

IN SILICO-МОДЕЛИРОВАНИЕ В ОПТИМИЗАЦИИ АЛГОРИТМОВ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ [²⁵Mg²⁺] ПОРФИРИН-ФУЛЛЕРЕНОВЫХ НАНОЧАСТИЦВ. В. Фурсов^{1,2} ✉, Д. И. Зинченко¹, Д. Д. Наместникова², Д. А. Кузнецов^{2,3}¹ Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, Москва, Россия² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия³ Федеральный исследовательский центр химической физики имени Н. Н. Семенова, Москва, Россия

Поиск эффективных фармакофоров для лечения ишемического инсульта актуален в связи с высокой распространенностью и смертностью от этого заболевания. Оптимизация сценариев доклинических исследований перспективных нейропротекторов средствами математического моделирования с использованием информационно-компьютерных технологий представляет собой отдельную актуальную задачу. Целью исследования было разработать препаратоприориентированную математическую модель в виде системы ОДУ, реализовать ее *in silico* в виде программного кода на языке MATLAB и адаптировать к экспериментальным данным, полученным *in vivo* на крысах. В работе проведено исследование *in silico* фармакокинетики порфирина-фуллереновых нанокатионитов, высвобождающих ²⁵Mg²⁺ типа PMC16. Разработана пятикомпарментная математическая модель, которую можно использовать для прогнозирования распределения наночастиц в органах и тканях, расчета оптимальных дозировок, периодичности введения и т. д. Представлены расчетные кривые распределения PMC16 в мозге, печени и сердце. Достигнуто хорошее соответствие полученных *in silico* фармакокинетических кривых с результатами экспериментов *in vivo* на крысах, у которых моделировали инсульт. Доказано преодоление наночастицами PMC16 гематоэнцефалического барьера.

Ключевые слова: ишемический инсульт, пенумбра, ²⁵Mg²⁺, нанокатиониты, фармакокинетика, дифференциальные уравнения, математическая модель

Финансирование: работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2020-792 (Уникальный идентификатор RF-190220X0031).

Вклад авторов: В. В. Фурсов — руководство *in silico* исследованием, идея, гипотеза, структура, моделирование, написание статьи; Д. И. Зинченко — моделирование, программный код, написание статьи; Д. Д. Наместникова — эксперимент *in vivo*; Д. И. Кузнецов — общее руководство проектом, анализ и обсуждение полученных данных, планирование эксперимента.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России (протокол № 140 от 15 декабря 2014 г.), а также университетской комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных (протокол № 13/2020 от 08 октября 2020 г., протокол № 24/2021 от 10 декабря 2021 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Валентин Владимирович Фурсов
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997, Россия; vfursov@mail.ru

Статья получена: 05.07.2022 **Статья принята к печати:** 18.07.2022 **Опубликована онлайн:** 22.07.2022

DOI: 10.24075/vrgmu.2022.037

IN SILICO ALGORITHM FOR OPTIMIZATION OF PHARMACOKINETIC STUDIES OF [²⁵Mg²⁺]PORPHYRIN-FULLERENE NANOPARTICLESFursov VV^{1,2} ✉, Zinchenko DI¹, Namestnikova DD², Kuznetsov DA^{2,3}¹ Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russia² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia³ Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Moscow, Russia

The search for effective pharmacophores to treat ischemic stroke is precipitated by the prevalence and high mortality of the condition. Optimization of preclinical scenarios for promising neuroprotectants by mathematical modeling using up-to-date computational platforms is a well-defined and urgent task. This study aimed to develop a drug-oriented model represented by an ordinary differential equation system to study pharmacokinetics of ²⁵Mg²⁺-releasing porphyrin-fullerene nanocationite PMC16 *in silico* using MATLAB and adjust computing model's adequateness using *in vivo* rat model. The developed five-compartment model predicts the distribution of nanoparticles in organs and tissues (e.g. the brain, the heart and the liver) for the purpose of experimental parameters optimization. The *in silico* produced pharmacokinetic curves show good agreement with the data obtained using *in vivo* rat model of ischemic stroke. The *in silico* and *in vivo* results indicate that PMC16 nanoparticles effectively cross the blood-brain barrier.

Keywords: ischemic stroke, penumbra, ²⁵Mg²⁺, nanocationites, pharmacokinetics, differential equations, mathematical modeling

Funding: the study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, grant No. 075-15-2020-792 (Unique identifier RF-190220X0031)

Author contribution: Fursov VV — *in silico* study supervision, concept, hypothesis, structure, modeling, manuscript writing; Zinchenko DI — modeling, code, manuscript writing; Namestnikova DD — *in vivo* experiments; Kuznetsov DA — general supervision, data interpretation and analysis, planning of experiments.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the ethical review board at the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol № 140 of 15 December 2014) and the local committee for surveillance of the maintenance and use of laboratory animals (protocol № 13/2020 of 08 October 2020, protocol № 24/2021 of 10 December 2021).

✉ **Correspondence should be addressed:** Valentin V. Fursov
Ostrovityanova, 1, Moscow, 117997, Russia; vfursov@mail.ru

Received: 05.07.2022 **Accepted:** 18.07.2022 **Published online:** 22.07.2022

DOI: 10.24075/brsmu.2022.037

Инсульт является второй по распространенности причиной смерти [1], ввиду чего исследования в области поиска эффективных фармакофоров для его лечения приобретают особую актуальность. Разработка и внедрения фармацевтических средств — сложный и длительный процесс, требующий проведения обширных доклинических и клинических исследований. Оптимизация таких сценариев средствами математического моделирования с использованием информационно-компьютерных технологий представляет собой отдельную задачу научно-практического характера.

Так, трансляционные алгоритмы исследований в области современной фармакологии являются неотъемлемой частью протоколов доклинических или клинических испытаний нового инновационного лекарственного средства. Однако этот момент, без сомнения, трактуется по-разному в странах с разными социальными/культурными традициями и с различными экономико-правовыми системами.

Некоторые инновационные фармакофоры на основе наночастиц находятся в центре внимания долгосрочных программ доклинических исследований, принятых Шанхайской организацией сотрудничества (ШОС) на период 2020–2025 гг. [2, 3]. Примечательно, что это региональное политико-экономическое объединение девяти стран (Китай, Россия, Иран, Индия, Пакистан, Казахстан, Узбекистан, Таджикистан, Кыргызстан) с общим бюджетом почти в 26,8 млрд долларов США в настоящее время обеспечивает поддержку текущих разработок в области оптимизации доклинических исследований за счет повышения роли и значимости моделей нанофармакологии *in silico* [3, 4].

Некоторые этические и экономические несоответствия между «западными» и «восточными» точками зрения на разработку, исследование и регистрацию новых лекарств [2, 3] выглядят как сигнал к изменению нашего отношения к этой проблеме в пользу *in silico*, чтобы сократить как затраты, так и продолжительность процесса на трансляционные исследования фармакофоров. Очевидно, что финансовые проблемы, связанные со здравоохранением, и существующие трудности [4] диктуют принимать осторожную позицию по ряду деликатных вопросов, связанных с трансляционной медициной. В то же время есть заслуживающий внимания опыт усилий по оптимизации доклинических исследований, предпринятых в странах Евразийского региона за последние пять–семь лет.

Так, недавние трансляционные проекты, контролируемые ШОС, охватывают текущие исследования нейропротекторного потенциала порфирина-фуллереновых наночастиц, высвобождающих $^{25}\text{Mg}^{2+}$. Примечательным аспектом этого является активное использование платформ *in silico*, предназначенных для анализа аллометрических данных и данных *in vitro* для прогнозирования численных значений и уровней изменчивости наиболее важных фармакокинетических и фармакодинамических параметров [5–7].

Хотя история фармакологических исследований эффектов парамагнитных изотопов металлов насчитывает почти 15 лет [4–11], некоторые свойства трех изотопов: ^{25}Mg , ^{43}Ca , ^{67}Zn — были признаны фармакологически привлекательными для их адресной доставки с использованием наночастиц на основе порфирина-С60 [8–11]. Принимая во внимание все вышесказанное, целесообразно использовать платформу *in silico* с соответствующими трансляционными сценариями [4, 5, 11, 12].

Модифицированные алгоритмы немарковской популяционной динамики наряду с вычислительными

моделями на основе систем обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ) эффективны для прогнозирования селективного накопления клетками головного мозга вышеупомянутых изотопов двухвалентных металлов (^{25}Mg , ^{43}Ca , ^{60}Co , ^{67}Zn), высвобождающихся из порфирина-фуллереновых наночастиц (PMC16) [3].

Целью исследования была разработка препаратоприориентированной математической модели в виде системы ОДУ, реализация ее *in silico* в виде программного кода на языке MATLAB и адаптация к экспериментальным данным, полученным *in vivo* на крысах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

In silico исследование

Система обыкновенных дифференциальных уравнений (1), лежащая в основе математической модели, реализованной *in silico* была получена аналитическим путем на основе опубликованных данных биомедицинских исследований и собственных экспериментов *in vivo* по изучению влияния наночастиц (НЧ) порфирина-фуллерена, высвобождающих $^{25}\text{Mg}^{2+}$ на патогенез ишемического инсульта головного мозга, и смоделирована на языке MATLAB в среде MATLAB / SIMULINK версии 2021b. Для решения системы дифференциальных уравнений применяли метод Рунге–Кутты среднего порядка с использованием решателя ode45. $T_{1/2} = 9,0$ ч, $T_{\max} = 25$ ч, $C_0 = 62$ мкг/мл.

Для изучения поведения модели в пространстве параметров применяли теорию нелинейных динамических систем и использовали метод, известный как «параметрический анализ» (или «бифуркационный анализ» в синергетике) [14]. Метод эффективен для изучения сложных нелинейных процессов в неравновесных системах различного типа: физических, химических, социальных, биологических и др. по их математическим моделям в парадигме вычислительного эксперимента [14].

Для этого использовали адекватные экспериментальным данным *in vivo* параметры и по пятикомпарментному принципу построили математическую модель в виде системы ОДУ, которая после приведения к задаче Коши численным методом была переведена в машинный код и далее исследована методом параметрического анализа неравновесных процессов и систем на соответствие имеющимся экспериментальным данным.

Методом параметрического анализа [14] изучали поведение модели с различными динамическими комбинациями параметров для проверки степени валидности и адекватности предложенной *in silico* платформы и потенциала ее использования для решения фармакокинетических задач и перспективах применения для оптимизации алгоритмов доклинических исследований.

Эксперимент *in vivo*

Наночастицы

Водорастворимые образцы PMC16-RX были любезно предоставлены доктором Н. Амиршахи, Технологический университет имени Амира Кабира, Тегеран, Иран.

Животные

30 особей крыс-самцов Wistar Albino Glaxo (БиоПитомник СТЕЗАР; Владимир, Россия) весом 180–220 г содержали

на стандартной витаминизированной диете. Животные голодали в течение 24 ч перед экспериментом. Использовали три крысы на экспериментальную точку, проводили 5–6 повторений для каждого измерения. Все манипуляции с животными (включая вывод из эксперимента) проводили в соответствии с *arrive guidelines*.

Введение наночастиц

Наночастицы НЧ в концентрации 1,0 мг/кг и/или 20,0 мг/кг вводили крысам в виде однократной внутривенной инъекции. В качестве растворителя использовали 15 мм Трис-HCl (pH 7,80). Животных обезглавливали через 12 ч после инъекции, образцы ткани мозга гомогенизировали в 5–7 объемах 20 мМ Трис-HCl (pH 8,0) / 10 мМ MgCl₂ / 1,5 мМ NaCl / 2,0 мМ EDTA / 25 мМ сахараза / 2,0% Triton X-100 (в/в). Использовали тефлон-стеклянный гомогенизатор Поттера 1800 об./мин (+4 °С).

Фракционирование гомогената ткани головного мозга

Для выделения фракции цитозоля (S125) тщательно промытые гомогенаты подвергали ультрацентрифугированию при 125 000 g, 4 ч, +4 °С, ультрацентрифуга Spinco L5-65B (Beckman; США), ротор SW 27.1. Супернатанты(S125) отбирали, измерения содержания белка проводили обычным колориметрическим методом Брэдфорда.

Образцы S125 смешивали с 10 объемами ледяного ацетона с последующей инкубацией в течение ночи при +4 °С. Осадки отделяли центрифугированием при 20 000 об./мин, 20 мин, +4 °С и отбрасывали. Супернатанты собирали для дальнейшего использования в УФ-спектрофотометрии и в исследованиях CZE.

Для оценки степени экстрагируемости НЧ из биоматериала ацетон-нерастворимые просушенные при 25 °С осадки растворяли в 15 мМ сульфата аммония (pH 8,80) / 0,1% SDS / 2,5 мМ ЭДТА-Na / 1,0% 2-меркаптоэтанол (20 : 1, v/w) с последующей ультразвуковой обработкой раствора при 60 KHz при 40 °С в течение 60 мин. Затем образцы анализировали с помощью нашей методики CZE (см. ниже).

Модель ишемического инсульта *in vivo*

Использовали рутинную модель окклюзии средней церебральной артерии крыс, которую достигли введением филамента, как описано ранее [15].

Таблица 1. Калибровка системы CZE: корреляция содержания внутреннего стандарта и величин оптической плотности идентифицированных фракций PMC16 (Rt = 7,0 мин)

PMC16-RX, нг/мг белка S125	(M + SEM), A ₄₄₀ /мл
1,0	0,09 + 0,02
5,0	0,33 + 0,08
10,0	0,61 + 0,09
25,0	1,84 + 0,08
50,0	3,87 + 0,11
100,0	5,32 + 0,50
200,0	8,55 + 0,72
1000,0	12,89 + 0,96

Примечание: состав CZE-анализируемого образца включает ацетон-растворимый пул цитозоля S125, смешанный с известными по массе добавлениями НЧ (1,0–1000,0 нг/мг общего белка цитозоля). Коэффициент корреляции $r = 0,86$; $n = 6$. Время удержания (эффективной миграции) НЧ Rt = 7,0 мин. Анализируемый образец CZE: пул, растворимый в ацетоне S125, смешанный с определенными количествами (1,0–200,0 нг/мг белка) целевого соединения PMC16-RX. Коэффициент корреляции $r = 0,86$; $n = 6$.

Оригинальная методика капиллярного зонального электрофореза (CZE)

Ацетон-растворимые экстракты S125 концентрировали в роторном испарителе, доводя объем образцов до 0,2–0,3 мл, и затем добавляли к полученному концентрату 30 мМ фосфата аммония (pH 8,80), 25 : 1, v/v. 10 мкл этого образца инъецировали в приемник аналитической системы P/ACE MDQ Plus CZE (ALIGIMED; Республика Беларусь), снабженной онлайн-детектором фракций UV-VIS 770 KS с монохроматическим фильтром 440 нм (Prince Technologies; Нидерланды).

CZE-процесс инициировали и осуществляли в течение 10 мин при +6 °С в кварцевом капилляре с размерами 50 мкм (диаметр) × 75 мм (эффективная длина), содержащим UV-транспарентный силикагель, насыщенный электролитом SJX40 с pH 8,0 (SCLEX, BV; Нидерланды).

Режим фракционирования: 115 V / 60 Hz / 300 W / капилляр. Блок планиграфического/временного анализа данных DAX DATE 220 LK (SCIEX BV; Нидерланды). Данные калибровки, осуществленной конвенциональным способом с использованием внутреннего стандарта по алгоритму, рекомендованному производителем аналитической системы (ALGIMED; Республика Беларусь), представлены в табл. 1.

Фармакокинетические кривые распределения PMC16 по органам представлены ниже. Доверительные интервалы рассчитывались по методу Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В основу нашей модели положено распространенное представление, согласно которому наноагент с кровотоком распространяется по организму, попадая в сердце, печень и мозг, и далее выводится путем естественной элиминации. При этом в зоне воспаления, сопутствующей ишемическому инсульту, происходит интенсивное накопление наноагента вследствие увеличения «пористости» сосудистого русла в связи с увеличением расстояния между эпителиальными клетками, формирующими сосудистые стенки. Модель представлена системой обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ) (1) и схематично показана на рис. 1.

В системе ОДУ (1) C_b , C_p , C_h , C_{is} , C_{br} , — концентрации наноагента в крови, печени, сердце, межклеточном пространстве головного мозга, клетках мозга. Компартмент «межклеточное пространство» был добавлен в рассмотрение, поскольку молекулы

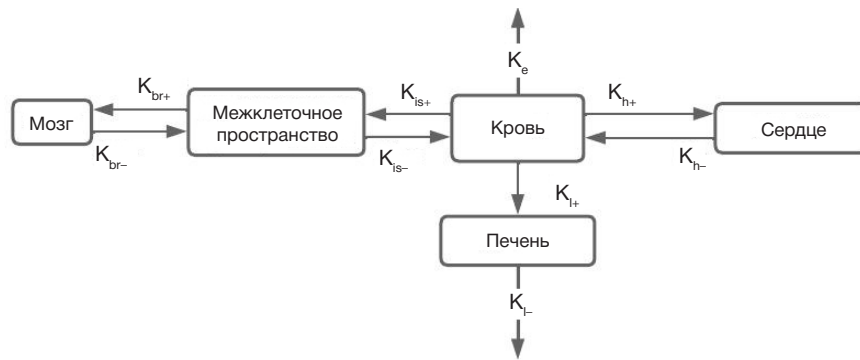


Рис. 1. Схема пятикомпарментной модели фармакокинетики PMC16

наноагента проникают через гематоэнцефалический барьер, непроницаемый в здоровой области мозга. Константа K_{is} настраивается в зависимости от величины поражения мозга. Чем больше область воспаления, тем больше значение константы.

K_e — константа элиминации наноагента. Остальные константы отражают скорость перехода молекул наноагента из одного компартамента в другой. Несложно заметить, что в сумме система дает только член $K_e C_b$, т. е. наноагент полностью выводится из организма. Вывод наноагента через печень для упрощения тоже введен в K_e , однако на метаболизм требуется время, что и отражают соответствующие печени константы.

$$\frac{dC_b}{dt} = -K_e C_b - K_{l+} C_b - K_{h+} C_b - K_{is+} C_b + K_{l-} C_l + K_{h-} C_h + K_{is-} C_{is}$$

$$\frac{dC_l}{dt} = K_{l+} C_b - K_{l-} C_l$$

$$\frac{dC_h}{dt} = K_{h+} C_b - K_{h-} C_h \quad (1)$$

$$\frac{dC_{is}}{dt} = K_{is+} C_b - K_{br+} C_{is} - K_{is-} C_{is} + K_{br-} C_{is}$$

$$\frac{dC_{br}}{dt} = K_{br+} C_{is} - K_{br-} C_{br}$$

Зная время полувыведения $T_{1/2}$ [5], можно оценить константу элиминации K_e как $\ln 2 / T_{1/2}$.

Нами смоделировано однократное в/в введение вещества в дозе 0,2 мг/кг. Известно, что для равномерного распределения фармакофора из места ввода по организму требуется время, но для упрощения расчетов диффузия не включена в модель, т. е. считается, что сразу же после введения концентрация наноагента одинакова в каждой точке.

Результаты расчета по модели в сопоставлении с данными наших экспериментов *in vivo* представлены на рис. 2.

In silico были промоделированы 24 ч пребывания фармакофора в организме, что представляет собой наиболее выраженный период развития ишемического инсульта. При увеличении параметра K_{h+} пик концентрации фармакофора в миокарде сдвигается влево и увеличивается. Согласно некоторым данным [16], концентрация фармакофора в печени быстро образует пик (в первый час) и так же быстро снижается, т. е. константа вывода из печени больше, чем константа поглощения. Однако K_{t+} меньше, чем K_{h+} . При уменьшении константы вывода K_{l-} сильно растет пик концентрации фармакофора. Константы, описывающие обмен фармакофора с мозгом, требуют дополнительных данных для своей оценки, однако из рис. 2 видно, что идет накопление фармакофора и концентрация его в тканях головного мозга количественно ниже, чем в печени и миокарде, что согласуется как с литературными данными [16], так и с данными, полученными нами *in vivo* в экспериментах на лабораторных животных.

На рис. 2 представлены расчетные и экспериментальные фармакокинетические кривые распределения PMC16 в головном мозге, печени и сердце. Расчетные кривые (показаны черным) имеют классическую форму и численно укладываются в доверительные интервалы экспериментальных данных, полученных нами *in vivo* на крысах, что доказывает адекватность математической модели натурному эксперименту.

Таким образом, экспериментально показано, что PMC16 преодолевает гематоэнцефалический барьер и проникает в клетки головного мозга, подвергнувшиеся ишемии, доставляя туда $^{25}\text{Mg}^{2+}$, стимулирующий гиперсинтез АТФ и способный служить перспективным нейропротектором. При этом количественное содержание фармакофора в головном мозге, сердце и печени различается. Такие же результаты демонстрирует и наша *in silico* модель, что подтверждает ее прогностический потенциал и перспективы применения для оптимизации алгоритмов доклинических исследований порфирин-фуллереновых нанокатионитов как потенциальных нейропротекторов.

Распределение НЧ PMC16 по сегментам пораженной ишемией области головного мозга представлено в табл. 2.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Решение фармакокинетической задачи для порфирин-фуллереновых наноагентов в целях оптимизации алгоритмов доклинических исследований возможно *in silico* в парадигме вычислительного эксперимента [17, 18]. При этом следует моделировать не только фармакокинетику (ФК) (т. е. доставку фармакофора в выделенный орган), что сделано в настоящей работе для PMC16, но и фармакодинамику (ФД) или, иными словами, динамику достижения терапевтического эффекта воздействия фармакофора на развитие исследуемой патологии. А это значит, что помимо модели самого заболевания (в нашем случае ишемического инсульта) необходимо иметь модель фармакокинетики исследуемого фармакофора и модель его фармакодинамического воздействия. Речь идет о комплексной ФК/ФД модели как перспективе наших дальнейших исследований в направлении *in silico*.

Такие исследования осложняются не только недостатком в литературе релевантных описаний математических моделей ишемического инсульта, подходящих для этой цели, но и отсутствием фармакокинетических моделей, инновационных фармакофоров, фармакокинетика которых может иметь ярко выраженный препаратоспецифичный характер, особенно когда идет речь об их адресной доставке. Бурно развивающаяся отрасль нанофармакологии предлагает ряд таких наноагентов, фармакокинетика которых отличается от традиционных лекарств, но в то же время

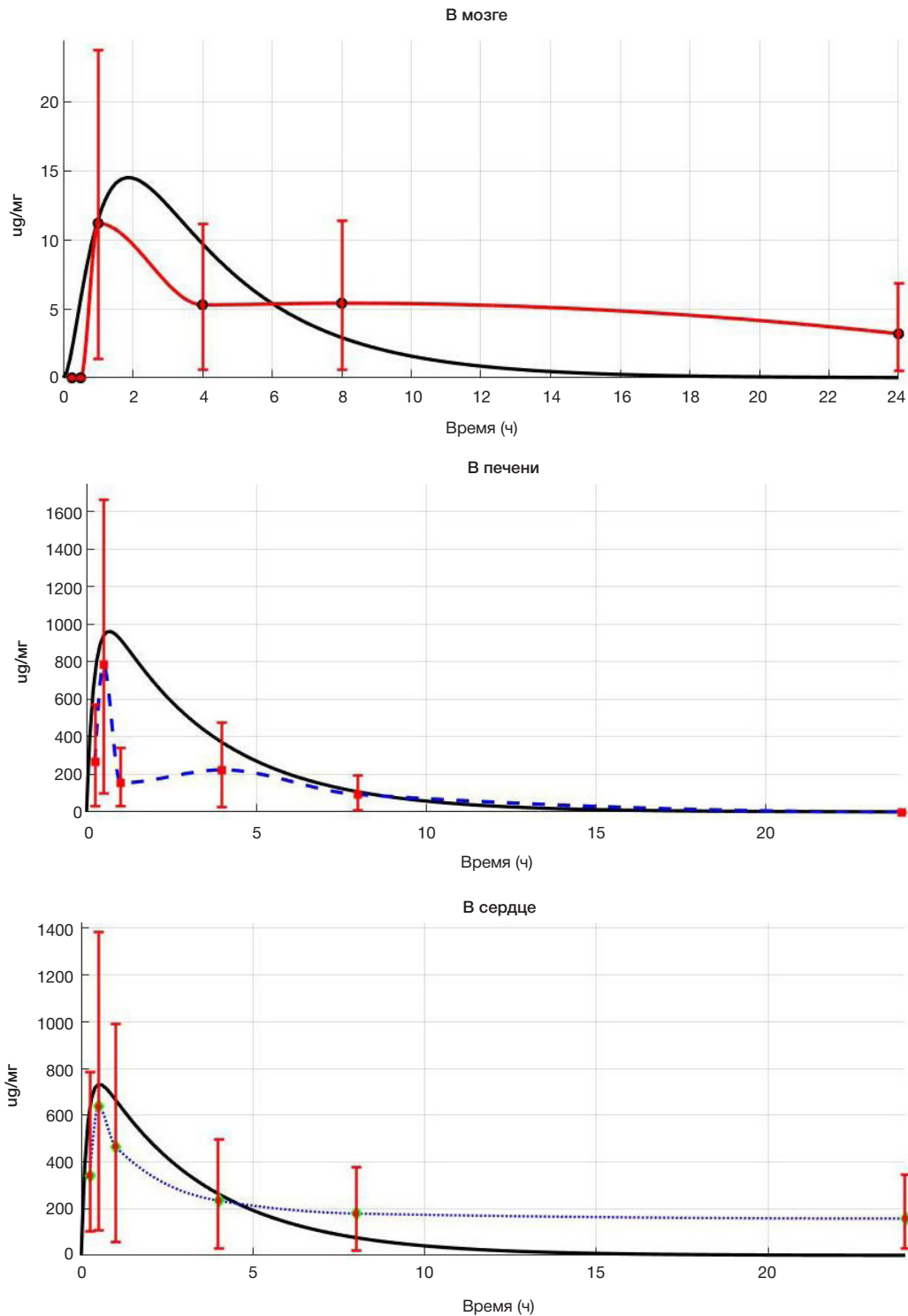


Рис. 2. Фармакокинетические кривые, рассчитанные по модели (показаны черным) в сравнении с экспериментальными данными: в мозге, печени, сердце ($K_{tm} = 0,50$; $K_p = 2$; $K_{tp} = 0,50$; $K_m = 6$; $K_{tm} = 0,50$; $K_e = 0,077$; $K_{dp} = 0,70$; $K_{dm} = 0,70$; $K_{sm} = 0,10$; $K_{sp} = 0,10$)

перспективы применения их в качестве нейропротекторов трудно переоценить [19].

Все вышесказанное непосредственно относится к линейке отечественных фармакофоров PMC16, перспективы применения которых к терапии ишемического инсульта оценены чрезвычайно высоко. В основе их действия лежит фундаментальное открытие магнитоизотопного эффекта $^{25}\text{Mg}^{2+}$. Доказано, что магнитный изотоп магния $^{25}\text{Mg}^{2+}$ является гиперактиватором большинства Mg-зависимых реакций синтеза АТФ в клетке, причем гиперактивация энергетического метаболизма ионами

$^{25}\text{Mg}^{2+}$ требует незначительного количества этих ионов и имеет место даже при отсутствии кислорода (глубокая тканевая гипоксия) [16], в связи с чем и был предложен PMC16 — фармацевтический наноагент, основанный на порфирина-содержащем фуллереновом «шаре» C60 (порфиллерен-МС16) [20, 21].

Основным ключевым моментом экспериментальной проверки такой парадигмы *in silico*, как наша, является доказательство как проницаемости ГЭБ, так и интрализации клеток головного мозга в отношении наночастиц PMC16. Эта задача была решена (рис. 2; табл. 1 и 2). Примечательно, что

Таблица 2. Проницаемость ГЭБ для РМС16-РХ и интернализация фармакофора в клетках головного мозга

Содержание НЧ в цитозоле, нг/мг белка S125 (M ± SEM, n = 6)		
НЕПОВРЕЖДЕННАЯ ТКАНЬ МОЗГА	ПЕНУМБРА	ОБЛАСТЬ ИНСУЛЬТА
7,83 ± 0,66	8,85 ± 0,74	4,11 ± 0,28

Примечание: 20 мг РМС16-РХ на 1,0 кг массы тела крысы внутривенно через 12 ч после однократной инъекции.

участки тканей, поврежденные мозговым инсультом, тоже были доступны для РМС16 (табл. 2).

Таким образом, относительно низкий «уровень массового количества» интрализации НР в клетках мозга крыс (табл. 1) может не иметь ничего общего с ожидаемым фармакологическим воздействием агента, поскольку последнее в любом случае будет обусловлено чрезвычайным перепроизводством АТФ, т. е. прямым и неизбежным результатом феномена $^{25}\text{Mg}^{2+}$ — МІЕ. Излишне подчеркивать, что сама по себе интрализация фармакофора является истинным приоритетом в передовых исследованиях фармакокинетики.

Простое одноэтапное ультрацентрифугирование гомогенатов тканей млекопитающих, обычно предварительное обработанных Triton X-100 (105 000–150 000 г), обеспечивает надежное отделение цитозоля от клеточных органелл, а также от рибосом, рибосомных субъединиц и мембранных дебри. Таким образом, фракция S125, представляющая собой раствор соединений общей цитоплазмы, является идеальным материалом для использования в исследованиях по интрализации лекарственных фармакофоров в клетках [3, 4, 10].

Хотя представленные результаты выглядят вполне самодостаточными, следует отметить, что разрешение и чувствительность нашей процедуры СZE достаточно хороши, чтобы определить низкий, но определяемый

уровень поглощения РМС16-РХ мозгом крыс, оцениваемый в 4,0–8,0 нг на 1,0 мг общего белка S125. Это количество НЧ можно обнаружить через 12 ч после однократной внутривенной инъекции средства. А данные калибровки СZE/РМС16-РХ находятся за пределами (табл. 1). Таким образом, проникновение через гематоэнцефалический барьер для тестируемых ксенобиотиков было четко показано (табл. 1, 2).

Выводы

Представленная модель *in silico* описывает фармакокинетику наночастиц РМС16 как перспективных нейропротекторов применительно к терапии ишемического инсульта. Распределение РМС16 по органам и тканям описана математически в формате пятикомпарментной модели, представленной системой ОДУ и реализованной на РС. Настройку модели на особенности биологических объектов можно осуществить изменением численных значений констант в соответствии с данными экспериментов *in vivo*. Модель согласуется как с имеющимися литературными данными, так и с данными экспериментов на лабораторных животных и может быть использована для оптимизации сценариев доклинических исследований медицинских нанокатионитов РМС16 в качестве нейропротекторов при терапии ишемического инсульта.

Литература

- Global health estimates: Leading causes of death. World Health Organization. Available from (дата обращения: 25.05.22): <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghel-leading-causes-of-death>.
- Li G, Liu Y, He R, et al. FDA decisions on new oncological drugs. *Lancet Oncology*. 2022; 23 (5): 583–5.
- Benjamin DJ, Prasad V, Lythgoe MP. FDA decisions on new oncological drugs. *Lancet Oncology*. 2022; 23 (5): 585–6.
- Das M. Biden's proposed investment in cancer research sparks concerns. *Lancet Oncology*. 2022; 23 (5): 576–80.
- Jun Z. SCO, a unique regional project. *St. Petersburg State Polytechnical University Journal*. 2016; 239 (1): 98–101.
- Vasiliev AA, Spaper D, Ibragimov ZI. Ways to step up the international scientific and technological cooperation of the SCO countries. *Russian Asian Law Journal*. 2020; 13 (2): 92–6.
- Kazemzadeh H, Mozafari M. Fullerene – based delivery systems. *Drug Discovery Today*. 2019; 24 (3): 898–05.
- Kuznetsov D, Roumiantsev S, Fallahi M, et al. Non-Markovian population dynamics: does it help to optimize the chemotherapeutic strategy? *International Journal of Biomedical Science*. 2010; 6 (1): 20–6.
- Bukhvostov AA, Dvornikov AS, Ermakov KV, Kuznetsov DA. Critical Study of Retinoblastoma Case: Shall We Get a Paramagnetic Trend in Chemotherapy? (2020) In: Quershi NA, editor. *Current Topics in Medicine and Medical Research*. Science Domain Publ., Ltd: Hoogley – London – New York, 2020; 1: 72–78.
- Orlova MA, Osipova EY, Roumiantsev SA. Effect of 67Zn-nanoparticles in leukemic and normal lymphocytes. *British Journal of Medicine and Medical Research*. 2012; 2 (1): 21–30.
- Buchachenko AL, Bukhvostov AA, Ermakov KV, et al. A specific role of magnetic isotopes. *Physics and biophysics beyond. Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2020; 155 (1): 1–20.
- Фурсов И. В., Зинченко Д. И., Фурсов В. В., Ананишнев В. М. Технологии искусственного интеллекта в здравоохранении. Создание *in silico*-алгоритмов для оптимизации в экспериментальной нанофармакологии ишемического инсульта. Сборник работ преподавателей, аспирантов и студентов. М.: Перо, 2022; с. 30–33.
- Johansen RJ, Bukhvostov AA, Ermakov KV, Kuznetsov DA. Towards a computational prediction for the tumor selective accumulation of paramagnetic nanoparticles in retinoblastoma cells. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2018; 6: 68–73. DOI: 10.24075/brsmu.2018.078. – EDN YZGOXB.
- Куркина Е. С. Моделирование нелинейных явлений в физико-химических системах: Автоколебания. Структуры. Волны. С подробными примерами в МАТЛАБ. М.: ЛЕНАНД, 2019; 248 с.
- Gubsky IL, Namestnikova DD, Cherkashova EA, Chekhonin VP, Baklaushchev VP, Gubsky LV, Yarygin KN. MRI guiding of the middle cerebral artery occlusion in rats aimed to improve stroke modeling. *Translational Stroke Research*. 2018; 9: 417–25.
- Sarkar S, et al. Use of a magnesium isotope for treating hypoxia and a medicament comprising the same: заяв. пат. 12123245 США, 2008.
- Фурсов В. В., Ананьев А. В., Ананьев В. Н. Компьютерная математическая модель патофизиологических изменений участка мозговой ткани при развитии инсульта. *Естественные и технические науки*. 2022; 5 (168): 173–7.
- Fursov VV, et al. *In silico* studies on pharmacokinetics and

- neuroprotective potential of $^{25}\text{Mg}^{2+}$: releasing nanocationites — background and perspectives. *Pharmacogenetics*. 2021; p. 155.
19. Амиршахи Н. и др. Порфирин-фуллереновые наночастицы для лечения гипоксических кардиопатий. *Российские нанотехнологии*. 2008; 3 (9–10): 125–35.
 20. Саркар С., Резаят С. М., Бучаченко А. Л., Кузнецов Д. А., Орлова М. А., Юровская М. А., Трушков И. В. (2007) Новые водорастворимые порфиллереновые соединения. Патент Европейского союза № 07009882.7/EP07009882 (пер.: Мюнхен, Германия).
 21. Саркар С., Резаят С. М., Бучаченко А. Л., Кузнецов Д. А., Орлова М. А., Юровская М. А., Трушков И. В. (2007) Использование изотопа магния для лечения гипоксии и лекарственного средства, содержащего его. Патент Европейского союза № 07009881.9/EP07009881 (пер.: Мюнхен, Германия).

References

1. Global health estimates: Leading causes of death. World Health Organization. Available from (дата обращения: 25.05.22): <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death>.
2. Li G, Liu Y, He R, et al. FDA decisions on new oncological drugs. *Lancet Oncology*. 2022; 23 (5): 583–5.
3. Benjamin DJ, Prasad V, Lythgoe MP. FDA decisions on new oncological drugs. *Lancet Oncology*. 2022; 23 (5): 585–6.
4. Das M. Biden's proposed investment in cancer research sparks concerns. *Lancet Oncology*. 2022; 23 (5): 576–80.
5. Jun Z. SCO, a unique regional project. *St. Petersburg State Polytechnical University Journal*. 2016; 239 (1): 98–101.
6. Vasiliev AA, Spaper D, Ibragimov ZI. Ways to step up the international scientific and technological cooperation of the SCO countries. *Russian Asian Law Journal*. 2020; 13 (2): 92–6.
7. Kazemzadeh H, Mozafari M. Fullerene – based delivery systems. *Drug Discovery Today*. 2019; 24 (3): 898–05.
8. Kuznetsov D, Roumiantsev S, Fallahi M, et al. Non-Markovian population dynamics: does it help to optimize the chemotherapeutic strategy? *International Journal of Biomedical Science*. 2010; 6 (1): 20–6.
9. Bukhvostov AA, Dvornikov AS, Ermakov KV, Kuznetsov DA. Critical Study of Retinoblastoma Case: Shall We Get a Paramagnetic Trend in Chemotherapy? (2020) In: Quershi NA, editor. *Current Topics in Medicine and Medical Research*. Science Domain Publ., Ltd: Hoogley – London – New York, 2020; 1: 72–78.
10. Orlova MA, Osipova EY, Roumiantsev SA. Effect of ^{67}Zn -nanoparticles in leukemic and normal lymphocytes. *British Journal of Medicine and Medical Research*. 2012; 2 (1): 21–30.
11. Buchachenko AL, Bukhvostov AA, Ermakov KV, et al. A specific role of magnetic isotopes. *Physics and biophysics beyond. Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2020; 155 (1): 1–20.
12. Fursov IV, Zinchenko DI, Fursov VV, Ananishnev VM. Tekhnologii iskusstvennogo intellekta v zdravookhraneni. Sozdanie In Silico — algoritmov dlya optimizatsii v eksperimental'noy nanofarmakologii ishemicheskogo insul'ta. *Sbornik rabot prepodavateley, aspirantov i studentov*. M.: Pero, 2022; s. 30–33. Russian.
13. Johansen RJ, Bukhvostov AA, Ermakov KV, Kuznetsov DA. Towards a computational prediction for the tumor selective accumulation of paramagnetic nanoparticles in retinoblastoma cells. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2018; 6: 68–73. DOI: 10.24075/brsmu.2018.078. – EDN YZGOXB.
14. Kurkina ES. Modelirovanie nelineynykh yavleniy v fiziko-khimicheskikh sistemakh: Avtokolebaniya. *Struktury. Volny. S podrobnymi primerami v MATLAB*. M.: LENAND, 2019; 248 s. Russian.
15. Gubsky IL, Namestnikova DD, Cherkashova EA, Chekhonin VP, Baklaushev VP, Gubsky LV, Yarygin KN. MRI guiding of the middle cerebral artery occlusion in rats aimed to improve stroke modeling. *Translational Stroke Research*. 2018; 9: 417–25.
16. Sarkar S, et al. Use of a magnesium isotope for treating hypoxia and a medicament comprising the same: заяв. пат. 12123245 США, 2008.
17. Fursov VV, Ananishnev AV, Ananishnev VN. Komp'yuternaya matematicheskaya model' patofiziologicheskikh izmeneniy uchastka mozgovoy tkani pri razviti insul'ta. *Estestvennye i tekhnicheskie nauki*. 2022; 5 (168): 173–7. Russian.
18. Fursov VV, et al. In silico studies on pharmacokinetics and neuroprotective potential of $^{25}\text{Mg}^{2+}$: releasing nanocationites — background and perspectives. *Pharmacogenetics*. 2021; p. 155.
19. Amirshakhi N, i dr. Porfirin-fullerenovye nanochastitsy dlya lecheniya gipoksicheskikh kardiopatii. *Rossiyskie nanotekhnologii*. 2008; 3 (9–10): 125–35. Russian.
20. Sarkar S, Rezayat SM, Buchachenko AL, Kuznetsov DA, Orlova MA, Yurovskaya MA, Trushkov IV. (2007) Novye vodorastvorimye porfillerenovye soedineniya. Patent Evropeyskogo soyuza № 07009882.7/EP07009882 (reg.: Myunkhen, Germaniya). Russian.
21. Sarkar S, Rezayat SM, Buchachenko AL, Kuznetsov DA, Orlova MA, Yurovskaya MA, Trushkov IV. (2007) Ispol'zovanie izotopa magniya dlya lecheniya gipoksii i lekarstvennogo sredstva, sodержashchego ego. Patent Evropeyskogo soyuza № 07009881.9/EP07009881 (reg.: Myunkhen, Germaniya). Russian.