

Торшин И.Ю.^{1,2}, Громова О.А.^{1,2}, Стаховская Л.В.³, Семёнов В.А.^{1,4}

¹Институт фармакоинформатики ФИЦ «Информатика и управление», РАН, Москва, Россия; ²Центр технологий хранения и анализа больших данных ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия; ³НИИ цереброваскулярной патологии и инсульта при ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия; ⁴ФГБОУ «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Кемерово, Россия

¹119333, Москва, ул. Вавилова, 40; ²119234, Москва, Ленинские горы, 1; ³117997, Москва, ул. Островитянова, 1; ⁴650056, Кемерово, ул. Ворошилова, 22а

Хемореактомный анализ молекул толперизона, тизанидина и баклофена: холинолитические, спазмолитические и анальгетические механизмы действия

Миорелаксанты используются в терапии скелетно-мышечной боли. Точные молекулярные механизмы действия миорелаксантов не всегда ясны. Одни миорелаксанты проявляют преимущественно антихолинергическое действие, другие – ГАМКергическое, они различаются по накоплению в мышцах, ЦНС и в других тканях.

Цель исследования – сравнительный хемореактомный анализ толперизона с тизанидином и баклофеном, который позволяет уточнить фармакологическое действие каждой из молекул.

Материал и методы. Использован хемоинформационный подход, т. е. сравнение химической структуры исследуемых молекул со структурами миллионов других молекул, для которых молекулярно-фармакологические свойства известны. Анализ основан на новейших технологиях машинного обучения, разрабатываемых в рамках теории комбинаторного анализа разрешимости, теории топологического и метрического подходов к анализу признаков описаний так называемых больших данных.

Результаты и обсуждение. Толперизон с наибольшей вероятностью накапливался в скелетных мышцах, коре надпочечников и гипоталамусе. Толперизон вызывает миорелаксантный эффект посредством холинолитического действия, практически не влияя на адренергическую, дофаминергическую, ГАМКергическую нейротрансмиссию. Установлено дозозависимое антиспастическое и анальгетическое действие каждой из исследованных молекул. Показана возможность существования у толперизона антитромботических и противовоспалительных эффектов, обусловленных ингибированием эффектов фактора некроза опухолей α , модуляцией метаболизма простагландинов и лейкотриенов.

Выводы. Выявлены значимые различия в механизмах молекулярного действия толперизона, тизанидина и баклофена, что приводит к различиям во времени наступления и продолжительности миорелаксантного эффекта, в действии на нейроны ЦНС или нейроны периферической нервной системы, а также в дополнительных плейотропных эффектах и нежелательных реакциях.

Ключевые слова: миорелаксанты; толперизон; тизанидин; баклофен; топологический подход к распознаванию.

Контакты: Ольга Алексеевна Громова; unesco.gromova@gmail.com

Для ссылки: Торшин ИЮ, Громова ОА, Стаховская ЛВ, Семёнов ВА. Хемореактомный анализ молекул толперизона, тизанидина и баклофена: холинолитические, спазмолитические и анальгетические механизмы действия. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2018;10(4):72–80.

Chemoreactome analysis of tolperisone, tizanidine, and baclofen molecules: anticholinergic, antispasmodic, and analgesic mechanisms of action

Torshin I.Yu.^{1,2}, Gromova O.A.^{1,2}, Stakhovskaya L.V.³, Semenov V.A.^{1,4}

¹Institute of Pharmacoinformatics, Federal Research Center «Informatics and Control», Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia; ²Center for Big Data Storage and Analysis Technologies, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; ³Research Institute of Cerebrovascular Disease and Stroke, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; ⁴Kemerovo State Medical University, Ministry of Health of Russia, Kemerovo, Russia

¹40, Vavilov St., Moscow 119333; ²1, Leninskie Gory, Moscow 119234; ³1, Ostrovityanov St., Moscow 117997; ⁴22a, Voroshilov St., Kemerovo 650056

Muscle relaxants are used in the treatment of musculoskeletal pain. The exact molecular mechanisms of action of muscle relaxants are not always clear. Some muscle relaxants show mainly an anticholinergic effect, others have GABAergic one; they differ in accumulation in muscles, central nervous system, and other tissues.

Objective: to carry out a comparative chemoreactome analysis of tolperisone with tizanidine and baclofen, allowing the pharmacological action of each of the molecules to be specified.

Material and methods. The investigators applied a chemoinformational approach, i.e. compared the chemical structure of the studied molecules with the structures of millions of other molecules, for which the molecular and pharmacological properties are known. The analysis is based on the latest machine learning technologies developed within the framework of the theory of combinatorial solvability analysis, the theory of topological and metric approaches to analyzing the features of the so-called big data.

Results and discussion. Tolperisone was most likely to accumulate in the skeletal muscles, adrenal cortex, and hypothalamus. The drug caused a muscle relaxant effect through cholinergic action, practically without affecting adrenergic, dopaminergic, GABAergic neurotransmission. Each of the studied molecules was established to exert dose-dependent antispasmodic and analgesic effects. Tolperisone was shown to have antithrombotic and anti-inflammatory effects due to inhibition of the activity of tumor necrosis factor- α and to modulation of the metabolism of prostaglandins and leukotrienes.

Conclusion. Significant differences were found in the mechanisms of molecular action of tolperisone, tizanidine, and baclofen, which was responsible for differences in the time of onset and duration of action of a muscle relaxant, in the action on CNS or peripheral nervous system neurons, as well as in additional pleiotropic effects and adverse reactions.

Keywords: muscle relaxants; tolperisone; tizanidine; baclofen; topological approach to recognition.

Contact: Olga Alekseevna Gromova; unesco.gromova@gmail.com

For reference: Torshin IYu, Gromova OA, Stakhovskaya LV, Semenov VA. Chemoreactome analysis of tolperisone, tizanidine, and baclofen molecules: anticholinergic, antispasmodic, and analgesic mechanisms of action. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2018;10(4):72–80.

DOI: 10.14412/2074-2711-2018-4-72-80

Миорелаксанты рекомендуются для ослабления неспецифической скелетно-мышечной боли [1]. Существенные различия в механизмах молекулярного действия миорелаксантов обуславливают различия во времени наступления и продолжительности миорелаксантного эффекта, в действии на нейроны ЦНС или нейроны периферической нервной системы, а также в дополнительных плейотропных эффектах и нежелательных реакциях (НР).

Толперизон¹ — миорелаксант центрального холинолитического действия, ингибирующий никотиновые рецепторы, блокирует спинномозговые рефлексы путем избирательного угнетения каудальной части ретикулярной формации, что способствует уменьшению спастичности и стимулирует вазодилатацию [2]. НР в виде мышечной слабости, головной боли, снижения артериального давления (АД), тошноты, рвоты, абдоминального дискомфорта наблюдаются редко и при уменьшении дозы толперизона обычно проходят. В отдельных случаях отмечаются аллергические реакции (кожный зуд, эритема, крапивница, одышка, бронхоспазм) [3].

Тизанидин — миорелаксант центрального действия, агонист α_2 -адренорецепторов, подавляет полисинаптические спинномозговые рефлексы. Типичные НР включают сонливость, чувство усталости, головокружение, сухость во рту, тошноту, небольшое снижение АД. При более высоких дозах возможны мышечная слабость, бессонница, гипотензия, брадикардия, в некоторых случаях — временное повышение активности трансаминаз в сыворотке крови. Одновременное применение тизанидина, антигипертензивных препаратов и/или диуретиков может вызывать усиленную гипотензию и брадикардию [2].

Баклофен — миорелаксант центрального действия, производное гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), угнетает спинальные и висцеральные рефлексы, что способствует снижению тонуса скелетных мышц. Угнетающее действие препарата, наступающее спустя несколько часов после приема, может быть объяснено высвобождением аккумулярованного чрезмерного потенциала ГАМКергических тормозных систем [4]. Противопоказания: гиперчувствительность, эпилепсия, судороги в анамнезе, психозы, болезнь Паркинсона, хроническая почечная недостаточность. НР баклофена хорошо изучены — это тошнота, рвота, сонливость, астения, сухость во рту, спутанность сознания, нарушение походки, снижение АД.

Таким образом, миорелаксанты могут существенно различаться спектром желательных и нежелательных фармакологических эффектов. В современной фармакологии нет общепринятого и унифицированного способа установления спектра фармакологического действия препаратов, который позволял бы объективно сравнивать разные препа-

раты по комплексному воздействию на организм. Информация о фармакологических эффектах того или иного препарата собирается в отдельных сериях экспериментов, зачастую без адекватного сравнения с другими действующими началами и т. п.

Цель настоящей работы — оценка результатов хемореактомного анализа толперизона по сравнению с контрольными молекулами (tizanidine, baclofen). Исследование проведено с использованием новейшего направления постгеномной фармакологии — хемореактомного моделирования. В рамках постгеномной парадигмы молекула любого лекарственного средства «имитирует» под определенные метаболиты и, связываясь с теми или иными белками протеома, производит соответствующие данному лекарству эффекты [5].

Материал и методы. Анализ фармакологических возможностей толперизона, тизанидина и баклофена был проведен 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, разрабатываемых в рамках теории комбинаторного анализа разрешимости [6, 7], теории топологического [8, 9] и метрического [10, 11] подходов к анализу признаков описаний так называемых больших данных. Хемоинформационный анализ позволяет найти молекулы, схожие с исследуемыми (tizanidine, baclofen) и, соответственно, предположить их физиологические, фармакологические и другие свойства на основе имеющейся информации о свойствах молекул, наиболее близких по структуре.

Для проведения хемоинформационного анализа был разработан новый математический метод, основанный на комбинаторной теории разрешимости [6] в применении к хемографам (χ -графам) — математическим объектам, представляющим собой совокупности множества вершин и множества ребер и используемым для описания структур молекул. С помощью множества χ (множество элементарных χ -инвариантов, т. е. фрагментов химической структуры) и метрики Хэмминга функция расстояния между хемографами определяется как:

$$d_{\chi}(X_1, X_2) = \frac{1}{|\chi|} \sum_{i=1}^{|\chi|} |i_1 - i_2| \beta_i |X_1| \oplus |i_1 - i_2| \beta_i |X_2| \chi_i$$

где $i\chi$ — кортеж-инвариант (список фрагментов структур, применимый к структуре любой молекулы) [12]. Данное выражение, отражающее химическое расстояние между двумя произвольными молекулами, и было применено для решения задачи прогнозирования свойств молекул [13].

¹Калмирек («Фармфирма «Сотекс»).

На первом этапе хемоинформационного анализа с использованием расстояния d_x устанавливается список наиболее близких к толперизону химических структур. Затем формируются базы данных «молекула-свойство», в которые включается информация об ингибировании молекулами таргетных белков протеома человека *in vitro*, об эффектах молекул в различных экспериментальных моделях у мышей и крыс, а также об их воздействии на различные линии клеток в культуре (SH-SY5Y, НерG2).

На втором этапе для каждой молекулы из баз данных извлекаются все имеющиеся результаты экспериментального измерения различных биологических свойств этой молекулы и проводятся оценки биологических активностей с вычислением значений соответствующих констант (константа связывания, константа ингибирования, K_i и др.) [14].

С помощью хемоинформационного анализа были проведены сравнения химической структуры толперизона с молекулами в базе данных метаболома человека (Human Metabolome Database, HMDB) и в базах данных лекарственных средств (ATX и др.). В качестве модели метаболома человека использовано 114 тыс. соединений, зарегистрированных в HMDB [15]. Большинство этих соединений можно определить в плазме крови человека (компоненты пищи, ряд лекарственных средств и их метаболитов).

Результаты. На рис. 1 приведено распределение химических расстояний d_x от молекулы толперизона до схожих молекул в базах данных. Видно, что после точки изгиба кривой число «схожих» с толперизоном молекул резко возрастает. Поэтому наиболее близкие к толперизону по химической структуре молекулы располагаются до точки перегиба, т. е. на расстоянии $d_x < 0,56$.

Оценки распределения исследуемых миорелаксантов в тканях организма

Хемореактомный анализ позволил оценить вероятности накопления анализируемых молекул в различных тканях, т. е. биораспределение анализируемых веществ. Полученные оценки показывают (рис. 2), что толперизон с наибольшей вероятностью накапливается в скелетных мышцах, коре надпочечников, а также в гипоталамусе. Тизанидин предпочтительно накапливается в головном мозге, гладкой мускулатуре сосудов, жировой ткани, кишечнике, почках и семенниках, а баклофен — в коре надпочечников, жировой ткани, головном мозге и скелетных мышцах. Накопление толперизона в мышцах спо-

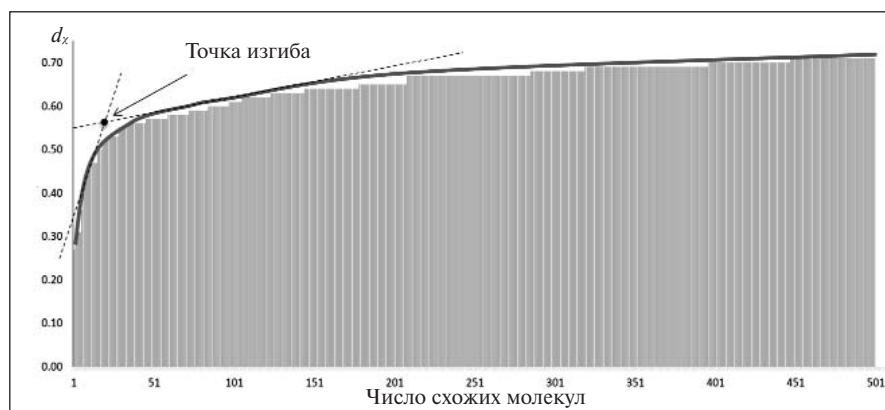


Рис. 1. Распределение химических расстояний (d_x) от молекулы толперизона до схожих с ней молекул в базах данных. Молекулы, соответствующие расстояниям до точки изгиба ($d_x=0,56$), наиболее близки по химической структуре к молекуле толперизона

собствует созданию депо препарата и поддержанию его более стабильной концентрации в крови.

Хемореактомный анализ: специфические виды активности

Хемореактомный анализ толперизона, тизанидина и баклофена позволил оценить 84 023 специфические активности исследуемых молекул. Более половины из них (43 853 активностей) относились к реактому человека, более четверти — к реактомам крыс (11 904) и мышей (6490). Также были оценены эффекты молекул и по отношению ко многим другим модельным организмам (*Bos taurus*, *Cavia porcellus*, *Canis lupus familiaris*), в том числе к микроорганизмам (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Plasmodium falciparum*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* и др.).

В настоящей работе рассмотрены только результаты для реактома человека и основных модельных животных (крыс и мышей). Хемореактомный анализ указал на моле-

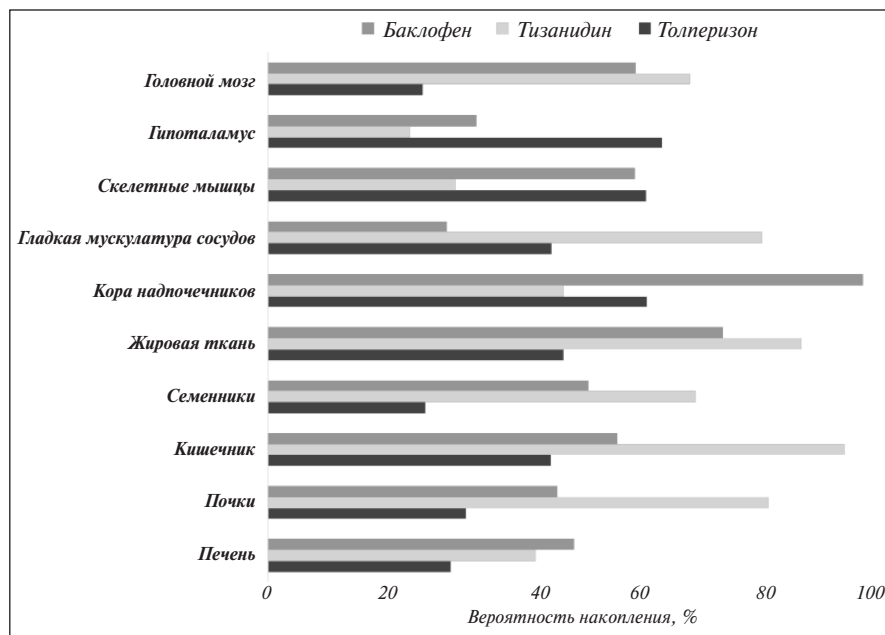


Рис. 2. Оценки вероятностей накопления толперизона и молекул сравнения в различных тканях

Таблица 1. Хемореактомные оценки ингибирования таргетных белков толперизоном, тизанидином и баклофеном

Константа	Единицы	Таргетный белок	ТЛП	ТЗН	БКФ
Ацетилхолиновые эффекты					
IC ₅₀	нМ	Никотиновый рецептор ацетилхолина α7	551,0	729,8	1733,6
Ki	нМ	Никотиновый рецептор ацетилхолина α5/β2	137,9	257,4	876,5
Ki	нМ	Мускариновый ацетилхолиновый рецептор M2	785,1	1051,6	762,6
Ki	нМ	Мускариновый ацетилхолиновый рецептор M3	633,2	921,5	1062,4
IC ₅₀	нМ	Мускариновый ацетилхолиновый рецептор M4	394,3	775,9	551,4
IC ₅₀	нМ	Ацетилхолинэстераза	1146,1	744,7	932,5
—	%	Ацетилхолинэстераза	16,2	35,1	31,8
Адренергические эффекты					
Ki	нМ	A-2a-адренергический рецептор	894,4	206,5	470,3
Ki	нМ	A-2b-адренергический рецептор	598,4	300,6	826,2
Ki	нМ	A-2c-адренергический рецептор	537,6	295,7	377,9
Ki	нМ	β2-адренергический рецептор	929,2	75,3	616,1
Другие нейротрансмиттеры					
Ki	нМ	Дофамин D1-рецептор	500,8	516,1	772,9
—	%	Дофамин D1-рецептор	40,1	53,4	8,7
Ki	нМ	Брадикинин В1-рецептор	165,7	367,7	543,8
Ki	нМ	Брадикинин В2-рецептор	442,0	1146,2	371,6
IC ₅₀	нМ	Нейрокинин 1-рецептор (субстанция Р, анальгезия)	245,9	636,2	406,5
—	%	Нейрокинин 1-рецептор	28,3	12,6	18,7
IC ₅₀	нМ	Нейрокинин 2-рецептор	81,2	212,9	274,3
Ki	нМ	Нейрокинин 3-рецептор	294,4	1207,0	1181,7
Противовоспалительные эффекты					
IC ₅₀	нМ	NF-κB-комплекс	992,5	1660,0	1884,0
Ki	нМ	Металлопротеиназа ADAM17	325,9	308,9	1176,4
—	%	Металлопротеиназа ADAM17	26,2	17,0	11,6
—	%	Тромбоксан A2-рецептор (TXA2)	38,5	25,4	22,7
IC ₅₀	нМ	Тромбоксан A2-рецептор (TXA2)	307,6	635,6	602,8
IC ₅₀	нМ	Лейкотриеновая A4-гидролаза (LTA4)	214,2	482,0	285,7
—	%	Лейкотриеновая A4-гидролаза (LTA4)	62,6	14,2	54,9
Другие таргетные белки					
IC ₅₀	нМ	HMG-CoA-редуктаза	1380,2	570,3	2643,1
—	%	HMG-CoA-редуктаза	43,4	28,3	12,5
IC ₅₀	нМ	Ацилкофермент А: холестерин-ацилтрансфераза	2499,2	1382,8	2480,8
—	%	Ацилкофермент А: холестерин-ацилтрансфераза	7,5	24,4	26,3
IC ₅₀	нМ	Ангиотензинпревращающий фермент	631,6	110,1	318,0
Ki	нМ	Гликогенсинтаза киназа-3β	279,6	743,9	493,9
—	%	Цитохром P450 11B2	30,6	40,5	48,7
Ki	нМ	Дигидроторатдегидрогеназа	261,1	21,0	18,8

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: ТЛП – толперизон; ТЗН – тизанидин; БКФ – баклофен; IC₅₀ – концентрация полумаксимального ингибирования.

кулярные механизмы, которые позволяют рассмотреть миорелаксантные, а также перспективные анальгетические, антиромботические и противовоспалительные эффекты изучаемых молекул. Одним из наиболее важных результатов хемореактомного анализа являются оценки достоверных различий в ингибировании таргетных белков человека толперизоном, тизанидином и баклофеном (табл. 1). Для получения значений констант, представленных в табл. 1, проанализированы результаты от 5 до 100 независимых хемореактомных экспериментов (в среднем 15).

Миорелаксантный эффект толперизона может усиливаться его обезболивающим и противовоспалительным действием. Хемореактомные оценки миорелаксантного и антиспастического эффектов молекул приведены в табл. 2, противоболевого – в табл. 3.

По данным хемореактомного анализа, обезболивающий эффект толперизона был наиболее выражен в отношении судорог, вызванных уксусной кислотой (толперизон –

40,4%, молекулы сравнения – 20–31%, доза 50 мг/кг), и в тесте на горячей пластинке (соответственно 62% и 10–29%, доза 5 мг/кг). Также были получены оценки динамики антигипералгезии, о которой судили по сокращению продолжительности отдергивания лапы после болевого стимула в линии крыс СС1 (рис. 3).

Хемореактомные оценки других эффектов молекул (табл. 4) подтвердили противовоспалительные эффекты толперизона: ингибирование активации NF-κB, синтеза фактора некроза опухоли α (ФНОα) *in vitro*, индуцированного бактериальными липополисахаридами в цельной крови, а также липополисахаридами (на 40%, молекулы сравнения – 21%).

Обсуждение. Результаты хемореактомного анализа воздействия исследованных молекул на активность таргетных белков человека позволяют утверждать, что толперизон характеризуется наиболее выраженным антихолинергическим действием. Толперизон имеет наименьшие значения

Таблица 2. Хемореактомные оценки миорелаксантного и антиспастического эффектов толперизона, тизанидина и баклофена

Константа	Ошибка	Единицы	Активность	ТЛП	ТЗН	БКФ
ED ₅₀	10,8	мкМ	Защита от аудиогенных судорог у мышей линии DBA/2, в/б	16,0	55,8	26,6
Ki	1097,0	нМ	Сродство к «судорожному» сайту ГАМКА-рецептора, кора мозга быков	380,3	16,7	16,7
–	33,7	%	Ингибирование бронхоспазма у морских свинок, индуцированного LTD4, 50 мг/кг	28,4	15,6	25,2
IC ₅₀	100,6	нМ	Ингибирование спазмогенной активности LTD4 в паренхиме у морских свинок	46,4	68,0	79,4
–	7,4	%	Снижение амнезии, вызванной электрошоком у мышей, в/б, 0,63 мг/кг	3,6	1,3	2,0
ED ₅₀	1,4	мг/кг	Противосудорожная активность на модели судорог, вызванных β-карболином у мышей	0,1	0,2	0,2
ED ₅₀	9,4	мг/кг	Подавление судорог, вызванных никотином у мышей линии CF1	1,1	0,9	29,8
ED ₅₀	48,0	мг/кг	Противосудорожная активность в тесте с бикикулином у мышей	51,1	15,9	33,5
ED ₅₀	22,2	мг/кг	Противосудорожная активность в модели электрошоковых судорог у мышей, в/б	20,2	33,9	45,4
ED ₅₀	28,4	%	Противосудорожная активность в модели электрошоковых судорог у мышей, в/б	26,4	6,9	21,1
–	4,9	%	Подавление судорог, индуцированных пентилентетразолом у мышей, 50 мг/кг, <i>per os</i>	13,1	22,8	22,8
ED ₅₀	12,4	мг/кг	Противодействие клоническим судорогам, индуцированным метразолом у крыс, в/б	9,5	22,7	17,6
ED ₅₀	10,2	мг/кг	Ингибирование конвульсии, индуцированной NMDA у крыс, в/в	7,1	20,9	15,0
–	8,4	%	Торможение амнезии, вызванной электрошоком у крыс, 1 мг/кг, в/м	0,8	0,8	48,1
–	1,2	–	Количество крыс (максимально 4), защищенных от максимального электрошока, 30 мг/кг	2,5	2,5	0,8

Примечание. ED₅₀ – концентрация, вызывающая полумаксимальный эффект (здесь и в табл. 3, 4); в/б – внутрибрюшинное введение (здесь и в табл. 3); в/в – внутривенное введение; в/м – внутримышечное введение.

Ki и IC₅₀ среди исследованных молекул (меньшее значение Ki соответствует меньшей концентрации вещества, необходимому для ингибирования). Так, толперизон ингибировал никотиновые рецепторы α7 (IC₅₀=551 нМ, молекулы сравнения – от 729 до 1733 нМ, см. табл. 1), α4/β2 (Ki=137,9 нМ, молекулы сравнения – от 257 до 876 нМ), мускариновые рецепторы M2 (Ki=785 нМ, молекулы сравнения – от 762 до 1051 нМ), M3 (Ki=633 нМ, молекулы сравнения – от 921 до 1062), M4 (IC₅₀=394 нМ, молекулы сравнения – от 551 до 775 нМ). Кроме того, толперизон *в наименьшей степени подавляет синтез ацетилхолинэстеразы*, деградирующей ацетилхолин (16%, молекулы сравнения – от 31 до 35%).

На фоне холинолитического действия толперизон оказывал *гораздо меньшее влияние на аднергическую нейротрансмиссию*. Именно для толперизона хемореактомный анализ показал в среднем наибольшие значения Ki адrenoцепторов α_{2a} (Ki=894 нМ, молекулы сравнения – от 206 до 470 нМ), α_{2b} (Ki=598 нМ, тизанидин – 300 нМ, баклофен –

826 нМ), α_{2c} (Ki=537 нМ, молекулы сравнения – от 295 до 377 нМ), β₂ (Ki=929 нМ, молекулы сравнения – от 75 до 616 нМ). Невмешательство толперизона в аднергическую β-трансмиссию способствует устранению НР, связанных с аднергическим дисбалансом (нарушение регуляции АД, частоты сердечных сокращений и др.). Отметим, что толперизон в меньшей степени воздействует на ангиотензин-превращающий фермент (IC₅₀=631 нМ), чем молекулы сравнения (тизанидин – 110 нМ, баклофен – 318 нМ).

От молекул сравнения толперизон *достоверно отличался большим ингибированием рецепторов брадикинина и нейрокинина* (опосредует эффекты нейротрансмиттера «вещество Р»). Толперизон ингибировал рецепторы брадикинина В₁ (Ki=165 нМ, молекулы сравнения – 367–543 нМ), В₂ (Ki=442 нМ, тизанидин – 1146 нМ, баклофен – 371 нМ), рецептор нейрокинина 1 (IC₅₀=245 нМ, молекулы сравнения – 406–636 нМ), рецептор нейрокинина 2 (IC₅₀=81 нМ, молекулы сравнения – 212–274 нМ) и рецептор нейроки-

Таблица 3. Хемореактомные оценки обезболивающих эффектов молекул толперизона, тизанидина и баклофена

Константа	Ошибка	Единицы	Активность	ТЛП	ТЗН	БКФ
ED ₅₀	7,8	мг/кг	Анальгетическая активность у мышей с использованием р-фенилхинонового теста	11,1	10,6	19,4
ED ₅₀	0,8	мг/кг	Эффективная доза, необходимая для обезболивающего действия у мышей, <i>per os</i>	0,8	5,2	5,2
ED ₅₀	21,8	мг/кг	Обезболивающая активность при ущемлении хвоста у мышей	11,7	8,8	30,6
ED ₅₀	12,1	мг/кг	Анальгетическая активность в болевом тесте, вызванном уксусной кислотой у мышей, <i>per os</i>	18,3	46,7	29,8
—	47,2	%	Аналгезия в тесте на горячей пластине у мышей, 5 мг/кг	62,0	29,1	10,2
ED ₅₀	27,6	мг/кг	Анальгетическая активность в модели воспаления лапы у крыс	27,5	71,1	41,0
—	9,0	%	Анальгетическая активность в модели воспалительной гипералгезии у крыс, 3 мг/кг, <i>per os</i>	69,6	69,5	19,7
—	6,4	с	Антигипералгезия в модели СС1 у крыс как продолжительность отдергивания лапы, 100 мг/кг, через 0,5 ч, в/б	18,4	36,3	20,3
—	13,4	%	Подавление сжатия живота при воздействии уксусной кислотой у мышей, 15 мг/кг, <i>per os</i>	53,2	30,1	47,4
—	14,9	%	Анальгетическая активность в отношении судорог, вызванных уксусной кислотой у мышей, за 30 мин, 50 мг/кг, <i>per os</i>	40,4	20,1	31,0

нина 3 (K_i=294 нМ, молекулы сравнения – 1181–1207 нМ). При этом активность рецептора ингибировалась толперизоном в среднем на 28% (тизанидин – 12%, баклофен – 18%; см. табл. 1). Ингибирование этих рецепторов может обуславливать наличие анальгетических эффектов исследованных молекул.

Результаты хемореактомного анализа целевых белков также указали на *потенциальные противовоспалительные эффекты толперизона*, связанные со снижением активности ФНОα и модуляцией метаболизма простагландинов. Толперизон может ингибировать NF-κB комплекс (IC₅₀=992 нМ, молекулы сравнения – 1660–1884 нМ), который опосредует эффекты активации рецептора ФНОα, и металлопротеиназу ADAM17 (K_i=325 нМ, тизанидин – 308 нМ, баклофен – 1176 нМ), осуществляющую превращение неактивной мембранно-связанной формы ФНОα в активную растворимую форму (ингибирование на 26%, молекулы сравнения – 16–17%). Кроме того, толперизон может подавлять синтез ТХА₂ (IC₅₀=307,6 нМ, молекулы сравнения – 602–635 нМ; ингибирование в среднем на 38%, молекулы сравнения – 22–25%), реализующего эффекты провоспалительного и протромботического тромбоксана А₂, и лейкотриен-А4-гидролазы (IC₅₀=214 нМ, молекулы сравнения – 285–482 нМ; ингибирование в среднем на 62%, молекулы сравнения – 14–54%), участвующей в превращении лейкотриена А4 в лейкотриен В4.

Таким образом, хемореактомный анализ целевых белков показал, что толперизон проявляет миорелаксанта́ные эффекты посредством холинолитического действия, в гораздо меньшей степени влияя на адренергическую нейротрансмиссию. Анализ миорелаксанта́ных эффектов под-

твердил, что необходимы достоверно более низкие дозы толперизона для подавления судорог, вызванных различными раздражителями у мышей (см. табл. 2): никотином – 1,1 мг/кг (тизанидин – 0,9 мг/кг, баклофен – 29,8 мг/кг), β-карболином – 0,1 мг/кг (молекулы сравнения – 0,2 мг/кг) или электрическим шоком – 20 мг/кг (молекулы сравнения – 33–45 мг/кг). Было установлено дозозависимое торможение амнезии, вызванной электрошоком у мышей и крыс (см. табл. 2).

Хемореактомное моделирование экспериментальных свойств исследуемых молекул подтвердило выраженный *противоболевой эффект толперизона*. Дозы, необходимые для обезболивания, были сравнимы для всех молекул в р-фенилхиноновом тесте (10–19 мг/кг) и в модели ущемления хвоста (8–30 мг/кг). Анальгетические дозы толперизона были ниже в болевом тесте с уксусной кислотой у мышей (18,3 мг/кг, молекулы сравнения – 29–46 мг/кг) и в модели воспаления (27,5 мг/кг, молекулы сравнения – 41–71 мг/кг).

Результаты оценки антитромбоксанового действия толперизона могут свидетельствовать об *антиагрегантных свойствах* молекулы при ингибировании агрегации тромбоцитов, индуцированной как аденозиндифосфатом (IC₅₀=170 нМ, молекулы сравнения – 1015–1853 нМ), так и арахидоновой кислотой (IC₅₀=247 нМ, 4969–5924 нМ). Также были получены *дозозависимые оценки нейропротективных свойств* исследованных молекул для нейронов линии SH-SY5Y в условиях токсического стресса (олигомицин А, 1 мкМ) и оксидативного стресса (H₂O₂) для 4 концентраций изучаемых веществ (см. табл. 4).

Представленные данные подтверждаются результатами хемореактомного анализа и дают дополнительную ин-

Таблица 4. Хемореактомные оценки других эффектов молекул толперизона, тизанидина и баклофена

Константа	Ошибка	Единицы	Активность	ТЛП	ТЗН	БКФ
–	21,7	%	Нейропротекция в нейронах SH-SY5Y в условиях токсического стресса (олигомицин А, 1 мкМ) через 24 ч	10,3	12,7	4,2
IC ₅₀	6228,0	нМ	Ингибирование активации NF-κB, индуцированной Т-клеточным рецептором	726,0	4235,0	3254,0
IC ₅₀	908,0	нМ	Ингибирование α3b4-никотинового рецептора ганглиев в клетках SHSY5Y	945,0	1609,0	3535,0
EC ₅₀	289,0	нМ	Увеличение всасывания глюкозы в инсулинорезистентных клетках HepG2 человека через 24 ч	125,4	867,0	491,6
–	6,0	%	Нейропротекция в клетках SH-SY5Y, 1 мкМ, за 24 ч до оксидативного стресса (H ₂ O ₂)	15,8	0,8	1,1
IC ₅₀	276,0	нМ	Ингибирование ПОЛ, индуцированного медью	135,9	810,0	366,0
IC ₅₀	289,0	нМ	Ингибирование агрегации тромбоцитов, индуцированной аденозиндифосфатом	170,1	1015,0	1853,0
IC ₅₀	4990,0	нМ	Ингибирование агрегации тромбоцитов, индуцированной арахидоновой кислотой	247,5	4969,0	5924,0
IC ₅₀	201,0	нМ	Ингибирование синтеза ФНОα <i>in vitro</i> , индуцированного бактериальными липополисахаридами в цельной крови	109,5	560,7	560,7
–	49,3	%	Ингибирование синтеза ФНОα, индуцированного липополисахаридами	40,7	21,5	21,5

Примечание. ПОЛ – перокисное окисление липидов.

формацию о различиях между толперизоном и молекулами сравнения. Толперизон в меньшей степени ингибировал β₂- и β₁-адренергические рецепторы, ГАМК-рецептор α₃, серотониновый рецептор 1E и ангиотензинпревращающий фермент (вероятность ингибирования – 0,16–0,43, молекулы сравнения – 0,43–0,70). В то же время толперизон преимущественно ингибировал мускариновые рецепторы ацетилхолина M1, M2, M3, транспортер обратного захвата серотонина, циклооксигеназу 2 и цитохром P450 4A22, вовлеченный в биосинтез провоспалительных омега-6 полиненасыщенных жирных кислот (вероятность ингибирования – 0,53–0,70, молекулы сравнения – 0–0,59). Эти протеомные эффекты соответствуют холинолитическому и противовоспалительному действию толперизона.

Хемопротеомный анализ активации белков протеома указал на то, что толперизон может проявлять заметные антиоксидантные свойства, активируя [Cu-Zn]-супероксиддисмутазу, глутатионредуктазу, глутатион S-трансферазу A3 (вероятность 0,65–0,80, тизанидин – 0, баклофен – 0,36–0,78). Активация катехол-O-метилтрансферазы толперизоном (0,86, тизанидин – 0, баклофен – 0,84) соответствует снижению избыточного уровня адренергических гормонов стресса, а активация

5-гидрокситриптамин (серотонин) рецептора 1A (0,78, тизанидин – 0, баклофен – 0,80) соответствует серотонинергическому действию.

Закключение. Согласно междисциплинарному консенсусу «Общие принципы лечения скелетно-мышечной боли» [16] миорелаксанты используются в комплексном лечении у таких пациентов при наличии выраженного болезненного напряжения мышц в пораженной области. Миорелаксанты

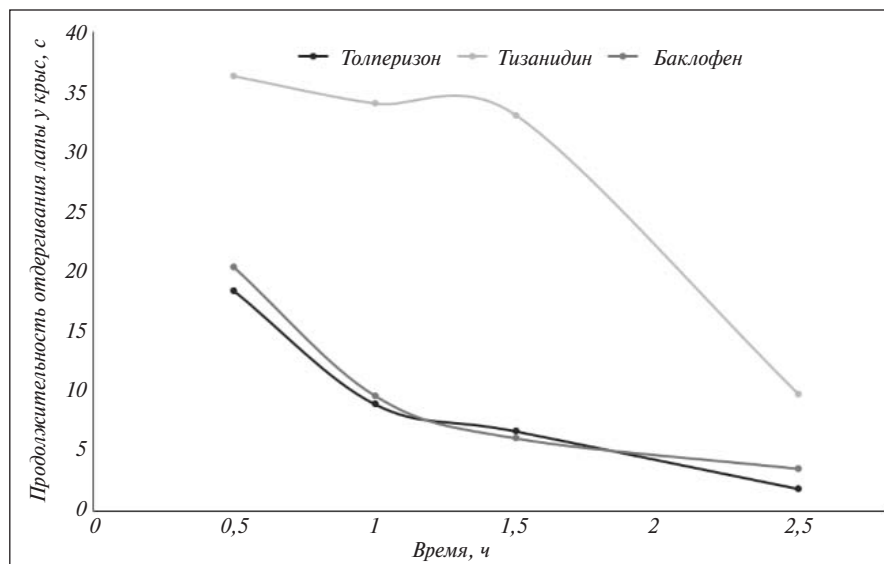


Рис. 3. Динамика анальгезии по оценке сокращения продолжительности отдергивания лапы у крыс после болевого стимула (линия крыс СС1, 100 мг/кг)

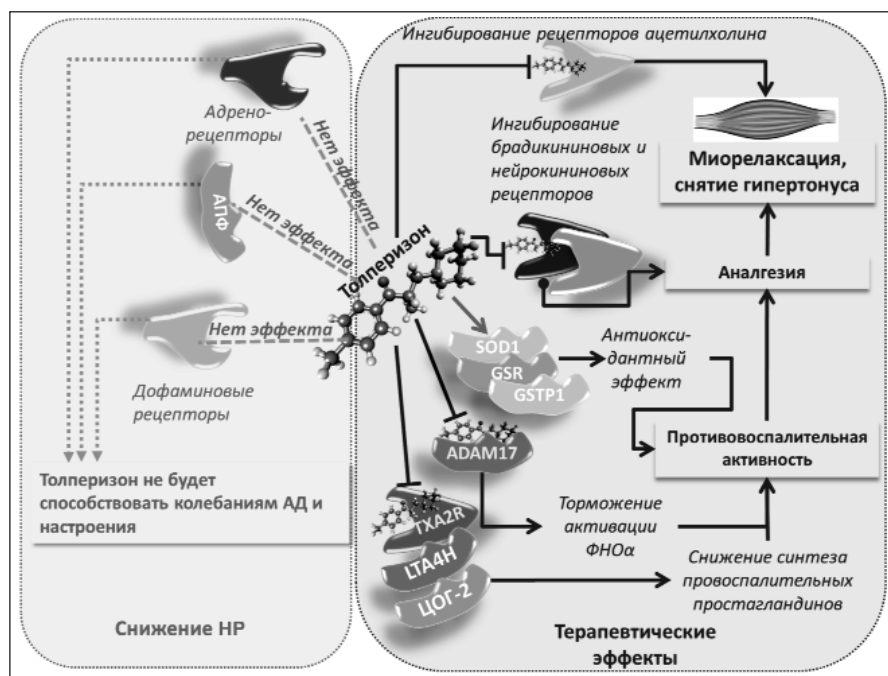


Рис. 4. Молекулярные механизмы действия толперизона (по результатам хемореактомного анализа)

Представленные в настоящей работе результаты хемореактомного анализа трех миорелаксантов (толперизон, тизанидин, баклофен) подтвердили специфическое таргетное действие каждой молекулы. Толперизон отличается от других исследованных миорелаксантов более выраженным холинолитическим действием (инактивация периферических рецепторов ацетилхолина в мышцах при сохранении активности ацетилхолинэстеразы), которое обуславливает миорелаксантный эффект. При этом толперизон в малой степени затрагивает другие нейротрансмиттерные системы (адренергическую, дофаминергическую, ГАМКергическую и др.). Хемореактомный анализ экспериментальных эффектов указал на дозозависимое антиспастическое и анальгетическое действие каждой молекулы. Анальгетический эффект толперизона обусловлен ингибированием нейрокининовых и брадикининовых рецепторов и способствует усилению миорелаксантного действия. Антиок-

сидантные (активация супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, глутатион S-трансфераз А3 и Р) и противовоспалительные (ингибирование ФНО α , снижение уровня/активности χ А2 и лейкотриена В4) свойства толперизона также будут способствовать усилению анальгетического и антиспастического действия молекулы (рис. 4). Антиоксидантные эффекты практически полностью отсутствовали у тизанидина, а баклофен в гораздо меньшей степени, чем толперизон, ингибировал нейрокининовые рецепторы, синтез тромбосана и активацию провоспалительного цитокина ФНО α .

включают в терапию состояний, ассоциированных с гипертонусом скелетной мускулатуры. Миорелаксанты целесообразно применять в комплексном лечении скелетно-мышечной боли при наличии болезненного гипертонуса мышц. К препаратам этого ряда, зарегистрированным в России, относятся толперизон, тизанидин и баклофен [17]. Миорелаксанты тизанидин, баклофен и толперизон в высоких дозах могут вызывать НР: слабость, сонливость, головокружение, снижение АД, нарушения координации движений и др. (осложнения чаще возникают при применении тизанидина).

ЛИТЕРАТУРА

1. Парфенов ВА, Яхно НН, Кукушкин МЛ и др. Острая неспецифическая (скелетно-мышечная) поясничная боль. Рекомендации Российского общества по изучению боли (РОИБ). Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2018;10(2):4–11. [Parfenov VA, Yakhno NN, Kukushkin ML, et al. Acute nonspecific (musculoskeletal) low back pain. Guidelines of the Russian Society for the Study of Pain (RSSP). *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics*. 2018;10(2):4–11. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2018-2-4-11
2. Машковский МД. Лекарственные средства. 17-е изд. Москва: Новая Волна; 2014. С. 98-9. [Mashkovskii MD. *Lekarstvennye sredstva. 17-e izd.* [Medicines. 17th ed.]. Moscow: Novaya Volna; 2014. P. 98-9.]
3. Glück J, Rymarczyk B, Rogala V. An immediate hypersensitivity reaction caused by tolperisone hydrochloride. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2011;21(5):411-2.
4. Garbutt JC, Kampov-Polevoy AB, Gallop R, et al. Efficacy and safety of baclofen for alcohol dependence: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010 Nov;34(11):1849-57. doi: 10.1111/j.1530-0277.2010.01273.x.
5. Torshin IYu. Sensing the change from molecular genetics to personalized medicine. New York: Nova Biomedical Books; 2009.
6. Torshin IYu, Rudakov KV. Combinatorial analysis of the solvability properties of the problems of recognition and completeness of algorithmic models. part 1: factorization approach. *Pattern Recognition and Image Analysis. Advances in Mathematical Theory and Applications*. 2017;27(1):16-28.
7. Torshin IYu, Rudakov KV. Combinatorial analysis of the solvability properties of the problems of recognition and completeness of algorithmic models. part 2: metric approach within the framework of the theory of classification of feature values. *Pattern Recognition and Image Analysis. Advances in Mathematical Theory and Applications*. 2017;27(2):184-99.
8. Torshin IYu. Optimal dictionaries of the final information on the basis of the solvability criterion and their applications in bioinformatics. *Pattern Recognition and Image Analysis. Advances in Mathematical Theory and Applications*. 2013;23(2):319-27.
9. Torshin IYu, Rudakov KV. On the theoretical basis of the metric analysis of poorly formalized problems of recognition and classification. *Pattern Recognition and Image Analysis. Advances in Mathematical Theory and Applications*. 2015;25(4):577–87.
10. Torshin IYu, Rudakov KV. On metric spaces arising during formalization of problems of recognition and classification. part 1: properties of compactness. *Pattern Recognition and Image Analysis. Advances in Mathematical Theory and Applications*. 2016;26(2):274.
11. Torshin IYu, Rudakov KV. On metric spaces arising during formalization of problems of recognition and classification. part 2: density properties. *Pattern Recognition and Image*

Analysis. *Advances in Mathematical Theory and Applications*. 2016;26(3):483-96.

12. Torshin IYu, Rudakov KV. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs. part 1: fundamentals of modern chemical bonding theory and the concept of the chemograph. *Pattern Recognition and Image Analysis. Advances in Mathematical Theory and Applications*. 2014; 24(1):11-23.

13. Torshin IYu, 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. Advances in Mathematical Theory and Applications*. 2014;24(2):196-208.

14. Торшин ИЮ, Громова ОА, Федотова ЛЭ и др. Хемоинформационный анализ молекулы оротовой кислоты указывает на противовоспалительные, нейропротекторные и кардиопротекторные свойства лиганда магния. *Фарматека*. 2013;(13):95-104.

[Torshin IYu, Gromova OA, Fedotova LE, et al. Chemoreactome analysis of a molecule of orotic acid indicates anti-inflammatory, neuroprotective and cardioprotective properties of the ligand of magnesium. *Farmateka*. 2013;(13): 95-104. (In russ.)].

15. Wishart DS, Tzur D, Knox C, et al. HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Res*. 2007 Jan;35(Database issue): D521-6.

16. Насонов ЕЛ, Яхно НН, Каратеев АЕ и др. Общие принципы лечения скелетно-

мышечной боли: междисциплинарный консенсус. *Научно-практическая ревматология*. 2016;54(3):247-65. [Nasonov EL, Yakhno NN, Karateev AE, et al. General principles of treatment for musculoskeletal pain: interdisciplinary consensus. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2016;54(3):247-65. (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2016-247-265

17. Chandanwale AS, Sundar S, Latchoumibady K, et al. Efficacy and safety profile of combination of tramadol-diclofenac versus tramadol-paracetamol in patients with acute musculoskeletal conditions, postoperative pain, and acute flare of osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a Phase III, 5-day open-label study. *J Pain Res*. 2014 Aug 12;7:455-63. doi: 10.2147/JPR.S67817.eCollection 2014

Поступила 30.11.2018

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Публикация статьи поддержана ЗАО «Фармфирма «Сотекс». Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

