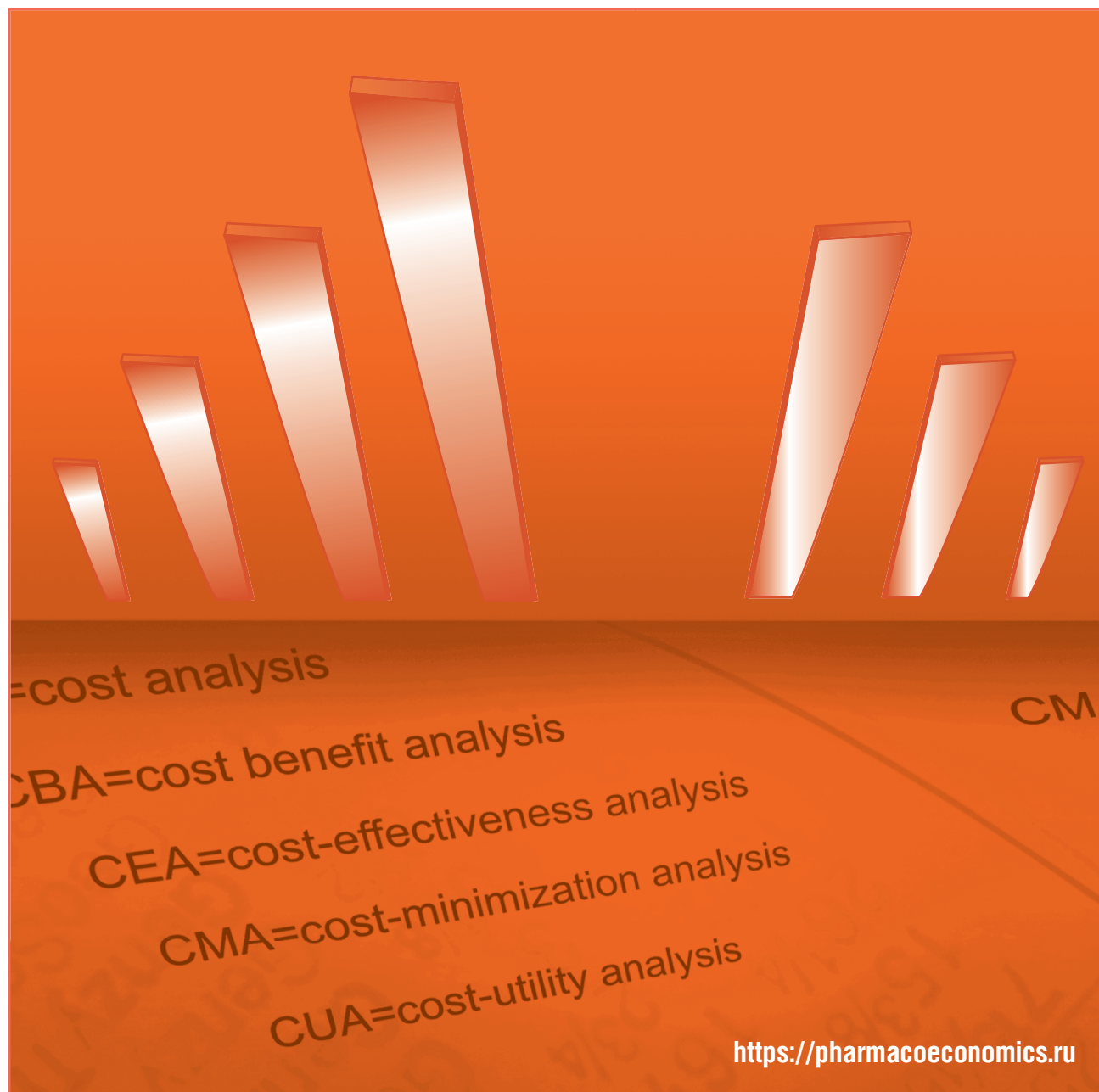


Фармакоэкономика

Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология

ISSN 2070-4909 (print)
ISSN 2070-4933 (online)



FARMAKOEKONOMIKA
Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology

2024 Vol. 17 No. 3

№3

Том 17

2024

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта <https://www.pharmacoeconomics.ru>. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.



<https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2024.214>

ISSN 2070-4909 (print)

ISSN 2070-4933 (online)

Хемопротеомный анализ фармакологических свойств производных витамина B12

И.Ю. Торшин¹, О.А. Громова¹, И.А. Деревеньков², Л.А. Майорова^{1,2}

¹ Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук (ул. Вавилова, д. 44, корп. 2, Москва 119334, Россия)

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановский государственный химико-технологический университет» (пр-т Шереметевский, д. 7, Иваново 153000, Россия)

Для контактов: Ольга Алексеевна Громова, e-mail: unesco.gromova@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Химические производные витамина B12 характеризуются широким спектром фармакологического действия. Важно научиться устанавливать взаимосвязи между изменениями структуры корринового кольца в производных витамина B12 и изменениями фармакологических свойств.

Цель: оценка взаимодействия шести производных витамина B12 (аквакобаламин, диаквакобинамид, аквациано-формы гептаэтанолламин-, гептаэтилендиамин-, гептаметил- и гептабутилкобированатов) с белками протеома человека.

Материал и методы. Методом хемоинформационного (хемопротеомного) анализа, реализованного в рамках алгебраической теории распознавания и топологического анализа данных, проведены оценки констант концентрации полумаксимального ингибирования (англ. half-maximal inhibitory concentration, IC50) и полумаксимальной эффективной концентрации (англ. half-maximal effective concentration, EC50) белков протеома человека.

Результаты. Найдены достоверные отличия во взаимодействиях исследованных молекул с 1200 белками. Показано, что хемопротеомные профили каждого из соединений формируют три группы молекул с близкими протеомными свойствами: 1) аквакобаламин; 2) диаквакобинамид, аквациано-формы гептаэтанолламин- и гептаэтилендиаминкобированатов; 3) аквациано-формы гептаметил- и гептабутилкобированатов. Более детальный анализ хемопротеомных профилей исследуемых соединений с использованием номенклатуры биологических функций белков GO (англ. Gene Ontology) позволил выделить функциональные категории GO, указывающие на различия в биологических эффектах исследуемых соединений: нейропротективная регуляция активности нейротрансмисмиттеров (активность рецептора серотонина, холинергические синапсы, регуляция секреции дофамина, рецептор гормонов щитовидной железы), снижение воспаления (ингибирование биосинтеза цитокинов, в т.ч. фактора некроза опухоли альфа и интерлейкина 1-бета, I-каппа-B киназы / ядерного фактора каппа-B, миграции лейкоцитов) и др.

Заключение. Выявлены и описаны профили отличий фармакологических свойств исследуемых соединений относительно воздействия на нейропротекцию, обмен нейротрансмисмиттеров и воспаление.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Синтетические производные витамина B12, хемопротеомный анализ, топологическая теория анализа данных, оценка фармакологических свойств, протеом человека.

Для цитирования

Торшин И.Ю., Громова О.А., Деревеньков И.А., Майорова Л.А. Хемопротеомный анализ фармакологических свойств производных витамина B12. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2024; 17 (3): 345–357. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2024.214>.

Chemoproteomic analysis of the pharmacological properties of vitamin B12 derivatives

I.Yu. Torshin¹, O.A. Gromova¹, I.A. Dereven'kov², L.A. Maiorova^{1,2}

¹ Federal Research Center "Computer Science and Control", Russian Academy of Sciences (44 corp. 2 Vavilov Str., Moscow 119334, Russia)

² Ivanovo State University of Chemistry and Technology (7 Sheremetevsky Ave., Ivanovo 153000, Russia)

Corresponding author: Olga A. Gromova, e-mail: unesco.gromova@gmail.com

SUMMARY

Background. Chemical derivatives of vitamin B12 are characterized by a wide range of pharmacological effects. It is important to learn how to establish relationships between changes of the corrin ring structure in vitamin B12 derivatives and changes in pharmacological properties.

Objective: to evaluate the interaction of six vitamin B12 derivatives (aquacobalamin, diaquacobinamide, aquacyano-forms of heptaethanolamine, heptaethylenediamine, heptamethyl and heptabutyl cobyrinates) with human proteome proteins.

Material and methods. Using the method of chemoinformational (chemoproteomic) analysis, implemented within the framework of algebraic recognition theory and topological data analysis, the constants of half-maximal inhibitory concentration (IC50) and half-maximal effective concentration (EC50) of human proteome proteins were assessed.

Results. Significant differences were found in the interactions of the studied molecules with 1200 proteins. It was shown that the chemoproteomic profiles of each of the compounds form three groups of molecules with similar proteomic properties: (1) aquacobalamin, (2) diaquacobinamide, aquacyano-forms of heptaethanolamine and heptaethylenediamine cobyrinates, (3) aquacyano-forms of heptamethyl and heptabutyl cobyrinates. A more detailed analysis of the chemoproteomic profiles of the studied compounds using the GO (Gene Ontology) nomenclature of biological functions of proteins made it possible to identify functional GO categories indicating differences in the biological effects of the studied compounds: neuroprotective regulation of neurotransmitter activity (serotonin receptor activity, cholinergic synapses, regulation of dopamine secretion, receptor thyroid hormones), reduction of inflammation (inhibition of cytokine biosynthesis, including tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta, I-kappa-B kinases / nuclear factor kappa B, leukocyte migration), etc.

Conclusion. The profiles of differences in the pharmacological properties of the studied compounds with respect to their effects on neuroprotection, neurotransmitter metabolism, and inflammation were identified and described.

KEYWORDS

Synthetic derivatives of vitamin B12, chemoproteomic analysis, topological theory of data analysis, assessment of pharmacological properties, human proteome.

For citation

Torshin I.Yu., Gromova O.A., Dereven'kov I.A., Maiorova L.A. Chemoproteomic analysis of the pharmacological properties of vitamin B12 derivatives. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoeconomika i farmakoepidemiologiya / FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2024; 17 (3): 345–357 (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2024.214>.

Основные моменты

Что уже известно об этой теме?

- ▶ Витамин B12 важен для поддержания многих процессов (метаболизм фолатов, гомоцистеина, метилирование ДНК)
- ▶ Таргетная модуляция производных витамина B12 посредством специфических модификаций корринового ядра позволяет получать соединения с разными фармакологическими свойствами
- ▶ Для адекватного планирования дальнейших экспериментальных исследований (*in vitro*, *in vivo*) сначала необходимо провести моделирование фармакологических свойств отобранных молекул *in silico*

Что нового дает статья?

- ▶ Методом хемопротеомного анализа получены оценки взаимодействия шести производных витамина B12 (аквакобаламин, диаквакобинамид, кобириновый аминокспирт, кобириновый диамин, гептаметилцианаквакобириновая кислота, гептабутилцианаквакобириновая кислота), достоверно отличающихся для 1200 белков протеома человека
- ▶ Хемопротеомные профили каждого из соединений сгруппированы в три кластера веществ с близкими свойствами (аквакобаламин, диаквакобинамид – кобириновый аминокспирт – кобириновый диамин, гептаметилцианаквакобириновая кислота – гептабутилцианаквакобириновая кислота)
- ▶ Установленные различия в биологических эффектах исследуемых соединений относятся к нейропротективной, нейротрофической, противоопухолевой и противовоспалительной активности. Описаны механизмы реализации этих фармакологических эффектов

Как это может повлиять на клиническую практику в обозримом будущем?

- ▶ Взаимодействия со специфическими белками протеома человека важны для модуляции активности протеома и для целевой доставки лекарств
- ▶ Различия в нейропротективной, нейротрофической, противоопухолевой и противовоспалительной активности изученных производных позволяют более эффективно планировать экспериментальные и клинические исследования этих соединений

Highlights

What is already known about the subject?

- ▶ Vitamin B12 is important for the maintenance of many processes (folate, homocysteine metabolism, DNA methylation)
- ▶ Targeted modulation of vitamin B12 derivatives through specific modifications of the corrin core makes it possible to obtain compounds with different pharmacological properties
- ▶ To adequately plan further experimental studies (*in vitro*, *in vivo*), it is first necessary to simulate the pharmacological properties of selected molecules *in silico*

What are the new findings?

- ▶ Using chemoproteomic analysis, we obtained estimates of the interaction of six vitamin B12 derivatives (aquacobalamin, diaquacobinamide, cobyrinic amino alcohol, cobyrinic diamine, heptamethylcyanacobyrinic acid, heptabutylcyanacobyrinic acid), which were significantly different for 1,200 human proteome proteins
- ▶ Chemoproteomic profiles of each compound were grouped into three clusters of substances with similar properties (aquacobalamin, diaquacobinamide – cobyrinic amino alcohol – cobyrinic diamine, heptamethylcyanacobyrinic acid – heptabutylcyanacobyrinic acid)
- ▶ The established differences in the biological effects of the studied compounds relate to neuroprotective, neurotrophic, antitumor and anti-inflammatory activities. The mechanisms for realizing these pharmacological effects were described

How might it impact the clinical practice in the foreseeable future?

- ▶ Interactions with specific human proteome proteins are important for modulating proteome activity and for targeted drug delivery
- ▶ Differences in neuroprotective, neurotrophic, antitumor and anti-inflammatory activities of the studied derivatives make it possible to plan experimental and clinical studies of these compounds more effectively

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Широкий круг биологических ролей витамина В12 обусловлен высокоспецифичными (целевыми) взаимодействиями с белками протеома (не менее 24 витамин-В12-зависимых белков в протеоме человека [1]). Помимо влияния на протеом человека витамин также служит своего рода каркасом для направленного органического синтеза молекул с желаемыми свойствами, в т.ч. для таргетной доставки лекарств, использования в качестве антидотов, разработки химических сенсоров и др. [2–5].

Представленная в работе [2] систематизация информации о таргетной модуляции свойств корринов посредством химических модификаций показала, каким образом можно регулировать свойства производных витамина В12 путем введения специфических замещений групп в корриновом кольце. Результаты систематического компьютерного анализа публикаций о корринах позволили сформировать выборку молекул – кандидатов для исследований корринов *in silico*, *in vitro* и *in vivo*: аквакобаламин и его безнуклеотидное производное – диаквакобинамид (DACbi), производные аквацианокобириновой кислоты – амиды, содержащие остатки этаноламина и этилендиамин, гептаметилового и гептабутилкобириновой кислоты (дициано-форма гептаметилкобирината).

Эти соединения обладают различным сродством к кобаламин-зависимым и неспецифическим по отношению к корриноидам белкам. В частности, транскобаламин II (транспортный белок крови, участвующий в доставке кобаламинов в клетки) обладает высокой чувствительностью к изменениям в их структуре [6], что способствует транспорту витамина В12 и затрудняет поступление корриноидов с модифицированной периферией из крови внутрь клеток. Изменения в структуре корриноидов заметно отражаются на их реакционной способности по отношению к сывороточному альбумину: аквакобаламин реагирует с бычьим сывороточным альбумином (БСА) с относительно низкой скоростью, образуя аминокислотный комплекс [7], обладающий высокой инертностью в реакциях лигандного обмена и редокс-взаимодействиях [8], тогда как DACbi реагирует с БСА с более высокой скоростью и связывается с ним в эквимолярном соотношении [9]. Гидролиз всех амидных связей в кобинамиде приводит к образованию кобириновой кислоты, которая очень слабо связывается с БСА, что обусловлено электростатическим отталкиванием между этими молекулами, имеющими в нейтральной среде отрицательный заряд. Этерификация карбоксильных групп в кобириновой кислоте приводит к повышению ее гидрофобности и увеличивает прочность связывания с БСА [10]. Реакционная способность амидов кобириновой кислоты, содержащих остатки этаноламина и этилендиамина, по отношению к белкам неизвестна, однако можно предположить, что данная модификация ее структуры приведет к увеличению прочности связывания с сывороточными белками за счет электростатического притяжения (в случае амида с остатками этилендиамина, молекула которого имеет большой положительный заряд в нейтральной среде) и умеренной липофильности (в случае амида с остатками этаноламина). Таким образом, выбранные соединения обладают различной реакционной способностью по отношению к белкам, что позволяет предположить наличие у них широкого спектра биологических свойств.

Ранее методом хемореактивного анализа была проведена оценка более 3500 биологических свойств пяти корриновых производных – цианокобаламина, аквакобаламина, гептаметилового эфира цианоаквакобириновой кислоты (аквациано-форма гептаметилкобирината, $AC^{Me}Cbu$), гептаметилового эфира дицианокобириновой кислоты (дициано-форма гептаметилкобирината)

и стабильного желтого корриноида. Показано, что аквакобаламин и $AC^{Me}Cbu$ можно рекомендовать для дальнейшего изучения в качестве обезболивающих и противовоспалительных средств [11]. Позднее в экспериментах на животных было установлено, что данное соединение обладает биологической активностью [12].

Кроме того, установлено, что макроциклические тетрапиррольные соединения, такие как коррины, корролы и порфирины, могут образовывать двумерные и трехмерные наноструктуры [13–18], а также наночастицы [3, 19, 20] с регулируемыми свойствами, что делает их актуальной группой веществ для изучения в качестве перспективных наночастиц лекарственных препаратов. Получены супермолекулярные наноструктуры производного витамина В12 – гептабутилового эфира цианоаквакобириновой кислоты (аквациано-форма гептабутилкобирината, $AC^{Bu}Cbu$). Это уникальные наночастицы с сильными нековалентными межмолекулярными взаимодействиями, особыми свойствами и активностью [20]. Показано, что полученные наночастицы не только воспроизводят функциональные свойства комплексов витамина В12 с белками в живых организмах и действуют как витамин-В12-зависимые ферменты, но и демонстрируют важные преимущества перед витамином В12. Они более эффективны в реакциях восстановления/выделения кислорода и превращениях в другие формы [20]. Подобные наночастицы могут стать альтернативой широко используемым в медицине препаратам (в частности, витамину В12).

Для адекватного планирования дальнейших экспериментальных исследований (*in vitro*, *in vivo*) сначала необходимо провести моделирование фармакологических свойств отобранных молекул *in silico* (в частности, посредством масштабного хемоинформационного моделирования). Хемоинформатика основана на применении современных методов машинного обучения (в частности, топологической теории анализа данных [21–23]) к анализу химической структуры молекул и кристаллов. Используя методы теории размеченных графов, развиваемые в научной школе Ю.И. Журавлёва и К.В. Рудакова, становится возможным преобразовать химические формулы в наборы чисел, которые подаются на вход нейронных сетей, алгоритмов логических правил и т.д. Хемоинформационные исследования включают оценку взаимодействий изучаемых молекул с белками протеома и позволяют прогнозировать нейротропные, гепатотропные, антибактериальные, противоопухолевые и другие свойства молекул, включая моделирование результатов исследований на культурах клеток.

Цель – оценка взаимодействия шести производных витамина В12 (аквакобаламин, диаквакобинамид, аквациано-формы гептаэтанолмин-, гептаэтилендиамин-, гептаметил- и гептабутилкобиринатов) с белками протеома человека.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIAL AND METHODS

Исследуемые соединения / Studied compounds

В работе представлены результаты сравнительного хемоинформационного анализа витамина В12 и его производных: аквакобаламина, диаквакобинамида (DACbi), аквациано-форм гептаэтанолмин-, гептаэтилендиамин-, гептаметил- и гептабутилкобиринатов ($AC^{Et}Cbu$, $AC^{ED}Cbu$, $AC^{Me}Cbu$ и $AC^{Bu}Cbu$ соответственно), структурные формулы которых приведены на рисунке 1.

Хемоинформационный анализ / Chemoinformatics analysis

Сравнение соединений проводили методом хемореактивного анализа, основанного на теории изоморфизма размеченных графов и современных методов прогнозирования числовых таргетных переменных [21].

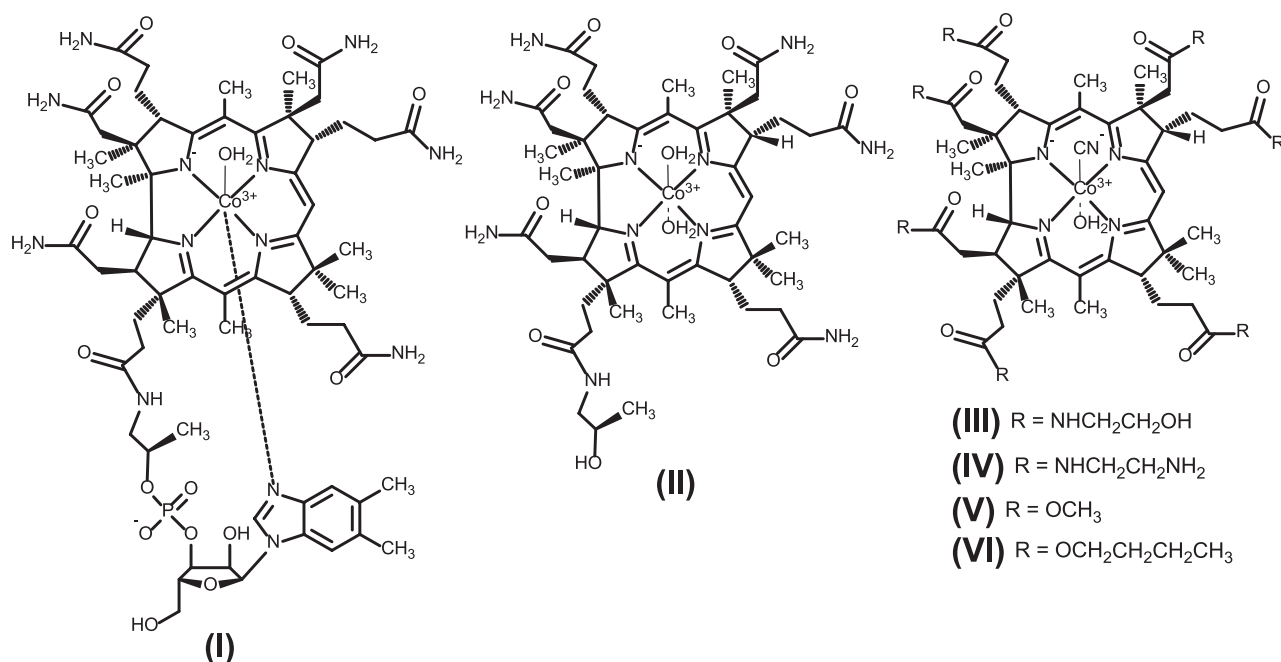


Рисунок 1. Структурные формулы аквакобаламина (I), диаквакобинамида (II), аквациано-формы гептаэтаноламинкобирината (III), аквациано-формы гептаэтилендиаминкобирината (IV), аквациано-формы гептаметилкобирината (V) и аквациано-формы гептабутилкобирината (VI)

Figure 1. Structural formulas of aquacobalamin (I), diaquacobinamide (II), aquacyano-form of heptaethanolamine cobyrinate (III), aquacyano-form of heptaethylenediamine cobyrinate (IV), aquacyano-form of heptamethyl cobyrinate (V), and aquacyano-form of heptabutyl cobyrinate (VI)

Для осуществления хемоинформационного анализа нами разработана проблемно-ориентированная теория в границах комбинаторной теории разрешимости [22–24]. Последняя является расширением алгебраического подхода к задачам машинного обучения и представляет исследователю современный математический инструмент для анализа качества порождаемых признаков описаний объектов [25].

При математической постановке задач анализа молекул объектами исследования являются хемографы. Хемограф (χ -граф) – особая разновидность графа, т.е. математического объекта, являющегося совокупностью множества вершин и множества ребер – связей между вершинами. Хемографом называется конечный, связный, неориентированный и размеченный граф без петель, с кликовым числом, не превышающим 3 [26].

В соответствии с постулатами комбинаторной теории разрешимости χ -графы являются объектами, инварианты χ -графов – признаками. По отношению к χ -графам исключительно важны теорема полноты инвариантов и теорема о критерии соответствия разрешимости/регулярности полноте инвариантов. Главным математическим результатом этих теорем является следующее выражение:

$$\forall_{a,b \in Pr} iso(a) \neq iso(b) \Rightarrow \exists_{i=1..|I_k|} i: \hat{i}[i]\chi(a) \neq \hat{i}[i]\chi(b), \quad (1)$$

где $Pr \subset I_n \times I_k$ – исследуемое множество прецедентов χ -графов; I_n – множество начальных информаций (вектора $\hat{\chi}$); I_k – множество конечных информаций; $iso(G)$ – метка принадлежности χ -графа G к определенному классу изоморфизма графов; χ – множество элементарных χ -инвариантов (например, соответствующих фрагментам химических структур молекул); $\hat{\chi}$ – кортеж-инвариант, т.е. упорядоченная совокупность элементарных инвариантов.

Когда условие (1) выполнено при заданном χ , то множество χ гарантирует существование решения задачи для заданного мно-

жества прецедентов Pr , что, в свою очередь, делает возможным систематическое исследование углеродных скелетов молекул. При условии регулярности множества Pr (попарное различие признаков описаний χ -графов) множество χ вычисляется как характеристическая функция множества наиболее информативных значений признаков $T(\alpha)$ [26]:

$$T(\alpha) = \begin{cases} 1 & \text{если } \exists_{a,b \in Pr} : (\hat{i}[\alpha]\chi(a) \neq \hat{i}[\alpha]\chi(b)) \wedge (\forall k < \alpha \Rightarrow \hat{i}[k]\chi(a) = \hat{i}[k]\chi(b)), \\ 0 & \text{в противном случае} \end{cases} \quad (2)$$

где α – ранг информативности инварианта.

Комбинаторный анализ условий (1, 2) позволяет вычислять кортеж-инварианты, гарантирующие разрешимость и регулярность признаков описаний молекул. Например, тестирование условий (1, 2) на выборках 50 тыс. попарно различных молекул из базы данных PubChem [27] было проведено с применением бинарных кортеж-инвариантов над множеством цепных фрагментов химических структур длиной $n=1 \dots 7$. Результаты тестирования показали, что длина цепи $n=7$ позволяет достигнуть аккуратности различения одной молекулы от другой более 99%.

С использованием множества χ , полученного в результате тестирования условий (1, 2), и определения метрики Хэмминга функция расстояния между χ -графами d_χ определяется как:

$$d_\chi(X_1, X_2) = \frac{1}{|\chi|} \sum_{i=1}^{|\chi|} \hat{i}[i]\hat{\beta}[X_1]\chi \oplus \hat{i}[i]\hat{\beta}[X_2]\chi. \quad (3)$$

В ходе хемоинформационного анализа формула (3) позволяет вычислять своего рода «химические расстояния» между парами сравниваемых молекул. Первым шагом анализа является установление списка молекул, наиболее близких по структуре к оцениваемой молекуле (т.е. вычисление d_χ). Второй шаг – извлечение из баз данных экспериментальной информации о молекулах, схо-

жих с заданной. Третий шаг – оценка биологических активностей исследуемой молекулы (в т.ч. моделирование взаимодействия с протеомом), т.е. собственно хемореактомный анализ.

Хемореактомный анализ подразумевает определение упоминаемых ранее множеств I_n и I_k . Элементами множества I_n являются вектора, соответствующие бинарным или численным кортеж-инвариантам хемографов, обладающих свойством локальной полноты [22], найденные для заданного алфавита меток χ -графов [26]. Элементами множества I_k являются вектора, соответствующие теоретико-множественным формам профилей сродства молекул к целевым белкам. После вычисления (1, 2) для каждой из изучаемых биологических констант (связывания, ингибирования и др.) строится эмпирическая функция распределения значений этой константы.

Представленные в проведенном исследовании оценки значений биологических констант концентрации полумаксимального ингибирования (англ. half-maximal inhibitory concentration, IC50) и полумаксимальной эффективной концентрации (англ. half-maximal effective concentration, EC50) белков протеома человека были получены как математическое ожидание и дисперсия соответствующих эмпирических функций распределений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ / RESULTS AND DISCUSSION

Хемореактомный анализ / Chemoreactomic analysis

В рамках хемопроотеомного профилирования исследуемых производных методом хемореактомного анализа были оценены потенциальные взаимодействия каждой молекулы с различными белками протеома человека. Найденны достоверные различия между молекулами для 1200 белков, причем проценты схожести взаимодействия с протеомом (при сравнении по 1200 белкам) заметно отличались между другими парами молекул (табл. 1): наиболее схожи были DACbi, AC^{EA}Cby и AC^{ED}Cby (80–82%), AC^{Me}Cby и AC^{Bu}Cby (77%).

На метрической диаграмме (рис. 2) каждому соединению соответствует одна точка, которой, в свою очередь, соответствует 1200-мерный вектор, отражающий комплекс взаимодействий с протеомом. Очевидно существование трех кластеров молекул с близкими протеомными свойствами: аквакобаламин, кластер из DACbi, AC^{EA}Cby и AC^{ED}Cby и кластер гидрофобных производных (AC^{Me}Cby и AC^{Bu}Cby).

Функции белков / Functions of proteins

Анализ хемопроотеомных профилей исследуемых соединений с использованием номенклатуры биологических функций белков GO (англ. Gene Ontology) позволил выделить функциональные категории GO, указывающие на различия в биологических эффектах (рис. 3).

Функции белков, активируемых всеми исследованными производными витамина B12: нейропротективная регуляция активности нейротрансмиттеров (ингибирование секреции глутамата, активность рецептора серотонина, холинергические синапсы, регуляция секреции дофамина, рецептор гормонов щитовидной железы), снижение воспаления (ингибирование биосинтеза цитокинов, в т.ч.

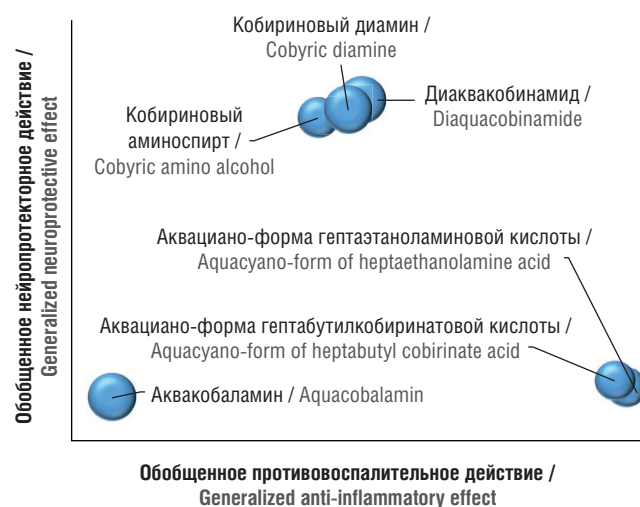


Рисунок 2. Метрическая диаграмма схожести профилей протеомных взаимодействий исследованных производных витамина B12. Диаграмма получена посредством проецирования 1200-мерных векторов для каждого соединения на плоскость. Чем больше расстояние между точками, тем больше различия в хемопроотеомных профилях соответствующих производных. Значения координат не имеют физического числового выражения, диаграмма предназначена только для визуальной иллюстрации расстояния между соответствующими значениями

Figure 2. Metric diagram of the similarity of proteomic interaction profiles of the studied vitamin B12 derivatives. The diagram is obtained by projecting 1200-dimensional vectors for each connection onto a plane. The greater the distance between the points, the greater the differences in the chemoproteomic profiles of the corresponding derivatives. The coordinate values do not have a physical numerical expression, the diagram is intended only to visually illustrate the distance between the corresponding values

Таблица 1. Схожесть протеомных взаимодействий исследованных молекул по результатам хемопроотеомного профилирования, %*

Table 1. Similarity of proteomic interactions of the studied molecules according to the results of chemoproteomic profiling, %*

Соединение / Compound	Аквакобаламин / Aquacobalamin	DACbi	AC ^{EA} Cby	AC ^{ED} Cby	AC ^{Me} Cby	AC ^{Bu} Cby
Аквакобаламин / Aquacobalamin	100	37	43	40	13	17
DACbi	37	100	81	80	33	40
AC ^{EA} Cby	43	81	100	82	34	36
AC ^{ED} Cby	40	80	82	100	36	38
AC ^{Me} Cby	13	33	34	36	100	77
AC ^{Bu} Cby	17	40	36	38	77	100

Примечание. DACbi – диаквакобинамид; AC^{EA}Cby – аквациано-форма гептаэтаноламинокобирината; AC^{ED}Cby – аквациано-форма гептаэтилендиаминкобирината; AC^{Me}Cby – аквациано-форма гептаметилкобирината; AC^{Bu}Cby – аквациано-форма гептабутилкобирината. * Процент оценен на основании сравнения 1200-мерных векторов, каждый компонент которых соответствует взаимодействию с определенным белком протеома.

Note. DACbi – diaquacobinamide; AC^{EA}Cby – aquacyano-form of heptaethanolamine cobirinate; AC^{ED}Cby – aquacyano-form of heptaethylenediamine cobirinate; AC^{Me}Cby – aquacyano-form of heptamethyl cobirinate; AC^{Bu}Cby – aquacyano-form of heptabutyl cobirinate. * The percentage was estimated based on a comparison of 1200-dimensional vectors, each component of which corresponded to an interaction with a specific protein in the proteome.

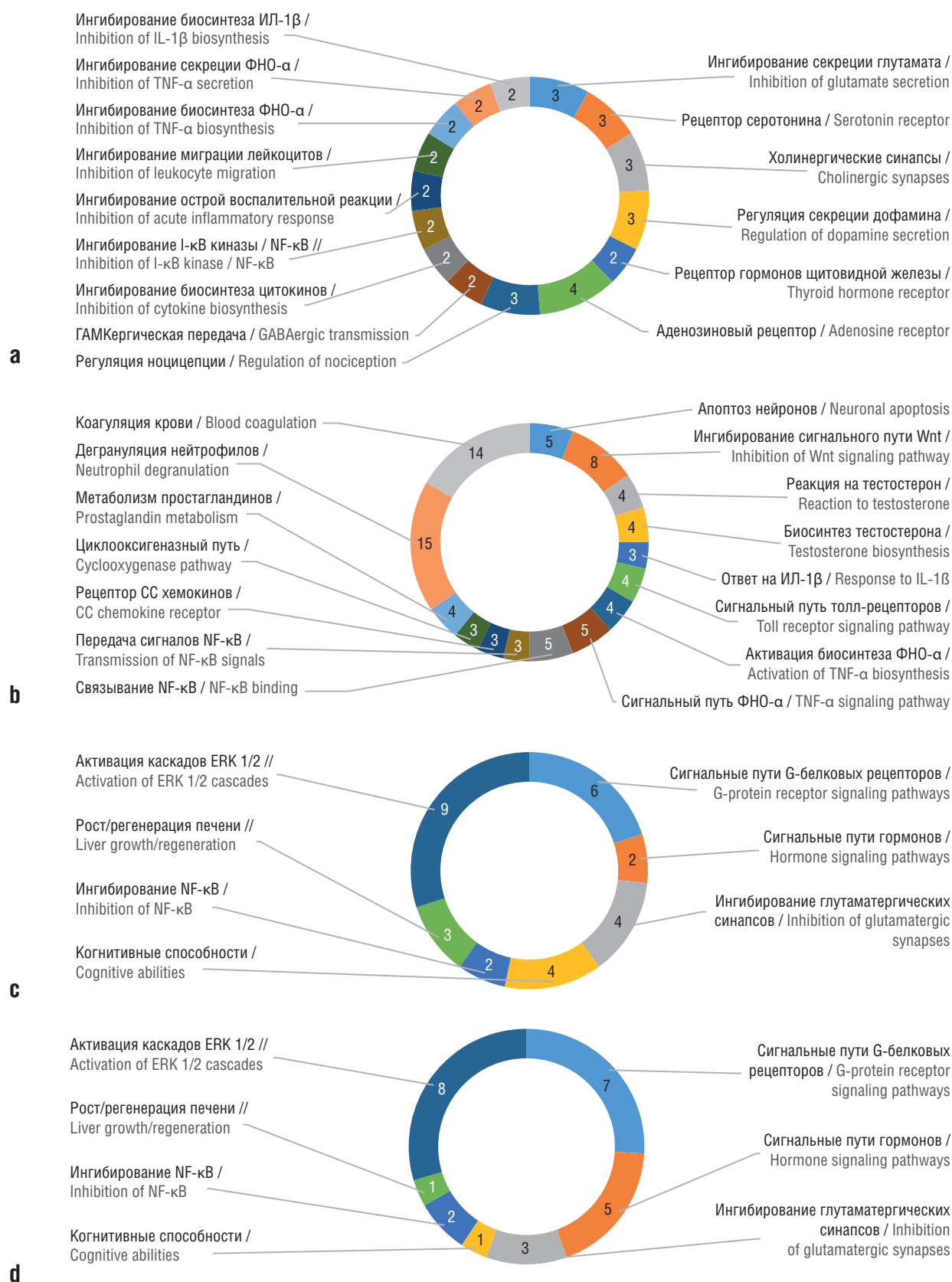


Рисунок 3 (начало). Анализ различий хемопротеомных профилей производных витамина B12 с использованием номенклатуры функций белков GO (англ. Gene Ontology): **a, b** – функции белков, активируемых всеми исследованными производными витамина B12; **c** – функции белков, активируемых аквакобаламином; **d** – функции белков, активируемых диаквакобанамином.

ИЛ-1 β – интерлейкин 1-бета; ФНО- α – фактор некроза опухоли альфа; NF- κ B (англ. nuclear factor kappa B) – ядерный фактор каппа-В; ГАМК – гамма-аминомасляная кислота; ERK 1/2 (англ. extracellular signal-regulated kinase 1/2) – внеклеточная сигнально-регулируемая киназа

Figure 3 (beginning). Analysis of differences in chemoproteomic profiles of vitamin B12 derivatives using the GO (Gene Ontology) protein function nomenclature:

a, b – functions of proteins activated by all studied vitamin B12 derivatives; **c** – functions of proteins activated by aquacobalamin; **d** – functions of proteins activated by diaquacobinamide.

IL-1 β – interleukin 1 beta; TNF- α – tumor necrosis factor alpha; NF- κ B – nuclear factor kappa B; GABA – gamma-aminobutyric acid; ERK 1/2 – extracellular signal-regulated kinase 1/2

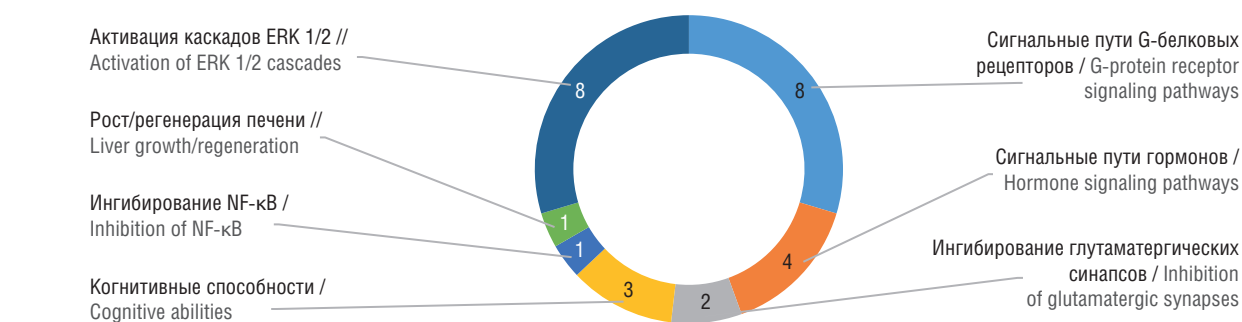


Рисунок 3 (окончание). Анализ различий хемопротеомных профилей производных витамина B12 с использованием номенклатуры функций белков GO (англ. Gene Ontology): **е** – функции белков, активируемых аквациано-формой гептаметилкобрина.

ERK 1/2 (англ. extracellular signal-regulated kinase 1/2) – внеклеточная сигнально-регулируемая киназа; NF-κB (англ. nuclear factor kappa B) – ядерный фактор каппа-В

Figure 3 (end). Analysis of differences in chemoproteomic profiles of vitamin B12 derivatives using the GO (Gene Ontology) protein function nomenclature:

е – functions of proteins activated by aquacyano-form of heptamethyl cobyrinate.
ERK 1/2 – extracellular signal-regulated kinase 1/2; NF-κB – nuclear factor kappa B

фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α) и интерлейкина 1-бета (ИЛ-1β), I-κB киназы / ядерного фактора каппа-В (англ. nuclear factor kappa B, NF-κB), миграции лейкоцитов). Функции белков, дифференцированно активируемых репрезентативными соединениями: сигнальные пути G-белковых рецепторов, в т.ч. гормональных, ингибирование NF-κB, рост/регенерация печени, активация каскадов внеклеточной сигнально-регулируемой киназы (англ. extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2).

Функции белков, ингибируемых всеми исследованными производными витамина B12: снижение нейроапоптоза (апоптоз нейронов), нейротрофические эффекты (сигнальный путь Wnt), противовоспалительное действие (ответ на ИЛ-1β, толл-рецепторы, активность ФНО-α, передача сигналов NF-κB, рецептор СС хемокинов, метаболизм простагландин, коагуляция крови).

Более детальный анализ хемопротеомных профилей исследуемых соединений позволяет утверждать, что функции белков, активируемых всеми исследованными производными витамина B12, включают нейропротективную регуляцию активности нейротрансмиттеров и снижение воспаления (рис. 4).

Функции белков, ингибируемых всеми исследованными производными витамина B12, включают снижение нейроапоптоза и нейропротекцию, нейротрофические эффекты, противовоспалительное и антикоагулянтное действие.

Нейропротективная регуляция активности нейротрансмиттеров

Под нейропротективной регуляцией активности нейротрансмиттеров подразумевается активность рецептора серотонина, холинергические синапсы. Рецепторы 5-гидрокситриптамина 1В и 2А (гены *HTR1B*, *HTR2A*) реализуют биологические эффекты серотонина, в т.ч. анксиолитический и нейропротекторный эффекты. Для рецепторов 5-HT1В наименьшее значение EC50 317 нМ отмечено для AC^{Bu}Cby, для рецепторов 5HT-2А – для аквакобаламина (EC50 460 нМ), для рецептора 5HT-2В – для DACbi (EC50 178 нМ).

Субъединица альфа-4 нейронального рецептора ацетилхолина (ген *CHRNA4*), взаимодействуя с агонистами, приводит к активации холинергической нейротрансмиссии. Для белка-рецептора CHRNA4 наименьшее значение EC50 129 нМ установлено для аквакобаламина. Активация каннабиноидного рецептора 1 / опиоидного рецептора мю-типа (ген *OPRM1*) приводит к противоположному эффекту; наименьшие значения EC50 в диапазоне 53–56 нМ установлены для AC^{CA}Cby и DACbi.

Следует указать и на возможные антиастенические эффекты исследованных молекул. Активация аденозиновых рецепторов типа A1 (ген *ADORA1*) снижает утомляемость скелетных мышц *in*

vitro [28] (EC50 60 нМ для аквакобаламина). Активация рецептора гормона щитовидной железы (ген *THRA*) также способствует прекращению астении; наименьшие значения EC50 105 нМ отмечены для AC^{Me}Cby и AC^{Bu}Cby.

Снижение воспаления

Снижение воспаления обусловлено активацией белков протеома, участвующих в ингибировании биосинтеза цитокинов, в т.ч. ФНО-α и ИЛ-1β, I-κB киназы / NF-κB. Например, рецептор ангиопоэтина-1 (ген *TEK*) регулирует ангиогенез, выживаемость эндотелиальных клеток, миграцию, адгезию, тонус сосудов и оказывает противовоспалительное действие, предотвращая утечку провоспалительных белков плазмы и лейкоцитов из кровеносных сосудов. Исследованные молекулы являются умеренными активаторами TEK (EC50 в диапазоне 157–218 нМ).

Ядерный рецептор D1 (ген *NR3C1*) регулирует гены, участвующие в метаболизме липидов и желчных кислот, адипогенезе, глюконеогенезе, свертывании крови, воспалительной реакции макрофагов, подавляет экспрессию прокоагулянтного белка SERPINE1/PAI1, а также экспрессию воспалительных цитокинов и хемокинов в макрофагах [29]. Наименьшее значение EC50 207 нМ получено для аквакобаламина. Аналогичный белок, гомолог печеночного рецептора 1 (ген *NR5A2*), играет решающую роль в регуляции развития, транспорта холестерина, гомеостаза желчных кислот и стероидогенеза. LXR-1 индуцирует гепатопротекторные заменимые аминокислоты в ответ на острое повреждение печени и снижает воспаление в печени [30] (EC50 в диапазоне 890–1140 нМ для исследуемых молекул).

Рецептор-120, связанный с G-белком (ген *FFAR4*), участвует в ингибировании высвобождения провоспалительных цитокинов и опосредует антиапоптотические эффекты полиненасыщенных жирных кислот [31] (EC50 260 нМ для AC^{Bu}Cby). Активация рецептора 2 N-формилпептидов (ген *FPR2*) может усиливать результат активации FFAR4 и противодействовать провоспалительным сигналам от лейкотриена B4 (LTB4).

Снижение апоптоза нейронов и нейропротекция

Снижение апоптоза нейронов и нейропротекция обусловлены ингибированием кальпаина, аденозинового и пуринового рецепторов. Кальпаин 1/2 (ген *CAPN1*) представляет собой активируемую кальцием протеазу, которая существует в цитозоле в виде неактивного профермента. Когда уровень внутриклеточного кальция перегружен, происходит преобразование профермента в его активную форму. Активированный кальпаин затем расщепляет

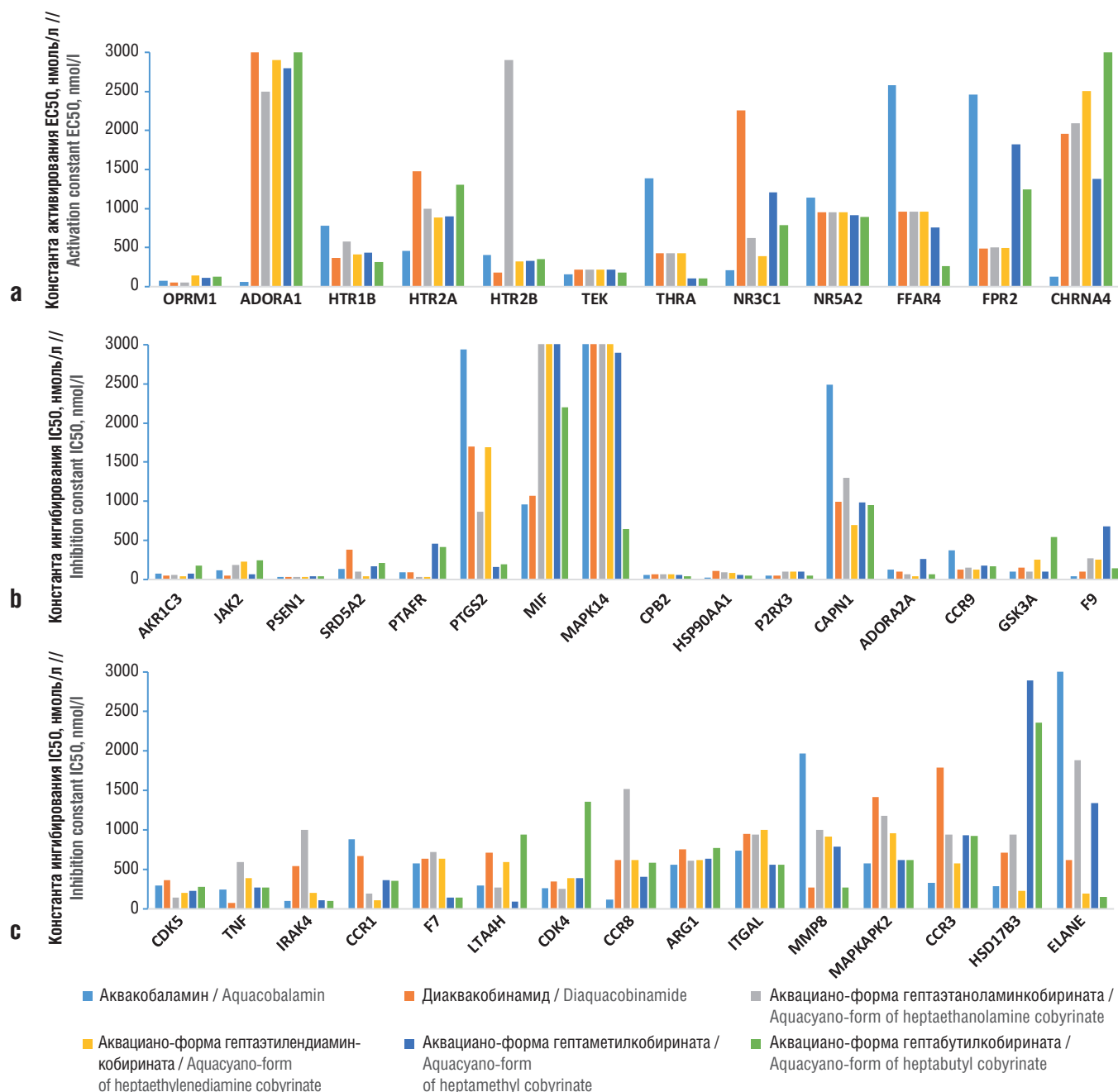


Рисунок 4. Константы активирования и ингибирования отдельных белков протеома человека исследованными производными витамина B12:

а – активирование (half-maximal effective concentration, EC50); **б, в** – ингибирование (англ. half-maximal inhibitory concentration, IC50).

OPRM1 – каннабиноидный рецептор 1 / опиоидный рецептор мю-типа; ADORA1 – аденозиновый рецептор A1; HTR1B – 5-гидрокситриптамина 1B; HTR2A – рецептор 5-гидрокситриптамина 2A; HTR2B – рецептор серотонина (2b и 2c); TEK – рецептор ангиопоэтина-1; THRA – рецептор гормона щитовидной железы; NR3C1 – член 1 группы D подсемейства 1 ядерных рецепторов; NR5A2 – гомолог печеночного рецептора 1; FFAR4 – рецептор 120, связанный с G-белком; FPR2 – рецептор 2 N-формилпептидов; CHRNA4 – субъединица альфа-4 нейронального рецептора ацетилхолина; AKR1C3 – альдо-кето-редуктаза C3; JAK2 – янус-киназа 2; PSEN1 – гамма-секретаз; SRD5A2 – стероид 5-альфа-редуктаза; PTAFR – рецептор фактора активации тромбоцитов; PTGS2 – простагландин E-синтаза/G/H-синтаза 2; MIF – фактор ингибирования миграции макрофагов; MAPK14 – митоген-активируемая протеинкиназа 14; CPB2 – карбоксипептидаза B2; HSP90AA1 – белок теплового шока HSP 90-альфа; P2RX3 – P2X пуринорецептор 3; CAPN1 – кальпаин 1/2; ADORA2A – аденозиновый рецептор A2a; CCR9 – рецептор хемокинов CC типа 9; GSK3A – киназа гликогенсинтазы-3; F9 – фактор свертывания крови IX; CDK5 – циклинзависимая киназа 5; TNF – фактор некроза опухоли; IRAK4 – киназа 4, связанная с рецептором интерлейкина-1; CCR1 – рецептор хемокинов CC типа 1; F7 – фактор свертывания крови III/фактор VIIa (fVIIa); LTA4H – лейкотриен A4 гидролаза; CDK4 – циклинзависимая киназа 4; CCR8 – рецептор хемокинов CC типа 8; ARG1 – аргиназа-1; ITGAL – интегрин бета-2/гликопротеин адгезии лейкоцитов LFA-1 альфа; MMP8 – матриксная металлопротеиназа-8; MAPKAPK2 – MAPK-активируемая протеинкиназа 2; CCR3 – рецептор хемокинов CC типа 3; HSD17B3 – 17-бета-гидроксистероиддегидрогеназа типа 3; ELANE – лейкоцитарная эластаза.

Figure 4. Activation and inhibition constants of individual proteins of the human proteome by the studied vitamin B12 derivatives: **a** – activation (half-maximal effective concentration, EC50); **b, c** – inhibition (half-maximal inhibitory concentration, IC50).

OPRM1 – cannabinoid receptor 1/mu-type opioid receptor; ADORA1 – adenosine receptor A1; HTR1B – 5-hydroxytryptamine receptor 1B; HTR2A – 5-hydroxytryptamine receptor 2A; HTR2B – serotonin receptor (2b and 2c); TEK – angiopoietin receptor-1; THRA – thyroid hormone receptor; NR3C1 – nuclear receptor subfamily 1 group D member 1; NR5A2 – liver receptor homolog 1; FFAR4 – G protein-coupled receptor 120; FPR2 – N-formyl peptide receptor 2; CHRNA4 – alpha 4 subunit of the neuronal acetylcholine receptor; AKR1C3 – aldo-keto reductase C3; JAK2 – janus kinase 2; PSEN1 – gamma secretase; SRD5A2 – steroid 5-alpha reductase; PTAFR – platelet activating factor receptor; PTGS2 – prostaglandin E synthase/G/H synthase 2; MIF – macrophage migration inhibitory factor; MAPK14 – mitogen-activated protein kinase 14; CPB2 – carboxypeptidase B2; HSP90AA1 – heat shock protein HSP 90 alpha; P2RX3 – P2X purinoceptor 3; CAPN1 – calpain 1/2; ADORA2A – adenosine receptor A2a; CCR9 – CC chemokine receptor type 9; GSK3A – glycogen synthase kinase-3; F9 – blood clotting factor IX; CDK5 – cyclin-dependent kinase 5; TNF – tumor necrosis factor; IRAK4 – interleukin-1 receptor associated kinase 4; CCR1 – CC chemokine receptor type 1; F7 – coagulation factor III/factor VIIa (fVIIa); LTA4H – leukotriene A4 hydrolase; CDK4 – cyclin-dependent kinase 4; CCR8 – CC chemokine receptor type 8; ARG1 – arginase-1; ITGAL – integrin beta 2/leukocyte adhesion glycoprotein LFA-1 alpha; MMP8 – matrix metalloproteinase-8; MAPKAPK2 – MAPK-activated protein kinase 2; CCR3 – CC chemokine receptor type 3; HSD17B3 – 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 3; ELANE – leukocyte elastase

цитоплазматические и ядерные субстраты, что приводит к апоптозу. Кальпаин-1 представляет собой активируемую кальцием цистеиновую протеазу, которая играет важную роль в подвижности нейтрофилов. Таким образом, он является потенциальной мишенью для лечения воспалительных заболеваний, таких как ревматоидный артрит [32]. Селективные ингибиторы кальпаина 1 известны как потенциальные средства лечения болезни Альцгеймера [33]. Лучшим ингибитором оказался АС^{ED}Сбу (IC50 697 нМ).

Селективные антагонисты рецепторов A2A (аденозиновый рецептор A2a, ген *ADORA2A*) используются при лечении болезни Паркинсона, ишемии мозга и рассеянного склероза. Считается, что селективные антагонисты рецепторов A2A являются нейропротекторами благодаря их способности уменьшать нейровоспаление [34]. Рецепторы *ADORA2A* могут ингибироваться молекулами АС^{EA}Сбу и АС^{ED}Сбу с константами в наномолярном диапазоне (IC50 в диапазоне 43–62 нМ).

P2X пуринорецептор 3 (ген *P2RX3*) – рецептор производных аденозинтрифосфата, действующий как лиганд-управляемый ионный канал. Антагонисты P2X3 не только проявляют нейропротекторные эффекты, но и уменьшают тяжесть и частоту кашля у взрослых пациентов с хроническим кашлем, улучшая качество жизни. Лучший ингибитор P2X3 среди исследованных молекул – аквакабаламин (IC50 47 нМ).

Нейротрофические эффекты

Нейротрофические эффекты исследованных производных витамина B12 могут быть обусловлены поддержанием активности сигнального пути Wnt посредством ингибирования гамма-секретазы и киназы гликогенсинтазы-3 и циклинзависимой киназы 5.

Гамма-секретеза (пресенилин, ген *PSEN1*) катализирует внутриклеточное расщепление интегральных мембранных белков (таких как рецепторы Notch и APP – белок-предшественник бета-амилоида) [35]), участвующих в апоптозе. Гамма-секретеза отрицательно регулирует передачу сигналов Wnt [36]. Все исследуемые молекулы могут достаточно эффективно ингибировать гамма-секретазу (IC50 в диапазоне 27–33 нМ), тем самым стимулируя нейропротекторные и нейротрофические эффекты.

Киназа гликогенсинтазы-3 (ген *GSK3A*) – негативный регулятор не только гормонального контроля гомеостаза глюкозы, но и нейротрофической передачи сигналов по каскаду Wnt. Активность GSK3A может также опосредовать развитие резистентности к инсулину путем регулирования активации факторов транскрипции [37]. Лучшие ингибиторы – DACbi, АС^{EA}Сбу и АС^{ME}Сбу (IC в диапазоне 99–150 нМ).

Циклинзависимая киназа 5 (ген *CDK5*) регулирует развитие некоторых нейронов и физиологические процессы (включая выживание, миграцию и дифференцировку нейронов), участвующие в апоптотической гибели клеток при заболеваниях нейронов. Это отрицательный регулятор нейротрофического сигнального пути Wnt/бета-катенин [38]. Наилучшие ингибиторы – АС^{EA}Сбу и АС^{ED}Сбу (IC50 в диапазоне 146–198 нМ).

Противовоспалительное действие

Противовоспалительное действие изученных корриновых производных может осуществляться через множественные молекулярные механизмы – синтез и активность ФНО-α, передачу сигналов по каскаду NF-κB, модуляцию ответа на интерлейкины, толл-рецепторы, рецепторы СС хемокинов, метаболизм простагландинов и другие воздействия на лейкоциты.

ФНО-α (ген *TNF*) – провоспалительный цитокин, секретируемый макрофагами, вызывает лихорадку прямым действием или путем

стимуляции секреции ИЛ-1 и участвует в индукции кахексии. Нарушает регуляторную функцию Т-клеток у пациентов с ревматоидным артритом посредством дефосфорилирования FOXP3. Из исследованных соединений лучшим ингибитором ФНО-α может являться DACbi (IC50 75 нМ).

В реализации эффектов ФНО-α принимает участие MAPK-активируемая протеинкиназа MK2 (ген *MAPKAPK2*), необходимая для производства цитокинов, эндцитоза, воспалительной реакции путем регуляции продукции ФНО-α и ИЛ-6. Аллостерические ингибиторы MAPKAPK2 снижают выработку ФНО-α, обладают противовоспалительным действием и могут улучшить стабильность бляшек при прогрессирующем атеросклерозе [39]. Лучшими ингибиторами MAPKAPK2 оказались аквакабаламин, АС^{ME}Сбу и АС^{BU}Сбу (IC50 в диапазоне 575–620 нМ).

Биологические эффекты ФНО-α, других провоспалительных цитокинов (в т.ч. СС хемокинов) и толл-рецепторов (рецепторов бактериальных липополисахаридов (ЛПС)) реализуются посредством особых белков, активирующих сигнальный каскад NF-κB. Митоген-активируемая протеинкиназа 14 (ген *MAPK14*) вовлечена в каскады внутриклеточных ответов, вызванных провоспалительными цитокинами, активирует факторы транскрипции NF-κB, белки STAT1/3. По результатам хемопротеомного анализа АС^{BU}Сбу может ингибировать MAPK14 (IC50 944 нМ).

Каскад NF-κB вовлечен в реализацию эффектов ЛПС-рецепторов. Например, белок теплового шока HSP 90-альфа (ген *HSP90AA1*) связывает ЛПС и опосредует вызванную ими воспалительную реакцию, включая секрецию ФНО-α моноцитами [40]. Лучшим ингибитором являлся аквакабаламин (IC50 27 нМ). Киназа-4, связанная с рецептором ИЛ-1 (ген *IRAK4*) участвует в сигнальных путях толл-рецепторов ЛПС и рецептора ИЛ-1β [41]. IRAK4 активируется MYD88 в отношении рецепторно-сигнального комплекса при активации ЛПС-рецепторов, что приводит к внутриклеточной транслокации и активации NF-κB. Аквакабаламин, АС^{ME}Сбу и АС^{BU}Сбу ингибировали IRAK4 со схожими значениями констант (IC50 в диапазоне 99–112 нМ).

Каскад NF-κB также включен в реализацию провоспалительных эффектов рецепторов СС хемокинов. Ингибиторы этих рецепторов проявляют не только противовоспалительные, но и противоопухолевые свойства. В частности, ингибиторы рецептора хемокинов СС типа 9 (ген *CCR9*) тормозят пролиферацию опухолей и патофизиологию воспалительных заболеваний (воспалительное заболевание кишечника, инфаркт миокарда). Изученные молекулы ингибировали CCR9 (IC50 в диапазоне 124–376 нМ). Рецептор хемокинов СС типа 1 (ген *CCR1*) связывается с провоспалительными сигнальными белками MIP-1α, MIP-1-δ, RANTES и MCP-3, а ингибиторы оказывают противовоспалительное и противоопухолевое действие [42]. Лучшие ингибирующие свойства по отношению к CCR1 были найдены для АС^{EA}Сбу и АС^{ED}Сбу (IC50 в диапазоне 105–193 нМ).

Рецептор хемокинов СС типа 8 (ген *CCR8*) регулирует хемотаксис моноцитов, играет важную роль в обеспечении рекрутирования и иммуносупрессивной функции Т-регуляторных (Treg) лимфоцитов в микроокружении опухоли. Разработка специфических антагонистов CCR8 представляет собой потенциальную терапевтическую стратегию против солидных раков, причем противораковое действие осуществляется посредством модуляции Treg и цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов [43]. Лучшим ингибитором CCR8 был аквакабаламин (IC50 122 нМ). Рецептор хемокинов СС типа 3 (ген *CCR3*) играет роль в развитии аллергических заболеваний (бронхиальная астма, атопический дерматит, аллергический ринит). Ингибирование этого рецептора может представлять собой

ценный подход к лечению данных заболеваний [44]. Наилучшим ингибитором CCR3 был аквакабаламин (IC₅₀ 152 нМ).

Противовоспалительные эффекты производных витамина В12 могут осуществляться и посредством модуляции метаболизма простагландинов. Простагландин Е-синтаза/Г/Н-синтаза 2 (ген *PTGS2*) преобразует арахидонат в простагландин H₂ (PGH₂), что является важным этапом биосинтеза провоспалительных простагландинов и простаноидов. Повышение регуляции *PTGS2* также связано с усилением клеточной адгезии, фенотипическими изменениями, устойчивостью к апоптозу и опухолевому ангиогенезу. В раковых клетках *PTGS2* является ключевым этапом в производстве простагландина Е₂ (PGE₂), который играет важную роль в модуляции подвижности раковых клеток, их пролиферации и устойчивости к апоптозу [45]. По хемопротеомным оценкам, АС^{Me}Сбу и АС^{Bu}Сбу могут ингибировать *PTGS2* (IC₅₀ в диапазоне 156–198 нМ).

Фермент альдокотероредуктаза С3 (ген *AKR1C3*) катализирует восстановление простагландинов D₂ (PGD₂), PGH₂ и окисление 9α-, 11β-PGF₂ до PGD₂, а также может взаимопревращать активные андрогены, эстрогены и прогестины с их неактивными метаболитами (превращает андростендион в тестостерон и т.д.). Наиболее эффективно *AKR1C3* может ингибироваться DACbi, АС^{EA}Сбу и АС^{ED}Сбу (IC₅₀ в диапазоне 55–79 нМ).

Влияние на тестостероновый метаболизм (который необходимо модулировать при борьбе с опухолевыми заболеваниями) может осуществляться исследованными молекулами не только через *AKR1C3*, но и через стероид 5-альфа-редуктазу (ген *SRD5A2*). Данный фермент преобразует тестостерон в 5-альфа-дигидротестостерон, а прогестерон или кортикостерон – в соответствующие 5α-3-оксостероиды [46]. Стероидные ингибиторы 5α-редуктазы – препараты с антиандрогенным действием, которые используются преимущественно при лечении гиперплазии простаты и выпадения волос на коже головы. Из исследованных молекул потенциально наилучший ингибитор SRD5A2 – АС^{ED}Сбу (IC₅₀ 42 нМ). 17β-гидроксистероиддегидрогеназа типа 3 (ген *HSD17B3*) контролирует восстановление андростендиона до тестостерона. Ингибирование может быть полезно в терапии опухолевых заболеваний. Аквакабаламин и АС^{ED}Сбу ингибировали *HSD17B3* (IC₅₀ в диапазоне 227–284 нМ).

Фермент лейкотриен-А4-гидролаза (ген *LTA4H*) катализирует заключительный этап биосинтеза провоспалительного медиатора лейкотриена В₄ [47]. Среди изученных соединений фермент *LTA4H* в наибольшей степени ингибируется АС^{Me}Сбу (IC₅₀ 96 нМ).

Противоопухолевые эффекты веществ могут осуществляться и через ингибирование циклинзависимой киназы 4 (ген *CDK4*), которая участвует в регуляции цикла клеточного деления/пролиферации. Ингибиторы *CDK4/6* представляют собой класс лекарств, используемых для лечения определенных типов гормоно-рецепторположительного и HER2-негативного рака молочной железы. Аквакабаламин и АС^{EA}Сбу, по результатам настоящего анализа, могут ингибировать *CDK4* (IC₅₀ 250 нМ).

Исследованные молекулы могут оказывать другие воздействия на лейкоциты, приводящие к снижению воспаления. С молекулярно-физиологической точки зрения эти механизмы весьма разнородны. В частности, *JAK2* (ген *JAK2*) опосредует важные сигнальные события как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Ингибиторы *JAK2*, вмешивающиеся в сигнальный путь *JAK-STAT* в лимфоцитах, используются при лечении рака и воспалительных заболеваний (ревматоидный артрит, различные кожные заболевания). Наилучшим ингибитором являлся DACbi (IC₅₀ 42 нМ).

Фактор ингибирования миграции макрофагов (ген *MIF*) – провоспалительный цитокин, который противодействует противо-

воспалительной активности глюкокортикоидов. Слабыми ингибиторами *MIF* были аквакабаламин и DACbi (IC₅₀ в диапазоне 958–1070 нМ).

Аргиназа-1 (ген *ARG1*) – ключевой элемент цикла мочевины, превращающий L-аргинин в мочевины и L-орнитин в контексте метаболических путей, важных для пролиферации клеток, и способствует острому воспалению в легких [48]. Все молекулы умеренно ингибировали аргиназу-1 (IC₅₀ в диапазоне 555–768 нМ).

Интегрин бета-2 / гликопротеин адгезии лейкоцитов LFA-1 альфа (ген *ITGAL*) участвует во взаимодействиях лейкоцитов и эндотелиальных клеток, разрушении клеток цитотоксическими Т-лимфоцитами, гранулоцитами и моноцитами, адгезии лейкоцитов, миграции Т-лимфоцитов и нейтрофилов [49]. Лучшими ингибиторами *ITGAL* оказались АС^{Me}Сбу и АС^{Bu}Сбу (IC₅₀ 557 нМ).

Матриксная металлопротеиназа-8 (ген *MMP8*) может разрушать фибриллярные коллагены I, II и III типов. Ингибитор матриксной металлопротеиназы-8 улучшает воспалительные реакции и поведенческие нарушения на модели болезни Паркинсона у мышей [50]. Лучшие ингибиторы *MMP8* – DACbi и АС^{Bu}Сбу (IC₅₀ 270 нМ).

Лейкоцитарная эластаза (ген *ELANE*) регулирует функции естественных клеток-киллеров, моноцитов и гранулоцитов. Ингибиторы эластазы могут предотвратить развитие псориаза, хронической болезни почек, респираторных заболеваний (включая COVID-19), иммунных нарушений и даже рака. Обнаружено, что среди полифенольных соединений некоторые флавоноиды и их производные (которые в основном встречаются в лекарственных растениях) влияют на высвобождение эластазы и ее действие на клетки человека [51]. АС^{ED}Сбу и АС^{Bu}Сбу ингибировали *ELANE* (IC₅₀ в диапазоне 150–297 нМ).

Коагуляция крови и агрегация тромбоцитов

Наконец, исследованные соединения могут (потенциально) ингибировать белки, участвующие в коагуляции крови и агрегации тромбоцитов, тем самым тормозя избыточное тромбообразование. Рецептор фактора активации тромбоцитов (ген *PTAFR*) – рецептор хемотаксического фосфолипидного медиатора, который проявляет выраженный провоспалительный и протромботический эффекты [52]. Лучшие ингибиторы *PTAFR* – АС^{EA}Сбу и АС^{ED}Сбу (IC₅₀ 33 нМ).

Активированный тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза (ген *CPB2*) снижает регуляцию фибринолиза путем удаления остатков С-концевого лизина из фибрина, который уже частично расщеплен плазмином [53]. Все исследованные молекулы ингибировали фактор *CPB2* с сопоставимыми значениями констант (IC₅₀ в диапазоне 37–70 нМ).

Фактор свертывания крови IX (ген *F9*) представляет собой витамин К-зависимый белок плазмы, который участвует в свертывании крови путем преобразования фактора X в его активную форму в присутствии ионов Ca(2+), фосфолипидов и фактора VIIIa [54]. Лучший ингибитор *F9* – аквакабаламин (IC₅₀ 40 нМ). Фактор свертывания крови III / фактор VIIa (fVIIa) (ген *F7*) – белковый фактор инициации свертывания крови. Наименьшие значения констант ингибирования *F7* были найдены для АС^{Me}Сбу и АС^{Bu}Сбу (IC₅₀ в диапазоне 140–145 нМ).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ / CONCLUSION

Методом хемоинформационного (хемопротеомного) анализа проведена оценка взаимодействия шести производных витамина В12 (аквакабаламина, DACbi, АС^{EA}Сбу, АС^{ED}Сбу, АС^{Me}Сбу и АС^{Bu}Сбу) с белками протеома человека. Найдены достоверные отличия во

взаимодействиях исследованных молекул с 1200 белками. Показано, что хемопротеомные профили каждого из соединений формируют три группы молекул с близкими протеомными свойствами: 1) аквакобаламин; 2) DACbi, AC^{EA}Cby, AC^{ED}Cby; 3) ACMeCby и AC^{Bu}Cby.

Более детальный анализ хемопротеомных профилей исследуемых соединений с использованием номенклатуры биологических функций белков GO позволил выделить функциональные категории GO, указывающие на различия в биологических эффектах исследуемых соединений: нейропротективная регуляция активности

нейротрансмиттеров (ингибирование секреции глутамата, активность рецептора серотонина, холинергические синапсы, регуляция секреции дофамина, рецептор гормонов щитовидной железы) и снижение воспаления (ингибирование биосинтеза цитокинов, в т.ч. ФНО- α и ИЛ-1 β , I- κ B киназы/NF- κ B, миграции лейкоцитов).

Полученные данные могут быть использованы для проведения углубленных исследований на моделях опухолевых клеток и нейронитов, а также в моделях у животных с целью выбора наиболее перспективных молекул для создания лекарственного прототипа.

ИНФОРМАЦИЯ О СТАТЬЕ	ARTICLE INFORMATION
Поступила: 05.10.2023 В доработанном виде: 18.01.2024 Принята к печати: 16.02.2024 Опубликована онлайн: 19.02.2024	Received: 05.10.2023 Revision received: 18.01.2024 Accepted: 16.02.2024 Published online: 19.02.2024
Вклад авторов	Authors' contribution
Все авторы принимали равное участие в сборе, анализе и интерпретации данных. Все авторы прочитали и утвердили окончательный вариант рукописи	All authors participated equally in the collection, analysis and interpretation of the data. All authors have read and approved the final version of the manuscript
Конфликт интересов	Conflict of interests
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interests
Финансирование	Funding
Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 20-12-00175-п на базе ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет»	The work was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 20-12-00175-p on the base of Ivanovo State University of Chemistry and Technology
Этические аспекты	Ethics declarations
Неприменимо	Not applicable
Раскрытие данных	Data sharing
Первичные данные могут быть предоставлены по обоснованному запросу автору, отвечающему за корреспонденцию	Raw data could be provided upon reasonable request to the corresponding author
Комментарий издателя	Publisher's note
Содержащиеся в этой публикации утверждения, мнения и данные были созданы ее авторами, а не издательством ИРБИС (ООО «ИРБИС»). Издательство ИРБИС снимает с себя ответственность за любой ущерб, нанесенный людям или имуществу в результате использования любых идей, методов, инструкций или препаратов, упомянутых в публикации	The statements, opinions, and data contained in this publication were generated by the authors and not by IRBIS Publishing (IRBIS LLC). IRBIS Publishing disclaims any responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions, or products referred in the content
Права и полномочия	Rights and permissions
ООО «ИРБИС» обладает исключительными правами на эту статью по Договору с автором (авторами) или другим правообладателем (правообладателями). Использование статьи регулируется исключительно условиями Договора и действующим законодательством	IRBIS LLC holds exclusive rights to this paper under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s). Usage of this paper is solely governed by the terms of the publishing agreement and applicable law

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Громова О.А., Торшин И.Ю., Гусев Е.И. Синергидные нейропротекторные эффекты тиамин, пиридоксина и цианокобаламина в рамках протеома человека. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2017; 1: 40–51.

[Gromova O.A., Torshin I.Yu., Gusev E.I. Synergistic neuroprotective effects of thiamine, pyridoxine and cyanocobalamin on the level of human proteome. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2017; 1: 40–51 (in Russ.).]

2. Торшин И.Ю., Громова О.А., Майорова Л.А. О перспективах применения производных витамина B12 в фармакологии. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2023; 16 (3): 501–11. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2023.198>.

[Torshin I.Yu., Gromova O.A., Maiorova L.A. The prospects for the use of vitamin B12 derivatives in pharmacology. *FARMACOECONOMIKA. Sovremennaya farmakoeconomika i farmakoepidemiologiya / FARMACOECONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2023; 16 (3): 501–11 (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2023.198>.]

3. Карлюк М.В., Крыгин Ю.Ю., Майорова-Валькова Л.А. и др. Формирование двумерных (М) и трехмерных (V) наноагрегатов замещенного порфирина кобальта в лангмюровских слоях и пленках Ленгмюра–Шефера. *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2013; 62 (2): 471–9 (на англ. яз.). <https://doi.org/10.1007/s11172-013-0066-5>.

[Karlyuk M.V., Krygin Y.Y., Maiorova-Valkova L.A., et al. Formation of two-dimensional (M) and three-dimensional (V) nanoaggregates of substituted cobalt porphyrin in the Langmuir layers and Langmuir–Schaefer films. *Russian Chemical Bulletin*. 2013; 62 (2): 471–9. <https://doi.org/10.1007/s11172-013-0066-5>.]

4. Петрова М.В., Майорова Л.А., Громова О.А. и др. Наноструктура лангмюровских М-монослоев тетрафенилпорфирина цинка(II), сформированных с использованием раствора низкой концентрации. *Макрогетероциклы*. 2014; 7 (3): 267–71 (на англ. яз.). <https://doi.org/10.6060/mhc131163m>.

[Petrova M.V., Maiorova L.A., Gromova O.A., et al. Nanostructure of Zinc(II) tetraphenylporphyrinate Langmuir M-monolayers formed with diluted solution. *Macroheterocycles*. 2014; 7 (3): 267–71. <https://doi.org/10.6060/mhc131163m>.]

5. Maiorova L.A., Vu T.T., Gromova O.A., et al. Nanostructured stable floating M-mono- and bilayers and Langmuir–Schaefer films of 5,10,15-triphenylcorrole. *BioNanoSci.* 2018; 8 (1): 81–9. <https://doi.org/10.1007/s12668-017-0424-0>.
6. Stupperich E., Nexø E. Effect of the cobalt-N coordination on the cobamide recognition by the human vitamin B12 binding proteins intrinsic factor, transcobalamin and haptocorrin. *Eur J Biochem.* 1991; 199 (2): 299–303. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1991.tb16124.x>.
7. Dereven'kov I.A., Hannibal L., Makarov S.V., et al. Characterization of the complex between native and reduced bovine serum albumin with aquacobalamin and evidence of dual tetrapyrrole binding. *J Biol Inorg Chem.* 2018; 23 (5): 725–38. <https://doi.org/10.1007/s00775-018-1562-8>.
8. Деревеньков И.А., Макаров С.В., Молодцов П.А. Влияние бычьего сывороточного альбумина на редокс реакции и лигандный обмен с участием аквакобаламина. *Макрогетероциклы.* 2020; 13 (3): 223–8 (на англ. яз). <https://doi.org/10.6060/mhc200498d>.
- [Dereven'kov I.A., Makarov S.V., Molodtsov P.A. Effect of bovine serum albumin on redox and ligand exchange reactions involving aquacobalamin. *Macroheterocycles.* 2020; 13 (3): 223–8. <https://doi.org/10.6060/mhc200498d>.]
9. Dereven'kov I.A., Osokin V.S., Molodtsov P.A., et al. Effect of complexation between cobinamides and bovine serum albumin on their reactivity toward cyanide. *React Kinet Mech Cat.* 2022; 135 (3): 1469–83. <https://doi.org/10.1007/s11144-022-02216-8>.
10. Dereven'kov I.A., Dzvinas I.I., Osokin V.S., Makarov S.V. Effect of bovine serum albumin on the water solubility of hydrophobic corrinoids. *J Porphyrins Phthalocyanines.* 2023; 27 (5): 811–7. <https://doi.org/10.1142/S1088424623500633>.
11. Gromova O.A., Torshin I.Yu., Maiorova L.A., et al. Bioinformatic and chemoneurocytological analysis of the pharmacological properties of vitamin B12 and some of its derivatives. *J Porphyrins Phthalocyanines.* 2021; 25 (9): 835–42. <https://doi.org/10.1142/S1088424621500644>.
12. Gromova O.A., Maiorova L.A., Salnikov D.S., et al. Vitamin B12 hydrophobic derivative exhibits bioactivity: biomedical and photo-physical study. *BioNanoSci.* 2022; 12 (7): 74–82. <https://doi.org/10.1007/s12668-021-00916-4>.
13. Valkova L.A., Glibin A.S., Valli L. Quantitative analysis of compression isotherms of fullerene C60 Langmuir layers. *Colloid J.* 2008; 70: 6–11. <https://doi.org/10.1134/S1061933X0801002X>.
14. Valkova L.A., Glibin A.S., Koifman O.I. Influence of the solvent nature on the structure of two-dimensional nanoaggregates in Langmuir layers of copper tetra-tert-butyltetraabenzotriazaporphyrin. *Macroheterocycles.* 2011; 4 (3): 222–6.
15. Erokhin V., Carrara S., Paternolli C., et al. X-ray study of structural reorganization in phthalocyanine containing Langmuir–Blodgett heterostructures. *Appl Surf Sci.* 2005; 245 (1): 369–75. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2004.10.047>.
16. Valkova L.A., Erokhin V.V., Glibin A.S., Koifman O.I. The influence of molecular structure and π -system extent on nano- and microstructure of Langmuir layers of copper azaporphyrins. *J Porphyr Phthalocyanines.* 2011; 15 (09n10): 1044–51. <https://doi.org/10.1142/S1088424611004026>.
17. Valkova L.A., Shabyshev L.S., Feigin L.A., Akopova O.B. Formation and X-ray diffraction investigation of Langmuir–Blodgett films of liquid crystalline substituted crown esters. *Mol Cryst Liquid Cryst.* 1996; 6 (4): 291–8.
18. Valkova L., Borovkov N., Maccioni E., et al. Influence of molecular and supramolecular factors on sensor properties of Langmuir–Blodgett films of tert-butyl-substituted copper azaporphyrins towards hydrocarbons. *Coll Surf Physicochem Eng Aspects.* 2002; 198–200: 891–6. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(01\)01016-0](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(01)01016-0).
19. Valkova L.A., Betrencourt C., Hochapfel A., et al. Monolayer study of monensin and lasalocid in the gas state. *Mol Cryst Liquid Cryst.* 1996; 287: 269–73. <https://doi.org/10.1080/10587259608038763>.
20. Maiorova L.A., Kobayashi N., Salnikov D.S., et al. Supramolecular nanoentities of vitamin B12 derivative as a link in the evolution of the parent molecules during self-assembly at the air-water interface. *Langmuir.* 2023; 39 (9): 3246–54. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.2c02964>.
21. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the procedures of generation of numerical features over partitions of sets of objects in the problem of predicting numerical target variables. *Pattern Recognit Image Anal.* 2019; 29 (4): 654–67. <https://doi.org/10.1134/S1054661819040175>.
22. Torshin I.Yu. The study of the solvability of the genome annotation problem on sets of elementary motifs. *Pattern Recognit Image Anal.* 2011; 21 (4): 652–62. <https://doi.org/10.1134/S1054661811040171>.
23. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs. Part 1: Fundamentals of modern chemical bonding theory and the concept of the chemograph. *Pattern Recognit Image Anal.* 2014; 24 (1): 11–23. <https://doi.org/10.1134/S1054661814010209>.
24. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs. Part 2: Local completeness of invariants of chemographs in view of the combinatorial theory of solvability. *Pattern Recognit Image Anal.* 2014; 24 (2): 196–208. <https://doi.org/10.1134/S1054661814020151>.
25. Рудаков К.В., Торшин И.Ю. Об отборе информативных значений признаков на базе критериев разрешимости в задаче распознавания вторичной структуры белка. *Доклады Академии наук.* 2011; 441 (1): 24–8.
- [Rudakov K.V., Torshin I.Yu. On the selection of informative values of features based on solvability criteria in the task of recognizing the secondary structure of protein. *Doklady Akademii nauk / Reports of the Academy of Sciences.* 2011; 441 (1): 24–8 (in Russ.).]
26. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. Topological chemograph analysis theory as a promising approach to simulation modeling of quantum-mechanical properties of molecules. Part II: Quantum-chemical interpretations of chemograph theory. *Pattern Recognit Image Anal.* 2021; 31 (4): 884–96. <https://doi.org/10.1134/S1054661821040258>.
27. Bolton E., Wang Y., Thiessen P.A., Bryant S.H. Chapter 12 – PubChem: Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities. *Ann Rep Comput Chem.* 2008; 4: 217–41. [https://doi.org/10.1016/S1574-1400\(08\)00012-1](https://doi.org/10.1016/S1574-1400(08)00012-1).
28. Reading S.A., Barclay J.K. A1 receptor activation decreases fatigue in mammalian slow-twitch skeletal muscle in vitro. *Can J Physiol Pharmacol.* 2001; 79 (6): 496–501.
29. Chini C.C., Escande C., Nin V., Chini E.N. DBC1 (Deleted in Breast Cancer 1) modulates the stability and function of the nuclear receptor Rev-erba. *Biochem J.* 2013; 451 (Pt. 3): 453–61. <https://doi.org/10.1042/BJ20121085>.
30. Klatt K.C., Petviashvili E.J., Moore D.D. LRH-1 induces hepatoprotective nonessential amino acids in response to acute liver injury. *J Clin Invest.* 2023; 133 (7): e168805. <https://doi.org/10.1172/JCI168805>.
31. Yan Y., Jiang W., Spinetti T., et al. Omega-3 fatty acids prevent inflammation and metabolic disorder through inhibition of NLRP3 inflammasome activation. *Immunity.* 2013; 38 (6): 1154–63. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.05.015>.
32. Miller D.J., Adams S.E., Hallett M.B., Allemann R.K. Calpain-1 inhibitors for selective treatment of rheumatoid arthritis: what is the future? *Future Med Chem.* 2013; 5 (17): 2057–74. <https://doi.org/10.4155/fmc.13.172>.
33. Fà M., Zhang H., Staniszewski A., et al. Novel selective calpain 1 inhibitors as potential therapeutics in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2016; 49 (3): 707–21. <https://doi.org/10.3233/JAD-150618>.
34. Hurtado-Alvarado G., Domínguez-Salazar E., Velázquez-Moctezuma J., Gómez-González B. A2A adenosine receptor antagonism reverts the blood-brain barrier dysfunction induced by sleep restriction. *PLoS One.* 2016; 11 (11): e0167236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167236>.

35. Fraering P.C., Ye W., Strub J.M., et al. Purification and characterization of the human gamma-secretase complex. *Biochemistry*. 2004; 43 (30): 9774–89. <https://doi.org/10.1021/bi0494976>.
36. Marambaud P., Shioi J., Serban G., et al. A presenilin-1/gamma-secretase cleavage releases the E-cadherin intracellular domain and regulates disassembly of adherens junctions. *EMBO J*. 2002; 21 (8): 1948–56. <https://doi.org/10.1093/emboj/21.8.1948>.
37. Asuni A.A., Hooper C., Reynolds C.H., et al. GSK3alpha exhibits beta-catenin and tau directed kinase activities that are modulated by Wnt. *Eur J Neurosci*. 2006; 24 (12): 3387–92. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05243.x>.
38. Wong A.S., Lee R.H., Cheung A.Y., et al. Cdk5-mediated phosphorylation of endophilin B1 is required for induced autophagy in models of Parkinson's disease. *Nat Cell Biol*. 2011; 13 (5): 568–79. <https://doi.org/10.1038/ncb2217>.
39. Ozcan L., Kasikara C., Yurdagül A. Jr., et al. Allosteric MAPKAPK2 inhibitors improve plaque stability in advanced atherosclerosis. *PLoS One*. 2021; 16 (5): e0246600. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246600>.
40. Triantafyllou K., Triantafyllou M., Dedrick R.L. A CD14-independent LPS receptor cluster. *Nat Immunol*. 2001; 2 (4): 338–45. <https://doi.org/10.1038/86342>.
41. Hoarau C., Gérard B., Lescanne E., et al. TLR9 activation induces normal neutrophil responses in a child with IRAK-4 deficiency: involvement of the direct PI3K pathway. *J Immunol*. 2007; 179 (7): 4754–65. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.7.4754>.
42. Gilchrist A., Echeverria S.L. Targeting chemokine receptor CCR1 as a potential therapeutic approach for multiple myeloma. *Front Endocrinol*. 2022; 13: 846310. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.846310>.
43. Wu Y., Xi J., Li Y., et al. Discovery of a potent and selective CCR8 small molecular antagonist IPG7236 for the treatment of cancer. *J Med Chem*. 2023; 66 (7): 4548–64. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c00030>.
44. Willems L.I., Ijzerman A.P. Small molecule antagonists for chemokine CCR3 receptors. *Med Res Rev*. 2010; 30 (5): 778–817. <https://doi.org/10.1002/med.20181>.
45. Kim S.F., Huri D.A., Snyder S.H. Inducible nitric oxide synthase binds, S-nitrosylates, and activates cyclooxygenase-2. *Science*. 2005; 310 (5756): 1966–70. <https://doi.org/10.1126/science.1119407>.
46. Makridakis N.M., di Salle E., Reichardt J.K. Biochemical and pharmacogenetic dissection of human steroid 5 alpha-reductase type II. *Pharmacogenetics*. 2000; 10 (5): 407–13. <https://doi.org/10.1097/00008571-200007000-00004>.
47. Haeggström J.Z., Wetterholm A., Shapiro R., et al. Leukotriene A4 hydrolase: a zinc metalloenzyme. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990; 172 (3): 965–70. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(90\)91540-9](https://doi.org/10.1016/0006-291x(90)91540-9).
48. Oberlies J., Watzl C., Giese T., et al. Regulation of NK cell function by human granulocyte arginase. *J Immunol*. 2009; 182 (9): 5259–67. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803523>.
49. Ostermann G., Weber K.S., Zernecke A., et al. JAM-1 is a ligand of the beta(2) integrin LFA-1 involved in transendothelial migration of leukocytes. *Nat Immunol*. 2002; 3 (2): 151–8. <https://doi.org/10.1038/ni755>.
50. Kim T., Jeon J., Park J.S., et al. Matrix metalloproteinase-8 inhibitor ameliorates inflammatory responses and behavioral deficits in LRRK2 G2019S Parkinson's disease model mice. *Biomol Ther*. 2021; 29 (5): 483–91. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2020.181>.
51. Jakimiuk K., Gesek J., Atanasov A.G., Tomczyk M. Flavonoids as inhibitors of human neutrophil elastase. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2021; 36 (1): 1016–28. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1927006>.
52. Kunz D., Gerard N.P., Gerard C. The human leukocyte platelet-activating factor receptor. cDNA cloning, cell surface expression, and construction of a novel epitope-bearing analog. *J Biol Chem*. 1992; 267 (13): 9101–6.
53. Mao S.S., Cooper C.M., Wood T., et al. Characterization of plasmin-mediated activation of plasma procaryboxypeptidase B. Modulation by glycosaminoglycans. *J Biol Chem*. 1999; 274 (49): 35046–52. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.49.35046>.
54. Wang S., Beck R., Blench T., et al. Studies of benzothioephene template as potent factor IXa (FIXa) inhibitors in thrombosis. *J Med Chem*. 2010; 53 (4): 1465–72. <https://doi.org/10.1021/jm901475e>.

Сведения об авторах / About the authors

Торшин Иван Юрьевич, к.ф.-м.н., к.х.н. / Ivan Yu. Torshin, PhD – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>. WoS ResearcherID: C-7683-2018.

Scopus Author ID: 7003300274. eLibrary SPIN-code: 1375-1114.

Громова Ольга Алексеевна, д.м.н., проф. / Olga A. Gromova, Dr. Sci. Med., Prof. – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>.

WoS ResearcherID: J-4946-2017. Scopus Author ID: 7003589812. eLibrary SPIN-code: 6317-9833. E-mail: unesco.gromova@gmail.com.

Деревеньков Илья Александрович, к.х.н., доцент / Ilia A. Dereven'kov, PhD, Assoc. Prof. – ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1332-4998>.

WoS ResearcherID: F-2847-2017. Scopus Author ID: 37107505500. eLibrary SPIN-code: 6349-8971.

Майорова Лариса Александровна, д.ф.-м.н. / Larissa A. Maiorova, Dr. Sci. Phys. Math. – ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1541-9480>.

WoS ResearcherID: B-6288-2016. Scopus Author ID: 58079684100. eLibrary SPIN-code: 7190-2147.