

Сравнительный хемореактомный анализ мексидола

Торшин И.Ю.¹, Громова О.А.², Сардарян И.С.³,
Федотова Л.Э.³, Семенов В.А.^{1,4}

¹ – ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт», г. Долгопрудный

² – ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Иваново

³ – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
Минздрава России, г. Санкт-Петербург

⁴ – ФГБОУ ВО Кемеровская государственная медицинская академия Минздрава РФ, г. Кемерово

Резюме. В настоящей работе представлены результаты хемореактомного моделирования фармакологических эффектов этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидол) в сравнении с контрольными молекулами (холина альфосцерат, пирацетам, глицин, семакс). Хемореактомный анализ показал, что мексидол может являться: 1) агонистом ацетилхолиновых и ГАМК-А рецепторов; 2) противовоспалительным агентом, эффекты которого осуществляются за счёт ингибирования синтеза провоспалительных простагландинов; 3) нейротропным агентом с нейротрофическими свойствами; 4) ингибитором коагуляции; 5) сахароснижающим средством; 6) гиполипидемическим средством. От молекул сравнения мексидол отличается более выраженный профиль безопасности (меньшее воздействие на серотониновые, дофаминовые и адренергические рецепторы, меньшая степень взаимодействия с калиевыми каналами сердца, ферментами MAO и цитохромами P450). Результаты моделирования позволяют уточнить механизм действия молекулы мексидола на молекулярном уровне.

Ключевые слова: мексидол, нейротропность, хемореактомный анализ, хемоинформатика, прогнозирование

Comparative chemoreactome analysis of mexidol

Torshin I.J.¹, Gromova O.A.¹, Sardaryan I.S.³,

Fedotova L.E.³, Semenov V.A.^{1,4}

¹ – Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny

² – FSBEI HE IvSMA MOH Russia, Ivanovo

³ – FSBI HPE «Saint Petersburg State Pediatric Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg

⁴ – Kemerovo State Medical Academy of the RF Ministry of Health, Kemerovo

Abstract. The paper presents the results of chemoreactome modeling of the pharmacological effects of ethylmethylhydroxypyridine succinate (mexidol) as compared to control molecules (choline alfoscerate, piracetam, glycine, semax). Chemoreactome analysis showed that mexidol may be (1) an agonist of acetylcholine and GABA-A receptors; (2) an anti-inflammatory agent, the effects of which are carried out by inhibiting the synthesis of pro-inflammatory prostaglandins; (3) a neurotrophic agent with neuroprotective properties; (4) a coagulation inhibitor; (5) a diabetes medication and (6) a hypolipidemic agent. From the “control” molecules mexidol is distinguished by a more pronounced safety profile (a lower impact on serotonin, dopamine and adrenergic receptors, a lesser degree of interaction with the potassium channels of the heart, with the MAO enzyme and with the P450 cytochromes). The results of the chemoreactome modeling allowed us to formulate the mechanisms of action of mexidol at the molecular level.

Keywords: mexidol, neuroprotection, chemoreactome analysis, chemoinformatics, forecasting

Автор, ответственный за переписку:

Громова Ольга Алексеевна – д.м.н., профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО ИВГМА МЗ России; 153012, Иваново, Шереметевский пр., 8; тел. +7 (4932) 41-65-25; e-mail: unesco.gromova@gmail.com

Введение

В комплексной терапии пациентов с цереброваскулярной патологией (в частности, с ишемическим инсультом) широко используются препараты из перечня ЖНВЛП (жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов). Например, пациентам назначаются препараты, влияющие на парасимпатическую нервную систему (код АТХ N07A, например, холина альфосцерат и др.), мексидол (код АТХ N07X), пирацетам, глицин, семакс (пептид Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) и другие препараты с ноотропной активностью (код АТХ N06B).

Молекула этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидол) является действующим началом одноименного препарата Мексидол® (фармацевтическая компания «БИОН»), а также многочисленных препаратов-дженериков (Медомекси, Мексibel, Мексидант, Мексикор, Мексиприм, Мексифин, Церекард и т. п.) [1]. Оригинальный препарат Мексидол® выпускается в разных лекарственных формах (раствор для внутривенного и внутримышечного введения; таблетки, покрытые оболочкой; таблетки, покрытые пленочной оболочкой) и оказывает положительное действие на состояние пациентов с ишемией головного мозга за счёт повышения синтеза АТФ, антиоксидантного,

антигипоксического, ноотропного, антитромботического, антиконвульсантного действия и др. [2].

Для более полного понимания условий, при которых клиническая эффективность мексидола будет максимальна, следует иметь как можно более полную информацию о молекулярных механизмах действия данной молекулы. Обычно считается, что основными механизмами действия мексидола являются антиоксидантный эффект и активация синтеза АТФ. Однако эти механизмы в принципе не могут объяснить наличие у мексидола ноотропного, антиконвульсантного и, тем более, анксиолитического действия.

Очевидно, что перечисленные эффекты не могут объясняться просто «антиоксидантным эффектом», синтезом АТФ и другими подобного рода «объяснениями». Показано, что мексидол модулирует активность сигнальных ферментов аденилатциклазы, рецепторов бензодиазепинов, ГАМК, ацетилхолина, улучшает микроциркуляцию и реологические свойства крови, уменьшает агрегацию тромбоцитов [3, 4], что также не может быть объяснено просто «антиоксидантным эффектом». Молекулярные механизмы осуществления перечисленных выше активностей мексидола так и не были достаточно исследованы.

В настоящей работе представлены результаты моделирования свойств мексидола в сравнении с контрольными молекулами с известным нейропротекторным и/или ноотропным действием (холина альфосцерат, пирацетам, глицин, семакс). Исследование проводится с использованием новейшего направления постгеномной фармакологии — хемореактомного моделирования. В рамках постгеномной парадигмы, молекула любого лекарственного средства «мимикрирует» под определённые метаболиты (вследствие наличия тех или иных сходств в химической структуре) и, связываясь с теми или иными белками протеома, производит соответствующие данному лекарству эффекты (как позитивные, так и негативные) [5]. Совокупность имеющихся для исследуемой молекулы данных о взаимодействии с белками протеома, рассматриваемых в ходе проведения хемореактомного анализа, и позволяет сделать обоснованные выводы о потенциальных эффектах молекулы.

Анализ фармакологических «возможностей» мексидола и молекул сравнения проведён на основе хемоинформационного подхода, т. е. сравнения химической структуры исследуемых молекул со структурами миллионов других молекул, для которых молекулярно-фармакологические свойства известны. Процедура анализа основана на новейших технологиях машинного обучения [6–9], разрабатываемых в научной школе акад. РАН Ю.И. Журавлева и член-корр. РАН К.В. Рудакова.

Материалы и методы

Хемоинформатика — область исследований на стыке структурной химии, фармакологии и биоинформатики, в которой взаимосвязи типа «химическая струк-

тура» — «свойство вещества» исследуются методами современной информатики. Хемоинформационный анализ позволяет найти молекулы, схожие с исследуемой и, соответственно, предположить физиологические, фармакологические и другие свойства исследуемой молекулы на основе имеющейся информации о свойствах молекул, наиболее близких по структуре и представленных в базе данных PubChem [10].

Особый подраздел хемоинформатики, *хемореактомный анализ*, направлен на оценку биологических активностей исследуемой молекулы (в частности, моделирование профиля сродства исследуемой молекулярной структуры к различным белкам протеома). В настоящей работе был проведён сравнительный хемореактомный анализ молекул мексидол в сравнении с контрольными молекулами (холина альфосцерат, пирацетам, глицин, семакс, рис. 1).

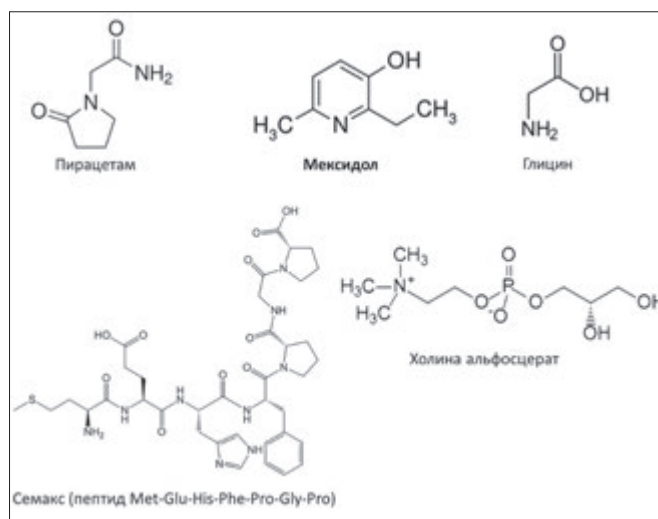


Рис. 1. Химические формулы исследованных молекул

Для проведения хемоинформационного анализа был разработан новый математический метод, основанный на комбинаторной теории разрешимости [9–12]. Комбинаторная теория разрешимости, представляющая собой развитие алгебраического подхода к задачам распознавания, является современным инструментом для исследования признаков описаний объектов. С использованием разработанной теории вычисляется функция расстояния между молекулами d_{χ} , отражающая «химическое расстояние» между двумя произвольными молекулами. Таким образом, на первом этапе хемоинформационного анализа с использованием расстояния d_{χ} устанавливается список наиболее близких к мексидолу химических структур. На втором этапе, для каждой молекулы из баз данных извлекаются все имеющиеся данные экспериментального измерения различных биологических свойств этой молекулы и проводится вычисление констант различных биологических активностей.

Результаты

С использованием описанного выше метода хемоинформационного анализа были проведены сравнения химической структуры мексидола с молекулами в базе данных метаболома человека и с молекулами в базах данных лекарственных средств. В качестве модели метаболома человека использовались более 40 000 соединений, приведённых в базе данных HMDB (Human Metabolome Database, т. е. база данных метаболома человека) [11]. Данные соединения включают большинство соединений, измеряемых в плазме крови человека и также ряд лекарственных средств и их метаболитов. В табл. 1 представлены наиболее интересные результаты анализа сходства мексидола с фармакологически активными веществами.

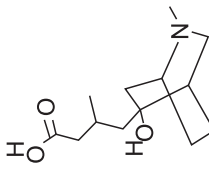
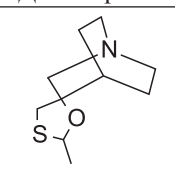
Таким образом, почти все сходные с мексидолом молекулы были обнаружены в растительных экстрактах (алкалоиды шелковицы, иминосахара гречки и др.).

Таблица 1

Соединения, полученные в результате хемоинформационного поиска, структурно сходные с мексидолом и характеризующиеся известной фармакологической активностью

d_x	Формула	Фармакологические роли
0,00	 Мексидол	Исследуемая молекула
0,08	 Дигидроксинортропан	Алкалоид шелковицы, гипогликемический эффект
0,15	 Деоксифагомин	Иминосахар гречки, поддержка микробиоты
0,21	 Калистегин А7	Ингибитор альфа-глюкозидаз, нормализация уровня глюкозы при диабете
0,21	 Деоксиоджиримицин	Иминосахар шелковицы, ингибитор альфа-глюкозидаз, нормализация уровня глюкозы при диабете

0,21	 Фагомин	Иминосахар гречки, поддержка микробиоты, гипогликемический эффект
0,21	 Воглибоза	Ингибитор альфа-глюкозидаз, нормализация уровня глюкозы при диабете
0,21	 Миглитол	Ингибитор альфа-глюкозидаз, нормализация уровня глюкозы при диабете
0,25	 Норпситропин	Алкалоид шелковицы, гипогликемический эффект
0,25	 Этамбутол	Микобактериальный антибиотик
0,27	 Калистегины В5, С1, А6, В2	Нормализация уровня глюкозы при диабете
0,36	 Пентолиний	Антагонист никотиновых рецепторов, вазодилатор
0,46	 Соламин	Антисептик
0,46	 Декаметоний	Агонист ацетилхолиновых рецепторов
0,46	 Мекамиламин	Антагонист никотиновых рецепторов, вазодилатор

0,50	 Диоскоретин	Гипогликемический эффект
0,50	 Цевимелин	Агонист мускариновых рецепторов ацетилхолина, лечение ксеростомии (сухость во рту)
Примечание: соединения упорядочены в соответствии со значением d_x , «химического расстояния» от молекулы мексидола (см. Методы). Более низкие значения d_x соответствуют большей структурной близости молекулы вещества к мексидолу		

Многие из этих молекул характеризуются известными гипогликемическим и антидиабетическим эффектами (в частности, за счёт ингибирования альфа-глюкозидаз, что способствует снижению уровня глюкозы в крови). Кроме того, схожие с мексидолом молекулы природного происхождения характеризуются и другими свойствами: взаимодействием с ацетилхолино-

выми рецепторами, вазодилаторными свойствами, антибактериальными свойствами, поддержкой микробиоты и др.

Результаты хемореактивного моделирования свойств молекулы мексидола

Хемореактивное моделирование показало, что мексидол может являться агонистом ацетилхолиновых рецепторов и ГАМК рецепторов (табл. 2). Активация М3 мускариновых рецепторов приводит к стимуляции пути выживания нейронов (молекулярный каскад ERK1/2). Активация каскада ERK1/2 тормозит апоптоз нейронов, т. е. обуславливает нейропротекторный эффект [12].

Активация мексидолом никотиновых рецепторов ацетилхолина типа $\alpha 4\beta 2$ нормализует процессы пре-синаптического и пост-синаптического возбуждения холинергических синапсов, что также способствует нейропротекции (в частности, улучшает внимание) [13]. Ингибирование М4 мускариновых рецепторов молекулой мексидола способствует ГАМКергической трансмиссии [14], что усиливает воздействие мексидола на ГАМК рецепторы.

Хемореактивный анализ показал, что молекула мексидола является лучшим агонистом ГАМК рецеп-

Таблица 2

Хемореактивные оценки взаимодействий мексидола и молекул сравнения с различными рецепторами нейротрансмиттеров

Об.	Ош.	Ед.	Активность	МКС	ХЛА	ПРЦ	ГЛИ	СМК
Ki	191	нМ	Сродство к серотонинергическому рецептору 5HT1A мозга крыс	1 498	145	144	32	151
IC50	99	нМ	Сродство к серотонинергическому рецептору 5HT1B, вытеснение [3H]5-НТ	1 919	72	333	НЭ	215
Ki	129	нМ	Сродство к альфа-2b адренергическим рецепторам человека, [3H] раувольфин	987	316	722	365	490
Ki	264	нМ	Сродство к альфа-2 адренергическим рецепторам мозга крыс	1 133	467	424	167	396
K	396	нМ	Сродство к D1 рецептору допамина стриатума крыс, [3H] фенолдопам	3 687	1 223	1 296	1 199	1 303
Ki	102	нМ	Сродство к рецептору допамина D2 человека, [3H] спиперон	997	72	149	НЭ	69
IC50	8	нМ	Сродство к бензодиазепиновому рецептору В крыс, [3H] диазепам	711	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	33	%	% повышения пикового тока ГАМКергических рецепторов при добавлении 1 мкМ ГАМК + 1 мкМ соединения по сравнению с 1 мкМ ГАМК	305	136	104	НЭ	108
—	21	%	Процент модуляции субмаксимального ответа (EC20) на ГАМК рецепторов ГАМК-А альфа-2-бета-3-гамма-2 человека	68	30	20	14	18
Ki	998	нМ	Сродство к мускариновым рецепторам М2 крыс, [3H] QNB	421	11 798	НЭ	НЭ	НЭ
Ki	389	нМ	Сродство к М4 мускариновым рецепторам ацетилхолина, [3H] оксотреморин	1 315	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	36	%	% секреции дофамина при активации α -никотиновых рецепторов ацетилхолина в стриатуме крыс	70	100	НЭ	НЭ	НЭ

Примечание: здесь и табл. 3–6. Об. — обозначение параметра биологической активности (константы) в соответствии с международной номенклатурой; Ед. — единицы измерения параметра; Ош. — ошибка (погрешность) значения параметра; МКС — мексидол; ХЛА — холина альфосцерат; ПРЦ — пирацетам; ГЛИ — глицин; СМК — Семакс; НЭ — нет эффекта.

торов, чем молекулы сравнения см. табл. 2). Например, мексидол повышает субмаксимальный ответ на стимуляцию ГАМК-А рецепторов типа $\alpha 2\beta 3\gamma 2$ на 68%, а для всех молекул сравнения — не более чем на 30%. Активация ГАМК-рецепторов проявляет нейропротекторный эффект в моделях поражения нейронов бета-амилоидом и в моделях спонтанной гипертензии [15]. Повышение выживания нейронов при активации ГАМК-рецепторов осуществляется, в частности, за счёт активации молекулярных каскадов выживания нейронов Akt (PKA) и ERK1/2 [16].

Хемореактомный анализ показал, что молекула мексидола вмешивается в модуляцию серотонинергической и дофаминергическую активности в меньшей степени, чем молекулы сравнения. Так, значения констант ингибирования (K_i) серотониновых и дофаминовых рецепторов различных типов были выше именно для мексидола, что соответствует меньшему сродству мексидола к этим рецепторам (см. табл. 2). Например, полученное для глицина значение оценки сродства к рецептору серотонина 5HT1A было весьма высоким ($K_i = 32$ нМ), в то время как для мексидола сродство было в 15 раз более низким ($K_i = 1498$ нМ). Большая, по сравнению с контрольными молекулами, нейтральность мексидола по отношению к серотониновым и к дофаминовым рецепторам означает, что мексидол не будет способствовать резким колебаниям настроения у пациентов с депрессивными и тревожными расстройствами (рис. 2).

Результаты хемореактомного моделирования неврологических эффектов мексидола соответствуют обсуждаемым ранее нейропротекторным эффектам молекулы, ассоциированным с активацией ацетилхолиновых и ГАМК рецепторов. В частности, хемореактомное моделирование указывает на противосудорожную активность молекулы мексидола (табл. 3). Например, ингибирование фенилхинон-индуцированных судорог у мышей может осуществляться на 93% в случае использования мексидола, на 36% — в случае пирacetama и только на 11% — в случае семакса. Кроме того, молекула мексидола может ингибировать образование и агрегацию бета-амилоида, а также избыточную активность сигнального фермента GSK3, что стимулирует рост нейритов и регенерацию нервной ткани [17] (табл. 3).

При ишемических процессах в мозге происходит интенсивный распад фосфолипидов нейрональных мембран и вырабатываются провоспалительные эйкозаноиды (простагландин E2, тромбоксаны и др.). Эти эйкозаноиды не только стимулируют процессы воспаления, но также усиливают боль и тромбообразование.

Хемореактомное моделирование мексидола показало более выраженное противовоспалительное действие молекулы за счёт ингибирования синтеза провоспалительных простагландинов посредством частичного ингибирования ферментов ЦОГ-2 и 5-липоксигеназы (табл. 4). Частичное ингибирование



Рис. 2. Хемореактомный анализ: основные молекулярные механизмы действия мексидола. ЦОГ-2, циклооксигеназа-2; 5-ЛОГ, 5-липоксигеназа

Таблица 3

Хемореактомные оценки экспериментальных неврологических эффектов мексидола и молекул сравнения

Об.	Оп.	Ед.	Активность	МКС	ХЛА	ПРЦ	ГЛИ	СМК
—	45	%	Обезболивающее действие в эксперименте	95	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
ED50	154	мг/кг	Противосудорожная активность у мышей при поражении электрическим током	71	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
HD50	4	мкМ	Внутривенная доза, вызывающая вестибулярные нарушения в течение 30 с у 50% мышей	82	НЭ	НЭ	29	НЭ
—	21	%	Ингибирование фенилхинон-индуцированных судорог у мышей, 50 мг/кг	93	19	36	НЭ	11
FC	1	—	Ингибирование агрегации бета-амилоида, флуориметрический анализ	2	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	263	%	Антиамилоидогенная активность в N2A клетках мыши, 1 мкМ	91	НЭ	122	НЭ	НЭ
—	19	%	Антагонизм глутаматного рецептора mGluR5, 30 мкМ	15	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
IC50	13	нМ	Ингибирование GSK3	75	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	1	%	Нейропротекторное действие при H ₂ O ₂ -индуцированной гибели нейронов клеток при инкубировании в 1 мкМ вещества за 24 ч до воздействия H ₂ O ₂	21	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	72	с	Антидепрессантная активность в модели иммобилизационного стресса, 20 мг/кг	78	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ

Примечание: обозначения — см. в табл. 2.

Таблица 4

Хемореактомные оценки противовоспалительных эффектов мексидола и молекул сравнения

Об.	Оп.	Ед.	Активность	МКС	ХЛА	ПРЦ	ГЛИ	СМК
IC50	816	нМ	Ингибирование ЦОГ-2, арахидоновая кислота	1 029	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
IC50	45	нМ	Ингибирование ЦОГ-2-опосредованного синтеза PGE2	716	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	17	%	Ингибирование ЦОГ-2 моноцитов человека	46	23	НЭ	18	НЭ
IC50	109	нМ	Константа ингибирования ЦОГ-2, флуоресцентный анализ	75	351	274	265	107
—	0	—	Селективность ингибирования ЦОГ-2 относительно ЦОГ-1	3	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	24	%	Ингибирование простагландин D синтазы человека, 50 мкМ	84	28	26	НЭ	19
IC50	267	нМ	Ингибирование простагландин E синтазы	554	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	24	%	Ингибирование 5-липоксигеназы как остаточная активность нейтрофилов при стимуляции арахидоновой кислотой, 10 мкМ, ВЭЖХ анализ	65	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	54	%	Ингибирование синтеза простагландинов в каррагинан-индуцированной модели воспаления	92	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	46	%	Ингибирование NFκB активируемого ФНО-альфа, 50 мкМ	61	24	21	14	21
—	9	%	Ингибирование секреции гистамина, 25 мг/кг в кожной анафилаксии у самцов крыс	43	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	11	%	Противовоспалительная активность против адьювантного артрита у крыс в дозе 25 мг/кг	38	19	НЭ	23	НЭ
—	6	%	% снижения отека лап у крыс с моделью адьювантного артрита, 50 мг/кг	10	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	1	%	Противовоспалительная активность как ингибирование отека лап в дозе 50 мг/кг	48	41	НЭ	41	НЭ

Примечание: обозначения — см. в табл. 2.

ЦОГ-2 мексидолом, в отличие от использования таких специфических и сильных ингибиторов ЦОГ-2, как ацетилсалициловая кислота, может потенциально снижать риск формирования геморрагических осложнений.

Избыточное тромбообразование является одним из главных факторов цереброваскулярной патологии. Хемореактомное моделирование указало на более выраженный гемодинамический потенциал молекулы мексидола по сравнению с контрольными молекулами (табл. 5). Например, расчёты показали, что ингибирование коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов мексидолом осуществляется при гораздо более низких концентрациях вещества ($IC_{50} = 462$ нМ), чем в случае семакса ($IC_{50} = 4295$ нМ). Кроме того, мексидол может характеризоваться и более выраженным ингибированием коагуляционного фактора Ха (активатор протромбина).

Не менее интересные результаты получены при сравнении эффектов изучаемых молекул на метаболизм глюкозы и липидный профиль. Глюкозотолерантность существенно утяжеляет течение цереброваскулярной патологии и ухудшает прогноз. Моделирование указало на антигипергликемическую активность мексидола. Среди изученных молекул мексидол может снижать повышенные уровни глюкозы на 34%, холина альфосцерат — на 8%, а пирацетам — всего на 4%.

При этом, улучшение метаболизма глюкозы клетками при участии мексидола может осуществляться

за счёт активации фермента глюкокиназы и рецептора PPAR-гамма, что способствует нормализации уровня глюкозы в крови и также снижению уровней холестерина и триглицеридов (см. табл. 5). Например, снижение уровня триглицеридов в крови составило 29% для мексидола, 15% — для холина альфосцерат и всего 3% для семакса.

Подчеркнём, что результаты хемореактомного анализа позволяют предположить, что основой гипогликемического действия мексидола является активация PPAR-рецепторов (см. табл. 5). Белки-рецепторы типа PPAR (*активированный рецептор пролифераторов пероксисом*) необходимы для переработки избыточного холестерина и для снижения уровня глюкозы в крови.

PPAR-рецепторы способствуют увеличению в клетке числа пероксисом — обязательных клеточных органелл, содержащих окислительно-восстановительные ферменты (например, уратоксидазу, каталазу, ферменты расщепления жирных кислот). Пероксисомы необходимы для осуществления таких процессов, как метаболизм глюкозы, окисление жирных кислот, детоксикация, синтез желчных кислот, построение миелиновой оболочки нервных волокон и др. Наряду с митохондриями пероксисомы являются главными потребителями кислорода в клетке.

Наличие в пероксисомах большого количества фермента метаболизма жирных кислот (например, гидроксиметилглутарил лиазы, пероксисомального

Таблица 5

Хемореактомные оценки гемодинамических эффектов мексидола и молекул сравнения

Об.	Ош.	Ед.	Активность	МКС	ХЛА	ПРЦ	ГЛИ	СМК
Ki	498	нМ	Ингибирование тромбина	561	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
IC ₅₀	462	нМ	Ингибирование агрегации тромбоцитов плазмы крови человека	262	НЭ	НЭ	НЭ	4 295
Ki	47	нМ	Ингибирование фактора 10a	16	59	249	59	240
—	5	мкМ	Антикоагулянтная активность в плазме крови человека как концентрация, необходимая для удвоения времени свертывания крови после 30 с	34	НЭ	69	НЭ	НЭ
—	1	%	Антигипергликемическая активность как снижение уровней глюкозы в крови при дозе 100 мг/кг перед нагрузочным тестом глюкозой	34	8	4	НЭ	НЭ
EC ₅₀	124	нМ	Активация глюкокиназы как скорость формирования 6-фосфата	679	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	13	%	Активация рецепторов PPAR, 10 мкг/мл относительно росиглитазона	7	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
IC ₅₀	36	нМ	Вытеснение агониста рецептора PPAR	287	НЭ	НЭ	392	НЭ
—	60	%	Снижение уровня холестерина сыворотки в эксперименте, 20 мг/кг в/б	39	НЭ	37	НЭ	13
—	1	%	Гиполипидемическая активность, % снижения триглицеридов у крыс при дозе 100 мг	29	15	НЭ	НЭ	3
—	4	%	Антиоксидантная активность как нейтрализация АФК, 100 мкМ, 20 мин	27	11	5	2	4
ILS	10	%	Увеличение продолжительности жизни мышей по сравнению с контрольными группами	141	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ

Примечание: Обозначения — см. в табл. 2.

многофункционального фермента HSD17B4, пероксисомальной ацил-соА оксидазы ACOX1, лигаз длинноцепочечных жирных кислот и др.) обуславливает резкое увеличение интенсивности переработки жиров при увеличении числа пероксисом в клетке.

Активация белков PPAR приводит к усилению транскрипции генов, кодирующих белки переработки сахаров и липидов (в частности, пероксисомальной ацил-соА оксидазы ACOX1), что активирует процессы бета-окисления жирных кислот. Поэтому, агонисты PPAR-рецепторов (например, росиглитазон) используются при гипергликемии и гиперлипидемии [18]. Мексидол может являться частичным агонистом рецептора PPAR γ и, таким образом, проявлять гипогликемическое и антидиабетическое действие (рис. 3).

Результаты моделирования фармакодинамических свойств молекулы мексидол (прежде всего, по степени связывания с различными «нежелательными» таргетными белками) представлены в табл. 6. Моделирование показало, что мексидол существенно слабее, чем контрольные молекулы, взаимодействует с белками, ассоциированными с развитием нежелательных побочных эффектов лекарств.

Например, калиевый канал KCNH2 является важным «антитаргетным» белком, взаимодействий с которым следует избегать при разработке лекарственных средств [19], т. к. нарушения активности

KCNH2 приводят к формированию смертельно опасного «синдрома длинного QT», повышающего риск внезапной остановки сердца вследствие спонтанно развивающейся аритмии [9, 20]. В результате хемореактного моделирования было установлено, что, по сравнению с контрольными молекулами, молекула мексидол характеризовалась самым низким сродством к калиевому каналу KCNH2: значение константы ингибирования для мексидол составило $K_i = 4\,443\text{ нМ}$, для остальных молекул $K_i < 3\,058\text{ нМ}$ (т. е. для ингибирования канала KCNH2 мексидолом необходима более высокая концентрация мексидол, чем молекул сравнения).

Таким образом, хемореактное моделирование молекулы указало на различные фармакологические активности мексидол: активация мускариновых и никотиновых рецепторов ацетилхолина, активация ГАМК-А рецепторов, ингибирование ЦОГ-2 и 5-липосигеназы, ингибирование биосинтеза простагландина E2, ингибирование ФНО-альфа активированного фактора транскрипции NF- κ B, активация рецептора PPAR α и др.

Каждой из этих активностей соответствуют определённые гены из генома человека. В ходе проведённого анализа, был получен список из 54 генов, задействованных в реализации фармакологических эффектов мексидол. Анализ аннотаций этих генов



Рис. 3. Пространственная структура белков PPAR, необходимых для переработки простых сахаров и липидов в пероксисомах

Таблица 6

Хемореактомные оценки фармакокинетических и фармакодинамических свойств мексидола и молекул сравнения

Об.	Ош.	Ед.	Активность	МКС	ХЛА	ПРЦ	ГЛИ	СМК
—	17	%	% всасывания в ЖКТ человека	89	13	35	9	27
F	17	%	Биодоступность	68	53	27	17	31
IC50	934	нМ	Ингибирование CYP2D6 человека	3 923	1 125	3 383	1 170	1 261
Ki	644	нМ	Ингибирование KCHN1 человека	4 443	339	3 058	102	1 911
Ki	945	нМ	Ингибирование MAO-A крыс	2 017	НЭ	248	НЭ	НЭ
—	18	%	Гепатопротекторное действие на гепатоцитах (ингибирование D-галактозамин-индуцированной цитотоксичности)	26	12	НЭ	13	НЭ

Примечание: Обозначения — см. в предыдущих таблицах.

с использованием биологических ролей белков по международной номенклатуре Gene Ontology (GO) указал на основные биологические роли мексидола:

- Неврологические роли (синаптическая передача сигнала, визуальное восприятие, циркадианный ритм, регулирование цикла сна/бодрствования, двигательное поведение).
- Формирование структур нейронов (нейрон, аксон, оконечность аксона, синаптический мембранный везикул, дендрит, нейрит).
- Вазоактивное действие (активация биосинтеза оксида азота, активация роста клеток гладких мышц).
- Эмбриональное и пост-эмбриональное развитие (пост-эмбриональное развитие, рост многоклеточного организма, развитие мозга, развитие нёба).
- Регенерация тканей (активация деления клеток, ранозаживление, рост клеток, торможение апоптоза);
- Антиоксидантное действие (ответы клеток на окислительный стресс, на перекись водорода, на гипероксию).
- Клеточное дыхание, энергетический метаболизм (ответ на гипоксию, митохондрии, метаболизм глюкозы и липидов, перенос электрона, связывание гема, ответ на инсулин).
- Иммунитет, регуляция воспаления (активация противовирусной защиты, воспалительная реакция, ответ на липополисахариды, активация сигналов I β /NF κ B, ответ на глюкокортикоиды).
- Синергизм с другими микронутриентами (связывание ионов железа, кальция, цинка).

Анализ аннотаций генов, вовлечённых в осуществление эффектов мексидола позволяет установить молекулярные механизмы осуществления самых различных фармакологических эффектов. Например, антиоксидантный эффект мексидола заявляется как один из основных эффектов этого препарата. Считается, что развитие антиоксидантного эффекта связано с повышением активности супероксиддисмутаз и ингибированием перекисного окисления липидов. Более детального исследования молекулярных механизмов

осуществления антиоксидантного эффекта мексидола не проводилось.

Заметим, что эффективность мексидола как антиоксиданта вряд ли обусловлена прямым взаимодействием молекулы мексидола с активными формами кислорода (АФК), а, скорее, с некоторыми специфическими взаимодействиями с определёнными белками-рецепторами.

Антиоксидантному действию мексидола соответствуют следующие биологические роли по международной номенклатуре GO: GO:0006979 «Ответ на окислительный стресс», GO:0070301 «Клеточный ответ на перекись водорода» и GO:0055093 «Ответ на гипероксию». Этим биологическим ролям соответствуют 5 генов и соответствующих этим генам белков:

- CHRNA4 Ацетилхолиновый рецептор альфа-4;
- CHRNA7 Ацетилхолиновый рецептор альфа-7;
- PTGS2 Простагландин синтетаза 2 (циклооксигеназа-2, ЦОГ-2);
- NFKB1 Ядерный фактор транскрипции NF-каппа-B;
- ALOX5 Арахидонат 5-липоксигеназа.

Иначе говоря, анализ аннотаций генов показал, что реализация антиоксидантного эффекта мексидола вряд ли возможна без задействования этих генов. Соответственно, данный список генов позволяет сформулировать более реалистичные механизмы антиоксидантного действия мексидола, чем прямое взаимодействие молекул мексидола с АФК.

Так, взаимодействуя с ионотропными (никотиновыми) рецепторами, **ацетилхолин** тормозит повреждения клеток, вызываемые перекисью водорода [21]. В частности, активация $\alpha 4$ [22] и $\alpha 7$ [23, 24] рецепторов ацетилхолина противодействует окислительным повреждениям ДНК [25]. В частности, активация $\alpha 7$ рецепторов к ацетилхолину способствует снижению активности про-воспалительного и про-оксидантного транскрипционного фактора NF- κ B [26], повышению экспрессии антиоксидантных генов SOD1 (супероксиддисмутазы), GPX1 (глутатион пероксидазы 1) [26] и HMOX1 (гем оксигеназы 1) [27] (рис. 4).



Рис. 4. Молекулярные механизмы антиоксидантного эффекта мексидола, сформулированные в результате проведения хемореактного анализа

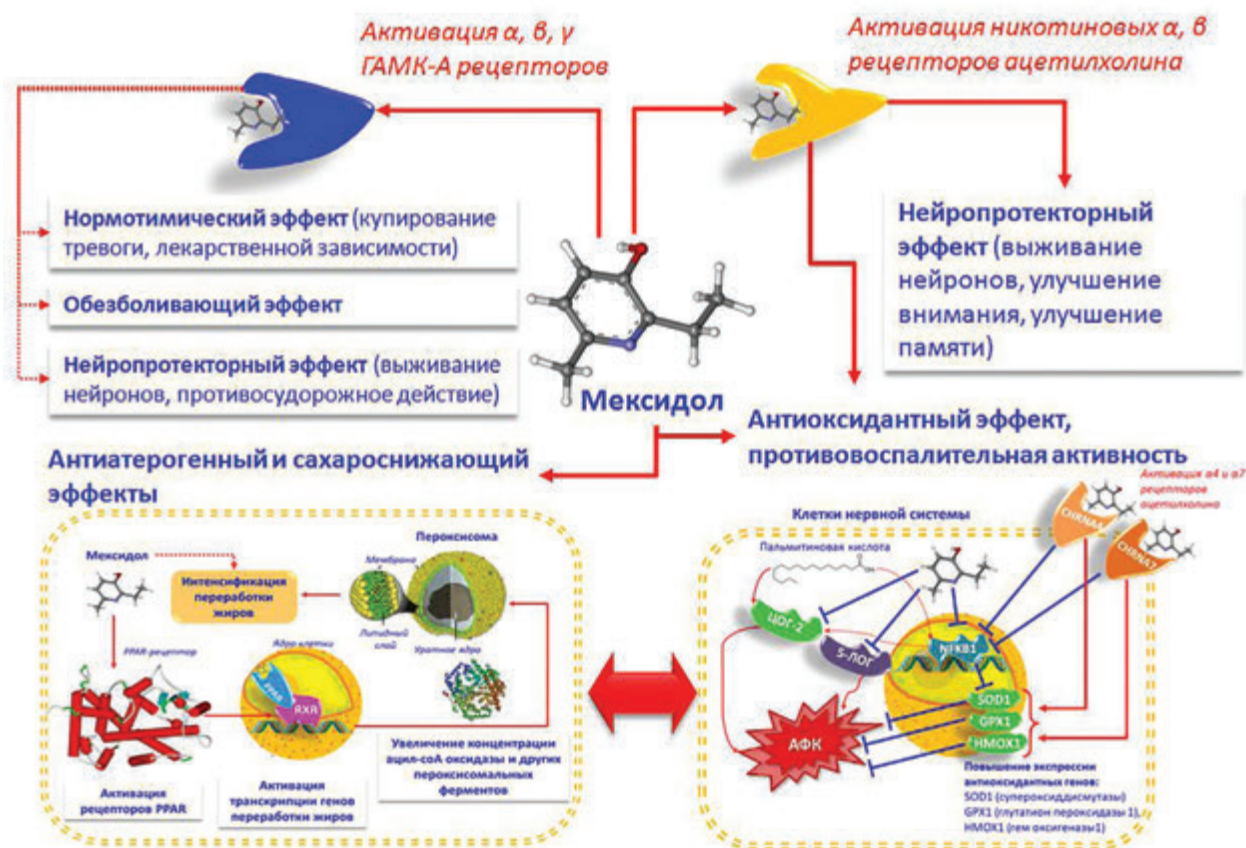


Рис. 5. Результаты хемореактного моделирования мексидола

При переработке пальмитиновой кислоты активность фермента ЦОГ-2 (ген PTGS2) способствует не только синтезу провоспалительных простагландинов, но и нарастанию окислительного стресса. Более того, пальмитат-анион способствует ещё большему повышению экспрессии гена PTGS2 при участии транскрипционного фактора NF-κB [28]. Мексидол, в соответствии с результатами хемореактомного анализа, будет ингибировать и фермент ЦОГ-2 и активность транскрипционного фактора NF-κB, тем самым осуществляя антиоксидантный эффект. Ингибирование ЦОГ-2 также способствует повышению активности ацетилхолиновых рецепторов [29].

Заключение

Результаты хемореактомного анализа показали, что главными мишенями фармакологического действия молекулы мексидола являются ацетилхолиновые рецепторы, ГАМК-А рецепторы, ферменты ЦОГ-2, 5-ЛОГ и PPAR-рецептор (рис. 5). Молекула мексидола является агонистом ацетилхолиновых рецепторов в большей степени, чем молекулы сравнения (холина альфосцерат, пирацетам, глицин, семакс). Активация холинергической нейротрансмиссии вносит существенный вклад в нейропротекцию при ишемии и когнитивных расстройствах. Кроме того, активация ионотропных ацетилхолиновых рецепторов типов α4 и α7 способствует реализации антиоксидантного эффекта. Молекула мексидола также является более выраженным агонистом ГАМК рецепторов, чем молекулы сравнения. Активация ГАМК-А рецепторов важна для нейропротекции и для реализации противосудорожного действия. Мексидол в большей степени, чем молекулы сравнения, проявляет противовоспалительные свойства за счёт частичного ингибирования ферментов ЦОГ-2 и 5-ЛОГ. В-четвертых, активация мексидолом PPAR-рецептора способствует интенсификации переработки жиров и углеводов. И, наконец, от молекул сравнения мексидол отличается более высокой безопасностью (меньшая степень взаимодействия с «про-аритмическими» каналами KCNH2, ферментами MAO и CYP1A1, более слабое влияние на серотониновые и опиоидные рецепторы).

Литература

1. Об утверждении перечней жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения на 2016 год. Распоряжение от 26 декабря 2015 года №2724-р. <http://government.ru/docs/21361/>
2. S.A. Rumyantseva A.; I. Fedin; O. N. Sokhova. Antioxidant Treatment of Ischemic Brain Lesions. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 2012, 42 (8): 842–845. doi:10.1007/s11055-012-9646-3.
3. Косенко В.Г., Карагезян Е.А., Лунова Л.В., Смоленко Л.Ф. Применение мексидола в психиатрической практике. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2006; 6.
4. Volchegorskii I.A., Miroshnichenko I.Y., Rassokhina L.M., Faizullin R.M., Malkin M.P., Pryakhina K.E., Kalugina A.V. Comparative analysis of the anxiolytic effects of 3-hydroxypyridine and succinic acid derivatives. *Bull Exp Biol Med*. 2015 Apr; 158 (6): 756–61. doi: 10.1007/s10517-015-2855-3.
5. Torshin I.Yu. Bioinformatics in the post-genomic era: physiology and medicine. Nova Biomedical Books, NY, USA (2007), ISBN 1-60021-752-4.
6. Журавлёв Ю.И., Рудаков К.В., Торшин И.Ю. Алгебраические критерии локальной разрешимости и регулярности как инструмент исследования морфологии аминокислотных последовательностей. Труды МФТИ. 2011; 3: 4: 67–76.
7. Рудаков К.В., Торшин И.Ю. Об отборе информативных значений признаков на базе критериев разрешимости в задаче распознавания вторичной структуры белка. ДАН. 2011; 441: 1: 1–5.
8. Журавлев Ю.И. Об алгебраическом подходе к решению задач распознавания или классификации. Проблемы кибернетики. Вып. 33. М.: Наука, 1978; 5–68.
9. Торшин И.Ю., Громова О.А. Экспертный анализ данных в молекулярной фармакологии. М.: Изд. МЦНМО, 2012; 768.
10. Bolton E., Wang Y., Thiessen P.A., Bryant S.H. PubChem: Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities. Chapter 12 IN Annual Reports in Computational Chemistry, Volume 4, American Chemical Society, Washington, DC, 2008 Apr. (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).
11. Wishart D.S., Tzur D., Knox C., Eisner R., Guo A.C., Young N., Cheng D., Jewell K., Arndt D., Sawhney S., Fung C., Nikolai L., Lewis M., Coutouly M.A., Forsythe I., Tang P., Shrivastava S., Jeroncic K., Stothard P., Amegbey G., Block D., Hau D.D., Wagner J., Miniaci J., Clements M., Gebremedhin M., Guo N., Zhang Y., Duggan G.E., Macinnis G.D., Weljie A.M., Dowlatabadi R., Bamforth F., Clive D., Greiner R., Li L., Marrie T., Sykes B.D., Vogel H.J., Querengesser L. HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Res*. 2007; 35 (Database:D521-D526).
12. Olanas M.C., Dedoni S., Onali P. Protection from interferon-beta-induced neuronal apoptosis through stimulation of muscarinic acetylcholine receptors coupled to ERK1/2 activation. *Br J Pharmacol*. 2016; 173 (19): 2910–2928 doi.
13. Lin N.H., Gunn D.E., Ryther K.B., Garvey D.S., Donnelly-Roberts D.L., Decker M.W., Brioni J.D., Buckley M.J., Rodrigues A.D., Marsh K.G., Anderson D.J., Buccafusco J.J., Prendergast M.A., Sullivan J.P., Williams M., Arneric S.P., Holladay M.W. Structure-activity studies on 2-methyl-3-(2(S)-pyrrolidinylmethoxy) pyridine (ABT-089): an orally bioavailable 3-pyridyl ether nicotinic acetylcholine receptor ligand with cognition-enhancing properties. *J Med Chem*. 1997; 40 (3): 385–390.
14. Nakamura M., Jang I.S. Muscarinic M4 receptors regulate GABAergic transmission in rat tuberomammillary nucleus neurons. *Neuropharmacology*. 2012; 63 (6): 936–44 doi.
15. Vandevrede L., Tavassoli E., Luo J., Qin Z., Yue L., Pepperberg D.R., Thatcher G.R. Novel analogues of chlormethiazole are neuroprotective in four cellular models of neurodegeneration by a mechanism with variable dependence on GABA(A) receptor potentiation. *Br J Pharmacol*. 2014; 171 (2): 389–402 doi.
16. Avolio E., Mahata S.K., Mantuano E., Mele M., Alo R., Facciolo R.M., Talani G., Canonaco M. Antihypertensive and neuroprotective effects of catestatin in spontaneously hypertensive rats: interaction with GABAergic transmission in amygdala and brainstem. *Neuroscience*. 2014; 270: 48–57 doi.
17. Young W. Spinal cord regeneration. *Cell Transplant*. 2014; 23 (4–5): 573–611 doi.
18. Gaikwad A.B., Viswanad B., Ramarao P. PPAR gamma agonists partially restores hyperglycemia induced aggravation of vascular dysfunction to angiotensin II in thoracic aorta isolated from rats with insulin resistance. *Pharmacol Res*. 2007; 55 (5): 400–7 Epub 2007 Feb.
19. Braga R.C., Alves V.M., Silva M.F., Muratov E., Fourches D., Tropsha A., Andrade C.H. Tuning HERG out: antitarget QSAR models for drug development. *Curr Top Med Chem*. 2014; 14 (11): 1399–1415.
20. Sanguinetti M.C., Tristani-Firouzi M. hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. *Nature*. 2006; 440 (7083): 463–469.
21. Palee S., Apaijai N., Shinlapawittayatorn K., Chattipakorn S.C., Chattipakorn N. Acetylcholine Attenuates Hydrogen Peroxide-Induced Intracellular Calcium Dyshomeostasis Through Both Muscarinic and Nicotinic Receptors in Cardiomyocytes. *Cell Physiol Biochem*. 2016; 39 (1): 341–9 doi.

22. Dorszewska J., Florczak J., Rozycka A., Jaroszevska-Kolecka J., Trzeciak W.H., Kozubski W. Polymorphisms of the CHRNA4 gene encoding the alpha4 subunit of nicotinic acetylcholine receptor as related to the oxidative DNA damage and the level of apoptotic proteins in lymphocytes of the patients with Alzheimer's disease. *DNA Cell Biol.* 2005; 24 (12): 786–794.
23. Li Y., King M.A., Meyer E.M. alpha7 nicotinic receptor-mediated protection against ethanol-induced oxidative stress and cytotoxicity in PC12 cells. *Brain Res.* 2000; 861 (1): 165–167.
24. Stegemann A., Bohm M. The alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist tropisetron counteracts UVA-mediated oxidative stress in human dermal fibroblasts. *Exp Dermatol.* 2016; *Exp Dermatol*: 101111/exd13220.
25. Shan K.R., Qi X.L., Long Y.G., Nordberg A., Guan Z.Z. Decreased nicotinic receptors in PC12 cells and rat brains influenced by fluoride toxicity—a mechanism relating to a damage at the level in post-transcription of the receptor genes. *Toxicology.* 2004; 200 (2–3): 169–177.
26. Han Z., Shen F., He Y., Degos V., Camus M., Maze M., Young W.L., Su H. Activation of alpha-7 nicotinic acetylcholine receptor reduces ischemic stroke injury through reduction of pro-inflammatory macrophages and oxidative stress. *PLoS One.* 2014; 9 (8): e105711 doi.
27. Navarro E., Buendia I., Parada E., Leon R., Jansen-Duerr P., Pircher H., Egea J., Lopez M.G. Alpha7 nicotinic receptor activation protects against oxidative stress via heme-oxygenase I induction. *Biochem Pharmacol.* 2015; 97 (4): 473–81 doi.
28. Gao Z., Zhang H., Liu J., Lau C.W., Liu P., Chen Z.Y., Lee H.K., Tipoe G.L., Ho H.M., Yao X., Huang Y. Cyclooxygenase-2-dependent oxidative stress mediates palmitate-induced impairment of endothelium-dependent relaxations in mouse arteries. *Biochem Pharmacol.* 2014; 91 (4): 474–82 doi.
29. Nishizaki T., Matsuoka T., Nomura T., Sumikawa K. Modulation of ACh receptor currents by arachidonic acid. *Brain Res Mol Brain Res.* 1998; 57 (1): 173–179.