Математическая биология и биоинформатика
2024. Т. 19. № 2. С. 533–564. doi: 10.17537/2024.19.533

========== МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ==========

Моделирование дифференциального влияния аллелей гена *CYP2C9* на метаболизм лозартана

Бабаев Д.С.[1], Кутумова Е.О.[1,2,3], Колпаков Ф.А.[1,2]

[1]*Научный центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», Сириус, Краснодарский край, Россия*
[2]*Федеральный исследовательский центр информационных и вычислительных технологий, Новосибирск, Россия*
[3]*ООО Биософт.Ру, Новосибирск, Россия*

Аннотация. Артериальная гипертензия – мультифакторное заболевание, характеризующееся повышенным систолическим и/или диастолическим давлением. Эта патология свойственна примерно одному миллиарду человек по всему миру. Также артериальная гипертензия считается основным фактором развития различных сердечно-сосудистых заболеваний, которые являются основной причиной смерти населения и от которых погибает примерно 17 миллионов человек ежегодно. Для контроля этого заболевания используют различные антигипертензивные препараты, одним из которых является лозартан. Он относится к классу селективных блокаторов AT1-рецепторов ангиотензина II. Лозартан в основном метаболизируется в печени с помощью фермента CYP2C9, принадлежащего к суперсемейству цитохромов P450, до фармакологически активного метаболита – карбоксилозартана (E-3174). Ген *CYP2C9* обладает высокой полиморфностью: аннотировано множество однонуклеотидных полиморфизмов этого гена, приводящих к заметной вариабельности каталитической активности соответствующего фермента по отношению к его субстратам. В данной работе проводится математическое моделирование метаболизма перорально принятого лозартана до E-3174 с учетом комбинаций наиболее распространенных аллелей *CYP2C9*: *CYP2C9*1*, *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*. Было показано, что в зависимости от генотипа по *CYP2C9* фармакокинетика лозартана и его метаболита существенно различалась, что подтверждается экспериментальными данными. Значительно меньше метаболита образовывалось у пациентов, являющихся носителями аллеля *CYP2C9*3*, в то время как наличие аллеля *CYP2C9*2* не настолько сильно изменяло фармакокинетику лозартана по сравнению с генотипом дикого типа. Моделирование проводилось в программном комплексе BioUML. Разработанная модель способна с хорошей точностью предсказывать фармакокинетику лозартана для пациентов с различными аллельными вариантами гена *CYP2C9*, что является важным для персонализации лекарственной терапии артериальной гипертензии.

Ключевые слова: *артериальная гипертензия, лозартан, фармакокинетика, CYP2C9, математическое моделирование, BioUML.*

ВВЕДЕНИЕ

Суперсемейство цитохромов P450 (CYPs) включает в себя ферменты, способные катализировать окислительную биотрансформацию большинства лекарственных средств и других липофильных ксенобиотиков, и поэтому имеет особое значение для клинической фармакологии [1]. Большинство генов этого суперсемейства у человека, сгруппированные в соответствии со сходством их последовательностей в 18 семейств и

44 подсемейства, выполняют специфические эндогенные функции, включая биосинтез стероидных гормонов, простагландинов, желчных кислот и других соединений [2]. Однако только небольшая часть этих ферментов, принадлежащих к семействам 1, 2 и 3 (CYP1, -2 и -3), участвует в окислительном метаболизме лекарств. CYP2C представляет собой подсемейство семейства CYP2 [3] и содержит четыре фермента: CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 и CYP2C19. Среди этого подсемейства CYP2C9 является основным ферментом, на долю которого приходится около 20 % всех цитохромов P450 в печени человека и который отвечает за метаболизм примерно 13–17 % всех клинических лекарственных препаратов [4, 5]. Он участвует в метаболизме таких веществ как S-варфарин, фенитоин, толбутамид, глипизид, глибурид, торасемид, лозартан и некоторых других [6].

Ген *CYP2C9* расположен на участке q^{24} 10 хромосомы ($10q^{24}$) [7], занимает 55 т.п.о., состоит из 9 экзонов (GenBank accession numbers L16877–L16883) и кодирует белок, состоящий из 490 аминокислотных остатков, весом 55.5 кДа[1]. В этом гене было идентифицировано множество однонуклеотидных полиморфизмов (SNP, single nucleotide polymorphisms), которые значительно изменяют фармакокинетику и метаболизм некоторых субстратов этого фермента [8]. На данный момент аннотировано 85 аллелей гена *CYP2C9*, которые обладают различной каталитической активностью[2].

Аллель дикого типа обозначается как *CYP2C9*1* [8]. Замена цитозина (C) на тимин (T) в 430 положении в третьем экзоне этого гена влечёт за собой замену аргинина (Arg) на цистеин (Cys) в 144 положении белка CYP2C9. Такой аллель обозначается как *CYP2C9*2* [9, 10]. Изофермент с заменой аденина (A) на цитозин (C) в 1075 положении (седьмой экзон) называется CYP2C9*3. У такого белка, в отличие от CYP2C9*1, в 359 положении находится не изолейцин (Ile), а лейцин (Leu) [11]. Эти два аллеля являются наиболее распространёнными вариантами гена *CYP2C9*, белковые продукты которых обладают пониженной каталитической активностью по отношению к своим субстратам в сравнении с *CYP2C9*1*. Частоты этих аллельных вариантов значительно различаются в разных этнических группах. У европеоидов частоты *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* составляют около 8–14 % и 4–16 % соответственно [12]. У азиатов аллель *CYP2C9*2* практически полностью отсутствует, а частота *CYP2C9*3* составляет около 1–4 %. Помимо этих двух аллелей с пониженной функцией существует и множество других вариантов с низкой частотой встречаемости у разных популяций. Например, примерно 2 % всего населения Китая являются носителями аллеля *CYP2C9*13* [13]. Информация об аллелях *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* суммирована в таблице 1.

Таблица 1. Характеристики аллелей *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*

Название аллеля	rsID	Нуклеотидная замена	Расположение замены в гене	Аминокислотная замена	Частота встречаемости у европеоидов	Частота встречаемости у азиатов
*CYP2C9*2*	rs1799853	C430T	3 экзон	Arg144Cys	8–14 %	~ 0 %
*CYP2C9*3*	rs1057910	A1075C	7 экзон	Ile359Leu	4–16 %	1–4 %

rsID (reference SNP cluster ID), уникальный номер однонуклеотидного полиморфизма.

Как уже было упомянуто выше, одним из лекарств, которое метаболизируется с помощью CYP2C9, является лозартан. Однако данные, полученные *in vitro*, свидетельствуют о том, что, помимо CYP2C9, в метаболизме лозартана также

[1] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000762.2

[2] https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C9

принимает участие другой фермент из суперсемейства цитохромов P450 – CYP3A4 [14, 15]. Для того чтобы выяснить, насколько велик вклад каждого фермента в биотрансформацию лозартана, был проведён ряд исследований. Показано, что такие ингибиторы CYP3A4, как итраконазол [16], эритромицин [17] и циметидин [18], незначительно влияют на фармакокинетику лозартана *in vivo*. В то же время ингибиторы CYP2C9, такие как буколом [19] и амодиаквин [20], оказывают значительное влияние на метаболизм этого лекарственного препарата. Таким образом, можно заключить, что мажорная роль в биотрансформации лозартана отводится CYP2C9.

Лозартан является высокоселективным антагонистом AT1-рецепторов ангиотензина II, используемым для лечения артериальной гипертензии [21]. Лозартан метаболизируется до карбоксилозартана (E-3174) через промежуточное карбонильное соединение (E-3179) [15, 22, 23]. Считается, что именно E-3174 оказывает основной фармакологический эффект, т.к. он обладает в 10–40 раз большей активностью блокирования AT1-рецепторов, чем лозартан, а также имеет более длительный период полураспада [24]. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что при экспрессии аллелей *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* кинетика превращения лозартана в E-3174 значительно отличается от той, что наблюдается при действии аллеля дикого типа [22, 25]. Это позволяет предположить, что индивиды, которые являются носителями этих аллелей, могут иметь существенные различия в фармакокинетике лозартана по сравнению с лицами, являющимися носителями двух аллелей дикого типа.

Ранее авторами Eleni Karatza и Vangelis Karalis была создана фармакокинетическая модель, состоящая из четырех компартментов и описывающая распределение лозартана и E-3174 [26]. Основной целью данной модели было описание вторичных максимумов, наблюдающихся в графиках зависимости концентрации лозартана и его метаболита в крови от времени, прошедшего после перорального приема лекарства. Это было реализовано с помощью уравнения синусоиды, описывающего циклы открытия-закрытия пилорического клапана желудка. Однако данная модель не учитывала генетические факторы, в том числе различную активность аллелей *CYP2C9*. Поэтому цель текущего исследования состояла в модификации этой модели для того, чтобы не только предсказывать концентрацию в плазме лозартана и его метаболита в разные временные промежутки после перорального приема лекарства, но и учитывать генотип по *CYP2C9* конкретного пациента, что может оказывать значительное влияние на фармакокинетику лекарственного препарата. Для моделирования мы использовали программное обеспечение BioUML [27, 28] — платформу, активно применяемую для визуального представления и вычислительного анализа сложных биологических систем [29–37].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Описание модели:

Диаграмма исходной модели [26] была перенесена в программный комплекс BioUML в SBML-формате [38]; она представлена на рисунке 1.

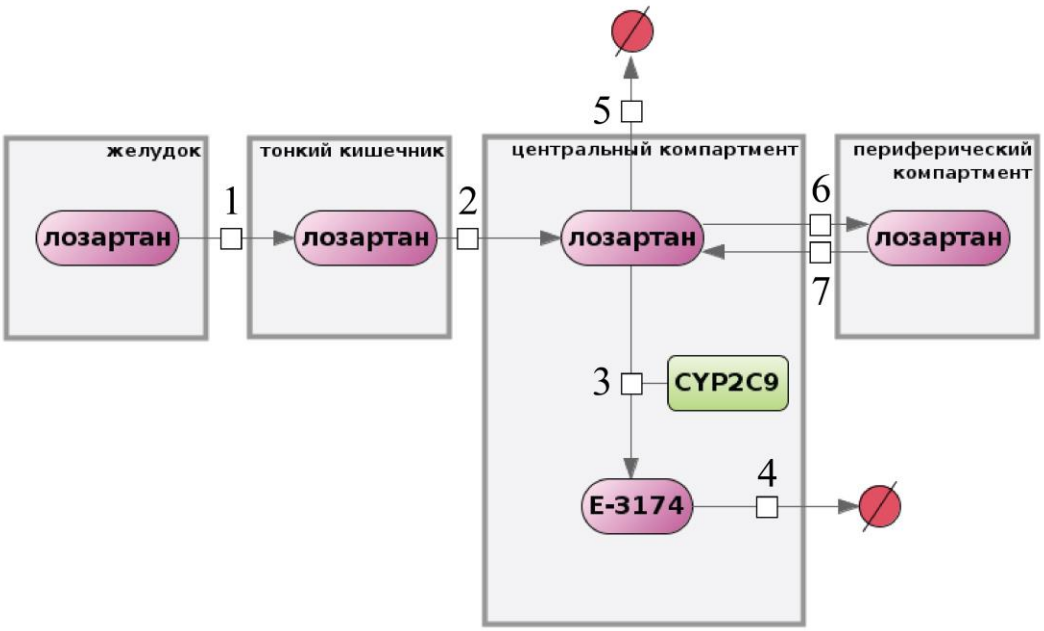

Рис. 1. Реализация исходной модели в BioUML. Цифрами от 1 до 7 обозначены уравнения реакций, серыми прямоугольниками обозначены компартменты модели, фиолетовые овалы символизируют вещества в различных компартментах модели, зеленый прямоугольник обозначает фермент CYP2C9, преобразующий лозартан в E-3174, а перечеркнутые красные круги обозначают удаленные из системы вещества.

Модель состоит из четырёх компартментов: желудок, тонкий кишечник, центральный и периферический компартменты. В этих компартментах находятся два вещества: лозартан и E-3174, которые связаны между собой с помощью уравнений реакций первого порядка (на рисунке 1 обозначены цифрами от 1 до 7). Подробное описание каждого уравнения и значения всех переменных, входящих в эти уравнения, приводятся в таблицах A1 и A2 приложения A соответственно.

Также модель включает в себя дискретные события, алгебраические уравнения и начальные условия, которые используются при числовом решении модели. Описание математических инструментов, а также обозначения всех переменных, входящих в них, приводятся в таблицах A3 и A4 приложения A соответственно.

Исходная модель из работы [26], а также модель, учитывающая влияние различных аллелей *CYP2C9*, описанная в данной работе, доступны в SBML-формате в базе данных BioModels [39] по ID MODEL2412180001[3] и MODEL2412180002[4] соответственно.

Оптимизация параметров модели

Для решения обратной задачи идентификации параметров модели на основе экспериментально измеренных переменных применяются методы нелинейной оптимизации.

Данная задача сводится к нахождению минимума целевой функции расстояний (objective function), которая вычисляется путем суммирования квадратов расстояний от

[3] https://www.ebi.ac.uk/biomodels/MODEL2412180001
[4] https://www.ebi.ac.uk/biomodels/MODEL2412180002

экспериментальных точек до точек, предсказанных моделью. Если задача требует рассмотрения дополнительных ограничений, накладываемых на те или иные переменные модели, используется штрафная функция (penalty function), которая оценивает степень их выполнимости.

В программный комплекс BioUML интегрированы несколько методов оптимизации:

1. SRES (Stochastic Ranking Evolutionary Strategy, эволюционная стратегия-(μ, λ) на основе стохастичекого ранжирования) [40];
2. DIRECT алгоритм [41];
3. Quadratic Hill-climbing (метод квадратичного подъема на холм) [42];
4. MOPSO (Multi-objective particle swarm optimization, метод роя частиц) [43];
5. MOCell (Multi-objective cellular genetic algorithm, клеточный генетический алгоритм) [44];
6. ASA (Adaptive simulated annealing, адаптивный метод имитации отжига) [45].

Наиболее подходящими для подбора оптимальных значений переменных модели в текущей работе являлись SRES, MOPSO и MOCell, т.к. они, в силу своей стохастической природы, достаточно быстро осуществляют глобальный поиск решения задачи оптимизации. Для вычислений мы выбрали один из них (SRES).

Идентифицируемость параметров

После идентификации параметров модели на основе экспериментальных данных важно понять, насколько точно они были оценены с точки зрения количества и качества данных. Для этого проводится исследование этих параметров на идентифицируемость. Численный метод определения идентифицируемости параметров [46, 47] интегрирован в платформу BioUML.

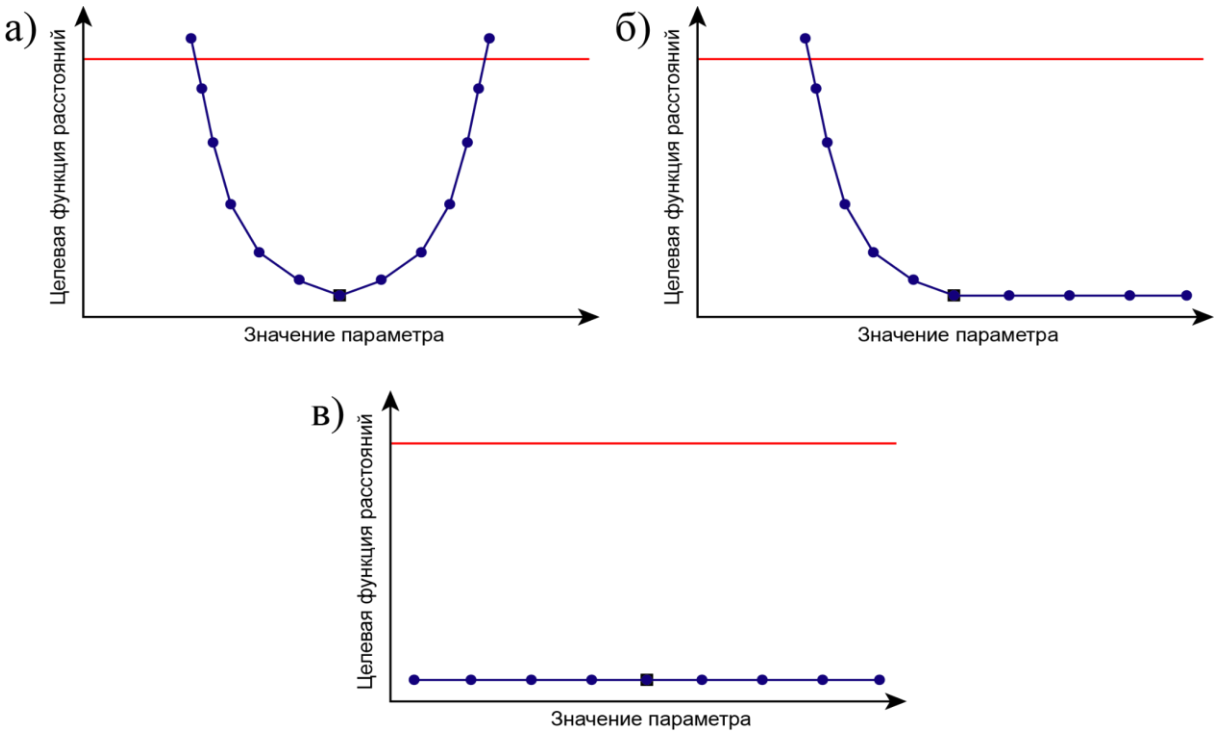

Рис. 2. Классификация параметров по идентифицируемости: **а**) идентифицируемый, **б**) частично неидентифицируемый и **в**) неидентифицируемый. Красной линией обозначено пограничное значение целевой функции расстояний, определяемое как некий допустимый процент отклонения от лучшего найденного моделью значения (с экспериментальной точки зрения может, например, означать допустимую погрешность в результатах эксперимента).

Суть этого метода заключается в следующем: 1) проводится стартовая оптимизация выбранных параметров, 2) фиксируется найденное в ходе оптимизации значение одного из параметров модели, а остальные параметры снова оптимизируются; в итоге мы получаем значение целевой функции на так называемом нулевом шаге идентификации параметра, и 3) последовательно с определенным шагом сначала влево, а потом вправо в рамках заданного диапазона поиска фиксируются другие значения этого же параметра, а остальные параметры оптимизируются для нахождения нового значения целевой функции; данный процесс останавливается, если значение параметра достигает границы рассматриваемого диапазона или значение целевой функции превысит установленный порог. В результате анализа параметры могут быть классифицированы на идентифицируемые (и увеличение, и уменьшение параметра существенно влияет на качество аппроксимации экспериментальных данных, что характеризуется превышением целевой функцией допустимого порога, рис. 2,а), частично неидентифицируемые (целевая функция превышает порог только при увеличении или только при уменьшении параметра, рис. 2,б) и неидентифицируемые (при любом значении параметра целевая функция не превышает порог, рис. 2,в).

Анализ чувствительности

Для проверки чувствительности результатов симуляции модели к изменению параметров, мы произвели расчет относительных коэффициентов чувствительности (*SS*) по формуле [48]:

$$SS = \frac{C_{SS}(\alpha + \Delta\alpha) - C_{SS}(\alpha)}{\Delta\alpha} \cdot \frac{\alpha}{C_{SS}(\alpha)},$$

где α – исходное значение заданного параметра, $\Delta\alpha = 10^{-6}$ – величина возмущения, вносимого в это значение, $C_{ss}(\alpha)$ и $C_{ss}(\alpha + \Delta\alpha)$ – симулируемые значения исследуемой на чувствительность переменной в заданной временной точке при исходном и возмущенном значениях параметра соответственно.

Фармакокинетический анализ

Верификация модели проводилась на основе сравнения основных фармакокинетических параметров, предсказываемых моделью, и значений этих параметров из клинических испытаний [25]. Параметры, используемые нами для верификации модели, а также их описание представлены в таблице 2.

Таблица 2. Фармакокинетические параметры, используемые для верификации модели

Фармакокинетический параметр	Описание
AUC	Area under the concentration-time curve, площадь под графиком зависимости концентрации вещества в плазме от времени, прошедшего после перорального приема лекарства
AUC_{ratio}	Отношение $AUC_{лозартан}$ к $AUC_{E\text{-}3174}$
C_{max}	Максимальная концентрация в плазме
$t_{1/2}$	Период полураспада вещества
t_{max}	Время, прошедшее после перорального приема лекарства, через которое наблюдалась максимальная концентрация в плазме

C_{max} и t_{max} были подсчитаны по результатам симуляции модели с использованием кода, написанного на языке JavaScript в программе BioUML.

Значение *AUC* определялось для лозартана ($AUC_{лозартан}$) и E-3174 ($AUC_{E\text{-}3174}$) при помощи дифференциальных уравнений:

$$\frac{d\left(AUC_{\text{лозартан}}\right)}{dt} = C\_p\,,\ \frac{d\left(AUC_{\text{E-3174}}\right)}{dt} = C\_m\,.$$

Для расчета AUC_{ratio} была использована кусочно-непрерывная функция. Такой вид функции был необходим, т.к. модель была реализована с помощью дифференциальных уравнений с задержкой конверсии лозартана в Е-3174, в результате чего на первых шагах симуляции как концентрация, так и значение *AUC* для Е-3174 равнялись нулю. Формула, используемая для расчета AUC_{ratio}, представлена ниже:

$$AUC_{\text{ratio}} = \begin{cases} 0, \ \textit{если}\ C\_m = 0, \\ \dfrac{AUC_{\text{лозартан}}}{AUC_{\text{E-3174}}}, \ \textit{если иначе.} \end{cases}$$

Вычисление $t_{1/2}$ проводилось в два этапа:

1) для конечной линейной части полулогарифмического графика зависимости концентрации вещества от времени была построена линия линейной регрессии (для ее расчета использовались временные точки 12, 16, 20 и 24 ч);

2) с помощью этой линии регрессии был вычислен период полураспада по следующей формуле:

$$t_{1/2} = \frac{\left(t_2 - t_1\right)\cdot \ln\left(2\right)}{\ln\left(\dfrac{C_1}{C_2}\right)},$$

где C_1 и C_2 – концентрации вещества в моменты времени t_1 и t_2 на линии регрессии [49].

Все расчеты проводились при помощи кода, написанного на языке JavaScript в программе BioUML.

Оцифровка графиков

Для обучения нашей модели мы использовали экспериментальные данные о концентрации лозартана и его активного метаболита в плазме крови после разовой пероральной дозы 50 мг лозартана калия у индивидов с гомозиготными генотипами по *CYP2C9*: *CYP2C9*1/CYP2C9*1*, *CYP2C9*2/CYP2C9*2* и *CYP2C9*3/CYP2C9*3*. Мы смогли найти всего одну статью, в которой были представлены графики для всех трех таких генотипов [25].

Для получения значений экспериментальных точек в численном виде использовалась программа для цифровизации данных Plotdigitizer[5]. При визуальном анализе данных для лучшего обучения модели было принято решение о выбросе первой точки для лозартана у генотипа *CYP2C9*2/CYP2C9*2*, т.к. в этой точке концентрация лозартана была равна 860 нМ сразу же после перорального приема лекарства, т.е. всасывание происходило мгновенно, чего на самом деле быть не может, т.к. препарату нужно какое-то время, чтобы попасть из желудка в кишечник, а затем в кровь. Также максимальные значения концентраций лозартана и Е-3174, представленные на графиках, были заменены табличными значениями их максимальных концентраций для соответствующих генотипов из этой же работы для получения наиболее правдоподобных результатов. Оцифрованные данные для генотипов *CYP2C9*1/CYP2C9*1*, *CYP2C9*2/CYP2C9*2* и *CYP2C9*3/CYP2C9*3* представлены в таблице А5 приложения А.

[5] https://plotdigitizer.com/app

РЕЗУЛЬТАТЫ

Реализация и валидация модели

Воспроизведение модели [26] осуществлялось в локальной версии 2023.3 BioUML[6] при использовании расширенной графической нотации SBGN [50], в которую были добавлены типы вершин графа для представления уравнений и событий. Описание модели дано в разделе “Материалы и Методы” (рис. 1; таблицы А1–А4 приложения А). Исходная модель была построена таким образом, чтобы максимально точно описывать кривые зависимости концентрации от времени лозартана и его метаболита в плазме крови после разового приема 100 мг лозартана калия перорально. При этом в клинических исследованиях [25] действия лозартана у индивидов с разными генотипами по гену *CYP2C9*, который играет главную роль в метаболизме препарата, использовалась дозировка 50 мг. Непосредственное изменение в модели дозировки лекарства со 100 на 50 мг показало существенное несоответствие между экспериментальными данными и предсказаниями модели (рис. А1 приложения А). Также в исходной модели не учитывались разные варианты аллелей *CYP2C9*. Таким образом, для доработки модели с целью учета генетических факторов *CYP2C9* необходимо было переопределить значения ее параметров.

Анализируя список этих параметров (таблица А2 в приложении А), мы пришли к выводу, что значение параметра b, входящего в уравнение синусоиды (уравнение 1 на рисунке 1), описывающее периодическое открытие-закрытие пилорического клапана желудка (таблицы А1 и А2 приложения А), имеет физиологическое обоснование: цикл мигрирующего моторного комплекса, регулярный паттерн моторики желудка во время голодания [51], в среднем варьируется от 85 до 115 минут [52], и при b = 3.95 (значение в исходной модели), получается период, попадающий в этот временной промежуток. Поэтому мы убрали данный параметр из списка оптимизируемых.

Кроме этого, параметр k_m, входящий в уравнение 3 на рисунке 1, – это кинетическая константа первого порядка, характеризующая скорость превращения лозартана в Е-3174, т.е. фактически он соответствует активности CYP2C9. Поэтому для каждого эксперимента, а именно для каждого из трех гомозиготных генотипов, мы искали уникальное значение этого параметра. Итоговые значения k_m для каждого генотипа представлены ниже:

$$k\_m(CYP2C9*1/CYP2C9*1) = 1.056\ ч^{-1},$$
$$k\_m(CYP2C9*2/CYP2C9*2) = 0.823\ ч^{-1},$$
$$k\_m(CYP2C9*3/CYP2C9*3) = 0.025\ ч^{-1}.$$

Оптимизированные значения всех остальных параметров перечислены в таблице А6 приложения А.

[6] https://wiki.biouml.org/index.php/Download

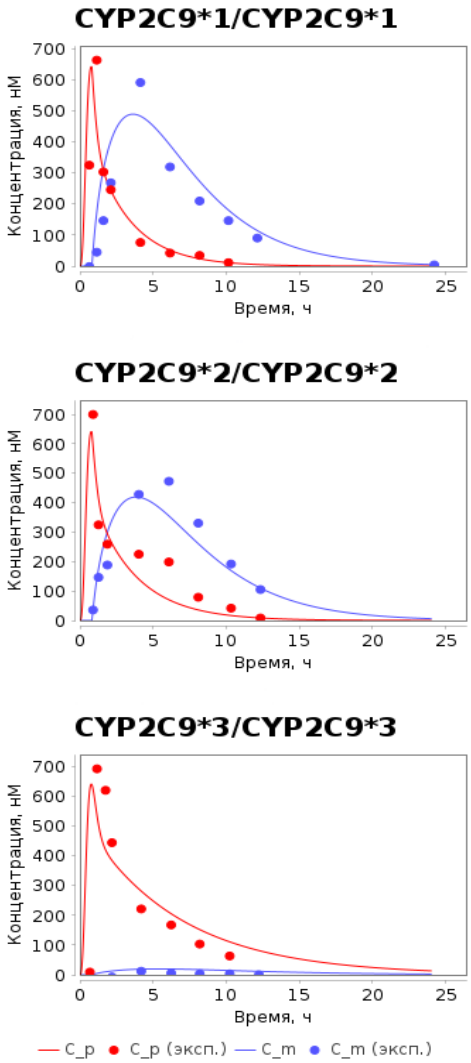

Рис. 3. Соответствие предсказанных и экспериментально полученных концентраций лозартана и Е-3174 для трех генотипов по *CYP2C9* после разовой пероральной дозы 50 мг лозартана калия. C_p и C_m – предсказанные моделью значения концентраций в плазме лозартана и Е-3174 соответственно, C_p (эксп.) и C_m (эксп.) – экспериментально полученные значения концентраций в плазме лозартана и Е-3174 соответственно.

Графики зависимостей концентрации лозартана и Е-3174 от времени, прошедшего после разового перорального приема 50 мг лозартана калия для трех гомозигот по *CYP2C9*, предсказываемые моделью после переопределения параметров, а также экспериментально полученные данные для индивидов с теми же генотипами [25], представлены на рисунке 3. Как можно видеть из этого рисунка, результаты симуляции модели с достаточно высокой точностью описывают клинические данные.

Также для предсказанных моделью профилей лозартана и Е-3174 у гомозиготных генотипов были вычислены значения основных фармакокинетических параметров: *AUC*, AUC_{ratio}, C_{max}, $t_{1/2}$ и t_{max} (таблица 2). После чего мы провели их сравнение с аналогичными значениями, рассчитанными по экспериментально полученным данным [25] (таблица 3).

Как видно из таблицы 3, предсказанные моделью значения всех фармакокинетических параметров, кроме двух ($t_{1/2,\ E\text{-}3174}$ для *CYP2C9*1/CYP2C9*1* и AUC_{ratio} для *CYP2C9*3/CYP2C9*3*), попали в диапазон среднее ± *SD* экспериментальных значений. Предсказанное значение $t_{1/2,\ E\text{-}3174}$ для группы с генотипом *CYP2C9*1/CYP2C9*1* оказалось несколько меньше экспериментального диапазона, определяемого среднеквадратичным отклонением (2.7 против 4.0 ± 1.1 ч), и

соответствовало минимальному из всех полученных для этого параметра экспериментальных значений.

Стоит отметить, что в экспериментальной работе [25] численные значения $t_{max,\ лозартан}$ и $t_{max,\ E\text{-}3174}$ для разных генотипов не указаны, но говорится о том, что отличий между разными группами не наблюдалось. Поэтому для оценки правдоподобности моделируемых значений для пациентов с гомозиготными генотипами по *CYP2C9* в качестве $t_{max,\ лозартан}$ и $t_{max,\ E\text{-}3174}$ мы использовали временные точки максимальной концентрации веществ, приводимые авторами на графиках зависимости концентраций лозартана и E-3174 от времени. Т.к. для группы пациентов с гетерозиготными генотипами по *CYP2C9* подобные графики в работе [25] представлены не были, в качестве экспериментальных величин $t_{max,\ лозартан}$ и $t_{max,\ E\text{-}3174}$ в этом случае мы рассмотрели значения группы с генотипом *CYP2C9*1/CYP2C9*1*. Таким образом, мы выявили средние значения (*mean*) $t_{max,\ лозартан}$ и $t_{max,\ E\text{-}3174}$ для каждой группы, в то время как разброс значений (*SD*) среди пациентов оказался неизвестен, потому что пробы крови в исследовании брали через фиксированные временные промежутки после перорального приема лозартана (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 ч).

Таблица 3. Сравнение фармакокинетических параметров, полученных на клинических данных пациентов [25] и предсказанных моделью для гомозиготных генотипов

Генотип	Фармакокинетический параметр	Клинические данные: *mean* ± *SD*, диапазон	Предсказание модели
*CYP2C9*1/CYP2C9*1*	$C_{max,\ лозартан}$ (нМ)	675 ± 417, 328–1404	641.5
	$t_{max,\ лозартан}$ (ч)	0.9 ± 0.4	0.8
	$t_{1/2,\ лозартан}$ (ч)	1.9 ± 0.6, 1.2–2.9	1.8
	$AUC_{лозартан}$ (нмоль·ч/л)	1697 ± 1061, 522–3373	1393.9
	$C_{max,\ E\text{-}3174}$ (нМ)	603 ± 443, 282–1451	488.8
	$t_{max,\ E\text{-}3174}$ (ч)	3.9 ± 1.9	3.6
	$t_{1/2,\ E\text{-}3174}$ (ч)	4.0 ± 1.1, 2.7–5.9	2.7*
	$AUC_{E\text{-}3174}$ (нмоль·ч/л)	4346 ± 2584, 2162–9183	3996.6
	AUC_{ratio}	0.3 ± 0.1, 0.2–0.5	0.3
*CYP2C9*2/CYP2C9*2*	$C_{max,\ лозартан}$ (нМ)	713 ± 423, 448–1201	641.5
	$t_{max,\ лозартан}$ (ч)	0.6 ± 0.3	0.8
	$t_{1/2,\ лозартан}$ (ч)	2.0 ± 0.6, 1.3–2.5	2.1
	$AUC_{лозартан}$ (нмоль·ч/л)	1912 ± 438, 1419–2254	1584.0
	$C_{max,\ E\text{-}3174}$ (нМ)	486 ± 210, 256–669	419.5
	$t_{max,\ E\text{-}3174}$ (ч)	5.8 ± 2.9	3.8
	$t_{1/2,\ E\text{-}3174}$ (ч)	3.8 ± 1.2, 2.9–5.2	2.8
	$AUC_{E\text{-}3174}$ (нмоль·ч/л)	4104 ± 2097, 1931–6116	3640.5
	AUC_{ratio}	0.6 ± 0.5, 0.33–1.2	0.4
*CYP2C9*3/CYP2C9*3*	$C_{max,\ лозартан}$ (нМ)	706 ± 353	641.5
	$t_{max,\ лозартан}$ (ч)	0.9 ± 0.4	0.8
	$t_{1/2,\ лозартан}$ (ч)	3.6 ± 1.8	4.5
	$AUC_{лозартан}$ (нмоль·ч/л)	2769 ± 1385	3338.5
	$C_{max,\ E\text{-}3174}$ (нМ)	25 ± 12	19.7
	$t_{max,\ E\text{-}3174}$ (ч)	3.9 ± 1.9	5.4
	$t_{1/2,\ E\text{-}3174}$ (ч)	6.8 ± 3.4	5.1
	$AUC_{E\text{-}3174}$ (нмоль·ч/л)	312 ± 156	247.9
	AUC_{ratio}	8.9 ± 4.5	13.5*

$C_{max,\ лозартан}$, максимальная концентрация лозартана; $C_{max,\ E\text{-}3174}$, максимальная концентрация E-3174; $t_{max,\ лозартан}$, время после приёма лекарства, при котором наступила максимальная концентрация лозартана; $t_{max,E\text{-}3174}$, время после приёма лекарства, при котором наступила максимальная концентрация E-3174; $t_{1/2,\ лозартан}$, конечный период полураспада лозартана; $t_{1/2,\ E\text{-}3174}$, конечный период полураспада E-3174; $AUC_{лозартан}$, площадь под кривой концентрация-время лозартана; $AUC_{E\text{-}3174}$, площадь под кривой концентрация-время E-3174; AUC_{ratio}, отношение $AUC_{лозартан}$ к $AUC_{E\text{-}3174}$; *SD*, стандартное отклонение.

*предсказанное значение параметра не соответствует диапазону *mean* ± *SD* экспериментально полученного значения, но попадает в диапазон всех полученных значений.

Кроме того, в группу пациентов с генотипом *CYP2C9*3/CYP2C9*3* в работе [25] был включен всего один пациент, поэтому явный расчет *SD* для всех фармакологических параметров также оказался невозможным.

Однако если предположить, что стандартное отклонение параметров в указанных выше случаях является таким же, как и в группе пациентов с генотипом *CYP2C9*1/CYP2C9*1* (для разных параметров *SD* варьируется от 28 до 73 %, в среднем на 50 %), то предсказанные моделью значения для всех этих параметров, кроме AUC_{ratio} в случае *CYP2C9*3/CYP2C9*3*, окажутся в диапазоне *mean* ± *SD* (таблица 3). При этом значение AUC_{ratio} для *CYP2C9*3/CYP2C9*3* лишь немного превышает расчетный диапазон (13.5 против 8.9 ± 4.5).

Идентифицируемость параметров модели

После проведения оптимизации параметров модели, мы проверили их на идентифицируемость для того, чтобы убедиться, что найденное решение является уникальным (рис. 4). Как видно из рисунка 4, все параметры новой модели являются идентифицируемыми.

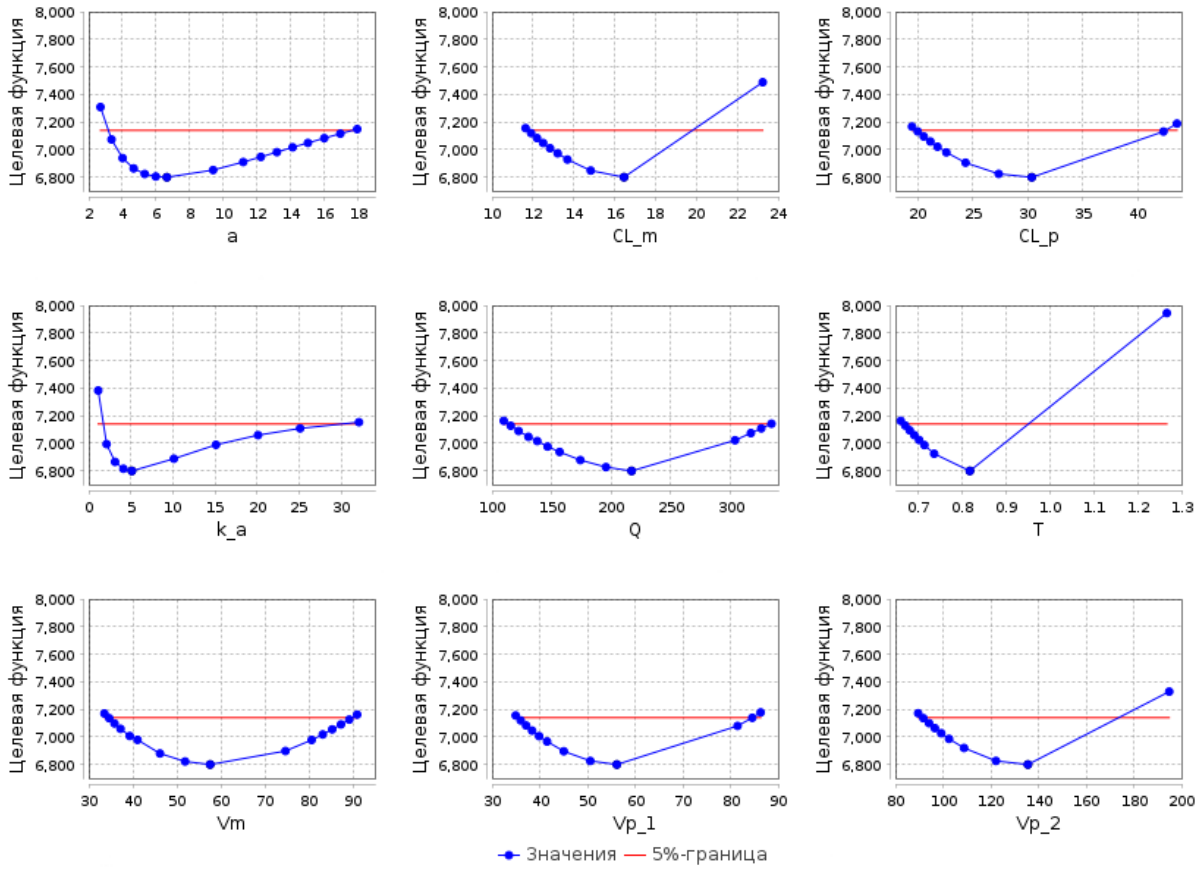

Рис. 4. Графики идентифицируемости параметров модели: *a* – амплитуда синусоиды, описывающей открытие-закрытие пилорического клапана желудка (ч$^{-1}$); *CL_m* – клиренс Е-3174 (л/ч); *CL_p* – клиренс лозартана (л/ч); *k_a* – константа скорости всасывания лозартана из просвета тонкого кишечника в кровь (ч$^{-1}$), *Q* – межкомпартментный клиренс лозартана (л/ч), *T* – время задержки конверсии лозартана в Е-3174 (ч), *Vm* – объем распределения Е-3174 в центральном компартменте (л), *Vp_1* – объем распределения лозартана в центральном компартменте (л), *Vp_2* – объем распределения лозартана в периферическом компартменте (л). Синими точками отмечены значения целевой функции при разных фиксированных значениях соответствующего параметра, а красная линия обозначает пороговое значение целевой функции, при пересечении которого с обеих сторон параметр может считаться идентифицируемым (5 % от начального значения целевой функции).

Верификация модели

Тестирование модели проводили с использованием данных из той же экспериментальной работы [25], но полученных для пациентов с гетерозиготными генотипами по *CYP2C9*: *CYP2C9*1/CYP2C9*2*, *CYP2C9*1/CYP2C9*3* и *CYP2C9*2/CYP2C9*3*.

Поскольку в модели скорость превращения лозартана в Е-3174 описывается с помощью уравнения реакции первого порядка, то для моделирования состояния у представителей гетерозиготных генотипов по *CYP2C9* их значение *k_m* рассчитывалось как среднее арифметическое значений *k_m* двух гомозигот, аллели которых содержит данная гетерозигота:

$$k\_m(CYP2C9*1/CYP2C9*2) = \frac{k\_m(CYP2C9*1/CYP2C9*1)+k\_m(CYP2C9*2/CYP2C9*2)}{2} = \frac{(1.056 + 0.823)}{2} = 0.940\ ч^{-1},$$

$$k\_m(CYP2C9*1/CYP2C9*3) = \frac{k\_m(CYP2C9*1/CYP2C9*1)+k\_m(CYP2C9*3/CYP2C9*3)}{2} = \frac{(1.056 + 0.025)}{2} = 0.541\ ч^{-1},$$

$$k\_m(CYP2C9*2/CYP2C9*3) = \frac{k\_m(CYP2C9*2/CYP2C9*2)+k\_m(CYP2C9*3/CYP2C9*3)}{2} = \frac{(0.823 + 0.025)}{2} = 0.424\ ч^{-1}.$$

Из-за отсутствия в экспериментальной статье профилей лозартана и Е-3174 для пациентов, которые являются представителями вышеперечисленных генотипов, мы не имели возможности проверить, насколько хорошо кривые, предсказанные нашей моделью (рис. А2 приложения А), совпадают с реальными данными. Поэтому верификацию модели проводили на основе сравнения значений основных фармакокинетических параметров, представленных в экспериментальной работе и вычисляемых моделью (таблица 4).

Как видно из таблицы 4, для гетерозиготных генотипов предсказания модели не так хорошо соответствовали экспериментальным данным, как для гомозиготных генотипов. В случае гетерозиготных генотипов при расчете диапазона $mean \pm SD$ для $t_{max,\ лозартан}$ и $t_{max,\ E\text{-}3174}$ среднее считали равным тому, которое получили из графика зависимости концентрации в плазме от времени для генотипа *CYP2C9*1/CYP2C9*1*, а *SD* считали равным 50 % от среднего (как и для гомозигот). Для следующих фармакокинетических параметров предсказанные значения не попадали в расчетный диапазон $mean \pm SD$: $t_{1/2,\ E\text{-}3174}$ для генотипа *CYP2C9*1/CYP2C9*2*, $C_{max,\ лозартан}$, $AUC_{лозартан}$, $t_{1/2,\ E\text{-}3174}$ для *CYP2C9*1/CYP2C9*3* и $C_{max,\ E\text{-}3174}$ и $t_{1/2,\ E\text{-}3174}$ для *CYP2C9*2/CYP2C9*3*. Предсказанное значение $AUC_{E\text{-}3174}$ для генотипа *CYP2C9*2/CYP2C9*3* также немного превышало диапазон $mean \pm SD$ (2628.8 нмоль·ч/л против 2134 ± 491 нмоль·ч/л), но попадало в общий диапазон от наименьшего до наибольшего значений во всей выборке (1749–2849 нмоль·ч/л).

Таблица 4. Сравнение основных фармакокинетических параметров, полученных на реальных пациентах и предсказанных моделью, для гетерозиготных генотипов

Генотип	Фармакокинетический параметр	Клинические данные: *mean* ± *SD*, диапазон	Предсказание модели
*CYP2C9*1/CYP2C9*2*	$C_{max,\ лозартан}$ (нМ)	731 ± 489, 208–1178	641.5
	$t_{max,\ лозартан}$ (ч)	0.9 ± 0.4	0.8
	$t_{1/2,\ лозартан}$ (ч)	2.1 ± 0.4, 1.6–2.5	1.9
	$AUC_{лозартан}$ (нмоль·ч/л)	1521 ± 850, 750–2432	1481.2
	$C_{max,\ E\text{-}3174}$ (нМ)	763 ± 565, 384–1412	455.8
	$t_{max,\ E\text{-}3174}$ (ч)	3.9 ± 1.9	3.7
	$t_{1/2,\ E\text{-}3174}$ (ч)	4.3 ± 0.2, 4.1–4.3	2.7**
	$AUC_{E\text{-}3174}$ (нмоль·ч/л)	5564 ± 3505, 3355–9605	3833.3
	AUC_{ratio}	0.3 ± 0.1, 0.2–0.4	0.4
*CYP2C9*1/CYP2C9*3*	$C_{max,\ лозартан}$ (нМ)	353 ± 160, 148–596	641.5**
	$t_{max,\ лозартан}$ (ч)	0.9 ± 0.4	0.8
	$t_{1/2,\ лозартан}$ (ч)	2.4 ± 0.5, 1.9–3.2	2.5
	$AUC_{лозартан}$ (нмоль·ч/л)	1249 ± 248, 925–1572	1921.7**
	$C_{max,\ E\text{-}3174}$ (нМ)	241 ± 102, 108–369	315.3
	$t_{max,\ E\text{-}3174}$ (ч)	3.9 ± 1.9	4.2
	$t_{1/2,\ E\text{-}3174}$ (ч)	5.6 ± 1.0, 4.5–7.0	3.1**
	$AUC_{E\text{-}3174}$ (нмоль·ч/л)	2753 ± 898, 1446–3740	3003.0
	AUC_{ratio}	0.5 ± 0.2, 0.3–0.8	0.6
*CYP2C9*2/CYP2C9*3*	$C_{max,\ лозартан}$ (нМ)	635 ± 388, 213–1062	641.5
	$t_{max,\ лозартан}$ (ч)	0.9 ± 0.4	0.8
	$t_{1/2,\ лозартан}$ (ч)	3.0 ± 0.6, 2.2–3.5	2.8
	$AUC_{лозартан}$ (нмоль·ч/л)	2006 ± 632, 1269–2639	2118.1
	$C_{max,\ E\text{-}3174}$ (нМ)	179 ± 39, 144–217	263.0**
	$t_{max,\ E\text{-}3174}$ (ч)	3.9 ± 1.9	4.4
	$t_{1/2,\ E\text{-}3174}$ (ч)	6.1 ± 1.6, 4.4–7.6	3.4**
	$AUC_{E\text{-}3174}$ (нмоль·ч/л)	2134 ± 491, 1749–2849	2628.8*
	AUC_{ratio}	0.9 ± 0.4, 0.5–1.3	0.8

$C_{max,\ лозартан}$, максимальная концентрация лозартана; $C_{max,\ E\text{-}3174}$, максимальная концентрация Е-3174; $t_{max,\ лозартан}$, время после приёма лекарства, при котором наступила максимальная концентрация лозартана; $t_{max,\ E\text{-}3174}$, время после приёма лекарства, при котором наступила максимальная концентрация Е-3174; $t_{1/2,\ лозартан}$, конечный период полураспада лозартана; $t_{1/2,\ E\text{-}3174}$, конечный период полураспада Е-3174; $AUC_{лозартан}$, площадь под кривой концентрация-время лозартана; $AUC_{E\text{-}3174}$, площадь под кривой концентрация-время Е-3174; AUC_{ratio}, отношение $AUC_{лозартан}$ к $AUC_{E\text{-}3174}$.

*предсказанное значение параметра не соответствует диапазону *mean* ± *SD* экспериментально полученного значения, но попадает в диапазон всех полученных значений.

**предсказанное значение параметра не соответствует диапазону всех полученных значений.

Анализ чувствительности параметров модели

После того как мы подобрали значения параметров модели и убедились в том, что найденное нами решение является уникальным, а изменение параметров как в меньшую, так и в большую сторону существенно влияет на качество аппроксимации экспериментальных данных, мы проанализировали, насколько сильно возмущение каждого отдельного параметра влияет на результаты симуляции модели.

Возмущение поочередно вносилось во все параметры, входящие в уравнения реакций модели (рис. 1, 1–7): *a, b, k_a, k_m, T, CL_p, CL_m, Vp_*1, *Vp_*2, *Vm, Q*. На чувствительность проверяли следующие переменные: $C_{max,\ лозартан}$, $C_{max,\ E\text{-}3174}$, $AUC_{лозартан}$, $AUC_{E\text{-}3174}$ и AUC_{ratio}.

Результаты анализа чувствительности для генотипа *CYP2C9*1/CYP2C9*1* показаны на рисунке 5.

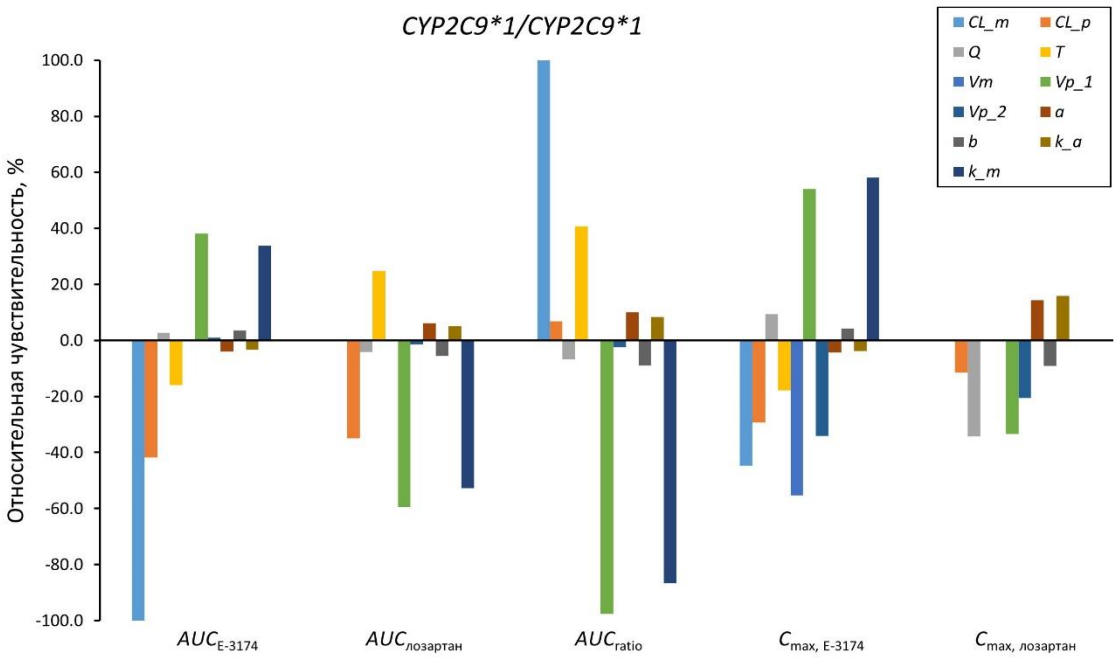

Рис. 5. График относительной чувствительности переменных модели для генотипа *CYP2C9*1/CYP2C9*1*. *CL_m* – клиренс Е-3174 (л/ч), *Q* – межкомпартментный клиренс лозартана (л/ч), *Vm* – объем распределения Е-3174 в центральном компартменте (л), *Vp*_2 – объем распределения лозартана в периферическом компартменте (л), *b* – период синусоиды, описывающей открытие-закрытие пилорического клапана желудка (безразмерная величина), *k_m* – константа скорости превращения лозартана в Е-3174 ($ч^{-1}$), *CL_p* – клиренс лозартана (л/ч), *T* – время задержки конверсии лозартана в Е-3174 (ч), *Vp*_1 – объем распределения лозартана в центральном компартменте (л), *a* – амплитуда синусоиды, описывающей открытие-закрытие пилорического клапана желудка ($ч^{-1}$), *k_a* – константа скорости всасывания лозартана из просвета тонкого кишечника в кровь ($ч^{-1}$). $AUC_{\text{E-3174}}$ – площадь под кривой зависимости концентрации Е-3174 от времени, $AUC_{\text{лозартан}}$ – площадь под кривой зависимости концентрации лозартана от времени, AUC_{ratio} – отношение $AUC_{\text{лозартан}}$ к $AUC_{\text{E-3174}}$, $C_{\text{max, E-3174}}$ – максимальная концентрация Е-3174, $C_{\text{max, лозартан}}$ – максимальная концентрация лозартана.

Как можно видеть из этого рисунка, изменение значений разных параметров модели неодинаково влияет на целевые переменные.

Наиболее чувствительным для $AUC_{\text{E-3174}}$ (площадь под кривой концентрация-время Е-3174) оказался параметр *CL_m*, отвечающий за клиренс Е-3174. Этот параметр напрямую обуславливает скорость, с которой Е-3174 будет выводиться из центрального компартмента, что непосредственно влияет на концентрацию этого вещества, а значит и на его площадь под кривой концентрация-время. Коэффициент чувствительности оказался отрицательным, т.к. увеличение *CL_m* приводит к увеличению скорости выведения Е-3174 из центрального компартмента и, как следствие, уменьшению его концентрации и площади под кривой.

На $AUC_{\text{лозартан}}$ (площадь под кривой концентрация-время лозартана) наибольшее влияние оказало возмущение значений четырех параметров: *T* (задержка конверсии лозартана в Е-3174), *CL_p* (клиренс лозартана), *Vp*_1 (объем распределения лозартана в центральном компартменте) и *k_m* (константа скорости превращения лозартана в Е-3174). При увеличении *T* лозартан начинает метаболизироваться в Е-3174 позже, и, следовательно, его концентрация в центральном компартменте становится выше, а значит, возрастает и площадь под кривой концентрация-время. Как итог, мы наблюдаем положительный коэффициент чувствительности для *T*. Увеличение *CL_p* напротив ведет к уменьшению $AUC_{\text{лозартан}}$ (по аналогии со случаем для *CL_m* и $AUC_{\text{E-3174}}$, описанным выше), поэтому коэффициент чувствительности для этого параметра является отрицательным. Параметр *Vp*_1, с одной стороны, регулирует скорости

реакций 5 и 6 (рис. 1), а, с другой стороны, влияет на расчет значения концентрации лозартана в центральном компартменте (таблица А3 приложения А). Из-за комплексного воздействия сложно сказать, почему увеличение этого параметра дает снижение $AUC_{\text{лозартан}}$ (о чем свидетельствует отрицательный коэффициент чувствительности). Наконец, увеличение *k_m* характеризует более быструю конвертацию лозартана в Е-3174, что ведет к уменьшению его концентрации и площади под кривой, а значит, и отрицательному коэффициенту на рисунке 5.

Для AUC_{ratio} наиболее чувствительными оказались следующие 4 параметра: *CL_m, T, Vp*_1 и *k_m*, что напрямую следует из определения данной переменной как отношения $AUC_{\text{лозартан}}$ к $AUC_{\text{E-3174}}$. Т.к. переменная $AUC_{\text{лозартан}}$ не чувствительна к *CL_m*, для AUC_{ratio} получаем коэффициент, равный по величине, но противоположный по знаку коэффициенту для $AUC_{\text{E-3174}}$ (рис. 5). Увеличение *T*, с одной стороны, приведет к уменьшению $AUC_{\text{E-3174}}$, о чем символизирует отрицательный коэффициент чувствительности, а с другой – к увеличению $AUC_{\text{лозартан}}$ (положительный коэффициент), что в итоге даст положительный коэффициент для AUC_{ratio}. В то же время для *Vp*_1 и *k_m* наблюдается противоположный эффект.

На переменную $C_{\text{max, E-3174}}$ (максимальная концентрация Е-3174) сильнее всего повлияло возмущение параметров *Vm, Vp*_1 и *k_m*. Первый из них используется для расчета скорости реакции 4 (рис. 1), а также концентрации Е-3174 в центральном компартменте (таблица А3 приложения А). Увеличение *Vm*, во-первых, приведет к уменьшению скорости элиминации Е-3174 из центрального компартмента, а во-вторых, к уменьшению концентрации Е-3174 в этом же компартменте. По-видимому, последний эффект является более значимым и пересиливает первый, т.к. мы наблюдаем отрицательный коэффициент чувствительности на гистограмме. Как уже говорилось выше, для параметра *Vp*_1 сложно объяснить влияние на ту или иную переменную, поскольку этот параметр участвует одновременно в трех уравнениях модели (таблица А3 приложения А). Тем не менее, как можно видеть из рисунка 5, увеличение *Vp*_1 приводит к увеличению $AUC_{\text{E-3174}}$, что, вероятно, связано и с увеличением $C_{\text{max, E-3174}}$. Наконец, рост *k_m* ускорит метаболизм лозартана в Е-3174, а значит, возрастет и максимальная концентрация последнего, что мы и наблюдаем на рисунке 5.

Самыми чувствительным для $C_{\text{max, лозартан}}$ (максимальная концентрация лозартана) оказались параметры *Q* и *Vp*_1. Как и в случае $C_{\text{max, E-3174}}$, коэффициент чувствительности к *Vp*_1 имеет тот же знак, что и для соответствующей площади под кривой. Что касается *Q*, данный параметр регулирует скорости реакций 6 и 7 (рис. 1) и определяет скорость перехода лозартана из центрального компартмента в периферический и обратно. Константы скорости этих реакций можно соответственно рассчитать по формулам с учетом возмущения $\Delta Q = 10^{-6}$, используемого в анализе чувствительности:

$$k\_12 = \frac{Q}{Vp\_1},\ k\_21 = \frac{Q}{Vp\_2},\ k\_12' = \frac{Q+\Delta Q}{Vp\_1},\ k\_21' = \frac{Q+\Delta Q}{Vp\_2},$$

где *Q* = 217.103 л/ч, *Vp*_1 = 56.175 л и *Vp*_2 = 135.630 л (значения параметров взяты из таблицы А6 приложения А), *k*_12 и *k*_21 – константы скорости перехода лозартана из центрального компартмента в периферический и обратно до возмущения параметра *Q* соответственно, а *k*_12' и *k*_21' – константы скорости перехода лозартана из центрального компартмента в периферический и обратно после возмущения параметра *Q* соответственно. Как следует из этих формул, отношение *k*_12' к *k*_12 превосходит отношение *k*_21' к *k*_21, то есть скорость транспорта лозартан из центрального в периферический компартмент при возмущении *Q* увеличивается в большей степени, чем скорость перехода лозартана в обратном направлении. Как итог, мы получаем отрицательный коэффициент чувствительности $C_{\text{max, лозартан}}$ к *Q*.

Наиболее интересные зависимости чувствительности переменных по генотипам наблюдались для параметров *CL_p*, *CL_m* и *T* (рис. 6).

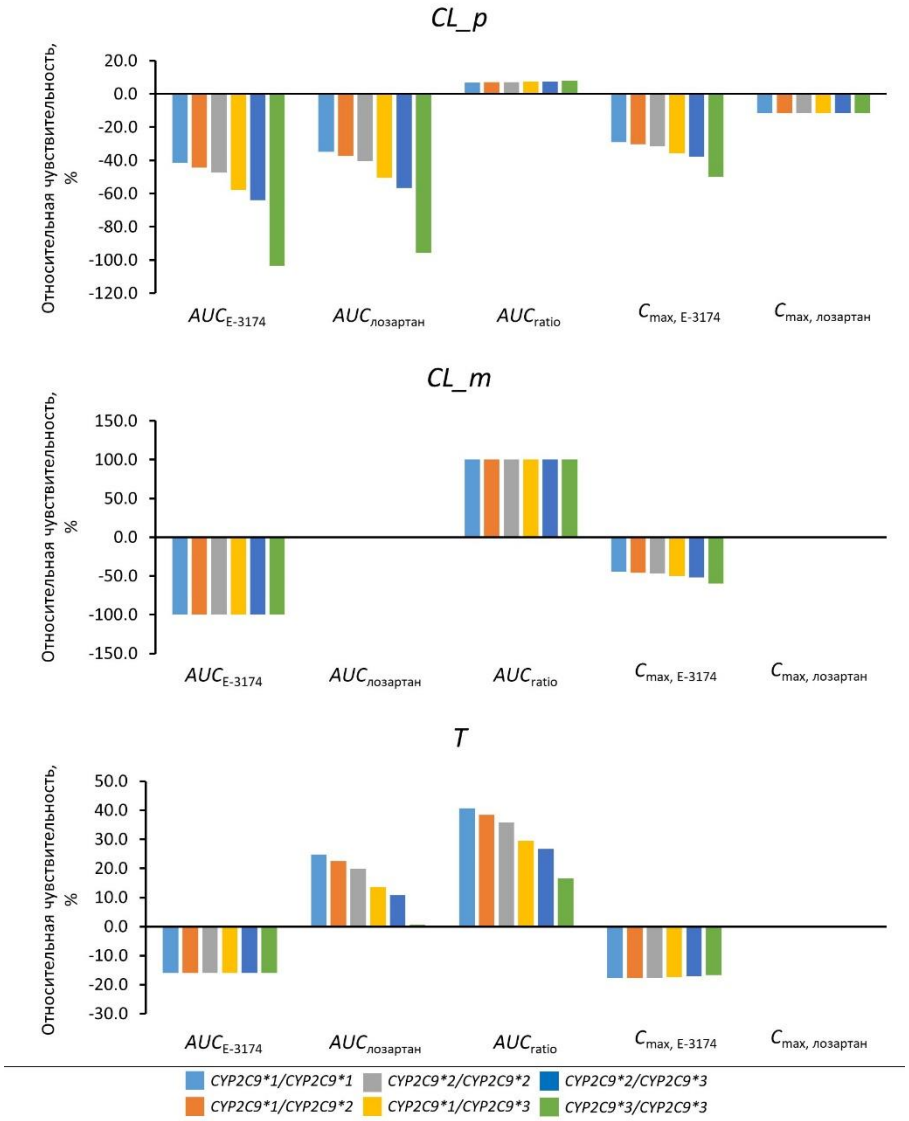

Рис. 6. Графики относительной чувствительности *CL_p*, *CL_m* и *T* для всех генотипов. *CL_p* – клиренс лозартана (л/ч), *CL_m* – клиренс Е-3174 (л/ч), *T* – время задержки конверсии лозартана в Е-3174 (ч). $AUC_{\text{Е-3174}}$ – площадь под кривой зависимости концентрации Е-3174 от времени, $AUC_{\text{лозартан}}$ – площадь под кривой зависимости концентрации лозартана от времени, AUC_{ratio} – отношение $AUC_{\text{лозартан}}$ к $AUC_{\text{Е-3174}}$, $C_{\text{max, Е-3174}}$ – максимальная концентрация Е-3174, $C_{\text{max, лозартан}}$ – максимальная концентрация лозартана.

Как можно видеть из рисунка 6, для относительной чувствительности этих трех параметров существует прямая корреляция с активностью генотипов:

- Чем менее активен генотип, тем более чувствительны к возмущению *CL_p* переменные $AUC_{\text{Е-3174}}$, $AUC_{\text{лозартан}}$ и $C_{\text{max, Е-3174}}$. Объяснить это можно следующим образом: в центральном компартменте лозартан участвует одновременно в 3-ех реакциях – 1) элиминация из центрального компартмента, 2) переход из центрального компартмента в периферический и 3) конверсия в Е-3174 (рис. 7А). С уменьшением активности генотипа по *CYP2C9* уменьшается и скорость конверсии лозартана в Е-3174, в результате чего большее влияние на концентрацию лозартана в центральном компартменте начинает оказывать реакция элиминации, чью скорость и определяет параметр *CL_p* (рис. 7Б). Таким образом, возмущение *CL_p* будет давать наиболее значимый вклад для наименее активного генотипа.

- Чем менее активен генотип, тем более чувствительна переменная $C_{max,\ E\text{-}3174}$ к возмущению параметра *CL_m*, который влияет на скорость элиминации Е-3174 из центрального компартмента (реакция 4 на рис. 1). Это объясняется тем, что менее активный генотип по *CYP2C9* дает меньшее значение $C_{max,\ E\text{-}3174}$ в центральном компартменте. Пропорционально этому снижается и скорость реакции 4, а значит, относительный вклад возмущения константы *CL_m* на эту скорость (и, следовательно, величину $C_{max,\ E\text{-}3174}$) возрастает.
- Чем менее активен генотип, тем меньшая чувствительность к возмущению задержки *T* конверсии лозартана в Е-3174 определяется у переменной $AUC_{лозартан}$ и, как следствие, AUC_{ratio}. Как уже упоминалось выше, лозартан в центральном компартменте участвует одновременно в трех реакциях: элиминация, переход и конверсия (рис. 7А). Чем менее активен генотип, тем меньшее влияние на содержание лозартана в центральном компартменте оказывает реакция конверсии (рис. 7Б), в которую как раз и входит параметр *T*. Таким образом, менее активные генотипы по *CYP2C9* оказываются менее чувствительными к изменению значения этого параметра.

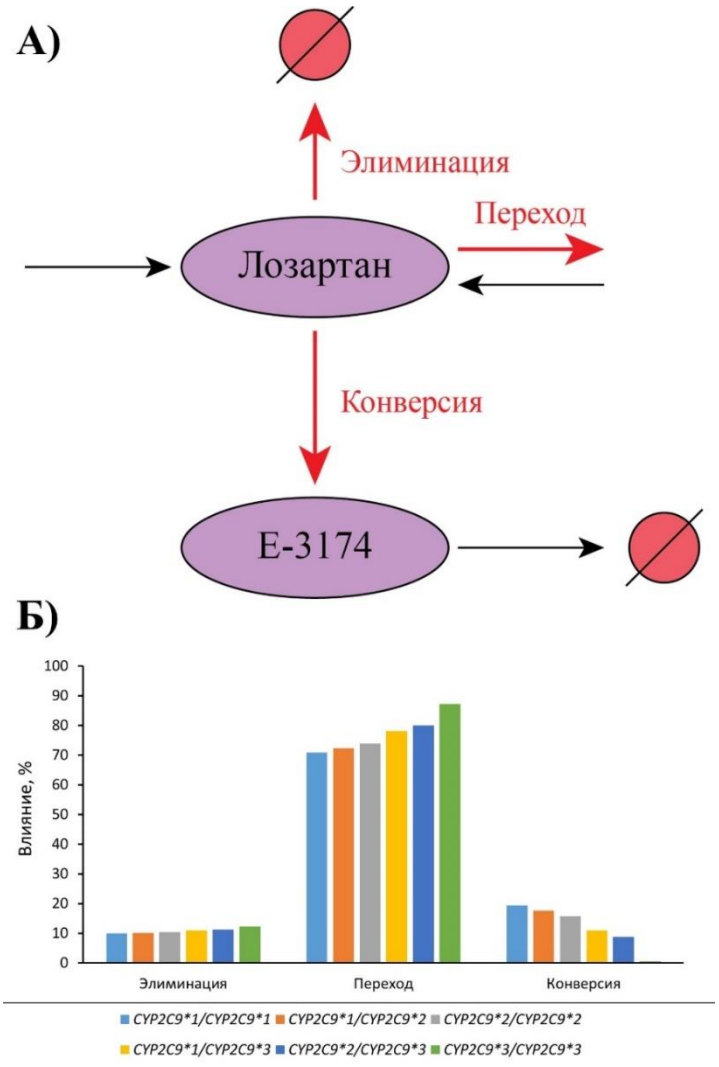

Рис. 7. Реакции центрального компартмента модели и их влияние на содержание лозартана в этом компартменте для разных генотипов по *CYP2C9*: А) – Иллюстрация центрального компартмента модели и реакций, в которые могут вступать вещества из этого компартмента. Красными стрелками обозначены реакции, которые обеспечивают уменьшение концентрации лозартана в этом компартменте. Б) – График влияния каждой из трех реакций, в которых участвует лозартан в центральном компартменте, на уменьшение его концентрации в этом компартменте.

Графики относительной чувствительности для остальных параметров модели для разных генотипов представлены на рисунке А3 приложения А.

Последнее, что мы хотели бы отметить, в результатах анализа модели чувствительность переменной $C_{max,\ лозартан}$ (максимальная концентрация лозартана) никак не зависела от активности генотипа (рис. 8).

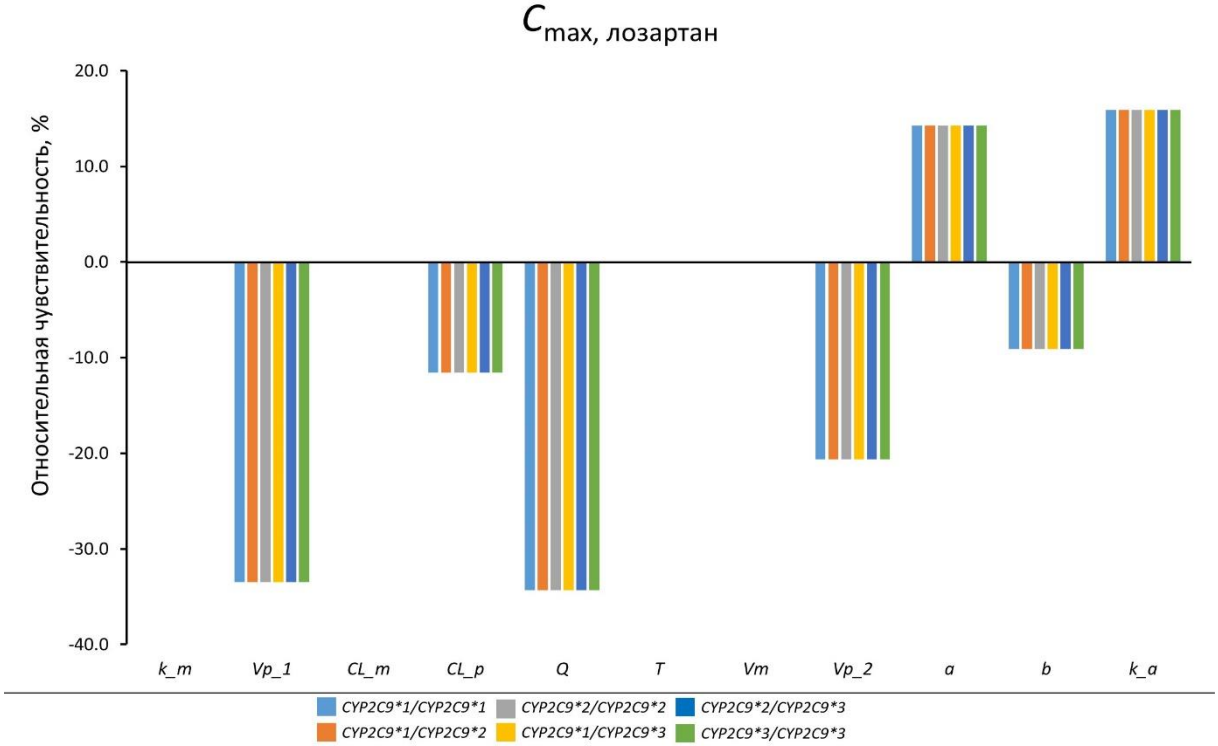

Рис. 8. График относительной чувствительности $C_{max,\ лозартан}$ (максимальная концентрация лозартана) к возмущению параметров модели. *k_m* – константа скорости превращения лозартана в Е-3174 ($ч^{-1}$), *Vp*_1 – объем распределения лозартана в центральном компартменте (л), *CL_m* – клиренс Е-3174 (л/ч), *CL_p* – клиренс лозартана (л/ч), *Q* – межкомпартментный клиренс лозартана (л/ч), *T* – время задержки конверсии лозартана в Е-3174 (ч), *Vm* – объем распределения Е-3174 в центральном компартменте (л), *Vp*_2 – объем распределения лозартана в периферическом компартменте (л), *a* – амплитуда синусоиды, описывающей открытие-закрытие пилорического клапана желудка ($ч^{-1}$), *b* – период синусоиды, описывающей открытие-закрытие пилорического клапана желудка (безразмерная величина), *k_a* – константа скорости всасывания лозартана из просвета тонкого кишечника в кровь ($ч^{-1}$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Генетические факторы могут способствовать увеличению артериального давления на 30–50 % [53, 54]. В тоже время ген *CYP2C9* (суперсемейство цитохромов Р450, семейство 2, подсемейство С, номер 9) играет наиболее важную роль в метаболизме лозартана [11]. Также этот ген является высокополиморфным: известно множество SNP, которые приводят к изменению каталитической активности соответствующей изоформы по отношению к его субстратам.

Целью данной работы было усовершенствование уже существующей модели, описывающей распределение лозартана [26], таким образом, чтобы она могла учитывать генотип по гену *CYP2C9*. Наиболее распространенными аллелями данного гена являются *CYP2C9*1* (аллель дикого типа) *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*; именно поэтому в нашей работе исследовались генотипы, содержащие эти три аллеля.

Исходная модель распределения лозартана была перенесена в программный комплекс BioUML, валидирована с помощью встроенных в него методов оптимизации

при использовании экспериментальных кривых зависимости препарата и его активного метаболита, Е-3174, от времени, прошедшего после перорального приема 50 мг лозартана калия, для разных гомозиготных генотипов по *CYP2C9*. Также по предсказанным моделью кривым зависимости концентрации от времени лозартана и Е-3174 были подсчитаны значения основных фармакокинетических параметров (C_{max}, t_{max}, $t_{1/2}$, *AUC* и AUC_{ratio}), значения которых сравнивались с аналогичными значениями клинических испытаний на пациентах, гетерозиготных по гену *CYP2C9*, с целью верификации модели. Все материалы, использованные в нашей работе, можно найти в открытом доступе в репозитории (https://gitlab.sirius-web.org/virtual-patient/CYP2C9_losartan_metabolism).

Новая модель показала достаточно хорошее соответствие клиническим данным, но некоторые значения фармакокинетических параметров, предсказанные моделью, не совпадали с результатами, полученными для пациентов с разными генотипами по *CYP2C9*. Наибольшее отклонение продемонстрировал период полураспада Е-3174 ($t_{1/2,\ E\text{-}3174}$). Одной из причин этого может являться некорректный расчет данного значения, который мы произвели из-за того, что в экспериментальной работе [25] явно не указывалось, по каким именно временным точкам конечной линейной части полулогарифмического графика зависимости концентрации лозартана или Е-3174 в плазме от времени осуществлялся расчет терминального периода полураспада ($t_{1/2}$). Для лозартана эти точки, вероятно, не имеют принципиального значения, т. к. он быстро (в течение одного часа) достигает своей пиковой концентрации в плазме, а затем его количество равномерно уменьшается (верхний график на рис. А4 приложения А). Для Е-3174 ситуация иная: он не так быстро и “резко” достигает точки своей максимальной концентрации (нижний график на рис. А4 приложения А), соответственно, на полулогарифмическом графике его конечная линейная часть не будет явно выражена, как в случае с лозартаном, а будет наблюдаться более плавный переход (рис. А5 приложения А). Таким образом, выбор точек для расчета значения периода полураспада будет влиять на это значение.

Однако наблюдаемые несоответствия могли возникнуть не только по этой, но и по некоторым другим причинам: 1) недостаточный объем выборки пациентов в экспериментальной статье [25], обусловленный тем, что аллели *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* довольно редки, 2) малое количество экспериментальных точек, использованных для обучения модели; несмотря на то, что в работе [25] сказано, что пробы крови для анализа количества лозартана и Е-3174 брали через 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12 и 24 часа после приема лекарства, ни на одном из приведённых в этой работе графиков не были указаны значения для всех обозначенных временных точек, и 3) высокая межиндивидуальная вариабельность кривых зависимости концентраций лозартана и Е-3174 в плазме от времени после перорального приема лекарства. Последнее может быть связано с тем, что лозартан относится к лекарствам BCS (Biopharmaceutics Classification System) первого класса, обладающим высокой растворимостью и проникающей способностью [55]. Известно, что скорость-лимитирующим процессом для всасывания в кровь лекарств этого класса является опорожнение содержимого желудка в тонкий кишечник через пилорический клапан [56, 57]. Таким образом, межиндивидуальная вариабельность может следовать из физиологических различий процесса опорожнения желудка у разных людей, а также из того, что во время приема лекарства пациенты находились в разной фазе цикла мигрирующего моторного комплекса, регулярного паттерна моторики желудка во время голодания [57–61]. Кроме этого, несоответствия могут возникать еще и потому, что, помимо *CYP2C9*, разные аллели которого по-разному влияют на метаболизм лозартана, существуют и другие гены, полиморфизмы в которых также оказывают различное влияние на всасывание, распределение, метаболизм и выделение этого лекарственного препарата. Например, одним из таких генов является *ABCB1* (ATP-binding cassette, подсемейство B, номер 1),

разные аллели которого ассоциированы с различным уровнем всасывания перорально принятого лозартана в первые часы после приема лекарства [62].

Анализ переменных модели на чувствительность к возмущению параметров для разных генотипов по *CYP2C9* показал корреляцию чувствительности $AUC_{\text{E-3174}}$, $AUC_{\text{лозартан}}$, $C_{\text{max, E-3174}}$ и AUC_{ratio} к параметрам *CL_p, CL_m* и *T* с активностью генотипа. Однако мы не смогли найти похожих результатов в других работах, поэтому эти данные требуют дополнительного подтверждения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В текущей работе была усовершенствована существующая модель распределения лозартана и его метаболита E-3174 с целью учета наиболее распространенных генотипов по *CYP2C9* – гену, играющему ведущую роль в метаболизме этого лекарственного препарата. Итоговая модель способна с достаточно высокой точностью предсказывать значения основных фармакокинетических параметров для пациентов-носителей различных аллелей *CYP2C9*. Однако по некоторым параметрам наблюдалось несоответствие значений, предсказанных моделью и полученных на реальных испытуемых. Решить эту проблему может создание более совершенной модели, учитывающей полиморфизмы не только *CYP2C9*, но и других генов, аллели которых способны по-разному влиять на всасывание, распределение, метаболизм и выделение лозартана.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение 075-10-2021-093).

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А1. Уравнения реакций в модели

Номер реакции на рис. 1	Уравнение скорости реакции	Физиологический процесс в организме, описываемый уравнением
1	$\max(0, a \cdot \sin(2 \cdot \pi / b \cdot t)) \cdot [L_{stm}]$	Циклическое открытие-закрытие пилорического клапана желудка
2	$k\_a \cdot [L_{int}]$	Всасывание лозартана из просвета тонкого кишечника в кровь
3	$k\_m \cdot [L_{cc}] \cdot start\_CYP2C9$	Конверсия лозартана в Е-3174 с помощью CYP2C9
4	$k\_elm \cdot [C_{cc}]$	Элиминация Е-3174 из организма
5	$k\_elp \cdot [L_{cc}]$	Элиминация лозартана из организма
6	$k\_12 \cdot [L_{cc}]$	Переход лозартана из крови в другие органы и ткани
7	$k\_21 \cdot [L_{pc}]$	Переход лозартана из других органов и тканей в кровь

Таблица А2. Обозначения переменных, входящих в уравнения модели

Переменная	Биологический смысл
a	Амплитуда синусоиды, описывающей открытие-закрытие пилорического клапана желудка ($ч^{-1}$)
$2 \cdot \pi / b$	Период синусоиды, описывающей открытие-закрытие пилорического клапана желудка
k_a	Константа скорости реакции всасывания лозартана из просвета тонкого кишечника в кровь ($ч^{-1}$)
k_m	Константа скорости превращения лозартана в Е-3174 ($ч^{-1}$)
k_elm	Константа скорости элиминации Е-3174 из организма ($ч^{-1}$)
k_elp	Константа скорости элиминации лозартана из организма ($ч^{-1}$)
k_12	Константа скорости перехода лозартана из центрального компартмента в периферический ($ч^{-1}$)
k_21	Константа скорости перехода лозартана из периферического компартмента в центральный ($ч^{-1}$)
$[L_{stm}]$	Количество лозартана в желудке (пмоль)
$[L_{int}]$	Количество лозартана в кишечнике (пмоль)
$[L_{cc}]$	Количество лозартана в центральном компартменте (пмоль)
$[L_{pc}]$	Количество лозартана в периферическом компартменте (пмоль)
$[C_{cc}]$	Количество Е-3174 в центральном компартменте (пмоль)
$start\_CYP2C9$	Переменная, принимающая значения 0 или 1 в зависимости от времени, прошедшего после приема лекарства (нужна для описания задержки конверсии лозартана до Е-3174)

Таблица А3. Алгебраические уравнения, дискретные события и начальные условия модели

Уравнение/событие/условие	Описание
When t > T: *start_CYP2C9* = 1	Дискретное событие: описывает задержку конверсии лозартана в Е-3174 на временной промежуток, равный *T*
$[L_{stm}](0) = 0.05/461.01 \cdot 10^{12}$	Начальное условие: определяет количество лозартана (в пмоль) в желудке в начальный момент решения модели после перорального приема 50 мг лозартана калия (0.05 г лозартана калия, 461.01 г/моль – молярная масса лозартана калия, 10^{12} – коэффициент для перевода моль в пмоль)
k_elp = *CL_p*/*Vp_*1	Алгебраическое уравнение: определяет величину *k_elp*
k_elm = *CL_m*/*Vm*	Алгебраическое уравнение: определяет величину *k_elm*
*k_*12 = *Q*/*Vp_*1	Алгебраическое уравнение: определяет величину *k_*12
*k_*21 = *Q*/*Vp_*2	Алгебраическое уравнение: определяет величину *k_*21
$C\_p = [L_{cc}]/(Vp\_1 \cdot 1000)$	Алгебраическое уравнение: определяет величину *C_p*
$C\_m = [C_{cc}]/(Vm \cdot 1000)$	Алгебраическое уравнение: определяет величину *C_m*

Таблица А4. Обозначения переменных, использующихся в уравнениях, дискретных событиях и начальных условиях модели

Переменная	Биологический смысл
T	Время задержки конверсии лозартана в Е-3174 (ч)
$[L_{stm}](0)$	Количество лозартана в желудке после приема лекарства (пмоль)
CL_p	Клиренс лозартана (л/ч)
CL_m	Клиренс Е-3174 (л/ч)
*Vp_*1	Объем распределения лозартана в крови (л)
*Vp_*2	Объем распределения лозартана в других органах и тканях(л)
Vm	Объем распределения Е-3174 в крови (л)
Q	Клиренс перехода лозартана между кровью и другими органами и тканями (л/ч)
C_p	Концентрация лозартана в крови (нМ)
C_m	Концентрация Е-3174 в крови (нМ)

Таблица А5. Оцифрованные данные для генотипов *CYP2C9*1/CYP2C9*1*, *CYP2C9*2/CYP2C9*2* и *CYP2C9*3/CYP2C9*3*

CYP2C9*1/CYP2C9*1			***CYP2C9*2/CYP2C9*2***			***CYP2C9*3/CYP2C9*3***		
Время (ч)	**Лозартан (нМ)**	**Е-3174 (нМ)**	**Время (ч)**	**Лозартан (нМ)**	**Е-3174 (нМ)**	**Время (ч)**	**Лозартан (нМ)**	**Е-3174 (нМ)**
0.35	337.17	10.93	0.61	713.00	48.80	0.39	22.06	–
0.86	675.00	57.26	0.98	338.05	159.55	0.88	706.00	–
1.32	315.35	158.84	1.59	272.13	201.53	1.46	633.70	–
1.82	258.00	280.51	3.74	238.13	441.50	1.90	457.49	5.72
3.85	88.46	603.00	5.79	211.88	486.00	3.90	234.58	25.00
5.87	54.46	331.57	7.80	92.00	343.74	5.95	180.75	18.47
7.89	46.85	221.95	10.05	54.84	204.92	7.90	116.42	16.48
9.87	23.60	158.84	12.06	21.54	118.16	9.95	76.22	16.21
11.84	–	102.83	–	–	–	11.95	–	13.12
23.94	–	16.33	–	–	–	–	–	–

Таблица А6. Глобальные параметры модели, использовавшиеся в оптимизации, их исходные и новые значения

Параметр	Исходное значение	Новое значение
CL_m	5.500	16.456
CL_p	184.000	30.401
T	0.271	0.819
Vm	9.660	57.598
Vp_1	43.700	56.175
Vp_2	1160.000	135.630
Q	129.000	217.103
a	4.560	6.645
k_a	1.930	5.127

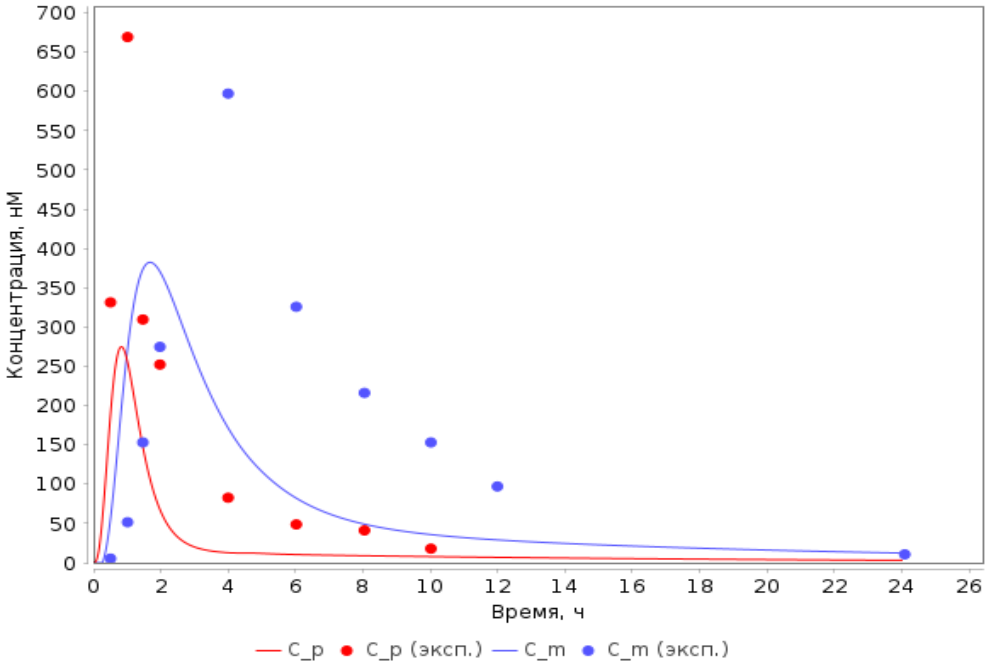

Рис. А1. Несоответствие предсказаний исходной модели экспериментальным данным [25] при изменении дозировки перорально принятого лозартана калия со 100 на 50 мг. Для проверки на соответствие были выбраны экспериментальные точки, полученные для генотипа *CYP2C9*1/CYP2C9*1*, т. к. именно такой генотип характерен для большинства людей. *C_p* и *C_m* – предсказанные моделью значения концентраций в плазме лозартана и Е-3174 соответственно, *C_p* (эксп.) и *C_m* (эксп.) – экспериментально полученные значения концентраций в плазме лозартана и Е-3174 соответственно.

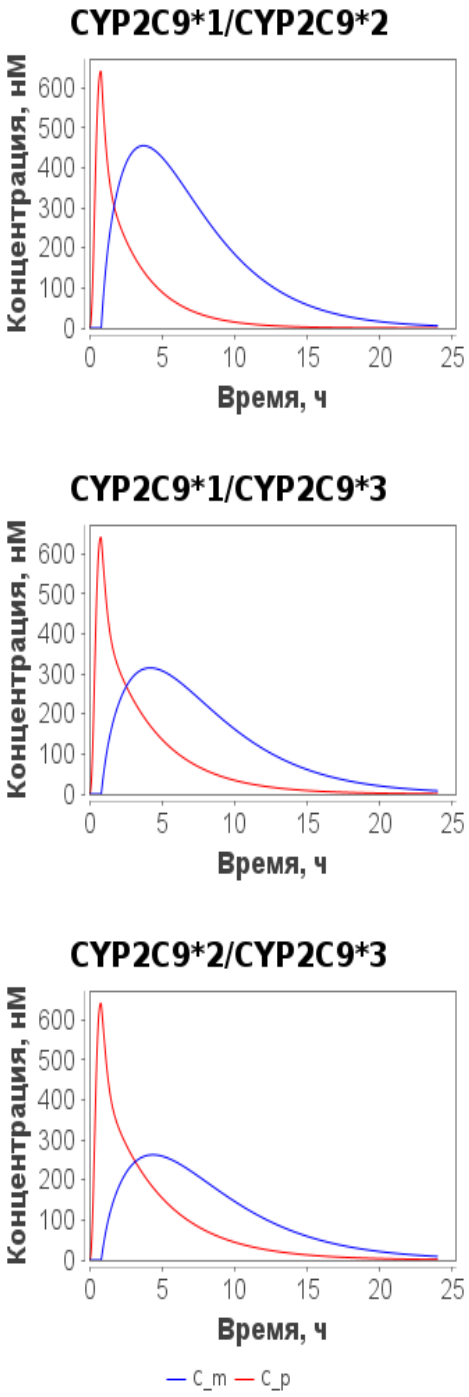

Рис. А2. Графики зависимости концентраций лозартана (*C_p*) и Е-3174 (*C_m*), предсказанные моделью, для гетерозиготных генотипов.

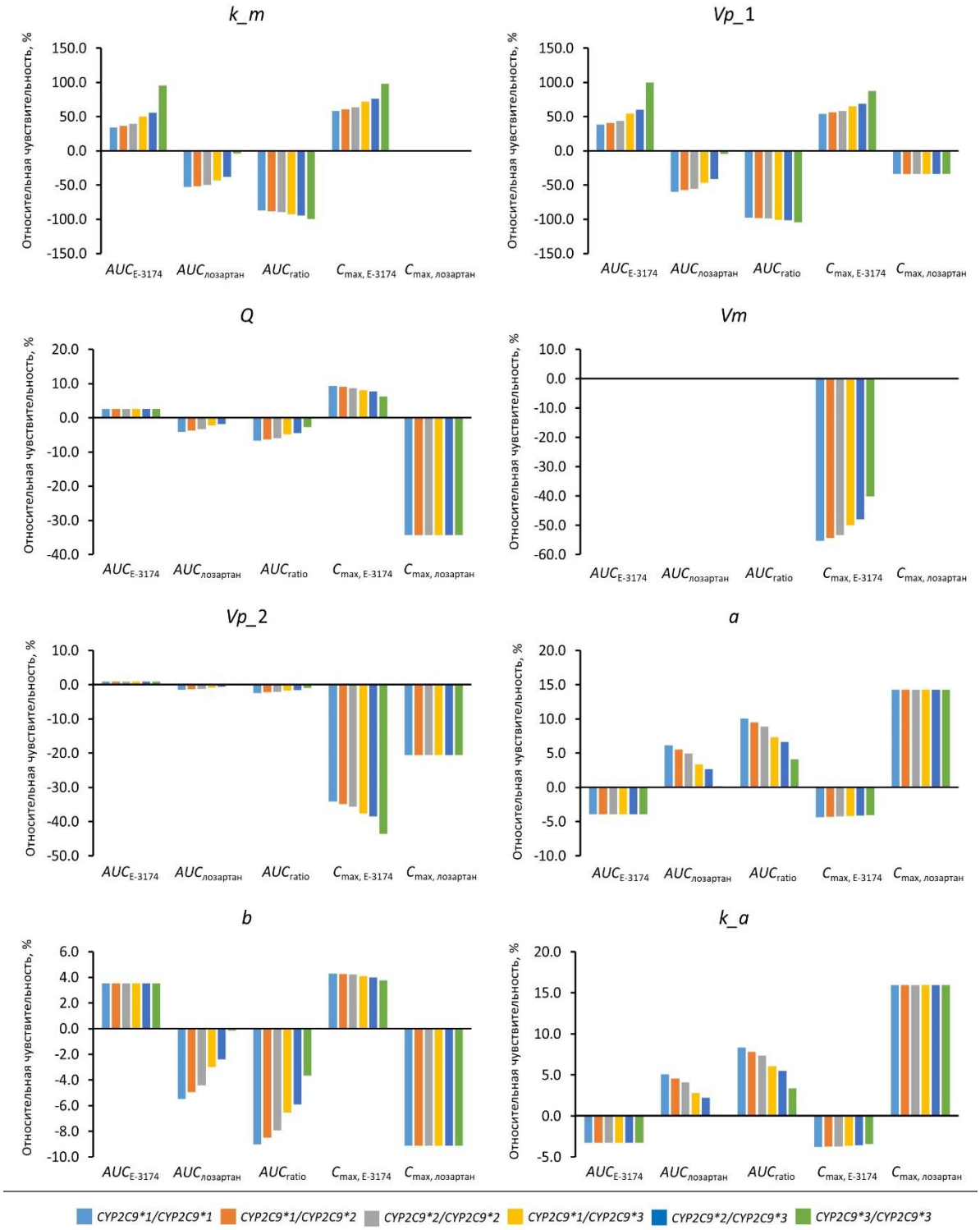

Рис. А3. Анализ чувствительности переменных модели для разных генотипов:
k_m – константа скорости превращения лозартана в Е-3174 ($ч^{-1}$), *Vp_1* – объем распределения лозартана в центральном компартменте (л), *Q* – межкомпартментный клиренс лозартана (л/ч), *Vm* – объем распределения Е-3174 в центральном компартменте (л), *Vp_2* – объем распределения лозартана в периферическом компартменте (л), *a* – амплитуда синусоиды, описывающей открытие-закрытие пилорического клапана желудка ($ч^{-1}$), *b* – период синусоиды, описывающей открытие-закрытие пилорического клапана желудка (безразмерная величина), *k_a* – константа скорости всасывания лозартана из просвета тонкого кишечника в кровь ($ч^{-1}$). $AUC_{E\text{-}3174}$ – площадь под кривой зависимости концентрации Е-3174 от времени, $AUC_{лозартан}$ – площадь под кривой зависимости концентрации лозартана от времени, AUC_{ratio} – отношение $AUC_{лозартан}$ к $AUC_{E\text{-}3174}$, $C_{max,\ E\text{-}3174}$ – максимальная концентрация Е-3174, $C_{max,\ лозартан}$ – максимальная концентрация лозартана.

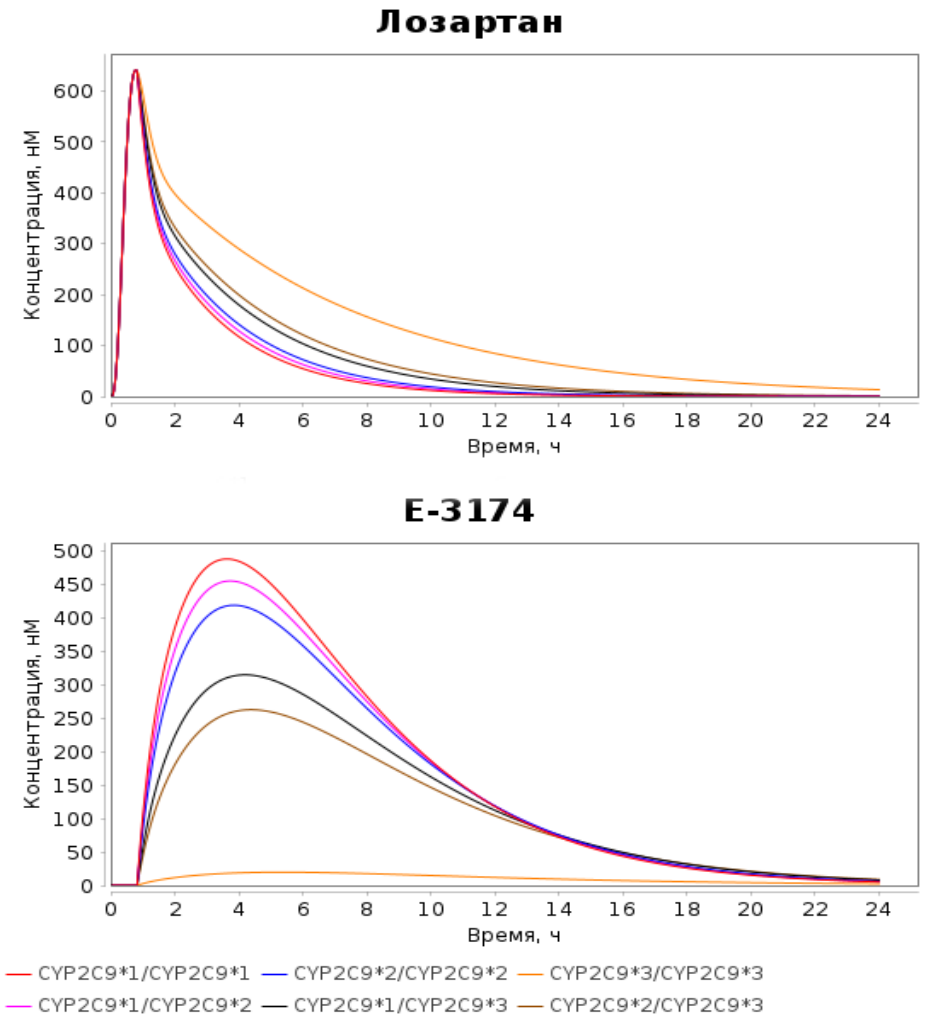

Рис. А4. Графики зависимости концентраций лозартана (верхний график) и Е-3174 (нижний график), предсказанные моделью, для шести генотипов.

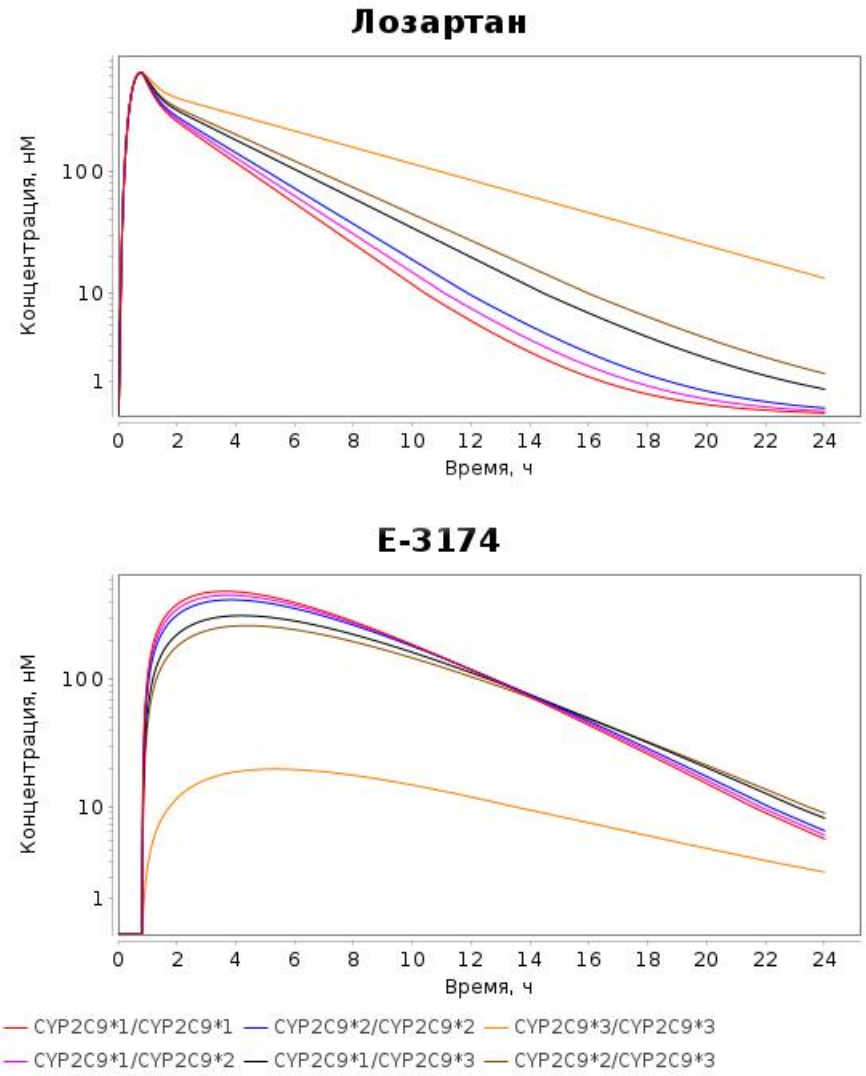

Рис. А5. Полулогарифмические графики зависимости концентраций лозартана (верхний график) и Е-3174 (нижний график), предсказанные моделью, для шести генотипов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nelson D.R. Cytochrome P450 nomenclature, 2004. In: *Cytochrome P450 Protocols. Methods in Molecular Biology*, vol. 320. Eds. Phillips I.R., Shephard E.A. Totowa, NJ: Humana Press, 2006. P. 1–10. doi: 10.1385/1-59259-998-2:1
2. Nebert D.W., Russell D.W. Clinical importance of the cytochromes P450. *The Lancet.* 2002. V. 360. P. 1155–1162. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11203-7
3. Takahashi H., Echizen H. Pharmacogenetics of warfarin elimination and its clinical implications. *Clin. Pharmacokinet.* 2001. V. 40. P. 587–603. doi: 10.2165/00003088-200140080-00003
4. Zanger U.M., Turpeinen M., Klein K., Schwab M. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. V. 392. P. 1093–1108. doi: 10.1007/s00216-008-2291-6
5. Zanger U.M., Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol. Ther.* 2013. V. 138. P. 103–141. doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.12.007

6. Miners J.O., Birkett D.J. Cytochrome P4502C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1998. V. 45. P. 525–538. doi: 10.1046/j.1365-2125.1998.00721.x
7. Gray I.C., Nobile C., Muresu R., Ford S., Spurr N.K. A 2.4-megabase physical map spanning the CYP2C gene cluster on chromosome 10q24. *Genomics.* 1995. V. 28. P. 328–332. doi: 10.1006/geno.1995.1149
8. Lee C.R., Goldstein J.A., Pieper J.A. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics.* 2002. V. 12. P. 251–263. doi: 10.1097/00008571-200204000-00010
9. Ged C., Umbenhauer D.R., Bellew T.M., Bork R.W., Srivastava P.K., Shinriki N., Lloyd R.S., Guengerich F.P. Characterization of cDNAs, mRNAs, and proteins related to human liver microsomal cytochrome P-450 (S)-mephenytoin 4’-hydroxylase. *Biochemistry.* 1988. V. 27. P. 6929–6940. doi: 10.1021/bi00418a039
10. Stubbins M.J., Harries L.W., Smith G., Tarbit M.H., Wolf C.R. Genetic analysis of the human cytochrome P450 CYP2C9 locus. *Pharmacogenetics.* 1996. V. 6. P. 429–439. doi: 10.1097/00008571-199610000-00007
11. Sullivan-Klose T.H., Ghanayem B.I., Bell D.A., Zhang Z.Y., Kaminsky L.S., Shenfield G.M., Miners J.O., Birkett D.J., Goldstein J.A. The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics.* 1996. V. 6. P. 341–349. doi: 10.1097/00008571-199608000-00007
12. Schwarz U.I. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C9 gene. *Eur. J. Clin. Invest.* 2003. V. 33 Suppl 2. P. 23–30. doi: 10.1046/j.1365-2362.33.s2.6.x
13. Si D., Guo Y., Zhang Y., Yang L., Zhou H., Zhong D. Identification of a novel variant CYP2C9 allele in Chinese. *Pharmacogenetics.* 2004. V. 14. P. 465–469. doi: 10.1097/01.fpc.0000114749.08559.e4
14. McCrea J.B., Cribb A., Rushmore T., Osborne B., Gillen L., Lo M.W., Waldman S., Bjornsson T., Spielberg S., Goldberg M.R. Phenotypic and genotypic investigations of a healthy volunteer deficient in the conversion of losartan to its active metabolite E-3174. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1999. V. 65. P. 348–352. doi: 10.1016/S0009-9236(99)70114-1
15. Stearns R.A., Chakravarty P.K., Chen R., Chiu S.H. Biotransformation of losartan to its active carboxylic acid metabolite in human liver microsomes. Role of cytochrome P4502C and 3A subfamily members. *Drug Metab. Dispos.* 1995. V. 23. P. 207–215.
16. Kaukonen K.M., Olkkola K.T., Neuvonen P.J. Fluconazole but not itraconazole decreases the metabolism of losartan to E-3174. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1998. V. 53. P. 445–449. doi: 10.1007/s002280050405
17. Williamson K.M., Patterson J.H., McQueen R.H., Adams K.F.J., Pieper J.A. Effects of erythromycin or rifampin on losartan pharmacokinetics in healthy volunteers. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1998. V. 63. P. 316–323. doi: 10.1016/S0009-9236(98)90163-1
18. Goldberg M.R., Lo M.W., Bradstreet T.E., Ritter M.A., Höglund P. Effects of cimetidine on pharmacokinetics and pharmacodynamics of losartan, an AT1-selective non-peptide angiotensin II receptor antagonist. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1995. V. 49. P. 115–119. doi: 10.1007/BF00192369
19. Kobayashi M., Takagi M., Fukumoto K., Kato R., Tanaka K., Ueno K. The effect of bucolome, a CYP2C9 inhibitor, on the pharmacokinetics of losartan. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2008. V. 23. P. 115–119. doi: 10.2133/dmpk.23.115
20. Wennerholm A., Nordmark A., Pihlsgård M., Mahindi M., Bertilsson L., Gustafsson L.L. Amodiaquine, its desethylated metabolite, or both, inhibit the metabolism of debrisoquine (CYP2D6) and losartan (CYP2C9) *in vivo*. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2006. V. 62. P. 539–546. doi: 10.1007/s00228-006-0121-3
21. Timmermans P.B., Wong P.C., Chiu A.T., Herblin W.F., Benfield P., Carini D.J., Lee R.J., Wexler R.R., Saye J.A., Smith R.D. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol. Rev.* 1993. V. 45. P. 205–251.

22. Yasar U., Tybring G., Hidestrand M., Oscarson M., Ingelman-Sundberg M., Dahl M.L., Eliasson E. Role of CYP2C9 polymorphism in losartan oxidation. *Drug Metab. Dispos.* 2001. V. 29. P. 1051–1056.
23. Yun C.H., Lee H.S., Lee H., Rho J.K., Jeong H.G., Guengerich F.P. Oxidation of the angiotensin II receptor antagonist losartan (DuP 753) in human liver microsomes. Role of cytochrome P4503A(4) in formation of the active metabolite EXP3174. *Drug Metab. Dispos.* 1995. V. 23. P. 285–289.
24. Lo M.W., Goldberg M.R., McCrea J.B., Lu H., Furtek C.I., Bjornsson T.D. Pharmacokinetics of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, and its active metabolite EXP3174 in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1995. V. 58. P. 641–649. doi: 10.1016/0009-9236(95)90020-9
25. Yasar U., Forslund-Bergengren C., Tybring G., Dorado P., Llerena A., Sjöqvist F., Eliasson E., Dahl M.L. Pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in relation to the CYP2C9 genotype. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2002. V. 71. P. 89–98. doi: 10.1067/mcp.2002.121216
26. Karatza E., Karalis V. Modelling gastric emptying: A pharmacokinetic model simultaneously describing distribution of losartan and its active metabolite EXP-3174. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2020. V. 126. P. 193–202. doi: 10.1111/bcpt.13321
27. Kolpakov F., Akberdin I., Kashapov T., Kiselev l., Kolmykov S., Kondrakhin Y., Kutumova E., Mandrik N., Pintus S., Ryabova A. et al. BioUML: an integrated environment for systems biology and collaborative analysis of biomedical data. *Nucleic Acids Res.* 2019. V. 47. P. W225–W233. doi: 10.1093/nar/gkz440
28. Kolpakov F., Akberdin I., Kiselev I., Kolmykov S., Kondrakhin Y., Kulyashov M., Kutumova E., Pintus S., Ryabova A., Sharipov R. et al. BioUML-towards a universal research platform. *Nucleic Acids Res.* 2022. V. 50. P. W124–W131. doi: 10.1093/nar/gkac286
29. Киселев И.Н., Семисалов Б.В., Бибердорф Э.А., Шарипов Р.Н., Блохин А.М., Колпаков Ф.А. Модульное моделирование сердечно-сосудистой системы человека. *Математическая биология и биоинформатика.* 2012. Т. 7. № 2. С. 703–736. doi: 10.17537/2012.7.703
30. Кутумова Е.О. Редукция модели CD95-индуцируемого апоптоза. *Математическая биология и биоинформатика*. 2012. Т. 7. № 1. С. 139-151. doi: 10.17537/2012.7.139
31. Кутумова Е.О., Зиновьев А.Ю., Шарипов Р.Н., Колпаков Ф.А. Применение методов редукции для построения комплексной модели апоптотических путей. *Математическая биология и биоинформатика*. 2012. Т. 7. № 2. С. 572–588. doi: 10.17537/2012.7.572
32. Киселев И.Н., Бибердорф Э.А., Баранов В.И., Комлягина Т.Г., Мельников В.Н., Суворова И.Ю., Кривощеков С.Г., Колпаков Ф.А. Персонализация параметров и валидация модели сердечно-сосудистой системы человека. *Математическая биология и биоинформатика.* 2015. Т. 10. № 2. С. 526–547. doi: 10.17537/2015.10.526
33. Киселев И.Н., Кутумова Е.О., Колпакова А.Ф., Лифшиц Г.И., Колпаков Ф.А. Математическое моделирование действия антигипертензивных препаратов. *Математическая биология и биоинформатика.* 2019. Т. 14. № 1. С. 233–256. doi: 10.17537/2019.14.233
34. Киселев И.Н., Акбердин И.Р., Вертышев А.Ю., Попов Д.В., Колпаков Ф.А. Модульная графическая модель энергетического метаболизма в клетках скелетной мышцы. *Математическая биология и биоинформатика*. 2019. Т. 14. № 2. С. 373–392. doi: 10.17537/2019.14.373
35. Акбердин И.Р., Вертышев А.Ю., Пинтус С.С., Попов Д.В., Колпаков Ф.А. Математическая модель, связывающая Ca2+ - зависимый сигнальный путь с

регуляцией экспрессии генов в клетках скелетной мышцы человека. *Математическая биология и биоинформатика*. 2020. Т. 15. № 1. С. 20–39. doi: 10.17537/2020.15.20

36. Бородулина А.Д., Кутумова Е.О., Лифшиц Г.И., Колпаков Ф.А. Математическое моделирование антигипертензивной терапии азилсартана медоксомилом на примере клинических данных реального пациента. *Математическая биология и биоинформатика.* 2023. Т. 18. № 1. С. 228–250. doi: 10.17537/2023.18.228
37. Кондрахин П.Ю., Колпаков Ф.А. Многоуровневая математическая модель эпилептических припадков. *Математическая биология и биоинформатика.* 2023. Т. 18. № 2. С. 479–516. doi: 10.17537/2023.18.479
38. Keating S.M., Waltemath D., König M., Zhang F., Dräger A., Chaouiya C., Bergmann F.T., Finney A., Gillespie C.S., Helikar T. et al. SBML Level 3: an extensible format for the exchange and reuse of biological models. *Mol. Syst. Biol.* 2020. V. 16. P. e9110. doi: 10.15252/msb.20199110
39. Malik-Sheriff R.S., Glont M., Nguyen T.V.N., Tiwari K., Roberts M.G., Xavier A., Vu M.T., Men J., Maire M., Kananathan S. et al. BioModels-15 years of sharing computational models in life science. *Nucleic Acids Res.* 2020. V. 48. P. D407–D415. doi: 10.1093/nar/gkz1055
40. Runarsson T., Yao X. Yao, X.: Stochastic ranking for constrained evolutionary optimization. IEEE Trans. Evol. Comput. 4, 284-294. *Evol. Comput. IEEE Trans. On* 2000. V. 4. P. 284–294. doi: 10.1109/4235.873238
41. Bjorkman M., Holmström K. Global optimization using the DIRECT algorithm in Matlab. *Adv. Model. Optim.* 2004. V. 1.
42. Goldfeld S.M., Quandt R.E., Trotter H.F. Maximization by Quadratic Hill-Climbing. *Econometrica.* 1966. V. 34. P. 541–551. doi: 10.2307/1909768
43. Sierra M.R., Coello C.A.C. Improving PSO-Based Multi-objective Optimization Using Crowding, Mutation and epsilon-Dominance. In *International Conference on Evolutionary Multi-Criterion Optimization*. 2005.
44. Nebro A.J., Durillo J.J., Luna F., Dorronsoro B., Alba E. MOCell: A cellular genetic algorithm for multiobjective optimization. *Int. J. Intell. Syst.* 2009. V. 24.
45. Ingber L. Adaptive simulated annealing (ASA): Lessons learned. *Control Cybern.* 1996. V. 25. P. 33–54. doi: 10.48550/arXiv.cs/0001018
46. Raue A., Kreutz C., Maiwald T., Bachmann J., Schilling M., Klingmüller U., Timmer J.. Structural and practical identifiability analysis of partially observed dynamical models by exploiting the profile likelihood. *Bioinformatics.* 2009. V. 25. P. 1923–1929. doi: 10.1093/bioinformatics/btp358
47. Raue A., Becker V., Klingmüller U., Timmer J. Identifiability and observability analysis for experimental design in nonlinear dynamical models. *Chaos Woodbury N.* 2010. V. 20. P. 045105. doi: 10.1063/1.3528102
48. Rabitz H.A., Kramer M.A., Dacol D.K. Sensitivity Analysis in Chemical Kinetics. *Annu. Rev. Phys. Chem.* 1983. V. 34. P. 419–461.
49. Toutain P.L., Bousquet-Mélou A. Plasma terminal half-life. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2004. V. 27. P. 427–439. doi: 10.1111/j.1365-2885.2004.00600.x
50. Le Novère N., Hucka M., Mi H., Moodie S., Schreiber F., Sorokin A., Demir E., Wegner K., Aladjem M.I., Wimalaratne S.M. et al. The Systems Biology Graphical Notation. *Nat. Biotechnol.* 2009. V. 27. P. 735–741. doi: 10.1038/nbt.1558
51. Deloose E., Janssen P., Depoortere I., Tack J. The migrating motor complex: control mechanisms and its role in health and disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2012. V. 9. P. 271–285. doi: 10.1038/nrgastro.2012.57
52. Feher J. Intestinal and Colonic Chemoreception and Motility. 2017. P. 796–809. doi: 10.1016/B978-0-12-800883-6.00079-3

53. Dominiczak A.F., Negrin D.C., Clark J.S., Brosnan M.J., McBride M.W., Alexander M.Y. Genes and hypertension: from gene mapping in experimental models to vascular gene transfer strategies. *Hypertens. Dallas Tex. 1979.* 2000. V. 35. P. 164–172. doi: 10.1161/01.hyp.35.1.164
54. Menni C., Mangino M., Zhang F., Clement G., Snieder H., Padmanabhan S., Spector T.D. Heritability analyses show visit-to-visit blood pressure variability reflects different pathological phenotypes in younger and older adults: evidence from UK twins. *J. Hypertens.* 2013. V. 31. P. 2356–2361. doi: 10.1097/HJH.0b013e32836523c1
55. Chavda H., Patel C., Anand I.S. Biopharmaceutics Classification System. *Syst. Rev. Pharm.* 2010. V. 1. P. 62–69. doi: 10.4103/0975-8453.59514
56. Sugihara M., Takeuchi S., Sugita M., Higaki K., Kataoka M., Yamashita S. Analysis of Intra- and Intersubject Variability in Oral Drug Absorption in Human Bioequivalence Studies of 113 Generic Products. *Mol. Pharm.* 2015. V. 12. P. 4405–4413. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00602
57. Tsume Y., Amidon G.L. The biowaiver extension for BCS class III drugs: the effect of dissolution rate on the bioequivalence of BCS class III immediate-release drugs predicted by computer simulation. *Mol. Pharm.* 2010. V. 7. P. 1235–1243. doi: 10.1021/mp100053q
58. Higaki K., Choe S.Y., Löbenberg R., Welage L.S., Amidon G.L. Mechanistic understanding of time-dependent oral absorption based on gastric motor activity in humans. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008. V. 70. P. 313–325. doi: 10.1016/j.ejpb.2008.02.022
59. Langguth P., Lee K.M., Spahn-Langguth H., Amidon G.L. Variable gastric emptying and discontinuities in drug absorption profiles: dependence of rates and extent of cimetidine absorption on motility phase and pH. *Biopharm. Drug Dispos.* 1994. V. 15. P. 719–746. doi: 10.1002/bdd.2510150902
60. Oberle R.L., Amidon G.L. The influence of variable gastric emptying and intestinal transit rates on the plasma level curve of cimetidine; an explanation for the double peak phenomenon. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1987. V. 15. P. 529–544. doi: 10.1007/BF01061761
61. Takamatsu N., Welage L.S., Hayashi Y., Yamamoto R., Barnett J.L., Shah V.P., Lesko L.J., Ramachandran C., Amidon G.L. Variability in cimetidine absorption and plasma double peaks following oral administration in the fasted state in humans: correlation with antral gastric motility. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2002. V. 53. P. 37–47. doi: 10.1016/s0939-6411(01)00207-7
62. Shin H.-B., Jung E.H., Kang P., Lim C.W., Oh K.-Y., Cho C.-K., Lee Y.J., Choi C.-I., Jang C.-G., Lee S.-Y. et al. ABCB1 c.2677G>T/c.3435C>T diplotype increases the early-phase oral absorption of losartan. *Arch. Pharm. Res.* 2020. V. 43. P. 1187–1196. doi: 10.1007/s12272-020-01294-3

Рукопись поступила в редакцию 15.11.2024, переработанный вариант поступил 09.12.2024.
Дата опубликования 27.12.2024.

Modeling the Differential Effect of *CYP2C9* Gene Alleles on Losartan Metabolism

Babaev D.S.[1], Kutumova E.O.[1,2,3], Kolpakov F.A.[1,2]

[1]*Department of Computational Biology, Sirius University of Science and Technology, Sirius, Krasnodar region, Russia*

[2]*Federal Research Center for Information and Computational Technologies, Novosibirsk, Russia*

[3]*Biosoft.Ru, Ltd., Novosibirsk, Russia*

Abstract. Arterial hypertension is a multifactorial disease characterized by an increase in systolic and/or diastolic blood pressure. This pathology affects about a billion people worldwide. Hypertension is also a common risk factor for the development of different cardiovascular diseases, which are the leading cause of death in the population, claiming about 17 million lives annually. Various antihypertensive drugs are used to control hypertension, for example, losartan, a selective angiotensin II AT1-receptor antagonist. Losartan is primarily metabolized in the liver by CYP2C9, a member of the cytochrome P450 superfamily, to the pharmacologically active metabolite carboxylosartan (E-3174). The *CYP2C9* gene is highly polymorphic: numerous single nucleotide polymorphisms that alter the function of the enzyme have been described in the literature. The most widespread *CYP2C9* alleles are *CYP2C9*1* (wild-type), *CYP2C9*2* and *CYP2C9*3*. Here, we performed mathematical modeling of the metabolism of orally administered losartan to E-3174, taking into account combinations of the most common *CYP2C9* alleles. It was shown that, depending on the *CYP2C9* genotype, the pharmacokinetics of losartan and E-3174 differ significantly, which is confirmed by previously published experimental data. To develop and analyze the model, we used the BioUML software. The results of the modeling can potentially be used to personalize drug therapy for arterial hypertension.

Key words: *arterial hypertension, losartan, pharmacokinetics, CYP2C9, mathematical modeling, BioUML.*