

МЕТАБОЛОМНЫЙ ПОДХОД В ИЗУЧЕНИИ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ И ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ НАТУРАЛЬНЫХ ПРОСТАГЛАНДИНОВ

К. М. Шестакова, Н. В. Месонжник, Н. Е. Москалева, С. А. Апполонова, Н. В. Пятигорская

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ

Поступила в редакцию 01.03.2021 г.

Аннотация. В работе представлены методы нецелевого и целевого метаболомного профилирования лекарственных веществ (ЛВ) на основе натуральных простагландинов в условиях *in vivo*. Объектом исследования являлось лекарственное вещество динитроглицериновый эфир 11(S),15(S)-дигидрокси-9-кето-5Z,13E-простадиеновой кислоты, названное нитропростон и направленное на лечение обструктивных и воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей. Целью данного исследования являлось создание методов целевого и нецелевого метаболомного профилирования инновационного ЛВ нитропростон, необходимых для более полного определения его безопасности, эффективности и механизмов действия.

Эксперимент проводили на двенадцати кроликах, разделенных на две равные группы, где тестовой группе вводили исследуемое ЛВ, а группе контроля – равный объем раствора-носителя. Образцы плазмы крови отбирали непосредственно до введения растворов, а также через 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 32 и 60 минут после. Анализ проводился с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии.

Было установлено, что введение нитропростона значительно изменяет концентрационные уровни стероидов (17 β -эстрадиола, крезола, кортизола, кортизона, 21-дезоксикортизола, кортикостерона, дезоксикортикостерона), пуринов (гуанина, гуанозина, инозина, аденина, ксантуриновой к-ты), аминокислот (мочевой кислоты, серина, аспартата), жирных кислот (3-оксодекановой кислоты) и ацилкарнитинов (додеканойлкарнитина, олеилкарнитина) в плазме кроликов, оказывая значительное влияние на стероидогенез, метаболизм пуринов и рециклизацию аммиака.

На основе полученных данных можно сделать вывод, что механизм действия нитропростона связан с его быстрой деградацией, приводящей к высвобождению простагландина E₂ и оксида азота, которые, в свою очередь воздействуя на простагландинные рецепторы, активируют метаболизм пуринов. При этом повышенные уровни кортикостероидов в тестовой группе кроликов свидетельствуют об эффективности рассматриваемого препарата в качестве бронходилатирующего средства.

Выявленные в работе закономерности предоставляют полезную информацию, необходимую для оценки механизмов действия и безопасности нитропростона.

Ключевые слова: Метаболомика, простагландины, ВЭЖХ-МС, нитропростон

На сегодняшний день, использование метаболомных подходов является одним из перспективных направлений фармацевтической индустрии [1, 2, 3].

Метаболом млекопитающих состоит из тысяч низкомолекулярных соединений, обладающих широким спектром физико-химических свойств, начиная от малых высоко полярных карбоновых кислот, аминов и аминокислот, до больших нейтральных липидов [4]. Метаболомные исследования позволяют проводить измерения данного

широкого спектра молекул, предоставляя возможность оценки корреляции между эндогенными уровнями измеренных метаболитов и различными состояниями организма, что дает более полное понимание фенотипов испытываемых объектов с биохимической точки зрения. Одновременно, установленные в результате метаболомных исследований биомаркеры позволяют определить безопасность и эффективность исследуемых лекарственных веществ (ЛВ) [5, 6].

В данной работе рассматривается новое ЛВ 1',3'-динитроглицериновый эфир 11(S),15(S)-дигидрокси-9-кето-5Z,13E-простадиеновой кис-

лоты, названное нитропростон и разработанное для лечения воспалительных и обструктивных заболеваний верхних дыхательных путей [7]. По своей химической структуре нитропростон представляет собой натуральный простагландин E_2 (ПГЕ₂), модифицированный динитроглицероловым фрагментом. Рассматриваемое ЛВ было разработано для ингаляционного применения в качестве бронходилататора. ПГЕ₂, будучи биогенной молекулой, связывается с простагландинными рецепторами EP₂ и EP₄, приводя к релаксации гладкой мускулатуры бронхов [8]. В тоже время, высвобождающийся оксид азота действует как вазодилататор [9]. Таким образом, присутствие в структуре нитропростона природных биорегуляторов – ПГЕ₂ и NO обеспечивает мультицелевое воздействие рассматриваемого ЛВ на несколько мишеней в области одной патологии [10].

За счет биогенной природы нитропростона и быстрой интеграции его активных компонентов в биохимические циклы, изучение его метаболизма в условиях *in vivo* и влияния на организм затруднено. В тоже время, использование широкоформатного нецелевого и целевого профилирования дает возможность проведения более углубленного изучения воздействия исследуемого препарата на организм, позволяя проводить не только оценку метаболических превращений непосредственно самого ЛВ, но и изучение его механизмов действия, эффективности, а также вызываемых им возможных рисков для здоровья [11].

Таким образом, в данной работе представлен масс-спектрометрический метод нецелевого и целевого метаболомного профилирования нитропростона в условиях *in vivo*, как альтернативный способ оценки безопасности и эффективности ЛВ на этапе доклинического исследования нового фармпрепарата.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

2.1 Дизайн эксперимента

В эксперименте принимали участие двенадцать кроликов породы Шиншилла (2-2,5 кг), произвольно, но равно разделенные на тестовую группу (6 кроликов) и группу контроля (6 кроликов). Нитропростон в объеме 0,5 мл внутривенно вводили кроликам тестовой группы в дозе 0,25 мг/кг, в то время как животным группы контроля вводили равный объем физиологического раствора. Цельную кровь отбирали непосредственно до введения растворов, а также через 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 32 и 60 минут после. Непосредственно после

отбора образцов, их центрифугировали для выделения плазмы и переносили на хранение при -70 °С до начала лабораторной подготовки.

2.2 Нецелевое метаболомное профилирование 2.2.1 Пробоподготовка

Образцы плазмы размораживали и к 200 мкл каждой пробы добавляли 800 мкл ацетонитрила. Образцы перемешивали на вортексе (5 мин), центрифугировали (15000 об/мин, 10 мин, 4 °С), и 50 мкл супернатанта переносили в виалы для последующего инструментального анализа.

2.2.2 Инструментальный анализ

Инструментальный анализ проводили с применением сверхвысокоэффективного жидкостного хроматографа, соединенного с времяпролетным масс-спектрометром высокого разрешения, оснащенным ионной ловушкой и источником электроспрей ионизации (УСВЭЖХ-ЭСИ-IT-TOF) (Шимадзу, Киото, Япония). Хроматографическое разделение проводилось с применением хроматографической колонки Phenomenex Kinetex C18 (100 Ч 2.1 мм, 2.6 мкм; Phenomenex, Торранс, США). Мобильная фаза А представляла собой 0.1% водный раствор муравьиной кислоты, а фаза Б – 100% ацетонитрил. Градиентное элюирование проводилось по следующей программе: 0-2 мин – 2% Б, 2-20 мин – линейный подъем от 2% до 98% Б, 20-25 мин – 98% Б, 27.5-37 - мин линейный градиент с 98 до 2 % Б. Объем вводимой пробы составлял 3 мкл, скорость потока - 0.25 мл/мин. Сканирование проводили в диапазоне 100 – 1100 m/z. Азот применялся в качестве газа-осушителя и газа-распылителя с постоянной скоростью 1,5 и 10 л/мин, соответственно. Электроспрей ионизация проводилась в положительном и отрицательном режиме. Температура нагревательного блока составляла 200°C. MS-MS спектры получали в режиме CID выбранных прекурсор-ионов. Данные записывались и обрабатывались в программном обеспечении LC-MS solution (version 3.41, Shimadzu, Япония). Одновременно, идентификация метаболитов проводилась с использованием баз данных Human Metabolome Database (HMDB; <http://www.hmdb.ca/>) и METLIN Metabolite (<https://metlin.scripps.edu/>).

2.2.3 Контроль качества

Образцы контроля качества применялись для подтверждения правильности выполнения пробоподготовки и инструментального анализа. Приготовление образцов качества проводилось при смешивании аликвот одинакового объема каждой

пробы. Подготовка проб контроля качества была идентична порядку подготовки тестовых образцов. Помимо этого, для исключения эффектов переноса проб, а также группового эффекта, образцы плазмы тестовой и контрольной группы анализировались в произвольном порядке, а образцы контроля качества анализировались ежедневно до, в середине и после анализируемых образцов плазмы.

2.3 Целевое метаболомное профилирование

При проведении целевого метаболомного профилирования оценивались метаболомные профили простагландинов, стероидов, пуринов, пиримидинов и аминокислот, чей концентрационный уровень изменился в плазме тестовых кроликов в ответ на введение нитропростона.

2.3.1 Пробоподготовка образцов

В качестве внутренних стандартов использовали ПГЕ2-d4 (10 нг/мл в 50% этаноле) – для простагландинового профиля и метилтестостерон (15 нг/мл) – для профилирования стероидов, пуринов, пиримидинов и аминокислот. Подготовка биопроб была следующей: 15 мкл внутреннего стандарта (10 нг/мл ПГЕ2-d4 в 50% этаноле – для простагландинов, 15 нг/мл метилтестостерона – для стероидов, пуринов и аминокислот) добавляли к 150 мкл каждого образца и смесь экстрагировали при добавлении 1 мл этилацетата и 1 мл диэтило-

вого эфира. После центрифугирования (4°C, 300 об/мин, 10 мин) супернатант выпаривали досуха потоком азота. Остаток перерастворили 50 мкл 50% ацетонитрила и переносили в вials для инструментального анализа.

2.3.2 Инструментальный анализ

Инструментальный анализ проводили на системе ВЭЖХ Nexera X3, соединенной с трехкварупольным масс-спектрометром 8050 (Шимадзу корп., Япония). Параметры инструментального анализа для профилирования простагландинов, стероидов, пуринов и аминокислот представлены в таблице 1.

Содержание определяемых метаболитов фиксировалось в следующих линейных диапазонах: 1-5000, 0,05-100, 10-2000 и 10-2000 нг/мл для простагландинов, стероидов, пуринов и аминокислот, соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1 Результаты нецелевого метаболомного профилирования

Для оценки различий между тестовой группой кроликов и группой контроля при обработке результатов был применен метод главных компонент (МГК) (рисунок 1), который продемонстрировал полное разделение между исследуемыми группами, а также образцами контроля качества.

Таблица 1

Параметры хромато-масс-спектрометрического анализа в целевом метаболомном профилировании нитропростона

Класс метаболитов	Условия хроматографического разделения	Условия масс-спектрометрического детектирования
Простагландины	Колонка Shim-pack FC-ODS 2×150 мм (Шимадзу, Япония), T=40° Мобильные фазы: А – 0,1% муравьиная к-та; В – ацетонитрил с 0,1% муравьиной к-той. Градиентное элюирование: 0 мин (10 % В), 15 мин (90 % В), 20 мин (90 % В), 21 мин (10 % В). Скорость потока – 0,2 мл/мин. Объем пробы – 1 мкл.	Отрицательная электроспрей ионизация, температура десольватации - 250 °С; температура нагревательного блока - 400 °С; температура интерфейса - 300 °С; скорость потока газа-распылителя - 3 л/мин; скорость потока газа-нагревателя газа-осушителя - 10 л/мин.
Стероиды	Колонка Waters ACQUITY UPLC CSH C18, Мобильные фазы: А – 2,5М р-р формиата аммония; В – метанол. Градиентное элюирование: 0.1 мин – 30% В, 14 мин – 90% В, 16 мин – 90% В, 16,1 мин – 30% В, 25 мин – 30% В. Объем пробы – 3 мкл.	Режим отрицательной и положительной электроспрей ионизации, поток газа-распылителя 3 л/мин; скорость потока газа-нагревателя - 10 л/мин; скорость потока газа-осушителя - 10 л/мин; температура интерфейса - 300°C; температура блока нагревателя: 500°C.
Пурины и пиримидины	Колонка PFP Discovery® HS F5 HPLC 15см × 2.1мм × 3 мкм (Термофиниган, США); Мобильные фазы: А – 0,1% муравьиная к-та; В – ацетонитрил. Градиентное элюирование: 0-2 min (0%В); 2-5 мин (25%В); 5-10 мин (95%В); 10-15 мин (95%В); 15-15.1 (0%В); 15.1-22 (0%В); 22.1 (0%В).	Режим отрицательной и положительной электроспрей ионизации, поток газа-распылителя 3 л/мин; скорость потока газа-нагревателя - 10 л/мин; скорость потока газа-осушителя - 10 л/мин; температура интерфейса - 300°C; температура блока нагревателя: 500°C.
Аминокислоты	Колонка PFP Discovery® HS F5 HPLC 15см × 2.1мм × 3 мкм (Термофиниган, США); Мобильные фазы: А – 0,1% муравьиная к-та; В – ацетонитрил. Градиентное элюирование: 0 -5 мин (0% В), 15 мин (40%), 20.1 мин (100%), 25 мин (100% В), 25.1 мин (20% В), 35 мин (0%В).	Режим отрицательной и положительной электроспрей ионизации, поток газа-распылителя 3 л/мин; скорость потока газа-нагревателя - 10 л/мин; скорость потока газа-осушителя - 10 л/мин; температура интерфейса - 300°C; температура блока нагревателя: 400°C.

Далее были построены кросс-валидационные OPLS-DA модели на основе ортогонального метода регрессии частных наименьших квадратов (рисунок 2а). На основе OPLS-DA модели был получен график S-plot (рисунок 2в), который отражал те признаки (метаболиты), которые наилучшим образом разделяли тестовую и контрольную группы кроликов.

Выделенные при помощи S-plot признаки далее были проанализированы с применением кри-

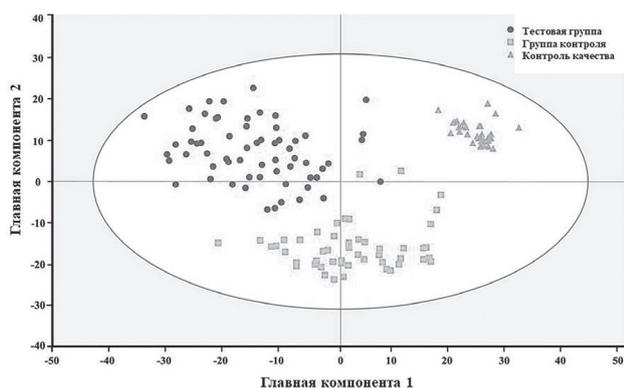


Рис. 1. Графическое отображение МГК

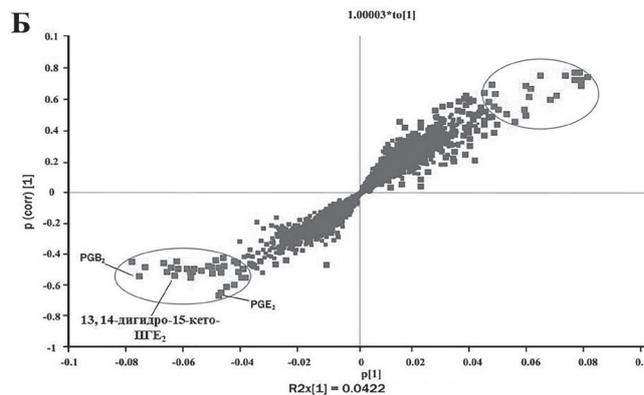
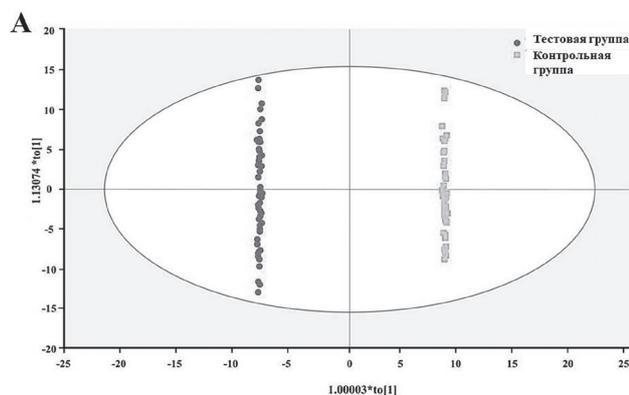


Рис. 2. А – модель OPLS-DA; Б – график S-plot

терия Стьюдента (при p-value < 0.05) и анализа кривых AUCROC (> 0.75). На основе полученных данных были выделены те метаболиты, чей концентрационный уровень значительно изменился после внутривенного введения нитропростона (таблица 2).

3.2 Результаты целевого метаболомного профилирования

Целевое метаболомное профилирование проводили для изучения количественных изменений в уровнях аминокислот, пуринов и пиримидинов, стероидов и простагландинов. При проведении анализа уровней простагландинов были выявлены изменения в основных продуктах биodeградации нитропростона, а также была установлена предполагаемая схема его метаболизма (рисунок 3). Так, нитропростон подвергается быстрому гидролизу с последующим образованием метаболитов 1, 3-динитроглицерола (1,3-ДНГ) и простагландина E₂ (ПГЕ₂). В свою очередь, дегидратация/изомеризация ПГЕ₂ приводит к образованию двух изомеров – ПГБ₂ и ПГА₂. Помимо это-

Таблица 2

Метаболиты, выявленные в результате нецелевого метаболомного профилирования нитропростона.

Метаболит	Изменение	Химический класс	AUCROC	p-value
Пиридонолин	↑	Аминокислоты	0.8416	2.22×e ⁻⁹
Аминоадипиновая к-та	↑		0.846	6.47×e ⁻⁷
L-триптофан	↓		0.7943	5.86×e ⁻⁶
L-фенилаланин	↓		0.80525	5.75×e ⁻⁵
Ксантин	↓	Пурины	0.818	5.4×e ⁻⁸
17β-эстрадиол	↑	Стероиды	0.81651	1.8×e ⁻⁸
Кортикостерон	↑		0.8071	1.43×e ⁻⁵
Индоксил сульфат	↑	Орг. кислоты	0.79198	3.07×e ⁻⁷
Крезол	↑		0.9324	4.06×e ⁻¹⁶
Никотинат D-рибонуклеозид	↑	Нуклеозиды	0.82253	3.61e ⁻⁶
Фитосфингозин	↓	фосфолипиды	0.87191	2.63×e ⁻¹⁰
Додеканоилкарнитин	↓	Ацилкарнитины	0.8524	5.86×e ⁻⁹
Олеоилкарнитин	↓		0.7634	4.15×e ⁻⁶
3-оксододекановая к-та	↑	Жирные кислоты	0.830	1.83×e ⁻⁸
12-кетодоэксихолиновая к-та	↓	Желчные кислоты	0.75346	1.46×e ⁻⁵
Урсодоэксихолиновая к-та	↓		0.7861	1.01×e ⁻⁴

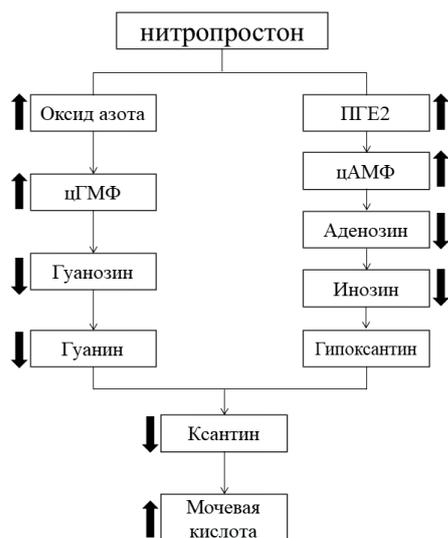


Рис. 5. Предполагаемая схема механизма действия нитропростона

об активном влиянии нитропростона на метаболизм пуринов, а точнее на их деградацию. Помимо этого, понижение уровней промежуточных продуктов пуринового метаболизма может свидетельствовать о проявлении устойчивости митохондрий к окислительному стрессу [12], а повышение уровней мочевой кислоты, обладающей антиоксидантной активностью, о противовоспалительных свойствах нитропростона [13].

Кроме того, нитропростон оказывает значительное влияние на уровни стероидов в плазме, в особенности кортикостероидов. Так, 21-деоксикортизол, кортизол, кортикостерон, дезоксикортикостерон и кортизон значительно повысились после введения исследуемого препарата. Ранее отмечалось, что повышение уровней кортикостероидов ассоциировано с активацией протеинкиназы А, в свою очередь активируемой цАМФ [14], а также выработкой оксида азота [15]. В целом, кортикостероиды широко применяются в качестве противовоспалительных и иммуностимулирующих лекарственных средств, в особенности при обструктивных заболеваниях верхних дыхательных путей и астме [16]. Таким образом, можно сделать вывод о том, что нитропростон способствует активации противовоспалительных эффектов в организме на эндогенном уровне.

Помимо этого, ранее рядом ученых было показано, что ряд метаболитов, выявленных в проведенном нами исследовании, обладают противовоспалительными свойствами. Так, например, в работах [17, 18] авторы продемонстрировали, что уровни сфинголипидов, ксантинов и фенилаланина значительно повышены у пациентов с астмой,

в то время как в представленном исследовании данные эндобиотики были понижены в тестовой группе. Одновременно, ранее было показано, что люди, страдающие астмой, обладают пониженными уровнями мочевой кислоты, серина и аспартата, которые в нашем исследовании значительно повышались. Более того, существующие на сегодняшний день противоастматические лекарственные средства обладают двумя известными механизмами действия, представляя собой бронхолитические или противовоспалительные препараты, в то время как нитропростон, эндогенно воздействуя на стероидогенез и метаболизм пуринов, одновременно оказывает действие на обе мишени.

Стоит отметить, что на сегодня заболевания верхних дыхательных путей, а в особенности астма, распространены по всему миру [19, 20]. Одновременно, мультицелевое ЛВ нитропростон представляет собой потенциально новую активную молекулу, направленную на лечение заболеваний бронхов и астмы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленной работе были установлены метаболические пути и механизмы действия нитропростона, необходимые для грамотной оценки безопасности и эффективности рассматриваемого ЛВ. Выявленные с использованием метаболомных подходов закономерности могут стать полезными на дальнейших этапах разработки нитропростона и его внедрения на фармацевтический рынок, а также для общего понимания и оценки влияния натуральных простагландинов на эндобиотическую систему человека.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Reily M. D., Tymiak A. A. // *Technologies*. 2015. Vol. 13, pp. 25–31.
2. Xu E.Y., Schaefer W.H., Xu Q. // *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 2009. Vol. 12(1), pp. 40-52.
3. Drexler D.M., Reily M.D., Shipkova P.A. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2011. Vol. 399(8), pp. 2645-53.
4. Li B., He X., Jia W., Li H. // *Molecules*. 2017. Vol. 22(7), pp. 1173
5. Chen C., Gonzalez F.J., Idle J.R. // *Drug. Metab. Rev.* 2007. Vol.39, pp. 581-597.
6. Rinschen M.M., Ivanisevic J., Giera M., Siuzdak G. // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2019. Vol. 20(6), pp. 353-367.
7. Безуглов В.В., Серков И.В., Любимов И.И., Тетерин И.Ю. Патент РФ, №2662099С1, 2017.

8. Milne S. A., Perchick G. B., Boddy S. C., Jabbour H. N. // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001. Vol 86, pp. 4453–4459.
9. Jerca L., Jerca O., Mancas G., Constantinescu I., Lupusoru R. // *The Journal of Preventive Medicine*. 2002. Vol. 10, pp. 35–45.
10. Mesonzhnik N.V., Moskaleva N.E., Shestakova K.M., Kurygina K.O., Baranov P.A., Gretskaia N.M., Serkov I.V., Lyubimov I.I., Bezuglov V.V., Appolonova S.A. // *Drug Metab Lett*. 2018. Vol. 12(1), pp. 54-61.
11. Hoerr V., Duggan G.E., Zbytniuk L., Poon K.K., Große C., Neugebauer U., Methling K., Löffler B., Vogel H.J. // *BMC Microbiol*. 2016. Vol. 10, pp. 16-82.
12. Weng R., Shen S., Tian Y., Burton C., Xu X., Liu Y. // *Scientific Reports*. 2015. Vol. 5, 11864.
13. Kanellis J., Kang D. H. // *Seminars in Nephrology*. 2005. Vol. 25(1), pp. 56-60.
14. Pelletier S., Dubé J., Villeneuve A., Gobeil F. Jr., Yang Q., Battistini B., Guillemette G., Sirois P. // *Br J Pharmacol*. 2001. Vol. 132(5), pp. 999-1008.
15. Довжикова, И. В. // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2010. Т. 37. С. 60-64.
16. Barnes P. J. // *British Journal of Pharmacology*. 2006. Vol. 148(3), pp. 245–254.
17. Comhair S. A. A., McDunn J., Bennett C., Fattig J., Erzurum S. C., Kalhan, S. C. // *Journal of Immunology*. 2015. Vol. 195, pp. 643–650.
18. Chang C., Guo Z. G., He B., Yao W. Z. // *Acta Pharmacologica Sinica*. 2015. Vol. 36, pp 1356–1366.
19. Pawankar R. // *World Allergy Organization Journal*. 2014. Vol. 7, pp. 1-12.
20. Gana A. M. H., Fitzgerald D. A. // *Paediatric Respiratory Reviews*. 2018. Vol. 27, pp. 40-43.

Институт трансляционной медицины и биотехнологии, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский Университет)

Шестакова К. М., младший научный сотрудник лаборатории фармакокинетики и метаболомного анализа

E-mail: ksenia.shestakova@labworks.ru

Месонжник Н. В., старший научный сотрудник лаборатории фармакокинетики и метаболомного анализа

E-mail: natalia.mesonzhnik@labworks.ru

Москалева Н. Е., старший научный сотрудник лаборатории фармакокинетики и метаболомного анализа

E-mail: nemoskaleva@gmail.com

Апполонова С. А., Заведующая лабораторией фармакокинетики и метаболомного анализа

E-mail: appolosa@yandex.ru

Пятигорская Н. В., Заместитель директора, заведующая кафедрой промышленной фармации

E-mail: osipova-mma@list.ru

Institute for translation medicine and biotechnology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University)

Shestakova K. M., junior researcher in laboratory for pharmacokinetics and metabolome analysis

E-mail: ksenia.shestakova@labworks.ru

Mesonzhnik N. V., senior Researcher in laboratory for pharmacokinetics and metabolome analysis

E-mail: natalia.mesonzhnik@labworks.ru

Moskaleva N. E., senior Researcher in laboratory for pharmacokinetics and metabolome analysis

E-mail: nemoskaleva@gmail.com

Appolonova S. A., head of laboratory for pharmacokinetics and metabolome analysis

E-mail: appolosa@yandex.ru

Pyatigorskaya N. V., deputy director, head of department of industrial pharmacy

E-mail: osipova-mma@list.ru

METABOLOMIC APPROACH IN INVESTIGATION OF MECHANISMS OF ACTION AND ASSESSMENT OF DRUG SAFETY OF PROSTAGLANDIN-BASED DRUGS

K. M. Shestakova, N. V. Mesonzhnik, N. E. Moskaleva, S. A. Appolonova, N. V. Pyatigorskaya

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health

Abstract. The study represents in-vivo untargeted and targeted metabolomic profiling of prostaglandin-based drugs on the example of a novel drug 1',3'-dinitroglycerol ester of 11(S),15(S)-dihydroxy-9-keto-5Z,13E-prostodienoic acid), named as nitroproston. Nitroproston represents a natural prostaglandin E2 modified by a dinitroglycerol fragment, developed for treatment of obstructive and inflammatory diseases in the upper respiratory tract. The aim of this study was to develop untargeted and targeted metabolomic profiling methods of the innovative drug nitroproston serving for a better assessment of its safety, effectiveness and mechanism of action.

The experiment was conducted in twelve rabbits equally divided into two groups, where test group received the drug, and control group – equal amount of vehicle. Plasma samples were taken before the administration of the solutions and in 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 32 and 60 minutes after. The analysis was conducted using high performance liquid chromatography mass-spectrometric approach.

There were found significant alterations in plasma concentration levels of steroids (17 β -estradiol, cortisol, cortisone, 21-deoxycortisol, corticosterone, deoxycorticosterone), purines (guanine, guanosine, inosine, adenine, xanthurenic acid), amino acids (uric acid, serine, aspartate), bile acids (3-oxodecanoic acid) and acylcarnitines (dodecylcarnitine, oleoylcarnitine), showing strong impact on steroidogenesis, purine metabolism and ammonia recycling.

According to the received data it was found that the mechanism of action of the considered drug is based on its fast degradation that results in formation of prostaglandin E2 and nitric oxide that both activate purine metabolism. Besides this elevated levels of corticosteroids in the tested group of rabbits evidence the effectiveness of nitroproston as a bronchodilator drug.

The identified patterns provide useful information for the assessment of mechanism of action and drug safety of nitroproston.

Keywords: Metabolomics, prostaglandins, HPLC-MS/MS, nitroproston.

REFERENCES

1. Reily M. D., Tymiak A. A., Technologies, 2015, Vol. 13, pp. 25–31. DOI: Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2015.03.001>.
2. Xu E.Y., Schaefer W.H., Xu Q. Curr. Opin. Drug Discov. Devel., 2009, Vol. 12(1), pp. 40-52.
3. Drexler D.M., Reily M.D., Shipkova P.A., Anal. Bioanal. Chem., 2011. Vol. 399(8), pp. 2645-53.
4. Li B., He X., Jia W., Li H., Molecules, 2017, Vol. 22(7), pp. 1173.
5. Chen C., Gonzalez F.J., Idle J.R., Drug. Metab. Rev., 2007, Vol.39, pp. 581-597.
6. Rinschen M.M., Ivanisevic J., Giera M., Siuzdak G., Nat. Rev. Mol. Cell. Biol., 2019, Vol. 20(6), pp. 353-367.
7. Bezuglov V.V., Serkov I.V., Lubimov I.I., Teterin I.Y. Patent RF, no 2662099C1, 2017.
8. Milne S. A., Perchick G. B., Boddy S. C., Jabbour H. N., The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2001, Vol 86, pp. 4453–4459.
9. Jerca L., Jerca O., Mancas G., Constantinescu I., Lupusoru R. The Journal of Preventive Medicine, 2002, Vol 10, pp. 35–45.
10. Mesonzhnik N.V., Moskaleva N.E., Shestakova K.M., Kurygina K.O., Baranov P.A., Gretskaya N.M., Serkov I.V., Lyubimov I.I., Bezuglov V.V., Appolonova S.A., Drug Metab Lett., 2018, Vol. 12(1), pp. 54-61.
11. Hoerr V., Duggan G.E., Zbytnuik L., Poon K.K., Große C., Neugebauer U., Methling K., Löffler B., Vogel H.J., BMC Microbiol., 2016, Vol. 10, pp. 16-82.
12. Weng R., Shen S., Tian Y., Burton C., Xu X., Liu Y., Scientific Reports, 2015. Vol 5, 11864.
13. Kanellis J., Kang D. H., Seminars in Nephrology, 2005, Vol 25(1), pp. 56-60.
14. Pelletier S., Dubé J., Villeneuve A., Gobeil F. Jr., Yang Q., Battistini B., Guillemette G., Sirois P., Br J Pharmacol., 2001, Vol. 132(5), pp. 999-1008.
15. Dovzhikova, I. V. B'ulleten' fiziologii i patologii dyhanija, 2010. Vol 37, pp 60-64..

16. Barnes P. J., British Journal of Pharmacology, 2006, Vol. 148(3), pp. 245–254.

17. Comhair S. A. A., McDunn J., Bennett C., Fattig J., Erzurum S. C., Kalhan, S. C., Journal of Immunology, 2015, Vol 195, pp. 643–650.

18. Chang C., Guo Z. G., He B., Yao W. Z., Acta Pharmacologica Sinica, 2015, Vol 36, pp 1356–1366.

19. Pawankar R. World Allergy Organization Journal, 2014, Vol. 7, pp. 1-12.

20. Gana A. M. H., Fitzgerald D. A., Paediatric Respiratory Reviews, 2018, Vol. 27, pp. 40-43.