КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ НОВОГО ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ГРУППЫ ДИАРИЛХИНОЛИНОВ

А.Ю. Савченко^{1,*}, Г.В. Раменская², В.Г. Кукес¹, М.С. Буренков³, Б.В. Шилов⁴

¹ ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)
119991, Российская Федерация, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

³ АО «Фарм-Синтез»
111024, Российская Федерация, Москва, 2-я Кабельная ул., 2, стр. 46

⁴ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова» Минздрава России
117997, Российская Федерация, Москва, ул. Островитянова, 1

Исследовали безопасность нового противотуберкулезного препарата Тиозонид с применением методов биоинформатики, доклинических методик с использованием лабораторных животных и при участии здоровых добровольцев. Предсказанное отсутствие токсических эффектов на основные системы жизнеобеспечения млекопитающих с применением QSAR-моделей подтвердили результаты испытаний острой, субхронической и хронической токсичности на различных лабораторных животных. Мониторинг жизненно важных показателей добровольцев и сравнительный анализ обобщенных результатов этих показателей до (скрининг), на протяжении и по окончании исследования показали отсутствие достоверных и клинически значимых изменений, угрожающих жизни и здоровью людей.

Ключевые слова: тиозонид, безопасность, комплексный подход

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Савченко А.Ю., Раменская Г.В., Кукес В.Г., Буренков М.С., Шилов Б.В. Комплексная оценка безопасности нового противотуберкулезного препарата из группы диарилхинолинов. *Биомедицина*. 2021;17(3):105–110. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-105-110>

Поступила 29.04.2021

Принята после доработки 24.05.2021

Опубликована 10.09.2021

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF THE SAFETY OF A NEW ANTITUBERCULOSIS DRUG FROM THE DIARYLQUINOLINES GROUP

Alla Yu. Savchenko^{1,*}, Galina V. Ramenskaya², Vladimir G. Kukes¹,
Mikhail S. Burenkov³, Boris V. Shilov⁴

¹ Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1

² I.M. Sechenov Moscow State Medical University (Sechenov University)
119991, Russian Federation, Moscow, Trubetskaya Str., 8, building 2

³ Pharm-Sintez
111024, Russian Federation, Moscow, 2nd Kabelnaya Str., 2, building 46

⁴ Russian National Research Medical University Named after N.I. Pirogov
of the Ministry of Health Care of Russia
117997, Russian Federation, Moscow, Ostrovityanova Str., 1

The safety of the new anti-tuberculosis drug Tiozonide was studied by bioinformatics and preclinical methods using laboratory animals and with the participation of healthy volunteers. The absence of toxic effects on the main life support systems of mammals predicted by QSAR models was confirmed by the results of acute, subchronic and chronic toxicity tests in various laboratory animals. Monitoring of the vital indicators of volunteers and a comparative analysis of the generalized results of these indicators before (screening), during and after the study showed the absence of reliable and clinically significant changes that threaten the life and health of people.

Keywords: thiosonide, safety, integrated approach

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Savchenko A.Yu., Ramenskaya G.V., Kukes V.G., Burenkov M.S., Shilov B.V. Comprehensive Assessment of the Safety of a New Antituberculosis Drug from the Diarylquinolines Group. *Journal Biomed.* 2021;17(3):105–110. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-105-110>

Submitted 29.04.2021

Revised 24.05.2021

Published 10.09.2021

Введение

Лечение туберкулеза — длительный процесс, сопровождающийся кумуляцией побочных эффектов лекарственного вещества, которые формируют нежелательные побочные реакции со стороны важнейших систем жизнеобеспечения, часто ограничивая лечение заболевания [1, 2]. На фоне регистрации в РФ препаратов зарубежного производства интерес представляет новая отечественная разработка — препарат из группы диарилхинолинов с рабочим названием Тиозонид (ЗАО «Фарм-синтез»), по химической структуре

представляющий собой -{1R,2S+1S,2R}-1-(6-Бром-2-хлорхинолил-3-ил)-4-(диметиламино)-2-(нафталин-1-ил)-1-фенилбутан-2-ол (порошок белого или белого с желтоватым оттенком цвета, нерастворим в воде, нерастворим в изотоническом р-ре, 1 г/л растворим в метаноле, 10 г/л — в хлороформе (р-р облучают на ультразвуковой бане в течение 10-ти мин [3]). Учитывая, что противотуберкулезная активность Тиозонида сравнима с препаратом 2-го ряда — рифампицином [4], резонно предположить, что в перспективе он может заменяться длительными курсами.

В этой связи **целью** настоящего исследования явилась оценка возможной токсичности тиозонида, сочетающая три ступени изучения: биоинформатический подход, доклиническую оценку острой и хронической токсичности, а также анализ результатов клинического исследования безопасности нового препарата.

Материалы и методы

Биоинформатическая оценка безопасности

Предсказание острой токсичности у крыс проводилось с использованием веб-сервиса «ACUTE RAT TOXICITY PREDICTION» [12]. В веб-сервисе предсказание значений LD_{50} для нелинейных крыс при использовании четырех различных методов введения препарата (*per os*, внутривенно, внутрибрюшинно и подкожно) проводилось с применением QSAR-моделей, построенных с использованием программы GUSAR [5]. Обучающие выборки включали информацию о приблизительно 10 000 химических структурах и соответствующие данные об острой токсичности в экспериментах на крысах. Результаты о моделировании подкожного введения препарата оказались вне домена применимости модели и поэтому они не вошли в итоговую оценку. Модели QSAR для набора из 32-х моделей величин (IC_{50} , K_i , K_{act}) описывали взаимодействие 4000 химических соединений с 18-ю нежелательными белками-мишенями (13 рецепторов, 2 фермента и 3 переносчика) [6]. Сервис «CLC-Pred: *in silico* prediction of cytotoxicity for tumor and non-tumor cell lines» [13], предназначенный для предсказания острой цитотоксичности, является результатом обработки экспериментальных данных на обучающей выборке из 59 882 структур соединений, который отражает современные знания о цитотоксических веществах в отношении 943 раковых и нераковых линий клеток человека.

Этим сервисом воспользовались для оценки возможной цитотоксичности тиозонида [7, 8, 9].

Доклиническую оценку острой токсичности тиозонида и хроническую токсичность определяли согласно Руководству [10]. Оценка безопасности в отношении человека проведена в рамках исследования по протоколу «Открытое исследование I фазы по изучению фармакокинетики, безопасности и переносимости препарата Тиозонид, капсулы 100 мг (АО «Фарм-Синтез») при однократном приеме возрастающих доз различными группами здоровых добровольцев» (2013, Разрешение № 187 на проведение клинического исследования от 22 марта 2013 года, выданное Минздравом России).

Полученные данные подвергались статистической обработке согласно задаче исследования. В биоинформатической части использовались возможности соответствующих инструментов сервисов. В доклинической и клинической оценке безопасности — при помощи программы STATISTICA 6.0 for Windows с использованием критерия χ -квадрат. Если достигнутый уровень значимости различий не превышал 0,05, их считали достоверными [11].

Результаты и их обсуждение

Результаты прогноза токсичности препарата Тиозинд с указанием дозы вещества, прогнозирующей гибель 50% нелинейных крыс в эксперименте, отражены в диапазоне следующих доз LD_{50} (мг/кг): 456,700 (внутрибрюшинно), 43,290 (внутривенно) 485,600 (подкожно). Во всех случаях предсказана низкая токсичность (Class 4) по классификации токсичности химических соединений проекта OECD [14].

Предсказание нежелательных мишеней препарата Тиозонид, связанных с побочными эффектами, также проводилось с использованием веб-сервиса на основе

программы GUSAR [15]. Количественное измерение предсказанной активности позволило выделить потенциальные нежелательные мишени, величина предсказанного значения которых оказалась более 7-ми.

Сервис «CLC-Pred: *in silico* prediction of cytotoxicity for tumor and non-tumor cell lines» [13] не смог отнести Тиозонид с достаточной надежностью ни к одной из групп, вызывающих цитотоксический эффект. Следовательно, низка вероятность цитотоксического действия изучаемой молекулы. Аналогично сервис «ROSC-Pred: web-service for rodent organ-specific carcinogenicity prediction» [16], предназначенный для предсказания канцерогенности веществ, не дал значимых результатов, показав низкие значения вероятности отнесения молекулы тиозонида к группе канцерогенных соединений, протестированных на грызунах.

В ходе изучения острой токсичности субстанции Тиозонида на мышах линии Balb/c и нелинейных отклонений от норм в поведенческих реакциях и внешнем виде животных не выявлено. Препарат не вызывал гибели животных, симптомов острого отравления, изменений внутренних органов и не оказывал токсического действия. Однако у трёх животных в печени имелись дистрофические изменения гепатоцитов (вакуольная дистрофия) и усиленная реакция купферовских клеток. У одного из этих животных обнаружены немногочисленные очаги некроза гепатоцитов. У этих же животных в селезёнке имелась умеренная гиперплазия лимфоидных фолликулов и увеличение числа нейтрофилов в красной пульпе. Эти изменения можно расценивать как проявление слабого токсического воздействия указанной дозы субстанции препарата.

При воздействии Тиозонида в течение 6-ти мес. (исследование субхронической токсичности) не было отмечено значимых изменений массы, поведенческих реакций и показателей основных систем жизнеобес-

печения лабораторных животных. После 6-ти мес. внутрижелудочного введения нелинейным крысам субстанции Тиозонида макроскопически не обнаружено местное раздражающее действие на ЖКТ. Однако по результатам гистологических исследований установлено дозозависимое местное раздражающее действие вещества у самцов и самок, наиболее выраженное под влиянием субстанции в дозе 100 мг/кг.

При гистологическом исследовании нелинейных крыс, получавших Тиозонид в дозе 10 мг/кг, у отдельных животных отмечены признаки гиперсекреции слизи и очаговой десквамации эпителия слизистой оболочки ЖКТ, единично — некроз в тонкой кишке, у двух самок — изъязвления слизистой оболочки и небольшая макрофагальная реакция в лимфатических узлах. У животных, получавших субстанцию препарата Тиозонид в дозе 50 мг/кг, отмечены гиперсекреция слизи, очаговая десквамация эпителия, микроэрозии или язвенные дефекты слизистой оболочки. У крыс, получавших изучаемое вещество в дозе 100 мг/кг, отмечены признаки интоксикации в виде умеренного полнокровия внутренних органов, дистрофических изменений клеток печени, миокарда, половых желёз, чашечно-лоханочной системы почек. В ЖКТ у многих животных отмечены деструктивные изменения слизистой оболочки кишечника в виде эрозий, изъязвлений, некроза апикальных отделов ворсинок слизистой оболочки.

В ходе клинического исследования безопасности у пациентов, принимавших препарат, не было отмечено клинически значимых колебаний в состоянии кожных покровов, функционировании основных систем органов и показателей периферической крови, биохимических характеристик крови и мочи, а также основных жизненно важных параметров, таких как гемодинамические показатели, данные электрокардиографического обследования и температура тела.

В ходе проведенного клинического исследования препарат Тиозонид показал хорошую переносимость и безопасность, поскольку выявленные нежелательные явления не показали определенной или достоверной связи с исследуемым препаратом. Разрешение всех зарегистрированных нежелательных явлений было полным, а эскалация дозы не повлияла на количество, степень тяжести и связь с исследуемым препаратом. По результатам врачебных осмотров, проведенных в ходе исследования, а также сравнительного анализа обобщенных данных врачебного осмотра до (скрининг) и по окончании исследования не были выявлены какие-либо отклонения в состоянии здоровья у добровольцев, принимавших участие в исследовании. Мониторинг жизненно важных показателей, проведенных в процессе исследования, а также сравнительного анализа обобщенных результатов этих показателей

до (скрининг) и по окончании исследования показал, что достоверных изменений у добровольцев по жизненно важным показателям не было. Результаты мониторинга ЭКГ в ходе исследования, а также сравнительного анализа обобщенных результатов ЭКГ до (скрининг) и по окончании исследования не выявили клинически значимых изменений, угрожающих жизни и здоровью добровольцев.

Закключение

Проведенный комплексный анализ безопасности нового противотуберкулезного препарата из группы диарилхинолинов с рабочим названием Тиозонид убедительно продемонстрировал его безопасность и хорошую переносимость, предсказанную биоинформатически и подтвержденную как в эксперименте, так и здоровыми добровольцами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Бочарова И.В., Буренков М.С., Лепеха Л.Н., Смирнова Т.Г., Черноусова Л.Н., Демихова О.В. Доклинические исследования специфической активности нового противотуберкулезного препарата тиозонид. *Туберкулез и болезни легких*. 2014;6:46–50. [Bocharova I.V., Burenkov M.S., Lepexha L.N., Smirnova T.G., Chernousova L.N., Demihova O.V. Doklinicheskiye issledovaniya spetsificheskoy aktivnosti novogo protivotuberkuleznogo preparata tiozonid [Preclinical studies of the specific activity of the new anti-TB drug thiosonide]. *Tuberkulioz i bolezni legkih [Tuberculosis and lung disease]*. 2014;(6):46–50. (In Russian)]. DOI: 10.21292/2075-1230-2014-0-6-46-50.
2. Меньшикова Л.А. Фармакокинетическое исследование оригинального лекарственного средства тиозонида: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. М., 2016. [Men'shikova L.A. *Farmakokineticheskoye issledovaniye original'nogo lekarstvennogo sredstva tiozonida* [Pharmacokinetic study of the original drug thiosonide]: Autoref. of diss. ... cand. pharm. sci. Moscow, 2016. (In Russian)].
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012:944. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya [Guidelines for preclinical studies of drugs. Part one]. Moscow: Grif i K Publ., 2012:944. (In Russian)].
4. Филинук О.В., Фелькер И.Г., Янова Г.В., Буйнова Л.Н., Колоколова О.В. Факторы риска неэффективной химиотерапии больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью. *Туберкулез и болезни легких*. 2014;1:20–26. [Filinyuk O.V., Fel'ker I.G., Yanova G.V., Bujnova L.N., Kolokolova O.V. Faktory riska neeffektivnoy khimioterapii bol'nykh tuberkulezom s mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivost'yu [Risk factors for ineffective chemotherapy for multidrug-resistant tuberculosis patients]. *Tuberkulioz i bolezni legkih [Tuberculosis and lung disease]*. 2014;1:20–26. (In Russian)].
5. Щегерцов Д.Ю., Филинук О.В., Буйнова Л.Н., Земляная Н.А., Кабанец Н.Н., Аллилуев А.С. Нежелательные побочные реакции при лечении больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. *Туберкулез и болезни легких*. 2018;96(3):35–43. [Shchegertsov D.Yu., Filinyuk O.V., Bujnova L.N., Zemlyanaya N.A., Kabanec N.N., Alliluev A.S. Nezhelatel'nye pobochnye reaksii pri lechenii bol'nykh tuberkulezom s mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivost'yu vzbuditelya [Undesirable adverse reactions in the treatment of patients with multidrug-resistant tuberculosis of the pathogen]. *Tuberkulioz i bolezni legkih [Tuberculosis and lung disease]*. 2018;96(3):35–43. (In Russian)].

6. Harris M., Taylor G. *Medical statistics made easy*. London: Taylor and Francis, 2006.
7. Lagunin A., Rudik A., Filimonov D., Druzhilovskiy D., Poroikov V. *ROSC-Pred: web-service for rodent organ-specific carcinogenicity prediction*. 2017;34(4):710–712. DOI: 10.1093/bioinformatics/btx678.
8. Lagunin A., Zakharov A., Filimonov D., Poroikov V. QSAR modelling of rat acute toxicity on the basis of PASS prediction. *Mol. Informatics*. 2011;30(2–3):241–250.
9. Lagunin A.A., Dubovskaja V.I., Rudik A.V., Pogodin P.V., Druzhilovskiy D.S., Glorizova T.A., Filimonov D.A., Sastry G.N., Poroikov V.V. CLC-Pred: a freely available web-service for in silico prediction of human cell line cytotoxicity for drug-like compounds. *PLOS One*. 2018;13(1):e0191838. DOI: 10.1371/journal.pone.0191838.
10. Lagunin A.A., Dubovskaja V.I., Rudik A.V., Pogodin P.V., Druzhilovskiy D.S., Glorizova T.A., Filimonov D.A., Sastry G.N., Poroikov V.V. CLC-Pred: a freely available web-service for in silico prediction of human cell line cytotoxicity for drug-like compounds. *PLOS One*. 2018;13(1):e0191838. DOI: 10.1371/journal.pone.0191838.
11. Zakharov A.V., Lagunin A.A., Filimonov D.A., Poroikov V.V. Quantitative prediction of antitarget interaction profiles for chemical compounds. *Chemical Research in Toxicology*. 2012;25(11):2378–2385. DOI: 10.1021/tx300247r.
12. <http://www.way2drug.com/gusar/acutopredict.html>
13. <http://way2drug.com/Cell-line/index.php>
14. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/>
15. <http://www.way2drug.com/gusar/antitargets.html>
16. <http://www.way2drug.com/ROSC/>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Савченко Алла Юрьевна*, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: alursav@mail.ru

Раменская Галина Владиславовна, д.фарм.н., проф., ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);
e-mail: ramenskaia@mail.ru

Кукес Владимир Григорьевич, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: Elmed@yandex.ru

Буренков Михаил Сергеевич, к.б.н., АО «Фарм-Синтез»;
e-mail: mburenkov@pharm-sintez.ru

Шилов Борис Владимирович, к.м.н., доц., ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России;
e-mail: borisshilov@gmail.com

Alla Yu. Savchenko*, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: alursav@mail.ru

Galina V. Ramenskaya, Dr. of Sci. (Pharm.), Prof., I.M. Sechenov Moscow State Medical University (Sechenov University);
e-mail: ramenskaia@mail.ru

Vladimir G. Kukes, Acad. of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: Elmed@yandex.ru

Mikhail S. Burenkov, Cand. Sci. (Biol.), Pharm-Sintez;
e-mail: mburenkov@pharm-sintez.ru

Boris V. Shilov, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: borisshilov@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author