doi 10.18699/bgrs2026-1015

Комплекс вортиоксетина с глицирризиновой кислотой: преодоление глюкокортикоидной резистентности и модуляция воспалительного ответа

Бондарь Н.П.[1]*, Хантакова Ю.Н.[1], Метелева Е.С.[1, 2], Рябушкина Ю.А.[2], Поляков Н.Э.[2, 3], Дегтярева А.О.[1], Салман Р.[1], Душкин А.В.[2]

[1] *Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*
[2] *Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск, Россия*
[3] *Институт химической кинетики и горения СО РАН, Новосибирск, Россия*
* *nbondar@bionet.nsc.ru*

Ключевые слова: вортиоксетин; глицирризиновая кислота; воспаление; глюкокортикоиды

Мотивация и цель: Современные представления о патогенезе депрессии выходят за рамки моноаминовой гипотезы и включают нейроэндокринные дисфункции, а также иммунные расстройства, в частности, нейровоспаление и системное воспаление. Применение антидепрессантов, таких, например, как мультимодальный агент вортиоксетин (Ворт), демонстрирует ограниченную эффективность (около 35%) и не в полной мере корректирует воспалительный компонент заболевания. Одним из перспективных подходов к повышению эффективности фармакотерапии является создание супрамолекулярных комплексов с биологически активными носителями. Глицирризиновая кислота (ГК), тритерпеновый сапонин, обладает собственными противовоспалительными, нейропротекторными свойствами и способностью модулировать активность глюкокортикоидных рецепторов (ГР). Целью работы являлась разработка и доклиническая оценка супрамолекулярного комплекса вортиоксетина с натриевой солью глицирризиновой кислоты (Na_2ГК), а также изучение его влияния на ключевые патогенетические звенья депрессии: воспалительный ответ и глюкокортикоидную сигнализацию.
Методы: Комплексы Ворт:Na_2ГК в молярных соотношениях 1:5, 1:10 и 1:20 получали методом твердофазной механохимической обработки. Физико-химические свойства изучали с помощью ВЭЖХ, рентгенофазового анализа (РФА), сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), спектроскопии ЯМР 1H (измерение времен спин-спиновой релаксации T2) и гель-хроматографии. Биологические эффекты оценивали *in vitro* на клетках микроглии мыши (SIM-A9) и *ex vivo* на клетках цельной крови мышей. Оценивали цитотоксичность, экспрессию генов (провоспалительных цитокинов, компонентов сигнального пути ГР и серотонинового рецептора 5-HT1A) методом ПЦР в реальном времени, а также способность к дифузии через монослой клеток Caco-2.
Результаты: Механохимическая обработка привела к увеличению растворимости Ворт во всех комплексах, наиболее эффективно – при соотношении 1:20. РФА и СЭМ показали частичную аморфизацию структуры и уменьшение размера частиц исходных компонентов с образованием полидисперсного порошка. Ключевым доказательством формирования супрамолекулярных структур стали данные ЯМР 1H: время релаксации T2 ароматических протонов Ворт в комплексе 1:20 снизилось в 50 раз (с 575 мс до ~10 мс) по сравнению со свободным Ворт, что свидетельствует о полном включении молекул антидепрессанта в мицеллы носителя. Гель-хроматография подтвердила образование крупных смешанных ассоциатов Ворт с Na_2ГК.
В терапевтических концентрациях (до 7.5 мкМ) комплекс 1:20 не проявлял цитотоксичности в отношении клеток микроглии SIM-A9, в отличие от свободного Ворт и комплексов с меньшим содержанием ГК. В условиях гиперстимуляции ГР дексаметазоном (моделирование глюкокортикоидной нагрузки) только комплекс 1:20 сохранял жизнеспособность клеток на уровне контроля, демонстрируя протективные свойства. Комплекс 1:20 статистически значимо увеличивал скорость диффузии Ворт через монослой клеток Caco-2 по сравнению со свободным веществом, что позволяет прогнозировать повышение его пероральной биодоступности *in vivo*. Вортиоксетин и комплекс на его основе показали схожие противовспалительные эффекты *in vitro* и *ex vivo*. Преинкубация клеток SIM-A9 с Ворт и комплексом 1:20 значимо подавляла LPS-индуцированную экспрессию генов провоспалительных факторов *Nlrp3*, *Il1b* и *Il6*, но не влияла на *Tnf*. В клетках крови мышей, получавших Ворт или комплекс 1:20, наблюдалось снижение LPS-индуцированной экспрессии гена *Tnf* по сравнению с контролем. В обоих случаях препараты не влияли на базальный уровень экспрессии цитокинов, что указывает на модуляцию только патологической активации иммунной системы.
Оценка влияния препаратов на глюкокортикоидную систему показала, что в базальных условиях комплекс 1:20 повышал экспрессию гена ГР (*Nr3c1*) и гена *Nr1d1* (транскрипционный фактор с противовоспалительной активностью), не активируя гены-мишени ГР (*Fkbp5*, *Tsc22d3 (Gilz)*), что исключает прямое влияние препаратов на эти гены. В условиях глюкокортикоидной нагрузки (дексаметазон), в которой индуцироваась функциональная резистентность ГР (снижение ответа *Fkbp5*), комплекс 1:20 восстанавливал чувствительность к стероидам, увеличивая экспрессию *Fkbp5* и *Gilz*. Этот эффект коррелировал с данными *ex vivo*, где введение Ворт и комплекса предотвращало развитие стресс-индуцированной резистентности ГР к дексаметазону (по гену *Gilz*). Важно, что комплекс 1:20 ослаблял индукцию гена эффлюксного транспортера *Abcb1a* (Р-гликопротеин),

вызываемую свободным Ворт. В условиях глюкокортикоидной нагрузки комплекс 1:20 синергично повышал экспрессию гена серотонинового рецептора 5-HT1A (*Htr1a*), ключевой мишени Ворт, что не наблюдалось для отдельных компонентов.
Выводы: Разработанный супрамолекулярный комплекс вортиоксетина с глицирризиновой кислотой (1:20) представляет собой новую фармакологическую стратегию для терапии депрессии. Комплексирование не только улучшает физико-химические свойства и прогнозируемую биодоступность антидепрессанта, но и обеспечивает синергический фармакодинамический эффект. Ключевыми преимуществами комплекса являются: (1) снижение цитотоксичности исходного препарата, (2) сохранение и модуляция противовоспалительной активности, (3) способность преодолевать функциональную глюкокортикоидную резистентность за счет повышения экспрессии ГР и восстановления чувствительности его генов-мишеней, (4) потенцирование экспрессии 5-HT1A-рецепторов в условиях стресса. Полученные данные обосновывают перспективность дальнейшего доклинического и клинического изучения комплекса Ворт:Na_2ГК (1:20) для терапии депрессивных расстройств, особенно в случаях, ассоциированных с воспалением и резистентностью к терапии.
Финансирование: Исследование поддержано грантов РНФ № 24-15-00301.

Vortioxetine complex with glycyrrhizic acid: overcoming glucocorticoid resistance and modulation of the inflammatory reponse

Bondar N.P.[1]*, Khantakova J.N.[1], Meteleva E.S.[1,2], Ryabushkina Y.A.[2], Polaykov N.E.[2,3], Degtyareva A.O.[1], Salman R.[1], Dushkin A.V.[2]
[1] *Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*
[2] *Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, SB RAS, Novosibirsk, Russia*
[3] *Institute of Chemical Kinetics and Combustion, SB RAS, Novosibirsk. Russia*
* *nbondar@bionet.nsc.ru*

Key words: vortioxetine; glycyrrhizic acid; inflammation; glucocorticoids

Motivation and Aim: Modern understanding of depression pathogenesis extends beyond the monoamine hypothesis and includes neuroendocrine dysfunctions as well as immune disorders, particularly neuroinflammation and systemic inflammation. The use of antidepressants, such as the multimodal agent vortioxetine (Vort), demonstrates limited efficacy (about 35%) and does not fully correct the inflammatory component of the disease. One promising approach to enhancing the effectiveness of pharmacotherapy is the creation of supramolecular complexes with biologically active carriers. Glycyrrhizic acid (GA), a triterpene saponin, possesses its own anti-inflammatory, neuroprotective properties and the ability to modulate glucocorticoid receptor (GR) activity. The aim of this work was to develop and conduct a preclinical evaluation of a supramolecular complex of vortioxetine with the sodium salt of glycyrrhizic acid (Na_2GA), as well as to study its effect on key pathogenetic links of depression: the inflammatory response and glucocorticoid signaling.
Methods: Vort:Na_2GA complexes at molar ratios of 1:5, 1:10, and 1:20 were obtained using solid-phase mechanochemical processing. Physicochemical properties were studied using HPLC, X-ray diffraction analysis (XRD), scanning electron microscopy (SEM), ^{1}H NMR spectroscopy (measurement of spin-spin relaxation times T_2) and gel chromatography. Biological effects were evaluated in vitro on mouse microglial cells (SIM-A9) and ex vivo on mouse whole blood cells. Cytotoxicity (MTT assay), gene expression (pro-inflammatory cytokines, components of the GR signaling pathway and the serotonin 5-HT_1A receptor) were assessed by real-time PCR, as well as diffusion capacity across a Caco-2 cell monolayer.
Results: Mechanochemical processing led to an increase in Vort solubility in all complexes, most effectively at a 1:20 ratio. XRD and SEM showed partial amorphization of the structure and a reduction in particle size of the initial components with the formation of a polydisperse powder. Key evidence for the formation of supramolecular structures came from ^{1}H NMR data: the T_2 relaxation time of Vort aromatic protons in the 1:20 complex decreased 50-fold (from 575 ms to ~10 ms) compared to free Vort, indicating complete incorporation of the antidepressant molecules into the carrier micelles. Gel chromatography confirmed the formation of large mixed associates of Vort with Na_2GA. At therapeutic concentrations (up to 7.5 μM), the 1:20 complex showed no cytotoxicity towards microglial cells, unlike free Vort and complexes with lower GA content. Under conditions of GR hyperstimulation with dexamethasone (modeling glucocorticoid load), only the 1:20 complex maintained cell viability at control levels, demonstrating protective properties. The 1:20 complex statistically significantly increased the diffusion rate of Vort across the Caco-2 cell monolayer compared to the free substance, suggesting potential for improved oral bioavailability in vivo.
Vortioxetine and its based complex showed similar anti-inflammatory effects in vitro and ex vivo. Pre-incubation of SIM-A9 cells with Vort and the 1:20 complex significantly suppressed LPS-induced expression of the pro-inflammatory factor genes *Nlrp3*, *Il1b*, and *Il6*, but did not affect *Tnf*. In blood cells from mice treated with Vort or the 1:20 complex, a reduction in LPS-induced *Tnf* gene expression was observed compared to control. In both cases, the drugs did not affect the basal level of cytokine expression, indicating modulation only of pathological immune system activation.
Evaluation of the drugs' effects on the glucocorticoid system showed that under basal conditions, the 1:20 complex increased expression of the GR gene (*Nr3c1*) and the *Nr1d1* gene (a transcription factor with anti-inflammatory

activity), without activating GR target genes (*Fkbp5*, *Tsc22d3 (Gilz)*), which excludes direct drug effects on these genes. Under glucocorticoid load conditions (dexamethasone), a model that induced functional GR resistance (reduced *Fkbp5* response), the 1:20 complex restored sensitivity to steroids, increasing *Fkbp5* and *Gilz* expression. This effect correlated with ex vivo data, where administration of Vort and the complex prevented the development of stress-induced GR resistance to dexamethasone (for the *Gilz* gene). Importantly, the 1:20 complex attenuated the induction of the efflux transporter gene *Abcb1a* (P-glycoprotein) caused by free Vort. Under glucocorticoid load conditions, the 1:20 complex synergistically increased expression of the serotonin 5-HT_1A receptor gene (*Htr1a*), a key target of Vort, which was not observed for the individual components.

Conclusions: The developed supramolecular complex of vortioxetine with glycyrrhizic acid (1:20) represents a novel pharmacological strategy for the treatment of depression. Complexation not only improves the physicochemical properties and predicted bioavailability of the antidepressant but also provides a synergistic pharmacodynamic effect. The key advantages of the complex are: (1) reduced cytotoxicity of the parent drug, (2) preservation and modulation of anti-inflammatory activity, (3) ability to overcome functional glucocorticoid resistance by increasing GR expression and restoring the sensitivity of its target genes, (4) potentiation of 5-HT_1A receptor expression under stress conditions. The obtained data substantiate the promise of further preclinical and clinical study of the Vort:Na_2GA (1:20) complex for the treatment of depressive disorders, especially in cases associated with inflammation and treatment resistance.

Funding: This study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 24-15-00301.