

Мешкова Юлия Владимировна

**ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА
1,2,4- И 1,3,4-ОКСАДИАЗОЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
ДЕЗОКСИХОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ С ПРОГНОЗИРУЕМЫМ
АФФИНИТЕТОМ К 5 α -РЕДУКТАЗЕ
(экспериментальное исследование)**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

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

Сорокина Ирина Васильевна

Официальные оппоненты:

Кривова Наталья Андреевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Биологический институт, лаборатория экспериментальной физиологии, заведующий лабораторией

Неймарк Александр Израилевич, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра урологии и андрологии с курсом ДПО, заведующий кафедрой

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

Защита состоится «__» _____ 2024 года 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 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук

Минакова Мария Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) является одним из распространенных урологических заболеваний, возникающих на фоне общего старения мужского организма. По данным зарубежных авторов, в возрасте пятидесяти лет симптомы ДГПЖ определяются у 50% мужчин, а с восьмидесяти лет и старше - у 90% (Paolone D., 2010). В России за последние 10 лет прирост выявленных случаев заболевания составил 72,4% (Шпилень Е. С. и др., 2018), что свидетельствует о высокой социальной значимости ДГПЖ и необходимости разработки эффективных лекарственных препаратов.

В клиническом течении болезни имеется две последовательных стадии. На первой, бессимптомной, в периуретральном отделе предстательной железы (ПЖ) развивается гиперплазия железистого эпителия и стромы, которая постепенно приводит к сдавливанию просвета уретры и затруднению оттока мочи (Foo K., 2019). Основными факторами, провоцирующими патологические изменения, являются возрастной дисбаланс половых гормонов (вследствие снижения секреции тестостерона), воспаление, а также сопутствующие метаболические нарушения в углеводном и липидном обменах (Zhou Z. et al., 2020). На фоне прогрессирующей нодулярной гиперплазии и воспалительного процесса развивается вторая клиническая стадия ДГПЖ с системными уродинамическими нарушениями (повышение тонуса гладких мышц шейки мочевого пузыря и простаты, неполное опорожнение мочевого пузыря, ноктурия, недержание мочи, гематурия и др.), которые определяются как синдром нижних мочевых путей (СНМП) (Lloyd G.L. et al., 2019). Развитие данных симптомов существенно снижает качество жизни больных и, несмотря на продолжительную медикаментозную терапию, частым исходом является резекция ПЖ с высоким риском послеоперационных осложнений. Очевидно, что применение простатопротекторных препаратов, эффективно подавляющих гиперплазию на ранней стадии ДГПЖ, способно существенно снизить тяжесть вторичных патологических симптомов и вероятность хирургического исхода. Одним из важных критериев при отборе таких препаратов является хорошая переносимость и отсутствие побочных эффектов.

Степень разработанности. Традиционным подходом в терапии пролиферативных заболеваний ПЖ считается применение препаратов с антиандрогенным действием. В настоящее время наиболее эффективными средствами с клинически доказанной антипролиферативной активностью при ДГПЖ являются ингибиторы 5 α -редуктазы (5-АР). Эта группа препаратов представлена двумя синтетическими азастероидами – финастеридом и дутастеридом. Ингибиторы 5-АР снижают продукцию активного метаболита тестостерона - дигидротестостерона, который является высокоаффинным лигандом андрогенового рецептора. В результате тормозится экспрессия генов андроген-респонсивного элемента, что приводит к уменьшению

продукции ростовых факторов, стимулирующих рост железистого эпителия и стромы в периуретральном отделе простаты (Manov J.J. et al., 2020). Азастероиды снижают объем железы до 30% и обладают относительно хорошей переносимостью (Fang Q. et al., 2019). Однако при длительной курсовой терапии они оказывают побочное действие на половую сферу мужчин, которое проявляется в виде снижения либидо, эректильной дисфункции, импотенции, гинекомастии и других симптомов, что, помимо психологических проблем, вызывает снижение фертильности у мужчин детородного возраста (Zhang H. et al., 2020). Данное обстоятельство ограничивает применение финастерида как профилактического средства в группах риска, а также снижает привлекательность препарата у мужчин активного детородного возраста на ранней стадии болезни. Кроме того, на основании клинических наблюдений около 12% пациентов являются нечувствительными к азастероидным ингибиторам 5-AP (Do'ssam J. and all., 2009). Определенным недостатком финастерида и дутастерида можно считать также то, что они не обладают доказанными плеiotропными эффектами на патологические процессы, сопутствующие ДГПЖ – воспаление, окислительный стресс, гипоксию. Для купирования этих симптомов и повышения общей эффективности лечения, обычно применяют фитопрепараты и БАДы на основе растительных экстрактов. Наиболее известными и популярными являются средства на основе экстракта плодов африканской сливы *Prunus africana* («Трианол») и карликовой африканской пальмы *Serenoa repens* («Простамол-Уно» и др.). Липостерольный экстракт *S. repens* содержит сложную смесь длинноцепочечных жирных кислот и их глицеридов, а также фитостеролы оказывающие небольшой противовоспалительный, противоотечный, антигипоксанта́ный, антифибротический эффекты (Petrangelli et al, 2009). Фитопрепараты хорошо переносятся, однако пока они не считаются средствами, соответствующими критериям доказательной медицины, в том числе в отношении антипролиферативного эффекта при ДГПЖ (Olta Allkanjari et al., 2015).

Таким образом, актуальной исследовательской задачей является поиск новых малотоксичных простатопротекторных агентов, обладающих антипролиферативным действием в ПЖ, а также сопутствующей противовоспалительной активностью. Перспективными платформами для поиска таких агентов могут служить желчные кислоты, которые являются эндогенными метаболитами, имеют стероидную структуру, обладают широким спектром нативной биологической активности и высокой реакционной способностью. В лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН (зав. лабораторией д.б.н. Т. Г. Толстикова) было впервые показано, что дезоксихолевая кислота (ДХК) и ее 1,2,4-оксадиазольные производные значительно уменьшают гиперплазию в железистом отделе простаты крыс, индуцированную тестостероном (Сорокина И.В. и др., 2021). Полученные результаты обусловили поиск

новых агентов с более высокой простатотропной, противовоспалительной активностью и низкой токсичностью среди соединений данного структурного типа.

Цель исследования – поиск 1,2,4- и 1,3,4 - оксадиазольных производных дезоксихолевой кислоты с прогнозируемым аффинитетом к 5-альфа-редуктазе и исследование их простатопротекторных, противовоспалительных и токсических свойств в сравнении с финастеридом.

Задачи исследования:

1. Оценить *in silico* аффинитет 1,2,4- и 1,3,4- оксадиазольных производных дезоксихолевой кислоты и финастерида к 5-альфа-редуктазе путем докинга в центр связывания фермента. Определить расчетные величины энергии связывания соединений с мишенью;

2. Провести патоморфологическое исследование простатотропных эффектов соединений в сравнении с финастеридом у крыс с доброкачественной гиперплазией предстательной железы, индуцированной тестостероном и сульпиридом;

3. Изучить влияние соединений на морфометрические показатели ткани периуретрального отдела простаты (объемную плотность железистого эпителия, стромы и просвета желез) у крыс с индуцированной доброкачественной гиперплазией предстательной железы в сравнении с финастеридом;

4. Определить противовоспалительную активность исследуемых соединений на моделях острого экссудативного и псевдоаллергического воспаления;

5. Оценить острую токсичность 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазольных производных дезоксихолевой кислоты в сравнении с финастеридом.

Научная новизна работы. Методом молекулярного моделирования впервые продемонстрирована способность 1,2,4-оксадиазольного производного ДХК, содержащего *мета*-пиридиновый фрагмент (I) и 1,3,4-оксадиазольных производных, содержащих *пара*-пиридиновый (II) или *пара*-хлорфенильный (III) фрагменты, связываться с активным центром фермента 5-АР через образование промежуточного комплекса с НАДФН. Впервые с использованием расчетной функции докинга показано, что все исследуемые соединения имеют оценочные значения энергии связывания близкие к ингибитору 5-АР финастериду.

Впервые у изучаемых 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазольных производных ДХК обнаружен простатопротекторный эффект в моделях ДГПЖ, индуцированной у крыс тестостероном и сульпиридом. Установлено, что введение соединений в дозе 20 мг/кг вызывает однонаправленные с финастеридом положительные сдвиги в морфологической картине простаты: существенную регрессию гиперпластического процесса в железистом эпителии, увеличение просвета желез, снижение тяжести гемодинамических нарушений. 1,3,4-оксадиазольное производное, содержащее *пара*-хлорфенильный фрагмент

(III), проявляет наиболее значимый эффект на обеих моделях, превосходящий действие финастерида в эффективной дозе 10 мг/кг.

Впервые на моделях псевдоаллергического и экссудативного воспаления показано, что изучаемые 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазольные производные ДХК проявляют противовоспалительную активность, подобную индометацину и финастериду, и превосходят активность пермиксона и ДХК, взятых в эквивалентных дозах.

Впервые установлено, что LD_{50} исследуемых соединений выше, чем у финастерида и ДХК, что свидетельствует о более низкой токсичности оксадиазольных производных ДХК. Предполагается, что снижение токсичности связано с введением в молекулу оксадиазольного фрагмента.

Теоретическая и практическая значимость. Теоретическая значимость работы связана с представленными алгоритмами поиска потенциальных ингибиторов 5-АР с использованием молекулярного докинга агентов в центр связывания фермента. Прогностическая ценность предложенных компьютерных моделей подтверждается корреляцией с данными, полученными в экспериментах на животных. Практическая значимость исследования связана с обнаруженными 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазольными производными ДХК с высокой простатопротекторной активностью, не уступающей финастериду, и более низкой токсичностью. С учетом результатов докинга, данные соединения с высокой вероятностью могут обладать ингибирующим действием на 5-АР, что будет способствовать расширению линейки препаратов этой группы. На основании полученных результатов выбран агент с наиболее высоким антипролиферативным и противовоспалительным эффектом - 1,3,4-оксадиазольное производное ДХК, содержащее *para*-хлорфенильный фрагмент (III), который может рассматриваться как кандидат на доклинические испытания.

Методология и методы исследования. В работе применен мишень-ориентированный подход к поиску простатопротекторных агентов - прототипов ингибиторов 5-АР. В рамках данного подхода был выполнен докинг виртуальных агентов в активный центр 5-АР и расчет оценочной энергии связывания с мишенью. Выбранные соединения с более высоким прогнозируемым аффинитетом были синтезированы в Лаборатории физиологически активных соединений НИОХ СО РАН (зав. лабораторией чл.-корр. Н.Ф. Салахутдинов), после чего их активность тестировали на моделях с гормональной индукцией пролиферативных процессов в ПЖ, которые считаются близкими к патогенезу ДГПЖ человека. Основным методом оценки простатопротекторных эффектов была световая микроскопия гистологических препаратов ПЖ с морфометрическим анализом ее основных структурных элементов. В работе также использовали стандартные модели острого воспаления у мышей, токсичность соединений определялась методом пробит-анализа (Миронов А.Н., 2013). Опыты проводили на конвенциональных животных - самцах крыс стока Wistar, мышцах CD-1 и CBA. Статистическая

обработка данных выполнена с использованием пакета программ Statistica 8.0

Положения, выносимые на защиту:

1. Методом молекулярного докинга показано, что 1,2,4-оксадиазольное производное ДХК, содержащее *мета*-пиридиновый фрагмент (**I**) и 1,3,4-оксадиазольные производные, содержащие *пара*-пиридиновый (**II**) или *пара*-хлорфенильный (**III**) фрагменты, подобно финастериду, способны проникать в сайт связывания 5-АР через образование аддуктов с НАДФН. Изучаемые соединения имеют близкие к финастериду значения оценочной энергии связывания с мишенью, однако, в отличие от последнего, их связывание с ферментом имеет обратимый характер.

2. В тестостероновой и сульпиридной моделях ДГПЖ 1,2,4-оксадиазольное производное ДХК, содержащее *мета*-пиридиновый фрагмент (**I**) и 1,3,4-оксадиазольные производные, содержащие *пара*-пиридиновый (**II**) или *пара*-хлорфенильный (**III**) фрагменты при внутрижелудочном введении в дозе 20 мг/кг проявляют значимый антипролиферативный эффект в железистом эпителии и строме простаты. Производные **I** и **II** не уступают, а соединение **III** превосходит по активности финастерид в его эффективной дозе 10 мг/кг.

3. 1,2,4-оксадиазольное производное ДХК, содержащее *мета*-пиридиновый фрагмент (**I**) и 1,3,4-оксадиазольные производные, содержащие *пара*-пиридиновый (**II**) или *пара*-хлорфенильный (**III**) фрагменты производные ДХК, как и финастерид, обладают выраженной противовоспалительной активностью и являются менее токсичными, чем референсный препарат и ДХК.

Степень достоверности и апробация материала. Высокая степень достоверности полученных данных подтверждается достаточным объемом экспериментального материала, использованием сертифицированного оборудования, реактивов и животных. В работе применялись современные компьютерные, морфологические и морфометрические методы анализа, а также общепринятые животные модели. Используемый в работе мишень-ориентированный подход является современной стратегией в области экспериментальной и клинической фармакологии. Выводы, сформулированные в работе, основаны на полученных собственных результатах исследования, анализе литературы и точности статистической обработки данных.

Основные результаты работы прошли апробацию на Всероссийском конгрессе молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины» (Томск, 2022 г.); Весенней школе-конференции ХимРар по медицинской химии (Химки, 2021 г.); Международной научной студенческой конференции (Новосибирск, 2021 и 2022 г.); Международном молодежном научном форуме «ЛОМОНОСОВ» (Москва, 2021 и 2022 г.).

Личный вклад автора. Автор принимала участие в формулировке цели и задач исследования, планировании экспериментов, интерпретации основных результатов. Автором самостоятельно выполнены поиск и анализ

литературы, проведены запланированные эксперименты на животных, подготовлены гистологические препараты. Морфологическое исследование и морфометрический анализ материала выполнен самостоятельно при методической поддержке в.н.с. ЛФИ НИОХ, д.м.н. Жуковой Н.А. Компьютерное моделирование связывания изучаемых соединений с целевой мишенью выполнялось под руководством с.н.с. ЛФИ НИОХ, к.б.н. Д.С. Баева. Статистическая обработка результатов исследования и подготовка рукописи к защите проводились самостоятельно.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, получен 1 патент РФ на изобретение.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 116 страницах, иллюстрирована 7 таблицами и 23 рисунками. Библиография включает 225 источников, из них 19 отечественных и 206 зарубежных, преимущественно за последние 5 лет.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

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

Первая глава диссертации посвящена анализу литературных данных по теме исследования. Представлены современные сведения об эпидемиологии и патогенезе ДГПЖ, сделан сравнительный анализ эффективности и механизмов действия лекарственных препаратов и растительных средств сложного состава. Показан приоритет гормонально-зависимых экспериментальных моделей, а также обосновано использование желчных кислот как перспективных платформ для поиска новых протастопротекторных агентов.

Во второй главе диссертации приведено описание материалов и методов исследования.

Исследуемыми соединениями являлись 1,2,4-оксадиазольное производное ДХК, содержащее *мета*-пиридиновый фрагмент (**I**) и 1,3,4-оксадиазольные производные, содержащие *пара*-пиридиновый (**II**) или *пара*-хлорфенильный (**III**) (рисунок 1), выбранные из библиотеки виртуальных производных ДХК на основании компьютерного прогноза их аффинитета к 5-АР.

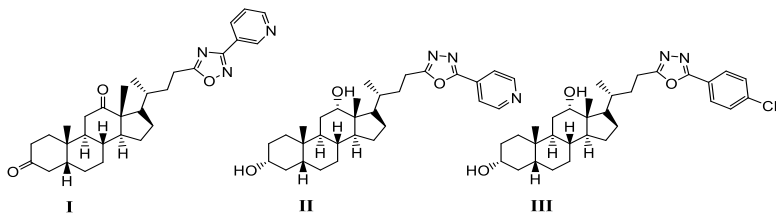


Рисунок 1 – 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазольные производные ДХК

Молекулярное моделирование исследуемых агентов в сайт связывания 5-AP осуществлялось в среде визуализации Schrodinger Maestro с использованием приложений из пакета Schrodinger Small Molecule Drug Discovery Suite 2017-1. Принимались во внимание все возможные таутомерные формы соединений, а также все ионизированные формы соединений в диапазоне pH 7.0 ± 2.0 . Для расчетов применялась модель 5-AP с PDB ID 7BW1 (Xiao Q. et al., 2020). Для моделирования возможного механизма связывания с выбранной мишенью, выполнялся молекулярный докинг соединений в сайт связывания аддукта финастерид и НАДФ-Н в приложении Glide (Friesner R. et al., 2006). Докинг проводился в сравнении с аддуктом финастерид и НАДФ-Н. Его трехмерная структура была получена в базе данных PubChem и подготовлена в приложении LigPrep. С использованием дополнительных функций докинга, были установлены оценочные значения энергии связывания.

На следующем этапе работы в экспериментах на животных исследовались простатопротекторные, противовоспалительные свойства и токсичность агентов в сравнении с финастеридом. В экспериментах использовали 72 самца крыс стока Wistar, 140 мышей-самцов CD-1 и 80 мышей-самцов линии СВА, полученных из вивария ФИЦ Института цитологии и генетики СО РАН. Все манипуляции с животными проводились в строгом соответствии с законодательством РФ, Приказом Минздрава РФ № 199н от 01.04.2015 г. и положениями Директивы 2010/63/EU Парламента ЕС и Совет Европейского Союза от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых в научных целях.

Исследование простатопротекторных свойств оксадиазольных производных ДХК проводили на двух моделях ДГПЖ. В эксперимент на **тестостероновой модели ДГПЖ** брали 36 половозрелых самцов крыс массой 320-400 г, которых рандомизировали на 6 групп по 6 особей в каждой. Всем группам, кроме интактной, вводили подкожно тестостерона пропионат (ТП) («ДАЛЬХИМФАРМ», Россия) в дозе 20 мг/кг (Kortam M. et al., 2022). Через час опытным крысам вводили внутривенно (в/ж) изучаемые агенты в виде водной суспензии с Твином-80 в дозе 20 мг/кг, референс-группе – водно-твиновую суспензию препарата финастерид («Зентива», Чешская Республика) в дозе 10 мг/кг (Jeon W.Y. et al., 2017), контрольной группе – эквивалентный объем воды с Твином-80. Длительность введения

составила 30 дней. Группа интактных животных не подвергалась воздействиям. Через 4 недели всех животных выводили из эксперимента мгновенной декапитацией, извлекали вентральную долю ПЖ, фиксировали в 10 % нейтральном формалине для дальнейшего проведения морфологических исследований и морфометрического анализа. Окраску срезов проводили гематоксилином Лилли - Майера (по прописи Р. Лилли) и 10% эозином и дополнительно окрашивали по методу ШИК – гематоксилин - оранжевый Г. Морфометрический анализ срезов проведен при увеличении микроскопа х400 с использованием окулярной сетки на 289 точек (Автандилов Г.Г., 2002). Объемную плотность (Vv) каждого структурного компонента ПЖ определяли по формуле 1:

$$Vv=x/n \quad (1)$$

где, x – количество точек, приходящихся на определенный структурный компонент; n – общее количество подсчитанных точек. Данные представлены в условных единицах (у.е.).

В опыт на *сульпиридной модели ДГПЖ* брали 36 половозрелых самцов крыс массой 290-350 г (6 групп, n=6). Всем группам, кроме интактной вводили внутривентрально (в/б) сульпирид (эглонил, «Санофи», Франция) в дозе 40 мг/кг (Van Corpenolle F. et al., 2001). Через час крысам контрольной, референсной и опытных групп вводили в/ж в дозе 20 мг/кг соответствующие агенты, как описано в предыдущей модели. Длительность введения составила 60 дней. Группа интактных животных не подвергалась воздействиям. По окончании введения агентов, животных выводили из эксперимента, извлекали латеральную долю ПЖ, фиксировали в 10 % нейтральном формалине для дальнейших исследований, как описано в предыдущей модели.

В *модели острого гистаминового воспаления*, использовали самцов мышей CD-1 массой 25-30 г, (n=8). Мышам опытных групп однократно вводили в/б водно-твиновую суспензию исследуемых агентов (**I, II, III**), референсных препаратов (финастерид, пермиксона и индометацина) и структурного аналога (ДХК). Все агенты вводились в дозе 20 мг/кг, а финастерид дополнительно в дозе 10 мг/кг. Контрольная группа получала воду с Твином-80.

Через 1 час после введения агентов всем животным вводили в апоневроз задней лапы по 0,05 мл 0,01% водного раствора гистамина («Sigma Aldrich») (Тринус Ф.Н., 1974). Через 5 часов после введения гистамина мышам забивали путем цервикальной дислокации позвоночника, отсекали обе задние лапы, определяли массу каждой. Противовоспалительный эффект оценивали по величине индекса воспаления, который определяли как отношение разности масс воспаленной (m_v) и интактной (m_u) лап к массе интактной лапы, выраженное в процентах (формула 2):

$$ИО = \frac{m_v - m_u}{m_u} \cdot 100\% \quad (2)$$

В *модели псевдоаллергического воспаления, вызванного*

конканавалином-А использовали мышей-самцов СВА массой 25-30 г, (n=8). Исследуемые вещества и референс вводили однократно аналогично предыдущей модели. Через сутки введение всех агентов повторяли, через 1 час после последнего введения агентов всем животным вводили в апоневроз задней лапы по 0,02 мл раствора конканавалина-А («Sigma Aldrich») концентрацией 5 мг/кг. Коллатеральная лапа оставалась интактной. Через 1 час мышей выводили из эксперимента, отсекали обе задние лапы, взвешивали каждую и определяли индекс воспалительного отека лапы по формуле 2.

Определение острой токсичности исследуемых веществ, ДХК и финастерида проводили на самцах мышей CD-1 массой 20-25 г (n=6). Исследуемые соединения растворяли в воде с Твином-80 и вводили в/ж в дозе 750 и 1500 мг/кг в объеме по 0,2 мл/10 г веса мыши. Наблюдение за состоянием животных проводили через 1 час, 4 часа и далее каждые сутки в течение 14 дней. Регистрировали количество летальных исходов в каждой группе. Величину средне-смертельной дозы определяли методом пробит-анализа по логарифмической шкале «доза-эффект».

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 8.0. Для представления количественных показателей в таблицах вычисляли медиану и квартильные размах (КР). Сравнение данных проводили с использованием дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса, последующее попарное сравнение групп проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Третья глава диссертации посвящена описанию собственных результатов исследований.

1. Молекулярное моделирование связывания 5-АР с оксадиазольными производными ДХК

5-АР катализирует необратимую редукцию 4,5-двойной связи в 3-кетостероидах до одинарной, причем для протекания реакции необходим донор гидрид-иона в виде кофактора НАДФН. Финастерид образует ковалентный аддукт с НАДФН по 2 положению цикла А, который необратимо блокирует активный сайт 5-АР (Xiao et al. 2020a) (рисунок 2).

Возникновение аддуктов с НАДФН теоретически возможно и с другими стероидными молекулами, такими как производные ДХК. Установлено, что **I** может образовывать аддукт с НАДФН, способный проникать в сайт связывания 5-АР, по нескольким положениям: присоединение по 2 положению цикла А или по атому азота пиридинового кольца заместителя. Для производного **II** образование такого аддукта с наибольшей вероятностью будет происходить по атому азота пиридинового цикла, для **III** – по атому азота в 3 положении 1,3,4-оксадиазольного цикла (рисунок 2).

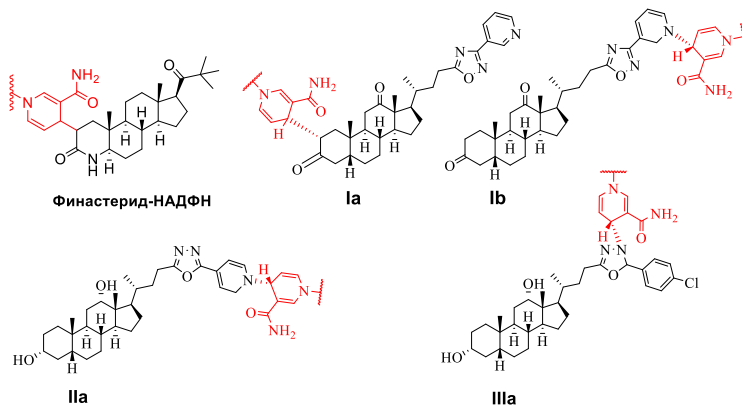


Рисунок 2 – Возможные аддукты между производными **I, II, III** и НАДФН.

Красным цветом выделен кофактор НАДФН

Следует отметить, что все аддукты производных ДХК участвуют в нековалентных взаимодействиях с аминокислотными остатками в сайте связывания 5-AP, что свидетельствует об обратимом характере взаимодействия. В результате выполнения расчетной функции докинга были получены следующие значения оценочной минимальной энергии связывания (таблица 1).

Таблица 1 – Расчетные значения энергии связывания аддуктов оксадиазольных производных ДХК и финастерид с НАДФН в сайте связывания 5-AP

Аддукты	Финастерид	Ia / Ib	IIa	IIIa
Энергия связывания* ккал/моль	-20,504	-14,67 / -17,93	-14,77	-13,07

Примечание: *истинной энергией связывания не является, рассматривать как оценочное значение (docking score).

Согласно представленным данным, аддукты оксадиазольных производных **I, II** и **III** имеют близкие к финастериду значения оценочной энергии связывания, что указывает на теоретически высокую вероятность их связывания с активным центром 5-AP.

2. Морфологическое исследование эффектов оксадиазольных производных ДХК в ПЖ крыс в тестостероновой модели ДГПЖ

Установлено, что у интактных животных ПЖ имеет типичное строение. Снаружи простата покрыта плотной соединительнотканной капсулой, которая продолжается в строму, представленную волокнисто-мышечными перегородками, содержит кровеносные сосуды различного калибра, мелкие ганглии. Секреторная часть простаты представлена концевыми отделами и выводными протоками многочисленных желез, отличающихся размерами и локализацией. Простатические железы выстланы преимущественно однослойным кубическим или призматическим эпителием, а также

многорядным призматическим эпителием. Просветы желез заполнены секретом, имеющим ШИК – положительную окраску (рисунок 3А). Воспалительных и дегенеративных изменений в ткани ПЖ не выявлено.

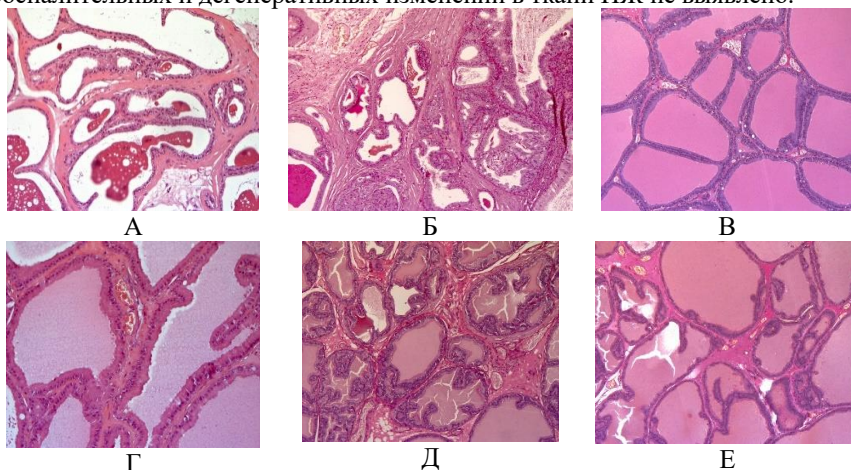


Рисунок 3 – Морфология вентральной доли ПЖ крыс. Окраска ШИК - гематоксилин – оранжевый G. $\times 200$. А) ПЖ intactных животных. Б) ПЖ крысы контрольной группы (ТП). В) ПЖ крысы после введения ТП и финастерида. Г) ПЖ крысы после введения ТП и агента I. Д) ПЖ крысы после введения ТП и агента II. Е) ПЖ крысы после введения ТП и агента III

4-х недельное введение ТП в дозе 20 мг/кг приводит к развитию выраженного гиперпластического процесса. В ПЖ отмечается формирование дополнительных очагов пролиферации с образованием разветвленных папиллярных структур в просвете ацинусов. Железистый эпителий в ацинусах активно пролиферирующий, высокий призматический с гиперхромными ядрами, местами многорядный с большим количеством митозов (рисунок 3Б). В железистом эпителии выявляется вакуольная дистрофия. Во всех отделах ПЖ прослеживается выраженное венозное полнокровие и отек стромы. Отмечается нарушение оттока секрета из ацинусов, их кистозное расширение с атрофией эпителия. Просвет желез заполнен секретом в виде эозинофильной субстанции и слущенными эпителиальными клетками. Выявленные патологические изменения соответствуют III – IV стадии гиперпластического процесса.

Введение животным финастерида на фоне ТП приводит к снижению выраженности гиперпластического процесса до I - II стадии. В состоянии призматического эпителия ацинусов отмечено отсутствие выраженных признаков пролиферации и атипии (рисунок 3В). В эпителиоцитах визуально уменьшается количество митозов. На фоне введения финастерида в железистом эпителии сохраняется вакуольная дистрофия, венозное

полнокровие, отек и лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация стромы. Наблюдаются и признаки частичного нарушения оттока секрета из ацинусов с очаговым кистозным расширением и атрофией эпителия. Просвет желез заполнен секретом в виде эозинофильной субстанции и слущенными клетками.

У животных с введением агентов **I**, **II** и **III** на фоне ТП морфологическая картина ПЖ является в целом схожей как для данных групп, так и в сравнении с референсной группой. У всех животных наблюдается регрессия гиперпластических процессов, которая заметна в железистой части простаты и по выраженности соответствует папиллярной очаговой гиперплазии I - II стадии. Железистый эпителий в ацинусах отмечен как призматический без повышенной митотической активности (рисунок 3Г, Д, Е). Отличительной особенностью ПЖ в данных группах является отсутствие дистрофических изменений в железистом эпителии, некоторое улучшение гемодинамических процессов в виде слабо выраженных отека стромы и венозного полнокровия. Выводные протоки желез частично кистозно расширены, с атрофичным эпителием. Просвет желез заполнен секретом в виде эозинофильной субстанции.

3. Влияние оксадиазольных производных ДХК на морфометрические показатели основных структурных элементов ПЖ в тестостероновой модели ДГПЖ

В результате 4-недельного введения ТП у контрольных животных заметно увеличиваются показатели Vv железистого эпителия и стромы (оба в 1,6 раз), что приводит к сужению просвета желез (в 1,4 раз) по сравнению с интактными животными (таблица 2). Отмеченные эффекты статистически достоверны (кроме стромы).

Таблица 2 – Изменение показателей Vv структурных компонентов ПЖ крыс под влиянием оксадиазольных производных ДХК в тестостероновой модели ДГПЖ

	Показатели объемной плотности (Vv), у.е.		
	Желез.эпителий	Строма	Просвет желез
Интактные	0,27±0,04	0,16±0,13	0,46±0,19
Контроль	0,42±0,08 ^	0,26±0,02	0,34±0,05 ^
Финастерид	0,38±0,02	0,27±0,10	0,36±0,08
I	0,29±0,05 * #	0,19±0,07	0,50±0,03 * #
II	0,25±0,11 *	0,19±0,07	0,47±0,12 * #
III	0,32±0,05 * #	0,19±0,10 *	0,47±0,11 *

Примечание: Медиана±КР, ^p<0,05 – достоверное отличие от интактной группы; *p<0,05 – достоверное отличие от контрольной группы; #p<0,05 – достоверное отличие от референсного препарата.

Введение соединений **I**, **II** и **III** достоверно снижает Vv эпителия (соответственно в 1,4; 1,7 и 1,3 раз) относительно контроля и референсного

препарата, который в данном случае проявляет незначительный эффект (таблица 2). Подобную тенденцию можно отметить и в строме ПЖ, где на фоне ТП оксадиазольные производные более существенно снижают показатели Vv относительно контроля, чем финастерид. Наиболее значимый эффект проявляет соединение **III**, в остальных группах уменьшение объема стромы является недостоверным (таблица 2). Под влиянием оксадиазольных производных ДХК просвет желез восстанавливается до показателей интактной нормы (таблица 2).

Таким образом, в тестостероновой модели ДГПЖ под действием оксадиазольных производных ДХК значимое снижается объем железистого эпителия и существенно увеличивается просвет желез. Производное **III** дополнительно достоверно снижает объем стромы, у соединений **I** и **II** это действие проявляется в виде тенденции. Обнаруженные эффекты превосходят действие финастерида.

4. Морфологическое исследование эффектов оксадиазольных производных ДХК в ПЖ крыс в сульпиридной модели ДГПЖ

Установлено, что ПЖ интактных животных имеет типичное строение, описанное выше (рисунок 4А).

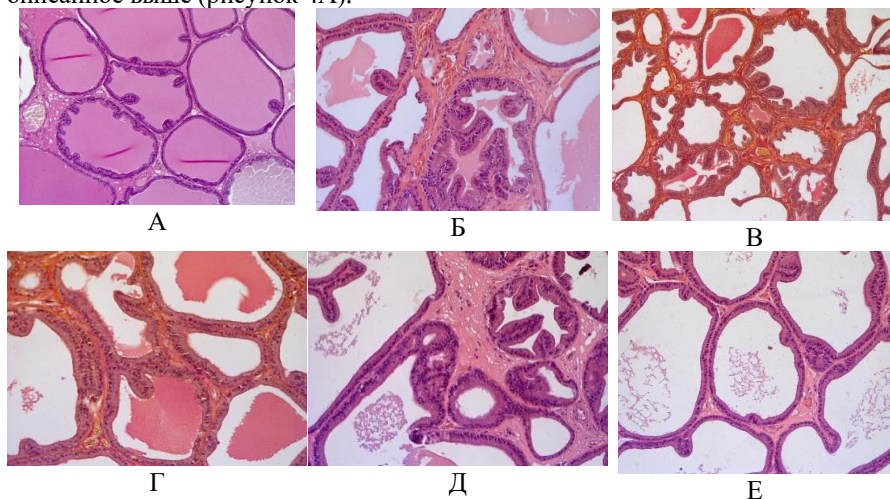


Рисунок 4 – Морфология латеральной доли ПЖ крыс. Окраска гематоксилином и эозином, ШИК - гематоксин – оранжевый G. $\times 200$. А) ПЖ интактных животных. Б) ПЖ крысы контрольной группы (сульпирид). В) ПЖ крысы после введения сульпирида и финастерида. Г) ПЖ крысы после введения сульпирида и агента **I**. Д) ПЖ крысы после введения сульпирида и агента **II**. Е) ПЖ крысы после введения сульпирида и агента **III**

После 8-ми недельного введения сульпирида у животных наблюдается развитие очаговой железистой гиперплазии ПЖ. В секреторной части

отмечается формирование дополнительных очагов пролиферации с образованием папиллярных структур в просвете ацинусов (рисунок 4Б). Железистый эпителий в ацинусах высокий призматический активно пролиферирующий с гиперхромными ядрами. Прогрессирование пролиферативной активности ацинарных структур сопровождается нарушением оттока секрета из ацинусов и их кистозным расширением. Кистозно расширенные железы, выстланы кубическим эпителием, просвет этих желез заполнен секретом в виде эозинофильной и ШИК-позитивной субстанции. Во всех отделах ПЖ выявляется выраженное венозное полнокровие, отек и коллагенизация стромы. Таким образом, выявленные патологические изменения соответствуют II - III стадии гиперпластического процесса. В группе животных, получавших сульпирид и финастерид сохраняется очаговая гиперплазия железистого эпителия, выраженная коллагенизация стромы, полнокровие сосудов и плазматический отек межтканевой ткани (рисунок 4В).

У всех животных, получавших агенты I, II и III отмечается регрессия патологических изменений. Железистый эпителий в ацинусах призматический однорядный, без признаков гетерогенности. В строме сохраняется умеренное венозное полнокровие и отек, кистозное расширение желез. Стенки кровеносных сосудов утолщены, просветы их сужены. Наиболее ярко динамика положительных сдвигов в ПЖ наблюдается у крыс, получавших производное III. В этой группе животных визуально снижается выраженность гиперплазии в секреторной части ПЖ, признаки коллагенизации стромы по сравнению с животными референсной группы (рисунок 4Е). У крыс, получавших агенты I и II морфологическая картина простаты в большей степени соответствует референсной группе (рисунок 4Г, Д).

5. Влияние оксадиазольных производных ДХК на морфометрические показатели основных структурных элементов ПЖ в сульпиридной модели ДГПЖ

По данным морфометрического анализа, 8-недельное введение сульпирида вызывает у контрольных животных достоверное увеличение Vv стромы (в 1,4 раза) и уменьшение Vv просвета желез (в 1,2 раза) относительно интактных. Повышение Vv железистого эпителия было незначимым (в 1,1 раза) (таблица 3). На этом фоне введение крысам соединений I, III и референсного препарата вызывает достоверное, относительно контроля, снижение Vv железистого эпителия (соответственно в 1,2, 1,7 и 1,2 раза). Такое же действие производного II имеет недостоверный характер (таблица 3). Следует отметить, что антипролиферативный эффект соединения III в железистом эпителии достоверно выше, чем у финастерида (таблица 3).

Под влиянием агентов показатели Vv стромы снижаются до незначимых различий с интактными животными во всех опытных и референсной группах (таблица 3). Наиболее выраженное уменьшение стромального показателя относительно контроля наблюдается у крыс с введением производного III и

финастерида (достоверное уменьшение объемной плотности в 1,6 и 1,4 раза соответственно). У производных **I** и **II** аналогичный эффект имеет недостоверный характер (таблица 3). На фоне сульпирида все исследуемые соединения и референсный препарат достоверно, относительно контрольной группы, увеличивают Vv просвета желез (в 1,3-1,5 раз), при этом у производного **III** этот эффект достоверно выше референсного препарата (таблица 3).

Таблица 3 – Изменение показателей объемной плотности (Vv) плотности структурных компонентов ПЖ крыс под влиянием оксадиазольных производных ДХК в сульпиридной модели ДГПЖ

	Показатели объемной плотности (Vv), у.е.		
	Желез.эпителий	Строма	Просвет желез
Интактные	0,35±0,01	0,14±0,03	0,51±0,06
Контроль	0,38±0,06	0,19±0,08 ^	0,42±0,08 ^
Финастерид	0,32±0,01 *	0,14±0,01 *	0,54±0,01 *
I	0,31±0,03 *	0,16±0,06	0,56±0,02 *
II	0,31±0,11	0,14±0,04	0,53±0,09 *
III	0,23±0,01 * #	0,12±0,04 *	0,65±0,04 * #

Примечание: Медиана±КР, ^p<0,05 – достоверное отличие от интактной группы; *p<0,05 – достоверное отличие от контрольной группы; #p<0,05 – достоверное отличие от референсного препарата.

Таким образом, в сульпиридной модели ДГПЖ исследуемые оксадиазольные производные ДХК оказывают однонаправленное действие с финастеридом, выражающееся в нормализации состояния основных структурных элементов ткани ПЖ. Оксадиазольные производные **I** и **II** проявляют простатопротекторные эффекты в ткани ПЖ близкие по характеру и выраженности к финастериду, тогда как производное **III** обладает более высокой антипролиферативной активностью в железистом эпителии и строме ПЖ, чем референсный препарат.

6. Противовоспалительная активность оксадиазольных производных ДХК в модели острого экссудативного воспаления, индуцированного гистамином

Установлено, что все производные ДХК в дозе 20 мг/кг оказывают достоверное противовоспалительное действие, в отличии от ДХК. Соединения **I**, **II** и **III** снижают средний индекс отека лапы мыши относительно контроля соответственно в 1,5; 1,9 и 1,9 раз, не уступая индометацину (снижение отека в 2 раза) (таблица 4).

Введение финастерида в дозах 20 и 10 мг/кг приводит к достоверному уменьшению среднего индекса отека лапы мыши в 2 раза относительно контрольной группы. ДХК и пермиксон в рамках данной модели не проявляют противовоспалительной активности.

Таблица 4 – Влияние исследуемых соединений на величину отека лапы мышей

Группа	Доза, мг/кг	Гистамин		Конканавалин-А	
		ИО, %	ПА, %	ИО, %	ПА, %
Контроль	-	45,54±25,67	-	33,33±15,51	-
ДХК	20	37,28±25,49	18,14	27,96±3,60	16,11
Агент I	20	30,44±14,46 *	33,16	20,36±4,92 *	38,91
Агент II	20	23,50±8,81 *	48,40	16,32±6,25 *	51,04
Агент III	20	24,54±10,82 *	46,11	20,63±5,61 *	38,10
Финастерид	10	22,37±37,13	50,88	27,92±10,60	16,23
Финастерид	20	22,14±8,28 *	51,38	20,98±10,12 *	37,05
Пермиксон	20	37,71±7,31	17,19	33,95±7,79	-
Индометацин	20	22,32±6,74 *	50,99	14,08±7,37 *	57,76

Примечание: Медиана±КР; ИО – индекс отека, ПА – противовоспалительная активность; * $p < 0,05$ – достоверное отличие от контрольной группы.

7. Противовоспалительная активность оксадиазольных производных ДХК в модели псевдоаллергического воспаления, индуцированного конканавалином-А

Установлено, что в модели иммуногенного воспаления производные ДХК в дозе 20 мг/кг оказывают достоверное противовоспалительное действие. Под влиянием агентов I, II и III средний индекс отека лапы мыши уменьшается в 1,6; 2 и 1,6 раз соответственно относительно контрольной группы (таблица 4). Введение финастерида в дозе 20 мг/кг оказывает достоверный эффект в виде снижения индекса отека в 1,6 раз относительно контрольной группы, однако в дозе 10 мг/кг его активность существенно падает. Индометацин снижает воспалительный отек в 2,4 раза, его эффект в эквивалентной дозе не имеет значимых различий с указанными выше агентами. ДХК и пермиксон не проявляют противовоспалительных свойств в рамках данной модели.

Таким образом, исследуемые оксадиазольные производные ДХК оказывают выраженное противовоспалительное действие, сравнимое с действием индометацина в его эффективной дозе.

8. Определение острой токсичности производных ДХК и финастерида на мышах

Установлено, что все оксадиазольные производные ДХК являются менее токсичными, чем исходная синтетическая платформа и финастерид (таблица 5).

Внутрижелудочное введение оксадиазольных производных ДХК в дозе 1500 мг/кг не вызывает у животных видимых признаков интоксикации.

Таблица 5 – Значение LD₅₀ исследуемых соединений

Группа	ДХК	I	II	III	Финастерид
LD ₅₀ , мг/кг	1260	>1500	>1500	>1500	1060

Четвертая глава диссертационной работы посвящена обсуждению полученных результатов с привлечением данных литературы.

Высокие показатели заболеваемости и заметное снижение возрастного порога ДГПЖ свидетельствуют о недостаточной эффективности существующей медикаментозной терапии, как альтернативе хирургическим методам лечения. В последнее время, благодаря исследованию молекулярных и клеточных механизмов патогенеза ДГПЖ, были выявлены чувствительные мишени для таргетной терапии. В результате появилась новая группа простатопротекторных препаратов – ингибиторов 5-АР, которые считаются золотым стандартом при лечении ДГПЖ. Действие препаратов направлено на подавление пролиферативных процессов в железистом и стромальном компартментах ПЖ, что снижает тяжесть вторичных СПМП и повышает качество жизни больных.

Несмотря на то, что 5-АР считается приоритетной мишенью в разработке новых простатопротекторов, важное значение имеют и другие свойства препаратов, направленные на компенсацию сопутствующих патологических процессов. Это касается ассоциированных с ДГПЖ нарушений в эндокринной системе, в углеводном и липидном обменах, воспалительных процессах. В этой связи важное значение, кроме основного антипролиферативного действия, имеют соответствующие плеiotропные эффекты.

Исходя из вышесказанного, целью представленной работы являлся поиск 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазольных производных ДХК с прогнозируемым аффинитетом к 5-АР и исследование их простатопротекторных, противовоспалительных и токсических свойств в сравнении с финастеридом.

На первом этапе работы выполнялся выбор соединений по аффинитету к 5-АР путем докинга молекулы в центр связывания фермента. В результате были выбраны три 1,2,4- и 1,3,4-производных ДХК, имеющие близкие к финастериду значения оценочной энергии связывания. В ходе молекулярного моделирования установлено, что в образовании связей в гидрофильном кармане активного центра 5-АР с высокой вероятностью участвуют оксадиазольные фрагменты молекул производных ДХК. Ранее в работе (Mochona B. et al., 2016) было показано, что включение фрагментов 1,3,4-оксадиазола в молекулярную структуру, изменяет полярность, гибкость, а также метаболический профиль соединений и их способность образовывать водородные связи. Нами установлено, что связывание 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазольных производных ДХК с активным центром 5-АР происходит путем образования аддуктов с НАДФН подобно финастериду. Согласно литературным данным, финастерид образует ковалентный аддукт с НАДФН по 2 положению цикла А, который необратимо блокирует активный сайт связывания 5-АР (Xiao Q. et al., 2020). В отличие от него, связывание аддуктов производных ДХК в активном центре фермента происходит посредством полярных связей С-N, что повышает вероятность их разрыва и, следовательно, обратимого ингибирования 5-АР. Эта особенность может обуславливать более мягкий, модулирующий характер эффектов 1,2,4- и 1,3,4-производных ДХК. У финастерида, напротив, за счет ковалентного

связывания и необратимого блокирования мишени могут возникать побочные эффекты, что подтверждается клиническими наблюдениями об изменении половой функции пациентов с ДГПЖ при длительных курсах терапии.

На следующем этапе работы нами исследовались простатотропные эффекты выбранных соединений на специфических моделях ДГПЖ на крысах – обе с гормональной индукцией пролиферативного процесса в периуретральном отделе простаты. Обе модели считаются патогенетически близкими к ДГПЖ человека и широко используются для скрининга новых лекарственных агентов на грызунах (Kortam M. et al., 2022; Миронов А.Н., 2012).

В андроген-зависимой модели ДГПЖ введение высокой дозы ТП вызывает индукцию гиперпластического процесса в ткани ПЖ вследствие повышения активности оси: «тестостерон – 5-AR – дигидротестостерон – андрогеновый рецептор» (Sasidharan S. et al., 2022). Активация андрогеновых рецепторов приводит к усилению экспрессии ростовых факторов, вызывающих гиперплазию клеток простаты, прежде всего эпителия простатических желез (La Vignera S. et al., 2016).

В нашей работе 4-недельное введение ТП вызвало выраженную гиперплазию в железистом отделе простаты контрольных крыс, Vv эпителия возросла в 1,6 раз относительно интактных животных. Отмечены следующие признаки пролиферативной активности: многоядность, митозы, гиперхромные ядра. В строме контрольных животных наблюдалось венозное полнокровие и отек, показатели Vv стромы были близки к норме. Введение производных ДХК в дозе 20 мг/кг на фоне ТП существенно подавляло гиперплазию эпителия желез, что подтверждается как визуальным снижением количества митозов, так и достоверным снижением Vv эпителия относительно контрольной группы. У финастерида в дозе 10 мг/кг этот эффект был статистически незначимым. Высокая антипролиферативная активность наблюдалась у производного III, которое также достоверно снижало Vv стромы против контроля. Преимуществом производных ДХК перед референсным препаратом можно также считать более существенное снижение выраженности дистрофических изменений в эпителиоцитах и гемодинамических нарушений в строме.

Помимо Т, другим гормоном, вовлеченным в патогенез ДГПЖ, является пролактин, уровень которого у мужчин повышается с возрастом (Тюзиков И.А., Мартов А.Г., 2012). На фоне гиперпролактинемии возрастает активность 5-AR, повышается продукция дигидротестотерона, стимулируется пролиферация клеток ПЖ и усиливается влияние эстрогенов (Goffin V. et al., 2011). В нашей работе введение сульпирида в течение 60 дней вызвало развитие очагов гиперплазии в ПЖ крыс в виде появления новых папиллярных структур в просвете ацинусов. Во всех отделах простаты наблюдались выраженный отек и коллагенизация стромы: Vv увеличивалась в 1,4 раза относительно интактных животных. Характерное для данной модели увеличение стромы, вероятно, сопровождается активацией эстрогеновых рецепторов. Известно, что пролактин оказывает про-воспалительное действие, опосредованное эстрогенами, чьи

рецепторы в большом количестве находятся в стромальных клетках простаты. Активация α -эстрогенового рецептора ассоциируется с гиперплазией железистого эпителия и воспалением стромы. (Van Corpenolle F. et al., 2001).

В нашем исследовании ведение крысам на фоне сульпирида соединений **I**, **III** вызвало достоверное, относительно контроля, снижение Vv железистого эпителия и нормализацию Vv стромы. Производное **III** более заметно, чем финастерид, снижало выраженность гиперплазии в секреторной части ПЖ и признаки коллагенизации в строме. У крыс, получавших агенты **I** и **II** морфологическая картина простаты соответствовала референсной группе.

Таким образом, в экспериментальных моделях ДГПЖ исследуемые 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазольные производные ДХК оказывают однонаправленное действие с финастеридом, выражающееся в нормализации состояния основных структурных элементов ткани ПЖ. Производные **I** и **II** проявляют простатопротекторные эффекты в ткани ПЖ близкие по характеру и выраженности к финастериду, тогда как производное **III** обладает более высокой антипролиферативной активностью в железистом эпителии и строме ПЖ, чем референсный препарат. В описанных простатопротекторных эффектах соединений прослеживаются два возможных механизма. Во-первых, снижение антипролиферативной активности в железистом и стромальном компартментах может быть опосредовано их ингибированием 5-АР. Это предположение подтверждается данными молекулярного докинга и близкими к финастериду расчетными показателями оценочной энергии связывания. Во-вторых, нормализация внутриклеточных и тканевых процессов может быть связана с метаболической и противовоспалительной активностью, характерной для желчных кислот. Известно, что ДХК является лигандом фарнезоидного X рецептора и мембранного рецептора, сопряженного с G-белком (Zagoskin P.P., Erlykina E.I., 2020). При участии данных рецепторов желчные кислоты регулируют гомеостаз глюкозы и липидов, модулируют энергетический обмен (McGlone E., Bloom S., 2019), снижают синтез и выделение про-воспалительных цитокинов, IFN γ , TNF α , IL-6 (Gadaleta R. et al., 2011) и снижают уровень окисленных липопротеинов низкой плотности (Shapiro H. et al., 2018).

Клинические исследования показывают, что причиной гиперпластических изменений в ткани ПЖ может быть воспаление (Gandaglia G. et al., 2013). Было обнаружено, что медиаторы воспаления секретируются стромой ПЖ, и способствуют увеличению скорости пролиферации клеток простаты (Chughtai B. et al., 2011). Показано, что активность ЦОГ-2 увеличивается при возникновении пролиферативных процессов в ткани ПЖ, а ингибирование ЦОГ-2, может приводить к регрессии пролиферативных процессов в клетках ПЖ (Wang S. et al., 2021). Противовоспалительная активность исследуемых производных ДХК подтвердилась нами на моделях воспалительного отека лапы мышей, индуцированного гистамином и конканавалином-А.

Установлено, что производные ДХК в дозе 20 мг/кг проявляли достоверное противовоспалительное действие, не уступая индометацину. Нами

также была оценена противовоспалительная активность финастерида, поскольку литературные данные по этим свойствам достаточно противоречивые: введение финастерида в дозе 0,6 мг/кг (Vásquez-Velásquez C. et al., 2020) и 0,8 мг/кг (Liu J. et al., 2021) приводило к уменьшению количества воспаленных клеток в ПЖ. В тоже время, в некоторых работах было продемонстрировано, что финастерид не оказывал достоверных противовоспалительных свойств (Duborija-Kovacevic N. et al., 2008) и не изменял уровень ЦОГ-2 в клетках ПЖ (Zhang L. et al., 2018). В данной работе установлено, что введение финастерида в дозе 20 мг/кг достоверно снижало отек лапы мыши в 2 раза относительно контрольной группы, в то время как в дозе 10 мг/кг он не проявил данной активности.

Определенный вклад в нормализацию состояния ПЖ при гиперпластическом процессе может вносить более низкая токсичность производных по сравнению с финастеридом и самой ДХК. Данное преимущество может быть обусловлено их обратимым связыванием с 5-АР, в отличие от финастерида, а также снижением амфифильности новых производных в сравнении с исходной ДХК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования подтверждают целесообразность использования 1,2,4- и 1,3,4 - оксадиазольных производных дезоксиколевой кислоты для поиска малотоксичных простатопротекторных агентов с плейотропными свойствами. Соединения-лидеры могут быть рекомендованы для дальнейших доклинических исследований.

ВЫВОДЫ

1. Методом молекулярного моделирования показана возможность 1,2,4-оксадиазольного производного дезоксиколевой кислоты, содержащего *мета*-пиридиновый фрагмент (**I**), и 1,3,4-оксадиазольных производных, содержащих *пара*-пиридиновый (**II**) или *пара*-хлорфенильный (**III**) фрагмент, связываться с активным центром фермента 5-альфа-редуктазы, при этом все исследуемые соединения имеют низкие расчетные значения энергии связывания, близкие по величине к финастериду.

2. В моделях доброкачественной гиперплазии предстательной железы, индуцированной тестостероном и сульпиридом, 1,2,4-оксадиазольное производное дезоксиколевой кислоты, содержащее *мета*-пиридиновый фрагмент (**I**), и 1,3,4-оксадиазольные производные, содержащие *пара*-пиридиновый (**II**) или *пара*-хлорфенильный (**III**) фрагменты, вызывают однонаправленные с финастеридом положительные сдвиги в морфологической картине простаты: существенную регрессию гиперпластического процесса в железистом эпителии, снижение тяжести дистрофических и гемодинамических нарушений в строме, увеличение просвета желез.

3. По величине антипролиферативного эффекта в эпителии и строме простаты вводимые внутрь в дозе 20 мг/кг 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазольные

производные дезоксихолево́й кислоты, содержащие *мета*-пиридиновый (I) и *пара*-пиридиновый (II) фрагменты, не уступают, 1,3,4-оксадиазольное производное с *пара*-хлорфенильным заместителем (III) превосходит эффект финастерида в дозе 10 мг/кг.

4. Исследуемые 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазольные производные дезоксихолево́й кислоты оказывают противовоспалительное действие, сравнимое с индометацином в условиях острого экссудативного и псевдоаллергического воспаления.

5. Токсичность изучаемых 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазольных производных дезоксихолево́й кислоты ниже, чем у финастерида и дезоксихолево́й кислоты.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России:

1. Сорокина, И.В. Моделирование доброкачественной гиперплазии предстательной железы у крыс высокой дозой тестостерона / И.В. Сорокина, Н.А. Жукова, Ю.В. Мешкова, Д.С. Баев, Т.Г. Толстикова, М.А. Бакарев, Е.Л. Лушникова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – Т. 173. – № 5. – С.656-663.

2. Мешкова, Ю.В. Экспериментальная оценка 3-мета-пиридин-1,2,4-оксадиазольного производного дезоксихолево́й кислоты как прототипа ингибиторов 5- α -редуктазы в моделях *in silico* и *in vivo* / Ю.В. Мешкова, Д.С. Баев, И.В. Сорокина, И.И. Попадюк, О.В. Саломатина, Н.А. Жукова, Т.Г. Толстикова, Н.Ф. Салахутдинов // Биоорганическая химия. – 2023. – Т. 49 – № 1. – С. 79-92.

Патент РФ на изобретение:

Патент № 2750488 Российская Федерация МПК C07J 43/00 (2006.01) A61K 31/58 (2006.01) A61P 13/08 (2006.01) A61P 3/00 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01). 1,2,4-Оксадиазольные производные дезоксихолево́й кислоты, обладающие простатопротекторным действием, гипохолестеринемической и противовоспалительной активностями [Текст] / И.В. Сорокина, И.И. Попадюк, Н.А. Жукова, С.А. Низомов, Ю.В. Мешкова, Д.С. Баев, С.А. Борисов, О.В. Саломатина, Т.Г. Толстикова, Н.Ф. Салахутдинов. Патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (RU) - № 2020118189, заявл.:03.06.2020; опубл.: 28.06.2021. Бюл. №19.

Тезисы:

1. Мешкова, Ю.В. Новые политаргетные простатопротекторные агенты на основе желчных кислот / Ю.В. Мешкова, С.А. Низомов // Весенняя школа-конференция ХимРар по медицинской химии (МедХимРар-21), Химки, 29-30

марта 2021 года. – Химки: Группа компаний ХимРар. – 2021. – С. 33.

2. Мешкова, Ю.В. Производные желчных кислот как новый класс противовоспалительных агентов / Ю.В. Мешкова // Международный молодежный научный форум «ЛОМОНОСОВ-2021», Москва, 12-23 апреля 2021 года [Электронный ресурс]. – Москва: Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова. – 2021. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM); 12 см. – 2000 экз. ISBN 978-5-317-06593-5.

3. Мешкова, Ю.В. Сравнительный простатопротекторный эффект оксадиазольных производных дезоксихоловой кислоты и финастерида у крыс с индуцированной гиперплазией предстательной железы / Ю.В. Мешкова, С.А. Низомов // 59-я Международная научная студенческая конференция, Новосибирск, 12–23 апреля, 2021 года. – Новосибирск: Новосибирский национальный исследовательский государственный университет. – 2021. – С. 12.

4. Мешкова, Ю.В. Исследование простатопротекторных эффектов производного дезоксихоловой кислоты PIA-403 на модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы у крыс, индуцированной тестостероном / Ю.В. Мешкова, И.С. Бирюков // Международная научная студенческая конференция, Новосибирск, 10–20 апреля 2022 года. – Новосибирск: Новосибирский национальный исследовательский государственный университет. – 2022. – С. 188.

5. Мешкова, Ю.В. Новые простатопротекторные агенты на основе дезоксихоловой кислоты / Ю.В. Мешкова, И.С. Бирюков // Международный молодежный научный форум «ЛОМОНОСОВ-2022», Москва, 11-22 апреля 2022 года [Электронный ресурс]. – Москва: Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова. – 2022. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM); 12 см. – 2000 экз. ISBN 978-5-317-06824-0.

6. Мешкова, Ю.В. Влияние новых оксадиазольных производных дезоксихоловой кислоты на структуру предстательной железы крыс в модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы / Ю.В. Мешкова, И.С. Бирюков, О.В. Саломатина, И.В. Сорокина, Н.А. Жукова, Т.Г. Толстикова // Конгресс молодых ученых «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины», Томск, 26-27 мая 2022 года. – Томск: Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. – 2022. – С. 352-355.

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

5-AP – 5 α -редуктаза

В/б – внутрибрюшинно

В/ж – внутрижелудочно

КР – квартильный размах

ДГПЖ – доброкачественная гиперплазия предстательной железы

ДХК – дезоксихоловая кислота

ПЖ – предстательная железы

СНМП – синдром нижних мочевых путей

ТП – тестостерона пропионат

Vv – объемная плотность