефалографических (ЭЭГ) [29], электрокортикографических (ЭКоГ) [30] исследованиях, а также находит применение при анализе LFP, в том числе для изучения эффектов веществ с психотропной активностью [31].

Для дальнейшего анализа полученных показателей WPLI, после введения ингибиторов MAPK p38 и каппа-опиоидных агонистов, использовался комбинированный подход, включающий анализ главных компонент и построение модели регрессии гауссовского процесса для классификации сигналов. Метод главных компонент используется при обработке сигналов и решении задач ML для уменьшения размерности данных при сохранении как можно большего количества информации. Производительность метода подтверждается в ЭЭГ исследованиях в сочетании с различными моделями классификаторов [32]. Модель регрессии гауссовского процесса также показала высокую эффективность в других научных работах (достигнута точность 94% для трех классов) при оценке признаков ЭЭГ сигналов, связанных с уровнем стресса [33], что представляется важным, поскольку каппа-опиоидные агонисты отличаются способностью провоцировать стресс и тревожность.

Преимущество предлагаемого подхода заключается в том, что нервная ткань является идеальным детектором нейро- или психотропного вещества, поскольку его эффекты специфическим образом отражаются в биоэлектрической активности, декодирование которой позволяет построить высокоточные прогнозы. Современные методы анализа позволяют выявлять более тонкие и сложные паттерны сигналов, ассоциированные с фармакологическим действием. Это выражается в неуклонном росте научного интереса и числа исследований, связанных с автоматической классификацией ЭЭГ [34, 35]. Одним из важнейших направлений является классификация сигналов ЭЭГ (а также ЭКоГ и LFP) с целью идентификации психотропных эффектов и механизма действия исследуемого вещества [36, 37].

Чтобы убедиться в достоверности полученных выводов относительно механизма действия соединения РУ-1205 были проведены дополнительные исследования с применением метода локальной фиксации потенциала на живых срезах мозга крыс. Представленные результаты позволяют заключить, что соединение РУ-1205 не проявляет внерецепторной активности, подобной SB203580, а конкурирует за общий сайт связывания с соединением U-50488, таким образом, устраняя его аверсивный эффект, косвенным признаком (коррелятом) которого в рамках данной модели является усиление спайковой активности нейронов базолатерального комплекса миндалины. Подобный феномен является характерным признаком функциональной селективности, в частности, такое же действие выявлено у функционального агониста 6′-GNTI, который ослабляет аррестин-опосредованные эффекты несмещенных агонистов [38]. При этом мы не наблюдали признаков p38-ингибирующей активности [39], когда при комбинировании соединения U-50488 и SB203580 фиксировались явления неконкурентного антагонизма, который выражался в изменении углового коэффициента и сокращении величины максимального эффекта U-50488 (p <0,05).

Ограничения исследования

Необходимо отметить, что использованный подход к классификации LFP имеет ряд ограничений. Одним из них является проблема объемной проводимости. Поскольку электрические сигналы, генерируемые нейронами, способны распространяться по ткани мозга, это может привести к искажению и смешиванию сигналов от разных источников. Также следует учитывать, что LFP-активность в большей степени отражает импульсы входящих аксонов, нежели локальную генерацию потенциалов [40]. Межиндивидуальная и внутрииндивидуальная вариабельность, зашумленность, нелинейность, комплексность и другие характеристики нейрональных сигналов ограничивают точность фармакоэлектроэнцефалографической технологии.

Кроме того, имеется риск высокой неопределенности в случае выхода за пределы обучающих данных («Out-Of-Distribution»), поэтому в обучающий набор данных была также включена дополнительная выборка сигналов, полученных после введения комбинации соединений «SB203580+U-50488», имитирующая двойной механизм действия, однако полностью не исключающая данную проблему.

Проведение исследования с повторными измерениями (разные лекарственные средства тестируются на одной и той же группе животных) имеет несколько недостатков, включая эффекты переноса, когда действие одного лекарственного препарата влияет на последующие реакции, и эффекты порядка, когда последовательность введения имеет важное значение. Обучение эффекту может со временем изменить реакцию лабораторного животного, потенциально искажая результаты. Такой дизайн исследования может иметь ограниченную возможность обобщения

(при экстраполяции результатов на генеральную совокупность) из-за однородного пула субъектов, однако, с другой стороны, это устраняет вклад межклассовой вариабельности и позволяет дополнительно повысить точность классификатора. Кроме того, при последовательном назначении веществ необходимость в ожидании до полного (или близкого к полному) выведения увеличивает продолжительность исследования и повышает риск исключения животного из эксперимента из-за развития осложнений или гибели.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании применен комплексный подход для анализа коннективности головного мозга, включая регистрацию электрофизиологических данных и использование методов ML для классификации фармакологических соединений по изменениям LFP. Основываясь на расчетах WPLI и анализе главных компонент, идентифицировали ключевые интегративные характеристики коннективности, которые были связаны с воздействием каппа-опиоидных агонистов и ингибиторов p38 MAPK на различные отделы мозга. Использование классификатора на основе гауссовских процессов позволило с вероятностью 0,89 классифицировать соединение РУ-1205 как «неингибитор» p38 MAPK.

Полученные результаты находят подтверждение в экспериментах локальной фиксация потенциала клетки на живых срезах мозга, где было продемонстрировано, что РУ-1205 взаимодействует с U-50488, конкурентно подавляя его действие на спайковую активность пирамидных нейронов BLA, в отличие от ингибитора p38 MAPK SB203580, который неконкурентно ингибирует спайковую активность, вызванную U-50488. Таким образом, это позволяет предполагать, что соединение РУ-1205 проявляет функциональную каппа-агонистическую активность и не оказывает значимого влияния на p38 MAPK.

Исследование демонстрирует возможность интеграции электрофизиологических измерений и передовых методов анализа данных для глубокого понимания нейрональных механизмов фармакологического действия, а также подчеркивает перспективность дальнейших исследований в данном направлении.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность коллективу НИИ физической и органической химии ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет» за синтез исследуемого соединения РУ-1205.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный и равнозначный вклад в подготовку публикации. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение поиска литературы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). К.Ю. Калитин – постановка задач, анализ научной и методической литературы, обработка данных, написание и редактирование статьи; О.Ю. Муха – сбор и обработка данных, написание, редактирование и оформление текста рукописи; А.А. Спасов – критический пересмотр черновика рукописи с внесением замечаний интеллектуального содержания, финальное утверждение рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Zimmer Z., Fraser K., Grol-Prokopczyk H., Zajacova A. A global study of pain prevalence across 52 countries: examining the role of country-level contextual factors // Pain. – 2022. – Vol. 163, No. 9. – P. 1740–1750. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000002557
2. Daveluy A., Micallef J., Sanchez-Pena P., Miremont-Salamé G., Lassalle R., Lacueille C., Grelaud A., Corand V., Victorri-Vigneau C., Batisse A., Le Boisselier R. Ten-year trend of opioid and nonopioid analgesic use in the French adult population // Br J Clin Pharmacol. – 2021. – Vol. 87, No. 2. – P. 555–564. DOI: 10.1111/bcp.14415
3. Pasternak G.W. Mu opioid pharmacology: 40 years to the promised land // Adv Pharmacol. – 2018. – Vol. 82. – P. 261–291. DOI: 10.1016/bs.apha.2017.09.006
4. Dalefield M.L., Scouller B., Bibi R., Kivell B.M. The kappa opioid receptor: A promising therapeutic target for multiple pathologies // Front Pharmacol. – 2022. – Vol. 13. – Art. ID: 837671. DOI: 10.3389/fphar.2022.837671
5. Khan M.I.H., Sawyer B.J., Akins N.S., Le H.V.A systematic review on the kappa opioid receptor and its ligands: New directions for the treatment of pain, anxiety, depression, and drug abuse // Eur J Med Chem. – 2022. – Vol. 243. – Art. ID: 114785. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114785
6. Vaidya B., Sifat A.E., Karamyan V.T., Abbruscato T.J. The neuroprotective role of the brain opioid system in stroke injury // Drug Discov Today. – 2018. – Vol. 23, No. 7. – P. 1385–1395. DOI: 10.1016/j.drudis.2018.02.011
7. Paul A.K., Smith C.M., Rahmatullah M., Nissapatorn V., Wilairatana P., Spetea M., Gueven N., Dietis N. Opioid

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-432-442

analgesia and opioid-induced adverse effects: A review // Pharmaceuticals. – 2021. – Vol. 14, No. 11. – Art. ID: 1091. DOI: 10.3390/ph14111091

8. Gopalakrishnan L., Chatterjee O., Ravishankar N., Suresh S., Raju R., Mahadevan A., Prasad T.K. Opioid receptors signaling network // J Cell Commun Signal. – 2022. – Vol. 16, No. 3. – P. 475–483. DOI: 10.1007/s12079-021-00653-z
9. Machelska H., Celik M.Ö. Advances in achieving opioid analgesia without side effects // Front Pharmacol. – 2018. – Vol. 9. – Art. ID: 1388. DOI: 10.3389/fphar.2018.01388
10. Mores K.L., Cummins B.R., Cassell R.J., van Rijn R.M. A review of the therapeutic potential of recently developed G protein-biased kappa agonists // Front Pharmacol. – 2019. – Vol. 10. – Art. ID: 407. DOI: 10.3389/fphar.2019.00407
11. Спасов А.А., Калитин К.Ю., Гречко О.Ю., Анисимова В.А. Противоэпилептическая активность нового производного бензимидазола РУ-1205 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 160, № 9. – С. 320–323.
12. Kalitin K.Y., Grechko O.Y., Spasov A.A., Sukhov A.G., Anisimova V.A., Matukhno A.E. GABAergic mechanism of anticonvulsive effect of chemical agent RU-1205 // Bull Exp Biol Med. – 2018. – Vol. 164. – P. 629–635. DOI: 10.1007/s10517-018-4047-4
13. Калитин К.Ю., Придворов Г.В., Спасов А.А., Муха О.Ю. Влияние каппа-опиоидных агонистов буторфанола и соединения РУ-1205 на биоэлектрическую активность мозга при глобальной ишемии // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2022. – Т. 19, № 3. – С. 128–133. DOI: 10.19163/1994-9480-2022-19-3-128-133
14. Liu-Chen L.Y., Huang P. Signaling underlying kappa opioid receptor-mediated behaviors in rodents // Front Neurosci. – 2022. – Vol. 16. – Art. ID: 964724. DOI: 10.3389/fnins.2022.964724
15. Tortella F. C., Robles L., Holaday J. W. U50, 488, a highly selective kappa opioid: anticonvulsant profile in rats // J Pharmacol Exper Ther. – 1986. – Vol. 237, No. 1. – P. 49–53.
16. Lemos C., Salti A., Amaral I.M., Fontebasso V., Singewald N., Dechant G., Hofer A., El Rawas R. Social interaction reward in rats has anti-stress effects // Addict Biol. – 2021. – Vol. 26, No. 1. – Art. ID: e12878. DOI: 10.1111/adb.12878
17. Ji G., Neugebauer V. Kappa opioid receptors in the central amygdala modulate spinal nociceptive processing through an action on amygdala CRF neurons // Molecul Brain. – 2020. – Vol. 13, No. 1. – P. 1–10. DOI: 10.1186/s13041-020-00669-3
18. Zan G.Y., Wang Q., Wang Y.J., Chen J.C., Wu X., Yang C.H., Chai J.R., Li M., Liu Y., Hu X.W., Shu X.H. p38 mitogen-activated protein kinase activation in amygdala mediates к opioid receptor agonist U50,488H-induced conditioned place aversion // Neurosci. – 2016. – Vol. 320. – P. 122–128. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.01.052
19. Yakhnitsa V., Ji G., Hein M., Presto P., Griffin Z., Ponomareva O., Navratilova E., Porreca F., Neugebauer V. Kappa opioid receptor blockade in the amygdala mitigates pain like-behaviors by inhibiting corticotropin releasing factor neurons in a rat model of functional pain // Front Pharmacol. – 2022. – Vol. 13. – Art. ID: 903978. DOI: 10.3389/fphar.2022.903978
20. Dermitzaki E., Tsatsanis C., Gravanis A., Margioris A.N. Corticotropin-releasing hormone induces Fas ligand production and apoptosis in PC12 cells via activation of p38 mitogen-activated protein kinase // J Biologic Chem. – 2002. – Vol. 277, No. 14. – P. 12280–12287. DOI: 10.1074/jbc.M111236200
21. Ona G. Sampedro F., Romero S., Valle M., Camacho V., Migliorelli C., Mañanas M.Á., Antonijoan R.M., Puntes M., Coimbra J., Ballester M.R. The Kappa Opioid Receptor and the Sleep of Reason: Cortico-Subcortical Imbalance Following Salvinorin-A // Int J Neuropsychopharmacol. – 2022. – Vol. 25, No. 1. – P. 54–63. DOI: 10.1093/ijnp/pyab063
22. Tejeda H.A., Hanks A.N., Scott L., Mejias-Aponte C., Hughes Z.A., O'donnell P. Prefrontal cortical kappa opioid receptors attenuate responses to amygdala inputs // Neuropsychopharmacol. – 2015. – Vol. 40, No. 13. – P. 2856–2864. DOI: 10.1038/npp.2015.138
23. Jamali S., Dezfouli M.P., Kalbasi A., Daliri M.R., Haghparast A. Selective modulation of hippocampal theta oscillations in response to morphine versus natural reward // Brain Sci. – 2023. – Vol. 13, No. 2. – Art. ID: 322. DOI: 10.3390/brainsci13020322
24. Ahmadi Soleimani S.M., Mohamadi M. A. H. M.H., Raoufy M.R., Azizi H., Nasehi M., Zarrindast M.R. Acute morphine administration alters the power of local field potentials in mesolimbic pathway of freely moving rats: Involvement of dopamine receptors // Neurosci Lett. – 2018. – Vol. 686. – P. 168–174. DOI: 10.1016/j.neulet.2018.09.016
25. Reakkamnuan C., Cheaha D., Kumarnsit E. Nucleus accumbens local field potential power spectrums, phase-amplitude couplings and coherences following morphine treatment // Acta Neurobiol Exp (Wars). – 2017. – Vol. 77, No. 3. – P. 214–224. DOI: 10.21307/ane-2017-055
26. Hein M., Ji G., Tidwell D., D'Souza P., Kiritoshi T., Yakhnitsa V., Navratilova E., Porreca F., Neugebauer V. Kappa opioid receptor activation in the amygdala disinhibits CRF neurons to generate pain-like behaviors // Neuropharmacolog. – 2021. – Vol. 185. – Art. ID: 108456. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2021.108456
27. Ittner A.A., Gladbach A., Bertz J., Suh L.S., Ittner L.M. p38 MAP kinase-mediated NMDA receptor-dependent suppression of hippocampal hypersynchronicity in a mouse model of Alzheimer's disease // Acta Neuropathol Commun. – 2014. – Vol. 2. – P. 1–17. DOI: 10.1186/s40478-014-0149-z
28. Zhang F., Wang F., Yue L., Zhang H., Peng W., Hu L. Cross-species investigation on resting state electroencephalogram // Brain Topogr. – 2019. – Vol. 32. – P. 808–824. DOI: 10.1007/s10548-019-00723-x
29. Imperatori L.S., Cataldi J., Betta M., Ricciardi E., Ince R.A., Siclari F., Bernardi G. Cross-participant prediction of vigilance stages through the combined use of wPLI and wSMI EEG functional connectivity metrics // Sleep. – 2021. – Vol. 44, No. 5. – Art. ID: zsaa247. DOI: 10.1093/sleep/zsaa247
30. Banks M.I., Krause B.M., Endemann C.M., Campbell D.I., Kovach C.K., Dyken M.E., Kawasaki H., Nourski K.V. Cortical functional connectivity indexes arousal state during sleep and anesthesia // Neuroimage. – 2020. – Vol. 211. – Art. ID: 116627. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2020.116627
31. Delgado-Sallent C., Nebot P., Gener T., Fath A.B., Timplalexi M., Puig M.V. Atypical, but not typical,

antipsychotic drugs reduce hypersynchronized prefrontal-hippocampal circuits during psychosis-like states in mice: Contribution of 5-HT2A and 5-HT1A receptors // Cereb Cortex. – 2022. – Vol. 32, No. 16. – P. 3472–3487. DOI: 10.1093/cercor/bhab427

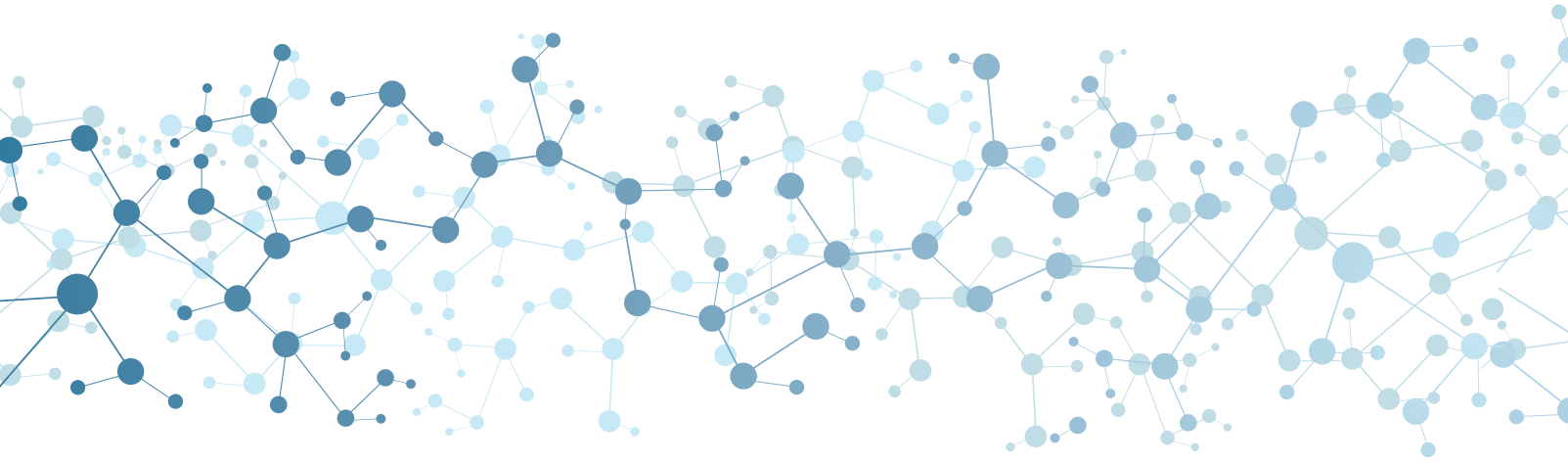
32. Huang Y., Yi Y., Chen Q., Li H., Feng S., Zhou S., Zhang Z., Liu C., Li J., Lu Q., Zhang L. Analysis of EEG features and study of automatic classification in first-episode and drug-naïve patients with major depressive disorder // BMC Psychiatry. – 2023. – Vol. 23, No. 1. – Art. ID: 832. DOI: 10.1186/s12888-023-05349-9
33. Desai R., Porob P., Rebelo P., Edla D.R., Bablani A. EEG data classification for mental state analysis using wavelet packet transform and gaussian process classifier // Wireless Personal Communications. – 2020. – Vol. 115, No. 3. – P. 2149–2169. DOI: 10.1007/s11277-020-07675-7
34. Chinara S. Automatic classification methods for detecting drowsiness using wavelet packet transform extracted time-domain features from single-channel EEG signal // J Neurosci Methods. – 2021. – Vol. 347. – Art. ID: 108927. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2020.108927
35. Ieracitano C., Mammone N., Hussain A., Morabito F.C. A novel multi-modal machine learning based approach for automatic classification of EEG recordings in dementia // Neural Networks. – 2020. – Vol. 123. – P. 176–190. DOI: 10.1016/j.neunet.2019.12.006
36. Zanettini C., Scaglione A., Keighron J.D., Giancola J.B., Lin S.C., Newman A.H., Tanda G. Pharmacological classification of centrally acting drugs using EEG in freely moving rats: an old tool to identify new atypical dopamine uptake inhibitors // Neuropharmacol. – 2019. – Vol. 161. – Art. ID: 107446. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2018.11.034
37. Shahabi M.S., Shalbaf A., Maghsoudi A. Prediction of drug response in major depressive disorder using ensemble of transfer learning with convolutional neural network based on EEG // Biocybernet Biomed Engineer. – 2021. – Vol. 41, No. 3. – P. 946–959. DOI: 10.1016/j.bbe.2021.06.006
38. Rives M.L., Rossillo M., Liu-Chen L.Y., Javitch J.A. 6′-Guanidinonaltrindole (6′-GNTI) is a G protein-biased κ-opioid receptor agonist that inhibits arrestin recruitment // J Biologic Chem. – 2012. – Vol. 287, No. 32. – P. 27050–27054. DOI: 10.1074/jbc.C112.387332
39. Kalitin K.Y., Spasov A.A., Mukha O.Y. Effects of kappa-opioid agonist U-50488 and p38 MAPK inhibitor SB203580 on the spike activity of pyramidal neurons in the basolateral amygdala // Research Ress Pharmacol. – 2024. – Vol. 10, No. 1. – P. 1–6. DOI: 10.18413/rrpharmacology.10.400
40. Courtin J., Karalis N., Gonzalez-Campo C., Wurtz H., Herry C. Persistence of amygdala gamma oscillations during extinction learning predicts spontaneous fear recovery // Neurobiol Learn Memory. – 2014. – Vol. 113. – P. 82–89. DOI: 10.1016/j.nlm.2013.09.015

АВТОРЫ

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

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

Спасов Александр Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; руководитель отдела фармакологии и биоинформатики НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; академик РАН. ORCID ID: 0000-0002-7185-4826. E-mail: aaspasov@volgmed.ru



ПМФИ
ВолгГМУ
MENTE ET ANIMO