



Обзорная статья/Review article

Влияние дейтерия на свойства фармацевтических субстанций (обзор)

А. В. Сыроешкин¹, Т. Е. Елизарова¹, Т. В. Плетенёва^{1*}, Е. В. Успенская¹, О. В. Левицкая¹,
И. А. Злацкий^{1,2}, Т. В. Максимова¹

1 – ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Российский университет дружбы народов, РУДН), 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

2 – ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины», 04114, Украина, Киев, ул. Вышгородская, д. 67

*Контактное лицо: Плетенёва Татьяна Вадимовна. E-mail: tvplet@mail.ru

Статья получена: 25.02.2020. Статья принята к печати: 07.04.2020

Резюме

Введение. Обзор посвящен влиянию изотопа водорода – дейтерия на биологическую активность фармацевтических субстанций.

Текст. Рассмотрены два аспекта влияния дейтерия на свойства активных фармацевтических ингредиентов и вспомогательных веществ. Первый связан с использованием дейтерированных субстанций – новых соединений или полученных замещением протия в известных противея аналогах. Кинетический изотопный эффект (КИЭ), выражающийся в снижении скорости биотрансформации в результате дейтерирования, позволяет прогнозировать быстрое развитие нового направления в разработке лекарственных средств. При идентичном терапевтическом эффекте дейтерированные аналоги обеспечивают улучшение фармакокинетических характеристик, снижение токсичности, блокировку эимеризации оптически активных субстанций, изменение механизмов биотрансформации. Второй аспект влияния дейтерия отражает возрастание КИЭ в процессах с участием известных фармацевтических субстанций в водных растворах с соотношением дейтерий/протий (D/H) ниже природного. Впервые на диаграмме «доза – ответ» показана идентичность дейтерия эссенциальным микроэлементам, когда недостаток и избыток элемента снижает жизнеспособность организма. Улучшенные кинетические характеристики продемонстрированы для молекулярного и организменного уровня разной иерархической градации. В частности, они заключаются в возможности увеличения скорости растворения субстанций, влияния на процессы мутаротации углеводов и оптическую активность хиральных субстанций, возрастание накопления эссенциальных элементов в лекарственных растениях и других процессах.

Заключение. Полученные результаты позволяют прогнозировать механизмы влияния дейтерия на биохимические превращения фармацевтических субстанций в организме.

Ключевые слова: дейтерированные фармацевтические субстанции, вода, обедненная по дейтерию, кинетический изотопный эффект дейтерия.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Вклад авторов. А. В. Сыроешкин – автор идеи; теоретическая трактовка экспериментальных результатов исследования влияния изотопного состава на физико-химические свойства воды и биологическую активность субстанций в водах с разным соотношением D/H. Т. Е. Елизарова, Т. В. Плетенёва, Е. В. Успенская – подготовка обзора по механизмам действия дейтерированных субстанций. Е. В. Успенская, О. В. Левицкая, Т. В. Плетенёва – исследование скорости мутаротации углеводов, растворимости субстанций, оптической активности аминокислот в водах с разным соотношением D/H. И. А. Злацкий – исследование физико-химических свойств воды с разным соотношением D/H и влияние изотопного состава воды на культуры клеток. Т. В. Максимова – влияние изотопного состава воды на накопление микроэлементов лекарственными растениями.

Благодарность. Публикация подготовлена при поддержке Программы РУДН «5-100».

Для цитирования: Сыроешкин А. В., Елизарова Т. Е., Плетенёва Т. В., Успенская Е. В., Левицкая О. В., Злацкий И. А., Максимова Т. В. Влияние дейтерия на свойства фармацевтических субстанций. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2020; 9(2): 24–32.

The Influence of Deuterium on the Properties of Pharmaceutical Substances (Review)

Anton V. Syroeshkin¹, Tatyana E. Elizarova¹, Tatyana V. Pleteneva^{1*}, Elena V. Uspenskaya¹,
Olga V. Levitskaya¹, Igor A. Zlatskiy^{1,2}, Tatyana V. Maksimova¹

1 – Peoples Friendship University of Russia (RUDN University), 6, Mikluho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

2 – State Institute of Genetic and Regenerative Medicine NAMS of Ukraine, 67, Vyshgorodska str., Kyiv, 04114, Ukraine

*Corresponding author: Tatyana V. Pleteneva. E-mail: tvplet@mail.ru

Received: 25.02.2020. Accepted: 07.04.2020

Abstract

Introduction. The study discusses the hydrogen isotope ²H effect on the biological activity of pharmaceutical substances.

Text. Two aspects of the deuterium effect on the properties of active pharmaceutical ingredients and excipients are considered. The first one involves the use of deuterated substances, new compounds or substituted counterparts. Replacing protium with deuterium is used to reduce the rate of biotransformation. The kinetic isotope effect (KIE), expressed in a decrease in the rate of biotransformation as a result of deuteration, allows us to predict the rapid development of new directions in the development of pharmaceuticals. With the same therapeutic effect, an improvement in pharmacokinetic characteristics, a decrease in toxicity, a blocking of the epimerization of optically active substances, a change in the mechanisms of action are observed. The second aspect of the deuterium effect is associated with an increase in KIE of known pharmaceutical substances in aqueous solutions with a deuterium/protium ratio (D/H) lower than in natural water. For the first time, dose-response diagrams for deuterium demonstrate identity with essential microelements. There is a safety zone for the certain D/H relationship, beyond which the organism's vitality decreases. Improved

© Сыроешкин А. В., Елизарова Т. Е., Плетенёва Т. В., Успенская Е. В., Левицкая О. В., Злацкий И. А., Максимова Т. В., 2020

© Syroeshkin A. V., Elizarova T. E., Pleteneva T. V., Uspenskaya E. V., Levitskaya O. V., Zlatskiy I. A., Maksimova T. V., 2020

kinetic characteristics are demonstrated for molecular level and for biological objects of various hierarchical levels. In particular, they include the possibility of increasing the dissolution rate of substances, the influence on the processes of mutarotation and the optical activity of chiral substances, the degree of accumulation of necessary elements in medicinal plants, and other processes.

Conclusion. The results make it possible to predict the mechanisms of deuterium influence on the biochemical transformations of pharmaceutical substances in the body.

Keywords: deuterated drug candidates, deuterium depleted water, kinetic isotope effect of deuterium.

Conflict of interest: no conflict of interest.

Contribution of the authors. Anton V. Syroeshkin – the author of the idea; theoretical interpretation of the isotopic composition influence on the physicochemical properties of waters and the biological activity of substances in water with different D/H values. Tatyana E. Elizarova, Elena V. Uspenskaya – review on the mechanisms of action of deuterated substances. Elena V. Uspenskaya, Olga V. Levitskaya, Tatiana V. Pleteneva, – investigation of the carbohydrate mutarotation rate, solubility of substances, optical activity of amino acids in the waters with different D/H ratio. Igor A. Zlatsky – a study of the physicochemical properties of waters with different D/H ratio and the effect of the isotopic composition on cell cultures. Tatyana V. Maksimova – the effect of the water isotopic composition on the accumulation of essential microelements by medicinal plants.

Acknowledgment. The publication has been prepared with the support of the «RUDN University Program 5-100».

For citation: Syroeshkin A. V., Elizarova T. E., Pleteneva T. V., Uspenskaya E. V., Levitskaya O. V., Zlatskiy I. A., Maksimova T. V. The influence of deuterium on the properties of pharmaceutical substances. *Drug development & registration*. 2020; 9(2): 24–32.

ВВЕДЕНИЕ

Атом наиболее распространенного изотопа водорода – протия ^1H имеет один протон и один электрон. Дейтерий D (^2H) – более тяжелый природный изотоп водорода с атомной массой, равной 2, и в отличие от протия имеет один нейтрон в ядре атома. *Дейтерий* – нерадиоактивный стабильный изотоп водорода, постоянно присутствующий в природной воде ($\text{D}/\text{H} = 150$ ppm для московского региона) и в организме человека (в количествах, соизмеримых с содержанием таких эссенциальных микроэлементов, как цинк, медь, железо) [1, 2]. «Тяжелую» воду D_2O , не содержащую атомов протия H , используют в атомной энергетике в качестве замедлителя нейтронов в атомных реакторах.

Дейтерированные соединения находят применение в количественном анализе биологических материалов со сложной матрицей (например, кровь, моча или желчь) методами хромато-масс-спектрометрии (LC-MS/MS). Дейтерированные аналоги определяемых соединений играют роль внутренних стандартов. Благодаря сходству физических и химических свойств аналит и внутренний стандарт обладают близкими характеристиками ионизации и временами удерживания. Некоторое различие в их молекулярных массах позволяет избежать перекрытия сигналов. Такой подход стал широко признанным биоаналитическим инструментом, позволяющим регистрировать содержание активных фармацевтических ингредиентов, вспомогательных веществ, продуктов их биотрансформации, а также метаболитов эндогенных соединений [3, 4].

Первые патенты на дейтерированные субстанции были выданы в США в середине прошлого века [5, 6]. Задачей разработок являлось получение субстанций с низкой скоростью биотрансформации вследствие большей прочности связи $\text{C}-\text{D}$ по сравнению с $\text{C}-\text{H}$. Это позволяло снизить дозу и минимизировать побочные эффекты предполагаемых лекарств [5].

В настоящее время накоплен значительный экспериментальный материал по влиянию соотношения дейтерий/протий (D/H) в воде на процессы с уча-

тием биологически активных субстанций *in vitro* и *in vivo* [1, 7–12]. Так установлено, что в интервале содержания дейтерия от 0,5 до 16 ммоль/л в «легкой» воде, (ddw – deuterium depleted water; вода, обедненная по дейтерию) возрастает кинетический изотопный эффект (КИЭ) биологически активных соединений [7, 11, 12]. В такой воде изменяются скорости растворения субстанций и мутаротации углеводов, оптические свойства хиральных соединений, возрастает всасывание и накопление ионов эссенциальных микроэлементов в лекарственных и пищевых растениях. Применение ddw в онкологии в качестве адьювантного средства сопровождается улучшением состояния пациентов [9, 10].

Как дефицит, так и избыток дейтерия в водной среде по сравнению с естественным содержанием ($\text{D}/\text{H} = 130\text{--}150$ ppm) оказывается пагубным для живых организмов. Это наглядно демонстрирует полученная авторами настоящего обзора трапецевидная экспериментальная кривая с использованием клеточного сенсора *S. ambiguum* [7]. Она аналогична классической зависимости «доза/концентрация – ответ/эффект» для эссенциальных микроэлементов [2]. Влияние соотношения $[\text{D}]/[\text{H}]$ в водных растворах проявляется на различных иерархических уровнях. Обнаруженные кинетические эффекты растворимости субстанций, изменение скорости мутаротации углеводов, оптической активности аминокислот и аскорбиновой кислоты, энергии активации лиганд-рецепторных взаимодействий клеточных моделей – все свидетельствует о том, что дейтерий следует рассматривать как один из эссенциальных элементов. Биохимические превращения фармацевтических субстанций в организме могут протекать с участием молекул воды смешанного изотопного состава ($\text{H}-\text{O}-\text{D}$) с образованием дейтерированных продуктов биотрансформации. Влияние тяжелого изотопа водорода на метаболические процессы в живых организмах как компонента активного фармацевтического ингредиента или как компонента молекулы растворителя – предмет будущих научных изысканий. Подобная картина накопления сведений о ме-

ханизмах действия жизненно необходимых микроэлементов разворачивается на наших глазах, беря начало от пионерских работ В. И. Вернадского. В связи со сказанным нельзя не согласиться с автором работы [13], который приводит пример с атомом эссенциального микроэлемента – фтора. В 1970-х гг. фтор был компонентом лишь 2 % лекарств, тогда как в настоящее время его можно обнаружить в 25 % зарегистрированных лекарственных средств. Не исключено, что аналогичная «судьба» постигнет и атом дейтерия.

Цель настоящего обзора – обобщение сведений по влиянию соотношения дейтерий/протий в фармацевтических субстанциях и в водных растворах на объекты разного иерархического уровня.

ДЕЙТЕРИРОВАННЫЕ ЛЕКАРСТВА

Отличие дейтерия от протия с позиции фармацевтической химии

По сравнению с протиевыми субстанциями дейтерированные аналоги более устойчивы к окислению. Длина связи C–D короче на 0,005 Å по сравнению с C–H. Поскольку атом D имеет в 2 раза большую массу, чем H, энергия активации необходимая для достижения переходного состояния при разрыве связи больше для C–D, чем для C–H. Именно поэтому скорость реакции с участием дейтерированного соединения меньше, чем для его протиевого аналога ($k_H > k_D$). КИЭ, выражающийся как отношение констант скорости реакции протиевого и дейтерированного соединения k_H/k_D , обычно колеблется от 1 до 7, но может быть и выше [6]. Для дейтерий-модифицированных биоизостеров характерны неизменность биологической активности и оптимизация фармакокинетики.

В синтезе меченных дейтерием соединений могут быть использованы два основных подхода. Это обычный многоступенчатый синтез с использованием дейтерированных реагентов или дейтерирование родительского соединения методом H/D изотопного обмена [5]. Изотопный протий-дейтериевый обмен (H/D) зависит от pH и природы катализатора [3, 15].

Номенклатура дейтерированных соединений проста. Обычно производное соединение имеет префикс дей- (deu-) и далее следует идентичное название соединения предшественника (например, дейтетрабеназин). Для краткости префикс deu- заменяют на d_i , где i – число атомов дейтерия в молекуле.

История дейтерированных соединений

Самые первые примеры включения дейтерия в биологически активные соединения упоминаются в работах середины XX в. Две независимые группы исследователей сообщили о снижении скорости биотрансформации d_2 -тирамина и d_3 -морфина по сравнению с родительскими протонсодержащими соединениями [16, 17]. Интервал времени между публикацией первых патентов на дейтерированную субстанцию и регистрацией лекарственных препара-

тов на их основе составил около полувека. Таким примером является дейтетрабеназин (d_6 -тетрабеназин), одобренный Food and Drug Administration (FDA) в 2017 (таблица 1). Химически дейтетрабеназин является изотопным изомером тетрабеназина («биоизостером»), в котором шесть атомов протия заменены на атомы дейтерия. Улучшение фармакокинетических характеристик в результате дейтерирования позволило снизить дозу в два раза по сравнению с тетрабеназином. Таким образом, новый препарат характеризуется сниженным числом суточных введений, а его переносимость улучшена по сравнению с родительским соединением [17].

Первая регистрация дейтерированного препарата – знаковое событие для нового направления фармации [5].

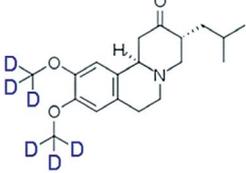
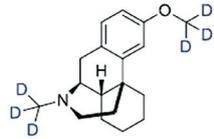
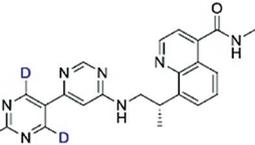
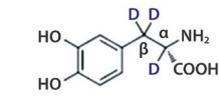
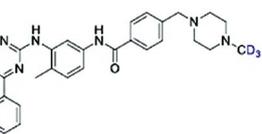
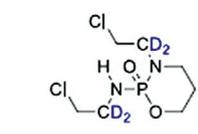
Другой дейтерированный препарат, представляющий собой комбинацию d_6 -декстрометорфана и хинидина (см. таблицу 1), получил поддержку FDA для ускоренного продвижения [20]. Его родоначальник – комбинированный препарат Nuedexta®, состоящий из 20 мг декстрометорфана и 10 мг хинидина, используется для лечения псевдобульбарного аффекта. Хинидин замедляет метаболизм декстрометорфана до O-деметирированного продукта в первой стадии биотрансформации и увеличивает период полувыведения. Оказалось, что для достижения эквивалентного воздействия при использовании дейтерированного декстрометорфана требуется значительно меньше токсичного хинидина. Увеличение $t_{1/2}$ d_6 -декстрометорфана позволило не только снизить дозу активной фармацевтической субстанции, но и обеспечить защиту от побочного действия хинидина.

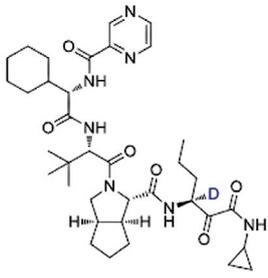
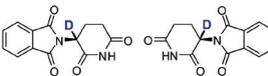
Известны дейтерированные биоактивные соединения, не являющиеся аналогами известных лекарств. Среди субстанций этой группы клинических испытаний достигли два дейтерированных соединения – BMS-986165 и VX-984 (см. таблицу 1). Первое соединение является мощным селективным ингибитором тирозинкиназы [21]. Для второго соединения были получены обнадеживающие результаты плацебо-контролируемых клинических испытаний в лечении псориаза [22] и метастатического рака эндометрия [23].

Как правило, дейтерирование приводит к изменению фармакокинетических характеристик активного ингредиента: увеличению площади под фармакокинетической кривой при парентеральном введении (AUC – area under curve), максимальной концентрации в кровотоке (C_{max}) и периода полувыведения ($t_{1/2}$), в то время как влияние на время достижения C_{max} (T_{max}) незначительно [3, 4]. Примечательно, что дейтерий также может быть использован не только для пролонгирования высвобождения лекарств, но и для биодеградации полимерных материалов капсулированных форм [24].

Таблица 1. Преимущества дейтерированных лекарств

Table 1. Benefits of Deuterated Medicines

Дейтерированный аналог	Фармакокинетические характеристики, механизмы биотрансформации	Применение	Лит источник
 d_6 -тетрабеназин	Увеличение $t_{1/2}^*$ с 4,8 ч до 8,6 ч. Двукратное увеличение AUC^*	Разработан для снижения симптомов орфанного заболевания – хореи Гентингтона (Huntington)	[18, 19]
 d_6 -декстрометорфан + хинидин	Увеличение $t_{1/2}^*$, AUC^* и C_{max}^* . Ультранизкая доза хинидина по сравнению с противевым предшественником	Для лечения псевдобульбарного аффекта; III фаза клинических испытаний – делирий, связанный с болезнью Альцгеймера; II фаза – депрессия и остаточная шизофрения	[20]
 BMS-986165	Ингибитор тирозинкиназы	Новая субстанция, не имеет противевого аналога. Доклинические испытания – системная красная волчанка и воспалительные заболевания кишечника	[21]
 VX-984	Ингибитор ДНК-зависимой протеинкиназы	Новая субстанция, не имеет противевого аналога. Клинические испытания – лечение псориаза; метастатического рака эндометрия	[22, 23]
 d_3 -леводопа	Изменение скорости реакций, катализируемых моноаминоксидазой (MAO) и дофамин β -гидроксилазой (DBH)	Болезнь Паркинсона	[25]
 d_3 -иматиниб	Снижение N-деметилирования при инкубации с микросомами печени человека	Противолейкозный цитостатический препарат, таргетный цитостатик, избирательно действующий на клетки, имеющие те или иные характерные для опухолей генетические дефекты	[5]
 d_4 -ифосфамид	Увеличение терапевтического индекса за счет преобладания гидроксирования над N-дехлорированием	Цитостатический противоопухолевый химиотерапевтический препарат алкилирующего действия	[26]

Дейтерированный аналог	Фармакокинетические характеристики, механизмы биотрансформации	Применение	Лит источник
 d_1 -телапревир	Включение дейтерия в хиральный центр приводит к снижению скорости эпимеризации	Относится к классу ингибиторов протеаз HCV	[33]
 S- и R-энантимеры талидомида	R-энантиомер в 5 раз более стабилен к эпимеризации по сравнению с противным аналогом	Иммуномодуляторы. S(+)-дейтерированный энантиомер является противоопухолевым препаратом, тогда как R(-)-дейтерированный энантиомер практически не оказывает влияния на рост опухоли	[34–36]

Примечание: *AUC (area under curve) – площадь под фармакокинетической кривой при парентеральном введении препарата; C_{max} – максимальная концентрация в кровотоке; $t_{1/2}$ – период полувыведения активного ингредиента из кровотока; T_{max} – время достижения C_{max} .

Note: *AUC (area under curve) – the area under the pharmacokinetic curve with parenteral administration of the drug; C_{max} – maximum concentration in the bloodstream; $t_{1/2}$ – half-life of the active ingredient from the bloodstream; T_{max} – time to reach C_{max} .

Дейтерирование и биотрансформация лекарств

Замещение протия на дейтерий используют для снижения скорости окислительных процессов с участием цитохрома P450 (CYP450). Так дейтерирование родительской молекулы леводопы привело к изменению скорости реакций, катализируемых моноаминоксидазой (MAO) и дофамин β -гидроксилазой (DBH). После декарбоксилирования d_3 -леводопы при участии ароматической декарбоксилазы L-аминокислот (AADC) наблюдается дейтерий-зависимая биотрансформация d_3 -дофамина (рисунок 1).

Появление дейтерия у β -углеродного атома сопровождается снижением активности DBH и количества d_2 -норадреналина. При моделировании болезни Паркинсона у грызунов дейтерированный препарат d_3 -ле-

водопа оказался более эффективным по сравнению с противным предшественником [25].

Появление дейтерия у α -углеродного атома снижает активность MAO и количество образующейся d_2 -3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты.

Таким образом, введение дейтерия в различные центры исходной молекулы может изменять скорости отдельных путей биотрансформации дейтерированных лекарств и накопления тех или иных биологически активных продуктов.

Снижение токсичности при дейтерировании

Дейтерирование может быть использовано для снижения числа и количества нежелательных метаболитов («метаболическое шунтирование»). Включение дейтерия в α - и α' -положения в ифосфамиде при-

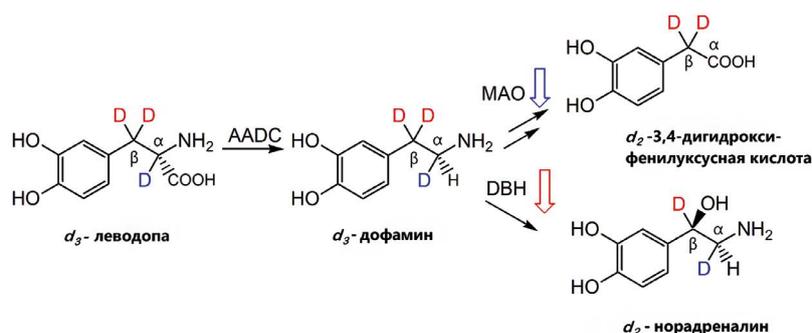


Рисунок 1. Биотрансформация d_3 -леводопы [5, 25]
Figure 1. Biotransformation of d_3 -levodopa [5, 25]

водит к усилению гидроксилирования в положении 4' (см. таблицу 1) и снижению токсичных продуктов N-дехлорирования по сравнению с недеитерированным препаратом [26]. Метаболическое шунтирование, выражающееся в преобладании гидроксилирования над N-дехлорированием с образованием нефротоксического хлорацетальдегида ($\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{O}$), увеличивает терапевтический индекс препарата.

Деитерирование молекулы эритромицина В также сопровождается снижением побочных эффектов моторики кишечника в результате подавления образования 6,9-енольного эфира [27]. При этом не нарушается антибактериальный эффект лекарства.

Интересен результат исследования трамадола, который быстро метаболизируется до O-деметилированного метаболита [28]. Идентичный продукт биотрансформации d_9 -трамадола проявляет 5–10-кратную активность по отношению к опиоидным рецепторам *in vitro*.

Стабилизация стереоизомеров при деитерировании

Для снижения побочного действия оптически активных фармацевтических субстанций с 1992 года разрабатываются энантиоочищенные препараты. Это позволило регистрировать более эффективный энантиомер как новое ЛС [29–32]. Такой подход, известный как «хиральное переключение», завершился поступлением в продажу чистых энантиомеров.

В то же время для ряда оптически активных субстанций хиральное переключение невозможно из-за быстрого взаимопревращения стереоизомеров *in vitro* и/или *in vivo*. Замена протия на дейтерий в хиральном центре может стабилизировать стереоизомер.

Так, например, *телапревир* (см. таблицу 1), относящийся к классу противовирусных препаратов класса ингибиторов протеаз и применяющийся для лечения гепатита С, подвергается в организме эпимеризации с образованием R-диастереоизомера [33], который примерно в 30 раз менее активен в отношении протеаз HCV по сравнению с оптическим антиподом. Селективное деитерирование телапревира S-конфигурации в хиральный центр рядом с α -кетоамидом приводит к снижению скорости эпимеризации и увеличению терапевтического эффекта.

Тератогенный эффект *талидомида* (см. таблицу 1) относится главным образом к S(+)-энантиомеру [34–36]. Введение только R(-)-энантиомера не предотвращает проявление тератогенности из-за значительной и быстрой эпимеризации в физиологических условиях. Было показано, что деитерирование частично преодолевает этот недостаток [36].

Влияние дейтерия на кинетические эффекты биотрансформации фармацевтических субстанций не ограничены приведенными примерами. Все новые и новые деитерированные соединения характеризуются как перспективные субстанции для возможного применения в качестве лекарств.

ВЛИЯНИЕ СООТНОШЕНИЯ D/H В ВОДЕ НА МЕХАНИЗМЫ ПРЕВРАЩЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ

Кинетические изотопные эффекты дейтерия обнаружены в водных растворах фармацевтических субстанций с разным соотношением D/H. В связи с использованием в атомной энергетике тяжелой воды D_2O механизмы влияния ее на биологические объекты были исследованы достаточно подробно [1, 7–12, 37, 38]. Но поведение фармацевтических субстанций в воде, обедненной по дейтерию, как и влияние соотношения дейтерий/протий на организмы разного иерархического уровня, до последнего десятилетия, оставались практически не изученными.

Определение понятия «легкая» вода (*deuterium-depleted water, ddw*), обусловлено тем, что в результате ректификации увеличивается доля легкого изотопа воды $^1\text{H}_2^{16}\text{O}$ в сравнении со стандартными образцами. В основе значимых биологических ответов ddw лежат различия физико-химических свойств воды, обедненной по тяжелым изотопам, и воды природного изотопного состава.

Исследование изотопного эффекта на молекулярном уровне

Кинетика мутаротации углеводов и оптическое вращение растворов аминокислот. Обнаружены отличия в кинетике мутаротации углеводов (рисунок 2). Они могут быть связаны с различиями

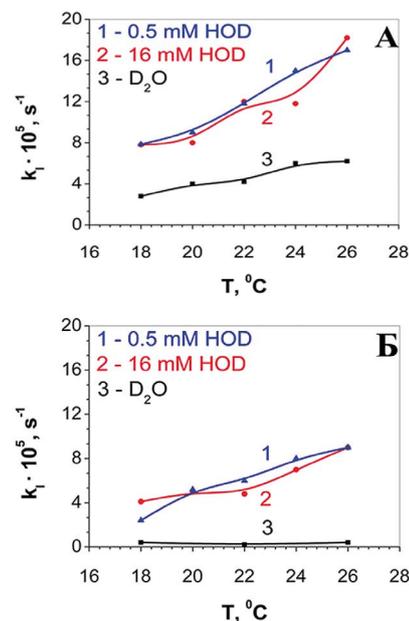


Рисунок 2. Изменение скорости удельного вращения (k_t) галактозы с ростом температуры

А – D-изомер; Б – L-изомер (среднее \pm SD; $n = 6$; $p < 0,05$) [11]

Figure 2. The change in the specific rotation speed (k_t) of galactose with increasing temperature

A – D-isomer, B – L-isomer (mean \pm SD; $n = 6$; $p < 0.05$) [11]

в длине и энергии O–H и O–D связей воды, которая участвует в установлении равновесия между аномерами углеводов через ациклическую форму. Это подтверждается значительно меньшей скоростью мутаротации обоих энантиомеров галактозы в тяжелой воде [7]. В природной и легкой воде эти скорости значительно ниже для L-формы оптического изомера. В тяжелой воде мутаротация L-изомера вообще не протекает. Влияние изотопного состава воды подтверждено в ходе изучения температурной зависимости кинетики мутаротации D-глюкозы в аррениусовских координатах. Значения энергии активации процесса мутаротации в природной высокоомной воде $E_a = 40,8 \pm 1,4$ кДж/моль, тогда как в ddw $E_a = 63,6 \pm 3,5$ кДж/моль, т. е. кинетический изотопный эффект, оцененный через энергии активации, больше единицы и составляет 1,6 [8]. Это также свидетельствует об изотопной зависимости процесса.

Для оптических изомеров валина обнаружены статистически значимые различия удельного вращения в водах разного изотопного состава. Прослеживается четкая зависимость оптической активности валина от содержания дейтерия в воде в интервале pH = 2–10. Обнаружен некомпенсированный положительный или отрицательный заряд в растворе двух оптических антиподов. Это объясняется формированием хиральности в гигантских гетерогенных кластерах воды (ГКВ) под воздействием оптически активной субстанции [39, 40].

Скорость растворения фармацевтических субстанций. Кинетика растворения большого числа фармацевтических субстанций, контролируемая методом лазерного затемнения (laser obscuration) продемонстрировала возрастание КИЭ при снижении соотношения D/H в воде. Так, например, при снижении концентрации HOD от 16 до 0,5 ммоль/л скорость растворения субстанций возрастала для топирамата в 1,1 раза, лактозы в 1,3 раза, бендазола гидрохлорида в 1,6 раза.

Организменный уровень

Клеточные культуры. Константа скорости процесса необратимого клеточного перехода *S. ambigua* от активного до иммобилизованного состояния снижается более чем на порядок при истощении дейтерия от 16 mM до 0,5 mM. Кривая времени жизни клеточного биосенсора проходит практически параллельно оси абсцисс в интервале значений D/H от 90 ppm до 150 ppm и постепенно снижается за пределами этого интервала (рисунок 3). Зависимость «доза – ответ» для соотношения D/H идентична классическим кривым для эссенциальных микроэлементов: их недостаток или избыток приводит к гибели животного. В то же время существует зона безопасности, обеспечивающая нормальную выживаемость организма [2, 7, 42].

Детально исследована выживаемость одноклеточного организма – инфузории *S. ambigua* в водных растворах АФИ и ВВ с разным соотношением

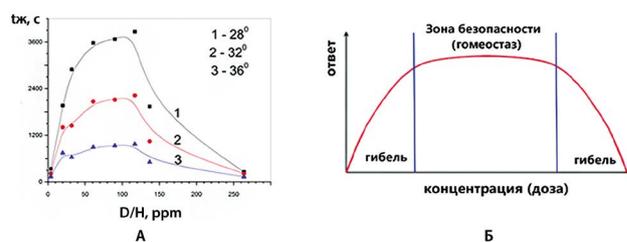


Рисунок 3. Зависимость продолжительности жизни *S. ambigua* от концентрации дейтерия в воде при 28 (1), 32 (2) и 36 °С (3).

А – среднее \pm SD; n = 18; p < 0,01 [7]; Б – диаграмма «доза – ответ» для эссенциальных элементов [2, 42]

Figure 3. Life span of *S. ambigua* versus deuterium concentration in water at 28 (1), 32 (2) and 36 °C (3).

А – mean \pm SD; n = 18; p < 0.01 [7]; Б – chart «dose – response» for essential elements [2, 42]

D/H [7, 8]. В водах разного изотопного состава были получены статистически достоверные различия значений кажущейся энергии активации $^{obs}E_a$ лиганд-индуцированной клеточной гибели в растворах ряда субстанций (рисунок 4).

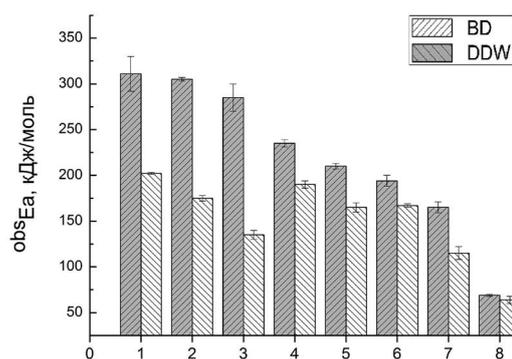


Рисунок 4. Ранжирование ксенобиотиков по значениям $^{obs}E_a$ в воде с пониженным содержанием дейтерия – ddw (D/H = 4 ppm) и высокоомной воде природного изотопного состава – BD (D/H = 140 ppm):

$t_{ж} = 300$ сек; T = 28 °С. 1 – Na_2SO_3 ; 2 – 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина сукцинат (мексидол); 3 – аскорбиновая кислота; 4 – Na_2H_2Edta ; 5 – 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина гидрохлорид (эмоксипин); 6 – $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$; 7 – $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; 8 – NaCl [8]

Figure 4. The ranking of xenobiotics by $^{obs}E_a$ values in water with a low deuterium content – ddw (D/H = 4 ppm) and high-resistance water of natural isotopic composition – BD (D/H = 140 ppm):

$t_{ж} = 300$ sec; T = 28 °С. 1 – Na_2SO_3 ; 2 – 3-hydroxy-6-methyl-2-ethylpyridine succinate (mexidol); 3 – ascorbic acid; 4 – Na_2H_2Edta ; 5 – 3-hydroxy-6-methyl-2-ethylpyridine hydrochloride (emoxypine); 6 – $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$; 7 – $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; 8 – NaCl [8]

Оказалось, что вода с пониженным содержанием дейтерия проявляла антидотные свойства: снижение содержания тяжелого изотопа водорода приводило к увеличению выживаемости инфузорий в среднем в полтора раза. Как и в предыдущих примерах, КИЭ, рассчитанный для многочисленных субстанций че-

рез энергии активации клеточной гибели, превышал единицу.

Было показано изменение скорости пролиферации жировых стромальных клеток (ADSCs) человека *in vitro* в зависимости от концентрации дейтерия в культуральной среде [43]. Наблюдались морфологические изменения в дейтерированной среде: клетки не достигали конfluence, имели полигональную морфологию с ярко выраженными стресс-фибриллами. При высоких содержаниях дейтерия в питательной среде отмечено увеличение времени удвоения популяции, что указывает на замедление клеточного цикла и, как следствие, пролиферативной способности культуры клеток. В дейтерированной и обедненной по дейтерию культуральных питательных средах отмечена острая и хроническая токсичность. Наименьшая интенсивность миграции наблюдалась в дейтерированной питательной среде, а наиболее активная миграционная способность отмечена в обедненной по дейтерию среде с близким к природному отношению D/H. В дейтерированной питательной среде наблюдается снижение метаболической активности на третьи сутки, а в обедненной по дейтерию среде отмечено повышение жизнеспособности культуры ADSCs [43].

Растительные объекты. Для каллизии душистой (*Callisia fragrans* L.) обнаружено, что в воде, обедненной по дейтерию, перераспределение и усвоение минеральных компонентов происходит быстрее – в два и более раза по сравнению с водой природного изотопного состава. Это позволило использовать каллизию как модельный объект насыщения микроэлементами, в частности, цинком [12].

Как известно, мох *Physcomitrella Patens* является важным фундаментальным объектом протеомики. При исследовании мха этого вида была обнаружена значительная разница в изменении пептидного состава в водах с различным соотношением D/H. Это связано с изменением метаболизма организма в целом [44].

Человек. Содержание дейтерия в организме «условного» человека (массой 70 кг) составляет около 1 г, что при ранжировании необходимых микроэлементов соответствует его позиции между медью (100 мг) и цинком (2 г) и на 2–3 порядка выше по сравнению с Co, Mn, Mo [2, 42]. Это позволяет прогнозировать его участие в биохимических процессах в организме. Дефицит и избыток этого изотопа водорода может нарушать гомеостаз и смещать равновесия обратимых процессов в организме [37, 39, 40]. Экспериментальные результаты, полученные *in vitro* и *in vivo* в Венгрии, Японии, США, Китае, Румынии, России, позволяют предполагать возможность использования воды, обедненной по дейтерию, в качестве адьювантного средства в лечении рака. Особенно значимы исследования Г. Шомлая (Gabor Somlay) в Венгрии, начатые еще во второй половине XX в. [1, 7, 8]. Замена обычной воды (D/H = 130–150 ppm) на «легкую» (D/H = 20–120 ppm) сопровождается уменьшением размера опухоли, по-

степенным некрозом опухолевых клеток, увеличением средней выживаемости больных (рак простаты, рак молочной железы, рак легких и др.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На волне успешной регистрации дейтетрабеназина ряд других дейтерированных соединений активно участвуют в клинических испытаниях [5, 6]. В то время, как использование дейтерия в разработке лекарств неуклонно растет, число проблематичных моментов по использованию этой биоизостерической замены не снижается. Среди них ошибочное мнение о возможной токсичности дейтерия, неопределенности в отношении затрат для производства дейтерированных ЛП, невыясненные механизмы увеличения КИЭ для отдельных субстанций, длительность в одобрении дейтерированных ЛП регуляторными органами. Одобрение FDA дейтетрабеназина увеличивает вероятность того, что дейтерирование получит зеленый свет для доклинических и клинических исследований субстанций.

С учетом многочисленных сведений о КИЭ фармацевтических субстанций в водах с разным соотношением D/H можно прогнозировать, что дейтерий становится медико-химическим инструментом. Несомненно, в недалеком будущем прояснятся механизмы влияния дейтерия в воде на биохимические превращения фармацевтических субстанций в организме. Одним из возможных вариантов такой расшифровки может стать пример мутаротации углеводов, протекающей через ациклическую форму с участием молекул воды смешанного изотопного состава (H–O–D).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Syroeshkin A., Levitskaya O., Uspenskaya E., Pleteneva T. Deuterium Depleted Water as an Adjuvant in Treatment of Cancer. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 2019; 10(1): 112–117. DOI: 10.5530/srp.2019.1.19.
2. Zoroddu M. A., Aaseth J., Crisponi G., Medici S., Peana M., Nurchi V. M. The essential metals for humans: A brief overview. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2019. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2019.03.013.
3. Atzrodt J., Derdau V., William J., Reid M. Deuterium- and tritium-labelled compounds: applications in the life sciences. *Angew Chem Int Ed*. 2018; 57: 1758–1784.
4. Masson G. R., Jenkins M. L., Burke J. E. An overview of hydrogen deuterium exchange mass spectrometry (HDX-MS) in drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2017; 12(10): 981–994. DOI: 10.1080/17460441.2017.1363734.
5. Piralì T., Serafini M., Cargini S., Genazzani A. A. Applications of Deuterium in Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2019; 62(11): 5276–5297. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01808.
6. Roger D. Tung. Deuterium medicinal chemistry comes of age. *Future Med. Chem*. 2016; 8(5): 491–494.
7. Syroeshkin A. V., Pleteneva T. V., Uspenskaya E. V., Zlatskiy I. A., Antipova N. A., Grebennikova T. V., Levitskaya O. V. D/H control of chemical kinetics in water solutions under low deuterium concentrations. *Chemical Engineering Journal*. 2019; 377: 119827. DOI: 10.1016/j.cej.2018.08.213.
8. Levitskaya O. V., Syroeshkin A. V., Pleteneva T. V. Arrhenius kinetics as a bioactivity assessment criterion for drug substances and excipients. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2016; 49(11): 779–781.

9. Somlyai G., Javaheri B., Davari H., Gyöngyi Z., Somlyai I., Tamaddon K. A., Boros L. G. Pre-clinical and clinical data confirm the anticancer effect of deuterium depletion. *Biomacromol J.* 2016; 2(1): 1–7.
10. Krempels K., Somlyai I., Gyöngyi Z., Ember I., Balog K., Abonyi O., Somlyai G. A. Retrospective study of survival in breast cancer patients undergoing deuterium depletion in addition to conventional therapies. *J Cancer Res Ther.* 2013; 1(8): 194–200.
11. Zrellov O. Yu., Syroeshkin A. V., Uspenskaya E. V., Titorovich (Levitskaya) O. V. Effect of water isotopic composition on galactose mutarotation kinetics. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2015; 49(6): 413–416.
12. Makarova M. P., Syroeshkin A. V., Maksimova T. V., Matveeva I. S., Pleteneva T. V. Features of the rapid determination of trace elements in medicinal and unofficial plants. *Development and registration of medicines.* 2019; 8(2): 93–97 (in Russ.).
13. Mullard A. Deuterated drugs draw heavier backing. *Nat. Rev. Drug Discovery.* 2016; 15: 219–221.
14. Thulasiram H. V., Phan R. M., Rivera S. B., Poulter C. D. Synthesis of deuterium-labeled derivatives of dimethylallyl diphosphate. *J. Org. Chem.* 2006; 71: 1739–1741.
15. Sattler A. Hydrogen/Deuterium (H/D) exchange catalysis in alkanes. *ACS Catal.* 2018; 8: 2296–2312.
16. Belleau B., Burba J., Pindell M., Reiffenstein J. Effect of deuterium substitution in sympathomimetic amines on adrenergic responses. *Science.* 1961; 133: 102–104.
17. Elison C., Rapoport H., Laursen R., Elliott H. W. Effect of deuteration of N-CH₃ group on potency and enzymatic N-demethylation of morphine. *Science.* 1961; 134: 1078–1079.
18. DeWitt S. H., Maryanoff B. E. Deuterated Drug Molecules: Focus on FDA-Approved Deutetrabenazine. *Biochemistry.* 2018; 57: 472–473.
19. Claassen D. O., Carroll B., De Boer L. M., Wu E., Ayyagari R., Gandhi S., Stampler D. Indirect tolerability comparison of deutetrabenazine and tetrabenazine for Huntington disease. *J. Clin. Mov. Disord.* 2017; 4: 3–13.
20. Garay R. P., Grossberg G. T. AVP-786 for the treatment of agitation in dementia of the Alzheimer's type. *Expert Opin. Invest. Drugs.* 2017; 26: 121–132.
21. Xie J. H., Gillooly K., Zhang Y., Yang X., Zupa-Fernandez A., Cheng L., Strnad J., Heimrich E., Zhou X., Chen J., Chaudhry C., Li S., Moslin R., Wroblecki S., Weinstein D., Burke J. 349 – BMS-986165 is a highly potent and selective allosteric inhibitor of TYK2, blocks IL-12, IL-23 and type I interferon signaling and provides for robust efficacy in preclinical models of systemic lupus erythematosus and inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2018; 154: S-1357.
22. Khan A. J., Misenko S. M., Thandoni A., Schiff D., Jhavar S. R., Bunting S. F., Haffty B. G. VX-984 is a selective inhibitor of non-homologous end joining, with possible preferential activity in transformed cells. *Oncotarget.* 2018; 9: 25833–25841.
23. First-in-Human Study of the Safety, Tolerability, and Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Profile of VX-984 in Combination with Chemotherapy. ClinicalTrials.gov identifier: NCT02644278. Last update: June 5, 2018. Accessed on November 15, 2018.
24. Hearn B. R., Fontaine S. D., Pfaff S. J., Schneider E. L., Henise J., Ashley G. W., Santi D. V. Primary deuterium kinetic isotope effects prolong drug release and polymer biodegradation in a drug delivery system. *J. Controlled Release.* 2018; 278: 74–79.
25. Malmlöf T., Rylander D., Alken R. G., Schneider F., Svensson T. H., Cenci M. A., Schilström B. Deuterium substitutions in the L-DOPA molecule improve its anti-kinetic potency without increasing dyskinesias. *Exp. Neurol.* 2010; 225: 408–415.
26. Calinski D. M., Zhang H., Ludeman S., Dolan M. E., Hollenberg P. F. Hydroxylation and N-dechloroethylation of ifosfamide and deuterated ifosfamide by the human cytochrome p450s and their commonly occurring polymorphisms. *Drug Metab. Dispos.* 2015; 43: 1084–1090.
27. Bhadra P. B., Hassanzadeh A., Arsic B., Allison D. G., Morris G. A., Barber J. Enhancement of the properties of a drug by monodeuteration: reduction of acid-catalysed formation of a gut-motilide enol ether from 8-deuterio-erythromycin B. *Org. Biomol. Chem.* 2016; 14: 6289–6296.
28. Shao L., Abolin C., Hewitt M. C., Koch P., Varney M. Derivatives of tramadol for increased duration of effect. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006; 16: 691–694.
29. Smith S. W. Chiral toxicology: It's the same thing...only different. *Toxicol. Sci.* 2009; 110: 4–30.
30. Csuk R. Biocatalysis in the Pharma and Biotech Industries. *CRC Press: Boca Raton, FL.* 2007; 699–716.
31. Hutt A. J., Valentova J. The chiral switch: The development of single enantiomer drugs from racemates. *Acta Fac. Pharm. Univ. Comeniana.* 2003; 50: 7–23.
32. Ali I. Homochiral drug design and development by racemization. *Comb. Chem. High Throughput Screening.* 2007; 10: 326–335.
33. Maltais F., Jung Y. C., Chen M., Tanoury J., Perni R. B., Mani N., Laitinen L., Huang H., Liao S., Gao H., Tsao H., Block E., Ma C., Shawgo R. S., Town C., Brummel C. L., Howe D., Pazhanisamy S., Raybuck S., Namchuk M., Bennani Y. L. *In vitro* and *in vivo* isotope effects with hepatitis C protease inhibitors: enhanced plasma exposure of deuterated telaprevir versus telaprevir in rats. *J. Med. Chem.* 2009; 52: 7993–8001.
34. Mori T., Ito T., Liu S., Ando H., Sakamoto S., Yamaguchi Y., Tokunaga E., Shibata N., Handa H., Hakoshima T. Structural basis of thalidomide enantiomer binding to cereblon. *Sci. Rep.* 2018; 8: 1294–1307.
35. Yamamoto T., Tokunaga E., Nakamura S., Shibata N., Toru T. Synthesis and configurational stability of (S)- and (R)-deuteriothalidomides. *Chem. Pharm. Bull.* 2010; 58: 110–112.
36. Jacques V., Czarnik A. W., Judge T. M., Van der Ploeg L. H., DeWitt S. H. Differentiation of antiinflammatory and antitumorigenic properties of stabilized enantiomers of thalidomide analogs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2015; 112: E1471–E1479.
37. Basov A., Fedulova L., Baryshev M., Dzhimak S. Deuterium-depleted water influence on the isotope ²H/¹H regulation in body and individual adaptation. *Nutrients.* 2019; 11: 1903. DOI: 10.3390/nu11081903.
38. Zlatskiy I. A., Zlatska A. V., Antipova N. V., Syroeshkin A. V. Effect of deuterium on the morpho-functional characteristics of normal and cancer cells in vitro. *Trace Elements and Electrolytes.* 2018; 35: 211–214. DOI: 10.5414/TEX0155410.
39. Goncharuk V. V., Syroeshkin A. V., Pleteneva T. V., Uspenskaya E. V., Levitskaya O. V., Tverdislov V. A. On the possibility of chiral structure-density submillimeter inhomogeneities existing in water. *Journal of Water Chemistry and Technology.* 2017; 39(6): 319–324. DOI: 10.3103/s1063455x17060029.
40. Goncharuk V. V., Pleteneva T. V., Grebennikova T. V., Syroeshkin A. V., Uspenskaya E. V., Antipova N. V., Zlatskiy I. A. Determination of Biological Activity of Water Having a Different Isotope Ratio of Protium and Deuterium. *Journal of Water Chemistry and Technology.* 2018; 40(1): 27–34. DOI: 10.3103/s1063455x18010058.
41. Uspenskaya E. V., Anfimova E. V., Syroeshkin A. V., Pleteneva T. V. Kinetics of pharmaceutical substance solubility in water with different hydrogen isotopes content. *Indian J Pharm Sci.* 2018; 80: 318–24.
42. Maret W. The Metals in the biological periodic system of the elements: concepts and conjectures. *International Journal of Molecular Sciences.* 2016; 17(1): 66. DOI: 10.3390/ijms17010066.
43. Halenova T., Zlatskiy I., Syroeshkin A., Maximova T., Pleteneva T. Deuterium-Depleted Water as Adjuvant Therapeutic Agent for Treatment of Diet-Induced Obesity in Rats. *Molecules.* 2020; 25(1): 23. DOI: 10.3390/molecules25010023.
44. Makarova M., Syroeshkin A., Maksimova T., Pleteneva T., Zlatskiy I., Antipova N., Skripnikov A., Dzhavakhyan M. D/H modification of plant peptides and microelements metabolome. *FEBS Open Bio.* 2019; 9: 287–288. DOI: 10.1002/2211-5463.12675.