

# Дифференциальный хемореактомный анализ глюкозамина сульфата и нестероидных противовоспалительных препаратов: перспективные синергичные комбинации

Громова О.А.<sup>1</sup>, Торшин И.Ю.<sup>1</sup>, Лиля А.М.<sup>2</sup>, Наумов А.В.<sup>3</sup>, Рейер И.А.<sup>1</sup>, Каратеев А.Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт фармакоинформатики ФИЦ «Информатика и управление», РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва, Россия;

<sup>3</sup>Российский геронтологический научно-клинический центр, Москва, Россия

<sup>1</sup>119333, Москва, ул. Вавилова, 40; <sup>2</sup>115522, Москва, Каширское шоссе, 34А; <sup>3</sup>129226, Москва, ул. 1-я Леонова, 16

Глюкозамина сульфат (ГС) необходим для регенерации хрящевой ткани, кроме того, он обладает противовоспалительными свойствами, сравнимыми с таковыми нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Клинические исследования указывают на синергизм действия ГС и НПВП при остеоартрите (ОА) и при других заболеваниях суставов.

**Цель исследования** — оценка степени синергизма различных комбинаций ГС и НПВП.

**Материал и методы.** Проведен дифференциальный хемореактомный анализ эффектов ГС и семи средств класса НПВП (кеторолак, нимесулид, диклофенак, мелоксикам, декскетопрофен, цефекоксиб, эторикоксиб) для определения степени синергизма различных комбинаций ГС и НПВП.

**Результаты и обсуждение.** Показано, что декскетопрофен (и в меньшей степени кеторолак) наиболее эффективно усиливают противовоспалительные свойства ГС. Для использования на практике рекомендован следующий подход: на 1-й неделе лечения для быстрого устранения болевого синдрома назначается наиболее эффективная комбинация — ГС + декскетопрофен (либо ГС + кеторолак), после чего можно использовать комбинацию ГС с НПВП, прием которого в течение более длительного времени сопряжен с минимальными побочными эффектами.

**Выводы.** Результаты исследования показали, что совместное использование ГС и НПВП при патологии суставов является перспективным.

**Ключевые слова:** глюкозамина сульфат; сустакварт артро; кеторолак; нимесулид; декскетопрофен; мелоксикам; диклофенак; цефекоксиб; эторикоксиб; интеллектуальный анализ данных.

**Контакты:** Ольга Алексеевна Громова; [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com)

**Для ссылки:** Громова ОА, Торшин ИЮ, Лиля АМ и др. Дифференциальный хемореактомный анализ глюкозамина сульфата и нестероидных противовоспалительных препаратов: перспективные синергичные комбинации. Современная ревматология. 2018;12(2):36–43.

## Differential chemoreactome analysis of glucosamine sulfate and non-steroidal anti-inflammatory drugs: promising synergistic drug combinations

Gromova O.A.<sup>1</sup>, Torshin I.Yu.<sup>1</sup>, Lila A.M.<sup>2</sup>, Naumov A.V.<sup>3</sup>, Reier I.A.<sup>1</sup>, Karateev A.E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Pharmacoinformatics, Federal Research Center «Informatics and Control», Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia; <sup>3</sup>Russian Gerontology Research and Clinical Center, Moscow, Russia

<sup>1</sup>40, Vavilov St., Moscow 119333; <sup>2</sup>34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522; <sup>3</sup>16, First Leonov St., Moscow 129226

Glucosamine sulfate (GS) is essential for the regeneration of cartilaginous tissue and, in addition, it has anti-inflammatory properties comparable to those of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Clinical trials indicate the synergism between GS and NSAIDs in osteoarthritis (OA) and other joint diseases.

**Objective:** to estimate the degree of synergism between different combinations of GS and NSAIDs.

**Material and methods.** A differential chemoreactome analysis was employed to evaluate the effects of GS and seven agents from the class of NSAIDs, such as ketorolac, nimesulide, diclofenac, meloxicam, dexketoprofen, celecoxib, and etoricoxib, for estimating the degree of synergism between different combinations of GS and NSAIDs.

**Results and discussion.** Dexketoprofen is shown to enhance most effectively the anti-inflammatory properties of GS as compared to ketorolac that does this to a lesser extent. The drug should be practically used as follows: the most effective combination (GS + dexketoprofen (or GS + ketorolac) is taken at week 1 of treatment for rapid pain elimination; thereafter there may be a combination of GS and NSAIDs, the intake of which is associated with minimal adverse reactions for a longer time.

**Conclusion.** The investigation has shown that the coadministration of GS and NSAIDs is promising in treating joint diseases.

**Keywords:** glucosamine sulfate; sustaquard artro; ketorolac; nimesulide; dexketoprofen; meloxicam; diclofenac; celecoxib; etoricoxib; database mining.

**Contact:** Olga Alekseevna Gromova; [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com)

**For reference:** Gromova OA, Torshin IYu, Lila AM, et al. Differential chemoreactome analysis of glucosamine sulfate and non-steroidal anti-inflammatory drugs: promising synergistic drug combinations. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2018;12(2):36–43. DOI: 10/14412/1996-7012-2018-2-36-43

Глюкозамина сульфат (ГС) и хондроитина сульфат (ХС) служат не только «строительным материалом» для восстановления соединительной ткани хряща, но и проявляют выраженные противовоспалительные свойства, сравнимые с эффектами нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Клинические исследования указывают на синергизм действия ГС и НПВП при остеоартрите (ОА) и других заболеваниях суставов [1–5]. Молекулярные механизмы действия ГС/ХС включают активацию белков-рецепторов CD44, TLR4 и ICAM1 на поверхности хондроцитов, инактивацию провоспалительного транскрипционного фактора NF-κB и др. [1].

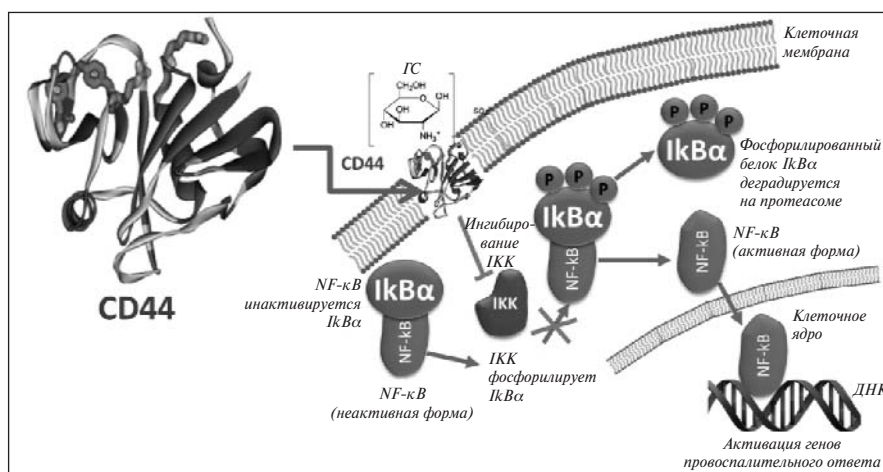
Ингибирование эффектов провоспалительного фактора транскрипции NF-κB и провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли (ФНО) α – основные молекулярные механизмы осуществления эффектов ГС. В норме NF-κB практически не связывается с ДНК хондроцитов, поэтому сигнальные каскады воспаления в ткани хряща не активируются. В экспериментальной модели коллаген-индуцированного артрита связывание NF-κB с ДНК хондроцитов значительно увеличивалось [2]. ГС ингибирует эффекты провоспалительного белка NF-κB посредством связывания с основным таргетным белком ГС – рецептором CD44 (рис. 1). Взаимодействуя с белком CD44, ГС активирует внутриклеточные сигнальные процессы и влияет на синтез других белков протеома.

Активация рецептора CD44 молекулами ГС способствует предотвращению деградации белка IκBα, ингибирующего провоспалительный белок NF-κB [3]. Взаимодействуя с регулятором IκBα, NF-κB не может перемещаться в клеточное ядро и активировать экспрессию генов, участвующих в воспалительной реакции (см. рис. 1). NF-κB является одним из центральных медиаторов воспаления, так что его инактивация стимулирует снижение уровней биомаркеров воспаления интерлейкина (ИЛ) 1, ИЛ6, ФНОα, СРБ и др. [4, 5]. Кроме того, активация молекулой ГС рецептора CD44 приводит к снижению избыточного уровня матриксных металлопротеиназ (ММП), в том числе за счет регуляции транскрипции соответствующих генов.

Молекулярные механизмы синергизма ГС и НПВП в терапии патологий суставов являются основой для разработки новых перспективных протоколов лечения с одновременным использованием этих препаратов. **Цель** исследования – методом дифференциального хемоинформационного анализа провести сравнительную оценку фармакологических эффектов микрокристаллической фармацевтической субстанции ГС натрия хлорида («Биоиберика С.А.У.», Ис-

пания) в составе препарата Сустагарт® Артро<sup>1</sup> и НПВП и на основании различий в профилях фармакологической активности ГС и НПВП выделить наиболее перспективные комбинации, в которых оба действующих начала максимально эффективно дополняют друг друга.

**Материал и методы.** Исследование проводилось с использованием важного направления постгеномной фармакологии [6] – хемореактомного моделирования. Процедура анализа основана на новейших технологиях машинного обучения, разрабатываемых в рамках теории комбинаторного анализа разрешимости и теории метрического анализа признаков описаний [7–10].



**Рис. 1.** Пространственная структура белка-рецептора CD44 и молекулярные механизмы воздействия ГС и ХС на активность ключевого провоспалительного сигнального пути NF-κB. Слева показана структура лиганд-связывающего домена рецептора CD44. Выделены аминокислотные остатки аргинин-41, аргинин-78, тирозин-79 и тирозин-105, участвующие в связывании ГС и ХС

Для определения степени синергизма различных комбинаций ГС и НПВП выполнен дифференциальный хемореактомный анализ молекулы ГС в сравнении с семью НПВП (кеторолак, нимесулид, диклофенак, мелоксикам, декскетопрофен, целекоксиб, эторикоксиб). Для проведения хемоинформационного анализа был разработан новый математический метод, основанный на комбинаторной теории разрешимости [8], на основании которого вычисляется химическое расстояние  $d_X(X_1, X_2)$  между двумя произвольными молекулами ( $X_1$  и  $X_2$ ). Разработанный нами способ вычисления  $d_X$  был использован для решения задачи поиска молекул, структурно схожих с исследуемыми молекулами. Таким образом, на первом этапе хемоинформационного анализа устанавливали список наиболее близких к ГС и НПВП химических структур из базы данных PubChem [11]. На втором этапе проводили собственно хемореактомный анализ, т. е. оценку различных биологических активностей молекул.

**Результаты и обсуждение.** В ходе хемореактомного анализа для анализируемых молекул были получены оценки более 4500 биологических активностей, осуществляемых в

<sup>1</sup>ЗАО «Фармфирма «Сотекс».

О Р И Г И Н А Л Ь Н Ы Е И С С Л Е Д О В А Н И Я

рамках реактома человека. Данные активности были разделены на пять подразделов: 1) ингибирование белков метаболизма простагландинов и лейкотриенов; 2) ингибирование эффектов транскрипционного фактора NF-kB и ФНО $\alpha$ ; 3) противовоспалительные эффекты на клетках в культуре по отношению к различным цитокинам; 4) ингибирование различных ММП; 5) вазодинамические и антидиабетические эффекты на клетках в культуре. Затем были выбраны репрезентативные активности, представленные в табл. 1 и 2.

В табл. 1 приведены хемореактомные оценки ингибирования белков метаболизма простагландинов и лейкотриенов. Хемореактомный анализ показал, что ГС является слабым ингибитором циклооксигеназы (ЦОГ) 2, важного таргетного белка всех НПВП (ингибирование на 13,5%, IC50=2006 нМ). Естественно, эффекты НПВП в отношении ЦОГ2 гораздо более выражены – ингибирование достигает 35–90% (см. табл. 1). В свою очередь, ГС частично ингибирует ЦОГ1 (13,7%, IC50=1932 нМ), причем эффекты сравнимы с действием исследованных НПВП (9–45%). Таким образом, описанные ранее молекулярно-фармакологические эффекты ГС существенно дополняются основным действием всех НПВП – ингибированием ЦОГ2.

Воздействие ГС и НПВП на метаболизм лейкотриенов более многогранно по сравнению с влиянием на ЦОГ2. Так, ГС в значительной мере ингибирует фермент арахидонат-15-липоксигеназу (41%, IC50=348 нМ), что сравнимо с эффектами большинства НПВП (62–65%). В то же время исследованные НПВП гораздо более эффективно могут ингибировать другие белки лейкотриенового метаболизма: арахидонат-12-липоксигеназу (0,7–73%), арахидонат-5-липоксигеназу (40–64%), и лейкотриеновый В4-рецептор 1 (0,9–24%). Иначе говоря, эффекты ГС и изученных НПВП в отношении ингибирования метаболизма лейкотриенов существенно дополняют друг друга.

Как отмечено выше, основным молекулярно-фармакологическим эффектом ГС является ингибирование фактора транскрипции NF-kB, опосредующего провоспалительные реакции клеток (прежде всего отклик клетки на воздействие ФНО $\alpha$ ). Хемореактомный анализ указал на существенное ингибирование ГС фактора NF-kB (42 $\pm$ 27% в Т-лимфоцитах человека, линия клеток Jurkat, при концентрации 100 мкМ, IC50=151 $\pm$ 149 нМ), что сравнимо с эффектами НПВП (от 56 $\pm$ 27 до 71 $\pm$ 27%, IC50=187–995 нМ). Напомним, что более высокое значение константы ингибирования IC50 соответствует более слабому ингибированию.

ГС ингибировал также экспрессию ФНО $\alpha$ , вызываемую бактериальными липополисахаридами (ЛПС; 21 $\pm$ 20%, IC50=113 $\pm$ 97 нМ), причем величина эффекта была сопоставима с таковой всех изученных НПВП (21–40%, IC50=39–170 нМ). ГС и НПВП проявляли сопоставимые эффекты при ингибировании стимулируемого ФНО $\alpha$  синтеза ИЛ1 и ИЛ6, активности MAP-киназы p38, обеспечиваю-

Таблица 1. Оценки ингибирования белков метаболизма простагландинов и лейкотриенов посредством ГС и различных НПВП (результаты хемореактомного анализа)

Параметр	Ошибка	Единицы	Белок	ГС	КТР	НМС	ДФ	МЛС	ДКТП	ЦКС	ЭТКС
Концентрация	31,1	%	ЦОГ2 (10 мкМ, клетки sf-9)	13,5	63,1	39,4	35,1	77,2	90,9	14	56
IC <sub>50</sub>	2151	нМ	ЦОГ2	2006	322,8	974,0	611,8	179,8	258,0	321	386
Концентрация	9,2	%	ЦОГ1	13,7	44,8	31,0	18,4	9,3	21,9	56	46
IC <sub>50</sub>	2006	нМ	ЦОГ1	1932	НЭ	404,0	612,0	1093	626,0	1020	560
%	37,0	%	Арахидонат-12-липоксигеназа (10 мкМ, клетки PMNL)	0,7	35,3	0,7	59,9	6,8	73,6	59	2
IC <sub>50</sub>	449,5	нМ	Арахидонат-12-липоксигеназа	НЭ	448,8	592,7	41,0	679,0	456,0	540	670
Концентрация	26,5	%	Арахидонат-15-липоксигеназа (20 мкМ)	40,8	65,8	64,7	65,1	61,8	19,6	20	25
IC <sub>50</sub>	330,7	нМ	Арахидонат-15-липоксигеназа	348,0	869,0	103,2	587,0	761,0	928,0	703	372
Концентрация	28,6	%	Арахидонат-5-липоксигеназа (10 мкМ)	13,9	НЭ	44,0	40,0	55,5	64,3	84	83
IC <sub>50</sub>	774,0	нМ	Арахидонат-5-липоксигеназа (клетки A23187)	2109	НЭ	2399	3557	НЭ	377,0	2040	2174
Концентрация	9,7	%	Лейкотриеновый В4-рецептор 1 (10 мкМ)	0,2	23,0	0,9	НЭ	НЭ	24,4	45	22
IC <sub>50</sub>	437,0	нМ	Лейкотриеновый В4-рецептор 1 (нейтрофилы)	НЭ	260,5	358,0	НЭ	1039	80,6	97	108

**Примечание.** Здесь и в табл. 2: параметры биологической активности (константы) приведены в соответствии с международной номенклатурой; ошибка (погрешность) значения параметра; КТР – кеторолак; НМС – нимесулид; ДКФ – диклофенак; МЛС – мелоксикам; ДКТП – декскетопрофен; ЦКС – целекоксиб; ЭТКС – эторикоксиб; НЭ – нет эффекта.

Таблица 2. Хемореактомные оценки ингибирования эффектов NF-kB и ФНОα молекулами ГС и НПВП

Параметр	Ошибки	Единицы	Ингибируемая активность	ГС	КТР	НМС	ДФ	МЛС	ДКТП	ЦКС	ЭТКС
IC <sub>50</sub>	1301	нМ	Активность NF-kB, индуцированного ФНОα в клетках A549	988	888	3278	3671	3124	816	992	1236
Концентрация	27	%	Активность NF-kB (100 мкМ, клетки Jurkat)	41,9	56,4	69,5	70,5	71,3	61,6	43	54
IC <sub>50</sub>	149	нМ	Активность NF-kB (клетки Jurkat)	151	726	851	995	НЭ	187,4	НЭ	НЭ
Концентрация	35,6	%	Экспрессия гена ФНОα (TNFA) в клетках Jurkat (100 мкМ)	0,03	15,3	35,2	36	37,1	24,7	17	17
EC <sub>50</sub>	2137	нМ	ФНОα-индуцированный некропоз в клетках Jurkat	2605	225	1866	1899	788	927	952	753
Концентрация	20	%	ЛПС-индуцированная экспрессия ФНОα (10 мкМ, 5 ч)	21,3	39,7	21,3	39,7	21,3	39,7	21	21,4
IC <sub>50</sub>	97	нМ	ЛПС-индуцированная экспрессия ФНОα (10 мкМ, 5 ч)	113	170	39	39	47	60	237	215
IC <sub>50</sub>	291,4	нМ	Синтез ИЛ1 в клетках SW1353, обработанных ФНОα	138	115	49	35	61	64	66	66
IC <sub>50</sub>	125,4	нМ	Активность MAP-киназы p38 для секреции ФНОα (клетки THP1)	127	639	136	252	242	265	345	247
IC <sub>50</sub>	76,9	нМ	Активность MAP-киназы p38 (клетки THP1)	85	175	70	125	НЭ	129	253	214
Концентрация	11,7	%	ММП ADAM17, активирующая ФНОα (10 мкМ)	22	48	15	19	52	42	21	37
IC <sub>50</sub>	124,1	нМ	ММП ADAM17, активирующая ФНОα	130,3	69,3	НЭ	211,4	НЭ	69,5	314	277

Примечание. ЛПС – стимуляция клеток бактериальными липополисахаридами.

шей секрецию ФНОα, и активности ММП ADAM17, трансформирующей неактивный пробелок ФНОα в активную форму ФНОα (см. табл. 2) [12–14].

Хемореактомные оценки противовоспалительных эффектов ГС и НПВП на клетках в культуре по отношению к различным цитокинам показали, что ГС и НПВП проявляли сравнимые эффекты в отношении ингибирования А- и В-рецепторов ИЛ8. Исследованные НПВП существенно дополняли эффекты ГС при ингибировании экспрессии/секреции ИЛ5 (ГС – 0%, НПВП – 68–72%; рис. 2), ИЛ6 (ГС – 15%, НПВП – 30–89%), ИЛ1β (ГС – IC50>5000 нМ, НПВП – IC50=36–141 нМ).

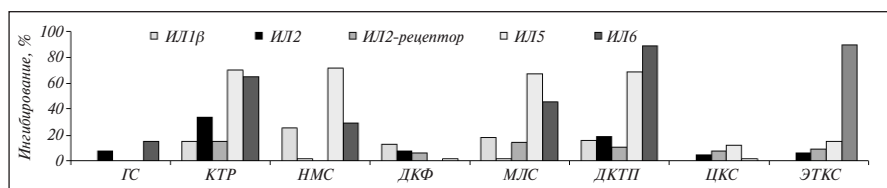
Многие из анализируемых НПВП (кеторолак, мелоксикам, декскетопрофен, эторикоксиб), по данным хемореактомного анализа, были ассоциированы с ингибированием эффектов ИЛ6 – провоспалительного цитокина, который синтезируется активированными макрофагами и Th2-лимфоцитами [15]. Избыточная продукция ИЛ6 вызывает аутоиммунные повреждения суставов при ревматоидном артрите и активирует остеокласты, осуществляющие деградацию костной ткани [16]. Повышенный уровень ИЛ6 также соотносится с усилением болевых реакций [17], так что ингибирование действия ИЛ6 посредством изученных НПВП соответствует обезболивающему эффекту. В целом НПВП существенно дополняют эффекты ГС при воздействии на уровень и активность провоспалительных цитокинов.

ГС и НПВП проявляли сравнимые эффекты в отношении ингибирования С-С-хемокиновых рецепторов (CCR) 1-го типа (CCR1): ГС – 24%, НПВП – 8,5–38%; 4-го типа (CCR4): ГС – 4%, НПВП – 1,8–16%; одновременно НПВП существенно дополняли эффекты ГС при ингибировании активности CCR типа 2 (CCR2): ГС – 17%, НПВП – 21–49% и типа 5 (CCR5): ГС – 9%, НПВП – 15–36% (рис. 3).

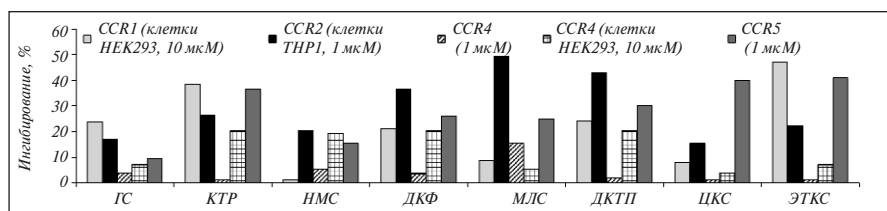
Напомним, что CCR существенно отличаются по реакции на различные провоспалительные хемокины и типам клеток, в которых они экспрессируются. Так, CCR1 осуществляет эффекты провоспалительных хемокинов CCL4, CCL5, CCL6, CCL14, CCL15, CCL16, CCL23 в периферических лимфоцитах и моноцитах; CCR4 – эффекты провоспалительных хемокинов CCL3, CCL5, CCL17, CCL22 в Th2-лимфоцитах и дендритных клетках [18]; CCR2, который встречается в моноцитах, активированных Т-клетках памяти, моноцитах, В-клетках и базофилах, – эффекты хемокинов CCL2, CCL8, CCL16. CCR5 активируется хемокинами CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL11, CCL13, CCL14, CCL16 и функционирует в дендритных клетках, CD34+ клетках и Th1-лимфоцитах [19]. Ингибирование CCR1, CCR2, CCR4, CCR5 молекулой ГС в сочетании с молекулами НПВП будет существенно ослаблять эффекты перечисленных провоспалительных хемокинов.

Хемореактомный анализ также показал, что рассмотренные НПВП существенно дополняли эффекты ГС с точки зрения ингибирования различных ММП. В среднем по различным типам ММП эффекты ингибирования ГС составили 12±12%, а эффекты

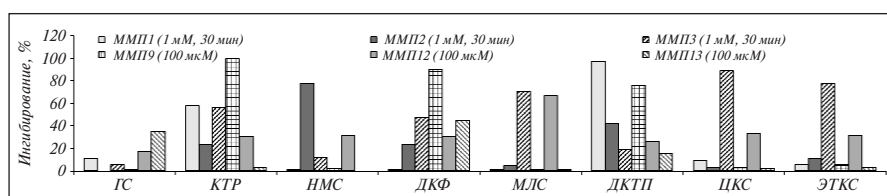
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ



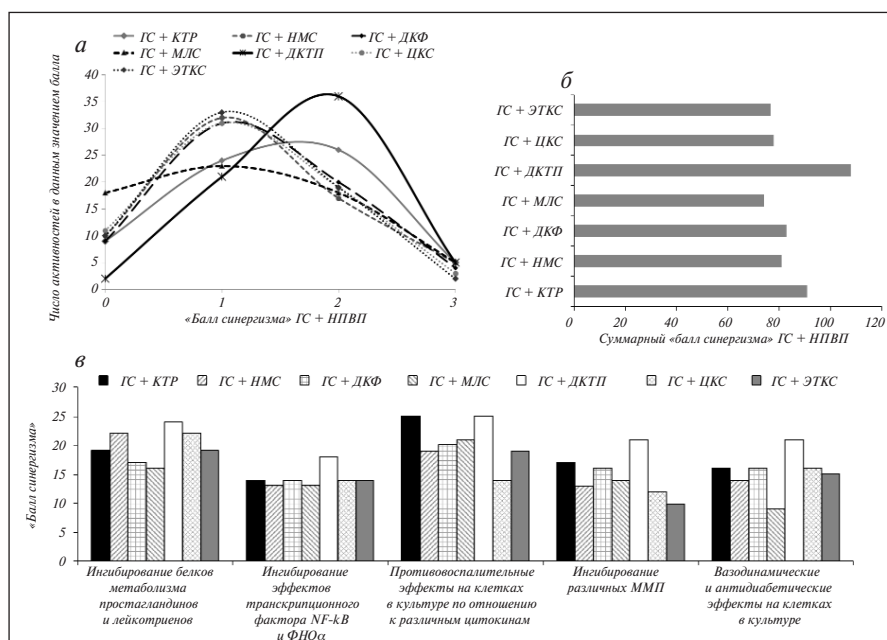
**Рис. 2.** Ингибирование молекулами ГС и НПВП эффектов различных ИЛ (результаты хемореактивного анализа). На рисунках представлены те же сокращения НПВП, что и в таблицах



**Рис. 3.** Ингибирование молекулами ГС и НПВП CCR (результаты хемореактивного анализа)



**Рис. 4.** Ингибирование молекулами ГС и НПВП различных ММП (результаты хемореактивного анализа)



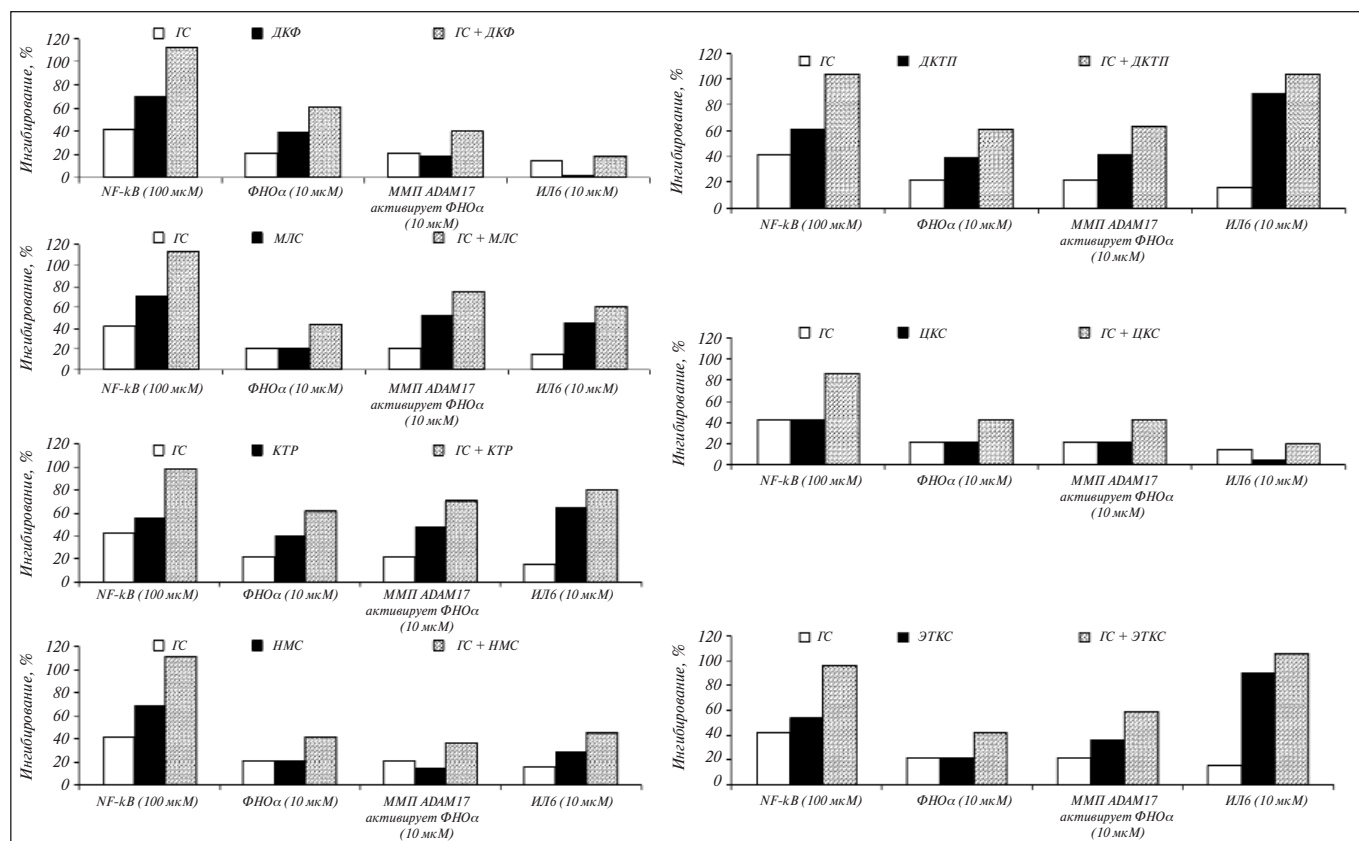
**Рис. 5.** Балльные оценки синергизма ГС и НПВП: а – распределение «балла синергизма» ГС и различных НПВП (усреднение по всем фармакологическим эффектам). Представлены оценки синергизма ГС + НПВП по каждому фармакологическому эффекту по 3-балльной шкале; б – суммарные оценки «балла синергизма» ГС и различных НПВП; в – суммы «баллов синергизма» ГС + НПВП по пяти разделам балльной шкалы

НПВП достигали 90% (рис. 4). Например, декскетопрофен ингибировал каждую ММП (ММП1, ММП2, ММП3, ММП9, ММП12, ММП13) в среднем на  $46 \pm 33\%$ .

Лечение заболеваний суставов часто проходит на фоне таких коморбидных состояний, как сахарный диабет 2-го типа (СД2), атеросклероз, артериальная гипертензия, тромбофилия и т. д. Поэтому очень важно оценить влияние нутриента ГС на обмен глюкозы, липидов, агрегацию тромбоцитов и состояние тонуса сосудов с точки зрения как безопасности, так и синергизма с НПВП. Хемореактивные оценки вазодинамических и антидиабетических эффектов ГС и НПВП в культурах клеток показали, что НПВП несколько более эффективны, чем ГС, для ингибирования АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (в концентрации 100 мкМ): ГС –  $15 \pm 8\%$ , НПВП –  $89-95\%$ ,  $IC_{50} = 1212 \pm 800$  нМ для ГС и  $193-367$  нМ для НПВП.

В то же время хемореактивный анализ показал, что эффекты ГС при ингибировании биосинтеза холестерина были сопоставимы с эффектами изученных молекул НПВП: ГС –  $20,8 \pm 16\%$ , НПВП –  $33-47\%$ . Аналогично эффекты ГС и НПВП были сопоставимы и при оценке влияния на увеличение всасывания глюкозы в инсулинорезистентных клетках: для ГС  $EC_{50} = 424 \pm 1453$  нМ, для НПВП  $EC_{50} = 527-2977$  нМ. Эффекты ГС в отношении биосинтеза холестерина и переработки глюкозы ассоциированы, по всей видимости, с активацией рецепторов пролифераторов пероксисом и ингибированием киназы mTOR. Например, активация рецептора пролифераторов пероксисом  $\alpha$  в клетках линии НЕК293 составила для ГС  $19 \pm 18\%$ , для НПВП –  $9-50\%$ .

Заметим, что имеющиеся результаты клинических исследований показывают, что долговременный прием микрокристаллического ГС полностью безопасен для пациентов с СД2. Например, в исследовании женщин с СД2 ( $n=407$ , длительность заболевания – более 6,5 лет,  $ИМТ \geq 27$  кг/м<sup>2</sup>) долговременный прием микрокристаллического ГС (1500 мг/сут, 2,5 года) не приводил к сколько-нибудь достоверному повышению уровня гликированного гемоглобина (HbA1c) [20]. Более того, результаты настоя-



**Рис. 6.** Примеры оценок сочетанного действия ГС и НПВП на различные маркеры воспаления. Приведены результаты хемореактивного моделирования действия исследованных молекул на Т-лимфоциты в культуре. Синергизм оценивали по аддитивной модели взаимодействия (сумма эффектов ГС и НПВП)

шего хемореактивного анализа указывают, что ГС может даже улучшать метаболизм глюкозы.

Ингибирование киназы mTOR ( $IC_{50}=731\pm 713$  нМ для ГС и 145–1498 нМ для НПВП), помимо снижения инсулинорезистентности, также вызывает геропротекторный эффект (в том числе стимулирует увеличение продолжительности жизни модельных организмов), что важно учитывать при проведении геропротекторного анализа исследуемых молекул.

Таким образом, результаты дифференциального хемореактивного анализа показывают, что фармакологические эффекты ГС и НПВП могут существенно дополнять друг друга. Для выбора НПВП, с которым у ГС наблюдается наибольший синергизм, мы разработали специальную балльную шкалу, с помощью которой оценивали каждую из указанных выше фармакологических активностей. Шкала состоит из пяти разделов: 1) ингибирование белков метаболизма простагландинов и лейкотриенов; 2) ингибирование эффектов транскрипционного фактора NF-kB и ФНОα; 3) противовоспалительные эффекты на клетках в культуре по отношению к различным цитокинам; 4) ингибирование MMP; 5) вазодинамические и антидиабетические эффекты на клетках в культуре.

Сравнение эффектов ГС и НПВП по каждой из исследованных активностей осуществлялось по 3-балльной системе: 0 – ГС проявляет активность, не найденную у НПВП; 1 – эффект ГС сравним с эффектом НПВП; 2 – НПВП существенно дополняет эффекты ГС; 3 – НПВП проявляет активность, не выявленную у ГС. Расчет «баллов синергизма» для каждой из активностей по пяти разделам проводили

с учетом статистических различий в значениях констант, полученных в результате проведения дифференциального хемореактивного анализа ГС и НПВП.

Как показала оценка по балльной шкале, наибольший синергизм наблюдается у ГС с декскетопрофеном и несколько меньший – с кеторолаком. Анализ распределений «балла синергизма» ГС и различных НПВП выявил, что наиболее часто показатель синергизма для декскетопрофена и кеторолака равнялся 2, т. е. НПВП существенно дополняет эффекты ГС, а для остальных НПВП – 1, т. е. эффект ГС сравним с эффектом НПВП (рис. 5, а). Суммарный «балл синергизма» также был максимален для декскетопрофена и кеторолака (рис. 5, б).

Анализ оценок синергизма ГС и НПВП по пяти разделам балльной шкалы также установил, что суммарная оценка по четырем из пяти разделов (кроме раздела 3 – противовоспалительные эффекты на клетках в культуре по отношению к различным цитокинам) была максимальной именно для декскетопрофена (рис. 5, в). В случае раздела 3 суммарный балл для декскетопрофена и кеторолака был одинаковым (25 баллов) и превышал значения для остальных НПВП.

Результаты оценки сочетанного действия ГС и НПВП на различные маркеры воспаления (в частности, ингибирование активности NF-kB, ЛПС-индуцированной экспрессии ФНОα и ИЛ6, активности MMP ADAM17, активирующей ФНОα) приведены на рис. 6. Продемонстрированы профили синергизма, характерные для каждого из исследованных сочетаний ГС и НПВП. Например, кеторолак более

или менее одинаково влияет на каждый из анализируемых маркеров, а декскетопрофен и эторикокиб — в существенно большей степени ингибируют NF-κB и ИЛ6 и т. д.

Таким образом, все исследованные молекулы НПВП в сочетании с ГС продемонстрировали синергичное влияние на основные маркеры воспаления. Этот результат указывает на целесообразность применения ГС в комплексе с изученными НПВП.

Проведенный ранее хемореактомный анализ декскетопрофена выявил его дополнительные свойства, не найденные у молекул сравнения [12]. Эти особенности декскетопрофена могут обуславливать наибольшую степень его синергизма с ГС. Во-первых, среди НПВП именно декскетопрофен наиболее выраженно ингибировал ЦОГ2 (в концентрации 10 мкМ, клетки sf-9, см. табл. 1): ингибирование составило  $90,9 \pm 31\%$ , для остальных НПВП —  $35-77 \pm 31\%$ ). Во-вторых, только для декскетопрофена показана возможность конкурентного ингибирования D<sub>2</sub>-рецептора простагландина (IC<sub>50</sub>=1235±913 нМ), который непосредственно опосредует эффекты провоспалительного простагландина D<sub>2</sub> (ПГD<sub>2</sub>). Как известно, ПГD<sub>2</sub> содержится преимущественно в тучных клетках и мозге [13], являясь основным медиатором вазомоторной гиперемической реакции верхней части тела в ответ на прием никотиновой кислоты (ниацин). Избыточная активация D<sub>2</sub>-рецепторов характерна для бронхиальной астмы и стимулирует развитие алопеции [14]. В-третьих, именно для декскетопрофена была наиболее характерна модуляция метаболизма провоспалительных лейкотриенов посредством ингибирования арахидонат-5-липоксигеназы (на 64% при концентрации 10 мкМ, остальные НПВП — 0–55%) и рецептора-1 лейкотриена (на 24% при 10 мкМ, остальные НПВП — 0–23%, см. табл. 1). В-четвертых, среди исследованных НПВП декскетопрофен проявлял наиболее выраженные ингибирующие свойства по отношению к различным ММП. Суммарный балл ингибирования ММП был наиболее высоким именно для декскетопрофена (см. рис. 5, б). Известно, что избыточная активность ММП соответствует ускоренной деградации коллагеновых и эластиновых волокон соединительной ткани, что

наблюдается при активации процессов воспаления в соединительной ткани кости и хряща.

Представленные в работе [12] результаты хемопротеомного анализа декскетопрофена указывают на существенно различные профили взаимодействия декскетопрофена и других НПВП с различными видами ферментов-цитохромов P450, которые метаболизируют поступающие в организм вещества. Декскетопрофен может снижать активность только четырех цитохромов: CYP17A1, CYP3A5, CYP4B1 (метаболизм стероидов) и CYP2D6 (метаболизм антиаритмиков, антагонистов адренорецепторов, антидепрессантов). В то же время такие НПВП, как, например, кетопрофен или диклофенак, воздействуют на гораздо более широкий диапазон цитохромов P450, что негативно сказывается на метаболизме стероидов, омега-3 полиненасыщенных жирных кислот и витамина D [12].

**Выводы.** Перспективным направлением в терапии патологии суставов является совместное использование ГС (Сустагард® Артро) и НПВП. При этом очень важно выбрать наиболее эффективную комбинацию этих препаратов.

Применение метода хемореактомного анализа позволило оценить степень синергизма ГС и НПВП на молекулярном уровне. Во-первых, все исследованные молекулы НПВП (кеторолак, нимесулид, диклофенак, мелоксикам, декскетопрофен, целекоксиб, эторикокиб) в сочетании с ГС демонстрируют более выраженное действие на различные маркеры воспаления, что подтверждает синергизм ГС и НПВП. Во-вторых, результаты дифференциального хемореактомного анализа позволяют утверждать, что из исследованных молекул НПВП декскетопрофен (и в меньшей степени кеторолак) наиболее эффективно дополняют фармакологические свойства ГС.

Для использования на практике может быть рекомендован следующий подход: на 1-й неделе лечения для быстрого устранения болевого синдрома назначается наиболее эффективная комбинация — ГС + декскетопрофен (либо ГС + кеторолак), после чего можно использовать комбинацию ГС с НПВП, прием которого в течение более длительного времени сопряжен с минимальными побочными эффектами.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Лила А.М., Громова О.А., Торшин И.Ю., Назаренко А.Г., Гоголев А.Ю. Молекулярные эффекты хондрогада при остеоартрите и грыжах межпозвоночного диска. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2017;9(3):88–97. [Lila AM, Gromova OA, Torshin IYu, et al. Molecular effects of chondroguard in osteoarthritis and herniated discs. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psichosomatika = Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics*. 2017;9(3):88–97. (In Russ.)]. doi: <http://dx.doi.org/10.14412/2074-2711-2017-3-88-97>
2. Campo GM, Avenoso A, Campo S, et al. Chondroitin-4-sulphate inhibits NF-κB translocation and caspase activation in collagen-induced arthritis in mice. *Osteoarthritis Cartilage*. 2008 Dec;16(12):1474–83. doi: 10.1016/j.joca.2008.04.002. Epub 2008 May 23.
3. Lo YL, Sung KH, Chiu CC, Wang LF. Chemically conjugating polyethylenimine with chondroitin sulfate to promote CD44-mediated endocytosis for gene delivery. *Mol Pharm*. 2013 Feb 4;10(2):664–76. doi: 10.1021/mp300432s. Epub 2013 Jan 14.
4. Kantor ED, Lampe JW, Navarro SL, et al. Associations between glucosamine and chondroitin supplement use and biomarkers of systemic inflammation. *J Altern Complement Med*. 2014 Jun;20(6):479–85. doi: 10.1089/acm.2013.0323. Epub 2014 Apr 16.
5. Kim MM, Mendis E, Rajapakse N, Kim SK. Glucosamine sulfate promotes osteoblastic differentiation of MG-63 cells via anti-inflammatory effect. *Bioorg Med Chem Lett*. 2007 Apr 1;17(7):1938–42. Epub 2007 Jan 19.
6. Torshin IYu. Bioinformatics in the post-genomic era: physiology and medicine. New York: NovaBiomedicalBooks; 2007.
7. Torshin IY, 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.
8. Torshin IY, 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*. 2014;24(1):11–23.
9. Torshin IYu, Rudakov KV. On metric spaces arising during formalization of recognition and classification problems. part 1: properties of compactness. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in*

- Mathematical Theory and Applications). 2016;26(2):274.
10. Торшин ИЮ, Громова ОА. Экспертный анализ данных в молекулярной фармакологии. Москва: МЦНМО; 2012. 768 с. [Torshin IYu, Gromova OA. *Ekspertnyi analiz dannykh v molekulyarnoi farmakologii* [Expert data analysis in molecular pharmacology]. Moscow: MTsNMO; 2012. 768 p.]
11. Bolton E, Wang Y, Thiessen PA, Bryant SH. PubChem: Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities. In: Annual Reports in Computational Chemistry. Vol. 4. Washington: American Chemical Society; 2008.
12. Торшин ИЮ, Громова ОА, Федотова ЛЭ, Громов АН. Сравнительный хемореактомный анализ декскетопрофена, кетопрофена и диклофенака. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2018;10(1): 47–54. [Torshin IYu, Gromova OA, Fedotova LE, Gromov AN. Comparative chemoreactome analysis of dexketoprofen, ketoprofen, and diclofenac. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2018;10(1):47–54. (In Russ.)]. doi: <http://dx.doi.org/10.14412/2074-2711-2018-1-47-54>.
13. Onaka Y, Shintani N, Nakazawa T, et al. Prostaglandin D2 signaling mediated by the CRTH2 receptor is involved in MK-801-induced cognitive dysfunction. *Behav Brain Res*. 2016 Nov 1;314:77-86. doi: 10.1016/j.bbr.2016.07.050.
14. Joo HW, Kang YR, Kwack MH, Sung YK. 15-deoxy prostaglandin J2, the nonenzymatic metabolite of prostaglandin D2, induces apoptosis in keratinocytes of human hair follicles: a possible explanation for prostaglandin D2-mediated inhibition of hair growth. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2016 Jul;389(7):809-13. doi: 10.1007/s00210-016-1257-z.
15. Li QY, Xu HY, Yang HJ. Effect of proinflammatory factors TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 on neuropathic pain. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2017 Oct;42(19):3709-3712. doi: 10.19540/j.cnki.cjcm.20170907.004.
16. Akeson G, Malemud CJ. A Role for Soluble IL-6 Receptor in Osteoarthritis. *J Funct Morphol Kinesiol*. 2017;2(3). pii: 27. doi: 10.3390/jfmk2030027.
17. Azim S, Nicholson J, Rebecchi MJ, et al. Interleukin-6 and leptin levels are associated with preoperative pain severity in patients with osteoarthritis but not with acute pain after total knee arthroplasty. *Knee*. 2018 Jan; 25(1):25-33. doi: 10.1016/j.knee.2017.12.001
18. Llorian-Salvador M, Gonzalez-Rodriguez S, Lastra A, et al. Involvement of CC Chemokine Receptor 1 and CCL3 in Acute and Chronic Inflammatory Pain in Mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2016 Jul;119(1): 32-40. doi: 10.1111/bcpt.12543.
19. Rump L, Matthey DL, Kehoe O, Middleton J. An initial investigation into endothelial CC chemokine expression in the human rheumatoid synovium. *Cytokine*. 2017 Sep;97:133-140. doi: 10.1016/j.cyto.2017.05.023.
20. Gommans YMM, Runhaar J, Jacobs ML, Bierma-Zeinstra SMA. The Effect of Prolonged Glucosamine Usage on HbA1c Levels and New-Onset Diabetes Mellitus in Overweight and Obese Middle-Aged Women. *Am J Med*. 2017 Jun;130(6):731-737.e6. doi: 10.1016/j.amjmed.2016.11.038. Epub 2016 Dec 21.

Поступила 25.03.2018

Исследование поддержано 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.