

СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ ГЛИКОПРОТЕИНА-P И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ РАЦИОНАЛЬНОЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ

УДК 615.03

© **Е. Н. Якушева, А. В. Шулькин, Н. М. Попова, И. В. Черных, Д. С. Титов**

ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» МЗ РФ, г. Рязань

Ключевые слова:

гликопротеин — P; ABCB1; MDRI; структура; функции; рациональная фармакотерапия.

Резюме

В обзоре литературы охарактеризована структура и функции гликопротеина — P, описаны особенности его субстратов, индукторов и ингибиторов и возможности прогнозирования принадлежности к ним новых лекарственных веществ, представлены молекулярные механизмы изменения активности белка-транспортера под действием различных факторов.

ВВЕДЕНИЕ

Проникновение лекарственных веществ через биологические мембраны осуществляется как пассивной диффузией, так и с помощью транспортных систем, связанных с различными переносчиками. Важнейшим переносчиком ксенобиотиков является гликопротеин — P (Pgp) (от англ. permeability — проницаемость) — АТФ-зависимый белок-транспортер (ABCB1), относящийся к суперсемейству ABC-транспортеров (ATP-binding cassette) и участвующий в транспорте липофильных эндогенных и экзогенных субстратов из клетки [48].

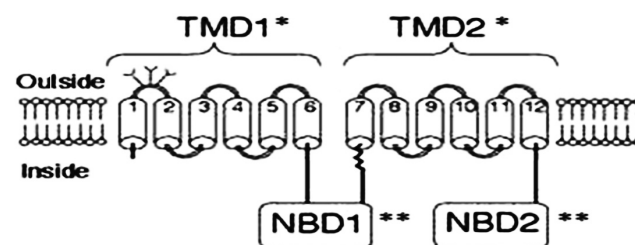
Впервые Pgp был обнаружен в 1976 году Juliano R. L. и Ling V. в опухолевых клетках яичника китайского хомяка [31]. В настоящее время данный белок-транспортер выявлен во многих органах и тканях человека и животных: в печени — на поверхности гепатоцитов, обращенной к желчным протокам и апикальной мембране малых билиарных протоков; в тонком и толстом кишечнике — на апикальной поверхности эпителиальных клеток; в почках — на апикальной мембране проксимальных канальцев; на апикальной поверхности малых протоков поджелудочной железы; в эпителиальных клетках коры надпочечников; в эндотелиоцитах гистогематических барьеров (гематоэнцефалического, гематоовариального, гематотестикулярного и гематоплацентарного); в клетках иммунной системы: зрелых макрофагах, клетках — киллерах, Т- и В-лимфоцитах, моноцитах [37, 53].

В эпителиоцитах кишечника Pgp осуществляет выброс (эффлюкс) лекарственных веществ — его субстратов — в просвет кишечника и снижает их всасывание. Локализуясь в гепатоцитах и почечном эпителии, он выводит ксенобиотики в просвет желчных капилляров и почечных канальцев соответственно, а в гистогематических барьерах обеспечивает их непроницаемость для липофильных веществ [16]. Таким образом, Pgp играет важную роль в фармакокинетике лекарственных препаратов, являющихся его субстратами.

СТРУКТУРА ГЛИКОПРОТЕИНА-P

Pgp — это крупный трансмембранный белок с молекулярной массой 170 кДа, который состоит из 1280 аминокислотных остатков, сгруппированных в 2 гомологичные половины (рис. 1) высотой 136 А и шириной 70 А. Каждая половина представляет собой большой трансмембранный гидрофобный домен (TMD), состоящий из 3 пар мембранно-связанных альфа-петель (TMs 1–3, 6, 10, 11 и TMs 4, 5, 7–9, 12), и один консервативный нуклеотидсвязывающий цитоплазматический домен (NBD), в котором находится АТФ-связывающий сайт [7].

Обе части белка-транспортера соединены между собой с помощью подвижного линкерного полипептида, который обеспечивает точное пространственное взаимодействие двух половин, и формируют большую внутреннюю полость, открытую как в цитоплазму, так и во внутрь мембра-



■ Рисунок 1. Молекулярная структура Pgp [40]

TMD1, TMD2 — transmembrane domain 1,2 (трансмембранные домены 1,2); NBD1, NBD2 — nucleotide binding domain 1,2 (нуклеотидсвязывающие домены 1, 2)

ны [2, 7, 53, 68]. Объем внутренней полости в билипидном мембранном слое составляет примерно 6000 Å и может вмещать одновременно, по крайней мере, 2 компонента [40].

Было показано, что удаление центрального ядра линкерного полипептида приводит к образованию Pgp, который экспрессируется на поверхности клетки, но не способен транспортировать ксенобиотики и не обладает стимулированной АТФазной активностью. Обратная замена модифицированного линкерного пептида на нативный приводит к восстановлению функциональной активности Pgp. Эти данные позволяют предположить, что взаимодействие двух половин белка-транспортера является обязательным для функционирования молекулы, и область линкера необходима для правильного взаимодействия двух половин [27].

Pgp образуется в результате гликозилирования первой экстрацеллюлярной петли pro-Pgp [36]. Исследования, проведенные на клеточных клонах, устойчивых к винкристину (субстрату Pgp), выявили, что N-гликозилирование необходимо для осуществления направленной ориентации в пространстве и стабильности молекулы белка-транспортера, но не играет решающей роли в транспортировке субстратов [49].

Сайт-направленным мутагенезом было выявлено, что главные субстрат-связывающие домены (drug bindings domains) рассеяны по молекуле Pgp и могут располагаться в трансмембранных доменах или около них (в 5, 6, 11 и 12 внутриклеточных петлях) и даже в АТФ-связывающих доменах [10, 41, 52, 58].

Участок, связывающий субстраты Pgp, предположительно состоит в основном из гидрофобных и ароматических остатков. Из 73 растворимых доступных остатков во внутренней полости 15 являются полярными и только два (His⁶⁰ and Glu⁸⁷¹), расположенные на N-концевой половине TMD, заряжены или потенциально заряжены [7].

Предполагается, что Pgp функционирует следующим образом. Липофильные субстраты распределяются в билипидной мембране от наружной поверхности клетки к внутреннему листку и входят во внутреннюю полость транспортера через открытый портал. Участок (остаток, радикал) в субстрат-связывающем домене соединяется с QZ59 компонентом, что приводит к взаимодействию АТФ с NBD. Затем происходит гидролиз молекулы АТФ с образованием АДФ и фосфата и выраженные конформационные изменения Pgp, в результате которых субстрат и субстрат-связывающий домен перемещаются к наружному листку клеточной мембраны и экстрацеллюлярному пространству [7, 9]. Далее АДФ и фосфат отщепляются от Pgp, после чего другая молекула АТФ связывается со вторым NBDs и происходит ее гидролиз. Последующее отщепление АДФ и фосфата сопровождается восстановле-

нием первоначальной конформации Pgp. Предполагается, что отщепление АДФ и фосфата является лимитирующей стадией каталитического процесса. При этом любой NBDs может первично связывать АТФ, однако работают они попеременно [7, 9].

Особенностью функционирования Pgp является наличие у него так называемой «базальной АТФ-азной активности». Изначально предполагалось, что она обусловлена транспортировкой эндогенных субстратов при отсутствии ксенобиотиков. Однако было показано, что белок-транспортер обладает АТФ-азной активностью и в отсутствие эндогенных субстратов [38]. Поэтому в настоящее время считается, что гидролиз АТФ необходим Pgp для поддержания определенной конформации, обеспечивающей его высокую активность и полиспецифичность [8].

СУБСТРАТЫ, ИНДУКТОРЫ И ИНГИБИТОРЫ ГЛИКОПРОТЕИНА-P

Pgp имеет широкую субстратную специфичность. Его субстратами являются соединения с молекулярной массой от 330 Да до 4000 Да. К субстратам белка-транспортера относятся органические катионы, слабые органические основания, некоторые органические анионы и незаряженные соединения, в том числе полипептиды и полипептидные производные. Группы лекарственных средств, которые транспортируют Pgp, включают антиаритмические средства, гипотензивные препараты, антиагреганты и антикоагулянты, сердечные гликозиды, статины, антибактериальные средства (макролиды, цефалоспорины, фторхинолоны), ингибиторы ВИЧ-протеиназы, стероидные гормоны, иммунодепрессанты, противоопухолевые препараты, флуоресцентные красители и др. [2, 3, 15, 64].

Причины такой полиспецифичности в настоящее время активно изучаются. Предполагается, что Pgp имеет множественные сайты, связывающие ксенобиотики, что позволяет ему транспортировать вещества различного химического строения [31, 60]. Возможно также, что для обеспечения широкой субстратной специфичности Pgp принимает различные конформации в цитоплазматической мембране по сравнению с его кристаллической структурой [7].

Воздействие ряда лекарственных веществ может модулировать активность белка-транспортера [1, 2, 5, 6]. Ингибиторы Pgp снижают его функциональную активность, что в ряде случаев ассоциировано с развитием нежелательных лекарственных реакций. Индукторы, напротив, повышают активность белка-транспортера, что меняет фармакинетику применяемых субстратов и способствует снижению эффективности проводимой фарма-

котерапии. Следует отметить, что индукция Pgp не имеет терапевтической ценности, в то время как ингибирование белка-транспортера является привлекательной целью для предотвращения множественной лекарственной устойчивости опухолей.

Для прогнозирования принадлежности новых лекарственных препаратов к субстратам или ингибиторам Pgp разрабатывались многочисленные компьютерные модели, основанные на структурном сходстве лигандов [19]. К ним относятся QSAR-исследования (Quantitative Structure-Property Relationship) [20], изучение фармакофоров [44], автоматическая оценка свойств [62] и стыковки в гомологии моделей [34].

Наиболее обобщенные данные представлены в публикации Poongavanam V. и соавт. (2012), в которой разработан алгоритм определения принадлежности вещества к субстратам или ингибиторам Pgp на основе данных о 484 субстратах/несубстратах белка транспортера и сведений о 1935 ингибиторах/неингибиторах Pgp с использованием программного метода и набора внутренних цифровых отпечатков, основанных на воспроизведении внутренних функциональных групп [46]. Авторами было показано, что основные различия в химической структуре между субстратами и несубстратами белка-транспортера заключаются в наличии в молекуле вещества гидроксильных групп и принадлежности несубстратов к алифатическим аминам. Эти данные согласуются с тем, что большинство субстратов Pgp являются гидрофобными веществами, что обеспечивает им свободное прохождение билипидной мембраны посредством пассивной диффузии и доступ к гидрофобным сайтам связывания белка-транспортера [35, 45].

Poongavanam V. и соавт. сформулировали 386 правил определения субстратов Pgp, при этом 35% соединений соответствуют хотя бы одному из следующих правил [45]:

Правило 1: у 123 веществ из 243 субстратов в молекуле есть эфирная связь, при этом 111 из 243 субстратов являются ароматическими соединениями.

Правило 2: 123 вещества из 243 субстратов являются аминами, при этом 115 из 234 субстратов — ароматические соединения.

Правило 3: 102 вещества из 243 субстратов являются гетероциклическими эфирами, при этом 96 из 243 субстратов — ароматические соединения.

Также были сформулированы правила прогнозирования принадлежности веществ к ингибиторам Pgp:

Правило 1. 749 из 1280 веществ являются третичными аминами, при этом 745 из 1280 — ароматические соединения.

Правило 2. 659 из 1280 веществ являются алкиларильными эфирами, при этом 659 из 1280 — ароматические соединения.

Правило 3. 810 из 1280 веществ являются аминами и гетероциклами, при этом 806 из 1280 — ароматические соединения.

Правило 4. 770 из 1280 веществ являются эфирами, при этом 759 из 1280 — ароматические соединения.

Правило 5. 1045 из 1280 веществ являются гетероциклическими соединениями, при этом 1017 из 1280 — ароматические соединения.

Правило 6. 748 из 1302 веществ являются третичными алифатическими аминами или третичными аминами (749 из 1280), при этом 745 из 1280 — ароматические соединениями.

Таким образом, с использованием всех разработанных моделей возможно правильно предсказать более 80% всех ингибиторов Pgp с общей точностью прогнозирования более 70%.

Учитывая широкую субстратную специфичность гликопротеина-P и его важную роль в фармакокинетике лекарственных препаратов, ведущие организации США (U. S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration и Center for Drug Evaluation and Research) совместно разработали рекомендации по тестированию межлекарственных взаимодействий с участием белков-транспортеров, в том числе Pgp (Drug Interaction Studies — Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations).

Согласно данным рекомендациям, все новые лекарственные препараты в США с 2010 года подвергаются тестированию на принадлежность к субстратам и ингибиторам Pgp на моделях *in vitro* [56]. В качестве объекта исследований используют линию клеток кишечника Caco-2 или другие клеточные линии, гиперэкспрессирующие Pgp. Если в опытах *in vitro* устанавливают, что новый лекарственный препарат является субстратом или ингибитором белка-транспортера, то в дальнейшем его изучают *in vivo*.

При оценке принадлежности тестируемого вещества к субстратам Pgp *in vivo* оценивается изменение фармакокинетики исследуемой субстанции при совместном введении с сильными индукторами и ингибиторами белка-транспортера [56]. При том желательно использовать селективные индукторы и ингибиторы, которые влияют только на Pgp при отсутствии эффекта на CYP3A4.

Для оценки принадлежности исследуемого вещества к ингибиторам Pgp оценивают фармакокинетику известного субстрата белка-транспортера (маркерного субстрата), при этом желательно, чтобы фармакокинетика данного вещества зависела в основном от функционирования Pgp [56]. Замедление выведения маркерного субстрата белка-транспортера свидетельствует об ингибировании активности Pgp под действием изучаемого вещества.

Из-за отсутствия одобренных *in vitro* систем для исследования индукторов Pgp оценка индуцирующего влияния веществ на белок-транспортер производится в основном *in vivo*. Вследствие сходства в механизмах индукции CYP3A и Pgp, по данным об индукции CYP3A под действием тест-вещества, можно косвенно судить и об его влиянии на Pgp. Если исследуемая лекарственная субстанция не вызывает индукцию CYP3A *in vitro*, то дальнейшее тестирование влияния данного вещества на функциональную активность Pgp *in vivo* нецелесообразно [56]. Если изучаемое лекарственное вещество не влияет на активность CYP3A *in vivo*, хотя и индуцировало его активность *in vitro*, то дальнейших исследований его влияния на функционирование Pgp *in vivo* проводить не требуется. Однако если в опытах *in vivo* исследуемое вещество индуцировало CYP3A, то рекомендовано также изучение его влияния на активность Pgp *in vivo* [56].

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИНДУКЦИИ И ИНГИБИРОВАНИЯ ГЛИКОПРОТЕИНА-P

Суммируя современные представления, можно выделить следующие механизмы изменения функциональной активности Pgp:

- 1) изменение экспрессии гена *MDR1*;
- 2) полиморфизм гена *MDR1*;
- 3) изменение активности синтезированного белка-транспортера;
- 4) увеличение дозы (амплификация) гена *MDR1*;
- 5) изменение метаболизма клеток;
- 6) стабилизация мРНК гена *MDR1*;
- 7) передача Pgp между клетками.

Изменение экспрессии гена *MDR1*

Pgp кодируется генами *MDR* (multidrug resistance gene), которые включают у человека два гена (*MDR1* и *MDR2*), а у грызунов — три гена (*mdr1*, *mdr2* и *mdr3*). Гены *MDR1* человека, *mdr1* и *mdr3* грызунов (также известные как *mdr1b* и *mdr1a* соответственно) вовлечены в механизмы развития лекарственной устойчивости [28, 46]. Человеческий ген *MDR1* располагается на 7-й хромосоме, диапазон р21–21,1, и содержит 28 экзонов, распространяясь более чем на 100 килобаз, кб (kilobase, kb) [12]. Увеличение экспрессии гена *MDR1* приводит к повышению активности Pgp, а уменьшение экспрессии гена — к ее снижению.

На экспрессию гена *MDR1* может оказать влияние ряд факторов внешней среды и химических веществ. Экспрессия гена *MDR1* увеличивается под влиянием гипертермии, при этом максимальный эффект выражен при температуре 42 °C [63]. Показано, что промотор гена *MDR1* содержит элемент теплового шока (HSE) в позициях от –152 до –178 и от –99 до –66 и способен связывать

фактор теплового шока (HSF) [43]. Было установлено, что с фактором теплового шока взаимодействует последовательность HSF1 –315 до –285 области промотора гена *MDR1*, чем и объясняется индуцирующее влияние гипертермии на экспрессию гена [61].

Активация экспрессии гена *MDR1* происходит также в условиях гипоксии, при этом существенную роль играют транскрипционные факторы: HIF-1 α (Hypoxia-inducible factor 1) и Sp1 (Specificity protein 1). Установлено, что, за связывание с HIF-1 отвечает последовательность от –49 до –45 промотора гена *MDR1* [18].

Обнаружено, что экспрессия гена *MDR1* активируется под действием УФ-излучения и различных химических веществ, таких как бутират натрия, ретиноевая кислота, некоторые химиотерапевтические средства [51]. Показано, что сигналы от всех этих стимулов сходятся на область промотора гена *MDR1*, которая получила название энхансома (enhanceosome) [30]. Этот участок включает сайты связывания трехмерного транскрипционного фактора NF- Υ (nuclear factor Υ) и Sp-семейства GC-связывающих факторов транскрипции. Вместе эти ДНК-связывающие белки собирают ацетилтрансферазу гистонов PCAF (P300/CBP-associated factor) к промотору *MDR1*, в результате чего ацетируются проксимальные гистоны промотора и происходит последующая активация транскрипции, что, вероятно, опосредует дальнейшее ремоделирование хроматина [30].

На клетках карциномы ободочной кишки LS174T выявлено, что рифампицин вызывает индукцию экспрессии гена *MDR1* опосредованно через прегнан-Х-рецептор, который связывается с последовательностью DR4 в верхней части промотора (примерно –8000 пар оснований) [22].

В экспериментах *in vitro* показано, что интерлейкин-2, интерферон- γ и фактор некроза опухоли- α аналогичным образом уменьшают экспрессию гена *MDR1*, воздействуя на промотор гена [54].

Полиморфизм гена *MDR1*

Системный скрининг гена *MDR1* выявил около 50 замен одного нуклеотида на другой, так называемых полиморфизмов одного нуклеотида — SNP (single nucleotide polymorphisms) [50]. В научной литературе описан только один полиморфизм, который связан с нарушением функционирования Pgp. Это «молчащая» мутация в экзоне 26 в позиции 3435 (С3435 Т) — замена цитозинового нуклеотида на тимидиновый в промоторной зоне гена *MDR1* [70].

Hoffmeyer S. и соавт. впервые показали, что у гомозигот по аллелю ТТ экспрессия гена *MDR1* в тонком кишечнике была более чем в 2 раза меньше экспрессии гена *MDR1* у гомозигот СС (р=0,056), что свидетельствовало о более высокой активности Pgp у лиц с генотипом СС [26].

В дальнейшем последовал целый ряд исследований, в которых как подтверждались, так и опровергались данные результаты. В мета-анализе 8 исследований, посвященных изучению ассоциации полиморфных маркеров C3435 T гена *MDR1*, не было выявлено существенных различий в значениях $AUC_{0-4ч}$ маркерного субстрата Pgp дигоксина между лицами с генотипами CC и CT, TT или (CT+TT) (CC-CT: $-0,04 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{ч}$, 95 % ДИ: $-0,86$ до $0,77$; CC-TT: $0,50 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{ч}$, 95 % ДИ: $-0,08$ до $1,08$; CC-(CT+TT): $0,12 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{ч}$, 95 % ДИ: $-0,68$ до $0,91$) [11]. Значения $AUC_{0-24ч}$ у добровольцев с генотипами CC и CT, TT или (CT+TT) также не имели достоверных различий (CC-TT: $-1,06 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{ч}$, 95 % ДИ: $-4,70$ до $2,58$; CC-CT: $0,60 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{ч}$, 95 % ДИ: $-2,03$ до $3,24$; CC-(CT+TT): $-0,41 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{ч}$, 95 % ДИ: $-3,22$ до $2,40$), а *Cmax* дигоксина у лиц с генотипом CC была достоверно ниже данного показателя у носителей генотипа TT (CC-TT: $-0,31 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1}$, 95 % ДИ: $-0,59$ до $-0,02$). Отсутствие динамики $AUC_{0-1ч}$ дигоксина свидетельствует о том, что активность Pgp существенным образом не зависела от генотипа по полиморфному маркеру C3435 T гена *MDR1* [11].

При проведении субпопуляционного анализа было выявлено, что у пациентов европеоидной расы с генотипом CC по сравнению с лицами с генотипом TT отмечалось достоверное снижение $AUC_{0-4ч}$ дигоксина ($-0,73 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{ч}$, 95 % ДИ: $-1,41$ до $-0,06$), $AUC_{0-24ч}$ ($-2,92 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{ч}$, 95 % ДИ: $-5,04$ до $-0,80$) и *Cmax* ($-0,40 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{ч}$, 95 % ДИ: $-0,66$ до $-0,14$). В субпопуляции японских добровольцев у лиц с генотипом CC установлен более высокий уровень $AUC_{0-4ч}$ по сравнению с индивидуумами с генотипом TT (CC-TT: $0,72 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{ч}$, 95 % ДИ: $0,24$ до $1,19$) [11]. Таким образом, у европейцев активность Pgp была выше у носителей генотипа CC, а у японцев — у носителей генотипа TT.

Одним из возможных объяснений полученных результатов может быть то, что в разных популяциях, кроме полиморфизма C3435 T гена *MDR1*, могут встречаться и другие полиморфизмы, имеющие клиническое значение.

Изменение активности синтезированного белка-транспортера

Активность синтезированного Pgp может изменяться под влиянием ряда биохимических процессов. Установлено, что белок-транспортер фосфорилируется по многочисленным сайтам, особенно по цитоплазматической области линкера, соединяющего две гомологичные половины [24]. В уточняющих экспериментах с помощью мутагенеза потенциальных сайтов фосфорилирования и прямого определения функции Pgp было показано, что фосфорилирование не играет существенной роли в транспортной функции этого белка, однако ковалентные модификации могут оказать модулирующий эффект на его субстратную специфичность

и селективность [23]. По некоторым данным, стабильность Pgp может регулироваться убиквитированием [69].

К ингибированию функциональной активности Pgp приводит непосредственный контакт вещества-ингибитора с участками связывания субстратов на трансмембранном домене и вытеснение последних [12]. Такой тип ингибирования характерен только для липофильных веществ [67].

Следует отметить, что угнетать Pgp способны вещества как принадлежащие, так и не принадлежащие к числу его субстратов. Некоторые вещества, например флавоноиды, способны ингибировать АТФ-азную активность белка-транспортера и конкурировать с субстратами за эффлюкс с помощью Pgp [29]. Ловастатин транспортируется Pgp и оказывает угнетающее влияние на транспортер в слизистой оболочке кишечника [17].

Прогестерон не является субстратом белка-транспортера [25], однако снижает его функциональную активность, предположительно нарушая процесс связывания Pgp с его субстратами [66] или изменяя активность сайта, ответственного непосредственно за выброс субстратов [57]. О наличии такого сайта свидетельствует то, что замена аминокислоты глицина на валин в положении 185 молекулы Pgp приводит к изменению эффлюксной активности белка-транспортера, которая не коррелирует с изменением аффинитета по отношению к определенным его субстратам [47]. Верапамил снижает функциональную активность Pgp, связываясь с сайтом, отличным от сайта связывания прогестерона [14].

Увеличение дозы (амплификация) гена MDR1

Увеличение дозы гена *MDR1* представляет собой амплификацию участка генома, содержащего ген. В исследовании Kitada K. и др. показано, что при обработке линии клеток рака легких РТХ250 индуктором Pgp — паклитакселем произошло увеличение числа копий гена *MDR1* в 11 раз, а размер ампликона составил 2,7 мегабайт [32].

На сублиниях клеток рака легких No15-80-1 и No15-80-6, полученных при обработке клеточной линии NCI-H460 повышающимися дозами паклитакселя (от 50 до 800 нмоль/л), выявлена амплификация области гена *MDR1* с разным числом копий, но общим паттерном амплификации, сопровождающаяся увеличением активности Pgp [33].

Изменение метаболизма клеток

Pgp является АТФ-зависимым белком транспортером, то есть для его функционирования необходима энергия АТФ. В исследовании на клетках, гиперэкспрессирующих Pgp, было показано, что ингибитор метаболических процессов азид натрия подавляет функциональную активность данного белка-транспортера [59].

■ Таблица 1. Субстраты, ингибиторы и индукторы гликопротеина-P по [2, 64] в собственной модификации

| Группа | Лекарственное вещество | Субстрат | Ингибитор | Индуктор |
|----------------------------|--------------------------------|----------|-----------|----------|
| Антибактериальные средства | Эритромицин | + | + | - |
| | Кларитромицин | + | + | - |
| | Рифампицин | + | - | + |
| | Тетрациклин | + | - | - |
| | Цефазолин | + | - | - |
| | Цефоперазон | + | - | - |
| | Левифлоксацин Спарфлоксацин | + | - | - |
| Антиаритмические средства | Амиодарон | - | + | - |
| | Верапамил | + | + | - |
| | Дигоксин* | + | - | - |
| | Хинидин | + | + | - |
| Гипотензивные средства | Каптоприл | - | + | - |
| | Карведилол | - | + | - |
| | Нифедипин | - | + | - |
| | Лозартан | + | + | - |
| Статины | Аторвастатин | + | + | - |
| | Симвастатин | + | + | - |
| Антикоагулянты | Варфарин | + | + | - |
| | Дабигатран | + | - | - |
| | Ривароксабан | + | - | - |
| Антиагреганты | Клопидогрел | + | - | - |
| | Тикагрелол | + | + | - |
| Стероиды | Гидрокортизон | + | + | - |
| | Дексаметазон | + | - | + |
| Антигистаминные средства | Лоратадин | - | + | - |
| | Фексофенадин* | + | - | - |
| Антидепрессанты | Флуоксетин | - | + | - |
| | Амитриптиллин | + | + | - |
| | Пароксетин | + | - | - |
| Цитостатики | Винбластин | + | + | - |
| | Винкристин | + | + | - |
| | Доксорубицин* | + | - | - |
| | Циклоспорин | + | + | - |

Примечание: * — маркерные субстраты Pgp

Стабилизация мРНК гена MDR1

Повышение активности Pgp может быть связано со стабилизацией мРНК гена MDR1. При изучении множественной лекарственной устойчивости опухолей на миелогенных лейкоэмических клетках K562 установлено, что короткий период жизни мРНК гена MDR1 нативных клеток (1 час) увеличивался до 12–16 ч после кратковременного воздействия индукторами Pgp — колхицином и доксорубицином [65]. При этом стабилизация мРНК не была связана с трансляцией с полирибосом и непрямым синтезом Pgp и не сопровождалась увеличением экспрессии белка-транспортера.

В другом исследовании показано, что обработка культуры клеток Т-клеточного лейкоза цитостатиком цитарабином в течение 36 часов приводила к увеличению периода полужизни мРНК гена MDR1 с 30 мин у контрольной культуры до 6 часов [4].

Передача Pgp между клетками

В работах по исследованию лекарственной устойчивости опухолей установлена передача резистентности [21, 55], и чувствительности [42] к химиотерапевтическим средствам между гетерогенными популяциями опухолевых клеток, опосредованная передачей Pgp между ними.

В исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что передача Pgp происходит тем интенсивнее, чем большее его количество экспрессировалось резистентными клетками [39]. Причем подобная передача возможна между клетками различного происхождения: опухолевыми и неизмененными; человеческими и мышечными. Установлено, что транспорт Pgp осуществляется посредством связывания с крупными микрочастицами цитоплазматических мембран (более 0,8 мкм), однако при этом не происходит слияния клеток и формирования между ними щелевых контактов [39].

Передача Pgp чувствительным клеткам замедляет их рост и формирует нестабильное резистентное состояние, но позволяет им выжить в среде, содержащей высокие дозы антибиотика, в течение времени, достаточного для приобретения собственной резистентности за счет самостоятельной экспрессии Pgp [39].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гликопротеин-P является полиспецифичным белком-транспортером, играющим важную роль в фармакокинетике лекарственных веществ, являющихся его субстратами. Модуляция активности Pgp под влиянием его индукторов или ингибиторов может привести к снижению эффективности проводимой фармакотерапии и к развитию нежелательных лекарственных реакций, что обуславливает необходимость тестирования лекарственных препаратов на принадлежность к субстратам, индукторам и ингибиторам белка-транспортера с применением моделей *in vitro* и *in vivo*. Изменение активности Pgp может происходить вследствие изменения экспрессии гена *MDR1*, полиморфизма гена *MDR1*, изменения активности синтезированного белка-транспортера, амплификации гена *MDR1*, изменения метаболизма клеток, стабилизации мРНК гена *MDR1*, передачи Pgp между клетками. Явления индукции и ингибирования Pgp, их клиническое значение в настоящее время исследованы недостаточно, механизмы их развития требуют более детального изучения, что позволит повысить эффективность и безопасность фармакотерапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бирюкова А. С., Якушева Е. Н., Шулькин А. В., Никифорова Л. В. Влияние тироксина на функциональную активность гликопротеина-P в эксперименте // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. — 2011. — № 4. — С. 49–53.
2. Кулес 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.
3. Середенин С. Б. Лекции по фармакогенетике. — М.: МИА, 2004.
4. Штиль А. А. Развитие множественно лекарственной устойчивости как срочный ответ клетки на экзогенные воздействия // Биологические мембраны. — 2003. — Т. 20, № 3. — С. 236–243.
5. Якушева Е. Н., Черных И. В., Бирюкова А. С. Характеристика гликопротеина-P как белка-транспортера лекарственных веществ // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. — 2011. — № 3. — С. 142–148.
6. Якушева Е. Н., Черных И. В. Влияние финастерида на функциональную активность гликопротеина-P в эксперименте // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. — 2012. — № 4. — С. 46–50.
7. Aller S. G., Yu J., Ward A. et al. Structure of P-glycoprotein Reveals a Molecular Basis for Poly-Specific Drug Binding // Science. — 2009. — Vol. 323, № 5922. — P. 1718–1722.
8. Al-Shawi M. K., Polar M. K., Omote N. et al. Transition state analysis of the coupling of drug transport to ATP hydrolysis by P-glycoprotein // Biol. Chem. — 2003. — Vol. 278. — P. 52629–52640.
9. Ambudkar S. V., Kim I. V., Sauna Z. E. The power of the pump: Mechanisms of action of P-glycoprotein (ABCB1) // Eur. J. Farm. Sci. — 2006. — Vol. 27, № 5. — P. 392–400.
10. Ambudkar S. V., Dey S., Hrycyna C. et al. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. — 1999. — Vol. 39. — P. 361–398.
11. Balram C., Huihua Li, Machin D. et al. Meta-analysis of the influence of *MDR1* C3435T polymorphism on digoxin pharmacokinetics and *MDR1* gene expression // Br. J. Clin. Pharm. — 2005. — Vol. 60, № 2. — P. 159–171.
12. Callaghan R., Berridge G., Ferry D. R., Higgins C. F. The functional purification of P-glycoprotein is dependent on maintenance of a lipid-protein interface // Biochim. Biophys. Acta. — 1997. — Vol. 1328. — P. 109.
13. Callen D. F., Baker E., Simmers R. N. et al. Localization of the human multiple drug resistance gene, *MDR1*, to 7q21.1 // Hum. Genet. — 1987. — Vol. 77. — P. 142–144.
14. Carrigos M., Mir L. M., Orłowski S. Competitive and Non-Competitive Inhibition of the Multidrug-Resistance-Associated P-glycoprotein ATPase // Eur. J. Biochem. — 1997. — Vol. 244, № 2. — P. 664–673.
15. Chin L. W., Kroetz D. L. P-gp pharmacogenetics: progress, pitfalls and promise // Clin. Pharmacol. Ther. — 2007. — Vol. 81, № 2. — P. 265–269.
16. Choi Y. H., Yu A. M. ABC transporters in multidrug resistance and pharmacokinetics, and strategies for drug development // Curr. Pharm. Des. — 2013 May 13. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23688078> (дата обращения 22.12.2013).
17. Chung J. W., Yang S. H., Choi J. S. Effects of lovastatin on the pharmacokinetics of nifedipine in rat // Biopharm. Drug Dispos. — 2010. — Vol. 31, № 7. — P. 436–441.
18. Comerford K. M., Wallace T. J., Karhausen J. et al. Hypoxia-inducible Factor-1-dependent Regulation of the Multidrug Resistance (*MDR1*) Gene // Cancer Res. — 2002. — Vol. 62. — P. 3387.
19. Ecker G. F., Stockner T., Chiba P. Computational models for prediction of interactions with ABC-transporters // Drug Discov Today — 2008. — Vol. 13, № 7–8. — P. 311–317.
20. Ekins S., Kim R. B., Leake B. F. et al. Application of three-dimensional quantitative structure-activity relationships of P-glycoprotein inhibitors and substrates // Mol Pharmacol. — 2002. — Vol. 61, № 5. — P. 974–981.
21. Frankfurt O. S., Seckinger D., Sugarbaker E. V. Intercellular transfer of drug resistance // Cancer Res. — 1991. — Vol. 51, № 4. — P. 1190–1195.
22. Geick A., Eichelbaum M., Burk O. Nuclear Receptor Response Elements Mediate Induction of Intestinal *MDR1* by Rifampin // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276. — P. 14581–14587.
23. Germann U. A., Chambers T. C., Ambudkar S. V. et al. Characterization of phosphorylation-defective mutants of human P-glycoprotein expressed in mammalian cells // Biol. Chem. — 1996. — Vol. 271. — P. 1708–1716.
24. Glavy J. S., Horwitz S. B., Orr G. A. Identification of the *in vivo* phosphorylation sites for acidic-directed kinases in murine *mdr1b* P-glycoprotein // Biol. Chem. — 1997. — Vol. 272. — P. 5909–5914.
25. Hamilton K. O., Yazdani M. A., Audus K. L. Modulation of P-glycoprotein activity in Calu-3 cells using steroids and beta-ligands // Int. J. Pharm. — 2001. — Vol. 228, № 1–2. — P. 171–179.

26. Hoffmeyer S., Burk O., von Richter O. et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity *in vivo* // Proc. Nat. Acad. Sci. — 2000. — Vol. 97, № 7. — P. 3473–3478.
27. Hrycyna C.A., Ramachandra M., Ambudkar S.V. et al. Mechanism of action of human P-glycoprotein ATPase activity photochemical cleavage during a catalytic transition state using orthovanadate reveals cross-talk between the two ATP sites // J. Biol. Chem. — 1998. — Vol. 273. — P. 16631–16634.
28. Hudachek S.F., Gustafson D.L. Incorporation of ABCB1-mediated transport into a physiologically-based pharmacokinetic model of docetaxel in mice // J. Pharmacokinet. Pharmacodyn. — 2013. — Vol. 40, № 4. — P. 437–449.
29. Jaganathan S.K. Can flavonoids from honey alter multidrug resistance? // Med. Hypotheses. — 2011. — Vol. 76, № 4. — P. 535–537.
30. Jin S. Transcriptional Regulation of the *MDR1* gene by histone acetyltransferase and deacetylase is mediated by NF- κ B // Mol. Cell. Biol. — 1998. — Vol. 18. — P. 4377–4384.
31. Juliano R.L., Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants // Biochem. Biophys. Acta — 1976. — Vol. 455, № 1. — P. 155–162.
32. Kitada K., Yamasaki T. The MDR1/ABCB1 regional amplification in large inverted repeats with asymmetric sequences and microhomologies at the junction sites // Cancer Genet. Cytogenet. — 2007. — Vol. 178, № 2. — P. 120–127.
33. Kitada K., Yamasaki T., Aikawa S. Amplification of the ABCB1 region accompanied by a short sequence of 200bp from chromosome 2 in lung cancer cells // Cancer Genet. Cytogenet. — 2009. — Vol. 194, № 1. — P. 4–11.
34. Klepsch F., Chiba P., Ecker G.F. Exhaustive sampling of docking poses reveals binding hypotheses for propafenone type inhibitors of P-glycoprotein // PLoS Comput. Biol. — 2011. — Vol. 7, № 5. — e1002036.
35. Klopman G., Shi L.M., Ramu A. Quantitative structure-activity relationship of multidrug resistance reversal agents // Mol. Pharmacol. — 1997. — Vol. 52. — P. 323.
36. Kramer R., Weber T.K., Arcenci R. Inhibition of N-linked glycosylation of P-glycoprotein by tunicamycin results in a reduced multidrug resistance phenotype // Br. J. Cancer. — 1993. — Vol. 71. — P. 670–676.
37. Lee C.Y., Lai T.Y., Wu Y.M. et al. Gene expression of P-glycoprotein and cytochrome P4503a4 in peripheral blood mononuclear cells and correlation with expression in liver // Transplant. Proc. — 2010. — Vol. 42, № 3. — P. 834–836.
38. Lerner-Marmarosh N., Gimi K., Urbatsch I.L. et al. Large scale purification of detergent-soluble P-glycoprotein from *Pichia pastoris* cells and characterization of nucleotide binding properties of wild-type, Walker A, and Walker B mutant proteins // Biol. Chem. — 1999. — Vol. 274. — P. 34711–34718.
39. Levchenko A., Mehta B.M., Niu X. et al. Intercellular transfer of P-glycoprotein mediates acquired multidrug resistance in tumor cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2005. — Vol. 102, № 6. — P. 1933–1938.
40. Loo T.W., Bartlett M.C., Clark D.M. Substrate-induced conformational changes in the transmembrane segments of human P-glycoprotein. Direct evidence for the substrate-induced fit mechanism for drug binding // Biol. Chem. — 2003. — Vol. 278, № 16. — P. 13603–13606.
41. Loo T.W., Clarke D.M. Functional consequences of glycine mutations in the predicted cytoplasmic loops of P-glycoprotein // J. Biol. Chem. — 1994. — Vol. 269. — P. 7243–7248.
42. Miller B.E., Machemer T., Lehotan M. et al. Tumor subpopulation interactions affecting melphalan sensitivity in palpable mouse mammary tumors // Cancer Res. — 1991. — Vol. 51, № 16. — P. 4378–4387.
43. Miyazaki M., Kohno K., Uchiumi T. et al. Activation of human multidrug resistance-1 gene promoter in response to heat shock stress // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1992. — Vol. 187. — P. 677–684.
44. Pajeva I.K., Globisch C., Wiese M. Combined pharmacophore modeling, docking, and 3D QSAR studies of ABCB1 and ABCC1 transporter inhibitors // Chem. Med. Chem. — 2009. — Vol. 4, № 11. — P. 1883–1896.
45. Poongavanam V., Haider N., Ecker G.F. Fingerprint-based *in silico* models for the prediction of P-glycoprotein substrates and inhibitors // Bioorg. Med. Chem. — 2012. — Vol. 20, № 18. — P. 5388–5395.
46. Robinson L.J., Roberts W.K., Ling T.T. et al. Human MDR1 protein over expression delays the apoptotic cascade in Chinese hamster ovary fibroblasts // Biochem. — 1997. — Vol. 36. — P. 11169–11178.
47. Safa A.R., Stern R.K., Choy K. et al. Molecular basis of preferential resistance to colchicine in multidrug-resistant human cells conferred by Gly-185—Val-185 substitution in P-glycoprotein // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1990. — Vol. 87, № 18. — P. 7225–7229.
48. Schinkel A.H. et al. Normal viability and altered pharmacokinetics in mice lacking *mdr1*-type (drug, transporting) P-glycoproteins // Proc. natl. acad. sci. — 1997. — Vol. 94. — P. 4028–4033.
49. Schinkel A.H., Kemp S., Dolle M. et al. N-glycosylation and deletion mutants of the human MDR1 P-glycoprotein // Biol. Chem. — 1993. — Vol. 268, № 10. — P. 7474–7481.
50. Schwab M., Eichelbaum M., Fromm M.F. Genetic polymorphisms of the human *mdr1* drug transporter // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. — 2003. — Vol. 43. — P. 285–307.
51. Scotto K.W., Egan D. Transcriptional regulation of *MDR* genes // Cytotechnology. — 1998. — Vol. 27. — P. 257–269.
52. Shapiro A.B., Ling V. Stoichiometry of coupling of rhodamine 123 transport to ATP hydrolysis by P-glycoprotein // Eur. J. Biochem. — 1998. — Vol. 254. — P. 189–193.
53. Sharom F.J. The P-glycoprotein multidrug transporter // Essays. Biochem. — 2011. — Vol. 50. — P. 161–178.
54. Stein U., Walther W., Shoemaker R.N. Modulation of *mdr1* expression by cytokines in human colon carcinoma cells: an approach for reversal of multidrug resistance // Br. J. Cancer. — 1996. — Vol. 74, № 9. — P. 1384–1391.
55. Tofilon P.J., Buckley N., Deen D.F. Effect of cell-cell interactions on drug sensitivity and growth of drug-sensitive and -resistant tumor cells in spheroids // Science. — 1984. — Vol. 226, № 4676. — P. 862–864.
56. U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: drug interaction studies study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations. URL: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm292362>. Pdf (дата обращения 22.12.2013)
57. Ueda K., Okamura N., Hirai M. et al. Human P-glycoprotein transports cortisol, aldosterone, and dexamethasone, but not progesterone // J. Biochem. — 1992. — Vol. 267, № 34. — P. 24248–24252.
58. Ueda K., Taguchi Y., Morishima M. How does P-glycoprotein recognize its substrates // Semin. Cancer. Biol. — 1997. — Vol. 8. — P. 151–159.
59. Ushigome F., Takanaga H., Matsuo H. Human placental transport of vinblastine, vincristine, digoxin and progesterone: contribution of P-glycoprotein // Eur. J. Pharmacol. — 2000. — Vol. 408, № 1. — P. 1–10.
60. Van der Kolk D.M., de Vries E.G.E., van Putten W.L.J. et al. P-glycoprotein and multidrug resistance protein activities in relation to treatment outcome in acute myeloid leukemia // Clin. Cancer Res. — 2000. — Vol. 6. — P. 3205–3214.

61. Vilaboa N. E., Galan A., Troyano A. *et al.* Regulation of multidrug resistance 1 (MDR1)/P-glycoprotein gene expression and activity by heat-shock transcription factor 1 (HSF1). // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275. — P. 24970–24976.
62. Wang Z., Chen Y., Liang H. *et al.* P-glycoprotein substrate models using support vector machines based on a comprehensive data set // *J. Chem. Inf. Model.* — 2011. — Vol. 51, № 6. — P. 1447–1456.
63. Wartenberg M., Gronczynska S., Bekhite M. M. *et al.* Regulation of the multidrug resistance transporter P-glycoprotein in multicellular tumor spheroids by hypoxia-inducible factor (HIF-1) and reactive oxygen species // *FASEB J.* — 2003. — Vol. 17, № 3. — P. 503–505.
64. Wessler D. J., Grip L. T., Mendell J., Giugliano R. P. The P-Glycoprotein Transport System and Cardiovascular Drugs // *JACC.* — 2013. — Vol. 61, № 25. — P. 2495–502.
65. Yague E., Armesilla A. L., Harrison J. *et al.* P-glycoprotein (MDR1) expression in leukemic cells is regulated at two distinct steps, mRNA stabilization and translational initiation // *Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278. — P. 10344–10352.
66. Yang C. P., Cohen D., Greenberger L. M. *et al.* Differential transport properties of two *mdr* gene products are distinguished by progesterone // *J. Biol. Chem.* — 1990. — Vol. 265, № 18. — P. 10282–10288.
67. Yang C. P., DePinho S. G., Greenberger L. M. *et al.* Progesterone interacts with P-glycoprotein in multidrug-resistant cells and in the endometrium of gravid uterus // *J. Biol. Chem.* — 1989. — Vol. 264, № 2. — P. 782–728.
68. Yuan H., Yang K., Li Y. *et al.* The structure and function of P-glycoprotein // *Curr. Med. Chem.* — 2010. — Vol. 17, № 8. — P. 786–800.
69. Z. Zhang, Wu J. Y., Hait W. N. *et al.* Regulation of the stability of P-glycoprotein by ubiquitination // *Mol. Pharmacol.* — 2004. — Vol. 66. — P. 395–403.
70. Zhou S. F. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition // *Xenobiot.* — 2008. — Vol. 8, № 7–8. — P. 802–832.

STRUCTURE, FUNCTIONS OF P-GLYCOPROTEIN AND ITS ROLE IN RATIONAL PHARMACOTHERAPY

Yakusheva E. N., Shulkin A. V., Popova N. M., Chernyh I. V., Titov D. S.

◆ **Summary:** In the review of literature, the structure and functions of P-glycoprotein are characterized, features of its substrates, inducers and inhibitors and possibility of forecasting of belonging to them new medicinal substances are described, molecular mechanisms of activity changes of the transporter under the influence of various factors are presented.

◆ **Key words:** P-glycoprotein; ABCB1; MDR1; structure; functions; rational pharmacotherapy.

◆ Информация об авторах

Якушева Елена Николаевна — д. м. н., доцент, заведующая кафедрой фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии факультета дополнительного профессионального образования. ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства Здравоохранения РФ. 390026, г. Рязань, ул. Высоковольная, д. 9. E-mail: e.yakusheva@rzgmu.ru

Щулькин Алексей Владимирович — к. м. н., ассистент кафедры фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии факультета дополнительного профессионального образования. ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства Здравоохранения РФ. 390026, г. Рязань, ул. Высоковольная, д. 9. E-mail: alekseyshulkin@rambler.ru.

Попова Наталья Михайловна — к. м. н., ассистент кафедры фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии факультета дополнительного профессионального образования. ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства Здравоохранения РФ. 390026, г. Рязань, ул. Высоковольная, д. 9. E-mail: p34-66@yandex.ru.

Черных Иван Владимирович — ассистент кафедры общей химии с курсом биоорганической и органической химии. ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства Здравоохранения РФ. 390026, г. Рязань, ул. Высоковольная, д. 9. E-mail: ivchernykh88@mail.ru.

Титов Дмитрий Сергеевич — аспирант кафедры фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии факультета дополнительного профессионального образования. ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства Здравоохранения РФ. 390026, г. Рязань, ул. Высоковольная, д. 9. E-mail: i3762@yandex.ru.

Yakusheva Elena Nikolaevna — M. D., associate professor, head of the chair of pharmacology with a course of pharmacy and pharmacotherapy of faculty of additional professional education. Ryazan State Medical University. 390026, Ryazan, Vysokovoltnaya ul., 9. E-mail: e.yakusheva@rzgmu.ru

Shulkin Aleksey Vladimirovich — Ph. D., assistant of the chair of pharmacology with a course of pharmacy and pharmacotherapy of faculty of additional professional education. Ryazan State Medical University. 390026, Ryazan, Vysokovoltnaya ul., 9. E-mail: alekseyshulkin@rambler.ru.

Popova Natal'ya Mikhaylovna — Ph. D., assistant of the chair of pharmacology with a course of pharmacy and pharmacotherapy of faculty of additional professional education. Ryazan State Medical University. 390026, Ryazan, Vysokovoltnaya ul., 9. E-mail: p34-66@yandex.ru.

Chernyh Ivan Vladimirovich — assistant of the chair of the general chemistry with a course of bioorganic and organic chemistry. Ryazan State Medical University. 390026, Ryazan, Vysokovoltnaya ul., 9. E-mail: ivchernykh88@mail.ru.

Titov Dmitriy Sergeevich — graduate student of the chair of pharmacology with a course of pharmacy and pharmacotherapy of faculty of additional professional education Ryazan State Medical University. 390026, Ryazan, Vysokovoltnaya ul., 9. E-mail: i3762@yandex.ru.