УДК 577.127.4

DOI: 10.21779/2542-0321-2024-39-2-83–90

С. Л. Аджиахметова, Д. И. Поздняков

Идентификация и анализ на соответствие критериям лекарствоподобия 3,5,7-тригидрокси-4′-метокси-8-пренилфлавона, его моно- и дигликозида с оценкой их антидиабетического действия

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ; Россия, 357532, г. Пятигорск, просп. Калинина, 11; simil-la503@mail.ru

Аннотация. Икариин обладает активностью против сахарного диабета и может помочь улучшить дисфункцию β-клеток поджелудочной железы; способствует заживлению диабетических ран; может облегчить повреждение почек у крыс с диабетической нефропатией, вызванной стрептозотоцианом, и др. Ранее нами был осуществлен ступенчатый гидролиз икариина и препаративно получены его агликон (икаритин) и моногликозид (икаризид I).

Цели работы – идентификация и анализ на соответствие критериям лекарствоподобия икаритина, его моно- и дигликозида с оценкой их антидиабетического действия. При помощи онлайн-сервиса SwissADME для исследуемых соединений *in silico* было изучено соответствие критериям лекарствоподобия. Обнаружено, что у всех анализируемых соединений предполагаются низкая токсичность и антидиабетическое действие, которое, однако, было ниже, чем у препарата сравнения – дапаглифлозина. Методом тонкослойной хроматографии идентифицировали анализируемые соединения и изучили их физико-химические характеристики. Установили, что икаритин характеризуется высокой степенью лекарствоподобия и может обладать выраженной фармакологической активностью (в частности, антидиабетическим действием) и являться перспективным соединением для дальнейших углубленных исследований.

Ключевые слова: икариин, икаризид I, икаритин, антидиабетическое действие.

Введение

Икариин – 8-пренилированное производное флавоноида кемпферола 3,7-О-диглюкозида, выделенного из травы горянки (*Epimedium*). Обнаружено, что икариин обладает значительной активностью против сахарного диабета и может помочь улучшить дисфункцию β-клеток поджелудочной железы и резистентность к инсулину. Кроме того, доклинические данные показали, что икариин и его моногликозид – икаризид II оказывают профилактическое и терапевтическое действие при некоторых диабетических осложнениях, таких как диабетическая кардиомиопатия, диабетическое нарушение эндотелия сосудов, диабетическая нефропатия и диабетическая эректильная дисфункция [1].

В работе Сингх В.Р. с соавторами установлено, что икариин уменьшает воспаление и улучшает ангиогенез и, видимо, поэтому происходит ускорение заживления диабетических ран [2].

Икариин может облегчить повреждение почек у крыс с диабетической нефропатией, вызванной стрептозотоцианом, что может быть связано с модуляцией экспрессии коллагена IV и белка TGF-β(1) [3].

Результаты фармакологического анализа показали, что икариин применяется для лечения ишемического инсульта [4; 5], также может оказывать антидепрессивное дей-

ствие посредством регуляции метаболизма и нейротрансмиссии [6], обладает противоопухолевой активностью при многих видах рака, включая гепатоцеллюлярную карциному, мелкоклеточный рак легкого, меланому, рак желудка, рак молочной железы и колоректальный рак [7–9].

Нами осуществлен ступенчатый гидролиз 7-(β-D-глюкопиранозилокси)-5-гидрокси-4'-метокси-8-(3-метилбут-2-ен-1-ил)-3-(α-L-рамнопиранозилокси) флавона (икариина) и препаративно получены моногликозид – икаризид I и агликон – 3,5,7-тригидрокси-4′-метокси-8-пренилфлавон (икаритин). Препаративное выделение этих соединений проводили в системе H_2SO_4–C_2H_5OH (1:9) [10].

В связи с вышесказанным **целями работы** являлись идентификация и анализ на соответствие критериям лекарствоподобия икаритина, его моно- и дигликозида с оценкой их антидиабетического действия.

Экспериментальная часть

Для анализа использовали субстанцию икариина (*Hunan Warrant Pharmaceutical Co*).

Анализ на соответствие исследуемых соединений критериям лекарствоподобия был осуществлён при помощи веб-сервиса SwissADME (http: //www.swissadme.ch/). Прогноз токсичности соединений проводили с помощью веб-сервиса pkCSM (http: //biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/) [11–13].

Для качественного анализа исследуемых соединений использовали тонкослойную хроматографию (ТСХ) в системах элюентов: *н*-бутанол – кислота уксусная – вода (БУВ) (4:1:5); уксусная кислота 15% и 60%; этилацетат – вода очищенная – уксусная кислота (5:1:1) на пластинках Silufol (размер 4×14 см) (подкладка: алюминиевая фольга, сорбент: широкопористый силикагель, связывающее вещество: крахмал). Проявителем служили пары йода.

Для нанесения пробы использовали дозатор механический 1-канальный варьируемого объема, 0,5–10 мкл BIOHIT. Объем наносимой пробы исследуемых соединений – 5 мкл.

Температуру плавления определяли на аппарате SMP30. УФ-спектры поглощения спиртовых растворов регистрировали на спектрофотометре СФ-102, ИК-спектры – на Фурье-спектрометре ФСМ 1201 в вазелиновом масле в виде суспензии.

Антидиабетическую активность икариина, икаризида I и икаритина оценивали на крысах-самцах Wistar, которым моделировали сахарный диабет путем внутрибрюшинной инъекции стрептозотоцина в дозе 35 мг/кг на фоне диеты с высоким содержанием фруктозы (20% раствор). По истечении 14 дней у крыс определяли уровень глюкозы в крови, в дальнейший эксперимент отбирались животные с показателями глюкозы крови более 16 ммоль/л [14]. Изучаемые объекты в дозе 100 мг/кг и препарат сравнения дапаглифлозин (Форсига, АстраЗенека, Россия) в дозе 1,5 мг/кг [15] вводили на протяжении 14 дней, после чего у животных осуществляли забор крови с определением концентрации глюкозы и гликированного гемоглобина. Сравнение показателей осуществляли с группами положительного (ПК – без патологии) и негативного контроля (НК – с патологией, но без фармакологической коррекции). Количество особей в одной экспериментальной группе после первичного определения уровня глюкозы в крови равнялось десяти. Полученные результаты обрабатывали методами вариационной статистики с применением возможностей программного комплекса StatPlus 7.0. Для срав-

нения групп средних использовали ANOVA с пост-тестом Ньюмена–Кейлса при $p < 0,05$.

Обсуждение результатов

На рисунке 1 приведены структуры исследуемых веществ: икариина (1), икаризида I (2) и икаритина (3).

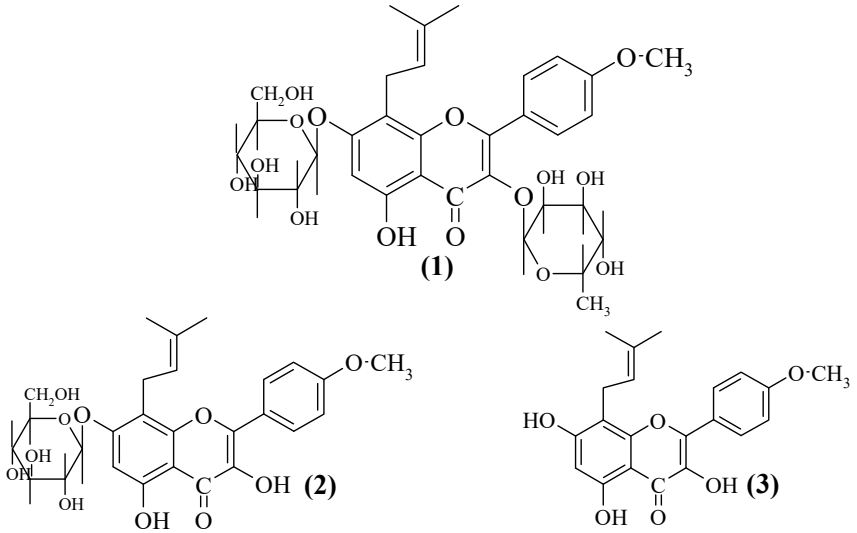


Рис. 1. Структурные формулы анализируемых соединений: 1 – икариин, 2 – икаризид I, 3 – икаритин)

Лекарствоподобие.

При помощи онлайн-сервиса SwissADME для исследуемых соединений *in silico* изучили соответствие критериям лекарствоподобия согласно правилам *Липински*, *Ghose*, *Veber*, *Egan* и *Muegge*.

Основные физико-химические критерии «правила пяти»: молекулярная масса, число доноров и акцепторов водородных связей, компьютерный алгоритм расчёта logP, характеризующий липофильные свойства соединений. В правилах *Ghose*, *Veber*, *Egan* и *Muegg*e основными критериями являются: молекулярная рефракция, количество вращающихся связей, площадь полярной поверхности и другие [11–13].

Таблица 1. Результаты анализа ADME исследуемых соединений *in silico*

Соединение / Молекулярные дескрипторы	Икариин	Икаризид I	Икаритин
MWg/mol	600,57	530,52	368,38
MLOGP/WLOGP/XLOGP	–2,87/–1,60/0,24	–0,92/1,57/2,97	1,31/4,09/4,77
NHD	8	6	3
NHA	15	11	6
TPSAÅ2	238,20	179,28	100,13
NA	42	38	27
NRB	8	7	4
MR	141,85	136,32	104,20
NG	10	16	16

Согласно полученным результатам установили, что икариин (1) не соответствует критериям правил: *Липински – три* нарушения (молекулярная масса > 500, число доноров водородной связи > 5, число акцепторов водородных связей > 10); *Muegge – четыре* нарушения (молекулярная масса > 600, площадь полярной поверхности > 150, число доноров водородной связи > 5, число акцепторов водородных связей > 10); *Ghose – четыре* нарушения (молекулярная масса > 480, молекулярная рефракция > 130, количество атомов > 70, WLOGP < –0,4); *Egan – одно* нарушение (площадь полярной поверхности > 131,6); *Veber – одно* нарушение (площадь полярной поверхности > 140). Его моногликозид (икаризид I) (2) также не соответствует этим правилам.

Исходя из результатов расчёта молекулярных дескрипторов, агликон икаритин (3) соответствует всем требованиям пяти правил и характеризуется высокой степенью лекарствоподобия. В связи с этим икаритин может обладать выраженной фармакологической активностью и является перспективным соединением для дальнейших углубленных исследований.

При прогнозе фармакокинетических параметров исследуемых веществ установлено, что они не проникают через ГЭБ; соединения (1) и (2) являются субстратом для Р-гликопротеина, т. е. способны выводиться из клеток посредством активного транспорта; соединение (3) является ингибитором фермента CYP2D6; низкое всасывание в желудочно-кишечном тракте – 5,93 % и 41,51 % для соединений (1), (2) соответственно, а высокое – 82 %, 76 % для соединения (3) [13].

Прогноз токсичности анализируемых соединений представлен в таблице 2.

Таблица 2. Результаты токсичности

Соединение	Икариин	Икаризид I	Икаритин
Токсичность по AMES	нет	нет	нет
Максимально переносимая доза для человека, мг/кг/сут.	0,247	0,617	0,736
Пероральная острая токсичность для крыс (LD50), моль/кг	2,470	2,806	2,318
Пероральная хроническая токсичность для крыс (LOAEL), log мг/кг массы тела/сут.	4,890	4,495	2,446
Гепатотоксичность	нет	нет	нет
Сенсибилизация кожи	нет	нет	нет

Установили, что у всех анализируемых соединений предполагается низкая токсичность.

Качественный анализ.

Данные хроматографического анализа и физико-химические характеристики приведены в таблицах 3, 4.

Таблица 3. Данные хроматографического анализа

Анализируемое соединение	Икариин	Икаризид I	Икаритин
Система элюентов	Факторы удерживания (n = 3) (±0,01)		
15% уксусная кислота	0,69	0,73	0,83
60% уксусная кислота	0,78	0,85	0,91
БУВ (4:1:5)	0,66	0,73	0,87
этилацетат – вода очищенная – уксусная кислота (5:1:1)	0,74	0,81	0,89

Таблица 4. Характеристики анализируемых соединений

Соединение	Цвет исследуемых соединений	Температура плавления, °С	ИК-спектр, υ, $см^{-1}$	УФ-спектры поглощения (λ_{max}), нм
Икариин	Светло-коричневый порошок	228–230	3312,7 (OH), 2873,9 (–O–CH_3), 1655,3 (C=O), 1560,5 (C=C).	271, 319
Икаризид I	Темно-желтый порошок	230–232	3353,1 (OH), 2862,1(–O–CH_3), 1646,5 (C=O), 1602,0 (C=C).	273, 328, 373
Икаритин	Желтый порошок	236–238	3311,7 (OH), 2859,1 (–O–CH_3), 1658,2 (C=O), 1619,8 (C=C).	270, 371

Антидиабетическое действие.

Оценка антидиабетической активности анализируемых объектов показала, что применение икариина, икаризида I и икаритина способствует уменьшению (по отношению к НК группе животных) уровня глюкозы у крыс с экспериментальным сахарным диабетом на 12,1 % ($p < 0,05$), 13,6 % ($p < 0,05$) и 25,9 % ($p < 0,05$), тогда как на фоне введения дапаглифлозина снижение уровня глюкозы составило 58,9 % ($p < 0,05$). Стоит отметить, что концентрация глюкозы в крови крыс, получавших икаритин, была достоверно ($p < 0,05$) меньше, чем у животных, получавших икариин и икаризид I (рис. 2).

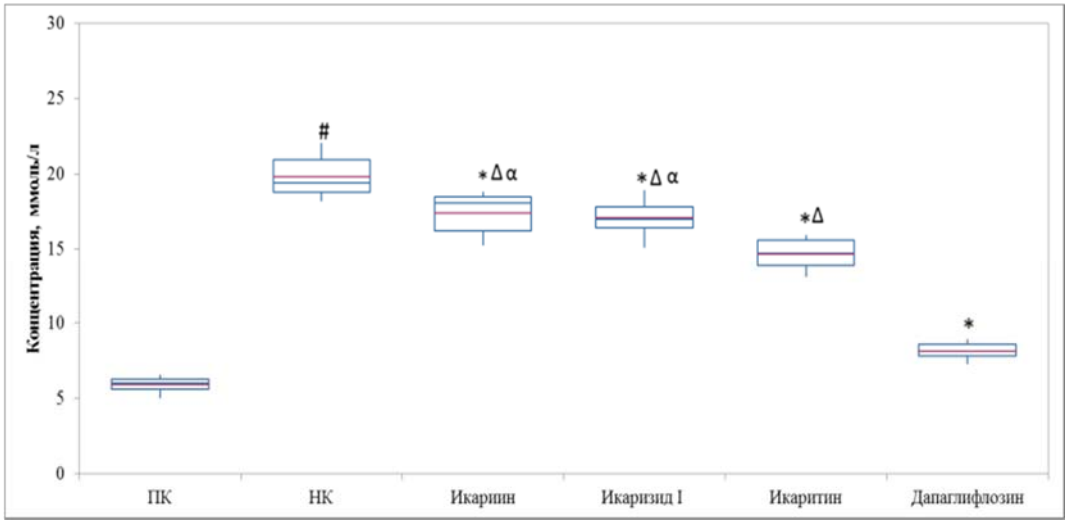
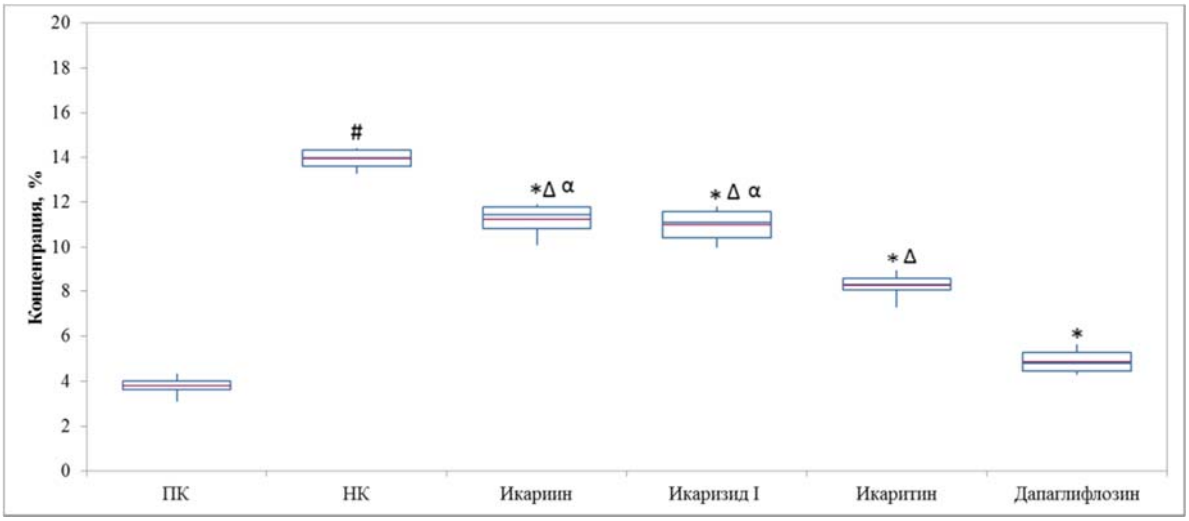


Рис. 2. Влияние анализируемых веществ на изменение концентрации глюкозы в крови у крыс с экспериментальным сахарным диабетом

Примечание: # – достоверно относительно ПК группы крыс; * – достоверно относительно НК группы крыс; Δ – достоверно относительно группы крыс, получавшей дапаглифлозин; α – достоверно относительно группы крыс, получавшей икаритин.

Также было показано, что введение животным икариина, икаризида I, икаритина и дапаглифлозина уменьшает содержание гликированного гемоглобина в крови у крыс на 19,2 % ($p < 0,05$), 21,0 % ($p < 0,05$), 40,9 % ($p < 0,05$) и 65,1 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателем НК крыс соответственно. При этом у получавших икаритин уровень гликированного гемоглобина был ниже аналогичного у крыс, которым вводили икариин и икаризид I (рис. 3).



Примечание: условные обозначения аналогичны рис. 2.

Рис. 3. Влияние анализируемых веществ на изменение концентрации гликированного гемоглобина в крови у крыс с экспериментальным сахарным диабетом

Заключение

У всех анализируемых соединений обнаружено антидиабетическое действие, которое, однако, было ниже чем у препарата сравнения – дапаглифлозина. Установили, что икаритин соответствует всем требованиям правил *Липински*, *Ghose*, *Veber*, *Egan*, *Muegge* и обладает выраженной фармакологической активностью.

Литература

1. Jiang, W. Therapeutic effects of icariin and icariside II on diabetes mellitus and its complications / W. Jiand, K. Ding, R. Yue et al. // Critikal Reviews in Food Science and Nutrition. 2023. Vol. 2. – Pp. 1–26.

2. Singh, W. R. Icariin improves cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats / W. R. Singh, A. Sharma, H. S. Devi et al. // Journal Tissue Viability. 2022. Vol. 31, № 1. – Pp. 197–206.

3. Qi, M. Y. Protective effect of Icariin on the early stage of experimental diabetic nephropathy induced by streptozotocin via modulating transforming growth factor β1 and type IV collagen expression in rats / M. Y. Qi, Kai-Chen, H. R. Liu et al. // Journal Ethnopharmacol. 2011. Vol. 138, № 3. – Pp. 731–736.

4. Singh W. R. Angiogenic and MMPs modulatory effects of icariin improved cutaneous wound healing in rats / W. R. Singh, H. S. Devi, S. Kumawat et al. // *European Journal Pharmacology*. 2019. Vol. 858. – P. 172466.

5. Ren X. S. Neuroprotective effect of icariin on spinal cord injury in rats / X. S. Ren, W. Ding, X. Y. Yang et al. // *Zhongguo Gu Shang*. 2018. Vol. 31, № 11. – Pp. 1054–1060.

6. Wang S. Icariin, an Up-and-Coming Bioactive Compound Against Neurological Diseases: Network Pharmacology-Based Study and Literature Review / S. Wang, J. Ma, Y. Zeng et al. // Drug Design Development and Therapy. 2021. Vol. 15. – Pp. 3619–3641.

7. Li X. Icariin induced B16 melanoma tumor cells apoptosis, suppressed tumor growth and metastasis / X. Li, J. Sun, S. Hu et al. // Iranian Journal Public Health. 2014. Vol. 43, № 6. – Pp. 847–848.

8. *Sun, Z. G.* Therapeutic effect and mechanism of icariin combined with calcium sensitive receptor on mouse gastric cancer cells / Z. G. Sun, Z. F. Lang, Y. D. Mu, J. Li, C. X. Xing, L. Yan, S. Li // Jounal of Biological Regulators and Homeost Agents. 2020. Vol. 34, № 5. – Pp. 1831–1836.

9. *Shen R.* The effect of icariin on immunity and its potential application / R. Shen, J. H. Wang // Americal Journal of Clinical and Experimental Immunology. 2018. Vol. 7, № 3. – Pp. 50–56.

10. *Аджиахметова, С. Л.* Исследование процесса гидролиза икариина / С. Л. Аджиахметова, Д. И. Поздняков, Н. М. Дибижева, Э. Т. Оганесян // Башкирский химический журнал. 2024. Т. 31, № 2. – С. 10–14.

11. *Daina A.* Swiss ADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules / A. Daina, O. Michielin, V. Zoete // Scientific Reports.2017. Vol. 7, № 1. – P. 42717.

12. *Горишний, В. Я.* Синтез, физико-химические свойства, биоподобие и противоопухолевая активность эфиров и амидов 2-[5-(4-бромбензилиден)-4-оксо-2-тиоксотиазолидин-3-ил]-3-метилбутановой кислоты / В. Я. Горишний // Журнал органической химии. 2021. Т. 57, № 1. – С. 35–42.

13. *Шумадалова, А. В.* Синтез и *in silico* прогноз фармакологической активности новых гидразонопроизводных тиетансодержащего пиримидина / А. В. Шумадалова, Ю. И. Виноградова, Д. Р. Хузин // Сборник «Инновации в медицине и фармации». – Минск: БГМУ, 2023. – С. 600–603.

14. *Chao, P. C.* Investigation of insulin resistance in the popularly used four rat models of type-2 diabetes / P. C. Chao, Y. Li, C. H. Chang et al. // Biomed Pharmacother. 2018. Vol. 101. – Pp. 155–161.

15. *Arow, M.* Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor Dapagliflozin attenuates diabetic cardiomyopathy / M. Arow, M. Waldman, D. Yadin // Cardiovasc Diabetolojy. 2020. Vol. 19, № 1. – P. 7.

Поступила в редакцию 17 июня 2024 г.
Принята 22 июня 2024 г.

UDC 577.127.4

DOI: 10.21779/2542-0321-2024-39-2-83–90

Identification and Analysis for Compliance With Drug Similarity Criteria of 3,5,7-Trihydroxy-4′-Methoxy-8-Prenylflavone, its Mono- and Diglycoside with Assessment of Their Antidiabetic Effect

S. L. Adzhiakhmetova, D. I. Pozdnyakov

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volga State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Russia, 357532, Pyatigorsk, Kalinin ave., 11; simillа503@mail.ru

Abstract Icariin has anti-diabetic activity and may help improve pancreatic β-cell dysfunction; promotes healing of diabetic wounds; can alleviate kidney damage in rats with diabetic nephropathy caused by streptozotocyanin, etc. Previously, we carried out stepwise hydrolysis of icariin and preparatively obtained its aglycone (icaritin) and monoglycoside (icariside I). The purpose of the work was to identify and analyze icaritin, its mono- and diglycosides for compliance with the drug-likeness criteria, with an assessment of their antidiabetic effect. Compliance with the drug-likeness criteria was studied *in silico* using the SwissADME online service for the test compounds. It was found that all the analyzed compounds had low toxicity and antidiabetic effect, which, however, was lower than that of the reference drug, dapagliflozin. Using thin layer chromatography, the analyzed compounds were identified and their physicochemical characteristics were studied. It has been established that icaritin is characterized by a high degree of drug-likeness and may have pronounced pharmacological activity (in particular, antidiabetic action) and is a promising compound for further in-depth studies.

Keywords: icariin, icariside I, icaritin, antidiabetic effect.

Received 17 June, 2024

Accepted 22 June, 2024