

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1678](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1678)
УДК 615.31; 615.038



Оригинальная статья / Research article

Синтез и контроль качества субстанции кальция хелидоната, обладающей остеогенной активностью

Е. Ю. Авдеева¹, Н. М. Игидов², В. Л. Гейн², С. В. Кривошеков¹, И. А. Хлусов¹,
М. В. Белоусов¹, Н. В. Дозморова²✉, В. Г. Лужанин²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России). 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

✉ Контактное лицо: Дозморова Наталья Викторовна. E-mail: doz-nat@yandex.ru

ORCID: Е. Ю. Авдеева – <https://orcid.org/0000-0001-7061-9843>; Н. М. Игидов – <https://orcid.org/0000-0003-0976-9951>;
В. Л. Гейн – <https://orcid.org/0000-0002-8512-0399>; С. В. Кривошеков – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;
И. А. Хлусов – <https://orcid.org/0000-0003-3465-8452>; М. В. Белоусов – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>;
Н. В. Дозморова – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>; В. Г. Лужанин – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>.

Статья поступила: 03.11.2023

Статья принята в печать: 18.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Применение остеогенных средств актуально при патологиях, связанных с нарушением формирования и регенерации костной ткани, осложнениях при переломах костей, использовании имплантатов и эндопротезов, возмещении объемных дефектов при опухолевых поражениях костной ткани. В доклинических экспериментах *in vivo* на модели экспериментального остеомиелита, *in vitro* и *in situ* на мезенхимных стволовых клетках выявлена высокая остеогенная активность хелидоната кальция, который является перспективной субстанцией для получения остеогенных лекарственных средств.

Цель. Разработка способа получения методом химического синтеза и методик стандартизации субстанции кальция хелидоната.

Материалы и методы. Синтез хелидоновой кислоты осуществляли на основе диэтилоксалата; хелидоната кальция – с использованием синтезированной хелидоновой кислоты и безводного кальция хлорида. Структуру веществ подтверждали оптическими спектральными методами, масс-спектрометрией, элементным и рентгено-структурным анализом. Оценку количественного содержания осуществляли на жидкостном хроматографе. Статистическую обработку результатов количественных измерений проводили в программе STATISTICA 8,0.

Results and discussion. В результате синтеза получена хелидоновая кислота (4-оксо-4H-пиран-2,6-дикарбоновая кислота), представляющая собой бесцветные или с кремовым оттенком кристаллы. Структура полученного соединения подтверждена спектральными характеристиками и данными элементного анализа. Отработан способ получения субстанции кальция хелидоната, при этом выход целевого продукта составил 100 ± 5 %. Методом рентгено-структурного анализа было установлено, что синтезированное соединение представляет собой кальций хелидонат тригидрат $[\text{Ca}(\text{ChA})(\text{H}_2\text{O})_3]_n$ с М.м. ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_9\text{Ca}$) 276,15. Разработаны методики установления подлинности, чистоты и определения количественного содержания субстанции. Количество примесей в полученной субстанции не превышало 0,1 %, а содержание основного компонента составило от $99,2 \pm 0,20$ до $100,4 \pm 0,35$ %.

Заключение. Ввиду ограниченности ресурсных запасов и трудоемкости процесса выделения хелидоновой кислоты из растительного сырья, предложен метод химического синтеза субстанции хелидоната кальция, обладающей остеогенной активностью. Полученные результаты дают перспективу дальнейшим исследованиям в направлении разработки и внедрения синтетического кальция хелидоната как нового остеогенного лекарственного средства при условии специфической биологической активности, сопоставимой с природным аналогом.

Ключевые слова: хелидоновая кислота, хелидонат кальция, синтез, контроль качества, остеогенная активность

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Е. Ю. Авдеева, И. А. Хлусов, М. В. Белоусов, Н. В. Дозморова и В. Г. Лужанин планировали и разрабатывали эксперименты; Е. Ю. Авдеева, Н. М. Игидов, В. Л. Гейн, С. В. Кривошеков осуществляли эксперименты; все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: Авдеева Е. Ю., Игидов Н. М., Гейн В. Л., Кривошеков С. В., Хлусов И. А., Белоусов М. В., Дозморова Н. В., Лужанин В. Г. Синтез и контроль качества субстанции кальция хелидоната, обладающей остеогенной активностью. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):47–52. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1678](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1678)

Synthesis and Quality Control of Calcium Chelidonate Substance with Osteogenic Activity

Elena Yu. Avdeeva¹, Nazim M. Igidov², Vladimir L. Gein², Sergei V. Krivoshechekov¹,
Igor A. Khlusov¹, Mikhail V. Belousov¹, Natalia V. Dozmorova²✉, Vladimir G. Luzhanin²

¹ Siberian State Medical University, SSMU. 2, Moscow tract, Tomsk, 634050, Russia

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2, Polevaya str., Perm, 614990, Russia

✉ Corresponding author: Natalia V. Dozmorova. E-mail: doz-nat@yandex.ru

© Авдеева Е. Ю., Игидов Н. М., Гейн В. Л., Кривошеков С. В., Хлусов И. А., Белоусов М. В., Дозморова Н. В., Лужанин В. Г., 2023

© Avdeeva E. Yu., Igidov N. M., Gein V. L., Krivoshechekov S. V., Khlusov I. A., Belousov M. V., Dozmorova N. V., Luzhanin V. G., 2023

ORCID: Elena Yu. Avdeeva – <https://orcid.org/0000-0001-7061-9843>; Nazim M. Igidov – <https://orcid.org/0000-0003-0976-9951>;
Vladimir L. Gein – <https://orcid.org/0000-0002-8512-0399>; Sergei V. Krivoshchekov – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;
Igor A. Khlusov – <https://orcid.org/0000-0003-3465-8452>; Mikhail V. Belousov – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>;
Natalia V. Dozmorova – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>; Vladimir G. Luzhanin – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>.

Received: 03.11.2023

Revised: 18.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Osteogenic agents are used for pathologies associated with impaired bone formation, complications of bone fractures, the use of implants and endoprostheses, and tumor lesions of bone tissue. High osteogenic activity *in vivo* on the model of experimental osteomyelitis, *in vitro* and *in situ* on mesenchymal stem cells was revealed for calcium chelidonate, which is a promising substance for the production of osteogenic drugs.

Aim. Development of a method for obtaining the calcium chelidonate substance by chemical synthesis and methods of its standardization.

Materials and methods. The synthesis of chelidonic acid was carried out on the basis of diethyloxalate; calcium chelidonate – using synthesized chelidonic acid and anhydrous calcium chloride. The structure of the substances was confirmed by optical spectral methods, mass spectrometry, elemental and X-ray structural analysis. The quantitative content was assessed using a liquid chromatograph. Statistical processing of the results of quantitative measurements was carried out in the STATISTICA 8,0 program.

Results and discussion. As a result of the synthesis, chelidonic acid (4-oxo-4H-piran-2,6-dicarboxylic acid) was obtained, which is colorless or cream-tinged crystals. The structure of the resulting compound is confirmed by spectral characteristics and elemental analysis data. A method for obtaining the calcium chelidonate substance has been worked out, while the yield of the target product was $100 \pm 5\%$. By X-ray structural analysis, it was found that the synthesized compound is calcium chelidonate trihydrate $[\text{Ca}(\text{ChA})(\text{H}_2\text{O})_3]_n$ with M.M. $(\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_9\text{Sa})$ 276,15. Methods for establishing authenticity, purity and quantification of the substance have been developed. The amount of impurities in the resulting substance did not exceed 0.1 %, and the content of the main component ranged from $99,2 \pm 0,20$ to $100,4 \pm 0,35\%$.

Conclusion. Due to the limited resource reserves and the complexity of the process of extracting chelidonic acid from plant raw materials, a method for the chemical synthesis of calcium chelidonate substance with osteogenic activity is proposed. The obtained results provide prospects for further research in the direction of the development and introduction of synthetic calcium chelidonate as a new osteogenic drug, provided that the specific biological activity is comparable to the natural analogue.

Keywords: chelidonic acid, calcium chelidonate, synthesis, quality control, osteogenic activity

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Elena Yu. Avdeeva, Igor A. Khlusov, Mikhail V. Belousov, Natalia V. Dozmorova, Vladimir G. Luzhanin planned and developed experiments. Elena Yu. Avdeeva, Nazim M. Igidov, Vladimir L. Gein, Sergei V. Krivoshchekov carried out experiments. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Avdeeva E. Yu., Igidov N. M., Gein V. L., Krivoshchekov S. V., Khlusov I. A., Belousov M. V., Dozmorova N. V., Luzhanin V. G. Synthesis and quality control of calcium chelidonate substance with osteogenic activity. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):47–52. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1678](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1678)

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания опорно-двигательного аппарата (ОДА) отличаются широкой распространенностью, сложностью лечения и имеют высокую социальную значимость, так как снижают качество жизни и нередко приводят к инвалидности. В структуре заболеваний ОДА значительный процент занимают патологии, связанные с нарушением формирования и регенерации костной ткани (остеопороз, остеомалация, остеомиелит и др.) и необходимостью стимулировать процесс остеогенеза [1]. Осложнения хирургического лечения переломов костей с использованием имплантатов и эндопротезов, также требуют фармакологической коррекции с помощью остеогенных средств. Применение лекарственных препаратов, стимулирующих остеогенез, так же чрезвычайно актуально в реконструктивной хирургии при возмещении объемных дефектов при опухолевых поражениях костной ткани [2].

В клинической медицине для контроля процессов ремоделирования кости при различных патологиях используют бисфосфонаты, деносумаб, кальцитонин, морфогенетические белки кости (BMP) и некоторые другие факторы роста, которые обладают рядом серьезных побочных эффектов, часто нивелирующих пользу от специфической остеогенной активности [3]. В связи с этим, разработка и внедрение новых эффективных и безопасных лекарственных средств с остеогенной активностью является актуальной проблемой современной медицинской и фармацевтической науки.

В доклинических экспериментах *in vivo* на модели экспериментального остеомиелита, *in vitro* и *in situ* на мезенхимных стволовых клетках выявлена высокая остеогенная активность кальциевой соли хелидоновой кислоты [4–5]. Хелидонат кальция, как перспективная субстанция для получения остеогенных лекарственных средств, отличается рядом пре-

имущества: характеризуется стабильностью структуры [5–6], возможностью получения как из растительного сырья, так и методом химического синтеза, относительно низкой себестоимостью. В данной работе представлены разработка способа получения кальция хелидоната методом химического синтеза, физико-химические характеристики и методики стандартизации полученной субстанции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для синтеза хелидоновой кислоты использовали диоксан, ацетон, гексан, диэтиловый эфир, диэтилоксалат, металлический натрий, хлористоводородную кислоту концентрированную, марок х.ч. или ч.д.а. (ООО «Сигма Тек», ООО «Диа-М», Саратовский электроприборостроительный завод имени Серго Орджоникидзе, Россия).

УФ-спектры снимали на спектрофотометре UNI-CO 2800 (США). Инфракрасные спектры снимали в таблетках с калия бромидом на приборе Nicolet 5700 (FT-IR, Thermo Fisher Scientific, США). Температуру плавления определяли на приборе Stuart SMF-38 (Bibby scientific, Великобритания). Масс-спектры получали на масс-спектрометре Thermo Scientific DFS (Thermo Fisher Scientific, США) при температуре паров 200–220 °С, с электронной ионизацией в 70 эВ. Элементный анализ (CHN) проводили на анализаторе Carlo Erba 1106 (Carlo Erba, Италия).

Оценку количественного содержания осуществляли на жидкостном хроматографе Ultimate 3000 (Thermo, США), оснащенном диодно-матричным детектором (DAD-3000RS) по следующей методике: 0,0125 г (точная навеска) субстанции, помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и растворяли в стартовой подвижной фазе, состоящей из 0,1%-го раствора трифторуксусной кислоты в воде и 0,1%-го раствора трифторуксусной кислоты в ацетонитриле (95:5), полученный раствор доводили до метки тем же растворителем. 1,0 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили объем колбы до метки тем же растворителем (А). Аналогичным образом был приготовлен стандартный раствор хелидоната кальция. По 20 мкл раствора А и стандартного раствора хроматографировали в следующих условиях: колонка 25 × 4,6 см, Luna C18(2), 5 мкм, Phenomenex; подвижная фаза – элюент А: 0,05 % ТФУ в воде; элюент Б – 0,05 % ТФУ в ацетонитриле; режим элюирования – градиентный: 0–5 мин – 5–10 % Б; 5–10 мин – 10–100 % Б; 10–15 мин – 100 % Б; 15–20 мин – 5 % Б; скорость потока: 1,0 мл/мин; температура колонки: 40 °С; детектор: УФ-спектрофотометрический или диодно-матричный, 220 нм; время регистрации хроматограмм: 20 мин.

Расчет содержания хелидоната кальция проводили по формуле:

$$X(\%) = \frac{S \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot S_0 \cdot (100 - W)},$$

где S – площадь пика хелидоната кальция на хроматограмма раствора А, $\text{mAU} \times \text{min}$; S_0 – площадь пика на хроматограмме стандартного раствора, $\text{mAU} \times \text{min}$; m_0 , m – масса навесок СО хелидоната кальция и исследуемого образца, г; W – потеря в массе при высушивании исследуемого образца.

Статистическую обработку результатов количественных измерений проводили в программе STATISTICA 8,0, вычисляли среднее арифметическое значение M и его стандартную ошибку m .

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для получения субстанции кальция хелидоната предварительно осуществляли синтез хелидоновой кислоты. Для этого в двугорлую круглодонную колбу, снабженную обратным холодильником и хлоркальциевой трубкой, вносили 150 мл абсолютного диоксана, 14,6 мл абсолютного ацетона и 27,8 мл диэтилоксалата. В полученный раствор при перемешивании на магнитной мешалке небольшими порциями в течение 1 ч вносили 4,6 г металлического натрия, при этом наблюдали потемнение раствора. Затем вносили еще 29,6 мл диэтилоксалата и 4,6 г металлического натрия небольшими порциями в течение 1 ч. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре, переносили в стакан, охлаждали льдом и при перемешивании вносили хлористоводородную кислоту концентрированную до сильно кислой реакции среды. Выпавший осадок отфильтровывали и промывали на фильтре гексаном. Полученный диэтоксалилацетон помещали в круглодонную колбу добавляли 300 мл воды очищенной и 100 мл кислоты хлористоводородной концентрированной. Образовавшуюся смесь осторожно нагревали в течение 3 часов. При этом происходило растворение диэтоксалилацетона и образование хелидоновой кислоты в виде осадка (рисунок 1). Хелидоновую кислоту отфильтровывали, промывали горячим этанолом, затем диэтиловым эфиром. Хелидоновую кислоту перекристаллизовывали из воды, высушивали в термостате при 150–160 °С в течение 2 ч. Выход хелидоновой кислоты составил 23 г (62,5 %).

Полученная хелидоновая кислота (4-оксо-4Н-пиран-2,6-дикарбоновая кислота) представляла собой бесцветные или с кремовым оттенком кристаллы с т.пл. 278 °С; УФ (EtOH) 272 нм; ИК (KBr, ν , cm^{-1}): 3437 (ОН), 3067 (CH_2), 1702 (C=O), 1642 (—C=C—), 1405, 1361 (ОН), 1123 (C—O), 960, 914, 883, 812, 796, 730, 618, 539, 465; MS m/z : 184 (M^+), 139, 69; Рассчитано для $\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_6$ (184.07): С 45.67, Н 2.19; найдено: С 45.65, Н 2.17.

Для отработки способа получения кальция хелидоната варьировали содержание исходных компонентов – хелидоновой кислоты и кальция хлорида:

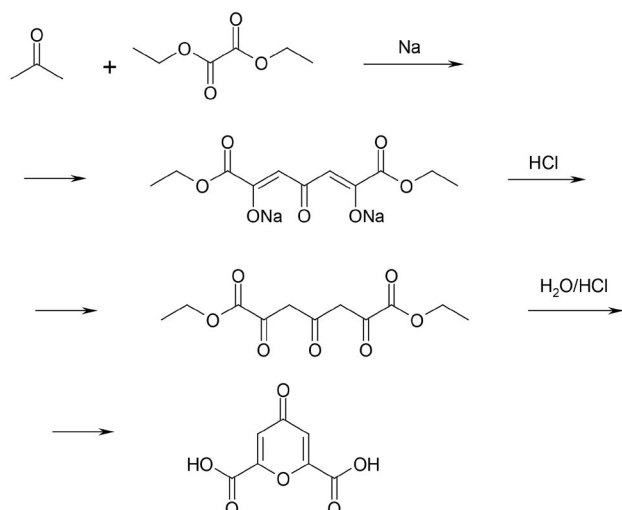


Рисунок 1. Схема синтеза хелидоновой кислоты

Figure 1. Scheme of chelidonic acid synthesis

1:1 и 1:2 моль. В первом случае выход кальция хелидоната составил порядка $40 \pm 5\%$ от исходной массы хелидоновой кислоты, во втором – $100 \pm 5\%$. Таким образом, оптимальный способ получения целевой субстанции следующий: к водному раствору моногидрата хелидоновой кислоты (0,101 г, 0,5 ммоль; в 10 мл H_2O) добавляли водный раствор 10%-го гидроксида натрия до pH 7–8. Полученный раствор хелидоновой кислоты вносили в водный раствор кальция хлорида безводного (0,111 г, 1 ммоль; в 5 мл H_2O) и оставляли до образования осадка ($20-25^\circ C$, 2 ч). Затем раствор охлаждали ($3-5^\circ C$, 12 ч), кальция хелидоната отфильтровывали, промывали небольшими порциями холодной воды до отрицательной реакции на хлорид-ион и высушивали.

Методом рентгено-структурного анализа установлено, что синтезированное соединение представляет собой кальция хелидонат тригидрат $[Ca(CH_2O)_3]_n$ (далее по тексту – КХТ), М.м. ($C_7H_8O_9Ca$) составляет 276,15 [5]. Полученный КХТ представляет собой бесцветные игольчатые кристаллы или белый

с кремоватым оттенком порошок без запаха, очень мало растворимый в воде, практически не растворимый этаноле.

Для установления подлинности субстанции разработаны методики качественных реакций и установлены спектральные характеристики:

А. 0,005 субстанции растворяли в 5 мл воды при нагревании. К 1 мл полученного раствора прибавляли 0,5 мл концентрированной серной кислоты и по каплям 0,1 М раствор калия перманганата. Наблюдала обесцвечивание (хелидоновая кислота).

Б. К 1 мл раствора, полученного для проведения реакции А, прибавляли 1 мл раствора аммония оксалата. Наблюдала образование осадка белого цвета, не растворимого в кислоте уксусной, но растворимого в минеральных кислотах (кальций).

В. 3 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили водой до метки (раствор А). 5 мл раствора А переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили водой до метки. Наблюдается максимум поглощения в области 270 ± 2 нм.

Г. В ИК-спектре субстанции присутствуют характеристические полосы поглощения ($3516 (H_2O)$; $3273 (OH)$; $3073, 2827 (CH_2)$; $1639, 1617, 1597 (C=C)$; $1410, 1357, 1315 (OH)$; $1134 (C-O) cm^{-1}$).

Потеря в массе при высушивании КХТ в среднем составила $15,50 \pm 0,50\%$, зола общая $33,6 \pm 0,40\%$. Сумма площадей пиков не идентифицированных примесей на хроматограмме испытуемого образца (количественное определение) не превышала 0,1 % (метод внутренней нормировки).

Содержание основного компонента в опытных партиях субстанции КХТ определенное методом ВЭЖХ составило от $99,2 \pm 0,20$ до $100,4 \pm 0,35\%$ (таблица 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Остеопротективные свойства некоторых микроэлементов, в том числе, кальция, хорошо известны [7–8]. Но, в то же время, серьезной проблемой

Таблица 1. Характеристика субстанции кальция хелидоната (КХТ)

Table 1. Characteristics of the calcium chelidonate substance (KHT)

Партия Batch	Потеря в массе при высушивании, % Weight loss during drying, %	Зола общая, % Common ash, %	Максимум поглощения, нм Maximum absorption, nm	tR, мин tR, min	Содержание примесей (%) Impurity content (%)	Содержание КХТ (%) Content of CCS (%)
1	$15,50 \pm 0,50$	$33,8 \pm 0,40$	270	3,73	$0,08 \pm 0,01$	$99,2 \pm 0,30$
2	$14,1 \pm 0,45$	$37,0 \pm 0,40$	269	3,74	$0,09 \pm 0,01$	$100,0 \pm 0,50$
3	$15,8 \pm 0,40$	$35,8 \pm 0,55$	270	3,74	$0,07 \pm 0,02$	$99,8 \pm 0,30$
4	$15,4 \pm 0,50$	$33,6 \pm 0,40$	270	3,73	$0,07 \pm 0,03$	$100,3 \pm 0,25$
5	$15,6 \pm 0,50$	$33,7 \pm 0,50$	271	3,76	$0,08 \pm 0,02$	$99,8 \pm 0,40$

является поиск систем доставки терапевтических агентов в костную ткань [9]. Хелидоновая кислота является лигандом в металлоорганических соединениях как природного, так и синтетического происхождения [10–11] и, тем самым, перспективна в качестве системы доставки элементов к целевым мишеням. Особенно актуально данное свойство хелидоновой кислоты вследствие низкой биологической доступности эссенциальных химических элементов при поступлении через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) [12].

Ранее была доказана высокая регенераторная активность *in vivo* природного кальция хелидоната в условиях микробного поражения костной ткани. Полусинтетический образец субстанции хелидоната кальция также показал активность *in vitro* и *in situ* в отношении остеогенной дифференцировки мезенхимных стволовых/стромальных клеток (МСК). Полученные результаты позволяют предположить, что хелатный комплекс хелидоновой кислоты с кальцием является надежным транспортером последнего не только из ЖКТ в кровь при пероральном введении, но и через плазматическую мембрану МСК. При этом сама кислота и, тем более, ее кальциевая соль при прямом контакте с МСК *in vitro* стимулируют их деление и дифференцировку в остеобласты [4–5]. Предполагаемыми потенциальными мишенями кальция хелидоната могут быть известные сигнальные пути (BMP-2, RUNX2), а также активация рецептора, стимулирующего дифференцировку остеобластов и образование минерализованных формаций, как агонист Са-рецепторов I типа [13].

Ввиду ограниченности ресурсных запасов растительного сырья и трудоемкости процесса выделения из него хелидоновой кислоты, метод химического синтеза поможет решить проблему получения новой остеогенной субстанции, отличающейся эффективностью, стабильностью химической структуры и относительно низкой себестоимостью. Предложенный метод синтеза хелидоновой кислоты и, последовательно, кальция хелидоната, позволяет получить субстанцию, структурно идентичную природной, исследованной ранее [4], что подтверждено методом рентгеноструктурного анализа [5]. Количество примесей в полученной субстанции не превышает 0,1 %, а содержание основного компонента составляет от $99,2 \pm 0,20$ до $100,4 \pm 0,35$ %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Осуществлен синтез хелидоновой кислоты (4-оксо-4Н-пиран-2,6-дикарбоновая кислота) с использованием диэтилоксалата, ацетона и металлического натрия. Структура полученного соединения подтверждена методами элементного анализа, УФ-спектроскопии, ИК- и масс-спектрометрии.

Разработан способ получения субстанции кальция хелидоната тригидрата на основе хелидоновой кислоты и кальция хлорида, обладающей остеогенной активностью. Предложены методики определения подлинности субстанции, посторонних примесей и количественного содержания.

Полученные результаты дают перспективу дальнейшим исследованиям в направлении разработки и внедрения синтетического кальция хелидоната как нового остеогенного лекарственного средства при условии специфической биологической активности, сопоставимой с природным аналогом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аврунин А. С. Остеопороз и остеомалиция – клинико-диагностические проблемы. *Травматология и ортопедия России*. 2014;4(74):68–76. DOI: 10.21823/2311-2905-2014-0-4-68-76.
2. Лыкошин Д. Д., Зайцев В. В., Костромина М. А., Есипов Р. С. Остеопластические материалы нового поколения на основе биологических и синтетических матриц. *Тонкие химические технологии*. 2021;1(16):36–54. DOI: 10.32362/2410-6593-2021-16-1-36-54.
3. James A. W., LaChaud G., Shen J., Asatrian G., Nguyen V., Zhang X., Ting K., Soo C. Review of the Clinical Side Effects of Bone Morphogenetic Protein-2. *Tissue Eng. Part B Rev.* 2016; 22:284–297. DOI: 10.1089/ten.TEB.2015.0357.
4. Avdeeva E., Shults E., Rybalova T., Reshetov Ya., Porokhova E., Sukhodolo I., Litvinova L., Shupletsova V., Khaziakhmatova O., Khlusov I., Guryev A., Belousov M. Chelidonic Acid and its Derivatives from *Saussurea Controversa*: Isolation, Structural elucidation and Influence on the Osteogenic Differentiation of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in Vitro. *Biomolecules*. 2019;9(5):189(1–12). DOI: 10.3390/biom9050189.
5. Avdeeva E., Porokhova E., Khlusov I., Rybalova T., Shults E., Litvinova L., Shupletsova V., Khaziakhmatova O., Sukhodolo I., Belousov M. Calcium Chelidonate: Semi-synthesis, Crystallography, and Osteoinductive Activity In Vitro and In Vivo. *Pharmaceuticals*. 2021;14(6):579(1–14). DOI: 10.3390/ph14060579.
6. Makieieva N., Kupka T., Spaleniak G., Rahmonov O., Marek A., Blazytko A., Stobinski L., Stadnytska N., Pentak D., Buczek A., Broda M. A., Kus P., Kusz J., Ksiazek M. Experimental and theoretical characterization of chelidonic acid structure. *Structural Chemistry*. 2022; 33:2133–2145. DOI: 10.1007/s11224-022-02026-7.
7. Jeong J., Kim J. H., Shim J. H., Hwang N. S., Heo C. Y. Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration. *Biomaterials Research*. 2019;23(4). DOI: 10.1186/s40824-018-0149-3.
8. Lemair, T., Naili S. Possible role of calcium permselectivity in bone adaptation. *Medical Hypotheses*. 2012;78(3):367–369. DOI: 10.1016/j.mehy.2011.12.005.
9. Jahnke W., Bold G., Marzinzik A. L., Ofner S., Pellé X., Cotesta S., Bourgeois E., Lehmann S., Henry C., Hemmig R., Stauffer F., Hartwig J. C. D., Green J. R., Rondeau J.-M. A general strategy for targeting drugs to bone. *Angewandte Chemie*. 2015;54:14575–14579. DOI: 10.1002/anie.201507064.
10. Jadresko D., Kaksa. M., Popovic Z. Electrochemical Characteristics of 4-oxo-4H-pyridinecarboxylic Acid (Chelidonic Acid) and some of its Metal Complexes. *Electroanalysis*. 2017;29:538–547. DOI: 10.1002/elan.201600355.
11. Belian M. F., Silva W. E., de Sá G. F., Alves S., de Farias R. F. Synthesis and Characterization of Cr(III), Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), and Zn(II) Complexes With 2,6-Pyridinedicarboxylic Acid, Chelidamic Acid, and Chelidonic Acid. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*. 2014;44:1461–1463. DOI: 10.1080/15533174.2013.809754.
12. Ребров В. Г., Громова О. А. Витамины, макро- и микроэлементы. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008. 960 с.

13. Bae S. J., Kim H. J., Won H. Y., Min Y. K., Hwang E. S. Acceleration of osteoblast differentiation by a novel osteogenic compound, DMP-PYT, through activation of both the BMP and Wnt pathways. *Scientific reports*. 2017;7:8455(1–10). DOI: 10.1038/s41598-017-08190-9.

REFERENCES

1. Avrunin A. S. Clinical and diagnostic problems of osteoporosis and osteomalacia. *Traumatology and orthopedics of Russia*. 2014;4(74):68–76. (In Russ.) DOI: 10.21823/2311-2905-2014-0-4-68-76.
2. Lykoshin D. D., Zajcev V. V., Kostromina M. A., Esipov R. S. New generation osteoplastic materials based on biological and synthetic matrices. *Fine chemical technologies*. 2021;1(16):36–54. (In Russ.) DOI: 10.32362/2410-6593-2021-16-1-36-54.
3. James A. W., LaChaud G., Shen J., Asatrian G., Nguyen V., Zhang X., Ting K., Soo C. Review of the Clinical Side Effects of Bone Morphogenetic Protein-2. *Tissue Eng. Part B Rev*. 2016; 22:284–297. DOI: 10.1089/ten.TEB.2015.0357.
4. Avdeeva E., Shults E., Rybalova T., Reshetov Ya., Porokhova E., Sukhodolo I., Litvinova L., Shupletsova V., Khaziakhmatova O., Khlusov I., Guryev A., Belousov M. Chelidonic Acid and its Derivatives from *Saussurea Controversa*: Isolation, Structural elucidation and Influence on the Osteogenic Differentiation of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in Vitro. *Biomolecules*. 2019;9(5):189(1–12). DOI: 10.3390/biom9050189.
5. Avdeeva E., Porokhova E., Khlusov I., Rybalova T., Shults E., Litvinova L., Shupletsova V., Khaziakhmatova O., Sukhodolo I., Belousov M. Calcium Chelidonate: Semi-synthesis, Crystallography, and Osteoinductive Activity In Vitro and In Vivo. *Pharmaceuticals*. 2021;14(6):579(1–14). DOI: 10.3390/ph14060579.
6. Makieieva N., Kupka T., Spaleniak G., Rahmonov O., Marek A., Blazytko A., Stobinski L., Stadnytska N., Pentak D., Buczek A., Broda M. A., Kus P., Kusz J., Ksiazek M. Experimental and theoretical characterization of chelidonic acid structure. *Structural Chemistry*. 2022; 33:2133–2145. DOI: 10.1007/s11224-022-02026-7.
7. Jeong J., Kim J. H., Shim J. H., Hwang N. S., Heo C. Y. Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration. *Biomaterials Research*. 2019;23(4). DOI: 10.1186/s40824-018-0149-3.
8. Lemair, T., Naili S. Possible role of calcium permselectivity in bone adaptation. *Medical Hypotheses*. 2012;78(3):367–369. DOI: 10.1016/j.mehy.2011.12.005.
9. Jahnke W., Bold G., Marzinzik A. L., Ofner S., Pellé X., Cotesta S., Bourgier E., Lehmann S., Henry C., Hemmig R., Stauffer F., Hartwig J. C. D., Green J. R., Rondeau J.-M. A general strategy for targeting drugs to bone. *Angewandte Chemie*. 2015;54:14575–14579. DOI: 10.1002/anie.201507064.
10. Jadresko D., Kaksa. M., Popovic Z. Electrochemical Characteristics of 4-oxo-4H-pyridinecarboxylic Acid (Chelidonic Acid) and some of its Metal Complexes. *Electroanalysis*. 2017;29:538–547. DOI: 10.1002/elan.201600355.
11. Belian M. F., Silva W. E., de Sá G. F., Alves S., de Farias R. F. Synthesis and Characterization of Cr(III), Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), and Zn(II) Complexes With 2,6-Pyridinedicarboxylic Acid, Chelidamic Acid, and Chelidonic Acid. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*. 2014;44:1461–1463. DOI: 10.1080/15533174.2013.809754.
12. Rebrov V. G., Gromova O. A. Vitamins, macro- and microelements. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. 960 p. (In Russ.)
13. Bae S. J., Kim H. J., Won H. Y., Min Y. K., Hwang E. S. Acceleration of osteoblast differentiation by a novel osteogenic compound, DMP-PYT, through activation of both the BMP and Wnt pathways. *Scientific reports*. 2017;7:8455(1–10). DOI: 10.1038/s41598-017-08190-9.