

На правах рукописи

ПОНЬКИНА ДАРЬЯ АНДРЕЕВНА

**ПРОТИВОДИАБЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ
БЕНЗИЛОКСИФЕНИЛПРОПАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
ИЗОБОРНИЛАМИНА И БОРНЕОЛА
(экспериментальное исследование)**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Томск – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук

Хвостов Михаил Владимирович

Официальные оппоненты:

Куркин Денис Владимирович, доктор фармацевтических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научно-образовательный институт фармации им. К.М. Лакина, директор института

Иванов Владимир Владимирович, кандидат биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, доцент кафедры

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Новосибирск

Защита состоится «__» _____ 2024 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.215.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», по адресу: 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <http://www.tnimc.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Минакова Мария Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Одним из наиболее распространённых метаболических заболеваний в настоящее время является сахарный диабет 2 типа (СД2), который представляет собой хроническое неинфекционное мультисистемное заболевание, характеризующееся неэффективным использованием инсулина организмом для утилизации глюкозы (инсулинорезистентность) (Faselis C. et al., 2019; Viigimaa M. et al., 2019). В результате возникает гипергликемия, длительное воздействие которой приводит к развитию микро- и макроваскулярных осложнений (Roglic G., 2016; Viigimaa M. et al., 2019). Следовательно, для предупреждения развития осложнений СД2 и улучшения качества жизни пациентов необходимо поддерживать нормальный уровень глюкозы крови.

С этой целью применяют несколько классов пероральных противодиабетических препаратов. Несмотря на широту применения каждый из них имеет свои побочные эффекты, что ограничивает их клиническое применение (Marin-Penalver J.J. et al., 2016). Таким образом, распространенность заболеваемости СД2 и недостатки имеющейся сахароснижающей терапии обуславливают необходимость улучшения лекарственной терапии СД2, в частности, за счет поиска новых противодиабетических средств, в том числе, влияющих на новые молекулярные мишени.

К таким перспективным мишеням относится рецептор свободных жирных кислот – 1 (FFAR1), высоко экспрессируемый на β -клетках поджелудочной железы (ПЖ) и энтероэндокринных (ЭЭ) клетках кишечника (Edfalk S. et al., 2008). Основным механизмом действия агонистов FFAR1 является стимуляция секреции инсулина β -клетками ПЖ глюкозозависимым способом, что предотвращает развитие гипогликемии (Oh D.Y., Olefsky J.M., 2016). В зависимости от взаимодействия агонистов FFAR1 с β -клетками ПЖ и ЭЭ клетками кишечника выделяют частичные и полные агонисты FFAR1. Частичные агонисты стимулируют секрецию инсулина только за счет взаимодействия с β -клетками ПЖ, тогда как полные агонисты одновременно взаимодействуют с β -клетками и ЭЭ клетками кишечника, что приводит к выработке инкретинов и дополнительно усиливает секрецию инсулина. Благодаря этому, полные агонисты FFAR1 обладают преимуществом в отношении контроля гликемии по сравнению с частичными агонистами FFAR1 и, вероятно, оказывают лучший эффект для лечения СД2 (Hauge M. et al., 2015; Li Z. et al., 2020). Таким образом, поиск новых противодиабетических соединений, являющихся полными агонистами FFAR1, является весьма актуальной задачей для современной фармакологии.

Степень разработанности. За последние несколько лет было открыто множество агонистов FFAR1, но ни один из них не достиг фармацевтического рынка в связи с гепатотоксичностью (Li X.H. et al., 2020). Несмотря на это разработка новых агонистов FFAR1 продолжается. Среди них сообщалось о соединении CPL207280, которое в отличие от наиболее известного агониста

FFAR1 – TAK-875, достигшего только 3 стадии клинических испытаний, не оказывало никакого вредного воздействия на печень здоровых и больных СД2 мышей. Следовательно, существует возможность создать эффективный и безопасный агонист FFAR1 (Bazydło-Guzenda K. et al., 2021).

Не так давно было обнаружено, что FFAR1 экспрессируется не только на β -клетках ПЖ и ЭЭ клетках кишечника, а также на клетках печени (Kurtz R. et al., 2021), причем активация этого рецептора приводит к снижению уровня свободных жирных кислот и триглицеридов (ТГ) в печени, уменьшает окислительный стресс, фиброз и воспаление (Kimura T. et al., 2020; Kurtz R. et al., 2021). Подобное действие было обнаружено у некоторых полных агонистов FFAR1: SCO-267 (Ookawara M. et al., 2020), PBI-4050 (Gagnon L. Et al., 2018), докозагексаеновой кислоты (On S. et al., 2019). Учитывая этот факт, можно предположить, что FFAR1 является перспективной терапевтической мишенью не только для поиска новых гипогликемических, но и гепатопротекторных соединений.

Ранее сотрудниками Лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН было синтезировано соединение – хлорид (1R,2R,4R)-N-(4-((4-(2-карбоксиэтил)фенокси)метил)бензил)-1,7,7-триметилбицикло [2.2.1] гептан-2-аммония под шифром QS-528, которое проявляло гипогликемический эффект в тестах *in vivo* на мышах. Также было обнаружено, что оно является агонистом FFAR1 (Kuranov S.O. et al., 2020). В данной работе мы исследовали противодиабетическое действие новых структурных аналогов соединения QS-528, являющихся потенциальными агонистами FFAR1 (рисунок 1).

Цель исследования: изучить противодиабетические свойства хлорида (1R,2R,4R)-N-(4-((4-(2-карбоксиэтил) фенокси) метил) бензил)-1,7,7-триметилбицикло [2.2.1] гептан-2-аммония (QS-528) и его структурных аналогов в эксперименте *in vivo* и *in vitro*.

Задачи исследования:

1. Провести скрининг новых структурных аналогов хлорида (1R,2R,4R)-N-(4-((4-(2-карбоксиэтил) фенокси) метил) бензил)-1,7,7-триметилбицикло [2.2.1] гептан-2-аммония (QS-528) на наличие гипогликемической активности в оральном глюкозотолерантном тесте на мышах и выбрать соединение-лидер;
2. Провести изучение противодиабетического действия QS-528 и соединения-лидера на генетически обусловленной и диет-индуцированной модели СД2;
3. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* изучить предполагаемый механизм действия соединения QS-528 и соединения-лидера;
4. Изучить гепатопротекторное действие соединения QS-528 на CCl_4 – индуцированной модели гепатотоксичности;
5. Изучить влияние QS-528 и соединения-лидера на потребление глюкозы клетками линии НерG2.

Научная новизна. В данной работе впервые проведено исследование противодиабетического действия QS-528 и его структурных аналогов. Впервые на

двух экспериментальных моделях СД2 было показано, что QS-619 проявляет гипогликемическое действие, тогда как QS-528 обладает гепатопротекторным действием. Также впервые проведено исследование QS-528 на CCl₄ – индуцированной модели гепатотоксичности, которое подтвердило его гепатопротекторное действие, обнаруженное при метаболическом повреждении печени.

При изучении механизма действия QS-619 впервые было установлено, что оно является агонистом FFAR1 и наряду с QS-528 стимулирует секрецию инсулина и глюкозозависимого инсулиотропного полипептида (GIP). Впервые было показано, что QS-619 и QS-528 не ингибируют фермент DPP-4, следовательно повышение секреции GIP, скорее всего, связано именно с активацией FFAR1.

По результатам исследования острой токсичности QS-528 и QS-619 впервые было установлено, что они являются нетоксичными соединениями в дозе 1000 мг/кг. При исследовании QS-528 и QS-619 на клетках линии HepG2 впервые было показано, что QS-619 повышает потребление глюкозы и высвобождение лактата, тогда как QS-528 увеличивает выживаемость клеток.

Теоретическая и практическая значимость работы. Данные, полученные в ходе исследования соединения QS-528 и его структурных аналогов, позволяют дополнить фундаментальные знания о фармакологических свойствах агонистов FFAR1 для дальнейшей разработки новых лекарственных препаратов этого класса, обладающих как гипогликемическим, так и гепатопротекторным действием.

Поскольку в настоящее время нет агонистов FFAR1, применяемых в клинической практике, наши соединения – QS-528 и QS-619 можно рассматривать как перспективные кандидаты для дальнейшего изучения их фармакологического действия с последующим выходом на стадию клинических испытаний. Материалы данной работы могут быть использованы при подготовке лекционных спецкурсов по фармакологии, медицинской и фармацевтической химии.

Методология и методы исследования. Было проведено комплексное исследование, сочетающее экспериментальные исследования *in vivo* с целью изучения противодиабетического действия соединения QS-528 и его структурных аналогов на моделях патологии и исследования *in vitro* для изучения предполагаемого механизма действия соединений. Все исследования были проведены на базе Лаборатории фармакологических исследований ФГБУН Новосибирского института органической химии им Н.Н. Ворожцова СО РАН.

Исследования *in vivo* были выполнены в соответствии с методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств (Миронов А.Н., 2012), а также международными протоколами исследований. Объектами исследования были выбраны аутобредные самцы мышей CDI, самцы мышей линии C57Bl/6J и C57Bl/6J A^y/. Изучение противодиабетического действия проводили на генетически обусловленной (Derkach K.V. et al., 2017; Klebig M.L. et al., 1995) и диет-индуцированной модели СД2 (Petro A.E. et al., 2004; Surwit R.S. et al., 1988).

Для исследования гепатопротекторного действия использовали модифицированную модель CCl_4 – индуцированной гепатотоксичности (Kojima-Yuasa A. et al., 2016).

Изучение механизма действия соединения-лидера *in vitro*, а именно его способности активировать FFAR1, стимулировать секрецию инсулина и GIP проводили с использованием стандартных наборов ИФА в соответствии с руководством производителя. Влияние QS-528 и его наиболее активного структурного аналога на способность клеток линии HepG2 потреблять глюкозу и высвобождать лактат, а также оценку жизнеспособности клеток этой линии под воздействием исследуемых соединений проводили с учетом международных протоколов исследований.

Положения, выносимые на защиту:

1. Соединение – (3-(4-(4-(((1S,2R,4S)-1,7,7-триметилбицикло [2.2.1] гептан-2-илокси) метил) бензилокси) фенил) пропановая кислота) под шифром QS-619 проявляет противодиабетическое действие на генетически обусловленной и диет-индуцированной модели СД.

2. Соединение – хлорид (1R,2R,4R)-N-(4-((4-(2-карбоксиэтил) феноксид) метил) бензил)-1,7,7-триметилбицикло [2.2.1] гептан-2-аммония под шифром QS-528 обладает гепатопротекторным эффектом на генетически обусловленной и диет-индуцированной модели СД.

3. Соединения QS-528 и QS-619 являются агонистами FFAR1 и стимулируют секрецию инсулина и GIP.

4. Соединение QS-528 проявляет гепатопротекторное действие на CCl_4 – индуцированной модели гепатотоксичности.

5. Соединение QS-528 увеличивает выживаемость клеток линии HepG2, тогда как QS-619 повышает потребление ими глюкозы и высвобождение лактата, не влияя на жизнеспособность клеток.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных данных обеспечивалась применением верифицированных методов исследования, соответствующих поставленным задачам, современных экспериментальных моделей, достаточного количества лабораторных животных и методов исследования *in vitro*. Сформулированные выводы основаны на полученных в ходе исследования данных, их статистической обработке и анализе литературных источников по теме диссертации.

Основные материалы диссертации были представлены на международной научно-практической конференции «MDPI 6th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry» (Базель, Швейцария, 2020г.), 58-й международной научной студенческой конференции «МНСК-2020» (Новосибирск, Россия, 2020), IV Российской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Сахарный диабет-2021: от мониторинга к управлению» (Новосибирск, Россия, 2021), первой всероссийской школе по медицинской химии для молодых ученых «MedChemSchool-2021» (Новосибирск,

Россия, 2021), 5-й Российской конференции по медицинской химии с международным участием «MedChem-Russia 2021» (Волгоград, Россия, 2021), международной научно-практической конференции «MDPI 7th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry» (Базель, Швейцария, 2021г.), международной научно-практической конференции «MDPI 8th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry» (Базель, Швейцария, 2022г.), XII Всероссийской научной конференции с международным участием и школой молодых ученых «Химия и технология растительных веществ» (Киров, Россия, 2022), VIII Междисциплинарной конференция «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» (Санкт-Петербург, Россия, 2023), Всероссийской научной конференции с международным участием «Современные проблемы органической химии» (Новосибирск, Россия, 2023). Работа была поддержана грантом Российского научный фонда 21-73-00246.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 работ, из них 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, индексируемых в международных реферативных базах данных и системах цитирования Web of Science и Scopus, 10 тезисов в материалах российских и международных научных конференций.

Личное участие автора. Непосредственно соискатель проводил литературный поиск по информационным базам данных, принимал участие в разработке программы проведения фармакологических исследований, направленных на изучения противодиабетической активности исследуемых соединений. Автор самостоятельно исполнял и принимал участие в исследованиях *in vivo* и *in vitro*, выполнял статистическую обработку данных, анализировал и интерпретировал полученные результаты.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 132 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав (обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения), заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа иллюстрирована 41 рисунком и 11 таблицами. Библиографические ссылки включают 169 источников, из которых 161 - публикации зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, представлены положения, выносимые на защиту.

В первой главе проведен анализ отечественной и зарубежной литературы по теме исследования. Изложены современные представления об этиологии, эпидемиологии, патогенезе и осложнениях СД2. Рассмотрены современные подходы к лечению этого заболевания. Представлены данные о новых молекулярных мишенях для лечения СД2, из которых особое внимание было

уделено FFAR1 и его агонистам, обладающим как гипогликемическим, так и гепатопротекторным действием.

Вторая глава посвящена описанию материалов и методов исследования. В экспериментах использовали 280 аутбредных самцов мышей CDI и 40 самцов мышей линии C57Bl/6J массой 25–30 г., а также 20 самцов мышей линии C57Bl/6J A^{y/a} массой 45–50 г. Животные были получены из вивария ФИЦ Института цитологии и генетики СО РАН. Работы с животными были одобрены этическим комитетом по биоэтике Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН (протокол № Р-12-122019-14, Р-01-04-2022-14).

В работе использовали соединение QS-528 и его новые структурные аналоги (рисунок 1), которые были синтезированы в Лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН (зав. лаб., член-корр. Салахутдинов Н.Ф.). Все соединения предварительно смешивали с 2-мя каплями Tween 80 и растворяли в дистиллированной воде.

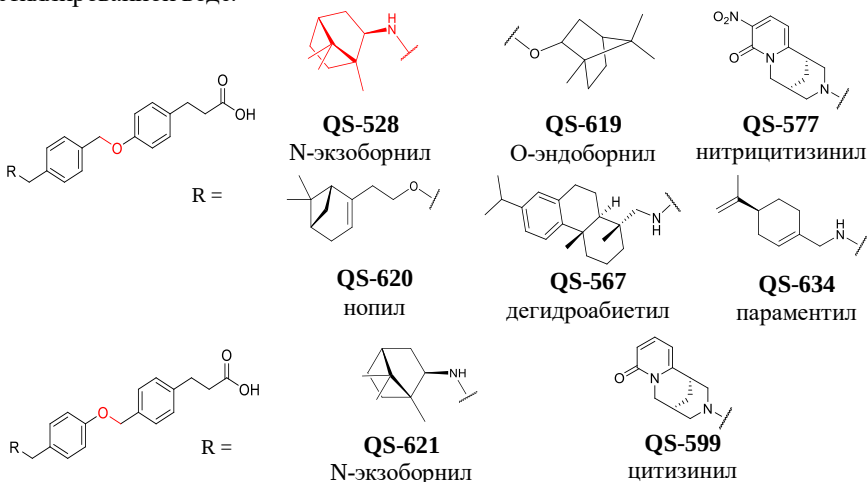


Рисунок 1 – Структурная формула QS-528 и его структурных аналогов.

Для проведения скрининга использовали аутбредных самцов мышей CDI, которым *per os* однократно в дозе 10 мг/кг вводили QS-528 и его структурные аналоги, после чего проводили оральный глюкозотолерантный тест (ОГТТ) для оценки гипогликемического действия исследуемых соединений и обнаружения соединения-лидера. Изучение дозозависимого гипогликемического действия QS-528 и соединения-лидера проводили на самцах мышей CDI. Для этого соединения вводили *per os* однократно в дозах 5, 10, 30 мг/кг. Далее проводили ОГТТ, чтобы выявить дозу, при которой развивается максимальный эффект исследуемых соединений. В качестве положительного контроля в обоих экспериментах использовали вилдаглиптин (Галвус, Новартис, Россия) в дозах 5, 10, 30 мг/кг,

поскольку его механизм действия направлен на стимуляцию секреции инсулина глюкозозависимым способом, подобно агонистам FFAR1.

Изучение противодиабетического действия QS-528 и соединения-лидера под шифром QS-619, обнаруженного по результатам скрининга, проводили на двух экспериментальных моделях СД2: генетически обусловленной и диет-индуцированной. В первой модели использовали самцов мышей линии C57Bl/6J A^y/_a (Derkach K.V. et al., 2017; Klebig M.L. et al., 1995), для которых характерно наличие ожирения, гиперинсулинемии и нарушенной толерантности к глюкозе. Этим животным в течение 2-х недель ежедневно *per os* вводили QS-528 и QS-619 в дозе 30 мг/кг. В качестве положительного контроля использовали вилдаглиптин (Галвус, Новартис, Россия) в дозе 30 мг/кг. ОГТТ проводили после однократного введения исследуемых соединений и повторно по истечении 2-х недель эксперимента. Во второй модели использовали самцов мышей линии C57Bl/6J, которых в течение 7 месяцев содержали на высококалорийной диете (Petro A.E. et al., 2004; Surwit R.S. et al., 1988) для развития у них нарушенной толерантности к глюкозе. После этого им в течение 4-х недель ежедневно *per os* вводили QS-528 и QS-619 в дозе 30 мг/кг, диету не изменяли. В качестве положительного контроля использовали метформин (CAS 1115-70-4 Acros Organics, Бельгия) в дозе 250 мг/кг, поскольку он является препаратом первой линии терапии для лечения СД2. ОГТТ проводили на 14 и 28 день эксперимента. По окончании обоих экспериментов мышей декапитировали. Кровь была забрана для проведения биохимического анализа, а печень для гистологического исследования.

Для изучения гепатопротекторного действия соединения QS-528 использовали модифицированную модель CCl₄ – индуцированной гепатотоксичности (Kojima-Yuasa A. et al., 2016). Для развития токсического повреждения печени самцам мышей CDI в течение 3-х недель вводили 0,5% р-р CCl₄ 2 раза в неделю. Для усиления эффекта гепатотоксичности вместо воды мыши получали 5% р-р C₂H₅ОН. Параллельно с этим животным *per os* ежедневно вводили QS-528 в дозах 60, 90, 120, 150 мг/кг в течение 3-х недель. В качестве положительного контроля использовали гепатопротектор растительного происхождения – силимарин (Легалон 70, MADAUS GmbH, Германия) в дозе 100 мг/кг. По окончании эксперимента (22 день) мышей декапитировали и собирали кровь для проведения биохимического исследования, а печень забирали для проведения гистологического исследования.

С целью изучения механизма действия QS-619 определяли его способность активировать FFAR1 с использованием стандартного набора (кат. №601190, Cayman Chemical, США). Помимо этого, с использованием стандартных наборов ИФА определяли способность QS-528 и QS-619 повышать концентрацию инсулина (кат. № EZRMI-13K, Millipore, Merck KGaA, Германия) и GIP (кат. №81527, Crystal Chem, США) в крови самцов мышей CDI.

На клетках линии HepG2 изучали способность QS-528 и QS-619 оказывать влияние на жизнеспособность клеток, а также потребление ими глюкозы и высвобождение лактата.

Определение острой токсичности QS-528 и QS-619 проводили на самцах мышей CDI, которым однократно *per os* вводили тестируемые соединения в дозе 1000 мг/кг. В течение следующих 10 дней оценивали внешний вид животных, поведение, массу тела и летальность.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета STATISTICA 10.0. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случаях нормального распределения признаков для статистической оценки применяли параметрический t-критерий Стьюдента и представляли данные в виде среднего арифметического значения ($\bar{S}$) $\pm$ ошибки среднего арифметического (m). При отклонениях распределений признака от нормального вида для независимых выборок использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни, данные представляли в формате: медиана (M) $\pm$ квартильный размах (qr). Различия двух сравниваемых величин считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

В третьей главе представлены результаты и обсуждение полученных результатов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Скрининг структурных аналогов соединения QS-528. Для выявления наиболее активного соединения среди 7 новых структурных аналогов соединения QS-528 (рисунок 1) был проведен скрининг их гипогликемического действия в ОГТТ в дозе 10 мг/кг на мышах CDI.

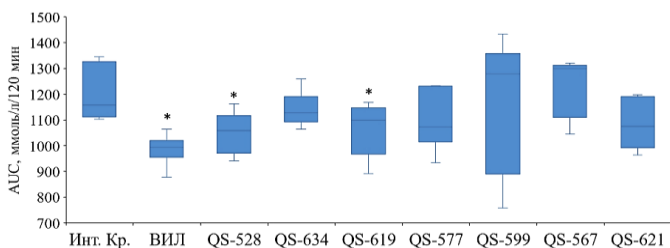


Рисунок 2 – Площадь под гликемической кривой (AUC), рассчитанная по результатам скрининга гипогликемического действия структурных аналогов QS-528 в дозе 10 мг/кг в ОГТТ ($M \pm qr$) ($n=5$ в каждой группе). ВИЛ в дозе 10 мг/кг

Примечание: * $p \leq 0,05$ по сравнению с группой интактного контроля. Инт. Кр.: интактный контроль; ВИЛ: видагглиптин.

По результатам скрининга было обнаружено, что только соединение QS-619 (рисунок 1) достоверно снижало уровень глюкозы в крови мышей по сравнению с группой интактного контроля (рисунок 2), а также не уступало по гипогликемическому действию положительному контролю – видагглиптину и соединению QS-528.

Изучение дозозависимого гипогликемического действия QS-528 и QS-619. С целью определения наиболее эффективной дозы, при которой развивается гипогликемическое действие, QS-619 и QS-528 вводили однократно в дозах 5, 10, 30 мг/кг мышам CDI (рисунок 3).

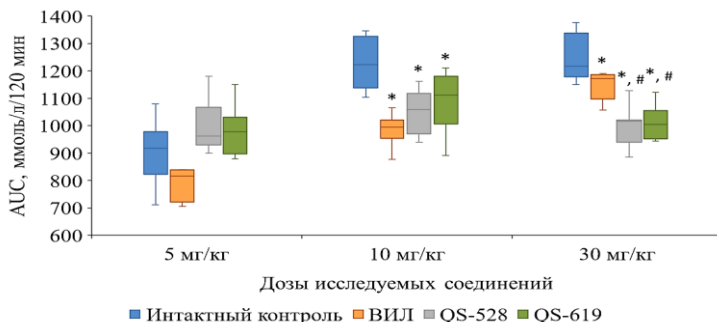


Рисунок 3 – Площадь под гликемической кривой (AUC), рассчитанная по результатам изучения дозозависимого гипогликемического эффекта QS-528 и QS-619 в ОГТТ ($M \pm qr$) ($n=5$ в каждой группе)

Примечание: * $p \leq 0,05$ по сравнению с группой интактного контроля; # $p \leq 0,05$ по сравнению с ВИЛ 30 мг/кг. ВИЛ: вилдаглиптин.

По результатам ОГТТ было обнаружено, что минимальной дозой, при которой появлялось гипогликемическое действие соединений является 10 мг/кг (рисунок 3). При снижении дозы до 5 мг/кг гипогликемический эффект как тестируемых соединений, так и вилдаглиптина пропадал (рисунок 3). При увеличении дозы до 30 мг/кг гипогликемический эффект QS-619 и QS-528 был более выраженным, чем у положительного контроля вилдаглиптина (рисунок 3), что, вероятно, связано со снижением эффективности вилдаглиптина при увеличении дозы вследствие предотвращения распада GIP. Известно, что вилдаглиптин является ингибитором фермента дипептидилпептидазы-4 (DPP-4) (Stein S. A. et al., 2014), что препятствует распаду глюкагонподобного пептида -1 (GLP-1) и GIP. В отличие от GLP-1, который стимулирует секрецию инсулина, GIP стимулирует как секрецию инсулина, так и секрецию глюкагона, который увеличивает продукцию глюкозы печенью и приводит к повышению уровня глюкозы в крови (Lambeir A.M. et al., 2003). Поскольку лучший гипогликемический эффект наблюдался в дозе 30 мг/кг (рисунок 3), эта доза была выбрана для дальнейшего исследования QS-619 и QS-528 на экспериментальных моделях СД2.

Изучение противодиабетического действия соединений QS-528 и QS-619 на экспериментальных моделях СД2. С целью изучения действия соединений QS-528 и QS-619 в условиях патологии мы исследовали их на экспериментальных моделях СД2. Генетически обусловленная модель СД2. Соединения QS-528 и QS-619 исследовали в дозе 30 мг/кг на мышях линии C57Bl/6J A^y/a , у которых имеется нарушенная толерантность к глюкозе (рисунок 4).

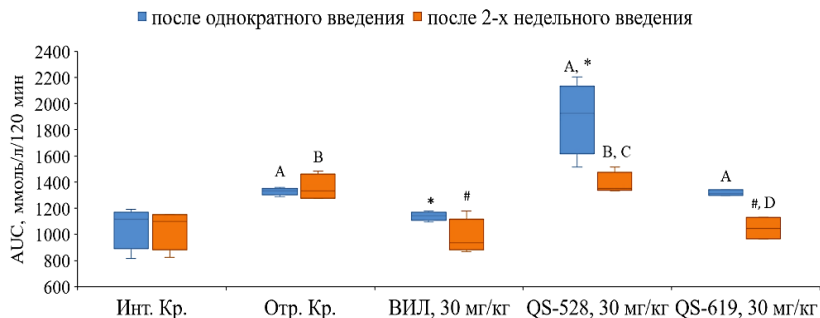


Рисунок 4 – Площадь под гликемической кривой (AUC), рассчитанная по результатам ОГТТ, проведенного после однократного и 2-х недельного введения соединений QS-528 и QS-619 мышам линии C57Bl/6J A/a ($M \pm m$) ($n=5$ в каждой группе)

Примечание: * $p \leq 0,05$ по сравнению с отрицательным контролем после однократного введения; # $p \leq 0,05$ по сравнению с отрицательным контролем после 2-х недельного введения; ^A $p \leq 0,05$ по сравнению с интактным контролем после однократного введения; ^B $p \leq 0,05$ по сравнению с интактным контролем после 2-х недельного введения; ^C $p \leq 0,05$ по сравнению с QS-528 после однократного введения; ^D $p \leq 0,05$ по сравнению с QS-619 после 1-го введения. ИнтК: интактный контроль; ОтрК: отрицательный контроль; ВИЛ: вилаглитин.

По результатам ОГТТ, проведенного после однократного введения QS-619 и QS-528, было обнаружено, что гликемический профиль QS-619 практически совпал с группой отрицательного контроля, тогда как QS-528, наоборот, показало гипергликемический эффект (рисунок 4). Далее этим животным в течение 2-х недель продолжили введение исследуемых соединений, после чего ОГТТ был проведен повторно (рисунок 4). Гипогликемический эффект был обнаружен у QS-619. Гипергликемическое действие QS-528 снизилось, однако площадь под гликемической кривой у животных этой группы не отличалась от группы отрицательного контроля.

По результатам биохимического исследования крови было обнаружено, что соединение QS-528 снижало общий холестерин (ОХ), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) и концентрацию глюкозы в крови мышей по сравнению с группой отрицательного контроля ($p \leq 0,05$). Соединение QS-619 не повлияло на липидный обмен. Этот эффект можно объяснить разным влиянием QS-528 и QS-619 на печень.

Для мышей C57Bl/6J A/a характерно развитие жировой дистрофии печени. Введение QS-528 в течение двух недель почти полностью разрешало это патологическое изменение печени, тогда как введение QS-619 лишь частично восстанавливало морфологическую картину печени. При введении вилаглитина также не было отмечено признаков нормализации метаболических нарушений печени.

Помимо визуальной оценки, мы применяли способ количественной оценки структурных изменений печени, а именно морфометрическое исследование. Для этого оценивали объемную плотность гепатоцитов и синусоидов. О наличии гепатопротекторного действия свидетельствовало увеличение этих структурных элементов по сравнению с группой отрицательного контроля ($p \leq 0,05$), что было обнаружено при введении QS-528. Другим, важным показателем, являлось уменьшение объемной плотности жировой дистрофии печени при введении QS-528 по сравнению с группой отрицательного контроля (рисунок 5).

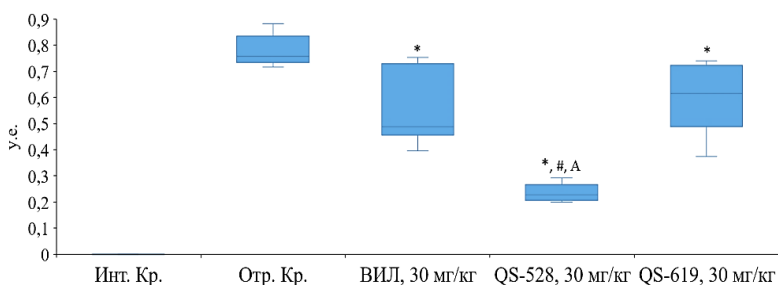


Рисунок 5 – Результаты морфометрического анализа печени (объемная плотность жировой дистрофии печени) ($M \pm q$) ($n=5$ в каждой группе)

Примечание: * $p \leq 0,05$ по сравнению с отрицательным контролем; # $p \leq 0,05$ по сравнению с вилдаглиптином 30 мг/кг; ^A $p \leq 0,05$ по сравнению с QS-619 30 мг/кг. У.ед.: условные единицы; Инт. Кр.: интактный контроль; Отр. Кр.: отрицательный контроль; ВИЛ: вилдаглиптин.

Диет-индуцированная модель СД2. Поскольку патогенез развития СД2 у мышей линии C57Bl/6J (Petro A.E. et al., 2004; Surwit R.S. et al., 1988) при содержании на высококалорийной диете подобен патогенезу, наблюдаемому у человека (Surwit R.S. et al., 1988) мы исследовали противодиабетическое действие QS-528 и QS-619 на диет-индуцированной модели СД2. В эксперименте мыши линии C57Bl/6J находились на такой диете в течение 7 месяцев, после чего у них развилась нарушенная толерантность к глюкозе. Через 2 недели от начала введения QS-528 и QS-619 был проведен ОГТТ (рисунок 6), где было обнаружено, что нарушенная толерантность к глюкозе сохранялась в группе отрицательного контроля. Это подтверждает повышение уровня глюкозы в крови по сравнению с группой интактного контроля. Площадь под гликемической кривой QS-528 и QS-619 практически совпала с группой отрицательного контроля. Следующий ОГТТ был выполнен через 4 недели от начала эксперимента (рисунок 6), где также была установлена нарушенная толерантность к глюкозе у животных группы отрицательного контроля. По сравнению с ранее проведенным ОГТТ, гипогликемическое действие было обнаружено у QS-619.

По результатам гистологического исследования срезов печени при введении QS-528 было обнаружено уменьшение жирового гепатоза, отчетливо

выраженного у животных группы отрицательного контроля. Введение метформина и QS-619 не привело к улучшению состояния печени.

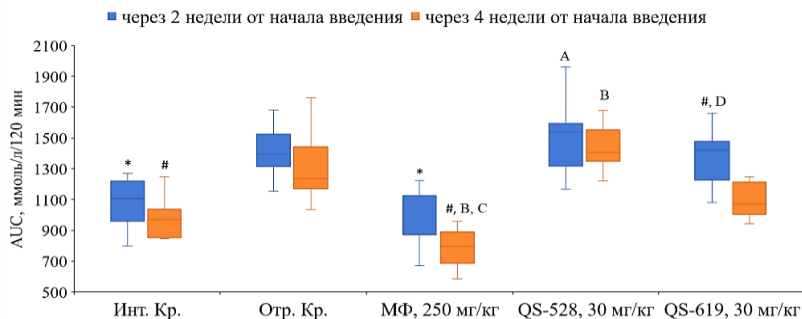


Рисунок 6 – Площадь под гликемической кривой (AUC), рассчитанная по результатам ОГТТ после 2-х и 4-х недельного введения QS-528 и QS-619 мышам линии C57Bl/6J ($M \pm m$) ($n=6-8$ в каждой группе)

Примечание: * $p \leq 0,05$ по сравнению с отрицательным контролем после 2-х недель введения; # $p \leq 0,05$ по сравнению с отрицательным контролем после 4-х недель введения; ^A $p \leq 0,05$ по сравнению с интактным контролем после 2-х недель введения; ^B $p \leq 0,05$ по сравнению с интактным контролем после 4-х недель введения; ^C $p \leq 0,05$ по сравнению с МФ после 2-х недель введения; ^D $p \leq 0,05$ по сравнению с QS-619 после 2-х недель введения. Инт. Кр.: интактный контроль; Отр. Кр.: отрицательный контроль; МФ: метформин.

Таким образом, по результатам проведенных исследований на экспериментальных моделях СД2 было установлено, что QS-619 обладает гипогликемическим действием, тогда как QS-528 нормализует липидный обмен и восстанавливает нормальную функцию печени, что является гепатопротекторным действием. Учитывая положительное влияние QS-528 на состояние печени и липидный обмен можно предположить, что снижение его гипергликемического действия после 14 дней введения мышам C57Bl/6J A^{y/a} вызвано именно разрешением жировой дистрофии печени, улучшением чувствительности к инсулину и нормализацией липидного обмена.

Изучение механизма действия QS-528 и QS-619. *Определение способности QS-619 активировать FFAR1.* Ранее было установлено, что QS-528 является агонистом FFAR1 (Kuranov S.O. et al., 2020). Поскольку QS-619 является его структурным аналогом и, следовательно, потенциально может связываться с данным рецептором необходимо было оценить его способность связываться с FFAR1. По результатам эксперимента было обнаружено, что QS-619 активирует FFAR1 в концентрации 10 μ M, не уступая эталонному агонисту FFAR1 – GW9508 и своему структурному аналогу – QS-528. Следовательно, QS-619, как и QS-528 является агонистом FFAR1.

Определение способности соединений QS-528 и QS-619 ингибировать фермент DPP-4. При исследовании QS-528 и QS-619 на генетически

обусловленной модели СД2 было обнаружено гипергликемическое действие соединения QS-528 после однократного введения (рисунок 4). Опираясь на данные литературы, мы предположили, что гипергликемическое действие QS-528 может быть связано с ингибированием фермента DPP-4 и соответственно повышением концентрации GIP в крови, что может стимулировать секрецию глюкагона и повышать концентрацию глюкозы в крови за счет гликогенолиза и глюконеогенеза (Lambeir A.M. et al., 2003). Поэтому, была проведена оценка способности QS-528 и QS-619 ингибировать DPP-4 *in vitro*. По результатам эксперимента было обнаружено, что QS-528 и QS-619 в концентрации 100 μ M достоверно не снижают активность этого фермента. Исходя из этого можно предположить, что гипергликемическое действие QS-528 связано с активацией FFAR1 на энтероэндокринных клетках кишечника и последующем индуцировании секреции GIP (Li Z. et al., 2018).

Определение концентрации инсулина и GIP. Поскольку изучаемые соединения являются агонистами FFAR1 и должны стимулировать секрецию инсулина глюкозо-зависимым способом, мы исследовали концентрацию инсулина в сыворотке крови мышей CDI после однократного введения QS-528 и QS-619 в дозе 30 мг/кг. Было установлено, что оба соединения стимулируют секрецию инсулина, не уступая эталонному препарату вилдаглиптину в дозе 10 мг/кг (рисунок 7).

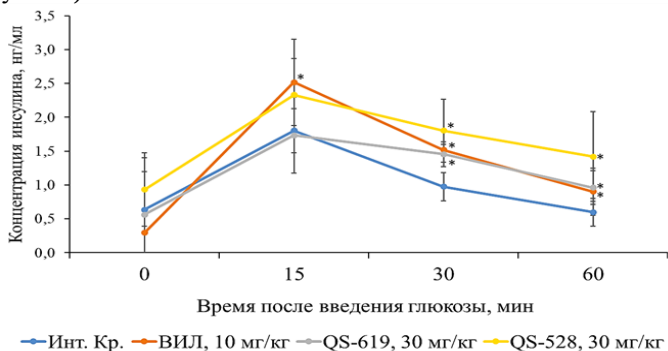


Рисунок 7 – Концентрация инсулина в крови мышей CDI после однократного введения QS-528 и QS-619 ($M \pm \sigma$) ($n=5$ в каждой группе)

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с группой интактного контроля. Инт. Кр.: интактный контроль; ВИЛ: вилдаглиптин.

Далее мы исследовали способность изучаемых соединений повышать концентрацию GIP в крови мышей. Стоит отметить, что в данной работе мы исследовали только концентрацию GIP, а не GLP-1, так как нам было важно подтвердить, что гипергликемическое действие QS-528 на мышах линии C57Bl/6J $A^{y/a}$ вызвано повышением концентрации GIP в крови животных, что, вероятно, обусловлено связыванием этого соединения с FFAR1 (Hauge M. et al.,

2015; Lambeir A.M. et al., 2003). По результатам эксперимента было обнаружено, что QS-528 и QS-619 в дозе 30 мг/кг после однократного введения мышам CDI увеличивают концентрацию GIP в крови через 5 и 10 минут после введения глюкозы (рисунок 8), что подтверждает нашу гипотезу относительно гипергликемического действия QS-528.

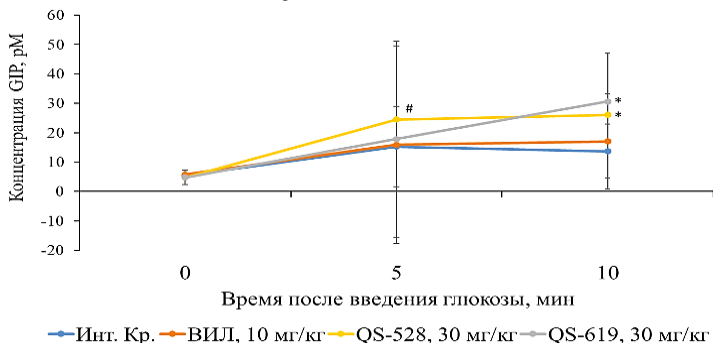


Рисунок 8 – Концентрация GIP в крови мышей CDI после однократного введения QS-528 и QS-619 ($M \pm qg$) ($n=7$ в каждой группе)

Примечание: * $p \leq 0,05$ по сравнению с группой интактного контроля, # $p = 0,1-0,05$ по сравнению с группой интактного контроля. GIP: глюкозозависимый инсулиноотропный полипептид; Инт. Кр.: интактный контроль; ВИЛ: вилаглиптин.

Таким образом, было установлено, что QS-528 и QS-619 являются агонистами FFAR1 и стимулируют секрецию как инсулина, так и GIP. На основании этого, можно сделать предположение, что исследуемые соединения являются полными агонистами FFAR1 (Hauge M. et al., 2015), т.е. связываются с рецептором как на β -клетках ПЖ, так и на энтероэндокринных клетках кишечника, соответственно. Стоит отметить, что динамика изменения концентрации инсулина и GIP в крови животных при введении тестируемых агентов и вилаглиптина была различной, что, вероятно, связано с их разным механизмом действия (Ahren B. et al., 2011; Burant C.F., 2013).

Исследование острой токсичности. Для определения острой токсичности QS-528 и QS-619 вводили однократно *per os* в дозе 1000 мг/кг мышам CDI. По окончании 10 дней мы не наблюдали гибели животных, изменения их внешнего вида и поведения. Не было обнаружено отрицательного влияния исследуемых соединений на изменение массы тела мышей. Следовательно, LD_{50} QS-528 и QS-619 должно быть более 1000 мг/кг, что относит данные соединения согласно ГОСТу 12.1.007-76 (Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности) к 3-му классу умеренно опасных веществ.

Изучение гепатопротекторного действия QS-528 на CCl_4 – индуцированной модели гепатотоксичности. В ходе проведенных исследований

на экспериментальных моделях СД2 было обнаружено, что QS-528 проявляет гепатопротекторное действие при метаболическом повреждении печени. Это позволило предположить, что гепатопротекторное действие может проявляться и на CCl_4 – индуцированной модели повреждения печени, которая обычно используется для проведения скрининга гепатопротекторных соединений (Delgado-Montemayor C. et al., 2015). Поэтому следующий эксперимент был выполнен на модифицированной модели – CCl_4 индуцированной гепатотоксичности (Kojima-Yuasa A. et al., 2016). Для этого использовали самцов мышей CDI, которым в течение 3-х недель вводили QS-528 в дозах 60, 90, 120, 150 мг/кг. Группа положительного контроля получала силимарин в дозе 100 мг/кг. По окончании эксперимента было проведено биохимическое исследование крови и гистологическое исследование печени.

По результатам биохимического анализа крови в группе отрицательного контроля наблюдалось повышение уровня АЛТ, АСТ и щелочной фосфатазы (ЩФ) по сравнению с группой интактного контроля ($p < 0,05$). Соединение QS-528 дозозависимо снижало концентрацию АЛТ в крови мышей по сравнению с отрицательным контролем ($p < 0,05$), причем более выраженный эффект наблюдали в дозах 120 и 150 мг/кг. Также было отмечено снижение концентрации АСТ в дозе 120 мг/кг по сравнению с отрицательным контролем ($p < 0,05$) аналогично группе, получавшей силимарин. Кроме того, наблюдалась тенденция к снижению ЩФ.

При гистологическом исследовании срезов печени было обнаружено, что при введении CCl_4 у мышей группы отрицательного контроля выявляются признаки хронического токсического повреждения печени в виде мелковезикулярной дистрофии и некрозов гепатоцитов (рисунок 9).

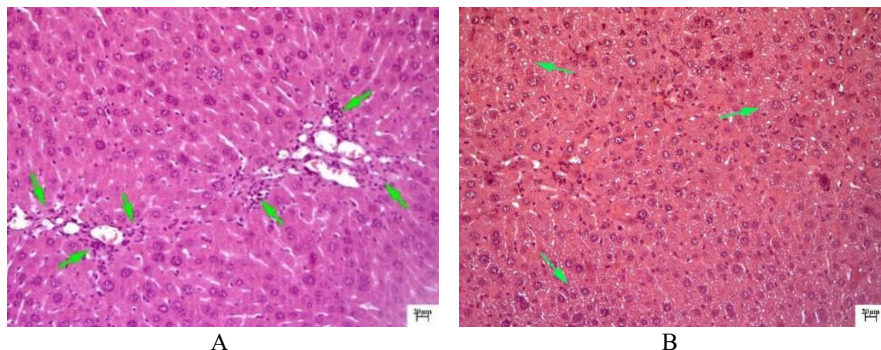


Рисунок 9 – Микрофотографии срезов печени по окончании 3-х недель эксперимента: А) печень мышей, которым вводили только CCl_4 . Перипортальные некрозы (зеленые стрелки), жировая инфильтрация и гетерогенность популяции гепатоцитов; В) печень мышей, которым вводили силимарин в дозе 100 мг/кг и CCl_4 .

Мелковезикулярная дистрофия гепатоцитов (зеленые стрелки), отсутствие клеточного и ядерного полиморфизма гепатоцитов. (А) – (В): окраска гематоксилин-эозин, Ув. $\times 200$.

На фоне введения QS-528 дозозависимо отмечалось улучшение состояния печени в виде уменьшения степени выраженности дистрофических изменений печени и некрозов гепатоцитов. Причем наиболее выраженные признаки нормализации состояния печени, аналогичные группе положительного контроля – силимарина, наблюдались в дозах 120 и 150 мг/кг (рисунок 10).

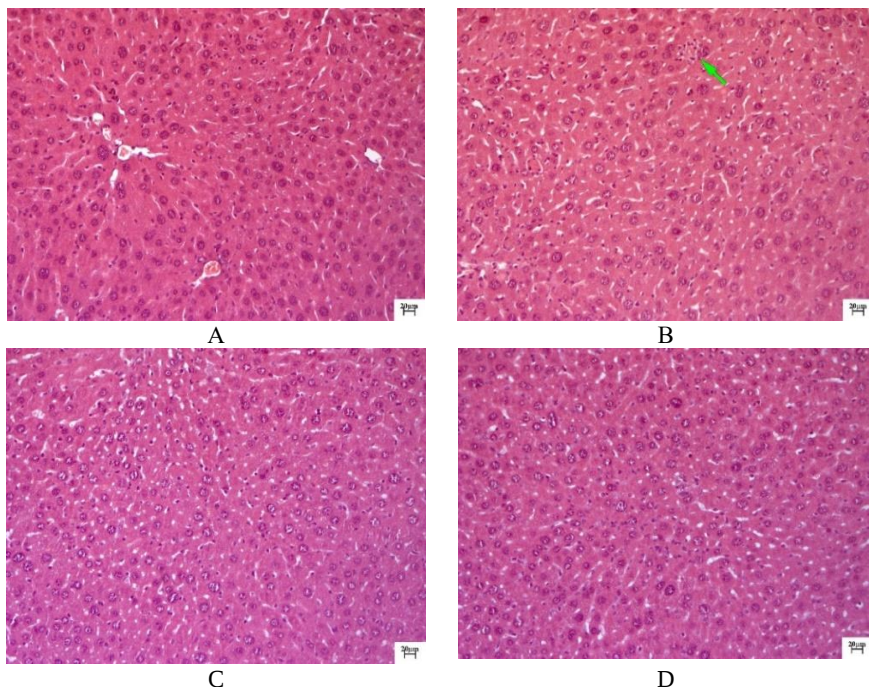


Рисунок 10 – Микрофотографии срезов печени по окончании 3-х недель эксперимента: А) печень мышей, которым вводили CCl_4 и QS-528 в дозе 60 мг/кг. Выраженная гипертрофия гепатоцитов и гиперплазия ядер; В) печень мышей, которым вводили CCl_4 и QS-528 в дозе 90 мг/кг. Некроз клеток (зеленая стрелка), инфильтрированный лимфоцитами, макрофагами; С) печень мышей, которым вводили CCl_4 и QS-528 в дозе 120 мг/кг. Отсутствие гетерогенности гепатоцитов и жировой дистрофии свидетельствует о нормализации репаративных процессов; Д) печень мышей, которым вводили CCl_4 и QS-528 в дозе 150 мг/кг. Улучшение структуры гепатоцитов, отсутствие гетерогенности, дистрофии. (А) – (Д): окраска гематоксилин – эозин. Ув. $\times 200$.

Как и в ранее проведенном исследовании QS-528 и QS-619 на генетической модели СД2, в данном эксперименте была рассчитана объемная плотность гепатоцитов, синусоидов и некрозов печени. Гепатопротекторное действие соединения тем лучше, чем больше объемная плотность гепатоцитов, синусоидов, и меньше плотность некрозов печени. По результатам

морфометрического исследования было обнаружено, что длительное введение 0,5% раствора CCl_4 не оказывает отрицательного влияния на объемную плотность гепатоцитов во всех исследуемых группах. Объемная плотность синусоидов печени возрастала при введении QS-528 в дозах от 60 до 150 мг/кг по сравнению с группой отрицательного контроля ($p < 0,05$). Наиболее важным показателем наличия у соединения гепатопротекторного действия является уменьшение объемной плотности некрозов печени, что было отмечено при введении силимарина в дозе 100 мг/кг и QS-528 во всех исследуемых дозах (рисунок 11).

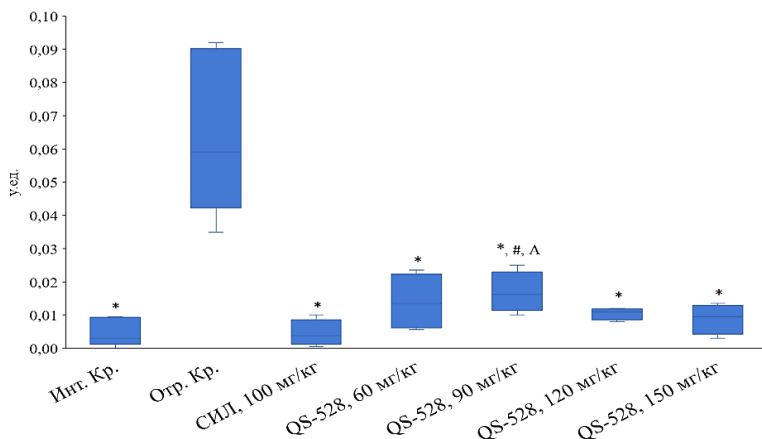


Рисунок 11 – Результаты морфометрического анализа печени (объемная плотность некрозов печени) ($M \pm qr$) ($n=9$ в каждой группе)

Примечание: * $p \leq 0,05$ по сравнению с отрицательным контролем; # $p \leq 0,05$ по сравнению с интактным контролем; A $p \leq 0,05$ по сравнению с силимарином 100 мг/кг.

У.ед.: условные единицы; Инт.Кр.: интактный контроль; Отр. Кр.: отрицательный контроль; СИЛ: силимарин.

По результатам проведенных исследований на модифицированной модели CCl_4 – индуцированного повреждения печени было показано, что QS-528 проявляет гепатопротекторное действие не только при метаболическом повреждении печени, но и при ее токсическом поражении тетрахлорметаном.

Изучение QS-528 и QS-619 на клетках линии HepG2. После подтверждения гепатопротекторного действия соединения QS-528 на CCl_4 – индуцированной модели гепатотоксичности мы исследовали способность изучаемых соединений непосредственно воздействовать на клетки печени (линия HepG2), оценивая их выживаемость и потребление клетками глюкозы (таблица 1). По результатам эксперимента было установлено, что QS-528 в низких концентрациях (2,5 и 5 μM) незначительно увеличивал потребление

глюкозы и высвобождение лактата, но значительно повышал количество клеток. В более высоких концентрациях (10-25 μM) он повышал поглощение глюкозы, однако выживаемость клеток снижалась до уровня контрольной группы.

В отличие от QS-528 инкубация с QS-619 в низких концентрациях (2,5 – 10 μM) более выраженно повышала потребление глюкозы и высвобождение лактата в клетках. Также было отмечено повышение выживаемость клеток в этих концентрациях, однако, она снижалась до уровня контрольной группы в концентрации 10 μM . В более высокой концентрации (25 μM) QS-619 снижало потребление глюкозы и уменьшало выживаемость клеток.

Таблица 1 – Влияние QS-528 и QS-619 на клетки линии HepG2 ($S \pm m$)

	Потребление глюкозы, %	Высвобождение лактата, %	Выживаемость клеток, %
Контрольная группа	24,98 $\pm$ 1,68	15,03 $\pm$ 0,59	100,00 $\pm$ 3,07
Метформин			
1 mM	48,52 $\pm$ 2,87 ***	30,03 $\pm$ 3,04 ***	101,51 $\pm$ 1,90
2,5 mM	62,32 $\pm$ 0,72 ***	46,08 $\pm$ 3,20 ***	91,11 $\pm$ 3,40
QS-528			
2,5 μM	39,80 $\pm$ 2,75 **	25,58 $\pm$ 1,35 ***	146,31 $\pm$ 6,16 ***
5 μM	37,79 $\pm$ 4,46 **	27,65 $\pm$ 1,15 ***	135,77 $\pm$ 4,19 ***
10 μM	44,91 $\pm$ 3,00 ***	42,62 $\pm$ 1,20 ***	114,54 $\pm$ 3,95
25 μM	85,52 $\pm$ 1,99 ***	61,61 $\pm$ 0,49 ***	109,57 $\pm$ 2,67
QS-619			
2,5 μM	49,18 $\pm$ 1,76 ***	35,78 $\pm$ 2,68 ***	139,89 $\pm$ 4,62 ***
5 μM	72,93 $\pm$ 0,82 ***	52,36 $\pm$ 0,23 ***	121,02 $\pm$ 2,45 **
10 μM	98,58 $\pm$ 0,61 ***	61,74 $\pm$ 0,81 ***	99,68 $\pm$ 3,87
25 μM	64,14 $\pm$ 3,77 ***	59,97 $\pm$ 1,57 ***	36,10 $\pm$ 3,39 ***

Примечание: ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что QS-528 оказывает большее влияние на выживаемость клеток, тогда как QS-619 на потребление клетками глюкозы. Эти данные коррелируют с ранее полученными результатами на экспериментальных моделях СД2 и модели повреждения печени тетраглорметаном.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цель данного исследования заключалась в изучении противодиабетического действия QS-528 и его структурных аналогов, являющихся потенциальными агонистами FFAR1, в экспериментах *in vivo* и *in vitro*. Для этого вначале был проведен скрининг гипогликемической активности новых структурных аналогов QS-528 и выявлено соединение-лидер под шифром QS-619, обладающее гипогликемическим действием в дозе 10 мг/кг. При изучении дозозависимого гипогликемического эффекта QS-619 и QS-528 была

определена их наиболее эффективная доза – 30 мг/кг, которая в дальнейшем использовалась при изучении этих соединений на экспериментальных моделях СД2: генетической и диет-индуцированной. По результатам исследования на обеих моделях СД2 было обнаружено, что QS-619 проявляет гипогликемическое действие, тогда как QS-528 – гепатопротекторное. Данное фармакологическое действие QS-528 было подтверждено в последующем эксперименте при токсическом повреждении печени CCl_4 . Обобщая полученные данные по гепатопротекторному действию, можно заключить, что QS-528 обладает выраженной активностью как при метаболическом, так и при токсическом повреждении печени.

Следующим этапом работы было изучение механизма действия соединения QS-619, в ходе которого было установлено, что QS-619, наряду с QS-528 является агонистом FFAR1. Оба соединения, являясь агонистами данного рецептора, повышали концентрацию инсулина и GIP в крови мышей. Это позволяет предположить, что QS-528 и QS-619 являются полными агонистами FFAR1.

При определении острой токсичности QS-528 и QS-619 было обнаружено, что оба соединения в дозе 1000 мг/кг не вызывают гибели мышей CD1, следовательно, их LD_{50} значительно выше этой дозы. Кроме этого, мы оценивали цитотоксичность QS-528 и QS-619 на клетках линии HepG2, а также изучали их влияние на потребление клетками глюкозы. Исходя из полученных результатов был сделан вывод о том, что QS-528 оказывает большее влияние на выживаемость клеток, тогда как QS-619 на потребление клетками глюкозы,

Таким образом, в ходе данного диссертационного исследования мы достигли поставленной цели. На основе полученных нами результатов возможна дальнейшая разработка и создание новых агонистов FFAR1, обладающих как гипогликемическим, так и гепатопротекторным действием, которые в будущем могут быть использованы для лечения СД2 и неалкогольной жировой болезни печени, соответственно.

ВЫВОДЫ

1. По результату скрининга новых структурных аналогов хлорида (1R,2R,4R)-N-(4-((4-(2-карбоксиэтил) фенокси) метил) бензил)-1,7,7-триметилбицикло [2.2.1] гептан-2-аммония (QS-528) в дозе 10 мг/кг достоверный гипогликемический эффект был обнаружен у (3-(4-(4-(((1S,2R,4S)-1,7,7-триметилбицикло [2.2.1] гептан-2-илокси) метил) бензилокси) фенил) пропановой кислоты) (QS-619). Гипогликемический эффект данного соединения усиливался при увеличении дозы до 30 мг/кг.

2. Обнаружено, что QS-619 в дозе 30 мг/кг проявляет достоверный гипогликемический эффект на генетической и диет-индуцированной модели СД2, тогда как QS-528 в аналогичных экспериментах показало гепатопротекторное действие.

3. В исследованиях *in vitro* было установлено, что соединения QS-528 и QS-619 являются агонистами FFAR1 и стимулируют секрецию инсулина и GIP.

4. Установлено, что соединение QS-528 в дозах 120 и 150 мг/кг проявляет гепатопротекторное действие в модели CCl₄ – индуцированной гепатотоксичности.

5. В исследовании на клетках линии HepG2 было обнаружено, что QS-528 увеличивает выживаемость клеток, тогда как QS-619 в большей степени повышает потребление глюкозы и высвобождение лактата, при этом не влияя на жизнеспособность клеток.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации:

1. Kuranov, S. Bornyl Derivatives of p-(Benzyloxy)Phenylpropionic Acid: In Vivo Evaluation of Antidiabetic Activity / S. Kuranov, O. Luzina, M. Khvostov, D. Baev, **D. Kuznetsova**, N. Zhukova, P. Vassiliev, A. Kochetkov, T. Tolstikova, N. Salakhutdinov // *Pharmaceuticals*. – 2020. – Vol. 13. – № 11. – P. 404. – DOI 10.3390/ph13110404.

2. **Pon'kina, D.** Hepatoprotective Effect of a New FFAR1 Agonist—N-Alkylated Isobornylamine / **D. Pon'kina**, S. Kuranov, M. Khvostov, N. Zhukova, Y. Meshkova, M. Marenina, O. Luzina, T. Tolstikova, N. Salakhutdinov // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28. – P. 396. – DOI 10.3390/molecules28010396.

3. **Pon'kina, Darya A.** Bornyl-Containing Derivatives of Benzyloxyphenylpropanoic Acid as FFAR1 Agonists: In Vitro and In Vivo Studies / **Darya A. Pon'kina**, Sergey O. Kuranov, Mariya K. Marenina, Yulia V. Meshkova, Nataliya A. Zhukova, Mikhail V. Khvostov, Olga A. Luzina, Tatiana G. Tolstikova and Nariman F. Salakhutdinov // *Pharmaceutics*. – 2023. – Vol. 15. – № 6. – P. 1670. – DOI 10.3390/pharmaceutics15061670.

Тезисы:

1. Hypoglycemic activity study of novel bornyl derivatives of p-(benzyloxy)phenylpropionic acid / **D. Kuznetsova**, M. Khvostov, S. Kuranov, O. Luzina, D. Baev, N. Zhukova, T. Tolstikova, N. Salakhutdinov // The 6th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry, 1–30 November 2020. – MDPI: Basel, Switzerland, 2020. – DOI 10.3390/ECMC2020-07441.

2. **Кузнецова, Д.А.** Изучение гипогликемического действия фенилпропановой кислоты, содержащей природные компоненты / **Д.А. Кузнецова** // Материалы 58-й Международной научной студенческой конференции, 10-13 апреля 2020 года. – Новосибирск: ИПЦ Новосибирский государственный университет, 2020. – С.62.

3. Изучение гипогликемического действия борнильных производных p-(бензилокси)фенилпропановой кислоты / **Д.А. Кузнецова**, М. В. Хвостов, С. О. Куранов, О. А. Лузина, Т. Г. Толстикова // Сахарный диабет -2021: от мониторинга к

управлению: Материалы IV Российской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием, 26-27 мая 2021 года. – Новосибирск, 2021. – С.186.

4. Поиск новых агонистов FFAR1 среди структурных аналогов фенилпропановой кислоты / **Д.А. Кузнецова**, М. В. Хвостов, С. О. Куранов, О. А. Лузина, Т. Г. Толстикова, Н. Ф. Салахутдинов // Первая всероссийская школа по медицинской химии для молодых ученых, 4-9 июля 2021 г. – Новосибирск, 2021. – С.213.

5. Изучение гипогликемической активности структурных аналогов фенилпропановой кислоты / **Д.А. Кузнецова**, М. В. Хвостов, С. О. Куранов, О. А. Лузина, Т. Г. Толстикова, Н. Ф. Салахутдинов // 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021»: Материалы конференции, Волгоград, 16–19 мая, 2022. – Волгоград: Издательство ВолГМУ, 2021. – DOI 10.19163/MedChemRussia2021-2021-371.

6. Hepatoprotective effect of the N-alkylated isobornylamine on CCl₄ - induced liver injury in mice / **D. Kuznetsova**, S. Kuranov, M. Khvostov, N. Zhukova, O. Luzina, T. Tolstikova // The 7th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry, 01 – 30 November, 2021. – MDPI: Basel, Switzerland, 2021. – DOI 10.3390/ECMC2021-11414.

7. Hepatoprotective effect of the N-alkylated isobornylamine against CCl₄-induced chronic liver damage in mice / **Darya Pon'kina**, Sergey Kuranov, Nataliya Zhukova, Yulia Meshkova, Mikhail Khvostov, Olga Luzina, Tatyana Tolstikova, Nariman Salakhutdinov // The 8th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry, 01 – 30 November, 2022. – MDPI: Basel, Switzerland, 2020. – DOI 10.3390/ECMC2022-13152.

8. Изучение борнилсодержащих производных бензилоксифенилпропановых кислот на диет-индуцированной модели сахарного диабета 2 типа / **Д.А. Понькина**, С. О. Куранов, Н. А. Жукова, Ю. В. Мешкова, М. В. Хвостов, О. А. Лузина, Т. Г. Толстикова, Н. Ф. Салахутдинов // Химия и технология растительных веществ: Тезисы докладов XII Всероссийской научной конференции с международным участием и школой молодых ученых, Киров, 29 ноября – 02 декабря, 2022. – Киров, 2020. – С.272. – DOI 10.19110/00919-045.

9. Изучение фармакологических свойств новых агонистов рецептора FFA1 / **Д.А. Понькина**, С. О. Куранов, Н. А. Жукова, М. Л. Маренина, Ю. В. Мешкова, М. В. Хвостов, О. А. Лузина, Т. Г. Толстикова, Н. Ф. Салахутдинов // VIII Междисциплинарная конференция «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии», Санкт-Петербург, 24 – 27 апреля, 2023 г. – Москва: «Перо», 2023. – С.288.

10. Изучение гипогликемического и гепатопротекторного действия борнилсодержащих производных бензилоксифенилпропановой кислоты на диет-индуцированной модели сахарного диабета 2 типа / **Д.А. Понькина**, С. О. Куранов, Н. А. Жукова, М. Л. Маренина, Ю. В. Мешкова, М. В. Хвостов, О. А. Лузина, Т. Г. Толстикова, Н. Ф. Салахутдинов // Всероссийская научная конференция с

международным участием «Современные проблемы органической химии», Новосибирск, 26 – 30 июня, 2023. – Новосибирск, 2023. – С.189.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени

ОГТТ – оральная глюкозотолерантная проба

ОХ – общий холестерин

ПЖ – поджелудочная железа

СД2 – сахарный диабет 2 типа

ТГ – триглицериды

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭЭ – энтероэндокринные клетки

AUC – площадь под гликемической кривой

DPP-4 – дипептидилпептидаза-4

FFAR1 – рецептор свободных жирных кислот-1

GIP – глюкозозависимый инсулинотропный полипептид

GLP-1 – глюкагонподобный пептид -1