

НОВАЯ МИШЕНЬ И НАПРАВЛЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

УДК 615.32

doi: 10.17816/RCF1645-9

© **И.В. Черных, А.В. Шулькин, Н.М. Попова, Е.Е. Кириченко, Е.Н. Якушева**

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

Для цитирования: Черных И.В., Шулькин А.В., Попова Н.М., и др. Новая мишень и направление использования растительных полисахаридов в клинической практике. – 2018. – Т. 16. – № 4. – С. 5–9. doi: 10.17816/RCF1645-9

Поступила: 17.10.2018

Одобрена: 04.12.2018

Принята: 24.12.2018

Гликопротеин-P (Pgp, ABCB1-белок) — мембранный эффлюксный белок-транспортер, локализованный в энтероцитах, гепатоцитах, эпителиоцитах проксимальных почечных канальцев, гистогематических барьерах, а также в опухолевых клетках, который осуществляет выброс субстратов из клетки. Pgp играет важную роль в фармакокинетике широкого спектра лекарственных веществ, а также в формировании лекарственной устойчивости опухолевых клеток и эпилепсии, резистентной к фармакотерапии. Ингибирование функциональной активности Pgp является перспективным для повышения эффективности лекарственного лечения онкологических заболеваний и фармакорезистентной эпилепсии, так как позволит обеспечить поступление лекарственных веществ к мишеням действия. Однако в настоящее время ни один синтетический ингибитор белка-транспортера не применяется в клинической практике из-за развития нежелательных лекарственных реакций. Целью настоящего обзора явля-

ется поиск в доступной литературе доказательств перспективности использования растительных полисахаридов, их производных и химических модификаций в качестве эффективных, безопасных и экономически доступных ингибиторов белка-транспортера. В статье отражены особенности химической структуры субстратов и ингибиторов Pgp, возможности прогнозирования принадлежности лекарственных веществ к субстратам или ингибиторам белка-транспортера. Представлены результаты исследований, в которых изучали принадлежность ряда олиго- и полисахаридов к субстратам и ингибиторам Pgp, являющиеся предпосылками к проведению соответствующих экспериментов для полисахаридов растительного происхождения как *in vitro*, так и *in vivo*.

◆ **Ключевые слова:** гликопротеин-P; ABCB1-транспортер; субстраты; ингибиторы; полисахариды растительного происхождения.

VEGETATIVE POLYSACCHARIDES: NEW TARGET AND DIRECTION OF CLINICAL USE

© **I.V. Chernykh, A.V. Shchulkin, N.M. Popova, E.E. Kirichenko, E.N. Yakusheva**

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

For citation: Chernykh IV, Shchulkin AV, Popova NM, et al. Vegetative polysaccharides: new target and direction of clinical use. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2018;16(4):5-9. doi: 10.17816/RCF1645-9

Received: 17.10.2018

Revised: 04.12.2018

Accepted: 24.12.2018

P-glycoprotein (Pgp, ABCB1-protein) is a membrane efflux protein transporter located in hepatocytes, enterocytes, epithelial cells of the proximal renal tubules, histogemetic barriers, and also in tumor cells, which releases the substrates from cells and plays an important role in pharmacokinetics of drugs. Inhibition of Pgp functional activity is promising for increasing the effectiveness of drug treatment of oncological diseases and pharmacoresistant epilepsy, but today no synthetic inhibitor of the transporter can be used in clinical practice because of side effects development. The aim of this review is to prove the relevance to use polysaccharides of plant origin, their derivatives and chemical modifications

as effective, safe and cost-effective inhibitors of the transporter protein. The article describes the chemical structure of Pgp substrates and inhibitors, the ability to predict the drugs belonging to the transporter protein substrates or inhibitors. Some results of investigations of the belonging of oligo- and polysaccharides to Pgp substrates and inhibitors are presented. They are premises for carrying out appropriate experiments for polysaccharides of plant origin both *in vitro* and *in vivo*.

◆ **Keywords:** P-glycoprotein; ABCB1-protein; substrates; inhibitors; polysaccharides of plant origin.

Гликопротеин-P (Pgp, ABCB1-транспортер) — мембранный АТФ-зависимый эффлюксный белок-транспортер с широким спектром эндогенных

и экзогенных субстратов, локализованный в энтероцитах, гепатоцитах, эпителиоцитах проксимальных почечных канальцев, гистогематических барьерах

(включая гематоэнцефалический), а также в опухолевых клетках [1, 2]. Важную роль Pgp отводят в фармакокинетике лекарственных веществ, так как многие из них являются субстратами данного белка-транспортера, в том числе большинство цитостатиков и противоэпилептических средств. Pgp препятствует их всасыванию в тонком кишечнике, проникновению через гистогематические барьеры и способствует выведению в мочу и желчь, таким образом защищая организм от потенциально опасных экзогенных веществ. Однако подобная «защита» не всегда благоприятно сказывается на эффективности фармакотерапии. Повышение функциональной активности данного транспортера при приеме некоторых лекарственных средств (рифампицин, противоопухолевые средства, тирокин, эстрогенные препараты и пр.) и употреблении пищевых продуктов, а также на фоне ряда патологий (гипоксия, гипертермия и пр.) может приводить к снижению эффективности лекарственного лечения. Это особенно актуально при терапии онкологических заболеваний и эпилепсии — нозологий, при которых повышенная активность Pgp доказана исследованиями как *in vitro*, так и *in vivo* [1, 2].

Таким образом, Pgp может рассматриваться как новая мишень для лекарственных средств, а ингибирование белка-транспортера является перспективным для повышения эффективности лекарственного лечения указанных патологий, сопровождающихся гиперэкспрессией гена *ABCB1*, кодирующего Pgp, или количества и активности самого транспортера на мембранах клеток.

Первым ингибитором Pgp, который использовался в комбинированной терапии опухолей, был верапамил, однако клинические исследования показали, что его применение сопровождается появлением выраженных кардиальных побочных эффектов, и дальнейшие попытки использования препарата с целью ингибирования транспортера были прекращены [3].

В последние 30 лет было создано три поколения ингибиторов Pgp. Первое поколение представляет собой применяемые в клинической практике известные лекарственные средства, у которых была установлена способность ингибировать белок-транспортер. Так, ингибирование функциональной активности Pgp вызывают циклоспорин [4], кетоконазол [5] и др.

Средства второго поколения (дексверапамил, декснигулбин) являются химически модифицированными веществами первого поколения. Предполагалось лишить данные препараты специфической активности, сохранив способность ингибировать Pgp. Однако доклинические и клинические исследования препаратов первых двух поколений выявили их низкую эффективность и проблемы с токсичностью [6].

Третье поколение представляет собой ингибиторы, синтезированные *de novo* на основе данных о структуре известных ингибиторов белка-тран-

портера. Однако их использование часто приводит к увеличению побочных эффектов от проводимой фармакотерапии. Так, при применении селективного ингибитора Pgp тариквидара повышалась концентрация цитостатиков и противоэпилептических препаратов не только в ткани-мишени, но и в плазме крови и, следовательно, частота их системных побочных эффектов [7]. Таким образом, на данный момент ни один известный синтетический ингибитор Pgp не применяется в клинической практике из-за развития нежелательных лекарственных реакций.

Следует отметить, что препараты растительного происхождения обладают меньшим спектром побочных эффектов, чем синтетические, экономически более доступны [8, 9]. До настоящего времени в качестве ингибитора Pgp не было предложено ни одного препарата растительного происхождения. Наиболее перспективными растительными лекарственными средствами считаются препараты индивидуальных веществ, относящихся к различным классам химических соединений, таких как алкалоиды (атропина сульфат, кодеина фосфат, пилокарпина гидрохлорид), гликозиды (дигоксин, строфантин К), флавоноиды (рутин, кверцетин). Полисахариды используются в медицинской практике в основном в виде галеновых препаратов. Однако проводится активный скрининг некрахмальных полисахаридов высших растений и водорослей с целью разработки эффективных препаратов на основе индивидуальных веществ [10].

В настоящем обзоре мы провели поиск в доступной литературе доказательств перспективности использования растительных полисахаридов, их производных и химических модификаций в качестве ингибиторов Pgp для повышения эффективности фармакотерапии онкологических заболеваний и фармакорезистентной эпилепсии.

С химической точки зрения ингибиторы Pgp представляют собой липофильные вещества, содержащие атом азота (чаще третичный) и ароматические, карбо- или гетероциклические структуры (часто алкиларилловые эфиры), способные как формировать внутримолекулярные водородные связи, так и служить донорами высокоэлектроотрицательных атомов для формирования водородных связей с молекулой транспортера [11].

Для прогнозирования принадлежности лекарственных веществ к субстратам или ингибиторам Pgp разработан ряд компьютерных моделей. Например, на основе анализа химической структуры 484 субстратов и несубстратов белка-транспортера и 1935 его ингибиторов и неингибиторов V. Poongavanam et al. продемонстрировали, что отсутствие в молекуле вещества гидроксильной группы или его непринадлежность к алифатическим аминам свидетельствует о вероятном участии Pgp в фармакокинетике этого вещества [12]. Данный факт согласуется с тем, что абсолютное большинство известных субстратов Pgp — липофильные вещества, которые

путем пассивной диффузии проникают внутрь клеточных мембран и достигают гидрофобных сайтов связывания транспортера. Также весомая доля проанализированных в исследовании субстратов обладала эфирной связью (в том числе в гетероцикле) и ароматическим радикалом. Ингибиторы, по мнению V. Poongavanam et al., часто представляют собой третичные амины, при этом большая их часть — ароматические соединения, многие являются алкилариловыми эфирами, третичными алифатическими или ароматическими аминами.

Среди модуляторов Pgp обнаружены вещества пептидной структуры: так, некоторые полипептидные производные показали себя в качестве субстратов белка-транспортера [1].

Один из механизмов изменения функциональной активности Pgp заключается в непосредственном взаимодействии вещества с частями молекулы транспортера, при этом вероятно изменение его пространственной структуры, поэтому субстраты Pgp являются его потенциальными ингибиторами [2, 13].

Использование растительных полисахаридов в качестве ингибиторов Pgp продиктовано особенностями химического строения, поскольку в их структуре часто находятся функциональные группы, характерные для ингибиторов активности белка-транспортера. В первую очередь это свойственно так называемым инкрустирующим полисахаридам и водорастворимым пектинам (структурным гетерополисахаридам), часто содержащим аминосахара и полипептидные цепи, а также 20–30 % уроновым кислотам, которые химически преобразуются в сложноэфирные группировки. Кроме того, химическая структура полисахаридов предполагает возможность введения в их молекулы дополнительных функциональных групп, таких как аминогруппы. Следует также отметить, что полисахариды содержат в своей структуре высокоэлектроотрицательные атомы кислорода, способные предоставить электронные пары на формирование как внутримолекулярных водородных связей, так и связей с молекулой Pgp.

Ряд исследований показал принадлежность некоторых поли- и олигосахаридов к числу субстратов Pgp. На культурах опухолевых клеток выявлено, что гепарин, являющийся отрицательно заряженным высокосульфатированным полисахаридом, способен повышать внутриклеточную аккумуляцию химиопрепаратов-субстратов Pgp путем ингибирования функциональной активности ряда транспортеров семейства ABC (Adenosine Binding Cassette), к которым принадлежит Pgp. Это может быть обусловлено способностью гепарина связываться с большим числом экстрацеллюлярно расположенных белков (ростовые факторы, экстрацеллюлярные компоненты матрикса) и модулировать их активность благодаря своему заряду [14]. Аналогичные результаты получены и в исследовании *in vitro* на культуре клеток

опухоли молочной железы человека (MDA-MB231). Путем анализа внутриклеточного проникновения флуоресцентного субстрата транспортера — ацетоксиметилового эфира кальцеина было показано, что нефракционированный гепарин ингибирует функциональную активность транспортера [15].

Выявлено, что некоторые смолистые гликозиды (гликолипиды или липоолигосахариды) из семян ипомеи белой (*Ipomoea alba*) повышают восприимчивость культуры карциномы груди человека с феноменом множественной лекарственной устойчивости к винбластину [16].

Установлено, что четырехчасовое инкубирование культуры опухолевых клеток, экспрессирующих Pgp, и твердых липидных наночастиц (стеариновая кислота и сурфактант: лецитин и полоксамер 188) с паклитакселем, подвергнутыми ультразвуковой модификации с помощью 2-гидроксипропил- β -циклодекстриновой системы, приводило к возрастанию внутриклеточной аккумуляции химиопрепарата даже в большей степени, чем при аналогичной инкубации с классическим ингибитором белка-транспортера — верапамилом [17].

Показана перспективность использования наночастиц на основе декстрана для доставки доксорубина в опухолевые клетки с множественной лекарственной устойчивостью [18].

Выявлено, что олигомеры гиалуроновой кислоты (6–18 мономерных звеньев) повышают проникновение доксорубина в культуру опухолевых клеток периферических нервов, а также увеличивают цитотоксичность химиопрепарата *in vivo*. Это связано с тем, что олигосахарид конкурирует с полимером за связь со специфическими мембранными рецепторами CD44, образующими комплексы с рядом транспортеров, в том числе с Pgp. Полимеры формируют с рецепторами устойчивые поливалентные комплексы с высоким аффинитетом, при этом стимулируя как функциональную активность, так и экспрессию транспортеров. В то же время олигомеры образуют моновалентную связь с комплексом с низким аффинитетом, что в конечном счете приводит к распаду комплекса CD44–транспортеры и их интернализации в цитоплазму [19].

Установлено, что обработка культуры клеток модифицированным циклодекстрином (heptakis(2,6-di-O-methyl)-beta-cyclodextrin) повышает проницаемость их мембран в обоих направлениях и снижает активность Pgp, вероятно, за счет изменения микроокружения транспортера в мембране [20].

Результаты перечисленных выше исследований создают предпосылки к изучению принадлежности полисахаридов растительного происхождения к ингибиторам Pgp. Следует отметить, что полисахариды, как правило, не являются токсичными биологически активными веществами, несмотря на их высокое содержание и потенциальную биологическую активность. Поэтому можно предположить, что применение полисахаридов не приведет

к возникновению нежелательных лекарственных реакций. Кроме того, принадлежность некоторых веществ данной группы к числу антиоксидантов [21], возможно, будет снижать токсичность химиопрепаратов.

Таким образом, использование растительных полисахаридов в качестве эффективных, безопасных и экономически доступных ингибиторов функциональной активности Pgp является перспективным и требует комплексной проверки *in vitro* и *in vivo*.

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 18-315-00159 мол_а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кукес В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А., Раменская Г.В. Метаболизм лекарственных средств. Научные основы персонализированной медицины: руководство для врачей. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. [Kukes VG, Grachev SV, Sychev DA, Ramenskaya GV. Metabolizm lekarstvennykh sredstv. Nauchnye osnovy personalizovannoy meditsiny: rukovodstvo dlya vrachev. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. (In Russ.)]
2. Якушева Е.Н., Черных И.В., Щулькин А.В., Гацаного М.В. Методика определения принадлежности лекарственных средств к числу субстратов гликопротеина-P // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2015. – № 3. – С. 49–53. [Yakusheva EN, Chernykh IV, Shchul'kin AV, Gatsanoga MV. Methods of identification of drugs as P-glycoprotein substrates. *Rossiiskii mediko-biologicheskii vestnik*. 2015;(3):49-53. (In Russ.)]
3. Ozols RF, Cunnion RE, Klecker RW, Jr., et al. Verapamil and adriamycin in the treatment of drug-resistant ovarian cancer patients. *J Clin Oncol*. 1987;5(4):641-647. doi: 10.1200/JCO.1987.5.4.641.
4. Tournier N, Saba W, Cisternino S, et al. Effects of selected OATP and/or ABC transporter inhibitors on the brain and whole-body distribution of glyburide. *AAPS J*. 2013;15(4):1082-1090. doi: 10.1208/s12248-013-9514-2.
5. Yang Z, Vakkalagadda B, Shen G, et al. Inhibitory effect of ketoconazole on the pharmacokinetics of a multireceptor tyrosine kinase inhibitor BMS-690514 in healthy participants: assessing the mechanism of the interaction with physiologically-based pharmacokinetic simulations. *J Clin Pharmacol*. 2013;53(2):217-227. doi: 10.1177/0091270012439208.
6. Gottesman MM. Mechanisms of cancer drug resistance. *Annu Rev Med*. 2002;53:615-627. doi: 10.1146/annurev.med.53.082901.103929.
7. Puzstai L, Wagner P, Ibrahim N, et al. Phase II study of tariquidar, a selective P-glycoprotein inhibitor, in patients with chemotherapy-resistant, advanced breast carcinoma. *Cancer*. 2005;104(4):682-691. doi: 10.1002/cncr.21227.
8. Щулькин А.В., Черных И.В., Попова Н.М., Якушева Е.Н. Современные аспекты фитотерапии // Фармация. – 2016. – № 6. – С. 3–6. [Shchul'kin AV, Chernykh IV, Popova NM, Yakusheva EN. Phytotherapy: current aspects. *Farmatsiia*. 2016;(6):3-6. (In Russ.)]
9. Щулькин А.В., Попова Н.М., Черных И.В. Оригинальные и воспроизведенные лекарственные препараты: современное состояние проблемы // Наука молодых — Eruditio Juvenium. – 2016. – № 2. – С. 30–35. [Shchul'kin AV, Popova NM, Chernykh IV. The original and generic drugs: current state of the problem. *Nauka molo-dykh – Eruditio Juvenium*. 2016;(2):30-35. (In Russ.)]
10. Крыжановский С.П., Богданович Л.Н., Беседнова Н.Н., и др. Гиполипидемические и противовоспалительные эффекты полисахаридов морских бурых водорослей у пациентов с дислипидемией // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10. – С. 93–100. [Kryzhanovskiy SP, Bogdanovich LN, Besednova NN, et al. Hypolipidemic and anti-inflammatory effects of polysaccharides marine brown kelps in patients with dyslipidemia. *Fundamental research*. 2014;(10):93-100. (In Russ.)]
11. Seelig A, Landwojtowicz E. Structure-activity relationship of P-glycoprotein substrates and modifiers. *Eur J Pharm Sci*. 2000;12(1):31-40. doi: 10.1016/S0928-0987(00)00177-9.
12. Poongavanam V, Haider N, Ecker GF. Fingerprint-based in silico models for the prediction of P-glycoprotein substrates and inhibitors. *Bioorg Med Chem*. 2012;20(18):5388-95. doi: 10.1016/j.bmc.2012.03.045.
13. Garrigos M, Mir LM, Orłowski S. Competitive and non-competitive inhibition of the multidrug-resistance-associated P-glycoprotein ATPase – further experimental evidence for a multisite model. *Eur J Biochem*. 1997;244(2):664-73. doi: 10.1111/j.1432-1033.1997.00664.x.
14. Cheng JW, Zhang LJ, Hou YQ, et al. Association between MDR1 C3435T polymorphism and refractory epilepsy in the Chinese population: a systematic review and meta-analysis. *Epilepsy Behav*. 2014;36:173-179. doi: 10.1016/j.yebeh.2014.05.007.
15. Angelini A, Di Febbo C, Ciofani G, et al. Inhibition of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by unfractonated heparin: a new potential chemosensitizer for cancer therapy. *Cancer Biol Ther*. 2005;4(3):313-317. doi: 10.4161/cbt.4.3.1503.
16. Cruz-Morales S, Castaneda-Gomez J, Rosas-Ramirez D, et al. Resin Glycosides from *Ipomoea alba* Seeds as Potential Chemosensitizers in Breast Carcinoma Cells. *J Nat Prod*. 2016;79(12):3093-3104. doi: 10.1021/acs.jnatprod.6b00782.
17. Baek JS, Cho CW. 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin-modified SLN of paclitaxel for overcoming P-glycoprotein function in multidrug-resistant breast cancer cells. *J Pharm Pharmacol*. 2013;65(1):72-78. doi: 10.1111/j.2042-7158.2012.01578.x.
18. Kobayashi E, Iyer AK, Hornicek FJ, et al. Lipid-functionalized dextran nanosystems to overcome multidrug resistance in cancer: a pilot study. *Clin Orthop Relat Res*. 2013;471(3):915-925. doi: 10.1007/s11999-012-2610-2.
19. Slomiany MG, Grass GD, Robertson AD, et al. Hyaluronan, CD44, and emmprin regulate lactate efflux and membrane localization of monocarboxylate transporters in human

- breast carcinoma cells. *Cancer Res.* 2009;69(4):1293-1301. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2491.
20. Fenyvesi F, Fenyvesi E, Szente L, et al. P-glycoprotein inhibition by membrane cholesterol modulation. *Eur J Pharm Sci.* 2008;34(4-5):236-242. doi: 10.1016/j.ejps.2008.04.005.
21. Енгальчева Е.Е., Якушева Е.Н., Сычев И.А., Шулькин А.В. Изучение гепатопротекторной активности

полисахаридного комплекса цветков пижмы обыкновенной // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2015. – № 2. – С. 50–55. [Engalycheva EE, Yakusheva EN, Sychev IA, Shchul'kin AV. Study of hepatoprotective activity of flowers Tansy polysaccharide complex. *Rossiiskii mediko-biologicheskii vestnik.* 2015;(2):50-55. (In Russ.)]

♦ Информация об авторах

Иван Владимирович Черных — канд. биол. наук, ассистент кафедры общей и фармацевтической химии. ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань. E-mail: ivchernykh88@mail.ru.

Алексей Владимирович Шулькин — канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО. ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань. E-mail: alekseyskulkin@rambler.ru.

Наталья Михайловна Попова — канд. мед. наук, старший преподаватель кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО. ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань. E-mail: p34-66@yandex.ru.

Екатерина Евгеньевна Кириченко — канд. биол. наук, доцент кафедры общей и фармацевтической химии. ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань. E-mail: ekaterinakir2013@yandex.ru.

Елена Николаевна Якушева — д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой фармакологии с курсом фармации ФДПО. ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань. E-mail: e.yakusheva@rzgmu.ru.

♦ Information about the authors

Ivan V. Chernykh — PhD (Pharmacology), Assistant Professor, Department of General and Pharmaceutic Chemistry. Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia. E-mail: ivchernykh88@mail.ru.

Alexey V. Shchulkin — PhD (Pharmacology), Assistant Professor, Department of Pharmacology and Pharmacy. Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia. E-mail: alekseyskulkin@rambler.ru.

Natalya M. Popova — PhD (Pharmacology), Senior Lecturer, Department of Pharmacology and Pharmacy. Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia. E-mail: p34-66@yandex.ru.

Ekaterina E. Kirichenko — PhD (Pharmacology), Assistant Professor, Dept of General and Pharmaceutic Chemistry. Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia. E-mail: ekaterinakir2013@yandex.ru.

Elena N. Yakusheva — Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Head and Professor, Department of Pharmacology and Pharmacy. Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia. E-mail: e.yakusheva@rzgmu.ru.