



https://doi.org/10.29001/2073-8552-2020-35-4-79-86 УДК 615.033/.034:547.56:004.942

### Оценка фармакокинетических свойств изоборнилфенолов in silico

О.И. Острикова $^1$ , О.Е. Ваизова $^1$ , О.И. Алиев $^2$ , Е.В. Буравлев $^3$ , И.Ю. Чукичева $^3$ , А.В. Кучин $^3$ 

167000, Российская Федерация, Республика Коми, Сыктывкар, ул. Первомайская, 48

#### Аннотация

**Актуальность.** В текущем процессе создания лекарств потенциал нового соединения первоначально изучается с помощью виртуальных инструментов, где активность предсказывается из его молекулярной структуры.

**Цель:** оценка фармакокинетических особенностей и возможной токсичности изоборнильных соединений с помощью виртуальных инструментов.

Материал и методы. В работе использовали Интернет-ресурсы, находящиеся в свободном доступе, для оценки свойств всасывания, распределения, метаболизма, выведения (ADME) и токсичности (T) для 2,6-диизоборнил-4-метилфенол (1, Диборнол®), 2-гидрокси-3-изоборнил-5-метилбензальдегид (2), 2-((ди-н-бутиламино)метил)-6-изоборнил-4-метилфенола (3). Фармакокинетические свойства оценивали на платформе ADMETlab. Значения токсичности и физических свойств определяли в программе TEST на основе моделей количественной оценки органических веществ по принципу «структура – свойство». Оценку острой токсичности проводили на веб-сервере ProTox II.

Результаты. Установлена степень связи с белками плазмы: 76,9% – для соединения (1), 85,9% – для соединения (2) и 91,8% – для соединения (3). Все три соединения способны к проникновению через гематоэнцефалический барьер. Диборнол не был определен как субстрат или ингибитор гликопротеина-Р в отличие от (2) и (3). Период полувыведения являлся коротким для всех трех соединений (около 2 ч), клиренс – медленным (не более 2 мл/мин\*кг). Для соединений (2) и (3) был выявлен возможный токсический эффект на этапе развития организма. Также ADMETlab показал потенциальную кардио- и гепатотоксичность для соединений (2) и (3) соответственно. Все три соединения изоборнилфенолов обладают крайне низкой растворимостью в воде, что сказалось на оценке других показателей в TEST. Сервер ProTox\_II продемонстрировал низкую токсичность LD50 для всех соединений (5-й класс токсичности).

Ключевые слова:	изоборнилфенолы, 2,6-диизоборнил-4-метилфенол (Диборнол), аминометильное про- изводное, бензальдегид, предикторный анализ, фармакокинетика (ADME), токсичность.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.
Для цитирования:	Острикова О.И., Ваизова О.Е., Алиев О.И., Буравлев Е.В., Чукичева И.Ю., Кучин А.В. Оценка фармакокинетических свойств изоборнилфенолов <i>in silico. Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.</i> 2020;35(4):79–86. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2020-35-4-79-86.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, 2

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634028, Российская Федерация, Томск, пр. Ленина, 3

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Институт химии Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук».

Острикова Ольга Ивановна, e-mail: ostrikolga@mail.ru.

# Evaluation of pharmacokinetic properties of isobornylphenols *in silico*

## Olga I. Ostrikova<sup>1</sup>, Olga E. Vaizova<sup>1</sup>, Oleg I. Aliev<sup>2</sup>, Evgeny V. Buravlev<sup>3</sup>, Irina Yu. Chukicheva<sup>3</sup>, Aleksandr V. Kutchin<sup>3</sup>

- <sup>1</sup> Siberian State Medical University,
- 2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation
- <sup>2</sup> Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences.
- 3, Lenin ave., Tomsk, 634028, Russian Federation
- <sup>3</sup> Institute of Chemistry, Komi Science Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
- 48, Pervomayskaya str., Syktyvkar, 167000, Republic of Komi, Russian Federation

#### Abstract

**Introduction.** The potential of a new compound in the ongoing drugs discovery process is initially explored using virtual instruments, where its activity is predicted based on its molecular structure.

**Aim.** This study aimed to evaluate the pharmacokinetic parameters and possible toxicity of isobornyl compounds based on virtual tools.

Material and Methods. Several free Internet resources were used to assess the absorption, distribution, metabolism, excretion (ADME), and toxicity (T) of 2,6-diisobornyl-4-methylphenol (1, Dibornol), 2-hydroxy-3-isobornyl-5-methylbenzaldehyde (2), and 2-((di-n-butylamino) methyl)-6-isobornyl-4-methylphenol (3). Pharmacokinetic properties were calculated on ADMETlab platform. Toxicity and physical properties were evaluated using TEST software based on the structure-property quantification models of organic substances according to structure-property principle. Web server ProTox\_II was used for acute toxicity assessment

**Results.** Plasma protein binding degrees were 76,9% for (1), 85,9% for (2), and 91,8% for (3). All three compounds were capable of penetrating the blood-brain barrier. Dibornol was identified neither as a substrate nor as an inhibitor of P-glycoprotein unlike (2) and (3). The half-life of all compounds was short (about 2 hours); the clearance was slow (about 2 mL/min\*kg). The study showed that (2) and (3) potentially exert the toxic effects during the developmental stage of the organism, while ADMETIab showed potential cardio- and hepatotoxicity for (2) and (3), respectively. All compounds had extremely low solubility in water, which affected the assessments of other indicators by TEST software. The ProTox\_II server showed the extremely low toxicity LD50 for all compounds (toxicity class 5).

**Keywords:** isobornylphenols, 2,6-diisobornyl-4-methylphenol (Dibornol), aminomethyl derivative,

benzaldehyde, predictive analysis, pharmacokinetics (ADME), toxicity.

**Conflict of interest:** the authors do not declare a conflict of interest.

**Financial disclosure:** no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

For citation: Ostrikova O.I., Vaizova O.E., Aliev O.I., Buravlev E.V., Chukicheva I.Yu., Kutchin A.V. Evaluation

of pharmacokinetic properties of isobornylphenols *in silico*. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2020;35(4):79–86. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2020-35-4-

79-86.

#### Актуальность

Антиоксиданты — это группа перспективных лекарственных веществ, обладающих многими цитопротективными эффектами, в частности, нейропротективным. Их применение в терапии нарушений мозгового кровообращения широко обсуждается с тех пор, как появились доказательства наличия окислительного стресса при ишемии мозга [1]. При снижении мозгового кровотока нарушаются процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях, прекращается перенос кислорода до цитохромоксидазы, что стимулирует образование свободных радикалов (СР) [2]. Образование СР — это значимый

компонент развития эндотелиальной дисфункции и эндогенной интоксикации [3].

Имеются доказательства того, что высокое содержание антиоксидантов в плазме крови свидетельствует о низком риске церебрального инсульта, однако исследования дополнительного приема антиоксидантов не показали обнадеживающих результатов [1]. Тем не менее клинические рекомендации терапии острого нарушения мозгового кровообращения предполагают необходимость восстановления кровотока в зоне ишемии, нейропротекцию [4].

Пространственно-затрудненные (экранированные) фенолы обеспечивают торможение процессов радикального

окисления, а эффективность этого торможения и активность действия соединения, в конечном итоге, определяются природой заместителя в орто- и пара-положениях [5]. Изоборнилфенолы в реакциях инициированного окисления этилбензола показывают высокую константу скорости взаимодействия с пероксильными радикалами [6]. Биологическая активность этих веществ опосредована их способностью встраиваться в мембраны и участвовать в регуляции процессов окислительной деградации липидов под действием СР [7].

Лекарственные субстанции, демонстрирующие эффективность *in vitro*, могут быть неэффективны *in vivo* благодаря физико-химическим особенностям и низкой биодоступности [8].

В текущем процессе создания лекарственных препаратов потенциал нового соединения часто первоначально изучается с помощью виртуальных инструментов. Возможность соединения проявлять полезную терапевтическую активность (иногда называемую Druglikeness) предсказывается из его молекулярной структуры [9]. Прогнозирование биодоступности и обусловливающих ее свойств, таких как растворимость и липофильность, является важным до момента начала синтеза потенциального кандидата. Это может быть лучшим способом избежать возможных экологических проблем, истощения затрат реагентов и времени [10].

Сервисы и программы для прогностического моделирования физико-химических свойств, токсичности и фармакологических эффектов построены на моделях QSAR/QSPR (количественное соотношение «структура – биологическая активность/структура - свойство») [10]. В настоящий момент представлено более 200 инструментов для оценки различных сторон фармакокинетических свойств соединений (http://www.vls3d.com/). Согласно анализу публикаций в PubMed, для виртуального скрининга и лучшего прогноза потенциала веществ используют сразу несколько программ, поскольку каждый сервис построен на своей математической модели и предикторах [11]. Для оценки возможных взаимодействий и фармакологических эффектов хорошо себя зарекомендовали PASS online (Институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Россия) и SwissTargetPrediction (Swiss Institute of Bioinformatics, Швейцария), Многопрофильная платформа ChemAxon представляет портфель многофункциональных продуктов с 2010 г., но требуется покупка лицензии. Сервис ADMETSAR (East China University of Science and Technology, Китай), разработанный в 2012 г. и глобально обновленный в 2018 г., предлагает комплексный анализ фармакокинетики. OPERA 2.0 осуществляет прогнозирование физико-химических свойств и конечных точек экологической токсичности, TEST. 3.0 (United States Environmental Protection Agency, США) – прогнозирование экологической токсичности, применяется с 2013 г. SwissADME (Swiss Institute of Bioinformatics, Швейцария) - молодая платформа. Несмотря на то, что первые упоминания встречаются с 2017 г., в настоящий момент платформа достаточно популярна, предлагает много методов и оценок, предпочтительна для малых молекул. ADMETIab (Central South University, Китай) – относительно новая платформа (применяется с 2018 г.) с хорошими перспективами, предлагает расширенный анализ химических соединений.

Изоборнильные соединения (рис. 1) синтезированы и подробно описаны авторским коллективом под руковод-

ством профессора А.В. Кучина: 2-гидроксиметил-4-метил-6-изоборнилфенол является промежуточным продуктом синтеза азотсодержащих изоборнилфенолов [12, 13]. 2,6-диизоборнил-4-метилфенол (1, Диборнол®) активно изучается и прошел доклинические исследования на моделях ишемии/реперфузии головного мозга [14].

Рис. 1. Структуры 2,6-диизоборнил-4-метилфенол (1), 2-гидрокси-3-изоборнил-5-метилбензальдегид (2), 2-((ди-н-бутиламино)метил)-6-изоборнил-4-метилфенола (3)

Fig. 1. The structures of 2,6-diisobornyl-4-methylphenol (1), 2-hydroxy-3-isobornyl-5-methylbenzaldehyde (2), and 2-((di-n-butylamino) methyl)-6-isobornyl-4-methylphenol (3)

Цель данного исследования: оценка фармакокинетических особенностей и возможной токсичности изоборнильных соединений с помощью виртуальных инструментов.

#### Материал и методы

В работе использовано несколько свободных Интернет-ресурсов. Платформа ADMETlab предоставляет свободно доступный веб-интерфейс для систематической оценки фармакокинетических свойств химических соединений; состоит из четырех основных модулей: «Анализ сходства с лекарствами», «Прогноз фармакокинетики», «Систематическая оценка» и «Поиск сходства». В ходе исследования оценивали ряд количественных и качественных показателей. Оценка основных физико-химических свойств включала: растворимость в воде (LogS), липофильность (LogD7,4) - распределение между водной фазой (фосфатный буфер при рН7,4) и несмешивающимся с водой органическим растворителем (обычно октанолом), коэффициент распределения липофильности (LogP) при равновесных концентрациях. Способность к абсорбции в кишечнике определяли по прогнозируемой кишечной проницаемости (РАРР) на модели клеток линии Сасо-2. Качественно оценивали способность соединений быть ингибитором (Pgp-Inhibitor) или субстратом (Pgp-Substrate) гликопротеина-Р, кишечной абсорбции человека (НІА). На модели классификации, основанной на физико-химических дескрипторах, рассчитывали биодоступность, превышающую 30%, при пероральном приеме (F30%). Распределение производных изоборнилфенолов оценивали по трем параметрам: связывание с белками плазмы (PPB, %), объем распределения (VD) и по категориальному показателю возможности проникновения через гематоэнцефалический барьер (BBB permeability). Метаболизм определяли по возможности взаимодействия с пятью цитохромами - СҮР1А2, СҮР3А4,

СҮР2С19, СҮР2С9, СҮР2D6. Для оценки элиминации рассчитывали клиренс и период полувыведения. Оценку токсичности проводили по 6 качественным показателям и расчету дозы острой токсичности при применении внутрь (LD50). Кардиотоксичность в ADMETlab определялась по вероятности блокады гена hERG, что может приводить к аритмии и удлинению интервала QT, гепатотоксичность (Н-НТ) – по токсичности реактивных метаболитов, мутагенность - по тесту Эймса (AMES). ADMETlab позволяет оценить вероятность иммунных реакций, приводящих к сенсибилизации кожи (SkinSen), медикаментозному поражению печени (DILI) и рассчитать максимальную рекомендуемую суточную дозу для человека (FDAMDD). FDAMDD – это предполагаемый верхний предел дозы, при превышении которого эффективность препарата не увеличивается, и/или нежелательные побочные эффекты начинают перевешивать положительные [15].

Программа TEST (https://www.epa.gov/chemical-research/toxicity-estimation-software-tool-test) оценивает значения экологической токсичности и физические свойства органических соединений на основе молекулярной структуры химического вещества с использованием методологий количественных соотношений «структура – активность» (QSAR). QSAR – это математические модели, используемые для прогнозирования показателей токсичности на основе физических характеристик структуры химических веществ (молекулярные дескрипторы) [16].

ProTox\_II (http://tox.charite.de/protox\_II/) — веб-сервер оценки острой пероральной токсичности на крысах. Формат представления молекул для всех использованных ресурсов — SMILE или графическое представление с использованием Marvin JS.

#### Результаты и обсуждение

Веб-сервер ADMETIab определяет степень сходства изучаемого соединения с известными лекарственными средствами. Программа опирается на эмпирические правила, помогающие выявить хорошую биодоступность молекулы (per os). Правило Липинского основано на молекулярной массе не более 500, содержании атомов N или О не более 10 и не более 5 групп ОН или NH в качестве доноров водородной связи, достаточной растворимости в воде (LogP ≤ 5). Фильтр Гхоша является его модификацией и основывается на коэффициенте LogP(-5,6 < logP < -0,4), молекулярной массе (160 < Mм < 480), молярной рефракции (40 < Mp < 130) и числе атомов (20 < n атомов < 70). Правило Липинского выполнялось для всех соединений лишь на 75% из-за низкой растворимости, фильтр Гхоша для Диборнола и (3) не выполнялся на 100% из-за крайне низкой растворимости в воде (logP 8,16 и 6,64 со-

Правило Опреи определяет вероятность для химического соединения быть потенциальным лекарственным средством как более высокую, если количество колец не более 3, жестких связей — не более 18 и вращающихся — не более 6. Правило Опреи не выполнялось для соединений (1) и (2) из-за низкого числа способных к ротации связей, их всего 2. Правила Вебера и Варма выполнялись для всех соединений.

Прогноз ADMET представлен в таблице 1. В этом прогнозе показана крайне низкая растворимость всех соединений в воде (менее 1 мг/л), высокая липофильность (logD7,4 > 3,5) с умеренным метаболизмом и плохая проницаемость липидного биослоя из-за низкой растворимости.

**Таблица 1.** Характеристики оценки лекарственного подобия по данным веб-сервера ADMETlab

**Table 1.** Characteristics of druglikeness analysis based on data of ADMETlab Web server

Xарактеристики Рагатеетs   2.6-диизо-борнил-4-метил-бенальделий   5-метил-бутиламино) метил)-6-изо-борнил-4-метил-бенальделий   2-hydroxy-отири-4-тентур-феноп   2				
Растворимость LogS, log моль/л (мг/мл)		борнил- 4-метил- фенол 2,6-diisob- ornyl- 4-methyl-	3-изоборнил- 5-метил- бензальдегид 2-hydroxy- 3-isobornyl- 5-methyl-	бутиламино) метил)-6-изо- борнил-4-ме- тилфенол 2-((di-n-bu- tylamino) methyl)-6-isob- ornyl-4-methyl-
моль/п (мг/мп) Solubility LogN, log mol/L (mg/mL) Пипофильность LogD7,4 Distribution coefficient D LogD7,4 Пипофильность LogP Distribution coefficient P LogP PAPP (проницаемость Caco2), см/с PAPP (Caco-2 permeability), сm/s Способность ингибировать гликопротеина Аbility to inibit glycoprotein-P Cnocoбность выступать субстратом гликопротеина-Р Ability to be glycoprotein-P Eunaper Solubility (F30%) 30% Bioavailability (F30%) Сбаязывание с белками плазмы, % Plasma protein binding, % Объем распределения, л/кг Volume of distribution, L/kg Способность проникать через гематоэнцефалический барьер Blood-brain barrier per- meability Период полуэлиминации (Т ½), ч Half life (Т½), h Кирренс, мп/мин*кг Clearance, mL/min*kg Kардиотоксичность (блокара hERG) Cardiotoxicity (hERG blockade) Гепатотоксичность Кожная сенсибилизация  — 4,858 — 4,493 — 4,941 — 4 — 4 — 4 — 4,658 — 4,493 — 4,941 — 4 — 4 — 4 — 4 — 4 — 4 — 4 — 4 — 4 — 4		1	2	3
Distribution coefficient D LogD7,4         4,392         3,382         2,384           Липофильность LogP Distribution coefficient P LogP         8,163         5,046         6,643           ВорР РАРР (проницаемость Сасо2), см/с Сасо2), см/с Сасо2), см/с Способность ингибировать гликопротеинР Арри Сасо-2 permeability), сти/з Способность ингибировать гликопротеинР — + + + + + + + + + + + + + + + + + +	моль/л (мг/мл) Solubility LogS, log mol/L	1 '	,	-6,036 (0,342)
Distribution coefficient P LogP         8,163         5,046         6,643           PAPP (проницаемость Сасо2), см/с PAPP (Caco-2 permeability), сm/s         —4,658         —4,493         —4,941           Способность ингибировать гликопротеинР Аbility to inhibit glycoprotein-P         — + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	Distribution coefficient D	4,392	3,382	2,384
Сасо2), см/с PAPP (Caco-2 permeability), сm/s  Способность ингибировать гликопротеинР — + + + + + + + + + + + + + + + + + +	Distribution coefficient P	8,163	5,046	6,643
ингибировать гликопротеинР Ability to inhibit glycopro- tein-P Способность выступать субстратом гликопротеина-Р Ability to be glycopro- tein-P substrate  Абсорбция в кишечнике человека Н-+ ++  Н-+ ++  Н  Биодоступность 30% (F30%)  Связывание с белками плазмы, % Разма protein binding, %  Объем распределения, л/кг Volume of distribution, L/kg  Способность проникать через гематоэнцефалический барьер Вlood-brain barrier per- meability  Период полуэлиминации (Т ½), ч Нalf life (T½), h  Клиренс, мл/мин*кг Среагалсе, mL/min*kg  Кардиотоксичность (бпокада hERG) Сагсіотоксісту (hERG blockade)  Гепатотоксичность Нuman hepatotoxicity  Кожная сенсибилизация  + + + ++  +++  +++  +++  +++  +++  +	Caco2), см/с PAPP (Caco-2 permeabil-	-4,658	-4,493	-4,941
выступать субстратом гликопротеина-Р         –         +         +         –         –         –         +         –	ингибировать гликопротеинР Ability to inhibit glycopro-	-	+	++
человека Нитал intestinal absorption Биодоступность 30% (F30%) 30% Bioavailability (F30%)  Связывание с белками плазмы, % Plasma protein binding, %  Объем распределения, л/кг Volume of distribution, L/kg Способность проникать через гематоэнцефалический барьер Blood—brain barrier per- meability Период полуэлиминации (Т½), ч Наlf life (T½), h  Клиренс, мл/мин*кг Clearance, mL/min*kg  Кардиотоксичность (блокада hERG) Саrdiotoxicity (hERG blockade)  Гепатотоксичность Нитал hepatotoxicity  Кожная сенсибилизация	выступать субстратом гликопротеина-Р Ability to be glycopro-	-	-	-
(F30%)       +       +       -         30% Віоаvailability       +       +       -         (F30%)       Связывание с белками плазмы, % Plasma protein binding, %       76,9       85,9       91,8         Объем распределения, л/кг Volume of distribution, L/kg       0,914       0,812       0,781         Способность проникать через гематоэнцефалический барьер ВІоод-brain barrier permeability       +++       +++       +++         Период полуэлиминации (Т½), ч Наіf life (Т½), h       2,231       2,152       2,342         Кпиренс, мп/мин*кг Сlearance, mL/min*kg       1,7       1,89       1,92         Кардиотоксичность (блокада hERG) Сагдіоtохісіty (hERG blockade)       -       -       +         Гепатотоксичность Нитап hepatotoxісіty       -       +       -       -         Кожная сенсибилизация       -       +       -       -	человека Human intestinal ab-	++	++	++
плазмы, %       76,9       85,9       91,8         Объем распределения, л/кг       0,914       0,812       0,781         Иоште of distribution, L/kg       0,914       0,812       0,781         Способность проникать через гематоэнцефалический барьер Blood-brain barrier permeability       +++       +++       +++         Период полуэлиминации (Т ½), ч       2,231       2,152       2,342         Наlf life (Т½), h       1,7       1,89       1,92         Кардиотоксичность (блокада hERG) Сагдіоtохісіty (hERG blockade)       —       —       +         Гепатотоксичность Нитап hераtоtохісіty       —       +       —         Кожная сенсибилизация       —       +       —	(F30%) 30% Bioavailability	+	+	-
л/кг       Volume of distribution,       0,914       0,812       0,781         L/kg       Способность       10,914       0,812       0,781         Способность       10,000       10,000       10,000       10,000         Гематоэнцефалический барьер       10,000       10,0	плазмы, %	76,9	85,9	91,8
проникать через гематоэнцефалический барьер ВІооd-brain barrier permeability Период полуэлиминации (Т ½), ч 2,231 2,152 2,342 НаІf life (Т½), h  Клиренс, мл/мин*кг СІеагапсе, mL/min*kg 1,7 1,89 1,92  Кардиотоксичность (блокада hERG) Сагдіотохістіty (hERG blockade) Гепатотоксичность Нитап hepatotoxістіty Кожная сенсибилизация	л/кг Volume of distribution,	0,914	0,812	0,781
(Т½), ч       2,231       2,152       2,342         Наlf life (Т½), h       Клиренс, мл/мин*кг       1,7       1,89       1,92         Кардиотоксичность (блокада hERG)       -       -       +         Саrdiotoxicity (hERG blockade)       -       -       +         Гепатотоксичность Нитап hepatotoxicity       -       +       -         Кожная сенсибилизация       -       +       -	проникать через гематоэнцефалический барьер Blood-brain barrier per-	+++	+++	+++
Clearance, mL/min*kg  Кардиотоксичность (блокада hERG) Cardiotoxicity (hERG blockade)  Гепатотоксичность Нитап hepatotoxicity  Кожная сенсибилизация	(T ½), ч	2,231	2,152	2,342
(блокада hERG) — — + Cardiotoxicity (hERG blockade)  Гепатотоксичность — + — — Нитап hepatotoxicity  Кожная сенсибилизация — — +		1,7	1,89	1,92
Human hepatotoxicity     -     +     -       Кожная сенсибилизация     _     _	(блокада <i>hERG</i> ) Cardiotoxicity ( <i>hERG</i>	_	-	+
Кожная сенсибилизация		-	+	-
		-	+	+

Окончание табл.		
End of t	able 1	

End of table 1			
Характеристики Parameters	2,6-диизо- борнил- 4-метил- фенол 2,6-diisob- ornyl- 4-methyl- phenol	2-гидрокси- 3-изоборнил- 5-метил- бензальдегид 2-hydroxy- 3-isobornyl- 5-methyl- benzaldehyde	2-((ди-н- бутиламино) метил)-6-изо- борнил-4-ме- тилфенол 2-((di-n-bu- tylamino) methyl)-6-isob- ornyl-4-methyl- phenol
	1	2	3
LD50 при введении внутрь, –log моль/кг (мг/кг) LD50 upon administration (LD50 of acute toxicity), –log mol/kg (mg/kg)	3,036 (348,5)	2,181 (1782,5)	2,8 (588,9)

Примечание: «+» – вероятность проявления качественного признака, «-» – вероятность проявления качественного признака незначительна.

Note: "+" – probability of qualitative attribute manifestation, "-" – the probability of manifestation of a qualitative attribute is negligible.

Значения кишечной проницаемости выше оптимального. Ресурс позволяет определять, является ли изучаемое соединение субстратом или ингибитором гликопротеина-Р. Гликопротеин-Р известен как переносчик лекарств, его превалирующая локализация — мембраны клеток слизистой оболочки кишечника, гепатоцитов, клеток, образующих гематоэнцефалический барьер. Высокая активность гликопротеина-Р снижает биодоступность лекарственных средств, уменьшает их способность к проникновению через гистогематические барьеры, вызывает множественную лекарственную устойчивость опухолевых клеток. В ходе нашего исследования Диборнол не был определен как субстрат или ингибитор гликопротеина-Р, в то время как остальные изучаемые соединения могут быть его ингибиторами. Для всех трех соединений

было показано, что абсорбция в кишечнике не превышает 30% (НІА), а биодоступность до 30% характерна для Диборнола и соединения (2). Согласно проведенным фармакокинетическим исследованиям, реальная биодоступность Диборнола в водном растворе при пероральном введении крысам в дозе 10 мг/кг составляет 25,5% [17]. Все соединения проявили способность связываться с белками плазмы крови и проникать через гематоэнцефалический барьер, что является характерным для высоколипофильных соединений. Связанная фракция составила 76,9% для Диборнола, 85,9% - для соединения (2), 91,8% – для соединения (3). При оценке возможного метаболизма было показано, что все изучаемые соединения являются субстратами цитохрома Р450 СҮРЗА4 и Р450 СҮР2С19. Соединение (2) может выступать в качестве ингибитора Р450 СҮР1А2. Кроме того, соединение (3) проявляет свойства ингибитора P450 CYP2D6 и способно быть субстратом для Р450 СҮР2С9 и СҮР3А. Период полувыведения для всех трех производных изоборнилфенолов является коротким (около 2 ч), а клиренс медленным (не более 2 мл/мин\*кг).

Потенциальной кардиотоксичностью (блокада hERG) обладает соединение (3), а гепатотоксичностью (H-HT) соединение (2). Также эти соединения способны вызывать сенсибилизацию кожи. Результат оценки мутагенности в расчетном тесте Эймса был отрицательным для всех соединений, как и возможность лекарственной травмы печени. При экстраполяции результатов доз от животных к человеку не выявлено потенциальных максимальных суточных доз. По результатам оценки острой токсичности (LD50) производные изоборнилфенола (2) и (3) показаны как низкотоксичные (501-5000 мг/кг), а Диборнол - как токсичное соединение (51-500 мг/кг). Сравнение полученных результатов с критериями глобальной системы классификации химических веществ [18] продемонстрировало, что соединения были отнесены к 4-му классу токсичности.

Программа TEST позволила сделать количественный расчет экологических характеристик токсичности (табл. 2).

**Таблица 2.** Параметры токсичности, определенные в программе TEST **Table 2.** Toxicity parameters according to TEST software

Характеристики Parameters	2,6-диизоборнил-4- метилфенол 2,6-diisobornyl-4- methylphenol	2-гидрокси-3-изоборнил-5- метилбензальдегид 2-hydroxy-3-isobornyl-5- methylbenzaldehyde	2-((ди-н-бутиламино)метил)-6- изоборнил-4-метилфенол 2-((di-n-butylamino) methyl)-6- isobornyl-4-methylphenol
	1	2	3
Fathead minnow LC50 96 ч, log10 моль/л Fathead minnow LC50 96 h, log10 mol/L	6,56	5,64	6,14
Fathead minnow LC50 96 ч, мг/л Fathead minnow LC50 96 h, mg/L	0,1	0,63	0,28
Daphnia magna LC50 48 ч, log10 моль/л Daphnia magna LC50 48 h, log10 mol/L	6,55	5,63	5,93
<i>Daphnia magna</i> LC50 48 ч, мг/л <i>Daphnia magna</i> LC50 48 h, mg/L	0,11	0,64	0,46
T. pyriformis IGC50 48 ч, log10 моль/л T. pyriformis IGC50 48 h, mol/L	-	4,68	6,33
T. pyriformis IGC50 48 ч, мг/л T. pyriformis IGC50 48 h, mg/L	-	5,66	0,18
LD50 при приеме внутрь (крысы) log10, моль/кг Oral rat LD50 log10, mol/kg	3,97	2,09	3,00
LD50 при приеме внутрь (крысы), мг/кг Oral rat LD50, mg/kg	40,36	2210,87	385,16

Окончание табл. 2 End of table 2

Характеристики Parameters	2,6-диизоборнил-4- метилфенол 2,6-diisobornyl-4- methylphenol	2-гидрокси-3-изоборнил-5- метилбензальдегид 2-hydroxy-3-isobornyl-5- methylbenzaldehyde	2-((ди-н-бутиламино)метил)-6- изоборнил-4-метилфенол 2-((di-n-butylamino) methyl)-6- isobornyl-4-methylphenol
	1	2	3
Биоаккумуляция Bioaccumulation factor	_	3,24	169,32
Токсичность Developmental toxicant	He токсично Non toxic	Токсично Toxic	Токсично Toxic
Мутагенность Mutagenicity	-	Отсутствует Negative	Отсутствует Negative
Растворимость в воде, log10 моль/л Solubility in water, log10 mol/L	6,33	3,54	4,58
Растворимость в воде, мг/л Solubility in water, mg/L	0,18	80,89	10,18

Примечание: «-» - расчет невозможен или вне модели.

Note: "-" - calculation is impossible or beyond the model.

Сравнение полученных результатов с критериями, согласно глобальной системе классификации химических веществ [18], показало, что соединения были отнесены ко 2-му классу токсичности. Рассчитанные дозы LD50 коррелируют с дозами, полученными по результатам анализа ADMETlab, но несколько отличаются. Расчетная летальная концентрация, вызывающая гибель 50% экспериментальных объектов в течение 96 ч (LC50 96 ч) для рыб Fathead minnow и расчетная летальная концентрация, вызывающая гибель 50% экспериментальных объектов в течение 48 ч (LC50 48 ч) для водных рачков Daphnia magna, составили менее 1 мг/л для всех соединений. Одним из дескрипторов этой модели, оказывающих значимое влияние на результат, является водорастворимость. Была показана крайне низкая растворимость (0,18 мг/л) для Диборнола, для остальных соединений она не превышала 100 мг/л. Поскольку водорастворимость определена как очень низкая, соответственно, все рассчитываемые показатели могут быть смещены в негативную сторону. Для Диборнола расчет острой токсичности (концентрация вещества, при которой подавляется 50% роста (IGC50) популяции инфузорий Tetrahymena pyriformis в течение 48 ч), не входит в область применения модели. Расчет коэффициента биоаккумуляции также был расценен как ненадежный для всех соединений. Расчет токсичности при приеме внутрь у крыс определил Диборнол как соединение, относящееся к 3-му классу токсичности, (3) – к 4-му классу, (2) – к 5-му классу токсичности. В то же время Диборнол был определен как соединение, не обладающее токсичностью в период развития организма (Developmental toxicant).

Сервер ProTox\_II показал значения острой токсичности при приеме внутрь у крыс для соединений (2) и

Литература

- Шмырев В.И., Крыжановский С.М. Антиоксиданты в комплексной терапии острого периода ишемического инсульта. Эффективная фармакотерапия. 2010;(18):12–16.
- 2. Чуканова Е.И., Ходжамжаров Б.Э., Чуканова А.С. Современные возможности коррекции оксидантного стресса при острой ишемии головного мозга. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2012;112(11):79–82.

(3) – 2800 мг/кг с вероятностью, равной 94%, для Диборнола – 4800 мг/кг с вероятностью, равной 70%. Предсказанная низкая токсичность Диборнола была подтверждена в экспериментальных исследованиях, поскольку согласно исследованиям, проведенным по изучению острой токсичности Диборнола при внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении у мышей, смертности в группах экспериментальных животных не наблюдалось, а LD50 не была достигнута [19].

#### Заключение

Результаты оценки веществ с потенциальными гемореологическими и цитопротекторными свойствами показали вероятную кардиотоксичность для 2-((ди-н-бутил амино)метил)-6-изоборнил-4-метилфенола и гепатотоксичность для 2-гидрокси-3-изоборнил-5-метилбензальдегида, а также способность к сенсибилизации кожи для обоих соединений. Проникновение через гематоэнцефалический барьер считается негативной характеристикой, а в случае терапии нарушений мозгового кровообращения, напротив, является желательным, с точки зрения развития цитопротективного эффекта. Диборнол обладает крайне низкой растворимостью в воде, что занижает его оценку как потенциального лекарственного средства. Оценка острой токсичности изученных соединений неоднозначна за счет изоборнилфенольного радикала и сильно отличается в разных программах. На основе суммарной оценки рассчитанных параметров фармакокинетики и токсичности дальнейшее доклиническое изучение 2-гидрокси-3изоборнил-5-метилбензальдегида и 2-((ди-н-бутиламино) метил)-6-изоборнил-4-метилфенола может быть признано нецелесообразным, а 2,6-диизоборнил-4-метилфенола (Диборнол) – потенциально перспективным.

- Новикова Н. Дисфункция эндотелия новая мишень медикаментозного воздействия при сердечно-сосудистых заболеваниях. Врач. 2005;8:51–53.
- Хабарова А.А., Быстров М.В., Хасанова Н.М., Орлова С.Н. Клинические рекомендации по диагностике и лечению пострадавших с острыми нарушениями мозгового кровообращения в чрезвычайных ситуациях. М.; 2015:16.
- Щетинин П.П., Щетинина А.П. Механизмы реализации антирадикальной активности пространственно затрудненных фенолов.

- Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2016;12(3):112–114.
- Мазалецкая Л.И., Шелудченко И.Н., Шишкина Л.Н., Кучин А.В., Федорова А.В., Чукичева И.Ю. Кинетические характеристики реакции изоборнилфенолов с пероксирадикалами. Нефтехимия. 2011;51(5):354—359.
- Луцкий М.А., Земсков А.М., Разуваева В.В., Лушникова Ю.П., Карпова О.Ю. Окислительный стресс-индикатор метаболических нарушений в патогенезе мозгового инсульта. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. 2016;116(8):24–29. DOI: 10.17116/jnevro20161168224-29.
- Сеткина С.Б., Хишова О.М. Биофармацевтические аспекты технологии лекарственных средств и пути модификации биодоступности. Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2014;13(4):162–172.
- Gurjar V.K., Pal D. Design, in silico studies, and synthesis of new 1.8-naphthyridine-3-carboxylic acid analogues and evaluation of their H1R antagonism effects. RSC Advances. 2020;10(23):13907–13921. DOI: 10.1039/D0RA00746C.
- Раевский О.А. Физико-химические дескрипторы в предсказании ADMET характеристик лекарственных веществ. Психофармакология и биологическая наркология. 2007;7(4):2-1913-2-1913.
- Mayr F., Vieider C., Temml V., Stuppner H., Schuster D. Open-access activity prediction tools for natural products. Case Study: hERG Blockers. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* 2019;110:177–238. DOI: 10.1007/978-3-030-14632-0 6.
- Buravlev E.V., Chukicheva I.Y., Kutchin A.V. Simple resolution of racemic salicylic aldehydes having an isobornyl substituent. Synthetic Communications. 2009;39(20):3639–3646. DOI: 10.1080/00397910902792648.
- 13. Шевченко О.Г., Плюснина С.Н., Буравлев Е.В., Чукичева И.Ю.,

#### References

- Shmyrev V.I., Kryzhanovsky S.M. Antioxidants in the complex therapy of the acute period of ischemic stroke. Effective Pharmacotherapy. 2010;(18):12–16 (In Russ.).
- Chukanova E.I., Khodzhamzharov B.E., Chukanova A.S. Current possibilities of correction of oxidative stress in acute cerebral ischemia. S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. 2012;112(11):79–82 (In Russ.).
- Novikova N. Endothelial dysfunction a new target of drug exposure in cardiovascular diseases. Vrach. 2005;8:51–53 (In Russ.).
- Khabarova A.A., Bystrov M.V., Khasanova N.M., Orlova S.N. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of patients with acute cerebrovascular accidents in emergency situations. Moscow; 2015:16 (In Russ.).
- Shchetinin P.P., Shchetinina A.P. Mechanisms of realization of antiradical activity of hindered phenols. Actual Problems of the Humanities and Natural Sciences. 2016;12(3):112–114 (In Russ.).
- Mazaletskaya L.I., Sheludchenko I.N., Shishkina L.N., Kuchin A.V., Fedorova A.V., Chukicheva I.Yu. Kinetic characteristics of the reaction of isobornylphenols with peroxyradicals. *Petrochemistry*. 2011;51(5):354–359 (In Russ.).
- Lutsky M.A., Zemskov A.M., Razuvaeva V.V., Lushnikova Yu.P., Karpova O.Yu. Oxidative stress is an indicator of metabolic disorders in the pathogenesis of cerebral stroke. S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. Special Issues. 2016;116(8):24–29 (In Russ.). DOI: 10.17116/ jnevro20161168224-29.
- Setkina S.B., Khishova O.M. Biopharmaceutical aspects of drug technology and ways of modifying bioavailability. Bulletin of Vitebsk State Medical University. 2014;13(4):162–172 (In Russ.).
- Gurjar V.K., Pal D. Design, in silico studies, and synthesis of new 1.8-naphthyridine-3-carboxylic acid analogues and evaluation of their H1R antagonism effects. RSC Advances. 2020;10(23):13907–13921. DOI: 10.1039/D0RA00746C.
- Raevsky O.A. Physicochemical descriptors in predicting ADMET characteristics of medicinal substances. Psychopharmacology and Biological Narcology. 2007;7(4):2-1913-2-1913 (In Russ.).

#### Информация о вкладе авторов

Острикова О.И. – разработка концепции и дизайна исследования, получение, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания.

Ваизова О.Е., Алиев О.И. – участие в переработке статьи и выполнении интеллектуально значимой работы, окончательное утверждение

- Федорова И.В., Щукина О.В. и др. Закономерности «структура гемолитическая активность» производных изоборнилфенолов. Известия Академии наук. Серия химическая. 2017;66(10):1881–1890. DOI: 10.1007/s11172-017-1962-x.
- Plotnikov M.B., Aliev O.I., Sidekhmenova A.V., Popova E.V., Ostrikova O.I., Kuchin A.V. et al. Synthesis and antiradical and hemorheological activity of compounds based on 2,6-diisobornyl- 4-methylphenol and polysaccharides. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;51(10):863–866. DOI: 10.1007/s11094-018-1705-9.
- Dong J., Wang N.-N., Yao Z.-J., Zhang L., Cheng Y., Ouyang D. et al. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *J. Cheminform*. 2018;10(1):29. DOI: 10.1186/s13321-018-0283-x.
- Sushko I., Novotarskyi S., Körner R., Pandey A.K., Cherkasov A., Li J. et al. Applicability domains for classification problems: Benchmarking of distance to models for AMES mutagenicity set. *J. Chem. Inf. Model.* 2010;50(12):2094–2111. DOI: 10.1021/ci100253r.
- 17. Чернышева Г.А., Смольякова В.И., Яновская Е.А., Кучин А.В., Чукичева И.Ю., Удут В.В. и др. Биодоступность фенольного антиоксиданта 4-метил-2,6-диизоборнилфенола при пероральном введении. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016;161(4):494–496.
- Согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки химических веществ (СГС). Шестое пересмотренное издание. Организация Объединенных Наций; 2017. URL: http://www. unece.org/ru/trans/danger/publi/ghs/ghs\_rev07/07files\_e0.html (дата обращения: 12.09.2020).
- Иванов И.С. Нейропротекторная и антитромбогенная активность 4-метил-2,6-диизоборнилфенола: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск; 2009:23.
- Mayr F., Vieider C., Temml V., Stuppner H., Schuster D. Open-access activity prediction tools for natural products. Case Study: hERG Blockers. Prog. Chem. Org. Nat. Prod. 2019;110:177–238. DOI: 10.1007/978-3-030-14632-0 6.
- Buravlev E.V., Chukicheva I.Y., Kutchin A.V. Simple resolution of racemic salicylic aldehydes having an isobornyl substituent. Synthetic Communications. 2009;39(20):3639–3646. DOI: 10.1080/00397910902792648.
- Shevchenko O.G., Plyusnina S.N., Buravlev E.V., Chukicheva I.Yu., Fedorova I.V., Shchukina O.V. et al. Structure – hemolytic activity relationships in isobornylphenols derivatives. *Russian Chemical Bulletin*. 2017;10:1881–1890 (In Russ.). DOI: 10.1007/s11172-017-1962-x.
- Plotnikov M.B., Aliev O.I., Sidekhmenova A.V., Popova E.V., Ostrikova O.I., Kuchin A.V. et al. Synthesis and antiradical and hemorheological activity of compounds based on 2,6-diisobornyl- 4-methylphenol and polysaccharides. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;51(10):863–866. DOI: 10.1007/s11094-018-1705-9.
- Dong J., Wang N.-N., Yao Z.-J., Zhang L., Cheng Y., Ouyang D. et al. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *J. Cheminform*. 2018;10(1):29. DOI: 10.1186/s13321-018-0283-x.
- Sushko I., Novotarskyi S., Körner R., Pandey A.K., Cherkasov A., Li J. et al. Applicability domains for classification problems: Benchmarking of distance to models for AMES mutagenicity set. *J. Chem. Inf. Model.* 2010;50(12):2094–2111. DOI: 10.1021/ci100253r.
- Chernysheva G.A., Smolkova V.I., Yanovskaya E.A., Kuchin A.V., Chukicheva I.Yu., Udut V.V. et al. Oral bioavailability of the phenolic antioxidant 4-methyl-2,6-diisobornylphenol. *Bulletin of Experimental Biology* and Medicine. 2016;161(4):505–507 (In Russ.). DOI: 10.1007/s10517-016-3448-5
- Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS). Sixth revised edition. United Nations; 2017. URL: http://www.unece.org/ru/trans/danger/publi/ghs/ghs\_rev07/07files\_e0.html (available at 12.09.2020) (In Russ.).
- Ivanov I.S. Neuroprotective and antithrombogenic activity of 4-methyl-2.6-diisobornylphenol: Abstr. ... Cand. Sci. (Biol.). Tomsk; 2009:23 (In Russ.).

#### Information on author contributions

Ostrikova O.I. – development of study concept and design, verification of essential intellectual content, generation, analysis, and interpretation of data, and final approval of the manuscript for publication.

Vaizova O.E., Aliev O.I. – participation in the revision of the article and the performance of intellectually significant work.

содержания для публикации рукописи.

Буравлев Е.В., Чукичева И.Ю., Кучин А.В. – разработка оригинальных молекул и синтез вещества, участие в подготовке рукописи.

Buravlev E.V., Chukicheva I.Yu., Kuchin A.V. – development of original molecules and synthesis of substances, participation in the preparation of the manuscript.

#### Сведения об авторах

Острикова Ольга Ивановна, ассистент, кафедра медицинской и биологической кибернетики, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0002-3147-4044.

E-mail: ostrikolga@mail.ru.

Ваизова Ольга Евгеньевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра фармакологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0003-4083-976X

E-mail: vaizova@mail.ru.

Алиев Олег Ибрагимович, д-р мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория фармакологии кровообращения, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0001-9788-1235.

E-mail: oal67@yandex.ru.

Буравлев Евгений Владимирович, канд. хим. наук, старший научный сотрудник, лаборатория органического синтеза и химии природных соединений, Институт химии Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». ORCID 0000-0002-7580-982X.

E-mail: eugeneburavlev@gmail.com.

Чукичева Ирина Юрьевна, д-р хим. наук, профессор РАН, главный научный сотрудник, лаборатория органического синтеза и химии природных соединений, Институт химии Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». ORCID 0000-0002-7346-0812.

E-mail: chukichevaiy@mail.ru.

Кучин Александр Васильевич, д-р хим. наук, профессор, чл.-корр. РАН, заведующий лабораторией органического синтеза и химии природных соединений, Институт химии Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». ORCID 0000-0003-4322-7961.

E-mail: kutchin-av@mail.ru.

Острикова Ольга Ивановна, e-mail: ostrikolga@mail.ru.

Поступила 28.09.2020

#### Information about the authors

**Olga I. Ostrikova**, Assistant Professor, Department of Medical and Biological Cybernetics, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0002-3147-4044.

E-mail: ostrikolga@mail.ru.

Olga E. Vaizova, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Pharmacology, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0003-4083-976X.

E-mail: vaizova@mail.ru.

**Oleg I. Aliev,** Dr. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, Laboratory of Pharmacology of Blood Circulation, Research Institute of Pharmacology and Regenerative. E.D. Goldberg, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, ORCID 0000-0001-9788-1235.

E-mail: oal67@yandex.ru.

**Evgeny V. Buravlev,** Cand. Sci. (Chem.), Senior Research Scientist, Laboratory of Organic Synthesis and Chemistry of Natural Compounds, Institute of Chemistry, Komi Science Center, Ural Branch of Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-7580-982X.

E-mail: eugeneburavlev@gmail.com.

**Irina Yu. Chukicheva,** Dr. Sci. (Chem.), Professor of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher, Laboratory of Organic Synthesis and Chemistry of Natural Compounds, Institute of Chemistry, Komi Science Center, Ural Branch of Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-7346-0812.

E-mail: chukichevaiy@mail.ru.

Aleksandr V. Kutchin, Dr. Sci. (Chem.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of Laboratory of Organic Synthesis and Chemistry of Natural Compounds, Institute of Chemistry, Komi Science Center, Ural Branch of Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0003-4322-7961.

E-mail: kutchin-av@mail.ru.

Signal I. Ostrikova, e-mail: ostrikolga@mail.ru.

Received September 28, 2020