

Сравнительный хемореактомный анализ мексидола

И.Ю. ТОРШИН¹, О.А. ГРОМОВА^{2*}, И.С. САРДАРЯН³, Л.Э. ФЕДОТОВА³

¹ФГБОУ ВО «Московский физико-технический институт», Долгопрудный, Россия; ²ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, Иваново, Россия; ³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Цель исследования. Сравнительный хемореактомный анализ молекулы мексидола (этилметилгидроксипиридина сукцинат) с контрольными молекулами (холина альфосцерат, пирацетам, глицин, семакс). **Материал и методы.** Проведены сравнения химической структуры мексидола с молекулами в базе данных метаболома человека и молекулами в базах данных лекарственных средств. В качестве модели метаболома человека использованы более 40 000 соединений, приведенных в базе HMDB (Human Metabolome Database). **Результаты и заключение.** Хемореактомный анализ показал, что мексидол может являться агонистом ацетилхолиновых и ГАМК-А рецепторов; противовоспалительным агентом, эффекты которого происходят за счет ингибирования синтеза провоспалительных простагландинов; нейропротективным агентом с нейротрофическими свойствами; ингибитором коагуляции; сахароснижающим и гиполлипидемическим 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 на молекулярном уровне уточнить механизм действия молекулы мексидола.

Ключевые слова: мексидол, нейропротекция, этилметилгидроксипиридина сукцинат, хемореактомный анализ, хемоинформатика.

Comparative chemoreactome analysis of mexidol

I.YU. TORSHIN, O.A. GROMOVA, I.S. SARDARYAN, L.E. FEDOTOVA

Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Russia; Ivanovo State Medical Academy of the RF Ministry of Health, Ivanovo, Russia

Objective. To compare mexidol with control molecules (choline alfoscerate, piracetam, glycine, semax) using chemoreactome analysis. **Material and methods.** The chemical structure of mexidol was compared to molecule metabolites extracted from the Human Metabolome Database (HMDB) and a drug database. More than 40 000 of metabolites from HMDB were used as a model of human metabolome. **Results and conclusion.** The 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. Compared to «control» molecules, mexidol has 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, MAO and P450 cytochromes). The results of modeling allow to specify the mechanisms of action of mexidol at the molecular level.

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

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

Phe-Pro-Gly-Pro) и другие лекарственные средства с ноотропной активностью (код АТХ N06B)¹.

Молекула этилметилгидроксипиридина сукцината является действующим началом оригинального (референтного) препарата мексидол. Оригинальный препарат мексидол выпускается в виде раствора для внутривенного и внутримышечного введения.

¹Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП) на 2017 год. Распоряжение Правительства РФ №2885-р от 28 декабря 2016 г.

ний; таблеток, покрытых пленочной оболочкой. Он оказывает положительное влияние на состояние пациентов с ишемией головного мозга за счет повышения синтеза АТФ, антиоксидантного, антигипоксического, ноотропного, антитромботического, противоэпилептического действия и др. [1].

Для более полного понимания условий, при которых клиническая эффективность мексидола максимальна, следует обладать более полной информацией о механизмах действия данной молекулы. Обычно считается, что основными механизмами действия мексидола являются антиоксидантный эффект и активация синтеза АТФ.

Кроме того, мексидол модулирует активность сигнальных ферментов аденилатциклазы, рецепторов бензодиазепинов, ГАМК, ацетилхолина, улучшает микроциркуляцию и реологические свойства крови, уменьшает агрегацию тромбоцитов [1–3]. Молекулярные механизмы перечисленных выше эффектов мексидола недостаточно исследованы.

Новейшим направлением постгеномной фармакологии является хемореактомное моделирование, которое заключается в анализе структур молекул с целью прогнозирования их свойств на основании химической структуры [4]. Хемореактомный анализ проводится в рамках постгеномного анализа биологических систем (т.е. анализа, основанного на использовании информации о геноме человека [5]).

С использованием разработанных и опубликованных ранее методик хемореактомный анализ позволяет осуществлять прогнозирование взаимодействия молекулы со всеми известными белками, закодированными в геноме человека. В рамках постгеномной науки принимается, что молекула любого лекарственного средства «мимикрирует» под определенные метаболиты (вследствие наличия каких-либо 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, позволяет сделать обоснованные выводы о ее потенциальных эффектах.

В настоящей работе проведено моделирование свойств мексидола в сравнении с контрольными молекулами с известным нейропротективным и/или ноотропным действием (холина альфосцерат, пирacetам, глицин, семакс).

Материал и методы

Анализ фармакологических возможностей мексидола и молекул сравнения проведен на основе хемоинформационного подхода, т.е. сравнения химической структуры исследуемых молекул со структу-

рами десятков тысяч других молекул, у которых молекулярно-фармакологические свойства известны.

Для проведения хемоинформационного анализа был разработан новый математический метод, основанный на алгебраическом подходе к машинному обучению [6–8]. Разработанная математическая теория позволяет вычислять «химическое расстояние» d_x , отражающее степень сходства между двумя произвольными молекулами. Данный показатель описывает, насколько сходна по структуре (и, следовательно, по фармакологическим свойствам) молекула мексидола с теми или иными молекулами лекарственных средств, эндогенных молекул организма человека, в том числе молекул-агонистов различных рецепторов нейротрансмиттеров и др. Как показано ниже, расстояния d_x принципиально необходимы для вычисления оценок фармакологической активности мексидола.

Хемореактомный метод осуществляется следующим образом. На первом этапе хемоинформационного анализа на основании данных о химических структурах молекул вычисляются химические расстояния d_x между исследуемой молекулой (мексидол) и всеми молекулами в базе данных PubChem. Выбираются молекулы с минимальным расстоянием и, таким образом, устанавливается список наиболее сходных с мексидолом молекул. На втором этапе для каждой молекулы из списка сходных с мексидолом молекул из базы данных PubChem извлекаются все имеющиеся данные экспериментального измерения различных фармакологических свойств этой молекулы, затем проводятся усреднение и другие виды математической обработки данных. В результате получают числовые оценки констант различной фармакологической активности мексидола. На основании этих оценок, полученных для мексидола и для рассматриваемых молекул сравнения, появляется возможность оценить особенности клинического применения исследуемых молекул. Отметим, что предлагаемые методики были валидизированы на больших выборках молекул (десятки тысяч молекул с известными свойствами), что позволяет предполагать высокое качество прогнозирования фармакологических свойств молекул [8].

С использованием метода хемоинформационного анализа проведено сравнение 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, приведенных в базе данных HMDB (Human Metabolome Database, — база данных метаболома человека) [9]. Данные соединения включают большинство соединений, измеряемых в плазме крови человека, и ряд лекарственных средств и их метаболитов.

Таблица 1. Соединения, полученные в результате хемоинформационного поиска, структурно сходные с мексидолом и характеризующиеся известной фармакологической активностью

d _x	Формула	Фармакологическая роль
0.00	Сукцинат этилметилгидроксипиридина	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	Деоксиноджиримицин	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	Норспитропин	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. Более низкие значения d_x соответствуют большей близости молекулы вещества к мексидолу.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены наиболее интересные результаты анализа сходства мексидола с фармакологически активными веществами.

Таким образом, почти все сходные с мексидолом молекулы были найдены в растительных экстрактах. Многие из них обладают известным гипогликемическим и антидиабетическим эффектами (в частности, за счет ингибирования альфа-глюкозидаз, что способствует снижению уровня глюкозы в крови). Кроме того, сходные с мексидолом молекулы природного происхождения характеризуются и другими свойствами — вазодилаторными, антибактериальными, взаимодействием с ацетилхолиновыми рецепторами, поддержкой микробиоты и др.

Хемореактомное 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 нейропротективный эффект [10].

Активация мексидолом никотиновых рецепторов ацетилхолина типа $\alpha 4\beta 2$ нормализует процессы пресинаптического и постсинаптического возбуждения холинергических синапсов, что также способствует нейропротекции (в частности, улучшает внимание) [11]. Ингибирование М4 мускариновых

рецепторов молекулой мексидола способствует ГАМКергической трансмиссии [12], что усиливает воздействие мексидола на ГАМК-рецепторы.

Хемореактомный анализ показал, что мексидол может являться лучшим агонистом ГАМК-рецепторов, 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 нейропротективный эффект в моделях поражения нейронов бета-амилоидом и в моделях спонтанной гипертензии [13]. Повышение выживания нейронов при активации ГАМК-рецепторов осуществляется, в частности, за счет активации молекулярных каскадов выживания нейронов Akt (PKA) и ERK1/2 [14].

Хемореактомный анализ показал, что молекула мексидола вмешивается в модуляцию серотонинергической и дофаминергической 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). Меньшая по сравнению с контрольными молекулами степень взаимодействия мексидола с серотониновыми и дофаминовыми рецепторами означает, что мексидол не будет способствовать резким колебаниям настроения у пациентов с депрессивными и тревожными расстройствами.

Таблица 2. Хемореактомные оценки взаимодействий мексидола и молекул сравнения с различными рецепторами нейротрансмиттеров

Обозначение параметра биологической активности (константы) в соответствии с международной номенклатурой	Ошибка (погрешность) значения параметра	Единицы измерения параметра	Активность	Мексидол	Холина альфосцерат	Пирацетам	Глицин	Семакс
Ki	191	нМ	Сродство к серотонинергическому рецептору 5HT1A мозга крыс	1498	145	144	32	151
IC50	99	нМ	Сродство к серотонинергическому рецептору 5HT1B, вытеснение [3H]5-HT	1919	72	333	Нет эффекта	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	1133	467	424	167	396
K	396	нМ	Сродство к D1 рецептору дофамина стриатума крыс, [3H]фенолдопам	3687	1223	1296	1199	1303
Ki	102	нМ	Сродство к рецептору дофамина D2 человека, [3H] спиперон	997	72	149	Нет эффекта	69
IC50	8	нМ	Сродство к бензодиазепиновому рецептору В крыс, [3H] диазепам	711	Нет эффекта	Нет эффекта	Нет эффекта	Нет эффекта
—	33	%	% повышения пикового тока ГАМКергических рецепторов при добавлении 1 мкМ ГАМК + 1 мкМ соединения по сравнению с 1 мкМ ГАМК	305	136	104	Нет эффекта	108
—	21	%	Процент модуляции субмаксимального ответа (EC20) на ГАМК-рецепторов ГАМКА альфа-2-бета-3-гамма-2 человека	68	30	20	14	18
Ki	998	нМ	Сродство к мускариновым рецепторам M2 крыс, [3H] QNB	421	11798	Нет эффекта	Нет эффекта	Нет эффекта
Ki	389	нМ	Сродство к M4 мускариновым рецепторам ацетилхолина, [3H]оксотреморин	1315	Нет эффекта	Нет эффекта	Нет эффекта	Нет эффекта
—	36	%	% секреции дофамина при активации α -никотиновых рецепторов ацетилхолина в стриатуме крыс	70	100	Нет эффекта	Нет эффекта	Нет эффекта

Результаты хемореактомного моделирования неврологических эффектов мексидола соответствуют обсуждаемым ранее нейропротективным эффектам молекулы, ассоциированным с активацией ацетилхолиновых и ГАМК-рецепторов. В частности, хемореактомное моделирование указало на возможную противосудорожную активность молекулы мексидола (табл. 3). Например, ингибирование фенилхинониндуцированных судорог у мышей может осуществляться на 93% в случае использования мексидола, на 36% — пирацетама и только на 11% — семакса. Кроме того, молекула мексидола может ингибировать образование и агрегацию бета-амилоида, а также избыточную активность сигнального фермента GSK3 β , что стимулирует рост нейритов и регенерацию нервной ткани [15] (см. табл. 3).

При ишемических процессах в мозге происходит интенсивный распад фосфолипидов нейрональ-

ных 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 счет ингибирования синтеза провоспалительных простагландинов посредством частичного ингибирования ферментов ЦОГ-2 и 5-липоксигеназы (табл. 4). Частичное ингибирование 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 па-

Таблица 3. Хемореактомные оценки экспериментальных неврологических эффектов мексидола и молекул сравнения

Обозначение параметра биологической активности (константы) в соответствии с международной номенклатурой	Ошибка (погрешность) значения параметра	Единицы измерения параметра	Активность	Мексидол	Холина альфосцерат	Пирацетам	Глицин	Семакс
—	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
—	21	%	Ингибирование фенолхинон-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 GSK3β	75	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	1	%	Нейропротективное 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. Здесь и в табл. 4–6: НЭ — нет эффекта.

тологии. Хемореактомное моделирование выявило более выраженные антикоагулянтные и антиагрегантные свойства молекулы мексидола по сравнению с контрольными молекулами (табл. 5). Например, расчеты показали, что ингибирование коллагениндуцированной агрегации тромбоцитов мексидолом осуществляется при гораздо более низких концентрациях вещества (IC₅₀=462 нМ), чем в случае семакса (IC₅₀=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. Общеизвестно, что наличие у пациентов глюкозотолерантности существенно утяжеляет течение цереброваскулярной патологии и ухудшает прогноз состояния пациента. 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 мексидол может ускорять процесс переработки глюкозы клетками за счет активации

фермента глюкокиназы и рецептора PPAR-гамма. Взаимодействие мексидола с этими белками 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 альфосцерата и всего 3% для семакса.

Следует отметить, 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 снижения уровня глюкозы в крови.

PPAR-рецепторы способствуют увеличению в клетке числа пероксисом — обязательных клеточных органелл, содержащих окислительно-восстановительные ферменты (уратоксидаза, каталаза, 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.

Таблица 4. Хемореактомные оценки противовоспалительных эффектов мексидола и молекул сравнения

Обозначение параметра биологической активности (константы) в соответствии с международной номенклатурой	Ошибка (погрешность) значения параметра	Единицы измерения параметра	Активность	Мексидол	Холина альфосцерат	Пирацетам	Глицин	Семакс
IC50	816	нМ	Ингибирование ЦОГ-2, арахидоновая кислота	1029	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, анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ анализ)	65	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
—	54	%	Ингибирование синтеза простагландинов в каррагинаниндуцированной 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 при 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

Наряду с митохондриями, пероксисомы являются главными потребителями кислорода в клетке.

Наличие в пероксисомах большого количества фермента метаболизма жирных кислот (гидроксиметилглутарил лиаза, пероксисомальный многофункциональный фермент HSD17B4, пероксисомальный 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, пероксисо-

мальной ацил-соА оксидазы ACOX1), что активирует процессы бета-окисления жирных кислот. Поэтому агонисты PPAR-рецепторов (росиглитазон) используются при гипергликемии и гиперлипидемии [16]. Мексидол может быть частичным агонистом рецептора PPARγ и, таким образом, проявлять гипогликемическое и антидиабетическое действие.

Результаты моделирования фармакодинамических свойств молекулы мексидола (прежде всего по степени связывания с различными нежелательными таргетными белками) представлены в **табл. 6**. Моделирование показало, что мексидол существенно слабее, чем контрольные молекулы, взаимодейству-

Таблица 5. Хемореактомные оценки гемодинамических эффектов мексидола и молекул сравнения

Обозначение параметра биологической активности (константы) в соответствии с международной номенклатурой	Ошибка (погрешность) значения параметра	Единицы измерения параметра	Активность	Мексидол	Холина альфосцерат	Пирацетам	Глицин	Семакс
Ki	498	нМ	Ингибирование тромбина	561	НЭ	НЭ	НЭ	НЭ
IC50	462	нМ	Ингибирование агрегации тромбоцитов плазмы крови человека	262	НЭ	НЭ	НЭ	4295
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
EC50	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
IC50	36	нМ	Вытеснение агониста рецептора PPAR γ	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

ет с белками, ассоциированными с развитием нежелательных побочных эффектов.

Например, калиевый канал KCNH2 является важным антиаргетным белком, взаимодействий с которым следует избегать при разработке лекарственных средств [17], так как нарушения активности KCNH2 приводят к формированию смертельно опасного «синдрома длинного QT», повышающего риск внезапной остановки сердца вследствие спонтанно развивающейся аритмии [4, 18]. В результате хемореактомного моделирования было установлено, что по сравнению с контрольными молекулами молекула мексидола характеризовалась самым низким сродством к калиевому каналу KCNH2: значение константы ингибирования для мексидола составило $K_i=4443$ нМ, для остальных молекул $K_i<3058$ нМ (т.е. для ингибирования канала KCNH2

мексидолом необходима более высокая концентрация мексидола, чем молекул сравнения).

Таким образом, хемореактомное моделирование молекулы указало на различную фармакологическую активность мексидола: активация мускариновых и никотиновых рецепторов ацетилхолина, активация ГАМК-А рецепторов, ингибирование ЦОГ-2 и 5-липоксигеназы, ингибирование биосинтеза простагландина E2, ингибирование ФНО- α активированного фактора транскрипции NF-kB, активация рецептора PPAR α и др.

Каждой активности соответствуют определенные гены из генома человека. В ходе проведенного анализа был получен список из 54 генов, задействованных в реализации фармакологических эффектов мексидола. Анализ этих генов с использованием биологической роли белка по международной но-

Таблица 6. Хемореактомные оценки фармакокинетических и фармакодинамических свойств мексидола и молекул сравнения

Обозначение параметра биологической активности (константы) в соответствии с международной номенклатурой	Ошибка (погрешность) значения параметра	Единицы измерения параметра	Активность	Мексидол	Холина альфосцерат	Пирацетам	Глицин	Семакс
—	17	%	% всасывания в ЖКТ	89	13	35	9	27
F	17	%	Биодоступность	68	53	27	17	31
IC50	934	нМ	Ингибирование CYP2D6 человека	3923	1125	3383	1170	1261
Ki	644	нМ	Ингибирование KCHN1 человека	4443	339	3058	102	1911
Ki	945	нМ	Ингибирование MAO-A крыс	2017	НЭ	248	НЭ	НЭ
—	18	%	Гепатопротективное действие на гепатоцитах (ингибирование D-галактозамин-индуцированной цитотоксичности)	26	12	НЭ	13	НЭ

менклатуре Gene Ontology (GO) указал на основные биологические роли мексидола:

- нейробиологические роли (синаптическая передача сигнала, визуальное восприятие, циркадианный ритм, регулирование цикла сон—бодрствование, 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 постэмбриональное развитие (постэмбриональное развитие, рост многоклеточного организма, развитие мозга, развитие неба);

- 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 κ B/NF κ B, ответ на глюкокортикоиды);

- синергизм с другими микронутриентами (связывание ионов железа, кальция, цинка).

Анализ генов, вовлеченных в осуществление эффектов мексидола, позволяет установить молекулярные механизмы реализации самых разных фармакологических действий. Например, антиоксидантное действие мексидола считается одним из основных этого препарата. Отмечается, что развитие

антиоксидантного эффекта прежде всего связано с повышением активности супероксиддисмутаз и ингибированием перекисного окисления липидов.

Заметим, что эффективность мексидола как антиоксиданта вряд ли обусловлена прямым взаимодействием молекулы мексидола с активными формами кислорода (АФК), скорее, с некоторыми специфическими взаимодействиями с определенными 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, которым в свою очередь соответствуют белки, перечисленные ниже: CHRNA4 ацетилхолиновый рецептор альфа-4; CHRNA7 ацетилхолиновый рецептор альфа-7; PTGS2 простагландин синтетаза 2 (циклооксигеназа-2, ЦОГ-2); NFKB1 ядерный фактор транскрипции NF- κ -B; ALOX5 арахидонат 5-липоксигеназа.

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 повреждение клеток, вызываемое перекисью водорода [19]. Активация α 4 [20] и α 7 [21, 22] рецепторов ацетилхолина противодействует окислительным повреждениям ДНК [23]. Активация α 7 рецепторов к ацетилхолину способствует снижению активности провоспалительного и прооксидантного транскрипционного фактора NF- κ B [24], повышению экспрессии антиоксидантных генов *SOD1* (супероксиддисмутазы), *GPX1* (глутатион пероксидазы 1) [24] и *HMOX1* (гем оксигеназы 1) [25].

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 еще больше повышает экспрессию гена *PTGS2* при участии транскрипционного фактора NF- κ B [26]. Мексидол в соответствии с результатами хеморектомного анализа будет ингибировать и фермент ЦОГ-2, и активность транскрипционного фактора NF- κ B, тем самым осуществляя антиоксидантный эффект. Ингибирование ЦОГ-2 также способствует повышению активности ацетилхолиновых рецепторов [27].

Таким образом, результаты хеморектомного анализа показали, что главными мишенями фармакологического действия молекулы мексидола являются ацетилхолиновые рецепторы, ГАМК-А-рецепторы, ферменты ЦОГ-2, 5-ЛОГ и PPAR-рецептор. Молекула мексидола является агонистом ацетилхолиновых рецепторов в большей степени, чем молекулы сравнения (холина альфосцерат, пи-

рацетам, глицин, семакс). Активация холинергической нейротрансмиссии вносит существенный вклад в нейропротекцию при ишемии и когнитивных расстройствах. Кроме того, активация ионотропных ацетилхолиновых рецепторов типов $\alpha 4$ и $\alpha 7$ способствует реализации антиоксидантного эффекта. Молекула мексидола также является активатором ГАМК рецепторов, что важно как для нейропротекции, так и для реализации противосудорожного действия. Мексидол в большей степени, чем молекулы сравнения, проявляет противоспалительные свойства за счет частичного ингибирования ферментов ЦОГ-2 и 5-ЛОГ. 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 слабым влиянием на серотониновые и опиоидные рецепторы).

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронина Т.А. Мексидол: спектр фармакологических эффектов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012;112(12):86-90.
2. Шулькин А.В. Влияние мексидола на развитие феномена эксайтотоксичности нейронов *in vitro*. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012;112(2):35-39.
3. Шулькин А.В., Якушева Е.Н., Черных И.В. Распределение мексидола в структурах головного мозга, его клеточных элементах и субклеточных фракциях. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012;114(8):69-72.
4. Торшин И.Ю., Громова О.А. *Экспертный анализ данных в молекулярной фармакологии*. М.: Изд. МЦНМО; 2012.
5. Torshin IY. Bioinformatics in the post-genomic era: physiology and medicine. *Nova Biomedical Books*. NY, USA. 2007.
6. Журавлев 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. Torshin IY, Rudakov KV. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs: Part 2. local completeness of invariants of chemographs in view of the combinatorial theory of solvability. *Pattern Recognition and Image Analysis*. 2014;24:2:196-208.
9. Wishart DS, Tzur D, Knox C, Eisner R, Guo AC, Young N, Cheng D, Jewell K, Arndt D, Sawhney S, Fung C, Nikolai L, Lewis M, Coutouly MA, Forsythe I, Tang P, Shrivastava S, Jeroncic K, Stothard P, Amegbey G, Block D, Hau DD, Wagner J, Miniaci J, Clements M, Gebremedhin M, Guo N, Zhang Y, Duggan GE, Macinnis GD, Weljie AM, Dowlatabadi R, Bamforth F, Clive D, Greiner R, Li L, Marrie T, Sykes BD, Vogel HJ, Qi R, Wishart M, Knorr D, Liu S, Wishart M. HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Res*. 2007;35:521-526.
10. Olanas MC, 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.
11. Lin NH, Gunn DE, Ryther KB, Garvey DS, Donnelly-Roberts DL, Decker MW, Brioni JD, Buckley MJ, Rodrigues AD, Marsh KG, Anderson DJ, Buccafusco JJ, Prendergast MA, Sullivan JP, Williams M, Arneric SP, Holladay MW. 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.
12. Nakamura M, Jang IS. Muscarinic M4 receptors regulate GABAergic transmission in rat tuberomammillary nucleus neurons. *Neuropharmacology*. 2012;63(6):936-44.
13. Vandevrede L, Tavassoli E, Luo J, Qin Z, Yue L, Pepperberg DR, Thatcher GR. 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.
14. Avolio E, Mahata SK, Mantuano E, Mele M, Alo R, Facciolo RM, 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.
15. Young W. Spinal cord regeneration. *Cell Transplant*. 2014;23(4-5):573-611.
16. Gaikwad AB, 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):400-407.
17. Braga RC, Alves VM, Silva MF, Muratov E, Fourches D, Tropsha A, Andrade CH. Tuning HERG out: antitarget QSAR models for drug development. *Curr Top Med Chem*. 2014;14(11):1399-1415.
18. Sanguinetti MC, Tristani-Firouzi M. hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. *Nature*. 2006;440(7083):463-469.
19. Palee S, Apaijai N, Shinlapawittayatorn K, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Acetylcholine Attenuates Hydrogen Peroxide-Induced Intracellular Calcium Dyshomeostasis Through Both Muscarinic and Nicotinic Receptors in Cardiomyocytes. *Cell Physiol Biochem*. 2016;39(1):341-349.
20. Dorszewska J, Florczak J, Rozycka A, Jaroszewska-Kolecka J, Trzeciak WH, 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.

21. Li Y, King MA, Meyer EM. alpha7 nicotinic receptor-mediated protection against ethanol-induced oxidative stress and cytotoxicity in PC12 cells. *Brain Res.* 2000;861(1):165-167.
22. Stegemann A, Bohm M. The alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist tropisetron counteracts UVA-mediated oxidative stress in human dermal fibroblasts. *Exp Dermatol.* 2016; Exp Dermat: 101111/exd13220.
23. Shan KR, Qi XL, Long YG, Nordberg A, Guan ZZ. 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.
24. Han Z, Shen F, He Y, Degos V, Camus M, Maze M, Young WL, 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):105711.
25. Navarro E, Buendia I, Parada E, Leon R, Jansen-Duerr P, Pircher H, Egea J, Lopez MG. Alpha7 nicotinic receptor activation protects against oxidative stress via heme-oxygenase I induction. *Biochem Pharmacol.* 2015;97(4):473-481.
26. Gao Z, Zhang H, Liu J, Lau CW, Liu P, Chen ZY, Lee HK, Tipoe GL, Ho HM, 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):474-482.
27. 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.