ISSN 2587-7836

ФАРМАКОКИНЕТИКА и ДИНАМИКА

№1.2018

www.PharmacoKinetica.ru

Центр Фармакоэкономических Исследований

17 лет научно-исследовательской работы

- Независимая научная организация в области изучения экономики программ здравоохранения
- Более 220 исследований в области оценки медицинских технологий
- Опубликовано около 210 научных работ в рецензируемых медицинских журналах
- Партнёры – 44 ведущих зарубежных и российских фармацевтических компаний

Основные направления научной деятельности

- разработка научно-методических основ фармакоэкономических, фармакоэпидемиологических исследований и оценки качества жизни
- развитие методологии проведения оценки медицинских технологий

ПОЛНЫЙ СПЕКТР УСЛУГ ПО ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ

- фармакоэкономические исследования
- фармакоэпидемиологические исследования
- наблюдательные неинтервенционные исследования
- непрямые сравнительные исследования
- оценка технологий здравоохранения
- оценка качества жизни, связанного со здоровьем
- систематический литературный обзор и мета-анализ
- разработка математических моделей и локальная адаптация
- анализ больших баз данных
- создание мобильных приложений и интерактивных онлайн-презентаций
- формирование доказательной базы
- экспертиза и разработка клинико-экономического досье
- образовательные услуги
- информационно-консультационные услуги

Социальная премия Da.Signa

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

www.HealthEconomics.ru clinvest@mail.ru (910) 449-22-73

ФАРМАКОКИНЕТИКА И ФАРМАКОДИНАМИКА

№1
2018

Издательство
ОКИ

Главный редактор
Жердев Владимир Павлович
д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, Москва

Зам. главного редактора
Фирсов Александр Алексеевич
член-корр. РАН, д.б.н., профессор, Москва

Ответственный секретарь
Литвин Александр Алексеевич
д.б.н., Москва

Редакционная коллегия

Белолипецкая Вера Геннадиевна
к.б.н., Москва

Бондарева Ирина Борисовна
д.б.н., Москва

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

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

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

Казей Василий Игоревич
к.б.н., Москва

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

Кулмагамбетов Ильяс Райханович
д.м.н., профессор, академик НАН, Казахстан, Алматы

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

Насонов Александр Сергеевич
к.б.н., Москва

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

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

Соколов Андрей Владимирович
д.б.н., Москва

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

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

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

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

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

Выпускающая группа

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

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

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

Подписано в печать 01.10.2018 г. **Тираж** 400 экз.
Типография: ООО «Буки Веди», www.bukivedi.com
115093, г. Москва, Партийный переулок, д. 1, корп. 58, стр. 3, пом. 11

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

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

Сайты	Журналы
www.Antibiotics-Chemotherapy.ru	Антибиотики и Химиотерапия
www.ClinVest.ru	Качественная клиническая практика
www.Clinical-Pharmacy.ru	Клиническая фармация
www.PharmacoGenetics-PharmacoGenomics.ru	Фармакогенетика и Фармакогеномика

WEB-порталы

www.HealthEconomics.ru	Центр Фармакоэкономических Исследований
www.Market-Access-Solutions.ru	Market Access Solutions
www.izdat-Oki	Издательство ОКИ

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

Роль исследований межвидовых особенностей фармакокинетики в создании новых пептидных лекарственных средств
Жердев В.П., Бойко С.С., Шевченко Р.В., Бочков П.О., Грибакина О.Г., Раскин С.Ю. 3

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОДИНАМИКИ

Влияние различных минеральных добавок на состояние выделительной функции почек и уровень гликемии у крыс при экспериментальном аллоксановом сахарном диабете
Назаренко О.А., Громова О.А. 24

Комплексная оценка неврологического статуса и метаболических эффектов витаминно-минерального комплекса Теравит Антистресс и его компонентов
Богачёва Т.Е., Калачёва А.Г., Гришина Т.Р., Громова О.А. 27

Изучение ангиотропной активности фактора роста нервов в опытах на культуре эндотелиальных клеток человека (HUVEC) Теравит Антистресс и его компонентов
Пекельдина Е.С., Николаев С.В., Антипова Т.А., Крыжановский С.А. 32

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Фармакоинформационный анализ молекул препарата Климактоплан
Торшин И.Ю., Громова О.А., Тапильская Н.И. 36

Оценка эффективности витаминно-минерального комплекса магния лактата и пиридоксина как средства коррекции отклонений элементного гомеостаза у молодых людей, проживающих на территории Ивановской области
Богачёва Т.Е., Калачёва А.Г., Гришина Т.Р., Громова О.А. 47

ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ФАРМАКОКИНЕТИКИ

Оценка биодоступности этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты при внутрижелудочном введении кроликам
Малыгин А.С., Попов Н.С., Демидова М.А., Марасанов С.Б. 56

СОДЕРЖАНИЕ

PHARMACOKINETICS AND PHARMACODYNAMICS

№1
2018

Издательство
ОКИ

Chief editor
Zherdev Vladimir
Ph.D., Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Moscow

Deputy chief editor
Firsov Alexander
Corresponding Member RAS, Ph.D., Professor, Moscow

Executive secretary
Litvin Alexander
Ph.D., Moscow

Editotial Board

Belolipetskaia Vera
Ph.D., Moscow

Bondareva Irina
Ph.D., Moscow

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

Gromova Olga
Ph.D., Professor, Ivanovo

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

Kazey Vasily
Ph.D., Professor, Moscow

Kovalev Georgy
Ph.D., Professor, Moscow

Kulmagambetov Ilyas
Ph.D., Professor, Academician National Academy of Sciences, Almaty, Kazakhstan

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

Nasonov Alexander
Ph.D., Moscow

Ramenskaya Galina
Ph.D., Professor, Moscow

Sariev Abrek
Ph.D., Professor, Moscow

Sokolov Andrey
Ph.D., Moscow

Spasov Alexander
RAS, Ph.D., Professor, Moscow

Starodubtcev Alex
Ph.D., Professor, Moscow

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

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

Chistyakov Viktor
Ph.D., Professor, Moscow

Graduate group

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

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

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

Signed in print 01.10.2018 г. **Circulation** 400 copies.
Typography: LLC Buki Vedi, www.bukivedi.com
115093, Moscow, Partiynyj pereulok, 1/58, bld. 3, office 11

Editorial address: 125315, Moscow, ul. Baltiiskay, 8
FSBI «ZAKUSOV INSTITUTE OF PHARMACOLOGY»
Tel./Fax: +7(495)601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

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

Sites	Journals
www.Antibiotics-Chemotherapy.ru	Antibiotics and Chemotherapy
www.ClinVest.ru	Good Clinical Practice
www.Clinical-Pharmacy.ru	Clinical Pharmacy
www.PharmacoGenetics-PharmacoGenomics.ru	Pharmacogenetics and Pharmacogenomics

WEB-portals

www.HealthEconomics.ru	Center of Pharmacoeconomics Research
www.Market-Access-Solutions.ru	Market Access Solutions
www.izdat-Oki.ru	Publisher OKI

CONTENTS

REVIEW ARTICLE

The role of studies of interspecies differences pharmacokinetics in the creation of new peptide drugs
Zherdev V.P., Boyko S.S., Shevchenko R.V., Bochkov P.O., Gribakina O.V., Raskin S.Yu. 3

PRECLINICAL PHARMACODYNAMICS STUDIES

Effect of various mineral additives on the state of excretory renal function and the level of glycemia in rats in experimental alloxan diabetes mellitus
Nazarenko O.A., Gromova O.A. 24

Complex evaluation of the neurological status and metabolic effects of the vitamin-mineral complex Teravit Anti-Stress and its components
Bogacheva T.E., Kalacheva A.G., Grishina T.R., Gromova O.A. 27

Study of angiotropic activity of the nerve growth factor in experiments on human endothelial cell culture (HUVEC)
Pekeldina E.S., Nicolaev S.V., Antipova T.A., Kryzhanovskii S.A. 32

CLINICAL PHARMACOLOGY

Pharmacoinformation analysis of the molecules of the drug Klimaktoplan
Torshin I.Yu., Gromova O.A., Tapilskaya N.I. 36

Estimation of the effectiveness of the vitamin and mineral complex of magnesium lactate and pyridoxine as a means of correcting the deviations of element homeostasis in young people living in the Ivanovo region
Bogacheva T.E., Kalacheva A.G., Grishina T.R., Gromova O.A. 47

EXPERIMENTAL STUDIES OF PHARMACOKINETICS

Assessment of bioavailability of ethylthiadiazolylamide of acetylaminohexanoic acid by intragastric administration in rabbits
Malygin A.S., Popov N.S., Demidova M.A., Marasanov S.B. 56

CONTENTS

Роль исследований межвидовых особенностей фармакокинетики в создании новых пептидных лекарственных средств

Жердев В.П., Бойко С.С., Шевченко Р.В., Бочков П.О., Грибакина О.Г., Раскин С.Ю.

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

Резюме. В работе представлены литературные данные о межвидовых различиях фармакокинетики пептидных лекарственных средств и результаты собственных исследований межвидовых особенностей фармакокинетики 3-х модифицированных аналогов эндогенных нейропептидов (ноопепт, дилепт и соединение ГБ-115) у животных 2-х видов (крысы, кролики) и человека с целью выбора по фармакокинетическим параметрам оптимальной экстраполяционной модели для прогнозирования фармакокинетики новых пептидных лекарственных препаратов у человека. Установлены межвидовые различия фармакокинетических процессов: абсорбции, метаболизма и элиминации изучаемых дипептидных препаратов. Для дилепта — метилового эфира N-капроил-L-пролил-L-тирозина – являющегося дипептидным аналогом природного нейролептика нейротензина, с использованием аллометрического метода Дедрика установлено, что по близкому соответствию фармакокинетических параметров, полученных на животных, можно прогнозировать фармакокинетику у человека. Для анксиолитика ГБ-115 показана линейность фармакокинетических параметров у добровольцев при использовании доз в интервале 1–15 мг. Показано, что значение периода полувыведения, выраженное через «фармакокинетическое время» изучаемых пептидных соединений у экспериментальных животных является прогностически значимым параметром для экстраполяции их фармакокинетики у человека. Ввиду схожести энзиматических систем у крыс и человека, целесообразно на стадии изучения фармакокинетики субстанции новых пептидных соединений использовать этот вид животных для получения общей информации об их фармакокинетике и основных направлениях метаболизма. На стадии изучения лекарственных форм этих соединений в качестве экспериментальной модели предпочтение следует отдать кроликам вследствие возможности получить весь фармакокинетический профиль на одном животном и рассчитать индивидуальные фармакокинетические параметры новых пептидных препаратов.

Ключевые слова: фармакокинетические параметры; межвидовые различия; модифицированные аналоги нейропептидов; экстраполяционная модель

Для цитирования:
Жердев В.П., Бойко С.С., Шевченко Р.В., Бочков П.О., Грибакина О.Г., Раскин С.Ю. Роль исследований межвидовых особенностей фармакокинетики в создании новых пептидных лекарственных средств // *Фармакокинетика и фармакодинамика.* – 2018. – № 1. – С. 3–23. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10001.

The role of studies of interspecies differences pharmacokinetics in the creation of new peptide drugs

Zherdev V.P., Boyko S.S., Shevchenko R.V., Bochkov P.O., Gribakina O.V., Raskin S.Yu.
FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Resume. The paper presents literature data about the interspecific differences of the pharmacokinetics of peptide drugs and the results of our own studies on the inter-specific features of the pharmacokinetics of the 3 modified analogues of endogenous neuropeptides (noopept, dilept and GB-115) in animals of 2 species (rat, rabbit) and human wich purpose of choosing the optimal extrapolation model for predicting the pharmacokinetics of new peptide drugs in humans by pharmacokinetic parameters. Interspecific differences in the pharmacokinetics of the absorption, metabolism and elimination of dipeptide preparations are established. For the dilept – methyl ester of N-caproyl-L-prolyl-L-tyrosine – dipeptide analogue of the natural neuroleptin neurotensine, using the allometric Dedric method, it was established that the pharmacokinetics in humans can be predicted from a close fit of the pharmacokinetic parameters obtained in animals. For anxiolytic GB-115, the linearity of pharmacokinetic parameters in volunteers is shown in the use of doses in the range 1–15 mg. It is shown that the half-life of the studied peptide compounds in experimental animals is a prognostically significant parameter for extrapolating their pharmacokinetics on humans. In view of the proximity of enzymatic systems in rats and humans, it is advisable to use this species of animals at the stage of studying the pharmacokinetics of the substance of new peptide compounds to obtain general information about their pharmacokinetics and the main metabolic pathways. At the stage of studying the dosage drugs forms of these compounds preference should be given to rabbits as an experimental model, due to the possibility of obtaining the entire pharmacokinetic profile in one animal and calculating individual pharmacokinetic parameters of new peptide drugs.

Keywords: pharmacokinetic parameters; interspecies differences; 3-th modified analogues of endogenous neuropeptides; extrapolation model

For citations:
Zherdev VP, Boyko SS, Shevchenko RV, Bochkov PO, Gribakina OV, Raskin SYu. Perspective for use of the radionuclide drugs in the treatment of malignant tumors in Russia. *Farmakokinetika i farmakodinamika.* 2018;1:3–23. (In Russ). DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10001.

Введение

Нейротропные пептидные лекарственные средства в настоящее время заняли прочное место в нейропсихиатрической практике в качестве средств лечения когнитивных нарушений, ишемии, инсультов и травм головного мозга, шизофрении, тревожных расстройств, фобий и заболеваний других нозологических групп. Короткие аналоги эндогенных нейропептидов имеют преимущество по сравнению с олигопептидами по активности, низким дозам, отсутствию побочных эффектов и токсичности, благодаря близости к эндогенным структурам организма. Результатами ранее проведённых исследований количественного определения природных нейропептидов и их синтетических аналогов было установлено, что они быстро метаболизируются, имеют короткий период полувыведения, составляющий 2–5 мин для нейротензина, холецистокинина, вазопрессина и других эндогенных и синтетических нейропептидов [1–3]. Кроме того, большинство из разработанных аналогов природных пептидов имеют низкую биодоступность (менее 1 %). Проблема, связанная с их энзиматической неустойчивостью и, как следствие, низкой биодоступностью в настоящее время успешно решается посредством модификации субстанций и оптимизации лекарственных форм (ЛФ) пептидных соединений, что способствует разработке и внедрению в медицинскую практику более эффективных пептидных препаратов.

Помимо анатомо-физиологических особенностей у животных разных видов и человека, имеются межвидовые различия энзиматических систем, участвующих в метаболизме пептидных лекарственных веществ (ЛВ), отличающихся, в зависимости от видовой принадлежности, активностью и аффинитетом [4–7]. Вследствие значительных межвидовых различий процессов фармакокинетики, прогнозирование фармакокинетики новых лекарственных соединений (ЛС) у человека на основе экспериментальных данных, полученных на одном виде животных, в основном, на крысах, не представляется возможным, поэтому изучение фармакокинетики проводится на животных разных видов (кролики, карликовые домашние свиньи, собаки, мыши обезьяны и др.). Целью таких исследований является выявление межвидовых различий фармакокинетики новых пептидных ЛС и выбор оптимальной экстраполяционной модели. В настоящее время нет единого мнения о том, какой вид экспериментальных животных можно считать наиболее близкой моделью для прогнозирования фармакокинетики пептидных ЛВ у человека. В настоящее время исследования межвидовых различий фармакокинетики у экспериментальных животных на 2-х видах является необходимым этапом для внедрения нового оригинального лекарственного препарата в медицинскую практику [8]. Полученные экспериментальные данные необходимы при расчёте дозы препарата для проведения I и II фаз клинического исследования фармакокинетики лекарственных средств, режима его применения у пациентов и прогнозирования терапевтического эффекта. Доклиническое изучение фармакокинетики новых оригинальных ЛВ необходимо для установления зависимости «концентрация–эффект», которая характеризуется меньшими межвидовыми различиями, чем «доза–эффект», и поэтому может использоваться для прогнозирования эффекта и безопасности его применения у человека [9].

Основные стадии фармакокинетики ЛС

Фармакокинетика представляет сложный процесс взаимодействия ЛВ с клеточными мембранами ЖКТ и других органов и систем, условно может быть разделен на 4 стадии: абсорбция, распределение, биотрансформация и экскреция, которые тесно связаны друг с другом и могут быть описаны количественно фармакокинетическими параметрами.

Абсорбция

Процесс абсорбции зависит от физико-химических свойств субстанции ЛВ, его растворимости в ЖКТ, константы диссоциации, гидрофильности, молекулярной массы, размера частиц субстанции, устойчивости к pH и ферментным системам ЖКТ. Абсорбция ЛВ зависит также от времени прохождения ЛВ в разных отделах ЖКТ, проницаемости мембран ЖКТ, определяется интенсивностью кровотока слизистой оболочки ЖКТ, активностью ферментов ЖКТ, осуществляющих пресистемную элиминацию ЛВ, выраженности «эффекта первого прохождения» через печень, следовательно, физиологические факторы являются предметом видовых различий фармакокинетики ЛВ.

Абсорбция характеризуется следующими фармакокинетическими параметрами: величиной максимальной концентрации – C_{max} и временем её достижения – T_{max}, скоростью всасывания ЛВ – C_{max}/AUC и степенью всасывания ЛВ, рассчитываемой по величине площади под фармакокинетической кривой – AUC, которая является интегральной характеристикой концентраций ЛВ в плазме крови экспериментальных животных от начала эксперимента и проецируется до бесконечности. Этот параметр является необходимым для оценки величины биодоступности субстанции препарата и его ЛФ. Биодоступность определяется как часть дозы препарата после введения, достигшего системный кровоток на первом этапе всасывания в верхних отделах кишечника, при этом препарат подвергается метаболизму в печени и стенке кишечника, этот процесс определяется, главным образом, проницаемостью через мембраны, которые у животных и человека подобны. Проблема низкой биодоступности пептидных соединений, вследствие их энзиматической нестабильности, в настоящее время успешно решается как на стадии синтеза субстанции, так и разработки оптимальных ЛФ посредством применения различных

методологических и технологических подходов таких, как химическая защита N- и C- концевых групп аминокислот с использованием пироглютаминовой кислоты и эстерификации, использование энзиматически более устойчивых D-аминокислот вместо природных L-аминокислот, внутримолекулярной циклизации пептидов, использование микронизации субстанции, конъюгирования с различными биосубстратами, пегилирования, нанотехнологии, использование ингибиторов пептидаз, а также использование гидрофильных матриц с контролируемой доставкой активного вещества. Следствием этого является более продолжительное пребывание ЛВ в плазме крови в неизменённом виде, что приводит к увеличению биодоступности и пролонгированию фармакологического эффекта [10–13]. Для широкого спектра ди- и трипептидов, а также пептидомиметиков, таких как β-лактамные антибиотики, некоторые ингибиторы АПФ, открыты специфические активные транспортёры, которые вносят большой вклад в улучшение абсорбции и увеличение биодоступности коротких пептидов. Система PePT-1 [14, 15] локализована в щёточной кайме слизистой оболочки кишечника и менее выражена в почечных канальцах, осуществляет перенос коротких пептидов через интенстинальные мембраны ЖКТ и их поступление в системный кровоток в неизменённом виде. Система PePT-2 [16, 17] обнаружена в клетках проксимальных почечных канальцев, а также астроцитах головного мозга, молочной железе, эпителиальных клетках бронхов и сосудистого сплетения. Системы активных переносчиков обладают высоким аффинитетом к ди- и трипептидам, играют существенную роль в увеличении их биодоступности не только за счёт улучшения их абсорбции в ЖКТ, но и реабсорбции этих препаратов в почечных канальцах, и как следствие, замедлении процессов их элиминации [18].

Однако часть абсорбированного вещества и часть подвергнутого метаболизму значительно отличаются у животных разных видов и человека из-за путей, скорости и интенсивности метаболизма [4, 19, 20].

Межвидовые различия ферментов, принимающих участие в метаболизме пептидных ЛВ

Метаболизм ЛВ пептидной структуры происходит на разных стадиях фармакокинетики, но наиболее выражен на стадии абсорбции в ЖКТ, где локализованы основные энзиматические системы, принимающие участие в процессе пресистемной элиминации ЛВ, происходящие, в том числе, с участием «эффекта первого прохождения» через печень. Основными энзиматическими системами, принимающими активное участие в метаболизме пептидных ЛВ, являются амино- и карбоксипептидазы, классификация которых представлена в табл. 1 (у животных, в основном, у крыс) и табл. 2 (у человека).

Из представленных в таблицах 1 и 2 данных видно, что энзиматические системы, принимающие участие в пресистемном метаболизме пептидных ЛВ у экспериментальных животных и человека, характеризуются

Таблица 1

Основные классы нейропептидаз у животных [21]

Фермент	Примеры типичных субстратов
Эндопептидазы	
Нейтральная эндопептидаза (энкефалиназа)	Лей-, Мет-ЭКФ, ХЦК, НТ, ЭТ-1,-2,-3
Эндо-олигопептидаза А	АТ-1, 11, БК, НТ, СТ
Эндо-олигопептидаза М	АТ-1, 11, БК, НТ, СТ, субстанция Р
Пост-пролилразрывающий фермент	АТ-1, 11, БК, НТ, СТ, субстанция Р
Аминопептидазы	
Аминопептидаза М	Лей-, Мет-ЭКФ, эндорфин
Аминопептидаза А	АТ-1, 11
АминопептидазаМ1	Лей-, Мет-ЭКФ, БК
Пролил аминопептидаза	БК, субстанция Р, пептид Y, нейропептид, энтеростатин
Дипептидил дипептидаза	Субстанция Р, пептид Y, нейропептид, энтеростатин
ТВГ деградирующий фермент	ТВГ
ХЦК-деградирующий фермент	ХЦК
Карбоксипептидазы	
Карбоксипептидаза Е	Энкефалиновые гексапептиды, динорфин (1-13), БК
Карбоксипептидаза N	Энкефалиновые гексапептиды, динорфин (1-13), БК
Карбоксипептидаза Р	АТ11, энтеростатин
АПФ (пептидил-дипептидаза А)	АТ, БК, ХЦК, Лей, Мет-ЭКФ

Примечания: Лей – лейцин, Мет-ЭКФ – метилэнкефалины, ХЦК – холецистокинин, НТ – нейротензин, АТ – ангиотензин, ЭТ – энтеростатин, СТ – статины, БК – брадикинин, ТВГ – тиролиберин-восстанавливающий гормон, АПФ – ангиотезинпревращающий фермент.

Таблица 2

Основные протеолитические ферменты, вовлеченные в расщепление пептидов у человека [22, 23]

Ферменты (синонимы)	Е.С. (КФ1)	Место расщепления
Сериновые протеазы		
□-химотрипсин	E.C.3.4.21.1	Tyr-|-Xaa, Trp-|-Xaa, Phe-|-Xaa, а также Leu-|-Xaa и Met-|-Xaa
Трипсин	E.C.3.4.21.4	Arg-|-Xaa и Lys-|-Xaa
Тромбин	E.C.3.4.21.5	Arg-|-Gly
Плазмин	E.C.3.4.21.7	Lys-|-Xaa > Arg-|-Xaa
Пролилолигопетидаза (пролилэндопептидаза[1])	E.C.3.4.21.26	Pro-|-Xaa >> Ala-|-Xaa
Калликреин плазменный	E.C.3.4.21.34	Arg-|-Xaa и Lys-|-Xaa, включая Lys-|-Arg и Arg-|-Ser
Эластаза панкреатическая	E.C.3.4.21.36	Ala-|-Xaa, а также Gly-|-Xaa, Val-|-Xaa и Ser-|-Xaa
Эластаза лейкоцитарная (нейтрофильная, лизосомальная)	E.C.3.4.21.37	Val-|-Xaa и Ala-|-Xaa
Карбоксипептидаза С (ангиотензиназа С, пролилкарбоксипептидаза)	E.C.3.4.12.4	любая С-концевая аминокислота с предпоследним остатком Pro.
Цистеиновые протеазы		
Катепсин В	E.C.3.4.22.1	Arg-Arg-|-Xaa, а также Leu-|-Xaa, Ala-|-Xaa, Phe-|-Xaa и Trp-|-Xaa
Клострипаин (эндопептидаза Arg-C)	E.C.3.4.22.8	Arg-|-Xaa, влючая Arg-|-Pro, кроме Lys-|-Xaa
Кальпаин-1 (μ-кальпаин)	E.C.3.4.22.52	Met-|-Xaa, Tyr-|-Xaa и Arg-|-Xaa (с Leu или Val в качестве P2-остатка)
Аспартат протеазы		
Пепсин	E.C.3.4.23.1	Преимущественно Phe-|-Xaa, Tyr-|-Xaa, а также Leu-|-Xaa и Trp-|-Xaa, особенно Xaa = Phe, Trp или Tyr
Катепсин D	E.C.3.4.23.5	Преимущественно Phe-|-Xaa, Tyr-|-Xaa и Leu-|-Xaa, особенно с Xaa ≠ Ala или Val
Металлопротеазы		
Неприлизин (энкефалиназа, нейтральная эндопептидаза1)	E.C.3.4.24.11	Xaa-|-Tyr, Xaa-|-Phe, Xaa-|-Trp и Xaa-|-Leu
Эндопептидаза 24.15, эндоолигопептидаза А, pz-пептидаза, тимет олигопептидаза	E.C.3.4.24.15	Xaa-|-Arg, Xaa-|-Ser, Xaa-|-Ile, Xaa-|-Ala, Xaa-|-Gly
Экзопептидазы		
Аминопептидазы		***N-конец***
Лейцил-аминопептидаза	E.C.3.4.11.1	Преимущественно Leu-|-Xaa, кроме Arg-|-Xaa и Lys-|-Xaa
Аминопептидаза М или N (аланинаминопептидаза, мембранная аланинаминопептидаза2)	E.C.3.4.11.2	Преимущественно Ala-|-Xaa и Tyr-|-Xaa, если Yaa-Pro-|-Xaa в N-конце, где Yaa = Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr либо Trp, то дипептид Yaa-Pro может быть отщеплен
Аминопептидаза А (ангиотензиназа, глутамиламинопептидаза1)	E.C.3.4.11.7	Glu-|-Xaa >> Asp-|-Xaa
Дипептидилпептидазы и трипептидилпептидазы		***N-конец ди- и трипептидов***
Дипептидилпептидаза I (катепсин С или J)	E.C.3.4.14.1	Xaa-Yaa-|-Zaa-, если Xaa ≠ Arg, Lys, либо Yaa ≠ Pro, либо Zaa ≠ Pro
Дипептидилпептидаза IV	E.C.3.4.14.5	Преимущественно Xaa-Pro-|-Yaa-(но также и Xaa-Ala-|-Yaa-) с Yaa ≠ Pro или Hyp
Пролилтрипептилпептидаза	E.C.3.4.14.12	Xaa-Yaa-Pro-|-Zaa, если Zaa ≠ Pro
Пептидилдипептидазы		***С-конец***
Дипептидилпептидазы и трипептидилпептидазы		***N-конец ди- и трипептидов***
Дипептидилпептидаза I (катепсин С или J)	E.C.3.4.14.1	Xaa-Yaa-|-Zaa-, если Xaa ≠ Arg, Lys, либо Yaa ≠ Pro, либо Zaa ≠ Pro
Дипептидилпептидаза IV	E.C.3.4.14.5	Преимущественно Xaa-Pro-|-Yaa-(но также и Xaa-Ala-|-Yaa-) с Yaa ≠ Pro или Hyp

Окончание табл. 2

Ферменты (синонимы)	Е.С. (КФ1)	Место расщепления
Пролилтрипептилпептидаза	Е.С.3.4.14.12	Xaa-Yaa-Pro-|-Zaa, если Zaa ≠ Pro
Пептидилдипептидазы		***С-конец***
Пептидилдипептидаза А, (ангиотензинпревращающий фермент, АПФ[1])	Е.С.3.4.15.1	Xaa-|-Yaa-Zaa, если Yaa ≠ Pro или Zaa ≠ Asp либо Glu
Металлокарбоксипептидазы		***С-конец***
Карбоксипептидаза А	Е.С.3.4.17.1	Xaa-|-Yaa, если Yaa ≠ Asp, Glu, Arg, Lys или Pro
Карбоксипептидаза В (протаминаза)	Е.С.3.4.17.2	Xaa-|-Arg и Xaa-|-Lys
Карбоксипептидаза N (лизин/аргининкарбоксипептидаза, кининаза I[2])	Е.С.3.4.17.3	Xaa-|-Lys >> Xaa-|-Arg
Карбоксипептидаза U (R)	Е.С.3.4.17.20	Xaa-|-Arg и Xaa-|-Lys
Глутаматкарбоксипептидаза II (фолатгидролаза)	Е.С.3.4.17.21	Xaa-|-Glu, преимущественно, если Xaa = Asp или Glu

Примечания: [1] КФ – классификационный номер фермента по международной иерархической классификации; Xaa, Yaa, Zaa – аминокислоты; Hyp – гидроксипролин. [2] Указание, что пептидазы представлены в ГЭБ: Tyr – тирозин, Phe – фенилаланин, Leu – лейцин, Arg – аргинин, Lys – лизин, Ala – аланин, Pro – пролин, Trp – триптофан, Met – метионин, Ser – серин, Ile – изолейцин, Val – валин, Asp – аспарагин, Glu – глютамин, Ley – лейцин, Tyr – тирозин.

значительным большим количественным составом, и селективностью пептидаз, поэтому у животных разных видов и человека могут различаться как метаболические пути, так и скорости образования метаболитов, как это показано для динорфина, метэнкефалина и других пептидов [24, 25].

Помимо амино- и карбоксипептидаз, среди важнейших ферментов, вовлечённых в I фазу метаболизма ЛС и ксенобиотиков, являются изоформы цитохрома Р-450 (CYP), на которые приходится около 75 % от общего лекарственного метаболизма в организме животных и человека. Изофермент CYP3A4 принимает участие в метаболизме около 30 % всех применяемых в настоящее время ЛС. В количественном отношении этот изофермент составляет около 40 % в печени человека, в тонком кишечнике его количество в среднем достигает около 70–80 % [26]. Таким образом, можно сделать заключение о том, что изофермент CYP3A4 играет важнейшую роль в кишечном метаболизме (системной элиминации) препаратов, являющихся субстратами этого изофермента. На системную биодоступность этих препаратов значительное влияние оказывает присутствие этого изофермента не только в кишечнике, но и в печени. В работе *Stevens JC, et al.* [27] оценивали печёночный метаболизм I и II фаз биотрансформации различных ЛВ, используя микросомы печени макак-резусов и человека. Полученные результаты противоречат устойчивому мнению о том, что метаболизм у обезьян сопоставим с метаболизмом у человека [28]. Показано, что человеческий изофермент CYP3A4 цитохрома Р-450 гомологичен изоферменту CYP3A1 у крыс на 73 %, но отличается по субстратной специфичности [28, 32]. Другие изоферменты цитохрома Р-450 также могут принимать участие в биотрансформации пептидных ЛС [27].

Межвидовые количественные различия микросомальной системы цитохрома Р-450 предаставлены в табл. 3. Они обусловлены филогенетически и связаны, в основном, с пищевым поведением и отличаются как по уровню общей концентрации цитохрома Р-450, так и по уровню концентраций его изоформ. Кроме того, наблюдаются и видовые различия аминокислотных последовательностей изоформ цитохрома Р-450, которые могут влиять как на скорость метаболизма ЛВ, так и его направленность [28].

Таблица 3

Содержание микросомального белка цитохрома Р-450 у разных видов животных и человека [22]

Вид	Микросомальный белок, нмоль/мг
Человек	307 ± 160
Собака	380 ± 36
Свинья	410 ± 67
Обезьяна	1030 ± 106
Карликовая домашняя свинья	798 ± 45
Морская свинка	1235 ± 95
Крыса	673 ± 50
Кролик	681 ± 36
Мышь	719 ± 41

Межвидовые различия выявлены и для уридинфосфат-глюкуронидазы, осуществляющей фазу II метаболизма ЛВ, которая играет существенную роль в усилении почечной экскреции неполярных ЛВ посредством присоединения глюкуроновой кислоты и увеличения их полярности. В активности этого фермента выявлены не только количественные межвидовые различия, но и качественные, например, в аффиности [4, 29–31].

Другой класс ферментов системы метаболизма – эстеразы эфирных производных пептидных соедине-

ний. Процесс эстерификации пептидных соединений используется для улучшения абсорбции и увеличения их биодоступности [33], несмотря на то, что эфирные производные пептидов быстро метаболизируются. Известно, что степень гидролиза алифатических эфиров пептидных соединений уменьшается в ряду крысы > > кролики > собаки > человек [34]. Грызуны содержат некоторые алифатичекие эстеразы, которые не характерны для человека. Исследования, проведённые *Kanyin F., Zhang K* на микросомах печени разных видов животных показали, что образование деалкилированного метаболита противовирусного препарата AG7088 наиболее выражено у грызунов [34]. Простые алкиловые эфиры пептидов не являются субстратами для эстераз крови человека, а подвергаются энзиматическому гидролизу в печени. Важное значение имеет локализация различных изоформ карбоксипептидаз у грызунов (плазма крови) и у человека с преимущественной локализацией в мозге [21]. При исследовании неотама, который представляет собой метиловый эфир двух аминокислот – аспарагиновой и фенилаланина, было показано, что после перорального введения препарата крысам происходит преимущественно образование его деметилированного продукта [36].

Учитывая большое разнообразие энзиматических систем, вовлеченных в процесс метаболизма пептидных ЛВ, следует заключить, что скорость и интенсивность пресистемной элиминации может значительно отличаться у животных разных видов и человека в зависимости от направленности и интенсивности метаболизма [37].

Распределение и элиминация ЛВ

На стадии распределения и элиминации осуществляется перенос ЛВ из центральной камеры (системного кровотока) в периферические органы и ткани, который определяется степенью связывания ЛВ с мембранами клеток различных тканей и органов, а также с белками, в первую очередь, альбумином плазмы крови, что является важнейшей детерминантой периода полувыведения ЛВ из организма. Известно, что в зависимости от вида животных степень связывания ЛВ с белками плазмы крови отличается, и связано это с незначительными различиями в аминокислотной последовательности альбумина у человека и животных, что приводит к различиям в аффинности и местах связывания ЛВ [4, 31]. Основным фармакокинетическим параметром данной стадии фармакокинетики является кажущийся объём распределения ЛВ, который обычно неэквивалентен анатомическому объёму, а отражает распределение препарата и степень его связывания в организме. Так, если препарат преимущественно связывается белками крови, объём распределения будет меньше, чем реальный объём жидкости. С другой стороны, преимущественное связывание препарата во внесосудистом пространстве приводит к превышению значения объёма распределения над реальным объёмом жидкости [35]. Объём распределения количественно определяется по соотношению клиренса и константы элиминации — $(Cl/F)/k_{el}$, где Cl/F представляет собой константу очищения плазмы крови от ЛВ, а k_{el} — скорость, с которой этот процесс происходит. Значения объёма распределения сильно различаются у животных разных видов и человека (до 20 раз): у обезьян отмечены самые низкие значения, у кроликов — самые высокие [19, 37–39]. Зная объём распределения у животных и связывание с белками плазмы крови, можно оценить величину объёма распределения у человека. Однако этот подход прогнозирования может быть использован не для всех ЛВ.

Установлена аллометрическая зависимость между скоростью распределения ЛВ в органы и ткани, потоком крови, проходящим через них с лёгкостью, с которой молекулы ЛВ проходят через стенку капилляров в клетки [38, 39]. Время кровообращения у крыс массой 250 г составляет 15 с, у человека массой 70 кг — 50 с, это означает, что молекулы ЛВ в 4 раза быстрее циркулируют в организме у крыс. Аналогично как печёночный, так и почечный кровоток снижается с увеличением массы тела. Так же хорошую аллометрическую зависимость показывает скорость клубочковой фильтрации (СКФ) и количество нефронов в почках: у человека СКФ почти в 5 раз меньше по сравнению с крысами и в 3 раза меньше по сравнению с кроликами; в ещё большей степени выражены различия в количестве нефронов у человека: в 10 раз меньше по сравнению с крысами и в 5,5 раз по сравнению с кроликами (табл. 4) [38, 39].

Скорость элиминации характеризуется величиной периода полувыведения $t_{1/2\,el}$, т. е. временем, за которое выводится половина ЛВ из организма в неизменённом виде и в виде метаболитов, константой элиминации k_{el} — скоростью, с которой этот процесс происходит, и величиной MRT — временем пребывания ЛВ в организме экспериментальных животных и человека.

Таблица 4

Печёночный и почечный кровоток у крысы и человека

Вид	Печёночный кровоток, мл/мин/кг	Почечный кровоток, мл/мин/кг	Скорость клубочковой фильтрации СКФ, мл/мин/кг	Количество нефронов, на 1 кг массы тела
Крыса	70	55	8,7	$2{,}9 \times 10^5$
Человек	20	15	1,8	$0{,}29 \times 10^5$
Кролик	–	–	4,8	$1{,}60 \times 10^5$

Экскреция ЛВ

Экскреция ЛВ зависит от его природы, амфифильности, молекулярной массы и от вида животного. Так, мыши, крысы и собаки хорошо экскретируют ЛВ в желчь, по сравнению с кроликами, морскими свинками, обезьянами и человеком. Обычно билиарная экскреция преобладает у ЛВ с большой молекулярной массой (более 700 Да), после конъюгирования

с глюкуроновой кислотой, глютатионом и другими соединениями, которые увеличивают полярность ЛВ. Не установлено корреляций между видовыми различиями в печёночном кровотоке и выделением желчи, поэтому трудно прогнозировать билиарную экскрецию у человека по экспериментальным данным. Ряд ЛВ с небольшой молекулярной массой экскретируются в неизмененном виде преимущественно почками. Скорость почечной экскреции или почечный клиренс зависит от почечного кровотока, СКФ, канальцевой секреции и реабсорбции. Величина СКФ сильно различается у животных разных видов: у мышей, крыс, кроликов, собак и человека равна 10,0; 8,7; 4,8; 4,0 и 1,8 мл/мин/кг, соответственно. Значения СКФ и количество нефронов демонстрируют хорошую аллометрическую зависимость, и могут быть использованы для экстраполяции почечного клиренса, полученного на лабораторных животных, на человека [39, 40].

Использование различных подходов для переноса экспериментальных данных по фармакокинетике ЛП у животных на человека

Прогностическая ценность данных экспериментальной фармакокинетики определяется возможностью их межвидовой экстраполяции. Наряду с физиологическим моделированием для этой цели используется аллометрический подход Дедрика, в соответствии с которым фармакокинетические профили ЛВ, различающихся у животных разных видов, можно свести к одному, если для каждого вида использовать не хронологическое, а «фармакокинетическое время», которое определяется скоростью протекания фармакокинетических процессов, присущих данному виду [40]. Несмотря на то что почечный клиренс у человека можно с уверенностью предсказать, используя аллометрический подход, практическое применение этого метода ограничено необходимостью использования не менее 4–5 видов животных [41].

С использованием аллометрического метода на 2 видах животных установлена возможность межвидовой экстраполяции и прогнозирования периода полувыведения N-(5-оксиникотиноил)-L-глютаминовой кислоты у человека, что может быть основой для оптимизации регламента отбора проб при изучении клинической фармакокинетики препарата [42]. Более упрощённая альтернатива предсказанию почечного клиренса у человека заключается в использовании отношения СКФ между крысами и человеком. Отношения почечного клиренса различных ЛВ у крыс и человека примерно равны отношению СКФ, поэтому по их отношению можно примерно оценить почечный клиренс у человека [4, 19, 41].

Для межвидового переноса фармакокинетических параметров с животных на человека большое значение имеет выбор животного по биохимическим параметрам, наиболее близкого к человеку. По многим параметрам, в том числе, сходству изоферментов цитохрома Р-450 обезьяны наиболее близки к человеку, поэтому они рассматриваются как наиболее перспективная модель для изучения фармакокинетики новых ЛВ с целью переноса полученных экспериментальных данных на человека [43, 44]. Однако в настоящее время нет единого мнения о том, какой вид животного предпочтителен в плане переноса фармакокинетических данных на человека. Подавляющее большинство исследований по фармакокинетике и межлекарственному взаимодействию проводится на крысах вследствие дешевизны, близости процессов биотрансформации и её интенсивности у крыс и человека. Кроме того, как ранее было сказано, имеются данные о сходстве в субстратной специфичности изоформ цитохрома Р-450 у человека и крыс [32, 45]. В связи с высокой степенью гомологичности изоферментов у крыс и человека, результаты доклинического исследования на этом виде животных обладают важным прогностическим значением при переносе данных на человека [45].

Межвидовые различия фармакокинетики новых нейротропных лекарственных средств пептидной структуры

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» в течение ряда лет, на основе предложенной проф. *Гудашевой Т.А.* стратегии дизайна новых коротких пептидов – аналогов природных нейропептидов [13], успешно разрабатывается направление исследований по созданию и внедрению в медицинскую практику нейротропных лекарственных средств на основе аналогов природных нейропептидов, превосходящих по нейротропной активности прототипы. Ноопепт – этиловый эфир N-фенилацетилпролил-L-глицина – пептидный аналог вазопрессина и пирацетама, улучшающий нарушенные когнитивные функции, с 2006 года внедрён в медицинскую практику в качестве ноотропного средства; дилепт – метиловый эфир N- капроил-L-пролил-L-тирозина – дипептидный аналог природного антипсихотика нейротензина, прошёл стадии доклинического и клинического (I фаза) изучения, в настоящее время решается вопрос о его внедрении в медицинскую практику; селективный анксиолитик – соединение ГБ-115 (амид фенил-гексаноил-пролил-L-триптофана), дипептидный аналог тетрапептида холецистокинина-4, прошел стадию доклинического и клинического (I фаза) изучения, разработана новая технология таблеточной ЛФ на основе микронизированной субстанции с использованием активных систем доставки действующего вещества с улучшенными фармакокинетическими свойствами. В настоящее время также решается вопрос о его внедрении в клиническую практику в качестве анксиолитика для лечения тревожных состояний и фобий, а также в качестве антиалкогольного средства для купирования синдрома абстиненции.

Таблица 5

Фармакокинетические параметры ноопепта и его основных метаболитов в плазме крови крыс

Параметры, размерность	Ноопепт	Фенилацетил-пролил-глицин	Фенилацетил-пролин	Циклопролил-глицин (ЦПГ)
$AUC_{0\to\infty}$, мкг/мл×ч	0,220 ± 15,45	14,50 ± 1,18	12,76 ± 1,268	2,80 ± 0,32
k_{el}, $ч^{-1}$	5,78 ± 0,52	0,23 ± 0,038	0,12 ± 0,097	0,26 ± 0,05
$t_{1/2\ el}$, ч	0,16 ± 0,017	3,11 ± 0,32	4,98 ± 0,45	2,68 ± 0,043
MRT, ч	0,42 ± 0,04	3,32 ± 0,29	3,53 ± 0,42	2,92 ± 0,28
Cl/F, л/кг/ч	227,23 ± 25,45	–	–	–
V_d/F, л	39,32 ± 0,32	–	–	–
C_{max}, мкг/мл	0,82 ± 48,78	3,97 ± 0,378	1,95 ± 0,34	0,83 ± 0,078
T_{max}, ч	0,33 ± 0,03	0,50 ± 0,045	1,00 ± 0,09	0,50 ± 0,056

Ноопепт

Фармакокинетику ноопепта изучали на животных 2-х видов (крысах и кроликах) и у человека (пациентов с лёгкими нарушениями когнитивных функций и травмами головного мозга) в дозах 50, 40 и 20 мг/кг, соответственно (однократно). Детальное описание регламента проведения экспериментов, интервалы забора крови, использование инструментального оборудования для изучения фармакокинетики и количественного определения ноопепта и его активного метаболита, расчёт основных фармакокинетических параметров представлены в ранее опубликованных работах [46–51]. В результате проведённых исследований было установлено, что ноопепт в неизменённом виде определяется в плазме крови крыс в течение 25 мин после введения, что значительно больше по сравнению с природными нейропептидами и, независимо от способа введения, быстро и интенсивно метаболизируется с образованием 3-х основных метаболитов: N-фенилацетилпролил-L-глицина, N- фенилацетилпролина и циклопролил-глицина (ЦПГ). ЦПГ обнаруживается не только в плазме, но и мозге крыс и также, как исходное соединение, обладает антиамнестической активностью [48]. Основные фармакокинетические параметры ноопепта и его метаболитов представлены в табл. 5.

Из данных табл. 5 видны значительные различия в величинах максимальных концентраций и площадей под фармакокинетическими кривыми идентифицированных метаболитов, которые многократно превосходят аналогичные параметры неизменённого ноопепта. Кроме того, метаболиты намного медленнее выводятся из организма крыс по сравнению с исходным соединением, на что указывает уменьшение константы элиминации и увеличение величин $t_{1/2\ el}$ и MRT по сравнению с аналогичными параметрами ноопепта.

В табл. 6 представлены основные фармакокинетические параметры ноопепта у крыс и кроликов после введения субстанции и таблеток в дозе 50 мг/кг и у человека после однократного приёма 2 таблеток ноопепта по 10 мг.

При сравнении фармакокинетических параметров ноопепта после перорального введения субстанции экспериментальным животным видно, что у кроликов они значительно отличаются от параметров у крыс на всех стадиях фармакокинетики препарата. Так, на стадии абсорбции величина максимальной концентрации у кроликов в 2 раза выше, а время её достижения меньше, чем у крыс; при этом скорость абсорбции у кроликов уменьшается на 38 %, а время абсорбции увеличивается почти в 2 раза, то есть у кроликов процесс абсорбции ноопепта происходит медленнее. Вследствие этого, пло-

Таблица 6

Основные фармакокинетические параметры неизменённого ноопепта у крыс, кроликов и человека после однократного перорального введения (приёма) субстанции и таблеток ноопепта

Параметры, размерность	Крысы, субстанция	Кролики, субстанция	Крысы, таблетки	Кролики, таблетки	Человек, таблетки
C_{max}, нг/мл	820 ± 37,8	1070 ± 74,9	860 ± 38,10	930 ± 65,1	22,21 ± 0,32
T_{max}, ч	0,33 ± 0,045	0,25 ± 0,033	0,50 ± 0,06	0,39 ± 0,03	0,25 ± 0,15
$AUC_{0\to\infty}$, нг/мл×ч	220 ± 15,4	700 ± 63,0	290 ± 26,12	690 ± 58,3	12,78 ± 6,62
$C_{max}/AUC_{0\to\infty}$, $ч^{-1}$	3,73 ± 0,32	1,64 ± 0,15	2,97 ± 0,25	1,39 ± 0,13	1,738 ± 0,75
MAT, ч	0,22 ± 0,18	0,40 ± 0,035	0,41 ± 0,035	0,52 ± 0,058	–
k_{el}, $ч^{-1}$	5,78 ± 0,52	2,86 ± 0,25	4,69 ± 0,38	2,40 ± 0,22	2,55 ± 0,32
$t_{1/2\ el}$, ч	0,12 ± 0,015	0,25 ± 0,023	0,15 ± 0,016	0,30 ± 0,056	0,27 ± 0,20
MRT, ч	0,42 ± 0,03	0,63 ± 0,054	0,62 ± 0,053	0,75 ± 0,53	0,57 ± 0,14
CL/F, л/кг/ч	227,273 ± 25,45	71,42 ± 6,78	172,41 ± 17,51	72,46 ± 8,98	22,356 ± 2,46
V_d/F, л	39,32 ± 0,35	0,56 ± 0,09	36,96 ± 0,56	0,69 ± 0,11	1,56 ± 0,35

щадь под фармакокинетической кривой у кроликов более чем в 3 раза больше по сравнению с этим параметром у крыс и величина биодоступности больше. Свой вклад в увеличение площади под фармакокинетической кривой ноопепта у кроликов вносит значительное снижение (более чем в 3 раза) величины плазменного клиренса; кроме того, уменьшение величины константы элиминации и увеличения периода полувыведения ноопепта у кроликов по сравнению с аналогичными параметрами у крыс приводит к увеличению биодоступности ноопепта у кроликов. Следует отметить, что организм кроликов медленнее освобождается от препарата по сравнению с крысами: величина MRT у кроликов значительно больше по сравнению с аналогичным параметром у крыс. В то же время объём распределения более чем в 6 раз меньше у кроликов, чем у крыс. Аналогичные видовые различия в фармакокинетике экспериментальных животных наблюдались и после введения таблеточной ЛФ ноопепта, при этом следует отметить увеличение величин MRT и объёма распределения, которое указывает на улучшение распределения препарата в организме кроликов после введения таблеток.

После перорального приёма таблеток ноопепта в дозе 20 мг у пациентов наблюдается значительная индивидуальная вариабельность фармакокинетических параметров. Вследствие разницы в дозах у животных и пациентов, правомерно можно оценивать только дозонезависимые параметры, характеризующие процесс элиминации. Следует отметить значительно меньшую величину плазменного клиренса у пациентов, особенно при сравнении с этим параметром у крыс.

В плазме крови кроликов были идентифицированы метаболиты ноопепта, аналогичные метаболитам у крыс, но их количественное определение не проводилось из-за низких концентраций, что указывает на меньшую интенсивность пресистемной элиминации ноопепта у этого вида животных по сравнению с крысами и объясняет высокие концентрации неизменённого ноопепта и $AUC_{0\to\infty}$ у кроликов.

При изучении фармакокинетики ноопепта у пациентов метаболиты не были обнаружены, возможно, вследствие использования низкой дозы препарата, его менее интенсивной пресистемной элиминации и ограниченной чувствительности метода ВЭЖХ (100 нг/мл плазмы). Такие же межвидовые различия в активности метаболизирующих систем ноопепта у крыс и человека были получены и в опытах *in vitro*: за 1 час инкубации субстанции с плазмой крови крыс, препарат почти полностью метаболизировался, в то время как в присутствии плазмы человека 90 % добавленного ноопепта сохранялось в неизменённом виде [52].

Таким образом, подводя итог данному этапу исследования межвидовых различий фармакокинетики ноопепта у животных 2-х видов и человека, можно сделать заключение о более полной абсорбции и более высокой биодоступности препарата у кроликов после введения как субстанции, так и таблеток, а также о его менее интенсивной пресистемной элиминации у кроликов и человека по сравнению с этими процессами у крыс, что связано с различиями в активности метаболизирующих систем ЖКТ и скорости кровотока в ЖКТ у животных и человека. Следует отметить прогностическую ценность значения параметра периода полувыведения ноопепта у кроликов при переносе данных на человека для расчёта дозы и режима применения препарата у пациентов.

Дилепт

Фармакокинетику дилепта изучали на 2-х видах животных: крысах в дозе 200 мг/кг, кроликах в дозе 40 мг и у человека в 3 дозах: 20, 40 и 60 мг. Регламент проведения изучения экспериментальной и клинической фармакокинетики, экстракция и количественное определение дилепта и его метаболитов, использование инструментального оборудования, расчёт фармакокинетических параметров, статистическая обработка полученных результатов описаны в ранее опубликованных работах [22, 53–57].

Методом хроматографии – масс-спектрометрии установлено, что после перорального введения субстанции дилепта крысам препарат быстро поступает в системный кровоток в невысокой концентрации, несмотря на дозу 200 мг/кг, определяется в плазме крови крыс более продолжительное время (в течение 1 часа после введения) по сравнению с нейротензином, период полувыведения которого составляет 2–5 мин. При этом дилепт подвергается интенсивной биотрансформации с образованием 2-х основных продуктов метаболизма: М-1 – N-капроил-L-пролил-L-тирозина под воздействием эстеразы и М-2 – N-капроил-L-пролина под влиянием пептидаз и цитохрома Р-450, локализованных в ЖКТ экспериментальных животных. Установлено, что метаболит М-1 обладает собственной фармакологической активностью [54]. Идентифицированные метаболиты, особенно М-2, определяются в плазме крови крыс в более высоких концентрациях и более продолжительное время (в течение 4–6 часов) по сравнению с неизменённым препаратом, который определяется в плазме крови крыс в течение 60 мин.

Фармакокинетические параметры дилепта и его основных метаболитов у крыс и кроликов после перорального введения субстанции и таблеточной массы дилепта представлены в табл. 7.

Низкая величина максимальной концентрации дилепта в плазме крови крыс и небольшая величина площади под фармакокинетической кривой, отражающая низкую биодоступность дилепта после перорального введения субстанции, связана не только с интенсивной пресистемной элиминацией препарата, но и большими значениями величин плазменного клиренса и объёма распределения, свидетельствующими о том, что дилепт быстро покидает сосудистое русло и хорошо распределяется во внутриклеточном пространстве организма крыс.

Таблица 7

Основные фармакокинетические параметры дилепта и его метаболитов (М1 и М2) в плазме крови крыс после перорального введения субстанции и таблеток дилепта в дозе 200 мг/кг и кроликов в дозе 40 мг

Объект	$AUC_{0\to t}$, нг/мл×ч	$AUC_{0\to\infty}$, нг/мл×ч	C_{max}, нг/мл	T_{max}, ч	k_{el}, $ч^{-1}$	$t_{1/2\ el}$, ч	MRT, ч	CL/F/ л/ч/кг	Vd/F л/кг	$C_{max}/AUC_{0\to\infty}$, $ч^{-1}$
Крысы, субстанция										
Дилепт	2,5 ± 0,18	2,72 ± 0,2	8,5 ± 0,67	0,25 ± 0,09	1,5 ± 0,33	0,25 ± 0,019	0,7 ± 0,09	80,502 ± 5,64	52,968 ± 4,82	3,125 ± 0,3
М-1	1047,32 ± 83,30	1198 ± 0,09	506,6 ± 35,46	0,33 ± 0,03	0,33 ± 0,026	2,09 ± 0,15	1,37 ± 0,028	–	–	–
М-2	61168 ± 4268	62300 ± 4400	22,77 ± 0,23	1,0 ± 0,085	0,09 ± 0,03	7,18 ± 0,07	2,54 ± 0,19	–	–	–
Крысы, таблетки										
Дилепт	8,0 ± 0,56	11,60 ± 0,91	20,1 ± 1,5	0,17 ± 0,06	1,26 ± 0,08	0,55 ± 0,08	0,85 ± 0,1	17,24 ± 1,41	13,68 ± 0,98	2,503 ± 0,18
М-1	170,90 ± 19,96	186,30 ± 1462	188,0 ± 15,16	0,17 ± 0,04	0,60 ± 0,04	1,14 ± 008	1,61 ± 0,13	–	–	–
М-2	13209,3 ± 924	24309,2 ± 1702	7046,2 ± 493,35	0,17 ± 0,06	0,24 ± 0,02	2,87 ± 0,32	4,80 ± 0,43	–	–	–
Кролики, субстанция										
Дилепт	4,41 ± 1,96	4,96 ± 1,91	2,84 ± 0,94	0,75 ± 0,2	0,66 ± 0,3	1,05 ± 0,26	1,45 ± 0,26	8,07 ± 0,58	11,68 ± 1,82	0,65 ± 0,055
Кролики, таблетки										
Дилепт	4,04 ± 1,96	4,41 ± 1,91	3,59 ± 1,94	0,69 ± 0,2	0,65 ± 52,810,08	1,06 ± 0,26	1,46 ± 0,26	9,07 ± 0,84	13,11 ± 0,98	0,89 ± 0,086
М-1	6,49 ± 2,36	7,31 ± 2,22	4,4 ± 1,91	0,670 ± 0,246	1,18 ± 0,5	2,00 ± 0,68	–	–	–	–
М-2	508,33 ± 142,8	545,45 ± 155,4	239,2 ± 45,5	0,50 ± 0,1	1,44 ± 0,3	2,33 ± 0,40	–	–	–	–

После введения таблеточной массы дилепта крысам наблюдается увеличение процесса абсорбции препарата: увеличивается величина его максимальной концентрации и уменьшается время её достижения, при этом возрастает значение площади под фармакокинетической кривой (на 32 %), что свидетельствует о лучшем и более полном всасывании дилепта после введения таблеточной массы препарата. Кроме того, изменяются и параметры, характеризующие процесс элиминации дилепта: величина плазменного клиренса уменьшается более чем в 5 раз и объёма распределения в 4 раза, то есть препарат после введения таблеток более длительное время находится в сосудистом русле и подвергается пресистемной элиминации в меньшей степени, чем после введения субстанции. Изменение этих параметров вносит значительный вклад в повышение биодоступности дилепта что, возможно, связано также с составом вспомогательных веществ таблеточной ЛФ, наличием в ней лудипресса, замедляющего метаболизм препарата. При этом интенсивность биотрансформации значительно замедляется: степень превращения дилепта для М-1 и М-2, рассчитываемая по соотношению $AUC_{0\to t}$М-1/$AUC_{0\to t}$ дилепта и $AUC_{0\to t}$ М-2/$AUC_{0\to t}$ дилепта, соответственно, после введения таблеток у крыс составляет для М-1 – 21,3 и для М-2 – 1 645, что значительно меньше по сравнению с этими параметрами после введения субстанции дилепта у этого вида животных (418 и 24 467).

При сравнении фармакокинетических параметров дилепта и его метаболитов у 2-х видов животных после перорального введения таблеток видны значительные различия на всех стадиях фармакокинетики как самого дилепта, так и его метаболитов. У кроликов препарат медленнее всасывается по сравнению с крысами: время достижения максимальной концентрации составляет в среднем 0,75 часа, в то время как у крыс он равен 0,25 часа. Кроме того, скорость всасывания у кроликов в 3 раза меньше, чем у крыс и составляет 0,89 ч, в то время как у крыс этот параметр равен 2,53 ч. Значительно отличаются и параметры, характеризующие процесс элиминации дилепта у экспериментальных животных. Так, у кроликов константа элиминации меньше, а период полувыведения продолжительнее, чем у крыс, при этом величина объёма распределения у животных обоих видов сопоставима, что свидетельствует об интенсивном проникании дилепта в органы и ткани и близком характере распределения нейролептика во внесосудистом пространстве у обоих видов животных.

При изучении метаболизма дилепта показано, что фармакокинетические параметры свидетельствуют о его быстром и интенсивном превращении в метаболиты: М-1 и М-2, причём эти процессы одинаковые по направленности метаболизма у крыс и кроликов, но имеют межвидовые различия в количественном отношении. Так, степень превращения дилепта в ак-

тивный метаболит М-1 у кроликов менее выражена и составляет 1,6 по сравнению с крысами, у которых она равна 21,3. Кроме того, у крыс преобладает процесс превращения дилепта в неактивный метаболит М-2. Таким образом, наблюдаются значительные межвидовые различия фармакокинетики дилепта у 2-х видов животных, заключающиеся в лучшей и более полной абсорбции препарата и его менее интенсивной пресистемной элиминации у кроликов по сравнению с крысами. У кроликов наблюдается более продолжительное протекание всех фармакокинетических процессов в сравнении с крысами.

Клиническая фармакокинетика дилепта

Изучение фармакокинетики дилепта у добровольцев проведено в рамках I фазы клинических исследований по стандартизированному протоколу на 3-х группах добровольцев (массой тела 73,4 ± 7,5 кг, $n = 20$), получавших таблетки дилепта в дозах 20, 40 и 60 мг. В связи с тем, что не у всех добровольцев удалось измерить концентрации неизменённого препарата во все дискретные интервалы времени после приёма препарата и большой вариабельностью его концентраций в плазме крови добровольцев, фармакокинетика дилепта была изучена у 3-й группы добровольцев, получавших препарат в дозе 60 мг. На основании полученных данных были рассчитаны основные фармакокинетические параметры дилепта и его метаболитов у добровольцев указанной группы, которые представлены в табл. 8.

У добровольцев время достижения максимальной концентрации составляет 0,4 часа, что значительно больше, чем у крыс, но в 1,7 раза меньше, чем у кроликов. Период полувыведения дилепта у добровольцев больше в 3,45 раз, чем соответствующий параметр у крыс и в 1,61 раза больше, чем у кроликов: при этом соотношение величин периода полувыведения дилепта кролик/крыса составляет 1,92. Несмотря на выраженные межвидовые различия, период полувыведения у человека ближе к аналогичному параметру у кроликов.

При сравнении биотрансформации дилепта у экспериментальных животных и человека было установлено, что его степень превращения в активный метаболит М-1 у крыс наиболее интенсивная (21,3), у кроликов самая низкая (1,6), а у человека (5,8) занимает промежуточное положение между величинами этого параметра у экспериментальных животных. Степень превращения дилепта в метаболит М-2 самая интенсивная у крыс – 1 645,0; у человека – 658,5; самая низкая у кроликов – 125,8. Приведённые данные указывают на более медленный процесс превращения дилепта в метаболиты как М-1, так и М-2 у кроликов. Превращение дилепта в метаболит М-2, более интенсивно протекающий у крыс, указывает на межвидовые различия в активности и специфичности ферментов, метаболизирующих исследуемый нейролептик.

Межвидовая экстраполяция фармакокинетических параметров дилепта

Аллометрический метод межвидовой экстраполяции фармакокинетических данных широко используется в фармакологии уже более 50 лет.

Желательным условием применения этого метода является линейность фармакокинетики препарата в изучаемом диапазоне доз, а также подобие направления биотрансформации у человека и животных, которые используются в расчётах. Тем не менее, в литературе имеются примеры, когда данное условие не является обязательным для успешного применения аллометрического подхода, в случае с близким направлением метаболизма лекарственного вещества у животных и человека.

В данном разделе описывается аллометрический подход, который был использован для прогностической оценки фармакокинетических параметров дилепта у человека по результатам фармакокинетического изучения у кроликов и крыс.

Исследование проведено на белых беспородных крысах-самцах массой 200 ± 20 г ($n = 6$), кроликах-самцах породы шиншилла массой 2,8–3,0 кг ($n = 6$).

Полученные результаты были статистически обработаны. Определение фармакокинетических параметров проводили модельно-независимым методом. Расчёт фармакокинетических параметров, полученных на крысах, проводили по усреднённым фармакокинетическим профилям неизменённого препарата и его метаболитов.

Для проверки линейности фармакокинетики дилепта у кроликов его профили характеризовали рассчитанными методом трапеций значениями площади под фармакокинетической кривой ($AUC_{0\to t}$) в пределах от нуля до момента времени отбора последней пробы крови, содержащей значимое количество ЛВ, после введения наименьшей дозы дилепта.

Межвидовые соотношения для фармакокинетических параметров ЛВ формируются на основе концепции биологического подобия, согласно которой у мелких

Таблица 8

Основные фармакокинетические параметры дилепта и его основных метаболитов у добровольцев после однократного приёма таблеток в дозе 60 мг

Объект	$AUC_{0\to t}$, нг/мл×ч	$AUC_{0\to\infty}$, нг/мл×ч	T_{max}, ч	C_{max}, нг/мл	k_{el}, $ч^{-1}$	$t_{1/2\,el}$, ч	MRT, ч	$C_{max}/AUC_{0\to\infty}$, $ч^{-1}$
Дилепт	0,62 ± 0,4	1,51 ± 0,29	0,4 ± 0,2	1,09 ± 0,66	0,947 ± 1,05	1,90 ± 2,10	3,10 ± 2,70	0,72 ± 0,07
М-1	3,59 ± 1,69	5,18 ± 2,64	0,75 ± 0,29	6,94 ± 4,64	0,468 ± 0,191	1,84 ± 1,18	3,49 ± 3,34	1,34 ± 0,09
М-2	408,29 ± 152,26	411,46 ± 151,99	1,30 ± 0,67	189,23 ± 108,12	0,635 ± 0,150	1,16 ± 0,34	1,14 ± 0,19	0,46 ± 0,06

и крупных животных скорости протекания основных физиологических процессов одинаковы, если в качестве параметра «время» использовать не астрономическое (хронологическое), а «биологическое» или «физиологическое» время.

Для отображения полученных данных на основе аллометрического подхода использовали метод Дедрика, где хронологические времена отбора проб крови у животных пересчитывали в соответствующие «фармакокинетические времена» по уравнению:

$$t_{pk} = t/m^{0,25} \quad (1),$$

где:
t_{pk} – *«фармакокинетическое время»*;
m – *масса тела кролика или крысы, кг.*

По профилям изменения концентраций дилепта в плазме крови кроликов в координатах Дедрика модельно-независимым методом рассчитывали период полуэлиминации препарата ($t_{1/2\ el}$), выраженного в «фармакокинетическом времени» ($t_{1/2\ pk}$). Величину $t_{1/2\ el}$ дилепта у человека рассчитывали по уравнению:

$$t_{1/2\ el\ h} = t_{1/2\ pk} \times 73,4^{0,25} \quad (2),$$

где:
73,4 – *средняя масса тела добровольцев, кг.*

В табл. 9, 10, 11 представлены средние концентрации дилепта в плазме крови кроликов после однократного перорального введения субстанции в дозах 20, 40 и 60 мг, на их основе рассчитывали фармакокинетические параметры, представленные в табл. 12, которые в дальнейшем использовали для оценки гипотезы линейности фармакокинетики дилепта в плазме крови экспериментальных животных.

Статистический анализ фармакокинетических данных может обойти неопределённость, связанную с дозозависимостью, в ситуации, когда исследуемое вещество находится в системном кровотоке. В самом деле, при повышении дозы препарата его кинетика может стать нелинейной (непропорциональное увеличение рассматриваемого параметра в зависимости от дозы). Общий метод оценки пропорциональности доз заключается в нормировании значений $AUC_{0\to t}$ или $AUC_{0\to\infty}$ к дозе и оценка постоянства отношений между исследуемыми дозами. В некоторых случаях нелинейность может быть не очевидна вследствие вариабельности измеряемого показателя. Решить эту проблему может нелинейная степенная модель.

Пропорциональную (линейную) зависимость можно записать в виде степенной функции:

$$AUC = a \times доза^{b},$$

где:
b – *константа пропорциональности*;
a – *точка пересечения функции с осью абсцисс*.
Линеаризация этой зависимости даёт

Таблица 9

Концентрации дилепта (нг/мл) в плазме крови кроликов после однократного перорального введения субстанции в дозе 20 мг

№ п/п	Время, ч							
	0,00	**0,25**	**0,5**	**0,75**	**1,0**	**2,0**	**4,0**	**6,0**
1	0,00	0,30	0,82	0,94	0,81	0,32	0,00	0,00
2	0,00	0,17	0,64	1,12	0,87	0,42	0,16	0,00
3	0,00	0,22	1,02	1,29	0,94	0,56	0,21	0,00
4	0,00	0,15	0,74	1,39	0,72	0,36	0,00	0,00
5	0,00	0,24	1,18	2,02	1,34	0,51	0,22	0,00
6	0,00	0,20	0,72	1,60	1,09	0,44	0,15	0,00
$\bar{x}$	0,00	0,21	0,85	1,39	0,96	0,44	0,12	0,00
SD	0,00	0,05	0,21	0,38	0,22	0,09	0,10	0,00
CV%	0,00	25,10	24,12	27,35	23,25	20,65	80,54	0,00

Таблица 10

Концентрации дилепта (нг/мл) в плазме крови кроликов после однократного перорального введения субстанции в дозе 40 мг

№ п/п	Время, ч							
	0,00	**0,25**	**0,50**	**0,75**	**1,0**	**2,0**	**4,0**	**6,0**
1	0,00	0,56	0,72	1,44	0,92	0,51	0,21	0,00
2	0,00	0,26	1,06	2,06	1,44	0,65	0,19	0,00
3	0,00	0,71	3,12	4,12	2,07	1,16	0,33	0,00
4	0,00	0,25	2,16	3,29	2,35	1,16	0,41	0,00
5	0,00	0,42	1,87	3,12	4,64	1,52	0,47	0,00
6	0,00	0,61	1,65	3,02	1,73	0,81	0,29	0,00
$\bar{x}$	0,00	0,47	1,76	2,84	2,19	0,97	0,32	0,00
SD	0,00	0,19	0,85	0,95	1,30	0,38	0,10	0,00
CV%	0,00	40,55	48,16	33,46	59,24	39,03	29,49	0,00

Таблица 11

Концентрации дилепта (нг/мл) в плазме крови кроликов после однократного перорального введения субстанции в дозе 60 мг

№ п/п	Время, ч						
	0,25	**0,5**	**0,75**	**1,0**	**2,0**	**4,0**	**6,0**
1	0,82	1,56	3,07	2,12	1,61	0,62	0,15
2	1,08	2,32	4,12	1,63	0,92	0,44	0,00
3	1,32	3,62	4,68	2,29	1,24	0,56	0,21
4	0,78	2,02	3,22	2,18	0,96	0,38	0,00
5	1,10	2,39	3,88	1,63	0,74	0,26	0,00
6	1,18	3,12	5,01	2,63	1,07	0,49	0,22
$\bar{x}$	1,05	2,51	4,00	2,08	1,09	0,46	0,10
SD	0,21	0,75	0,77	0,39	0,30	0,13	0,11
CV%	19,99	29,86	19,33	18,78	27,88	28,16	112,31

Таблица 12

Усредненные фармакокинетические параметры дилепта в плазме крови кроликов после однократного перорального введения субстанции в дозах 20, 40 и 60 мг

Фармакокинетические параметры	Доза, мг		
	20	40	60
C_{max}, нг/мл	1,393	2,840	3,997
T_{max}, ч	0,75	0,75	0,75
$AUC_{0\to t}$, нг/мл×ч	1,991	4,411	5,281
k_{el}, $ч^{-1}$	0,722	0,661	0,601
$AUC_{0\to\infty}$, нг/мл×ч	2,162	4,960	6,044
$t_{1/2\ el}$, ч	0,96	1,05	1,15
MRT, ч	1,35	1,45	1,59

$$\lg AUC = \lg a + \lg доза \times b$$

При $b = 1$ зависимость является пропорциональной, другими словами, линейной. Следовательно, данный тип модели может количественно оценить отклонение от линейности фармакокинетики. Аналогичные рассуждения справедливы относительно другого фармакокинетического параметра – C_{max}.

На рис. 1 и 2 представлены графические зависимости десятичных логарифмов площади под фармакокинетической кривой и максимальной концентрации дилепта в плазме крови кроликов от десятичного логарифма введённой дозы препарата. Из рисунков видно, что показатель *b*, характеризующий наклон кривых достоверно приближается к 1. Для AUC показатель составил 0,962 и для C_{max} – 0,967. Таким образом, можно сделать вывод, что кинетика дилепта в плазме крови кроликов линейна в диапазоне доз 20–60 мг.

С целью оценки возможной межвидовой экстраполяции фармакокинетических данных усреднённые значения концентрации дилепта у крыс и кроликов были представлены в координатах Дедрика. Для этого хронологические времена отбора проб крови были пересчитаны в «фармакокинетические» по уравнению (1). Полученные данные представлены в виде соответствующих усреднённых профилей на рис. 3.

Рассчитанные фармакокинетические параметры показали, что использование «фармакокинетического времени» позволяет добиться небольшого расхождения дозонезависимых параметров дилепта, полученных для крыс и кроликов при одном и том же значении $t \times m^{-0,25}$, и рассчитать соответствующий $t_{1/2\ h}$ у человека.

На основании полученных данных рассчитаны дозонезависимые фармакокинетические параметры дилепта с поправкой на фармакокинетическое время, которые представлены в табл. 13.

Рассчитанные фармакокинетические параметры показали, что использование «фармакокинетического времени» позволяет добиться небольшого расхождения дозонезависимых параметров дилепта, полученных для

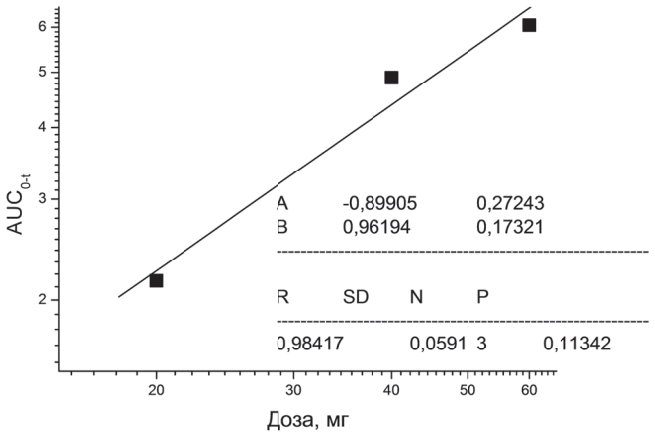


Рис. 1. Проверка гипотезы линейности фармакокинетики ($AUC_{0\to t}$) дилепта у кроликов от дозы препарата

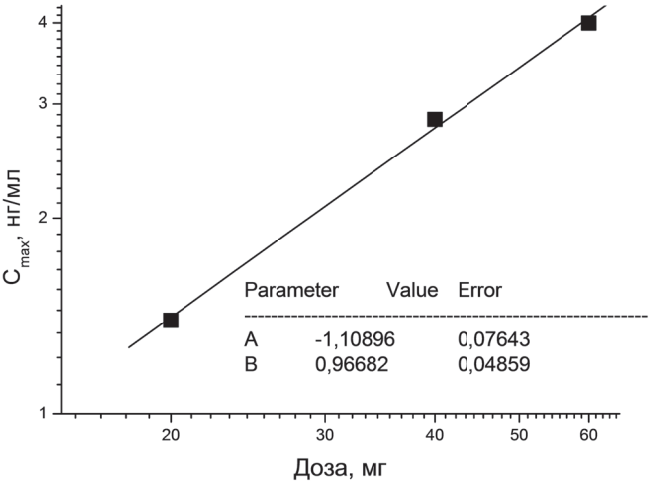


Рис. 2. Проверка гипотезы линейности фармакокинетики (C_{max}) дилепта у кроликов от дозы препарата

крыс и кроликов при одном и том же значении $t \times m^{-0,25}$, и рассчитать соответствующий $t_{1/2\ h}$ у человека.

Представленные в табл. 13 величины периодов полувыведения ($t_{1/2\ pk}$) дилепта у крыс и кроликов использовали для расчёта соответствующего параметра у человека. Установлено, что прогностическая величина $t_{1/2}$ у человека на основе данных, полученных на кроликах и крысах, составила 2,25 ч и 2,02 ч, соответственно.

Таблица 13

Усредненные фармакокинетические параметры дилепта в плазме крови после однократного перорального введения таблеток кроликам в дозе 40 мг и крысам таблеточной массы в дозе 200 мг/кг, с поправкой на «фармакокинетическое время»

Параметр	Крысы	Кролики
T_{max}, h	0,23	0,55
k_{el}, h^{-1})	0,99	0,90
$t_{1/2\ pk}$, h	**0,69**	**0,77**
MRT, h	1,14	1,16

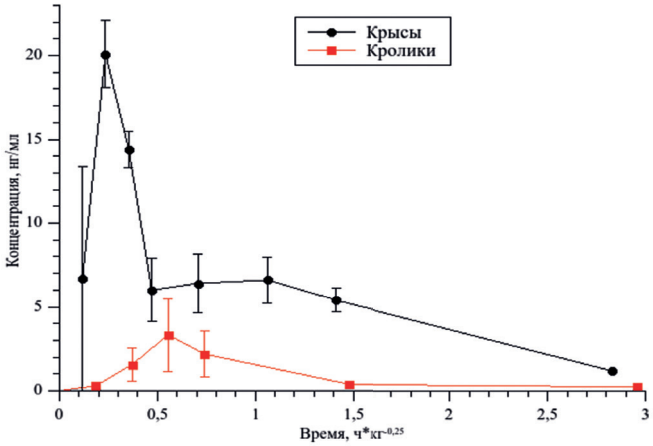


Рис. 3. Усреднённые концентрации дилепта в плазме крови после однократного перорального введения кроликам таблеток в дозе 40 мг (1) и крысам таблеточной массы в дозе 200 мг/кг (2) в координатах Дедрика

В то же время фактические значения $t_{1/2}$, полученные на 2 добровольцах (доза 60 мг) показали, что этот параметр у человека представляет собой крайне вариабельную величину. Период полувыведения дилепта из плазмы крови человека составил 0,41 и 3,41 ч. Среднее значение данного параметра равнялось 1,91 ± 2,12 ч. Таким образом, прогностическая ценность крыс, как модели оценки периода полувыведения дилепта у человека, оказалась более близкой по сравнению с кроликами. Однако в связи с большой вариабельностью периода полувыведения дилепта у человека требуется провести более детальное изучение клинической фармакокинетики препарата на большем количестве пациентов после получения разрешения на медицинское применение дилепта с целью подтверждения сделанного вывода.

Таким образом, на основании данных, полученных на крысах и кроликах, проведена межвидовая экстраполяция фармакокинетических параметров дилепта. Установлено, что фармакокинетика дилепта у кроликов в диапазоне доз 20–60 мг имеет линейную зависимость. Показана возможность межвидовой экстраполяции фармакокинетики и прогнозирование периода полувыведения дилепта у человека на основании данных, полученных на животных.

Анксиолитик ГБ-115

Исследование фармакокинетики анксиолитика ГБ-115 проведено на 2-х видах животных (крысах и кроликах) в дозах 100 мг/кг и 100 мг, соответственно, и добровольцах 5 групп в дозах 1, 3, 7, 11 и 15 мг. Регламент эксперимента, подбор животных и добровольцев, интервалы отбора крови, методы экстракции и использование аналитического оборудования для количественного определения соединения ГБ-115, методы расчёта фармакокинетических параметров, основные результаты опубликованы ранее [58–63].

При сравнительном изучении фармакокинетики субстанции ГБ-115 у 2-х видов животных были установлены межвидовые различия на всех стадиях фармакокинетики изучаемого соединения. Основные фармакокинетические параметры у крыс и кроликов после перорального введения субстанции ГБ-115 представлены в табл. 14.

После перорального введения крысам субстанции, соединение ГБ-115 быстро всасывается из ЖКТ и достигает максимальной концентрации через 15 мин после введения, определяется в системном кровотоке в течение 1 часа, что значительно превосходит период полувыведения его прототипа – холецистокинина-4, который составляет несколько минут [2]. Значения величин параметров элиминации – клиренса, объёма распределения и MRT свидетельствуют о быстром и интенсивном распределении препарата из центрального кровотока в периферические органы и ткани крыс. При сравнении фармакокинетических параметров анксиолитика ГБ-115 у крыс и кроликов после перорального введения субстанции видны значительные различия

Таблица 14

Основные фармакокинетические параметры соединения ГБ-115 после перорального введения субстанции у крыс в дозе 100 мг/кг и у кроликов субстанции и таблеточной лекарственной формы в дозе 100 мг

Параметры, размерность	Крысы, субстанция	Кролики, субстанция	Кролики, таблетки
C_{max}, нг/мл	240 ± 19,2	191,50 ± 39,16	204,05 ± 46,18
T_{max}, ч	0,25 ± 0,03	0,71 ± 0,10	0,79 ± 0,10
$AUC_{0\to t}$(нг/мл×ч)	92,78 ± 8,75	388,54 ± 137,07	464,01 ± 100,48
$AUC_{0\to\infty}$ (нг/мл×ч)	147,50 ± 9,65	447,59 ± 165,0	583,95 ± 180,30
$C_{max}/AUC_{0\to\infty}$	1,63 ± 0,03	0,520 ± 0,101	0,439 ± 0,03
Cl/F, л/кг/ч	1,08 ± 0,08	0,086 ± 0,02	0,057 ± 0,05
k_{el}, $ч^{-1}$	1,76 ± 0,16	0,548 ± 0,133	0,451 ± 0,121
$t_{1/2\ el}$, ч	0,33 ± 0,03	1,32 ± 0,30	1,62 ± 0,39
MRT, ч	5,08 ± 0,36	1,65 ± 0,38	2,04 ± 0,59
V/F, л/кг	0,61 ± 0,09	0,157 ± 0,08	0,126 ± 0,043

на всех стадиях его фармакокинетики. Так, процесс абсорбции препарата в ЖКТ у кроликов после введения субстанции более продолжителен по сравнению с крысами, на что указывает значительное увеличение времени достижения максимальной концентрации (почти в 3 раза) по сравнению с аналогичным параметром у крыс. Видовые различия фармакокинетики препарата наблюдаются и на стадии его элиминации. Из данных, представленных в табл. 14 видно, что значительно (более чем в 3 раза) уменьшается величина константы элиминации соединения ГБ-115 в плазме крови кроликов, следствием этого является увеличение (в 4 раза) его периода полувыведения по сравнению с аналогичными параметрами у крыс. Это приводит к значительному возрастанию (в 3,6 раза) величины площади под фармакокинетической кривой у кроликов по сравнению с этим параметром у крыс, несмотря на более высокую дозу ГБ-115 у крыс (более чем в 3 раза). В то же время величина объёма распределения соединения ГБ-115 в организме кроликов значительно меньше этого параметра у крыс (чем в 3 раза), что свидетельствует о менее продолжительном присутствии анксиолитика в системном кровотоке у кроликов и его лучшем распределении во внесосудистом пространстве (органах и тканях) этих животных. После введения таблеток кроликам улучшаются фармакокинетические параметры, характеризующие абсорбцию препарата: возрастает величина максимальной концентрации и уменьшается время её достижения, при этом величина площади под фармакокинетической кривой увеличивается на 30 %, что обусловлено, помимо улучшения абсорбции препарата, снижением величины плазменного клиренса и константы элиминации на 25 и 20 %, соответственно, а также увеличением периода полувыведения у кроликов. Увеличение величины MRT указывает на более длительное нахождение препарата в неизменённом виде в организме кроликов после введения таблеток по сравнению с субстанцией, что возможно, связано с влиянием вспомогательных веществ лекарственной формы препарата.

Клиническая фармакокинетика ГБ-115

Изучение клинической фармакокинетики соединения ГБ-115 проводили у 5 групп добровольцев (по 3 в каждой группе) после приёма препарата в дозах 1, 3, 7, 11 и 15 мг. Хромато-масс-спектрометрический анализ всех образцов плазмы крови добровольцев показал, что в анализируемых образцах присутствует характеристический молекулярный ион, соответствующий неизменённой молекуле ГБ-115, с $m/z = 435{,}5$ (протонированный ион). Поэтому дальнейший анализ проб плазмы крови проводили по данному характеристическому иону.

Усреднённые фармакокинетические профили ГБ-115 в плазме крови добровольцев после однократного приёма различных доз таблеток ГБ-115 (1, 3, 7, 11 и 15 мг) представлены на рис. 4.

Видно, что снижение концентраций исследуемого лекарственного вещества носит монофазный характер. В зависимости от дозы препарата ГБ-115 определялся в плазме крови всех 15 добровольцев в течение 2–6 ч после приёма препарата.

В табл. 15 представлены фармакокинетические параметры соединения ГБ-115 в плазме крови добровольцев после однократного приёма таблеток ГБ-115 в дозах от 1 до 15 мг. Видно, что большинство рассчитанных фармакокинетических параметров представляют собой сильно вариабельные величины. Так, коэффициент вариации (CV %) для C_{max} колеблется от 17,51 % для дозы 7 мг до 61,19 % для дозы 11 мг.

CV % T_{max} (время достижения максимальной концентрации) для дозы 3 мг составляет 15,75 %, для дозы 15 мг — 44,41 %. Фармакокинетические параметры, независимые от дозы, k_{el} — константа элиминации из плазмы крови, $t_{1/2\,el}$ – период полувыведения, MRT — среднее время удерживания препарата в организме были менее вариабельны. Так, CV % MRT изменялся от 2,74 % для дозы 7 мг до 20,96 % для дозы 15 мг.

Анализ фармакокинетических параметров показал, что ГБ-115 быстро всасывается в системный кровоток из ЖКТ добровольцев. Так, время достижения C_{max} – T_{max} ГБ-115 в плазме крови в среднем изменялось от 0,83 ± 0,14 ч (доза 1 мг) до 1,42 ± 0,63 ч (доза 15 мг). Изучаемое соединение всасывается из ЖКТ после однократного перорального приёма различных доз таблеток ГБ-115 (3, 7, 11 и 15 мг) примерно с одинаковой скоростью ($C_{max}/AUC_{0\to t}$(ч$^{-1}$) — параметр, характеризующий скорость всасывания препарата в системный кровоток). Величины $C_{max}/AUC_{0\to t}$ составили 0,482–0,552 ч$^{-1}$. Исключение составляет величина $C_{max}/AUC_{0\to t}$ после однократного перорального приёма таблеток ГБ-115 в дозе 1 мг (0,975 ч$^{-1}$).

Величины C_{max} в среднем изменялась от 7,29 ± 2,83 нг/мл (доза 1 мг) до 44,02 ± 13,23 нг/мл (доза 15 мг). При этом индивидуальные значения T_{max} колебались от 0,75 до 2,0 ч.

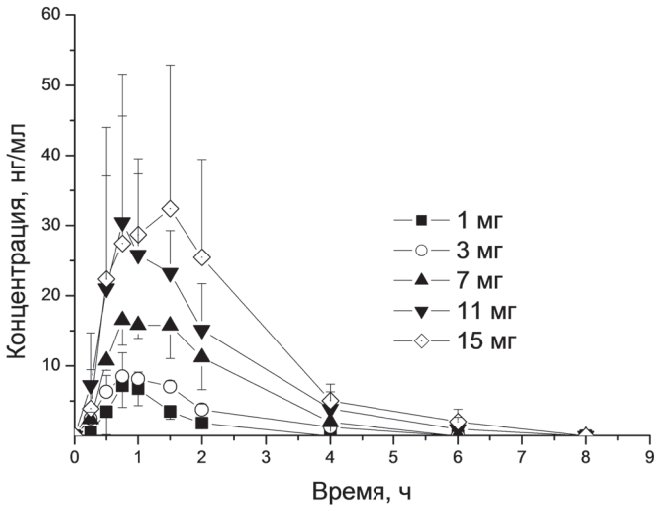


Рис. 4. Усреднённые фармакокинетические профили ГБ-115 в плазме крови добровольцев после однократного приёма различных доз таблеток ГБ-115 ($\bar{x}$ ± SD; $n = 3$ для каждой дозы)

Таблица 15

Фармакокинетические параметры ГБ-115 в плазме крови добровольцев после однократного перорального приёма различных доз таблеток ГБ-115

№ п/п	C_{max} (нг/мл)	T_{max} (ч)	$AUC_{0\to t}$ (нг/мл×ч)	$AUC_{0\to\infty}$ (нг/мл×ч)	$AUC_{t\to\infty}$ (%)	k_{el} ($ч^{-1}$)	$t_{1/2\,el}$ (ч)	MRT (ч)	Cl/F (л/ч/кг)	Vd/F (л/кг)
01	4,54	1,00	4,63	5,77	19,76	1,1981	0,58	1,44	2,919	2,43
04	10,19	0,75	10,85	12,24	11,36	1,3870	0,50	1,18	1,355	0,98
06	7,13	0,75	6,97	12,21	42,92	1,0814	0,64	1,16	1,688	1,56
$\bar{x}$	7,29	0,83	7,48	10,07	24,68	1,2222	0,57	1,26	1,987	1,65
SD	2,83	0,14	3,14	3,73	16,34	0,1542	0,07	0,16	0,824	0,73
CV%	38,81	17,32	41,98	37,00	66,24	12,62	12,25	12,40	41,47	44,24
07	8,57	1,00	16,68	18,33	9,00	0,6975	0,99	1,86	1,893	2,71
11	7,02	1,00	13,83	18,29	24,38	0,6348	1,09	1,85	3,099	4,88
12	12,32	0,75	20,07	27,49	26,99	0,6226	1,11	1,56	1,590	2,55
$\bar{x}$	9,30	0,92	16,86	21,37	20,13	0,6516	1,06	1,76	2,194	3,38
SD	2,73	0,14	3,12	5,30	9,72	0,0402	0,06	0,17	0,798	1,30
CV%	29,29	15,75	18,53	24,80	48,30	6,17	6,05	9,70	36,37	38,46
08	14,77	1,00	28,75	31,59	8,99	0,6979	0,99	1,86	3,382	4,85
09	21,04	1,50	46,53	48,98	5,00	0,9152	0,76	1,78	2,245	2,45
13	17,89	0,75	36,09	38,32	5,82	0,7332	0,95	1,77	2,657	3,62
$\bar{x}$	17,90	1,08	37,12	39,63	6,60	0,7821	0,90	1,80	2,761	3,64
SD	3,14	0,38	8,93	8,77	2,11	0,1166	0,12	0,05	0,576	1,20
CV%	17,51	35,25	24,07	22,13	31,90	14,91	13,65	2,74	20,86	32,97
15	54,57	0,75	98,46	103,81	5,15	0,5460	1,27	2,08	1,346	2,47
16	18,17	1,00	35,36	38,86	9,01	0,6972	0,99	1,86	4,444	6,37
18	23,57	1,50	52,12	54,86	4,99	0,9151	0,76	1,79	2,574	2,81
$\bar{x}$	32,10	1,08	61,98	65,84	6,38	0,7194	1,01	1,91	2,788	3,88
SD	19,64	0,38	32,69	33,84	2,27	0,1856	0,26	0,15	1,560	2,16
CV%	61,19	35,25	52,73	51,39	35,58	25,79	25,37	7,92	55,95	55,67
19	55,89	1,50	115,53	122,47	5,67	0,5925	1,17	2,38	1,367	2,31
20	46,46	0,75	71,73	73,12	1,90	0,7289	0,95	1,56	3,734	5,12
22	29,72	2,00	65,88	67,12	1,85	0,8381	0,83	2,18	2,828	3,37
$\bar{x}$	44,02	1,42	84,38	87,57	3,14	0,7198	0,98	2,04	2,643	3,60
SD	13,25	0,63	27,13	30,37	2,19	0,1231	0,17	0,43	1,194	1,42
CV%	30,11	44,41	32,16	34,68	69,77	17,09	17,54	20,96	45,17	39,44

ГБ-115 достаточно быстро выводится из плазмы крови человека. Так, его период полувыведения ($t_{1/2\,el}$) в среднем колебался от 0,57 ± 0,07 ч для дозы 1 мг до 1,06 ± 0,06 ч для дозы 3 мг. Быстрое выведение препарата из организма характеризуется также величиной MRT. Среднее время удерживания ГБ-115 в организме составило от 1,26 ± 0,16 ч до 2,04 ± 0,43 ч, соответственно. При этом следует отметить, что величина MRT рассчитывается с учётом $AUC_{0\to\infty}$, а вклад экстраполированной части площади фармакокинетической кривой в данный параметр для доз 1 и 3 мг в среднем превышал 20 %. Следовательно, полученные значения MRT нельзя рассматривать, как достоверные.

Площадь под фармакокинетической кривой ($AUC_{0\to t}$) ГБ-115 возрастала с увеличением дозы: для дозы 1 мг — 7,48 ± 3,14; 3 мг — 16,86 ± 3,12; 7 мг — 37,12 ± 8,93; 11 мг — 61,98 ± 32,69 и для 15 мг — 84,38 ± 27,13 нг/мл×ч.

Общий плазменный клиренс (Cl/F) ГБ-115 увеличивался в диапазоне доз 1–11 мг с 1,987 ± 0,824 до 2,788 ± 1,560 и при увеличении дозы до 15 мг снижался до значения 2,643 ± 1,194 л/кг/ч.

Параметром, характеризующим степень проникновения ЛВ в ткани, является кажущийся объём распределения (V_d/F). Его величина для ГБ-115 после перорального введения в дозах 1–15 мг составила в среднем 2,47 л/кг. В нашем случае расчёт величин V_d/F показал существенно более высокие значения этого параметра по сравнению с реальным объёмом жидкости в организме животного, что говорит о распределении ГБ-115 во всех жидких средах организма и, возможно, накапливается тканях.

Обобщив полученные результаты, можно сказать, что при последовательном, линейном увеличении дозы ГБ-115 с 1 до 15 мг происходит увеличение дозозависимых фармакокинетических параметров. Данный тезис

подтверждается представленной на рис. 5 графической зависимостью логарифма исследуемых доз (lg доза) от логарифма площади под фармакокинетической кривой (lg AUC). Из рисунка видно, что показатель b, характеризующий наклон кривой приближается к 1. Для lg AUC данный показатель составил 0,8995.

На основании полученных результатов сравнительного изучения фармакокинетики у экспериментальных животных соединения ГБ-115, можно сделать следующее заключение – установлены значительные межвидовые различия фармакокинетики анксиолитика ГБ-115 у животных 2-х видов, которые свидетельствуют о лучшем всасывании препарата у кроликов по сравнению с крысами, особенно, после введения таблеток. Кроме того, соединение ГБ-115 медленнее выводится из организма кроликов по сравнению с крысами, на что указывает увеличение периода полувыведения. Изменение этих фармакокинетических параметров приводит к значительному возрастанию площади под фармакокинетической кривой, что свидетельствует об

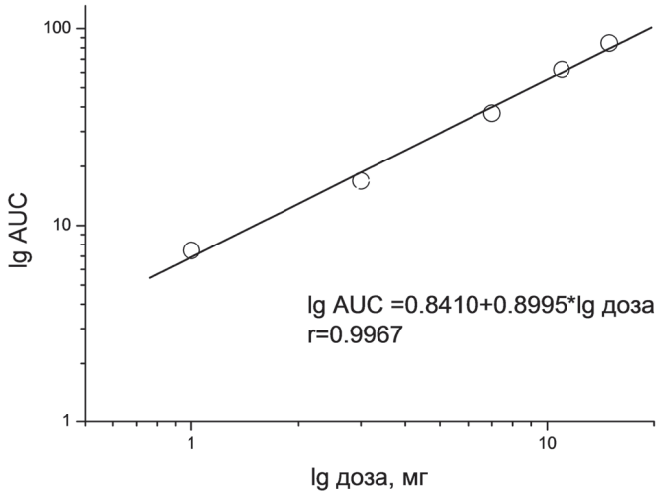


Рис. 5. Проверка гипотезы линейности фармакокинетики ГБ-115 в плазме крови добровольцев по изменению значения $AUC_{(T)}$ в зависимости от дозы

увеличении биодоступности препарата у кроликов. При сравнении экспериментальных данных с результатами клинической фармакокинетики анксиолитика ГБ-115 показано, что период полувыведения у добровольцев больше по сравнению с аналогичным параметром у крыс и близок к величине периода полувыведения у кроликов, следовательно, этот параметр является значимым для прогнозирования фармакокинетики соединения ГБ-115 у пациентов.

Заключение

В обзоре дискутируется возможность прогнозирования фармакокинетики новых пептидных лекарственных препаратов у человека на основе результатов исследования экспериментальной фармакокинетики у животных разных видов. Обсуждаются также основные фармакокинетические параметры, имеющие хорошую аллометрическую зависимость, которые могут быть использованы для переноса экспериментальных данных по фармакокинетике на человека. В настоящее время нет единого мнения о том, какой вид животного предпочтителен в плане переноса фармакокинетических данных на человека. Подавляющее большинство исследований по фармакокинетике и межлекарственному взаимодействию проводится на крысах вследствие дешевизны, близости процессов биотрансформации и её интенсивности у крыс и человека.

В настоящем исследовании для изучения основных процессов фармакокинетики и расчёта основных фармакокинетических параметров новых пептидных соединений в качестве экспериментальных животных были использованы крысы, а также кролики, позволяющие снять весь фармакокинетический профиль исследуемых препаратов на одном животном и рассчитать индивидуальные фармакокинетические параметры.

В результате проведённых исследований были установлены межвидовые различия фармакокинетики у 2-х видов экспериментальных животных и человека 3-х дипептидных нейротропных препаратов: ноопепта, дилепта и соединения ГБ-115, заключающиеся в улучшении их абсорбции у кроликов по сравнению с крысами, а именно, более полном всасывании субстанций изучаемых ЛВ, что сопровождалось увеличением их максимальных концентраций и величин площадей под фармакокинетическими кривыми. Кроме того, наблюдалось значительное замедление процессов пресистемной элиминации и увеличение продолжительности пребывания исследуемых ЛВ в плазме крови кроликов по сравнению с крысами в неизменённом виде, вследствие чего значительно возрастала величина биодоступности субстанций изучаемых соединений и, в ещё большей степени, после введения их таблеточных лекарственных форм. Указанные изменения фармакокинетики изучаемых препаратов обусловлены не только различиями активности энзиматических систем, принимающих участие в их пресистемном метаболизме, но и физиологическими особенностями ЖКТ, в частности, различиями в скорости печёночного и почечного кровотока.

Установлено, что соединение ГБ-115, являющееся амидом гексаноил-пролил-L-триптофана, более устойчиво к энзиматическому воздействию систем ЖКТ и более продолжительное время присутствует в плазме крови экспериментальных животных и человека в неизменённом виде, что дало возможность провести изучение клинической фармакокинетики этого соединения при использовании крайне малых доз в интервале от 1–15 мг. Рассчитанные фармакокинетические параметры указывают на хорошее распределение препарата во внутренней среде организма экспериментальных животных и человека и возможной кумуляции при его повторном введении.

Таким образом, ГБ-115 по фармакокинетическим параметрам — энзиматической устойчивости и большей величине биодоступности значительно превосходит эфирные производные дипептидов – ноопепта и дилепта при введении субстанции и лекарственной формы экспериментальным животным и человеку. Эти преимущества фармакокинетики субстанции анксиолитика ГБ-115, наиболее выраженные у кроликов, усиливаются при введении микронизированной субстанции и, особенно, при введении ЛФ с системой контролируемой доставки активного вещества, что может приводить к кумуляции препарата, а также усилению и пролонгированию его фармакологического эффекта [57, 58] и создают предпосылки для разработки с использованием данной технологии новых перспективных дипептидных лекарственных препаратов.

Выводы

1. Изучена экспериментальная и клиническая фармакокинетика 3-х аналогов природных нейропептидов: ноотропного препарата ноопепт, антипсихотика дилепт и селективного анксиолитика соединения ГБ-115 у 2-х видов животных (крысы, кролики) и человека. Установлены значительные межвидовые особенности фармакокинетики изучаемых ЛВ у экспериментальных животных и человека, заключающиеся в более полной абсорбции всех 3-х препаратов в ЖКТ и более высокой величине биодоступности у кроликов, особенно после введения таблеточной лекарственной формы, по сравнению с этими параметрами у крыс.

2. Показано что кролики являются неплохой (адекватной) экспериментальной моделью для изучения фармакокинетики лекарственных форм пептидных препаратов, которая даёт возможность получить фармакокинетический профиль препаратов на одном животном и рассчитать индивидуальные фармакокинетические параметры.

3. Показано, что эфирные производные аналоги природных нейропептидов (ноопепт и дилепт) быстро и интенсивно метаболизируются с образованием деэстерифицированных метаболитов. Интенсивность процессов пресистемной элиминации связана с различной локализацией метаболизирующих ферментов у животных разных видов и человека.

4. С использованием аллометрического метода и «фармакокинетического времени» для расчёта фармакокинетических параметров показана возможность прогнозирования периода полувыведения дилепта у человека по периоду полувыведения препарата у экспериментальных животных.

5. Установлено, что соединение ГБ-115 более устойчиво к энзиматическому воздействию, чем эфирные производные дипептидов – ноопепт и дилепт, более продолжительное время определяется в плазме крови экспериментальных животных и человека в неизменённом виде, что свидетельствует о возможности его накопления, особенно, при повторном введении. При изучении клинической фармакокинетики соединения ГБ-115 установлена линейная зависимость максимальной концентрации и площади под фармакокинетической кривой в интервале доз 1–15 мг изучаемого препарата.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Жердев Вдадимир Павлович
Автор, ответственный за переписку
e-mail: zherdevpharm@mail.ru
ORCID ID: 0000-0003-2710-7134
SPIN-код: 2213-9592
д. м. н., профессор, заведующий лабораторией фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Бойко Светлана Семёновна
ORCID ID: 0000-0003-2177-2010
SPIN-код: 4176-8921
к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Zherdev Vladimir
Corresponding author
e-mail: zherdevpharm@mail.ru
ORCID ID: 0000-0003-2710-7134
SPIN code: 2213-9592
MD, professor, Head of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Boyko Svetlana
ORCID ID: 0000-0003-2177-2010
SPIN code: 4176-8921
Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Шевченко Роман Владимирович
ORCID ID: 0000-0003-4646-7733
SPIN-код: 1844-6202
к. м. н., научный сотрудник лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Shevchenko Roman
ORCID ID: 0000-0003-4646-7733
SPIN code: 1844-6202
PhD, Research Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Бочков Павел Олегович
ORCID ID: 0000-0001-8555-5969
SPIN-код: 5576-8174
к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Bochkov Pavel
ORCID ID: 0000-0001-8555-5969
SPIN code: 5576-8174
Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Грибакина Оксана Геннадиевна
ORCID ID: 0000-0002-4604-4346
SPIN-код: 6266-8161
к. б. н., научный сотрудник лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Gribakina Oxana
ORCID ID: 0000-0002-4604-4346
SPIN code: 6266-8161
Candidate of Biological Sciences, Research Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Раскин Сергей Юрьевич
ORCID ID: 0000-0002-6152-4778
SPIN-код: 5234-7871
научный сотрудник лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Raskin Sergey
ORCID ID: 0000-0002-6152-4778
SPIN code: 5234-7871
Research Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Литература

1. Aronin N, Carraway RE, Ferris CF. The stability and metabolism of intravenously administered neurotensin in the rat. *Peptides*. 1982;3(4):63–642.

2. Herranz R. Cholecystokinin antagonists Pharmacological and Therapeutical potencial. *Med. Res. Rev*. 2003 Sep;23(5):559–605. DOI: 10.1002/med.10042

3. Клуша В.Е. *Пептиды – регуляторы функций мозга*. Зинатне, Рига. 1984. [Klusha VE. *Peptidy – regulyatory funkcij mozga*. Zinatne, Riga. 1984. (In Russ).]

4. Жердев В.П., Шевченко Р.В., Колыванов Г.Б., Литвин А.А. Межвидовые различия в фармакокинетике лекарственных средствт // *Экспер. и клин. фармакол*. 2017;80:9:62–68. [Zherdev VP Shevchenko RV, Kolyvanov GB, Litvin AA. Interspecies Differences of Drug Pharmacokinetics. *Eksper. i klin. farmakol*. 2017;80(9):62–68. (In Russ).]

5. Dalgaard L. Comparision of minipig, dog, monkey and human drug metabolism and disposition. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2015 Jul-Aug;74:80-92. DOI: 10.1016/j.vascn.2014.12.005

6. Kang HE, Yung HY, Cho YuK, et al. Pharmacokinetics of liqueliritigenin in mice, rabbits, and dogs, and animal scale-up. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2009; 98(11): 4327–4342.

7. Shimada T, Mimura M, Inoue K, Nakamura S, et al. Cytochrome P-450-dependent drug oxidation activities in liver microsomes of various animal species including rats, guinea pigs, dogs, monkeys and humans. *Arch Toxicol*. 1997; 71(6): 401–408.

8. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть первая, ЗАО ГРИФ и Ко, Москва. 2013. [*Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskih issledovanij lekarstvennyh sredstv*. CHast' pervaya, ZAO GRIF i Ko, Moskva. 2013. (In Russ).]

9. Полехина О.В., Образцов Н.В., Петрунин В.А., Высоцкая Т.А. Межвидовая фармакокинетика. 1. Межвидовые зависимости фармакокинетических параметров лекарственных средств (Обзор) // *Хим-фарм. ж*. 2014;48(7): 7–15. [Polekhina OV, Obraztsov NV, Petrunin VA and Vysotskaya TA. Interspecies pharmacokinetics: 1. Allometric scaling of pharmacokinetic parameters (A Review). *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2014;48(7):7–15. (In Russ).] DOI: 10.1007/s11094-014-1124-5

10. Иванникова Е.В., Жердев В.П., Бойко С.С. и др. Исследование фармакокинетики и биодоступности в создании новых оригинальных лекарственных средств пептидной структуры и их оптимальных лекарственных форм // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2013;2: 1–17. [Ivannikova EV, Zherdev VP, Boyko SS, et al. Study the pharmacokinetics and bioavailability in the creation of new original drugs peptide structures and their optimum dosage forms. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2013;2:1–17. (In Russ).]

11. Жердев В.П., Бойко С.С., Блынская Е.В., и др. Доклиническое изучение фармакокинетики нового анксиолитика дипептидной структуры ГБ-115 // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2015;1:52–59. [Zherdev VP, Boyko SS, Blynskaya EV, et al. Preclinical study the pharmacokinetics new anxiolytic drug of dipeptide structure GB-115. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2015;1:52–59. (In Russ).]

12. Adessi C, Soto C. Converting a peptide into a drug: strategies to improve stability and bioavailability. Curr Med Chem. 2002 May;9(9):963–978.

13. Гудашева Т.А. Стратегия создания дипептидных лекарств // *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2011;7:8–16. [Gudasheva TA. Dipeptide drug development strategy. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2011;7:8–16. (In Russ).]

14. Sala-Rabanal M, Loo DF, Hirayama BA, et al. Molecular interactions between dipeptides, drugs and the human intestinal H+ -oligopeptide cotransporter hPEPT1. *J. Physiol*. 2006;574:149–166.

15. Adibi SA. The oligopeptide transporter (Pept-1) in human intestine: biology and function. *Gastroenterology*. 1997;113(1):332–340.

16. Ganapathy ME, Prasad PD, Mackenzie B, et al. Interaction of anionic cephalosporins with the intestinal and renal peptide transporters PEPT 1 and PEPT 2. *Biochim. Biophys. Acta*. 1997;1324:296–308.

17. Ganapathy ME, Brandsch M, Prasad PD, et al. Differential recognition of beta -lactam antibiotics by intestinal and renal peptide transporters, PEPT 1 and PEPT 2. *J. Biol. Chem*. 1995;270:25672–25677.

18. Berlioz F, Julien S, Tsocas A, et al. Neural modulation of cephalexin intestinal absorption through the di-and tripeptide brush border transporter of rat jejunum in vivo. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999 Mar;288(3):1037–1044.

19. Lin JH. Application and limitation of interspecies scaling and in vitro extrapolation in pharmacokinetics. *Drug Metab Dispos*. 1998 Dec;26(12): 1202–1212.

20. Lee YH, Yamamoto A. Penetration and enzymatic barrier to peptide and protein absorption. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 1989;4(2):171–207. DOI: 10.1016/0169-409X(89)90018-5

21. Месонжник Н.В. *Экспериментальное изучение фармакокинетики и метаболизма нового фармакологического препарата дилепт*. Дис. канд. биол. наук. –Москва; 2009. [Mesonzhnik NV. *Eksperimental'noe izuchenie farmakokinetiki i metabolizma novogo farmakologicheskogo preparata dilept*. [dissertation] Moscow; 2009 (In Russ).] Доступно по: http://www.dissercat.com/content/eksperimentalnoe-izuchenie-farmakokinetiki-i-metabolizma-novogo-farmakologicheskogo-preparat (дата обращения 28.03.2018).

22. Шевченко Р.В. *Клинико-экспериментальнпя фармакокинетика нового дипептидного препарата дилепт*. Дис. канд. мед. наук. –Москва; 2016. [Shevchenko RV. *Kliniko-eksperimental'npya farmakokinetika novogo dipeptidnogo preparata dilept*. [dissertation] Moscow; 2016. (In Russ).] Доступно по: http://www.dslib.net/klinika-farmakologia/kliniko-jeksperimentalnaja-farmakokinetika-novogo-dipeptidnogo-preparata-dilept.html (дата обращения 28.03.2018).

23. Vlieghe P, et al. Synthetic therapeutic peptides: science and market. *Drug Discov Today.* 2010 Jan;15(1-2):40–56. DOI: 10.1016/j.drudis.2009.10.009

24. Muller S, Dunker R, Hohhaus G. Interspecies comparison of in vitro plasma degradation of dynorphin A 1-13. *Pharmazie*. 1996;51(8):581–585.

25. Shibanoki S, Weinterberg SB, et al. Further characterization of the in vitro hydrolysis of [Leu]- and [Met]enkephalin in rat plasma: HPLC-ECD measurement of substrate and metabolite concentrations. *Regulatory Peptides.* 1991;32(3):267–278.

26. Chang GW, Kam PC. The physiological and pharmacological roles of cytochrome P450 isoenzymes. *Anaesthesia*. 1999 Jan;54(1):42–50.

27. Stevens JC, Shipley LA, Cashman JR, et al. Comparison of human and rhesus monkey in vitro phase I and phase II hepatic drug metabolism activities. *Drug Metabolism and Disposition. September* 1993;21(5):753–760.

28. Donato MT, Castel JV. Gornez-Lechon MJ. Characterization of drug metabolizing activities in pig hepatocytes for usein bioartificial liver device comparison with other hepatic cellular models. *J.Hepatology.* 1999;31:3: 542–545.

29. Resetar A, Spector T. Glucuronidation of 3`-azido-3`-deoxythymidine: human and rat enzyme specifity. *Biochem. Pharmacol.* 1989;38(9):1389–1393.

30. Boersma MG, van der Woude H, Bogaards J, et al. Regioselectivity of phase II metabolism of luteolin and quercetin by UDP-glucuronosyl transferases. *Chem. Res. Toxicol*. 2002;15(5):662–670.

31. Mosher CM, Elliott J. Comparative and veterinary Pharmacology. *In Handbook of Experimental Pharmacology.* 2010;199:49–77.

32. Lee DY, Shin HS, Bae SK, et al. Effects of enzyme inducers and inhibitors on the pharmacokinetics of intravenous omeprazole in rats. *Biopharm Drug Dispos.* 2006;27(5):209–218.

33. Bernskop-Schnürch A, Marschütz MK. Development and in vitro evaluation of systems to protect peptide drugs from aminopeptidase. *Pharm. Res.* 1997;14(2):181–185.

34. Bammeet SA, Katragadda S, Mitra AK. Pharmacokinetics of Novel Dipeptide Ester Prodrugs of Acyclovir after Oral Administration: Intestinal Absorption and Liver Metabolism. JPET November 2004;311(2):659–667. DOI: https://doi.org/10.1124/jpet.104

35. Zhang KF, Hee B, Lee SA, et al. Liquid chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-NMR characterization of in vitro metabolites of a potent and irreversible peptidomimetic inhibitor of rhinovirus 3C protease. *Drug Metab. Dispos.* 2001;29(5):729–734.

36. Hu L. Prodrugs Effective Solutions for Solubility, Permeability and Targeting Challenges. *Meeting Report Prodrugs*. USA. 28–29 June 2004;7(8):736–742.

37. Abbot PJ. Neotame WHO Food Additives. 2004;52:1–452.

38. Boxenbaum H. Interspecies variation in liver weight, hepatic blood flow, and antipyrine intrinsic clearance: extrapolation of data to benzodiazepines and phenytoin. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*. April 1980;8(2):165–176.

39. Davies B, Morrris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm Res.* 1993 Jul;10(7):1093–1095.

40. Dedrick RL. Animal scale-up. *J. Pharmacokin. and Biopharmac.* 1973;1(5):435–461.

41. Полехина О.В., Образцов Н.В., Петрунин В.А., и др. Межвидовая фармакокинетика. 2. Анализ структуры межвидовых зависимостей фармакокинетических параметров лекарственных веществ (Обзор) // *Хим-фарм. ж.* 2014;48(10):3–7. [Polekhina OV, Obraztsov NV, Petrunin VA, et al. Analysis of the Structure of Interspecies Relationships Between Parameters of Drug Pharmacokinetics (A Review). *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal.* 2014;48(10):3–7. (In Russ).] URL: https://doi.org/10.30906/0023-1134-2014-48-10-3-7.

42. Фирсов А.А. и др. Фармакокинетические свойства кальциевой соли N-(5-оксиникотиноил)-L-глутаминовой кислоты при внутривенном введении крысам и кроликам: межвидовая экстраполяция // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2010;73(12):31–35. [Firsov AA, et al. pharmacokinetics of n-(5-oxynicotinoyl)-L-glutamic acid calcium salt upon bolus administration in rats and rabbits: interspecies extrapolation. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2010;73(12):31–35. (In Russ).] DOI: 10.30906/0869-2092-2010-73-12-31-35

43. Ward KW, Smith BR. A comprehensive quantitative and qualitative evaluation of intravenous pharmacokinetics parameters from rat, dog and monkey to humans. Clearanc. *Drug Metab Dispos.* 2004 Jun;32(6):612–619. DOI: 10.1124/dmd.32.6.612

44. Wong H, Grossman SJ, Bai SA, et al. The chimpanzee (Pan troglodytes) as a pharmacokinetic model for selection of drug candidates: model characterization and application. *Drug Metab Dispos.* 2004;32(12):1359–1369.

45. Kobayashi K, Urashima K, Shimada N, et al. Substrate specificity for rat cytochrome P450 (CYP) isoforms: screening with cDNA-expressed systems of the rat. *Biochem Pharmacol.* 2002 Mar 1;63(5):889–896.

46. Бойко С.С., Жердев В.П., Дворянинов А.А., и др. Фармакокинетика дипептидного аналога пирацетама с нотропной активностью ГВС-111 и его основных метаболитов // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1997;2:53–55. [Boiko SS, Zherdev VP, Dvorianinov AA, et al. Farmakokinetika dipeptidnogo analoga piracetama s notropnoj aktivnost'yu GVS-111 i ego osnovnyh metabolito. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 1997;2:53–55. (In Russ).]

47. Бойко С.С., Жердев В.П., Коротков С.А., и др. Фармакокинетика нового потенциально активного дипептидного препарата ГВС-111 и его метаболитов в мозге крыс // *Хим-фарм. ж.* 2001;9:11–13. [Boiko SS, Zherdev VP, Korotkov SA, et al. Farmakokinetika novogo potencial'no aktivnogo dipeptidnogo preparata GVS-111 i ego metabolitov v mozge krys. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal.* 2001;9:11–13. (In Russ).]

48. Gudasheva TA, Boyko SS, Akparov VKh, et al. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. *FEBS Lett.* 1996 Aug 5;391(1-2):149–152.

49. Gudasheva TA, Boyko SS, Ostrovskaya RU, et al. The major metabolite of dipeptide piracetam analogue GVS-111 in rat brain and its similarity to endogenous neuropeptide cyclo-L-prolylglycine. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 1997;22(3):245–252.

50. Бойко С.С., Коротков С.А., Жердев В.П., и др. Межвидовые различия фармакокинетики ноопепта // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2004;67(1):40–43. [Boiko SS, Korotkov SA, Zherdev VP, et al. Interspecific differences of noopept pharmacokinetics. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2004;67(1):40–43. (In Russ).] DOI: 10.30906/0869-2092-2004-67-1-40-43

51. Жердев В.П., Бойко С.С., Незнамов Г.Г., и др. Клиническая фармакокинетика ноопепта у больных с интеллектуально-мнестическими расстройствами // *Клиническая фармакокинетика*. 2005;2(3):49–52. [Zherdev VP, Boiko SS, Neznamov GG, et al. Klinicheskaya farmakokinetika noopepta u bol'nyh s intellektual'no-mnesticheskimi rasstrojstvami. *Klinicheskaya farmakokinetika*. 2005;2(3):49–52. (In Russ).]

52. Месонжник Н.В., Бойко С.С., Апполонова С.А., и др. Экспериментальное изучение биологической стабильности дипептидного соединения дилепт // *Хим-фарм. ж.* 2010;4:3–6. [Mesonzhnik NV, Boiko SS, Appolonova SA, et al. Experimental investigation of the biological stability of dipeptide neuroleptic dilept. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal.* 2010;44(4):3–6. (In Russ).]

53. Островская Р.У., Ретюнская М.В., Гузеватых Л.С., и др. Трипептоидный аналог нейротензина дилепт сочетает нейролептическую активность с положительным мнемотропным действием // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2005;68(1):3–6. [Ostrovskaya RU, Retyunskaya MV, Guzevatykh LS. Dilept: a tripeptoid neurotensin analog combining neuroleptic activity with positive mnemotropic action. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2005;68(1):3–6. (In Russ).] DOI: 10.30906/0869-2092-2005-68-1-3-6

54. Горелов П.И., Островская Р.У., Сазонова Н.М. Оценка прокогнитивного эффекта дилепта и его основного метаболита, ГЗР-125, в тесте распознавания объектов у крыс // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2013;76(7):3–5. [Gorelov PI, Ostrovskaya RU, Sazonova NM. The study of procognitive effect of the potential antipsychotic, dilept and its main metabolite, GZR-125 at the novel objects recognition test in rats. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2013;76(7):3–5. (In Russ).] DOI: 10.30906/0869-2092-2013-76-7-3-5

55. Шевченко Р.В., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., и др. Сравнительная фармакокинетика и относительная биодоступность таблеток и субстанции нового нейролептика дилепта // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014;157(6):704–706. [Shevchenko RV, Litvin AA, Kolyvanov GB, et al. Sravnitel'naya farmakokinetika i otnositel'naya biodostupnost' tabletok i substancii novogo nejroleptika dilepta. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny*. 2014;157(6):704–706. (In Russ).]

56. Шевченко Р.В., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., и др. Особенности фармакокинетики оригинального нейролептика дилепта у животных и человека // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2014;77(7):23–27. [Shevchenko RV, Litvin AA, Kolyvanov GB, et al. Specific features in pharmacokinetics of the original neuroleptic dilept in animals and humans. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2014;77(7):23–27. (In Russ).] DOI: 10.30906/0869-2092-2014-77-7-23-26

57. Шевчено Р.В., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., и др. Клиническая фармакокинетика нового антипсихотического средства дилепта // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2013;76(6):34–37. [Shevchenko RV, Litvin AA, Kolyvanov GB, et al. Clinic pharmacokinetics of a new original antipsychotic drug dilept. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2013;76(6):34–37. (In Russ).]
DOI: 10.30906/0869-2092-2013-76-6-34-37

58. Бойко С.С., Колыванов Г.Б., Жердев В.П., и др. Экспериментальное исследование фармакокинетики триптофансодержазего дипептида ГБ-115 // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2007;144(9):285–288. [Boiko SS, Kolyvanov GB, Zherdev VP, et al. Eksperimental'noe issledovanie farmakokinetiki triptofansoderzhazego dipeptida GB-115. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny*. 2007;144(9):285–288. (In Russ).]

59. Бойко С.С., Жердев В.П., Колыванов Г.Б., и др. Доклиническое изучение фармакокинети нового селективного анксиолитика дипептидной природы ГБ-115 // Материалы Российского конгресса фармакологов, Россия, Санкт-Петербург. 2007; 1615–1616. [Boiko SS, Zherdev VP, Kolyvanov GB, et al. Doklinicheskoe izuchenie farmakokineti novogo selektivnogo anksiolitika dipeptidnoj prirody GB-115. Materialy Rossijskogo kongressa farmakologov, Russia, St. Petersburg. 2007;1615–1616. (In Russ).]

60. Жердев В.П., Бойко С.С., Блынская Е.В., и др. Доклиническое изучение фармакокинетики нового анксиолитика дипетидной структуры ГБ-115 // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2015;1:52–59. [Zherdev VP, Boiko SS, Blynskaya EV, et al. Preclinical study the pharmacokinetics new anxiolytic drug of dipeptide structure GB-115. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2015;1:52–59. (In Russ).]

61. Колик Л.Г., Жердев В.П., Бойко С.С. и др. Экспериментальная фармакокинетика и фармакодинамика субстанций дипептидного анксиолитика ГБ-115 // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2015;78(11):30–34. [Kolik LG, Zherdev VP, Boiko SS, et al. Experimental pharmacokinetics and pharmacodynamics of GB-115 dipeptide anxiolytic substances. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2015;78(11):30–34. (In Russ).]
DOI: 10.30906/0869-2092-2015-78-11-30-34

62. Жердев В.П., Бойко С.С., Константинопольский М.А. и др. Фармакокинетика и фармакодинамика фармацевтических композиций дипептидного анксиолитика ГБ-115 // *Хим-фарм. ж.* 2016;50(5): 42–46. [Zherdev VP, Boiko SS, Konstantinopol'skii MA, et al. Preclinical study of dipeptide anxiolytic GB-115 pharmaceutical compositions: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2016;50(5):42–46. (In Russ).]
DOI: 10.30906/0023-1134-2016-50-5-42-46

63. Жердев В.П., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., и др. Клиническая фармакокинетика оригинального дипептиднлго анксиолитика ГБ-115 // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2017;1:52–56. [Zherdev VP, Kolyvanov GB, Litvin AA, et al. Clinical pharmacokinetics of a new original dipeptide anxiolytic GB-115. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2017;1: 52–56. (In Russ).]

Влияние различных минеральных добавок на состояние выделительной функции почек и уровень гликемии у крыс при экспериментальном аллоксановом сахарном диабете

Назаренко О.А.[1], Громова О.А.[2]

[1] – ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново

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

Резюме. Представлены результаты применения минеральных добавок – солезаменителя гипосола, селенопирана и магне-В6 — на аллоксановой модели сахарного диабета у крыс. Установлено достоверное гипогликемическое действие Магне В6 и селенопирана. Выявлено, что все соединения, особенно гипосол и селенопиран, благоприятно влияют на выделительную функцию почек при аллоксановом диабете: уменьшают выраженность полиурии, глюкозурии, а также протеинурии (гипосол) и концентрации креатинина в крови (гипосол и селенопиран).

Ключевые слова: аллоксановый сахарный диабет; гипосол; селенопиран; магне-В6; выделительная функция почек

Для цитирования:
Назаренко О.А., Громова О.А. Влияние различных минеральных добавок на состояние выделительной функции почек и уровень гликемии у крыс при экспериментальном аллоксановом сахарном диабете // *Фармакокинетика и фармакодинамика.* – 2018. – № 1. – С. 24–26. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10002.

Effect of various mineral additives on the state of excretory renal function and the level of glycemia in rats in experimental alloxan diabetes mellitus

Nazarenko O.A.[1], Gromova O.A.[2]

[1] – Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Ivanovo State Medical Academy" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ivanovo

[2] – Federal Research Center "Computer Science and Control" of the Russian Academy of Sciences, Moscow

Resume. On this study presents the results of the use of mineral additives salsamenteria of hypocol, selenopyran and Magne-B6 on alloxan model of diabetes in rats. A significant hypoglycemic effect of Magne B6 and selenopyran. It is revealed that all connections, especially hypocol and selenopyran have a beneficial effect on the excretory function of the kidneys in alloxan diabetes: reduce the severity of polyuria, glycosuria, and proteinuria (hypocol) and creatinine concentration in the blood (hypocol and selenopyran).

Keywords: alloxan diabetes; hypocol; selenopyran; Magne B6; the excretory function of the kidneys

For citations:
Nazarenko OA, Gromova OA. Effect of various mineral additives on the state of excretory renal function and the level of glycemia in rats in experimental alloxan diabetes mellitus. *Farmakokinetika i farmakodinamika.* 2018;1:24–26. (In Russ). DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10002 .

Актуальность

По данным Международной Федерации Диабета, в мире около 450 млн больных сахарным диабетом, причём каждые 12–15 лет их число удваивается. Согласно прогнозам ВОЗ, к 2030 г. сахарный диабет выйдет на седьмое место среди причин смерти [1]. Нарушение выделительной функции почек (ВФП) — диабетическая нефропатия — частое осложнение сахарного диабета, приводящее, наряду с другими, к инвалидизации и смерти больных. Так, при сахарном диабете 2 типа (при его дебюте в пубертатном периоде) частота развития диабетической нефропатии составляет около 45 % [2]. С целью оптимизации лечения сахарного диабета, предупреждения развития тяжёлых осложнений ведётся поиск новых лекарственных средств, а также дополнительных элементов противодиабетической терапии. Для этого могут применяться различные витаминно-минеральные комплексы, антиоксиданты, фитопрепараты.

Цель исследования

Оценить влияние минеральных добавок — препарата Магне В6, заменителя поваренной соли гипосола, соединения селена — селенопирана — на уровень гликемии и состояние ВФП у крыс при аллоксановом диабете.

Материалы и методы

40 крыс-самцов массой 200–250 г были разделены на 5 групп: 1 — интактные, 2 — аллоксановый сахарный диабет, 3 — гипосол (разработанный на кафедре фармакологии ИвГМА солезаменитель, содержащий соединения K, Na и Mg), 4 — Магне B6, 5 — селенопиран. Модель сахарного диабета воспроизводили путём подкожного введения свежеприготовленного водного 10 % раствора аллоксангидрата в дозе 100 мг/кг на фоне 18-часового голодания животных. Состав гипосола: натрия хлорид 30 %, калия хлорид 20 %, калия цитрат 10 %, калия бромид 1 %, магния сульфат 15 %, кальция аспарагинат 8 %, магния аспарагинат 10 %, кислота глутаминовая 6 % (патент России № 1375237 от 25.01.93). Магне B6 крысы получали в виде питьевого раствора в ампулах по 10 мл, содержащего магния пидолат 936 мг (эквивалентно 100 мг магния), пиридоксин 10 мг. Селенопиран представляет собой соединение селена (сырье) в расфасовке 1 г. Гипосол крысы получали в виде 1 % раствора для свободного питья; раствор Магне B6 вводили через зонд в желудок (0,1 мл/100 г) в течение 10 дней перед введением аллоксана, селенопиран внутримышечно (0,04 мг селена/100 г) за 3 дня до и на следующий день после введения аллоксана. 10 % водный раствор аллоксангидрата вводили подкожно в дозе 100 мг/кг, после чего применение минеральных композиций продолжали ещё 10 дней. Затем животных помещали в обменные клетки на 24 ч, после чего производили забой. Определяли суточный диурез, питьевую активность, содержание белка в моче, глюкозы и креатинина в крови и моче, рассчитывали скорость клубочковой фильтрации и реабсорбцию воды. Статистическую обработку проводили с помощью программы «Биостат».

Результаты

Установлено достоверное гипогликемическое действие Магне B6 и селенопирана (уровень гликемии соответственно 3,37 ± 0,30 и 4,71 ± 0,35 ммоль/л против 8,0 ± 0,22 ммоль/л у крыс 2-й группы); гипосол не вызывал статистически значимого сахароснижающего эффекта (рис. 1).

Развитие аллоксанового диабета сопровождалось почечными проявлениями: полиурией (7,34 ± ± 0,60 мл/100 г против 3,2 ± 0,50 мл/100 г у интактных), полидипсией, глюкозурией, протеинурией, некоторым снижением клубочковой фильтрации и реабсорбции воды, повышением креатинина крови (152,80 ± ± 10,30 мкмоль/л против 93,10 ± 2,20 мкмоль/л у интактных крыс). Применение минеральных добавок уменьшало выраженность полиурии (рис. 2), полидипсии (особенно выраженно в группах гипосола и Магне B6, в которых диурез составил, соответственно, 2,00 ± ± 0,24 мл/100 г и 1,48 мл/100 г), глюкозурии.

Кроме того, применение гипосола приводило к заметному уменьшению протеинурии (экскреция белка за сутки 0,24 ± 0,02 мг/100 г против 0,75 ± 0,27 мг/100 г во 2-й группе) (рис. 3).

Использование гипосола и селенопирана также приводило к снижению концентрации креатинина

Рис. 1. Уровень гликемии у крыс после введения минеральных добавок

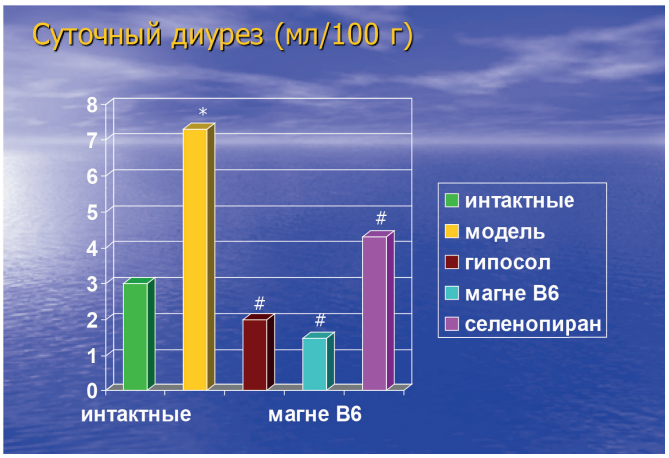


Рис. 2. Выраженность полиурии у крыс после введения минеральных добавок

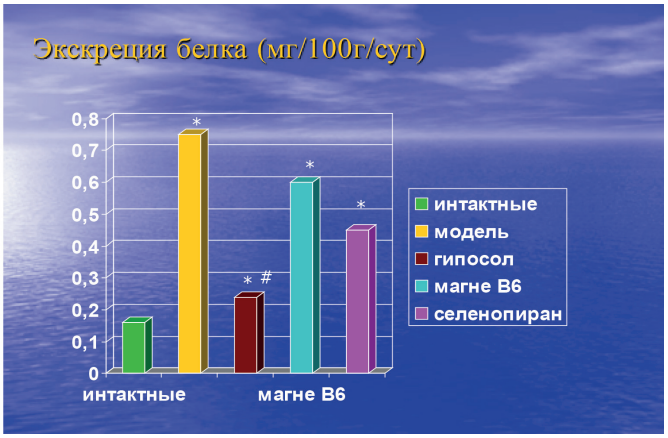


Рис. 3. Изменения уровня протеинурии у крыс после введения минеральных добавок

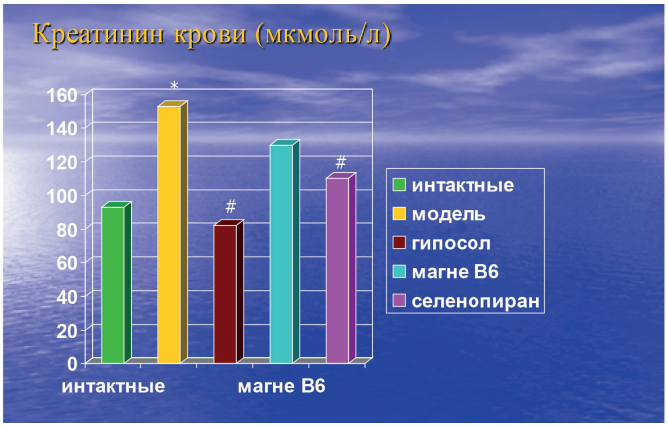


Рис. 4. Изменение концентрации креатинина крови у крыс после введения минеральных добавок

крови (82,0 ± 1,0 мкмоль/л и 110,2 ± 5,5 мкмоль/л, соответственно, против 152,8 ± 9,3 мкмоль/л без лечения) (рис. 4).

Благоприятное влияние изученных соединений на состояние ВФП может быть связано частично с гипогликемическим действием (уменьшение полиурии, полидипсии, глюкозурии при применении Магне В6 и селенопирана); с выраженной антиоксидантной активностью (селенопиран) [3, 4] и со снижением повышенной активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, что ведёт к уменьшению внутриклубочковой гипертензии (гипосол) [5].

Выводы

Изученные минеральные соединения, особенно гипосол и селенопиран, обладают благоприятным действием при нарушении функции почек на фоне аллоксанового сахарного диабета. Выявленные эффекты могут быть использованы в разработке препаратов для комплексного лечения сахарного диабета, в том числе (гипосол и соединения селена) сопровождающегося нефропатией.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Громова Ольга Алексеевна
Автор, ответственный за переписку
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-7663-710X
SPIN-код: 6317-9833
д. м. н, профессор, в. н. с., научный руководитель института Фармакоинформатики, ФИЦ ИУ РАН, Москва

Gromova Olga
Corresponding author
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-7663-710X
SPIN code: 6317-9833
DM, professor, Leading Researcher, scientific Director of the Institute of Pharmacoinformatics FRC CSC RAS, Moscow

Назаренко Ольга Анатольевна
ORCID ID: 0000-0002-2437-298X
SPIN-код: 1567-0007
к. м. н., доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО ИвГМА МЗ России

Nazarenko Olga
ORCID ID: 0000-0002-2437-298X
SPIN code: 1567-0007
PhD, Associate Professor at the Department of pharmacology FSBEI HE IvSMA MOH Russia

Литература / References

1. ВОЗ. Глобальный доклад по диабету (электронный ресурс). [WHO. Globalnyj doklad po diabetu [Internet] (In Russ).] URL: http://www.who.int/diabetes/global-report/ru/ Ссылка активна на 01.11.2017.

2. Шестакова М.В., Шамхалова, М.Ш. *Диабетическая нефропатия: клиника, диагностика, лечение*. М.: ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий. 2009. [Shestakova MV, Shamkhalova MSh. *Diabeticheskaya nefropatiya: klinika, diagnostika, lechenie*. FGU Ehndokrinologicheskij nauchnyj centr Rosmedtekhnologij. 2009. (In Russ).]

3. Громова О.А., Гоголева И.В. Селен — впечатляющие итоги и перспективы применения // *Трудный пациент*. 2007;14(5):25-30. [Gromova OA, Gogoleva IV. Selen – vpechatlyayushchie itogi i perspektivy primeneniya. *Difficult Patient*. 2007;14(5):25-30. (In Russ).]

4. Klotz LO, Krцncke KD, Buchczyk DP, et al. Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defence against oxidative and nitrosative stress. *J Nutr*. 2003 May;133(5 Suppl 1):1448S-51S. DOI: 10.1093/jn/133.5.1448S

5. Штрыголь С.Ю., Бранчевский Л.Л. Действие адренергических агонистов и антагонистов на функцию почек и артериальное давление в зависимости от минерального состава рациона // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1995;5:31-33. [Shtrygol SYu, Branchevskii LL. Dejstvie adrenergicheskih agonistov i antagonistov na funkciyu pochek i arterial'noe davlenie v zavisimosti ot mineral'nogo sostava raciona. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 1995;5:31-33. (In Russ).]

Комплексная оценка неврологического статуса и метаболических эффектов витаминно-минерального комплекса Теравит Антистресс и его компонентов

Богачёва Т.Е.[1], Калачёва А.Г.[1], Гришина Т.Р.[1], Громова О.А.[2]

[1] – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново

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

Резюме. В экспериментальном исследовании изучили влияние витаминно-минерального комплекса Теравит Антистресс и его отдельных компонентов: женьшеня и гинкго билоба на ориентировочно-исследовательское поведение, устойчивость к стрессовым воздействиям и течение метаболических процессов у лабораторных крыс

Ключевые слова: витамины; минералы; женьшень; гинкго билоба; стресс

Для цитирования:
Богачёва Т.Е., Калачёва А.Г., Гришина Т.Р., Громова О.А. Комплексная оценка неврологического статуса и метаболических эффектов витаминно-минерального комплекса Теравит Антистресс и его компонентов // *Фармакокинетика и фармакодинамика.* – 2018. – № 1. – С. 27–31. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10003.

Complex evaluation of the neurological status and metabolic effects of the vitamin-mineral complex Teravit Anti-Stress and its components

Bogacheva T.E.[1], Kalacheva A.G.[1], Grishina T.R.[1], Gromova O.A.[1,2]

[1] – FFederal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Ivanovo State Medical Academy" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ivanovo

[2] – Federal Research Center “Computer Science and Control“ of the Russian Academy of Sciences, Moscow

Resume. In the experimental study, the effect of the vitamin-mineral complex Teravit Antistress and its individual components: Ginseng and Ginkgo Biloba on the orientation-research behavior, resistance to stress and the course of metabolic processes in laboratory rats were studied.

Keywords: vitamins; minerals; ginseng; ginkgo biloba; stress

For citations:
Bogacheva TE, Kalacheva AG, Grishina TR, Gromova OA. Complex evaluation of the neurological status and metabolic effects of the vitamin-mineral complex Teravit Anti-Stress and its components. *Farmakokinetika i farmakodinamika.* 2018;1:27–31 (In Russ). DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10003.

Введение

Витамины, макро- и микроэлементы — неотъемлемые и биологически активные компоненты нервной ткани, играющие ключевую роль в сложных биохимических процессах, являющихся химической основой деятельности ЦНС [3, 5].

Для повышения адаптационных возможностей организма к действию стрессоров и улучшения умственной деятельности используются витаминно-минеральные комплексы (ВМК). Эффективность ВМК зависит от комплексного воздействия витаминов и минералов в дозах, соответствующих возрастающим физиологическим потребностям. При этом акценты делаются именно на витаминах, усиленно потребляющихся при стрессе (группа В), элементах (магний, йод, цинк, селен), активно теряющихся при стрессе, за счёт выведения с мочой и/или нарушения всасывания в ЖКТ [5].

Часто используются ВМК с добавлением ноотропов и адаптогенов. Создание комбинированных лекарственных средств, содержащих иногда более 50 компонентов, куда входят витамины, минералы, ноотропы, растительные вещества существенно повышает комплаенс — приверженность и удобство их использования [6]. С другой стороны, создавая эмпирически современные ВМК, производители, вероятно, рассчитывают на суммацию положительных и нивелирование нежелательных эффектов составляющих. Однако необходимо помнить, что фармацевтическое, фармакокинетическое и фармакодинамическое взаимодействие между компонентами сложных комплексов может сделать результат применения их в одной таблетке непредсказуемым.

Показания к применению поливитаминных препаратов с мультиминеральными и биологически активными веществами определяется содержанием микронутриентов, обладающих конкретным видом биологической активности. Примером ВМК, содер-

жащих экстракты растений гинкго билоба и женьшеня может служить Теравит Антистресс, в состав которого входят также 13 витаминов (А, B_1, B_2, B_3, B_5, B_6, B_{12}, ВС, К, С, Е, $Д_3$, Н) и 18 минералов (Fe, P, I, Cu, Zn, Se, Cr, Mo, Mn, Ca, K, Cl, Sn, Ni, V, B, Si), всего 33 активных компонента. Препарат позиционируется как средство для восполнения витаминов и минералов на фоне стресса, при интенсивных умственных и физических нагрузках, для активизации работы мозга.

В настоящей работе мы исследовали влияние ВМК Теравит Антистресс и его отдельных компонентов: женьшень и гинкго билоба (препарат Билобил) на исследовательское поведение, устойчивость к стрессовым воздействиям и течение метаболических процессов у лабораторных крыс.

Материалы и методы

Исследование проводилось на 50 белых крысах обоего пола массой 200–280 г. В эксперименте животные были распределены на 4 группы (3 опытные, получавшие ежедневно 1 раз в день в течение 60 дней через желудочный зонд один из лекарственных препаратов, и контрольная группа, получавшая ежедневно 1 раз в день в течение 60 дней через желудочный зонд воду). Крысы первой опытной группы получали ВМК Теравит Антистресс в дозе 0,003/100 г массы в сутки; второй опытной группы — настойку женьшеня в дозе 0,004/100 г массы, третьей опытной группы — препарат Билобил в дозе 0,004/100 г массы, что соответствует рекомендациям по способу применения препаратов.

Обследование проводилось до начала терапии и повторялось через 30 дней после её начала и в конце курса терапии. Всем крысам провели динамическую оценку неврологического статуса, исследовательского поведения, уровня стресса. Ориентировочно-исследовательское поведение оценивали по результатам теста «открытое поле» [1] и «норковому тесту», а уровень стресса и эмоциональное состояние оценивали по «плавательному тесту» и тесту «открытое поле». В тесте «открытое поле» мы учитывали 4 показателя: перемещение крысы по тёмным и светлым квадратам, умывание (груминг) и дефекацию (количество болюсов). При проведении «норкового теста» [2] — количество заглядываний крыс в отверстия стандартной площадки в течение 3 мин. При исследовании «плавательного теста» Порсолта оценивалось 2 показателя: время первичной латентности (время с момента опускания крысы в воду до начала активного плавания) и время иммобильности (время «плавания отчаяния», когда крыса пассивно поддерживает себя на плаву).

В ходе исследования оценивали также метаболические показатели: в крови определяли содержание глюкозы с помощью глюкозооксидазного метода, содержание магния в плазме крови — набором реактивов фирмы «Ольвекс» на спектрофотометре, уровень малонового диальдегида (МДА) методом, основанным на реакции с тиобарбитуровой кислотой [9]. Статистическая обработка материала с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0.

Результаты и обсуждения

Неврологический статус

Результаты исследования показали антистрессорное воздействие витаминно-минерального комплекса Теравит Антистресс при выполнении классических тестов для исследования показателей выраженности стресса в эксперименте. В 1-й опытной группе животных, получавших Теравит Антистресс, увеличилась горизонтальная активность и число заходов в освещённые квадраты в тесте «открытое поле» (рис. 1), уменьшилось количество болюсов. Животные стали более подвижны, что свидетельствует об активации ориентировочно-исследовательского поведения, о снижении страха и эмоциональности по сравнению с контролем. Хотя увеличения числа заглядываний в «норковом тесте» не наблюдалось.

Приём препарата в течение 2 мес. значимо увеличил первичное латентное время при проведении «плава-

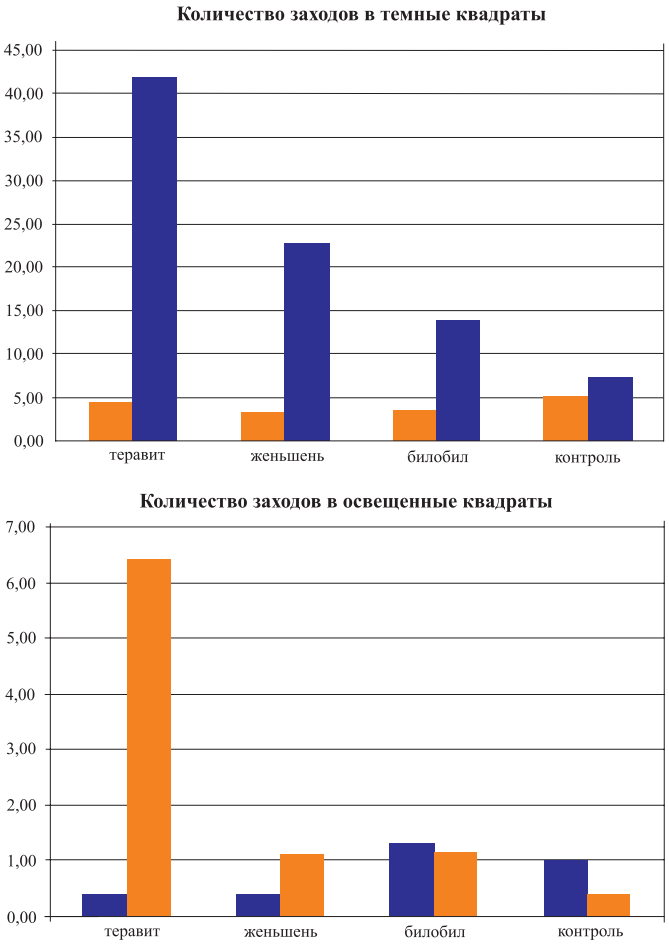


Рис. 1. Изменение ориентировочно-исследовательского поведения у крыс по тесту «открытое поле»:
— 0 день; — 60 день

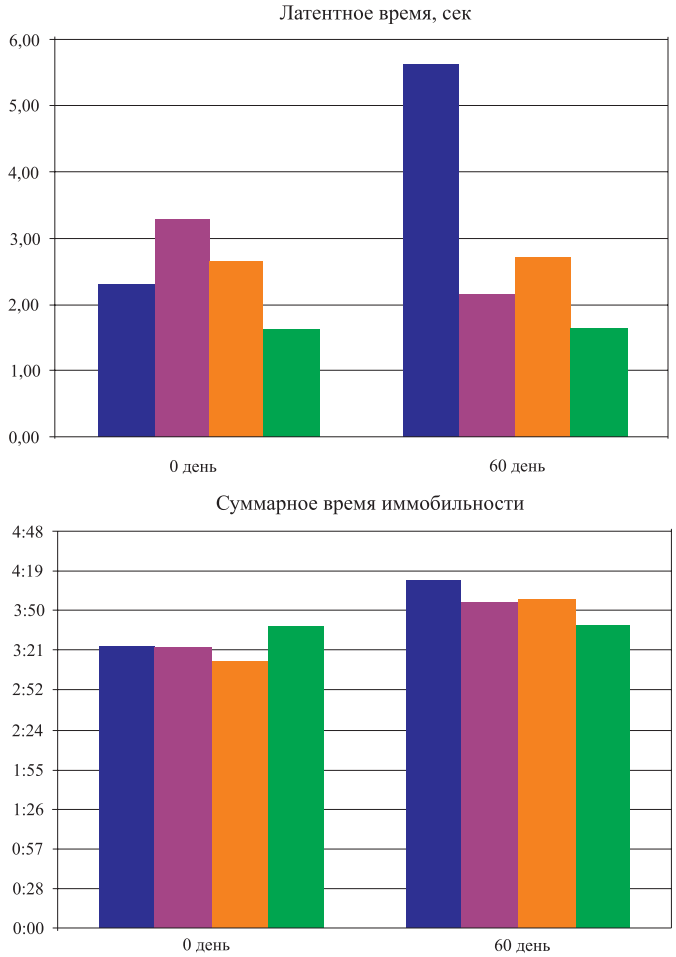


Рис. 2. Изменение скорости адаптации к стрессорным воздействиям по «плавательному тесту» Порсолта:
— теравит; — женьшень; — билобил; — контроль

тельного теста», что говорит об улучшении адаптации крыс к стрессовым факторам (рис. 2).

Во 2-й опытной группе, получавшей Женьшень, повышается ориентировочно-исследовательское поведение и общая двигательная активность (см. рис. 1). Это доказано значимым увеличением горизонтальной активности (движение по тёмным квадратам возросло на 50,8 %, наблюдался выход на светлые квадраты). В тоже время латентное время и иммобильность в «плавательном тесте» (см. рис. 2), количество болюсов в тесте «Открытое поле», количество заглядываний в «норковом тесте», по сравнению с исходными значениями, не изменились. Другими словами, эмоциональность животных и скорость адаптации остались на исходном уровне.

В 3-й опытной группе, получавшей Билобил, отмечалось достоверное увеличение горизонтальной активности только за счёт активации движения по тёмным квадратам, без заходов в освещённые квадраты (см. рис. 1), что свидетельствует о сохранении страха у животных. По другим показателям достоверных изменений не наблюдалось, а, следовательно, характер эмоционально-стрессовой реакции животных не изменился.

Полученные данные свидетельствуют о том, что Женьшень как монопрепарат оказывает более слабое антистрессорное действие в сравнении с комбинацией ВМК. Женьшень в комплексе Теравит Антистресс может потенцировать антистрессовое воздействие нейропротективных витаминов и минералов. Монотерапия Билобилом в эквивалентной терапевтической дозе существенно не влияет на адаптацию организма к стрессорам и «эмоциональность».

Косвенным подтверждением способности адаптации организма к стрессорным воздействиям являются активность перекисного окисления липидов и уровень глюкозы.

Через 2 мес. применения комплекса Теравит Антистресс содержание в крови глюкозы и МДА практически не изменилось (таблица). Это свидетельствует об отсутствии существенного влияния препарата на

Таблица

Содержание в крови глюкозы и МДА

Показатели	Глюкоза, мМ/л		МДА, мкМ/л	
Группы	0 день	60 день	0 день	60 день
Контроль	3,15 ± 1,41	3,19 ± 1,36	6,6 ± 1,5	7,56 ± 2,11
Теравит Антистресс	3,08 ± 0,6	2,98 ± 0,17	6,38 ± 1,5	6,45 ± 0,63
Женьшень	3,12 ± 1,11	2,4 ± 0,76	6,62 ± 1,69	9,18 ± 1,5*
Билобил	3,4 ± 1,04	1,81 ± 0,31*	6,62 ± 1,69	6,68 ± 1,57

Примечание: * – достоверность отличия ($p < 0,05$) по сравнению с исходным показателем.

углеводный обмен и перекисное окисление липидов (ПОЛ) в здоровом организме. Двухмесячное применение экстракта Женьшеня привело к некоторому снижению гликемии (до 2,4 ммоль/л), не выходящему за пределы физиологической нормы у крыс. Это согласуется с литературными данными о гипогликемическом действии Женьшеня, связанном с улучшением утилизации глюкозы, и о возможности использования Женьшеня в комплексной терапии сахарного диабета. Уровень МДА в крови при применении Женьшеня достоверно возрастает (до 9,18 мкмоль/л), что может быть признаком активации ПОЛ и является в таком случае неблагоприятным фактором.

Имеются литературные данные о том, что сапонины, входящие в состав Женьшеня, действительно могут повреждать мембраны клеток [4, 8]. Эти данные требуют дальнейших исследований, в частности, определения более специфичных маркеров интенсивности ПОЛ, чем МДА, в том числе и с другими дозами Женьшеня.

На фоне 2-месячного применения Билобила уровень МДА практически не изменился. Это не противоречит сведениям об антиоксидантной активности Билобила, так как она проявляется, главным образом, при интенсификации ПОЛ. Вместе с тем было выявлено гипогликемическое действие Билобила, при-

чём уровень глюкозы в крови был несколько ниже физиологической нормы (1,8 ммоль/л). Некоторое угнетающее действие Билобила на ЦНС может быть связано с возникшей гипогликемией. Причины такого эффекта также требуют дополнительных исследований (определения всасывания глюкозы, механизмов её утилизации), в том числе и с другими дозами препарата. Однако известно, что Билобил может усиливать утилизацию глюкозы, а флавоноиды, входящие в его состав, уплотняют мембраны, что ведёт к уменьшению всасывания из ЖКТ [4, 7].

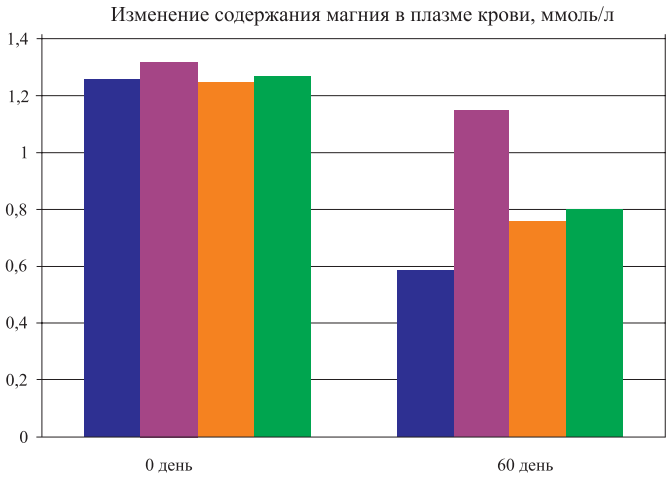


Рис. 3. Динамика содержания магния на фоне приёма препаратов в группах наблюдения:
— теравит; — женьшень; — билобил; — контроль

У контрольных животных через 2 мес. наблюдается снижение уровня магния в сыворотке крови (рис. 3), что, вероятно, связано с его потерей. Во время стресса возрастает выработка гормонов адреналина и кортизола, которые усиливают выведение магния через почки [5]. Приём магний-содержащего комплекса Теравит Антистресс не корректирует уровень магния у крыс.

Выводы

• Витаминно-минеральный комплекс Теравит Антистресс повышает устойчивость организма к действию стрессоров, активируя ориентировочно-исследовательское поведение животных и снижая страх и эмоциональность в тесте «открытое поле», изменяя скорость адаптации к стрессорным воздействиям в «плавательном тесте».

• Экстракт корня Женьшеня, в эквивалентных Теравит Антистресс дозах, оказывает общее активирующее действие.

• Монотерапия препаратом Билобил в эквивалентной дозе не влияет на адаптационные возможности организма в условиях стресса.

• Экстракт корня Женьшеня в применяемой дозе у крыс усиливает ПОЛ и снижает уровень глюкозы в пределах физиологической нормы, препарат Билобил оказывает гипогликемическое действие.

• Приём витаминно-минерального комплекса Теравит Антистресс в течение 2 мес. не корректирует уровень магния в сыворотке крови.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Громова Ольга Алексеевна
Автор, ответственный за переписку
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-7663-710X
SPIN-код: 6317-9833
д. м. н, профессор, в. н. с., научный руководитель института Фармакоинформатики, ФИЦ ИУ РАН, Москва

Богачева Татьяна Евгеньевна
ORCID ID: 0000-0002-5042-4886
SPIN-код: 8970-6270
к. м. н., доцент, доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России

Калачева Алла Геннадьевна
ORCID ID: 0000-0001-6144-5781
SPIN-код: 4917-2391
к. м. н., доцент, доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России

Гришина Татьяна Романовна
ORCID ID: 0000-0002-1665-1188
SPIN-код: 1241-0701
д. м. н., профессор, зав. кафедрой фармакологии ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России

Gromova Olga
Corresponding author
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-7663-710X
SPIN code: 6317-9833
DM, professor, Leading Researcher, scientific Director of the Institute of Pharmacoinformatics FRC CSC RAS, Moscow

Bogacheva Tatiana
ORCID ID: 0000-0002-5042-4886
SPIN code: 8970-6270
assistant professor, Head of Department of pharmacology FSBEI HE IvSMA MOH Russia

Kalacheva Alla
ORCID ID: 0000-0001-6144-5781
SPIN code: 4917-2391
assistant professor, Head of Department of pharmacology FSBEI HE IvSMA MOH Russia

Grishina Tatiana
ORCID ID: 0000-0002-1665-1188
SPIN code: 1241-0701
DM, professor, Head of Department of pharmacology FSBEI HE IvSMA MOH Russia

Литература / References

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*. – М.: Высшая школа; 1991. – С. 119–122. [Buresh Ya, Bureshova O, Kh 'yuston DP. *Metodiki i osnovnye eksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya*. Moscow: Vysshaya shkola; 1991. Pp. 119–122. (In Russ).]

2. Воронина Т.А., Середенин С.Б. *Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия фармакологических веществ* // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. –М.: Медицина; 2005. – С. 253–263. [Voronina TA, Seredenin SB. *Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu trankviliziruyushchego (anksioliticheskogo) dejstviya farmakologicheskih veshchestv* // Rukovodstvo po ehksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novyh farmakologicheskih veshchestv. Pod red. RU. Habrieva. Moscow: Medicina; 2005. Pp. 253–263. (In Russ).]

3. Кудрин А.В., Громова, О.А. *Микроэлементы в неврологии*. – М.: ГЭОТАР-Медиа; 2006. [Kudrin AV, Gromova OA. *Mikroehlementy v nevrologii*. Moscow: GEOTAR-Media; 2006. (In Russ).]

4. *Растительные лекарственные средства* / Под ред. Максютина Н.П., Комиссаренко Н.Ф., Прокопенко А.П., Погодина Л.И., Липкан Г.Н. – К: Здоровье; 1985. [*Rastitel'nye lekarstvennye sredstva* / Pod red. Maksyutina NP, Komissarenko NF, Prokopenko AP, Pogodina LI, Lipkan GN. Kiev: Zdorov'e; 1985. (In Russ).]

5. Ребров В.Г., Громова О.А. *Витамины и микроэлементы*. – М.: АЛЕВ-В; 2003. [Rebrov VG, Gromova OA. *Vitaminy i mikroehlementy*. Moscow: ALEV-V; 2003. (In Russ).]

6. Ших Е.В., Ильенко Л.И. *Клинико-фармакологические аспекты применения витаминно-минеральных комплексов в период беременности*. – М.: МЕДПРАКТИКА-М: 2007. [Shih EV, Il'enko LI. *Kliniko-farmakologicheskie aspekty primeneniya vitaminno-mineral'nyh kompleksov v period beremennosti*. Moscow: MEDPRAKTIKA-M: 2007. (In Russ).]

7. Duverger D, DeFeudis FV, Drieu K. Effects of repeated treatments with an extract of Ginkgo biloba (EGb 761) on cerebral glucose utilization in the rat: an autoradiographic study. *Gen Pharmacol*. 1995;26:1375–1383.

8. Hall CS. (1936). Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity. *Journal of Comparative Psychology*. 22(3):345–352. DOI: psycnet.apa.org/record/1937-01246-001

9. Omhawa H, Chishi N, Jagi K. // *Analyt. Biochem*. 1979;35:351–358.

Изучение ангиотропной активности фактора роста нервов в опытах на культуре эндотелиальных клеток человека (HUVEC)

Пекельдина Е.С., Николаев С.В., Антипова Т.А., Крыжановский С.А.

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

Резюме. В экспериментах *in vitro*, выполненных на культуре клеток эндотелия человека (HUVEC), изучали ангиотропные эффекты фактора роста нервов NGF. На интактной культуре клеток показано, что NGF в концентрации 10^{-9} М проявляет ангиогенные свойства и стимулирует начальную стадию ангиогенеза – тубулогенез, о чём свидетельствует статистически значимое по сравнению с контролем увеличение средней суммарной длины микротрубочек. В условиях оксидативного стресса NGF нивелирует повреждающее действие перекиси водорода в высокой концентрации (200 мкМ) и не только проявляет ангиопротекторное действие, но и препятствует развитию морфологических изменений ядерного хроматина, характерных для апоптоза. В этих условиях NGF (10^{-9} М) статистически значимо по сравнению с контролем снижает число клеток с конденсированным и фрагментированным хроматином: соответственно 44 ± 9 и 78 ± 9 ($p \leq 0{,}05$). Полученные в работе результаты подтверждают данные о наличии у NGF ангиогенной активности и свидетельствуют о том, что в условиях повреждения эндотелиальных клеток сосудов оксидативным стрессом он проявляет выраженную ангиопротекторную и антиапоптотическую активность.

Ключевые слова: фактор роста нерва; клетки HUVEC; перекись водорода; оксидативный стресс; ангиопротекторная активность; антиапоптотическая активность

Для цитирования:
Пекельдина Е.С., Николаев С.В., Антипова Т.А., Крыжановский С.А. Изучение ангиотропной активности фактора роста нервов в опытах на культуре эндотелиальных клеток человека HUVEC // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – № 1. – С. 32–35. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10004.

Study of angiotropic activity of the nerve growth factor in experiments on human endothelial cell culture (HUVEC)

Pekeldina E.S., Nicolaev S.V., Antipova T.A., Kryzhanovskii S.A.
FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Resume. *In vitro* experiments performed on human endothelial cell culture (HUVEC), nerve growth factor (NGF) angiotropic effects were studied. An intact cell culture it was shown that NGF exhibited angiogenic properties and stimulated the initial stage of angiogenesis – tubulogenesis at a 10^{-9} M concentration, as evidenced by a statistically significant increase in the average total length of microtubules compared with the control. Under conditions of oxidative stress, NGF neutralizes the damaging effect of hydrogen peroxide in a high concentration (200 μM) and not only shows an angioprotective effect, but also prevents the development of morphological changes in nuclear chromatin, characteristic for apoptosis. Under these conditions NGF (10^{-9} M) reduces statistically significant by comparison with the control the number of cells with condensed and fragmented chromatin: 44 ± 9 and 78 ± 9 ($p \leq 0{,}05$), respectively. The obtained results confirm the data about the NGF angiogenic activity and indicate that under conditions of the vessels endothelial cells damage by oxidative stress, it exhibits pronounced angioprotective and anti-apoptotic activity.

Keywords: nerve growth factor; HUVEC cells; hydrogen peroxide; oxidative stress; angioprotective activity; antiapoptotic activity

For citations:
Pekeldina ES, Nicolaev SV, Antipova TA, Kryzhanovskii SA. Study of angiotropic activity of the nerve growth factor in experiments on human endothelial cell culture (HUVEC) . *Farmakokinetika i farmakodinamika.* 2018;1:32–35. (In Russ). DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10004.

Введение

Фактор роста нервов (nerve growth factor – NGF) относится к семейству регуляторных белков – нейротрофинов, принимающих участие в регуляции процессов пролиферации, дифференциации и миелинизации, а также поддержании функциональной активности центральных и периферических нейронов. Помимо этого, нейротрофины и, в частности NGF, играют важную роль в образовании синапсов и регуляции синаптической пластичности [1, 2]. Исторически NGF и его предшественник proNGF рассматривались как одни из основных регуляторов нейрональной функции. Однако в настоящее время накоплен большой литературный материал, свидетельствующий о том, что биологическая роль NGF существенно шире и обусловлена его способностью регулировать процессы выживания клетки, апоптоза, клеточной пролиферации, воспаления, ангиогенеза и ремоделирования тканей [3]. В частности показано, что NGF является одним из ключевых эндогенных регуляторов ангиогенеза и, помимо ЦНС, синтезируется и экскретируется эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудов, а на их клеточной мембране представлены специфичные для NGF TrkA рецепторы [4, 5], посредством взаимодействия с которыми NGF реализует свои ангиогенные эффекты.

NGF-опосредованная активация TrkA рецепторов, расположенных на клеточных мембранах эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудов, влечёт за собой активацию PI3K-Akt, Ras-MAPK и PLCγ1-IP3 внутриклеточных сигнальных путей, инициирующих неоангиогенез [6–8]. Этот феномен описан как для нормальных, так и патологически изменённых тканей.

Цель настоящего исследования – изучение ангиогенной активности NGF на интактной и повреждённой культуре изолированных клеток эндотелия человека HUVEC.

Материалы и методы

Интактные клетки. Оценку ангиогенной активности NGF (BD Bioscience) проводили на культуре клеток эндотелия человека (HUVEC). Клетки эндотелия рассаживали в среде ДМЕМ (HyClone), содержащей 20 мМ Hepes (ICN), 2 мМ L-глутамина (ICN), гепарин (5 Ед/мл) (Панфарма), ECGF (200 мкг/мл) (Sigma), 10 % FBS (Invitrogen) с плотностью 4,0 тыс. на лунку в 96-луночные планшеты, покрытые поли-Д-лизином. NGF (10^{-9} М) вносили через 30 мин после рассеивания клеток на планшеты и затем каждые 48 ч (всего 3 внесения) в течение недели. Через 24 ч после последнего внесения NGF клетки фотографировали с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100-F (Япония) в фазовом контрасте при увеличении ×100. Длину микротрубочек измеряли в 5 полях зрения каждой лунки с использованием программы WCIF ImageJ и выражали в микрометрах.

Повреждённые клетки. Эксперименты проводили на модели оксидативного стресса [9] в культуре эндотелиальных клеток человека (HUVEC), который вызывали добавлением в культуру клеток перекиси водорода (H_2O_2) в конечной концентрации 200 мкМ. Клетки культивировали в той же среде, что и интактные клетки в атмосфере 5 % CO_2 при 37 °С в течение 24 ч. Далее среду, содержащую H_2O_2, заменяли на нормальную и через 24 ч определяли жизнеспособность клеток с помощью МТТ-теста. Светопоглощение измеряли на спектрофотометре «Multiscan» (Thermo) при длине волны 600 нм. Ангиогенную активность NGF оценивали с помощью световой микроскопии при увеличении ×200. NGF вносили после отмывки среды с H_2O_2 в конечной концентрации 10^{-9} М и далее каждые 48 ч в течение недели. Через 24 ч после последнего внесения NGF клетки фотографировали с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100-F (Япония) в фазовом контрасте при увеличении ×100. Длину микротрубочек измеряли в 5 полях зрения каждой лунки с использованием программы WCIF ImageJ и выражали в микрометрах. В следующей серии экспериментов оценивали антиапоптотическую активность NGF. В качестве маркера апоптоза использовали флюоресцентный краситель Хехст (Hoechst 33258), который позволяет выявить клетки с конденсированным и фрагментированным хроматином, характерным для апоптоза и некроза. Для этой цели клетки фиксировали метанолом. Далее проводили окрашивание клеток ядерным красителем Hoechst 33258 (10 мг/мл) (Serva, FRG) в течение 30 мин при комнатной температуре.

Статистическую обработку результатов проводили следующим образом: Нормальность распределения выборок проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогеность дисперсий – с помощью критерия Левена. Так как полученные данные были распределены по нормальному закону, а дисперсии выборок были негомогенны, то для определения статистической значимости различий использовали критерий Стьюдента в приближении для выборок с неравными дисперсиями, для учёта множественности сравнений использовали поправку Бонферрони. Результаты выражали в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0{,}05$.

Результаты и обсуждение

На интактной культуре изолированных клеток эндотелия человека (HUVEC) показано, что NGF в концентрации 10^{-9} М стимулирует начальную стадию ангиогенеза — тубулогенез, о чём свидетельствует статистически значимое ($p < 0{,}001$) по сравнению с контролем увеличение средней суммарной длины микротрубочек: контроль — 162 ± 6 мкм; NGF — 330 ± 9 мкм. Таким образом, в этой серии экспериментов нами были подтверждены известные данные литературы о том, что NGF обладает выраженной ангиогенной активностью [7, 10, 11].

В следующей серии экспериментов оценивали ангиопротекторную активность NGF на культуре клеток эндотелия человека (HUVEC), повреждённых перекисью водорода. На первом этапе исследования была отработана модель повреждения клеток сосудистого эндотелия человека высокой концентрацией перекиси водорода. Было показано, что перекись водорода в высокой концентрации (200 мкМ) инициирует повреждение клеток (HUVEC). Так, если длина интактных клеток (контроль) равнялась в среднем 125 ± 24 мкм, то в группе с H_2O_2 этот показатель был статистически значимо ниже ($p < 0{,}05$), чем в контроле и составлял 87 ± 10 мкм (рис. 1). На следующем этапе изучали ангиопротекторные эффекты NGF, который вносили в лунки после отмывки клеток от H_2O_2. Нами показано, что NGF (10^{-9} М) в условиях оксидативного стресса проявляет значимую ($p < 0{,}05$) ангиопротекторную активность: длина клеток в группе NGF практически не отличалась от таковой в интактной группе и составляла соответственно 138 ± 14 мкм и 125 ± 24 мкм (рис. 1).

В последней серии экспериментов изучали антиапоптотические эффекты NGF на культуре (HUVEC), повреждённых перекисью водорода. Результаты экспериментов приведены на рис. 2. Как видно из приведённых данных, добавление в культуру клеток перекиси

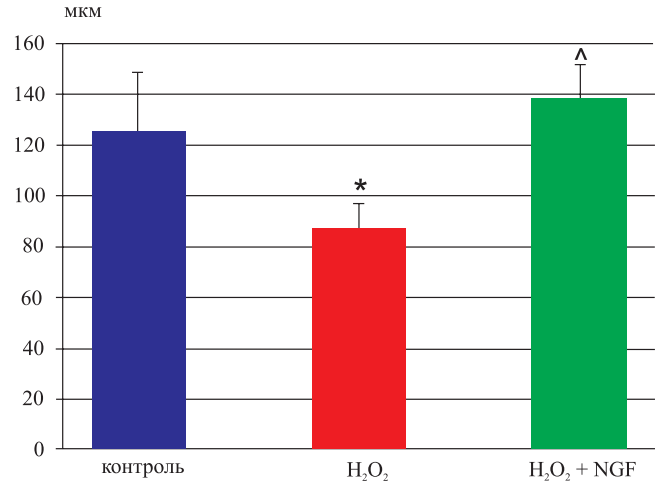


Рис. 1. Ангиопротекторное действие NGF (10^{-9} М) на модели оксидативного стресса в культуре клеток сосудистого эндотелия человека (HUVEC).
Статистическая значимость: от контроля * – $p \leq 0{,}05$; от перекиси водорода ^ – $p \leq 0{,}05$

водорода вызывает повреждение ядер клеток сосудистого эндотелия: в контроле число клеток с конденсированным и фрагментированным хроматином составило 9 ± 2, а после внесения перекиси водорода – 78 ± 9 ($p \leq 0{,}05$), что свидетельствует о том, что оксидативный стресс оказывает проапоптотическое действие. NGF (10^{-9} М) достоверно по сравнению с контролем снижает число повреждённых клеток, соответственно, 44 ± 9 и 78 ± 9 ($p \leq 0{,}05$), что позволяет говорить о том, что NGF препятствует развитию морфологических изменений ядерного хроматина, характерных для апоптоза.

Известно, что NGF-опосредованная активация TrkA рецепторов, расположенных на клеточных мембранах эндотелиальных клетках сосудов, активирует PI3K-Akt, Ras-MAPK и PLCγ1-IP3 внутриклеточные сигнальные

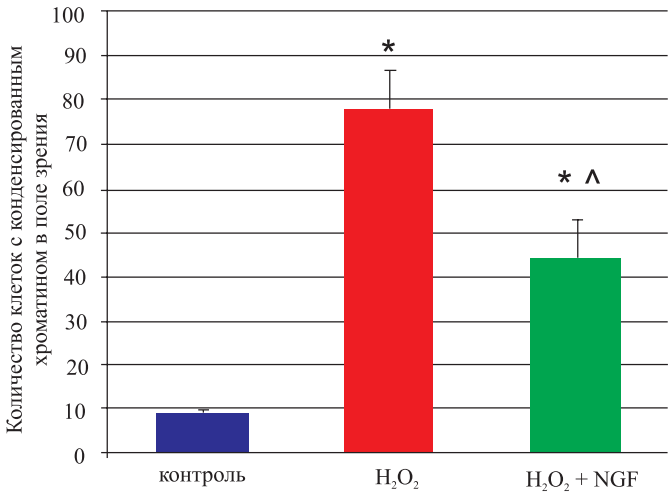


Рис. 2. Антиапоптотическое действие NGF (10^{-9} М) на модели оксидативного стресса в культуре клеток сосудистого эндотелия человека (HUVEC).
Данные окрашивания Hoechst 33258. Статистическая значимость: от контроля * – $p \leq 0{,}05$; от перекиси водорода ^ – $p \leq 0{,}05$

пути, стимулирующие пролиферацию, миграцию и инвазию эндотелиальных клеток, т. е. инициирует ангиогенез [6–8 и др.]. Помимо этого, NGF может стимулировать ангиогенез посредством активации фактора роста эндотелия сосудов – VEGF-A [11]. Активированный NGF фактор роста эндотелия сосудов (VEGF-A) взаимодействует с FLK-1 рецепторами, в результате чего происходит экспрессия урокиназы и/или её рецепторов [12]. Экспрессия урокиназы является начальным этапом программы, связанной с миграцией клеток, и необходима для перемещения клеток из одного тканевого компартмента в другой [13]. Ключевым моментом процесса клеточной инвазии является взаимодействие урокиназы со специфичным для неё урокиназным рецептором — uPAR. uPAR рецепторы фиксируются к клеточной мембране липидным «якорем» – инозитол-фосфогликаном, — и способны латерально перемещаться в фосфолипидном слое клеточной мембраны и, в случае активации, концентрируются в её определённых участках, в частности в случае миграции клетки на её «лидирующем» полюсе. Такие свойства активированных uPAR рецепторов позволяют осуществлять строго направленную локальную деградацию внеклеточного матрикса, что необходимо для миграции и инвазии клеток [13, 14].

Если ангиогенные эффекты NGF достаточно хорошо известны, то его ангиопротекторное действие практически не изучено. В библиотеке Pub.Med. представлена только одна, опубликованная в 2017 г. статья, свидетельствующая о способности NGF защищать эндотелиальные клетки сосудов от повреждающего действия индометацина [15]. Авторы статьи полагают, что ангиопротекторное действие NGF может быть связано с его способностью препятствовать деполяризации митохондриальной мембраны и/или стимулировать экспрессию IGF-1 (инсулиноподобный фактор роста 1) в эндотелиальных клетках. Близкая ситуация наблюдается в отношении изучения влияния NGF на апоптоз эндотелиальных клеток. В литературе имеются единичные противоречивые сообщения о наличии у NGF или антиапототической [16], или проапототической активности [17].

Заключение

Результаты настоящего исследования подтверждают данные о наличии у NGF ангиогенной активности и свидетельствуют о том, что в условиях повреждения эндотелиальных клеток сосудов оксидативным стрессом он проявляет выраженную ангиопротекторную и антиапоптотическую активность.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Крыжановский Сергей Александрович
Автор, ответственный за переписку
e-mail: SAK-538@yandex.ru
ORCID ID: 0000-0003-2832-4739
SPIN-код: 6596-4865
д. м. н., зав. лабораторией фармакологического скрининга ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Kryzhanovskii Sergey
Corresponding author
e-mail: SAK-538@yandex.ru
ORCID ID: 0000-0003-2832-4739
SPIN code: 6596-4865
DM, Head of Laboratory of pharmacological screening FSBI "ZAKUSOV INSTITUTE OF PHARMACOLOGY", Moscow

Пекельдина Евгения Сергеевна
SPIN-код: 3225-9216
н. с. лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Pekeldina Evgeniya
SPIN code: 3225-9216
Researcher Scientist of Laboratory of pharmacological screening FSBI "ZAKUSOV INSTITUTE OF PHARMACOLOGY", Moscow

Николаев Сергей Владимирович
ORCID ID: 0000-0003-4584-746X
SPIN-код: 1144-0269
н. с. лаборатории нейропротекции ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В.Закусова», Москва

Nicolaev Sergey
ORCID ID: 0000-0003-4584-746X
SPIN code: 1144-0269
Researcher Scientist of Laboratory of neuroprotection pharmacology FSBI "ZAKUSOV INSTITUTE OF PHARMACOLOGY", Moscow

Антипова Татьяна Алексеевна
ORCID ID: 0000-0002-9309-4872
SPIN-код: 7723-6008
к. б. н., зав. лабораторией нейропротекции ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Antipova Tatyana
ORCID ID: 0000-0002-9309-4872
SPIN code: 7723-6008
Candidate of Biological Sciences, Head of Laboratory of neuroprotection pharmacology FSBI "ZAKUSOV INSTITUTE OF PHARMACOLOGY", Moscow

Литература / References

1. Poo MM. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci*. 2001 Jan;2(1):24–32. DOI: 10.1038/35049004
2. Bradshaw RA, Pundavela J, Biarc J, et al. NGF and proNGF: Regulation of neuronal and neoplastic responses through receptor signaling. *Adv Biol Regul*. 2015 May;58:16–27. DOI: 10.1016/j.jbior.2014.11.003
3. Schenck K, Schreurs O, Hayashi K, Helgeland K. The role of nerve growth factor (NGF) and its precursor forms in oral wound healing. *Int J Mol Sci*. 2017 Feb 11;18(2). pii: E386. DOI: 10.3390/ijms18020386
4. Saygili E, Kluttig R, Rana OR, et al. Age-related regional differences in cardiac nerve growth factor expression. *Age (Dordr)*. 2012 Jun;34(3):659–667. DOI: 10.1007/s11357-011-9262-0
5. Retamales-Ortega R, Oróstica L, Vera C, et al. Role of nerve growth factor (NGF) and miRNAs in epithelial ovarian cancer. *Int J Mol Sci*. 2017 Feb 26;18(3). pii: E507. DOI: 10.3390/ijms18030507
6. Nico B, Mangieri D, Benagiano V, et al. Nerve growth factor as an angiogenic factor. *Microvasc Res*. 2008 Mar;75(2):135–141. DOI: 10.1016/j.mvr.2007.07.004
7. Ahluwalia A, Jones MK, Brzozowski T, Tarnawski AS. Nerve growth factor is critical requirement for in vitro angiogenesis in gastric endothelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2016 Nov 1;311(5):G981-G987. DOI: 10.1152/ajpgi.00334.2016
8. Lazarovici P, Lahiani A, Gincberg G, et al. Nerve growth factor-induced angiogenesis: 1. Endothelial cell tube formation assay. *Methods Mol Biol*. 2018;1727:239–250. DOI: 10.1007/978-1-4939-7571-6_18
9. Mu P, Liu Q, Zheng R. Biphasic regulation of H2O2 on angiogenesis implicated NADPH oxidase. *Cell Biol Int*. 2010 Oct;34(10):1013–1020. DOI: 10.1042/CBI20090092
10. Diao YP, Cui FK, Yan S, et al. Nerve growth factor promotes angiogenesis and skeletal muscle fiber remodeling in a murine model of hindlimb ischemia. *Chin Med J (Engl)*. 2016 Feb 5;129(3):313–319. DOI: 10.4103/0366-6999.174496
11. Wang J, Fu X, Yu L, et al. Preconditioning with VEGF enhances angiogenic and neuroprotective effects of bone marrow mononuclear cell transplantation in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *Mol Neurobiol*. 2016 Nov;53(9):6057–6068. DOI: 10.1007/s12035-015-9512-8
12. Herkenne S, Paques C, Nivelles O, et al. The interaction of uPAR with VEGFR2 promotes VEGF-induced angiogenesis. *Sci Signal*. 2015 Nov 17;8(403):ra117. DOI: 10.1126/scisignal.aaa2403
13. Breuss JM, Uhrin P. VEGF-initiated angiogenesis and the uPA/uPAR system. *Cell Adh Migr*. 2012 Nov-Dec;6(6):535–615. DOI: 10.4161/cam.22243
14. Montuori N, Ragno P. Role of uPA/uPAR in the modulation of angiogenesis. *Chem Immunol Allergy*. 2014;99:105–122. DOI: 10.1159/000353310
15. Ahluwalia A, Jones MK, Hoa N, Tarnawski AS. NGF protects endothelial cells from indomethacin-induced injury through activation of mitochondria and upregulation of IGF-1. *Cell Signal*. 2017 Dec;40:22–29. DOI: 10.1016/j.cellsig.2017.08.006
16. Urban D, Lorenz J, Meyborg H, et al. Proprotein convertase furin enhances survival and migration of vascular smooth muscle cells via processing of pro-nerve growth factor. *J Biochem*. 2013 Feb;153(2):197–207. DOI: 10.1093/jb/mvs137
17. Han Y, Qi Y, Kang J, et al. Nerve growth factor promotes formation of lumen-like structures in vitro through inducing apoptosis in human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 Feb 15;366(3):685–691. DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.11.160

Фармакоинформационный анализ молекул препарата Климактоплан

Торшин И.Ю.[1], Громова О.А.[1], Тапильская Н.И.[2]

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

[2] – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Резюме. Анализ массива публикаций по природным экстрактам цимицифуги, сепии, сангвинарии, входящим в состав препарата Климактоплан, показал, что только по экстрактам цимицифуги имеется более 800 исследований. Основными действующими началами Климактоплана являются синергидно взаимодействующие тритерпеновые гликозиды, производные кофеиновой кислоты цимицифуги и натуральных пигментов – коричневого меланина (сепия) и красного сангвинарина (экстракт сангвинарии канадской). Результаты фундаментальных и клинических исследований молекул экстрактов природного происхождения в Климактоплане указывают на следующие фармакологические эффекты – противовоспалительный, противодиабетический, вазодилататорный, гепатопротекторный, спазмолитический, антиатеросклеротический, противоопухолевый. Комбинирование компонентов в Климактоплане обуславливает эффективность препарата не только для лечения приливов, но коморбидной патологии, характерной для периода постменопаузы.

Ключевые слова: менопауза; цимицифуга; меланин; сепия; сангвинарин; Климактоплан

Для цитирования:
Торшин И.Ю., Громова О.А., Тапильская Н.И. Фармакоинформационный анализ молекул препарата Климактоплан // *Фармакокинетика и фармакодинамика.* – 2018. – № 1. – С. 36–46. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10005.

Pharmacoinformation analysis of the molecules of the drug Klimaktoplan

Torshin I.Yu.[1], Gromova O.A.[1], Tapilskaya N.I.[2]

[1] – Federal Research Center “Computer Science and Control“ of the Russian Academy of Sciences, Moscow

[2] – Federal State Budgetary Scientific Institution “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, St. Petersburg

Resume. An analysis of an array of publications on natural extracts of tsimitsifuga, sepia, sanguinaria included in the preparation Klimaktoplan, showed that only the extracts of tsimitsifugi have more than 800 studies. The main active principles of the Klimaktoplan are synergistically interacting triterpene glycosides, cymic acid derivatives of cymicifuge and natural pigments – brown melanin (sepia) and red sanguinarine (extract of Canadian sanguinaria). The results of fundamental and clinical studies of molecules of natural extracts in the Klimaktoplan indicate the following pharmacological effects: anti-inflammatory, antidiabetic, vasodilator, hepatoprotective, spasmolytic, antiatherosclerotic, antitumor. Combination of components in the Klimaktoplan causes the effectiveness of the drug not only for the treatment of hot flashes, but a comorbid pathology characteristic of the postmenopausal period. The possibility of combining extracts of Cimicifuga with other natural extracts (sepia, Canadian sanguinaria, etc.) is considered.

Keywords: menopause; Cimicifuga; melanin; sepia; sanguine; Klimaktoplan

For citations:
Torshin IYu, Gromova OA, Tapilskaya NI. Pharmacoinformation analysis of the molecules of the drug Klimaktoplan. *Farmakokinetika i farmakodinamika.* 2018;1:36–46. (In Russ). DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10005.

Введение

В ходе проведения кластера исследований под рубрикой «Инициатива по охране здоровья женщин» («Women's Health Initiative», США) было установлено, что комбинированная заместительная терапия эстроген-содержащими препаратами повышает риск развития рака молочной железы и сердечно-сосудистых заболеваний. Этот факт, подтверждённый многочисленными исследованиями [1, 2], вынуждает многих женщин искать альтернативы [3], в т. ч. фитопрепараты, основным действующим началом которых являются стандартизированные экстракты корней цимицифуги (Cimicifuga racemosa, цимицифуга ветвистая, клопогон кистевидный) [4].

В современной медицинской практике фитопрепараты широко используются для лечения климактерических расстройств и для снижения риска развития рака молочной железы у женщин в постменопаузе. Например, в исследовании 10 121 женщин в постменопаузе (среди них 3 464 случая рака молочной железы) было показано, что даже нерегулярное использование определённых растительных экстрактов (прежде всего, цимицифуги, зверобоя, витекса, женьшеня) ассоциировано со снижением риска агрессивного развития рака молочной железы (ОР 0,74, 95 % ДИ 0,63–0,87). При этом, каждый дополнительный год приёма фитопрепаратов соответствовал снижению риска заболевания на 4 % (ОР 0,96, $p = 0,03$) [5].

Растения рода Cimicifuga долгое время используются в народной медицине в Китае, Европе и странах северной Америки. Сушёные корневища широко используются для лечения головной боли, зубной боли, пролапса матки и, в частности, для лечения и профилактики постменопаузального синдрома [6]. Наиболее широко используются экстракты цимицифуги ветвистой (C.racemosa).

Важно отметить, что данные клинических исследований показывают, что побочные явления, ассоциированные с приёмом экстрактов C.racemosa встречаются редко, относительно умеренны и носят обратимый характер. Наиболее распространёнными побочными эффектами являются гастроинтестинальные расстройства и высыпания на коже [7].

В настоящей работе представлены результаты систематического анализа по базам данных PUBMED и PUBCHEM, о всех идентифицированных в фармакологии молекул, входящим в состав действующих начал препарата Климактоплан. Анализ данного массива данных о препарате был проведён с использованием современных методов компьютерного обучения, развиваемых в рамках алгебраического подхода к распознаванию.

Материалы и методы

Для выделения релевантных данных в таком достаточно большом массиве для поиска информации были использованы математические методы распознавания и машинного обучения, разрабатываемые в рамках теории метрического анализа задач искусственного интеллекта (машинного обучения). Системы машинного обучения оперируют со множествами *прецедентов*, представляющих собой материал обучения алгоритма. Отдельный прецедент (в нашем случае, абстракт научной публикации или её полный текст) состоит из признакового описания (т. е. слов в составе текста) и информации о принадлежности этого объекта к определённому классу объектов (допустим, класс K_1 «тексты по использованию экстрактов цимицифуги» и класс K_2 «контрольная выборка», т. е. тексты, не имеющие непосредственного отношения к изучаемой теме). *Классы* принадлежности объектов, естественно, задаются экспертом-медиком. Был проведён анализ массива из абстрактов 810 публикаций, найденных в PUBMED по запросу «cimicifuga OR black C.racemosa OR Actaea racemosa». Данная выборка абстрактов сформировала класс K_1 («тексты по теме»); в качестве контрольной выборки (класс K_2, «контроль») были использованы абстракты, найденные по запросу «(Female AND Middle Aged AND Phytotherapy) NOT Cimicifuga» (всего 4 741 абстрактов).

Для оценки ассоциаций ключевых слов с изучаемой темой (т. е. использование цимицифуги) были применены математические методы анализа разрешимости. Под разрешимостью задач понимается непротиворечивость множеств прецедентов (т. е. существования решения у задачи). В случае задачи поиска наиболее релевантных публикаций, условие разрешимости этой задачи записывается следующим образом:

$$\forall_{\mathrm{Pr}}(A^1,K^1),(A^2,K^2)\times \times\left(\forall_{\alpha=1}^{|P|} p_\alpha : p_\alpha(A^1)=p_\alpha(A^2)\right)\Rightarrow K^1=K^2, \quad (1)$$

где:

Pr – *множество всех текстовых прецедентов*;

(A^1, K^1) (A^2, K^2)— *произвольные прецеденты*;

В прецеденте (A, K) A – *обозначает полное признаковое описание (т. е. набор всех слов во всех текстах из Pr) текстового прецедента (т. е. абстракт, полный текст статьи, и т. д.)*;

K – *класс, к которому принадлежит прецедент (K_1 или K_2);*

P – множество всех значений признаков, найденных в прецедентах из Pr;

$p_k(A)$– значение α-го бинарного признака из P в прецеденте (A, K) ($p_\alpha(A)$ =1, признак содержится в прецеденте A, 0 – в противном случае). С учётом информативности признаков, условие (1) записывается как критерий разрешимости на множестве значений признаков, линейно-упорядоченном по возрастающим порядковым номерам (α) в соответствии со значением оценки функционала информативности $D_{инф}(\alpha)$:

$$\forall_{\mathrm{Pr}}(i,j,i\neq j): A^i\in K_1, A^j\in K_0 \Rightarrow \Rightarrow \exists_P p_\alpha,\alpha\to\min : p_\alpha(A^i)>p_\alpha(A^j) \quad (2)$$

В качестве $D_{инф}$ был применен один из *D-функционалов* [Рудаков, Торшин, 2012], отвечающий следующим качественным представлениям эксперта об информативности терминов: (а) наиболее интересны термины, встречающиеся «часто» в выборке K_1 (например, десятки раз) и «достаточно редко» (единицы) в выборке K_2; (б) термины, встречающиеся «очень часто» (сотни и тысячи раз) должны учитываться только по мере необходимости для выполнения условия разрешимости (2); (в) термины, встречающиеся «редко» (единицы) в выборке K_1 характеризуются наименьшей информативностью; (г) наибольший интерес представляют термины, наиболее релевантные по смыслу (например, «адъювантная терапия»).

Пусть α-й термин встречается в n_1^α абстрактах выборки K_1, и в n_2^α абстрактах выборки K_2, размеры

выборок K_1 и K_2 – N_1 и N_2 абстрактов, соответственно, а частоты встречаемости термина — $\nu_1^\alpha = n_l^\alpha / (N_1 + N_2)$ и $\nu_2^\alpha = n_2^\alpha / (N_1 + N_2)$. Предварительные эксперименты показали, что требованиям (а, б, в, г) вполне отвечает D-функционал вида (3):

$$D_{\text{инф}} = \gamma_\alpha \left(n_1^\alpha - \varepsilon_2 \cdot n_2^\alpha \,/\, D'^\alpha_1(\nu_1^\alpha, \varepsilon_2) \right), \qquad (3)$$

где:

γ_α – смысловая релевантность α-го термина в соответствии с заданным экспертами словарем терминов;

$\varepsilon_0 = N_1 / (N_1 + N_2)$ – отношение размеров выборок K_1 и K_2;

D'^α_1 – кусочно-линейная функция вида (3'), указывающая насколько чаще α-й термин встречается в K_1, чем в K_2. Например, $D'^\alpha_1 = 1{,}0$ соответствует тому, что α-й термин встречается только среди абстрактов выборки K_1 и ни разу в K_2.

$$D'^\alpha_l(\nu_1^\alpha, \nu_2) = \begin{cases} \nu_1^\alpha \le \nu_2 : \ 0; \\ \nu_1^\alpha > \nu_2 : \ \dfrac{\nu_1^\alpha - \nu_2}{1 - \nu_2}. \end{cases} \qquad (3')$$

Тестирование условия (2) на множестве прецедентов и лежит в основе использованного метода отбора наиболее релевантных публикаций для систематического анализа больших массивов научных статей. В тестировании (2) важно принимать во внимание, что некоторые признаки могут быть избыточны, так как встречаются в устойчивых сочетаниях слов (например, «лекарственная терапия»), семантически связанных терминов или синонимов (например, «экстракт цифицифуги», «экстракт клопогона») и др. Поэтому, проведение анализа *парных взаимодействий терминов* (т. е. перекрывания областей значений признаков) необходимо для корректной формулировки запросов при поиске научной литературы. Для произвольного класса K, взаимодействие i-го и j-го терминов можно оценивать, как:

$$r(i, j) = |T_i \cap T_j| \,/\, |T_i \cup T_j|, \qquad (4)$$

где $T_i = \{A \in K : p_i(A) = 1\}$, $T_j = \{A \in K : p_j(A) = 1\}$. Затем проводится кластеризация всех терминов-признаков, «наиболее взаимодействующие» термины объединяются, и условие (2) тестируется уже на объединенных признаках. Выражение (4) также позволяет строить диаграммы, каждая точка которой соответствует тому или иному термину, а расстояние между точками на диаграмме пропорционально величине степени ассоциации терминов.

В целом, использованный для анализа научных статей алгоритм выглядит следующим образом:

(А) Экспертом создаются выборки публикаций (абстрактов) из множества всех публикаций, имеющихся в базах данных, соответствующие исследуемым классам K_1 и K_2, как было описано выше.

(Б) В абстрактах отсеиваются общезначимые слова (в английском тексте, артикли, частицы, общие термины и т. д.) и термины, использованные при создании выборок текстов K_1 и K_2 (в нашем случае, это термины «cimicifuga», «black C.racemosa» и др.) и формируется терминологический словарь. Для настоящего исследования, терминологический словарь был сформирован из всех терминов предложений из класса K_1. Затем проводится тестирование критерия (2) и устанавливаются наиболее информативные значения признаков (т. е. определенные специальные термины). Для каждого из терминов вычисляется ряд параметров, описывающих его информативность относительно классов K_1 и K_2: $D_{\text{инф}}$ – значение оценки информативности ключевого слова для различения выборок K_1 и K_2, α – порядковый номер ключевого слова при упорядочении всех слов по значениям $D_{\text{инф}}$. *Покр.* – процент покрытия выборки K_1 при использовании данного слова и всех слов с меньшими номерами.

(В) Полученный список наиболее информативных ключевых слов (которые, в соответствии с (2), принципиально необходимы для отличия *каждого* текста из K_1 от *каждого* текста из K_2) анализируется и рубрицируется экспертом-медиком, анализируются парные взаимодействия терминов, применяются дополнительные терминологические фильтры.

(Г) Проводится новый поиск литературы с использованием установленных уточненных наборов наиболее информативных ключевых слов.

Результаты

В результате анализа полученных информативных терминов (табл. 1) были составлены уточнённые поисковые запросы, на основе которых был сформирован список из 45 репрезентативных исследований, описывающих различные аспекты исследований экстрактов цимицифуги.

Представленный в табл. 1 список наиболее информативных ключевых слов позволил эффективно рубрицировать весь массив исследований по цимицифуге и выделить наиболее важные, на наш взгляд, направления исследований:

• Анализ химического состава экстрактов цимицифуги и фармакологические эффекты отдельных компонентов экстрактов (*тритерпены*, *гликозиды*, *фитоэстрогены*, *актеин*, *изоферуловая к-та*, *цимигенол*, *изофлавоны*, *цимицифугозид*, *фукиноловая к-та*, *кофеиновая к-та*, *цимирацемозид*, *цимифугин*, *цимилактон*) и необходимость стандартизации эстрактов (*ремифемин*);

• Потенциальные молекулярные механизмы действия компонентов экстрактов (*эстрогеновый рецептор*, *габапентин*, *серотонин*, *ГАМК*, *допамин*, *митохондриальные*, *CYP3A4*, *лютеинизирующий гормон*, *макрофаги*,

Таблица 1

Ключевые слова, достоверно ассоциированные с использованием экстрактов цимицифуги

(Список слов был получен в результате компьютеризованного анализа массива 810 публикаций)

Ключевое слово (англ.)	Ключевое слово (русск.)	v_1	v_2	$D_{инф}$	α
Menopausal	Менопауза	0,238	0,025	158,42	1
Hot flashes or hot flushes	Приливы	0,197	0,022	129,58	2
Triterpenes	Тритерпены	0,160	0,002	125,45	5
Estrogen receptor	Эстрогеновый рецептор	0,142	0,011	101,06	9
Glycosides	Гликозиды	0,099	0,002	77,73	17
Phytoestrogens	Фитоэстрогены	0,084	0,010	53,81	38
Актеин	Актеин	0,045	0,000	36	72
Tumor treatment	Лечение опухолей	0,096	0,022	30,67	96
Mcf-7	MCF-7	0,033	0,000	26	117
Ремифенин	Ремифемин	0,033	0,000	26	118
Gabapentin	Габапентин	0,031	0,001	24,51	124
Ic50	Ic50	0,030	0,001	23,11	137
Isoferulic	Изоферуловая к-та	0,029	0,000	23	138
Cimigenol	Цигигенол	0,026	0,000	21	154
Isoflavones	Изофлавоны	0,068	0,016	19,83	164
Apoptosis	Апоптоз	0,036	0,006	19,23	169
Ovariectomized	Овариэктомия	0,024	0,000	18,85	173
Serotonin	Серотонин	0,035	0,006	18,56	179
Osteoporosis	Остеопороз	0,042	0,008	18,16	181
Tamoxifen	Тамоксифен	0,024	0,001	17,82	185
Cimicifugoside	Цимицифугозид	0,021	0,000	17	198
Fukinolic	Фукиноловая к-та	0,019	0,000	15	230
Caffeic	Кофеиновая к-та	0,019	0,000	15	231
Endometrial	Эндометриальный	0,025	0,004	12,68	274
Gamma-aminobutyric	ГАМК	0,016	0,000	12,66	279
Cimiracemoside	Цимирацемозид	0,015	0,000	12	294
Mitochondrial	Митохондриальные	0,015	0,001	11,45	313
Cyp3a4	CYP3A4	0,010	0,000	7,63	473
Luteinizing hormone	Лютеинизирующий гормон	0,014	0,003	6,05	565
Macrophages	Макрофаги	0,009	0,001	5,17	680
Cimifugin	Цимифугин	0,006	0,000	5	703
Cimilactone	Цимилактон	0,006	0,000	5	704
Cyp2d6	CYP2D6	0,006	0,000	5	708
Dopamine	Допамин	0,008	0,001	4,94	735
Cyp1a2	CYP1A2	0,006	0,000	4,82	752

Примечания: v_1, v_2 – частоты встречаемости ключевого слова в выборке абстрактов K_1 (абстракты по исследуемой теме) и в выборке абстрактов K_2 (контрольная выборка абстрактов), $D_{инф}$ – оценка значения информативности ключевого слова для различения выборок K_1 и K_2; α – порядковый номер ключевого слова при упорядочении всех ключевых слов по значениям $D_{инф}$. Порядок ключевых слов – по убыванию значений оценки информативности $D_{инф}$.

CYP2D6, *CYP1A2*);

• Терапия нарушений в менопаузе (*менопауза*, *приливы*);

• Противоопухолевые эффекты (*лечение опухолей*, *MCF-7*, *IC50*, *апоптоз*, *овариэктомия тамоксифен*, *эндометриальный*);

• Противодействие остеопорозу (*остеопороз*).

В настоящей статье рассмотрены, прежде всего, фармакологические эффекты стандартизированных экстрактов C.racemosa; молекулярные механизмы осуществления обсуждаемых фармакологических эффектов будут рассмотрены в отдельной работе. Рассмотрены возможности комбинации экстрактов цимицифуги с другими природными экстрактами (сепии, сангвинарии канадской и др.).

Фармакологические свойства экстрактов C.racemosa

Эффективность действия в составе препарата Климактоплан связана с особенностями химического состава экстрактов. Исследования семи видов цимицифуги привели к идентификации более 450 соединений, наиболее изученные из которых приведены в табл. 2 [6].

Преимущественно, именно эти молекулярные компоненты экстрактов обуславливают противовоспалительный, противодиабетический, вазодилататорный, гепатопротекторный, антиатеросклеротический, противоопухолевый эффекты молекулярных компонентов экстрактов, способствуя, тем самым, повышению качества жизни и эффективности лечения приливов.

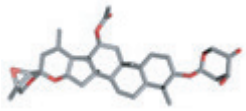
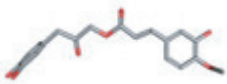
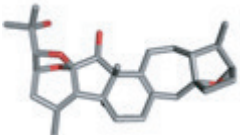
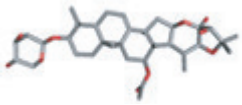
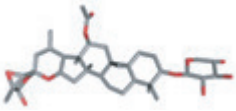
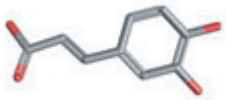
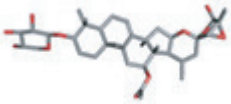
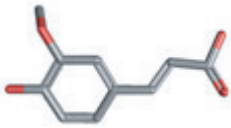
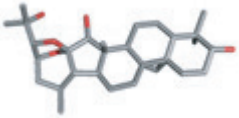
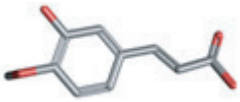
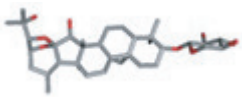
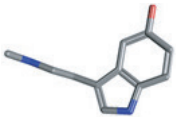
Противовоспалительное действие молекул стандартизированного экстракта C.racemosa препарата Климактоплан

В периклимактерий существенно снижается противовоспалительная защита клеток и повышается уровень оксидативного стресса. Поэтому, применение экстрактов природного происхождения (цимицифуги, сепии и сангвинарии) с мягким противовоспалительным действием способствует поддержанию функционирования яичников и процессов биосинтеза эндогенных эстрогенов.

В составе стандартизированного экстракта цимицифуги в Климактоплане присутствует тритерпеновый дезоксиактеин-23-эпи-26-деоксиактеин. Тритерпеновый дезоксиактеин-23-эпи-26-деоксиактеин подавляет индуцированную цитокинами активацию макрофагов [3]. Кроме того, противовоспалительное действие

Таблица 2

Основные молекулярные компоненты экстрактов C.racemosa. в составе препарата Климактоплан

Молекула	Структура	Молекула	Структура
Деоксиактеин		Цимирацемат А	
Ацеринол		Цимирацемозид А	
Актеин		Кофеиновая к-та	
Цимицифугозид		Феруловая кислота	
Цимигенол		Изоферуловая кислота	
Цимигенозид		N-метилсеротонин	

препарата Климактоплан опосредуется при участии цимирацетата-А, который подавляет индуцированную липополисахаридом (1 нг/мл) продукцию ФНО-альфа в макрофагах крови (на 47 ± 19 % при концентрации цимирацетата-А 140 мкМ). Также цимирацетат-А снижает секрецию провоспалительных интерлейкинов IL-6 и IL-23. Противовоспалительная активность цимирацетата-А связана с его модуляцией внутриклеточной передачи сигнала через митоген-активируемые протеинкиназы (MAP) и с ингибированием активности провоспалительного фактора транскрипции NF-kB [8].

Противовоспалительные эффекты Климактоплана также обусловлены действием гидроксикоричных кислот (кофеиновая, фукиноловая, феруловая, изоферуловая кислоты, цимицифугулярные кислоты A, B, E и F) экстракта C.racemosa. Гидроксикоричные кислоты ингибируют активность эластазы нейтрофилов. Так, константа ингибирования IC50 составила 93 мкмоль/л для кофеиновой кислоты и 0,23 мкмоль/л для фукониловой кислоты [9]. В эксперименте пероральный приём отдельно феруловой (0,5 мг/сут) или изоферуловой кислоты (0,125 мг/сут) значительно уменьшал уровни провоспалительного IL-8 в бронхоальвеолярной ткани и снижал количество выделяемых нейтрофилов. Противовоспалительные эффекты тритерпеновых гликозидов и гидроксикоричных кислот в составе экстрактов цимицифуги в Климактоплане могут в существенной мере объяснить эффективность при многих коморбидных климактерическому периоду заболеваний с выраженным компонентом хронического воспаления (ревматизм, остеоартрит и др.) [10].

Противодиабетические эффекты молекул стандартизированного экстракта C.racemosa в препарате Климактоплан

В периклимактерий почти у всех женщин отмечается набор избыточной массы тела; у многих женщин формируются пред-диабетические состояния, связанные с формированием инсулинорезистентности. Избыточная масса тела является фактором риска опухоли молочной железы, толстого кишечника и др. [11]. Поэтому, нормализация обмена сахаров весьма важна не только для терапии климактерического синдрома [12], но и для профилактики опухолевых заболеваний.

В Климактоплане присутствуют тритерпеновые гликозиды экстрактов цимицифуги, которые могут вносить существенный вклад в нормализацию обмена сахаров. Так, *деоксиактеин* активирует биогенез митохондрий и защищает панкреатические β-клетки от окисления и гликирования белков. Метилглиоксаль является одним из основных предшественников продуктов гликирования, ассоциированных с развитием осложнений диабета. В эксперименте, предварительная (до воздействия глиоксаля) обработка β-клеток дезоксиактеином значительно уменьшала уровни внутриклеточных АФК, интерлейкина-1β, перекисного окисления кардиолипина и накопления гликированных белков. Дезоксиактеин также способствовал увеличению уровней эндогенных антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, уровней коактиватора рецептора пролифераторов пероксисом (PGC-1α) – белка, необходимого для переработки глюкозы. Все вместе эти результаты показывают, что дезоксиактеин способствует профилактике повреждений β-клеток поджелудочной железы и стимулирует улучшение метаболизма сахаров [13].

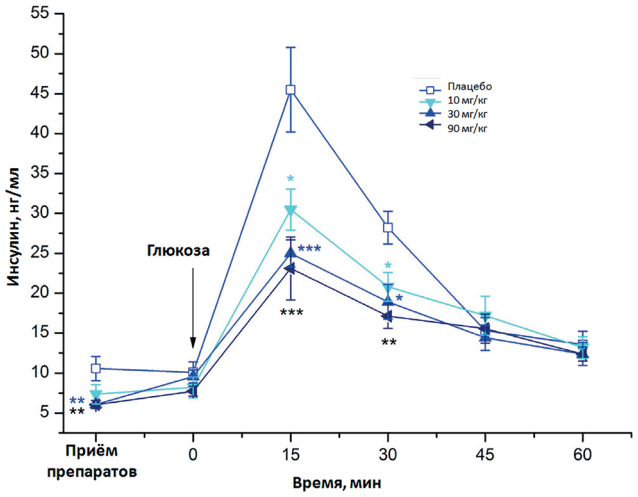
Помимо дезоксиактеина, *изоферуловая кислота* в составе экстрактов цимицифуги Климактоплана также предотвращает вызываемое метилглиоксалем гликирование белков и связанное с этим повреждение ДНК [14].

Продемонстрированы противодиабетические эффекты стандартизированного экстракта C.racemosa Ze450 в модели «ob/ob» трансгенных мышей с ожирением. Приём экстрактов уменьшал среднее ежедневное увеличение массы тела, среднесуточное потребление пищи и воды, в то время как метформин не проявлял таких эффектов. Уровни инсулина и глюкозы снижались, а индекс инсулинорезистентности HOMA-IR значительно улучшался после перорального и внутрибрюшинного применения экстракта (рис. 1). Наблюдаемые эффекты были обусловлены, отчасти, активацией белка AMPK (АМФ-активируемая протеинкиназа), в результате активации которого блокируется синтез жирных кислот и активируется их окисление [15].

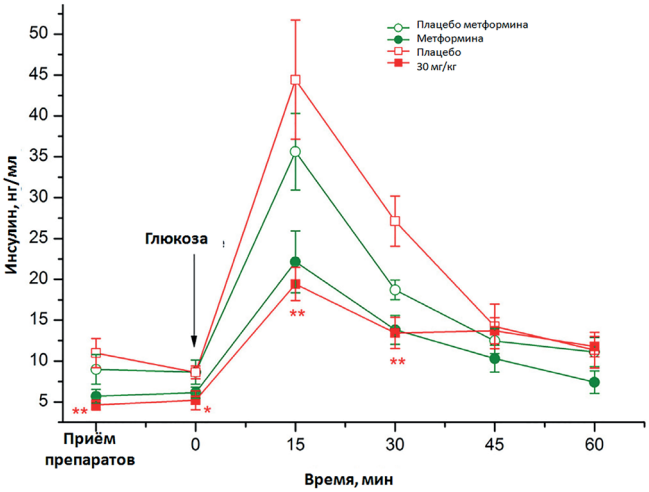
Вазодилататорная активность стандартизированных экстрактов C.racemosa в составе Климактоплана

Наряду с нормализацией метаболизма сахаров, для профилактики и терапии приливов важное значение имеет устранение избыточной вазоконстрикции. В препарате Климактоплан присутствуют цимицифуговые кислоты и фукониловая кислота. В эксперименте было показано, что эмолекулы цимицифуговой и фукониловой кислоты проявляли мощный вазодилатирующий эффект посредством устойчивого ослабления норадреналин-индуцированной вазоконстрикции [16]. Механизмы вазодилатации связывают с ингибированием притока ионов Ca^{2+} внутрь гладкомышечных клеток через выпрямительные калиевые каналы [17]. Показано, что хромоны в составе стандартизированных экстрактов C.racemosa (визамминол и виснагин) проявляли *спазмолитический эффект*, сравнимый действием папаверина гидрохлорида [18].

Вазодилатирующий эффект компонентов экстракта C.racemosa был продемонстрирован на модели овариэктомии у спонтанно гипертензивных крыс (линия Вистар OVX+2K1C). Дотации оперированным животным стандартизированного экстракта цимицифуги в дозе 0,6 мг/кг/сут (что соответствует дозе 40 мг/сут., рекомендованной для женщин в период менопаузы) в течение 15 сут. привели к снижению



а



б

Рис. 1. Противодиабетические эффекты стандартизированного экстракта C.racemosa Ze450 в модели ожирения (трансгенные мыши «ob/ob»):
а — Концентрации инсулина во время нагрузочного теста глюкозой после курсового приёма Ze450 per os; *б* — Сравнение с эффектами метформина

повышенного АД, в среднем, на 9 % ($p < 0{,}01$) [19]. Показана перспективность использования стандартизированных экстрактов C.racemosa у пациенток с артериальной гипертонией I–II степени, страдающих приливами [20].

Другие виды фармакологической активности стандартизированных экстрактов C.racemosa и их отдельных компонентов в препарате Климактоплан

Экспериментальные исследования показали, что *цимицифугин* (см. табл. 1) *проявляет противовирусное действие* по отношению к респираторному синцитиальному вирусу человека (RSV-инфекция) [21]. Цимицифугин ингибирует взаимодействие вируса с клетками респираторного тракта, препятствуя интернализации вирусных частиц и также стимулируя повышение секреции β-интерферона эпителиальными клетками [22]. В клиническом исследовании пациентов с вирусом гепатита B ($n = 60$) экстракт C.foetida способствовал снижению титров вируса в крови ($p = 0{,}017$), увеличивал уровни титров антигена к вирусу гепатита и стимулировал секрецию γ-интерферона [23]. Следует отметить, что в периклимактерическом периоде противовирусная защита снижается по отношению к RSV-инфекции, вирусам гриппа, онкогенным штаммам вируса папилломы человека, провоцирующего рак шейки матки [24].

В эксперименте экстракт C.dahurica эффективно тормозил вызванные тетрахорметаном *повреждения печени*, снижая уровни трансаминаз в сыворотке крови. Гепатопротекторное действие экстракта объясняется, по всей видимости, действием цимигенола и его производных [25, 26]. Экстракт цимицифуги также проявляет *антиатеросклеротический* и *антигиперхолестеринемический эффекты* [26], проявляет антиишемическое действие в модели ишемии миокарда [27].

При патологическом течении климактерического периода отмечается снижение когнитивных функций; повышается риск инсульта и деменции [28]. Циклоартановые гликозиды из экстрактов C.racemosa входят в состав препарата Климактоплан; эти гликозиды показали значительную ингибирующую активность сигнального пути Wnt [29], что указывает на возможные *нейропротекторные эффекты*. Кроме того, в эксперименте было показано, что найденный в составе экстракта цимицифуги ацетилгидроксишенгманол ксилопиранозид может тормозить *развитие болезни Альцгеймера*. Данное соединение является модулятором белка гамма-секретазы и при введении i.c.v. мышам линии CD-1 селективно снижает уровни амилоидного белка Aβ42 на 15 %, не влияя на другие сигнальные каскады (каскад «Notch» и др.) [30]. Ацетил-7-гидроксишенгманол и 9,19-циклоартан ингибировали ацетилхолинэстеразу на 15–20 %, что также важно для лечения болезни Альцгеймера [31].

Использование стандартизированных экстрактов C.racemosa в терапии нарушений в менопаузе

Климактоплан облегчает симптомы менопаузы в первую очередь за счёт свойств специфических молекул цимицифуги. Рандомизированное двойное слепое контролируемое исследование включало 244 пациентки в возрасте 40–60 лет с явными симптомами менопаузы (индекс Купермана ≥ 15) и миомой матки (не менее одной фибромы). Участники принимали по 40 мг/сут стандартизованного экстракта C.racemosa («ремифенин», $n = 34$) или 2,5 мг/сут. тиболона ($n = 28$) в течение 3 мес. Средний объём миомы уменьшился

на –30 % в группе, получавших стандартизированный экстракт C.racemosa ($p = 0,016$), но увеличился в группе тиболона на +4,7 %. Приём экстракта цимицифуги также приводит к статистически значимым сокращениям объёма ($p = 0,016$) и среднего диаметра ($p = 0,021$) миомы по сравнению с группой получавших тиболон [32].

Эффективность и безопасность применения стандартизированного изопропанольного экстракта C.racemosa (40 мг/сут., 3 мес.) была оценена в рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании женщин с менопаузальным синдромом. В группе сравнения пациентки принимали тиболон (2,5 мг/сут., 3 мес.). Через 3 мес. индекс Купермана снизился от 24,7 ± 6,1 до 7,7 ± 5,8 баллов в группе, принимавших экстракты, и до 7,5 ± 6,8 в группе, принимавших тиболон. Результаты исследования показали, что стандартизированный экстракт C.racemosa является эффективным и безопасным терапевтическим вариантом для терапии приливов, сравнимым по эффективности с тиболоном, но отличающимся большей безопасностью [33].

Российскими исследователями была показана перспективность использования стандартизированных экстрактов C.racemosa в составе препарата Климактоплан в терапии климактерического синдрома [34], в т. ч. пациенток с артериальной гипертонией I–II степени [20] и при сочетанном приёме вместе с заместительной гормональной терапией (ЗГТ) [35].

Климактоплан *оптимизирует эффективность терапии климактерического синдрома посредством ЗГТ*. Например, эффективность использования Климактоплана в сочетании с ЗГТ изучалась при лечении женщин с климактерическими расстройствами. Обследовано 43 пациентки, которые были разделены на 2 группы: первая (основная) группа состояла из 27 женщин, получавших комплексную терапию ЗГТ и Климактоплан. Во второй группе женщинам назначался только Климактоплан ($n = 16$). Критериями отбора для начала лечения служило наличие более 6–8 приливов/сут и наличие других признаков климактерического синдрома, по крайней мере, в течение одного года. Положительная динамика лечения (уменьшение интенсивности и частоты приливов, повышенной потливости, сердцебиения, головных болей, болей в мышцах и суставах) была отмечена в обеих группах. Однако положительная динамика терапии была более выражена при совместном применении Климактоплана и ЗГТ [36], что указывает на эффекты компонентов стандартизированных экстрактов C.racemosa, независимые от воздействия эстрогенов в составе ЗГТ.

В мультицентровом рандоминизированном исследовании женщин с климактерическим синдромом ($n = 446$, средний возраст 47,3 ± 0,6 лет) адъювантная ЗГТ с использованием препарата Климактоплан позволила осуществить пошаговый переход на снижение дозы эстрогенного компонента ЗГТ с последующим переходом на монотерапию Климактопланом. Использование препарата ведёт к улучшению переносимости и повышению безопасности терапии, что, в конечном счёте, повышает комплаентность пациентов [37].

О других клинических применениях стандартизированных экстрактов C.racemosa

Добавление стандартизованного экстракта C.racemosa к циклам индукции кломифена у пациенток моложе 35 лет с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) и бесплодием способствует успешному зачатию. Сравнение группы пациентов, которые принимали экстракт C.racemosa и кломифенцитрат ($n = 96$), с группой пациентов, принимавших только кломифенцитрат ($n = 98$), показало более высокую толщину эндометрия (8,5 ± 1,9 мм против 12,5 ± 1,9 мм, $p < 0,001$), более высокие уровни эстрадиола ($p < 0,001$), ЛГ ($p < 0,001$), прогестерона ($p < 0,001$) в сыворотке крови. Лечение как с экстрактом C.racemosa, так и с кломифеном цитратом приводило к значительно более высокой частоте зачатия (34,8 % по сравнению с 17,2 %, $p < 0,01$) [38].

Дополнение экстрактов цимицифуги другими синергидными природными экстрактами в Климактоплане

Фармакологические эффекты стандартизированных экстрактов цимицифуги могут быть дополнены эффектами других экстрактов природного происхождения. Например, в составе препарата Климактоплан экстракт цимицифуги дополнен экстрактами сепии и сангвинарии.

Сепия – экстракт на основе чернил каракатицы, одним из основных действующих начал которого является пигмент *меланин*. Меланин является *антиоксидантом* и способствует нейтрализации пероксид-анионов и других АФК. Помимо ролей в поддержании окраски кожных покровов, меланин способствует *повышению резервов адаптации организма* (например, в условиях хронического облучения снижает степень повреждения ДНК[39]. При пероральном введении меланина мышам (1, 3 и 10 мг/кг) с целью профилактики мутагенности хронического облучения с малой мощностью дозы (0,007 Гр/ч) показано радиозащитное действие меланина [40]. Меланин замедляет процесс старения кожи и, в частности, отложение в коже пигментных пятен липофусцина, особенно на открытых участках кожи (лицо, кисти рук) [41].

Экстракты *сангвинарии* канадской содержат различные *алкалоиды*, адекватные дозы которых проявляют тонизирующий, болеутоляющий, противовоспалительный и антибактериальный эффекты [42] способствуя, в частности, разрушению бактериальных плёнок на поверхности зубной эмали [43], оказывает слабый противовирусный эффект по отношению к папилломавирусной инфекции.

Заключение

Анализ массива всех публикаций по экстрактам цимицифуги (более 800 статей) показал, что основными действующими началами экстрактов являются тритерпеновые гликозиды и гидроксикоричные кислоты. Результаты фундаментальных и клинических исследований показывают, что именно эти соединения обуславливают известные фармакологические эффекты стандартизированных экстрактов цимицифуги (противодиабетический, вазодилататорный, спазмолитический, гепатопротекторный, антиатеросклеротический, противоопухолевый) и эффективность Климактоплана при лечении приливов в период менопаузы. Стандартизированные экстракты цимицифуги в комбинации с пигментами меланином и сангирином (Климактоплан и др.) отличаются тем, что дают воспроизводимые фармакологические эффекты и значительно реже приводят к нежелательным побочным эффектам. Молекулы, входящие в состав экстракта Климактоплана (экстракт цимицифуги, сепии и сангвинарии), проявляют выраженную *адаптогенную активность*, за счёт активация серотонинергических и ГАМК-эргических путей нейротрансмиссии, противовоспалительных и противодиабетических эффектов. Наличие у стандартизированных экстрактов C.racemosa остеопротекторного, эстрогенмодулирующего эффектов, у меланина (сепия) – антиоксидантного, иммуномодулирующего (противоопухолевого) эффектов и, наконец, у сангвинарина – тонизирующего, противовирусного эффектов делает перспективным использование комбинированного препарата Климактоплан для сопровождения заместительной гормональной терапии эстрогенами и для сопровождения профилактики коморбидной климактерическому периоду патологии.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Громова Ольга Алексеевна
Автор, ответственный за переписку
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-7663-710X
SPIN-код: 6317-9833
д. м. н, профессор, в. н. с., научный руководитель института Фармакоинформатики, ФИЦ ИУ РАН, Москва

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

Тапильская Наталья Игоревна
ORCID ID: 0000-0001-5309-0087
SPIN-код: 3605-0413
д. м. н., профессор ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Gromova Olga
Corresponding author
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-7663-710X
SPIN code: 6317-9833
DM, professor, Leading Researcher, scientific Director of the Institute of Pharmacoinformatics FRC CSC RAS, Moscow

Torshin Ivan
ORCID ID: 0000-0002-2659-7998
SPIN code: 1375-1114
PhD in Chemistry, Senior researcher in of Institute of Pharmacoinformatics at the Department of Intellectual Systems FRC CSC RAS, Moscow

Tapilskaya Natalia
ORCID ID: 0000-0001-5309-0087
SPIN code: 3605-0413
DM, professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg

Литература / References

1. Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиманова О.А., и др. Сравнительное исследование доказательной базы эффективности и безопасности применения пероральной и трансдермальной форм заместительной гормональной терапии эстрогенами у женщин в различные возрастные периоды // *Проблемы репродукции*. – 2013. – Т 19. – №6. – С. 86–96. [Gromova OA, Torshin IYu, Limanova OA, i dr. Sravnitel'noe issledovanie dokazatel'noj bazy ehffektivnosti i bezopasnosti primeneniya peroral'noj i transdermal'noj form zamestitel'noj gormonal'noj terapii ehstrogenami u zhenshchin v razlichnye vozrastnye periody. *Problemy reprodukcii*. 2013;19(6):86–96. (In Russ).]

2. Громова О.А., Торшин И.Ю., Тетруашвили Н.К., и др. Молекулярно-фармакологические механизмы стимуляции гиперкоагуляции препаратами пероральных и трансдермальных эстрогенов // *Гинекология*. – 2014. – Т. 16. – № 2. – С. 22–28. [Gromova OA, Torshin IYu, Tetruashvili NK, et al. Molecular pharmacological mechanisms of hypercoagulation stimulation by oral and transdermal estrogen preparations. *Gynecology*. 2014;16(2):22–28. (In Russ).]

3. Ruhlen RL, Sun GY, Sauter ER. Black Cohosh: Insights into its Mechanism(s) of Action. *Integr Med Insights*. 2008;3:21–32.

4. Черных В.П., Георгиянц В.А., Зупанец И.А. Клинико-фармацевтические аспекты применения комплексного препарата Климактоплан // *Репродуктивное здоровье женщин*. –2004, – Т. 20. – № 4. – С. 95–98. [Chernyh VP, Georgiyanc VA, Zupanec IA. Kliniko-farmacevticheskie aspekty primeneniya kompleksnogo preparata Klimaktoplan. *Reproduktivnoe zdorov'e zhenshchin*. 2004;20(4):95–98. (In Russ).]

5. Obi N, Chang-Claude J, Berger J, et al. The use of herbal preparations to alleviate climacteric disorders and risk of postmenopausal breast cancer in a German case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009 Aug;18(8):2207-13. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0298

6. Guo Y, Yin T, Wang X, et al. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of the genus Cimicifuga: A review. *J Ethnopharmacol*. 2017 Sep 14;209:264–282. DOI: 10.1016/j.jep.2017.07.040

7. Huntley A, Ernst E. A systematic review of the safety of black cohosh. *Menopause*. 2003 Jan-Feb;10(1):58–64.

8. Yang CL, Chik SC, Li JC, et al. Identification of the bioactive constituent and its mechanisms of action in mediating the anti-inflammatory effects of black cohosh and related Cimicifuga species on human primary blood macrophages. *J Med Chem*. 2009 Nov 12;52(21):6707–6715. DOI: 10.1021/jm9006164

9. Lцser B, Kruse SO, Melzig MF, Nahrstedt A. Inhibition of neutrophil elastase activity by cinnamic acid derivatives from Cimicifuga racemosa. *Planta Med*. 2000 Dec;66(8):751–753. DOI: 10.1055/s-2000-9563

10. Wuttke W, Jarry H, Haunschild J, et al. 2014. The non-estrogenic alternative for the treatment of climacteric complaints: Black cohosh (Cimicifuga or Actaea racemosa). *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014 Jan;139:302–310. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2013.02.007

11. Новиков В.И., Карандашов В.И., Сидорович И.Г. *Иммунотерапия при злокачественных новообразованиях*. – М.: Медицина; 2002. [Novikov VI, Karandashov VI, Sidorovich IG. *Immunoterapiya pri zlokachestvennyh novoobrazovaniyah*. Moskva: Medicina; 2002. (In Russ).]

12. Торшин И.Ю., Громова О.А., Лиманова О.А. «Быстрый эффект» бета-аланина при приливах: сравнительное исследование взаимодействий бета-аланина, таурина и глицина с глициновыми рецепторами // *Гинекология*. – 2012. – Т. 14. – № 2. – С. 65–69. [Torshin IY, Gromova OA, Limanova OA. Rapid effect of beta-alanine in the therapy of hot flashes: a comparative biophysical modeling of interactions beta-alanine, taurine and glycine with the glycine receptors. *Gynecology*. 2014;14(2):65–69. (In Russ).]

13. Suh KS, Choi EM, Jung WW, et al. Deoxyactein protects pancreatic β-cells against methylglyoxal-induced oxidative cell damage by the upregulation of mitochondrial biogenesis. *Int J Mol Med*. 2017 Aug;40(2):539–548. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3018

14. Meeprom A, Sompong W, Suantawee T, et al. Isoferulic acid prevents methylglyoxal-induced protein glycation and DNA damage by free radical scavenging activity. *BMC Complement Altern Med*. 2015 Oct 5;15:346. DOI: 10.1186/s12906-015-0874-2

15. Moser C, Vickers SP, Brammer R, et al. Antidiabetic effects of the Cimicifuga racemosa extract Ze 450 in vitro and in vivo in ob/ob mice. *Phytomedicine*. 2014 Sep 25;21(11):1382–1389. DOI: 10.1016/j.phymed.2014.06.002

16. Noguchi M, Nagai M, Koeda M, et al. Vasoactive effects of cimicifugic acids C and D, and fukinolic acid in cimicifuga rhizome. *Biol Pharm Bull*. 1998 Nov;21(11):1163–1168.

17. Kim EY, Lee YJ, Rhyu MR. Black cohosh (Cimicifuga racemosa) relaxes the isolated rat thoracic aorta through endothelium-dependent and -independent mechanisms. *J Ethnopharmacol*. 2011 Nov 18;138(2):537–542. DOI: 10.1016/j.jep.2011.09.048

18. Zheng TP, Sun AJ, Xue W, et al. Efficacy and safety of Cimicifuga foetida extract on menopausal syndrome in Chinese women. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126(11):2034–2038.

19. Campos LB, Gilglioni EH, Garcia RF, et al. Cimicifuga racemosa impairs fatty acid β-oxidation and induces oxidative stress in livers of ovariectomized rats with renovascular hypertension. *Free Radic Biol Med*. 2012 Aug 15;53(4):680–689. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.05.043

20. Можейко М.Е., Потанина М.В., Сударева Н.В., и др. Артериальная гипертония и климактерический синдром у женщин в постменопаузе: особенности лечения. *Клиническая геронтология*. – 2008. – Т. 14. – № 3. – С. 25–28. [Mozhejko ME, Potanina MV, Sudareva NV, i dr. Arterial'naya gipertoniya i klimakticheskij sindrom u zhenshchin v postmenopauze: osobennosti lecheniya. *Klinicheskaya gerontologiya*. 2008;14(3):25–28. (In Russ).]

21. Wang KC, Chang JS, Chiang LC, Lin CC. Cimicifuga foetida L. Inhibited Human Respiratory Syncytial Virus in HEp-2 and A549 Cell Lines. *Am J Chin Med*. 2012;40(1):151–162. DOI: 10.1142/S0192415X12500127

22. Wang KC, Chang JS, Lin LT, et al. Antiviral effect of cimicifugin from Cimicifuga foetida against human respiratory syncytial virus. *Am J Chin Med*. 2012;40(5):1033–1045. DOI: 10.1142/S0192415X12500760

23. Dai XF, Yi XF, Sun ZQ, Ruan P. Cimicifuga foetida L. plus adefovir effectively inhibits the replication of hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B. *Biomed Rep*. 2016 Apr;4(4):493–497. DOI: 10.3892/br.2016.601

24. Абакарова П.Р., Прилепская В.Н. ВПЧ-ассоциированные заболевания шейки матки. Возможности комплексной терапии // *Гинекология*. – 2017. – № 05. – С. 4–9. [Abakarova PR, Prilepskaya VN. HPV-associated diseases of the cervix. Complex therapy options. *Gynecology*. 2017;05:4–9. (In Russ).]

25. Yamahara J, Kobayashi M, Kimura H, et al. Biologically Active Principles of Crude Drugs: The Effect of Cimicifugae Rhizoma and Constituents in Preventiive Action on the Carbon Tetrachloride-Induced Liver Disorder in Mice. *Shoyakugaku Zasshi*. 1985;39(1):80–84.

26. Kong Y, Li F, Nian Y, Zhou Z, Yang R, Qiu MH, Chen C. KHF16 is a Leading Structure from Cimicifuga foetida that Suppresses Breast Cancer Partially by Inhibiting the NF-κB Signaling Pathway. *Theranostics*. 2016 Apr 12;6(6):875–886. DOI: 10.7150/thno.14694. eCollection 2016. PMID: 27162557.

27. Zheng TP, Sun AJ, Xue W, et al. Efficacy and safety of Cimicifuga foetida extract on menopausal syndrome in Chinese women. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126(11):2034–2038.

28. Парфенов В.А., Яхно Н.Н., Евзиков Г.Ю. *Нервные болезни*. Медицинское информационное агентствоя; 2018. [Parfenov VA, Yahno NN, Evzikov GYu. *Nervnye bolezni*. Medicinskoe informacionnoe agentstvoya; 2018. (In Russ).]

29. Zhu DF, Zhu GL, Kong LM, et al. Cycloartane Glycosides from the Roots of Cimicifuga foetida with Wnt Signaling Pathway Inhibitory Activity. *Nat Prod Bioprospect*. 2015 Feb 19;5(2):61–67. DOI: 10.1007/s13659-015-0053-7

30. Findeis MA, Schroeder F, McKee TD, et al. Discovery of a novel pharmacological and structural class of gamma secretase modulators derived from the extract of Actaea racemosa. *ACS Chem Neurosci*. 2012 Nov 21;3(11):941–951. DOI: 10.1021/cn3000857

31. Nian Y, Zhu H, Tang WR, Luo Y, Du J, Qiu MH. Triterpenes from the aerial parts of Cimicifuga yunnanensis and their antiproliferative effects on p53(N236S) mouse embryonic fibroblasts. *J Nat Prod*. 2013 May 24;76(5):896–902. DOI: 10.1021/np4000262. Epub 2013 Apr 26.PMID:23621813

32. Xi S, Liske E, Wang S, et al. Effect of Isopropanolic Cimicifuga racemosa Extract on Uterine Fibroids in Comparison with Tibolone among Patients of a Recent Randomized, Double Blind, Parallel-Controlled Study in Chinese Women with Menopausal Symptoms. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014;2014:717686. DOI: 10.1155/2014/717686

33. Bai W, Henneicke-von Zepelin HH, Wang S, et al. Efficacy and tolerability of a medicinal product containing an isopropanolic black cohosh extract in Chinese women with menopausal symptoms: a randomized, double blind, parallel-controlled study versus tibolone. *Maturitas*. 2007 Sep 20;58(1):31–41. DOI: 10.1016/j.maturitas.2007.04.009

34. Баранов И.И., Серов В.Н. Климактоплан в терапии климактерического синдрома. *РМЖ*. – 2005. – Т. 13. – № 1. – С. 11–14. [Baranov II, Serov VN. Klimaktoplan v terapii klimakticheskogo sindroma. *RMJ*. 2005;13(1):11–14. (In Russ).]

35. Кузнецова И.В. Растительные лекарственные средства на основе экстракта цимицифуги как безопасная альтернатива в коррекции менопаузальных симптомов // *Гинекологя*. – 2014. – Т. 16. – № 4. – С. 34–38. [Kuznetsova IV. Herbal medicines based on a black cohosh extract Cimicifuga as a safe alternative in the correction of menopausal symptoms. *Gynecology*. 2014;16(4):34-38. (In Russ).]

36. Манушарова Р.А., Черкезова Э.И. Применение Климактоплана при климактерических расстройствах в постменопаузе // *Репродуктивная медицина*. – 2014. – Т. 19. – № 2. – С. 27–32. [Manusharova RA, Cherkezova EI. Notes on Klimaktoplan in case of menopausal disorders during postmenopause. *Repromed*. 2014;19(2):27–32. (In Russ).]

37. Зелинский А.А., Ермоленко Т.А., Самсонова В.В., и др. Оптимизация терапии климактерического синдрома в перименопаузе // *Здоровье женщины*. – 2012. – № 6 (72). – С. 157–164. [Zelinskij AA, Ermolenko TA, Samsonova VV, i dr. Optimizaciya terapii klimakticheskogo sindroma v perimenopauze. *Zdorov'e zhenshchiny*. 2012;6(72):157–164. (In Russ).]

38. Shahin AY, Mohammed SA. Adding the phytoestrogen Cimicifugae Racemosae to clomiphene induction cycles with timed intercourse in polycystic ovary syndrome improves cycle outcomes and pregnancy rates - a randomized trial. *Gynecol Endocrinol*. 2014 Jul;30(7):505–510. DOI: 10.3109/09513590.2014.895983

39. Beani JC. [Ultraviolet A-induced DNA damage: role in skin cancer]. *Bull Acad Natl Med*. 2014 Feb;198(2):273-95. French. PMID: 26263704

40. Моссэ И.Б., Кострова Л.Н., Дубовик Б.В., Плотникова С.И., Молофей В.П. Влияние меланина на мутагенное действие хронического облучения и адаптивный ответ у мышей. Радиационная биология. *Радиоэкология*. – 1999. – Т. 39. – № 2–3. – С. 329–333. [Mossje IB, Kostrova LN, Dubovik BV, et al. The melanin effect on mutagenic action of chronic irradiation and adaptive response in mice. Radiacionnaja biologija. *Radiojekologija*. 1999;39(2–3):329–333. (In Russ).]

41. Skoczy ska A, Budzisz E, Trznadel-Grodzka E, Rotsztejn H. Melanin and lipofuscin as hallmarks of skin aging. *Postepy Dermatol Alergol*. 2017 Apr;34(2):97–103. DOI: 10.5114/ada.2017.67070

42. Godowski KC. Antimicrobial action of sanguinarine. J Clin Dent. 1989 Spring;1(4):96–101.

43. Southard GL, Boulware RT, Walborn DR, et al. Sanguinarine, a new antiplaque agent: Retention and plaque specificity. *J Am Dent Assoc*. 1984 Mar;108(3):338–341.

Оценка эффективности витаминно-минерального комплекса магния лактата и пиридоксина как средства коррекции отклонений элементного гомеостаза у молодых людей, проживающих на территории Ивановской области

Богачёва Т.Е.[1], Калачёва А.Г.[1], Гришина Т.Р.[1], Громова О.А.[1,2]

[1] – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново

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

Резюме. Проведено исследование элементного статуса молодых людей в возрасте от 19 до 25 лет, проживающих на территории Ивановской области, дана оценка распространённости преморбидных форм нарушения здоровья и установлена возможность его коррекции с помощью витаминно-минерального комплекса, содержащего магния лактат и пиридоксин.

Ключевые слова: элементный статус; микроэлемент; магний; пиридоксин; витаминно-минеральный комплекс

Для цитирования:
Богачёва Т.Е., Калачёва А.Г., Гришина Т.Р., Громова О.А. Оценка эффективности витаминно-минерального комплекса магния лактата и пиридоксина как средства коррекции отклонений элементного гомеостаза у молодых людей, проживающих на территории Ивановской области // *Фармакокинетика и фармакодинамика.* – 2018. – № 1. – С. 47–55. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10006.

Estimation of the effectiveness of the vitamin and mineral complex of magnesium lactate and pyridoxine as a means of correcting the deviations of element homeostasis in young people living in the Ivanovo region

Bogacheva T.E.[1], Kalacheva A.G.[1], Grishina T.R.[1], Gromova O.A.[1,2]

[1] – Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Ivanovo State Medical Academy" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

[2] – The Russian collaborating center of Institute of Microelements, UNESCO

Resume. The study of the elemental status of young people aged 19 to 25 years living in the Ivanovo region, an estimate of the prevalence of premorbid forms of health disorders and the possibility of its correction with the help of a vitamin-mineral complex containing magnesium lactate and pyridoxine.

Keywords: nelemental status; microelement; magnesium; pyridoxine; vitamin-mineral complex

For citations:
Bogacheva TE, Kalacheva AG, Grishina TR, Gromova OA. Estimation of the effectiveness of the vitamin and mineral complex of magnesium lactate and pyridoxine as a means of correcting the deviations of element homeostasis in young people living in the Ivanovo region. *Farmakokinetika i farmakodinamika.* 2018;1:47–55. (In Russ). DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10006.

Введение

Количественное содержание некоторых элементов в организме может значительно изменяться в зависимости от среды обитания человека, питания, профессиональной принадлежности [3, 14]. Известно, что химические элементы обладают широким спектром синергических и антагонистических взаимодействий в организме человека в процессах их всасывания, транспорта, распределения, метаболизма, депонирования и элиминации [9, 12]. Недостаточное поступление в организм биоэлементов ведёт к развитию характерных симптомов, сопровождающихся специфическими структурными и функциональными нарушениями и устраняющимися при введении дефицитного микроэлемента [11]. В других случаях накопление в организме каких-либо биоэлементов в токсических (субтоксических) концентрациях также может сопровождаться различными нарушениями жизнедеятельности [7, 8]. Актуальным вопросом становится определение содержания химических элементов в биосубстратах, что необходимо для ранней диагностики и профилактики микроэлементозов, поскольку своевременная коррекция недостаточного питания и восполнения различных алиментарных дефицитов является одним из необходимых условий адекватного роста, развития и здоровья молодых людей [1, 13].

В последнее время все больший интерес представляет исследование волос для выявления как дефицитных состояний, так и токсического воздействия отдельных

микроэлементов на организм [10]. Микроэлементный состав волос зависит от многочисленных эндогенных и экзогенных факторов, отражает суммарное поступление эссенциальных и загрязняющих веществ из воды, продуктов питания, атмосферного воздуха и воздуха производственных и жилых помещений. Кроме того, биохимический состав волос в гораздо меньшей степени, в сравнении с биологическими жидкостями, подвержен колебаниям, поэтому волосы отражают структурные элементы адаптационных процессов, имеющих место в течение длительного периода времени, что необходимо знать не только при лабораторной экспертизе, но и для коррекции возникших нарушений. По данным многочисленных исследований волосы достоверно отражают дефицит или избыток в организме таких макро- и микроэлементов, как Mg, P, Ca, Se, Zn, As, B, Cu, Fe, Pb, As, Al, Cd, Sr, Ca [4, 9, 11].

Отрицательная динамика экономического статуса большей части населения России изменила структуру питания в сторону значительного уменьшения потребления наиболее ценных пищевых продуктов. Повседневный рацион большинства Россиян на сегодняшний день — это углеводно-жировая, с недостаточным количеством животного белка, дефицитом витаминов и микроэлементов пища. Поэтому на практике коррекция витамино-минерального дефицита предполагает назначение витаминных препаратов (моно- или комплексных) и минеральных веществ (макро- и микроэлементов) [15]. Создание комбинированных лекарственных средств, содержащих иногда более 50 компонентов, куда входят витамины, минералы, ноотропы, растительные вещества существенно повышает комплаенс — приверженность и удобство их использования. С другой стороны, создавая эмпирически современные витаминно-минеральные комплексы (ВМК), производители, вероятно, рассчитывают на суммацию положительных и нивелирование нежелательных эффектов составляющих. Однако необходимо помнить, что фармацевтическое, фармакокинетическое и фармакодинамическое взаимодействие между компонентами сложных комплексов может сделать результат применения их в одной таблетке непредсказуемым [16].

Показания и спектр применения поливитаминных препаратов с мультиминеральными и/или биологически активными веществами определяется количественным содержанием минеральных веществ (макро- и микроэлементов), а также происхождением тех или иных добавок, обладающих конкретным видом биологической активности. Даже если ВМК оказывают терапевтическое действие, то не представляется возможным связать это действие с действием одного или нескольких компонентов этого лекарственного средства и тем более судить о целесообразности включения в состав препарата всех его составляющих. В связи с этим актуальным является определение терапевтически значимых компонентов ВМК, позволяющих оптимизировать терапию и уменьшить стоимость лечения.

Вопрос о предпочтительности применения поливитаминных препаратов с минеральными веществами и без таковых продолжает оставаться дискутабельным. Рациональное назначение предполагает установление истинной потребности в витаминах и минеральных веществах. Лучшим способом её выявления является анализ индивидуальных элементограмм и определение витаминов в крови, что не всегда бывает возможно. Поэтому целесообразным является определение региональных и возрастных особенностей витаминно-элементного гомеостаза.

Кроме того, в литературе отсутствуют сведения о широкомасштабных исследованиях по изучению безопасности и эффективности витаминно-минеральных комплексов [5, 16], но имеются данные о токсическом влиянии на человеческий организм таких элементов, как никель (Ni), медь (Cu), цинк (Zn), кремний (Si), бор (B) и селен (Se), которые могут входить в состав тех или иных поливитаминных препаратов [2].

Целью настоящего исследования явилось изучение элементного статуса молодых людей, проживающих на территории Ивановской области, для оценки распространённости преморбидных форм нарушения здоровья и установить возможность его коррекции с помощью ВМК.

Для этого нами проведено исследование, в котором участвовали 76 студентов-добровольцев (50 девушек и 26 юношей), обучающихся в ИвГМА, в возрасте от 19 до 25 лет. Критерием исключения из исследования было: наличие тяжёлых, острых и хронических соматических, психических заболеваний, приём любых лекарственных препаратов и биологически активных добавок. Исследование соответствовало этическим стандартам комитетов по биомедицинской этике, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией с поправками от 2000 г. и «Правилами клинической практики в РФ» (1993) с примечаниями, данными Советом Всемирной Медицинской Ассоциации (2001). В исследовании использован препарат Магне B_6, в состав которого входят: магния лактат дигидрат, пиридоксина гидрохлорид (регистрационный №013203/01-2007, Санофи Винтроп, Франция). В процессе рандомизации добровольцы были разделены на 2 группы: группа 1 (основная, получающая терапию Магне B_6 по 2 таблетки 3 раза в день (суточная доза магния – 288 мг, пиридоксина – 30 мг) в течение 2 недель, затем по 2 таблетки 2 раза в день (суточная доза магния – 192 мг, пиридоксина – 30 мг) в течение 6 недель, всего 8 недель; студенты в группе 2 (контроль) участвовали в исследовании без терапии витаминными комплексами.

У всех студентов методом атомной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой проведено определение содержания макро- и микроэлементов в пробах волос, что отражает элементный статус организма в целом. Дважды (1-е исходное – в начале и 2-е по окончании исследования – через 8 недель) проведено сравнение значений концентрации 41 химического элемента в

волосах молодых людей с интервалами нормальных значений химических элементов, по данным ВОЗ [4, 11].

Для статистической обработки материала использовалась прикладная программа «STATISTICA 6,0». В результате установлена распространённость гипо- и гиперэлементных состояний (рис. 1) у молодых людей 19–25 лет, проживающих на территории Ивановской области.

В результате сравнения оказалось, что содержание большинства элементов (Li, B, Na, Si, P, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Zn, Ga, Ge, As, Rb, Sr, Ag, Cd, Sn, Sb, Te, Cs, Hg, Tl, Pb, Bi, Th, U) в волосах, обследованных трёх групп в исходном состоянии, находится в пределах интервалов нормальных значений. Отклонения от нормы в химическом составе волос молодых людей обнаружены по 10 элементам: Se, Co, Mg, Mo, Ba, Br, B, Al, Na, P (рис. 1).

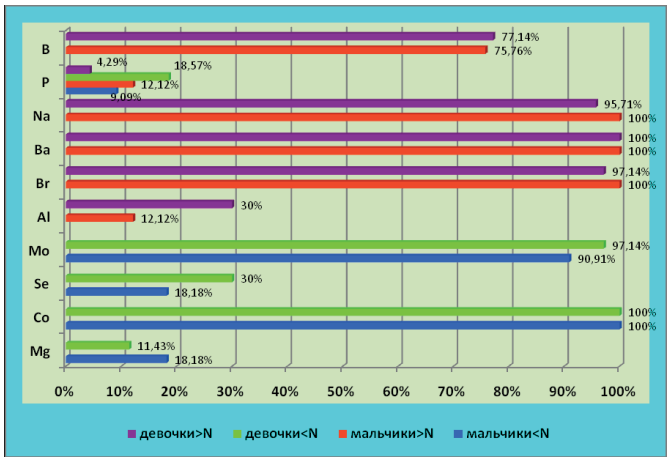


Рис.1. Распространённость гипо- и гиперэлементных состояний

Распространённость гипо- и гиперэлементных состояний по Se, Co, Mo, Ba, Br, B, Al, Na соответствует распространённости дефицита и избытка этих элементов в контингенте всех исследуемых в «0» день, что говорит о репрезентативности выборки. В результате свободной выборки в группах сравнения неравномерно произошло распределение по магнию.

Результаты показали, что девушки и юноши имеют низкую обеспеченность магнием. Содержание магния у девушек в среднем составляет 37,7957 ± 10,7141 мкг/г и находится на нижнем сегменте референтных значений. Концентрация магния у них определялась в диапазоне от 20 до 61,5 мкг/г при норме 25–120 мкг/г. Анализ индивидуальных элементограмм показывает, что 11,43 % девушек из общего числа обследованных имеют дефицит магния (менее 25 мкг/г). У 74,28 % девушек содержание магния находилось в диапазоне субоптимальных значений — 26–50 мкг/г. Максимальные значения уровня магния определялись у 14,29 % девушек и составили 51–61,5 мкг/г, что едва достигало средних значений нормы. Истинный дефицит магния в подгруппе юношей встречается чаще (18,18 %) и является более глубоким, чем у девочек, поскольку концентрация магния у юношей в 1,9 раз меньше величины нижней границы нормы.

Выявляется существенный дефицит эссенциального МЭ – кобальта. Содержание Co в волосах у юношей составляет 0,0141 ± 0,004 мкг/г (диапазон концентраций 0,0077– 0,019 мкг/г), у девушек 0,0140 ± 0,0042 мкг/г, что в 5 раза ниже минимума нормальных значений (0,05–0,5 мкг/г). При анализе индивидуальных элементограмм установлено, что истинный дефицит кобальта (уровень содержания ниже 0,05 мкг/г) выявлен у 100 % исследуемых.

По данным ВОЗ, нижняя граница содержания Se в волосах взрослых людей составляет 0,5 мкг/г. Уровень содержания Se равен у юношей 0,61 ± 0,21 мкг/г (диапазон концентраций 0,06–1,05 мкг/г), девушек 0,63 ± 0,26 мкг/г (диапазон концентраций 0,18–1,3 мкг/г). При анализе индивидуальных элементограмм установлено, что у 75,76 % обследуемых юношей и 62,86 % девушек уровень Se в волосах находится на нижней границе нормы в диапазоне концентраций 0,5–1 мкг/г, а у 6,06 % юношей и 7,14 % девушек содержание селена находилось в диапазоне оптимальных значений 1,01–1,5 мкг/г (норма 0,5–1,5 мкг/г). Распространённость дефицита селена выражена больше у людей женского пола и определяется у 30 % девушек и 18,18 % юношей в диапазоне концентраций 0,06–0,5 мкг/г и 0,18–0,5 мкг/г, соответственно, что составляет в 2,5 раза меньше нижней границе нормы.

Содержание Mo в волосах молодых людей обоих полов оказалось за пределами нижней границы нормы (0,02–0,15 мкг/г): у юношей – 0,0146 ± 0,011 мкг/г (диапазон концентраций 0,0003–0,0285 мкг/г) и девушек – 0,014 ± ± 0,0043 мкг/г (диапазон концентраций 0,0003–0,0228 мкг/г). Анализ элементограмм показал, что у 98 молодых людей (90,91 % юношей и 97,14 % девушек) уровень Mo в 1,5 раза меньше оптимальной концентрации, находился за нижней границей нормы в диапазоне менее 0,019 мкг/г и может трактоваться как дефицитный. Только у 9,09 % юношей и 2,86 % девушек концентрация молибдена находится чуть выше нижней референтной величины.

В волосах девушек уровень Al составил 17,68 ± ± 5,51 мкг/г (диапазон концентраций 10,14–26 мкг/г), в волосах юношей 17,00 ± 3,84 мкг/г (диапазон концентраций 10,9–27,6 мкг/г), т. е. находится на верхней границе нормы ВОЗ (интервал нормальных значений для элемента 1–20 мкг/г). Частота избытка алюминия (выше 20,0 мкг/г) встречается в 12,12 % мужской и 30 % женской группе исследуемых, и соответственно в 87,88 и 70 % случаев находится на верхней границе интервала нормальных значений для элемента.

Количество Ba в волосах юношей и девушек выше верхней границы нормы (0,2–1,0 мкг/г) и равно соответственно 3,93 ± 2,25 мкг/г и 4,32 ± 2,18 мкг/г, что почти в 4,5 раза больше по сравнению с референтной величиной. У молодых людей в 81,8% случаев уровень

содержания бария приближался к верхней границе нормальных значений 1,01–5,0 мкг/г, у 18,2 % – находился в диапазоне от 5,1 мкг/г до 9,26 мкг/г. Оптимальной концентрации бария не определялось ни у одного исследуемого, что составляет 100 % избыток этого токсического элемента. В волосах юношей и девушек уровень натрия составил, соответственно, 1 470,1 ± 314,46 мкг/г (диапазон концентраций 1 019–1 930 мкг/г) и 1 367,5 ± 292,6 мкг/г (диапазон концентраций 987 – 1 994 мкг/г).

Частота избытка натрия (выше 1 000,0 мкг/г) у юношей встречается в 100 % случаев, из которых 51,5 % имели концентрацию натрия в 1,5 раз выше верхней референтной величины, а 48,5 % в 1,93 раза превышали нормативные показатели. Гиперэлементоз натрия у девушек составил 95,71 % случаев, из которых 38,6 % имели уровень натрия в 1,94 выше нормы, и только в 4,29 % случаев находится на верхней границе интервала нормальных значений для элемента (60,0–1 000,0 мкг/г, данные ВОЗ, 1996).

Содержание макроэлемента фосфора составляет в волосах у юношей 173,4 ± 39,9 мкг/г (диапазон концентраций 108,73 – 280,38 мкг/г), волосах девушек 166,3 ± 39,23 мкг/г и находится в середине референтного предела (при норме 120,0–220,0 мкг/г). Анализ индивидуальных элементограмм показал, что 9,09 % из общего числа обследованных юношей и 18,57% девушек имеют дефицит фосфора, уровень фосфора в волосах у них был менее 120,0 мкг/г. Практически в половине случаев — у 77,17 % девушек и 78,79 % юношей содержание фосфора в волосах находилось в диапазоне оптимальных значений – 120,0–220,0 мкг/г. Максимальные значения уровня фосфора (221,0–280,34 мкг/г) достигали выше значений нормы у 12,12 % среди мужского и 4,29 % женского пола исследуемых. В целом результаты показывают, что молодые люди имеют нормальную обеспеченность фосфором.

Высоким оказалось содержание В 5,42 ± 2,29 мкг/г у молодых людей обоих полов, превышая максимальное значение нормы в 2 раз (граница интервала нормальных значений для элемента 1,0–3,5 мкг/г, данные ВОЗ, 1996). Лишь у 24 человек (23,3 %) уровень В находился в диапазоне от 1,0–3,5 мкг/г, у остальных 79 (76,70 %) обследуемых колебался от 3,51–9,7 мкг/г, причём избыток бора более выражен среди лиц женского пола и составляет 77,14 %, чем у лиц мужского пола 75,76 %.

В целом результаты показывают, что в организме юношей и девушек 19–25 лет, проживающих на территории Ивановской области, имеется нарушение гомеостаза макро- и микроэлементов: в волосах в избытке присутствуют Na, Ba, B, Al, при дефиците Mg, Co, Se, Mo. Девушки по сравнению с юношами имеют большую распространённость дефицита таких элементов, как молибден, селен, и избытка алюминия, бора. В тоже время у юношей чаще встречается магнийдефицитное состояние, избыток натрия, фосфора. Истинный дефицит кобальта, также как и избыток бария, определяется у всех исследуемых.

Для оценки эффективности коррекции ВМК выявленных нарушений необходимо уточнить исходный уровень избытка или дефицита микро- и макроэлементов в каждой группе (табл. 1).

После того, как был определён исходный элементный гомеостаз у обследуемых была проведена терапия витаминно-минеральными комплексами с целью определения их эффективности как средств коррекции выявленных отклонений содержания МаЭ и МЭ (табл. 1).

Как видно из табл. 1, средние показатели содержания микро- и макроэлементов через 8 недель изменились. Концентрация магния в группе 1 стала выше на 15,5 %, молибдена на 92,8 % по отношению к исходной величине, а уровень бора уменьшился на 51,9 %, натрия на 24,3 %, бария на 50,9 %. В то же время у студентов, получавших Магне B_6, на фоне лечения ухудшаются показатели содержания кобальта на 19,3 %, селена на 5,6 %, алюминия на 2,3 %. Менее лабильная концентрация фосфора не претерпевала существенных изменений после проведённой терапии.

Имеются и половые различия в значимом изменении уровня содержания микроэлементов после приема ВМК (табл. 2).

Таблица 1

Средние концентрации химических элементов (мкг/г) в волосах молодых людей 19–25 лет в группах сравнения (*M* ± *m*)

Элемент	Исходные показатели группа 1 MgB_6	Показатели через 8 недель группа 1 MgB_6	Исходные показатели группа 2 контроль	Показатели через 8 недель группа 2 контроль
B	5,7638 ± 2,213	2,7744 ± 1,614*	6,6652 ± 2,0608	3,4148 ± 1,975*
Co	0,014 ± 0,004	0,011 ± 0,003*	0,0145 ± 0,0043	0,0128 ± 0,0034
Na	1480,84 ± 305	1120,60 ± 126*	1498,04 ± 258,7	1119,80 ± 110*
Mg	39,092 ± 12,95	45,077 ± 8,871*	28,167 ± 9,072	46,866 ± 10,09*
Al	17,631 ± 5,44	18,043 ± 4,813	17,981 ± 5,511	17,156 ± 5,074
Se	0,664 ± 0,2240	0,627 ± 0,230	0,704 ± 0,223	0,637 ± 0,185
P	164,890 ± 42,4	169,40 ± 48,3	165,25 ± 40,77	164,44 ± 41,764
Mo	0,014 ± 0,005	0,027 ± 0,115	0,0146 ± 0,004	0,011 ± 0,004
Ba	4,520 ± 2,212	2,222 ± 1,503*	5,4248 ± 2,077	3,110 ± 2,116*

Примечание: * – достоверность различия с «0» днём, $p < 0,05$

Таблица 2

Средние концентрации химических элементов (мкг/г) в волосах юношей и девушек 19–25 лет в группе 1 ($M \pm m$)

Элемент	Исходные показатели у юношей в группе 1 MgB_6	Показатели через 8 недель у юношей в группе 1 MgB_6	Исходные показатели у девушек в группе 1 MgB_6	Показатели через 8 недель у девушек в группе 1 MgB_6
B	5,476 ± 1,823	3,022 ± 2,1449 (p = 0,001)	5,900 ± 2,386	2,650 ± 1,288
Co	0,015 ± 0,004	0,011 ± 0,003 (p = 0,04)	0,014 ± 0,004	0,011 ± 0,004 (p = 0,005)
Na	1598,78 ± 307	1101,443 ± 133 (p = 0,000)	1424,821 ± 292	1130,179 ± 123 (p = 0,000)
Mg	41,714 ± 16,66	44,815 ± 7,132	37,846 ± 11,00	45,208 ± 9,711 (p = 0,002)
Al	17,155 ± 3,61	17,288 ± 4,308	17,857 ± 6,161	18,420 ± 5,059
Se	0,606 ± 0,212	0,606 ± 0,266	0,691 ± 0,226	0,637 ± 0,213
P	166,848 ± 44,7	166,349 ± 52,18	163,960 ± 41,8	170,933 ± 46,98
Mo	0,014 ± 0,005	0,058 ± 0,199	0,014 ± 0,005	0,012 ± 0,003
Ba	4,116 ± 2,152	2,431 ± 1,488 (p = 0,005)	4,711 ± 2,241	2,118 ± 1,519 (p = 0,000)

У юношей достоверно снижается концентрация бора, натрия, бария. У девушек значимо повышается уровень содержания важного структурного элемента магния, а также уменьшается концентрация натрия и токсического микроэлемента бария.

По средним значениям оценить колебания содержания микроэлементов практически невозможно. Лучше смотреть изменение количества людей с разным дефицитным и избыточным состоянием.

В результате свободной выборки в группах сравнения неравномерно произошло распределение по магнию. Анализ индивидуальных элементограмм показывает, что после приема Магне B_6 достоверно уменьшается дефицит Mg, который определяется только у 1 обследуемого (1 девушка), тогда как в исходном состоянии эта цифра составляла 6 человек (4 девушки и 2 юноши), что в 6 раз меньше по отношению к исходному показателю дефицита (p = 0,001 у девушек) (табл. 3).

У 35 молодых людей (на 4 меньше, чем в «0» день) имеется минимальное его содержание в диапазоне 25–50 мкг/г (у 13 юношей и 22 девушек), а свыше 50 мкг/г определялось у 21 обследуемых (на 9 больше, чем в «0» день) данной группы (у 6 юношей и 15 девушек). Средний уровень содержания магния равен у юношей 44,81 ± 7,13 мкг/г (диапазон концентраций 34,5–55,58 мкг/г), девушек 45,20 ± 9,7 мкг/г (диапазон концентраций 29,9–59,9 мкг/г).

В группе 1 на «60» день исследования у 48 обследуемых (33 девушек и 15 юношей) уровень кобальта находился в диапазоне концентраций 0,004–0,02 мкг/г, что почти в 2 раза встречается чаще, чем в «0» день, за счёт уменьшения количества обследуемых с более высокой концентрацией (p = 0,002 у девушек и p = 0,04 у юношей). В остальных 9 случаях (у 5 девушек и 4 юношей) содержание Co приближалось к минимальной референтной величине (0,021–0,049 мкг/г), что меньше на 13 случаев среди девушек и на 9 случаев у юношей по сравнению с исходными показателями (табл. 4). Средний уровень содержания Co равен у юношей 0,0119 ± 0,003 мкг/г (диапазон концентраций 0,006–0,02 мкг/г), девушек 0,0111 ± 0,004 мкг/г (диапазон концентраций 0,004–0,02 мкг/г).

Таблица 3

Распределение обследованных подростков по содержанию магния в волосах у подростков 19–25 лет в группах сравнения в «0» и «60» дни исследования

Уровень магния в волосах	Группа 1		Группа 2	
	«0» день	«60» день	«0» день	«60» день
Менее 25 мкг/г	6	1	8	0
5-50 мкг/г	39	35	10	12
50-120 мкг/г	12	21	1	7
Всего обследованных	57	57	19	19

Таблица 4

Распределение обследованных подростков 19–25 лет по содержанию кобальта в волосах в группах сравнения

Уровень кобальта в волосах	Группа 1		Группа 2	
	«0» день	«60» день	«0» день	«60» день
Менее 0,02 мкг/г (физиологический минимум)	26	48	8	14
0,02–0,05 мкг/г	31	9	11	5
Более 0,5 мкг/г	0	0	0	0
Всего обследованных	57	57	19	19

При анализе индивидуальных элементограмм на «60» день исследования установлено, что у 35 обследуемых, а группе 1 (11 юношей и 24 девушки) уровень Se в волосах находится на нижней границе нормы в диапазоне концентраций 0,5–1 мкг/г, а у 4 молодых людей (2 юношей и 2 девушек) содержание селена находилось в диапазоне оптимальных значений – 1,01–1,5 мкг/г. Распространённость дефицита селена выражена у 18 студентов (у 12 девушек и 6 юношей). Терапия Магне B_6 не компенсирует дефицит селена, но и не углубляет его. Общая частота встречаемости с разным уровнем селена среди молодых людей на «60» день совпадает с исходными данными, но у девушек уменьшается в 2 раза частота встречаемости с более высокой концентрации селена в диапазоне субоптимальных значений для элемента. У юношей, наоборот, количество людей с концентраций селена 0,5–1 мкг/г уменьшается на 2 случая в сторону диапазона оптимальных значений – 1,01–1,5 мкг/г (табл. 5). Средний уровень содержания Se равен у юношей 0,6 ± 0,26 мкг/г (диапазон концентраций 0,12–1,05 мкг/г), у девушек – 0,63 ± 0,21 мкг/г (диапазон концентраций 0,29–1,09 мкг/г).

Таблица 5

Распределение обследованных подростков 19–25 лет по содержанию селена в волосах в группах сравнения

Уровень селена в волосах	Группа 1		Группа 2	
	«0» день	«60» день	«0» день	«60» день
Менее 0,5 мкг/г (физиологический минимум)	18	18	3	3
0,5–1,0 мкг/г	35	35	15	16
1,0–1,5 мкг/г	4	4	1	0
Всего обследованных	57	57	19	19

На первом этапе биомониторинга оптимальной концентрации бария не определялось ни у одного исследуемого, что составляет 100% избыток этого токсического элемента, а после проведённой терапии MgB_6 у 2 девушек группы 1 уровень содержания бария находился в диапазоне нормальных значений ($p = 0,000$). На 28 обследуемых больше (среди девушек на 20 и на 8 у юношей), чем в «0» день, имеют концентрацию Ba у верхней границы нормальных значений, что находится в диапазоне от 1,1 мкг/г до 3,0 мкг/г. В 4 раза уменьшилась частота встречаемости (меньше на 10 среди девушек и на 5 среди юношей) концентрации бария в диапазоне от 3,1 мкг/г до 5,0 мкг/г ($p = 0,005$ у юношей). В 6 раз уменьшилась частота избытка бария в диапазоне концентраций свыше 7,1 мкг/г и определяется у 1 девушки, что на 3 случая меньше у девушек и на 2 случая меньше у юношей на «60» день исследования (табл. 6). Средний уровень содержания Ba равен у юношей 2,43 ± 1,48 мкг/г (диапазон концентраций 1,05–6,06 мкг/г), у девушек 2,11 ± 1,52 мкг/г (диапазон концентраций 0,0007–7,56 мкг/г).

Таблица 6

Распределение обследованных подростков 19–25 лет по содержанию бария в волосах в группах сравнения

Уровень бария в волосах	Группа 1		Группа 2	
	«0» день	«60» день	«0» день	«60» день
Менее 0,2–1,0 мкг/г	0	2	0	2
1,1–3,0 мкг/г	17	45	1	11
3,1–5,0 мкг/г	20	5	10	2
5,1–7,0 мкг/г	14	4	3	4
Более 7,0 мкг/г	6	1	5	0
Всего обследованных	57	57	19	19

В волосах юношей и девушек группы 1 уровень натрия значительно уменьшился в сторону диапазона нормальных значений и приближается к верхней границе нормы. Так, на 3 случая чаще уровень натрия находится на верхней границе интервала нормальных значений для элемента (больше на 2 у девушек и на 1 среди юношей). Частота избытка натрия у юношей встречается в 18 случаях, из которых 17 человек (на 11 больше, чем в «0» день) имели концентрацию натрия в 1,5 раз выше верхней референтной величины, а у 1-го (на 12 меньше, чем в «0» день) в 1,93 раза превышала нормативные показатели. Гиперэлементоз натрия у девушек в диапазоне 1 000–1 500 мкг/г составил 34 случая (на 15 больше, чем в «0» день), у них уровень натрия был в 1,5 выше нормы. По сравнению с исходными показателями у девушек на 17 случаев снизилась частота избытка натрия в диапазоне концентраций свыше 1 500 мкг/г ($p = 0,000$) (табл. 7). Средний уровень содержания натрия равен у юношей 1 101,44 ± 133,3 мкг/г (диапазон концентраций 923,7–1 539,67мкг/г), девушек 1 130,17 ± 123,21 мкг/г (диапазон концентраций 930,6 – 1 426,96 мкг/г).

Содержание фосфора у молодых людей приблизительно одинаково и демонстрирует достаточную обеспеченность этим элементом. Анализ индивидуальных элементограмм показал, что на «60» день исследования в группе 1 у девушек на 3 случая чаще встречается концентрация фосфора в диапазоне свыше 170 мкг/г (на 1 случай больше в диапазоне 171–220 мкг/г и на 2 анализа больше в диапазоне 221–271 мкг/г).

Таблица 7

Распределение обследованных подростков по содержанию натрия в волосах у подростков 19–25 лет в группах сравнения

Уровень натрия в волосах	Группа 1		Группа 2	
	«0» день	«60» день	«0» день	«60» день
60,0–1 000,0 мкг/г	2	5	0	1
1 000,0–1 500,0 мкг/г	25	51	9	18
Более 1 500,0 мкг/г	30	1	10	0
Всего обследованных	57	57	19	19

На 2 случая меньше среди девушек встречается дефицит данного элемента (табл. 8). Средний уровень содержания *P* у девушек – 170,9 ± 46,98 мкг/г (диапазон концентраций 97,0–270,1 мкг/г). У юношей встречаемость дефицита фосфора стала больше на 3 случая, уровень фосфора в волосах у них был менее 120,0 мкг/г. Практически в половине случаев – у 11 юношей содержание фосфора в волосах находилось в диапазоне оптимальных значений. Частота избытка фосфора у юношей не изменилась и составляет 2 случая. Средний уровень содержания *P* у юношей – 166,3 ± 52,2 мкг/г (диапазон концентраций 94,0–280,0 мкг/г).

Таблица 8

Распределение обследованных подростков по содержанию фосфора в волосах у подростков 19–25 лет в группах сравнения

Уровень фосфора в волосах	Группа 1		Группа 2	
	«0» день	«60» день	«0» день	«60» день
Менее 120,0 мкг/г	12	14	4	4
120,0–170,0 мкг/г	20	11	7	6
170,0–220,0 мкг/г	21	26	6	8
Более 220,0 мкг/г	4	6	2	1
Всего обследованных	57	57	19	19

После проведённого лечения Магне B_6 в группе 1 отмечается достоверное снижение концентрации бора в 2 раза ($p = 0,001$ у юношей). Среди всех обследуемых только у 1 девушки определяется дефицит B. На 31 случай (на 20 у девушек и на 11 юношей) увеличивается число людей, имеющих уровень B в диапазоне 1,0–3,5 мкг/г. У остальных 11 (меньше на 2 у девушек и на 3 среди юношей) обследуемых содержание бора находится в пределах 3,51–5,0 мкг/г, у 2 человек (меньше на 5 у девушек и на 4 у юношей) имеют концентрацию бора в диапазоне 5,1–7,0 мкг/г, у 2 обследуемых (меньше на 14 у девушек и на 4 юношей) от 7,1–9,7 мкг/г, причём избыток (более 5,0 мкг/г) бора резко снижается среди лиц женского пола (табл. 9). Средний уровень содержания *B* – у юношей 3,02 ± 2,1 мкг/г (диапазон концентраций 1,1–8,79 мкг/г), девушек – 2,65 ± 1,28 мкг/г (диапазон концентраций 0,94–6,0 мкг/г).

Таблица 9

Распределение обследованных подростков по содержанию бора в волосах у подростков 19–25 лет в группах сравнения

Уровень бора в волосах	Группа 1		Группа 2	
	«0» день	«60» день	«0» день	«60» день
Менее 1,0 мкг/г	0	1	0	0
1,0–3,5 мкг/г	10	41	1	12
3,5–5,0 мкг/г	16	11	4	3
5,0–7,0 мкг/г	11	2	5	3
Более 7,0 мкг/г	20	2	9	1
Всего обследованных	57	57	19	19

Следует отметить, что у юношей на фоне приёма ВМК MgB_6 в 4 раза повышается уровень содержания молибдена. В то время как у девушек его концентрация даже снижается.

В группе контроля через 8 недель выявлено достоверное повышение концентрации только магния. Содержание других дефицитных элементов (Mo, Se, Co) изменялось в сторону снижения их показателей. Так, концентрация молибдена снизилась на 19,8 %, селена на 10 %, кобальта на 11,7 %. В то же время в группе 2 прослеживается тенденция значимого снижения гиперэлементных состояний. Содержание бора упало на 48,8 %, бария на 42,6 %, натрия на 25,2 %, алюминия на 4,6 % по сравнению с исходными данными (см. табл. 1).

В группе 2 истинный дефицит магния на «60» день исследования у девушек и юношей не выявлен, а значит в 8 случаях (у 4 юношей и 4 девушек) снижается частота его встречаемости ($p = 0,006$ у девушек, $p = 0,028$ у юношей). У 12 обследуемых (у 5 юношей и 7 девушек) концентрация магния определялась на нижнем референтном уровне, что на 2 случая (больше на 2 среди юношей) встречается чаще, чем в «0» день исследования. Концентрация магния в диапазоне 51–120 мкг/г выявлена у 7 молодых людей (у 4 девушек и 3 юношей). В целом видно, что число людей с максимальной концентрацией магния увеличивается в 7 раз (повышается на 3 у юношей и на 3 среди девушек) за счёт уменьшения частоты встречаемости людей, имеющих уровень содержания магния в диапазоне дефицитных значений для элемента (см. табл. 3). Средний уровень содержания магния – у юношей 47,91 ± 7,24 мкг/г (диапазон концентраций 37,3–57,45 мкг/г), девушек 46,0 ± 12,24 мкг/г (диапазон концентраций 27,07–66,51 мкг/г).

Достоверно снижается уровень содержания бария в волосах девушек ($p = 0,016$ у девушек). Оптимальная концентрация бария у молодых людей контрольной группы на «60» день исследования определялась только у 2 девушек, уровень содержания бария находился в диапазоне нормальных значений. На 10 случаев (больше на 6 у девушек и на 4 у юношей) повышается частота встречаемости концентрации Ba у верхней границы нормальных значений. У 2 обследуемых (у 1 девушки и 1 юноши) уровень содержания бария находится в диапазоне от 3,1 мкг/г до 5,0 мкг/г, что в 5 раз меньше, чем в «0» день (меньше на 5 у девушек и 3 среди юношей). У 4 (у 18,8 % – девушек и 33,3 % – юношей) подростков уровень содержания бария находится в диапазоне от 5,1 мкг/г до 7,0 мкг/г, что на 1 случай больше, чем в «0» день (меньше на 1 у девушек и больше на 2 среди юношей). В 5 раз уменьшилась частота избытка бария в диапазоне концентраций свыше 7,1 мкг/г и составляет 0 %, что на 3 случая меньше у девушек и на 2 случая меньше среди юношей на «60» день исследования (см. табл. 6). Средний уровень содержания Ba у юношей — 3,68 ±

± 2,31 мкг/г (диапазон концентраций 1,04–6,79 мкг/г), у девушек — 2,64 ± 1,94 мкг/г (диапазон концентраций 0,98–6,96 мкг/г).

В волосах юношей и девушек контрольной группы уровень содержания натрия на «60» день исследования значительно уменьшился в сторону диапазона нормальных значений и приближается к верхней границе нормы ($p = 0,043$ у юношей). Так, у 1 девушки уровень натрия находился в диапазоне нормальных значений для элемента. Концентрация натрия, превышающая верхнюю референтную величину до 1 500 мкг/г, определяется у 18 подростков (у 10 девушек и 8 юношей), что в 2 раза чаще, чем в «0» день исследования. Это связано с уменьшением количества людей, имеющие максимальный уровень натрия в диапазоне 1 500–2 000 мкг/г. Гиперэлементоз натрия у девушек в диапазоне 1 000–1 500 мкг/г составил 10 случаев (на 5 больше, чем в «0» день). По сравнению с исходными показателями у девушек на 7 случаев, а у юношей на 3 человека снизилась частота избытка натрия в диапазоне концентраций свыше 1 500 мкг/г (см. табл. 7). Средний уровень содержания натрия у юношей — 1 107,19 ± 85,77 мкг/г (диапазон концентраций 1 003,7–1 234,5 мкг/г), у девушек 1 130,12 ± 130,34 мкг/г (диапазон концентраций 930,05–1 326,25 мкг/г).

Через 8 недель частота избытка B в контрольной группе определяется у 7 подростков (у 4 девушек и у 3 юношей), что на 11 случаев меньше (на 7 среди девушек и на 4 среди юношей), чем в «0» день ($p = 0,01$ — у девушек, $p = 0,043$ — у юношей). У 12 (у 7 девушек и у 5 юношей) молодых людей уровень B находился в диапазоне нормальных значений (больше на 6 случаев у девушек и на 5 среди юношей). Превышение концентрации бора за пределы 7,0 мкг/г встречается меньше в подгруппе девушек на 6 случаев, юношей на 2 случая, чем в «0» день (см. табл. 9). Средний уровень содержания B у юношей — 3,32 ± 1,67 мкг/г (диапазон концентраций 1,58–6,65 мкг/г), девушек 3,48 ± 2,27 мкг/г (диапазон концентраций 1,15–7,3 мкг/г).

В целом можно сказать, что монотерапия Магне B_6 компенсирует гипоэлементоз магния и уменьшает избыток бора, бария, натрия. Проведение комплекса медико-социальных мероприятий по нормализации содержания химических элементов в организме позволит решить целый ряд государственных проблем. Прежде всего, это касается оздоровления подростков, ведь нормализация обмена химических элементов способствует снижению заболеваемости, повышению работоспособности, снижению частоты встречаемости аллергических заболеваний. Известно, что нарушение метаболизма макро- и микроэлементов является одним из звеньев патогенеза болезней зависимости (особенно в подростковом периоде): курения, алкоголизма, наркомании. Можно предположить, что восстановление нормального обмена минеральных веществ позволит снизить распространённость этих заболеваний.

Выводы

1. У подростков в возрасте 19–25 лет, проживающих на территории Ивановской области, выявлены нарушения элементного гомеостаза, сопровождающиеся отклонениями от нормы в химическом составе волос по 10 элементам: Se, Co, Mg, Mo, Ba, Br, B, Al, Na, P.

2. В волосах в избытке присутствуют Na, Ba, Br, B, Al, при дефиците Mg, Co, Se, Mo, что может провоцироваться психоэмоциональным стрессом. Девушки имеют более выраженный дефицит молибдена, селена и гиперэлементоз алюминия, бора по отношению к концентрации этих элементов в волосах юношей. У юношей отмечается более низкая обеспеченность магнием, при выраженном избытке брома, натрия, фосфора по отношению к концентрации этих элементов в волосах девушек. Истинный дефицит кобальта и избыток бария определяется у всех исследуемых.

3. Анализ элементограмм выявил значимое восстановление гипо- и гиперэлементных состояний у молодых людей на фоне применения ВМК Магне B_6. После курса терапии витаминно-минеральным комплексом Магне B_6 наблюдается изменения элементного гомеостаза в сторону увеличения концентрации эссенциальных (Mo) и уменьшения токсических (Ba) и условно-эссенциальных (B) микро- и макроэлементов, а так же значительно повышается содержание важного структурного макроэлемента Mg, при снижении уровня Na, и в меньшей степени P.

4. На фоне применения ВМК в волосах девушек в большей степени, чем у юношей, прослеживается коррекция дефицита селена и магния. На 8–10 % больше по сравнению с юношами снижается уровень бора, бария и в меньшей степени содержания натрия. На фоне терапии ВМК в химическом анализе волос у юношей выявлена коррекция недостатка молибдена, в то время как у девушек степень дефицита этого элемента возрастает. Одновременно и у юношей и более выражено у девушек снижается содержание кобальта. Концентрация алюминия остаётся достаточно высокой, а у юношей на 3,1 % выше, чем у девушек, и приближается к верхней границе нормы. Содержание фосфора у юношей снижается на 1,7 % больше, чем у девушек.

5. Монотерапия Магне B_6 сопровождалась хорошим эффектом, выявлена статистически значимая положительная динамика изменений качественных показателей элементного гомеостаза. Терапия Магне B_6 компенсирует гипоэлементоз магния, молибдена и гиперэлементоз бора, бария, натрия. Препарат Магне B_6 может быть использован как препарат выбора при лечении гипоэлементоза (Mg, Mo) и гиперэлементоза (Ba, B, Na) у юношей и девушек 19–25 лет.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Громова Ольга Алексеевна
Автор, ответственный за переписку
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-7663-710X
SPIN-код: 6317-9833
д. м. н, профессор, в. н. с., научный руководитель института Фармакоинформатики, ФИЦ ИУ РАН, Москва

Богачева Татьяна Евгеньевна
ORCID ID: 0000-0002-5042-4886
SPIN-код: 8970-6270
к. м. н., доцент, доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России

Калачева Алла Геннадьевна
ORCID ID: 0000-0001-6144-5781
SPIN-код: 4917-2391
к. м. н., доцент, доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России

Гришина Татьяна Романовна
ORCID ID: 0000-0002-1665-1188
SPIN-код: 1241-0701
д. м. н., профессор, зав. кафедрой фармакологии ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России

Gromova Olga
Corresponding author
e-mail: unesco.gromova@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-7663-710X
SPIN code: 6317-9833
DM, professor, Leading Researcher, scientific Director of the Institute of Pharmacoinformatics FRC CSC RAS, Moscow

Bogacheva Tatiana
ORCID ID: 0000-0002-5042-4886
SPIN code: 8970-6270
assistant professor, Head of Department of pharmacology FSBEI HE IvSMA MOH Russia

Kalacheva Alla
ORCID ID: 0000-0001-6144-5781
SPIN code: 4917-2391
assistant professor, Head of Department of pharmacology FSBEI HE IvSMA MOH Russia

Grishina Tatiana
ORCID ID: 0000-0002-1665-1188
SPIN code: 1241-0701
DM, professor, Head of Department of pharmacology FSBEI HE IvSMA MOH Russia

Литература / References

1. Ребров В.Г. *Витамины и микроэлементы* / В.Г. Ребров, О.А. Громова. – М.: АЛЕВ-В; 2003. [Rebrov VG. *Vitaminy i mikroehlementy* / VG Rebrov, OA Gromova. Moscow: ALEV-V; 2003. (In Russ).]

2. Ребров В.Г., Громова О.А. *Витамины макро- и микроэлементы*. – М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008. [Rebrov VG, Gromova OA. *Vitaminy makro- i mikroehlementy*. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. (In Russ).]

3. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. *Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология*. – М.: Медицина; 1991. [Avcyn AP, ZHavoronkov AA, Rish MA, Strochkova LS. *Mikroehlementozy cheloveka: ehtiologiya, klassifikaciya, organopatologiya*. Moscow: Medicina; 1991. (In Russ).]

4. Гришина Т.Р. *Элементный статус подростков 15–18 лет с артериальной гипертонией и способы коррекции его нарушений*. Дисс. на соиск. д. м. н., – Иваново; 2007. [Grishina T.R. *Elementnyj status podrostkov 15–18 let s arterial'noj gipertoniej i sposoby korrekcii ego narushenij*. [dissertation] Ivanovo; 2007. (In Russ).] URL: http://www.dissercat.com/content/elementnyi-status-podrostkov-15-18-let-s-arterialnoi-gipertonii-i-sposoby-korrektsii-ego-na (режим доступа 30.03.2018).

5. Громова О.А., Намазова Л.С. *Витамины и минералы в современной клинической медицине*. – М.: Алев-В; 2003. [Gromova OA, Namazova LS. *Vitaminy i mineraly v sovremennoj klinicheskoj medicine*. Moscow: ALEV-V; 2003. (In Russ).]

6. Громова О.А. *Магний и пиридоксин: основы знаний*. – М.: ПротоТип; 2006. [Gromova OA. *Magnij i piridoksin: osnovy znanij*. Moscow: ProtoTip; 2006. (In Russ).]

7. Громова О. А., Никонов А. А. Роль и значение магния в патогенезе заболеваний нервной системы // *Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. — 2002. — № 12. — С. 45—49. [Gromova OA., Nikonov A.A. The role and importance of magnesium in the pathogenesis of diseases of the nervous system. *Journal of neurology and psychiatry. S.S. Korsakov*. 2002;12:45-49. (In Russ).]

8. Кудрин А.В., Громова О.А *Микроэлементы в неврологии*. – М.: ГЭОТАР-Медиа; 2006. [Kudrin AV, Gromova OA. *Mikroehlementy v nevrologii*. Moscow: GEOTAR-Media; 2006. (In Russ).]

9. Маймулов В.Г., Нагорный С.В., Шабров А.В. *Основы системного анализа в эколого-гигиенических исследованиях*. – Спб.: Спб. ГМА им. И.И. Мечникова; 2000. [Majmulov VG, Nagornyj SV, SHabrov AV. *Osnovy sistemnogo analiza v ehkologo-gigienicheskih issledovaniyah*. Saint Petersburg: Spb. GMA im. I.I. Mechnikova; 2000. (In Russ).]

10. Панченко Л.Ф., Маев И.В., Гуревич К.Г. *Клиническая биохимия микроэлементов*. – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ; 2004. [Panchenko LF, Maev IV, Gurevich KG. *Klinicheskaya biohimiya mikroehlementov*. Moscow: GOU VUNMC MZ RF; 2004 (In Russ).]

11. Скальный А.В. Референтные значения концентрации химических элементов в волосах, полученные методом ИСП-АЭС (АНО «Центр биотической медицины») // *Микроэлементы в медицине*. – 2003. – Т. 4, вып.1. – С. 55–56. [Skalny AV. Reference values of chemical elements concentration in hair, obtained by means of ICP-AES method in ANO Centre for biotic medicine. Trace Elements in Medicine. 2003;4(1):55–56. (In Russ).]

12. Скальный А. В., Рудаков И. А. Биоэлементы в медицине. — М. : ОНИКС, 2004. — 272 с. [Skalny AV., Rudakov I.A. Bioelementy v medicine. Moscow: ONICS, 2004. (In Russ).]

13. Спасов А.А. *Магний в медицинской практике*. – Волгоград: ООО "Отрок"; 2000. [Spasov AA. *Magnesium in clinical practice*. Volgograd: OOO "Otrok"; 2000. (In Russ).]

14. Тутельян В.А., Спиричев В.Б. и др. *Микронутриенты в питании здорового и больного человека*. – М.: Колос; 2002. [Tutel'yan VA, Spirichev VB, i dr. *Mikronutrienty v pitanii zdorovogo i bol'nogo cheloveka*. Moscow: Kolos; 2002 (In Russ).]

15. Философова М.С., Шниткова Е.В., Балашова Л.В., Корнеев А.А. *Частота и характер дефицитных состояний у детей и подростков в биогеохимических условиях, бедными микроэлементами* // Экология и здоровье человека. Сб. научных трудов. – Иваново; – 1995. – с. 85–88. [Filosofova MS, SHnitkova EV, Balashova LV, Korneev AA. *Chastota i harakter deficitnyh sostoyanij u detej i podrostkov v biogeohimicheskih* usloviyah, bednymi *mikroehlementami* // Ekologiya i zdorov'e cheloveka. Sb. nauchnyh trudov. Ivanovo;1995:85-88 (In Russ).]

16. Ших Е.В., Ильенко Л.И. *Клинико-фармакологические аспекты применения витаминно-минеральных комплексов в период беременности*. – М.: МЕДПРАКТИКА-М: 2007. [Shih EV, Il'enko LI. *Kliniko-farmakologicheskie aspekty primeneniya vitaminno-mineral'nyh kompleksov v period beremennosti*. Moscow: MEDPRAKTIKA-M: 2007. (In Russ).]

Оценка биодоступности этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты при внутрижелудочном введении кроликам

Малыгин А.С., Попов Н.С., Демидова М.А., Марасанов С.Б.

ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России, Тверь

Резюме. *Актуальность.* Этилтиадиазолиламид ацетиламиногексановой кислоты является новым нестероидным противовоспалительным средством из группы производных 1, 3, 4-тиадиазола и ацексамовой кислоты. *Цель.* Оценка биодоступности этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты при однократном внутрижелудочном введении кроликам. *Материалы и методы.* Фармакокинетические исследования выполнены с использованием 6 кроликов породы шиншилла. Исследование проводили по открытой рандомизированной перекрёстной схеме. Этилтиадиазолиламид ацетиламиногексановой кислоты вводили внутривенно в дозе 1 мг/кг в 0,33 % растворе димексида или внутрижелудочно в дозе 1 мг/кг в 20 мл 2 % слизи крахмала. Определение аналита в плазме крови осуществляли методом ВЭЖХ-МС/МС. Пробоподготовку проводили методом осаждения белков плазмы крови ацетонитрилом. Хроматографию выполняли с использованием аналитической колонки Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 2,7 мкм 4,6 × 100 мм. В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила и воды деионизированной в соотношении 30:70 с добавлением 0,1 % муравьиной кислоты в изократическом режиме. Идентификацию осуществляли масс-спектрометрически по значению MRM *m/z* 285,2 → *m/z* 130,2. *Результаты и обсуждение.* Максимальное содержание этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты в плазме крови отмечалось через 1,345 ± 0,081 ч после внутрижелудочного введения и было равно 806,8 ± 65,6 нг/мл. Площадь под фармакокинетической кривой $AUC_{0\to36}$ составила 5 088,1 ± 442,1 нг × ч/мл, а отношение $AUC_{36\to\infty}/AUC_{0\to36}$ — 2,96 ± 1,59 %. Биодоступность этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты при внутрижелудочном введении кроликам в дозе 1 мг/кг в виде водной суспензии составила в среднем 37 %. *Заключение.* Для повышения биодоступности необходимо улучшение биофармацевтических свойств этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные средства; этилтиадиазолиламид ацетиламиногексановой кислоты; биодоступность; ВЭЖХ-МС/МС

Для цитирования:
Малыгин А.С., Попов Н.С., Демидова М.А., Марасанов С.Б. Оценка биодоступности этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты при внутрижелудочном введении кроликам // *Фармакокинетика и фармакодинамика.* – 2018. – № 1. – С. 56–63. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10007.

Assessment of bioavailability of ethylthiadiazolylamide of acetylaminohexanoic acid by intragastric administration in rabbits

Malygin A.S., Popov N.S., Demidova M.A., Marasanov S.B.
FSBEI HE Tver SMU MOH Russia

Resume. *Relevance.* Ethylthiadiazolamide of acetylaminohexanoic acid is a new non-steroidal anti-inflammatory agent from derivative of 1, 3, 4-thiadiazole and acexamic acid. *Purpose.* Evaluation of the bioavailability of ethylthiadiazolamide of acetylaminohexanoic acid with single intragastric administration to rabbits. *Materials and Methods.* Pharmacokinetic studies were performed using 6 rabbits of the Chinchilla breed. The study was conducted using an open, randomized, cross-sectional scheme. Ethylthiadiazolamide of acetylaminohexanoic acid was administered intravenously at a dose of 1 mg/kg in a 0.33 % solution of dimexide or intragastrically at a dose of 1 mg/kg in 20 ml of 2 % starch mucus. Determination of analyte in blood plasma was carried out by HPLC-MS/MS method. Sample preparation was carried out by the method of blood plasma protein precipitation by acetonitrile. Chromatography was performed with an analytical column Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 2.7 µm 4.6 × 100 mm. As a mobile phase, a mixture of acetonitrile and deionized water at the ratio 30:70 with adding 0.1 % formic acid in the isocratic mode. The identification was carried out by mass spectrometry according to MRM *m/z* 285.2 → *m/z* 130.2. *Results and Discussion.* The maximum content of ethylthiadiazolamide of acetylaminohexanoic acid in blood plasma was 806.8 ± 65.6 ng/ml at 1.345 ± 0.081 h after intragastric administration. The area under the pharmacokinetic curve $AUC_{0\to36}$ was 5 088.1 ± 442.1 ngxh/ml, and the ratio $AUC_{36\to\infty}/AUC_{0\to36}$ — 2,96 ± 1,59 %. Bioavailability of ethylthiadiazolamide of acetylaminohexanoic acid with intragastric administration to rabbits at a dose of 1 mg/kg as an aqueous suspension averaged 37 %. Conclusion. It is necessary to improve biopharmaceutical properties of ethylthiadiazolamide of acetylaminohexanoic acid to increase bioavailability.

Keywords: nonsteroidal anti-inflammatory agents; ethylthiadiazolamide of acetylaminohexanoic acid; bioavailability; HPLC-MS/MS

For citations:
Malygin AS, Popov NS, Demidova MA, Marasanov SB. Assessment of bioavailability of ethylthiadiazolylamide of acetylaminohexanoic acid by intragastric administration in rabbits. *Farmakokinetika i farmakodinamika.* 2018;1:56–63. (In Russ). DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10007.

Введение

Этилтиадиазолиламид ацетиламиногексановой (ацексамовой) кислоты представляет собой новое нестероидное противовоспалительное средство из группы производных 1,3,4-тиадиазола. В экспериментальных исследованиях с использованием моделей острого воспалительного отёка и хронического пролиферативного воспаления было показано, что по своей эффективности он не уступает кетопрофену и диклофенаку, не обладая при этом ульцерогенной активностью [1–3]. Важнейшим этапом доклинических исследований оригинальных лекарственных средств наряду с оценкой их токсичности и фармакологической активности является определение фармакокинетических параметров, в том числе биодоступности при различных путях введения в организм [4]. Современным методом, позволяющим осуществлять идентификацию и количественное определение лекарственных соединений в биологических объектах, является высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Высокая точность и специфичность этого метода позволяет использовать его для фармакокинетических исследований.

Целью настоящего исследования явилась оценка биодоступности этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты при однократном внутрижелудочном введении кроликам с помощью ВЭЖХ-масс-спектрометрии.

Материалы и методы

В исследовании использовали активную фармацевтическую субстанцию нового нестероидного противовоспалительного средства из группы 1, 3, 4-тиадиазола – этилтиадиазолиламид ацетиламиногексановой (ацексамовой) кислоты (рис. 1).

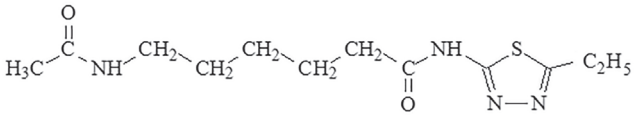


Рис. 1. Химическая структура этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты (брутто формула $C_{12}H_{20}N_4O_2S$; химическая формула 2-(5-этил-1,3,4-тиадиазолил)амид 2-ацетиламиногексановой кислоты; Мм – 284,39 г/моль)

Оценку биодоступности этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты проводили в экспериментах на 6 кроликах-самцах породы шиншилла массой 3,2 ± 0,2 кг. Все эксперименты с животными осуществляли в соответствии с методическими рекомендациями по проведению доклинических исследований фармакокинетики лекарственных средств [5], международными правилами (Директива 86/629/EEC) и правилами лабораторной практики [6] при наличии разрешения этического комитета Тверского государственного медицинского университета.

Исследование проводили по открытой рандомизированной перекрёстной схеме. Период вымывания исследуемого лекарственного средства между этапами составлял 7 дней. Этилтиадиазолиламид ацетиламиногексановой кислоты вводили подопытным кроликам внутрижелудочно (через зонд) в дозе 1 мг/кг в 20 мл 2 % слизи крахмала или внутривенно в дозе 1 мг/кг в 0,33 % растворе димексида. Забор крови осуществляли через катетер из вены уха в обработанные натриевой солью гепарина пробирки в объёме 1 мл до начала исследования и через 0,016; 0,08; 0,16; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 12; 24 и 36 ч после введения тестируемого соединения. Продолжительность мониторинга концентрации исследуемого соединения в плазме крови в среднем в 5 раз превышала период полувыведения ($T_{1/2}$). Кровь центрифугировали в течение 10 мин при скорости 3000 оборотов в минуту, полученную плазму крови хранили при температуре –40 °С. Пробоподготовку осуществляли методом осаждения белков плазмы крови ацетонитрилом. Разведение проб плазмы крови в процессе пробоподготовки осуществляли с учётом аналитического диапазона методики.

Количественное определение этилтиадиазолиламида ацексамовой кислоты в плазме крови осуществляли валидированным методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) [7].

Оборудование: высокоэффективный жидкостной хроматограф Agilent 1260 Infinity II (Agilent Technologies, ФРГ), квадрупольный масс-спектрометр AB Sciex QTrap 3200 MD (AB Sciex, Сингапур) с электрораспылительным источником ионов (Turbo V с зондом TurboIonSpray), аналитические весы Acculab ALC-80d4, центрифуга с охлаждением ротора Eppendorf 5810R, система получения особо чистой воды Миллипор DirectQ UV, вортекс-встряхиватель Elmi V-3, термостат твердотельный «Термит», шейкер Elmi S-3, автоматические дозаторы Black Thermo и Eppendorf, морозильный шкаф Liebherr LGT 2325.

Реактивы и расходные материалы: активная фармацевтическая субстанция этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты (ОАО «ВНЦ БАВ»), ацетонитрил (LC-MS, Scharlau), муравьиная кислота (99 %, ЗАО «База №1 Химреактивов»), виалы 2 мл (Agilent Technologies), пробирки Eppendorf 2 мл, наконечники для автоматических дозаторов, мерные колбы 25, 50, 100 мл.

Для анализа образцов плазмы крови применяли следующие условия хроматографирования: аналитическая колонка Phenomenex Synerdgi C18 4 мкм 2Ч50 мм при температуре 40 °С; градиентный режим элюирования: 0–0,4 мин – 10 % ацетонитрила с добавлением 0,1 % муравьиной кислоты; 0,41–0,8 мин – увеличение концентрации ацетонитрила до 90 %; 0,81–1,2 мин – кондиционирование колонки 10 % ацетонитрилом;

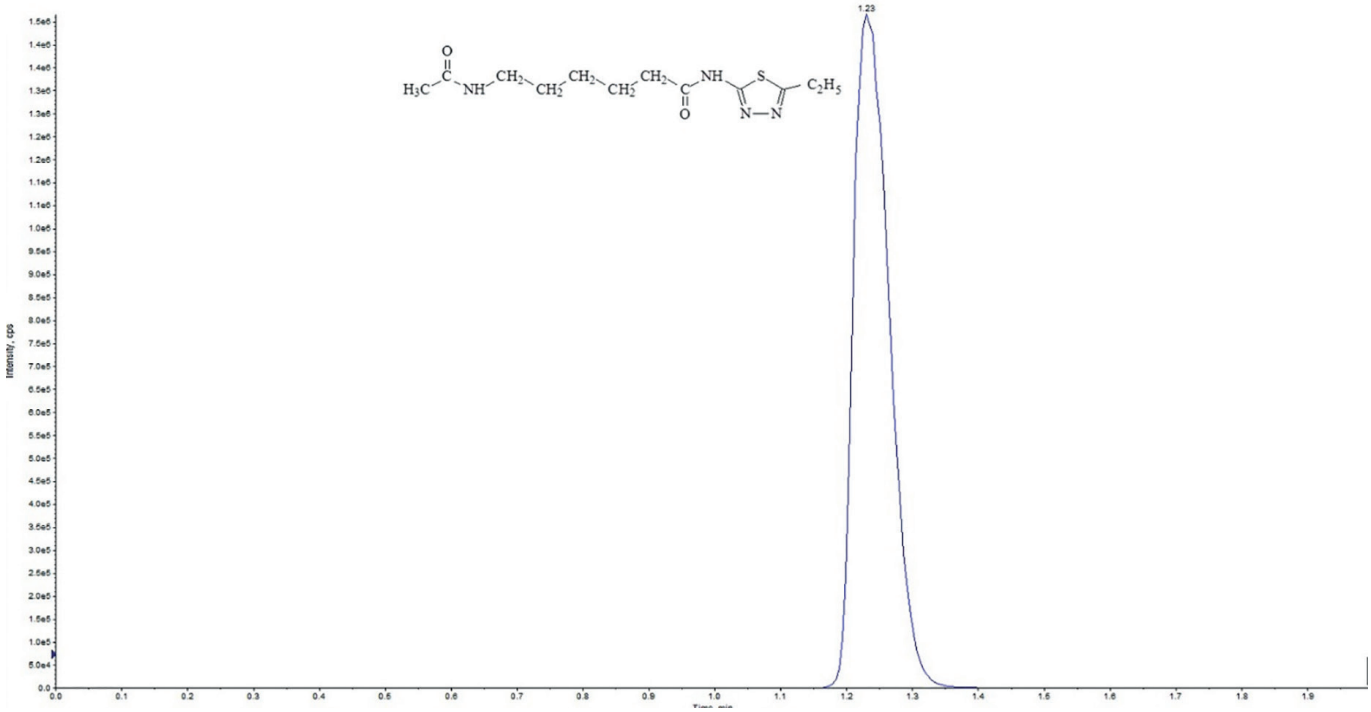


Рис. 2. Хроматограмма плазмы крови с содержанием этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты 50 нг/мл

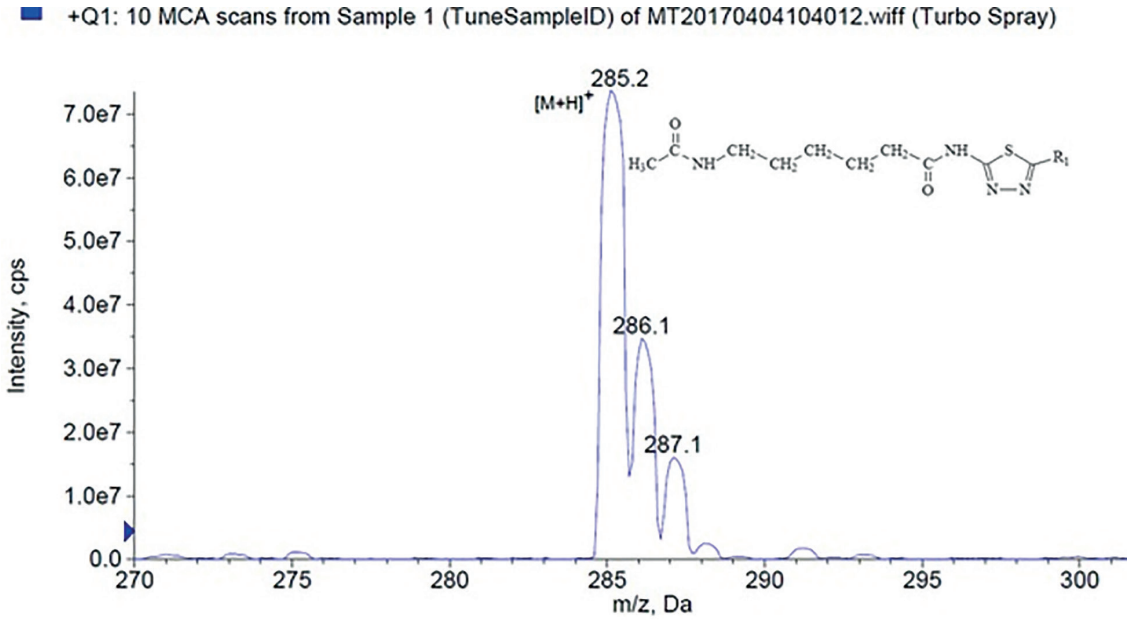


Рис. 3. Масс-спектр протонированной молекулы этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты (в режиме сканирования положительных ионов $[M+H]^+$)

скорость потока подвижной фазы – 0,6 мл/мин; объём вводимой пробы – 5 мкл. При использовании данных условий время удерживания исследуемого соединения составляло 1,23 мин (рис. 2).

Идентификацию этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты осуществляли на основании регистрации MRM-переходов в режиме положительной ионизации (*m/z* 285,2 → *m/z* 75,1; *m/z* 114,2 и *m/z* 130,2) (рис. 3, 4)

Количественное определение проводили по ионупродукту с *m/z* 130,2 Да.

Зависимость аналитического сигнала от концентрации исследуемого соединения в анализируемой пробе в пределах аналитического диапазона методики (0,02–10 мкг/мл) носила линейный характер и описывалась следующим уравнением:

$$y = 6030x+9900,$$

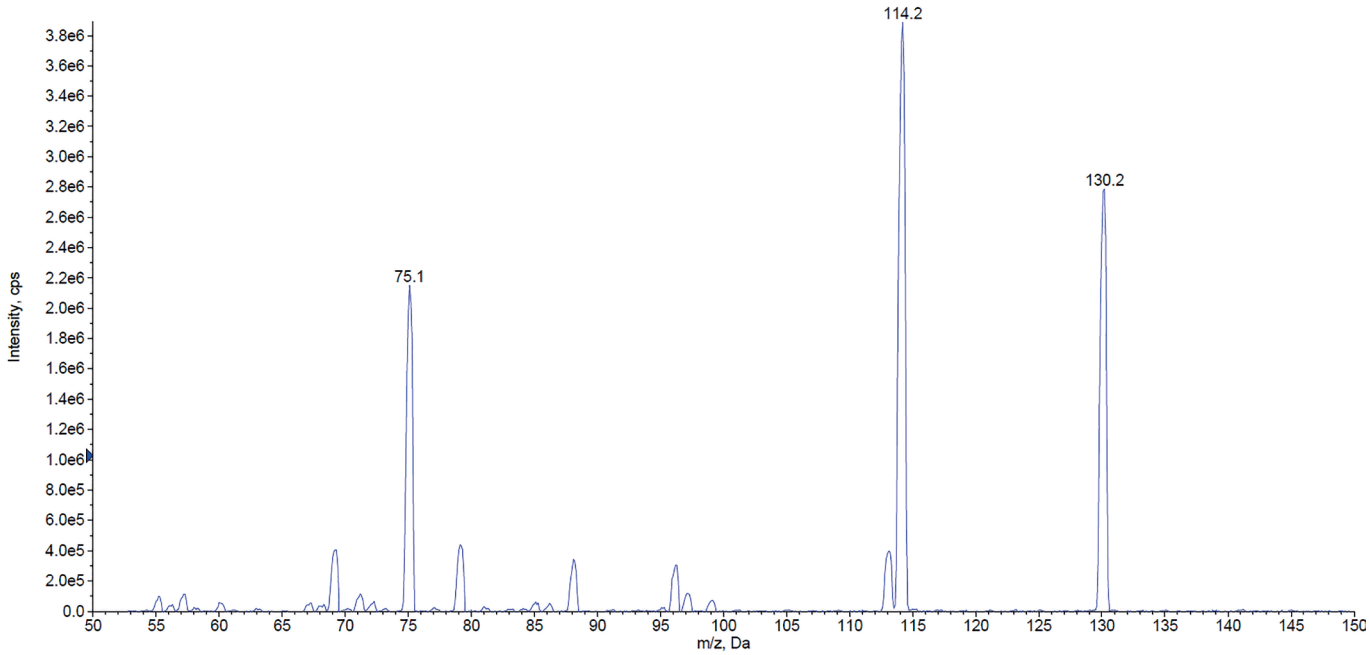


Рис. 4. Масс-спектр ионов-продуктов (в режиме сканирования положительных ионов, ион-предшественник *m/z* 285,2 Да)

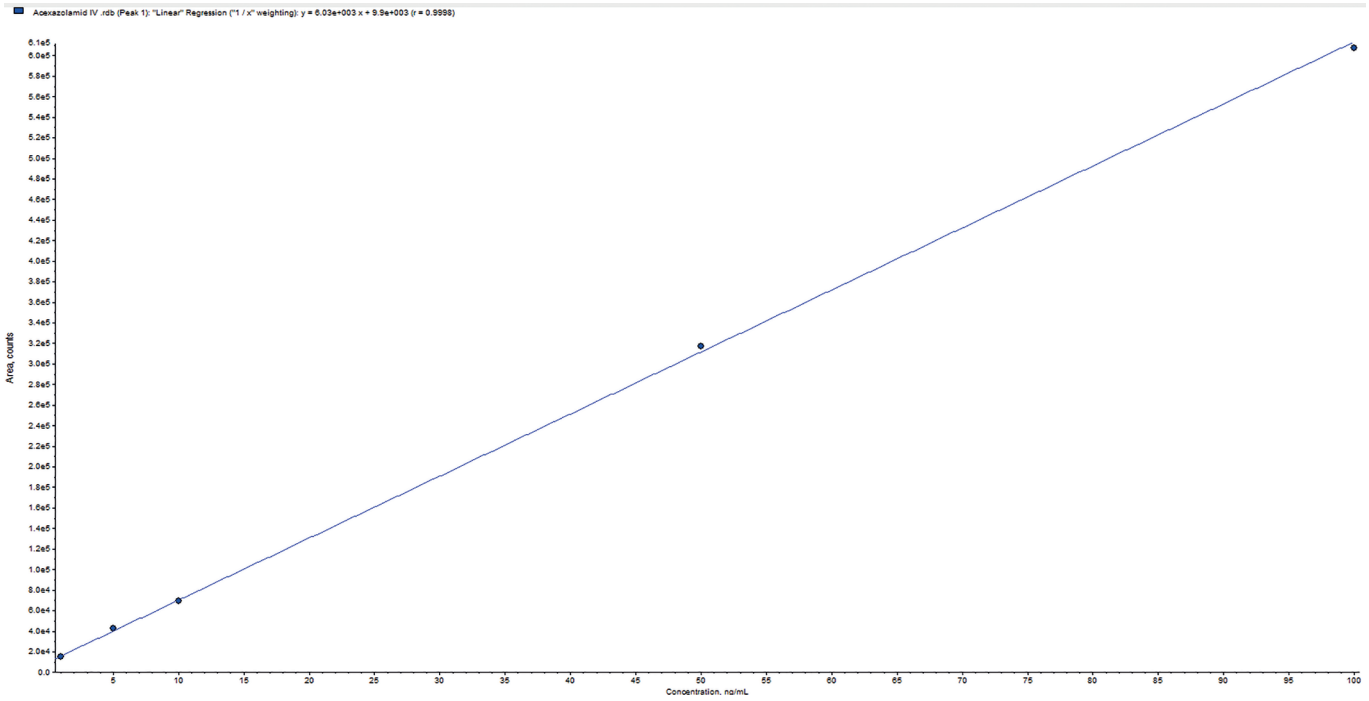


Рис. 5. Калибровочный график для количественного определения этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты в плазме крови кроликов

где:

x – *концентрация этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты, нг/мл*;

y – *величина аналитического сигнала*.

Значение коэффициента корреляции составило $r^2 = 0{,}9998$ (рис. 5).

Определяли максимальную концентрацию этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты в крови (C_{max}) и время её достижения (t_{max}) после однократного внутрижелудочного введения. Рассчитывали значения площадей под фармакокинетической кривой $AUC_{0\to\infty}$ (от момента введения исследуемого соединения до бесконечности) и $AUC_{0\to36}$ (от момента введения исследуемого соединения до 36 ч) для внутрижелудочного и внутривенного введения. Расчёт биодоступности исследуемого лекарственного сред-

ства при внутрижелудочном применении проводили по формуле (1):

$$fa = \frac{AUC\,\text{в/ж}}{AUC\,\text{в/в}} \times 100\ \% \qquad (1)$$

В качестве программного обеспечения использовали Analyst MD 1.6.3.Software (AB Sciex). Статистическую обработку результатов исследования и расчёт фармакокинетических параметров осуществляли с помощью пакета программ Microsoft Office Excel 2013. Для каждого фармакокинетического параметра определяли среднее арифметическое (Mean), среднее геометрическое (GMean), стандартное отклонение (SD), значение коэффициента вариации (CV, %) и медианы (Median), доверительный интервал (L-95 %; Up-95 %).

Результаты и обсуждение

Анализ результатов экспериментального исследования показал, что через 1 мин после внутривенного введения этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты (1 мг/кг) его содержание в плазме крови кроликов составило 20323 ± 1136 нг/мл. Полученное значение соответствовало теоретической концентрации, рассчитанной путём деления количества препарата, введённого подопытным кроликам на предполагаемый объём циркулирующей крови.

При внутрижелудочном введении (1 мг/кг) максимальное содержание этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты составило 806,8 ± 65,6 нг/мл, что было в среднем в 25,2 раза ($p < 0{,}001$) ниже, чем максимальная концентрация при внутривенном введении (табл. 1).

По результатам фармакокинетических исследований были построены графики зависимости концентрации исследованного лекарственного средства от времени (фармакокинетические кривые концентрация – время) для внутривенного и внутрижелудочного введения (рис. 6 и 7).

Таблица 1

Максимальная концентрация (C_{max}) этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты в плазме крови кроликов при внутрижелудочном и внутривенном введении в дозе 1 мг/кг

Показатель	Этилтиадиазолиламид ацетиламиногексановой кислоты, внутрижелудочно		Этилтиадиазолиламид ацетиламиногексановой кислоты, внутривенно
	C_{max}, нг/мл	t_{max}, ч	C_{max}, нг/мл
1	860	1,385	21 454
2	890	1,323	20 621
3	804	1,258	19 108
4	784	1,317	21 411
5	701	1,299	20 560
6	802	1,487	18 784
Mean	806,8	1,345	20 323
Gmean	804,6	1,343	20 296
SD	65,6	0,081	1 136,0
CV, %	8,1	6,020	5,6
Median	803	1,320	20 590,5
min	701	1,258	18 784
max	890	1,487	21 454
Доверительный интервал (L-95 %; Up-95 %)	754,4–859,3	1,28 – 1,41	19 130–21 515

Отмечено, что при внутривенном введении уменьшение концентрации этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты в плазме крови подопытных кроликов имело 2-фазный характер (α и β-фазы). В α-фазе в течение 45 мин наблюдалось быстрое снижение концентрации исследованного лекарственного

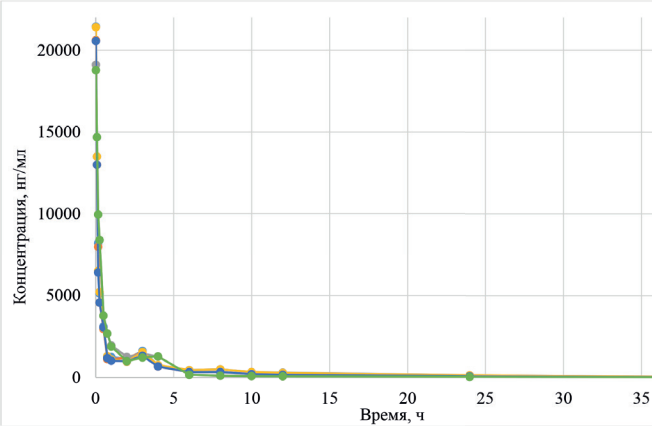


Рис. 6. Концентрация этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты в плазме крови кроликов при внутривенном введении (1 мг/кг)

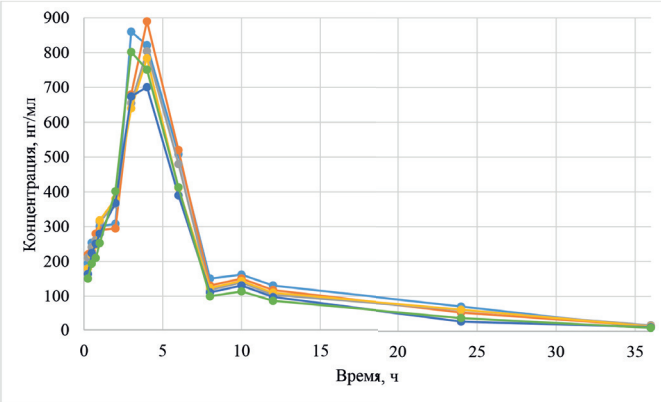


Рис. 7. Концентрация этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты в плазме крови кроликов при внутрижелудочном введении (1 мг/кг)

Таблица 2

Значения площадей под фармакокинетической кривой ($AUC_{0\to 36}$ и $AUC_{0\to\infty}$), при внутривенном введении этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты в дозе 1 мг/кг

Показатель	$AUC_{0\to36}$, нг × ч /мл	$AUC_{0\to\infty}$, нг × ч /мл	$AUC_{36\to\infty}$/ $AUC_{0\to36}$, %
1	15 642	16 373	4,67
2	12 761	13 216	3,56
3	13 168	13 307	1,05
4	15 061	15 766	4,69
5	11 905	12 196	2,44
6	12 650	12 821	1,35
Mean	13 531	13 946	2,96
Gmean	13 466	13 863	2,54
SD	1 478	1 701	1,59
CV, %	10,9	12,2	53,9
Median	12 965	13 262	3,0
Min	11 906	12 196	1,05
Max	15 642	16 373	4,68
Доверительный интервал (L-95 %; Up-95 %)	11 979–15 083	12 161 – 15 732	1,28 – 4,63

Таблица 3

Значения площадей под фармакокинетической кривой ($AUC_{0\to 36}$ и $AUC_{0\to\infty}$), при внутрижелудочном введении этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты в дозе 1 мг/кг

Показатель	$AUC_{0\to36}$	$AUC_{0\to\infty}$	$AUC_{36\to\infty}$/ $AUC_{0\to36}$, %
1	5 725,5	5 784,9	1,04
2	5 400,3	5 496,1	1,77
3	5 144,1	5 262,0	2,29
4	5 033,8	5 127,3	1,86
5	4 525,8	4 598,8	1,61
6	4 699,5	4 759,9	1,29
Mean	5 088,1	5 171,5	1,64
Gmean	5 072,2	5 155,5	1,59
SD	442,1	444,8	0,44
CV, %	8,688	8,6	26,9
Median	5 088,938	5 194,6	1,69
Min	4 525,75	4 598,8	1,03
Max	5 725,5	5 784,9	2,29
Доверительный интервал (L-95 %; Up-95 %)	4 734,4–5 441,9	4 815,6–5 527,4	1,29–1,99

средства в плазме крови, вероятно, за счёт перераспределения в ткани (фаза распределения). В фазе отмечалось медленное снижение концентрации этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты. Через 36 ч после внутривенного введения содержание исследуемого лекарственного средства в плазме крови приближалось к нижнему пределу количественного определения. Площадь под фармакокинетической кривой $AUC_{0\to36}$ составила 13 531 ± 1 478 нг × ч/мл, при этом отношение $AUC_{36\to\infty}/AUC_{0\to36}$ было равно 2,96 ± 1,59 %, что свидетельствовало об адекватности продолжительности мониторинга концентрации исследуемого лекарственного средства в плазме крови (табл. 2).

Концентрация этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты в плазме крови подопытных животных при внутрижелудочном введении (1 мг/кг) постепенно увеличивалась и достигала максимального значения через 1,345 ± 0,081 ч, затем наблюдались фазы быстрого и медленного снижения концентрации исследуемого вещества в крови. Площадь под фармакокинетической кривой $AUC_{0\to36}$ составила 5 088,1 ± 442,1 нг × ч/мл, а отношение $AUC_{36\to\infty}/AUC_{0\to36}$ – 2,96 ± 1,59 % (табл. 3).

По результатам проведённых фармакокинетических исследований была рассчитана величина абсолютной биодоступности этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты при внутрижелудочном введении кроликам в дозе 1 мг/кг в 2 % слизи крахмала. Показано, что значение этого показателя составило в среднем 37 %. Следует отметить, что исследованное новое аминокислотное производное тиадиазола обладает выраженными противовоспалительным, жаропонижающим и обезболивающим свойствами в сочетании с низкой ульцерогенной активностью, что делает перспективным использование его в качестве нестероидного противоспалительного средства. Существенными недостатками этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты являются низкая растворимость (практически нерастворим в воде) и невысокая биодоступность, что свидетельствует о необходимости совершенствования её биофармацевтических свойств. Одним из возможных направлений является получение супрамолекулярных комплексов включения с β-циклодекстринами. Циклодекстрины представляют собой циклические олигосахариды, молекулы которых по форме похожи на тор. Они обладают внешней гидрофильной поверхностью и внутренней гидрофобной полостью. Подобная уникальная структура позволяет формировать комплексы включения, в которых липофильные (гидрофобные) вещества входят во внутреннюю полость β-циклодекстрина без образования ковалентных связей [8]. Обладая способностью к молекулярной инкапсуляции различных веществ, β-циклодекстрины помогают повысить растворимость и стабильность лекарственных субстанций, а также биодоступность препаратов. Наиболее подходящим для получения супрамолекулярных комплексов включения с производными тиадиазола

является 2-гидроксипропил–β–циклодекстрин [9].

Заключение

Таким образом, результаты проведённого экспериментального исследования показали, что биодоступность этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты при внутрижелудочном введении кроликам (1 мг/кг) в виде суспензии с 2 % слизью крахмала составила в среднем 37 %. Для повышения биодоступности нового нестероидного противоспалительного средства необходимо улучшение его биофармацевтических свойств.

Благодарности

Выражаем глубочайшую признательность профессору, д. х. н. *Скачиловой Софии Яковлевне* (ОАО «ВНЦ БАВ», Старая Купавна) за синтезированное и предоставленное для исследования новое производное 1,3,4-тиадиазола – этилтиадиазолиламид ацексамовой кислоты (ацексазоламид).

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов. У авторов отсутствует конфликт интересов.

Участие авторов. *Попов Н.С.* — разработка концепции и дизайна исследования, проведение экспериментов, написание и редактирование статьи; *Малыгин А.С.* — проведение экспериментов на лабораторных животных; *Демидова М.А.* — идея исследования, анализ экспериментального материала, результатов и выводов; *Марасанов С.Б.* — анализ экспериментального материала, результатов и выводов.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Попов Никита Сергеевич
Автор, ответственный за переписку
e-mail: ns.popov@mail.ru
ORCID ID: 0000-0002-1792-7414
SPIN-код: 1974-7300
ассистент кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России

Popov Nikita
Corresponding author
e-mail: ns.popov@mail.ru
ORCID ID: 0000-0002-1792-7414
SPIN code: 1974-7300
Assistant of the Department of Management and Economic of Pharmacy FSBEI HE Tver SMU MOH Russia

Малыгин Александр Сергеевич
ORCID ID: 0000-0003-1955-5105
SPIN-код: 9757-6843
клинический ординатор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России

Malygin Alexander
ORCID ID: 0000-0003-1955-5105
SPIN code: 9757-6843
Resident Physician of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, FSBEI HE Tver SMU MOH Russia

Демидова Марина Александровна
SPIN-код: 2373-0829
д. м. н., профессор, зав. кафедрой управления и экономики фармации ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России

Demidova Marina
SPIN code: 2373-0829
Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Head of the Department of Management and Economic of Pharmacy, FSBEI HE Tver SMU MOH Russia

Марасанов Сергей Борисович
ORCID ID: 0000-0002-7031-7797
SPIN-код: 2983-0003
д. м. н., профессор, зав. кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России

Marasanov Sergey
ORCID ID: 0000-0002-7031-7797
SPIN code: 2983-0003
Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, FSBEI HE Tver SMU MOH Russia

Литература / References

1. Казаишвили Ю.Г., Попов Н.С. Исследование противовоспалительной активности новых производных тиадиазола при формалиновом отеке лапы у крыс // *Современные проблемы науки и образования*. – 2013. – № 3. [Kazaishvili YG, Popov NS. Study of anti-inflammatory activity of derivatives thiadiazole at formalin paw edema in rats. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013;3. (In Russ).] URL: www.science-education.ru/109-9598 (дата обращения: 18.10.2015).

2. Попов Н.С., Демидова М.А. Оценка острой токсичности нового аминокислотного производного тиадиазола при внутрибрюшинном введении мышам // *Верхневолжский медицинский журнал*. – 2016. – Т.15. – № 1. – С. 9–12. [Popov NS, Demidova MA. Acute toxicity evaluation of the new amino acid derivative from thiadiazole at intragastric dministration on mice. V*erhnevolzhskij medicinskij zhurnal*. 2016;15(1): 9–12. (In Russ).]

3. Попов Н.С., Демидова М.А. Оценка ульцерогенности нового аминокислотного производного тиадиазола при внутрижелудочном введении крысам // *Врач-аспирант*. – 2017. – Т. 80. – 1. – С. 71–77. [Popov NS, Demidova MA. Ocenka ulcerogennosti novogo aminokislotnogo proizvodnogo tiadiazola pri vnutrizheludochnom vvedenii krysam. *Vrach-aspirant*. 2017;1(80):71–77. (In Russ).]

4. Жердев В.П., Литвин А.А. Роль и организация фармакокинетических исследований // *Клиническая фармакокинетика*. – 2005. – № 3(2). – С. 1–3. [Zherdev VP, Litvin AA. Rol' i organizaciya farmakokineticheskih issledovanij. *Klinicheskaya farmakokinetika*. 2005;3(2):1–3. (In Russ).]

5. «Об утверждении правил лабораторной практики»: Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н. [«Ob utverzhdenii pravil laboratornoj praktiki»: Prikaz Ministerstva zdravoohraneniya i social'nogo razvitiya RF ot 23 avgusta 2010 g. № 708n. (In Russ).] URL: http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/12079613/

6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. Миронова А.Н. – М.: Гриф и К.; 2012. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskih issledovanij lekarstvennyh sredstv. Ed by Mironov AN. Moscow: Grif i K.; 2012. (In Russ).]

7. Попов Н.С., Малыгин А.С., Демидова М.А. Разработка ВЭЖХ-МС/МС-метода для идентификации и количественного определения нового производного тиадиазола // *Современные проблемы науки и образования*. –2017. – 5. [Popov NS, Malygin AS, Demidova MA. Development of a HPLS-MS-MS method for identification and quantification of new derivative from thiadiazole. *Modern problems of science and education*. 2017;5. (In Russ).] URL: https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26988 (дата обращения: 25.10.2017)

8. Иванова Л.А., Войно Л.И., Шипарева Д.Г. Циклодекстрины и комплексы включения на их основе // *Международный журнал экспериментального образования*. – 2011. – № 11. – С. 94–95. [Ivanova LA, Voino LI, Shipareva DG. Ciklodekstriny i kompleksy vklyucheniya na ih osnove. *International journal of experimental education*. 2011;11:94–95. (In Russ).]

9. Ольхович М.В., Шарапова А.В., Блохина С.В. и др. Комплекс включения 2-гидроксипропил-β-циклодекстрина с биологически активным производным 1,3,4 - тиадиазола [Текст] // Тезисы докладов «XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии». – Уральское отделение Российской академии наук. – 2016. – С. 529. [Olkhovich MV, Sharapova AV, Blokhina SV et al. Kompleks vklyucheniya 2-gidroksipropil-β-ciklodekstrina s biologicheski aktivnym proizvodnym 1,3,4 - tiadiazola [Tekst] // Tezisy dokladov «XX Mendeleevskij s"ezd po obshchej i prikladnoj himii». Ural'skoe otdelenie Rossijskoj akademii nauk. 2016;529. (In Russ).

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

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

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

Приобрести книгу

можно в офисе ООО «Издательство ОКИ»

тел.: +7 (910) 449-22-73

e-mail: eva88@list.ru

Выходные данные

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

Издательство ОКИ

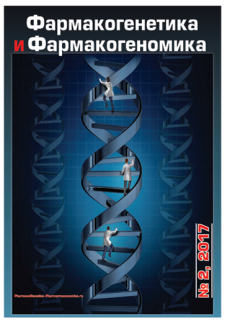
ООО «Издательство ОКИ» выпускает 4 периодических научных специализированных медико-фармацевтических журналов, предназначенных для врачей, провизоров, фармацевтов, специалистов НИИ, преподавателей и студентов медицинских и фармацевтических ВУЗов, организаторов здравоохранения, клинических исследователей,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

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

Сайт журнала: www.clinvest.ru

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

Сайт журнала: www.pharmacokinetica.ru



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

Сайт журнала: www.pharmacogenetics-pharmacogenomics.ru

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

Сайт журнала: www.antibiotics-chemotherapy.ru

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