

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

RESEARCH & PRODUCTION JOURNAL

DRUG DEVELOPMENT & REGISTRATION

ВНЕСЕН В ПЕРЕЧЕНЬ

ВАК Scopus®



**Спецвыпуск посвящается 300-летию
развития Пермской фармации**



ООО «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») – сертифицированный по требованиям GLP (ГОСТ 33044-2014) лабораторный центр, выполняющий высококачественные исследования в области разработки и контроля инновационных и воспроизведенных лекарственных средств, что является крайне актуальным с учетом действующих государственных программ развития фармацевтической промышленности (Фарма-2030)

Основными видами деятельности центра являются:

- БИОАНАЛИТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проводятся методами ВЭЖХ-МС/МС, ВЭЖХ-УФ, ИФА и др. с помощью валидированных методик анализа. Выполнение исследования и подготовка отчетности (отчет о валидации, аналитический отчет, архив хроматограмм) проводится в соответствии с Правилами проведения исследований биоэквивалентности воспроизведенных лекарственных препаратов в Евразийском Экономическом Союзе, а также Руководствами ЕМА и FDA.

- ОПИСАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ И БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ

Расчет фармакокинетических параметров, параметров биоэквивалентности и дисперсионный анализ проводится при помощи программного обеспечения R project (лицензия GPL-2/GPL-3) с расширением bear. Программа полностью валидирована относительно современного коммерческого программного обеспечения (WinNonlin/SAS). Анализ непараметрической статистики проводится при помощи программы IBM SPSS.

Область сертификации:

- научно-исследовательская работа;
- проведение биоаналитических исследований;
- проведение фармакокинетических исследований;
- определение противолечкарственных антител к биологическим лекарственным препаратам.



ООО «ЦФА»
117149, город Москва, Симферопольский бульвар, д. 8

Тел.: +7 (499) 281-81-11

www.cpha.ru E-mail: info@cpha.ru

ООО «ЦФА» первым в России среди биоаналитических лабораторий был сертифицирован по требованиям GLP (ГОСТ 33044-2014) в системе Ассоциации по сертификации «Русский Регистр» с аккредитацией Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии (Росстандарта). Область сертификации: научно-исследовательская работа; проведение биоаналитических исследований; проведение фармакокинетических исследований; проведение ТСКР (тест сравнительной кинетики растворения); определение противолечкарственных антител к биологическим лекарственным препаратам.

За весомый вклад за развитие российской экономики, добросовестную уплату налогов, достижение высоких экономических показателей, выразившихся в достижении лидирующего места в отраслевом рейтинге на основании отчетности Федеральной статистической службы Российской Федерации ОКВЭД 72.19 «Научные исследования и разработки в области естественных и технических наук прочие»



РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Научно-производственный журнал

**2023. Том 12, № 4
приложение 1**

DRUG DEVELOPMENT & REGISTRATION

Research & production journal

**2023. Volume 12, No. 4
supplement 1**

Цели и задачи журнала

Научно-производственный рецензируемый журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств» – актуальное бесплатное ежеквартальное прикладное издание и информационный портал для специалистов, задействованных в сфере обращения лекарственных средств. Журнал предназначен для фармацевтических предприятий-производителей и их сотрудников из отделов разработки, контроля качества, регистрации, производства и развития; сотрудников лабораторных центров, контрактно-исследовательских организаций, научных и образовательных учреждений. Основная цель журнала – обобщение научных и практических достижений в сфере разработки и регистрации лекарственных средств, повышение научной и практической квалификации специалистов сферы обращения лекарственных средств. Основные **пять тематических разделов** журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств» включают цикл развития лекарственного средства от его создания до получения регистрационного удостоверения.

Первый раздел посвящен поиску и разработке новых лекарственных средств.

Второй раздел – фармацевтической технологии и рассматривает научные и практические направления, от разработки и производства исходных фармацевтических ингредиентов, технологий и оборудования до создания стандартных и терапевтически эффективных лекарственных препаратов.

Третий раздел описывает аналитические методики контроля качества.

Четвертый раздел посвящен подходам к оценке эффективности и безопасности лекарственных средств, проведению доклинических и клинических исследований.

В **пятом разделе** рассматриваются вопросы валидации методик, подготовки регистрационного досье, жизненный цикл лекарственного препарата в ГхР-окружении. Журнал принимает к рассмотрению обзорные и экспериментальные статьи по данной тематике. К публикации в журнале приглашаются как отечественные, так и зарубежные исследователи в области разработки и регистрации лекарственных средств.

Главный редактор

Шохин И. Е., д. фарм. н., генеральный директор ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», Москва, Россия

Заместители главного редактора

Хуторянский В. В., к. х. н., Prof., BSc MSc PhD MRSC, School of Pharmacy, University of Reading, Рединг, Великобритания

Мустафин Р. И., к. фарм. н., директор Института фармации ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет Минздрава России, Казань, Республика Татарстан

Скорик Ю. А., доц., к. х. н., руководитель лаборатории природных полимеров Института высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург, Россия

Редакционная коллегия

Аммур Ю. И., к. биол. н., зав. лабораторией экспериментальной иммунологии ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Россия

Белобородов В. Л., д. фарм. н., профессор кафедры химии Института фармации им. А. П. Нелюбина Сеченовского университета, Москва, Россия

Белоусов М. В., профессор, д. фарм. н., заведующий кафедрой фармации ФПК и ППС ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия

Ваизова О. Е., доцент, д. м. н., профессор кафедры фармакологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия

Василенко И. А., проф., д. х. н., профессор Института биохимической технологии и нанотехнологии ФГАОУ РУДН, Москва, Россия

Гузев К. С., д. ф. н., уполномоченное лицо АО Фармацевтическое научно-производственное предприятие «Ретиноиды», Москва, Россия

Демина Н. Б., проф., д. фарм. н., профессор кафедры фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

Джупарова И. А., доцент, д. фарм. н., заведующий кафедрой управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товароведения ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», Новосибирск, Россия

Емшанова С. В., д. фарм. н., начальник отдела научных разработок ЦКП (НОЦ) ФГАОУ РУДН, Москва, Россия

Ивкин Д. Ю., к. б. н., доцент, начальник центра экспериментальной фармакологии, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии. ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия

Каленикова Е. И., проф., д. фарм. н., зав. кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Каракулова Е. В., д. фарм. н., профессор кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Комаров Т. Н., к. фарм. н., заведующий лабораторией биоаналитических исследований № 2, ООО «ЦФА», Москва, Россия

Куркин В. А., д. фарм. н., профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия

Лаврентьева Л. И., доцент, д. фарм. н., заведующий кафедрой управления и экономики фармации ФГБОУ ВО Ярославский государственный медицинский университет Минздрава России, Ярославль, Россия

Макеев О. Г., проф., д. м. н., зав. кафедрой биологии и медицинской генетики УГМУ, Екатеринбург, Россия

Малашенко Е. А., к. фарм. н., ст. преп. кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

Медведев Ю. В., к. фарм. н., доц. кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

Мельников Е. С., к. фарм. н., старший научный сотрудник ЦКФ ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России, Москва, Россия

Мирошниченко И. И., д. м. н., заведующий лабораторией фармакокинетики ФГБНУ Научный центр психического здоровья (НЦПЗ), Москва, Россия

Оборотова Н. А., проф., д. фарм. н., НИМЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, Россия

Попов В. В., проф., д. м. н., зав. лабораторией профессиональной клинической фармакодинамики НУЗ «Научный клинический центр ОАО «РЖД», Москва, Россия

Русинов В. Л., чл. корр. РАН, д. х. н., директор Химико-технологического института ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

Селезнева А. И., к. м. н., заместитель начальника управления по исследованиям и развитию ФБУ «ГИЛС и НП», Москва, Россия

Сливкин А. И., проф., д. фарм. н., зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Смехова И. Е., профессор кафедры технологии лекарственных форм. ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия

Станишевский Я. М., д. х. н., проф., директор Института биохимической технологии и нанотехнологии ФГАОУ РУДН, Москва, Россия

Сукоян Г. В., д. б. н., Международный центр внедрения новых биомедицинских технологий, Тбилисский государственный университет имени Ивана Джавахишвили, Тбилиси, Грузия

Сысуев Б. Б., доц., д. фарм. н., ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

Ташлицкий В. Н., к. х. н., старший научный сотрудник кафедры химии природных соединений химического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Тринеева О. В., д. фарм. н., доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Чучалин В. С., д. фарм. н., заведующий кафедрой фармацевтической технологии, декан фармацевтического факультета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия

Эпштейн Н. А., к. х. н., зав. лабораторией Центра регистрации и разработки лекарственных средств ООО «Ирвин 2», Москва, Россия

Учредители печатной версии	Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») Адрес: 117246, Россия, Москва, Симферопольский, д. 8, пом. 1/1
	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) Адрес: 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2
	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Адрес: 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2
Учредители онлайн версии	Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») Адрес: 117246, Россия, Москва, Симферопольский, д. 8, пом. 1/1
Издатель	Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») Адрес: 117246, Россия, Москва, Симферопольский, д. 8, пом. 1/1
Директор журнала	Кульджанова Н. В.
Заведующий редакцией	Михайлова Н. С.
Основан	Журнал издается с ноября 2012 г.
Периодичность	4 выпуска в год
Префикс DOI	10.33380
ISSN print	2305-2066
ISSN online	2658-5049
Адрес редакции	Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») Россия, 117246, Россия, Москва, Симферопольский, д. 8, пом. 1/1 www.pharmjournal.ru e-mail: info@pharmjournal.ru
Адрес типографии	ООО «МАКС ПРЕСС» Россия, 141092, Московская область, г. Королев, микрорайон Юбилейный, ул. Парковая, д. 2, кв. 103
Копирайт	© Разработка и регистрация лекарственных средств, 2023
Условия распространения материалов	Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License 
Тираж	999 экземпляров
Цена	Свободная

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Focus and Scope of the journal

Research and production peer-reviewed journal "**Drug Development & Registration**" (Razrabotka i registraciâ lekarstvennyh sredstv) is an up-to-date quarterly free application publication and information portal for Professionals involved in the circulation of medicines. Journal is designed for pharmaceutical manufacturers and their employees from the departments of development, quality control, registration, production and development; employees of laboratory centers, contract research organizations, scientific and educational institutions. The main focus of the journal is to summarize scientific and practical achievements in the field of drug development and registration, to increase the scientific and practical qualifications of specialists in the field of drug circulation. The main **five thematic sections** of the journal "Drug development & registration" (Razrabotka i registraciâ lekarstvennyh sredstv) include the development lifecycle of a drug product from its creation to obtaining a marketing authorization.

The first section is devoted to the research and development of new medicines.

The second section one provides information about pharmaceutical technology, pharmaceutical ingredients, and equipment for drug development.

The third section describes analytical quality control methods.

The fourth section is devoted to approaches to evaluating the efficacy and safety of medicines, conducting clinical and preclinical studies.

The fifth section deals with the validation of methods, preparation of the registration dossier, the life cycle of the drug product in the GxP environment. Journal accepts for consideration both review and original papers. Both domestic and foreign researchers in the field of drug development and registration are invited to publication in the journal.

Editor-in-Chief

Igor E. Shohin, Dr. of Sci. (Pharm.), CEO in LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" / LLC "CPHA"), Moscow, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Vitaliy V. Khutoryanskiy, Prof., Dr. of Sci. (Chem.) (UK), University of Reading, Reading, United Kingdom

Rouslan I. Moustafine, Cand. of Sci. (Pharm.), Kazan State Medical University, Kazan, Republic of Tatarstan

Yury A. Skorik, Cand. of Sci. (Chem.), Institute of Macromolecular Compounds, Saint-Petersburg, Russia

Editorial board

Yulia I. Ammour, Cand. of Sci. (Biol.), Mechnikov Scientific Research Institute of Vaccines and Sera of RAMS, Moscow, Russia

Vladimir L. Beloborodov, Dr. of Sci., Institute of Pharmacy named after A. P. Nelyubina Sechenov University, Moscow, Russia

Mikhail V. Belousov, Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Olga E. Vaizova, as. Prof., Dr. of Sci., Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Ivan A. Vasilenko, Prof., Dr. of Sci. (Chem.), RUDN University, Moscow, Russia

Konstantin S. Guzev, Retinoidy Company, Dr. of Sci. (Pharm.), Moscow, Russia

Natalia B. Diomina, Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Irina A. Dzhuparova, as. Dr. of Sci., Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Svetlana V. Emshanova, Dr. of Sci. (Pharm.), RUDN University, Moscow, Russia

Dmitry Yu. Ivkin, Cand. of Sci., Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russia

Elena I. Kalenikova, Prof., Dr. of Sci., Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Elena V. Karakulova, Dr. of Sci., Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Timofey N. Komarov, Cand. of Sci. (Chem.), Center of Pharmaceutical Analytics, Moscow, Russia

Vladimir A. Kurkin, Dr. of Sci., Samara State Medical University, Samara, Russia

Larisa I. Lavrenteva, as. Dr. of Sci., Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia

Oleg G. Makeev, Prof., Dr. of Sci. (Med.), The Central Research Laboratory of the Ural Medical University, Yekaterinburg, Russia

Evgeniya A. Malashenko, Cand. of Sci. Pharm., Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Yury V. Medvedev, Cand. of Sci. (Pharm.), Center of Pharmaceutical Analytics, Moscow, Russia

Evgeny S. Melnikov, Cand. of Sci. (Pharm.), FSBI "Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Igor I. Miroshnichenko, Dr. of Sci., Federal State Budget Scientific Institution "Scientific Center of Mental Health", Moscow, Russia

Natalia A. Oborotova, Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia

Vladimir V. Popov, Prof., Dr. of Sci. (Med.), Joint Stock Company "Russian Railways", Moscow, Russia

Vladimir L. Rusinov, RAS c.-m., Dr. of Sci. (Chem.), Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

Arina I. Selezneva, Cand. of Sci., State Institute of Drugs and Good Practices, Moscow, Russia

Aleksei I. Slivkin, Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), Voronezh State University, Voronezh, Russia

Irina E. Smekhova, Dr. of Sci. (Pharm.), Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russia

Yaroslav M. Stanishevskiy, Prof., Dr. of Sci. (Chem.), RUDN University, Moscow, Russia

Galina V. Sukoyan, Dr. of Sci. (Biol.) (Georgia), International Centre of Introduction of New Biomedical Technology, Tbilisi, Georgia

Boris B. Sysuev, as. Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Vadim N. Tashlitsky, Cand. of Sci. (Chem.), Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Olga V. Trineeva, Dr. of Sci. (Pharm.), Voronezh State University, Voronezh, Russia

Vladimir S. Chuchalin, Dr. of Sci. (Pharm.), Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Naum A. Epshtein, Cand. of Sci. (Chem.), Irvin-2 Company, Moscow, Russia

Print version founders	LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA") Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117246, Russia I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) Address: 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia Siberian State Medical University Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, Russia
Online version founders	LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA") Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117246, Russia
Publisher	LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA") Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117246, Russia
Journal director	Natalia V. Kuldjanova
Managing Editor	Nadezhda S. Mikhaylova
Founded:	The journal has been published since November 2012.
Frequency	Quarterly
DOI Prefix	10.33380
ISSN print	2305-2066
ISSN online	2658-5049
Editorial office address	LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA") Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117246, Russia www.pharmjournal.ru e-mail: info@pharmjournal.ru
Printing house address	LLC "MAX PRESS" 2/103, Parkovaya str., Yubileyny microdistrict, Korolev, Moscow region, 141092, Russia
Copyright	© Drug development & registration, 2023
Content distribution terms	Content is distributed under Creative Commons Attribution 4.0 License 
Circulation	999 copies
Price	Free

The journal is included in the List of peer-reviewed scientific publications, in which the main scientific results of dissertations for the degree of candidate of science, for the degree of doctor of sciences should be published

СОДЕРЖАНИЕ

От редакции	10
Поиск и разработка новых лекарственных средств	
Исследование зависимости «структура – анальгетическая активность» с использованием молекулярного докинга по циклооксигеназам 1 и 2 в ряду 5-N-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионов Н. А. Бузмакова, К. В. Андрюков, Т. М. Замараева, И. П. Рудакова, К. В. Подчезерцева, А. С. Гоман, Е. В. Авдеева, Н. В. Слепова, Н. В. Дозморova	13
Перспективы поиска новых антидиабетических средств среди ванадийсодержащих комплексных соединений (обзор) А. И. Краснова, Н. А. Пулина, Т. А. Юшкова	19
Синтез и антигипоксическая активность 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновых кислот и продуктов их реакции с замещенными гидразинами К. В. Намятова, С. С. Зыкова, Д. С. Овчинников, С. Н. Шуров	28
Противомикробная активность новых N-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей В. В. Новикова, В. О. Васильев, В. Л. Гейн, О. В. Назарец, А. В. Романова, О. В. Бобровская, Н. А. Бузмакова	34
Анализ и оценка перспектив разработки новых лекарственных средств производных бензодиазепинов Н. Ю. Порсева, Ф. В. Собин, А. В. Солонина, Н. А. Пулина, Е. Р. Курбатов, О. Н. Дворская	41
Синтез и контроль качества субстанции кальция хелидоната, обладающей остеогенной активностью Е. Ю. Авдеева, Н. М. Игидов, В. Л. Гейн, С. В. Кривошеков, И. А. Хлусов, М. В. Белоусов, Н. В. Дозморova, В. Г. Лужанин	47
Фармацевтическая технология	
Разработка состава и технологии капсул, содержащих пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой и глицин Е. А. Замахаева, М. М. Смирнова, О. А. Олешко, М. В. Чиркова	53
Фармацевтико-технологические исследования по разработке оптимального состава антибактериального препарата Секстафag® (Пиобактериофаг поливалентный) капсулы Н. А. Ковязина, А. М. Николаева, Е. В. Орлова, О. А. Олешко	59
Изучение технологических параметров и фармакологической активности геля с земляники садовой (<i>Fragaria ananassa</i>) листьев экстрактом сухим О. В. Яборова, И. В. Алексеева, В. Д. Белоногова, О. А. Олешко	70
Методы анализа лекарственных средств	
Разработка методов идентификации БАВ, проявляющего антикоагулянтную активность Е. С. Березина, Е. А. Непогодина, Ф. В. Собин, Н. А. Пулина, Н. В. Дозморova	78
Влияние продукта биодеструкции парацетамола на количественные показатели анатомической структуры листа ландыша майского (<i>Convallaria majalis</i> L.) Е. В. Вихарева, Т. В. Бомбела, Е. В. Быков, А. А. Баранова	84
Валидация аналитических методик контроля качества геля для реминерализации дентина А. Л. Голованенко, Е. С. Березина, И. В. Алексеева, О. А. Олешко	96
Применение рентгенофлуоресцентного и радиационного методов для анализа лекарственного растительного сырья на примере <i>Achilleae millefolii herba</i> И. Ю. Каликина, А. Ю. Турышев, В. Д. Белоногова, А. В. Курицын, С. В. Пучнина, Н. А. Бузмакова	104

Доклинические и клинические исследования

Оценка антигипоксической активности S-аналогов дигидропиримидин-2-онов и их конденсированных производных

Н. А. Бузмакова, Т. М. Замараева, Д. Ю. Ивкин, Д. Ю. Апушкин, Н. В. Слепова, Н. В. Дозморова 112

Изучение биологической активности экстракта марьянника лесного (*Melampyrum sylvaticum* L.)

Е. Е. Галишевская, Е. Н. Полякова, Т. В. Бомбела, А. В. Агафонцева, А. Г. Анисимова, О. А. Кроткова, Т. А. Ягонцева, В. Г. Лужанин, Е. Р. Курбатов 119

Гепатопротекторная активность экстракта сосны обыкновенной шишек

Д. К. Гуляев, С. С. Зыкова, В. Д. Белоногова, Д. О. Семакин, Н. А. Бузмакова 128

Сравнительная оценка антиоксидантных свойств

и цитотоксической активности 2,2-дизамещенных 1,3-диоксолановых производных имидазола

С. С. Зыкова, М. В. Шустов, В. С. Талисманов 134

Оценка влияния новых производных солей

2,4-диоксобутановых кислот на поведенческие реакции лабораторных животных

А. И. Краснова, В. Д. Полежаева, Н. А. Пулина 139

Изучение противовоспалительной активности

2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноатов гетариламмония, оказывающих действие

на свертывающую систему крови

Ф. В. Собин, Н. А. Пулина, С. В. Чашина, А. В. Старкова, И. П. Рудакова, Н. А. Бузмакова 146

Влияние на систему гемостаза новых водорастворимых

2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноатов *in vitro*

А. В. Старкова, Ф. В. Собин, И. П. Рудакова, Н. А. Пулина, Н. В. Дозморова, В. Г. Лужанин 151

Регуляторные вопросы

Научно-методические и организационные подходы к проведению доклинических и экспертных исследований веществ, обладающих психоактивными свойствами

Т. Л. Малкова, П. С. Машенко, А. И. Андреев, Д. Ю. Апушкин, Е. В. Вихарева 156

Создание науковедческой системы анализа научной деятельности вуза как источника инноваций при производстве лекарственных средств

Е. В. Соколова, П. С. Гурьянов, А. Г. Сальникова, Т. Л. Малкова 163

CONTENTS

Introduction	10
Research and development of new drug products	
Investigation of the «Structure – analgesic activity» Relationship Using Molecular Docking for Cyclooxygenases 1 and 2 in the Series 5-N-arylaminocarbonyl-6-(get)aryl-4-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-2-thiones Nadezhda A. Buzmakova, Konstantin V. Andryukov, Tatiana M. Zamaraeva, Irina P. Rudakova, Karina V. Podchezertseva, Anna S. Goman, Elena V. Avdeeva, Nadezhda V. Slepova, Natalia V. Dozmorova	13
Prospects for the Search for New Antidiabetic Agents Among Vanadium-containing Complex Compounds (Review) Anastasia I. Krasnova, Natalya A. Pulina, Tatyana A. Yushkova	19
Synthesis and Antihypoxic Activity of 2-aryl-7,7-dimethyl-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-4-carboxylic Acids and Their Reaction Products with Substituted Hydrazines Kristina V. Namyatova, Svetlana S. Zyкова, Dmitrii S. Ovchinnikov, Sergey N. Shurov	28
Antimicrobial Activity of New N-substituted Amides of Aroylpyruvic Acids and Their Silver Salts Valentina V. Novikova, Vitaly O. Vasilev, Vladimir L. Gein, Olga V. Nazarets, Angelina V. Romanova, Olga V. Bobrovskaya, Nadezhda A. Buzmakova	34
Analysis and Evaluation of Prospects for the Development of New Drugs Derived from Benzodiazepines Natalya Yu. Porseva, Fedor V. Sobin, Anna V. Soloninina, Natalya A. Pulina, Evgeniy R. Kurbatov, Oksana N. Dvorskaya	41
Synthesis and Quality Control of Calcium Chelidonate Substance with Osteogenic Activity Elena Yu. Avdeeva, Nazim M. Igidov, Vladimir L. Gein, Sergei V. Krivoshchekov, Igor A. Khlusov, Mikhail V. Belousov, Natalia V. Dozmorova, Vladimir G. Luzhanin	47
Pharmaceutical Technology	
Development of the Composition and Technology of Capsules Containing Peony Evadant Rhizomes and Roots Dry extract and Glycine Ekaterina A. Zamakhaeva, Marina M. Smirnova, Olga A. Oleshko, Maria V. Chirkova	53
Pharmaceutical-technological Studies on the Development of Optimal Composition of Antibacterial Preparation Sekstafag® (Piobacteriophage Polyvalent) Capsules Natalia A. Kovyazina, Alevtina M. Nikolaeva, Ekaterina V. Orlova, Olga A. Oleshko	59
Study of Technological Parameters and Pharmacological Activity of the Gel with Strawberry (Fragaria ananassa) Leaves with Dry Extract Olga V. Yaborova, Irina V. Alekseeva, Valentina D. Belonogova, Olga A. Oleshko	70
Analytical Methods	
Development of Methods for Identifying BAS Exhibiting Anticoagulant Activity Elena S. Berezina, Ekaterina A. Nepogodina, Fedor V. Sobin, Natalya A. Pulina, Natalya V. Dozmorova	78
Effect of Paracetamol Biodegradation Products Quantitative Indicators of the Anatomical Structure of the Lily of the Valley Leaf (Convallaria majalis L.) Elena V. Vikhareva, Tatiana V. Bombela, Evgeny V. Bykov, Anna A. Baranova	84
Validation of Analytical Methods for Quality Control of Gel for Dentin Remineralization Anna L. Golovanenko, Elena S. Berezina, Irina V. Alekseeva, Olga A. Oleshko	96
Application of X-ray Fluorescence and Radiation Methods for the Analysis of Medicinal Plant Raw Materials on the Example of Achilleae millefolii herba Irina Yu. Kalikina, Alexey Yu. Turyshev, Valentina D. Belonogova, Alexey V. Kuritsyn, Svetlana V. Puchnina, Nadezhda A. Buzmakova	104

Preclinical and clinical study

Assessment of Antihypoxic Activity of S-analogues of Dihydropyrimidin-2-ones and Their Condensed Derivatives

Nadezhda A. Buzmakova, Tatiana M. Zamaraeva, Dmitriy Yu. Ivkin, Danil Yu. Apushkin, Nadezhda V. Slepova, Natalia V. Dozmorova 112

Biological Activity study of the *Melampyrum sylvaticum* Extract

Elena E. Galishevskaya, Evgeniya N. Polyakova, Tatyana V. Bombela, Anastasiia V. Agafontseva, Alevtina G. Anisimova, Olga A. Krotkova, Tatiana A. Yagontseva, Vladimir G. Luzhanin, Evgeny R. Kurbatov 119

Hepatoprotective Activity of Pine cones Extract

D. K. Gulyaev, S. S. Zykhova, V. D. Belonogova, D. O. Semakin, N. A. Buzmakova 128

Evaluation of the Antioxidant Properties and Cytotoxic Activity of 1,3-dioxolane Derivatives Imidazole

Svetlana S. Zykhova, Maxim V. Shustov, Vladimir S. Talismanov 134

Evaluation of New Derivatives of 2,4-dioxobutanoic Acid Salts in Behavioral Studies of Laboratory Animals

Anastasia I. Krasnova, Valeria D. Polezhaeva, Natalya A. Pulina 139

Study of the Anti-inflammatory Activity of 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenates of Heterylammonium, which Have an Effect on the Blood Clotting System

Fedor V. Sobin, Natalia A. Pulina, Svetlana V. Chashchina, Alla V. Starkova, Irina P. Rudakova, Nadezhda A. Buzmakova 146

The effect of new water-soluble

2-aminoheteryl-3-ium 4-(het)aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enates on the hemostasis system *in vitro*

Alla V. Starkova, Fedor V. Sobin, Irina P. Rudakova, Natalia A. Pulina, Natalia V. Dozmorova, Vladimir G. Luzhanin 151

Regulatory Issues

Scientific, Methodological and Organizational Approaches to Conducting Pre-clinical and Expert studies of Substances with Psychoactive Properties

Tamara L. Malkova, Peter S. Mashchenko, Alexander I. Andreev, Danila Yu. Apushkin, Elena V. Vikhareva 156

Creation of a Scientific System for Analyzing the Scientific Activities of a University as a Source of Innovation in the Production of Medicines

E. V. Sokolova, Pavel S. Guryanov, A. G. Salnikova, T. L. Malkova 163

Триста лет г. Перми – триста лет развития Пермской фармации

В 2023 году отмечалось 300 лет со дня основания г. Пермь. За этот период сформировались различные направления медицины и фармации региона. Активное участие в формировании многих направлений принимали фармацевтические специалисты. В годы формирования новой модели здравоохранения «Системы Семашко» большой вклад внесли преподаватели первого центра фармацевтического образования на Урале. Проведенный авторами анализ исторических источников позволил оценить путь, пройденный фармацией Прикамья. Цель исследования: выделение и анализ тенденций развития Пермской фармации за прошедшие 300 лет со дня основания г. Перми. В качестве объектов исследования были использованы: авторефераты, хранящиеся в архиве ПГФА; отчеты вуза, хранящиеся в архиве музея ПГФА; книжные и журнальные публикации, материалы съездов врачей и представителей земств Пермской губернии. Методами исследования явились: документальный анализ, методы однофакторного анализа: сводка, группировка. В ходе исследования изучены материалы о создании и развитии различных направлений медицины и фармации в Пермском крае. Выделены направления работы ученых центра фармацевтического образования на Урале по формированию учреждений высшего и среднего фармацевтического образования, способов и форм повышения квалификации практических специалистов.

Three Hundred Years of Perm – Three Hundred Years of Development of Perm Pharmacy

In 2023, the 300th anniversary of the founding of the city of Perm was celebrated. During this period, various areas of medicine and pharmacy in the region were formed. Pharmacists took an active part in the formation of many areas. During the years of formation of the new healthcare model "Semashko System", teachers of the first center of pharmaceutical education in the Urals made a great contribution. The analysis of historical sources carried out by the authors made it possible to assess the path traveled by the pharmacy of the Kama region. Purpose: To identify and analyze of trends in the development of Perm pharmacy over the past 300 years since the founding of Perm. Materials and methods. The following objects of study were used: abstracts stored in the archives of the Perm State Pharmaceutical Academy (PSPHA); university reports stored in the archives of the museum of PSPHA; book and journal publications, materials of congresses of doctors and representatives of zemstvos of the Perm province. The research methods were: documentary analysis, methods of one-factor analysis: summary, grouping. Results. During the study, materials on the creation and development of various areas of medicine and pharmacy in the Perm region were studied. The directions of work of scientists at the Center for Pharmaceutical Education in the Urals on the formation of institutions of higher and secondary pharmaceutical education, methods and forms of advanced training for practical specialists are highlighted.



В 2023 году город Пермь отпраздновал свое 300-летие. История г. Перми и Пермской губернии интересна в первую очередь существованием нескольких направлений медицины и фармации. В первую очередь – народной медициной и фармацией. Пермский край – многонациональный край. Фармация народов коми является одной из интереснейших. Первыми предприняли изучение фармации народов Коми ученые Пермского фармацевтического института. Ф. И. Дерябина (Андрийченко) (ученица А. Ф. Гам-

мерман) организовала и провела исследования в Коми.

В 1962–1963 гг. было проведено 2 экспедиции в Коми-Пермяцкий национальный округ. Ею собрано около 2000 сведений по применению растений в народной медицине и 150 наименований сборов. Впервые записано применение в Пермской обл. для 86 видов народных лекарственных растений. Составлены терапевтические сводки по народному применению.

День рождения г. Перми отсчитывают от даты начала строительства Егошихинского медеплавильного завода 4 мая (15 мая по новому стилю) 1723 года. Организатором и куратором строительства были горный начальник Василий Никитич Татищев и сменивший его на этом посту В. И. де Генин. Именно с именем В. Н. Татищева связано создание и функционирование медицины и фармации на Урале. С именем В. Н. Татищева связано появление на Урале нового направления – заводской (горнозаводской медицины и фармации). В 1735 г. В. Н. Татищев по собственной инициативе создает Заводской устав. Устав состоял из 8 глав, глава 7 была посвящена лекарственному обеспечению рабочих уральских заводов. Сеть заводов в Пермской наместничестве, а затем Пермской губернии активно развивалась. При них открывались госпитали и аптеки. Первые госпитали при заводах стали открываться в населенных пунктах восточных уездов: Каменске, Невьянске, Екатеринбургe. При медицинских учреждениях Екатеринбургa по определению Канцелярии Главного заводоуправления (КГЗП) в 1758 г. полагалось быть штаб-лекарю, подлекарю с двумя учениками и аптекарю с двумя учениками. В западных уездах госпитали и аптеки открываются позднее: *«В 1809 году в Лысьве была построена небольшая деревянная больничка. Лишь в 1851 году на восточной окраине города появилась настоящая кирпичная больница на 25 коек. Рядом с ней было два деревянных домика, красивое здание аптеки и ряд домов для сотрудников больницы»*. Вопросы жизни и здоровья рабочих Пермской губернии, санитарии на заводах изучала В. Т. Селезнева, возглавлявшая в 60-х годах XX века кафедру Организации и экономики фармацевтического дела Пермского фармацевтического института.

В результате административной реформы 1781 г. была образована Пермская губерния. Для управления больницами, аптеками, школами был учрежден Приказ общественного призрения. Таким образом в губернии была создана государственная медицина, получившая также название городской. Первая аптека государственной медицины была открыта в Перми в 1785 году. Для работы в ней был приглашен дипломированный специалист аптекарь Герберт Дрейер. К сожалению, аптека была передана в ведение заводов, а в 1798 году закрыта. Вместо нее была открыта частная аптека. До 1812 года город Пермь снабжался лекарствами из временной аптеки кунгурского лекаря 12 класса Рейхе, специально прикомандированного в Пермь. В 1811 году вновь была учреждена аптека Приказа общественного призрения. Она открылась 1 декабря 1812 года и продолжает работать по сей день.

Земское самоуправление в Пермской губернии было введено 20 августа 1870 года. В результате работы земства к 1906 году на территории Пермской губернии действовало 37 аптек, в том числе 11 земских, 6 сельских, 3 аптечных отделения и 17 ап-

тек, принадлежащих частным лицам. В 1890 году в целях обеспечения контроля качества лекарственных средств земство открывает химико-аналитический кабинет при Пермской губернской аптеке провизора М. Л. Пельзандта, которому и было поручено заведование кабинетом. В 1908 году этот кабинет был преобразован в химико-аналитическую лабораторию.

Провизоры земских и частных аптек Пермской губернии активно участвовали в деятельности земств и принимали участие в съездах врачей Пермской губернии. На XI съезде врачей и представителей земств Пермской губернии в рамках работы аптечной секции было предложено установить единые штаты сотрудников для всех уездных аптек. Отмечалось, что при таком штате появится возможность рационально распределять работу при достаточном отдыхе для людей, при этом качество работы должно повыситься. В 1916 году в Перми открывается университет (ПГУ), а в 1918 году при физико-математическом факультете по настоянию союза служащих фармацевтов открывают фармацевтическое отделение. С этого времени ученые фармацевтического отделения, а впоследствии и самостоятельного фармацевтического института стали определять тенденции развития фармации в регионе.

В начале 20-х годов XX в стране создается новая модель здравоохранения «бюджетная государственная система». Государство поставило задачу приблизить фармацевтическую помощь к населению. Ученые фармацевтического отделения активно участвовали в решении таких актуальных задач, как создание новой системы подготовки фармацевтических кадров, повышение уровня знаний практических фармацевтических специалистов, изучение природных ресурсов, создание новых препаратов. Разработанная Н. И. Кромером программа обучения провизоров для всех направлений практической фармации включала следующие блоки дисциплин: инженерные, химические, биологические, специальные (рецептура, технология фармацевтических препаратов, приготовление сывороток и вакцин, фармакогнозия). Ученые фармацевтического отделения сразу же развернули научные исследования по двум направлениям, крайне необходимым для лечебных организаций и промышленных предприятий Урала: изучение местных ресурсов лекарственных растений (работа возглавлялась магистрами фармации Н. И. Кромером и Э. К. Мезингом.); химическое направление (его возглавляли магистр фармации Н. И. Кромер и профессор Э. В. Зманчинский). Одновременно ученые отделения решали и практические задачи, которые ставили перед ними местные государственные и общественные организации, такие как Уралмедторг, уголовный розыск, губернский суд. Преподаватели и студенты занимались популяризацией фармацевтических знаний, разрабатывая и читая лекции населению. С 1920 года подготовка специалистов среднего звена стала проводиться на раз-

личных курсах усовершенствования для аптечных работников (продолжительностью от 6 до 9 месяцев) и в 2-х годичных фармацевтических школах. Двухлетние курсы при Пермском университете были созданы в 1926 году. Заведующим курсами был назначен профессор, магистр фармации Н. И. Кромер. В начале 1920-х годов в стране создаются и двухгодичные фармацевтические школы. В 1923 году Н. И. Кромер совместно провизорами Д. М. Михалевым и И. И. Корчемкиным создали Пермскую фармацевтическую школу. Для обучения были приглашены преподаватели Пермского университета и фармацевты с большим стажем. В 1925 году Пермская школа, как и другие фармацевтические школы страны, переименовывается в фармацевтический техникум. Кроме курсов и фармацевтических школ ученые фармацевтического отделения (далее факультета) в 1920-30-е годы участвовали в работе научно-фармацевтических кружков. Уставы кружков разрабатывались областными комитетами «Медсантруд». Достаточно часто подготовленные и изученные в кружках областных центров материалы рассылались по аптекам других городов области. Одним из первых был организован кружок в г. Пермь. Деятельность кружков подразумевала знакомство работников аптек с новейшими направлениями развития фармации в стране, повышение их уровня знаний в области ботаники, фармакогнозии, технологии лекарств, фармацевтического

анализа. Для чтения лекций привлекались преподаватели фармацевтического отделения. Председатель бюро химико-фармацевтического отделения ПГУ Н. И. Кромер выезжал с лекциями в г. Свердловска (тема лекций «Разбор Фармакопеи VII»). Под руководством преподавателей химико-фармацевтического отделения ПГУ участники пермского кружка подготовили проект программы по фармацевтической химии Пермского фармтехникума. Пермский кружок занимался и изучением лекарственной флоры Урала.

8 сентября 1936 года постановлением СНК СССР был создан самостоятельный Пермский государственный фармацевтический институт. В его составе было 13 кафедр. Создание самостоятельного фармацевтического вуза позволило заложить базовые направления научных исследований и сформировать собственные методические направления в обучении студентов.

Проведен анализ развития направления фармации в Пермской губернии (области). Собран и проанализирован большой фактографический материал по таким разделам, как развитие народной, государственной, заводской, земской фармации, вкладу ученых фармацевтического отделения Пермского университета, а затем фармацевтического института в решении актуальных проблем при формировании в 1920–1930 годах новой модели здравоохранения.

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1600](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1600)
УДК 547.854.1



Оригинальная статья / Research article

Исследование зависимости «структура – анальгетическая активность» с использованием молекулярного докинга по циклооксигеназам 1 и 2 в ряду 5-*N*-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионов

Н. А. Бузмакова✉, К. В. Андрюков, Т. М. Замаева, И. П. Рудакова,
К. В. Подчерзцева, А. С. Гоман, Е. В. Авдеева, Н. В. Слепова, Н. В. Дозморова

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: Бузмакова Надежда Альбертовна. E-mail: buzmakova_pfa@mail.ru

ORCID: Н. А. Бузмакова – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>; К. В. Андрюков – <https://orcid.org/0000-0001-7820-2591>;
Т. М. Замаева – <https://orcid.org/0000-0002-9932-9628>; И. П. Рудакова – <https://orcid.org/0000-0003-2227-8313>;
К. В. Подчерзцева – <https://orcid.org/0009-0009-7473-5505>; А. С. Гоман – <https://orcid.org/0009-0008-0030-2654>;
Е. В. Авдеева – <https://orcid.org/0009-0007-6948-0590>; Н. В. Слепова – <https://orcid.org/0000-0003-3924-3715>; Н. В. Дозморова – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>.

Статья поступила: 06.10.2023

Статья принята в печать: 04.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Методы молекулярного моделирования крайне популярны в научной среде в настоящее время. Величина проявляемого фармакологического действия во многом зависит от аффинитета вещества к биологической мишени. Молекулярный докинг позволяет оценить степень сродства исследуемого соединения с активным центром молекулярной мишени. Фермент циклооксигеназа (ЦОГ) играет ключевую роль в каскаде синтеза провоспалительных цитокинов и, как следствие, возникновении боли.

Цель. Выявить зависимость «структура – анальгетическая активность» с использованием метода молекулярного докинга по ферментам циклооксигеназы 1 и 2 типа в ряду 5-*N*-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионов.

Материалы и методы. Объекты исследования – 19 соединений 5-*N*-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионов. Исследование взаимодействия производных тетрагидропиримидина с ферментами ЦОГ 1 и 2 проведено методом молекулярного докинга программой AutoDock 4 с использованием скоринговых функций.

Результаты и обсуждение. Описан молекулярный докинг 19 соединений 5-*N*-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионов (I–XIX) по циклооксигеназам 1 и 2 (ЦОГ 1 и 2). Выполнены количественные исследования «структура – анальгетическая активность» в исследуемом ряду соединений зависимости экспериментальных значений анальгетической активности ($AA_{\text{эксп.}}$) от скоринговых функций (Ve_{COX1} , Ki_{COX1} , Ve_{COX2} , Ki_{COX2}) и физико-химических дескрипторов ($\log P_{\text{расч.}}$, $pKa_{\text{расч.}}$, $pKb_{\text{расч.}}$). Проверкой на независимой выборке из 5 соединений найдено уравнение № 3 ($AA_{\text{расч.}} = 32,6215 - 4,4894 \times Ve_{\text{COX1}} + 0,0066 \times Ki_{\text{COX1}} + 3,6032 \times \log P_{\text{расч.}}$ ($R = 0,854$, $F = 9,01$, $S = 7,73$, $O_{\text{Loo}}^2 = 0,53$), с высоким значением коэффициента корреляции прогнозных значений $AA_{\text{расч.}}$ с экспериментальными ($R_{\text{прогн.}} = 0,878$) и минимальной ошибкой прогноза ($S_{\text{прогн.}} = 6,74$).

Заключение. Получены модели «структура-активность» для прогнозирования анальгетической активности в ряду 5-*N*-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионов. Результат прогноза биологической активности подтверждается значениями коэффициента корреляции (R), полученными при проверке моделей на независимых выборках.

Ключевые слова: 5-*N*-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионы; молекулярный докинг; циклооксигеназа; анальгетическая активность

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

Вклад авторов. Н. А. Бузмакова, Т. М. Замаева, К. В. Подчерзцева, Н. В. Слепова, Н. В. Дозморова осуществили синтез соединений и доказали их строение. Н. А. Бузмакова, И. П. Рудакова, А. С. Гоман, Е. В. Авдеева провели исследования биологической активности соединений. К. В. Андрюков и Н. А. Бузмакова провели работы по молекулярному докингу. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Бузмакова Н. А., Андрюков К. В., Замаева Т. М., Рудакова И. П., Подчерзцева К. В., Гоман А. С., Авдеева Е. В., Слепова Н. В., Дозморова Н. В. Исследование зависимости «структура – анальгетическая активность» с использованием молекулярного докинга по циклооксигеназам 1 и 2 в ряду 5-*N*-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):13–18. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1600](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1600)

© Бузмакова Н. А., Андрюков К. В., Замаева Т. М., Рудакова И. П., Подчерзцева К. В., Гоман А. С., Авдеева Е. В., Слепова Н. В., Дозморова Н. В., 2023

© Buzmakova N. A., Andryukov K. V., Zamaraeva T. M., Rudakova I. P., Podchertzseva K. V., Goman A. S., Avdeeva E. V., Slepova N. V., Dozmorova N. V., 2023

Investigation of the «Structure – analgesic activity» Relationship Using Molecular Docking for Cyclooxygenases 1 and 2 in the Series 5-*N*-arylamino-carbonyl-6-(get)aryl-4-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-2-thiones

Nadezhda A. Buzmakova✉, Konstantin V. Andryukov, Tatiana M. Zamaraeva, Irina P. Rudakova, Karina V. Podchezertseva, Anna S. Goman, Elena V. Avdeeva, Nadezhda V. Slepova, Natalia V. Dozmorova

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

✉ Corresponding author: Nadezhda A. Buzmakova. E-mail: buzmakova_pfa@mail.ru

ORCID: Nadezhda A. Buzmakova – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>; Konstantin V. Andryukov – <https://orcid.org/0000-0001-7820-2591>; Tatiana M. Zamaraeva – <https://orcid.org/0000-0002-9932-9628>; Irina P. Rudakova – <https://orcid.org/0000-0003-2227-8313>; Karina V. Podchezertseva – <https://orcid.org/0009-0009-7473-5505>; Anna S. Goman – <https://orcid.org/0009-0008-0030-2654>; Elena V. Avdeeva – <https://orcid.org/0009-0007-6948-0590>; Nadezhda V. Slepova – <https://orcid.org/0000-0003-3924-3715>; Natalia V. Dozmorova – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>.

Received: 06.10.2023

Revised: 04.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Molecular modeling methods are very popular in the scientific community at the present time. The value of the pharmacological action depends on the affinity of the substance to the biological target. Molecular docking makes it possible to assess the degree of affinity of the studied compound with the active center of the molecular target. The enzyme cyclooxygenase (COX) plays a key role in the cascade of synthesis of proinflammatory cytokines and, as a consequence, in pain.

Aim. To identify the dependence "structure – analgesic activity" using the method of molecular docking for cyclooxygenase type 1 and type 2 in the series of 5-*N*-arylamino-carbonyl-6-(get)aryl-4-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-2-thions.

Materials and methods. 19 compounds 5-*N*-arylamino-carbonyl-6-(get)aryl-4-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-2-thions are objects of research. The study of the interaction of tetrahydropyrimidine derivatives with COX 1 and 2 was carried out by the method of molecular docking by the AutoDock 4 program using scoring functions.

Results and discussion. Molecular docking of 5-*N*-arylamino-carbonyl-6-(get)aryl-4-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-2-thions (I–XIX) with COX 1 and 2 is described. Quantitative studies of the "structure – analgesic activity" in the studied series of compounds of the dependence of experimental values of analgesic activity (AA_{ex}) on scoring functions (Be_{COX1} , Ki_{COX1} , Be_{COX2} , Ki_{COX2}) and physico-chemical descriptors ($\log P_{pred}$, pKa_{pred} , pKv_{pred}) were performed. By checking on an independent sample of 5 compounds, equation No. 3 ($AA_{pred} = 32,6215 - 4,4894 \times B_{ecox1} + 0,0066 \times Ki_{cox1} + 3,6032 \times \log P_{pred}$ ($R = 0,854$, $F = 9,01$, $S = 7,73$, $Q^2_{OO} = 0,53$) was found, with a high value of the correlation coefficient of the predicted values AA_{ex} with experimental values ($R_{pred} = 0,878$) and a minimum forecast error ($S_{pred} = 6,74$).

Conclusion. The "structure-activity" models for predicting analgesic activity in a series of 5-*N*-arylamino-carbonyl-6-(get)aryl-4-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-2-thions are obtained. The result of the prediction of biological activity is confirmed by the values of the correlation coefficient (R) obtained when testing models on independent samples.

Keywords: 5-*N*-arylamino-carbonyl-6-(get)aryl-4-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-2-thiones; molecular docking; cyclooxygenase; analgesic 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. Nadezhda A. Buzmakova, Tatiana M. Zamaraeva, Karina V. Podchezertseva, Nadezhda V. Slepova, Natalia V. Dozmorova carried out the synthesis of the substances. Nadezhda A. Buzmakova, Irina P. Rudakova, Anna S. Goman, Elena V. Avdeeva conducted studies of the biological activity of compounds. Nadezhda A. Buzmakova, Konstantin V. Andryukov carried out work on molecular docking. All authors participated in the discussion of the results and writing the text of the article.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Buzmakova N. A., Andryukov K. V., Zamaraeva T. M., Rudakova I. P., Podchezertseva K. V., Goman A. S., Avdeeva E. V., Slepova N. V., Dozmorova N. V. Investigation of the "structure – analgesic activity" relationship using molecular docking for cyclooxygenases 1 and 2 in the series 5-*N*-arylamino-carbonyl-6-(get)aryl-4-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-2-thiones. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):13–18. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1600](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1600)

ВВЕДЕНИЕ

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) широко используются в медицинской практике в качестве обезболивающих, противовоспалительных, жаропонижающих средств. Фармакологическая активность НПВП связана с подавлением биосинтеза простагландинов путем ингибирования

фермента циклооксигеназы. Фермент существует в виде двух изоформ: ЦОГ-1 и ЦОГ-2. ЦОГ-1 является конститутивным ферментом и отвечает за физиологическую функцию простагландинов, тогда как ЦОГ-2 является индуцируемым ферментом и образуется только после воздействия воспалительного агента [1].

Производные дигидропиримидин-2-тионов проявляют широкий спектр фармакологической активности, в том числе анальгетической и противовоспалительной [2–6]. Эти два вида активности обусловлены одним механизмом действия, а именно, ингибированием фермента ЦОГ, ответственного за каскад синтеза провоспалительных цитокинов и как следствие возникновение симптомов воспаления и боли.

Ранее нами обнаружено, что синтезированные соединения ряда 5-*N*-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионов обладают анальгетической [7] и противовоспалительной [8, 9] активностями. Представляло интерес провести исследование зависимости анальгетической активности (АА) от структуры соединений с использованием молекулярного докинга по ЦОГ 1 и 2.

Целью работы является исследование зависимости «структура – анальгетическая активность» методом молекулярного докинга по ферментам ЦОГ 1 и 2 программой AutoDock 4 с использованием скоринговых функций и физико-химических дескрипторов в ряду 5-*N*-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

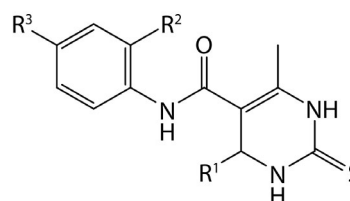
Экспериментальная расчетная часть

Структуры всех лигандов были построены и оптимизированы полуэмпирическим методом PM3 (программа Gaussian 03), и затем были конвертированы в 3D-формат (.pdb) с помощью программы ChemBio3D Ultra 12.0. Моделирование лиганд – рецепторных взаимодействий осуществляли программой AutoDock 4.0 в составе программного комплекса MGL Tools 1.5.6, с использованием Ламарковского генетического алгоритма [10]. При проведении молекулярного докинга мы использовали трехмерные модели молекул ЦОГ 1 и 2, информация о которых получена из базы данных RCSB Protein Data Bank: PDB ID code: 3N8X [11] и 1PXX [12], соответственно. Изначально, все молекулы воды были удалены из структуры белка. Файлы рецептора и лигандов были конвертированы в формат PDBQT-файла, с добавлением недостающих атомов водорода и частичных атомных зарядов по методу Гастейгера.

В процедуре докинга по ЦОГ 1 и 2, при построении Grid-карт за центр были взяты координаты лиганда: ЦОГ-1 ($x = -20,90$, $y = -48,45$, $z = 2,49$), ЦОГ-2 ($x = 29,51$, $y = 22,92$, $z = 17,87$) с координатами точек ($60 \times 60 \times 60$) вокруг каждого моделируемого участка. В результате получено 38 Grid-карт по параметрам для исследуемых соединений. Оценку качества позиционирования характеризовали величиной RMSD, представляющей собой среднеквадратичное отклонение положения лиганда после докинга от его начального положения в белке. Анализ результатов молекулярного докинга проводили относительно аналогов по действию – нимесулида и метамизола натрия, обладающих АА. При проведении

молекулярного докинга за активный сайт был принят основной связывающий участок макромолекул ферментов ЦОГ 1 и 2, содержит аминокислоты: ARG120, TYR355, SER530 и TYR385 [10, 11], образующие водородные связи с атомом кислорода карбонильных групп ($C=O$) молекулы исследуемых веществ.

В качестве объекта исследования использовали 5-*N*-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионы (I–XIV), структура, спектральные характеристики и результаты экспериментального определения АА (АА_{эксп.}) опубликованы в работах [7–9].



$R^1 = 4\text{-FC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{H}$ (I); $R^1 = 3\text{-C}_2\text{H}_5\text{O-4-HOC}_6\text{H}_3$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{H}$ (II); $R^1 = 2\text{-ClC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{H}$ (III); $R^1 = 2\text{-CH}_2\text{OC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{H}$ (IV); $R^1 = 2,4\text{-Cl}_2\text{C}_6\text{H}_3$, $R^2 = \text{Cl}$, $R^3 = \text{H}$ (V); $R^1 = 4\text{-C}_2\text{H}_5\text{OC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{Cl}$, $R^3 = \text{H}$ (VI); $R^1 = 2\text{-FC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{Cl}$, $R^3 = \text{H}$ (VII); $R^1 = 4\text{-(CH}_3)_2\text{HCC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{Cl}$, $R^3 = \text{H}$ (VIII); $R^1 = 4\text{-ClC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{CH}_3$, $R^3 = \text{H}$ (IX); $R^1 = 2,5\text{-(CH}_3\text{O)}_2\text{C}_6\text{H}_3$, $R^2 = \text{CH}_3$, $R^3 = \text{H}$ (X); $R^1 = 3\text{-HOC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{CH}_3$, $R^3 = \text{H}$ (XI); $R^1 = 4\text{-C}_2\text{H}_5\text{OC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{CH}_3$, $R^3 = \text{H}$ (XII); $R^1 = 4\text{-HOC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{CH}_3$, $R^3 = \text{H}$ (XIII); $R^1 = 4\text{-H}_3\text{CC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{CH}_3$, $R^3 = \text{CH}_3$ (XIV)

Экспериментальная биологическая часть

Анальгетическую активность определяли на беспородных мышах, обоего пола, массой 20–25 г, содержащихся на обычном рационе вивария. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) Приказ МЗРФ № 199н от 01.04.2016 г. «Правила надлежащей лабораторной практики». Исследование анальгетической активности соединений I–XIV проводили по методике «уксусных корчей» (характерные движения животных, включающие сокращения брюшных мышц, чередующиеся с их расслаблением, вытягиванием задних конечностей и прогибанием спины)¹. Количество животных в опытной и контрольной группах – 6. Уксусную кислоту вводили в виде 0,75%-го раствора внутривентрально в левую подвздошную область в объеме 0,2 мл, подсчет «корчей» начинали сразу и производили в течение 15 мин. Исследуемое соединение вводили внутривентрально в правую подвздошную область в дозе 50 мг/кг за 30 мин до введения уксусной кислоты. Эффект оценивали по уменьшению количества «корчей» по сравнению с контрольными животными. Результаты статистически обработаны с вы-

¹ Миронов А. Н., Бунатян Н. Д. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.

числением критерия Фишера-Стьюдента. Эффект считали достоверным при $p < 0,05$. В качестве эталонов сравнения использовали метамизол натрия (АО «Усолье-Сибирский химфармзавод», Россия) и нимесулид («Нимесил», Laboratorios Menarini S.A., Испания) в дозе 50 мг/кг.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В результате проведенного молекулярного докинга по ЦОГ 1 и 2 получены скоринговые функции: энергия связывания [Binding energy ($Be_{\text{ЦОГ1}}$, $Be_{\text{ЦОГ2}}$)] и константа ингибирования ($Ki_{\text{ЦОГ1}}$, $Ki_{\text{ЦОГ2}}$), характеризующие взаимодействие лиганда с рецептором (ЦОГ 1 и 2) (таблица 1). Исходя из квантово-химических параметров полученных программой Gaussian 03 рассчитанных полуэмпирическим методом PM3, по соответствующим уравнениям проведен расчет констант липофильности ($\log P_{\text{расч.}}$) и ионизации – константы кислотности ($pKa_{\text{расч.}}$) и основности ($pKb_{\text{расч.}}$) [13] (таблица 2). Экспериментальные данные AA ($AA_{\text{экс.}}$) приведенные в таблице 2, были исследованы по методике «уксусных корчей».

Таблица 1. Результаты молекулярного докинга по ЦОГ 1 и 2 [скоринговые функции и остатки аминокислот с водородной связью (H-связь)]

Table 1. Results of molecular docking for COX 1 and 2 [scoring functions and amino acid residues with a hydrogen bond (H-bond)]

№	H-связь (ЦОГ 1) H-bond (COX 1)	$Ki_{\text{ЦОГ1}}$, ммоль Ki_{COX1} , mmol	$Be_{\text{ЦОГ1}}$, ккал/моль Be_{COX1} , kcal/mol	H-связь (ЦОГ 2) H-bond (COX 2)	$Ki_{\text{ЦОГ2}}$, ммоль Ki_{COX2} , mmol	$Be_{\text{ЦОГ2}}$, ккал/моль Be_{COX2} , kcal/mol
I	TYR355	84,76	-5,55	Нет No	1,86	-7,82
II	TYR355	1,43	-3,88	Нет No	5,53	-7,17
III	TYR355	2,96	-3,45	Нет No	3,43	-7,46
IV	Нет No	0	+0,17	Нет No	1,18	-8,09
V	Нет No	9,6	-2,75	Нет No	1,72	-7,86
VI	Нет No	4,95	-9,33	Нет No	32,28	-6,13
VII	Нет No	17,18	-6,50	TYR385	171,36	-9,23
VIII	Нет No	13,82	-6,63	Нет No	614,23	-8,47
IX	Нет No	67,39	-4,69	Нет No	159,91	-9,27
X	TYR355	877,18	-4,17	Нет No	232,74	-4,96
XI	TYR355	18,61	-6,45	TYR385	6,57	-7,07
XII	TYR355	134,49	-5,28	Нет No	1,35	-8,01
XIII	TYR355	8,89	-6,89	SER530	1,13	-8,11
XIV	ARG120	25,21	-2,18	Нет No	551,52	-8,54

Таблица 2. Константы липофильности ($\log P_{\text{расч.}}$) и ионизации ($pKa_{\text{расч.}}$ и $pKb_{\text{расч.}}$) и AA ($AA_{\text{экс.}}$)

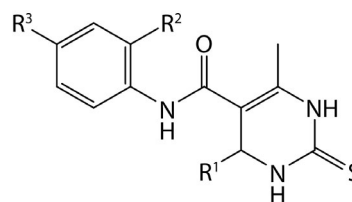
Table 2. Lipophilicity constants ($\log P_{\text{расч.}}$) and ionization constants ($pKa_{\text{расч.}}$ and $pKb_{\text{расч.}}$) and AA ($AA_{\text{экс.}}$)

№	$\log P_{\text{расч.}}$ $\log P_{\text{расч.}}$	$pKa_{\text{расч.}}$ $pKa_{\text{расч.}}$	$pKb_{\text{расч.}}$ $pKb_{\text{расч.}}$	$AA_{\text{экс.}}$, % $AA_{\text{экс.}}$, %
I	2,67	10,44	11,27	70,30
II	4,11	11,23	11,12	70,60
III	3,91	10,78	11,17	59,20
IV	3,74	11,01	11,06	48,70
V	2,88	10,46	11,71	58,20
VI	4,17	10,83	12,03	91,50
VII	2,93	10,68	11,73	79,70
VIII	3,77	12,54	11,49	63,40
IX	0,16	9,50	11,11	47,10
X	1,36	9,10	11,13	60,80
XI	0,47	9,28	11,00	66,00
XII	0,27	10,30	10,92	70,30
XIII	0,62	9,03	11,15	60,80
XIV	2,21	12,09	10,52	41,80

Проведен множественный линейный регрессионный анализ программой STATISTICA 6 пошаговым включением параметров, зависимости $AA_{\text{экс.}}$ от скоринговых функций ($Be_{\text{ЦОГ1}}$, $Be_{\text{ЦОГ2}}$, $Ki_{\text{ЦОГ1}}$, $Ki_{\text{ЦОГ2}}$) и рассчитанных значений физико-химических дескрипторов ($\log P_{\text{расч.}}$, $pKa_{\text{расч.}}$, $pKb_{\text{расч.}}$). В результате составлено 32 уравнения, из которых выбрали три уравнения с наибольшими значениями коэффициента множественной регрессии (R), критерия Фишера (F) и минимальным значением средней квадратичной ошибки (S) зависимости $AA_{\text{экс.}}$ от дескрипторов $Be_{\text{ЦОГ1}}$, $Be_{\text{ЦОГ2}}$, $Ki_{\text{ЦОГ1}}$, $Ki_{\text{ЦОГ2}}$, $\log P_{\text{расч.}}$, $pKa_{\text{расч.}}$, $pKb_{\text{расч.}}$ (таблица 3).

Проведена оценка значимости полученных уравнений методом перекрестного контроля с выбором по одному (Leave-one-out Cross-validation, LOO), с использованием программы Statographics. В результате, определен коэффициент детерминации предсказаний Q^2_{LOO} , показывающий значимость составленных уравнений. Наибольшие значения Q^2_{LOO} получены для уравнений № 1 и 3: 0,52 и 0,53, соответственно.

Из двух выбранных уравнений регрессии зависимости $AA_{\text{экс.}}$ от дескрипторов, наилучшие результаты получены для уравнений 1 ($R = 0,818$, $F = 11,16$, $S = 8,15$, $Q^2_{\text{LOO}} = 0,52$) и 3 ($R = 0,854$, $F = 9,01$, $S = 7,73$, $Q^2_{\text{LOO}} = 0,53$), которые были положены в основу прогноза $AA_{\text{расч.}}$ на примере 5 соединений (XV–XIX) из ряда 5-N-ариламинокарбонил-6-(гет)арил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тионов (таблица 4).



$R^1 = C_6H_5$, $R^2 = H$, $R^3 = H$ (XV); $R^1 = 4-FC_6H_4$, $R^2 = Cl$, $R^3 = H$ (XVI); $R^1 = 2,4-(CH_3O)_2C_6H_3$, $R^2 = Cl$, $R^3 = H$ (XVII);

Таблица 3. Уравнения регрессии зависимости $AA_{\text{эксп.}}$ от $Be_{\text{ЦОГ1}}, Ki_{\text{ЦОГ1}}, Ki_{\text{ЦОГ2}}, \log P_{\text{расч.}}$ **Table 3.** Regression equations for the dependence $AA_{\text{ex.}}$ from $Be_{\text{COX1}}, Ki_{\text{COX1}}, Ki_{\text{COX2}}, \log P_{\text{pred.}}$

№	Уравнение регрессии Regression equation	R	F	S	N	Q^2_{Loo}
1	$AA_{\text{расч.}} = 46,0453 - 4,1256 \times Be_{\text{ЦОГ1}} - 0,0196 \times Ki_{\text{ЦОГ2}}$ $AA_{\text{пред.}} = 46,0453 - 4,1256 \times Be_{\text{COX1}} - 0,0196 \times Ki_{\text{COX2}}$	0,818	11,16	8,15	14	0,52
2	$AA_{\text{расч.}} = 45,8597 - 4,1362 \times Be_{\text{ЦОГ1}} + 0,0018 \times Ki_{\text{ЦОГ1}} - 0,0199 \times Ki_{\text{ЦОГ2}}$ $AA_{\text{пред.}} = 45,8597 - 4,1362 \times Be_{\text{COX1}} + 0,0018 \times Ki_{\text{COX1}} - 0,0199 \times Ki_{\text{COX2}}$	0,819	6,79	8,53	14	0,44
3	$AA_{\text{расч.}} = 32,6215 - 4,4894 \times Be_{\text{ЦОГ1}} + 0,0066 \times Ki_{\text{ЦОГ1}} + 3,6032 \times \log P_{\text{расч.}}$ $AA_{\text{пред.}} = 32,6215 - 4,4894 \times Be_{\text{COX1}} + 0,0066 \times Ki_{\text{COX1}} + 3,6032 \times \log P_{\text{пред.}}$	0,854	9,01	7,73	14	0,53

$R^1 = 4-(\text{CH}_3)_3\text{CC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{Cl}$, $R^3 = \text{H}$ (XVIII); $R^1 = 4-\text{HOC}_6\text{H}_4$,
 $R^2 = \text{CH}_3$, $R^3 = \text{CH}_3$ (XIX)

В заключении, мы провели анализ прогнозирования AA с использованием регрессионных уравнений 1 ($AA_{\text{расч.}}$ 1) и 3 ($AA_{\text{расч.}}$ 3). Полученные результаты приведены в таблице 4.

Таблица 4. $AA_{\text{расч.}}$ 1, $AA_{\text{расч.}}$ 3, скоринговые функции по ЦОГ 1 и 2, и $AA_{\text{эксп.}}$ исследованных соединений**Table 4.** $AA_{\text{pred.}}$ 1, $AA_{\text{pred.}}$ 3, scoring functions for COX 1 and 2, and $AA_{\text{ex.}}$ compounds studied

№	$AA_{\text{расч.}}$ 1, % $AA_{\text{пред.}}$ 1, %	$AA_{\text{расч.}}$ 3, % $AA_{\text{пред.}}$ 3, %	$Be_{\text{ЦОГ1}}$ Be_{COX1}	$Ki_{\text{ЦОГ1}}$ Ki_{COX1}	$Ki_{\text{ЦОГ2}}$ Ki_{COX2}	$\log P_{\text{расч.}}$ $\log P_{\text{пред.}}$	$AA_{\text{эксп.}}$ % $AA_{\text{эксп.}}$ %
XV	100,36	74,40	-6,82	10,05	477,74	3,08	85,00
XVI	101,06	79,31	-8,08	1,2	490,83	2,89	84,00
XVII	91,95	64,70	-3,23	4,32	4,94	4,87	58,20
XVIII	90,11	58,98	-2,46	15,78	20,72	4,22	64,10
XIX	89,56	71,59	-6,73	11,66	916,83	2,41	76,50

Результаты определения анальгетической активности 5 соединений (XV–XIX), полученные по методике «уксусные корчи» приведены в таблице 5.

Таблица 5. Результаты экспериментального определения анальгетической активности**Table 5.** Results of experimental determination of analgesic activity

№ соединения Connection No.	Количество корчей Number of writhings	% уменьшения корчей % reduction in cramps	р по сравнению с контролем p compared to control
XV	4,6 ± 2,4	85,0	<0,001
XVI	4,9 ± 1,8	84,0	<0,001
XVII	12,8 ± 4,3	58,2	<0,001
XVIII	10,2 ± 2,8	64,1	<0,001
XIX	7,2 ± 1,7	76,5	<0,001
Контроль Control	30,6 ± 2,2	–	–
Метамизол натрия Metamizole sodium	16,0 ± 3,5	47,7	<0,01
Нимесулид Nimesulide	7,5 ± 2,2	75,5	<0,001

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для оценки качества прогноза анальгетической активности ($AA_{\text{расч.}}$) составлены два линейных уравнения взаимосвязи $AA_{\text{расч.}}$ 1 (1) и $AA_{\text{расч.}}$ 3 (2) с экспериментальными значениями анальгетической активности ($AA_{\text{эксп.}}$):

$$1. AA_{\text{расч.}} 1 = 1,58 \times AA_{\text{эксп.}} - 76,06; R_{\text{прогн.}} = 0,745, S_{\text{прогн.}} = 22,42.$$

$$2. AA_{\text{расч.}} 3 = 1,31 \times AA_{\text{эксп.}} - 17,89; R_{\text{прогн.}} = 0,878, S_{\text{прогн.}} = 6,74.$$

Линейная зависимость 2 в виде уравнения с коэффициентом корреляции ($R_{\text{прогн.}}$) равным 0,878, показывает высокую степень связи прогнозируемых значений анальгетической активности, рассчитанных по регрессионному уравнению № 3 ($AA_{\text{расч.}}$ 3) с экспериментальными. Оценка качества прогнозирования AA по среднеквадратичному отклонению прогноза показала минимальное значение с использованием уравнения № 3 ($S_{\text{прогн.}} = 6,74$) сопоставимое с результатом, полученным по уравнению ($S = 7,73$) (см. таблицу 3).

Таким образом, было выбрано оптимальное уравнение регрессии количественной зависимости «структура – анальгетическая активность» с использованием метода молекулярного докинга по ЦОГ 1 и 2 для поиска биологически активных соединений в ряду производных тетрагидропиримидин-2-тионов.

ЛИТЕРАТУРА

- Shah K., Mujwar S., Gupta J.K., Shrivastava S. K., Mishra P. Molecular Docking and *In Silico* Cogitation Validate Mefenamic Acid Prodrugs as Human Cyclooxygenase-2 Inhibitor. *ASSAY and Drug Development Technol.* 2019;17(6):285–291. DOI: 10.1089/ADT.2019.943.
- Elrayess R., Elgawish M. S., Elewa M., Nafie M. S., Elhady S. S., Yassen A. S. A. Synthesis, 3D-QSAR, and Molecular Modeling Studies of Triazole Bearing Compounds as a Promising Scaffold for Cyclooxygenase-2 Inhibition. *Pharmaceuticals.* 2020;13(11):370. DOI: 10.3390/ph13110370.
- Khasimbi S., Ali F., Manda K., Sharma G., Wakode S. Dihydropyrimidinones Scaffold as a Promising Nucleus for Synthetic Profile and Various Therapeutic Targets: A Review. *Current Organic Synthesis.* 2021;18(3):270–293. DOI: 10.2174/1570179417666201207215710.
- Zarren G., Shafiq N., Arshad U., Rafiq N., Parveen S., Ahmad Z. Copper-catalyzed one-pot relay synthesis of anthraquinone based pyrimidine derivative as a probe for antioxidant and antidiabetic activity. *Journal of Molecular Structure.* 2021;1227:129668. DOI: 10.1016/j.molstruc.2020.129668.

5. Taslimi P., Garibova E., Karamanc M., Zangenehd M. M. Sujayev A. Novel cyclic thiourea derivatives of aminoalcohols at the presence of AlCl₃ catalyst as potent α -glycosidase and α -amylase inhibitors: Synthesis, characterization, bioactivity investigation and molecular docking studies. *Bioorganic Chemistry*. 2020;104:104216. DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.104216.
6. Dudhe A. C., Duhde R., Porwal O., Katole G. An Overview of Synthesis and Biological Activity of Dihydropyrimidine Derivatives. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2022;22(5):701–728. DOI: 10.2174/1389557521666210920120457.
7. Бузмакова Н. А., Рудакова И. П., Замараева Т. М., Дозморова Н. В., Слепова Н. В. Синтез и оценка нестероидной противовоспалительной активности N,6-диарил-4-метил-2-тиоксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):38–42. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-38-42.
8. Бузмакова Н. А., Замараева Т. М., Рудакова И. П., Дмитриев М. В. Изучение структурных особенностей и противовоспалительной активности 13-(N-ариламинокарбонил)-9-метил-11-тиоксо-8-окса-10,12-дизаза трицикло[7.3.1.0^{2,7}] тридека-2,4,6-триенов и их 10-N-фенилпроизводных. *Химико-фармацевтический журнал*. 2022;56(12):44–46. DOI: 10.30906/0023-1134-2022-56-12-44-46.
9. Бузмакова Н. А., Рудакова И. П., Замараева Т. М. Синтез и противовоспалительная активность N,6-диарил-4-метил-2-тиоксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов. *Химико-фармацевтический журнал*. 2021;55(8):21–24. DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-8-21-24.
10. Тальдаев А. Х., Никитин И. Д., Терехов Р. П., Селиванова И. А. Молекулярный докинг: методологические подходы к оценке рисков. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(2):206–210. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-206-210.
11. Sidhu R. S., Lee J. Y., Yuan C., Smith, W. L. Comparison of Cyclooxygenase-1 Crystal Structures: Cross-Talk between Monomers Comprising Cyclooxygenase-1 Homodimers. *Journal Biochemistry*. 2010;49:7069–7079. DOI: 10.1021/bi1003298.
12. Rowlinson S. W., Kiefer J. R., Prusakiewicz J. J., Pawlitz J. L., Kozak K. R., Kalgutkar A. S., Stallings W. C., Kurumbail R. G., Marnett L. J. A novel mechanism of cyclooxygenase-2 inhibition involving interactions with Ser-530 and Tyr-385. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003;278:45763–45769. DOI: 10.1074/jbc.M305481200.
13. Андрияков К. В., Коркодинова Л. М. Молекулярный докинг в изучении взаимодействия амидов и гидразидов N-арилзамещенных галоген(H) антралиновых кислот с циклооксигеназой 1, проявляющих противовоспалительную активность. *Химико-фармацевтический журнал*. 2018;52(5):29–32. DOI: 10.30906/0023-1134-2018-52-5-29-32.
6. Dudhe A. C., Duhde R., Porwal O., Katole G. An Overview of Synthesis and Biological Activity of Dihydropyrimidine Derivatives. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2022;22(5):701–728. DOI: 10.2174/1389557521666210920120457.
7. Buzmakova N. A., Rudakova I. P., Zamaraeva T. M., Dozmorova N. V., Slepova N. V. The Synthesis and Evaluation of Non-steroidal Antiinflammatory Activity of N,6-diaryl-4-methyl-2-thioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-5-carboxamides. *Drug development & registration*. 2022;11(4):38–42. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-38-42.
8. Buzmakova N. A., Zamaraeva T. M., Rudakova I. P., Dmitriev M. V. Structural features and antiinflammatory activity of 13-(N-arylamino carbonyl)-9-methyl-11-thioxo-8-oxa-10,12-diazatricyclo[7.3.1.0^{2,7}]trideca-2,4,6-trien and their 10-N-phenyl substituted derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2022;56(12):44–46. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2022-56-12-44-46.
9. Buzmakova N. A., Rudakova I. P., Zamaraeva T. M. The Synthesis and anti-inflammatory activity of N,6-diaryl-4-methyl-2-thioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-5-carboxamides. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;55(8):21–24. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-8-21-24.
10. Taldaev A. K., Nikitin I. D., Terekhov R. P., Selivanova I. A. Molecular Docking: Methodological Approaches of Risk Assessment. *Drug development & registration*. 2023;12(2):206–210. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-206-210.
11. Sidhu R. S., Lee J. Y., Yuan C., Smith, W. L. Comparison of Cyclooxygenase-1 Crystal Structures: Cross-Talk between Monomers Comprising Cyclooxygenase-1 Homodimers. *Journal Biochemistry*. 2010;49:7069–7079. DOI: 10.1021/bi1003298.
12. Rowlinson S. W., Kiefer J. R., Prusakiewicz J. J., Pawlitz J. L., Kozak K. R., Kalgutkar A. S., Stallings W. C., Kurumbail R. G., Marnett L. J. A novel mechanism of cyclooxygenase-2 inhibition involving interactions with Ser-530 and Tyr-385. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003;278:45763–45769. DOI: 10.1074/jbc.M305481200.
13. Andriukov K. V., Korkodinova L. M. Molecular docking in the study of the interaction of amides and hydrazides of N-aryl-substituted halogen(H) anthranilic acids with cyclooxygenase 1, exhibiting anti-inflammatory activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;52(5):29–32. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2018-52-5-29-32.

REFERENCES

1. Shah K., Mujwar S., Gupta J.K., Shrivastava S. K., Mishra P. Molecular Docking and *In Silico* Cogitation Validate Mefenamic Acid Prodrugs as Human Cyclooxygenase-2 Inhibitor. *ASSAY and Drug Development Technol*. 2019;17(6):285–291. DOI: 10.1089/ADT.2019.943.
2. Elrayess R., Elgawish M. S., Elewa M., Nafie M. S., Elhady S. S., Yassen A. S. A. Synthesis, 3D-QSAR, and Molecular Modeling Studies of Triazole Bearing Compounds as a Promising Scaffold for Cyclooxygenase-2 Inhibition. *Pharmaceuticals*. 2020;13(11):370. DOI: 10.3390/ph13110370.
3. Khasimbi S., Ali F., Manda K., Sharma G., Wakode S. Dihydropyrimidinones Scaffold as a Promising Nucleus for Synthetic Profile and Various Therapeutic Targets: A Review. *Current Organic Synthesis*. 2021;18(3):270–293. DOI: 10.2174/1570179417666201207215710.
4. Zarren G., Shafiq N., Arshad U., Rafiq N., Parveen S., Ahmad Z. Copper-catalyzed one-pot relay synthesis of anthraquinone based pyrimidine derivative as a probe for antioxidant and antidiabetic activity. *Journal of Molecular Structure*. 2021;1227:129668. DOI: 10.1016/j.molstruc.2020.129668.
5. Taslimi P., Garibova E., Karamanc M., Zangenehd M. M. Sujayev A. Novel cyclic thiourea derivatives of aminoalcohols at the presence of AlCl₃ catalyst as potent α -glycosidase and α -amylase inhibitors: Synthesis, characterization, bioactivity investigation and molecular docking studies. *Bioorganic Chemistry*. 2020;104:104216. DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.104216.

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1603](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1603)
УДК 615.272.3



Обзорная статья / Review article

Перспективы поиска новых антидиабетических средств среди ванадийсодержащих комплексных соединений (обзор)

А. И. Краснова✉, Н. А. Пулина, Т. А. Юшкова

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: Краснова Анастасия Ивановна. E-mail: krasnova_ai@mail.ru

ORCID: А. И. Краснова – <https://orcid.org/0000-0002-5363-8783>; Н. А. Пулина – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
Т. А. Юшкова – <https://orcid.org/0000-0003-0547-5876>.

Статья поступила: 12.10.2023

Статья принята в печать: 07.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Эпидемический рост заболеваемости сахарным диабетом (СД) обуславливает актуальность поиска новых антидиабетических средств. В клинической практике остро стоит вопрос об улучшении и/или замене инсулиновой терапии заболевания. Особый интерес представляют соединения ванадия в связи с выявлением у них многофакторного воздействия на организм, в том числе инсулиноподобных и гипогликемических свойств, что открывает перспективы создания нового поколения терапевтических средств для лечения СД 1-го и 2-го типов. Основное внимание в этом обзоре уделяется изучению структуры и антидиабетических свойств органических комплексов ванадия.

Текст. Данный обзор посвящен анализу научной литературы по исследованиям ванадийсодержащих соединений в качестве потенциальных антидиабетических средств. Обсуждаются механизмы антидиабетической активности ванадийсодержащих комплексных соединений. Проведена оценка перспективности поиска комплексов оксованадия(IV) с O₄-координацией.

Заключение. В результате проведенного анализа литературных данных установлено, что ванадийсодержащие комплексные соединения имеют значительный потенциал для использования в качестве антидиабетических средств. Показана актуальность поиска высокоэффективных оксованадиевых металлокомплексов на основе лигандов, близких к эндогенным субстратам, например, на основе производных ароилпировиноградной кислоты.

Ключевые слова: антидиабетические средства, инсулиномиметики, ванадиевые комплексы

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

Вклад авторов. А. И. Краснова – проведение патентно-информационного и литературного поиска по объектам исследования – оксованадиевым комплексным соединениям, анализ и обработка полученных баз данных, написание статьи. Н. А. Пулина, Т. А. Юшкова – внесение значимых исправлений в содержание работы, окончательное утверждение публикуемой рукописи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации «Доклинические исследования бис[3-(4-хлорфенил)-1-(4-метилфенил)карбоксамидо-1,3-пропандионато]оксованадия как потенциального лекарственного средства для терапии сахарного диабета 2 типа» (тема №1022042500005-7).

Для цитирования: Краснова А. И., Пулина Н. А., Юшкова Т. А. Перспективы поиска новых антидиабетических средств среди ванадийсодержащих комплексных соединений. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):19–27. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1603](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1603)

Prospects for the Search for New Antidiabetic Agents Among Vanadium-containing Complex Compounds (Review)

Anastasia I. Krasnova✉, Natalya A. Pulina, Tatyana A. Yushkova

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

✉ Corresponding author: Anastasia I. Krasnova. E-mail: krasnova_ai@mail.ru

ORCID: Anastasia I. Krasnova – <https://orcid.org/0000-0002-5363-8783>; Natalya A. Pulina – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
Tatyana A. Yushkova – <https://orcid.org/0000-0003-0547-5876>.

Received: 12.10.2023

Revised: 07.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. The epidemic increase in the incidence of diabetes mellitus (DM) makes it urgent to search for new antidiabetic agents. In clinical practice, there is an urgent question about improving and/or replacing insulin therapy for the disease. Vanadium compounds are of particular interest in connection with the identification of their multifactorial effects on the body, including insulin-like and hypoglycemic properties, which opens up prospects for the creation of a new generation of therapeutic agents for the treatment of types 1 and 2 diabetes. The focus of this review is on the structure and antidiabetic properties of vanadium complexes.

Text. This review is devoted to the analysis of scientific literature on studies of vanadium-containing compounds as potential antidiabetic agents. The mechanisms of antidiabetic activity of vanadium-containing complex compounds are discussed. The prospects for searching for oxovanadium(IV) complexes with O₄-coordination have been assessed.

© Краснова А. И., Пулина Н. А., Юшкова Т. А., 2023

© Krasnova A. I., Pulina N. A., Yushkova T. A., 2023

Conclusion. As a result of the analysis of the literature data, it was found that vanadium-containing complex compounds have a significant potential for use as antidiabetic agents. The relevance of the search for highly effective oxo-vanadium metal complexes based on ligands close to endogenous substrates, for example, based on derivatives of aroylpyruvic acid, is shown.

Keywords: antidiabetics, insulinomimetics, vanadium complexes

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. Anastasiya I. Krasnova – conducting patent information and literary searches on the objects of research: complexes of oxovanadium, analysis and processing of the obtained databases, writing an article. Natalya A. Pulina, Tatyana A. Yushkova – making significant corrections to the content of the work, editing, final approval of the published manuscript.

Funding. The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Health of the Russian Federation "Preclinical studies of bis[3-(4-chlorophenyl)-1-(4-methylphenyl)carboxamido-1,3-propanedionato]oxovanadium as a potential drug for the treatment of type 2 diabetes mellitus" (topic No. 1022042500005-7).

For citation: Krasnova A. I., Pulina N. A., Yushkova T. A. Prospects for the search for new antidiabetic agents among vanadium-containing complex compounds. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):19–27. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1603](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1603)

ВВЕДЕНИЕ

Ванадий относится к биологически значимой группе переходных элементов. Благодаря переходной валентности, ванадий имеет широкое распространение в природе, встречаясь в химически связанной форме. В тканях организма ванадий присутствует в минимальной концентрации – около 1 мг [1]. В водных средах при физиологическом pH=7 ионы ванадия образуют стабильные соединения в степенях окисления +4 (IV) и +5 (V), при этом в организме координационные формы ванадиевых соединений существуют за счет подходящих молекулярных хелаторов – лигандов (L) в виде комплексов общей структуры VOL или VO₂L. Биогенными хелаторами и транспортерами ванадия в организме являются известные биохимические компоненты: глутатион, цитрат, лактат, трансферрин, альбумин, иммуноглобулин, аскорбат и др. [2–5].

При этом уникальность поведения ванадия в организме связана, как минимум, с двумя аспектами: во-первых, структурные, электростатические и химические особенности оксованадат-анионов (IV: O=V(OH)₃⁻; V: O=V(OH)₂(O)⁻) свидетельствуют о схожести с моноанионным фосфатом (O=P(OH)₂(O)⁻), что обеспечивает взаимодействие оксованадатов с различными физиологическими ферментативными субстратами, которые осуществляют взаимодействие с фосфатами, а также позволяет ванадию замещать фосфор в ряде ферментов. Подобный антагонизм фосфата-ванадат(V) отмечается в фосфатазах, фосфорилазах и киназах [6].

С другой стороны, ванадий, как переходный металл, может легко изменять свою тетраэдрическую координацию и переключаться между тремя валентностями – V, IV и III в физиологических средах. Известно, что в организме под влиянием никотинамидадениндинуклеотида (НАД(Н)), глутатиона, хиноно-

вых (фенольных) соединений ванадат способен преобразовываться в ванадил [7].

Изучение фармакокинетических аспектов ванадийсодержащих комплексов показывает, что поступление в клетки ванадатов происходит через анионные каналы, тогда как у ванадила(IV) поступление реализуется путем пассивной диффузии, а связанный с трансферрином ванадил транспортируется внутрь клетки путем эндоцитоза [8]. Структурное сходство с фосфат-ионами, переменная валентность и сложная геометрия координационных соединений ванадия с возможностью обмена лигандов с окружающей средой для обеспечения подходящего носителя (биогенного лиганда) для прохождения через клеточную мембрану, объясняет широкий спектр физиологических свойств ванадия и его соединений в организме.

Влияние ванадия и его соединений на углеводный обмен

Механизмы действия ванадия на углеводно-липидный обмен можно условно разделить на инсулин-независимый и инсулин-зависимый. Эффекты ванадия могут реализовываться непосредственно на уровне адипоцитов [9]. При моделировании алиментарного ожирения содержание ванадия в жировой ткани значительно снижается по мере усиления воспалительной реакции и инсулинорезистентности [10]. В ряде исследований показана возможность влияния ванадийсодержащих соединений на дифференцировку адипоцитов и подавление адипогенеза путем подавления экспрессии белка целого ряда адипогенных факторов транскрипции [11].

Несмотря на интенсивное изучение в течение последних десятилетий, механизм инсулиноподобного действия ванадия во многом остается невыясненным (рисунок 1).

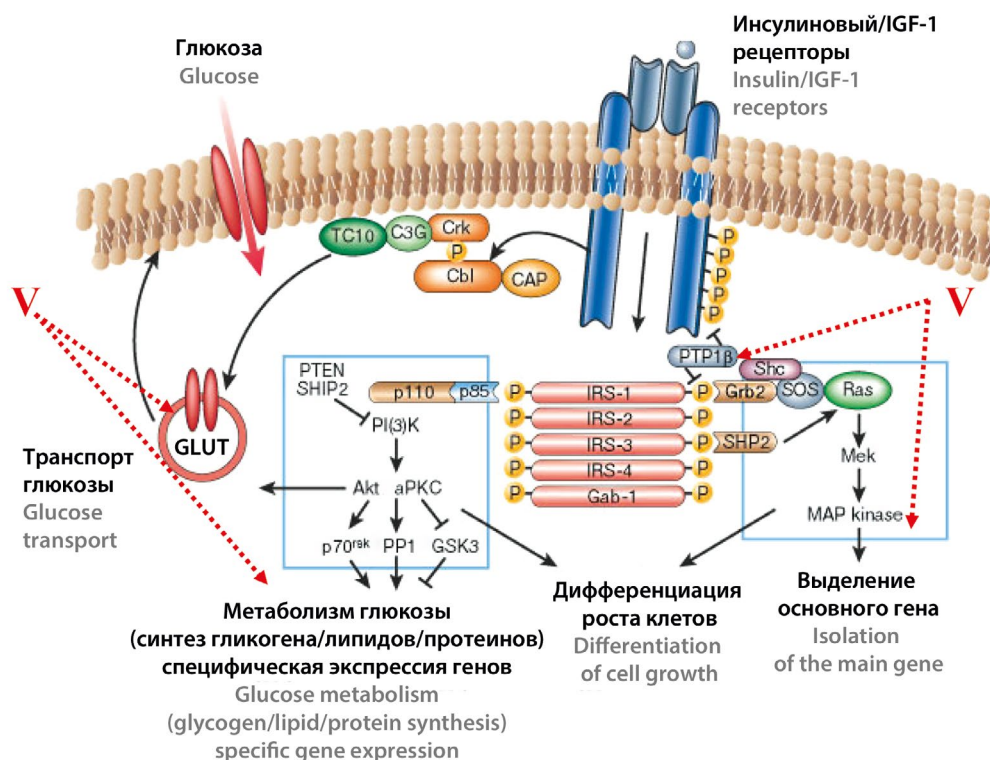


Рисунок 1. Возможные механизмы действия соединений ванадия.

Примечание: PTP1β – фосфотирозинфосфатаза 1β; IRS – субстрат инсулинового рецептора; GLUT – транспортер глюкозы

Figure 1. Possible mechanisms of action of vanadium compounds.

Note: PTP1β – phosphotyrosine phosphatase 1β; IRS – an insulin receptor substrate; GLUT – a glucose transporter

С одной стороны, предполагается, что соединения ванадия могут блокировать некоторые протеин-тирозинфосфатазы (ПТР, особенно PTP1β), которые являются негативным регулятором инсулинового сигнального каскада и проявляют неадекватную активность при отсутствии инсулина или его недостаточном присутствии и распознавании (СД типа 1) [12–15]. Проведен целый ряд исследований, в том числе *in vitro*, в которых показано, что PTP1β является одной из важных мишеней для проявления инсулиномиметического механизма действия [16, 17]. Связываясь с боковыми цепями цистеината в активных центрах ферментов ПТР, анионы ванадата действуют как антагонисты, блокируя доступ агонистических фосфатных групп (например, фосфорилированных остатков тирозина). Впоследствии некоторые тирозиновые остатки внутриклеточной бета-субъединицы трансмембранного инсулинового рецептора (IR-β) остаются фосфорилированными, тем самым поддерживая передачу сигнала, и глюкоза продолжает поступать в клетки. Получение подобного сигнала схоже с процессом активизации инсулиновых рецепторов большим количеством инсулина. Таким образом, за счет реализации подобного механизма может наблюдаться инсулиноподобное действие у ванадийсодержащих веществ.

С другой стороны, роль PTP1β как ключевой мишени не признана основной, вопрос о биомолекулах-мишенях для реализации инсулиноподобных эффектов остается открытым [18, 19]. Проведен ряд исследований, где мишенями рассматривались другие ферменты (в основном фосфатазы и киназы), участвующие в утилизации глюкозы [20, 21]. Ванадий и его соединения способствуют увеличению количества переносчиков глюкозы 4-го типа (GLUT-4) в клеточной мембране [22], что улучшает транспортировку молекул глюкозы в адипоциты и мышечные клетки, проявляют активность в стимуляции гликогеногенеза, ингибировании гликогенолиза и глюконеогенеза [23].

Таким образом, в многочисленных исследованиях показана многофакторность воздействия ванадия на организм. Учитывая, что ванадий, взаимодействуя с инсулин-сигнальной системой (на уровне рецептора или на пострецепторном уровне), может имитировать метаболические эффекты инсулина, усиливать чувствительность к этому гормону и продлевать действие биологического ответа ткани на инсулин, его использование открывает перспективы создания нового поколения терапевтических средств для лечения СД 1-го и 2-го типов.

Разработка оксованадиевых комплексов как потенциальных антидиабетических агентов

Неорганические соли ванадия, как правило, плохо всасываются в желудочно-кишечном тракте и обладают токсическими свойствами (ванадаты в большей степени) [24]. В связи с этим, наибольший интерес представляют координационные соединения ванадия(IV), как наиболее эффективного и безопасного агента.

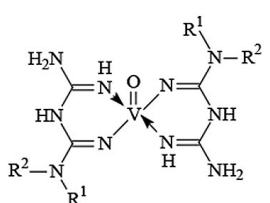
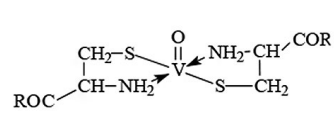
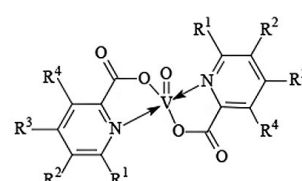
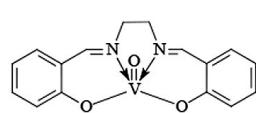
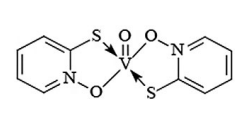
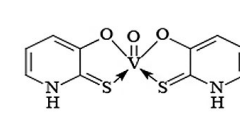
Последние десятилетия характеризовались бурным ростом исследований в области синтеза ванадиевых металлокомплексов на основе различных органических лигандов [25, 26]. На сегодняшний день получено достаточно большое количество комплексных соединений оксованадия с различными спо-

собами координации, в зависимости от наличия донорных атомов азота (N), кислорода (O), серы (S) в лигандах. Наиболее изученные соединения с выявленной гипогликемической активностью приведены в таблице 1.

Следует отметить, что расширяется область исследований о возможности комплексообразования ванадия(IV) с лекарственными препаратами. Так, помимо синтеза и изучения оксованадиевых хелатов на основе бигуанидов [27], приводятся сведения о получении комплексных соединений ванадия на основе производных тиазолидиндионов [47], фторхинолонов, в частности, ципрофлоксацина [48]. Имеются разработки в области создания комплексов ванадия на основе производных изоникотиновой [49], оротовой кислот [50] и др.

Таблица 1. Оксованадиевые комплексы на основе различных органических лигандов, обладающие гипогликемической активностью

Table 1. Oxovanadium complexes based on various organic ligands with hypoglycemic activity

Координация Coordination	Химическая структура Chemical structure	Выявленный фармакологический эффект Identified pharmacological effect	Литература References
N_4		Выраженная гипогликемическая активность, не превосходящая метформин Pronounced hypoglycemic activity not superior to metformin	[27]
N_2S_2		↓ уровня глюкозы на 62 % по отношению к исходному уровню ↓ glucose level by 62 % compared to the initial level	[28, 29]
N_2O_2		↓ уровня глюкозы в пределах от 33 до 64 % ↓ glucose level by 62 % compared to the initial level	[30, 31]
		↓ уровня глюкозы в плазме до нормы ↓ plasma glucose level to normal	[32]
S_2O_2		Высокий гипогликемический эффект в опытах <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> High hypoglycemic effect in <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> experiments	[33]
		Изучается наличие инсулиноподобных свойств The presence of insulin-like properties is being studied	[34]

Окончание таблицы 1

Координация Coordination	Химическая структура Chemical structure	Выявленный фармакологический эффект Identified pharmacological effect	Литература References
S ₄		↓ уровня глюкозы, выброса свободных жирных кислот ↓ glucose levels, release of free fatty acids	[35]
O ₄		Высокая гипогликемическая активность High hypoglycemic activity	[29, 36]
		↓ уровня глюкозы на фоне стрептозотоцинового СД, активация малатного шунта ↓ glucose level against the background of streptozotocin diabetes, activation of the malate shunt	[37, 38]
		Высокая гипогликемическая активность High hypoglycemic activity	[29, 39]
		Дозозависимое ↓ уровня глюкозы Dose-dependent ↓ glucose level	[29, 40, 41]
		Высокий гипогликемический эффект High hypoglycemic effect	[42]
		Нормализация уровня глюкозы в крови крыс с индуцированным СД Normalization of blood glucose levels in rats with induced diabetes	[43]
		Высокая гипогликемическая активность в дозе 10 мг/кг High hypoglycemic activity at a dose of 10 mg/kg	[29]
		Дозозависимое ↓ уровня глюкозы в 2–3 раза Dose-dependent ↓ glucose level 2–3 times	[44, 45]
		Антидиабетическая активность in vitro, in vivo Antidiabetic activity in vitro, in vivo	[46]

* **Примечание.** ↓ – снижение.

* **Note.** ↓ – decrease.

На современном этапе изучения фармакокинетических особенностей поведения ванадийсодержащих комплексов в организме появилось много исследований о вероятной их трансформации биолигандами в реакциях конкурентного рехелатирования в эндогенных условиях. Поэтому синтетические (исходные) комплексы ванадия становятся, как правило, предшественниками активной формы, которые в итоге взаимодействуют с целевыми рецепторами в клетках [51]. В связи с этим, произошла смена парадигмы в сторону преимуществ комплексообразования ванадия с лигандами с определенными характеристиками: лучшей переносимостью и меньшей их токсичностью, после высвобождения в результате повторного хелатирования в организме; с повышенной клеточной утилизацией, предпочтительно с помощью активных транспортных систем через клеточные мембраны, как в комплексной, так и в некомплексной форме; со способностью превращать уже присутствующий внутриклеточный ванадий в инсулиномиметически активные виды [52].

Перспективными лигандами для хелатирования могут служить производные такого эндогенного соединения как пировиноградная кислота, которая является одним из ключевых метаболитов в аэробном гликолизе – расщеплении глюкозы при участии кислорода. В частности, особый интерес могут представлять соединения, полученные на основе химических превращений 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых (ароилпировиноградных) кислот (АрПК). Данные соединения являются удобными синтонами, на основе которых получен широкий спектр разнообразных веществ с выраженным фармакологическим действием и низкой токсичностью [53, 54]. Синтезированные на основе производных АрПК оксованадиевые комплексы демонстрируют выраженную гипогликемическую активность, антигипоксические, иммуномодулирующие свойства, положительное воздействие на поведение и память экспериментальных животных, что можно охарактеризовать как комплексное влияние на различные звенья патогенеза сахарного диабета и его осложнений [55, 56].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного анализа литературных данных установлено, что ванадийсодержащие комплексные соединения имеют значительный потенциал для использования в качестве антидиабетических средств. Показана актуальность поиска высокоэффективных оксованадиевых металлокомплексов на основе лигандов, близких к эндогенным субстратам, например, на основе производных ароилпировиноградной кислоты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jiang S., Zhou S., Liu H., Peng C., Zhang X., Zhou H., Wang Z., Lu Q. Concentrations of vanadium in urine with hypertension prevalence and blood pressure levels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021;213:112028. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112028.

2. Hashmi K., Satya, Gupta S., Siddique A., Khan T., Joshi S. Medicinal applications of vanadium complexes with Schiff bases. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2023;79:127245. DOI: 10.1016/j.jtemb.2023.127245.

3. Romanowski G., Budka J., Inkielewicz-Stepniak I. Synthesis, spectroscopic characterization, catalytic and biological activity of oxidovanadium(V) complexes with chiral tetradentate schiff bases. *Molecules*. 2023;28:7408. DOI: 10.3390/molecules28217408.

4. Amaral L., Moniz T., Silva A., Rangel M. Vanadium compounds with antidiabetic potential. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(21):15675. DOI: 10.3390/ijms242115675.

5. Buglyó P., Kiss T., Kiss E., Sanna D., Garribba E., Micera G. Interaction between the low molecular mass components of blood serum and the VO(IV)-DHP system (DHP=1,2-dimethyl-3-hydroxy-4(1H)-pyridinone). *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*. 2002:2275–2282. DOI: 10.1039/b200688j.

6. Ugone V., Sanna D., Sciortino G., Crans D. C., Garribba E. ESI-MS study of the interaction of potential oxidovanadium(IV) drugs and amavadin with model proteins. *Inorganic Chemistry*. 2020;59(14):9739–9755. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.0c00969.

7. Rehder D. Biological and medicinal aspects of vanadium. *Inorganic Chemistry Communications*. 2003;6(5):604–617.

8. Tracey A. S., Gresser M. J., Parkinson K. M. Vanadium (V) oxyanions. Interactions of vanadate with oxalate, lactate, and glycerate. *Inorganic Chemistry*. 1987;26:629–638.

9. Tinkov A. A., Popova E. V., Polyakova V. S., Kwan O. V., Skalny A. V., Nikonorov A. A. Adipose tissue chromium and vanadium disbalance in high-fat fed Wistar rats. *The Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2015;29:176–181. DOI: 10.1016/j.jtemb.2014.07.006.

10. Fontaine J., Tavernier G., Morin N., Carpéné C. Vanadium-dependent activation of glucose transport in adipocytes by catecholamines is not mediated via adrenoceptor stimulation or monoamine oxidase activity. *World Journal of Diabetes*. 2020;11(12):622–643. DOI: 10.4239/wjd.v11.i12.622.

11. Zhang S., Yan L., Kim S. M. Vanadium-protein complex inhibits human adipocyte differentiation through the activation of β -catenin and LKB1/AMPK signaling pathway. *PLOS ONE*. 2020;15(9):e0239547. DOI: 10.1371/journal.pone.0239547.

12. Kostrzewa T., Jończyk J., Drzeżdżon J., Jacewicz D., Górka-Ponikowska M., Kołaczowski M., Kuban-Jankowska A. Synthesis, in vitro, and computational studies of PTP1B phosphatase inhibitors based on oxovanadium(IV) and dioxovanadium(V) complexes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(13):7034. DOI: 10.3390/ijms23137034.

13. Shaik A., Kondaparthi V., Begum A., Husain A., Manwal D. D. Enzyme PTP-1B inhibition studies by vanadium metal complexes: a kinetic approach. *Biological Trace Element Research*. 2023;201(10):5037–5052. DOI: 10.1007/s12011-023-03557-8.

14. Cam M. C., Brownsey R. W., McNeill J. H. Mechanisms of vanadium action: insulin-mimetic or insulin-enhancing agent? *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2000;78(10):829–847.

15. Ajmani S., Karanam S., Kulkarni S. A. Rationalizing protein-ligand interactions for PTP1B inhibitors using computational methods. *Chemical Biology & Drug Design*. 2009;74(6):582–595.

16. Irving E., Stoker A. W. Vanadium Compounds as PTP Inhibitors. *Molecules*. 2017; 19;22(12):2269. DOI: 10.3390/molecules22122269.

17. Ramírez-Espinosa J. J., Rios M. Y., Paoli P., Flores-Morales V., Camici G., de la Rosa-Lugo V., Hidalgo-Figueroa S., Navarrete-Vázquez G., Estrada-Soto S. Synthesis of oleanolic acid derivatives: In vitro, in vivo and in silico studies for PTP-1B inhibition. *The European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014;87:316–327.

18. Ghalichi F., Ostadrahimi A., Saghaei-Asl M. Vanadium and diabetic dyslipidemia: A systematic review of animal studies. *The Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2022;71:126955. DOI: 10.1016/j.jtemb.2022.126955.

19. Kiss T., Jakusch T., Hollender D., Dörnyei Á., Enyedy É. A., Pessoa J. C., Sakurai H., Sanz-Medel A. Biospeciation of antidiabetic VO(IV) complexes. *Coordination Chemistry Reviews*. 2008;252:1153–1162.

20. Trevino S., Diaz A. Vanadium and insulin: partners in metabolic regulation. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2020;208:111094. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2020.111094.
21. Sanna D., Garribba E. Pharmacologically active vanadium species: distribution in biological media and interaction with molecular targets. *Current Medicinal Chemistry*. 2021;28(35):7339–7384. DOI: 10.2174/0929867328666210531144021.
22. Mohammad A., Sharma V., McNeil J. H. Vanadium increases GLUT4 in diabetic rat skeletal muscle. *Mol. Cell. Biochem*. 2002;233:139–143. DOI: 10.1023/a:1015558328757.
23. Treviño S., Díaz A., Sánchez-Lara E., Sanchez-Gaytan B. L., Perez-Aguilar J. M., González-Vergara E. Vanadium in biological action: chemical, pharmacological aspects, and metabolic implications in diabetes mellitus. *Biological Trace Element Research*. 2019;188(1):68–98. DOI: 10.1007/s12011-018-1540-6.
24. Kothandan S., Sheela A. DNA Interaction and cytotoxic studies on mono/di-oxo and peroxo-vanadium (V) complexes – A Review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2021;21(14):1909–1924. DOI: 10.2174/1389557521666210308143522.
25. Crans D. C., Henry L., Cardiff G., Posner B. I. Developing vanadium as an antidiabetic or anticancer drug: a clinical and historical perspective. *The Metal ions in life sciences*. 2019;19. DOI: 10.1515/9783110527872-014.
26. Scibior A., Pietrzyk Ł., Plewa Z., Skiba A. Vanadium: risks and possible benefits in the light of a comprehensive overview of its pharmacotoxicological mechanisms and multi-applications with a summary of further research trends. *The Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2020;61:126508. DOI: 10.1016/j.jtemb.2020.126508.
27. Woo L. C., Yuen V. G., Thompson K. H., McNeill J. H., Orvig C. Vanadyl-biguanide complexes as potential synergistic insulin mimics. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 1999;30;76(3–4):251–257. DOI: 10.1016/S0162-0134(99)00152-X.
28. Sakurai H., Hamada Y., Shimomura S. Cysteine methyl ester-oxovanadium (IV) complex, preparation and characterization. *Inorganica Chimica Acta*. 1980;46:119–120.
29. Cam M. C., Cros G. H., Serrano J. J., Lazaro R., McNeill J. H. In vivo antidiabetic actions of naglivan, an organic vanadyl compound in streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 1993;20(2):111–121. DOI: 10.1016/0168-8227(93)90004-o.
30. Sakurai H., Kojima Y., Yoshikawa Y., Kawabe K. Antidiabetic vanadium (IV) and zinc (II) complexes. *Coordination Chemistry Reviews*. 2002;226:187–189.
31. Sakurai H., Tsuchiya K., Nukatsuka M. Insulin-mimetic action of vanadyl complexes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 1990;8:193–200.
32. Bergeron A., Kostenkova K., Selman M., Murakami H. A., Owens E., Haribabu N., Arulanandam R., Diallo J. S., Crans D. C. Enhancement of oncolytic virotherapy by vanadium(V) dipicolinates. *Biometals*. 2019;32(3):545–561. DOI: 10.1007/s10534-019-00200-9.
33. Watanabe H., Nakai M., Komazawa K., Sakurai H. A new orally active insulin-mimetic vanadyl complex: bis(pyrrolidine-N-carbodithioato)oxovanadium (IV). *Journal of Medicinal Chemistry*. 1994;1;37(7):876–877. DOI: 10.1021/jm00033a002.
34. Thompson K. H., Orvig C. Coordination chemistry of vanadium in metallopharmaceutical candidate compounds. *Coordination Chemistry Reviews*. 2001;219–221:1033–1035.
35. Sakurai H., Watanabe H., Tamura H. Insulin-mimetic vanadyl-dithiocarbamate complexes. *Inorganica Chimica Acta*. 1998;283(1):175–183.
36. Sathyanarayana D. N., Patel C. C. Studies on oxovanadium (IV) oxalate hydrates. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*. 1965;27(2):297–302.
37. Беляева Н. Ф., Городецкий В. К., Точилкин А. И., Голубев М. А., Семенова Н. В., Ковельман И. Р. Ванадийсодержащие соединения – новый класс терапевтических средств для лечения сахарного диабета. *Вопросы медицинской химии*. 2000;46(4):344–360.
38. Городецкий В. К., Точилкин А. И., Белаева Н. Ф., Ковельман И. Р., Коровкин Б. Ф. Синтез и гипогликемическая активность бис(Л-малато)оксованадия (IV). *Биомедицинская химия*. 2011;57(1):133–137.
39. Sathyanarayana D. N., Patel C. C. Simple malonate and maleate complexes of oxo-vanadium (IV). *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 1967;40(4):794–797.
40. Behzadi K., Thompson A. Preparation, characterization and reactions of vanadium (IV) β -diketonate complexes. *Journal of the Less Common Metals*. 1987;128:281–296.
41. Amin S. S., Cryer K., Zhang B., Dutta S. K., Eaton S. S., Anderson O. P., Miller S. M., Reul B. A., Brichard S. M., Crans D. C. Chemistry and insulin-mimetic properties of bis(acetylacetonate)oxovanadium (IV) and derivatives. *Inorganic Chemistry*. 2000;39(3):406–416. DOI: 10.1021/ic9905897.
42. Sheela A., Roopan S. M., Vijayaraghavan R. New diketone based vanadium complexes as insulin mimetics. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2008;43(10):2206–2210. DOI: 10.1016/j.ejmech.2008.01.002.
43. Saatchi K., Thompson K. H., Patrick B. O., Pink M., Yuen V. G., McNeill J. H., Orvig C. Coordination chemistry and insulin-enhancing behavior of vanadium complexes with maltol $C_6H_6O_3$ structural isomers. *Inorganic Chemistry*. 2005;44(8):2689–2697. DOI: 10.1021/ic048186g.
44. McNeill J. H., Yuen V. G., Hoveyda H. R., Orvig C. Bis(maltolato)oxovanadium (IV) is a potent insulin mimic. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1992;35(8):1489–1491. DOI: 10.1021/jm00086a020.
45. Sakurai H., Katoh A., Kiss T., Jakusch T., Hattori M. Metallo-allixinate complexes with anti-diabetic and anti-metabolic syndrome activities. *Metallomics*. 2010;2(10):670–82. DOI: 10.1039/c0mt00025f.
46. Sakurai H., Tamura A., Fugono J. New antidiabetic vanadyl-pyridone complexes: effect of equivalent transformation of coordinating atom in the ligand. *Coordination Chemistry Reviews*. 2003;245(1–2):31–37.
47. Storr T., Mitchell D., Buglyó P., Thompson K. H., Yuen V. G., McNeill J. H., Orvig C. Vanadyl-thiazolidinedione combination agents for diabetes therapy. *Bioconjugate Chemistry*. 2003;14(1):212–221. DOI: 10.1021/bc025606m.
48. Shahzadi S., Ali S. Oxovanadium (IV) esters of ciprofloxacin: their characterization and potentiometric study. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 2008;2(6):55–60.
49. Алеева Г. Н., Киясов А. П., Бурькин И. М., Хафизьянова Р. Х. Сравнительная оценка клеточных механизмов реализации противодиабетического действия нового органического соединения оксованадия (IV) и ванадилсульфата. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2004;67(3):42–44.
50. Naglah A. M., Al-Omar M. A., Almeshia A. A., Bhat M. A., Afifi W. M., Al-Wasidi A. S., Al-Humaidi J. Y., Refat M. S. A Novel Oxidovanadium (IV)-Orotate Complex as an Alternative Antidiabetic Agent: Synthesis, Characterization, and Biological Assessments. *BioMed Research International*. 2018;23;8108713. DOI: 10.1155/2018/8108713.
51. Сидорова Ю. С., Скальная М. Г., Тиньков А. А., Мазо В. К. Влияние соединений ванадия на нарушения углеводного и жирового обмена. *Проблемы Эндокринологии*. 2019;65(3):184–190. DOI: 10.14341/probl10093.
52. Shechter Y., Goldwasser I., Mironchik M., Fridkin M., Gefel D. Historic perspective and recent developments on the insulin-like actions of vanadium; toward developing vanadium-based drugs for diabetes. *Coordination Chemistry Reviews*. 2003;237:3–11.
53. Пулина Н. А., Кузнецов А. С., Краснова А. И., Новикова В. В. Синтез, антимикробная активность и влияние на поведенческие реакции N-замещенных гидразидов 4-арил-2-гидроксид-4-оксобут-2-еновых кислот и их комплексных производных. *Химико-фармацевтический журнал*. 2019;53(3):30–34. DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-3-30-34.

54. Собин Ф. В., Пулина Н. А., Липатников К. В., Старкова А. В., Юшкова Т. А., Наугольных Е. А. Синтез, гемостатическая, противовоспалительная и антигельминтная активность производных 2-гидрокси-4-оксо-4-(тиен-2-ил)бут-2-еновой кислоты. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;54(10):21–25. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-10-21-25.
55. Пулина Н. А., Юшкова Т. А., Краснова А. И. Биологическая активность бис[3-(4-хлорфенил)-1-(4-метилфенил)карбоксамидо-1,3-пропандионато]оксованадия. *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(7):29–32.
56. Пулина Н. А., Собин Ф. В., Краснова А. И. Поиск отечественных фармацевтических субстанций в ряду металлокомплексов на основе (тет)ариламинов 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот. *Координационная химия*. 2023;49(10):644–650. DOI: 10.31857/S0132344X23600182.

REFERENCES

1. Jiang S., Zhou S., Liu H., Peng C., Zhang X., Zhou H., Wang Z., Lu Q. Concentrations of vanadium in urine with hypertension prevalence and blood pressure levels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021;213:112028. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112028.
2. Hashmi K., Satya, Gupta S., Siddique A., Khan T., Joshi S. Medicinal applications of vanadium complexes with Schiff bases. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2023;79:127245. DOI: 10.1016/j.jtemb.2023.127245.
3. Romanowski G., Budka J., Inkielewicz-Stepniak I. Synthesis, spectroscopic characterization, catalytic and biological activity of oxidovanadium(V) complexes with chiral tetradentate schiff bases. *Molecules*. 2023;28:7408. DOI: 10.3390/molecules28217408.
4. Amaral L., Moniz T., Silva A., Rangel M. Vanadium compounds with antidiabetic potential. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(21):15675. DOI: 10.3390/ijms242115675.
5. Buglyó P., Kiss T., Kiss E., Sanna D., Garribba E., Micera G. Interaction between the low molecular mass components of blood serum and the VO(IV)-DHP system (DHP=1,2-dimethyl-3-hydroxy-4(1H)-pyridinone). *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*. 2002;2275–2282. DOI: 10.1039/b200688j.
6. Ugone V., Sanna D., Sciortino G., Crans D. C., Garribba E. ESI-MS study of the interaction of potential oxidovanadium(IV) drugs and amavadin with model proteins. *Inorganic Chemistry*. 2020;59(14):9739–9755. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.0c00969.
7. Rehder D. Biological and medicinal aspects of vanadium. *Inorganic Chemistry Communications*. 2003;6(5):604–617.
8. Tracey A. S., Gresser M. J., Parkinson K. M. Vanadium (V) oxyanions. Interactions of vanadate with oxalate, lactate, and glycerate. *Inorganic Chemistry*. 1987;26:629–638.
9. Tinkov A. A., Popova E. V., Polyakova V. S., Kwan O. V., Skalny A. V., Nikonov A. A. Adipose tissue chromium and vanadium disbalance in high-fat fed Wistar rats. *The Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2015;29:176–181. DOI: 10.1016/j.jtemb.2014.07.006.
10. Fontaine J., Tavernier G., Morin N., Carpené C. Vanadium-dependent activation of glucose transport in adipocytes by catecholamines is not mediated via adrenoceptor stimulation or monoamine oxidase activity. *World Journal of Diabetes*. 2020;11(12):622–643. DOI: 10.4239/wjdv11.i12.622.
11. Zhang S., Yan L., Kim S. M. Vanadium-protein complex inhibits human adipocyte differentiation through the activation of β -catenin and LKB1/AMPK signaling pathway. *PLOS ONE*. 2020;15(9):e0239547. DOI: 10.1371/journal.pone.0239547.
12. Kostrzewa T., Jończyk J., Drzeżdżon J., Jacewicz D., Górski-Ponikowska M., Kołaczowski M., Kuban-Jankowska A. Synthesis, in vitro, and computational studies of PTP1B phosphatase inhibitors based on oxovanadium(IV) and dioxovanadium(V) complexes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(13):7034. DOI: 10.3390/ijms23137034.
13. Shaik A., Kondaparthi V., Begum A., Husain A., Manwal D. D. Enzyme PTP-1B inhibition studies by vanadium metal complexes: a kinetic approach. *Biological Trace Element Research*. 2023;201(10):5037–5052. DOI: 10.1007/s12011-023-03557-8.
14. Cam M. C., Brownsey R. W., McNeill J. H. Mechanisms of vanadium action: insulin-mimetic or insulin-enhancing agent? *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2000;78(10):829–847.
15. Ajmani S., Karanam S., Kulkarni S. A. Rationalizing protein-ligand interactions for PTP1B inhibitors using computational methods. *Chemical Biology & Drug Design*. 2009;74(6):582–595.
16. Irving E., Stoker A. W. Vanadium Compounds as PTP Inhibitors. *Molecules*. 2017; 19;22(12):2269. DOI: 10.3390/molecules22122269.
17. Ramírez-Espinosa J. J., Rios M. Y., Paoli P., Flores-Morales V., Camici G., de la Rosa-Lugo V., Hidalgo-Figueroa S., Navarrete-Vázquez G., Estrada-Soto S. Synthesis of oleanolic acid derivatives: In vitro, in vivo and in silico studies for PTP-1B inhibition. *The European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014;87:316–327.
18. Ghalichi F., Ostadrahimi A., Saghaei-Asl M. Vanadium and diabetic dyslipidemia: A systematic review of animal studies. *The Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2022;71:126955. DOI: 10.1016/j.jtemb.2022.126955.
19. Kiss T., Jakusch T., Hollender D., Dörnyei Á., Enyedy É. A., Pessoa J. C., Sakurai H., Sanz-Medel A. Biospeciation of antidiabetic VO(IV) complexes. *Coordination Chemistry Reviews*. 2008;252:1153–1162.
20. Trevino S., Diaz A. Vanadium and insulin: partners in metabolic regulation. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2020;208:111094. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2020.111094.
21. Sanna D., Garribba E. Pharmacologically active vanadium species: distribution in biological media and interaction with molecular targets. *Current Medicinal Chemistry*. 2021;28(35):7339–7384. DOI: 10.2174/0929867328666210531144021.
22. Mohammad A., Sharma V., McNeil J. H. Vanadium increases GLUT4 in diabetic rat skeletal muscle. *Mol. Cell. Biochem*. 2002;233:139–143. DOI: 10.1023/a:1015558328757.
23. Treviño S., Diaz A., Sánchez-Lara E., Sanchez-Gaytan B. L., Perez-Aguilar J. M., González-Vergara E. Vanadium in biological action: chemical, pharmacological aspects, and metabolic implications in diabetes mellitus. *Biological Trace Element Research*. 2019;188(1):68–98. DOI: 10.1007/s12011-018-1540-6.
24. Kothandan S., Sheela A. DNA Interaction and cytotoxic studies on mono/di-oxo and peroxy-vanadium (V) complexes – A Review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2021;21(14):1909–1924. DOI: 10.2174/138957521666210308143522.
25. Crans D. C., Henry L., Cardiff G., Posner B. I. Developing vanadium as an antidiabetic or anticancer drug: a clinical and historical perspective. *The Metal ions in life sciences*. 2019;19. DOI: 10.1515/9783110527872-014.
26. Scibior A., Pietrzyk Ł., Plewa Z., Skiba A. Vanadium: risks and possible benefits in the light of a comprehensive overview of its pharmacotoxicological mechanisms and multi-applications with a summary of further research trends. *The Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2020;61:126508. DOI: 10.1016/j.jtemb.2020.126508.
27. Woo L. C., Yuen V. G., Thompson K. H., McNeill J. H., Orvig C. Vanadyl-bisguanide complexes as potential synergistic insulin mimics. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 1999;30;76(3–4):251–257. DOI: 10.1016/S0162-0134(99)00152-X.
28. Sakurai H., Hamada Y., Shimomura S. Cysteine methyl ester-oxovanadium (IV) complex, preparation and characterization. *Inorganica Chimica Acta*. 1980;46:119–120.
29. Cam M. C., Cros G. H., Serrano J. J., Lazaro R., McNeill J. H. In vivo antidiabetic actions of naglivan, an organic vanadyl compound in streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 1993;20(2):111–121. DOI: 10.1016/0168-8227(93)90004-O.
30. Sakurai H., Kojima Y., Yoshikawa Y., Kawabe K. Antidiabetic vanadium (IV) and zinc (II) complexes. *Coordination Chemistry Reviews*. 2002;226:187–189.

31. Sakurai H., Tsuchiya K., Nukatsuka M. Insulin-mimetic action of vanadyl complexes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 1990;8:193–200.
32. Bergeron A., Kostenkova K., Selman M., Murakami H. A., Owens E., Haribabu N., Arulanandam R., Diallo J. S., Crans D. C. Enhancement of oncolytic virotherapy by vanadium(V) dipicolinates. *Biometals*. 2019;32(3):545–561. DOI: 10.1007/s10534-019-00200-9.
33. Watanabe H., Nakai M., Komazawa K., Sakurai H. A new orally active insulin-mimetic vanadyl complex: bis(pyrrolidine-N-carbodithioato)oxovanadium (IV). *Journal of Medicinal Chemistry*. 1994;1;37(7):876–877. DOI: 10.1021/jm00033a002.
34. Thompson K. H., Orvig C. Coordination chemistry of vanadium in metallopharmaceutical candidate compounds. *Coordination Chemistry Reviews*. 2001;219–221:1033–1035.
35. Sakurai H., Watanabe H., Tamura H. Insulin-mimetic vanadyl-dithiocarbamate complexes. *Inorganica Chimica Acta*. 1998;283(1): 175–183.
36. Sathyanarayana D. N., Patel C. C. Studies on oxovanadium (IV) oxalate hydrates. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*. 1965;27(2):297–302.
37. Beliaeva N. F., Gorodetskii V. K., Tochilkin A. I., Golubev M. A., Semenova N. V., Kovel'man I. R. Vanadium compounds—a new class of therapeutic agents for the treatment of diabetes mellitus. *Voprosy medicinskoj himii*. 2000;46(4):344–360. (In Russ.)
38. Gorodetskii V. K., Tochilkin A. I., Beliaeva N. F., Kovel'man I. R., Korovkin B. F. Synthesis and hypoglycemic activity of bis(L-malato)oxovanadium(IV). *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2011;57(1):133–137. (In Russ.) DOI: 10.18097/pbmc20115701133.
39. Sathyanarayana D. N., Patel C. C. Simple malonate and maleate complexes of oxo-vanadium (IV). *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 1967;40(4):794–797.
40. Behzadi K., Thompson A. Preparation, characterization and reactions of vanadium (IV) β -diketonate complexes. *Journal of the Less Common Metals*. 1987;128:281–296.
41. Amin S. S., Cryer K., Zhang B., Dutta S. K., Eaton S. S., Anderson O. P., Miller S. M., Reul B. A., Brichard S. M., Crans D. C. Chemistry and insulin-mimetic properties of bis(acetylacetonate)oxovanadium (IV) and derivatives. *Inorganic Chemistry*. 2000;39(3):406–416. DOI: 10.1021/ic9905897.
42. Sheela A., Roopan S. M., Vijayaraghavan R. New diketone based vanadium complexes as insulin mimetics. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2008;43(10):2206–2210. DOI: 10.1016/j.ejmech.2008.01.002.
43. Saatchi K., Thompson K. H., Patrick B. O., Pink M., Yuen V. G., McNeill J. H., Orvig C. Coordination chemistry and insulin-enhancing behavior of vanadium complexes with maltol $C_6H_6O_3$ structural isomers. *Inorganic Chemistry*. 2005;44(8):2689–2697. DOI: 10.1021/ic048186g.
44. McNeill J. H., Yuen V. G., Hoveyda H. R., Orvig C. Bis(maltolato)oxovanadium (IV) is a potent insulin mimic. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1992;35(8):1489–1491. DOI: 10.1021/jm00086a020.
45. Sakurai H., Katoh A., Kiss T., Jakusch T., Hattori M. Metallo-allixinate complexes with anti-diabetic and anti-metabolic syndrome activities. *Metallomics*. 2010;2(10):670–82. DOI: 10.1039/c0mt00025f.
46. Sakurai H., Tamura A., Fugono J. New antidiabetic vanadyl-pyridone complexes: effect of equivalent transformation of coordinating atom in the ligand. *Coordination Chemistry Reviews*. 2003;245(1–2):31–37.
47. Storr T., Mitchell D., Buglyó P., Thompson K. H., Yuen V. G., McNeill J. H., Orvig C. Vanadyl-thiazolidinedione combination agents for diabetes therapy. *Bioconjugate Chemistry*. 2003;14(1):212–221. DOI: 10.1021/bc025606m.
48. Shahzadi S., Ali S. Oxovanadium (IV) esters of ciprofloxacin: their characterization and potentiometric study. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 2008;2(6):55–60.
49. Aleeva G. N., Kiasov A. P., Burykin I. M., Khafiz'ianova R. Kh. Comparative assessment of cell mechanisms of the antidiabetic action of a new organic derivative of oxovanadium (IV) and vanadyl sulfate. *Éksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya*. 2004;67(3):42–44. (In Russ.)
50. Naglah A. M., Al-Omar M. A., Al-mehizia A. A., Bhat M. A., Afifi W. M., Al-Wasidi A. S., Al-Humaidi J. Y., Refat M. S. A Novel Oxidovanadium (IV)-Orotate Complex as an Alternative Antidiabetic Agent: Synthesis, Characterization, and Biological Assessments. *BioMed Research International*. 2018;23;8108713. DOI: 10.1155/2018/8108713.
51. Sidorova Yu. S., Skalnaya M. G., Tinkov A. A., Mazo V. K. The effect of vanadium compounds on carbohydrate and lipid metabolism disorders. *Problems of Endocrinology*. 2019;65(3):184–190. (In Russ.) DOI: 10.14341/probl10093.
52. Shechter Y., Goldwasser I., Mironchik M., Fridkin M., Gefel D. Historic perspective and recent developments on the insulin-like actions of vanadium; toward developing vanadium-based drugs for diabetes. *Coordination Chemistry Reviews*. 2003;237:3–11.
53. Pulina N. A., Kuznetsov A. S., Krasnova A. I., Novikova V. V. Synthesis, antimicrobial activity and behavioral response effects of N-substituted hydrazides of 4-aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoic acid and their complex derivatives. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2019; 53(3):30–34. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-3-30-34.
54. Sobin F. V., Pulina, N. A., Lipatnikov K. V., Starkova A. V., Yushkova T. A., Naugol'nykh E. A. Synthesis and hemostatic, anti-inflammatory, and anthelmintic activity of 2-hydroxy-4-oxo-4-(thien-2-yl)but-2-enoic acid derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;54:1003–1007. (In Russ.) DOI: 10.1007/s11094-021-02310-6.
55. Pulina N. A., Yushkova T. A., Krasnova A. I. Biological Activity of Bis[3-(4-Chlorophenyl)-1-(4-Methylphenyl)-Carboxamido-1,3-Propandionato]Oxovanadium. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015;49(7):29–32. (In Russ.)
56. Pulina N. A., Sobin F. V., Krasnova A. I. The search for domestic pharmaceutical substances among metal complexes based on (hetero)arylamides of 4-aryl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acids. *Russian Journal of Coordination Chemistry*. 2023;49(10):644–650. (In Russ.) DOI: 10.31857/S0132344X23600182.

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1654](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1654)
УДК 615.012.01



Оригинальная статья / Research article

Синтез и антигипоксическая активность 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин- 4-карбоновых кислот и продуктов их реакции с замещенными гидразинами

К. В. Намятова¹, С. С. Зыкова^{1✉}, Д. С. Овчинников², С. Н. Шуров²

¹ 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

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» (ПГНИУ). 614068, Россия, г. Пермь, ул. Букирева, д. 15

✉ Контактное лицо: Зыкова Светлана Сергеевна. E-mail: zykova.sv@rambler.ru

ORCID: К. В. Намятова – <https://orcid.org/0000-0001-7529-9746>; С. С. Зыкова – <https://orcid.org/0000-0002-7395-4951>;
Д. С. Овчинников – <https://orcid.org/0000-0003-2936-5460>; С. Н. Шуров – <https://orcid.org/0000-0002-6293-9246>.

Статья поступила: 17.11.2023

Статья принята в печать: 08.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Гипоксия представляет собой нарушение окислительных процессов в тканях, возникающие при недостаточном поступлении в них кислорода или при нарушении его утилизации в процессе биологического окисления. Хроническое гипоксическое повреждение играет важную роль в возникновении и развитии различных заболеваний, что обуславливает необходимость синтеза новых соединений, обладающих антигипоксической активностью.

Цель. Целью данного исследования является синтез и исследование антигипоксической активности 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновых кислот и продуктов их реакции с замещенными гидразинами.

Материалы и методы. 2-Арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновые кислоты (I–VI) получены с высокими выходами в результате взаимодействия 4-арил-2,4-диоксобутановых кислот с 3-амино-5,5-диметилциклогекс-2-еноном. Взаимодействием 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновых кислот с бензил- и (2-фенилэтил)гидразинами получены 5-арил-2-бензил- и 2-(2-фенилэтил)-8,8-диметил-3,7,8,9-тетрагидро-2H-пиридо[4,3,2-de]циннолин-3-оны (VII–XII). В результате было синтезировано 12 соединений. Изучение антигипоксической активности полученных соединений проводилось *in vivo* на модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией.

Результаты и обсуждение. Синтезированные соединения были исследованы на наличие антигипоксического действия. Наиболее выраженная антигипоксическая активность характерна для соединений VI и VIII, имеющих в *пара*-положении фенильного заместителя при C⁵ метоксигруппу и метильный радикал соответственно. Наличие хлора в структуре соединения III, фтора у соединения X и отсутствие заместителей (соединения I и VII) способствуют прогипоксическому действию. По результатам исследования как хинолинкарбоновые кислоты, так и пиридоциннолины являются потенциальными антигипоксантами.

Заключение. Проведен сравнительный анализ антигипоксической активности синтезированных соединений, установлена взаимосвязь между их структурой и выраженностью действия, выявлены наиболее активные вещества.

Ключевые слова: хинолинкарбоновые кислоты, пиридоциннолины, антигипоксическая активность, гипоксия, гетероцикл

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

Вклад авторов. К. В. Намятова, Д. С. Овчинников, С. Н. Шуров синтезировали соединения. С. С. Зыкова, К. В. Намятова провели исследование антигипоксической активности соединений. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное использование» 2022 г.

Соответствие принципам этики. Исследования проведены с разрешения этического комитета Пермской государственной фармацевтической академии (протокол № 4 от 20.05.2022).

Для цитирования: Намятова К. В., Зыкова С. С., Овчинников Д. С., Шуров С. Н. Синтез и антигипоксическая активность 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновых кислот и продуктов их реакции с замещенными гидразинами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):28–33. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1654](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1654)

Synthesis and Antihypoxic Activity of 2-aryl-7,7-dimethyl-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-4-carboxylic Acids and Their Reaction Products with Substituted Hydrazines

Kristina V. Namyatova¹, Svetlana S. Zykova^{1✉}, Dmitrii S. Ovchinnikov², Sergey N. Shurov²

¹ 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

² Perm State University. 15, Bukireva str., Perm, 614068, Russia

✉ Corresponding author: Svetlana S. Zykova. E-mail: zykova.sv@rambler.ru

© Намятова К. В., Зыкова С. С., Овчинников Д. С., Шуров С. Н., 2023

© Namyatova K. V., Zykova S. S., Ovchinnikov D. S., Shurov S. N., 2023

ORCID: Kristina V. Namyatova – <https://orcid.org/0000-0001-7529-9746>; Svetlana S. Zykova – <https://orcid.org/0000-0002-7395-4951>;
Dmitrii S. Ovchinnikov – <https://orcid.org/0000-0003-2936-5460>; Sergey N. Shurov – <https://orcid.org/0000-0002-6293-9246>.

Received: 17.11.2023

Revised: 08.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Hypoxia is a violation of oxidative processes in tissues that occur when oxygen is insufficiently supplied to them or when its utilization is disrupted during biological oxidation. Chronic hypoxic damage plays an important role in the occurrence and development of various diseases, which necessitates the synthesis of new compounds with antihypoxic activity.

Aim. The purpose of this study is to synthesize and investigate the antihypoxic activity of 2-aryl-7,7-dimethyl-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-4-carboxylic acids and their reaction products with substituted hydrazines.

Materials and methods. 2-Aryl-7,7-dimethyl-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-4-carboxylic acids (I–VI) were obtained with high yields as a result of the interaction of 4-aryl-2,4-dioxobutane acids with 3-amino-5,5-dimethylcyclohex-2-enone. Interaction of 2-aryl-7,7-dimethyl-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-4-carboxylic acids with benzyl- and (2-phenylethyl)hydrazines 5-aryl-2-benzyl- and 2-(2-phenylethyl)-8,8-dimethyl-3,7,8,9-tetrahydro-2H-pyrido[4,3,2-de]cinnoline-3-ones (VII–XII) were obtained. As a result, 12 compounds were synthesized. The study of the antihypoxic activity of the obtained compounds was carried out *in vivo* on a model of normobaric hypoxia with hypercapnia.

Results and discussion. The synthesized compounds were tested for the presence of antihypoxic action. The most pronounced antihypoxic activity is characteristic of compounds VI and VIII, which have a methoxy group and a methyl radical in the *para*-position of the phenyl substituent at C⁵, respectively. The presence of chlorine in the structure of compound III, fluorine in compound X and the absence of substituents (compounds I and VII) contribute to the prohypoxic effect. According to the results of the study, both quinolinecarboxylic acids and pyridocinnolines are potential antihypoxants.

Conclusion. A comparative analysis of the antihypoxic activity of the synthesized compounds was carried out, the relationship between their structure and severity of action was established, the most active substances were identified.

Keywords: quinolinecarboxylic acids, pyridocinnolines, antihypoxic activity, hypoxia, heterocycle

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. Kristina V. Namyatova, Dmitrii S. Ovchinnikov, Sergey N. Shurov synthesized compounds. Svetlana S. Zykova, Kristina V. Namyatova conducted a study of the antihypoxic activity of the compounds. All authors participated in the discussion of the results and writing of the text of the article.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

Compliance with the principles of ethics. The studies were conducted with permission from the ethics committee of the Perm State Pharmaceutical Academy (protocol No. 4 of May 20, 2022).

For citation: Namyatova K. V., Zykova S. S., Ovchinnikov D. S., Shurov S. N. Synthesis and antihypoxic activity of 2-aryl-7,7-dimethyl-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-4-carboxylic acids and their reaction products with substituted hydrazines. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):28–33. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1654](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1654)

ВВЕДЕНИЕ

Гипоксия – это нарушение окислительных процессов в тканях, возникающие при недостаточном поступлении в них кислорода или при нарушении его утилизации в процессе биологического окисления [1, 2]. Кратковременная гипоксия (не более 24 часов) выполняет адаптационную функцию путем активации фактора, индуцируемого гипоксией, регулируя экспрессию многих генов, которые обеспечивают выживание клеток в условиях низкого содержания кислорода [3, 4]. Хроническое гипоксическое повреждение (более 48 часов) играет важную роль в возникновении и развитии различных заболеваний, таких как новообразования, сердечно-сосудистые заболевания, остеопороз [5–8]. Наиболее подверженными гипоксии являются клетки мозга [9, 10], клетки поджелудочной железы [11], кардиомиоциты [12].

В качестве объектов исследования были взяты 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновые кислоты (I–VI) и 5-арил-2-бензил- и 2-(2-фенилэтил)-8,8-диметил-3,7,8,9-тетрагидро-2H-пи-

ридо[4,3,2-de]циннолин-3-оны (VII–XII). Ранее у близких по структуре соединений была обнаружена антигипоксическая активность [13].

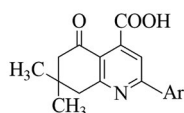
Целью исследования является синтез 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновых кислот и продуктов их реакции с замещенными гидразинами, а также сравнительный анализ антигипоксической активности хинолинкарбоновых кислот (I–VI) и пиридоциннолинов (VII–XII).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная химическая часть

2-Арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновые кислоты (I–VI) получены с высокими выходами в результате взаимодействия 4-арил-2,4-диоксобутановых кислот с 3-амино-5,5-диметилциклогекс-2-еноном [14].

Общая структурная формула 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновых кислот представлена на рисунке 1.



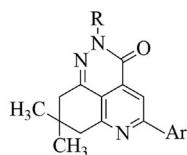
Ar = C₆H₅ (I), *n*-CH₃C₆H₄ (II), *n*-ClC₆H₄ (III),
n-FC₆H₄ (IV), *n*-BrC₆H₄ (V), *n*-CH₃OC₆H₄ (VI)

Рисунок 1. Общая структурная формула 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновых кислот

Figure 1. General structural formula of 2-aryl-7,7-dimethyl-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-4-carboxylic acids

Взаимодействием 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновых кислот с бензил- и (2-фенилэтил)гидразинами получены 5-арил-2-бензил- и 2-(2-фенилэтил)-8,8-диметил-3,7,8,9-тетрагидро-2*H*-пиридо[4,3,2-*de*]циннолин-3-оны (VII–XII).

Общая структурная формула 5-арил-2-бензил/2-(2-фенилэтил)-8,8-диметил-3,7,8,9-тетрагидро-2*H*-пиридо[4,3,2-*de*]циннолин-3-онов представлена на рисунке 2.



R = -CH₂C₆H₅ (VIII, X, XII), -(CH₂)₂C₆H₅ (VII, IX, XI)
Ar = -C₆H₅ (VII), *n*-CH₃C₆H₄ (VIII), *n*-ClC₆H₄ (IX), *n*-FC₆H₄ (X),
n-BrC₆H₄ (XI), *n*-CH₃OC₆H₄ (XII)

Рисунок 2. Общая структурная формула 5-арил-2-бензил/2-(2-фенилэтил)-8,8-диметил-3,7,8,9-тетрагидро-2*H*-пиридо[4,3,2-*de*]циннолин-3-онов

Figure 2. General structural formula of 5-aryl-2-benzyl/2-(2-phenylethyl)-8,8-dimethyl-3,7,8,9-tetrahydro-2*H*-pyrido[4,3,2-*de*]cinnoline-3-ones

Соединения VII–XII были получены впервые, методики их синтеза приведены ниже.

8,8-Диметил-5-фенил-2-(2-фенилэтил)-3,7,8,9-тетрагидро-2*H*-пиридо[4,3,2-*de*]циннолин-3-он (VII). Смесь 1.0 г (3.4 ммоль) 7,7-диметил-5-оксо-2-фенил-5,6,7,8-тетрагидро-4-карбоновой кислоты (соединение I) и 0.70 г (5.1 ммоль) 2-фенилэтилгидразина кипятят в 15 мл ацетонитрила в течение 2 ч. Реакционную массу охлаждают до 0 °С, осадок отфильтровывают, и перекристаллизовывают из ацетонитрила. Выход 1.20 г (89 %), т.пл. = 148–149 °С. Вычислено, %: C = 78.96, H = 6.47, N = 10.62. C₂₆H₂₅N₃O. Найдено, %: C = 78.83, H = 6.59, N = 10.78. ¹H ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1652 (C=O). ЯМР-спектр (δ, м.д., ДМСО-*d*₆): 1.06 {с, 6H, [C⁷(CH₃)₂]}, 2.73 (с, 2H, C⁶H₂), 3.05 (с, 2H, C⁸H₂), 3.08 (т, 2H, C₆H₅CH₂), 4.36 (т, 2H, N₂—CH₂), 7.17...7.27 (гр. сигн., 5H, C₆H₅CH₂), 7.48...7.56 (гр. сигн., 3H, *m* + *n*-C₆H₄), 8.20...8.21 (д, 2H, *o*-C₆H₄), 8.32 (с, 1H, C³H). ¹³C ЯМР-спектр (δ, м.д., ДМСО-*d*₆): 27.5 [C⁷(CH₃)₂], 32.1 (C⁸), 33.7 C₆H₅CH₂, 41.7 (C⁶), 45.3 (C⁷), 51.4

(N²—CH₂), 111.8 (C⁴), 118.2 (C^{10a}), 126.9...138.2 (2 C₆H₅ + C^{3a}), 144.0 (C¹⁰), 157.1 (C⁵), 157.5 (C³), 159.9 (C^{6a}).

2-Бензил-8,8-диметил-5-(*n*-толил)-3,7,8,9-тетрагидро-2*H*-пиридо[4,3,2-*de*]циннолин-3-он (VIII). Получен аналогично соединению VII из 1.0 г (3.2 ммоль) 7,7-диметил-2-(*n*-метилфенил)-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновой кислоты (соединение II). Выход 1.1 г (94 %), т. пл. 171–172 °С. Найдено, %: C = 79.12, H = 6.32, N = 10.43. C₂₆H₂₅N₃O. Вычислено, %: C = 78.96, H = 6.37, N = 10.62. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1646 (C=O). ¹H ЯМР-спектр (δ, м.д., ДМСО-*d*₆): 1.08 {с, 6H, [C⁷(CH₃)₂]}, 2.76 (с, 2H, C⁶H₂), 3.06 (с, 2H, C⁸H₂), 5.37 (с, 2H, C₆H₅CH₂), 7.61...8.23 (гр. сигн., 10H, 2C₆H₅), 8.37 (с, 1H, C³H). ¹³C ЯМР-спектр (δ, м.д., ДМСО-*d*₆): 27.5 [C⁷(CH₃)₂], 32.1 (C⁸), 41.5 (C⁶), 45.3 (C⁷), 53.8 (C₆H₅CH₂), 111.9 (C³), 118.9 (C^{10a}), 132.9 (C^{3a}), 126.7...137. (2 C₆H₅), 144.6 (C¹⁰), 157.1 (C⁵), 157.6 (C³), 160.0 (C^{6a}).

8,8-Диметил-5-(*n*-хлорфенил)-2-(2-фенилэтил)-3,7,8,9-тетрагидро-2*H*-пиридо[4,3,2-*de*]циннолин-3-он (IX). Получен аналогично соединению VII из 1.10 г (3.3 ммоль) 7,7-диметил-5-оксо-2-(*n*-хлорфенил)-5,6,7,8-тетрагидро-4-карбоновой кислоты (соединение III) и 0.45 г (3.3 ммоль) 2-фенилэтилгидразина. Выход 1.21 г (88 %), т.пл. = 141–142 °С. Найдено, %: C = 72.52, H = 5.57, N = 9.88. C₂₆H₂₄ClN₃O. Вычислено, %: C = 72.63, H = 5.63, N = 9.77. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1651 (C=O). ЯМР-спектр (δ, м.д., ДМСО-*d*₆): 1.07 {с, 6H, [C⁷(CH₃)₂]}, 2.74 (с, 2H, C⁶H₂), 3.06 (с, 2H, C⁸H₂), 3.09 (т, 2H, C₆H₅CH₂), 4.38 (т, 2H, N₂—CH₂), 7.17...7.27 (гр. сигн., 5H, C₆H₅CH₂), 7.61...7.56 (д, 2H, C₆H₄), 8.25 (д, 2H, *o*-C₆H₄), 8.36 (с, 1H, C³H). ¹³C ЯМР-спектр (δ, м.д., ДМСО-*d*₆): 27.5 [C⁷(CH₃)₂], 32.1 (C⁸), 33.7 C₆H₅CH₂, 41.7 (C⁶), 45.2 (C⁷), 51.4 (N²—CH₂), 112.0 (C⁴), 118.5 (C^{10a}), 126.2...138.2 (C₆H₅ + C₆H₄ + C^{3a}), 144.0 (C¹⁰), 155.6 (C⁵), 157.5 (C³), 160.0 (C^{6a}).

2-бензил-8,8-диметил-5-(*n*-фторфенил)-3,7,8,9-тетрагидро-2*H*-пиридо[4,3,2-*de*]циннолин-3-он (X). Получен аналогично соединению VII из 1.0 г (0.003 моль) 7,7-диметил-5-оксо-2-(*n*-фторфенил)-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновой кислоты (соединение IV). Выход 0.68 г (56 %), т.пл. = 194–196 °С. Найдено, %: C = 74.99, H = 5.38, N = 10.59. C₂₅H₂₂FN₃O. Вычислено, %: C = 75.17, H = 5.55, N = 10.52. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1646 (C=O). ¹H ЯМР-спектр (δ, м.д., ДМСО-*d*₆): 1.07 {с, 6H, [C⁷(CH₃)₂]}, 2.76 (с, 2H, C⁶H₂), 3.05 (с, 2H, C⁸H₂), 5.34 (с, 2H, C₆H₅CH₂), 7.26...8.28 (гр. сигн., 9H, C₆H₅ + C₆H₄), 8.36 (с, 1H, C³H). ¹³C ЯМР-спектр (δ, м.д., ДМСО-*d*₆): 27.5 [C⁷(CH₃)₂], 32.1 (C⁸), 41.7 (C⁶), 45.3 (C⁷), 53.8 (C₆H₅CH₂), 112.0 (C³), 118.2 (C^{10a}), 132.9 (C^{3a}), 126.7...137. (2 C₆H₅), 144.6 (C¹⁰), 157.5 (C⁵), 160.1 (C³), 164.5 (C^{6a}).

8,8-диметил-5-(*n*-бромфенил)-2-(2-фенилэтил)-3,7,8,9-тетрагидро-2*H*-пиридо[4,3,2-*de*]циннолин-3-он (XI). Получен аналогично соединению VII из 1.10 г (2.9 ммоль) 7,7-диметил-5-оксо-2-(*n*-бромфенил)-5,6,7,8-тетрагидро-4-карбоновой кислоты (соеди-

нение V) и 0.39 г (2.9 ммоль) 2-фенилэтилгидразина. Выход 1.40 г (90 %), т.пл. = 155–156 °С. Найдено, %: C = 65.62, H = 5.17, N = 8.98. $C_{26}H_{24}BrN_3O$. Вычислено, %: C = 65.83, H = 5.10, N = 8.86. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 1660 ($C^3=O$). ЯМР-спектр (δ , м.д., ДМСО- d_6): 1.06 {с, 6H, $[C^7(CH_3)_2]$ }, 2.73 (с, 2H, C^6H_2), 3.05 (с, 2H, C^8H_2), 3.08 (т, 2H, $C_6H_5CH_2$), 4.37 (т, 2H, N_2-CH_2), 7.16...7.27 (гр. сигн., 5H, $C_6H_5CH_2$), 7.72 (д, 2H, $m+n-C_6H_4$), 8.17 (д, 2H, $o-C_6H_4$), 8.35 (с, 1H, C^3H). ^{13}C ЯМР-спектр (δ , м.д., ДМСО- d_6): 27.5 [$C^8(CH_3)_2$], 32.1 (C^8), 33.7 ($C_6H_5CH_2$), 41.7 (C^7), 45.2 (C^9), 51.4 (N^2-CH_2), 112.0 (C^4), 118.5 (C^{10a}), 123.1 (C^{3a}), 126.3...138.2 ($C_6H_5 + C_6H_4$), 143.9 (C^{10}), 155.7 (C^5), 157.5 (C^3), 160.0 (C^{6a}).

2-бензил-8,8-диметил-5-(*n*-метоксифенил)-3,7,8,9-тетрагидро-2H-пиридо[4,3,2-*de*]циннолин-3-он (XII). Получен аналогично соединению VII из 1.0 г (3.1 ммоль) 7,7-диметил-5-оксо-2-(*n*-метоксифенил)-5,6,7,8-тетрагидро-4-карбоновой кислоты (соединение VI). Выход 1.16 г (91 %), т.пл. = 189–191 °С. Найдено, %: C = 75.99, H = 5.99, N = 10.09. $C_{26}H_{25}N_3O_2$. Вычислено, %: C = 75.89, H = 6.12, N = 10.21. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 1645 ($C^3=O$). 1H ЯМР-спектр (δ , м.д., ДМСО- d_6): 1.08 {с, 6H, $[C^7(CH_3)_2]$ }, 2.75 (с, 2H, C^6H_2), 3.07 (с, 2H, C^8H_2), 3.98 (с, 3H, CH_3O), 5.38 (с, 2H, $C_6H_5CH_2$), 7.04 (д, 2H, *m*-H, $C_6H_4OCH_3$, $J=7.4$ Гц), 7.19 (т, 1H, *n*-H, C_6H_5), 7.25 (т, 2H, *m*-H, C_6H_5 , $J=7.4$ Гц), 7.32 (м, 2H, *o*-H, C_6H_5), 7.93 (д, 2H, *o*-H, $C_6H_4OCH_3$, $J=7.4$ Гц), 8.37 (с, 1H, C^3H).

ИК-спектры синтезированных соединений записаны на спектрофотометре SpectrumTwo в вазелиновом масле. Спектры ЯМР 1H и ^{13}C зарегистрированы на спектрометре Bruker Avance III HD (400 МГц по протонам и 100 МГц по ядрам ^{13}C). Внутренний стандарт – сигнал остаточных протонов в ДМСО- d_6 (2.50 м.д. для 1H ЯМР-спектра) и сигнал углерода метильной группы 39.52 м.д. для спектра ЯМР ^{13}C). Температуры плавления определены на приборе SMP40. Элементный анализ синтезированных соединений выполнен на CHNS анализаторе Elementar Vario MICRO cube.

Экспериментальная фармакологическая часть

Исследование антигипоксической активности проводилось *in vivo* на модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией¹. Эксперимент поставлен на белых нелинейных лабораторных мышах обоего пола массой 23–26 г с разрешения этического комитета Пермской государственной фармацевтической академии (протокол № 4 от 20.05.2022). Животные выращены в виварии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава РФ, находились на стандартном рационе вивария и имели свободный доступ к воде. На каждое тестируемое

соединение была выделена группа мышей (6 особей, из которых 3 самца и 3 самки). Контрольной группе мышей был введен 1%-й крахмал. В качестве эталона сравнения была взята янтарная кислота. Количество мышей, использованных в процессе эксперимента, составило 84 особи. Исследуемые вещества, предварительно растворенные в 1%-м крахмале, вводились внутривенно и однократно в дозе 50 мг/кг за 30 мин до помещения в герметичную камеру. Животных помещали по одному в герметически закрытые камеры из прозрачного стекла объемом 250 мл. Отсчет времени проводили с момента герметизации камер. Антигипоксический эффект оценивали по продолжительности жизни мышей в минутах по сравнению с контролем и путем расчета прироста или убыли времени жизни по отношению к контрольной группе в % по формуле:

$$\% = \frac{T_0 - T_x}{T_0} \cdot 100,$$

где T_0 – среднее время продолжительности жизни контрольной группы, мин; T_x – среднее время продолжительности жизни исследуемой группы, мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования антигипоксической активности синтезированных соединений (I–XII) представлены в таблице 1 в виде среднего времени продолжительности жизни и стандартного отклонения. Для определения уровня значимости (*p*) был рассчитан *t*-критерий Стьюдента. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Наиболее выраженная антигипоксическая активность характерна для соединений VI и VIII, имеющих в *пара*-положении фенильного заместителя при C^5 метоксигруппу и метильный радикал соответственно. Следует отметить, что хинолинкарбоновая кислота VI способствует наибольшему увеличению продолжительности жизни животных среди всех объектов исследования. Однако пиридоциннолин XII с аналогичным заместителем является слабым антигипоксикантом. Наличие хлора в структуре соединения III, фтора у соединения X и отсутствие заместителей (соединения I и VII) способствуют прогипоксическому действию. В то же время атом хлора в молекуле пиридоциннолина IX демонстрирует противоположное действие (является прогипоксикантом). Хинолинкарбоновые кислоты II, IV и V, содержащие метильную группу, атом фтора и брома в *пара*-положении фенильного заместителя при C^2 , являются слабыми антигипоксикантами.

По результатам исследования можно сделать вывод, что потенциальными антигипоксикантами являются как 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновые кислоты, так и 5-арил-2-бензил/2-(2-фенилэтил)-8,8-диметил-3,7,8,9-тетрагидро-2H-пиридо[4,3,2-*de*]циннолин-3-оны.

¹ Миронов А. Н., Бунатян Н. Д. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. 440 с.

Таблица 1. Антигипоксическая активность 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновых кислот и 5-арил-2-бензил/2-(2-фенилэтил)-8,8-диметил-3,7,8,9-тетрагидро-2H-пиридо[4,3,2-de]циннолин-3-онов

Table 1. Antihypoxic activity of 2-aryl-7,7-dimethyl-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-4-carboxylic acids and 5-aryl-2-benzyl/2-(2-phenylethyl)-8,8-dimethyl-3,7,8,9-tetrahydro-2H-pyrido[4,3,2-de]cinnoline-3-ones

Соединение Compounds	R	Ar	Продолжительность жизни мышей, мин Life span of mice, min	Прирост / убыль времени жизни, % к контролю Increase / decrease in life time, % to control	Результат Result
I	–	C ₆ H ₅	23,12 ± 1,48	–3,02	Прогиппоксant Prohypoxant
II	–	n-CH ₃ C ₆ H ₄	25,29 ± 2,43	6,08	Антигиппоксant Antihypoxant
III	–	n-ClC ₆ H ₄	22,59 ± 0,69*	–5,24	Прогиппоксant Prohypoxant
IV	–	n-FC ₆ H ₄	25,43 ± 2,98	6,67	Антигиппоксant Antihypoxant
Контроль ¹ Control ¹	–	–	23,84 ± 0,56	–	–
V	–	n-BrC ₆ H ₄	26,86 ± 1,70	0,67	Антигиппоксant Antihypoxant
VI	–	n-CH ₃ OC ₆ H ₄	32,98 ± 2,78	23,61	Антигиппоксant Antihypoxant
Контроль ² Control ²	–	–	26,68 ± 0,82	–	–
VII	(CH ₂) ₂ C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	24,33 ± 1,97	–5,04	Прогиппоксant Prohypoxant
VIII	CH ₂ C ₆ H ₅	n-CH ₃ C ₆ H ₄	30,17 ± 3,43	17,76	Антигиппоксant Antihypoxant
IX	(CH ₂) ₂ C ₆ H ₅	n-ClC ₆ H ₄	27,88 ± 4,89	8,82	Антигиппоксant Antihypoxant
X	CH ₂ C ₆ H ₅	n-FC ₆ H ₄	24,17 ± 1,47	–5,66	Прогиппоксant Prohypoxant
XI	(CH ₂) ₂ C ₆ H ₅	n-BrC ₆ H ₄	25,95 ± 3,71	1,29	Антигиппоксant Antihypoxant
XII	CH ₂ C ₆ H ₅	n-CH ₃ OC ₆ H ₄	26,17 ± 2,40	2,15	Антигиппоксant Antihypoxant
Контроль ³ Control ³	–	–	25,62 ± 1,08	–	–
Янтарная кислота Succinic acid	–	–		65,4	Антигиппоксant Antihypoxant

Примечание. Поскольку эксперимент был проведен в разные дни, время жизни в % для соединений рассчитывалось относительно контроля:

¹ I–IV.

² V–VI.

³ VII–XII.

* Соответствует $p < 0,05$.

Note. Since the experiment was carried out on different days, the lifetime in % for the compounds was calculated relative to the control:

¹ I–IV.

² V–VI.

³ VII–XII.

* Corresponds to $p < 0,05$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен сравнительный анализ антигипоксической активности синтезированных 2-арил-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновых кислот (I–VI) и 5-арил-2-бензил- и 2-(2-фенилэтил)-8,8-диметил-3,7,8,9-тетрагидро-2H-пиридо[4,3,2-de]циннолин-3-онов (VII–XII) и установлена взаимосвязь между их структурой и степенью антигипоксического эффекта.

ЛИТЕРАТУРА

- Черешнев В. А., Шилов Ю. И., Черешнева М. В., Самоделкин Е. И., Гаврилова Т. В., Гусев Е. Ю., Гуляева И. Л. Экспериментальные модели в патологии. 2-е издание. Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет; 2014. 168 с.
- Abou Khouzam R., Zaarour R. F., Brodaczewska K., Azakir B., Venkatesh G. H., Thiery J., Terry S., Chouaib S. The Effect of Hypoxia and Hypoxia-Associated Pathways in the Regulation of Antitumor Response: Friends or Foes? *Frontiers in Immunology*. 2022;13: 828875. DOI: 10.3389/fimmu.2022.828875.

3. Yfantis A., Mylonis I., Chachami G., Nikolaidis M., Amoutzias G. D., Paraskeva E., Simos G. Transcriptional response to hypoxia: the role of HIF-1-associated co-regulators. *Cells*. 2023;12(5):798. DOI: 10.3390/cells12050798.
4. Liu Q., Palmgren V. A. C., Danen E. H. J., Le Dévédec S. E. Acute vs. chronic vs. intermittent hypoxia in breast Cancer: a review on its application in vitro research. *Molecular Biology Reports*. 2022;49(11):10961–10973. DOI: 10.1007/s11033-022-07802-6.
5. Wang J., Zhao B., Che J., Shang P. Hypoxia pathway in osteoporosis: laboratory data for clinical prospects. *International journal of environmental research public health*. 2023;20(4):3129. DOI: 10.3390/ijerph20043129.
6. Wu J., Song J., Yin X., Tang J., Zhang J., Wang X., Ji Y., Zhao Y., Chen D., Sheng J., Bai X., Liang T. Recent advancements of nanotechnology-based strategies for overcoming tumor microenvironment hypoxia. *Front in bioscience*. 2022;27(5):145. DOI: 10.31083/j.fbl2705145.
7. Carreres L., Mercey-Ressejac M., Kurma K., Ghelfi J., Fournier C., Manches O., Chuffart F., Rousseaux S., Minoves M., Decaens T., Lerat H., Macek Jilkova Z. Chronic Intermittent Hypoxia Increases Cell Proliferation in Hepatocellular Carcinoma. *Cells*. 2022;11(13):2051. DOI: 10.3390/cells11132051.
8. Jing X., Yang F., Shao C., Wei K., Xie M., Shen H., Shu Y. Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment. *Molecular Cancer*. 2019;18:157. DOI: 10.1186/s12943-019-1089-9.
9. Godoy D. A., Lubillo S., Rabinstein A. A. Pathophysiology and Management of Intracranial Hypertension and Tissue Brain Hypoxia After Severe Traumatic Brain Injury: An Integrative Approach. *Neurosurgery Clinics of North America*. 2018;29(2):195–212. DOI: 10.1016/j.nec.2017.12.001.
10. Сапожников Т. А., Макара Н. С., Габдрахманова С. Ф., Хисамутдинова Р. Ю. Изучение ноотропной и антигипоксической активности 5-амино-экзо-3-азатрицикло[5.2.1.0^{2,6}]декан-4-она. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(1): 86–90. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-1-86-90.
11. Morioka F., Tani N., Ikeda T., Hirokawa T., Ikeda K., Shida A., Aoki Y., Ishikawa T. Morphological and biochemical changes in the pancreas associated with acute systemic hypoxia. *Human Cell*. 2021;34(2):400–418. DOI: 10.1007/s13577-020-00481-0.
12. Zhao R.-Z., Jiang S., Ru N.-Y. Comparison of hypoxic effects induced by chemical and physical hypoxia on cardiomyocytes. *Canadian Journal Physiology and Pharmacology*. 2019;97:980–988. DOI: 10.1139/cjpp-2019-0092.
13. Зыкова С. С., Намятова К. В., Ганькова К. Л., Лысцова Е. А., Шаврина Т. В., Шуров С. Н. Антигипоксическая активность 2,5-диарил-8,8-диметил-3,6,7,8-тетрагидро-2H-пиридо[4,3,2-de]хинолин-3-онов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11-4(1):22–26. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-22-26.
14. Руденко Д. А., Шуров С. Н., Кодесс М. И., Ежикова М. А., Васянин А. Н. Синтез 2-замещенных 7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4-карбоновых кислот. *Журнал органической химии*. 2012;48(6):803–807.
5. Wang J., Zhao B., Che J., Shang P. Hypoxia pathway in osteoporosis: laboratory data for clinical prospects. *International journal of environmental research public health*. 2023;20(4):3129. DOI: 10.3390/ijerph20043129.
6. Wu J., Song J., Yin X., Tang J., Zhang J., Wang X., Ji Y., Zhao Y., Chen D., Sheng J., Bai X., Liang T. Recent advancements of nanotechnology-based strategies for overcoming tumor microenvironment hypoxia. *Front in bioscience*. 2022;27(5):145. DOI: 10.31083/j.fbl2705145.
7. Carreres L., Mercey-Ressejac M., Kurma K., Ghelfi J., Fournier C., Manches O., Chuffart F., Rousseaux S., Minoves M., Decaens T., Lerat H., Macek Jilkova Z. Chronic Intermittent Hypoxia Increases Cell Proliferation in Hepatocellular Carcinoma. *Cells*. 2022;11(13):2051. DOI: 10.3390/cells11132051.
8. Jing X., Yang F., Shao C., Wei K., Xie M., Shen H., Shu Y. Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment. *Molecular Cancer*. 2019;18:157. DOI: 10.1186/s12943-019-1089-9.
9. Godoy D. A., Lubillo S., Rabinstein A. A. Pathophysiology and Management of Intracranial Hypertension and Tissue Brain Hypoxia After Severe Traumatic Brain Injury: An Integrative Approach. *Neurosurgery Clinics of North America*. 2018;29(2):195–212. DOI: 10.1016/j.nec.2017.12.001.
10. Сапожников Т. А., Макара Н. С., Габдрахманова С. Ф., Хисамутдинова Р. Ю. Study of nootropic and anti-hypoxic activity of 5-amino-3-exo-azatricyclo[5.2.1.0^{2,6}]decan-4-on. *Drug development & registration*. 2019;8(1):86–90. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-1-86-90.
11. Morioka F., Tani N., Ikeda T., Hirokawa T., Ikeda K., Shida A., Aoki Y., Ishikawa T. Morphological and biochemical changes in the pancreas associated with acute systemic hypoxia. *Human Cell*. 2021;34(2):400–418. DOI: 10.1007/s13577-020-00481-0.
12. Zhao R.-Z., Jiang S., Ru N.-Y. Comparison of hypoxic effects induced by chemical and physical hypoxia on cardiomyocytes. *Canadian Journal Physiology and Pharmacology*. 2019;97:980–988. DOI: 10.1139/cjpp-2019-0092.
13. Zykova S. S., Namyatova K. V., Pankova K. L., Lysova E. A., Shavrina T. V., Shurov S. N. Antihypoxic activity of 2,5-diaryl-8,8-dimethyl-3,6,7,8-tetrahydro-2H-pyrido[4,3,2-de]quinoline-3-ones. *Drug development & registration*. 2022;11(4–1):22–26. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-22-26.
14. Rudenko D. A., Shurov S. N., Codess M. I., Yezhikova M. A., Vasyanin A. N. Synthesis of 2-substituted 7,7-dimethyl-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-4-carboxylic acids. *The Journal of Organic Chemistry*. 2012;48(6):803–807. (In Russ.)

REFERENCES

1. Chereshevnev V. A., Shilov U. I., Cheresheva M. V., Samodelkin E. I., Gavrilova T. V., Gusev E. U., Gulyaeva I. L. Experimental models in pathology. 2nd edition. Perm: Perm State National Research University; 2014. 168 p. (In Russ.)
2. Abou Khouzam R., Zaarour R. F., Brodaczewska K., Azakir B., Venkatesh G. H., Thiery J., Terry S., Chouaib S. The Effect of Hypoxia and Hypoxia-Associated Pathways in the Regulation of Antitumor Response: Friends or Foes? *Frontiers in Immunology*. 2022;13: 828875. DOI: 10.3389/fimmu.2022.828875.
3. Yfantis A., Mylonis I., Chachami G., Nikolaidis M., Amoutzias G. D., Paraskeva E., Simos G. Transcriptional response to hypoxia: the role of HIF-1-associated co-regulators. *Cells*. 2023;12(5):798. DOI: 10.3390/cells12050798.
4. Liu Q., Palmgren V. A. C., Danen E. H. J., Le Dévédec S. E. Acute vs. chronic vs. intermittent hypoxia in breast Cancer: a review on its application in vitro research. *Molecular Biology Reports*. 2022;49(11):10961–10973. DOI: 10.1007/s11033-022-07802-6.

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1602](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1602)
УДК 615.281



Оригинальная статья / Research article

Противомикробная активность новых *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей

В. В. Новикова✉, В. О. Васильев, В. Л. Гейн, О. В. Назарец, А. В. Романова,
О. В. Бобровская, Н. А. Бузмакова

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: Новикова Валентина Васильевна. E-mail: vvnp@yandex.ru

ORCID: В. В. Новикова – <https://orcid.org/0000-0003-4475-4421>; В. О. Васильев – <https://orcid.org/0009-0008-3342-0630>;
В. Л. Гейн – <https://orcid.org/0000-0002-8512-0399>; О. В. Назарец – <https://orcid.org/0000-0002-1674-5117>;
А. В. Романова – <https://orcid.org/0000-0002-2516-2458>; О. В. Бобровская – <https://orcid.org/0000-0002-3394-9031>;
Н. А. Бузмакова – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Статья поступила: 06.10.2023

Статья принята в печать: 11.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Важным направлением современной фармации является получение новых отечественных субстанций, обладающих антиинфекционной активностью, в рамках обеспечения технологического суверенитета государства. Оптимизация методов определения противомикробной активности является неотъемлемой частью данных исследований. Полученные ранее серебряные соли пирролопирозолов и пиразолкарбоксамидов обладали высокой противомикробной активностью. В данной работе представлены результаты определения противомикробной активности новых биологически активных соединений, синтезированных реакцией солеобразования с ионами серебра по карбоксильной группе амидов ароилпировиноградных кислот, содержащих в амидном фрагменте антралиловую кислоту.

Цель. Получение ранее неизвестных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей и изучение их противомикробной активности (ПМА).

Материалы и методы. Новые *N*-замещенные амиды антралиловых кислот и их серебряные соли получены методами органического синтеза. Для исследования их противомикробной активности использовали микрометод двукратных серийных разведений на скрининговых штаммах *S. aureus* ATCC 6538P, *E. coli* ATCC 25922, а также *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* Wood 46, *S. abony* № 103/39 для высоко активных соединений. Дополнительно осуществляли способ учета результатов с использованием явления флуоресценции при взаимодействии с резазурином, указывающем на наличие живых микробных клеток.

Результаты и обсуждение. Установлено наличие антибактериальной активности серебряных солей **2a** и **2b** по отношению к изученным штаммам: минимальная подавляющая концентрация (МПК) соединения **2a** 23,4–31,2 мкг/мл, **2b** – 3,9–5,8 мкг/мл. При учете результатов исследования ПМА с использованием явления флуоресценции, установлено, что они либо совпадают со значениями МПК, определяемых визуально, либо указывают на меньшую антибактериальную активность. Сопоставление данных результатов и высевы содержимого лунок на плотную питательную среду в отношении скрининговых штаммов свидетельствует о том, что подавление флуоресценции в опытных лунках по сравнению с контролем в диапазоне 82–99 % сопровождается отсутствием роста бактерий (бактерицидный эффект), при угнетении флуоресценции менее 60 % наблюдается выраженный рост микроорганизмов. В промежуточном диапазоне наблюдается рост единичных колоний (бактериостатический эффект).

Заключение. Результаты исследования показали, что новые серебряные соли *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот обладают высокой противомикробной активностью. Установлено соответствие типа антибактериальной активности степени угнетения флуоресценции.

Ключевые слова: *N*-замещенные амиды ароилпировиноградных кислот и их серебряные соли, противомикробная активность, флуоресценция

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

Вклад авторов. В. В. Новикова – обоснование актуальности работы, руководство проведением микробиологических исследований. В. О. Васильев – проведение микробиологических исследований. О. В. Бобровская, О. В. Назарец, А. В. Романова, В. Л. Гейн, Н. А. Бузмакова – синтез субстанций новых *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Финансирование. Результаты работы получены в рамках государственного задания ФГБОУ ВО ПГФА (тема № 720000Ф.99.1.БН62АБ05000), 2023 г.

Для цитирования: Новикова В. В., Васильев В. О., Гейн В. Л., Назарец О. В., Романова А. В., Бобровская О. В., Бузмакова Н. А. Противомикробная активность новых *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):34–40. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1602](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1602)

Antimicrobial Activity of New *N*-substituted Amides of Aroylpyruvic Acids and Their Silver Salts

Valentina V. Novikova✉, Vitaly O. Vasilev, Vladimir L. Gein, Olga V. Nazarets,
Angelina V. Romanova, Olga V. Bobrovskaya, Nadezhda A. Buzmakova

© Новикова В. В., Васильев В. О., Гейн В. Л., Назарец О. В., Романова А. В., Бобровская О. В., Бузмакова Н. А., 2023
© Novikova V. V., Vasilev V. O., Gein V. L., Nazarets O. V., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Buzmakova N. A., 2023

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:** Valentina V. Novikova. E-mail: vvnperm@yandex.ru

ORCID: Valentina V. Novikova – <https://orcid.org/0000-0003-4475-4421>; Vitaly O. Vasilev – <https://orcid.org/0009-0008-3342-0630>;
Vladimir L. Gein – <https://orcid.org/0000-0002-8512-0399>; Olga V. Nazarets – <https://orcid.org/0000-0002-1674-5117>;
Angelina V. Romanova – <https://orcid.org/0000-0002-2516-2458>; Olga V. Bobrovskaya – <https://orcid.org/0000-0002-3394-9031>;
Nadezhda A. Buzmakova – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Received: 06.10.2023 **Revised:** 11.12.2023 **Published:** 27.12.2023

Abstract

Introduction. An important direction of modern pharmacy is the production of new domestic substances with anti-infectious activity, within the framework of ensuring the technological sovereignty of the state. Optimization of methods for determining antimicrobial activity is an integral part of these studies. Previously obtained silver salts of pyrazoles and pyrazolecarboxamides had high antimicrobial activity. This work presents the results of determining the antimicrobial activity of new biologically active compounds synthesized by a salt formation reaction with silver ions at the carboxyl group of aroylpyruvic acid amides containing anthranilic acid in the amide fragment.

Aim. Obtaining previously unknown amides of aroylpyruvic acids and their silver salts and studying their antimicrobial activity (AMA).

Materials and methods. New *N*-substituted amides of anthranilic acids and their silver salts were obtained by organic synthesis methods. To study their antimicrobial activity, a micromethod of double serial dilutions was used on screening strains of *S. aureus* ATCC 6538P, *E. coli* ATCC 25922, as well as *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* Wood 46, *S. abony* No. 103/39 for highly active compounds. Additionally, a method of accounting for the results was carried out using the phenomenon of fluorescence in interaction with rezazurin, indicating the presence of living microbial cells.

Results and discussion. The presence of antibacterial activity of silver salts **2a** and **2b** in relation to the studied strains was established: the minimum suppressive concentration (MPC) of compound **2a** is 23.4–31.2 micrograms/ml, **2b** is 3.9–5.8 micrograms/ml. When taking into account the results of the study of AMA using the phenomenon of fluorescence, it was found that they either coincide with the values of MPC determined visually, or indicate less antibacterial activity. Comparison of these results and seeding of the contents of the wells on a dense nutrient medium with respect to screening strains indicates that the suppression of fluorescence in experimental wells in the range of 99–82 % compared with the control is accompanied by the absence of bacterial growth (bactericidal effect), with fluorescence inhibition of less than 60 %, a pronounced growth of microorganisms is observed. In the intermediate range, the growth of single colonies is observed (bacteriostatic effect).

Conclusion. The results of the study showed that the new silver salts of *N*-substituted amides of aroylpyruvic acids have high antimicrobial activity. The correspondence of the type of antibacterial activity to the degree of fluorescence inhibition was established.

Keywords: *N*-substituted amides of aroylpyruvic acids and their silver salts, antimicrobial activity, fluorescence

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. Valentina V. Novikova – substantiation of the relevance of the work, management of microbiological research. Vitaly O. Vasilev – conducting microbiological studies. Olga V. Bobrovskaya, Olga V. Nazaret, Angelina V. Romanova, Vladimir L. Gein, Nadezhda A. Buzmakova – synthesis of substances of new *N*-substituted amides of aroylpyruvic acids and their silver salts. All the authors participated in the discussion of the results.

Funding. The results of the work were obtained within the framework of the state assignment of Perm Pharmaceutical Academy (Agreement No. 720000F.99.1.BN62AB05000), 2023.

For citation: Novikova V. V., Vasilev V. O., Gein V. L., Nazarets O. V., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Buzmakova N. A. Antimicrobial activity of new *N*-substituted amides of aroylpyruvic acids and their silver salts. *Drug development & registration*. 2023;12(4-1):34–40. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1602](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1602)

ВВЕДЕНИЕ

Поиск новых соединений, обладающих противомикробной активностью (ПМА), является актуальным вектором развития современной фармации [1–4]. Особое значение имеет получение новых отечественных субстанций с высокой активностью в отношении патогенных микроорганизмов в условиях импортозамещения. При этом важной составляющей этих исследований является совершенствование методик определения противомикробной активности. Одно из направлений оптимизации тра-

диционно используемых методов – это повышение качества способов учета результатов. С этой целью в частности предлагается использование явлений биолюминесценции [5–8] и фотолюминесценции (флуоресценции) [9, 10].

Ранее сотрудниками Пермской государственной фармацевтической академии были получены по сульфамидной группе натриевые и серебряные соли 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-*N*-[4-(*N*-*R*-сульфамоил)фенил]бут-2-енамидов, 5-арил-*N*-{4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамоил]фенил}-1-фенилпиразол-3-карбоксамидов, метил (2*Z*)-4-арил-4-оксо-2-[[4-(*N*-*R*-сульфамоил)

фенил]амино}бут-2-еноатов, пирроло[3,4-с]пиразол-3-онов [11–14], проявляющие противомикробную активность. Однако реакции солеобразования с ионами серебра и других металлов по карбоксильной группе амидов ароилпировиноградных кислот, содержащих в амидном фрагменте анраниловую кислоту, не были изучены.

Цель исследования. Получение ранее неизвестных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей и изучение их противомикробной активности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Замещенные амиды ароилпировиноградных кислот **1a, 6** и их серебряные соли **2a, 6** синтезированы сотрудниками кафедры общей и органической химии и фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия».

Ход реакций и степень чистоты полученных соединений контролировали методом ТСХ на пластинках SilufolUV-254 в системе хлороформ-метанол (80:15), проявитель – УФ-облучение. Структура синтезированных соединений **1a, 6** и **2a, 6** подтверждена данными спектроскопии ЯМР ^1H и ИК-спектроскопии.

Взаимодействием метиловых эфиров ароилпировиноградных кислот с 2-аминобензойной кислотой (анраниловой кислотой) при кипячении в ледяной уксусной кислоте осуществлен синтез новых *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот **1a, 16**. В ходе модификации структуры *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот **1a, 6** по ранее описанной методике [5, 6, 9], приводящей к получению соединений, обладающих противомикробной активностью, были синтезированы их серебряные соли **2a, 26**.

Для изучения ПМА соединений **1a, 6** и **2a, 6** использовали микрометод двукратных серийных разведений¹. Антибактериальную активность определяли в отношении типовых культур бактерий *S. aureus* ATCC 6538P, *E. coli* ATCC 25922. Вещества, проявившие высокую активность в отношении скрининговых штаммов, дополнительно протестировали на других грамположительных и грамотрицательных бактериях: *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* Wood 46, *S. abony* № 103/39. Для приготовления бактериальной взвеси использовали суточные культуры микроорганизмов, выращенные на питательном агаре. Концентрация бактериальных клеток в опыте составила $2-5 \times 10^5$ КОЕ/мл². В качестве положи-

тельного контроля использовали питательную среду с внесенной исследуемой культурой. В качестве отрицательного контроля использовали интактную питательную среду. Посевы инкубировали в термостате при температуре 35 ± 1 °C. Оценку роста проводили визуально через 22–24 часа инкубирования. В качестве значения МПК (минимальной подавляющей концентрации) принимали наименьшую концентрацию соединения, при которой отсутствует определяемый визуально рост тест-организма. Исследования осуществляли в двух повторях, результаты приводили в виде среднего арифметического полученных МПК. Вещества, имеющие МПК в диапазоне 125–1000 мкг/мл, оценивались как обладающие низкой ПМА, 15,6–62,5 мкг/мл – средней ПМА. Перспективными для дальнейшего изучения считались вещества с высокой ПМА (МПК 7,8 мкг/мл и менее). Антибактериальный эффект изучаемых соединений сравнивали с действием гентамицина (ОАО «Дальхимфарм», серия № 530622).

В качестве дополнительного способа учета результатов оценивали взаимодействие с резазурином. Жизнеспособные клетки с активным метаболизмом могут преобразовать резазурин в резорурфин, который имеет розовый или красновато-фиолетовый цвет, а также обладает способностью к флуоресценции³. Использование данного подхода особенно значимо в случае исходного отсутствия прозрачности содержимого лунок, обусловленное свойствами испытуемого вещества. В обычной практике указанная ситуация требует осуществления высева на плотную питательную среду, что увеличивает продолжительность и стоимость эксперимента. Помимо этого, получаемый результат указывает на бактерицидное действие соединения, а в ходе визуального учета результата на жидкой питательной среде определяется, как правило, бактериостатическое действие.

В микрорунки плашки с разведениями вещества после инкубирования добавляли по 50 мкл 0,05%-го резазурина. Планшет с культурами оставляли на 2 часа в темном месте, что достаточно для того, чтобы живые клетки переработали резазурин в флуоресцирующий продукт⁴. Измеряли флуоресценцию на микропланшетном ридере DTX 880. В качестве значения МПК (минимальной подавляющей концентрации) принимали наименьшую концентрацию соединения, при котором подавление свечения ока-

¹ Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.

² Клинические рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Доступно по: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrecdsma2021.pdf>. Ссылка активна на 21.05.2023.

³ Riss T. L., Moravec R., Niles A., Duellman S., Benink H., Worzella T. J., Minor L., Markossian S., Grossman A., Brimacombe K., Arkin M., Auld D., Austin C., Baell J., Chung T. D. Y., Coussens N. P., Dahlin J. L., Devanarayan V., Foley T. L., Glicksman M., Gorshkov K., Haas J. V., Hall M. D., Hoare S., Inglese J., Iversen P. W., Kales S. C., Lal-Nag M., Li Z., McGee J., McManus O., Riss T., Saradjian P., Sittampalam G. S., Tarselli M., Trask Jr. O. J., Wang Y., Weidner J. R., Wildey M. J., Wilson K., Xia M., Xu X., editors. Cell Viability Assays. National Library of Medicine. 2004.

⁴ Там же.

залось выше 50 % по сравнению со свечением контроля культуры. В случае скрининговых штаммов *S. aureus* ATCC 6538P и *E. coli* ATCC 25922 делали высеиваемый лунок планшета с визуальным определяемым изменением цвета резазурина с синего на розовый на питательный агар. Посевы инкубировали 22–24 часа в термостате при температуре 35 ± 1 °C. Результат оценивали визуально.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтезированные *N*-замещенные амиды ароилпировиноградных кислот **1a, б** представляют собой белые кристаллические вещества с желтоватым оттенком, растворимые в диметилсульфоксиде (ДМСО), диметилформамиде (ДМФА), при нагревании – в ледяной уксусной кислоте, этиловом спирте.

Серебряные соли *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот **2a, б** – серые с коричневым или зеленоватым оттенком кристаллические вещества, растворимые при нагревании в ДМФА, ДМСО, ледяной уксусной кислоте, этиловом спирте.

В ходе определения ПМА соединений **1a, б** и **2a, б** в установлено, что соединение **2б** проявляет высокую активность по отношению к изученным штаммам, однако уступает препарату сравнения. Результаты представлены в таблице 1.

При учете результатов изучения ПМА *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей с использованием явления флуоресценции установлено, что данные указывающие на наличие живых микробных клеток после воздействия изучаемых соединений либо совпадают со значениями МПК, определяемой визуально, либо указывают на меньшую антибактериальную активность (таблица 2). В случае со штаммом *E. coli* ATCC 25922 среднее арифметическое МПК, определяемой визуально, ниже аналогичных показателей,

определяемых с использованием резазурина. Однако при этом одно из значений МПК повтора соответствует МПК, оцениваемой с использованием флуоресценции. Полученные результаты допустимы, так как используемый рутинный метод с визуальным учетом не может отразить наличие присутствующих микроорганизмов в лунке планшета или пробирке в полной мере. Предлагаемый способ учета является более точным, поскольку предполагает инструментальную количественную оценку МПК.

Таблица 1. Результаты определения противомикробной активности в отношении типовых штаммов бактерий (визуальный учет)

Table 1. Results of determining antimicrobial activity against typical bacterial strains (visual recording)

Шифр Cipher	МПК, мкг/мл MIC, µg/ml				
	<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. abony</i> № 103/39	<i>S. aureus</i> Wood 46	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
1a	500	500	–	–	–
1б	250	500	–	–	–
2a	31,2	23,4*	31,2	31,2	23,4*
2б	3,9	5,8**	3,9	3,9	5,8**
Гентамицин Gentamicin	3,9	1,5***	3,9	1,0	23,4*

Примечание. «–» – Активность не определялась.

* 15,6 и 31,2 мкг/мл.

** 3,9 и 7,8 мкг/мл.

*** 1,0 и 2,0 мкг/мл.

Note. "–" – Activity was not determined.

* 15.6 and 31.2 µg/ml.

** 3.9 and 7.8 µg/ml.

*** 1.0 and 2.0 µg/ml.

Таблица 2. Результаты учета противомикробной активности в отношении типовых штаммов бактерий с использованием явления флуоресценции, % угнетения роста микроорганизмов по сравнению с контролем

Table 2. Results of accounting for antimicrobial activity against typical strains of bacteria using the phenomenon of fluorescence, % inhibition of microorganism growth compared to control

<i>S. aureus</i> ATCC 6538P											
	500	250	125	62,5	31,2	15,6	7,8	3,9	2,0	1,0	0,5
1a	28	7	2	0	0	0	0	0	0	0	0
1б	99	59	46	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	99	98	98	98	0	0	0	0	0	0	0
2б	98	99	99	99	99	99	99	41	0	0	0
Гентамицин Gentamicin	97	99	99	99	99	99	99	99	99	98	65

<i>E. coli</i> ATCC 25922											
1a	35	16	26	24	18	17	18	12	3	0	0
16 1b	20	26	24	30	34	28	22	22	13	0	0
2a	98	96	97	97	97	82	59	19	19	20	20
26 2b	98	97	98	98	98	98	99	98	56	30	33
Гентамицин Gentamicin	90	91	91	92	92	92	92	92	92	73	72
<i>S. aureus</i> Wood 46											
2a	89	89	89	89	34	39	8	9	0	0	0
26 2b	89	91	91	91	92	89	58	56	34	0	0
Гентамицин Gentamicin	97	97	97	98	98	98	98	98	91	98	65
<i>S. abony</i> № 103/39											
2a	61	58	50	0	0	0	0	0	0	0	0
26 2b	62	71	70	64	66	0	0	0	0	0	0
Гентамицин Gentamicin	84	85	87	87	87	88	88	71	86	75	58
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212											
2a	61	58	50	0	0	0	0	0	0	0	0
26 2b	62	71	70	64	66	0	0	0	0	0	0
Гентамицин Gentamicin	78	80	81	81	81	73	62	30	0	0	0

При сопоставлении результатов учета ПМА в отношении скрининговых штаммов *S. aureus* ATCC 6538P и *E. coli* ATCC 25922 с использованием явления флуоресценции и посева содержимого лунок на плотную питательную среду установлено, что при подавлении флуоресценции в опытных лунках по сравнению с

контролем в диапазоне 82–99 % фиксируется отсутствие роста микроорганизмов (бактерицидный эффект), при угнетении флуоресценции менее 60 % наблюдается рост изучаемых бактерий (таблицы 3, 4). В промежуточном диапазоне наблюдается рост единичных колоний (бактериостатический эффект).

Таблица 3. Сопоставление результатов учета противомикробной активности в отношении *S. aureus* ATCC 6538P с использованием явления флуоресценции и посева на плотную питательную среду

Table 3. Comparison of the results of accounting for antimicrobial activity against *S. aureus* ATCC 6538P using the phenomenon of fluorescence and seeding on a solid nutrient medium

Концентрация вещества, мкг/мл Substance concentration, µg/ml	2a		26 2b		Гентамицин Gentamicin	
	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты посева Seeding results	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты посева Seeding results	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты посева Seeding results
500	99	–	98	–	98	–
250	98	–	99	–	99	–
125	98	–	99	–	99	–
62,5	98	–	99	–	99	–
31,2	0	+	99	–	99	–
15,6	0	+	99	–	99	–
7,8	0	+	99	–	99	–
3,9	0	+	41	+	99	–
2,0	0	+	0	+	98	–
1,0	0	+	0	+	65	+

Примечание. «–» – Роста микроорганизмов нет.
«+» – Наблюдается рост микроорганизмов.

Note. "–" – There is no growth of microorganisms.
"+" – Growth of microorganisms is observed.

Таблица 4. Сопоставление результатов учета противомикробной активности в отношении *E. coli* ATCC 25922 с использованием явления флуоресценции и высева на плотную питательную среду

Table 4. Comparison of the results of accounting for antimicrobial activity against *E. coli* ATCC 25922 using the phenomenon of fluorescence and seeding on a solid nutrient medium

Концентрация вещества, мкг/мл Substance concentration, µg/ml	2a		26 2b		Гентамицин Gentamicin	
	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты высева Seeding results	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты высева Seeding results	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты высева Seeding results
500	98	–	98	–	90	–
250	96	–	97	–	91	–
125	97	–	98	–	91	–
62,5	97	–	98	–	92	–
31,2	97	–	98	–	92	–
15,6	82	–	98	–	92	–
7,8	59	+	99	–	92	–
3,9	19	+	98	–	99	–
2,0	19	+	56	+	98	–
1,0	20	+	30	+	73	Единичные колонии Single colonies

Примечание. «–» – Роста микроорганизмов нет.
«+» – Наблюдается рост микроорганизмов.

Note. "-" – There is no growth of microorganisms.
 "+" – Growth of microorganisms is observed.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изучена ПМА новых N-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей, выявлено соединение, обладающее высокой антибактериальной активностью. Установлено соответствие бактерицидного и бактериостатического действия соединений степени угнетения флюоресценции при инструментальном способе учета противомикробной активности. Представленные результаты подтверждают перспективность дальнейших исследований в данном ряду соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Исмиев А. И., Шоаиб М., Доценко В. В., Ганбаров Х. Г., Израилова А. А., Магеррамов А. М. Синтез и биологическая активность диэтиловых эфиров 8-(диалкиламино)-3-арил-6-оксо-2,4-дициано-бицикло [3.2.1] октан-2, 4-дикарбоновой кислоты. *Журнал общей химии*. 2020;90(8):1207–1215. DOI: 10.31857/S0044460X20080089.
2. Самотруева М. А., Цибизова А. А., Габитова Н. М., Озеров А. А., Тюренков И. Н. Противомикробная активность нового производного хинолоина VMA-13-03. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2020;83(8):24–28. DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-8-24-28.
3. Цибизова А. А. Ясенявская А. Л., Озеров А. А., Тюренков И. Н., Башкина О. А., Самотруева М. А. Скрининговые исследования противомикробной активности пиримидинового производного. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2021;41(6):56–60. DOI: 10.18699/SSMJ20210606.
4. Цибизова А. А. Ясенявская А. Л., Озеров А. А., Тюренков И. Н., Самотруева М. А. Оценка противомикробной активности произ-

водного пиримидина в отношении *Streptococcus pyogenes*. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2023;86(4):34–37. DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-4-34-37.

5. Оспова 3. М., Щеглов А. С., Ямпольский И. В. Новая биолюминесцентная система грибов: перспективы использования в медицинских исследованиях. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2018;1:80–83. DOI: 10.24075/vrgmu.2018.004.
6. Сафронюк С. Л., Гавриченко Ю. Ю., Кацев А. М. Применимость рекомбинантных lux-биосенсоров для выявления некоторых механизмов антибактериальной активности направленно синтезированных производных 2-((2-оксо-3-фенил-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-С]хинозалин-6-ил)тио)уксусной кислоты. *Биофармацевтический журнал*. 2020;12(5):26–32.
7. Ishimaru M., Noda H., Matsumoto E., Koshi H., Otake H. Comparative study of rapid ATP bioluminescence assay and conventional plate count method for development of rapid disinfecting activity test. *Luminescence*. 2021;36(3):826–833. DOI: 10.1002/bio.4014.
8. Czieborowski M., Kemperman A. J. B., Rolevink E., Blom J., Visser T., Philipp B. A two-step bioluminescence assay for optimizing antibacterial coating of hollow-fiber membranes with polydopamine in an integrative approach. *Journal of Microbiological Methods*. 2022;196:106452. DOI: 10.1016/j.mimet.2022.106452.
9. Van Den Driessche F., Rogole P., Brackman G., Coenye T. Optimization of resazurin-based viability staining for quantification of microbial biofilms. *Journal of microbiological methods*. 2014;98:31–34. DOI: 10.1016/j.mimet.2013.12.011.
10. Azeredo J., Azevedo N. F., Briandet R., Cerca N., Coenye T., Costa A. R., Desvaux M., Bonaventura D., Hebraud M., Jaglic Z., Kacanovia M., Knechel S., Lourenco A., Mergulhão f., Meyer R. C., Nychas G., Simoes M., Tresse O., Sternberg C. Critical review on biofilm methods. *Critical reviews in microbiology*. 2017;43(3):313–335. DOI: 10.1080/1040841X.2016.1208146.

11. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Русских А.А., Новикова В.В., Гейн О.Н., Карпенко Ю.Н., Чащина С.В., Дмитриев М.В., Янкин А.Н. Синтез и биологическая активность 5-арил-N-[4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамойл]фенил]-1-фенилпиразол-3-карбоксамидов и их солей. *Журнал общей химии*. 2019;89(4):542–551. DOI: 10.1134/S0044460X19040073.
12. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Машкина Е.А., Новикова В.В., Махмудов Р.Р., Янкин А.Н., Данилов С.Е., Хволис Е.А., Белоногова В.Д., Гуляев Д.К. Синтез и противомикробная активность метил 4-арил-2-[4-[(4,6-диметилпиримидин-2-ил)сульфамойл]фениламино]-4-оксобут-2-еноатов и их серебряных солей. *Журнал общей химии*. 2020;90(5):723–729. DOI: 10.31857/S0044460X20050108.
13. Гейн О.Н., Бобровская О.В., Гейн С.В., Гейн В.Л. Иммунобиологическая и противовоспалительная активность натриевых солей пирроло[3,4-с]пиразол-3-онов и пиразол-3-карбоксамидов в эксперименте. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(2):21–25. DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-2-21-25.
14. Новикова В.В., Бобровская О.В., Гейн В.Л., Селиверстов Г.В., Люст Е.Н., Махмудов Р.Р. Оценка противогрибковой и антибактериальной активности серебряных солей 5,6-диарил-4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-3-онов. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(9):34–38. DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-9-34-38.
9. Van Den Driessche F. Rogole P. Brackman G. Coenye T. Optimization of resazurin-based viability staining for quantification of microbial biofilms. *Journal of microbiological methods*. 2014;98:31–34. DOI: 10.1016/j.mimet.2013.12.011.
10. Azeredo J., Azevedo N.F., Briandet R., Cerca N., Coenye T., Costa A.R., Desvaux M., Bonaventura D., Hebraud M., Jaglic Z., Kacaniová M., Knechel S., Lourenco A., Mergulhão f., Meyer R.C., Nychas G., Simoes M., Tresse O., Sternberg C. Critical review on biofilm methods. *Critical reviews in microbiology*. 2017;43(3):313–335. DOI: 10.1080/1040841X.2016.1208146.
11. Gein V.L., Bobrovskaya O.V., Russkikh A.A., Novikova V.V., Gein O.N., Karpenko Yu.N., Chashchina S.V., Dmitriev M.V., Yankin A.N. Synthesis and Biological Activity of 5-Aryl-N-[4-[(1,3-thiazol-2-yl)sulfamoyl]phenyl]-1-phenyl-1H-pyrazole-3-carboxamides and Their Salts. *Russian Journal of General Chemistry*. 2019;89(4):680–688. (In Russ.) DOI: 10.1134/S1070363219040073.
12. Gein V.L., Bobrovskaya O.V., Mashkina E.A., Novikova V.V., Makhmudov R.R., Yankin A.N., Danilov S.E., Hvolis E.A., Belonogova V.D., Gulyaev D.K. Synthesis and Antimicrobial Activity of Methyl (2Z)-4-aryl-2-[4-[(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)sulfamoyl]phenylamino]-4-oxobut-2-enoates and Their Silver Salts. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90(5):723–729. (In Russ.) DOI: 10.31857/S0044460X20050108.
13. Gein O.N., Bobrovskaya O.V., Gein S.V., Gein V.L. Immunobiological and anti-inflammatory activity of sodium salts of pyrrolo[3,4-c]pyrazol-3-ones and pyrazol-3-carboxamides in experiment. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 2022;85(2): 21–25. (In Russ.) DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-2-21-25.
14. Novikova V.V., Bobrovskaya O.V., Gein V.L., Seliverstov G.V., Lyust E.N., Makhmudov R.R. Assessing the antifungal and antibacterial activity of silver salts of 5,6-diaryl-4-[4-(acetylaminosulfonyl)-phenyl]-3,5-dihydropyrrolo[3,4-c]pyrazol-3-ones. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 2021;84(9):34–38. (In Russ.) DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-9-34-38.

REFERENCES

1. Ismiev A.I., Shoaib M., Dotsenko V.V., Ganbarov H.G., Israilova A.A., Magerramov A.M. Synthesis and biological activity of diethyl esters of 8-(dialkylamino)-3-aryl-6-oxo-2,4-dicyanobicyclo [3.2.1] octane-2,4-dicarboxylic acid. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90(8):1207–1215. (In Russ.) DOI: 10.31857/S0044460X20080089.
2. Samotrueva M.A., Tsibizova A.A., Gabitova N.M., Ozerov A.A., Tyurenkov I.N. Antimicrobial activity of a new derivative of quinazoline VMA-13-03. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 2020;83(8):24–28. (In Russ.) DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-8-24-28.
3. Tsibizova A.A., Yasenyavskaya A.L., Ozerov A.A., Tyurenkov I.N., Bashkina O.A., Samotrueva M.A. Screening studies of antimicrobial activity of pyrimidine derivative. *Sibirskij Nauchnyj Medicinskij Zhurnal*. 2021;41(6):56–60. (In Russ.) DOI: 10.18699/SSMJ20210606.
4. Tsibizova A.A., Yasenyavskaya A.L., Ozerov A.A., Tyurenkov I.N., Samotrueva M.A. Evaluation of antimicrobial activity of pyrimidine derivative against *Streptococcus pyogenes*. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 2023;86(4):34–37. (In Russ.) DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-4-34-37.
5. Osipova Z.M., Shcheglov A.S., Yampolsky I.V. A new bioluminescent system of fungi: prospects for use in medical research. *Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2018;1:80–83. (In Russ.) DOI: 10.24075/vrgmu.2018.004.
6. Safronyuk S.L., Gavrichenko Yu.Yu., Katsev A.M. Applicability of recombinant lux biosensors to identify some mechanisms of antibacterial activity of directionally synthesized derivatives of 2-((2-oxo-3-phenyl-2H-[1,2,4]triazino[2,3-C]quinazolin-6-yl)thio)acetic acid. *Biofarmaceuticheskij zhurnal*; 2020;12(5):26–32. (In Russ.)
7. Ishimaru M., Noda H., Matsumoto E., Koshi H., Otake H. Comparative study of rapid ATP bioluminescence assay and conventional plate count method for development of rapid disinfecting activity test. *Luminescence*. 2021;36(3):826–833. DOI: 10.1002/bio.4014.
8. Czieborowski M., Kemperman A.J.B., Rolevink E., Blom J., Visser T., Philipp B. A two-step bioluminescence assay for optimizing antibacterial coating of hollow-fiber membranes with polydopamine in an integrative approach. *Journal of Microbiological Methods*. 2022;196:106452. DOI: 10.1016/j.mimet.2022.106452.

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1639](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1639)
УДК 615.214.2 + 615.213 + 615.45



Оригинальная статья / Research article

Анализ и оценка перспектив разработки новых лекарственных средств производных бензодиазепинов

Н. Ю. Порсева¹, Ф. В. Собин¹✉, А. В. Солонина¹, Н. А. Пулина¹,
Е. Р. Курбатов¹, О. Н. Дворская²

¹ 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

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России), 454092, Россия, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского, д. 64

✉ Контактное лицо: Собин Федор Владимирович. E-mail: fff-2005@mail.ru

ORCID: Н. Ю. Порсева – <https://orcid.org/0000-0002-3396-1567>; Ф. В. Собин – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>;
А. В. Солонина – <https://orcid.org/0000-0002-2745-7698>; Н. А. Пулина – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
Е. Р. Курбатов – <https://orcid.org/0000-0001-6426-7976>; О. Н. Дворская – <https://orcid.org/0000-0003-4774-8887>.

Статья поступила: 03.11.2023

Статья принята в печать: 15.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Использование лекарственных препаратов, производных бензодиазепаина для лечения различных заболеваний продолжает оставаться актуальным. Бензодиазепины одобрены большинством регуляторных органов стран мира. Несмотря на большое количество побочных эффектов и немедикаментозное применение они становятся все более перспективными в неотложной помощи при затяжных судорогах и эпилептическом статусе.

Цель. Осуществить анализ зарегистрированных в Российской Федерации лекарственных средств на основе производных бензодиазепинов и провести оценку перспектив разработок в данном направлении.

Материалы и методы. Исследование проведено на основе нормативных правовых актов в сфере здравоохранения и обращения лекарственных средств, публикаций российских и зарубежных авторов, результатов научных исследований с использованием методов ситуационного, сравнительного, структурно-логического и контент-анализа. Информационной базой исследования послужили онлайн база данных «Государственный реестр лекарственных средств» (grls.minzdrav.gov.ru), базы данных рецензируемых изданий: PubMed и Scopus.

Результаты и обсуждение. Получены данные по ассортименту лекарственных средств производных бензодиазепинов по показателям: международные непатентованные наименования, торговые наименования, лекарственные препараты, страны и предприятия производители, лекарственные формы. Обсуждается проблема «лекарственного суверенитета». Обнаружены перспективные ниши для разработки инновационных лекарственных средств производных бензодиазепинов.

Заключение. Установлено, что на российском фармацевтическом рынке представлены в основном отечественные лекарственные препараты бензодиазепинового ряда, при этом отмечается некоторый дефицит фармацевтических субстанций. В России не зарегистрированы такие лекарственные формы как пленки, пластыри трансдермальные и препараты для ингаляционного применения производных бензодиазепинов. Актуально создание инновационных лекарственных форм способных обеспечить быстрый, неинвазивный и социально приемлемый способ применения при высоком показателе приверженности лечения пациентами.

Ключевые слова: бензодиазепины, ассортимент, лекарственные формы

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

Вклад авторов. Н. Ю. Порсева, Ф. В. Собин провели обработку данных агрегаторов баз данных «Государственный реестр лекарственных средств» (grls.minzdrav.gov.ru), PubMed и Scopus, участвовали в непосредственном написании статьи. А. В. Солонина, Н. А. Пулина осуществляли научное руководство и консультирование, участвовали в написании, рецензировании и формулировке выводов. Е. Р. Курбатов и О. Н. Дворская принимали участие в интерпретации результатов исследования и редактировании. Данная статья написана и согласована при участии всех авторов.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Порсева Н. Ю., Собин Ф. В., Солонина А. В., Пулина Н. А., Курбатов Е. Р., Дворская О. Н. Анализ и оценка перспектив разработки новых лекарственных средств производных бензодиазепинов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):41–46. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1639](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1639)

Analysis and Evaluation of Prospects for the Development of New Drugs Derived from Benzodiazepines

Natalya Yu. Porseva¹, Fedor V. Sobin¹✉, Anna V. Solonina¹, Natalya A. Pulina¹,
Evgeniy R. Kurbatov¹, Oksana N. Dvorskaya²

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2, Poleyvaya str., Perm, 614990, Russia

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "South-Ural State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. 64, Vorovskogo str., Chelyabinsk, Chelyabinsk region, 454092, Russia

✉ Corresponding author: Fedor V. Sobin. E-mail: fff-2005@mail.ru

© Порсева Н. Ю., Собин Ф. В., Солонина А. В., Пулина Н. А., Курбатов Е. Р., Дворская О. Н., 2023

© Porseva N. Yu., Sobin F. V., Solonina A. V., Pulina N. A., Kurbatov E. R., Dvorskaya O. N., 2023

ORCID: Natalya Yu. Porseva – <https://orcid.org/0000-0002-3396-1567>; Fedor V. Sobin – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>;
Anna V. Soloninina – <https://orcid.org/0000-0002-2745-7698>; Natalya A. Pulina – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
Evgeniy R. Kurbatov – <https://orcid.org/0000-0001-6426-7976>; Oksana N. Dvorskaya – <https://orcid.org/0000-0003-4774-8887>.

Received: 03.11.2023

Revised: 15.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. The use of drugs derived from benzodiazepine for the treatment of various diseases continues to be relevant. Benzodiazepines are approved by most regulatory authorities around the world. Despite the large number of side effects and non-medical use, they are becoming more promising in emergency care for prolonged seizures and epileptic status.

Aim. To analyze the existing medicines on the market of the Russian Federation based on benzodiazepine derivatives and assess the prospects for development in this direction.

Materials and methods. The study was conducted on the basis of regulatory legal acts in the field of healthcare and the circulation of medicines, publications of Russian and foreign authors, the results of scientific research using situational, comparative, structural-logical and content analysis methods. The information base of the study was the online database "State Register of Medicines" (grls.minzdrav.gov.ru), databases of peer-reviewed publications: PubMed and Scopus.

Results and discussion. Data were obtained on the range of medicines derived from benzodiazepines according to the following indicators: international nonproprietary names, trade names, medicines, manufacturing countries and enterprises, dosage forms. The problem of "medicinal sovereignty" is discussed. Promising niches have been found for the development of innovative drugs derived from benzodiazepines.

Conclusion. It has been established that mainly domestic benzodiazepine-type drugs are represented on the Russian pharmaceutical market, while there is a certain shortage of pharmaceutical substances. In Russia, such dosage forms as films, transdermal plasters and preparations for the inhalation use of benzodiazepine derivatives are not registered. It is important to create innovative dosage forms capable of providing a fast, non-invasive and socially acceptable method of use and a high rate of adherence to treatment by patients.

Keywords: benzodiazepines, assortment, dosage forms

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. Natalya Yu. Porseva, Fedor V. Sobin conducted data processing of aggregators database "State Register of Medicines" (grls.minzdrav.gov.ru), PubMed and Scopus, participated in the direct writing of the article. Anna V. Soloninina, Natalya A. Pulina provided scientific guidance and advice, participated in writing, reviewing and formulating conclusions. Evgeniy R. Kurbatov and Oksana N. Dvorskaya took part in the interpretation of the research results and editing. This article was written and agreed upon with the participation of all the authors.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Porseva N. Yu., Sobin F. V., Soloninina A. V., Pulina N. A., Kurbatov E. R., Dvorskaya O. N. Analysis and evaluation of prospects for the development of new drugs derived from benzodiazepines. *Drug development & registration*. 2023;12(4-1):41–46. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1639](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1639)

ВВЕДЕНИЕ

Использование лекарственных препаратов (ЛП), производных бензодиазепа (БДА) для лечения острой ситуационной тревоги, хронических тревожных расстройств, заболеваний связанных с бессонницей, синдромов отмены алкоголя и кататонии продолжает оставаться актуальным. Они, также могут быть полезными вспомогательными средствами при лечении тревожной депрессии и мании. Помимо анксиолитического действия они обладают снотворным, седативным, миорелаксирующим и противосудорожными эффектами [1, 2].

БДА одобрены большинством регуляторных органов стран мира. Однако, имеют достаточное количество побочных эффектов, включающие нарушения когнитивных функций, непереносимость ЛП, повторную бессонницу после прекращения приема, автомобильные аварии, падения и лекарственную за-

висимость. Кроме того, данная группа ЛП используется с целью злоупотребления, в том числе для усиления наркотического эффекта опиоидов, облегчения абстинентного синдрома, потенцирования эффекта алкоголя, получения эйфории [3, 4].

Немедицинское использование ЛП производных БДА остается серьезной проблемой в сфере здравоохранения, как за рубежом, так и в России [5].

Несмотря на это, БДА становятся все более актуальными в неотложной помощи при затяжных судорогах и эпилептическом статусе. Благодаря их эффективности, переносимости и быстрому началу действия они стали препаратами первой линии для лечения данной патологии во всем мире [6–9].

Таким образом, представляло интерес осуществить анализ существующих на рынке Российской Федерации лекарственных средств (ЛС) на основе производных БДА и провести оценку перспектив разработок в данном направлении.

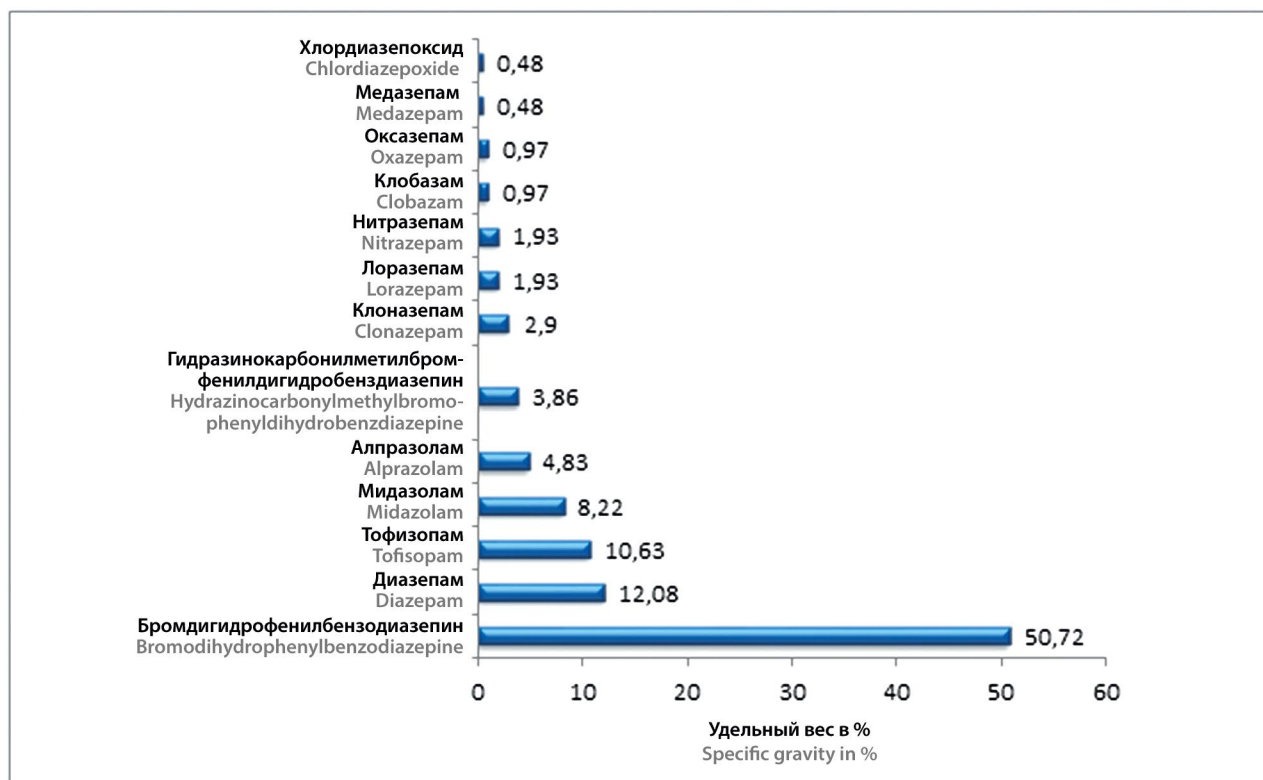


Рисунок 1. Структура ассортимента лекарственных препаратов производных бензодиазепа по международным непатентованным наименованиям

Figure 1. The structure of the assortment of drugs derived from benzodiazepine by international nonproprietary names

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на основе нормативных правовых актов в сфере здравоохранения и обращения ЛС, публикаций российских и зарубежных авторов, результатов научных исследований с использованием методов ситуационного, сравнительного, структурно-логического и контент-анализа. Информационной базой исследования послужили онлайн ресурс «Государственный реестр лекарственных средств»¹, агрегаторы рецензируемых научных изданий: eLIBRARY.RU, PubMed и Scopus. Статистическая обработка данных проводилась с использованием MS Excel 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ данных показал, что в Российской Федерации зарегистрировано 13 международных непатентованных наименований (МНН) из существующих 27, 31 торговое наименование (ТН) и 207 ЛП производных БДА².

¹ Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: <https://grls.minzdrav.gov.ru/> Ссылка активна на 12.10.2023.

² Там же.

Наибольшее количество (10 МНН) относится к фармакотерапевтической группе анксиолитические средства (76,93 %), снотворные средства представлены 2 МНН (15,38 %), а наименьшее приходится на противоэпилептические средства 1 МНН (7,69 %).

По анатомо-терапевтическо-химической классификации к производным бензодиазепа (код N05BA) относятся 8 МНН, к другим анксиолитикам (код N05BX) – 1 МНН, а 4 МНН представлены конкретными наименованиями с соответствующими кодами: мидазолам (код N05CD08), тофизопам (код N05BA023), клоназепам (код N03AE01), нитразепам (код N05CD02).

Среди производных БДА к преобладающим по количеству ТН можно отнести бромдигидрохлорфенилбензодиазепин (7 ТН) и Тофизопам (6 ТН). Можно отметить ЛП, которые имеют всего одно ТН – хлордiazепоксид, медазепам, клоназепам, нитразепам и гидразинокарбонилметилбромфенилдигидробензодиазепин.

Оценка ассортимента выявила, что наибольшее количество ЛП представлено для бромдигидрофенилбензодиазепа (50,72 %), диазепам (12,08 %) и тофизопам (10,63 %), а хлордiazепоксид и медазепам представлены одним ЛП (рисунок 1).

Оценка «лекарственного суверенитета» по данной группе ЛС выявила, что российские производители являются держателями регистрационных удо-

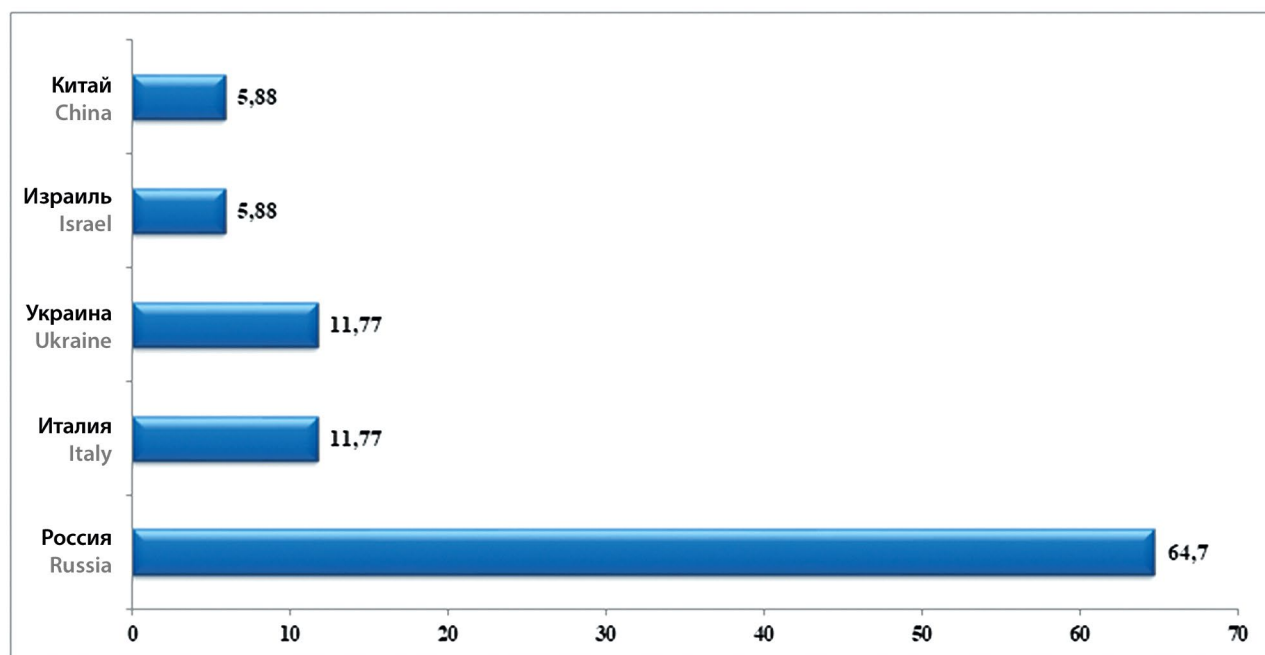


Рисунок 2. Структура ассортимента фармацевтических субстанций производных бензодиазепина по странам производителям

Figure 2. The structure of the assortment of pharmaceutical substances of benzodiazepine derivatives by producing countries

стоверений на фармацевтические субстанции в 64,7 % (рисунок 2), в то время как на ЛП им принадлежит 87,92 % (рисунок 3) ассортимента.

Анализ показал, что на фармацевтическом рынке Российской Федерации представлены ЛП из 6 стран: Польша, Франция, Кипр, Латвия, Индия и Венгрия, где на их долю приходится – 12,08 %. При этом отмечено отсутствие в Государственном реестре ЛС¹ полной информации по субстанциям таких ЛС как клобазам, тофизопам и хлордiazепоксид.

Исследование списка производителей ЛП БДА показало, что на отечественном рынке на сегодняшний момент присутствует 19 организаций. Лидирующие позиции по представленности позиций от всего ассортимента занимают: ФГУП «Московский Эндокринный Завод» (19,67 %), АО «Валента Фарм» (13,11 %), Тархоминский фармацевтический завод Польфа, АО (11,48 %), ОАО «Дальхимфарм» и АО «Органика» (по 9,83 %). Отмечено, что наиболее интересны для производителей бромдигидрохлорфенилбензодиазепин и тофизепам, данные препараты находятся в продуктовых портфелях 6 предприятий. Медазепам, напротив имеется только в ассортименте АО «Органика».

Обработка информации по лекарственным формам проводилась согласно номенклатуры, утвержденной Коллегией Евразийской экономической ко-

миссии² и перечня наименований лекарственных форм в соответствии с Приказом Минздрава России № 538н³.

В структуре ассортимента ЛП производных БДА по лекарственным формам присутствуют таблетки, в том числе, покрытые пленочной оболочкой, диспергируемые в полости рта; растворы ректальные, защечные, а также для внутривенного и внутримышечного введения. При этом преобладают пероральные лекарственные формы, такие как таблетки 107 ТН (51,69 %) из них 91 ТН (43,96 %) отечественного производства и 16 ТН (7,74 %) импортного. Далее идут растворы для внутривенного и внутримышечного введения, которые в структуре ассортимента ЛП занимают 49 ТН (23,68%) из них 45 ТН (21,75 %) отечественного производства и 4 импортируемых ТН (1,93 %). На третьем месте таблетки диспергируемые в полости рта 36 ТН (17,39 %) все российского производства. Таблетки, покрытые пленочной оболочкой 6 ТН (2,90 %) из них 4 ТН (1,93 %) импортного и 2 ТН (0,97 %) российского производства Ректаль-

² Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии № 172 от 22 декабря 2015 г. «Об утверждении Номенклатуры лекарственных форм» (ред. от 29.03.2022). Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_193279/ Ссылка активна на 12.10.2023.

³ Приказ Министерства здравоохранения РФ № 538н от 27 июля 2016 г. «Об утверждении Перечня наименований лекарственных форм лекарственных препаратов для медицинского применения». Доступно по: <https://rg.ru/documents/2016/09/07/minzdrav-prikaz538-site-dok.html>. Ссылка активна на 12.10.2023.

¹ Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: <https://grls.minzdrav.gov.ru/> Ссылка активна на 12.10.2023.

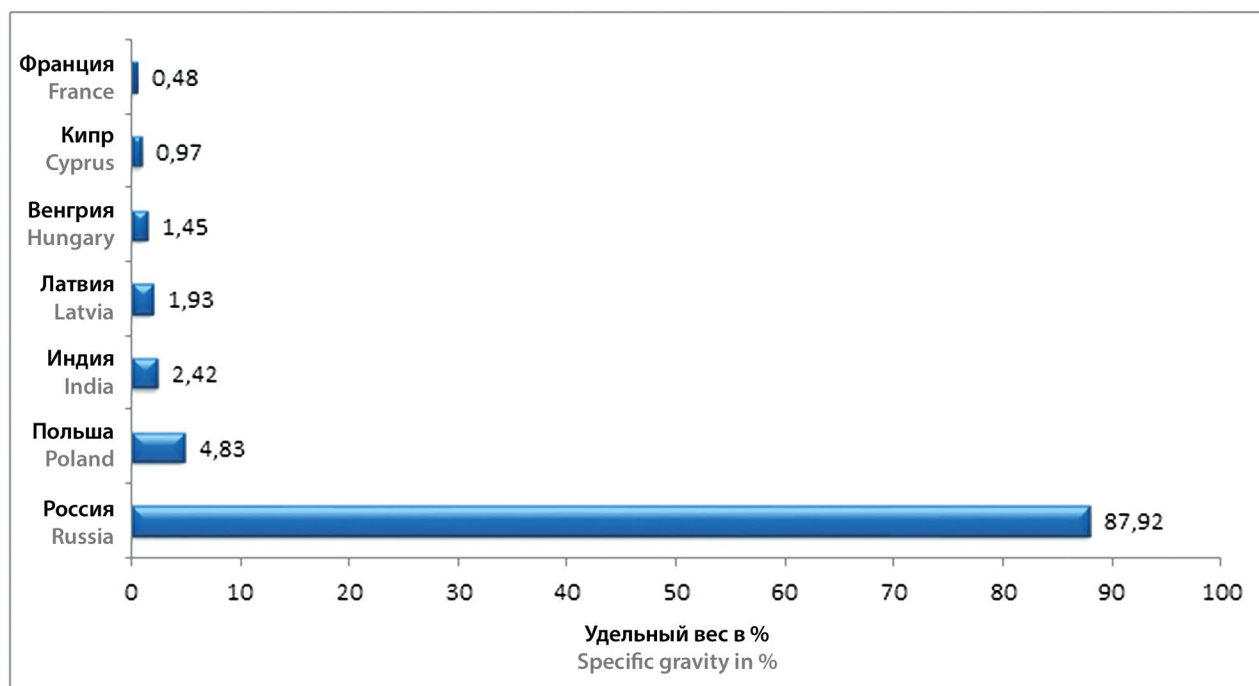


Рисунок 3. Структура ассортимента лекарственных препаратов производных бензодиазепина по странам производителям
Figure 3. The structure of the assortment of drugs derived from benzodiazepine by producing countries

ный и защечный растворы представлены 4 ТН соответственно, что составляет по 1,93 %. Наименьшее количество ЛП представлено такой лекарственной формой как таблетки покрытые оболочкой 1 ТН (0,48 %) импортного производства (таблица 1).

Изучение ассортимента БДА по наличию препаратов в Перечне жизненно необходимых и важнейших ЛП (далее Перечень) показало, что в него включены все 49 ЛП для такой лекарственной формы, как раствор для внутривенного и внутримышечного введения, тогда как другие растворы ректальные (4 ЛП) и защечные (4 ЛП) в нем отсутствуют. Из таблеток в Перечне представлены 59 российских и 4 импортных ЛП, не включены в Перечень 44 ЛП. Все 36 ЛП в виде таблеток диспергируемых в полости рта отечественного производства включены в Перечень. Среди таблеток покрытых пленочной оболочкой в Перечне находятся 4 ЛП только импортного производства. При этом, отсутствуют 2 российских ЛП, также как и таблетки покрытые оболочкой¹.

Анализ данных агрегаторов рецензируемых изданий eLIBRARY.RU, PubMed и Scopus позволил устано-

вить, что на российском фармацевтическом рынке не представлены такие перспективные лекарственные формы, как пленки [8], пластыри трансдермальные [10, 11], назальный спрей производных БДА (диазепам, мидазолам, лоразепам) [12–16]. Совсем недавно было исследовано внутрилегочное введение БДА с помощью ингалятора [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что на российском фармацевтическом рынке представлены в основном отечественные ЛП БДА, однако, отмечается некоторый дефицит фармацевтических субстанций для их разработки и производства, что делает перспективными работы в данном направлении. В Российской Федерации лишь 50 % МНН производных БДА имеют регистрационное удостоверение. Более половины ассортимента по количеству ТН занимает бромдигидрофенилбензодиазепин. Необходимо увеличить ассортимент других МНН и ТН на отечественном фармацевтическом рынке. Проведенный анализ показывает, что в России не зарегистрирован ряд лекарственных форм, таких как пленки, пластыри трансдермальные и препараты для ингаляционного применения. Представляется перспективным создание инновационных лекарственных форм ЛП производных БДА, способных обеспечить быстрый, неинвазивный и социально приемлемый способ применения при минимальном количестве побочных эффектов и высоком показателе приверженности лечения пациентами.

¹ Распоряжение Правительства РФ № 2406-р от 12 октября 2019 г. «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, а также перечней лекарственных препаратов для медицинского применения и минимального ассортимента лекарственных препаратов, необходимых для оказания медицинской помощи» (ред. от 09.06.2023). Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_335635/ Ссылка активна на 12.10.2023.

Таблица 1. Структура ассортимента производных бензодиазепина по лекарственным формам с учетом производителей

Table 1. The structure of the assortment of benzodiazepine derivatives by dosage forms, taking into account manufacturers

Лекарственная форма Dosage form	Количество лекарственных препаратов Number of medications		Удельный вес, % Specific gravity, %	
	Россия Russia	Импорт Import	Россия Russia	Импорт Import
Таблетки Pills	91	16	43,96	7,73
Таблетки покрытые оболочкой Coated tablets	–	1	–	0,48
Таблетки покрытые пленочной оболочкой Film-coated tablets	2	4	0,97	1,93
Таблетки диспергируемые в полости рта Tablets dispersed in the oral cavity	36	–	17,39	–
Растворы для внутривенного и внутримышечного введения Solutions for intravenous and intramuscular administration	45	4	21,75	1,93
Раствор ректальный Rectal solution	4	–	1,93	–
Раствор щечный Solution for cheek application	4	–	1,93	–
Итого: Total:	182	25	87,93	12,07
Всего: Total:	207		100	

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Atkin T., Comai S., Gobbi G. Drugs for Insomnia beyond Benzodiazepines: Pharmacology, Clinical Applications, and Discovery. *Pharmacological Reviews*. 2018;70(2):197–245. DOI: 10.1124/pr.117.014381.
- Dubovsky S. L., Marshall D. Benzodiazepines Remain Important Therapeutic Options in Psychiatric Practice. *Psychother Psychosom*. 2022;91(5):307–334. DOI:10.1159/000524400.
- Belova M. V., Klyuyev E. A., Melnikov E. S., Yeliseyeva D. M. Chemical and Toxicological Diagnosis of Acute Poisonings with Phenazepam. *Russian Sklifosovsky Journal "Emergency Medical Care"*. 2018;7(4):319–324. (In Russ.) DOI: 10.23934/2223-9022-2018-7-4-319-324.
- Dokkedal-Silva V., Berro L. F., Galduróz J. C. F., Tufik S., Andersen M. L. Clonazepam: Indications, Side Effects, and Potential for Nonmedical Use. *Harv Rev Psychiatry*. 2019;27(5):279–289. DOI: 10.1097/HRP.0000000000000227.
- Porseva N. Yu., Soloninina A. V., Dvorskaya O. N. Study of pharmaceutical specialists' information awareness on the matters of drug abuse. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):456–464. (In Russ.) DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-456-464.
- Kienitz R., Kay L., Beuchat I., Gelhard S., von Brauchitsch S., Mann C., Lucaci A., Schäfer J. H., Siebenbrodt K., Zöllner J. P., Schubert-Bast S., Rosenow F., Strzelczyk A., Willems L. M. Benzodiazepines in the Management of Seizures and Status Epilepticus: A Review of Routes of Delivery, Pharmacokinetics, Efficacy, and Tolerability. *CNS Drugs*. 2022;36(9):951–975. DOI: 10.1007/s40263-022-00940-2.
- Samanta D. Rescue therapies for seizure emergencies: current and future landscape. *Neurological Sciences*. 2021;42(10):4017–4027. DOI: 10.1007/s10072-021-05468-9.
- Dashkoff J., Dworetzky B., Bubrick E. Rescue Medications for Acute Repetitive Seizures. *Current Treatment Options in Neurology*. 2023;25:45–54. DOI: 10.1007/s11940-023-00746-7.
- Krauss G. L., Elizebath R., Mwendaweli N. Seizure Rescue Therapies: Comparing Approved and Commonly Used Benzodiazepine Formulations. *Neurotherapeutics*. 2023;20:758–766. DOI: 10.1007/s13311-023-01359-3.
- Mehmood Y. Preparation of Diazepam Delayed Release Patch, for Anxiolytic Treatment. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*. 2014;3(2):19–23.
- Mura P., Bragagni M., Mennini N., Cirri M., Maestrelli F. Development of liposomal and microemulsion formulations for transdermal delivery of clonazepam: Effect of randomly methylated β -cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014;475(1–2):306–314. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.08.066.
- Von Blomberg A., Kay L., Knake S., Fuest S., Zöllner J. P., Reif P. S., Herrmann E., Balaban Ü., Schubert-Bast S., Rosenow F., Strzelczyk A. Efficacy, Tolerability, and Safety of Concentrated Intranasal Midazolam Spray as Emergency Medication in Epilepsy Patients During Video-EEG Monitoring. *CNS Drugs*. 2020;34(5):545–553. DOI: 10.1007/s40263-020-00720-w.
- Hogan R. E., Gidal B. E., Koplowitz B., Koplowitz L. P., Lowenthal R. E., Carrazana E. Bioavailability and safety of diazepam intranasal solution compared to oral and rectal diazepam in healthy volunteers. *Epilepsia*. 2020;61(3):455–464. DOI: 10.1111/epi.16449.
- Penovich P., Wheless J. W., Hogan R. E., Guerra C., Cook D. F., Carrazana E., Rabinowicz A. L. Examining the patient and caregiver experience with diazepam nasal spray for seizure clusters: Results from an exit survey of a phase 3, open-label, repeat-dose safety study. *Epilepsy & Behavior*. 2021;121(Pt. A):108013. DOI: 10.1016/j.yebeh.2021.108013.
- Segal E. B., Tarquinio D., Miller I., Wheless J. W., Dlugos D., Biton V., Cascino G. D., Desai J., Hogan R. E., Liow K., Sperling M. R., Vazquez B., Cook D. F., Rabinowicz A. L., Carrazana E. Evaluation of diazepam nasal spray in patients with epilepsy concomitantly using maintenance benzodiazepines: An interim subgroup analysis from a phase 3, long-term, open-label safety study. *Epilepsia*. 2021;62(6):1442–1450. DOI: 10.1111/epi.16901.
- Miller I., Wheless J. W., Hogan R. E., Dlugos D., Biton V., Cascino G. D., Sperling M. R., Liow K., Vazquez B., Segal E. B., Tarquinio D., Mauney W., Desai J., Rabinowicz A. L., Carrazana E. Consistent safety and tolerability of Valtoco® (diazepam nasal spray) in relationship to usage frequency in patients with seizure clusters: Interim results from a phase 3, long-term, open-label, repeat-dose safety study. *Epilepsia Open*. 2021;6(3):504–512. DOI: 10.1002/epi4.12494.

[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. $(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_9\text{Sa})$ 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 UNICO 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:

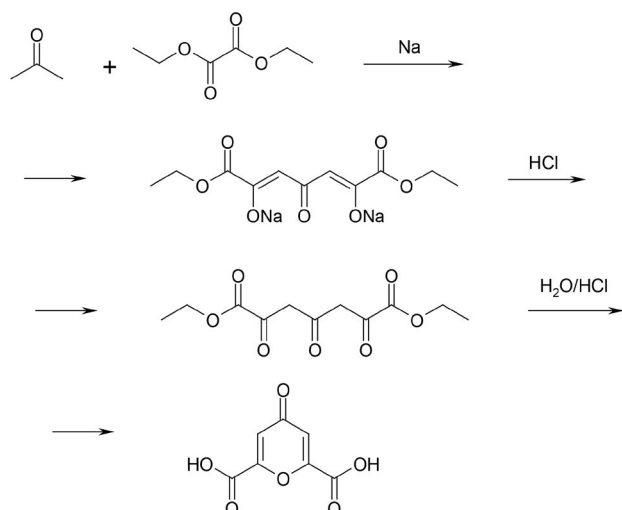


Рисунок 1. Схема синтеза хелидоновой кислоты

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., Marzinik 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., Kaksza 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.

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1610](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1610)
УДК 615.453.42, 615.19



Оригинальная статья / Research article

Разработка состава и технологии капсул, содержащих пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой и глицин

Е. А. Замахаева✉, М. М. Смирнова, О. А. Олешко, М. В. Чиркова

¹ 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: Замахаева Екатерина Андреевна. E-mail: eka0_0@rambler.ru

ORCID: Е. А. Замахаева – <https://orcid.org/0000-0003-2298-7283>; М. М. Смирнова – <https://orcid.org/0000-0002-0992-5152>;
О. А. Олешко – <https://orcid.org/0000-0001-9211-0116>; М. В. Чиркова – <https://orcid.org/0009-0007-2515-2210>.

Статья поступила: 13.10.2023

Статья принята в печать: 14.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Разработка лекарственных форм седативного действия является актуальной задачей фармацевтической технологии в виду распространенности заболеваний нервной системы. Пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой в комбинации с глицином оказывают седативное и анксиолитическое действие, с чем связано улучшение психоэмоционального состояния. Учитывая состав и физико-химические особенности биологически активных веществ пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракта сухого необходим подбор вспомогательных веществ улучшающих его технологические свойства.

Цель. Разработка состава и технологии твердых желатиновых капсул содержащих пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой и глицин.

Материалы и методы. Объекты исследования – пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой (ООО «Казанский завод экстрактов», Россия), глицин (ОА «Биохимик», Россия). Вспомогательные вещества: пектин яблочный (ООО ТД «ХИММЕД», Россия), крахмал (ООО ТД «ХИММЕД», Россия), аэросил (ООО ТД «ХИММЕД», Россия), лактоза (ООО ТД «ХИММЕД», Россия), микрокристаллическая целлюлоза (ООО ТД «ХИММЕД», Россия), магния карбонат основной (ООО ТД «ХИММЕД», Россия), магния оксид (ООО ТД «ХИММЕД», Россия).

Результаты и обсуждение. Обоснованы состав и технология получения капсул содержащих пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой и глицин. Определены показатели качества пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракта сухого в комбинации с глицином и разработанных капсул.

Заключение. Разработан состав капсул пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракта сухого и глицина, подобраны вспомогательные вещества, обеспечивающие удовлетворительные технологические свойства массы для наполнения капсул.

Ключевые слова: пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой, глицин, капсулы, технология получения

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

Вклад авторов. О. А. Олешко и Е. А. Замахаева разработали эксперимент. М. М. Смирнова участвовала в обработке данных. Е. А. Замахаева и М. В. Чиркова провели исследование и теоретические расчеты. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Замахаева Е. А., Смирнова М. М., Олешко О. А., Чиркова М. В. Разработка состава и технологии капсул, содержащих пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой и глицин. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):53–58. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1610](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1610)

Development of the Composition and Technology of Capsules Containing Peony Evadant Rhizomes and Roots Dry extract and Glycine

Ekaterina A. Zamakhaeva✉, Marina M. Smirnova, Olga A. Oleshko, Maria V. Chirkova

¹ 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: Ekaterina A. Zamakhaeva. E-mail: eka0_0@rambler.ru

ORCID: Ekaterina A. Zamakhaeva – <https://orcid.org/0000-0003-2298-7283>; Marina M. Smirnova – <https://orcid.org/0000-0002-0992-5152>;
Olga A. Oleshko – <https://orcid.org/0000-0001-9211-0116>; Maria V. Chirkova – <https://orcid.org/0009-0007-2515-2210>.

Received: 13.10.2023

Revised: 14.12.2023

Published: 27.12.2023

© Замахаева Е. А., Смирнова М. М., Олешко О. А., Чиркова М. В., 2023

© Zamakhaeva E. A., Smirnova M. M., Oleshko O. A., Chirkova M. V., 2023

Abstract

Introduction. The development of dosage forms of sedative action is an urgent task of pharmaceutical technology in view of the prevalence of diseases of the nervous system. Peony rhizomes and roots dry extract in combination with glycine have a sedative and anxiolytic effect, which is associated with an improvement in the psycho-emotional state. Taking into account the physicochemical characteristics and composition of biologically active substances of peony rhizomes and dry extract roots, it is necessary to select auxiliary substances that improve its technological properties.

Aim. Development of the composition and technology of hard gelatin capsules containing dry peony rhizomes and roots, dry extract and glycine.

Materials and methods. Objects of research – dry peony rhizomes and roots (LLC "Kazan Extract Plant", Russia), glycine (JSC "Biokhimik", Russia). Excipients: apple pectin (LLC TD "HIMMED", Russia), starch (LLC TD "HIMMED", Russia), aerosil (LLC TD "HIMMED", Russia), lactose (LLC TD "HIMMED", Russia), microcrystalline cellulose (LLC TD "HIMMED", Russia), basic magnesium carbonate (LLC TD "HIMMED", Russia), magnesium oxide (LLC TD "HIMMED", Russia).

Results and discussion. The composition and technology for obtaining capsules containing dry peony rhizomes and roots, dry extract and glycine, have been substantiated. The quality indicators of peony rhizomes and roots of dry extract in combination with glycine and developed capsules were determined.

Conclusion. The composition of capsules of peony rhizomes and roots of dry extract and glycine has been developed, auxiliary substances have been selected to ensure satisfactory technological properties of the mass for filling the capsules.

Keywords: peony rhizomes and roots dry extract, glycine, capsules, production technology

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. Olga A. Oleshko and Ekaterina A. Zamakhaeva developed an experiment. Marina M. Smirnova participated in data processing. Ekaterina A. Zamakhaeva and Maria V. Chirkova conducted a study and theoretical calculations. All authors participated in the discussion of the results and writing the text of the article.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Zamakhaeva E. A., Smirnova M. M., Oleshko O. A., Chirkova M. V. Development of the composition and technology of capsules containing peony evadant rhizomes and roots dry extract and glycine. *Drug development & registration*. 2023;12(4-1):53–58. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1610](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1610)

ВВЕДЕНИЕ

Разработка лекарственных форм седативного действия является актуальной задачей фармацевтической технологии в виду распространенности заболеваний нервной системы, низкого индекса обновления (0,11) лекарственных препаратов седативного действия на отечественном рынке¹. Учитывая сочетание мягкого и вместе с тем клинически значимого фармакологического эффекта, безопасности, хорошей переносимости и доступности большинства растительных лекарственных препаратов, возможность эффективной фитотерапии заболеваний нервной системы является перспективной. Лекарственные формы пиона уклоняющегося корневищ и корней (*Paeoniae anomalaе rhizomata et radix*) представлены настойками разных производителей (88,9 %), и таблетками (11,1 %). В качестве биологически активных добавок зарегистрировано растительное сырье неофициальных видов семейства Пионовые (*Paeoneiaceae*) [1].

¹ Здравоохранение в России. 2019. Доступно по: <https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Zdravoohran-2019.pdf> Ссылка активна на 19.09.2023.

Пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой в комбинации с глицином оказывают седативное [2–8] и анксиолитическое действие [9–13], с чем связано улучшение психоэмоционального состояния.

Учитывая состав и физико-химические особенности биологически активных веществ пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракта сухого необходимо подбор вспомогательных веществ улучшающих его технологические свойства [14].

Целью работы является разработка состава и технологии твердых желатиновых капсул содержащих пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой и глицин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования

Пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой (ООО «Казанский завод экстрактов», Россия) – тонкодисперсный, аморфный порошок, желто-коричневого цвета, получен методом вакуумной экстракции (40–50 °С) хорошо растворим в воде, глицерине и спирте этиловом, гигроскопичен, ком-

куется. Глицин (ОА «Биохимик», Россия) – бесцветный кристаллический порошок, легко растворим в воде.

Вспомогательные вещества: пектин яблочный (ООО «ТД ХИММЕД», Россия), крахмал (ООО «ТД ХИММЕД», Россия), аэросил (ООО «ТД ХИММЕД», Россия), лактоза (ООО «ТД ХИММЕД», Россия), микрокристаллическая целлюлоза (ООО «ТД ХИММЕД», Россия), магния карбонат основной (ООО «ТД ХИММЕД», Россия), магния оксид (ООО «ТД ХИММЕД», Россия).

Оборудование

Прибор для определения сыпучести ВП-12А (Россия), комплект сит лабораторных ООО «ВИБРОТЕХНИК» (Россия), анализатор влажности AND (Япония).

На начальном этапе установлены технологические свойства пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракта сухого и смеси экстракта с глицином. Изучен ассортимент фармацевтического рынка вспомогательных веществ, их влияние на технологические свойства разрабатываемых лекарственных форм [15–17]. Вспомогательные вещества выбраны исходя из экономической доступности, и способности влиять на гигроскопичность используемых субстанций.

Технологические свойства субстанций и масс для наполнения капсул исследовали согласно требованиям, указанным в ГФ XV РФ¹:

- описание (внешний вид определяли органолептически);
- сыпучесть, угол естественного откоса (ОФС.1.4.2.0016 «Сыпучесть порошков»²);
- насыпная плотность до и после уплотнения, коэффициент Хауснера, коэффициент прессуемости (ОФС.1.4.2.0016 «Сыпучесть порошков»);
- влажность (ОФС.1.2.1.0010 «Потеря в массе при высушивании»³);
- гигроскопичность (ОФС.1.1.0042 «Определение гигроскопичности»⁴);

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> Ссылка активна на 10.09.2023.

² Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. Сыпучесть порошков. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/sypuchest-poroshkov/> Ссылка активна на 10.09.2023.

³ Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. Потеря в массе при высушивании. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/poterya-v-masse-pri-vysushivanii/> Ссылка активна на 10.09.2023.

⁴ Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. Определение гигроскопичности. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/opredelenie-gigroskopichnosti/> Ссылка активна на 10.09.2023.

- фракционный состав методом сухого просеивания (ОФС.1.4.2.0032 «Ситовой анализ»⁵).

Для статистической обработки результатов использовали метод обобщенной функции желательности Харрингтона (ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний»⁶).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью изучения технологических свойств пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракта сухого и смеси с глицином определены их технологические характеристики, представленные в таблице 1.

Полученные данные свидетельствуют о том, что смесь пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракта сухого и глицина обладает неудовлетворительными технологическими характеристиками, поэтому при разработке масс для капсулирования целесообразно добавлять вспомогательные вещества.

Для обеспечения однородности заполнения капсул, улучшения сыпучести и снижения гигроскопичности предложено одиннадцать составов, представленных в таблице 2.

Выбор оптимального состава для капсулирования осуществлялся на основании определения их технологических характеристик. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 3.

Из результатов исследования следовало, что составы 5, 9, 10 и 11 обладали удовлетворительной сыпучестью, меньший угол естественного откоса имели композиции 3, 5 и 11. Составы под номерами 1, 2, 4, 5, 6, 7, 10, 11 по насыпной плотности входили в группу средних порошков, составы под номерами 3, 8 – в группу легких порошков, что влияло на показатели сыпучести и однородность заполнения при фасовке массы в капсулы.

Выбор состава для наполнения капсул осуществляли с помощью метода обобщенной функции желательности Харрингтона, путем составления шкалы желательности, все составы показали результаты, не выше «удовлетворительного». Оптимальными технологическими характеристиками обладал состав для наполнения капсул № 10, включающий следующие вспомогательные вещества: крахмал

⁵ Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. Ситовой анализ. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/sitovoy-analiz/> Ссылка активна на 10.09.2023.

⁶ Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/statisticheskaya-obrabotka-rezultatov-fizicheskikh-fiziko-khimicheskikh-i-khimicheskikh-ispytaniy/> Ссылка активна на 10.09.2023.

Таблица 1. Технологические характеристики пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракта сухого и смеси с глицином
Table 1. Technological characteristics of peony rhizomes and roots of dry extract and mixture with glycine

Технологические характеристики Technological characteristics	Пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой Peony rhizomes and roots dry extract	Смесь пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракта сухого с глицином A mixture of peony rhizomes and roots of dry extract with glycine
Сыпучесть, г/с Looseness, g/s	Неудовлетворительная Unsatisfactory	Неудовлетворительная Unsatisfactory
Угол естественного откоса, ° Angle of repose, °	–	–
Насыпная плотность до уплотнения, г/мл Bulk density before compaction, g/ml	0,483 ± 0,050	0,555 ± 0,020
Насыпная плотность после уплотнения, г/мл Bulk density after compaction, g/ml	0,600 ± 0,040	0,681 ± 0,050
Коэффициент прессуемости Compressibility coefficient	24,0	19,0
Индекс Хауснера, г/мл Hausner index, g/ml	1,242	1,223
Влажность, % Humidity, %	3,80 ± 0,09	2,60 ± 0,30

Таблица 2. Составы для наполнения капсул
Table 2. Compositions for filling capsules

Компоненты Components	№ состава № composition										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой Peony rhizomes and roots dry extract	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Глицин Glycine	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Вспомогательные вещества Excipients											
Крахмал картофельный Potato starch			1,0							0,25	
Аэросил Aerosil			0,25					0,25			
Лактозы моногидрат Lactose monohydrate							0,25				
МКЦ Microcrystalline cellulose									0,25	0,5	0,25
Магния карбонат Magnesium carbonate	0,25					0,25	0,25				0,25
Магния оксид Magnesium oxide	0,25				0,25						
Пектин яблочный Apple pectin		0,25		0,5	0,25	0,25		0,25	0,25	0,25	

картофельный, пектин яблочный и микрокристаллическую целлюлозу.

С целью улучшения технологических показателей смеси для капсулирования была проведена грануляция состава № 10 методом влажного гранулирования. Выбор оптимального состава для наполнения капсул проводили путем определения технологических показателей полученных составов. Как пока-

зали исследования, гранулы, обладающие хорошей сыпучестью, были получены при использовании в качестве гранулирующей жидкости спирта этилового 70%-го, гигроскопичность (через 24 часа) полученного гранулята составила 3,7 %. В результате изучения фракционного состава, средний размер гранул составил 1–3 мм.

Таблица 3. Технологические характеристики масс для капсулирования разработанных составов

Table 3. Technological characteristics of masses for encapsulation of the developed compositions

№ состава № composition	Сыпучесть, г/с Looseness, g/s	Угол естественного откоса, % Angle of repose, °	Насыпная плотность Bulk density		Индекс Хауснера, г/мл Hausner index, g/ml	Коэффициент прессуемости Compressibility coefficient
			до уплотнения, г/мл before compaction, g/ml	после уплотнения, г/мл after compaction, g/ml		
1	1,81 ± 0,03	30,0 ± 1,6	0,500 ± 0,100	0,667 ± 0,075	1,334	25,0
2	2,42 ± 0,20	24,3 ± 1,1	0,583 ± 0,098	0,875 ± 0,245	1,501	33,33
3	2,89 ± 0,01	18,3 ± 2,8	0,393 ± 0,098	0,550 ± 0,285	1,399	28,57
4	2,24 ± 0,03	25,1 ± 1,2	0,667 ± 0,093	1,0 ± 0,148	1,499	33,33
5	4,23 ± 0,01	11,6 ± 2,8	0,500 ± 0,127	0,660 ± 0,178	1,32	25,0
6	2,79 ± 0,01	21,0 ± 3,6	0,500 ± 0,169	0,667 ± 0,108	1,334	25,0
7	2,99 ± 0,01	25,3 ± 0,5	0,500 ± 0,079	0,667 ± 0,093	1,334	25,0
8	2,16 ± 0,02	21,3 ± 3,5	0,285 ± 0,147	0,400 ± 0,174	1,41	28,57
9	3,26 ± 0,01	25,3 ± 0,5	0,667 ± 0,107	0,875 ± 0,220	1,199	16,67
10	4,57 ± 0,01	22,8 ± 3,3	0,625 ± 0,201	0,833 ± 0,010	1,333	25,0
11	3,55 ± 0,01	19,6 ± 3,8	0,667 ± 0,105	1,0 ± 0,197	1,499	33,33

Таким образом, на основании проведенных исследований предложен состав твердой дозированной лекарственной формы – капсул пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракта сухого с глицином (таблица 4). Разработанный состав для наполнения капсул обладал необходимыми технологическими характеристиками: сыпучесть 4,56 г/с, угол естественного откоса 29,67°, индекс Хауснера 1,108, насыпная плотность в свободном состоянии 0,370 г/мл и в уплотненном состоянии 0,410 г/мл.

Таблица 4. Состав содержимого капсулы

Table 4. The composition of the contents of the capsule

Наименование компонентов Name of components	Содержание в одной капсуле Contents per capsule	
	г	%
Пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракт сухой Peony rhizomes and roots dry extract	0,150	20,0
Глицин Glycine	0,300	40,0
Вспомогательные вещества: Excipients:		
Микрокристаллическая целлюлоза Microcrystalline cellulose	0,150	20,0
Пектин яблочный Apple pectin	0,075	10,0
Крахмал картофельный Potato starch	0,075	10,0
Итого: Total:	0,750	100,0

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения технологических свойств пиона уклоняющегося корневищ и корней экстракта сухого с глицином обоснован выбор вспомогательных веществ, метод гранулирования состава для на-

полнения капсул, оптимальное количество гранулирующей жидкости, разработан состав и технология капсул.

ЛИТЕРАТУРА

- Олейникова Т. А., Барыбина Е. С. Анализ полноты Российского рынка безрецептурных лекарственных средств для лечения невротических расстройств. *Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике*. 2022;26(4):308–311. DOI: 10.32687/1561-5936-2022-26-4-308-311.
- Peng W., Chen Y., Tumilty S., Liu L., Luo L., Yin H., Xie Y. Paeoniflorin is a promising natural monomer for neurodegenerative diseases via modulation of Ca²⁺ and ROS homeostasis. *Current Opinion in Pharmacology*. 2022;62:97–102. DOI: 10.1016/j.coph.2021.11.009.
- Tahmasebi E., Monsef-Esfahani H., Vazirian M., Sharafi-Badr P., Sharifzadeh M., Lamardi S.S. Anticonvulsant effects of Paeonia daurica subsp. macrophylla root extracts in pentylenetetrazol-induced seizure models in mice. *Neurologia*. 2021;176. DOI: 10.1016/j.nrl.2021.08.003.
- Feng Y., Jiang S., Yu H., Long X. Monoterpenoid glycosides from Paeonia lactiflora Pall. And their chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2022;105:104540. DOI: 10.1016/j.bse.2022.104540.
- Kong Y., Peng, Q., Lv N., Yuan J., Deng Z., Liang X., Wang L. Paeoniflorin exerts neuroprotective effects in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease via activation of adenosine A1 receptor. *Neuroscience Letters*. 2020;730:135016. DOI: 10.1016/j.neulet.2020.135016.
- Huan X. I. A., Zhang J. F., Ling-Yan W. A. N. G., Gui-Yang X. I. A., Ya-Nan W. A. N. G., Yu-Zhuo W. U., Sheng L. I. N. Bioactive neolignans and lignans from the roots of Paeonia lactiflora. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2022;20(3):210–214. DOI: 10.1016/S1875-5364(22)60164-X.
- Zhang S., Zhang J., Zhang X., Lv P., Guo S. The protective effect of total glucosides of white paeony capsules on experimental autoimmune encephalomyelitis. *Immunobiology*. 2023;228(2). DOI: 10.1016/j.imbio.2022.152313.
- Kumar P., Osahon O. W., Sekhar R. V. GlyNAC (glycine and N-acetylcysteine) supplementation in mice increases length of life by correcting glutathione deficiency, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, abnormalities in mitophagy and nutrient sensing, and genomic damage. *Nutrients*. 2022;14(5):1114. DOI: 10.1016/j.adaj.2021.11.002.

9. Fone K. C., Watson D. J., Billiras R. I., Sicard D. I., Dekeyne A., Rivet J. M., Millan M. J. Comparative pro-cognitive and neurochemical profiles of glycine modulatory site agonists and glycine reuptake inhibitors in the rat: potential relevance to cognitive dysfunction and its management. *Molecular neurobiology*. 2020;57:2144–2166. DOI: 10.1007/s12035-020-01875-9.
10. Cai C. C., Zhu J. H., Ye L. X., Dai Y. Y., Fang M. C., Hu Y. Y., Lin Z. L. Glycine Protects against Hypoxic-Ischemic Brain Injury by Regulating Mitochondria-Mediated Autophagy via the AMPK Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;1–29. DOI: 10.1155/2019/4248529.
11. McCarty M. F., Iloki-Assanga S., Lujan L. M. L., DiNicolantonio J. J. Activated glycine receptors may decrease endosomal NADPH oxidase activity by opposing CLC-3-mediated efflux of chloride from endosomes. *Medical Hypotheses*. 2019;123:125–129. DOI: 10.1016/j.mehy.2019.01.012. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.11.008>.
12. Johnson A. A., Cuellar T. L. Glycine and aging: Evidence and mechanisms. *Ageing Research Reviews*. 2023;87:10–19. DOI: 10.1016/j.arr.2023.101922.
13. Caorui L., Gang H., Hanhan N., Jun S., Ning R., Xianfu Y., Yiqi S., HaiFang Y. Glycine enhances satellite cell proliferation, cell transplantation, and oligonucleotide efficacy in dystrophic muscle. *Molecular Therapy*. 2020;28(5):1339–1358. DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.03.003.
14. Mudric J., Jelena Arsenijevic J., Maksimovic Z., Ibric S., Gopcevic K., Duris J. Tablet and capsule formulations incorporating high doses of a dry optimized herbal extract: The case of *Satureja kitaibelii*. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2021;66:102776. DOI: 10.1016/j.jddst.2021.102776.
15. Стрелкова А. В., Каухова И. Е. Подходы к разработке состава твердых лекарственных форм с сухими экстрактами. *Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения*. 2020;286–292. DOI: 10.52101/9785870190921_2021_8_286.
16. Джавахан М. А., Токарева М. Г., Прожогина Ю. Э., Каленикова Е. И. Разработка капсул «Седофлав», стандартизация и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(3):118–127. DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-118-127.
17. Семёнова Н. Н., Компанцев Д. В., Шаталова Т. А., Мичник Л. А., Хаджиева З. Д. Разработка технологии гранул на основе полифракционного экстракта листьев Альфредии поникшей (*Alfredia cernua* L.). *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2022;24(2): 47–55. DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-2-47-55.
7. Zhang S., Zhang J., Zhang X., Lv P., Guo S. The protective effect of total glucosides of white peony capsules on experimental autoimmune encephalomyelitis. *Immunobiology*. 2023;228(2). DOI: 10.1016/j.imbio.2022.152313.
8. Kumar P., Osahon O. W., Sekhar R. V. GlyNAC (glycine and N-acetylcysteine) supplementation in mice increases length of life by correcting glutathione deficiency, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, abnormalities in mitophagy and nutrient sensing, and genomic damage. *Nutrients*. 2022;14(5):1114. DOI: 10.1016/j.adaj.2021.11.002.
9. Fone K. C., Watson D. J., Billiras R. I., Sicard D. I., Dekeyne A., Rivet J. M., Millan M. J. Comparative pro-cognitive and neurochemical profiles of glycine modulatory site agonists and glycine reuptake inhibitors in the rat: potential relevance to cognitive dysfunction and its management. *Molecular neurobiology*. 2020;57:2144–2166. DOI: 10.1007/s12035-020-01875-9.
10. Cai C. C., Zhu J. H., Ye L. X., Dai Y. Y., Fang M. C., Hu Y. Y., Lin Z. L. Glycine Protects against Hypoxic-Ischemic Brain Injury by Regulating Mitochondria-Mediated Autophagy via the AMPK Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;1–29. DOI: 10.1155/2019/4248529.
11. McCarty M. F., Iloki-Assanga S., Lujan L. M. L., DiNicolantonio J. J. Activated glycine receptors may decrease endosomal NADPH oxidase activity by opposing CLC-3-mediated efflux of chloride from endosomes. *Medical Hypotheses*. 2019;123:125–129. DOI: 10.1016/j.mehy.2019.01.012. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.11.008>.
12. Johnson A. A., Cuellar T. L. Glycine and aging: Evidence and mechanisms. *Ageing Research Reviews*. 2023;87:10–19. DOI: 10.1016/j.arr.2023.101922.
13. Caorui L., Gang H., Hanhan N., Jun S., Ning R., Xianfu Y., Yiqi S., HaiFang Y. Glycine enhances satellite cell proliferation, cell transplantation, and oligonucleotide efficacy in dystrophic muscle. *Molecular Therapy*. 2020;28(5):1339–1358. DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.03.003.
14. Mudric J., Jelena Arsenijevic J., Maksimovic Z., Ibric S., Gopcevic K., Duris J. Tablet and capsule formulations incorporating high doses of a dry optimized herbal extract: The case of *Satureja kitaibelii*. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2021;66:102776. DOI: 10.1016/j.jddst.2021.102776.
15. Strelkova A. V., Kauxova I. E. Approaches to developing the composition of solid dosage forms with dry extracts. *Sovremennye tendentsii razvitiya tekhnologii zdorov'esberezheniya*. 2020;286–292. (In Russ.) DOI: 10.52101/9785870190921_2021_8_286.
16. Dzhavakhyan M. A., Tokareva M. G., Prozhogina Yu. E., Kalenikova E. I. Pharmaceutical Development of «Sedoflav» Capsules, Standardization and Validation of Flavonoids Assay Methods. *Drug development & registration*. 2020;9(3):118–127. (In Russ.) DOI:10.33380/2305-2066-2020-9-3-118-127.
17. Semenova N. N., Kompantsev D. V., Shatalova T. A., Michnik L. A., Hadzhieva Z. D. Development of the technology of granules with the polyfraction extract *Alfredia drooping* (*Alfredia cernua* L.) *Medical & pharmaceutical journal "Pulse"*. 2022;24(2):47–55. (In Russ.) DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-2-47-55.

REFERENCES

1. Oleynikova T. A., Barybina E. S. Analysis of the completeness of the russian market of over-the-counter medicines for the treatment of neurotic disorders. *Remedium*. 2022;26(4):308–311. (In Russ.) DOI: 10.32687/1561-5936-2022-26-4-308-311.
2. Peng W., Chen Y., Tumilty S., Liu L., Luo L., Yin H., Xie Y. Paeoniflorin is a promising natural monomer for neurodegenerative diseases via modulation of Ca²⁺ and ROS homeostasis. *Current Opinion in Pharmacology*. 2022;62:97–102. DOI: 10.1016/j.coph.2021.11.009.
3. Tahmasebi E., Monsef-Esfahani H., Vazirian M., Sharafi-Badr P., Sharifzadeh M., Lamardi S. S. Anticonvulsant effects of *Paeonia daurica* subsp. *macrophylla* root extracts in pentylenetetrazol-induced seizure models in mice. *Neurologia*. 2021;176. DOI: 10.1016/j.nrl.2021.08.003.
4. Feng Y., Jiang S., Yu H., Long X. Monoterpenoid glycosides from *Paeonia lactiflora* Pall. And their chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2022;105:104540. DOI: 10.1016/j.bse.2022.104540.
5. Kong Y., Peng, Q., Lv N., Yuan J., Deng Z., Liang X., Wang L. Paeoniflorin exerts neuroprotective effects in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease via activation of adenosine A1 receptor. *Neuroscience Letters*. 2020;730:135016. DOI: 10.1016/j.neulet.2020.135016.
6. Huan X. I. A., Zhang J. F., Ling-Yan W. A. N. G., Gui-Yang X. I. A., Ya-Nan W. A. N. G., Yu-Zhuo W. U., Sheng L. I. N. Bioactive neolignans and lignans from the roots of *Paeonia lactiflora*. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2022;20(3):210–214. DOI: 10.1016/S1875-5364(22)60164-X.

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1612](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1612)
УДК 615.453.42/578.81



Оригинальная статья / Research article

Фармацевтико-технологические исследования по разработке оптимального состава антибактериального препарата Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) капсулы

Н. А. Ковязина✉, А. М. Николаева, Е. В. Орлова

¹ 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: Ковязина Наталья Анатольевна. E-mail: natanat.pgfa@gmail.com

ORCID: Н. А. Ковязина – <https://orcid.org/0000-0001-6660-1165>; А. М. Николаева – <https://orcid.org/0000-0002-3160-518X>;
Е. В. Орлова – <https://orcid.org/0000-0003-0401-2546>.

Статья поступила: 16.10.2023

Статья принята в печать: 18.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. В настоящее время широко применяются жидкие комбинированные лечебно-профилактические бактериофаги, выпускаемые различными производителями. С целью расширения российского рынка высокоэффективными антибактериальными фагопрепаратами актуальным является разработка твердых дисперсных лекарственных форм бактериофагов в виде твердых капсул.

Цель. Оптимизация состава биомассы для инкапсулирования антибактериального препарата Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) капсулы.

Материалы и методы. Объектом исследования для разработки капсулированного антибактериального препарата является жидкий комбинированный поливалентный бактериофаг Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный), представляющий смесь стерильных фильтратов шести фаголизатов бактерий *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, энтеропатогенных *Escherichia coli*. Фармацевтико-технологические испытания проводили в соответствии с ГФ. Гранулят исследовали по показателям: описание, насыпная плотность, сыпучесть. Твердые капсулы Секстафаг® по показателям: однородность массы, распадаемость, кислотоустойчивость бактериофагов в капсулах, растворение. Литическую активность бактериофагов оценивали методом Аппельмана. Оптимизацию состава лекарственного препарата Секстафаг® в виде капсул проводили с помощью обобщенной функции желательности Харрингтона.

Результаты и обсуждение. С целью оптимизации состава биомассы для инкапсулирования были составлены фармацевтические композиции, состоящие из комбинированного бактериофага Секстафаг® и вспомогательных веществ. Изучено влияние вспомогательных веществ на технологические показатели качества смесей и капсул модельных составов. Согласно эмпирической системе предпочтений (желательности) выявлено, что оптимальными фармацевтико-технологическими характеристиками (описание гранулята, насыпная плотность, сыпучесть, однородность массы капсул, распадаемость, литическая активность, кислотоустойчивость бактериофага, растворение) обладает модельный состав, содержащий комбинированный поливалентный секстафаг, метилцеллюлозу, сорбит, лактозу, пектин, натрия альгинат, кальция карбонат, магния стеарат. Оригинальность разработанного состава Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) в виде капсул подтверждена патентом РФ № 2660355 «Антибактериальная фармацевтическая композиция для перорального применения, содержащая бактериофаги». Препарат Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) капсулы, стабилен при хранении в течение 18 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

Заключение. В результате проведенных комплексных фармацевтико-технологических исследований с использованием функции желательности Харрингтона разработан оптимальный состав антибактериального препарата Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) в виде твердых капсул № 2.

Ключевые слова: капсулы, оптимизация, рецептура, Секстафаг®, фармацевтико-технологические испытания

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

Вклад авторов. Н. А. Ковязина – проведение основных этапов эксперимента фармацевтико-технологических и микробиологических исследований, анализ, интерпретация и обработка данных, написание статьи. А. М. Николаева – разработка концепции и дизайна фармацевтико-технологических и микробиологических исследований, анализ и интерпретация данных, написание статьи. Е. В. Орлова – анализ и интерпретация данных микробиологических исследований.

Для цитирования: Ковязина Н. А., Николаева А. М., Орлова Е. В. Фармацевтико-технологические исследования по разработке оптимального состава антибактериального препарата Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) капсулы. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):59–69. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1612](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1612)

Pharmaceutical-technological Studies on the Development of Optimal Composition of Antibacterial Preparation Sekstafag® (Piobacteriophage Polyvalent) Capsules

Natalia A. Kovyazina✉, Alevtina M. Nikolaeva, Ekaterina V. Orlova

© Ковязина Н. А., Николаева А. М., Орлова Е. В., 2023

© Kovyazina N. A., Nikolaeva A. M., Orlova E. V., 2023

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2, Poleyeva str., Perm, 614990, Russia

✉ Corresponding author: Natalia A. Kovyazina. E-mail: natanat.pgfa@gmail.com

ORCID: Natalia A. Kovyazina – <https://orcid.org/0000-0001-6660-1165>; Alevtina M. Nikolaeva – <https://orcid.org/0000-0002-3160-518X>; Ekaterina V. Orlova – <https://orcid.org/0000-0003-0401-2546>.

Received: 16.10.2023

Revised: 18.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Nowadays liquid combined therapeutic and prophylactic bacteriophages produced by various manufacturers are widely used. In order to expand the Russian market with highly effective antibacterial phagopreparations it is urgent to develop solid dispersed dosage forms of bacteriophages in the form of solid capsules.

Aim. Optimization of biomass composition for encapsulation of antibacterial drug Sekstafag® (Piobacteriophage polyvalent) capsules.

Materials and methods. The object of research for the development of encapsulated antibacterial drug is liquid combined polyvalent bacteriophage Sekstafag® (Piobacteriophage polyvalent), which is a mixture of sterile filtrates of six phagolysates of bacteria *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, enteropathogenic *Escherichia coli*. Pharmaceutical-technological tests were carried out according to GF. Granulate was investigated according to the following parameters: description, bulk density, friability. Solid capsules Sekstafag® were tested by the following parameters: mass uniformity, disintegration, acid resistance of bacteriophages in capsules, dissolution. The lytic activity of bacteriophages was evaluated by Appelman's method. Optimization of Sekstafag® drug formulation in the form of capsules was carried out using generalized Harrington's desirability function.

Results and discussion. In order to optimize the composition of biomass for encapsulation, pharmaceutical compositions consisting of combined bacteriophage Sekstafag® and auxiliary substances were prepared. The influence of excipients on the technological quality parameters of mixtures and capsules of model compositions was studied. According to the empirical system of preferences (desirability) it was revealed that the optimal pharmaceutical-technological characteristics (granulate description, bulk density, bulkiness, capsule mass uniformity, disintegrability, lytic activity, acid resistance of bacteriophage, dissolution) are possessed by the model composition containing combined polyvalent Sekstafag®, methylcellulose, sorbitol, lactose, pectin, sodium alginate, calcium carbonate, magnesium stearate. Originality of the developed composition Sekstafag® (Piobacteriophage polyvalent) in the form of capsules is confirmed by the patent of the Russian Federation № 2660355 "Antibacterial pharmaceutical composition for oral use containing bacteriophages". The drug Sekstafag® (Piobacteriophage polyvalent) capsules, is stable when stored for 18 months at temperatures from 2 to 8 °C.

Conclusion. As a result of the conducted complex pharmaceutical-technological research using Harrington's desirability function the optimal composition of antibacterial preparation Sekstafag® (Piobacteriophage polyvalent) in the form of hard capsules No. 2 was developed.

Keywords: capsules, optimization, formulation, Sekstafag®, pharmaceutical-technological tests

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. Natalia A. Kovyazina – carrying out the main stages of the experiment of pharmaceutical-technological and microbiological research, analysis, interpretation and processing of data, writing the article. Alevtina M. Nikolaeva – development of the concept and design of pharmaceutical-technological and microbiological research, data analysis and interpretation, article writing. Ekaterina V. Orlova – analysis and interpretation of microbiological research data.

For citation: Kovyazina N. A., Nikolaeva A. M., Orlova E. V. Pharmaceutical-technological studies on the development of optimal composition of antibacterial preparation Sekstafag® (Piobacteriophage polyvalent) capsules. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):59–69. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1612](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1612)

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на современные достижения мировой фармакологической промышленности в создании новых классов и групп антибиотиков, в последние годы наблюдается снижение их эффективности, что вызвано изменением генетического пула микроорганизмов под действием антибиотических веществ и,

как следствие, развитием антибиотикорезистентности [1–4]. Распространение лекарственной полирезистентности основных возбудителей раневых и кишечных инфекций, включая госпитальные условно-патогенные виды бактерий, возродило интерес клиницистов к фаготерапии [5–7]. Бактериофаги представляют собой вирусы, избирательно поражающие бактериальные клетки. Антибактериальный эффект

фагопрепаратов обусловлен внедрением генома фага в бактериальную клетку с последующим его размножением и лизисом инфицированной клетки. Вышедшие во внешнюю среду в результате лизиса бактериофаги повторно инфицируют и лизируют другие бактериальные клетки, действуя до полного уничтожения патогенных бактерий в очаге воспаления. Основными достоинствами препаратов бактериофагов являются высокая избирательная чувствительность к ним патогенной микрофлоры, сочетаемость со всеми видами традиционной антибактериальной терапии, отсутствие противопоказаний к применению.

В настоящее время в России активно применяются жидкие комбинированные лечебно-профилактические бактериофаги, выпускаемые различными производителями. Результаты клинического применения препаратов бактериофагов свидетельствуют о высокой эффективности, хорошей переносимости и безопасности [8–11].

С целью расширения российского рынка антибактериальных фагопрепаратов и повышения эффективности фагопрепаратов необходимо разрабатывать твердые дисперсные лекарственные формы бактериофагов в виде твердых желатиновых капсул [12, 13]. Капсулы – перспективная твердая дозированная лекарственная форма, имеющая ряд особенностей: хороший внешний вид, точность дозирования, обеспечивают стабильность бактериофагов, характеризуются высокой биологической доступностью, локализацию и пролонгацию эффекта, а также для придают препарату эстетичный товарный вид, удобны при транспортировке и хранении препарата [14, 15].

Цель исследования – оптимизация состава биомассы для инкапсулирования антибактериального комбинированного препарата Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) капсулы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объекты исследования:

1. Активная фармацевтическая субстанция (АФС) – жидкий комбинированный поливалентный бактериофаг Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный), представляющий смесь стерильных фильтратов шести фаголизатов бактерий *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. epidermidis*), *Streptococcus* (*St. pneumoniae*, *St. agalactiae*, *St. pyogenes*), *Proteus* (*P. vulgaris*, *P. mirabilis*), *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, энтеропатогенных *Escherichia coli*.
2. Вспомогательные вещества: метилцеллюлоза (Ph. Eur.), сорбитол (Ph. Eur.), лактоза многогидрат (молочный сахар) (Ph. Eur.), кальция карбонат (ГОСТ 4530-76), натрия альгинат (Ph. Eur.), пектин яблочный (ВФС 42-3433-99), магния стеарат (USP) (ТУ 6-09-161533-90), капсулы твердые желатиновые № 2 (производства «Cارسugel», Бельгия).

Методы

Фармацевтико-технологические испытания гранулята

Описание гранулята проводили визуально, оценивали однородность согласно ОФС.1.4.1.0004.15¹.

Насыпную плотность до и после уплотнения определяли согласно ОФС.1.4.2.0016.15² в градуированном цилиндре с встряхивающим устройством [16].

Коэффициент вибрационного уплотнения является фармацевтико-технологическим показателем порошка – критерием точности дозирования. Чем меньше коэффициент вибрационного уплотнения, тем выше точность дозирования [16]. Коэффициент вибрационного уплотнения определяли по насыпной плотности и рассчитывали по формуле:

$$K_v = (\rho_{\text{упл.}} - \rho) \div \rho,$$

где K_v – коэффициент вибрационного уплотнения; $\rho_{\text{упл.}}$ – насыпная плотность после уплотнения; ρ – насыпная плотность до уплотнения.

Сыпучесть определяли согласно ОФС.1.4.2.0016.15³ на вибрационном устройстве модели ВП-12А. с типовым размером выходного отверстия диаметр $15 \pm 0,01$ мм. Степень сыпучести гранулята оценивали по показателю скорость высыпания [16].

Фармацевтико-технологические испытания Секстафаг®, капсулы

Однородность массы капсул проводили весовым методом согласно ОФС 1.4.2.0009.15⁴ [16].

Распадаемость капсул определяли визуально согласно ОФС.1.4.1.0005.15⁵, ОФС 1.4.2.0013.15⁶ на при-

¹ ОФС.1.4.2.0016.15 «Гранулы». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-1-0004-15-granuly/?ysclid=lp6xithoh893701152>. Ссылка активна на 20.08.2023.

² ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0016-15-stepen-sypuchesti-poroshkov/?ysclid=lnb7imjo2u259900407>. Ссылка активна на 21.08.2023.

³ ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0016-15-stepen-sypuchesti-poroshkov/?ysclid=lnb7imjo2u259900407>. Ссылка активна на 21.08.2023.

⁴ ОФС 1.4.2.0009.15 «Однородность массы дозированных лекарственных форм». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/47/> Ссылка активна на 21.05.2023.

⁵ ОФС.1.4.1.0005.15 «Капсулы». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/47/> Ссылка активна на 21.05.2023.

⁶ ОФС 1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/47/> Ссылка активна на 21.05.2023.

боре лабораторном идентификаторе процесса распадаемости «Качающаяся корзинка» [16].

Кислотоустойчивость бактериофагов в капсулах определяли путем выдерживания образца твердой капсулы в течении 1 часа 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты с последующей нейтрализацией и определением специфической активности бактериофагов по методу Аппельмана согласно ОФС.1.7.1.0002.15¹ [16].

Растворение капсул определяли согласно ОФС.1.4.2.0014.15² на приборе «Вращающаяся корзинка». В качестве среды растворения использовали воду очищенную (37 ± 0,5) °С. Через 45 минут определяли специфическую активность бактериофагов по методу Аппельмана согласно ОФС.1.7.1.0002.15³.

Специфическую (литическую) активность препарата Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) проводили в соответствии с ОФС.1.7.1.0002.15⁴ по методу Аппельмана (отрицательная степень десятичного разведения от 10⁻¹ до 10⁻⁴, вызывающая полный лизис культуры)⁵. Одну капсулу растворяли в 20 мл стерильного бульона, взятом для титрования, при температуре (37 ± 1) °С. Для контроля использовали штаммы *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Proteus spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* различных серовариантов. Литическую активность оценивали визуально после инкубирования в течение 18–20 ч при 37 °С по величине отрицательной степени десятичного разведения от 10⁻¹ до 10⁻⁵, вызывающая полный лизис культуры. Проявление лизиса культур оценивали визуально и регистрировали по четырехкестной системе, выражая в баллах. Сопоставляя суммарное количество баллов в опытной и контрольной пробах

¹ ОФС.1.7.1.0002.15 «Бактериофаги лечебно-профилактические». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-7-1-0002-15-bakteriophagi-lechebno-profilakticheskie/?ysclid=lnb81v4wz97092787>. Ссылка активна на 20.08.2023.

² ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/47/> Ссылка активна на 21.05.2023.

³ ОФС.1.7.1.0002.15 «Бактериофаги лечебно-профилактические». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-7-1-0002-15-bakteriophagi-lechebno-profilakticheskie/?ysclid=lnb81v4wz97092787>. Ссылка активна на 20.08.2023.

⁴ ОФС.1.7.1.0002.15 «Бактериофаги лечебно-профилактические». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-7-1-0002-15-bakteriophagi-lechebno-profilakticheskie/?ysclid=lnb81v4wz97092787>. Ссылка активна на 20.08.2023.

⁵ Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза (утв. Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89). Доступно по: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71446406/#ixzz5lQNfBo8I>. Ссылка активна на 17.04.2021.

вычисляли процент сохранения активности фаговых компонентов и их среднее значение.

Оптимизацию состава антибактериального лекарственного препарата Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) капсулы проводили с помощью функции желательности Харрингтона [17–19]. Основой обобщения характеристик лекарственного препарата является преобразование натуральных значений частных параметров различной физической сущности и размерности в единую безразмерную шкалу желательности (предпочтительности). Назначение шкалы заключается в установлении соответствия между показателями качества и субъективными оценками желательности исследователя (предпочтительности). Соответствие между отношениями предпочтения в эмпирической и числовой системах представлены в таблице 1.

Таблица 1. Соответствие между отношениями предпочтения в эмпирической и числовой системах

Table 1. Correspondence between preference relations in empirical and numerical systems

Эмпирическая система предпочтений (желательность) Empirical preference system (desirability)	Наименование уровня эмпирической системы предпочтений Name of the level of the empirical system of preferences	Числовая система предпочтений Numerical preference system
Очень хорошо Very good	Высокий High	1,00 ÷ 0,80
Хорошо Fine	Выше среднего Above average	0,79 ÷ 0,64
Удовлетворительно Satisfactorily	Средний Average	0,63 ÷ 0,37
Плохо Badly	Сниженный Reduced	0,36 ÷ 0,20
Очень плохо Very bad	Низкий Short	0,19 ÷ 0,00

Числовая система предпочтений, представленная в таблице 1, является безразмерной шкалой желательности, разработанной Харрингтоном. Значения шкалы обозначаются d (от фр. *desirable* – желательный). Значение i -го частного отклика, переведенное в безразмерную шкалу желательности, обозначается d_i (i равно 1, 2, ..., n) и называется частной желательностью. Шкала желательности имеет интервал от нуля до единицы. Значение d_i равное 0, соответствует абсолютному неприемлемому уровню данного свойства, а значение d_i равное 1 – самому лучшему значению свойства. Значение d_i равное 0,37 обычно соответствует границе допустимых значений. Обобщенную функцию желательности (D) рассчитывают, как среднее геометрическое частных желательностей по формуле:

$$D = \sqrt[n]{d_1 \times d_2 \times \dots \times d_i \times \dots \times d_n}.$$

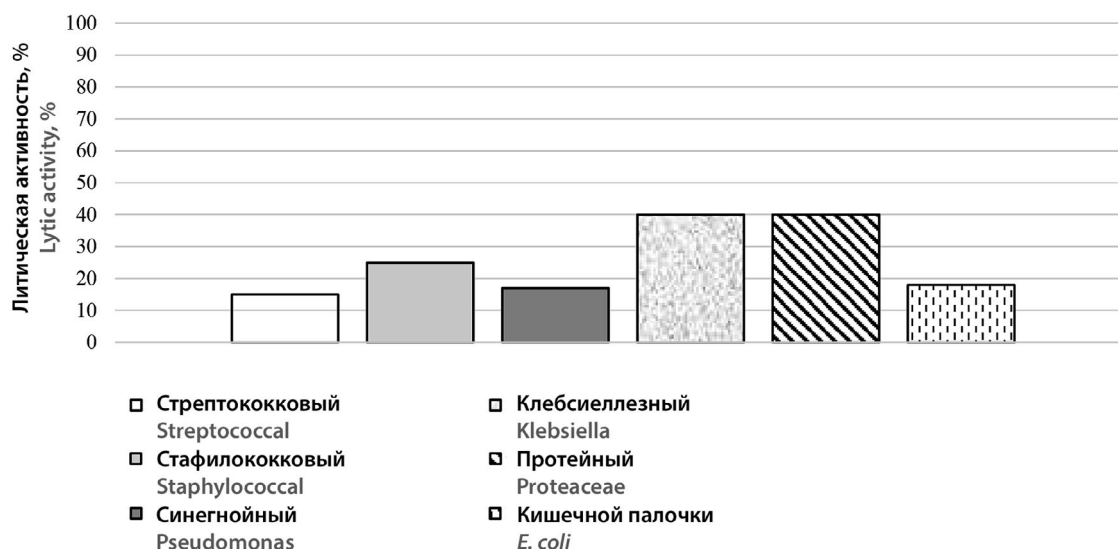


Рисунок 1. Кислотоустойчивость бактериофагов после воздействия 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты (титр 10^{-2})

Figure 1. Acid resistance of bacteriophages after exposure to 0.1 M hydrochloric acid solution (titer 10^{-2})

Стабильность специфической активности фагопрепарата, обеспечивающуюся сохранением достаточной концентрации фаговых частиц на протяжении регламентированного срока годности оценивали путем хранения разработанных капсул Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) в полимерном герметичном флаконе с навинчивающейся крышкой при температуре от +2 до +8 °C в течение 18 месяцев. Проверку показателей качества препарата при долгосрочных испытаниях проводили через каждые 3 месяца, определяя специфическую активность¹ по методу Аппельмана согласно ОФС.1.7.1.0002.15².

Статистическую обработку результатов обобщали и анализировали в соответствии с ОФС.1.1.0013.15³. Компьютерная обработка проводилась с использованием электронных таблиц Excel и программы BioStat для Windows, версия 4.03.

¹ Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза (утв. Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89). Доступно по: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71446406/#ixzz5IQNfBo8I>. Ссылка активна на 17.04.2021.

² ОФС.1.7.1.0002.15 «Бактериофаги лечебно-профилактические». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-7-1-0002-15-bakteriophagi-lechebno-profilakticheskie/?ysclid=lnb81v4wz97092787>. Ссылка активна на 20.08.2023.

³ ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/47/> Ссылка активна на 21.05.2023.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Твердые лекарственные формы бактериофагов требуют интегрированного подхода к конструированию оптимальной лиофилизированной композиции референтного антибактериального лекарственного препарата Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) капсулы, обеспечивающей необходимые фармацевтико-технологические и биофармацевтические свойства, так как бактериофаги лабильны к действию технологических факторов производства: инактивируются при взаимодействии с вспомогательными веществами, при воздействии электро-магнитного излучения, при механическом воздействии оборудованием (перемешивание, протирание, вибрации) лабильны к высушиванию и прочее [20, 21].

Оценка кислотоустойчивости жидкого комбинированного препарата Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) «*in vitro*» воздействием в течение 1 ч 0,1 М хлористоводородной кислоты выявила падение специфической активности всех компонентов комплексного бактериофага более, чем в 1 000 000 раз (рисунок 1).

Первостепенной задачей при разработке сухих твердых лекарственных форм бактериофагов является стабилизация фагов в фармацевтической композиции. С целью создания биомассы для инкапсулирования, содержащей комбинированный бактериофаг использовали поликомпонентный состав вспомогательных веществ, способный стабилизировать лабильные компоненты бактериофага, обеспечить желудочную резистентность бактериофага и дезинтеграцию лекарственной формы в биологических жидкостях [20–22].

Для создания твердой дисперсной системы изменяли смеси матрицеобразующих и кристаллических наполнителей. Матрицеобразующие компоненты (метилцеллюлоза, натрия альгинат, пектин яблочный) иммобилизуют комбинированный бактериофаг защитной полимерной оболочкой и улучшают дезинтегрирующие свойства [23, 24]. Кристаллические наполнители: сорбитол и лактоза моногидрат являются источником питательных веществ, а кальция карбонат основной обеспечивает биопротекторный эффект при сушке бактериофагов [25, 26].

Модельные составы биомассы для инкапсулирования представлены в таблице 2.

Твердую дисперсную систему комбинированного бактериофага Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный), получали методом «удаления растворителя». Стерильные фильтраты фаголизатов комплексных поливалентных бактериофагов с титром не менее 10^{-5} концентрировали в 10–100 раз с помощью мембранной ультрафильтрации до титра по Апфельману не менее 10^{-6} , подвергали стерилизующей фильтрации через микропористые мембраны (капсулы) с размером пор 0,45; 0,2 мкм. Для получения модельных составов капсул Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) отмеривали необходимое количество комбинированного бактериофага и отвешивали вспомогательные вещества по соответствующим прописям (см. таблицу 2). Целевые добавки перед введением в бактериофаг предварительно стерилизовали в сушильно-стерилизационном шкафу. Жидкий бактериофаг гомогенизировали со вспомогательными веществами (метилцеллюлоза, сорби-

тол, лактоза моногидрат), а затем смешиванием с кальция карбонатом основным, натрия альгинатом, пектином яблочным. Полученную биомассу выкладывали в кассеты и удаляли растворитель путем лиофильной сушки в сублимационной установке до влажности 1–4 %. Твердую дисперсную биомассу с комбинированным бактериофагом гранулировали, опудривали стерильной массой целевых добавок (вспомогательных антифрикционных веществ – магния стеарата), тщательно перемешивали, инкапсулировали в твердые капсулы, капсулы обеспыливали.

Параметрами оптимизации модельных составов биомассы с комбинированным бактериофагом служили фармацевтико-технологические характеристики гранулята Секстафаг® для инкапсулирования – [описание (d_1), насыпная плотность (d_2), коэффициент вибрационного уплотнения (d_3), сыпучесть (d_4)] и фармацевтико-технологические характеристики твердых капсул Секстафаг® [однородность массы капсул (d_5), распадаемость (d_6), исходная литическая активность бактериофага в капсулах (d_7), кислотоустойчивость бактериофага в капсулированной фармацевтической композиции (d_8), растворение (d_9)] (таблица 3).

По внешнему виду гранулированные модельные составы представляли собой сыпучие порошки белосерого или серовато-бежевого цвета. При рассмотрении невооруженным глазом однородную структуру наблюдали у порошков модельных составов № 3, 4, 7, 8, 11, 12, 15, 16. Анализ компонентов рецептуры фармацевтических композиции Секстафаг® показал, что однородную структуру грануляту придает наличие натрия альгината.

Таблица 2. Рецепт формулы фармацевтических композиций Секстафаг®

Table 2. Formulation of pharmaceutical compositions Sekstafag®

№ состава Composition No.	Вспомогательные вещества Excipients							АФС AFS
	Метилцеллюлоза Methylcellulose	Лактоза Lactose	Сорбит Sorbitol	Кальция карбонат Calcium carbonate	Натрия альгинат Sodium alginate	Пектин яблочный Apple pectin	Магния стеарат Magnesium stearate	Секстафаг Sekstafag
1				96,00			1,00	3,00
2				94,00		2,00	1,00	3,00
3				91,00	5,00		1,00	3,00
4				89,00	5,00	2,00	1,00	3,00
5	2,00			94,00			1,00	3,00
6	2,00			91,00		2,00	1,00	3,00
7	2,00			88,00	5,00		1,00	3,00
8	2,00			87,00	5,00	2,00	1,00	3,00
9		30,00	5,00	61,00			1,00	3,00
10		30,00	5,00	59,00		2,00	1,00	3,00
11		30,00	5,00	56,00	5,00		1,00	3,00
12		30,00	5,00	54,00	5,00	2,00	1,00	3,00
13	2,00	30,00	5,00	59,00			1,00	3,00
14	2,00	30,00	5,00	57,00		2,00	1,00	3,00
15	2,00	30,00	5,00	54,00	5,00		1,00	3,00
16	2,00	30,00	5,00	52,00	5,00	2,00	1,00	3,00

Таблица 3. Влияние рецептуры твердой фармацевтической композиции на фармацевтико-технологические характеристики капсул Секстафак®

Table 3. Effect of the formulation of a solid pharmaceutical composition on the pharmaceutical and technological characteristics of Sekstafag® capsules

№ состава Composition No.	Фармацевтико-технологические характеристики Pharmaceutical and technological characteristics									Желательность (D) Desirability (D)
	Гранулят Секстафак® Sekstafag® granulate				Твердые капсулы Секстафак® Sekstafag® hard capsules					
	Описание гранулята Description of granulate	Насыпная плотность, (X ± ΔX) г/мл Bulk density, (X ± ΔX) g/ml	Коэффициент вибрационного уплотнения Vibration compaction coefficient	Сыпучесть Flowability	Однородность массы капсул Uniformity of capsule mass	Распадаемость, мин Disintegration, min	ЛА, (титр 10 ⁻³ -10 ⁻⁴), % LA, (titer 10 ⁻³ -10 ⁻⁴), %	ЛА после воздействия кислоты, (титр 10 ⁻² -10 ⁻³), % LA after exposure to acid, (titer 10 ⁻² -10 ⁻³), %	Растворение, % Dissolution, %	
	d ₁	d ₂	d ₃	d ₄	d ₅	d ₆	d ₇	d ₈	d ₉	
1	Неоднородный Heterogeneous	0,720 ± 0,015	0,16	1,8 ± 0,6	0 из 20 0 out of 20	<30	54,1	24,3	100	0,00 Очень плохо Very bad
	0,00	0,00	0,53	0,21	1,00	1,00	0,18	0,00	1,00	
2	Неоднородный Heterogeneous	0,540 ± 0,016	0,28	3,5 ± 0,4	0 из 20 0 out of 20	<30	28,3	52,8	92	0,00 Очень плохо Very bad
	0,00	0,64	0,18	0,41	1,00	1,00	0,00	0,06	1,00	
3	Однородный Homogeneous	0,585 ± 0,015	0,22	5,8 ± 0,5	0 из 20 0 out of 20	>30	29,5	41,5	40	0,00 Очень плохо Very bad
	1,00	0,64	0,35	0,67	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
4	Однородный Homogeneous	0,635 ± 0,014	0,16	7,6 ± 0,4	0 из 20 0 out of 20	>30	32,4	43,8	20	0,00 Очень плохо Very bad
	1,00	0,64	0,53	0,88	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	Неоднородный Heterogeneous	0,460 ± 0,016	0,32	3,1 ± 0,3	1 из 20 1 out of 20	<30	92,4	36,4	100	0,00 Очень плохо Very bad
	0,00	0,00	0,06	0,36	1,00	1,00	0,85	0,00	1,00	
6	Неоднородный Heterogeneous	0,510 ± 0,013	0,30	9,8 ± 3,0	1 из 20 1 out of 20	<30	72,2	66,1	95	0,00 Очень плохо Very bad
	0,00	0,00	0,12	1,00	1,00	1,00	0,43	0,32	1,00	
7	Однородный Homogeneous	0,530 ± 0,014	0,26	5,5 ± 0,4	0 из 20 0 out of 20	<30	53,8	38,9	75	0,00 Очень плохо Very bad
	1,00	0,00	0,24	0,64	1,00	1,00	0,08	0,00	1,00	
8	Однородный Homogeneous	0,635 ± 0,016	0,27	7,1 ± 0,5	0 из 20 0 out of 20	<30	66,2	52,7	80	0,00 Очень плохо Very bad
	1,00	0,64	0,21	0,83	1,00	1,00	0,32	0,05	1,00	
9	Неоднородный Heterogeneous	0,710 ± 0,014	0,18	3,2 ± 0,3	0 из 20 0 out of 20	<30	86,3	38,2	100	0,00 Очень плохо Very bad
	0,00	0,00	0,47	0,37	1,00	1,00	0,79	0,00	1,00	
10	Неоднородный Heterogeneous	0,566 ± 0,011	0,33	6,2 ± 0,8	0 из 20 0 out of 20	<30	95,2	78,2	95	0,00 Очень плохо Very bad
	0,00	0,64	0,03	0,72	1,00	1,00	0,90	0,77	1,00	
11	Однородный Homogeneous	0,590 ± 0,010	0,20	5,6 ± 0,9	1 из 20 1 out of 20	>30	90,6	86,1	60	0,00 Очень плохо Very bad
	1,00	0,64	0,41	0,65	1,00	0,00	0,81	0,73	0,00	
12	Однородный Homogeneous	0,612 ± 0,012	0,20	7,3 ± 0,7	1 из 20 1 out of 20	<30	89,1	89,6	80	0,80 Хорошо Fine
	1,00	0,64	0,41	0,85	1,00	1,00	0,79	0,79	1,00	
13	Неоднородный Heterogeneous	0,455 ± 0,015	0,34	9,0 ± 1,9	2 из 20 2 out of 20	<30	95,8	41,2	100	0,00 Очень плохо Very bad
	0,00	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00	0,92	0,00	1,00	

№ состава Composition No.	Фармацевтико-технологические характеристики Pharmaceutical and technological characteristics									Желательность (D) Desirability (D)
	Гранулят Секстафаг® Sekstafag® granulate				Твердые капсулы Секстафаг® Sekstafag® hard capsules					
	Описание гранулята Description of granulate	Насыпная плотность, (X ± ΔX) г/мл Bulk density, (X ± ΔX) g/ml	Коэффициент вибрационного уплотнения Vibration compaction coefficient	Сыпучесть Flowability	Однородность массы капсул Uniformity of capsule mass	Распадаемость, мин Disintegration, min	ЛА, (титр 10 ⁻³ –10 ⁻⁴), % LA, (titer 10 ⁻³ –10 ⁻⁴), %	ЛА после воздействия кислоты, (титр 10 ⁻² –10 ⁻³), % LA after exposure to acid, (titer 10 ⁻² –10 ⁻³), %	Растворение, % Dissolution, %	
	d ₁	d ₂	d ₃	d ₄	d ₅	d ₆	d ₇	d ₈	d ₉	
14	Неоднородный Heterogeneous	0,462 ± 0,017	0,32	5,6 ± 0,5	2 из 20 2 out of 20	<30	88,7	79,8	92	0,00 Очень плохо Very bad
	0,00	0,00	0,06	0,65	1,00	1,00	0,78	0,60	1,00	
15	Однородный Homogeneous	0,484 ± 0,010	0,22	6,9 ± 0,4	1 из 20 1 out of 20	<30	83,6	76,3	65	0,00 Очень плохо Very bad
	1,00	0,00	0,35	0,80	1,00	1,00	0,69	0,51	0,00	
16	Однородный Homogeneous	0,627 ± 0,017	0,20	7,1 ± 0,5	1 из 20 1 out of 20	<30	95,3	96,9	95	0,84 Очень хорошо Very good
	1,00	0,64	0,41	0,83	1,00	1,00	0,91	0,94	1,00	

Показатель насыпной плотности биомассы модельных составов с уплотнением влияет на объем заполнения твердых желатиновых капсул. Для наполнения капсул биомассой для капсулирования использовали твердые желатиновые капсулы № 2 вместимостью 0,37 мл. Планируемая дозировка биомассы, эквивалентная 20 мл жидкого коммерческого препарат Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный), в 1 капсуле размером № 2 – 220 мг, что соответствует оптимальной насыпной плотности 0,595 г/мл с диапазоном ($0,536 \div 0,655$) г/мл. Согласно эмпирической системе предпочтений (желательности) по показателю насыпная плотность «хорошо» использовать модельные составы № 2, 3, 4, 8, 10, 11, 12, 16.

Коэффициент вибрационного уплотнения является технологическим показателем гранулята – критерием точности дозирования. Математический расчет показал удовлетворительную желательность использования модельных составов № 1, 4, 9, 11, 12, 15, 16.

Сыпучесть – это комплексная технологическая характеристика, характеризующая способность гранулята обеспечивать равномерное заполнение матричного канала, что влияет на точность дозирования и однородность массы капсул. Все модельные составы обладали сыпучестью. Согласно эмпирической системе предпочтений (желательности) по показателю сыпучесть «очень хорошо» использовать модельные составы № 4, 6, 8, 12, 13, 15, 16.

Фармацевтико-технологические испытания твердых капсул Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) по показателю «Однородность массы капсул» показали, что все модельные составы соответствуют требованиям ОФС 1.4.2.0009.15¹.

Изучение распадаемости твердых капсул модельных композиций, показало, что составы № 3, 4, 11 не способны дезинтегрировать в биологических жидкостях.

Литическая активность модельных фармацевтических композиций капсул Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) в разведении 10^3-10^4 варьировала от 28,3 до 95,8 % (таблица 3, рисунок 2). Исходная литическая активность в капсулах соответствовала желательности у составов № 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, содержащих сорбитол и лактозы моногидрат.

Изучение кислотоустойчивости комбинированного бактериофага Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) в разведении 10^2-10^3 показало варьирование литической активности от 24,3 до 96, % (таблица 3, рисунок 2). Согласно эмпирической системе предпочтений (желательности) по показателю кислотоустойчивость бактериофага в модельных композициях капсул, составы № 10, 11, 12, 14,

¹ ОФС 1.4.2.0009.15 «Однородность массы дозированных лекарственных форм». Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Доступно по: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/47/> Ссылка активна на 21.05.2023.

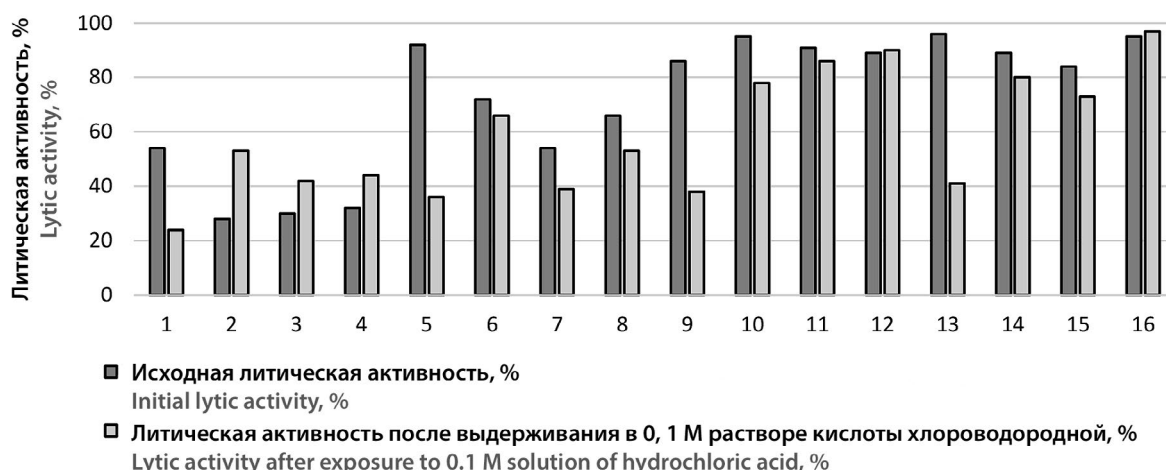


Рисунок 2. Литическая активность модельных композиций капсул Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный)

Figure 2. Lytic activity of model compositions of Sekstafag® capsules (Piobacteriophage polyvalent)

15, 16 придают желудочную резистентность комбинированному бактериофагу. Анализ компонентов рецептуры фармацевтических композиции Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) показал, что кислотоустойчивость составов придают наличие сорбитола, лактозы моногидрата, натрия альгината и пектина.

Таким образом, стабильность бактериофага в кислой среде желудочного сока обеспечивает наличие полимера (натрия альгината и пектина), который при получении твердой дисперсии обволакивает бактериофаг вместе с питательными веществами.

Испытание капсул модельных составов по качественной характеристике «Растворение» показало, что наличие натрия альгината придает пролонгированный эффект высвобождения бактериофагов в среду растворения.

Фармацевтико-технологические характеристики антибактериального комбинированного препарата Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) в форме твердой капсулы № 2 рандомизировали с использованием функции желательности Харрингтона, позволяющую сравнить показатели на промежутке эффективных значений шкалы предпочтений. Интегральная оценка полученных результатов показала, что оптимальными фармацевтико-технологическими свойствами обладает модельный состав № 16 (см. таблицу 2), содержащий комбинированный поливалентный секстафаг, метилцеллюлозу, сорбит, лактозу, пектин, натрия альгинат, кальция карбонат, магния стеарат. Оригинальность разработанного состава Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) капсулы подтверждена патентом РФ № 2660355 «Антибактериальная фармацевтическая композиция для перорального применения, содержащая бактериофаги».

Одним из критериев биологической эффективности является стабильность бактериофага в процессе хранения. Результаты совместимости биологически

активной фармацевтической субстанции (комбинированного бактериофага Секстафаг®) и вспомогательных веществ при температуре от 2 до 8 °С представлены в таблице 4.

В результате наблюдения установлено, что при хранении разработанного референтного лекарственного препарата в полимерной герметичной упаковке (полимерная банка с винтовой крышкой и силикагелевой вставкой), в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С капсулы Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) стабильны в течение 18 месяцев, что подтверждает совместимость фармацевтической композиции разработанного препарата с первичной упаковкой и высокую биологическую эффективность на протяжении регламентированного срока годности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных комплексных фармацевтико-технологических исследований с использованием функции желательности Харрингтона разработан оптимальный высокоэффективный состав антибактериального лекарственного препарата Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) в виде твердых капсул № 2. Оригинальность разработанного состава Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) в виде капсул подтверждена патентом РФ № 2660355 «Антибактериальная фармацевтическая композиция для перорального применения, содержащая бактериофаги». Препарат Секстафаг® (Пиобактериофаг поливалентный) капсулы, стабилен при хранении в течение 18 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрияков Б. Г., Сомова Л. М., Ляпун И. Н., Бынина М. П., Матосова Е. В. Особенности изменений спектров жирных кислот бактерий семейства Enterobacteriaceae в процессе форми-

Таблица 4. Стабильность препарата Секстафэг® (Пиобактериофаг поливалентный) капсулы в процессе хранения при температуре от 2 до 8 °С

Table 4. Stability of the drug Sekstafag® (Piobacteriophage polyvalent) capsules during storage at temperatures from 2 to 8 °C

Бактериофаг Bacteriophage	Хранение, мес. Storage, months							
	0	2	3	6	9	12	15	18
Стафилококковый Staphylococcal	10 ⁻⁶	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,5}	10 ^{-4,8}	10 ^{-3,8}	10 ^{-3,6}	10 ^{-3,6}
Стрептококковый Streptococcal	10 ⁻⁶	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,8}	10 ^{-5,3}	10 ^{-4,0}	10 ^{-3,8}	10 ^{-3,7}	10 ^{-3,7}
Синегнойный Pseudomonas	10 ⁻⁶	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,2}	10 ^{-4,4}	10 ^{-4,2}	10 ^{-4,2}	10 ^{-4,2}
Клебсиеллезный Klebsiella	10 ⁻⁶	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,7}	10 ^{-5,0}	10 ^{-4,6}	10 ^{-4,5}	10 ^{-4,5}
Колифаг Coliphage	10 ⁻⁶	10 ^{-5,7}	10 ^{-5,7}	10 ^{-4,9}	10 ^{-3,8}	10 ^{-3,5}	10 ^{-3,5}	10 ^{-3,5}
Протейный Proteaceae	10 ⁻⁶	10 ^{-5,7}	10 ^{-5,7}	10 ^{-5,0}	10 ^{-4,0}	10 ^{-3,6}	10 ^{-3,5}	10 ^{-3,5}

- рования устойчивых (дормантных) клеточных форм. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(3):401–412. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-2.
- Кузьменков А. Ю. Мониторинг антибиотикорезистентности: обзор информационных ресурсов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(2):163–170. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-2-163-170.
 - Новикова И. Е., Садеева З. 3., Алябьева Н. М., Самойлова Е. А., Карасева О. В., Янюшкина О. Г., Лазарева А. В. Антибиотикорезистентность и вирулентность карбапенем-устойчивых штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей в реанимационных и хирургических отделениях. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(4):321–332. DOI: 10.36233/0372-9311-373.
 - Спэтару Д. Ю., Присакаръ В. И. Особенности антибиотикорезистентности внутрибольничных штаммов микроорганизмов, изолированных в монокультурах и в ассоциациях. *Медиаль*. 2018;2(22):33–35.
 - Вакарина А. А., Катаева Л. В., Степанова Т. Ф. Влияние бактериофагов на чувствительность условно патогенных бактерий к антибактериальным препаратам. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019;96(2):3–7. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-2-3-7.
 - Начаров П. В., Кривопалов А. А., Шустова Т. И. Общая характеристика, результаты и перспективы клинического применения бактериофаговой терапии. *Медицинский Совет*. 2023;(7):170–175. DOI: 10.21518/ms2023-106.
 - Сергеев А. Н., Морозов А. М., Аскеров Э. М., Сергеев Н. А., Армасов А. Р., Исаев Ю. А. Методы локальной антимикробной профилактики инфекции области хирургического вмешательства. *Казанский медицинский журнал*. 2020;101(2):243–248. DOI: 10.17816/KMJ2020-243.
 - Крюков А. И., Гуров А. В., Черкасов Д. С., Теплых Е. А. Перспективы использования бактериофагов в лечении синуситов, вызванных антибиотикорезистентными штаммами бактерий. *Медицинский Совет*. 2023;(13):297–304. DOI: 10.21518/ms2023-250.
 - Никифорова Г. Н., Асриян Г. Г., Гуркова М. М., Артамонова П. С. Фаготерапия при лечении больных респираторной патологией: история, современные аспекты, перспективы. *Медицинский Совет*. 2021;(6):83–91. DOI: 10.21518/2079-701X-2021-6-83-91.
 - Салмина Т. А., Цыгипало А. И., Шкода А. С. Опыт применения Пиобактериофага поливалентного очищенного для лечения гнойных ран при длительном и неэффективном лечении антибактериальными препаратами. *Трудный пациент*. 2016;14(10–11):23–29.
 - Zurabov F., Zhilenkov E. Characterization of four virulent *Klebsiella pneumoniae* bacteriophages, and evaluation of their potential use in complex phage preparation. *Virology Journal* volume. 2021;18:9. DOI: 10.1186/s12985-020-01485-w.
 - Ивакина С. Н., Бадакшанов А. Р., Пупыкина К. А., Хасанова Г. М., Хасанова А. Н. Анализ ассортимента противомикробных лекарственных препаратов, применяемых при лечении инфекционных заболеваний. *Вестник современной клинической медицины*. 2018;11(6):16–22. DOI: 10.20969/VSKM.2018.11(6).16-22.
 - Теслев А. А. К вопросу применения твердых дисперсных систем для улучшения биофармацевтических характеристик лекарственных средств. *Фармацевтические технологии и упаковка*. 2014;2:32–35.
 - Алексеев К. В., Блынская Е. В., Сульдин А. С., Сизяков С. А., Алексеева С. К., Дитковская А. Г. Вспомогательные вещества в технологии твердых капсул. *Фармация*. 2009;5:31–36.
 - Гаммель И. В., Горбунова С. А. Исследование ассортимента лекарственных средств в твердых желатиновых капсулах. *Медицинский альманах*. 2018;1(52):121–125.
 - Быковский С. Н., Василенко И. А., Демина Н. Б., Шохин И. Е., Новожилов О. В., Мешковский А. П., Спицкий О. Р., ред. Фармацевтическая разработка: концепция и практические рекомендации. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли. М.: Изд-во Перо; 2015. 472 с.
 - Любушин Н. П., Брикач Г. Е. Использование обобщенной функции желательности Харрингтона в многопараметрических экономических задачах. *Экономический анализ: теория и практика*. 2014;18(369):2–10.
 - Сосюкин А. Е., Верведа А. Б. Практические аспекты использования функции желательности при проведении психофизиологического обследования персонала аварийно-спасательных формирований. *Medline.ru*. 2015;16:872–884.
 - Хубаев Г. Н. Универсальный метод оптимизации состава характеристик объектов. *Бюллетень науки и практики*. 2019;5(5):265–275. DOI: 10.33619/2414-2948/42/35.
 - Ковязина Н. А., Функнер Е. В., Николаева А. М., Орлова Е. В., Ефимова М. Г., Шитова О. И. Технологические аспекты разработки капсул с бактериофагами. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2015;1:132–136.
 - Ковязина Н. А., Решетников В. И., Функнер Е. В. Концепция рационального состава и технологии таблетированных бактериофагов. *Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии*. 2010;8:14–19.
 - Тишков Т. М., Погребняк А. В., Погребняк Л. В. Современные вспомогательные вещества. *Современные проблемы науки и образования*. 2015;2(1).
 - Ситенкова (Буховец) А. В., Ситенков А. Ю., Мустафин Р. И. Интерполимерные комплексы на основе Eudragit® EPO/Eudragit® S100 как перспективные носители для перораль-

ных систем контролируемой доставки. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(3):36–43. DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-36-43.

24. Полковникова Ю. А., Ковалёва Н. А. Современные исследования в области микрокапсулирования (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(2):50–61. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-50-61.
25. Крисс А. Е., Диденко С. И. Меловые адсорбаты бактериофагов, как терапевтические препараты. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1944;18(4–5):25–28.
26. Чернов Н. В. Изыскание эффективного метода сушки дизентерийного бактериофага. Бактерийные и вирусные препараты: труды Уфимского НИИВС им. И. И. Мечникова. Уфа: Баш. кн. изд-во. 1968. С. 218–221.

REFERENCES

1. Andrukov B. G., Somova L. M., Ljapun I. N., Bynina M. P., Matosova E. V. Features of changes in spectra of fatty acids of the bacteria of the Enterobacteriaceae family in the process of forming stable (dormant) cell forms. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii*. 2020;97(3):401–412. (In Russ.) DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-2.
2. Kuz'menkov A. Ju. Antibiotic resistance monitoring: a review of information resources. *Bjulleten' sibirskoj mediciny*. 2020;19(2):163–170. (In Russ.) DOI: 10.20538/1682-0363-2020-2-163-170.
3. Novikova I. E., Sadeeva Z. Z., Aljab'eva N. M., Samojlova E. A., Karaseva O. V., Janjushkina O. G., Lazareva A. V. Antimicrobial resistance and virulence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from children in intensive care and surgical units. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(4):321–332. (In Russ.) DOI: 10.36233/0372-9311-2023-100-4-321-332.
4. Spjetaru D. Ju., Prisakar' V. I. Peculiarities of antibiotic resistance of nosocomial strains of microorganisms isolated in monocultures and in associations. *Medial*. 2018;2(22):33–35. (In Russ.)
5. Vakarina A. A., Kataeva L. V., Stepanova T. F. Influence of bacteriophages on sensitivity of conditionally pathogenic bacteria to antibacterial preparations. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii*. 2019;96(2):3–7. (In Russ.) DOI: 10.36233/0372-9311-2019-2-3-7.
6. Nacharov P. V., Krivopalov A. A., Shustova T. I. General characteristics, results and prospects for the clinical application of bacteriophage therapy. *Medical Council*. 2023;(7):170–175. (In Russ.) DOI: 10.21518/ms2023-106.
7. Sergeev A. N., Morozov A. M., Askerov Je. M., Sergeev N. A., Armasov A. R., Isaev Ju. A. Methods of local antimicrobial prophylaxis of surgical site infection. *Kazanskij medicinskij zhurnal*. 2020;101(2):243–248. (In Russ.) DOI: 10.17816/KMJ2020-243.
8. Krjukov A. I., Gurov A. V., Cherkasov D. S., Teplyh E. A. Prospects for the application of bacteriophages in the treatment of sinusitis caused by antibiotic-resistant bacterial strains. *Medical Council*. 2023;(13):297–304. (In Russ.) DOI: 10.21518/ms2023-250.
9. Nikiforova G. N., Asrijan G. G., Gurkova M. M., Artamonova P. S. Phage therapy in the treatment of patients with respiratory pathology: history, modern aspects, prospects. *Medical Council*. 2021;(6):83–91. (In Russ.) DOI: 10.21518/2079-701X-2021-6-83-91.
10. Salmina T. A., Cygipalo A. I., Shkoda A. S. Experience in the use of polyvalent purified *Pyobacteriophage* for the treatment of purulent wounds with prolonged and ineffective treatment with antibacterial drugs. *Trudnyj pacient*. 2016;14(10–11):23–29. (In Russ.)
11. Zurabov F., Zhilenkov E. Characterization of four virulent *Klebsiella pneumoniae* bacteriophages, and evaluation of their potential use in complex phage preparation. *Virology Journal volume*. 2021;18:9. DOI: 10.1186/s12985-020-01485-w.
12. Ivakina S. N., Badakshanov A. R., Pupykina K. A., Hasanova G. M., Hasanova A. N. Analysis of the range of antimicrobial drugs used in the treatment of infectious diseases. *Vestnik sovremennoj klinicheskoy mediciny*. 2018;11(6):16–22. (In Russ.) DOI: 10.20969/VSKM.2018.11(6).16-22.
13. Teslev A. A. Toward the use of solid disperse systems to improve the biopharmaceutical characteristics of drugs. *Farmaceuticheskie tehnologii i upakovka*. 2014;2:32–35. (In Russ.)
14. Alekseev K. V., Blynskaja E. V., Sul'din A. S., Sizjakov S. A., Alekseeva S. K., Ditkovskaja A. G. Excipients in hard capsule technology. *Pharmacy*. 2009;5:31–36. (In Russ.)
15. Gammel' I. V., Gorbunova S. A. Research of assortment of medicines in hard gelatin capsules. *Medicinskij al'manah*. 2018;1(52):121–125. (In Russ.)
16. Bykovsky S. N., Vasilenko I. A., Demina N. B., Shohin I. E., Novozhilov O. V., Meshkovsky A. P., Spitsky O. R., editors. *Pharmaceutical development: concept and practice guidelines*. Scientific and practical guide for the pharmaceutical industry. Moscow: Pero Publishing House; 2015. 472 p. (In Russ.)
17. Ljubushin N. P., Brikach G. E. The use of generalized Harrington's desirability function in multivariate economic problems. *Jekonomicheskij analiz: teorija i praktika*. 2014;18(369):2–10. (In Russ.)
18. Sosjukin A. E., Verveda A. B. Practical aspects of using the desirability function in the psychophysiological examination of the personnel of emergency rescue formations. *Medline.ru*. 2015;16:872–884. (In Russ.)
19. Hubaev G. N. Universal method of optimization of the composition of characteristics of objects. *Bjulleten' nauki i praktiki*. 2019;5(5):265–275. (In Russ.) DOI: 10.33619/2414-2948/42/35.
20. Kovjazina N. A., Funkner E. V., Nikolaeva A. M., Orlova E. V., Efimova M. G., Shitova O. I. Technological aspects of bacteriophage capsule development. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2015;1:132–136. (In Russ.)
21. Kovjazina N. A., Reshetnikov V. I., Funkner E. V. Concept of rational composition and technology of tablet bacteriophages. *Voprosy biologicheskoy medicinskoj i farmacevticheskoy himii*. 2010;8:14–19. (In Russ.)
22. Tishkov T. M., Pogrebnjak A. V., Pogrebnjak L. V. Modern excipients. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015;2(1). (In Russ.)
23. Sitenkova (Bukhovets) A. V., Sitenkov A. Y., Moustafine R. I. Eudragit® EPO/Eudragit® S100 based interpolymer complexes as promising carriers for oral controlled delivery systems. *Drug development & registration*. 2020;9(3):36–43. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-36-43.
24. Polkovnikova Ju. A., Kovaljova N. A. Modern Research in the Field of Microencapsulation (Review). *Drug development & registration*. 2021;10(2):50–61. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-50-61. (In Russ.)
25. Kriss A. E., Didenko S. I. Chalk adsorbates of bacteriophages as therapeutic agents. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 1944;18(4-5):25–28. (In Russ.)
26. Chernov N. V. Refinement of an effective method of drying dysenteric bacteriophage. Bacterial and viral preparations: proceedings of the Ufa Research Institute of Veterinary Medicine named after. I. I. Mechnikov. Ufa: Bash. book publishing house. 1968. P. 218–221. (In Russ.)

Изучение технологических параметров и фармакологической активности геля с земляники садовой (*Fragaria ananassa*) листьев экстрактом сухим

О. В. Яборова[✉], И. В. Алексеева, В. Д. Белоногова, О. А. Олешко

¹ 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: Яборова Ольга Владимировна. E-mail: olya.yaborova@mail.ru

ORCID: О. В. Яборова – <https://orcid.org/0000-0002-9995-2989>; И. В. Алексеева – <https://orcid.org/0000-0003-4357-5974>; В. Д. Белоногова – <https://orcid.org/0000-0001-5193-3976>; О. А. Олешко – <https://orcid.org/0000-0001-9211-0116>.

Статья поступила: 16.10.2023

Статья принята в печать: 14.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Интерес к препаратам растительного происхождения возрастает с каждым годом, так как разнообразие химического состава и фармакологического действия растений дает возможность открывать и создавать препараты, лечебное действие которых обусловлено комплексом биологически активных веществ. Важное значение для эффективного лечения заболеваний имеет правильно выбранная лекарственная форма, которая обеспечивает и удобство применения, и целенаправленное использование действия содержащегося в ней фармакологически активного препарата. Поэтому получение и внедрение в медицинскую практику новых растительных экстрактов может стать перспективным в области создания мягких лекарственных форм. Земляники садовой листьев экстракт сухой (земляники экстракт) – одна из потенциальных субстанций для получения эффективных и безопасных лекарственных средств. По результатам ранее проведенных исследований сотрудниками ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России была доказана высокая противовоспалительная активность экстракта земляники, сравнимая с активностью синтетического препарата «Индометацин». Исследования хронической токсичности экстракта, аллергизирующих, иммунотоксических свойств и репродуктивной токсичности в рамках доклинических исследований показали безопасность полученного экстракта и возможность применения субстанции для дальнейшей разработки лекарственных средств на его основе. В связи с этим изучение технологических параметров и фармакологической активности мягкой лекарственной формы на основе экстракта земляники представляет практический интерес для улучшения лекарственного обеспечения населения и расширения номенклатуры лекарственных средств на основе растительных экстрактов, обладающих противовоспалительным и антимикробным действием.

Цель. Разработка мягкой лекарственной формы на основе земляники садовой листьев экстракта сухого и изучение ее фармакологической активности.

Материалы и методы. Для исследования использовали гели с активной субстанцией – земляники садовой листьев экстрактом сухим (ОАО «Биохиммаш», Россия, срок годности – 2 года), основообразующие компоненты – натрий карбоксиметилцеллюлоза С75 (ТУ 2231-002-50277563-2000, ООО «База химической продукции «Югреактив», Россия, 151118, срок хранения 3 года), метилцеллюлоза 35 (ТУ 2231-107-57684455-2003, АО «УЗПХ», Россия, 221218, срок хранения 3 года), натрия альгинат (ТУ 15-02-544-83, ООО «База химической продукции «Югреактив», Россия, 151018, срок хранения 3 года), глицерол (ФС.2.2.0006.15, АО «Купавнареактив», Россия, 082018, срок хранения 3 года), вода очищенная (ФС.2.2.0020.18), полученная на установке обратного осмоса УВОИ-«МФ» 1812С6 (АО «НПК МЕДИАНА-ФИЛЬТР», Россия). В ходе исследований использовались биофармацевтические и технологические методы. Противомикробную активность определяли согласно ОФС.1.2.4.0010.15 методом диффузии в агар. Противовоспалительную активность изучали на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1%-го водного раствора каррагинина. Полученные данные обрабатывали с подсчетом t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Данные считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. На основании технологических, биофармацевтических и фармакологических методов исследований впервые предложен и обоснован состав геля с земляники садовой листьев экстрактом сухим, обладающего антимикробным и противовоспалительным действием. Биофармацевтическая доступность геля определена методом диффузии в агаровый гель. Изучена антимикробная активность геля с земляники садовой листьев экстрактом сухим, и его противовоспалительная активность на модели каррагининового отека при наружном нанесении исследуемых лекарственных форм.

Заключение. Проведенное исследование показывает возможность расширения номенклатуры препаратов для наружного применения с антимикробной и противовоспалительной активностью.

Ключевые слова: земляники садовой листьев экстракт сухой, гель, биофармацевтическая доступность, осмотическая активность, антимикробная активность, противовоспалительная активность

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

Вклад авторов. О. В. Яборова – статистическая обработка данных, сбор и обработка материалов. И. В. Алексеева – концепция и дизайн исследования. О. А. Олешко, В. Д. Белоногова – обзор литературы. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное использование», 2023 год.

Соответствие принципам этики. Исследования проведены с разрешения Этической комиссии по биоэтике ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России от 22.12.2021 протокол № 2.

Для цитирования: Яборов О. В., Алексеева И. В., Белоногова В. Д., Олешко О. А. Изучение технологических параметров и фармакологической активности геля с земляники садовой (*Fragaria ananassa*) листьев экстрактом сухим. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):70–77. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1657](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1657)

Study of Technological Parameters and Pharmacological Activity of the Gel with Strawberry (*Fragaria ananassa*) Leaves with Dry Extract

Olga V. Yaborova✉, Irina V. Alekseeva, Valentina D. Belonogova, Olga A. Oleshko

¹ 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: Olga V. Yaborova. E-mail: olyayaborova@mail.ru

ORCID: Olga V. Yaborova – <https://orcid.org/0000-0002-9995-2989>; Irina V. Alekseeva – <https://orcid.org/0000-0003-4357-5974>; Valentina D. Belonogova – <https://orcid.org/0000-0001-5193-3976>; Olga A. Oleshko – <https://orcid.org/0000-0001-9211-0116>.

Received: 16.10.2023 Revised: 14.12.2023 Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Interest in herbal preparations is increasing every year, as the variety of chemical composition and pharmacological action of plants makes it possible to discover and create drugs whose therapeutic effect is due to a complex of biologically active substances. It is important for the effective treatment of diseases to have a properly selected dosage form, which provides both ease of use and targeted use of the action of the pharmacologically active drug contained in it. Therefore, obtaining and introducing new plant extracts into medical practice can become promising in the field of creating soft dosage forms. Strawberry garden leaf extract dry (strawberry extract) is one of the potential substances for obtaining effective and safe medicines. According to the results of earlier studies conducted by the staff of the Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, a high anti-inflammatory activity of strawberry extract was proved, comparable to the activity of the synthetic drug Indomethacin. Studies of the chronic toxicity of the extract, allergenic, immunotoxic properties and reproductive toxicity in the framework of preclinical studies have shown the safety of the obtained extract and the possibility of using the substance for further development of medicines based on it. In this regard, the study of technological parameters and pharmacological activity of a soft dosage form based on strawberry extract is of practical interest for improving the drug supply of the population and expanding the range of medicines based on plant extracts with anti-inflammatory and antimicrobial effects.

Aim. Development of a soft dosage form based on strawberry leaves of dry extract and study of its pharmacological activity.

Materials and methods. For the study, gels with an active substance – strawberry leaves with dry extract (JSC "Biohimash", Russia, shelf life – 2 years), the main components – sodium carboxymethylcellulose C75 (TU 2231-002-50277563-2000, LLC "Base chemical products "Yugreactive", Russia, 151118, term storage 3 years), methylcellulose 35 (TU 2231-107-57684455-2003, JSC "UZPH", Russia, 221218, shelf life 3 years), sodium alginate (TU 15-02-544-83, LLC "Base chemical products "Yugreactive", Russia, 151018, shelf life 3 years), glycerol (FS.2.2.0006.15, JSC "Kupavnaareaktiv", Russia, 082018, shelf life 3 years), purified water (FS FS.2.2.0020.18), obtained at the reverse osmosis unit UVOI-"MF" 1812S6 (JSC "NPK MEDIAN FILTER", Russia). Biopharmaceutical and technological methods were used in the course of the research. Antimicrobial activity was determined according to the OFS.1.2.4.0010.15 by diffusion into agar. Anti-inflammatory activity was studied on a model of acute inflammatory edema caused by subplantar injection of 0.1 ml of 1% aqueous solution of carrageenan into the hind paw of a rat. The obtained data were processed with the calculation of the Student's t-test for independent samples. The data were considered reliable at $p < 0.05$.

Results and discussion. Based on technological, biopharmaceutical and pharmacological research methods, the composition of a gel from strawberry leaves with dry extract, which has antimicrobial and anti-inflammatory effects, was proposed and substantiated for the first time. The biopharmaceutical availability of the gel was determined by diffusion into agar gel. The antimicrobial activity of the gel from strawberry leaves with dry extract and its anti-inflammatory activity on the model of carrageenan edema with external application of the studied dosage forms were studied.

Conclusion. The study shows the possibility of expanding the range of drugs for external use with antimicrobial and anti-inflammatory activity.

Keywords: strawberry garden leaf extract dry, gel, biopharmaceutical availability, osmotic activity, antimicrobial activity, anti-inflammatory 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. Olga V. Yaborova – statistical data processing, collection and processing of materials. Irina V. Alekseeva – concept and design of the study. Olga A. Oleshko, Valentina D. Belonogova – literature review. All the authors participated in the discussion of the results and writing the text of the article.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

Compliance with the principles of ethics. The studies were carried out with the permission of the Ethical Commission on Bioethics of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of the PSFA of the Ministry of Health of Russia dated December 22, 2021 protocol No. 2.

For citation: Yaborova O. V., Alekseeva I. V., Belonogova V. D., Oleshko O. A. Study of technological parameters and pharmacological activity of the gel with strawberry (*Fragaria ananassa*) leaves with dry extract. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):70–77. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1657](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1657)

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем медицинской науки и практического здравоохранения является профилактика и лечение воспалительных заболеваний с применением мягких лекарственных форм. Зачастую, приходится длительно применять лекарственные препараты. В связи с этим, поиск и разработка новых эффективных и безопасных лекарственных средств и субстанций из растительного сырья, обладающих малой токсичностью и безопасностью является актуальной задачей. Уникальный химический состав, высокая фармакологическая активность и легкая доступность лекарственного растительного сырья дает расширенные возможности на поиск и создание новых лекарственных средств на их основе. Рациональное сочетание растительных препаратов с различными вспомогательными веществами, а также использование оптимальной технологической схемы изготовления мягких лекарственных форм наружного применения, значительно расширяют терапевтические возможности фитопрепаратов для лечения и профилактики дерматологических и гинекологических заболеваний, в лечебной косметологии и стоматологии [1-13].

Разработкой мягких лекарственных форм активно занимаются сотрудники разных высших учебных заведений России: Новгородского государственного университета имени Ярослава Мудрого [14, 15], ФГБОУ ВО Саратовского государственного медицинского университета имени В.И. Разумовского» МЗ России [16, 17], ФГБОУ Оренбургского Государственного Медицинского Университета МЗ РФ [18], Смоленского государственного медицинского университета [19].

В Пермской государственной фармацевтической академии на кафедре фармакогнозии из сырья листьев земляники садовой был разработан экстракт сухой (земляники экстракт) [11] и осуществлено производство его опытной партии на ОАО «Биохиммаш» (Россия). У полученного экстракта изучена фармакологическая активность и установлено его диуретическое и противовоспалительное действие [5]. Изучение острой токсичности экстракта земляники садовой листьев сухого показало, что его можно отнести к малотоксичным веществам [5]. Исследования хронической токсичности экстракта, аллергизирующих, иммунотоксических свойств и репродуктивной токсичности в рамках доклинических исследований показали безопасность полученного экстракта [6-9] и возможность использования субстанции для дальнейшей разработки лекарственных средств на его основе.

Цель исследования: разработка мягкой лекарственной формы в виде геля на основе земляники садовой листьев экстракта сухого и изучение его фармакологической активности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Для исследования использовали гели с активной субстанцией – земляники садовой листьев экстрактом сухим (ОАО «Биохиммаш», Россия, срок годности 2 года), основообразующие компоненты – натрий карбоксиметилцеллюлоза С75 (ТУ 2231-002-50277563-2000, ООО «База химической продукции «Югреактив», Россия, 151118, срок хранения 3 года), метилцеллюлоза 35 (ТУ 2231-107-576844552003, АО «УЗПХ», Россия, 221218, срок хранения 3 года), натрия альгинат (ТУ 15-02-544-83, ООО «База химической продукции «Югреактив», Россия, 151018, срок хранения 3 года), глицерол (ФС.2.2.0006.15, АО «Купавнареактив», Россия, 082018, срок хранения 3 года), вода очищенная (ФС.2.2.0020.18), полученная на установке обратного осмоса УВОИ-«МФ» 1812С6 (АО «НПК МЕДИАНА-ФИЛЬТР», Россия). В ходе исследований использовались технологические и биофармацевтические методы.

Противомикробную активность в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* определяли согласно ОФС.1.2.4.0010.15 методом диффузии в агар [20].

Противовоспалительную активность изучали на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1%-го водного раствора каррагенина [21, 22].

Методы

Органолептический контроль заключается в проверке внешнего вида, цвета, запаха и однородности [20].

Определение фармацевтической доступности составов методом диффузии в агаровый гель.

Для проведения эксперимента готовили раствор агар-агара с добавлением хлорида трехвалентного железа в качестве индикатора. Для приготовления 1 литра раствора брали 20,0 агар-агара (ГОСТ 17206-96) заливали 750 мл воды очищенной и оставляли на сутки для набухания, затем смешивали с 250 мл воды очищенной с добавлением хлорида трехвалентного железа (ГОСТ 4147-74) и расплавляли на водяной бане. Чашки наполняли следующим образом: залили первый тонкий слой и установили гнезда, затем залили второй слой. Помещали по три гнезда в каждую чашку. После застывания массы в каждое гнездо закладывали эквивалентное количество геля с помощью лопаточки для глазных мазей. Диаметр диффузии измеряли через 1 час, 2 часа, 3 часа, 6 часов и 24 часа в условиях термостата [20].

Определение осмотической активности геля.

Определение осмотической активности мягкой лекарственной формы проводили методом диализа через полупроницаемую мембрану гравиметрическим методом. На диализную пленку наносили ровным слоем 1,0 г исследуемой мази и помещали в

диализную камеру, содержащую рассчитанное количество физиологического раствора натрия хлорида, нагретого до $37 \pm 0,5$ °С. Измерение (взвешивание внутреннего цилиндра) проводили через равные промежутки времени (1 час) до установления постоянной неизменяющейся массы. В качестве контроля использовали 10%-й раствор натрия хлорида, широко применяемый в терапии гнойных ран. Количество поглощенной жидкости определяли гравиметрически и выражали в процентах к массе исследуемого образца [21].

Расчеты проводили по формуле:

$$P = P_t - P_0$$

где P – разность в массе геля до и после анализа; P_t – постоянная масса геля; P_0 – первоначальная масса геля.

Количество абсорбированного раствора натрия хлорида рассчитывали по формуле:

$$C = P/m \times 100 \%,$$

где C – количество абсорбированного физиологического раствора натрия хлорида, %; m – масса навески геля, г.

Определение антимикробной активности. Исследование антимикробной активности геля с земляники садовой листьев экстрактом сухим определяли по методикам ГФ XIV, ОФС.1.2.4.0010.15. «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар». В стеклянные чашки Петри размером 20 × 100 мм или 20 × 90 мм разлили расплавленные питательные среды определенного состава в 1 или 2 слоя. Для нижнего слоя использовали стерильные незасеянные среды, для верхнего или одного слоя – стерильную агаровую среду, предварительно засеянную соответствующим микроорганизмом. Стерильные цилиндры единого размера и массы высотой ($10 \pm 0,1$) мм и внутренним диаметром ($6,0 \pm 0,1$) мм из нержавеющей стали или алюминия расставили на поверхности засеянной среды на равном расстоянии друг от друга и от края чашки. В цилиндры или в лунки каждой чашки внесли равные объ-

емы рабочих растворов испытуемых образцов. Затем чашки инкубировали при температуре 36 ± 10 °С в течение 16–18 часов. Диаметры зон угнетения роста тест-микроорганизмов при помощи соответствующих приборов измерили с точностью до 0,1 мм [20].

Определение противовоспалительной активности. Исследование проводилось на крысах массой 200–250 г., обоего пола (группа включала 6 животных) на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 л 1%-го водного раствора каррагинена. Увеличение объема стопы, свидетельствующее о развитии отека, оценивали онкометрически [22] до введения и через 3 часа после введения каррагинена. Исследуемый объект в количестве 0,3 г наносили на кожу стопы за 0,5 часа до введения флогогенного агента. Контролем служили животные, не получавшие препарата. Статистическую обработку проводили по методу Стьюдента [10]. На основе полученных результатов определяли эффект торможения воспаления в процентах к контрольному уровню. О наличии противовоспалительного действия судили по выраженности торможения воспалительной реакции. Если этот показатель был больше 30 %, результат учитывался как положительный.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность геля, главным образом, обеспечивается его составом, поэтому на первом этапе провели выбор оптимальной основы с учетом физико-химических свойств земляники садовой листьев экстракта сухого (земляники экстракта). С этой целью было исследовано 9 композиций гидрофильного характера. Во все гидрофильные композиции для предотвращения высыхания и пластификации основ вводили глицерин в концентрации 10 %. Выбор основы осуществляли по органолептическому контролю и биофармацевтической доступности. В итоге были отбракованы образцы, представляющие собой слишком жидкие носители. В результате были отобраны 9 оптимальных композиции мягкой и пластичной консистенции (таблица 1).

Таблица 1. Составы гидрофильных основ для гелей на основе земляники садовой листьев экстракта сухого

Table 1. Compositions of hydrophilic bases for gels based on strawberry leaves of dry extract

Основы The basics	Композиции Compositions								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Na-KМЦ Na-CMC	3,0	4,0	5,0						
Глицерин Glycerin	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Метил-Целлюлоза Methyl Cellulose				3,0	4,0	5,0			
Натрия альгинат Sodium Alginate							4,0	5,0	6,0
Вода очищенная Purified water	до 100,0 before 100,0	до 100,0 before 100,0	до 100,0 before 100,0	до 100,0 before 100,0	до 100,0 before 100,0	до 100,0 before 100,0	до 100,0 before 100,0	до 100,0 before 100,0	до 100,0 before 100,0

Далее в каждый отобранный образец добавляли земляники садовой листьев сухой экстракт в концентрации 2 %, так как противовоспалительная и антимикробная активность данной концентрации растительного экстракта была доказана ранее [5].

Следующий этап работы посвящен биофармацевтическим исследованиям. Согласно биофармацевтической концепции, на терапевтическую эффективность лекарственной формы огромное влияние оказывает вид основы. В связи с этим выбор оптимального состава носителя был осуществлен по результатам исследования высвобождения действующих веществ, которое проводили методом диффузии в агаровый гель. По полученным экспериментальным данным диаметр диффузии образца № 2 увеличивается, следовательно, основа № 2 обеспечивает максимальную степень высвобождения экстракта земляники. Степень высвобождения экстракта земляники из модельных образцов приведены в таблице 2.

В результате проведенных исследований нами предложен следующий состав геля: земляники садовой листьев экстракта сухого – 2,0; натрий карбоксиметилцеллюлозы – 4,0; глицерина – 10,0; воды очищенной до 100,0. По внешнему виду полученный гель представляет собой гелеобразную массу светло – коричневого цвета со слабым характерным запахом.

Осмотическая активность геля оказывает существенное значение при лечении раневых и воспалительных процессов. Определение осмотической активности геля проводили методом диализа через полупроницаемую мембрану гравиметрическим методом (таблица 3).

Таблица 3. Осмотическая активность гелевой композиции с земляники садовой экстрактом сухим

Table 3. Osmotic activity of the gel composition with strawberry garden extract dry

Объект исследования The object of the study	Адсорбировано физиологического раствора Adsorbed saline solution	Время абсорбции в часах Absorption time in hours
10%-й раствор натрия хлорида (контроль) 10 % sodium chloride solution (control)	22,1 ± 2,4	2
Состав исследуемой композиции: Экстракта сухого листьев земляники садовой – 2,0. Натрий карбоксиметилцеллюлозы – 4,0. Глицерина – 10,0. Воды очищенной до 100,0 Composition of the composition under study: Dry strawberry leaf extract – 2.0. Sodium carboxymethylcellulose – 4.0. Glycerin – 10.0. Purified water up to 100.0	155 ± 2***	14

Примечание. *** Различие достоверно по сравнению с контролем при $p < 0,001$.

Note. *** The difference is significant compared to the control at $p < 0.001$.

Таблица 2. Степень высвобождения экстракта земляники из модельных гелевых образцов

Table 2. Degree of strawberry extract release from model gel samples

Образцы композиций гелевых основ Samples of compositions of gel bases	Диаметр диффузии, мм через Diffusion diameter, mm through				
	1 час 1 hour	2 часа 2 hour	3 часа 3 hour	6 часов 6 hour	24 часа 24 hour
Образец 1 Sample 1	19,5 ± 0,2	23,5 ± 0,5	24,5 ± 0,2	25,0 ± 0,5	31,0 ± 0,5
Образец 2 Sample 2	21,0 ± 0,5	22,0 ± 0,5	24,5 ± 0,5	25,5 ± 0,5	32,0 ± 0,5
Образец 3 Sample 3	20,0 ± 0,2	22,0 ± 0,5	23,5 ± 0,2	23,5 ± 0,5	28,0 ± 0,2
Образец 4 Sample 4	20,0 ± 0,3	22,5 ± 0,5	23,5 ± 0,2	24,5 ± 0,3	30,0 ± 0,5
Образец 5 Sample 5	19,5 ± 0,5	23,0 ± 0,3	23,5 ± 0,5	24,0 ± 0,3	29,0 ± 0,4
Образец 6 Sample 6	19,0 ± 0,3	23,0 ± 0,5	23,5 ± 0,4	23,0 ± 0,5	29,5 ± 0,3
Образец 7 Sample 7	18,5 ± 0,5	22,0 ± 0,3	23,5 ± 0,5	24,0 ± 0,4	29,0 ± 0,5
Образец 8 Sample 8	18,5 ± 0,5	21,5 ± 0,5	22,5 ± 0,4	23,0 ± 0,5	28,0 ± 0,2
Образец 9 Sample 9	18,0 ± 0,4	21,0 ± 0,2	22,5 ± 0,5	23,5 ± 0,4	29,0 ± 0,5

Примечание. $p < 0,05$.

Note. $p < 0,05$.

Результаты проведенного исследования осмотической активности геля показали, что исследуемая композиция на основе 4%-го NaKMЦ геля обладает значительным и продолжительным дегидратирующим действием и превосходит гипертонический раствор по силе и продолжительности действия в 7 раз.

Одним из основных факторов, обеспечивающим качество лекарственной формы, ее терапевтическую активность и стабильность, является рациональная технология. Технологическая схема изготовления геля представлена на рисунке 1.

Следующий этап работы посвящен исследованию антимикробной и противовоспалительной активности геля земляники садовой листьев экстрактом сухим.

Исследование антимикробной активности геля с земляники садовой листьев экстрактом сухим трех разных концентраций 1, 2 и 5 % проводили по отношению к *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* в сравнении с мазью «Календула». Результаты приведены в таблице 4.

Результаты исследования противомикробной активности показали, что наиболее выражен эффект у геля с концентрацией экстракта земляники 2%-го и 5%-го. Таким образом, проведенные исследования геля с земляники садовой листьев экстрактом сухим 2%-м показали наличие одинаково выраженной антимикробной активности в отношении *E. coli*, *C. albicans*, *S. aureus*.

Для исследования противовоспалительной активности геля с земляники садовой листьев экстрактом сухим использовали каррагениновую модель эксудативного асептического воспаления (таблица 5).

Результаты определения противовоспалительной активности 2%-го геля по сравнению с контролем достоверно свидетельствуют об уменьшении воспалительного отека и выраженности его противовоспалительного действия. Противовоспалительная активность 2%-го геля на основе земляники садовой листьев экстракта сухого превышает аналогичную активность мази «Календула», но менее эффективна, по сравнению с мазью «Индометацин».

Таблица 5. Противовоспалительная активность геля с экстрактом земляники садовой листьев сухим

Table 5. Anti-inflammatory activity of the gel with strawberry extract of garden leaves dry

Исследуемый образец The test sample	Прирост объема стопы через 3 часа в % Increase in foot volume after 3 hours in %	Торможение реакции через 3 часа, % Reaction inhibition after 3 hours, %
2%-й гель на основе земляники садовой листьев экстракта сухого 2 % gel based on strawberry garden leaf extract dry	36,9 ± 7,9* $p < 0,01$ $p' > 0,05$	51,8
Мазь «Индометацин» Indomethacin ointment	13,7 ± 1,7* $p < 0,001$	82,1
Мазь «Календула» Calendula Ointment	35,8 ± 4,4* $p < 0,001$	35,8
Контроль Control	76,6 ± 7,2	

Примечание. p – достоверность в сравнении с контролем.

p' – достоверность в сравнении с мазью «Календула».

* Достоверность в сравнении с мазью «Индометацин».

Note. p – reliability in comparison with control.

p' – reliability in comparison with Calendula ointment.

* Reliability in comparison with Indomethacin ointment.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, по результатам проведенных исследований экспериментально обоснован выбор носителя для мягкой лекарственной формы с земляники садовой листьев экстрактом сухим, подобран состав геля и предложена рациональная схема его изготовления. Установлено, что 2%-й гель на основе земляники садовой листьев экстракта сухого обладает противовоспалительной и антимикробной активностью.

Проведенный комплекс исследований позволит расширить ассортимент отечественных лекарственных средств на основе растительных экстрактов, обладающих противовоспалительным и антимикробным действием.

Таблица 4. Противомикробная активность геля с экстрактом земляники садовой листьев сухим

Table 4. Antimicrobial activity of the gel with strawberry extract of garden leaves dry

Зона задержки роста микроорганизмов, мм Microbial growth retardation zone, mm	Гель с концентрацией экстракта 1 % Gel with an extract concentration of 1 %	Гель с концентрацией экстракта 2 % Gel with an extract concentration of 2 %	Гель с концентрацией экстракта 5 % Gel with an extract concentration of 5 %	Мазь «Календула» Ointment "Calendula"
<i>E. coli</i>	12,3 ± 0,05	13,5 ± 0,05	13,0 ± 0,02	10,3 ± 0,05
<i>C. albicans</i>	10,6 ± 0,02	10,5 ± 0,02	10,8 ± 0,05	10,3 ± 0,05
<i>S. aureus</i>	10,0 ± 0,05	10,3 ± 0,05	10,0 ± 0,02	10,3 ± 0,05

Примечание. $p < 0,05$.

Note. $p < 0,05$.

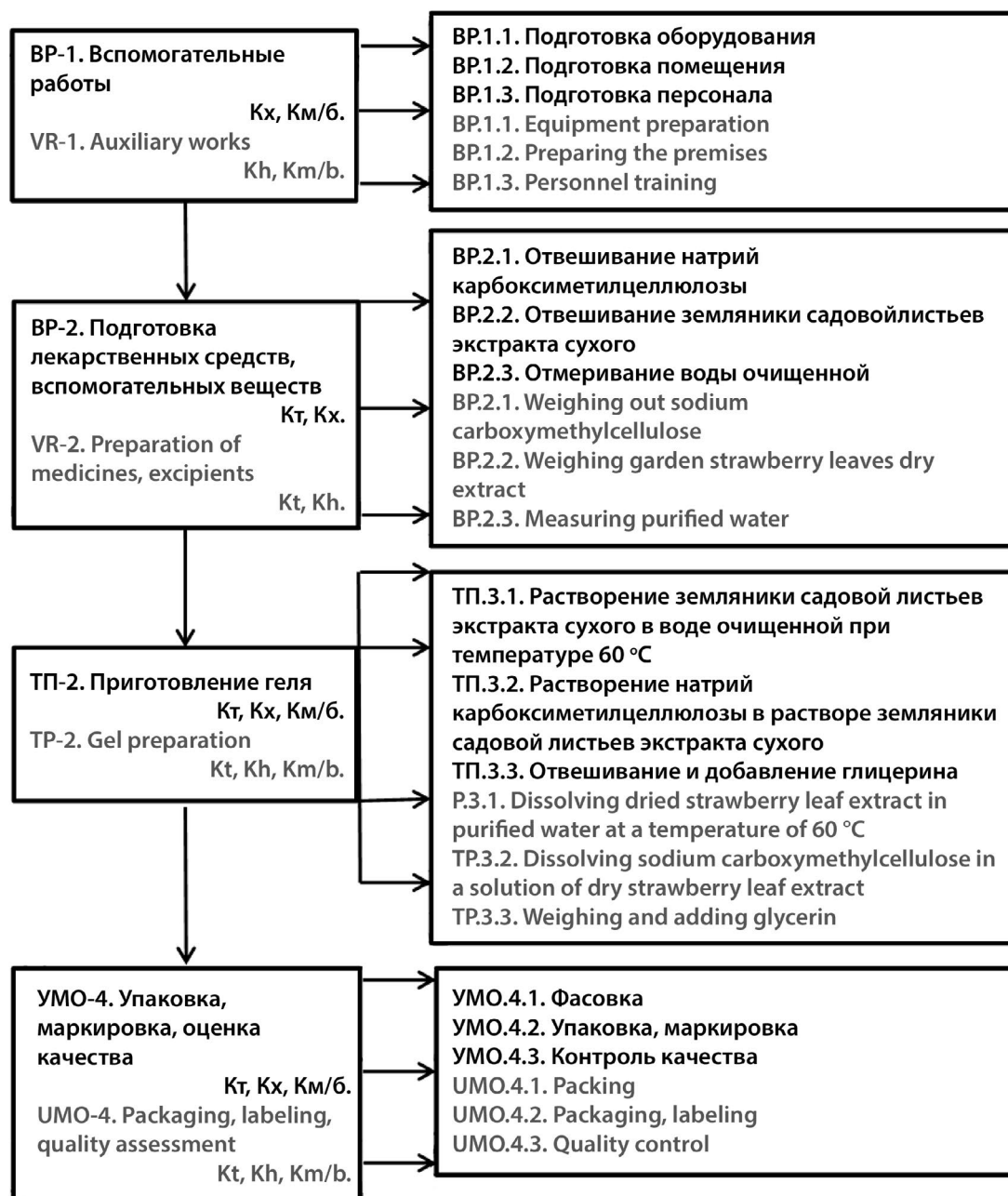


Рисунок 1. Технологическая схема изготовления геля с земляники садовой экстрактом сухим

Figure 1. Technological scheme for the manufacture of gel with strawberry garden extract dry

ЛИТЕРАТУРА

- Барсукова Ю. Н., Мельникова О. А. Мягкая лекарственная форма с наночастицами для остановки кровотечения: обоснование состава и технология получения. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(2):48–54.
- Ганичева Л. М., Вдовина Г. П. Биофармацевтические аспекты разработки, производства и применения лекарственных препаратов. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2012;3(43):3–9.
- Демина Н. Б. Биофармацевтическая классификационная система как инструмент разработки дизайна и технологии лекарственной формы. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;2:56–60.
- Ногаева У. В., Наумова А. А., Новиньков А. Г., Флисюк Е. В., Буракова М. А., Шиков А. Н., Абросимова О. Н. Сравнительное изучение реологических свойств гелей и кремов на различных основах-носителях. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(3):121–129.
- Яборова О. В., Соснина С. А., Турышев А. Ю. Изучение диуретической и противовоспалительной активности настоя и экстракта сухого листьев земляники садовой. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2021;23(6):136–142.
- Яборова О. В., Белоногова В. Д., Алексеева И. В. Исследование аллергизирующих свойств земляники садовой листьев экстракта сухого. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2022;24(2):81–88.

7. Яборова О.В., Белоногова В.Д., Алексеева И.В. Исследование иммунотоксических свойств земляники садовой листьев экстракта сухого. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2022;24(3):86–99.
8. Яборова О.В., Белоногова В.Д., Алексеева И.В. Исследование репродуктивной токсичности земляники садовой листьев экстракта сухого. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2022;24(9):48–57.
9. Яборова О.В., Курицын А.В., Белоногова В.Д., Алексеева И.В. Изучение хронической токсичности земляники садовой (*Fragaria ananassa*) листьев экстракта сухого. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4–1):110–119. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-110-119.
10. Бузикашвили Н.Е., Самойлова Д.В., ред. Медико-биологическая статистика. Москва: Практика; 1999. 459 с.
11. Олешко Г.И., Петухова О.В., Юшков В.В., Блинова О.А., Марченко С.Д. Способ получения средства, обладающего диуретической и противовоспалительной активностью. Патент РФ № 2342945. 2009. Бюл. № 1.
12. Семкина О.А. Мази, гели, линименты, содержащие фитопрепараты. *Химико-фармацевтический журнал*. 2005;7:30–36.
13. Грих В.В. Краснюк И.И. (мл.), Степанова О.И., Беляцкая А.В., Краснюк И.И., Тарасов В.В., Козин Д.А., Нестеренко Е. Разработка мягких лекарственных форм, содержащих твердые дисперсии. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;1:36–38.
14. Николаева А.С., Жезняковская Л.Ф. Совершенствование мази с антибактериальным действием. *Дни науки и инноваций НовГУ*. 2021;73–78.
15. Лесик И.П., Жезняковская Л.Ф. Разработка мази с антибактериальным действием. *Инновационные технологии в фармации*. 2019;6:379–382.
16. Горбачев А.А., Ильина Т.В., Цыганова И.В. Разработка олеогелей с масляными растительными экстрактами. *Week of Russian science (WeRuS-2023)*. 2023;880–881.
17. Князева А.В., Кочукова А.А. Технология изготовления мази с экстрактами череды трехраздельной (*Bidens tripartita* L.). *Universum: медицина и фармакология*. 2022;12(94):7–10.
18. Цыганова И.В., Перетрухина А.В., Ильина Т.В., Удалова А.П. Получение масляного экстракта из плодов шиповника и разработка технологии производства мази с полученным экстрактом. *Биологические науки: традиции, достижения, инновации*. 2023;53–54.
19. Лосенкова С.О. Исследование перспективности отечественных научных разработок в области фармацевтической технологии. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2020;19(4):134–146.
20. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание (в 4 томах). М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2018.
21. Тенцова А.И., Грецкий В.М. Современные аспекты исследований и производства мазей. М.: Медицина; 1980. 192 с.
22. Миронова А.Н., Бунатян Н.Д., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
4. Nogaeva U.V., Naumova A.A., Novinkov A.G., Flisyuk E.V., Burakova M.A., Shikov A.N., Abrosimova O.N. Comparative study of rheological properties of gels and creams on various carrier bases. *Drug development & registration*. 2022;11(3):121–129. (In Russ.)
5. Yaborova O.V., Sosnina S.A., Turyshch A.Yu. Study of diuretic and anti-inflammatory activity of infusion and extract of dry strawberry leaves. *Medical and pharmaceutical journal "Pulse"*. 2021;23(6):136–142. (In Russ.)
6. Yaborova O.V., Belonogova V.D., Alekseeva I.V. Investigation of allergenic properties of strawberry garden leaves of dry extract. *Medical and pharmaceutical journal "Pulse"*. 2022;24(2):81–88. (In Russ.)
7. Yaborova O.V., Belonogova V.D., Alekseeva I.V. Investigation of immunotoxic properties of strawberry leaves of dry extract. *Medico-pharmaceutical journal "Pulse"*. 2022;24(3):86–99. (In Russ.)
8. Yaborova O.V., Belonogova V.D., Alekseeva I.V. Study of reproductive toxicity of strawberry garden leaves of dry extract. *Medico-pharmaceutical journal "Pulse"*. 2022;24(9):48–57. (In Russ.)
9. Yaborova O.V., Kuritsyn A.V., Belonogova V.D., Alekseeva I.V. Study of chronic toxicity of strawberry (*Fragaria ananassa*) leaves of dry extract. *Drug development & registration*. 2022;11(4–1):110–119. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-110-119.
10. Buzikashvili N. E., Samoylova D. V., editors. Medical and biological statistics. Moscow: Praktika; 1999. 459 p. (In Russ.)
11. Oleshko G. I., Petukhova O. V., Yushkov V. V., Blinova O. A., Marchenko S. D. A method for obtaining a drug with diuretic and anti-inflammatory activity. Patent RUS No. 2342945. 2009. Byul. No. 1. (In Russ.)
12. Semkina O. A. Ointments, gels, liniments containing phytopreparations. *Chemico-pharmaceutical journal*. 2005;7:30–36. (In Russ.)
13. Grikh V. V. Krasnyuk I. I. (JR.), Stepanova O. I., Belyatskaya A. V., Krasnyuk I. I., Tarasov V. V., Kozin D. A., Nesterenko E. Development of soft dosage forms containing solid dispersions. *Drug development & registration*. 2018;1:36–38. (In Russ.)
14. Nikolaeva A. S., Zhezhnyakovskaya L. F. Improvement of ointment with antibacterial effect. *Days of Science and Innovation NovSU*. 2021;73–78. (In Russ.)
15. Lesik I. P., Zhezhnyakovskaya L. F. Development of ointment with antibacterial effect. *Innovative technologies in pharmacy*. 2019;6:379–382. (In Russ.)
16. Gorbachev A. A., Ilyina T. V., Tsyganova, I. V. Development of oleogels with oil plant extracts. *Week of Russian science (WeRuS-2023)*. 2023;880–881. (In Russ.)
17. Knyazeva A. V., Kochukova A. A. Technology of making ointment with extracts of a three-part series (*Bidens tripartita* L.). *Universum: medicine and pharmacology*. 2022;12(94):7–10. (In Russ.)
18. Tsyganova I. V., Peretruchina A. V., Ilyina T. V., Udalova A. P. Obtaining an oil extract from rosehip fruits and developing a technology for the production of ointment with the resulting extract. *Biological Sciences: traditions, achievements, innovations*. 2023;53–54. (In Russ.)
19. Losenkova S. O. The study of the prospects of domestic scientific developments in the field of pharmaceutical technology. *Bulletin of the Smolensk State Medical Academy*. 2020;19(4):134–146. (In Russ.)
20. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition (in 4 volumes). Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2018. (In Russ.)
21. Tentsova A. I., Gretskey V. M. *Modern aspects of research and production of ointments*. M.: Medicine; 1980. 192 p. (In Russ.)
22. Mironova A. N., Bunatyan N. D., editors. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines Moscow: Grif and K; 2012; 944 p. (In Russ.)

REFERENCES

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1634](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1634)
УДК 615.071 + 615.072 + 615.074 + 615.273.53



Оригинальная статья / Research article

Разработка методов идентификации БАВ, проявляющего антикоагулянтную активность

Е. С. Березина, Е. А. Непогодина, Ф. В. Собин✉, Н. А. Пулина, Н. В. Дозморова

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: Собин Федор Владимирович. E-mail: fff-2005@mail.ru

ORCID: Е. С. Березина – <https://orcid.org/0000-0002-4122-2414>; Е. А. Непогодина – <https://orcid.org/0000-0002-0572-8215>;
Ф. В. Собин – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>; Н. А. Пулина – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
Н. В. Дозморова – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>.

Статья поступила: 01.11.2023

Статья принята в печать: 12.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Сосудистые патологии, связанные с тромбозом, являются распространенными осложнениями и ведущей причиной заболеваемости и смертности среди пациентов различных нозологических групп. Ранее нами получены водорастворимые 2-гидроксид-4-оксо-4-Р-2-бутеноаты тиазолиаммония, проявляющие существенный фармакологический эффект на систему свертывания крови. Обнаружено соединение с выраженным антикоагулянтным действием при различных путях введения. Представляло интерес изучить методы подтверждения подлинности потенциального антикоагулянта.

Цель. Разработка методов идентификации потенциального антикоагулянта 2-гидроксид-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония.

Материалы и методы. Исследования проводились на трех сериях субстанции 2-гидроксид-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония, полученных в лабораторных условиях. Температуру плавления БАВ измеряли капиллярным методом согласно ГФ XV ОФС.1.2.1.0011 «Температура плавления». Растворимость субстанции определяли в соответствии с ГФ XV ОФС.1.2.1.0005 «Растворимость». Спектры поглощения в ИК-области сняты в соответствии с ГФ XV ОФС.1.2.1.1.0002 «Спектрофотометрия в средней инфракрасной области». Спектры поглощения в УФ-области сняты в соответствии с ГФ XV ОФС.1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». При проведении качественных реакций были использованы реактивы, приготовленные в соответствии с ГФ XV ОФС.1.3.0001 «Реактивы. Индикаторы».

Результаты и обсуждение. Проведено описание субстанции. Определена температура плавления и растворимость соединения. Сняты спектры в ИК- и УФ-области спектра. Подобраны методики, и проведены качественные реакции подлинности потенциального антикоагулянта.

Заключение. Исследованные характеристики нового БАВ могут быть использованы при стандартизации субстанции по показателям «Описание», «Растворимость», «Идентификация», «Температура плавления». Данные показатели характеризуют физико-химические свойства 2-гидроксид-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония, и в дальнейшем будут включены в проект НД на субстанцию.

Ключевые слова: производные 4-Р-2-гидроксид-4-оксо-2-бутеновых кислот, антикоагулянтная активность, методы идентификации

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

Вклад авторов. Е. С. Березина, Е. А. Непогодина и Н. В. Дозморова произвели подбор возможных методов идентификации, осуществили проведение опытов по подтверждению подлинности 2-гидроксид-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония, участвовали в написании статьи. Ф. В. Собин синтезировал фармакологически активный компонент, участвовал в проведении эксперимента, принимал непосредственное участие в написании и корректировке статьи. Н. А. Пулина осуществляла научное руководство проведения исследований, корректировала и рецензировала статью. Данная статья была написана и согласована при участии всех авторов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке в рамках государственного задания Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (шифр 720000Ф.99.1.БН62АБ06000), 2023 год.

Для цитирования: Березина Е. С., Непогодина Е. А., Собин Ф. В., Пулина Н. А., Дозморова Н. В. Разработка методов идентификации БАВ, проявляющего антикоагулянтную активность. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):78–83. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1634](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1634)

Development of Methods for Identifying BAS Exhibiting Anticoagulant Activity

Elena S. Berezina, Ekaterina A. Nepogodina, Fedor V. Sobin✉,
Natalya A. Pulina, Natalya V. Dozmorova

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

✉ Corresponding author: Fedor V. Sobin. E-mail: fff-2005@mail.ru

ORCID: Elena S. Berezina – <https://orcid.org/0000-0002-4122-2414>; Ekaterina A. Nepogodina – <https://orcid.org/0000-0002-0572-8215>;
Fedor V. Sobin – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>; Natalya A. Pulina – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
Natalya V. Dozmorova – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>.

Received: 01.11.2023

Revised: 12.12.2023

Published: 27.12.2023

© Березина Е. С., Непогодина Е. А., Собин Ф. В., Пулина Н. А., Дозморова Н. В., 2023

© Berezina E. S., Nepogodina E. A., Sobin F. V., Pulina N. A., Dozmorova N. V., 2023

Abstract

Introduction. Vascular pathologies associated with thromboembolism are common complications and the leading cause of morbidity and mortality among patients of various nosological groups. Previously, we obtained water-soluble 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenates of hetarylammonium, which exhibit a significant pharmacological effect on the blood coagulation system». A compound with a pronounced anticoagulant effect was found in various routes of administration. It was of interest to study various methods of confirming the authenticity of a potential anticoagulant.

Aim. Development of methods for identification of a potential anticoagulant 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate of thiazolinammonium.

Materials and methods. The studies were carried out on three series of the substance 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate of thiazolinammonium obtained in laboratory conditions. The melting point of BAS was measured by the capillary method according to GF XV OFS.1.2.1.0011 "Melting point". The solubility of the substance was determined in accordance with GF XV of the OFS.1.2.1.0005 "Solubility". The absorption spectra in the IR region were taken in accordance with GF XV of the OFS.1.2.1.1.0002 "Spectrophotometry in the middle infrared region". Absorption spectra in the UV region were taken in accordance with GF XV of the OFS.1.2.1.1.0003 "Spectrophotometry in the ultraviolet and visible regions". In carrying out qualitative reactions, reagents prepared in accordance with GF XV of the OFS were used.1.3.0001 "Reagents. Indicators".

Results and discussion. A description of the substance has been carried out. The melting point and solubility of the compound were determined. Spectra in the IR and UV regions of the spectrum were taken. Methods were selected, and qualitative reactions of authenticity of a potential anticoagulant were carried out.

Conclusion. The studied characteristics of the new BAS can be used in the standardization of the substance according to the indicators "Description", "Solubility", "Identification", "Melting point". These indicators characterize the physico-chemical properties of 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate of thiazolinammonium, and will be included in the draft regulatory documentation for the substance in the future.

Keywords: derivatives of 4-R-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acids, anticoagulant activity, identification methods

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 S. Berezina, Ekaterina A. Nepogodina and Natalya V. Dozmorova selected possible identification methods, carried out experiments to confirm the authenticity of 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate of thiazolinammonium, participated in the writing of the article. Fedor V. Sobin synthesized the pharmacologically active component, participated in the Natalya A. Pulina was directly involved in the writing and correction of the article, carried out the scientific management of the research, corrected and reviewed the article. This article was written and agreed upon with the participation of all the authors.

Funding. The study was carried out with financial support within the framework of the state task of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation (code 720000Ф.99.1.5Н62АБ06000), 2023.

For citation: Berezina E. S., Nepogodina E. A., Sobin F. V., Pulina N. A., Dozmorova N. V. Development of methods for identifying BAS exhibiting anticoagulant activity. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):78–83. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1634](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1634)

ВВЕДЕНИЕ

Венозная тромбоземболия, включающая тромбоз глубоких вен и тромбоземболию легочной артерии, является распространенным осложнением и ведущей причиной заболеваемости и смертности среди пациентов различных нозологических групп. Одним из вариантов предупреждения данных патологий является прием пероральных антикоагулянтов [1–6]. Известно, что производные 2,4-диоксобутановых кислот являются перспективной матрицей для создания новых химических структур, которые обладают широким спектром биологического действия: анальгетической, противовоспалительной [7–12], антибактериальной [10, 11, 13] и цитотоксической активностью [14]. Ранее нами получены водорастворимые соединения данного ряда, проявляющие существенный фармакологический эффект на систему свертывания крови [15–17]. Обнаружено соединение с выраженным

антикоагулянтным действием при различных путях введения [16, 17], которое рекомендовано для дальнейших комплексных исследований с целью создания нового отечественного конкурентоспособного антикоагулянта.

Одним из этапов изучения «лекарственных кандидатов» является разработка методов идентификации фармакологически активного компонента. Представляло интерес изучить различные методы подтверждения подлинности биологически активного вещества (БАВ) потенциального антикоагулянта 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолинаммония.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на трех сериях субстанции 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолинаммония, полученных в лабораторных условиях.

Растворимость субстанции 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноат тиазолиинаммония определяли в соответствии с ГФ XV ОФС.1.2.1.0005 «Растворимость»².

Спектры поглощения в УФ-области сняты для 0,0005%-го раствора БАВ в 0,1 М растворе натрия гидроксида в области от 215 до 400 нм в соответствии с ГФ XV ОФС.1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» (спектрофотометр UV-1800, Shimadzu Corporation, Япония)⁴.

Методики качественных реакций:

- 1) к 2 мл 0,0005%-го раствора исследуемого БАВ в растворе натрия гидроксида 0,1 М прибавляют 3–4 капли меди(II) ацетата раствора 5%-го, появляется изумрудно зеленое окрашивание, постепенно образуется осадок зеленого цвета;
- 2) 0,02 г субстанции растворяют при нагревании в 5 мл воды очищенной, охлаждают, прибавляют 3–4 капли железа(III) хлорида раствора 3%-го, появляется желто-коричневое окрашивание;

² ОФС.1.2.1.0005 «Растворимость». Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Москва, 2023. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1-1-2/1-2-1/rastvorimost/> Ссылка активна на 09.10.2023.

³ ОФС.1.2.1.1.0002 «Спектрофотометрия в средней инфракрасной области». Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Москва. 2023. Доступно по: <https://pharmacopeia.regmed.ru/pharmacopeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-1-metody-spektralnogo-analiza/spektrometriya-v-sredney-infrakrasnoy-oblasti/> Ссылка активна на 09.10.2023.

⁴ ОФС.1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Москва. 2023. Доступно по: <https://pharmacopeia.regmed.ru/pharmacopeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1-1-2-1-1-metody-spektralnogo-analiza/spektrofotometriya-v-ultrafioletovoy-i-vidimoy-oblastyakh/> Ссылка активна на 09.10.2023.

⁵ ОФС.1.2.2.0001 «Общие реакции на подлинность». Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Москва. 2023. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-2/obshchie-reaktsii-na-podlinnost/> Ссылка активна на 09.10.2023.

- 3) 0,1 г субстанции растворяют в 5 мл натрия гидроксида раствора 10%-го и кипятят в течении 3 мин, затем охлаждают и фильтруют. К полученному фильтрату прибавляют 10 капель азотной кислоты разведенной и 10 капель серебра нитрата раствора 2%-го, появляется белый творожистый осадок растворимый в растворе аммиака;
- 4) в петлю медной проволоки, предварительно прокаленной в пламени горелки, помещают анализируемое БАВ, затем вносят в пламя горелки; пламя окрашивается в зеленый цвет;
- 5) 0,02 г анализируемого БАВ растворяют в 5 мл воды очищенной при нагревании, охлаждают, прибавляют 2 мл натрия гидроксида раствора 10%-го и взбалтывают. К полученному раствору добавляют 3 капли свинца(II) ацетата раствора 10%-го, образуется черный осадок;
- 6) 0,02 г субстанции растворяют при нагревании в 5 мл воды очищенной, прибавляют 1 мл натрия гидроксида раствора 10%-го и взбалтывают. К полученному раствору добавляют 3 капли натрия нитропруссиды раствора 10%-го, постепенно появляется фиолетовое окрашивание.

2-Гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноат тиазолинаммония, полученный в лабораторных условиях, представляет собой белый или белый с бежевым оттенком мелкокристаллический порошок, без запаха.

Определение температуры плавления проводили на 3 сериях субстанции капиллярным методом (таблица 1). Полученные результаты позволяют нормировать интервал температуры от 156 до 158 °C (с разложением).

Table 1. The results of the determination of the melting point of 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate thiazolinammonium

Серия Series	№ опыта Experience No	Температура плавления, °C Melting point, °C	Среднее значение, °C Average value, °C
1	1	156–157	156–157
	2	156–158	
	3	156–157	
2	1	156–157	157–158
	2	157–158	
	3	157–158	
3	1	156–158	156–158
	2	156–157	
	3	156–158	

Растворимость

Как следует из полученных данных, растворимость БАВ зависит от природы растворителя: субстанция растворима в щелочных растворах (натрия гидроксид, аммиак), умеренно растворима в воде очищенной, спиртах (метиловом, этиловом), диметилформамиде, практически нерастворима в бензоле, четыреххлористом углероде, гексане, эфире. Исходя из этого, можно сделать вывод, что исследуемое БАВ растворимо в полярных растворителях и нерастворимо в неполярных, что соответствует структуре соединения. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2. Растворимость 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония в некоторых растворителях

Table 2. Solubility of 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate of thiazolinammonium in some solvents

Растворитель Solvent	Растворимость (согласно ОФС.1.2.1.0005) Solubility (according to OFS.1.2.1.0005)
Гексан Hexane	Практически нерастворим Practically insoluble
Диэтиловый эфир Diethyl ether	Практически нерастворим Practically insoluble
Четыреххлористый углерод Carbon tetrachloride	Практически нерастворим Practically insoluble
Этилацетат Ethyl Acetate	Практически нерастворим Practically insoluble
Н-Бутанол N-Butanol	Практически нерастворим Practically insoluble
Хлористоводородная кислота 1 М Hydrochloric acid 1 M	Практически нерастворим Practically insoluble
Ацетон Acetone	Мало растворим Slightly soluble
Хлороформ Chloroform	Умеренно растворим Moderately soluble
Спирт этиловый 96%-й Ethyl alcohol 96 %	Умеренно растворим Moderately soluble
Метанол Methanol	Умеренно растворим Moderately soluble
Вода очищенная Purified water	Умеренно растворим Moderately soluble
Диметилформамид Dimethylformamide	Умеренно растворим Moderately soluble
Муравьиная кислота Formic acid	Умеренно растворим Moderately soluble
Раствор натрия гидроксида 0,1 М 0.1 M sodium hydroxide solution	Растворим Soluble
Раствор аммония гидроксида 25%-й Ammonium hydroxide solution 25 %	Растворим Soluble

ИК-спектроскопия

ИК-спектр БАВ снят в виде суспензии в вазелиновом масле в интервале 4000 – 400 см⁻¹. Области колебаний (полосы поглощения), характерны для основных фрагментов структуры молекулы БАВ: 3170 см⁻¹ (NH₂, OH), 1682 см⁻¹ (C=O), 1650, 1600 см⁻¹ (C⁴=O, C=N, C=C).

Совокупность всех полос поглощения инфракрасного спектра соединения характеризует его индивидуальность и может использоваться для целей идентификации и включения в проект НД.

Спектрофотометрия в УФ-области

Спектр поглощения 0,0005%-го раствора БАВ в 0,1М растворе натрия гидроксида в интервале от 215 до 400 нм имеет максимум поглощения при 245 нм и минимум при 221 нм, что соответствует гетероциклическому фрагменту структуры (тиазолин); максимум при 333 нм и минимум при 278 нм соответствуют замещенному ароматическому радикалу (4-хлорфенил), сопряженному с карбонильной группой и енольным гидроксилом.

Качественные реакции

Для идентификации 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония были апробированы качественные реакции, обусловленные свойствами функциональных групп в структуре соединения: енольного гидроксила, карбоксильной группы, ковалентно связанного галогена (хлора) и серы¹.

Кислотные свойства исследуемого БАВ обусловлены наличием в структуре карбоксильной группы, енольного гидроксила и подтверждаются положительным эффектом реакций с раствором меди(II) ацетата в щелочной среде и раствором железа(III) хлорида. Появление характерного окрашивания свидетельствует об образовании комплексов и солевых форм.

Для подтверждения ковалентно связанного хлора предварительно проводили восстановительную минерализацию в мягких условиях (при нагревании с раствором натрия гидроксида 10%-м), образующийся хлорид-ион доказывали реакцией осаждения раствором серебра нитрата (ОФС.1.2.2.0001 «Общие реакции на подлинность»). Проба Бельштейна дает положительный эффект, что также подтверждает наличие в структуре БАВ ковалентно связанного хлора.

Ковалентно связанную серу доказывали после восстановительной минерализации (раствором натрия гидроксида 10%-го) реакцией осаждения раствором свинца(II) ацетата, при этом образуется черный осадок свинца(II) сульфида. Положительная реакция с натрия нитропруссидом подтверждает наличие ковалентно связанной серы.

В результате проведенных исследований были изучены различные методы подтверждения подлинности 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония. Для идентификации могут быть использованы как химические, так и физико-химические методы. Спектральные характеристики в пол-

¹ ОФС.1.2.2.0001 «Общие реакции на подлинность». Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Москва. 2023. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-2/obshchie-reaktsii-na-podlinnost/> Ссылка активна на 09.10.2023.

ной мере отражают структуру БАВ, в тоже время, наличие ковалентно связанного хлора и серы может быть подтверждено только качественными реакциями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованные характеристики нового БАВ могут быть использованы при стандартизации субстанции по показателям «Описание», «Растворимость», «Идентификация», «Температура плавления». Данные показатели характеризуют физико-химические свойства 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноат тиазолиаммония, и в дальнейшем будут включены в проект НД на субстанцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Elsebaie M. A. T., Van Es N., Langston A., Büller H. R., Gaddh M. Direct oral anticoagulants in patients with venous thromboembolism and thrombophilia: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2019;17:645–656. DOI: 10.1111/jth.14398.
2. Roberti R., Iannone L. F., Palleria C., Curcio A., Rossi M., Sciacqua A., Armentaro G., Vero A., Manti A., Cassano V., Russo E., De Sarro G., Citraro R. Direct Oral Anticoagulants: From Randomized Clinical Trials to Real-World Clinical Practice. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12:1–14. DOI: 10.3389/fphar.2021.684638.
3. Athanazio R. A., Ceresetto J. M., Rivera L. J. M., Cesarman-Maus G., Galvez K., Marques M. A., Tabares A. H., Ortiz Santacruz C. A., Costa Santini F., Corrales L., Cohen A. T. Direct Oral Anticoagulants for the Treatment of Cancer-Associated Venous Thromboembolism: A Latin American Perspective. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2022;28:1–13. DOI: 10.1177/10760296221082988.
4. Fastner C., Szabo K., Samartzi M., Kruska M., Akin I., Platten M., Baumann S., Alonso A. Treatment standards for direct oral anticoagulants in patients with acute ischemic stroke and non-valvular atrial fibrillation: A survey among German stroke units. *PLoS ONE*. 2022;17(2):e0264122. DOI: 10.1371/journal.pone.0264122.
5. Moster M., Bolliger D. Perioperative Guidelines on Antiplatelet and Anticoagulant Agents: 2022 Update. *Current Anesthesiology Reports*. 2022;12:286–296. DOI: 10.1007/s40140-021-00511-z.
6. Fischer U., Koga M., Strbian D., Branca M., Abend S., Trelle S., Paciaroni M., Thomalla G., Michel P., Nedeltchev K., Bonati L. H., Ntaios G., Gattlinger T., Sandset E.-C., Kelly P., Lemmens R., Sylaja P. N., Aguiar de Sousa D., Bornstein N. M., Gdovinova Z., Yoshimoto T., Tiainen M., Thomas H., Krishnan M., Shim G., Gumbinger C., Vehoff J., Zhang L., Matsuzono K., Kristoffersen E., Desfontaines P., Vanacker P., Alonso A., Yakushiji Y., Kulyk C., Hemelsoet D., Poli S., Paiva Nunes A., Caracciolo N., Slade P., Demeester J., Salerno A., Kneihsl M., Kahles T., Giudici D., Tanaka K., Rätzy S., Hidalgo R., Werring D. J., Göddlin M., Arnold M., Ferrari C., Beyeler S., Fung C., Weder B. J., Tatlisumak T., Fenzl S., Rezny-Kasprzak B., Hakim A., Salanti G., Bassetti C., Gralla J., Seiffge D. J., Horvath T., Dawson J. Early versus Later Anticoagulation for Stroke with Atrial Fibrillation. *New England Journal of Medicine*. 2023;388(26):2411–2421. DOI: 10.1056/NEJMoa2303048.
7. Shipilovskikh S. A., Vaganov V. Y., Makhmudov R. R., Rubtsov A. E. Synthesis and Antinociceptive Activity of N-Substituted 4-Aryl-4-oxo-2-[(3-thiophen-2-yl)amino]but-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90:583–589. DOI: 10.1134/S1070363220040040.
8. Gein V. L., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Nazarets O. V., Makhmudov R. R., Gradova E. V. Synthesis and Analgesic Activity of Etyl 4-[(4-Aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl)amino]benzoates. *Russian Journal of General Chemistry*. 2022;92:2231–2234. DOI: 10.1134/S1070363222110056.
9. Lipin D. V., Denisova E. I., Shipilovskikh D. A., Makhmudov R. R., Igidov N. M., Shipilovskikh S. A. Synthesis, Intramolecular Cyclization, and Anti-inflammatory Activity of Substituted 2-[2-(4-R-Benzoyl)hydrazinylidene]-4-oxobutanoic Acids. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2022;58:1759–1768. DOI: 10.1134/S1070428022120041.

10. Sharavyeva, Y. O., Siutkina, A. I., Chashchina, S. V. Novikova V. V., Makhmudov R. R., Shipilovskikh S. A. Synthesis, analgesic and antimicrobial activity of substituted 2-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]thiophen-2-ylamino)-4-oxo-4-phenylbut-2-enoates. *Russian Chemical Bulletin*. 2022;71:538–542. DOI: 10.1007/s11172-022-3445-y.
11. Gein V. L., Nazarets O. V., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Novikova V. V., Makhmudov R. R., Balyukina L. A. Synthesis and Biological Activity of 4-Aryl-2-hydroxy-4-oxo-N-(2-sulfamoylphenyl)but-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2023;93:1023–1027. DOI: 10.1134/S107036322305002X.
12. Igidov S. N., Turyshchev A. Y., Chashchina S. V., Shipilovskikh D. A., Chernov I. N., Zvereva O. V., Silaichev P. S., Igidov N. M., Shipilovskikh S. A. Synthesis and anti-inflammatory activity of N-arylamides of 4-aryl- and 4-(thiophen-2-yl)-2-[2-(furan-2-carbonyl)hydrazono]-4-oxobutanoic acids. *Russian Chemical Bulletin*. 2023;72:2241–2248. DOI: 10.1007/s11172-023-4021-9.
13. Собин Ф. В., Пулина Н. А., Новикова В. В. Изучение противогрибковой активности экспериментальных мягких лекарственных форм на основе гидразонопроизводного гетариламида 4-фенил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновой кислоты. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):43–47. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-43-47.
14. Mahdian M., Ebadi A., Bahmani A., Dastan D., Zolfogol M. A., Chahardoli G. Synthesis, Molecular Modeling, and Biological Evaluation of New N-(Benzo[d]thiazol-2-yl)-3-amino-but-2-enamide Derivatives as Cytotoxic Agents, Organic Preparations and Procedures International. *Organic preparations and procedures international*. 2023. DOI: 10.1080/00304948.2023.2260727.
15. Pulina N. A., Sobin F. V., Syropyatov B. Ya., Mokin P. A., Kovaleva M. Yu. Synthesis and anticoagulant activity of α-oxocarboxylic acid derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2013;46(12):711–714. DOI: 10.1007/s11094-013-0875-8.
16. Старкова А. В., Сыропятов Б. Я., Собин Ф. В., Пулина Н. А. Оценка влияния 4-хлорфенил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеноата тиазолиаммония на показатели гемостаза у кроликов и мышей при внутривенном введении. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2014;9:18–21.
17. Старкова А. В., Карпенко Ю. Н., Сыропятов Б. Я., Собин Ф. В., Пулина Н. А. Изучение влияния концентрации в крови 4-хлорфенил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеноата тиазолиаммония на антикоагулянтный эффект при подкожном введении. *Пермский медицинский журнал*. 2018;35(1):88–94. DOI: 10.17816/pmj35188-94.

REFERENCES

1. Elsebaie M. A. T., Van Es N., Langston A., Büller H. R., Gaddh M. Direct oral anticoagulants in patients with venous thromboembolism and thrombophilia: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2019;17:645–656. DOI: 10.1111/jth.14398.
2. Roberti R., Iannone L. F., Palleria C., Curcio A., Rossi M., Sciacqua A., Armentaro G., Vero A., Manti A., Cassano V., Russo E., De Sarro G., Citraro R. Direct Oral Anticoagulants: From Randomized Clinical Trials to Real-World Clinical Practice. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12:1–14. DOI: 10.3389/fphar.2021.684638.
3. Athanazio R. A., Ceresetto J. M., Rivera L. J. M., Cesarman-Maus G., Galvez K., Marques M. A., Tabares A. H., Ortiz Santacruz C. A., Costa Santini F., Corrales L., Cohen A. T. Direct Oral Anticoagulants for the Treatment of Cancer-Associated Venous Thromboembolism: A Latin American Perspective. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2022;28:1–13. DOI: 10.1177/10760296221082988.
4. Fastner C., Szabo K., Samartzi M., Kruska M., Akin I., Platten M., Baumann S., Alonso A. Treatment standards for direct oral anticoagulants in patients with acute ischemic stroke and non-valvular atrial fibrillation: A survey among German stroke units. *PLoS ONE*. 2022;17(2):e0264122. DOI: 10.1371/journal.pone.0264122.
5. Moster M., Bolliger D. Perioperative Guidelines on Antiplatelet and Anticoagulant Agents: 2022 Update. *Current Anesthesiology Reports*. 2022;12:286–296. DOI: 10.1007/s40140-021-00511-z.
6. Fischer U., Koga M., Strbian D., Branca M., Abend S., Trelle S., Paciaroni M., Thomalla G., Michel P., Nedeltchev K., Bonati L. H., Ntaios G., Gattlinger T., Sandset E.-C., Kelly P., Lemmens R., Sylaja P. N., Aguiar de Sousa D., Bornstein N. M., Gdovinova Z., Yoshimoto T., Tiainen M., Thomas H., Krishnan M., Shim G., Gumbinger C., Vehoff J., Zhang L., Matsuzono K., Kristoffersen E., Desfontaines P., Vanacker P., Alonso A., Yakushiji Y., Kulyk C., Hemelsoet D., Poli S., Paiva Nunes A., Caracciolo N., Slade P., Demeester J., Salerno A., Kneihsl M., Kahles T., Giudici D., Tanaka K., Rätzy S., Hidalgo R., Werring D. J., Göddlin M., Arnold M., Ferrari C., Beyeler S., Fung C., Weder B. J., Tatlisumak T., Fenzl S., Rezny-Kasprzak B., Hakim A., Salanti G., Bassetti C., Gralla J., Seiffge D. J., Horvath T., Dawson J. Early versus Later Anticoagulation for Stroke with Atrial Fibrillation. *New England Journal of Medicine*. 2023;388(26):2411–2421. DOI: 10.1056/NEJMoa2303048.
7. Shipilovskikh S. A., Vaganov V. Y., Makhmudov R. R., Rubtsov A. E. Synthesis and Antinociceptive Activity of N-Substituted 4-Aryl-4-oxo-2-[(3-thiophen-2-yl)amino]but-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90:583–589. DOI: 10.1134/S1070363220040040.
8. Gein V. L., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Nazarets O. V., Makhmudov R. R., Gradova E. V. Synthesis and Analgesic Activity of Etyl 4-[(4-Aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl)amino]benzoates. *Russian Journal of General Chemistry*. 2022;92:2231–2234. DOI: 10.1134/S1070363222110056.
9. Lipin D. V., Denisova E. I., Shipilovskikh D. A., Makhmudov R. R., Igidov N. M., Shipilovskikh S. A. Synthesis, Intramolecular Cyclization, and Anti-inflammatory Activity of Substituted 2-[2-(4-R-Benzoyl)hydrazinylidene]-4-oxobutanoic Acids. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2022;58:1759–1768. DOI: 10.1134/S1070428022120041.

- moto T., Tiainen M., Thomas H., Krishnan M., Shim G. C., Gumbinger C., Vehoff J., Zhang L., Matsuzono K., Kristoffersen E., Desfontaines P., Vanacker P., Alonso A., Yakushiji Y., Kulyk C., Hemelsoet D., Poli S., Paiva Nunes A., Caracciolo N., Slade P., Demeester J., Salerno A., Kneihsl M., Kahles T., Giudici D., Tanaka K., Rätty S., Hidalgo R., Werring D. J., Göldlin M., Arnold M., Ferrari C., Beyeler S., Fung C., Weder B. J., Tatlisumak T., Fenzl S., Rezný-Kasprzak B., Hakim A., Salanti G., Bassetti C., Gralla J., Seiffge D. J., Horvath T., Dawson J. Early versus Later Anticoagulation for Stroke with Atrial Fibrillation. *New England Journal of Medicine*. 2023;388(26):2411–2421. DOI: 10.1056/NEJMoa2303048.
7. Shipilovskikh S. A., Vaganov V. Y., Makhmudov R. R., Rubtsov A. E. Synthesis and Antinociceptive Activity of N-Substituted 4-Aryl-4-oxo-2-[(3-thiophen-2-yl)amino]but-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90:583–589. DOI: 10.1134/S1070363220040040.
8. Gein V. L., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Nazarets O. V., Makhmudov R. R., Gradova E. V. Synthesis and Analgesic Activity of Etyl 4-[(4-Aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl)amino]benzoates. *Russian Journal of General Chemistry*. 2022;92:2231–2234. DOI: 10.1134/S1070363222110056.
9. Lipin D. V., Denisova E. I., Shipilovskikh D. A., Makhmudov R. R., Igidov N. M., Shipilovskikh S. A. Synthesis, Intramolecular Cyclization, and Anti-inflammatory Activity of Substituted 2-[2-(4-R-Benzoyl)hydrazinylidene]-4-oxobutanoic Acids. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2022;58:1759–1768. DOI: 10.1134/S1070428022120041.
10. Sharavyeva, Y. O., Siutkina, A. I., Chashchina, S. V., Novikova V. V., Makhmudov R. R., Shipilovskikh S. A. Synthesis, analgesic and antimicrobial activity of substituted 2-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]thiophen-2-ylamino)-4-oxo-4-phenylbut-2-enoates. *Russian Chemical Bulletin*. 2022;71:538–542. DOI: 10.1007/s11172-022-3445-y.
11. Gein V. L., Nazarets O. V., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Novikova V. V., Makhmudov R. R., Balyukina L. A. Synthesis and Biological Activity of 4-Aryl-2-hydroxy-4-oxo-N-(2-sulfamoyl-phenyl)but-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2023;93:1023–1027. DOI: 10.1134/S107036322305002X.
12. Igidov S. N., Turyshev A. Y., Chashchina S. V., Shipilovskikh D. A., Chernov I. N., Zvereva O. V., Silaichev P. S., Igidov N. M., Shipilovskikh S. A. Synthesis and anti-inflammatory activity of N-arylamides of 4-aryl- and 4-(thiophen-2-yl)-2-[2-(furan-2-carbonyl)hydrazono]-4-oxobutanoic acids. *Russian Chemical Bulletin*. 2023;72:2241–2248. DOI: 10.1007/s11172-023-4021-9.
13. Sobin F. V., Pulina N. A., Novikova V. V. Study of Antifungal Activity of Experimental Soft Dosage Form Based on the Hydrazone Derivative of Getarylamine 4-phenyl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic Acid. *Drug development & registration*. 2022;11(4):43–47. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-43-47.
14. Mahdian M., Ebadi A., Bahmani A., Dastan D., Zolfigol M. A., Chehardoli G. Synthesis, Molecular Modeling, and Biological Evaluation of New N-(Benzo[d]thiazol-2-yl)-3-amino-but-2-enamide Derivatives as Cytotoxic Agents, Organic Preparations and Procedures International. *Organic preparations and procedures international*. 2023. DOI: 10.1080/00304948.2023.2260727.
15. Pulina N. A., Sobin F. V., Syropyatov B. Ya., Mokin P. A., Kovalova M. Yu. Synthesis and anticoagulant activity of α -oxocarboxylic acid derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2013;46(12):711–714. DOI: 10.1007/s11094-013-0875-8.
16. Starkova A. V., Syropyatov B. Ya., Sobin F. V., Pulina N. A. Evaluation of the effect of thiazoline ammonium 4-chlorophenyl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenate on hemostasis in rabbits and mice during intragastric administered. *Questions of biological medical and pharmaceutical chemistry*. 2014;9:18–21. (In Russ.)
17. Starkova A. V., Karpenko Y. N., Syropyatov B. Y., Sobin F. V., Pulina N. A. Study of influence of blood thiazoline ammonium 4-chlorophenyl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenate concentration on anticoagulant effect upon subcutaneous administration. *Perm Medical Journal*. 2018;35(1):88–94. (In Russ.) DOI: 10.17816/pmj35188-94.

Влияние продукта биодеструкции парацетамола на количественные показатели анатомической структуры листа ландыша майского (*Convallaria majalis* L.)

Е. В. Вихарева✉, Т. В. Бомбела, Е. В. Быков, А. А. Баранова

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: Вихарева Елена Владимировна. E-mail: ajm@perm.ru

ORCID: Е. В. Вихарева – <https://orcid.org/0000-0002-7202-0073>; Т. В. Бомбела – <https://orcid.org/0000-0003-0414-0783>; Е. В. Быков – <https://orcid.org/0000-0001-8873-6562>; А. А. Баранова – <https://orcid.org/0009-0007-3451-325X>.

Статья поступила: 01.11.2023

Статья принята в печать: 14.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. В связи с глобальным фармацевтическим загрязнением водных объектов многих стран в настоящее время наблюдается нарастание интереса исследователей к поиску эффективных, в том числе микробиологических, способов переработки фармацевтических отходов для получения на их основе новых полезных продуктов. Результаты ранее проведенных исследований показали, что продукт бактериальной деструкции парацетамола проявляет выраженные стимулирующие свойства в отношении лекарственных растений семейств астровые, льняные, яснотковые, подорожниковые и др. Сведения о влиянии данного продукта на растения семейства лилейные отсутствуют.

Цель. Исследовать влияние продукта биодеструкции парацетамола на количественные показатели анатомической структуры листа ландыша майского – *Convallaria majalis* L., сем. Лилейные – *Liliaceae*.

Материалы и методы. Опыты закладывали в Кировской области (2021, 2022 гг.) в соответствии с Руководством по проведению регистрационных испытаний регуляторов роста (2016). Схема опыта: контрольный участок – естественный полив водой; испытуемый участок – полив продуктом биодеструкции парацетамола, полученным на базе лаборатории алканотрофных микроорганизмов ПФИЦ УрО РАН (Пермь); эталонный участок – полив стимулятором роста «Циркон» (ННПП «НЭСТ М», Россия). Количественные параметры анатомической структуры листа ландыша оценивали по линейным размерам эпидермы, элементов проводящей системы и мезофилла. Просмотр, фотографирование и обработку информации проводили с использованием микроскопа Motic (Motic Deutschland GmbH, Германия) в программе Motic Image 2000. Математическую обработку экспериментальных данных проводили методом дисперсионного анализа с использованием программ Excel 2019, STATISTICA 12.6, STATGRAPHICS Plus 5.1.

Результаты и обсуждение. Анатомическое исследование показало увеличение размеров клеток верхней и нижней эпидермы листа ландыша майского в обозначенные вегетационные периоды на учетных площадках, обработанных продуктом биодеструкции парацетамола и эталоном («Циркон») в сравнении с контролем (водой). При использовании продукта биодеструкции парацетамола зафиксировано увеличение толщины мезофилла на 10–16 % и количества его слоев на 14–30 %. При использовании стимулятора роста «Циркон» толщина мезофилла и количество слоев увеличились на 3–6 % и 8–15 % соответственно. Увеличение толщины флоэмы и ксилемы проводящего пучка при обработке продуктом биодеструкции парацетамола больше на 20–30 %, чем в контроле, и в 2 раза больше, чем при обработке стимулятором роста «Циркон».

Заключение. Продукт биодеструкции парацетамола в разные годы применения не зависимо от факторов внешней среды проявляет выраженное стимулирующее действие в отношении ландыша майского, значительно увеличивая количественные показатели анатомической структуры листа по сравнению со стимулятором роста «Циркон» и контролем (водой). Полученные данные могут быть использованы в лекарственном растениеводстве при разработке агротехнических приемов выращивания сырья ландыша майского, а также при формировании досье при регистрации данного продукта как нового стимулятора роста растений.

Ключевые слова: ландыш майский, *Convallaria majalis*, анатомия листа, продукт биодеструкции парацетамола, стимулятор роста «Циркон»

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

Вклад авторов. Е. В. Вихарева – научное руководство исследованием, постановка задач, планирование полевого опыта, написание статьи. Т. В. Бомбела – планирование анатомического исследования, интерпретация результатов, написание статьи. Е. В. Быков – выполнение эксперимента. А. А. Баранова – статистическая обработка результатов.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Вихарева Е. В., Бомбела Т. В., Быков Е. В., Баранова А. А. Влияние продукта биодеструкции парацетамола на количественные показатели анатомической структуры листа ландыша майского (*Convallaria majalis* L.). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):84–95. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1633](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1633)

Effect of Paracetamol Biodegradation Products Quantitative Indicators of the Anatomical Structure of the Lily of the Valley Leaf (*Convallaria majalis* L.)

Elena V. Vikhareva✉, Tatiana V. Bombela, Evgeny V. Bykov, Anna A. Baranova

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: Elena V. Vikhareva. E-mail: ajm@perm.ru

ORCID: Elena V. Vikhareva – <https://orcid.org/0000-0002-7202-0073>; Tatiana V. Bombela – <https://orcid.org/0000-0003-0414-0783>;
Evgeny V. Bykov – <https://orcid.org/0000-0001-8873-6562>; Anna A. Baranova – <https://orcid.org/0009-0007-3451-325X>.

Received: 01.11.2023 Revised: 14.12.2023 Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Due to the global pharmaceutical pollution of water bodies in many countries, there is currently an increasing interest of researchers in finding effective, including microbiological, ways of processing pharmaceutical waste to obtain new useful products based on them. The results of previous studies have shown that the product of bacterial destruction of paracetamol exhibits pronounced stimulating properties in relation to medicinal plants of the aster, linseed, clear-flowered, plantain, etc. families. There is no information about the effect of this product on plants of the liliaceae family.

Aim. To investigate the effect of the paracetamol biodegradation product on the quantitative indicators of the anatomical structure of the lily of the valley leaf – *Convallaria majalis* L., fam. *Liliaceae*.

Materials and methods. The experiments were laid in the Kirov region (2021, 2022) in accordance with the Guidelines for Conducting Registration Tests of Growth Regulators (2016). The scheme of the experiment: the control area – natural watering with water; the test area – watering with the product of biodegradation of paracetamol obtained on the basis of the laboratory of alkanotrophic microorganisms of the PFRC UB RAS (Perm); the reference area – watering with the growth stimulator "Zircon" (NRPP "NEST M", Russia). Quantitative parameters of the anatomical structure of the lily of the valley leaf were evaluated by the linear dimensions of the epidermis, elements of the conducting system and mesophyll. Viewing, photographing and processing of photographs was carried out using a microscope Motic (Motic Deutschland GmbH, Germany) in the program Motic Image 2000. Mathematical processing of experimental data was carried out by the method of variance analysis using Excel 2019, STATISTICA 12.6, STATGRAPHICS Plus 5.1 programs.

Results and discussion. Anatomical examination showed an increase in the size of the cells of the upper and lower epidermis of the lily of the valley leaf in the designated growing seasons on the accounting sites treated with a product of the biodegradation of paracetamol and a standard ("Zircon") in comparison with the control (water). When using the biodegradation product of paracetamol, an increase in the thickness of the mesophyll by 10–16 % and the number of layers by 14–30 % was recorded. When using the growth stimulator "Zircon", the thickness of the mesophyll and the number of its layers increased by 3–6 % and 8–15 %, respectively. The increase in the thickness of the phloem and xylem of the conductive beam when treated with the paracetamol biodegradation product was 20–30 % greater than in the control, and 2 times greater than when treated with the growth stimulator "Zircon".

Conclusion. The product of the biodegradation of paracetamol in different years of use, regardless of environmental factors, shows a pronounced stimulating effect on the lily of the valley of the May, significantly increasing the quantitative indicators of the anatomical structure of the leaf compared with the growth stimulator "Zircon" and control (water). The obtained data can be used in medicinal plant growing in the development of agrotechnical methods for growing raw materials of the lily of the valley of the May, as well as in the formation of a dossier when registering this product as a new plant growth stimulator.

Keywords: lily of the valley May, *Convallaria majalis*, leaf anatomy, paracetamol biodegradation product, growth stimulator "Zircon"

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 V. Vikhareva – scientific management of research, setting tasks, planning field experience, writing an article. Tatiana V. Bombela – planning anatomical research, interpretation of results, writing an article. Evgeny V. Bykov – conducting experiments. Anna A. Baranova – statistical processing of results.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Vikhareva E. V., Bombela T. V., Bykov E. V., Baranova A. A. Effect of paracetamol biodegradation products quantitative indicators of the anatomical structure of the lily of the valley leaf (*Convallaria majalis* L.). *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):84–95. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1633](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1633)

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время наблюдается нарастание интереса исследователей к поиску эффективных, в том числе микробиологических, способов переработки фармацевтических отходов для получения на их ос-

нове новых биологически активных веществ. Актуальность работ в данном направлении обусловлена обострившейся проблемой фармацевтического загрязнения водных объектов многих стран [1–8]. Результаты ранее проведенных авторами исследований показали, что продукт бактериальной деструкции па-

рацетамола проявляет выраженные стимулирующие свойства в отношении лекарственных растений разных семейств [9, 10]. Изучен химический состав данного продукта, механизм стимулирующего действия, создан проект спецификации для формирования до-сье при регистрации его в качестве нового стимулятора роста растений [11]. Следует отметить, что сведения о влиянии данного стимулятора на растения семейства лилейные отсутствуют.

Цель настоящей работы – исследование влияния продукта биодеструкции парацетамола на количественные показатели анатомической структуры листа ландыша майского – *Convallaria majalis* L., сем. Лилейные – *Liliaceae* в ходе проведения испытаний нового стимулятора роста растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали продукт биодеструкции парацетамола, полученный из субстанции парацетамола (Anqiu Lu'an Pharmaceutical Co., Ltd., Китай) с истекшим сроком годности штаммом *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 77 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, ЦКП 480868, УНУ 73559, WDCM 768)¹ на базе лаборатории алканотрофных микроорганизмов ПФИЦ УрО РАН в 2020 г. (лабораторная серия 100920). В качестве эталона сравнения использовали стимулятор роста растений «Циркон» (производитель ННПП «НЭСТ М», Россия) – зарегистрированный препарат, по механизму действия, времени обработки и способам внесения близкий к испытываемому продукту [12].

Полевые опыты были заложены на территории Нолинского района Кировской области в мае – июне 2021 г. и 2022 г. в естественном фитоценозе – сосняк ландышевый. Общее проективное покрытие фитоценоза составляло 55 %; проективное покрытие *C. majalis* 50 %; возраст древостоя в сообществе 110 лет; высота – 20 м; сомкнутость крон – 0,5; высота травостоя 30 см; число видов в сообществе – 29. Рельеф участка волнистый. Почва дерново-подзолистая с содержанием гумуса 8,2 %, pH 4,4, содержание фосфора – 6,8 мг / 100 г почвы, калия – 14,3 мг / 100 г почвы, кальция – 11,2 мг-экв / 100 г почвы, магния 1,3 мг-экв / 100 г почвы. Вегетационный период 2021 года характеризовался более высокими среднесуточными температурами воздуха (май +18 °C; июнь +22 °C) в сравнении с вегетационным периодом 2022 года (май +9 °C; июнь +17 °C). Количество влаги в период активного роста ланды-

ша майского незначительно отличалось по годам: 68 % в 2020 г. и 62 % в 2021 г. В целом погодные условия в годы проведения исследований существенно не различались; все фазы развития вид прошел в оптимальные сроки.

Опыты по исследованию влияния продукта биодеструкции парацетамола (ПБП) на ландыш майский закладывали в соответствии с Руководством по проведению регистрационных испытаний регуляторов роста растений² в трехкратной повторности. Площадь опытного участка составляла 10 м², учетной делянки – 5 м², размещение – рендомизированное. Фенологические наблюдения проводили по методике И. Н. Бейдеман (1974), сбор листьев ландыша осуществляли вручную в фазу цветения. Длительность фенофаз определяли датами начала (на отдельных растениях) и полного окончания фазы у всех растений. Фазы развития отмечали следующим образом: начало фазы – 10 %, массовая фаза – 70 % растений. На испытываемом и эталонном участках проростки ландыша майского обрабатывали поливом суспензией ПБП (2 г на 1 л воды) и стимулятором роста «Циркон» (1 мл на 10 л воды). Расход рабочей жидкости составлял 1 л/м². На контрольном участке стимуляторы роста не использовали (естественный полив водой).

Для анатомического анализа проводили отбор проб листьев с каждого участка с линейными размерами, соответствующими среднему показателю. Листья фиксировали в смеси спирт:глицерин:вода (1:1:1) при минимальной выдержке материала в течение 14 дней. Для фиксации вырезали участки листьев из трех зон пластины (средней, верхней и нижней) размером 3 см – по 1,5 см от линии зоны в обе стороны. Просмотр, фотографирование и количественную обработку информации проводили на микроскопе «Motic» (Германия) с цифровой насадкой (увеличение 10 × 10; 10 × 40; 10 × 100) в программе Motic Image 2000. Влияние стимуляторов роста на количественные параметры анатомической структуры листа ландыша оценивали по линейным размерам эпидермы, элементам проводящей системы и мезофилла. Количество сосудов в пучке, слоев мезофилла и склеренхимной обкладки определяли прямым счетом. Изучение линейных размеров (длины, ширины, толщины) выполняли на фотографиях, полученных при увеличении микроскопа ×100, ×400.

Математическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью метода дисперсионного анализа с использованием программ Excel 2019,

¹ Regional Specialised Collection of Alkanotrophic Microorganisms (WDCM # 768). Available at: Regional Specialised Collection of Alkanotrophic Microorganisms. Available at: iegmcol.ru. Accessed: 19.10.2023.

² Сычев В. Г., Шаповал О. А., Можарова И. П., Вережкина Т. М., Мухина М. Т., Коршунов А. А., Лазарева А. С., Грабовская Т. Ю., Вережкин Е. Л. Руководство по проведению регистрационных испытаний регуляторов роста растений, дефолиантов и десикантов в сельском хозяйстве. М.: ФГБНУ «Росинформагротех»; 2016. 216 с.

STATISTICA 12.6, STATGRAPHICS Plus 5.1. О достоверности сходства и различия биометрических параметров анатомической структуры листа по годам исследования судили по значению критерия Стьюдента ($t_{\text{эмп.}}$), об однородности выборки – по коэффициенту вариации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ анатомического строения листовой пластинки в трех исследуемых зонах (верхняя, средняя и нижняя) показал увеличение мелкоклетности от нижней части листа к верхней, что вероятно связано с водообменом растения (таблицы 1–3, рисунок 1 А, Б, В). Отмечено, что эмпирические значения критерия Стьюдента $t_{\text{эмп.}}$ преимущественно больше на испытуемых участках, обработанных ПБП, чем

на эталонных, обработанных препаратом «Циркон». Коэффициент вариации исследованных анатомических признаков при использовании обоих стимуляторов не превышает 20 %, что свидетельствует об однородности выборки.

Сравнение количественных показателей анатомической структуры листа *C. majalis* в условиях разных по погодным характеристикам лет показало, что ПБП способствовал формированию более крупных клеток и увеличению количества элементов тканей листовой пластинки (таблицы 1–3). Препарат «Циркон» действовал аналогично, но по ряду признаков (ширине клеток верхней и нижней эпидермы, толщине комплексной ткани ксилемы) наблюдалось их уменьшение. Установленная закономерность, вероятно, связана с механизмами действия эталона и испытуемого препарата. Если «Циркон» – цитокининовый стимулятор роста, влияющий на рост и развитие растений посредством активации MAP-киназной системы (mitogen-activated protein), то механизм росторегулирующего (стимулирующего, в частности) действия ПБП на растительные организмы более сложный и включает в себя как активацию MAP-киназной системы, так и влияние на функциональную активность пероксидазы [11].

Установлено увеличение размеров (длины и ширины) клеток верхней и нижней эпидермы в исследуемые вегетационные периоды (2021, 2022) на учетных делянках, обработанных эталоном и ПБП в сравнении с контролем. Толщина кутикулы в образцах с контрольного участка имела стабильное значение 0,09 мкм и не изменялась по годам наблюдения. При этом отмечено достоверное увеличение толщины кутикулярного слоя верхней и нижней эпидермы в нижней зоне листа в испытуемой и эталонной подгруппе (таблицы 1–3).

Мезофилл листа *C. majalis* занимает все пространство между верхней и нижней эпидермой, исключая проводящие пучки и механические ткани. Клетки мезофилла не дифференцированы, имеют округлую или слегка вытянутую форму, с тонкими и неодревесневшими стенками. Под верхней и нижней эпидермой клетки мезофилла расположены более плотно, в 2–3 слоя, без межклетников (рисунок 1 А, Б, В). Установлено достоверное увеличение толщины мезофилла в средней части листа, а также прямая связь данного показателя с увеличением количества слоев клеток мезофилла (таблица 2). Обработка площадок испытуемым стимулятором привела к увеличению толщины мезофилла на 10–16 % и количества его слоев на 14–30 %. Обработка «Цирконом» увеличила толщину мезофилла на 3–6 %, а количество слоев на 8–15 % (таблица 2). По данным показателям наблюдалась аналогичная тенденция в верхней и нижней зоне листа (таблицы 1, 3).

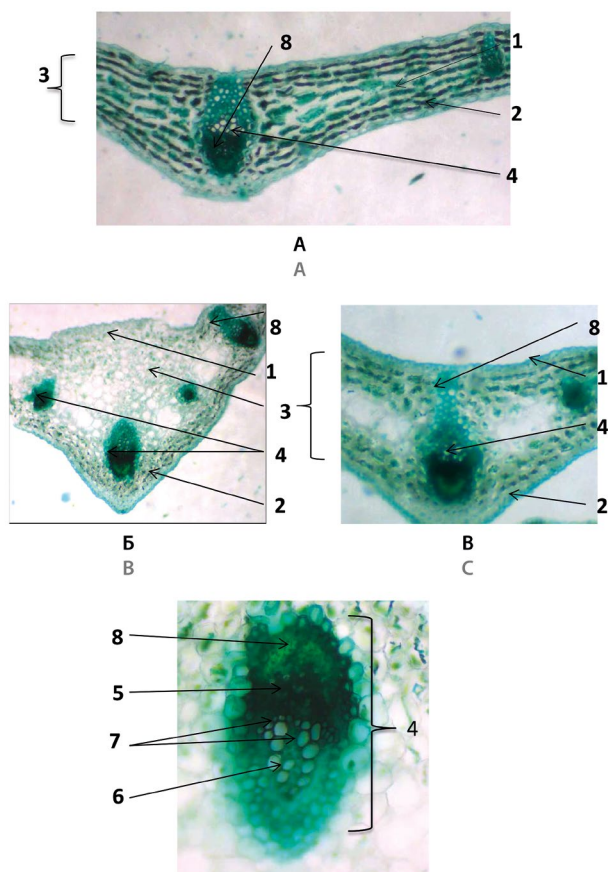


Рисунок 1. Поперечный срез листа *C. majalis* в области базальной жилки (увеличение $\times 500$):

А – верхняя зона; Б – средняя зона; В – нижняя зона.

1 – верхняя эпидерма; 2 – нижняя эпидерма; 3 – мезофилл; 4 – закрытый коллатеральный пучок; 5 – флоэма; 6 – ксилема; 7 – сосуд; 8 – склеренхима.

Figure 1. Cross section of *C. majalis* leaf in the basal vein area (magnification $\times 500$):

A – upper zone; B – middle zone; C – lower zone.

1 – upper epidermis; 2 – lower epidermis; 3 – mesophyll; 4 – closed collateral bundle; 5 – phloem; 6 – xylem; 7 – vessel; 8 – sclerenchyma.

Таблица 1. Влияние продукта биодеструкции парацетамола на количественные показатели анатомической структуры листа (верхняя зона) *C. majalis*
Table 1. The effect of paracetamol biodegradation products on quantitative indicators of the anatomical structure of the leaf (upper zone) of *C. majalis*

Анатомический признак Anatomical feature	Значение показателя, мкм The value of the indicator, microns																$t_{3\text{мк.}}(t_{\text{крит.}} = 1,89/1,86; t_{\text{крит.}} = 1,78/1,79)$ $t_{\text{эм.}}(t_{\text{крит.}} = 1,89/1,86; t_{\text{крит.}} = 1,78/1,79)$					
	Участок* Region*																					
	1. Испытуемый (ПБП) 1. Subject (PBP)					2. Эталонный («Циркон») 2. Reference ("Zircon")					3. Контрольный 3. Control											
	2021	2022	2022	2021	2022	2022	2021	2022	2022	2021	2022	2022	2021	2022	2022	2021						
$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V**	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	1-3***	2-3	1-2	1-2			
Эпидерма верхняя: Upper epidermis:																						
Длина Length	0,32 ± 0,03	9	0,33 ± 0,03	7	0,28 ± 0,03	10	0,3 ± 0,02	6	0,31 ± 0,03	10	0,29 ± 0,03	9	8,8	2,5	3,9	5,6	2,3	4,2	4,2			
Ширина Width	0,13 ± 0,01	10	0,11 ± 0,02	11	0,12 ± 0,01	9	0,12 ± 0,02	12	0,11 ± 0,01	10	0,13 ± 0,02	13	3,2	0,4	2,8	2,9	1,7	1,3	1,3			
Кутикула, толщина Cuticle thickness	0,08 ± 0,01	12	0,07 ± 0,01	11	0,07 ± 0,01	7	0,06 ± 0,01	7	0,07 ± 0,00	7	0,06 ± 0,01	8	5,1	4,2	2,1	2,8	1,7	1,7	1,7			
Эпидерма нижняя: Lower epidermis:																						
Длина Length	0,26 ± 0,018	7	0,27 ± 0,02	8	0,26 ± 0,03	11	0,25 ± 0,02	6	0,24 ± 0,01	5	0,26 ± 0,02	7	3,9	3,0	0,4	2,3	2,0	4,4	4,4			
Ширина Width	0,15 ± 0,013	9	0,12 ± 0,01	9	0,15 ± 0,011	12	0,11 ± 0,01	10	0,14 ± 0,01	8	0,12 ± 0,01	9	3,4	1,9	1,6	0,01	2,3	2,3	2,3			
Кутикула, толщина Cuticle thickness	0,08 ± 0,01	13	0,08 ± 0,01	10	0,09 ± 0,01	11	0,09 ± 0,01	7	0,09 ± 0,01	15	0,08 ± 0,01	9	2,3	0,3	2,3	0,8	2,8	3,9	3,9			
Мезофилл: Mesophyll:																						
Толщина Thickness	1,8 ± 0,13	7	1,74 ± 0,18	10	1,83 ± 0,13	7	1,60 ± 0,06	4	1,60 ± 0,06	4	1,41 ± 0,07	5	10	13	0,5	10,2	6,6	2,2	2,2			
Кол-во слоев Number of layers	6,2 ± 0,44	7	6,1 ± 0,32	5	5,67 ± 0,50	9	5,50 ± 0,53	10	5,50 ± 0,53	10	5,30 ± 0,48	9	3,2	0,7	2,5	4,4	1,9	3,1	3,1			
Проводящий пучок: Conductive beam:																						
Длина Length	2,25 ± 0,08	4	2,23 ± 0,12	5	2,12 ± 0,13	6	1,93 ± 0,11	5	1,93 ± 0,11	6	1,86 ± 0,07	4	7,6	3,5	2,8	8,04	1,5	5,8	5,8			
Ширина Width	0,96 ± 0,09	10	1,02 ± 0,08	8	1,0 ± 0,08	8	0,96 ± 0,09	9	1,14 ± 0,08	7	0,81 ± 0,06	8	4,2	3,8	0,9	6,1	4,2	1,5	1,5			
Проводящая система: Conducting system:																						
Флоэмы, толщина Phloem thickness	0,57 ± 0,033	7	0,45 ± 0,038	7	0,44 ± 0,036	8	0,36 ± 0,03	5	0,34 ± 0,03	6	0,39 ± 0,03	7	16,7	7,4	7,6	4,7	2,2	6,9	6,9			
Ксилемы, толщина Xylem, thickness	1,27 ± 0,065	7	1,23 ± 0,13	5	1,26 ± 0,06	5	1,2 ± 0,05	3	1,2 ± 0,05	5	1,21 ± 0,04	11	2,3	1,9	0,4	4,5	3,7	1,9	1,9			

Анатомический признак Anatomical feature	Значение показателя, мкм The value of the indicator, microns														$t_{3\text{мк.}}(t_{\text{крит.}} = 1,89/1,86; t_{\text{крит.}} = 1,78/1,79)$ $t_{\text{эмп.}}(t_{\text{крит.}} = 1,89/1,86; t_{\text{крит.}} = 1,78/1,79)$									
	Участок* Region*																							
	1. Испытуемый (ПБП) 1. Subject (PBP)				2. Эталонный («Циркон») 2. Reference ("Zircon")				3. Контрольный 3. Control						2021					2022				
	2021		2022		2021		2022		2021		2022		2021		2022		2021		2022		2021		2022	
	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V**	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	1-3***	2-3	1-2	1-3	2-3	1-2	1-3	
Кол-во сосудов пучка Number of bundle vessels	7,2 ± 0,79	11	7,5 ± 0,53	8	6,9 ± 0,88	13	6,7 ± 0,68	8	6,90 ± 0,74	11	6,4 ± 0,52	8	0,9	0,9	0,8	4,7	0,7	3,9	0,7	3,9	0,7	3,9		
Диаметр сосудов Vessel diameter	0,17 ± 0,0055	3	0,14 ± 0,02	12	0,15 ± 0,09	6	0,13 ± 0,01	7	0,16 ± 0,07	4	0,11 ± 0,02	13	2,3	3,1	5,2	3,5	5,0	0,6	5,0	0,6	0,6	0,6		
Склереничная оболочка: Sclerenchyma sheath:																								
Толщина Thickness	0,33 ± 0,02	9	0,31 ± 0,04	12	0,43 ± 0,03	7	0,29 ± 0,03	9	0,31 ± 0,03	7	0,27 ± 0,04	14	1,4	9,0	8,4	1,9	1,2	1,1	1,2	1,1	1,1	1,1		
Кол-во слоев Number of layers	2,9 ± 0,74	25	2,7 ± 0,48	18	3,40 ± 0,52	15	2,8 ± 0,42	15	2,80 ± 0,42	15	2,2 ± 0,42	19	1,1	0,9	1,8	2,4	3,2	0,5	3,2	0,5	0,5	0,5		

Примечание. * Участок:

- 1. Испытуемый – обработка продуктом биодеструкции парацетамола (ПБП).
- 2. Эталонный – обработка препаратом «Циркон».
- 3. Контрольный – полив водой.
- V** – коэффициент вариации, %.
- *** – здесь и далее пара сравниваемых участков.

Note. * Plot:

- 1. Test subject – treatment with paracetamol biodegradation product (PBP).
- 2. Reference – treatment with Zircon.
- 3. Control – watering.
- V** – coefficient of variation, %.
- *** – here and below a pair of compared areas.

Таблица 2. Влияние продукта биодеструкции парацетамола на количественные показатели анатомической структуры листа (средняя зона) *C. majalis*
Table 2. The effect of paracetamol biodegradation products on quantitative indicators of the anatomical structure of the leaf (middle zone) *C. majalis*

Анатомический признак Anatomical feature	Значение показателя, мкм The value of the indicator, microns														$t_{\text{эмп.}} (t_{\text{крит.}} = 1,89/1,86; t_{\text{крит.}} = 1,78/1,79)$ $t_{\text{эмп.}} (t_{\text{крит.}} = 1,89/1,86; t_{\text{крит.}} = 1,78/1,79)$			
	Участок* Region*																	
	1. Испытуемый (ПБП) 1. Subject (PBP)				2. Эталонный («Циркон») 2. Reference ("Zircon")				3. Контрольный 3. Control									
	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022		
	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V**	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	1-3***	2-3	1-2	1-2
Эпидерма верхняя: Upper epidermis:																		
Длина Length	0,29 ± 0,03	10	0,27 ± 0,03	12	0,36 ± 0,03	8	0,28 ± 0,03	11	0,26 ± 0,02	9	0,25 ± 0,02	9	0,25 ± 0,02	9	2,8	10,8	6,9	2,9
Ширина Width	0,20 ± 0,01	7	0,20 ± 0,01	7	0,16 ± 0,02	13	0,14 ± 0,02	14	0,19 ± 0,01	6	0,17 ± 0,02	11	0,17 ± 0,02	11	0,9	4,2	4,6	3,3
Кутикула, толщина Cuticle thickness	0,09 ± 0,01	11	0,08 ± 0,01	17	0,09 ± 0,01	6	0,09 ± 0,01	13	0,09 ± 0,01	11	0,09 ± 0,01	14	0,09 ± 0,01	14	1,2	6,9	1,9	0,4
Эпидерма нижняя: Lower epidermis:																		
Длина Length	0,3 ± 0,03	9	0,28 ± 0,02	6	0,28 ± 0,02	7	0,27 ± 0,02	8	0,24 ± 0,02	8	0,26 ± 0,01	5	0,26 ± 0,01	5	7,1	5,5	2,8	2,9
Ширина Width	0,23 ± 0,02	9	0,17 ± 0,03	15	0,16 ± 0,01	4	0,16 ± 0,04	21	0,17 ± 0,01	6	0,16 ± 0,03	15	0,16 ± 0,03	15	8,9	4,1	11,9	1,1
Кутикула, толщина Cuticle thickness	0,09 ± 0,01	9	0,09 ± 0,02	17	0,11 ± 0,01	8	0,09 ± 0,01	7	0,09 ± 0,01	13	0,09 ± 0,01	5	0,09 ± 0,01	5	0,1	3,8	4,6	1,8
Мезофилл: Mesophyll:																		
Толщина Thickness	3,53 ± 0,24	7	4,93 ± 0,18	4	3,18 ± 0,22	7	2,5 ± 0,06	2	3,02 ± 0,21	7	4,45 ± 0,22	5	4,45 ± 0,22	5	5,5	1,9	3,3	5,3
Кол-во слоев Number of layers	7,90 ± 0,74	9	8,6 ± 0,52	6	7,5 ± 0,53	7	7,63 ± 0,52	7	6,9 ± 0,74	11	6,5 ± 0,53	8	6,5 ± 0,53	8	3,0	2,1	1,4	9,0
Проводящий пучок: Conductive beam:																		
Длина Length	4,85 ± 0,17	4	3,94 ± 0,11	3	3,6 ± 0,10	3	3,57 ± 0,09	2	3,46 ± 0,14	4	3,12 ± 0,09	3	3,12 ± 0,09	3	19,9	2,5	19,4	16,8
Ширина Width	1,87 ± 0,11	6	1,75 ± 0,08	4	1,69 ± 0,10	6	1,65 ± 0,10	6	1,52 ± 0,09	6	1,39 ± 0,09	7	1,39 ± 0,09	7	7,6	3,9	3,7	9,2
Проводящая система: Conducting system:																		
Флоэмы, толщина Phloem thickness	0,94 ± 0,10	11	0,91 ± 0,04	4	0,8 ± 0,07	9	0,75 ± 0,06	9	0,68 ± 0,03	4	0,65 ± 0,04	7	0,65 ± 0,04	7	7,4	4,5	3,4	13,1
Ксилемы, толщина Xylem, thickness	2,89 ± 0,14	5	2,01 ± 0,09	5	1,82 ± 0,06	3	1,96 ± 0,12	9	2,1 ± 0,16	8	1,76 ± 0,07	4	1,76 ± 0,07	4	11,6	5,0	21,2	6,3

Анатомический признак Anatomical feature	Значение показателя, мкм The value of the indicator, microns												$t_{\text{эмп.}} (t_{\text{крит.}} = 1,89/1,86; t_{\text{крит.}} = 1,78/1,79)$ $t_{\text{эмп.}} (t_{\text{крит.}} = 1,89/1,86; t_{\text{крит.}} = 1,78/1,79)$					
	Участок* Region*																	
	1. Испытуемый (ПБП) 1. Subject (PBP)				2. Эталонный («Циркон») 2. Reference ("Zircon")				3. Контрольный 3. Control				2021			2022		
	2021	V**	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	1-3***	2-3	1-2	1-3	2-3	1-2
Кол-во сосудов пучка Number of bundle vessels	10,4 ± 1,08	5	10,4 ± 1,08	10	10,33 ± 1,0	10	10,5 ± 0,53	5	9,11 ± 0,78	9	8,78 ± 0,83	10	3,9	2,9	0,1	3,7	5,0	0,2
Диаметр сосудов Vessel diameter	0,28 ± 0,03	10	0,24 ± 0,03	12	0,25 ± 0,02	7	0,22 ± 0,01	6	0,22 ± 0,01	6	0,2 ± 0,01	6	6,6	5,5	2,7	3,8	2,9	2,2
Склеренинная оболочка: Sclerenchyma sheath:																		
Толщина Thickness	0,63 ± 0,05	9	0,7 ± 0,05	7	0,62 ± 0,03	5	0,56 ± 0,05	10	0,58 ± 0,06	10	0,64 ± 0,05	7	1,9	1,9	0,4	2,4	3,4	5,6
Кол-во слоев Number of layers	4,44 ± 0,53	12	3,60 ± 0,52	14	4,4 ± 0,52	12	4,78 ± 0,44	12	4,5 ± 0,53	12	4,5 ± 0,53	12	0,2	0,4	0,2	3,9	1,2	5,3

Примечание. * Участок:
1. Испытуемый – обработка продуктом биодеструкции парацетамола (ПБП).
2. Эталонный – обработка препаратом «Циркон».
3. Контрольный – полив водой.
V** – коэффициент вариации, %
*** – здесь и далее пара сравниваемых участков.

Note. * Plot:
1. Test subject – treatment with paracetamol biodegradation product (PBP).
2. Reference – treatment with Zircon.
3. Control - watering.
V** – coefficient of variation, %
*** – here and below a pair of compared areas.

Таблица 3. Влияние продукта биодеструкции парацетамола на количественные показатели анатомической структуры листа (нижняя зона) *C. majalis*
Table 3. The effect of the paracetamol biodegradation product on quantitative indicators of the anatomical structure of the leaf (lower zone) *C. majalis*

Анатомический признак Anatomical feature	Значение показателя, мкм The value of the indicator, microns																$t_{\text{эм.}} (t_{\text{крит.}} = 1,89/1,86; t_{\text{крит.}} = 1,78/1,79)$					
	Участок* Region*																					
	1. Испытуемый (ПБП) 1. Subject (PBP)				2. Эталонный («Циркон») 2. Reference ("Zircon")				3. Контрольный 3. Control													
	2021		2022		2021		2022		2021		2022		2021		2022							
$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V**	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	1-3***	2-3	1-2	1-3	2-3	1-2			
Эпидерма верхняя: Upper epidermis:																						
Длина Length	0,46 ± 0,04	10	0,44 ± 0,03	7	0,31 ± 0,05	8	0,3 ± 0,03	10	0,26 ± 0,03	9	0,39 ± 0,05	13	13,7	3,1	8,2	3,2	5,6	12,1				
Ширина Width	0,3 ± 0,06	7	0,25 ± 0,02	9	0,2 ± 0,03	13	0,14 ± 0,01	8	0,14 ± 0,02	6,	0,19 ± 0,03	12	9,3	5,8	5,9	6,5	6,9	15,5				
Кутикула, толщина Cuticle thickness	0,11 ± 0,02	11	0,09 ± 0,01	11	0,12 ± 0,01	6	0,09 ± 0,01	15	0,08 ± 0,01	11	0,09 ± 0,01	12	5,7	9,2	0,7	1,2	0,8	1,8				
Эпидерма нижняя: Lower epidermis:																						
Длина Length	0,36 ± 0,04	9	0,41 ± 0,02	6	0,32 ± 0,05	7	0,29 ± 0,03	10	0,22 ± 0,03	8	0,3 ± 0,02	7	9,9	7,2	1,9	13,1	1,8	11,6				
Ширина Width	0,21 ± 0,02	10	0,25 ± 0,03	13	0,2 ± 0,03	4	0,15 ± 0,02	13	0,12 ± 0,01	6	0,22 ± 0,02	10	13,3	9,1	0,9	2,9	8,6	9,6				
Кутикула, толщина Cuticle thickness	0,12 ± 0,02	9	0,12 ± 0,01	8	0,12 ± 0,01	8	0,11 ± 0,01	13	0,08 ± 0,01	13	0,09 ± 0,01	12	6,1	8,2	0,6	6,8	2,8	3,2				
Мезофилл: Mesophyll:																						
Толщина Thickness	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Кол-во слоев Number of layers	11,5 ± 1,08	9	13,2 ± 0,79	9	14,56 ± 0,88	6	12,56 ± 1,01	6	6,8 ± 0,92	14	9,0 ± 0,82	14	10,5	18,7	6,7	11,7	8,5	1,6				
Проводящий пучок: Conductive beam:																						
Длина Length	4,69 ± 0,23	5	4,81 ± 0,30	5	4,54 ± 0,19	4	4,14 ± 0,17	4	4,38 ± 0,14	3	3,85 ± 0,25	3	3,5	1,9	1,6	7,3	2,9	5,8				
Ширина Width	1,71 ± 0,14	8	1,8 ± 0,09	8	2,26 ± 0,19	8	1,89 ± 0,08	8	1,44 ± 0,09	6	1,61 ± 0,21	6	5,2	21,7	7,2	4,0	6,3	2,3				
Проводящая система: Conducting system:																						
Флоэмы, толщина Phloem thickness	1,59 ± 0,17	11	1,87 ± 0,2	11	1,56 ± 0,09	9	1,45 ± 0,09	6	1,17 ± 0,10	4	1,29 ± 0,13	13	6,7	8,8	0,5	7,4	3,1	5,8				
Ксилемы, толщина Xylem, thickness	1,06 ± 0,11	5	1,19 ± 0,09	8	1,05 ± 0,12	3	1,06 ± 0,08	8	1,92 ± 0,10	8	0,95 ± 0,19	20	7,2	6,8	0,2	3,9	6,3	3,2				

Анатомический признак Anatomical feature	Значение показателя, мкм The value of the indicator, microns													
	Участок* Region*													
	1. Испытуемый (ПБП) 1. Subject (PBP)				2. Эталонный («Циркон») 2. Reference ("Zircon")				3. Контрольный 3. Control					
	2021		2022		2021		2022		2021		2022		2021	
	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V**	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	V	1-3***	2-3
Кол-во сосудов пучка Number of bundle vessels	11,3 ± 1,34	5	12,67 ± 1,0	8	13,5 ± 0,97	10	12,4 ± 1,17	10	8,6 ± 0,52	6	9,89 ± 0,78	8	5,5	4,1
Диаметр сосудов Vessel diameter	0,27 ± 0,03	10	0,3 ± 0,02	6	0,29 ± 0,03	7	0,27 ± 0,03	12	0,23 ± 0,02	9	0,25 ± 0,03	12	2,8	4,5
Склереничная оболочка: Sclerenchyma sheath:														
Толщина Thickness	0,75 ± 0,06	9	0,89 ± 0,07	8	0,7 ± 0,06	5	0,8 ± 0,05	6	0,66 ± 0,07	10	0,71 ± 0,06	9	2,8	1,4
Кол-во слоев Number of layers	5,11 ± 0,78	12	5,3 ± 0,82	16	5,2 ± 0,42	12	6,1 ± 0,88	14	4,4 ± 0,52	12	4,44 ± 0,53	12	2,4	3,8

Примечание. * Участок:

- 1. Испытуемый – обработка продуктом биодеструкции парацетамола (ПБП).
- 2. Эталонный – обработка препаратом «Циркон».
- 3. Контрольный – полив водой.
- V** – коэффициент вариации, %.
- *** – здесь и далее пара сравниваемых участков.

Note. * Plot:

- 1. Test subject – treatment with paracetamol biodegradation product (PBP).
- 2. Reference – treatment with Zircon.
- 3. Control – watering.
- V** – coefficient of variation, %.
- *** – here and below a pair of compared areas.

Проводящая система листа представлена закрытыми коллатеральными пучками. В базальной жилке листа находится крупный проводящий пучок, а в боковых жилках более мелкие (см. рисунок 1). Установлено, что повышение фотосинтезирующей способности листа *C. majalis*, связанное с нарастанием слоев мезофилла, приводит к увеличению толщины комплексной ткани флоэмы, отвечающей за транспортировку продуктов фотосинтеза, а также ксилемы за счет увеличения количества сосудов и их диаметра (см. таблицы 1–3). В исследуемых зонах листа достоверно установлено увеличение длины и ширины проводящего пучка при обработке стандартным и испытуемым стимулятором. Зафиксированное увеличение толщины флоэмы и ксилемы проводящего пучка пропорционально увеличению его длины. При обработке ПБП размеры пучка на 20–30 % больше, чем в контроле, и в 2 раза больше, чем у образцов с эталонной площадки. Наблюдалось увеличение толщины ксилемы у листа ландыша с испытуемого и эталонного участка на 10–30 % за счет увеличения количества сосудов (на 6–12 %), а также за счет увеличения их диаметра (на 10–20 %) по сравнению с контролем.

Механическая ткань (склеренхима) в листе *C. majalis* окружает проводящие пучки, предотвращает их сдавливание и обеспечивает высокую прочность листовой пластинки (см. рисунок 1). Обработка стимуляторами роста в исследуемые годы оказала влияние на толщину склеренхимной обкладки не более чем на 10 %, что вероятно, связано с увеличением толщины клеточной стенки склеренхимы, и не повлияла на количество ее слов (см. таблицы 1–3). В связи с этим данный показатель признан наименее варьирующим анатомическим признаком.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование продукта биодеструкции парацетамола в качестве стимулятора не изменило общих закономерностей анатомической структуры листа *C. majalis* в процессе роста и развития растения. При проведении испытаний данного продукта и стимулятора роста «Циркон» в условиях разных по погодным характеристикам лет установлено увеличение биометрических показателей анатомической структуры листа *C. majalis*. Продукт биодеструкции парацетамола способствовал формированию более крупных клеток и увеличению количества элементов тканей; препарат «Циркон» действовал аналогично, но по ряду признаков (ширина клеток верхней и нижней эпидермы, толщина комплексной ткани ксилемы) наблюдалось уменьшение их параметров. Установленная закономерность, вероятно, связана с механизмами действия эталона и испытуемого препарата.

Исследуемый препарат оказал положительное влияние на фотосинтетическую способность листа за счет увеличения количества слоев мезофилла, что привело к нарастанию сосудисто-волокнистых эле-

ментов проводящей системы. Установлено достоверное увеличение размеров проводящего пучка при обработке продуктом биодеструкции парацетамола, которое на 20–30 % больше, чем в контроле, и в 2 раза больше, чем при использовании препарата «Циркон». Толщина ксилемы при применении обоих стимуляторов увеличилась на 10–30 % за счет увеличения количества сосудов и их диаметра.

Таким образом, продукт биодеструкции парацетамола в разные годы применения не зависимо от климатических факторов проявил выраженные стимулирующие эффекты в отношении листа ландыша майского, значительно увеличив количественные показатели анатомической структуры листа по сравнению со стимулятором роста «Циркон». Полученные данные могут быть использованы в лекарственном растениеводстве при разработке агротехнических приемов выращивания сырья ландыша майского, а также для формирования досье при регистрации продукта биодеструкции парацетамола в качестве нового стимулятора роста растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Madikizela L. M., Botha T. L., Kamika I., Msagati T. A. M. Uptake, Occurrence, and Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Analgesics in Plants and Edible Crops. *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2021;70:34–45. DOI: 10.1021/ACS.JAFC.1C06499.
2. Madikizela L. M., Ncube S. Occurrence and ecotoxicological risk assessment of non-steroidal anti-inflammatory drugs in South African aquatic environment: What is known and the missing information. *Chemosphere*. 2021;280:130688. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.130688.
3. Yan J., Lin W., Gao Z., Ren Y. Use of selected NSAIDs in Guangzhou and other cities in the world as identified by wastewater analysis. *Chemosphere*. 2021;279:130529. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.130529.
4. Staszny A., Dobosy P., Maasz G., Szalai Z., Jakab G., Pirger Z., Szaberenyi J., Molnar E., Pap L. O., Juhasz V., Weiperth A., Urbanyi B., Kondor A. C., Ferincz A. Effects of pharmaceutically active compounds (PhACs) on fish body and scale shape in natural waters. *PeerJ*. 2021;9:e10642. DOI: 10.7717/peerj.10642.
5. Vaudin P., Augé C., Just N., Mhaouty-Kodja S., Mortaud S., Pillon D. When pharmaceutical drugs become environmental pollutants: Potential neural effects and underlying mechanisms. *Environmental Research*. 2022;205:112495. DOI: 10.1016/j.envres.2021.112495.
6. Wilkinson J. L., Boxall A., Kolpin D. W. Pharmaceutical pollution of the world's rivers. *Proceedings of the national academy of sciences*. 2022;119(8):e2113947119. DOI: 10.1073/pnas.2113947119.
7. Stewart J. J., Muller O., Cohu C. M., Demmig-Adams B., Adams W. W. 3rd. Quantification of Leaf Phloem Anatomical Features with Microscopy. *Methods in Molecular Biology*. 2019;2(5):55–72. DOI: 10.1007/978-1-4939-9562-2_5.
8. Nguyen C. H., Nguyen T. T. T., Nguyen D. T. C., Tran T. V. Occurrence, toxicity, impact and removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): A review. *Science of the Total Environment*. 2023;898:317. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.165317.
9. Вихарева Е. В., Мишенина И. И., Гапечкина Е. Д., Селянинов А. А., Рычкова М. И. Фитостимулирующее действие продукта биодеструкции парацетамола на календулу лекарственную. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):31–37. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-31-37.
10. Вихарева Е. В., Слабинская Е. В., Мишенина И. И., Рубцов Д. Ф., Рычкова М. И. Стимулирующее действие продукта биодеструкции парацетамола на крапиву двудомную. *Вопросы биоло-*

гической, медицинской и фармацевтической химии. 2023;26(5): 32–37. DOI: 10.29296/25877313-2023-05-05.

11. Коротаев М. Ю., Вихарева Е. В., Белоногова В. Д., Ившина И. Б. Фиторегулирующее действие продуктов бактериальной деградации парацетамола. *Вестник Пермского университета. Серия Биология*. 2017;1:60–69.
12. Малеванная Н. Н. Рострегулирующий комплекс, способ его получения, препарат на его основе и применение в сельскохозяйственной практике. Патент РФ на изобретение № RU 2257059 C1. 27.07.2005. Доступно по: fips.ru. Ссылка активна на 26.11.2023.

REFERENCES

1. Madikizela L. M., Botha T. L., Kamika I., Msagati T. A. M. Uptake, Occurrence, and Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Analgesics in Plants and Edible Crops. *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2021;70:34–45. DOI: 10.1021/ACS.JAFC.1C06499.
2. Madikizela L. M., Ncube S. Occurrence and ecotoxicological risk assessment of non-steroidal anti-inflammatory drugs in South African aquatic environment: What is known and the missing information. *Chemosphere*. 2021;280:130688. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.130688.
3. Yan J., Lin W., Gao Z., Ren Y. Use of selected NSAIDs in Guangzhou and other cities in the world as identified by wastewater analysis. *Chemosphere*. 2021;279:130529. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.130529.
4. Staszny A., Dobosy P., Maasz G., Szalai Z., Jakab G., Pirger Z., Szeberenyi J., Molnar E., Pap L. O., Juhasz V., Weiperth A., Urbanyi B., Kondor A. C., Ferincz A. Effects of pharmaceutically active compounds (PhACs) on fish body and scale shape in natural waters. *PeerJ*. 2021;9:e10642. DOI: 10.7717/peerj.10642.
5. Vaudin P., Augé C., Just N., Mhaouty-Kodja S., Mortaud S., Pillon D. When pharmaceutical drugs become environmental pollutants: Potential neural effects and underlying mechanisms. *Environmental Research*. 2022;205:112495. DOI: 10.1016/j.envres.2021.112495.
6. Wilkinson J. L., Boxall A., Kolpin D. W. Pharmaceutical pollution of the world's rivers. *Proceedings of the national academy of sciences*. 2022;119(8):e2113947119. DOI: 10.1073/pnas.2113947119.
7. Stewart J. J., Muller O., Cohu C. M., Demmig-Adams B., Adams W. W. 3rd. Quantification of Leaf Phloem Anatomical Features with Microscopy. *Methods in Molecular Biology*. 2019;2(5):55–72. DOI: 10.1007/978-1-4939-9562-2_5.
8. Nguyen C. H., Nguyen T. T. T., Nguyen D. T. C., Tran T. V. Occurrence, toxicity, impact and removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): A review. *Science of the Total Environment*. 2023;898:317. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.165317.
9. Vikhareva E. V., Gapechkina E. D., Mishenina I. I., Selyaninov A. A., Rychkova M. I. Phyto-stimulating Effect of Paracetamol Biodegradation Product on *Calendula Officinalis*. *Drug development & registration*. 2022;11(4):31–37. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-31-37.
10. Vikhareva E. V., Slabinskaya E. V., Mishenina I. I., Rubtsov D. F., Rychkova M. I. Stimulating effect of the biodegradation product of paracetamol on dioecious nettle. *Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2023;26(5):32–37. (In Russ.) DOI: 10.29296/25877313-2023-05-05.
11. Korotaev M. Yu., Vikhareva E. V., Belonogova V. D., Ivshina I. B. Phytoregulatory effect of the products of bacterial destruction of paracetamol. *Bulletin of Perm University. Biology series*. 2017;1:60–69. (In Russ.)
12. Malevannaya N. N. Growth-regulating complex, method of its production, drug based on it and application in agricultural practice. Patent RUS № 2257059 C1. 27.07.2005. Available at: fips.ru. Accessed: 26.11.2023. (In Russ.)

Валидация аналитических методик контроля качества геля для реминерализации дентина

А. Л. Голованенко✉, Е. С. Березина, И. В. Алексеева, О. А. Олешко

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: Голованенко Анна Леонидовна. E-mail: annagolovanenko@yandex.ru

ORCID: А. Л. Голованенко – <https://orcid.org/0000-0002-1781-353X>; Е. С. Березина – <https://orcid.org/10000-0002-4122-2414>;
И. В. Алексеева – <https://orcid.org/0000-0003-4357-5974>; О. А. Олешко – <https://orcid.org/0000-0001-9211-0116>.

Статья поступила: 17.11.2023

Статья принята в печать: 15.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. В результате комплекса научно-экспериментальных исследований проведенных на кафедре фармацевтической технологии ПГФА разработан гель для реминерализации дентина с целью проведения медикаментозного лечения среднего и глубокого кариеса. В разработанном геле наравне с реминерализующим эффектом достигнуто антибактериальное действие необходимое при лечении кариеса дентина за счет введения хлоргексидина биглюконата (ХГБ). В предложенном составе одновременно содержатся основные реминерализующие ионы – кальция, фосфата и фторида в свободном активном состоянии. За счет этого обеспечивается существенное повышение их проникновения в дентин. В ходе подготовки нормативной документации на гель для лечения кариеса дентина проведена валидация методик, предназначенных для контроля качества действующих веществ.

Цель. Валидация методик испытания на подлинность и количественного определения действующих веществ в геле для реминерализации дентина.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели использовали активные фармацевтические субстанции фармакопейного качества. При разработке методик испытания на подлинность использованы фармакопейные и не фармакопейные реакции на определяемые катионы и анионы. Для количественного определения кальция хлорида использован комплексонометрический метод, способ обратного титрования, для калия фосфата двузамещенного ацидиметрический метод, для натрия фторида фотоэлектроколориметрический метод, для хлоргексидина биглюконата лаурилсульфатный метод. Объектами исследования являлись пять серийных образцов гелей.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований разработаны методики испытания на подлинность, установлено, что предложенные методики характеризуются отрицательным аналитическим сигналом на модельных смесях, свободных от определяемого компонента, и положительным аналитическим сигналом на модельных смесях различного состава, содержащих определяемый компонент. Изучены валидационные характеристики методик количественного определения действующих веществ в геле, получены положительные результаты, предложенные методики могут быть использованы для включения в нормативную документацию на разработанный гель.

Заключение. При оценке валидационных характеристик предложенных методик установлено, что методики испытания на подлинность и количественного определения действующих веществ в геле являются специфичными, методики количественного определения характеризуются точностью и повторяемостью, линейной зависимостью в аналитической области $\pm 20\%$ от заявленного количества действующих веществ, что позволяет использовать их для достоверной оценки качества разработанного геля.

Ключевые слова: валидация, аналитические методики, дентин, гель, реминерализация

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

Вклад авторов. А. Л. Голованенко — сбор и обработка материалов, концепция и дизайн исследования, написание текста. Е. С. Березина – статистическая обработка данных, концепция и дизайн исследования. О. А. Олешко, И. В. Алексеева – концепция и дизайн исследования.

Финансирование. Результаты работы получены при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 г.

Для цитирования: Голованенко А. Л., Березина Е. С., Алексеева И. В., Олешко О. А. Валидация аналитических методик контроля качества геля для реминерализации дентина. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):96–103. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1656](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1656)

Validation of Analytical Methods for Quality Control of Gel for Dentin Remineralization

Anna L. Golovanenko✉, Elena S. Berezina, Irina V. Alekseeva, Olga A. Oleshko

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: Anna L. Golovanenko. E-mail: annagolovanenko@yandex.ru

ORCID: Anna L. Golovanenko – <https://orcid.org/0000-0002-1781-353X>; Elena S. Berezina – <https://orcid.org/10000-0002-4122-2414>;
Irina V. Alekseeva – <https://orcid.org/0000-0003-4357-5974>; Olga A. Oleshko – <https://orcid.org/0000-0001-9211-0116>

Received: 17.11.2023

Revised: 15.12.2023

Published: 27.12.2023

© Голованенко А. Л., Березина Е. С., Алексеева И. В., Олешко О. А., 2023

© Golovanenko A. L., Berezina E. S., Alekseeva I. V., Oleshko O. A., 2023

Abstract

Introduction. As a result of a complex of scientific and experimental studies carried out at the Department of Pharmaceutical Technology of the State Pharmacy of Pharmaceuticals, a gel was developed for remineralization of dentin in order to carry out drug treatment of medium and deep caries. In the developed gel, along with the remineralizing effect, an antibacterial effect was achieved, which is necessary in the treatment of dentin caries due to the introduction of chlorhexidine bigluconate (CHB). The proposed composition simultaneously contains the main remineralizing ions – calcium, phosphate and fluoride in a free active state. Due to this, a significant increase in their penetration into the dentin is ensured. During the preparation of regulatory documentation for the gel for the treatment of dentine caries, validation of methods designed to control the quality of active substances was carried out.

Aim. Validation of methods for testing the authenticity and quantification of active substances in the gel for dentine remineralization.

Materials and methods. To achieve this goal, active pharmaceutical substances of pharmacopoeial quality are used. When developing test methods, pharmacopoeial and non-pharmacopoeial reactions to reacting cations and anions were used. For the quantitative determination of the chloride compound, the complexometric method, the back titration method is used, for potassium phosphate, the disubstituted acidimetric method, for sodium fluoride, the photoelectrocolorimetric method, for chlorhexidine bigluconate, the lauryl sulfate method. The objects of study were five serial samples of gels.

Results and discussion. As a result of the studies, methods of testing for authenticity were developed, it was found that the proposed methods are characterized by a negative analytical signal on model mixtures free of the analyte and placebo, and a positive analytical signal on model mixtures of various compositions containing the analyte. The validation characteristics of methods for the quantitative determination of active substances in the gel were studied, positive results were obtained, the proposed methods can be used for inclusion in the regulatory documentation for the developed gel.

Conclusion. When evaluating the validation characteristics of the proposed methods, it was found that the methods of testing for authenticity and quantitative determination of active substances in the gel are specific, the methods of quantitative determination are characterized by accuracy and repeatability, a linear dependence in the analytical region of $\pm 20\%$ of the declared amount of active substances, which allows them to be used for reliable assessment of the quality of the developed gel.

Keywords: validation, analytical techniques, dentin, gels, remineralization

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. Anna L. Golovanenko – collection and processing of materials, research concept and design, writing a text. Elena S. Berezina – statistical data processing, research concept and design. Olga A. Oleshko, Irina V. Alekseeva – research concept and design.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Golovanenko A. L., Berezina E. S., Alekseeva I. V., Oleshko O. A. Validation of analytical methods for quality control of gel for dentin remineralization. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):96–103. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1656](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1656)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность создания гелей представлена в большом количестве работ отечественных ученых. Характерные свойства гелей – одновременно твердого тела и жидкости – делают их одними из самых современных средств в практической медицине. Гели имеют простую технологию и комфортны в применении [1–11]. Стоматологические гели как твердое тело обладают способностью задерживаться на зубах, и как жидкость гели эффективны при аппликационном воздействии. Наиболее известными лекарственными препаратами (ЛП) для лечения кариеса дентина являются препараты, содержащие гидроксид кальция, так как, данные препараты имеют выраженное бактерицидное действие за счет высокого значения pH и обеспечивают образование вторичного дентина. Однако установлено, что под действием гидроксида кальция в дентине происходит избыточное отложение заместительного дентина, возможно возникновение облитерации пульпы, воспаление и гибель пульпы при

прямом покрытии за счет раздражающего действия. Препараты, содержащие гидроксид кальция, нельзя использовать в качестве материала для прокладки, так как они разрушаются дентинной жидкостью, что приводит к нарушению герметизма реставрации [12, 13]. В разработанном геле наравне с реминерализующим эффектом достигнуто антибактериальное действие необходимое при лечении кариеса дентина за счет введения хлоргексидина биглюконата (ХГБ). В предложенном составе одновременно содержатся основные реминерализующие ионы – кальция, фосфата и фторида в свободном активном состоянии. За счет этого обеспечивается существенное повышение их проникновения в дентин. Гель для реминерализации дентина рекомендован на первом этапе лечения глубокого кариеса для пломбирования кариозных полостей без лечебной подкладки, что может найти широкое применение в стоматологии [13]. Для подтверждения подлинности и количественного определения действующих веществ (ДВ) использовались химические и физико-химические методы, модифи-

цированные с учетом особенностей лекарственной формы (ЛФ)¹. Валидация аналитических методик проводилась в соответствии с ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик»².

Цель настоящего исследования – валидация методик испытания на подлинность и количественного определения ДВ в геле для реминерализации дентина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектами являлись пять серийных образцов гелей следующего состава (г): кальция хлорида 5,5, калия фосфата двузамещенного 7,4, натрия фторида 0,044, ХГБ 0,1, глицерина 10,0, метилцеллюлозы 4,0, воды очищенной до 100,0.

Для исследований использованы активные фармацевтические субстанции фармакопейного качества: кальция хлорид гексагидрат (ФС.2.2.0024.18 «Кальция хлорид гексагидрат», ОАО «Химический завод им. Л.Я. Карпова», Россия, серия 200920, срок хранения 3 года), калия фосфат двузамещенный (ФС 42-4297-79 «Калия фосфат двузамещенный», АО «ЛенРеактив», Россия, серия 101020, срок хранения 3 года), натрия фторид (ФС.2.2.0013 «Натрия фторид», ООО «АО РЕАХИМ», Россия, серия 201120, срок хранения 3 года); раствор хлоргексидина биглюконата 20%-й (ФС 001634-040417, «Хлоргексидина биглюконат», ООО «Аромасинтез», Россия, серия 300920, срок хранения 3 года); вспомогательные вещества, разрешенные к применению и отвечающие требованиям действующей нормативной документации: метилцеллюлоза (ФС.2.4.0017, АО «УЗПХ», Россия, серия 221220, срок хранения 3 года); глицерол (ФС.2.2.0006.15 «Глицерол», АО «Купавнареактив», Россия, серия 082020, срок хранения 3 года); вода очищенная (ФС.2.2.0020 «Вода очищенная»).

Для проведения испытаний на подлинность и количественного определения ДВ в гелях были использованы следующие реактивы: азотная кислота разведенная 16%-ая (азотная кислота разбавленная, х.ч., АО «БЕКТОН», Россия), аммиачный буферный раствор (аммиак водный, ч.д.а., ООО «Сигма Тек», Россия; аммоний хлористый, х.ч., АО «Купавнареактив», Россия), ализаринового красного С раствор 0,075%-й (ализариновый красный С(S), ч.д.а., АО «БЕКТОН», Россия), железа (III) хлорида раствор 3%-й (железа (III) хлорид, 6-водный, ч., АО «БЕКТОН»,

Россия), калия пироантимоната раствор (калий сульфатнокислый, 4-водный, ч.д.а., ООО «Химсервис», Россия), кислый раствор хлористого циркония 0,035%-й (цирконий хлорокись (IV), 8-водный, х.ч., АО «БЕКТОН», Россия), натрия кобальтинитрита раствор 10%-й (натрий гексанитрокобальтат (III), 0,5-водный, х.ч., АО «БЕКТОН», Россия), натрия эдетата раствор 0,05 М (стандарт-титр: соль динатриевая этилендиамин N,N',N'-тетрауксусной кислоты 2-водная (трилон Б) 0,1 моль/дм³ (0,1 н), ООО «Уральский завод химической продукции», Россия), серебра нитрата раствор 2%-й (серебро азотнокислое, х.ч., ООО «АльфаХим», Россия), танина раствор 0,1%-й (танин, ч., ООО «ВитаХим», Россия), уксусная кислота разведенная 30%-ая (уксусная кислота, х.ч., АО «БЕКТОН», Россия), хлористоводородной кислоты раствор 0,5 М (кислота соляная, х.ч., ООО «Нева-Реактив», Россия), натрия додецилсульфата раствор 0,005 М (натрия додецилсульфат, Ph.Eur., АО «БЕКТОН», Россия), аммония оксалата раствор 4%-й (аммоний щавелевокислый, 1-водный, ч.д.а., ООО «АО РЕАХИМ», Россия), хромовый темно-синий индикаторная смесь (хромовый темно-синий, ч.д.а., АО «БЕКТОН», Россия; натрий хлористый, х.ч., ООО «ХлоренХима», Россия), бромфенолового синего раствор 0,1%-й (бромфеноловый синий, ч.д.а., АО «БЕКТОН», Россия), метилового оранжевого раствор 0,1%-й (метилоранжевый, ч.д.а., ООО «АО РЕАХИМ», Россия), натрия хлорида насыщенный раствор (натрий хлористый, х.ч., ООО «ХлоренХима», Россия), магния сульфата раствор 0,05 М (магний сернокислый, 7 водный, ч.д.а., АО «ЛенРеактив»).

Для взятия навесок использовали аналитические весы HR-150AG (AND, Япония).

Методы

Гели изготовлены методом гомогенизации. Гомогенизацию полимерного раствора для гелей осуществляли погружной верхнеприводной лабораторной мешалкой RW 11 basic lab eqq (IKA, Германия).

Для оценки специфичности методик испытания на подлинность использовали модельные смеси известного состава: полный состав гелей, смеси с чередованием ДВ, гели плацебо. При апробации качественных реакций проводилась пробоподготовка: навеску геля 1,0 г растворяли в 20 мл воды очищенной и фильтровали через складчатый фильтр, полученный раствор использовали для проведения реакций. Для подтверждения подлинности ДВ использовались как фармакопейные, так и не фармакопейные реакции. Подлинность катиона кальция подтверждали реакцией осаждения раствором аммония оксалата, хлориды реакцией с раствором серебра нитрата в присутствии азотной кислоты разведенной, ион калия реакцией с раствором натрия кобальтинитрита, фосфаты реакцией с раст-

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> Ссылка активна на 14.11.2023.

² Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/validatsiya-analiticheskikh-metodik/> Ссылка активна на 14.11.2023.

вором серебра нитрата при $pH = 7$ (хлориды не мешают), ион натрия реакцией с раствором калия пироантимоната, фториды с цирконий ализариновым комплексом, основание хлоргексидина реакцией с раствором танина, остаток глюконовой кислоты реакцией с раствором железа(III) хлорида¹.

Для определения количественного содержания кальция хлорида использовали комплексонометрический метод. Предложен способ обратного титрования с соблюдением определенной последовательности добавления реактивов для предотвращения образования осадка кальция фосфата.

Методика: к 0,5 г геля прибавляют 10 мл (точно) натрия эдетата раствора 0,05 М, 10 мл аммиачного буферного раствора, 0,05 г хромового темно-синего (индикаторная смесь), тщательно перемешивают и титруют 0,05 М раствором магния сульфата от сине-фиолетовой окраски до красно-фиолетовой.

Параллельно проводят контрольный опыт. Количественное содержание калия фосфата двузамещенного определяли ацидиметрическим методом, по варианту вытеснения.

Методика: 2,0 г геля растворяют в 50 мл воды очищенной, прибавляют 10 мл раствора натрия хлорида насыщенного, 2 капли метилового оранжевого раствора 0,1%-го и титруют раствором хлористоводородной кислоты 0,5 М до розового окрашивания.

Для определения количественного содержания натрия фторида использовали фотоэлектроколориметрический метод (фотометр КФК-3, АО «ЗОМЗ», Россия), с применением реакции с цирконий-ализариновым комплексом, расчет проводили по рабочему стандартному образцу².

Методика: 1,0 г геля помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 20 мл воды очищенной, 5 мл (точный объем) 0,05 М раствора натрия эдетата (для связывания ионов кальция), 5 мл аммиачного буферного раствора, тщательно перемешивают, прибавляют по 10 мл (точный объем) раствора ализаринового красного С и раствора кислого хлористого цирконила, доводят объем водой очищенной до метки. Раствор перемешивают и выдерживают в течение 30 минут. Измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 520 нм, в кювете с толщиной слоя 20 мм, раствор сравнения вода очищенная. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора рабочего стандартного образца, приготовленного аналогичным образом.

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. ОФС.1.2.2.0001 «Общие реакции на подлинность». Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia15>. Ссылка активна на 14.11.2023.

² Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание. ОФС.1.2.1.1.0012.18. «Фотометрия». Доступно по: <https://femb.ru/record/pharmacopoea14>. Ссылка активна на 14.11.2023.

Для количественного определения ХГБ в геле использовали лаурилсульфатный метод, который основан на образовании труднорастворимых лаурилсульфатов органических соединений, содержащих основной атом азота и имеющих величину молярной массы более 200.

Методика: 2,0 г геля растворяют в 50 мл воды очищенной, прибавляют 3 мл уксусной кислоты разведенной, раствор должен быть прозрачным, прибавляют 5 капель раствора бромфенолового синего 0,1%-го и титруют 0,005 М раствором натрия додецилсульфата (лаурилсульфата натрия) до перехода окраски от зеленой через сине-зеленую до светло-зеленой [14].

Результаты исследований обработаны в соответствии с ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний»³.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке специфичности методик испытания на подлинность, в результате проведенных исследований установлено, что предложенные методики характеризуются отрицательным аналитическим сигналом на плацебо и модельных смесях, свободных от определяемых ДВ, и положительным аналитическим сигналом на модельных смесях различного состава, содержащих определяемый компонент.

Специфичность методик количественного определения ДВ оценивалась на модельных смесях различного состава с чередованием ДВ. Получены следующие результаты: доверительные интервалы для кальция хлорида $5,462 \pm 0,0743$, для калия фосфата двузамещенного $7,347 \pm 0,1238$, для натрия фторида $0,044 \pm 0,0016$, для ХГБ $0,100 \pm 0,0015$. Значения, принимаемые за истинные, лежат внутри доверительных интервалов, что свидетельствует о соответствии критериям приемлемости. Линейная зависимость исследована в диапазоне концентраций от 80 до 120 % ДВ от заявленного количества. Было приготовлено 5 модельных образцов с содержанием ДВ 80, 90, 100, 110 и 120 % от заявленного количества. Полученные результаты обработаны в виде графика зависимости расхода титранта – для титриметрических методов и оптической плотности – для фотоэлектроколориметрического метода, от количества определяемых ДВ.

На рисунке 1 представлен график зависимости расхода титранта от количества кальция хлорида в модельных образцах при определении комплексонометрическим методом, способом обратного титрования. Так как использован способ обратного титро-

³ Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний». М., 2023; Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia15>. Ссылка активна на 14.11.2023.

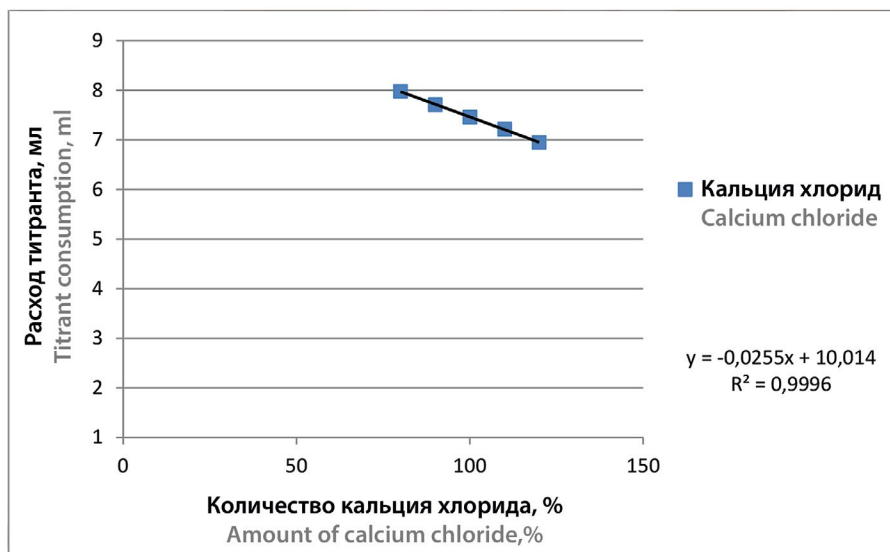


Рисунок 1. Зависимость расхода титранта (мл) от количества кальция хлорида в модельных смесях (в диапазоне от 80 до 120 % от заявленного содержания) по результатам титриметрического определения

Figure 1. Dependence of titrant consumption (ml) on the amount of calcium chloride in model mixtures (in the range from 80 to 120 % of the declared content) according to the results of titrimetric determination

вания, угловой коэффициент имеет отрицательное значение $b = -0,0255$, свободный член $a = 10,014$, коэффициент корреляции $r = 0,9996$.

На рисунке 2 представлен график зависимости расхода титранта от количества калия фосфата двузамещенного в модельных образцах при определении ацидиметрическим методом. Угловой коэффициент $b = 0,013$, свободный член $a = 0$, коэффициент корреляции $r = 1,0000$.

На рисунке 3 представлен график зависимости оптической плотности от количества натрия фторида в модельных образцах при определении фотоэлектроколориметрическим методом. Наблюдает-

ся обратная зависимость оптической плотности от количества натрия фторида, так как в основе методики лежит реакция разрушения окрашенного цирконилаланинового комплекса фторид ионами. Угловой коэффициент имеет отрицательное значение $b = -0,0008$, свободный член $a = 0,2216$, коэффициент корреляции $r = 0,9982$.

На рисунке 4 представлен график зависимости расхода титранта от количества хлоргексидина биглюконата в модельных образцах при определении лаурилсульфатным методом. Угловой коэффициент $b = 0,0114$, свободный член $a = 0,27$, коэффициент корреляции $r = 0,9997$.

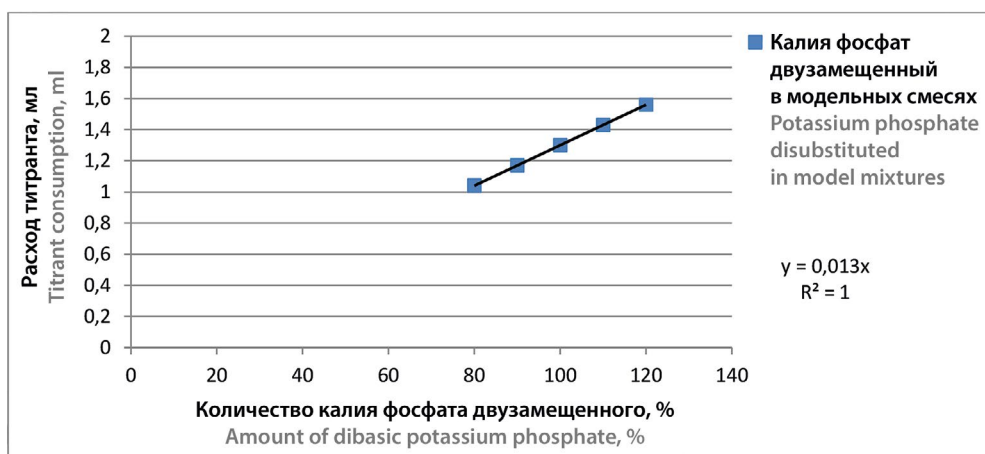


Рисунок 2. Зависимость расхода титранта (мл) от количества калия фосфата в модельных смесях (в диапазоне от 80 до 120 % от заявленного содержания) по результатам ацидиметрического определения

Figure 2. Dependence of titrant consumption (ml) on the amount of potassium phosphate in model mixtures (in the range from 80 to 120 % of the declared content) according to the results of acidimetric determination

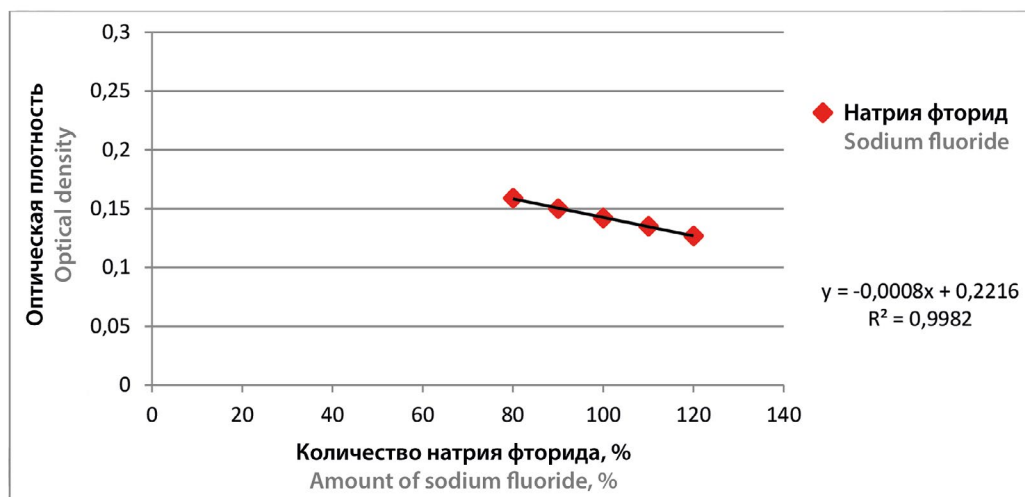


Рисунок 3. Зависимость оптической плотности от количества натрия фторида в модельных смесях (в диапазоне от 80 до 120 % от заявленного содержания) по результатам фотоэлектроколориметрического определения

Figure 3. Dependence of optical density on the amount of sodium fluoride in model mixtures (in the range from 80 to 120 % of the declared content) according to the results of photoelectrocolorimetric determination

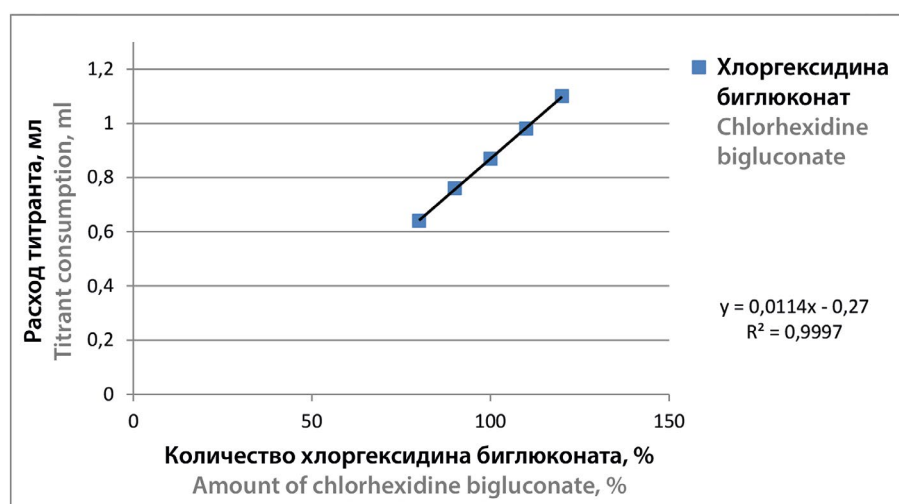


Рисунок 4. Зависимость расхода титранта (мл) от количества хлоргексидина биглюконата в модельных смесях (в диапазоне от 80 до 120 % от заявленного содержания) по результатам титриметрического определения лаурилсульфатом натрия

Figure 4. Dependence of titrant consumption (ml) on the amount chlorhexidine bigluconate in model mixtures (in the range from 80 to 120 % of the declared content) according to the results of titrimetric determination sodium lauryl sulfate

Диапазон концентраций от 80 до 120 % от заявленного количества ДВ можно определить, как аналитическую область разработанных методик. Правильность методик оценивалась по результатам анализа модельных смесей 5 аналитических концентраций в интервале от 80 до 120 % от заявленного состава. Отношение «найденно:введено» находится в интервале от 97 до 102 %. Систематическая погрешность статистически неотличима от нуля. Полученные результаты свидетельствует об удовлетворительной правильности методик.

Результаты количественного определения ДВ в пяти серийных образцах геля представлены в таблице 1. Содержание ДВ приведено на 100,0 г геля.

Содержание в геле кальция хлорида должно находиться в пределах [5,34–5,66] г, калия фосфата двузамещенного [7,18–7,62] г и натрия фторида [0,037–0,051] г, ХГБ [0,090–0,11] г на массу геля 100,00 г. По величинам стандартного отклонения и доверительному интервалу, можно сделать заключение об удовлетворительной прецизионности (повторяемости) предложенных методик под влиянием внутрилабораторных вариаций.

Таблица 1. Результаты количественного определения ДВ в геле
Table 1. The results of the quantitative determination of AI in the gel

Действующие вещества Active ingredient	Серия Series	Метрологические характеристики Metrological characteristics					
		Результат отдельного определения X, г Result of a single definition X, g	Среднее значение результатов определений $\bar{X}$, г Average value of the results of determinations $\bar{X}$, g	Стандартное отклонение среднего результата S, г Standard deviation of the mean S, g	Доверительный интервал среднего результата $\Delta\bar{X}$ Confidence interval of the mean result $\Delta\bar{X}$	Относительная ошибка отдельного результата ϵ , % Relative error of a single result ϵ , %	Относительная ошибка среднего результата $\bar{\epsilon}$, % Relative error of the mean $\bar{\epsilon}$, %
Кальция хлорид Calcium chloride	1	5,511	5,492	0,01996	0,02500	1,01	0,46
	2	5,498				1,01	
	3	5,463				1,02	
	4	5,508				1,01	
	5	5,482				1,01	
Калия фосфат двузамещенный Potassium phosphatedisubstituted	1	7,401	7,400	0,02540	0,03160	1,19	0,43
	2	7,442				1,18	
	3	7,398				1,19	
	4	7,379				1,19	
	5	7,381				1,19	
Натрия фторид Sodium fluoride	1	0,046	0,044	0,00158	0,00196	9,55	4,45
	2	0,044				9,98	
	3	0,042				10,46	
	4	0,045				9,76	
	5	0,043				10,21	
Хлоргексидина биглюконат Chlorhexidine bigluconate	1	0,100	0,099	0,00278	0,00346	7,73	3,49
	2	0,098				7,89	
	3	0,095				8,16	
	4	0,101				7,65	
	5	0,099				7,81	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований изучены валидационные характеристики методик анализа геля для реминерализации дентина по показателям «Подлинность» и «Количественное определение» ДВ. Валидированные методики апробированы в Региональном испытательном центре «Фарматест» Пермской государственной фармацевтической академии и в условиях аптеки МСЧ № 140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА (г. Пермь). Установлено, что разработанные методики специфичны, имеют линейную зависимость в аналитической области $\pm 20\%$ от заявленного количества ДВ, удовлетворительную правильность, повторяемость. Валидированные методики использованы при стандартизации геля по показателям «Подлинность» и «Количественное определение», при хранении методом долгосрочных испытаний стабильности, включены в проект ФС и Методические указания по изготовлению и контролю качества геля в условиях аптечных организаций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахрушина Е. О., Анурова М. Н., Демина Н. Б., Иванников Г. Ю. Перспективы и основные аспекты разработки гелей для приема внутрь. *Химико-фармацевтический журнал*. 2019;9(53):26–32. DOI:10.30906/0023-1134-2019-53-9-26-32.

2. Голованенко А. Л., Алексеева И. В., Березина Е. С., Флисюк Е. В., Ногаева У. В., Титович И. А. Исследования по созданию стоматологического геля с ацизолом. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):194–200. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-194-200.

3. Филатова А. В., Тураев А. С., Выпова Н. Л. Местноанестезирующая активность и острая токсичность комбинированного геля в эксперименте. *Химико-фармацевтический журнал*. 2021;3(55):48–51. DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-3-48-51.

4. Филатова А. В., Тураев А. С., Выпова Н. Л. Разработка состава, противовоспалительная и противоаллергическая активность геля «Флудигель». *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;8(54):29–34. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-8-29-34.

5. Филатова А. В., Тураев А. С., Джурабаев Д. Т., Азимова Л. Б. Стабильность комбинированного противоаллергического геля «Флудигель». *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;11(54):53–56. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-11-53-56.

6. Загорюлько Е. Ю., Караваева А. С. Подходы к выбору вспомогательных веществ для геля стоматологического с цетилпириди-

- ния хлоридом. *Фармация и фармакология*. 2021;9(1):54–63. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-1-54-63
7. Майорова А. В., Сысцев Б. Б., Иванкова Ю. О., Ханалиева И. А. Коллагеназы в медицинской практике: современные средства на основе коллагеназы и перспективы их совершенствования. *Фармация и фармакология*. 2019;7(5):260–270. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-5-260-270.
 8. Ольшанникова С. С., Холявка М. Г., Артюхов В. Г. Разработка методики включения фицина в гель на основе пищевого хитозана и сукцината хитозана. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;10(54):52–55. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-10-52-55.
 9. Султанова Э. М., Орипова М. Ж., Ощепкова Ю. И., Салихов Ш. И. Гелеобразная композиция на основе хитозана и мегосина. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;5(54):43–46. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-5-43-46.
 10. Беляцкая А. В., Кашликова И. М., Краснюк И. И. (мл.), Краснюк И. И., Степанова О. И., Воробьев А. Н. Разработка состава и технология геля с твердой дисперсией нитрофурала. *Химико-фармацевтический журнал*. 2019;10(53):55–58. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-5-43-46.
 11. Шигабиева Ю. А., Богданова С. А., Заляллютдинова Л. Н., Галямеддинов Ю. Г., Гараев Р. С. Разработка фотопротективных гелей с ксимедоном и амфифильными компонентами. *Химико-фармацевтический журнал*. 2019;7(53):37–40. DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-7-37-40.
 12. Голованенко А. Л. Использование комбинированных лекарственных паст для лечения кариеса дентина. *Стоматология для всех*. 2016;3:6–11.
 13. Леонова Л. Е., Першина Р. Г., Голованенко А. Л., Павлова Г. А., Березина Е. С. Средство для лечения кариеса дентина. Патент РФ № 2560680. 17.06.2014.
 14. Чекрышкина Л. А., Эвич Н. И., Березина Е. С., Киселева А. А. Анализ растворов хлоргексидина биглюконата в условиях аптеки. Новая аптека. Эффективное управление. 2009;3:49–51.
 9. Sultanova E. M., Oripova M. Zh., Oshchepkova Yu. I., Salikhov Sh. I. Gel-like composition based on chitosan and megosin. *Chemical-Pharmaceutical Journal*. 2020;5(54):43–46. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-5-43-46.
 10. Belyatskaya A. V., Kashlikova I. M., Krasnyuk I. I. (Jr.), Krasnyuk I. I., Stepanova O. I., Vorobyov A. N. Development of the composition and technology of a gel with a solid dispersion of nitrofurazone. *Chemical-Pharmaceutical Journal*. 2019;10(53):55–58. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-5-43-46.
 11. Shigabieva Yu. A., Bogdanova S. A., Zalyalyutdinova L. N., Galyametdinov Yu. G., Garayev R. S. Development of photoprotective gels with xymedon and amphiphilic components. *Chemical-Pharmaceutical Journal*. 2019;7(53):37–40. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-7-37-40.
 12. Golovanenko A. L. The use of combined medicinal pastes for the treatment of dentine caries. *Stomatology for everyone*. 2016;3:6–11. (In Russ.)
 13. Leonova L. E., Pershina R. G., Golovanenko A. L., Pavlova G. A., Berezina E. S. Medicine for the treatment of dentin caries. Patent № 2560680. 06.17.2014. (In Russ.)
 14. Chekryshkina L. A., Evich N. I., Berezina E. S., Kiseleva A. A. Analysis of solutions of chlorhexidine bigluconate in a pharmacy. *New Pharmacy. Effective management*. 2009;3:49–51. (In Russ.)

REFERENCES

1. Bakhrushina E. O., Anurova M. N., Demina N. B., Ivannikov G. Yu. Prospects and main aspects of the development of gels for oral administration. *Chemical-Pharmaceutical Journal*. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-9-26-32.
2. Golovanenko A. L., Alekseeva I. V., Berezina E. S., Flisyuk E. V., Nogaeva U. V., Titovich I. A. Research on the creation of dental gel with acycol. *Drug development & registration*. 2022;11(4):194–200. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-194-200.
3. Filatova A. V., Turaev A. S., Vypova N. L. Local anesthetic activity and acute toxicity of a combined gel in an experiment. *Chemical-Pharmaceutical Journal*. 2021;3(55):48–51. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-3-48-51.
4. Filatova A. V., Turaev A. S., Vypova N. L. Development of the composition, anti-inflammatory and antiallergic activity of the Fludigel gel. *Chemical-Pharmaceutical Journal*. 2020;8(54):29–34. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-8-29-34.
5. Filatova A. V., Turaev A. S., Djurabaev D. T., Azimova L. B. Studying the Stability of a Combined Anti-Allergic Gel Composition (Fludigel). *Chemical-Pharmaceutical Journal*. 2020;11(54):53–56. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-11-53-56.
6. Zagorulko E. Yu., Karavaeva A. S. Approaches to the selection of excipients for dental gel with cetylpyridinium chloride. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(1):54–63. (In Russ.) DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-1-54-63.
7. Mayorova A. V., Sysuev B. B., Ivankova J. O., Hanaliev I. A. Collagenases in medical practice: modern collagenase-based preparations and prospects for their improvement. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(5):260–270. (In Russ.) DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-5-260-270.
8. Olshannikova S. S., Kholyavka M. G., Artyukhov V. G. Development of a method for incorporating ficin into a gel based on food-grade chitosan and chitosan succinate. *Chemical-Pharmaceutical Journal*. 2020;10(54):52–55. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-10-52-55.

Применение рентгенофлуоресцентного и радиационного методов для анализа лекарственного растительного сырья на примере *Achilleae millefolii herba*

И. Ю. Каликина✉, А. Ю. Турышев, В. Д. Белоногова, А. В. Курицын, С. В. Пучнина, Н. А. Бузмакова

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: Каликина Ирина Юрьевна. E-mail: kalikinaira@yandex.ru

ORCID: И. Ю. Каликина – <https://orcid.org/0000-0002-4495-0118>; А. Ю. Турышев – <https://orcid.org/0000-0003-3867-5305>; В. Д. Белоногова – <https://orcid.org/0000-0001-8414-4367>; А. В. Курицын – <https://orcid.org/0000-0001-8529-1123>; С. В. Пучнина – <https://orcid.org/0000-0002-8591-4615>; Н. А. Бузмакова – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Статья поступила: 10.10.2023

Статья принята в печать: 15.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Экологический мониторинг является важным направлением современных исследований. Это связано с антропогенным воздействием на окружающую среду, что зачастую негативно сказывается на разнообразии лекарственной флоры регионов России. В связи с интенсивным развитием науки актуально использование современных инструментальных методов анализа лекарственного растительного сырья. Содержание тяжелых металлов, элементный состав, а также уровень радиационного фона являются важными характеристиками экологической чистоты и безопасности ЛРС. Именно они и представляют интерес для оценки возможности заготовки и использования лекарственных растений на местности.

Цель. Исследование возможностей применения рентгенофлуоресцентного и радиационного методов в рамках экологического мониторинга лекарственного растительного сырья.

Материалы и методы. Объект исследования – тысячелистника обыкновенного трава (*Achilleae millefolii herba*). Заготовка ЛРС проведена в Бардымском, Чернушинском, Уинском, Кишертском, Октябрьском, Суксунском, Ординском, Сивинском районах Пермского края летом 2022–2023 года в соответствии с общепринятыми инструкциями по заготовке. Для определения тяжелых металлов и оценки элементного состава растений использовался прибор – рентгенофлуоресцентный анализатор (РФА) ARL QUANT'X EDXRF. Анализ проводили по методике, отработанной сотрудниками кафедры фармакогнозии ПГФА. Оценку радиационного фона ЛРС проводили с использованием специального дозиметра RADEX RD 1503.

Результаты и обсуждение. В результате исследования установлено, что на территории изученных районов Пермского края возможна заготовка тысячелистника обыкновенного травы. Наиболее рекомендуемые районы заготовки являются Бардымский, Уинский, Кишертский, Ординский, Чернушинский поскольку заготовленная на данной местности тысячелистника трава является экологически чистой и безопасной для использования в качестве лекарственного сырья, имеет разнообразный элементный состав. Содержание тяжелых металлов не превышает предельно допустимых концентраций согласно требованиям нормативной документации. Уровень радиационного фона не превышает пороговое значение по РФ.

Заключение. Рентгенофлуоресцентный анализ является подходящим и надежным аналитическим методом определения элементов в растительном сырье. РФА является многоэлементным экспрессным методом, позволяющим анализировать образец с минимальной пробоподготовкой. Достоинствами метода являются хорошая воспроизводимость результатов, высокая чувствительность определений, эффективность. Исследования продолжаются.

Ключевые слова: рентгенофлуоресцентный анализ, радиационный фон, тяжелые металлы, лекарственное растительное сырье, тысячелистника трава

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

Вклад авторов. В. Д. Белоногова – концепция и дизайн исследования. И. Ю. Каликина, А. Ю. Турышев, А. В. Курицын, С. В. Пучнина, Н. А. Бузмакова провели заготовку и исследование лекарственного растительного сырья, обзор публикаций по теме статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Каликина И. Ю., Турышев А. Ю., Белоногова В. Д., Курицын А. В., Пучнина С. В., Бузмакова Н. А. Применение рентгенофлуоресцентного и радиационного методов для анализа лекарственного растительного сырья на примере *Achilleae millefolii herba*. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2023;12(4–1):104–111. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1597](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1597)

Application of X-ray Fluorescence and Radiation Methods for the Analysis of Medicinal Plant Raw Materials on the Example of *Achilleae millefolii herba*

Irina Yu. Kalikina✉, Alexey Yu. Turyshev, Valentina D. Belonogova, Alexey V. Kuritsyn, Svetlana V. Puchnina, Nadezhda A. Buzmakova

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

✉ Corresponding author: Irina Yu. Kalikina. E-mail: kalikinaira@yandex.ru

ORCID: Irina Yu. Kalikina – <https://orcid.org/0000-0002-4495-0118>; Alexey Yu. Turyshev – <https://orcid.org/0000-0003-3867-5305>; Valentina D. Belonogova – <https://orcid.org/0000-0001-8414-4367>; Alexey V. Kuritsyn – <https://orcid.org/0000-0001-8529-1123>; Svetlana V. Puchnina – <https://orcid.org/0000-0002-8591-4615>; Nadezhda A. Buzmakova – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Received: 10.10.2023

Revised: 15.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Environmental monitoring is an important area of modern scientific research. This is due to the anthropogenic impact on the environment, which often negatively affects the diversity of the Russian medicinal flora. The use of modern instrumental analytical methods of medicinal plant raw materials is relevant due to the intensive development of science. The content of heavy metals, the elemental composition and the level of background radiation are important characteristics of ecological purity and safety of medicinal plant raw materials. These characteristics are of interest for assessing the possibility of harvesting and using medicinal plants at localization. The generally accepted instructions for harvesting were used.

Aim. Investigation of the possibilities of using X-ray fluorescence and radiation methods for environmental monitoring of medicinal plant raw materials.

Materials and methods. The research object was *Achilleae millefolii herba*. The harvestment of plant raw materials was carried out in the Bardymy, Chernushinsky, Uinsky, Kishertsky, Oktyabrsky, Suksunsky, Ordinsky, Sivinsky districts of the Perm Region in the summer in 2022–2023. The X-ray fluorescence analyzer (XFA) ARL QUANT'X EDXRF was used to determine heavy metals and assess the elemental composition of plants. The analysis was carried out according to the methodology that was developed by scientists of the Pharmacognosy Department at the Perm State Pharmaceutical Academy. The radiation background in raw materials was assessed by using a special dosimeter RADEX RD1503.

Results and discussion. As a result, it was found that harvesting of *Achilleae millefolii herba* is possible in the Perm Region studied areas. Bardymy, Uinsky, Kishertsky, Ordinsky, Chernushinsky districts are the most recommended for harvesting plant raw materials. Samples from these areas are ecological purity and safe for use as medicinal raw materials and have a diverse elemental composition. The content of heavy metals does not exceed the maximum permissible concentrations according to the regulatory documentation requirements. The background radiation level does not exceed the threshold value compared to other areas in the Russian Federation.

Conclusion. X-ray fluorescence analysis is a suitable and reliable analytical method for determining elements in plant raw materials. XFA is a multi-element express method that allows analyzing a sample with minimal sample preparation. The advantages of the method are good reproducibility, high sensitivity, and efficiency. Research continues.

Keywords: X-ray fluorescence analysis, radiation background, heavy metals, medicinal plant raw materials, *Achilleae millefolii herba*

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. Valentina D. Belonogova – concept and design study. Irina Yu. Kalikina, Alexey Yu. Turyshev, Alexey V. Kuritsyn, Svetlana V. Puchnina, Nadezhda A. Buzmakova carried out the harvestment and medicinal plant raw materials research, a review of publications. The authors participated in the discussion of the results and wrote the text.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Kalikina I. Yu., Turyshev A. Yu., Belonogova V. D., Kuritsyn A. V., Puchnina S. V., Buzmakova N. A. Application of X-ray fluorescence and radiation methods for the analysis of medicinal plant raw materials on the example of *Achilleae millefolii herba*. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):104–111. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1597](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1597)

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время актуальной темой является экологический мониторинг, поскольку интенсивная промышленная антропогенная деятельность способствует загрязнению окружающей среды. Экоотоксиканты активно накапливаются растениями, изменяя их химический состав и свойства, что приводит к снижению свойств, количества и даже к утрате запасов многих ценных видов.

Одним из перспективных лекарственных растений является тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.). Это обусловлено следующими терапевтическими свойствами растения: кровоостанавливающее, противовоспалительное, бактерицидное, диуретическое и спазмолитическое [1–5]. Разнообразие фармакотерапевтического действия позволяет применять данное растение в терапии большого количества заболеваний как индивидуально, так и в составе комбинированных фитопрепаратов [6].

На территории Пермского края тысячелистника обыкновенного трава произрастает практически повсеместно. Стоит отметить, что для дальнейшего использования тысячелистника травы в промышленных целях обязательным требованием является использование только экологически чистого лекарственного растительного сырья. Оценка содержания радионуклидов и тяжелых металлов для промышленных регионов, к которым относится и Пермский край, считается экологически значимой, так как они являются одними из приоритетных загрязнителей окружающей среды¹ [7–10].

Поэтому актуальными вопросами современной фармации является поиск подходящих мест произрастания лекарственных растений (ЛР) и анализ возможности заготовки лекарственного растительного сырья (ЛРС) надлежащего качества с целью дальнейшего использования экологически чистого ЛРС, а также его возможного применения в производстве лекарственных препаратов (ЛП) и биологически активных добавок (БАД) на растительной основе.

Цель. Исследование возможностей применения рентгенофлуоресцентного и радиационного методов в рамках экологического мониторинга лекарственного растительного сырья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлась тысячелистника обыкновенного трава (*Achilleae millefolii herba*). Местами заготовки ЛРС являлись суходольные луга в окрестностях деревень в отдаленности от оживленных автомобильных дорог.

Всего обследовано 8 муниципальных районов Пермского края: Бардымский, Чернушинский, Уинский, Кишертский, Октябрьский, Суксунский, Ординский, Сивинский. Заготовка образцов сырья² проводилась летом 2022–2023 года на территории Пермского края в соответствии с общепринятыми инструкциями по заготовке лекарственного растительного сырья [11].

Об экологической чистоте и безопасности сырья судили по результатам анализа образцов на содержание тяжелых металлов и радиационную безопасность. Присутствие тяжелых металлов устанавливали в зольном остатке по методике ГФ XV из-

¹ Промышленность Пермского края. (Интернет) Министерство промышленности и торговли Пермского края. Доступно по: <https://minpromtorg.permkrai.ru/promyshlennost/promyshlennost-permskogo-kraja>. Ссылка активна на 15.09.2023.

² ФС.2.5.0101.18. «Тысячелистника обыкновенного трава (*Achilleae millefolii herba*)». Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Доступно по: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/1325/> Ссылка активна на 01.09.2023.

дания³. Для определения тяжелых металлов и оценки элементного состава растений использовался прибор – рентгенофлуоресцентный анализатор (РФА) ARL QUANT'X EDXRF. Анализ проводили по методике, отработанной сотрудниками кафедры фармакогнозии ПГФА [12].

Оценку радиационного фона ЛРС проводили с использованием специального дозиметра RADEX. Радиационный фон измеряли в мкЗв/ч. Для проведения исследования устанавливали приборы в рабочее положение путем укладки приборов непосредственно на поверхность растительного сырья. После характерного звукового сигнала фиксировали данные в протокол анализа. Измерение проводили в трехкратной повторности, за конечный результат принимали среднее значение трех измерений.

Статистическую обработку результатов экспериментальных данных исследований проводили с помощью программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пример спектра, полученного в ходе рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) образца ЛРС, представлен на рисунке 1.

В результате измерения спектра исходя из количества и энергии фотонов можно сделать выводы о структуре вещества. РФА позволяет определить элементный состав растений, в том числе содержание свинца, которое регламентируется Государственной Фармакопеей XV издания (таблица 1).

Результаты элементного анализа тысячелистника травы, собранной на территории 8 районов Пермского края, приведенные на рисунках 2 и 3, не превышают ПДК, описанных в СанПин № 2.3.2.1078-01 для пищевых продуктов и БАД на растительной основе [13]. Однако, содержание свинца в некоторых образцах тысячелистника травы, заготовленной на территории Октябрьского, Суксунского и Осинского районов превышает нормируемое Государственной Фармакопеей XV издания содержание 6 мкг/г⁴, что

³ ОФС.1.5.3.0009. «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-5/1-5-1/opredelenie-soderzhaniya-tyazhelykh-metallov-i-myshyaka-v-lekarstvennom-rastitelnom-syre-i-lekarstv/> Ссылка активна на 28.09.2023

⁴ ОФС.1.5.3.0009. «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Государственная фармакопея Российской Федерации. Издание XV. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-5/1-5-1/opredelenie-soderzhaniya-tyazhelykh-metallov-i-myshyaka-v-lekarstvennom-rastitelnom-syre-i-lekarstv/> Ссылка активна на 28.09.2023.

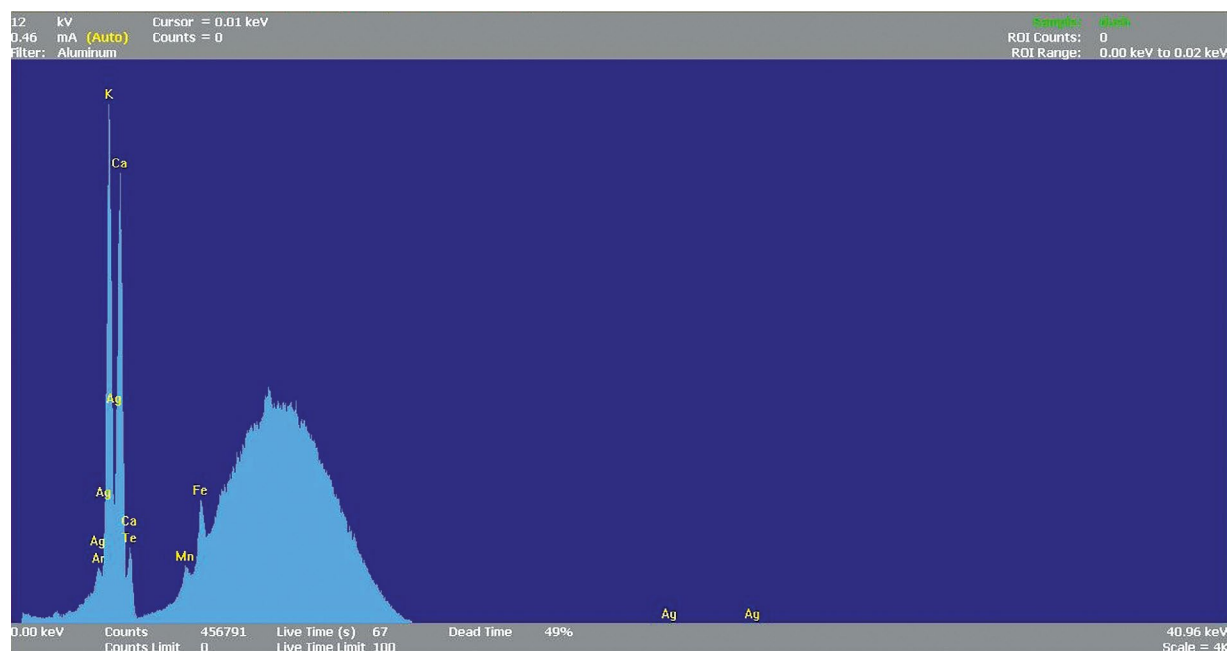


Рисунок 1. Пример спектра исследуемого образца тысячелистника травы методом рентгенофлуоресцентного анализа
Figure 1. Example of the spectrum of *Achillea herba* by using X-ray fluorescence analysis method

Таблица 1. Результаты измерения элементного состава тысячелистника обыкновенного травы (средние значения по району заготовки)

Table 1. Elemental composition of *Achillea millefolii herba* (average values for the harvesting area)

Район заготовки Harvesting district	Бардымский Bardymsky	Октябрьский Oktyabrsky	Уинский Uinsky	Кишертский Kishertsky
Концентрация элемента, мкг/г Element concentration, mcg/g				
Cu	16,89 ± 0,17	19,71 ± 0,20	24,07 ± 0,25	16,41 ± 0,18
Zn	49,90 ± 0,49	49,53 ± 0,50	70,96 ± 0,81	51,02 ± 0,77
Al	271,67 ± 2,72	425,17 ± 4,67	410,88 ± 4,93	309,06 ± 3,84
Si	77,18 ± 0,77	33,19 ± 0,37	408,95 ± 5,32	417,00 ± 5,19
Mn	74,71 ± 0,75	109,73 ± 1,10	83,24 ± 0,83	62,85 ± 0,53
Fe	195,00 ± 2,34	123,06 ± 1,23	381,40 ± 3,81	179,81 ± 1,80
Pb	0,09 ± 0,01	6,56 ± 0,07	0,00	0,00
Sn	1,1 ± 0,01	0,95 ± 0,01	0,00	0,30 ± 0,02
Район заготовки Harvesting district	Суксунский Suksunsky	Ординский Ordinsky	Чернушинский Chernushinsky	Осинский Osinsky
Концентрация элемента, мкг/г Element concentration, mcg/g				
Cu	30,67 ± 0,31	22,42 ± 0,22	18,52 ± 0,19	23,49 ± 0,93
Zn	77,89 ± 0,78	60,09 ± 1,20	48,94 ± 0,52	53,90 ± 0,64
Al	313,76 ± 3,12	312,38 ± 3,30	322,70 ± 9,68	356,97 ± 2,16
Si	778,91 ± 7,79	26,53 ± 0,27	125,37 ± 3,24	144,07 ± 2,81
Mn	195,55 ± 1,96	90,26 ± 0,97	119,68 ± 2,39	105,13 ± 2,13
Fe	584,38 ± 7,01	203,61 ± 2,34	379,76 ± 0,78	294,24 ± 6,17
Pb	8,94 ± 0,09	0,00	0,00	5,71 ± 0,12
Sn	0,00	0,00	0,00	1,67 ± 0,02

может быть связано с наибольшим антропогенным влиянием в районах заготовки. Свинец относится к тяжелым металлам и несет негативные последствия для жизни человека: угнетает митохондриальное дыхание, нарушает процессы белкового синтеза и вызывает в клетках окислительные стресс [14]. Несоот-

ветствующее требованиям нормативной документации сырье не может быть использовано в фармацевтических целях. Таким образом, при заготовке тысячелистника травы на территории данных районов актуально более детальное исследование образцов на содержание тяжелых металлов.

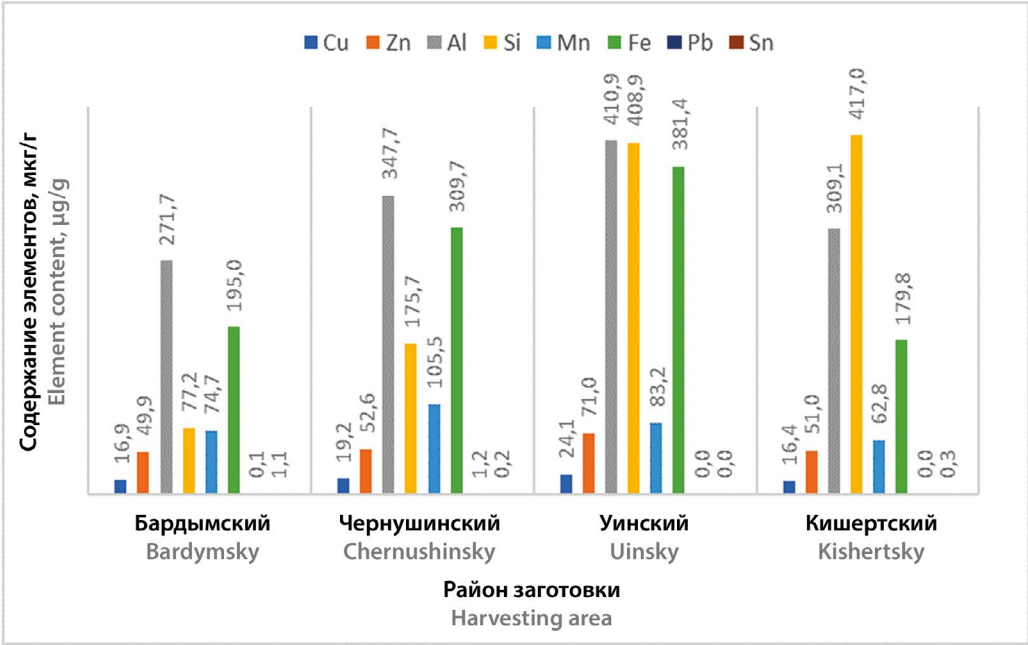


Рисунок 2. Элементный состав тысячелистника травы по районам
Figure 2. Elemental composition of *Achilleae herba* by districts

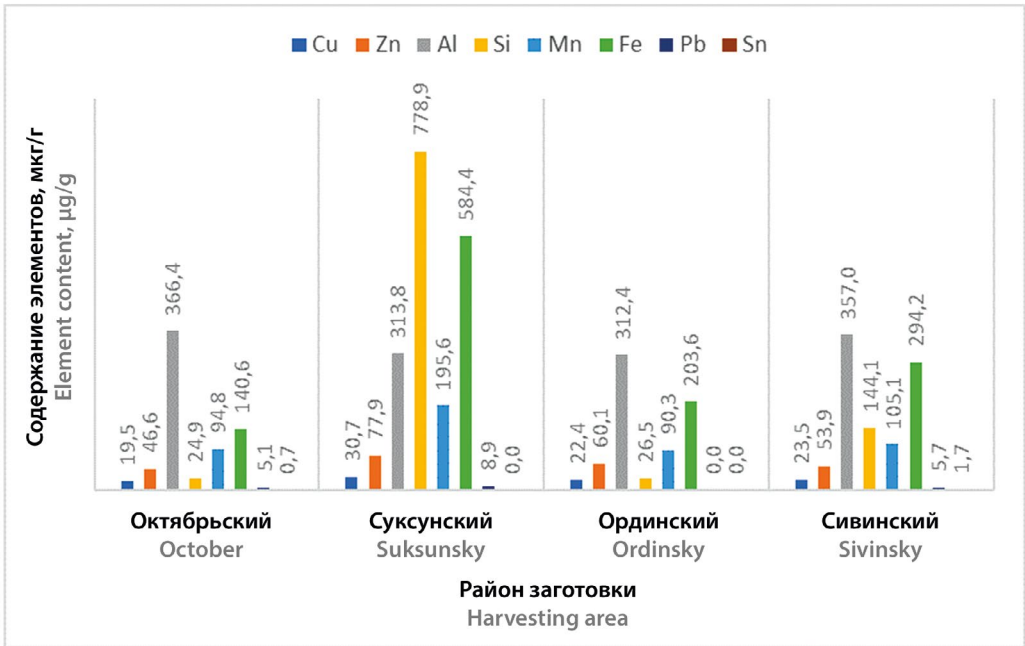


Рисунок 3. Элементный состав тысячелистника травы по районам
Figure 3. Elemental composition of *Achilleae herba* by districts

Следует отметить, что растения в перспективе могут использоваться в производстве фитопрепаратов, восполняющих дефициты определенных химических элементов в организме человека. Метод РФА позволяет качественно и количественно оценить металлы в составе растения. На рисунках 2–3 видно, что

элементы, такие как алюминий, железо и кремний в тысячелистнике накапливаются в большем количестве. Количество меди в сырье в среднем находится в интервале от 16,4 до 30,7 мкг/г. Проанализировав все исследуемые районы, можно сделать вывод, что содержание цинка в тысячелистника траве Перм-

ского края в среднем составляет 57,8 мкг/г. Уровень кремния, относительно других микроэлементов, достаточно высок, максимальное значение данного элемента отмечено в Суксунском районе (778,9 мкг/г). Значения олова незначительны.

Важно рассмотреть влияние проанализированных химических элементов на организм человека, так как они могут поступить при приеме пищи, лекарственного растительного сырья, фитопрепаратов. Так, например, магний влияет на передачу нервных импульсов в нервной и мышечной ткани, необходим для ритмичной работы сердца, активно участвует в обмене белков [15]. Медь входит в состав миелиновых оболочек нервов, участвует в антиоксидантной системе организма, влияет на углеводный обмен [16]. Цинк необходим в организме человека для нормального созревания эритроцитов и других форменных элементов крови, метаболизма ДНК и РНК, активации Т-клеточного иммунитета [17]. Алюминий принимает участие в регенерации костной и соединительной тканей, в зависимости от концентрации активирует или угнетает пищеварительные ферменты [16]. Марганец участвует в активации многих ферментов, отмечена роль в нормальном функционировании мозга [18]. Железо участвует в процессах переноса кислорода в организме человека, входит в состав жизненно важных белков [19]. Олово входит в состав желудочного фермента гастриина, усиливать процессы роста [16].

Согласно материалам данных Пермского центра по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды по состоянию на 2021 год среднегодовое значение дозы гамма-излучения по Пермскому краю составило 11 мкР/ч, по городу Пермь 12 мкР/ч. Максимальное значение по Пермскому краю составило 17 мкР/ч в г. Пермь¹. Среднее значение на территории Российской Федерации по данным на июль 2022 год составило 20 мкР/ч согласно данным справки о радиационной обстановке Росгидромета². Результаты анализа радиационного фона ЛРС представлены в таблице 2.

По результатам анализа образцов тысячелистника травы можно сделать вывод, что уровень радиационного фона в 8 районах заготовки не превышает порогового значения по Российской Федерации – 20 мкР/ч. Полученные данные показывают, что ле-

карственное растительное сырье, заготавливаемое на данной местности, является экологически чистым по содержанию радионуклидов.

Таблица 2. Результаты анализа радиационного фона

Table 2. Radiation analysis results

Район заготовки в Пермском крае Harvesting district in the Perm Region	RADEX, мкР/ч RADEX, mkr/h	Среднее значение по РФ 20 мкР/ч The average value in the Russian Federation is 20 mcR/h
Бардымский Bardymsky	11,5 ± 0,5	Не превышает Rate does not exceed
Октябрьский Oktyabrsky	10,5 ± 1,6	Не превышает Rate does not exceed
Уинский Uinsky	11,5 ± 0,1	Не превышает Rate does not exceed
Кишертский Kishertsky	11,5 ± 0,2	Не превышает Rate does not exceed
Суксунский Suksunsky	10,3 ± 1,0	Не превышает Rate does not exceed
Ординский Ordinsky	12,0 ± 0,5	Не превышает Rate does not exceed
Чернушинский Chernushinsky	11,5 ± 0,2	Не превышает Rate does not exceed
Осинский Osinsky	12,5 ± 0,5	Не превышает Rate does not exceed

Результаты исследования элементного состава заготовленных образцов свидетельствуют об экологической безопасности лекарственного растительного сырья, так как содержание химических элементов не превышает предельно допустимых концентраций согласно требованиям ГФ XV издания и СанПиН № 2.3.2.1078-01 для пищевых продуктов и БАД на растительной основе. Сравнительный анализ радиационного фона показал, что полученные данные ниже или незначительно превышают уровень среднего значения радиационного фона по Пермскому краю и не превышают порогового значения по РФ. Следовательно, данное растительное сырье можно считать экологически чистым и, соответственно, безопасным по показателям: «тяжелые металлы» и «радионуклиды». Разнообразный элементный состав растения открывает перспективы для более детального изучения тысячелистника травы и поиска возможностей создания и производства лекарственных препаратов и растительных БАД на его основе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования можно сделать вывод, что рентгенофлуоресцентный анализ является подходящим и надежным аналитическим методом определения элементов в растительном сырье. РФА является многоэлементным экспрессным методом, позволяющим анализировать образец

¹ Государственный ежегодный доклад «Состояние и охрана окружающей среды Пермского края» за 2021 год. Министерство природных ресурсов, лесного хозяйства и экологии Пермского края. Доступно по: <https://priroda.permkrai.ru/dokumenty/264140/> Ссылка активна на 01.09.2023.

² Бюллетень о радиационной обстановке на территории России в июле 2022 г. Единая государственная автоматизированная система мониторинга радиационной обстановки на территории Российской Федерации. Доступно по: http://egasmro.ru/files/documents/ro_bulletins/byulleten_ror_07_2022.pdf Ссылка активна на 01.09.2023.

с минимальной пробоподготовкой. Достоинствами метода являются хорошая воспроизводимость результатов, высокая чувствительность определений, эффективность.

По результатам исследования можно сделать вывод, что заготовка тысячелистника обыкновенного травы возможна на территории всех изученных районов Пермского края. Однако наиболее рекомендуемыми районами заготовки являются Бардымский, Уинский, Кишертский, Ординский, Чернушинский, поскольку заготовленная на данной местности тысячелистника трава является экологически чистой и безопасной для использования в качестве лекарственного сырья, имеет разнообразный элементный состав. Содержание тяжелых металлов не превышает предельно допустимых концентраций согласно требованиям ГФ XV, а также СанПиН № 2.3.2.1078-01. Уровень радиационного фона не превышает пороговое значение по РФ.

В связи с этим, планируется продолжить изучение экологической ситуации в районах Пермского края и проводить регулярный мониторинг ЛРС по исследуемым показателям, а также продолжить исследование элементного состава лекарственного растительного сырья.

ЛИТЕРАТУРА

1. Salehi B., Selamoglu Z., Sevindik M., Fahmy N. M. et al. *Achillea* spp.: A comprehensive review on its ethnobotany, phytochemistry, phytopharmacology and industrial applications. *Cellular and Molecular Biology*. 2020;66(4):78–103. DOI: 10.14715/cmb/2020.66.4.13
2. Strzpek-Gomółka M., Gawel-Beben K., Kukula-Koch W. *Achillea* Species as Sources of Active Phytochemicals for Dermatological and Cosmetic Applications. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;6643827. DOI: 10.1155/2021/6643827.
3. Каликина И. Ю., Турышев А. Ю. Исследование показателей качества сырья дикорастущих лекарственных растений Пермского края. Пермь: Сборник материалов научно-практической конференции с международным участием. *Вестник Пермской государственной фармацевтической академии*; 2021;1:102–105.
4. Васькова А. И., Куркин В. А. Разработка подходов к стандартизации травы тысячелистника обыкновенного. *Фармация*. 2022;71(4):12–18.
5. Ефремов А. А., Зыкова И. Д. Антирадикальная активность экстрактивных веществ тысячелистника обыкновенного сибирского региона. *Химия растительного сырья*. 2021;2:129–135.
6. Елисеева Т., Ткачева Н. Тысячелистник (лат. *Achillaea*). *Журнал здорового питания и диетологии*. 2018;2(4):11–22. DOI: 10.59316/vi4.17
7. Кахраманова С. Д., Боков Д. О., Гравель И. В., Самылина И. А. Элементный состав грудного сбора №1 и его компонентов. *Фармация*. 2022;71(8):21–27.
8. Марухленко А. В., Максимова Т. В., Плетенева Т. В., Морозова М. А. Разработка и валидация методики количественного определения цинка в его хелатных комплексах с использованием энергодисперсионной рентгенофлуоресцентной спектроскопии. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):154–161.

9. Макарова М. П., Сыроешкин А. В., Максимова Т. В., Матвеева И. С., Плетенева Т. В. Особенности экспресс-определения микроэлементов в лекарственных и неофициальных растениях. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(2):93–97.
10. Дьякова Н. А., Сливкин А. И., Гапонов С. П. Контроль радиационной безопасности и качества лекарственного растительного сырья Воронежской области на примере корней лопуха обыкновенного. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(1):73–77.
11. Шретер А. И. Правила сбора и сушки лекарственных растений (сборник инструкций). М.: Медицина; 1985. 328 с.
12. Власов А. С., Белоногова В. Д., Курицын А. В. Оценка экологической безопасности лекарственного растительного сырья некоторых районов пермского края. *Современные проблемы науки и образования*. 2014;5:770.
13. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 14.11.2001 № 36 (ред. от 06.07.2011) «О введении в действие Санитарных правил». (Зарегистрировано в Минюсте РФ 22.03.2002 № 3326.)
14. Титов А. Ф., Казнина Н. М., Карапетян Т. А., Доршакова Н. В. Влияние свинца на живые организмы. *Журнал общей биологии*. 2020;81(2):147–160.
15. Гурциева Д. А., Неёлова О. В. Биологическая роль магния и его соединения в медицине. *Успехи современного естествознания*. 2014;8:165–166.
16. Власов А. С. Изучение ресурсов, оценка качества сырья, фито-экологическое картографирование дикорастущих лекарственных растений Пермского края. Дис. ... канд. фарм. наук. Пермь. 2014.
17. Трисветова Е. Л. Роль цинка в жизнедеятельности человека. *Фундаментальная медицина*. 2021;9:37–42.
18. Тменова А. О., Кубалова Л. М. Биологическая роль марганца и его соединений. *Современные наукоемкие технологии*. 2014;7(2):92–92
19. Колиева Д. О., Неелова О. В. Биологическая роль железа и его обнаружение в фармацевтических препаратах. *Успехи современного естествознания*. 2011;11:100–100.

REFERENCES

1. Salehi B., Selamoglu Z., Sevindik M., Fahmy N. M. et al. *Achillea* spp.: A comprehensive review on its ethnobotany, phytochemistry, phytopharmacology and industrial applications. *Cellular and Molecular Biology*. 2020;66(4):78–103. DOI: 10.14715/cmb/2020.66.4.13
2. Strzpek-Gomółka M., Gawel-Beben K., Kukula-Koch W. *Achillea* Species as Sources of Active Phytochemicals for Dermatological and Cosmetic Applications. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;6643827. DOI: 10.1155/2021/6643827.
3. Kalikina I. Yu., Turyshev A. Yu. Research of quality indicators of raw materials of wild medicinal plants of the Perm Region. Perm: Sbornik materialov nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezh-dunarodnym uchastiem. *Vestnik Permskoy gosudarstvennoy farmatsevticheskoy akademii*. 2021;1:102–105. (In Russ.)
4. Vas'kova A. I., Kurkin V. A. Development of approaches to standardization of the herb common yarrow. *Pharmacy*. 2022;71(4):12–18. (In Russ.)
5. Efremov A. A., Zykova I. D. Antiradical activity of extractive substances of yarrow from the Siberian region. *Chemistry of plant materials*. 2021;2:129–135. (In Russ.)
6. Eliseeva T., Tkacheva N. Yarrow (*Achillaea*). *Zhurnal zdorovogo pitaniya i dietologii*. 2018;2(4):11–22. DOI: 10.59316/vi4.17. (In Russ.)
7. Kakhramanova S. D., Bokov D. O., Gravel' I. V., Samylina I. A. Elemental composition of breast collection No. 1 and its components. *Pharmacy*. 2022;71(8):21–27. (In Russ.)

8. Marukhlenko A. V., Maksimova T. V., Pleteneva T. V., Morozova M. A. Development and validation of a method for the quantitative determination of zinc in its chelate complexes using energy-dispersive X-ray fluorescence spectroscopy. *Drug development & registration*. 2021;10(4):154–161. (In Russ.)
9. Makarova M. P., Syroeshkin A. V., Maksimova T. V., Matveeva I. S., Features of express determination of microelements in medicinal and informal plants. *Drug development & registration*. 2019;8(2):93–97. (In Russ.)
10. D'yakova N. A., Slivkin A. I., Gaponov S. P. Control of radiation safety and quality of medicinal plant raw materials in the Voronezh region using the example of burdock roots. *Drug development & registration*. 2019;8(1):73–77. (In Russ.)
11. Shreter A. I. Rules for harvesting and drying medicinal plants (collection of instructions). Moscow: Meditsina, 1985. 328 p. (In Russ.)
12. Vlasov A. S., Belonogova V. D., Kuritsyn A. V. Assessment of the ecological safety of medicinal plant raw materials in some areas of the Perm Region. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2014;5:770. (In Russ.)
13. Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated November 14, 2001 No. 36 (as amended on July 6, 2011) "On the implementation of the Sanitary Rules". (Registered with the Ministry of Justice of the Russian Federation on March 22, 2002 No. 3326.) (In Russ.)
14. Titov A. F., Kaznina N. M., Karapetyan T. A., Dorshakova N. V. The effect of lead on living organisms. *Zhurnal obshchey biologii*. 2020.81(2):147–160. (In Russ.)
15. Gurcieva D. A., Nejolova O. V. The biological role of magnesium and its compounds in medicine. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya*. 2014.8:165–166 (In Russ.).
16. Study of resources, assessment of the quality of raw materials, phytoecological mapping of wild medicinal plants of the Perm region. [Dissertation.] Permian. 2014. (In Russ.)
17. Trisvetova E. L. The role of zinc in human life. *Fundamental'naja medicina*. 2021;9:37–42. (In Russ.).
18. Tmenova A. O., Kubalova L. M. The biological role of manganese and its compounds. *Sovremennye naukoemkie tehnologii*. 2014;7(2):92–92. (In Russ.)
19. Koliyeva D. O., Neelova O. V. The biological role of iron and its detection in pharmaceutical preparations. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya*. 2011;11:100–100. (In Russ.)

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1601](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1601)
УДК 547.854.1



Оригинальная статья / Research article

Оценка антигипоксической активности S-аналогов дигидропиримидин-2-онов и их конденсированных производных

Н. А. Бузмакова¹✉, Т. М. Замараева¹, Д. Ю. Ивкин², Д. Ю. Апушкин³,
Н. В. Слепова¹, Н. В. Дозморова¹

¹ 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

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России), 197022, Россия, г. Санкт-Петербург ул. Профессора Попова, д. 4, лит. А

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» (ПГНИУ), 614068, Россия, г. Пермь, ул. Букирева, д. 15

✉ Контактное лицо: Бузмакова Надежда Альбертовна. E-mail: ledysummer@mail.ru

ORCID: Н. А. Бузмакова – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>; Т. М. Замараева – <https://orcid.org/0000-0002-9932-9628>;

Д. Ю. Ивкин – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>; Д. Ю. Апушкин – <https://orcid.org/0000-0003-4459-5264>;

Н. В. Слепова – <https://orcid.org/0000-0003-3924-3715>; Н. В. Дозморова – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>.

Статья поступила: 06.10.2023

Статья принята в печать: 15.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Антиоксидантная активность, мембраностабилизирующее и цитопротективное действие производных пиримидина широко описано в различных литературных источниках. Одним из значимых механизмов действия антиоксидантов является их антигипоксическая активность – способность повышать устойчивость тканей к гипоксии. Поиск лекарственных средств для повышения резистентности организма в условиях гипоксии является актуальной задачей экспериментальной и клинической фармакологии.

Цель. Изучение антигипоксической активности новых S-аналогов дигидропиримидин-2-онов и их конденсированных производных на различных моделях гипоксии.

Материалы и методы. Объекты исследования – 13 соединений S-аналогов дигидропиримидин-2-онов и их конденсированных производных, строение которых подтверждено спектральными методами анализа. Оценку антигипоксической активности проводили рекомендованными методами по доклиническому изучению новых фармакологических веществ.

Результаты и обсуждение. В данной работе приведены результаты испытаний полученных соединений на трех моделях гипоксии. На модели острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией более подробно изучена активность ряда конденсированных трициклических производных дигидропиримидин-2-тионов.

Заключение. Соединения не продемонстрировали высокой антигипоксической активности, выявлены некоторые закономерности «строение-свойство».

Ключевые слова: реакция Биджинелли, антигипоксическая активность, острая нормобарическая гипоксия с гиперкапнией, дигидропиримидин-2-тионы

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

Вклад авторов. Н. А. Бузмакова, Т. М. Замараева, Н. В. Слепова, Н. В. Дозморова осуществили синтез соединений и доказали строение. Д. Ю. Ивкин и Д. Ю. Апушкин провели исследования биологической активности соединений. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Бузмакова Н. А., Замараева Т. М., Ивкин Д. Ю., Апушкин Д. Ю., Слепова Н. В., Дозморова Н. В. Оценка антигипоксической активности S-аналогов дигидропиримидин-2-онов и их конденсированных производных. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):112–118. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1601](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1601)

Assessment of Antihypoxic Activity of S-analogues of Dihydropyrimidin-2-ones and Their Condensed Derivatives

Nadezhda A. Buzmakova¹✉, Tatiana M. Zamaraeva¹, Dmitriy Yu. Ivkin²,
Danil Yu. Apushkin³, Nadezhda V. Slepova¹, Natalia V. Dozmorova¹

¹ 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

² Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

³ Perm State National Research University (PSNIU). 15, Bukireva str., Perm, 614068, Russia

✉ Corresponding author: Nadezhda A. Buzmakova. E-mail: ledysummer@mail.ru

ORCID: Nadezhda A. Buzmakova – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>; Tatiana M. Zamaraeva – <https://orcid.org/0000-0002-9932-9628>;

Dmitriy Yu. Ivkin – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>; Danil Yu. Apushkin – <https://orcid.org/0000-0003-4459-5264>;

Nadezhda V. Slepova – <https://orcid.org/0000-0003-3924-3715>; Natalia V. Dozmorova – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>.

Received: 06.10.2023

Revised: 15.12.2023

Published: 27.12.2023

© Бузмакова Н. А., Замараева Т. М., Ивкин Д. Ю., Апушкин Д. Ю., Слепова Н. В., Дозморова Н. В., 2023

© Buzmakova N. A., Zamaraeva T. M., Ivkin D. Yu., Apushkin D. Yu., Slepova N. V., Dozmorova N. V., 2023

Abstract

Introduction. Antioxydant activity, membrane stabilizing and cytoprotective effect of dihydropyrimidin analogs are widely described in various literary sources. One of the important mechanisms of action of antioxidants is their antihypoxic activity. It is the ability to increase tissue resistance to hypoxia. The search for drugs to increase the body's resistance under hypoxic conditions is an actual task in experimental and clinical pharmacology.

Aim. Study of the antihypoxic activity of new *S*-analogs of dihydropyrimidin-2-ones and their condensed derivatives in various models of hypoxia.

Materials and methods. 13 compounds *S*-analogs of dihydropyrimidin-2-ones and their condensed derivatives are objects of research. Their structure has been confirmed by spectroscopy methods. The antihypoxic activity was carried out by recommended methods for preclinical study of new pharmacological substances.

Results and discussion. This paper presents the results of testing the obtained compounds of different structures on three models of hypoxia. The activity of a number of condensed tricyclic derivatives of dihydropyrimidine-2-thiones was studied in more detail using a model of acute normobaric hypoxia with hypercapnia.

Conclusion. The compounds did not demonstrate high antihypoxic activity; some «structure-property» patterns were revealed.

Keywords: Biginelly reaction, antihypoxic activity, acute normobaric hypoxia with hypercapnia, dihydropyrimidine-2-thiones

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. Nadezhda A. Buzmakova, Tatiana M. Zamaraeva, Nadezhda V. Slepova, Natalia V. Dozmorova carried out the synthesis of the substances, Dmitriy Yu. Ivkin and Danil Yu. Apushkin conducted studies of the biological activity of compounds. All authors participated in the discussion of the results and writing the text of the article.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Buzmakova N. A., Zamaraeva T. M., Ivkin D. Yu., Apushkin D. Yu., Slepova N. V., Dozmorova N. V. Assessment of antihypoxic activity of *S*-analogs of dihydropyrimidin-2-ones and their condensed derivatives. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):112–118. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1601](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1601)

ВВЕДЕНИЕ

Одним из значимых механизмов действия антиоксидантов является их антигипоксическая активность – способность повышать устойчивость тканей к гипоксии [1–7]. Существует 3 основных модели гипоксии, которые были использованы в исследовании.

Гемическая гипоксия (ОГемГ) – снижение содержания кислорода в артериальной крови либо из-за уменьшения ее кислородной емкости, либо из-за снижения кислородсвязывающих свойств гемоглобина.

Гистотоксическая гипоксия (ОГтГ) связана с блокировкой работы цитохромового каскада переноса электронов цианидами или иными токсикантами.

Нормобарическая гипоксия с гиперкапнией (ОНГГ) связана как со снижением содержания кислорода в рециркулирующей воздушной смеси из-за его поглощения при дыхании, так и повышением парциального давления углекислого газа за счет выдыхаемого воздуха.

На данных моделях гипоксии было проведено исследование 13 соединений.

Целью работы является изучение антигипоксических свойств на известных моделях гипоксии у производных дигидропиримидин-2-тиона, выявление закономерностей «строение-свойства».

Соединения I и II были получены по описанной ранее методике, взаимодействием замещенных амидов ацетилюксусной кислоты, арилальдегидов, и тиомочевин [8, 9].

Соединения (I, II) представляют собой белые кристаллические вещества, растворимые в хлороформе, ДМФА, ДМСО, при нагревании – в этаноле, ледяной уксусной кислоте, практически нерастворимы в воде. В ИК и ЯМР ^1H спектрах количество и характер сигналов соответствует структуре полученных тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов [8].

Соединения III и IV получены взаимодействием замещенных амидов ацетилюксусной кислоты, салицилового альдегида, тиомочевин (фенилтиомочевин) в присутствии натрия гидросульфата. Для реакции использовали соотношение компонентов 1:1:1,5:1 [10].

Полученные соединения (III, IV) представляют собой светло-желтые кристаллические вещества, растворимые в ДМФА, ДМСО, уксусной кислоте, ацетоне, практически нерастворимы в воде.

В ИК-, ЯМР ^1H и ^{13}C спектрах полученных соединений количество и характер сигналов соответствует предложенной структуре [10].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ИК-спектры соединений записывали на спектрофотометре Specord M-80 в таблетках KBr. Спектры ЯМР ^1H регистрировали на приборе Bruker 500 (рабочая частота 500,13 МГц) в растворе ДМСО- d_6 , внутренний стандарт – ТМС.

Все исследовательские работы с лабораторными животными выполняли в соответствии с общеприня-

тыми этическими нормами обращения с животными, на основе стандартных операционных процедур, принятых в организации, производящей исследования, которые соответствуют правилам, принятым Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей¹.

Лабораторные животные (мыши) содержались в период адаптации и эксперимента по 10 особей в прозрачных поликарбонатных клетках для грызунов с подстилом. Клетки были оборудованы стальными решетками с кормовым углублением, крышками, оснащенными специальными фильтрами, стальными разделителями для корма и стальными держателями этикеток. В качестве подстила использовался подстилочный материал из осины TAPVEI® (Эстония). Замена клеток и подстила производилась 1 раз в неделю. Животные получали стандартный гранулированный «Полнорационный экструдированный комбикорм ЛБК-120 для лабораторных животных (крыс, мышей)», производства ЗАО «Тосненский комбикормовый завод», Россия.

Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды при температуре 20–26 °C и относительной влажности 30–70 %. Температура и влажность постоянно контролировались с помощью термогигрометров Testo 608 – H1.

После адаптации каждому отобранному в исследование животному была присвоена индивидуальная метка. Метка наносилась специальным нетоксичным маркером на шерсть животного.

Для проведения исследования использовались белые лабораторные нелинейные мыши самки. Испытуемые образцы вводили внутривентрально в виде суспензий в воде очищенной однократно за 60 минут до начала моделирования гипоксии. Животные контрольной группы получали воду очищенную в эквивалентных количествах. Препараты сравнения – этилметилгидроксипиридина сукцинат (ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия) в дозе 100 мг/кг и янтарная кислота (ОАО «Марбиофарм», Россия) в аналогичной дозе. В исследовании использовали одну дозу испытуемых соединений, равную 10 мг/кг. Антигипоксическую активность оценивали в соответствии с «Методическими рекомендациями по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств»².

Для создания модели острой гемической гипоксии животным вводили внутривентрально натрия нитрит (300 мг/кг), предварительно растворяемый в во-

де для инъекций, а затем фиксировали продолжительность жизни мышей в секундах³.

Острую гистотоксическую гипоксию моделировали путем внутривентрального введения мышам 0,4 % водного раствора натрия нитропруссид (20 мг/кг), который является ингибитором тканевого дыхания. Затем регистрировали продолжительность жизни животных в минутах, которые переводили для расчетов в секунды.

В модели острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией животных помещали поодиночке в герметически закрываемые банки объемом 200 см³. Фиксировали продолжительность жизни животных в минутах, которые переводили для расчетов в секунды⁴.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты приведены в таблицах 1 и 2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении эксперимента не обнаружено достоверных отличий ($p > 0,05$) от контроля и препарата сравнения при применении испытуемых веществ.

Как видно из результатов исследования эффекты исследуемых образцов были значительно меньшими, чем таковые у препарата сравнения – этилметилгидроксипиридина сукцинат на модели гемической и гистотоксической гипоксии. В случае острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией наиболее выраженным антигипоксическим эффектом обладало соединение структуры IV, однако, уступая препарату сравнения.

В продолжение начатых исследований осуществлена оценка антигипоксической активности соединений ряда IV на модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией.

Как видно из данных, приведенных в таблице, выбранные соединения не показали высокой антигипоксической активности, достоверное увеличение продолжительности жизни по сравнению с контролем оказали соединения IV д, IV и. Вероятно, на проявление антигипоксической активности оказывает влияние одновременного присутствия N-фенильного заместителя в структуре исследуемых конденсированных соединений и метильных групп в остатке ацила ацетилуксусной кислоты.

³ Миронов А. Н., Бунатян Н. Д. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.

⁴ Хабриев Р. У., ред. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ : учеб. пособие для системы послевуз. проф. образования врачей. Федер. служба по надзору в сфере здравоохранения и соц. развития Федер. гос. учреждение Науч. центр экспертизы средств мед. применения. М.: Изд-во Медицина; 2005. 826 с

¹ Правила надлежащей лабораторной практики: приказ М-ва здравоохранения Рос. Федерации № 199н от 1 апреля 2016 г.

² Лукьянова Л. Д. Методические рекомендации по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств. М.; 1990. 18 с.

Таблица 1. Антигипоксическая активность исследуемых соединений

Table 1. Antihypoxic activity of the studied compounds

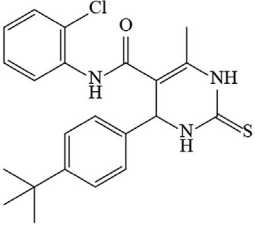
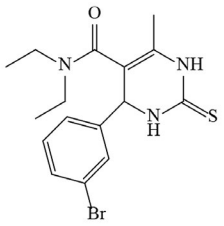
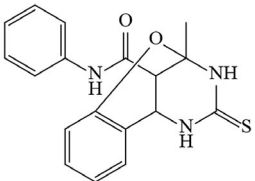
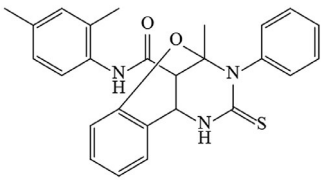
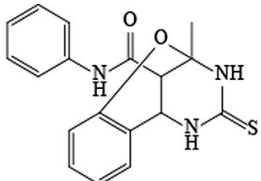
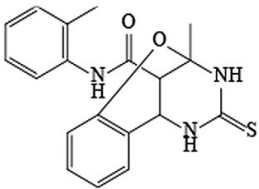
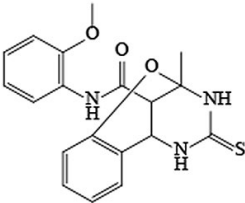
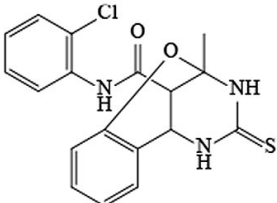
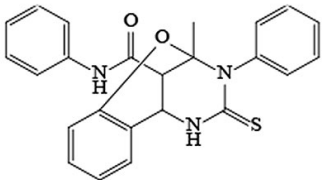
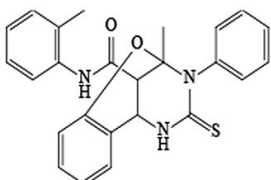
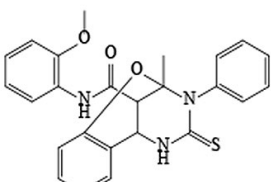
Соединение Compound	Формула Formula	ОГемГ Время жизни, с. М ± SD OGemG Lifetime, s. M ± SD	ОГтГ Время жизни, с. М ± SD OGtG Lifetime, s. M ± SD	ОНГГ Время жизни, с. М ± SD ONGG Lifetime, s. M ± SD
1	2	3	4	5
I		621,9 ± 158,1	548,9 ± 110,6	1928,7 ± 296,7
II		611,7 ± 151,3	494,9 ± 125,1	2178,9 ± 817,4
III		595,9 ± 48,4	482,6 ± 87,1	1711,8 ± 305,4
IV		600,0 ± 109,2	406,8 ± 126,3	2465,6 ± 649,4
Контроль Control		601,7 ± 113,5	433,6 ± 141,0	2085,3 ± 412,3
Этилметилгидроксипиридина сукцинат Ethylmethylhydroxypyridine succinate		671,6 ± 121,5	635,3 ± 131,1	3382,2 ± 647,3

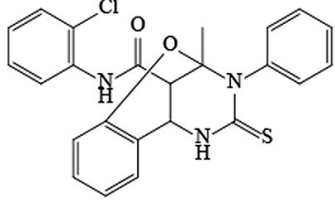
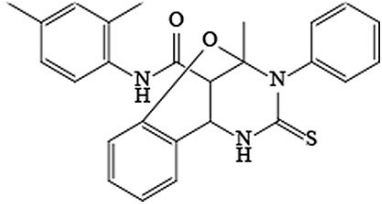
Таблица 2. Влияние однократного внутрижелудочного введения испытуемых веществ на длительность жизни мышей при ОНГГ

Table 2. Effect of a single intragastric administration of test substances on the lifespan of mice with ONHG

№ соединения Connection No.	Структурная формула Structural formula	Время жизни, с. М ± SD Lifetime, s. M ± SD	% изменения продолжительности жизни % change in life expectancy
1	2	3	4
IV a		1290 ± 80,4 $p > 0,5$	-4,44

№ соединения Connection No.	Структурная формула Structural formula	Время жизни, с. M ± SD Lifetime, s. M ± SD	% изменения продолжительности жизни % change in life expectancy
1	2	3	4
IV б		1248 ± 149,2 $p > 0,5$	-7,56
IV в		1092 ± 68,4 $p < 0,1$	-19,11
IV г		1068 ± 70,2 $p < 0,1$	-20,89
IV д		1830 ± 69,1 $p < 0,05$	35,56
IV е		1608 ± 100,8 $p < 0,1$	19,11
IV ж		1578 ± 170,4 $p < 0,1$	16,89

Окончание таблицы 2

№ соединения Connection No.	Структурная формула Structural formula	Время жизни, с. M ± SD Lifetime, s. M ± SD	% изменения продолжительности жизни % change in life expectancy
1	2	3	4
IV з		1410 ± 135,6 $p > 0,5$	4,44
IV и		2450 ± 649,4 $p < 0,05$	81,48
Контроль Control		1350 ± 123,6	–
Янтарная кислота Succinic acid		2046 ± 152,8	51,56

Примечание. p – достоверность по отношению к контролю.

Note. p – reliability in relation to control.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования не позволили выявить соединения с высокой антигипоксантами активностью. Однако, обнаруженные закономерности «структура-активность» могут быть использованы для дальнейшего дизайна антигипоксантами среди представителей дигидропиримидин-2-тионов.

ЛИТЕРАТУРА

- Khasimbi S., Ali F., Manda K., Sharma G., Wakode S. Dihydropyrimidinones Scaffold as a Promising Nucleus for Synthetic Profile and Various Therapeutic Targets: A Review. *Curr. Org. Synth.* 2021;18(3):270–293. DOI: 10.2174/1570179417666201207215710.
- Zarren G., Shafiq N., Arshad U., Rafiq N., Parveen S., Ahmad Z. Copper-catalyzed one-pot relay synthesis of anthraquinone based pyrimidine derivative as a probe for antioxidant and antidiabetic activity. *J. Mol. Struct.* 2021;1227:296681–14. DOI: 10.1016/j.molstruc.2020.129668.
- Padmavathy K., Sutha P., Krishnan K. G., Kumar C. U., Iniyaval S., Ramalingam C. Synthesis and Antioxidant Evaluation of Dihydropyrimidinone Integrated Pyrazoles. *Letters in Organic Chemistry.* 2019;16(12):969–977. DOI: 10.2174/1570178616666190305125745.
- Khalidi-Khellafi N., Makhoulfi-Chebli M., Oukacha-Hikem D., Bouaziz S. T., Lamara K. O., Idir T., Benazzouz-Touami A., Dumas F. Green synthesis, Antioxidant and antibacterial activities of 4-aryl-3,4-dihydropyrimidinones/thiones derivatives of curcumin. Theoretical calculations and mechanism study. *J. of Mol. Struct.* 2019;1181:261–269. DOI: 10.1016/j.molstruc.2018.12.104.
- Kundu D., Dubey V.K. Purines and Pyrimidines: Metabolism, Function and Potential as Therapeutic Options in Neurodegenerative Diseases. *Curr Protein Pept Sci.* 2021;22(2):170–189. DOI: 10.2174/1389203721999201208200605.
- Dudhe A. C., Duhde R., Porwal O., Katole G. An Overview of Synthesis and Biological Activity of Dihydropyrimidine Derivatives. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.* 2022;22(5):701–728. DOI: 10.2174/1389557521666210920120457.
- Зыкова С. С., Намятова К. В., Ганькова К. Л., Лысцова Е. А., Шаврина Т. В., Шуров С. Н. Антигипоксическая активность 2,5-диарил-8,8-диметил-3,6,7,8-тетрагидро-2Н-пиридо[4,3,2-de]хинолин-3-онов. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2022;11(4–1):22–26. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-22-26.
- Бузмакова Н. А., Рудакова И. П., Замараева Т. М. Синтез и противовоспалительная активность N,6-диарил-4-метил-2-тиоксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов. *Хим.-фарм. журнал.* 2021;55(8):21–24. DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-8-21-24.
- Бузмакова Н. А., Рудакова И. П., Замараева Т. М., Дозморова Н. В., Слепова Н. В. Синтез и оценка нестероидной противовоспалительной активности N,6-диарил-4-метил-2-тиоксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2022;11(4):32–36. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-38-42.
- Бузмакова Н. А., Замараева Т. М., Рудакова И. П., Дмитриев М. В. Изучение структурных особенностей и противовоспалительной активности 13-(N-ариламинокарбонил)-9-метил-11-тиоксо-8-окса-10,12-дизатрицикло[7.3.1.0^{2,7}]тридека-2,4,6-триенов и их 10-N-фенилпроизводных. *Хим.-фарм. журнал.* 2022;56(12):44–46. DOI: 10.30906/0023-1134-2022-56-12-44-46.

REFERENCES

1. Khasimbi S., Ali F., Manda K., Sharma G., Wakode S. Dihydropyrimidinones Scaffold as a Promising Nucleus for Synthetic Profile and Various Therapeutic Targets: A Review. *Curr. Org. Synth.* 2021;18(3):270–293. DOI 10.2174/1570179417666201207215710.
2. Zarren G., Shafiq N., Arshad U., Rafiq N., Parveen S., Ahmad Z. Copper-catalyzed one-pot relay synthesis of anthraquinone based pyrimidine derivative as a probe for antioxidant and antidiabetic activity. *J. Mol. Struct.* 2021;1227:296681–14. DOI: 10.1016/j.molstruc.2020.129668.
3. Padmavathy K., Sutha P., Krishnan K. G., Kumar C. U., Iniyaval S., Ramalingam C. Synthesis and Antioxidant Evaluation of Dihydropyrimidinone Integrated Pyrazoles. *Letters in Organic Chemistry.* 2019;16(12):969–977. DOI: 10.2174/1570178616666190305125745.
4. Khaldi-Khellafi N., Makhoulfi-Chebli M., Oukacha-Hikem D., Bouaziz S. T., Lamara K. O., Idir T., Benazzouz-Touami A., Dumas F. Green synthesis, Antioxidant and antibacterial activities of 4-aryl-3,4-dihydropyrimidinones/thiones derivatives of curcumin. Theoretical calculations and mechanism study. *J. of Mol. Struct.* 2019;1181:261–269. DOI: 10.1016/j.molstruc.2018.12.104.
5. Kundu D., Dubey V. K. Purines and Pyrimidines: Metabolism, Function and Potential as Therapeutic Options in Neurodegenerative Diseases. *Curr Protein Pept Sci.* 2021;22(2):170–189. DOI: 10.2174/1389203721999201208200605.
6. Dudhe A. C., Duhde R., Porwal O., Katole G. An Overview of Synthesis and Biological Activity of Dihydropyrimidine Derivatives. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.* 2022;22(5):701–728. DOI: 10.2174/1389557521666210920120457.
7. Zykova S. S., Namyatova K. V., Gankova K. L., Lystsova E. A., Shavrina T. V., Shurov S. N. Antihypoxic Activity of 2,5-diaryl-8,8-dimethyl-3,6,7,8-tetrahydro-2H-pyrido[4,3,2-de]quinnolin-3-ones. *Drug development & registration.* 2022;11(4):22–26. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-22-26.
8. Buzmakova N. A., Rudakova I. P., Zamaraeva T. M. Synthesis and anti-inflammatory activity of N,6-diaryl-4-methyl-2-thioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-5-carboxamides. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2021;55(8):21–24. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-8-21-24.
9. Buzmakova N. A., Rudakova I. P., Zamaraeva T. M., Dozmorova N. V., Slepova N. V. The Synthesis and Evaluation of Non-steroidal Antiinflammatory Activity of N,6-diaryl-4-methyl-2-thioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-5-carboxamides. *Drug development & registration.* 2022;11(4):38–42. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-38-42.
10. Buzmakova N. A., Zamaraeva T. M., Rudakova I. P., Dmitriev M. V. Study of structural features and anti-inflammatory activity of 13-(N-arylamino-carbonyl)-9-methyl-11-tyoxo-8-oxy-10,12-diazathrycyclo[7.3.1.0^{2,7}]thrydeca-2,4,6-thryenes and their 10-N-phenyl derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2022;56(12):44–46. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2022-56-12-44-46.

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1619](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1619)
УДК 615.21



Оригинальная статья / Research article

Изучение биологической активности экстракта марьянника лесного (*Melampyrum sylvaticum* L.)

Е. Е. Галишевская✉, Е. Н. Полякова, Т. В. Бомбела, А. В. Агафонцева,
А. Г. Анисимова, О. А. Кроткова, Т. А. Ягонцева, В. Г. Лужанин, Е. Р. Курбатов

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: Галишевская Елена Евгеньевна. E-mail: galishevskajaee@pfa.ru

ORCID: Е. Е. Галишевская – <https://orcid.org/0000-0001-9388-333X>; Е. Н. Полякова – <https://orcid.org/0009-0002-1361-6464>;
Т. В. Бомбела – <https://orcid.org/0000-0003-0414-0783>; А. В. Агафонцева – <https://orcid.org/0000-0002-2586-1507>;
А. Г. Анисимова – <https://orcid.org/0000-0002-0555-6804>; О. А. Кроткова – <https://orcid.org/0000-0001-8724-2149>;
Т. А. Ягонцева – <https://orcid.org/0000-0002-0797-8314>; В. Г. Лужанин – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>;
Е. Р. Курбатов – <https://orcid.org/0000-0001-6426-7976>.

Статья поступила: 20.10.2023

Статья принята в печать: 19.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Среди дикорастущих растений, оказывающих влияние на нервную систему, выделяют виды рода марьянник (*Melampyrum* L.), в частности, марьянник лесной – *Melampyrum sylvaticum* L. Извлечения из надземной части растения издавна применяются в народной медицине как седативные и противосудорожные средства. В настоящее время проводится ряд исследований для подтверждения возможности использования марьянника лесного и препаратов на его основе в научной медицине, а также с целью получения лекарственного средства, обладающего низкой токсичностью, комплексной седативной и противосудорожной активностью, что позволит расширить арсенал средств, используемых для лечения заболеваний нервной системы.

Цель. Исследовать *in vivo* острую токсичность, противосудорожную и седативную активность марьянника лесного травы экстракта сухого. **Материалы и методы.** Экстракт получали путем экстрагирования веществ из травы марьянника лесного 50%-м этанолом, методом реперколяции с равной загрузкой сырья, с последующим упариванием до сухого остатка. Исследование фармакологических свойств проводили на нелинейных белых мышах обоего пола массой 17–25 г. Острую токсичность экстракта определяли при пероральном введении в дозах до 5000 мг/кг. Противосудорожную активность оценивали в тесте «коразоловые» судороги, седативную активность – в тесте «открытое поле».

Результаты и обсуждение. При определении острой токсичности экстракта сухого травы марьянника лесного летальность в экспериментальной группе животных отсутствовала, ЛД₅₀ выявить не удалось. В тесте «коразоловые» судороги было показано, что пероральное введение экстракта в дозе 100 мг/кг не влияет на латентный период судорог, но достоверно увеличивает продолжительность жизни животных. В дозе 200 мг/кг существенно увеличивался латентный период судорог и продолжительность жизни, а выживаемость животных составила 20 %. При исследовании седативной активности экстракта в тесте «открытое поле» у животных отмечено снижение вертикальной активности, уменьшение числа «вертикальных стоек», снижение горизонтальной активности по периферии и количества выходов животных в центр площадки, что говорит об угнетении ориентировочно-исследовательского поведения. Под воздействием экстракта происходило снижение интенсивности груминга, как показателя тревожности для данной группы животных. Курсовое введение экстракта в течение тридцати дней приводило к снижению вертикальной активности мышей и угнетению ориентировочно-исследовательского поведения.

Заключение. Марьянника лесного травы экстракт сухой проявляет биологическую активность в опытах на мышах, компенсируя действие коразола, обладает выраженным противосудорожным и седативным действием. ЛД₅₀ экстракта при пероральном введении составила более 5000 мг/кг.

Ключевые слова: марьянник лесной, *Melampyrum sylvaticum*, экстракт сухой, биологическая активность

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

Вклад авторов. Е. Е. Галишевская, Е. Н. Полякова, Т. В. Бомбела, А. В. Агафонцева, А. Г. Анисимова, О. А. Кроткова, Т. А. Ягонцева, В. Г. Лужанин, Е. Р. Курбатов выполняли экспериментальную часть и интерпретировали результаты. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Галишевская Е. Е., Полякова Е. Н., Бомбела Т. В., Агафонцева А. В., Анисимова А. Г., Кроткова О. А., Ягонцева Т. А., Лужанин В. Г., Курбатов Е. Р. Изучение биологической активности экстракта марьянника лесного (*Melampyrum sylvaticum* L.). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2023;12(4–1):119–127. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1619](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1619)

© Галишевская Е. Е., Полякова Е. Н., Бомбела Т. В., Агафонцева А. В., Анисимова А. Г., Кроткова О. А., Ягонцева Т. А., Лужанин В. Г., Курбатов Е. Р., 2023

© Galishevskaya E. E., Polyakova E. N., Bombela T. V., Agafontseva A. V., Anisimova A. G., Krotkova O. A., Yagontseva T. A., Luzhanin V. G., Kurbatov E. R., 2023

Biological Activity study of the *Melampyrum sylvaticum* Extract

Elena E. Galishevskaya✉, Evgeniya N. Polyakova, Tatyana V. Bombela,
Anastasiia V. Agafontseva, Alevtina G. Anisimova, Olga A. Krotkova,
Tatiana A. Yagontseva, Vladimir G. Luzhanin, Evgeny R. Kurbatov

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: Elena E. Galishevskaya. E-mail: galishevskaaee@pfa.ru

ORCID: Elena E. Galishevskaya – <https://orcid.org/0000-0001-9388-333X>; Evgeniya N. Polyakova – <https://orcid.org/0009-0002-1361-6464>;
Tatyana V. Bombela – <https://orcid.org/0000-0003-0414-0783>; Anastasiia V. Agafontseva – <https://orcid.org/0000-0002-2586-1507>;
Alevtina G. Anisimova – <https://orcid.org/0000-0002-0555-6804>; Olga A. Krotkova – <https://orcid.org/0000-0001-8724-2149>;
Tatiana A. Yagontseva – <https://orcid.org/0000-0002-0797-8314>; Vladimir G. Luzhanin – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>;
Evgeny R. Kurbatov – <https://orcid.org/0000-0001-6426-7976>.

Received: 20.10.2023

Revised: 19.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Among wild plants that have an effect on the nervous system, species of the genus *Melampyrum* L. are distinguished, in particular, *Melampyrum sylvaticum* L. Extracts from the aerial part of the plant have long been used in folk medicine as sedatives and anticonvulsants. Currently, a number of studies are being carried out to confirm the possibility of using wildflower and drugs based on it in scientific medicine, as well as to obtain a drug with low toxicity, complex sedative and anticonvulsant activity, which will expand the arsenal of drugs used to treat diseases of the nervous system.

Aim. To investigate the *in vivo* acute toxicity, anticonvulsant and sedative activity of a dry alcohol extract from the aerial part of *Melampyrum sylvaticum*.

Materials and methods. The extract was obtained by extracting substances from the aerial part of *Melampyrum sylvaticum* with 50 % ethanol, by the method of repercolation with an equal loading of raw materials, followed by evaporation to a dry residue. The study of pharmacological properties was carried out on nonlinear white mice of both sexes weighing 17–25 g. Acute toxicity of the extract was determined by oral administration in doses up to 5000 mg/kg. Anticonvulsant activity was evaluated in the corazole convulsion test, sedative activity was evaluated in the open field test.

Results and discussion. When determining the acute toxicity of a dry alcoholic extract from the aerial part of *Melampyrum sylvaticum*, there was no lethality in the experimental group of animals. LD₅₀ could not be determined. In the corazol convulsion test, it was shown that oral administration of the extract at a dose of 100 mg/kg does not affect the latent period of convulsions, but significantly increases the life expectancy of animals. At a dose of 200 mg/kg, the latent period of seizures and life expectancy significantly increased, and the survival rate of animals was 20 %. When studying sedative activity of the extract from *Melampyrum sylvaticum* in the open field test, a decrease in vertical activity, a decrease in the number of vertical stands, a decrease in horizontal activity along the periphery and the number of animals entering the center of the area were noted, which indicates a suppression of orienting-exploratory behavior. In the experiment, there was a decrease in the intensity of grooming as an indicator of anxiety for this group of animals. A course of administration of the extract for thirty days led to a decrease in the vertical activity of mice and inhibition of orienting-exploratory behavior.

Conclusion. It was found that a dry alcoholic extract from the aerial part of *Melampyrum sylvaticum* exhibits biological activity in animal experiments, compensating for the effect of corazol, and has a pronounced anticonvulsant and sedative effect. The LD₅₀ of the extract when administered orally was more than 5000 mg/kg.

Keywords: *Melampyrum sylvaticum*, dry extract, biological 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 E. Galishevskaya, Evgeniya N. Polyakova, Tatyana V. Bombela, Anastasiia V. Agafontseva, Alevtina G. Anisimova, Olga A. Krotkova, Tatiana A. Yagontseva, Vladimir G. Luzhanin and Evgeny R. Kurbatov performed the experimental part and interpreted the results. All the authors participated in the discussion of the results.

Funding. This work was financially supported by the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Galishevskaya E. E., Polyakova E. N., Bombela T. V., Agafontseva A. V., Anisimova A. G., Krotkova O. A., Yagontseva T. A., Luzhanin V. G., Kurbatov E. R. Biological activity study of the *Melampyrum sylvaticum* extract. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):119–127. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1619](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1619)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной проблемой современной фармацевтической науки является поиск новых эффективных препаратов, обладающих способностью устранять тревогу, страх, беспокойство, напряжение, повышен-

ную раздражительность, бессонницу и другие проявления широко распространенных заболеваний нервной системы. В комплексной терапии невротических, неврозоподобных, психопатических состояний, вегетативных дисфункций, а также различных судорожных состояний необходимы лекарственные

средства, обладающие такими видами действия как нейромодуляторное, противосудорожное, седативное [1]. Лекарственные средства растительного происхождения, содержащие комплекс биологически активных веществ, имеют достаточно высокую терапевтическую широту, поэтому комплексное изучение биологической активности растительных экстрактов является актуальным.

Среди растительных объектов, эффективность которых доказана при лечении заболеваний нервной системы, возможно выделить виды родов *Valeriana* [2], *Passiflora* [3, 4], *Melissa* [5] и многих других.

Растения рода марьянник – *Melampyrum* L. широко распространены на территории Европы и встречаются от Исландии и Скандинавии до европейской части России [6, 7]. Широко изучен фитохимический состав фенольных соединений марьянника лугового – *Melampyrum pratense* L. (*M. pratense*) и марьянника лесного – *Melampyrum sylvaticum* L. (*M. sylvaticum*) [8, 9].

В ряде исследований у экстрактов, полученных из растений рода марьянник, выявлена антиоксидантная, антимикробная [10], цитотоксическая [11] активность. В последние годы биологическая активность индивидуальных веществ, выделенных из видов рода марьянник, изучается с целью создания потенциальных лекарственных средств для лечения трипаномоза [12], лейшманиоза [13, 14], а также оказывающих противовоспалительное действие [15].

На сегодняшний день научные исследования, связанные с изучением влияния растений рода марьянник на нервную систему, немногочисленны, например, в *in vitro* исследовании показано уменьшение спонтанной активности нейронов на фоне воздействия на культуру клеток водного экстракта марьянника и отдельных флавоноидов, входящих в состав экстракта [16].

Целью данной работы является *in vivo* исследование острой токсичности, противосудорожной и седативной активности сухого спиртового экстракта из травы марьянника лесного (*Melampyrum sylvaticum* L.).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экстракт получали путем экстрагирования растительного сырья – травы марьянника лесного 50%-м этанолом, методом реперколяции с равной загрузкой сырья, с законченным циклом в батарее из четырех перколяторов в соотношении сырье:экстракт – 1:2, при настаивании на каждой ступени экстракции в течение шести часов, объединенные извлечения отстаивали, фильтровали, декантировали, упаривали до сухого остатка в ротационном вакуумном испарителе. Марьянника лесного травы экстракт сухой представляет собой гигроскопичный порошок темно-коричневого цвета, растворимый в воде. Запах слабый специфический, вкус горький.

Фармакологические свойства изучали на нелинейных белых мышах обоего пола массой 17–25 г. Опыты на животных выполнены в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 года). Животные содержались на стандартном пищевом рационе вивария в контролируемых условиях окружающей среды при температуре воздуха +18–26 °C, влажности не более 50 %, объеме воздухообмена (вытяжка-приток) 8:10. В комнате поддерживался 12-часовой цикл освещения. Животные находились в стандартных пластиковых клетках, в качестве подстилки использовалась резаная автоклавированная бумага. Регулярно проводилась рутинная проверка подстилки на микробиологические загрязнения. Животные адаптировались в лаборатории в течение 10 дней до начала введения исследуемых веществ.

Фармакологические исследования проводили в соответствии с Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств¹.

Острую токсичность экстракта определяли при пероральном введении. Экстракт вводили в дозах до 5000 мг/кг и проверяли на группе из шести животных. После введения в течение двух недель наблюдали за двигательной активностью и поведенческими реакциями животных.

Для изучения противосудорожного действия использовали тест «Коразоловые судороги». Судороги вызывали внутрибрюшинным введением коразола в дозе 120 мг/кг в виде 1%-го водного раствора. От данной дозы у всех животных возникают тонико-клонические судороги с латентным временем (0,80 ± 0,02) мин и смерть 100 % животных в фазу тонической экстензии. Экстракт вводили перорально в виде водного раствора за 30 мин до инъекции коразола. О противосудорожном действии судили по предупреждению тонической фазы судорог. Оценивали латентный период, продолжительность жизни, выживаемость животных.

Седативную активность оценивали в тесте «открытое поле». Эксперименты выполнены в два этапа (однократное и курсовое применение препарата) в двух группах из 40 нелинейных мышей обоего пола массой 20–25 г. Животные распределялись по группам рандомизированно. В качестве критерия принималась масса тела таким образом, чтобы ее индивидуальное значение не отклонялось от среднего значения в пределах одного пола более, чем на 10 %. За пять дней до начала каждого этапа эксперимента регистрировали исходные характеристики поведения мышей.

В первой группе измерение поведенческих показателей проводили до начала эксперимента (конт-

¹ Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.

роль), и через 30 минут после введения экстракта. Во второй группе животные были разделены на 4 подгруппы. Измерение поведенческих показателей в каждой из четырех подгрупп проводили до начала эксперимента (контроль), и далее через 10, 20 и 30 суток после введения экстракта. Исследование проводили в специальной камере диаметром 34 см и высотой 17 см, дно которой разбитой на окружности и сектора площадью 9 см².

Экстракт вводили перорально в виде водного раствора в дозе 200 мг/кг. В качестве контроля животным вводили изотонический раствор натрия хлорида в дозе 1 мл/кг. Экстракт и изотонический раствор натрия хлорида вводили ежедневно в одно и то же время утром в течение 30 дней.

Оценивали влияние экстракта на горизонтальную активность (число выходов животного в центр площадки и переходов по секторам), вертикальную активность (по числу вставаний мышей на задние лапки с упором на стенку поля и на весу), косметическую активность (короткий и длительный груминг).

Статистическую обработку результатов фитохимических исследований проводили в соответствии с Государственной Фармакопеей РФ XIV издания. Результаты фармакологических исследований обрабатывали статистическим методом с использованием критерия Стьюдента на персональном компьютере с применением стандартного пакета Microsoft Office Excel. Все расчеты проводили по общепринятым формулам. Результат считали достоверным, если показатель достоверности (*P*) был меньше 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Испытание на острую токсичность

В литературе встречаются данные о наличии у представителей рода марьянник токсического действия. Токсичность марьянников обусловлена наличием аукубина, максимальная концентрация которого наблюдается в семенах [17]. Однако при исследовании острой токсичности сухого экстракта марьяника лесного было установлено отсутствие летальности в экспериментальной группе животных, ЛД₅₀ выявить не удалось. Дальнейшее увеличение дозы экстракта нецелесообразно в связи с отсутствием токсичности в дозе 5000 мг/кг и со сложностью введения большего количества экстракта.

Испытание на противосудорожную активность

Судорожные дозы коразола, как блокатора механизмов торможения, вызывают состояние, сходное с большими эпилептическими припадками, воздействуя на различные отделы головного мозга. Тест «коразоловые судороги» позволяет оценить изменение степени проявления судорожного действия коразола на фоне введения экстракта марьяника лесного. Результаты приведены на рисунке 1.

Данные показывают, что экстракт в дозе 100 мг/кг не влияет на латентный период судорог, но достоверно увеличивает продолжительность жизни. В дозе 200 мг/кг существенно увеличивается латентный период и продолжительность жизни, а выживаемость животных составляет 20 %.

Испытание на седативную активность

Для группы животных в условиях краткосрочного эксперимента отмечено достоверное изменение двигательной активности через 30 минут после перорального введения экстракта (рисунки 2, 3).

Было отмечено снижение вертикальной активности, характеризующей степень проявления уровня тревожности животных. Уменьшение числа «вертикальных стоек» свидетельствует о снижении исследовательской активности, а также тревожности животных, что подтверждает наличие у экстракта марьяника выраженного седативного действия (рисунок 3). Снижение горизонтальной активности по периферии, и количества выходов животных в центр площадки говорит об угнетении ориентировочно-исследовательского поведения (см. рисунок 2).

Исследовательское поведение, которое обнаруживает животное, попадающее в новую ситуацию, очень часто сочетается с проявлением *осторожности*, или с умеренно выраженной реакцией тревоги. В поведении грызунов такой «конфликт мотиваций» обычно обнаруживается появлением более или менее интенсивной реакции груминга. В условиях эксперимента груминг помимо своей основной функции ухода за шерстью оказывается показателем наличия «напряженного» состояния животного. Более интенсивный груминг, по мнению многих исследователей, является показателем более сильно выраженной тревожности в условиях краткосрочного эксперимента [18, 19]. В данном исследовании отмечалось некоторое снижение груминга, как показателя тревожности для данной группы животных (рисунок 4).

Вторая группа животных в условиях длительного эксперимента показала достоверное снижение вертикальной активности в сравнении с контролем. (рисунок 5). В то же время было отмечено снижение горизонтальной активности на периферии, что свидетельствует о снижении стресса у животного и седативном действии препарата. После оценки безопасности обстановки грызуны могут выйти к центральным секторам. Курсовое применение препарата приводит к угнетению ориентировочно-исследовательского поведения, о чем свидетельствует достоверное уменьшение числа выходов в центр площадки. Уже после десятидневного приема экстракта короткий и длительный груминг увеличивается. Для группы животных, прошедших адаптацию в условиях хронического эксперимента при курсовом приеме препарата, такие изменения груминга являются показателем комфортного поведения [18] (рисунок 5).

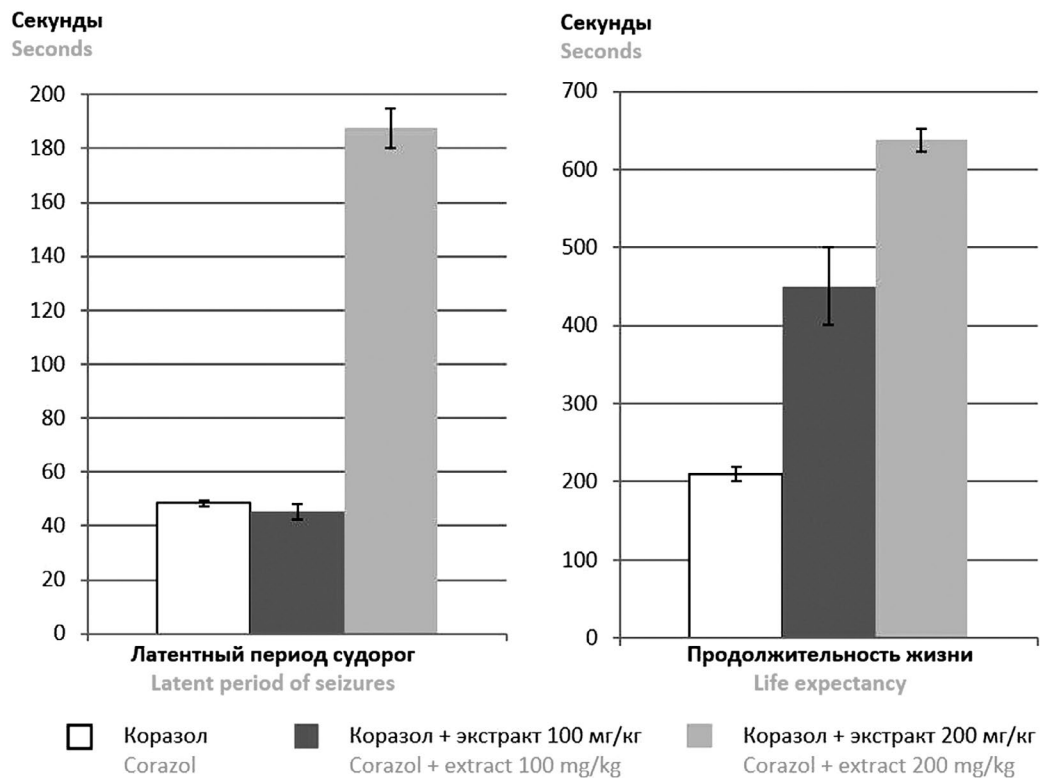


Рисунок 1. Судорожное действия коразола на фоне введения экстракта марьянника лесного

Figure 1. Convulsive action of corazol against the background of the administration of the *Melampyrum sylvaticum* extract

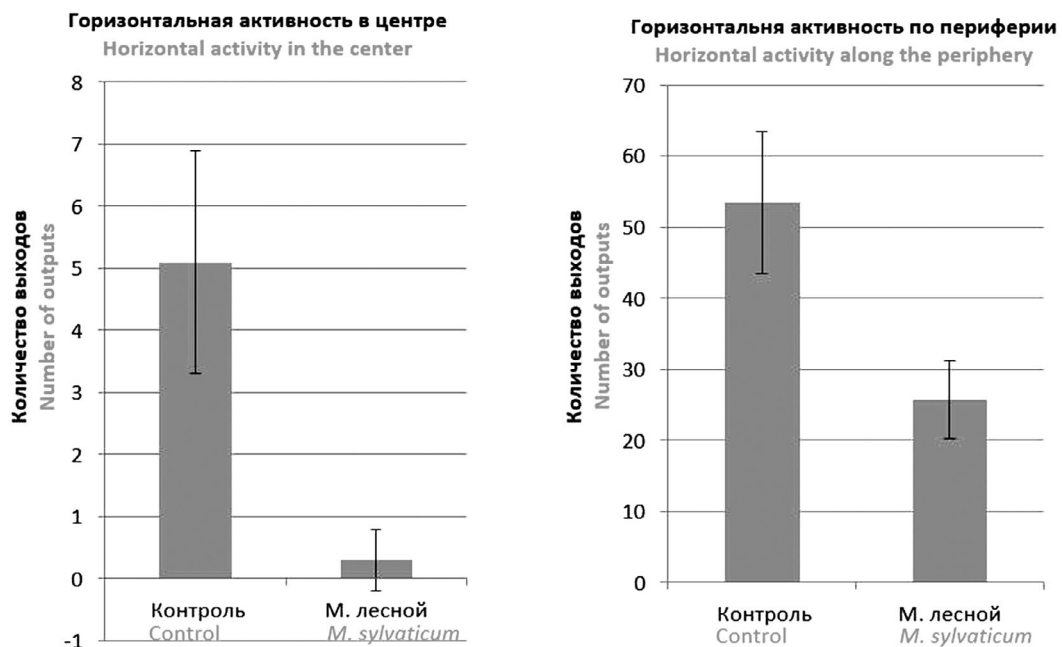


Рисунок 2. Изменение горизонтальной активности животных при однократном применении экстракта марьянника лесного в опыте «открытое поле»

Figure 2. Changes in the horizontal activity of animals with a single application of the *Melampyrum sylvaticum* extract in the open field experiment

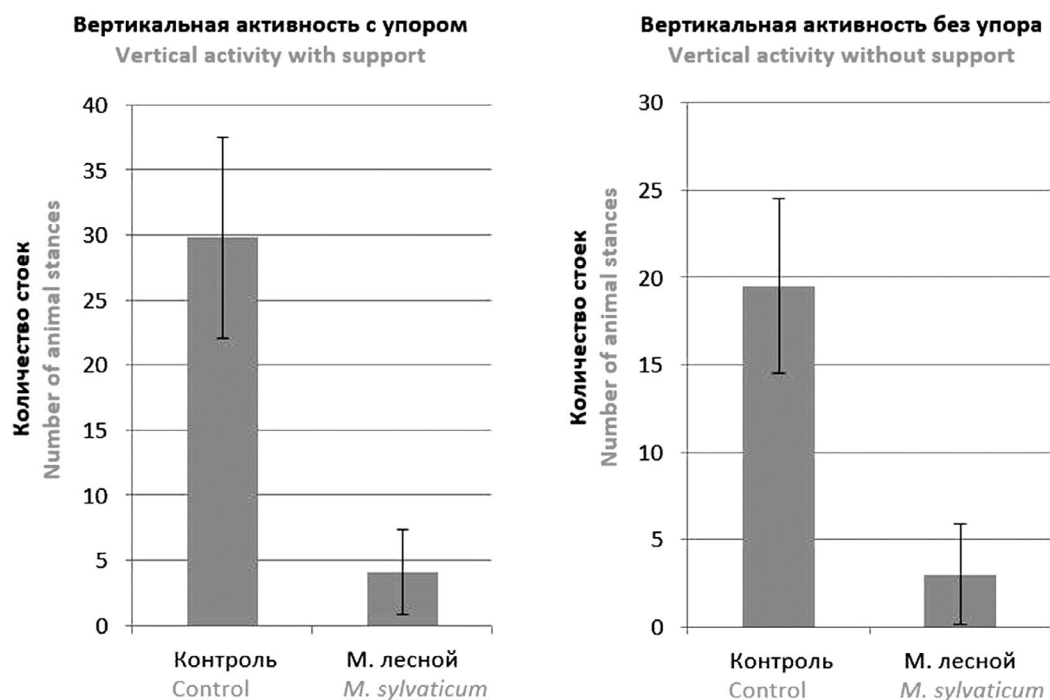


Рисунок 3. Изменение вертикальной активности животных при однократном применении экстракта марьянника лесного в опыте «открытое поле»

Figure 3. Changes in the vertical activity of animals with a single application of the Melampyrum sylvaticum extract in the open field experiment

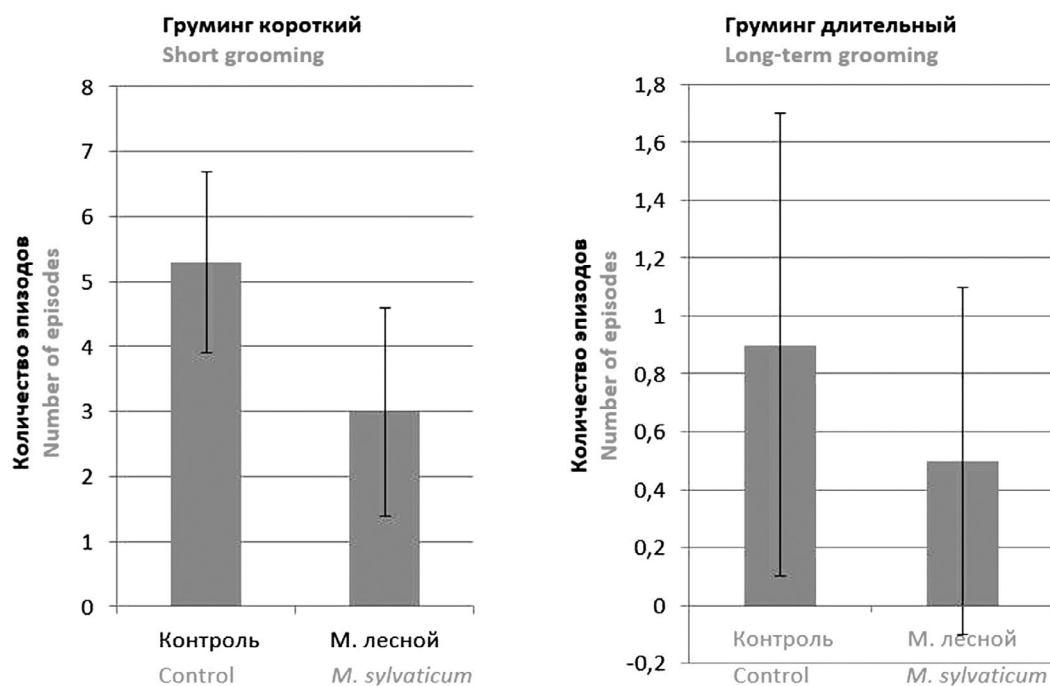


Рисунок 4. Изменение показателей груминга при однократном применении экстракта марьянника лесного в опыте «открытое поле»

Figure 4. Changes in grooming indicators with a single application of the Melampyrum sylvaticum extract in the open field experiment

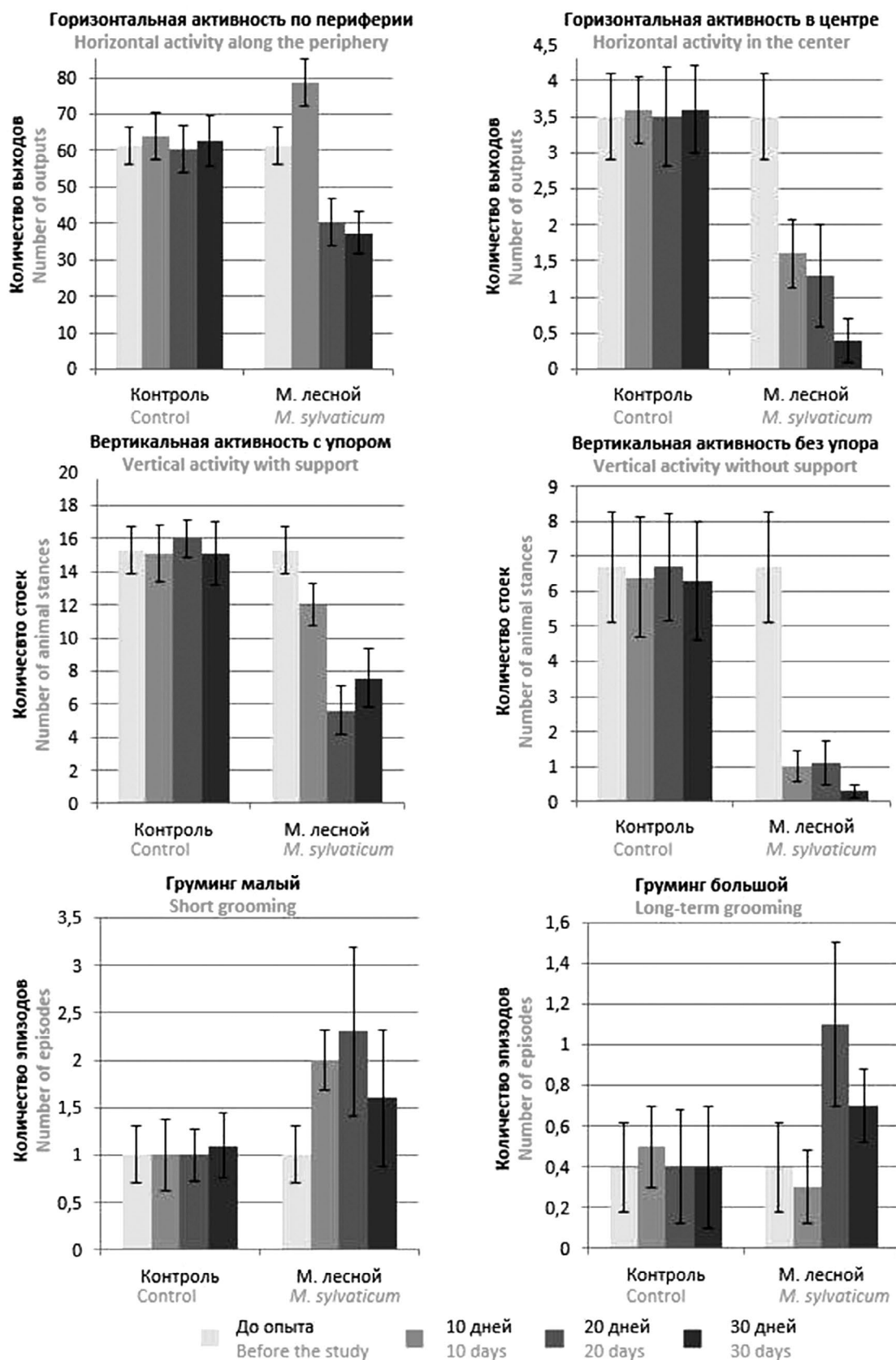


Рисунок 5. Изменение двигательной активности животных при длительном применении экстракта марьянника лесного в опыте «открытое поле»

Figure 5. Changes in the locomotor activity of animals with long-term use of the *Melampyrum sylvaticum* extract in the open field experiment

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенных исследований на мышах, установлено, что марьянника лесного травы экстракт сухой компенсирует действие коразола, обладает противосудорожным и седативным действием. ЛД₅₀ экстракта при пероральном введении составила более 5000 мг/кг. Благодаря установленным видам биологической активности исследуемый экстракт представляет интерес для дальнейшего изучения и разработки на его основе фармацевтической субстанции растительного происхождения.

ЛИТЕРАТУРА

- McNamara J.O. Cellular and molecular basis of epilepsy. *The journal of neuroscience*. 1994;14(6):3413–3425. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.14-06-03413.1994.
- Das G., Shin H.-S., Tundis R., Gonçalves S., Tantengco O. A. G., Campos M. G., Acquaviva R., Malfa G. A., Romano A., Robles J. A. H., Clores M. Q., Patra J.-K. Plant Species of Sub-Family Valerianaceae – A Review on Its Effect on the Central Nervous System. *Plants*. 2021;10(5):846. DOI: 10.3390/plants10050846.
- Janda K., Wojtkowska K., Jakubczyk K., Antoniewicz J., Skonieczna-Żydecka K. Passiflora incarnata in Neuropsychiatric Disorders – A Systematic Review. *Nutrients*. 2020;12(12):3894. DOI: 10.3390/nu12123894.
- Kaikade A. R., Gurunani S. G., Pandel T. W., Sherekar S. A., Kaikade P. R., Mehare S. R., Gunjarkar S. B., Parate M. W., Jaiswal S. V., Dhawale Y. V., Mohare V. N. Phyto-Pharmacognostic review on Passiflora species. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2023;11(3):35–50.
- Zam W., Quispe C., Sharifi-Rad J., López M. D., Schoebitz M., Martorell M., Sharopov F., Tsouh Fokou P. V., Mishra A. P., Chandran D., Kumar M., Chen J.-T., Pezzani R. An Updated Review on The Properties of Melissa officinalis L.: Not Exclusively Anti-anxiety. *Frontiers in Bioscience Scholar*. 2022;14(2):16. DOI: 10.31083/j.fbs1402016.
- Флора Европейской части СССР. Том 5. Л.: Наука; 1981. 380 с.
- Tennant D. J. Small cow-wheat Melampyrum sylvaticum L.; Scrophulariaceae in England. *Watsonia*. 2008;27(1):23–36.
- Галишевская Е. Е., Петриченко В. М., Скрябина Е. Н. Фенольные соединения растений рода марьянник. *Фармация*. 2011;2:25–29.
- Vinogradova N., Vinogradova E., Chaplygin V., Mandzhieva S., Kumar P., Rajput V. D., Minkina T., Seth C. S., Burachevskaya M., Lysenko D., Singh R. K. Phenolic Compounds of the Medicinal Plants in an Anthropogenically Transformed Environment. *Molecules*. 2023;28(17):6322. DOI: 10.3390/molecules28176322.
- Karadağ A. E., Tosun F. In vitro antimicrobial and antioxidant activity evaluation of Melampyrum arvense L. var. elatius Boiss. and Sedum spurium M. Bieb. extracts. *Acta Pharmaceutica Scientia*. 2019;57(2):193–201. DOI: 10.23893/1307-2080.APS.05712.
- Mihoğlugil F., Akalgan D., Tosun F. Cytotoxicity screening of some Turkish plants against renal cancer cells. *Journal of Research in Pharmacy*. 2023;27(2):636–641. DOI: 10.29228/jrp.346.
- Boniface P. K., Elizabeth F. I. Flavonoid-derived privileged scaffolds in anti-trypanosoma brucei drug discovery. *Current Drug Targets*. 2019;20(12):1295–1314. DOI: 10.2174/1389450120666190618114857.
- Majumder N., Banerjee A., Saha S. A review on new natural and synthetic anti-leishmanial chemotherapeutic agents and current perspective of treatment approaches. *Acta Tropica*. 2023;240:106846. DOI: 10.1016/j.actatropica.2023.106846.
- Gonçalves G. A., Eifler-Lima V. L., von Poser G. L. Revisiting nature: a review of iridoids as a potential antileishmanial class. *Phytochemistry Reviews*. 2022;21:101–126. DOI: 10.1007/s11101-021-09750-8.
- Novakovic M., Bukvicki D., Andjelkovic B., Ilic-Tomic T., Veljic M., Tesovic V., Asakawa Y. Cytotoxic Activity of Riccardin and Perrottetin Derivatives from the Liverwort Lunularia cruciate. *Journal of Natural Products*. 2019;82(4):694–701. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.8b00390.
- Korkotian E., Botalova A., Odegova T., Galishevskaya E., Skryabina E., Segal M. Complex effects of aqueous extract of Melampyrum pratense and of its flavonoids on activity of primary cultured hippocampal neurons. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;163:220–228. DOI: 10.1016/j.jep.2015.01.036.
- Heide-Jørgensen H. S. Danish and other nordic parasitic plants. 2014. P. 14–16.
- Майоров О. Ю. Оценка индивидуально-типологических особенностей поведения и устойчивости интактных белых крыс-самцов на основе факторной модели нормального этнологического спектра показателей в тесте открытое поле. *Клиническая информатика и телемедицина*. 2011;7(8):21–32.
- Kalueff A. V., Tuohimaa P. The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. *Journal of neuroscience methods*. 2005;143(2):169–177. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2004.10.001.

REFERENCES

- McNamara J.O. Cellular and molecular basis of epilepsy. *The journal of neuroscience*. 1994;14(6):3413–3425. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.14-06-03413.1994.
- Das G., Shin H.-S., Tundis R., Gonçalves S., Tantengco O. A. G., Campos M. G., Acquaviva R., Malfa G. A., Romano A., Robles J. A. H., Clores M. Q., Patra J.-K. Plant Species of Sub-Family Valerianaceae – A Review on Its Effect on the Central Nervous System. *Plants*. 2021;10(5):846. DOI: 10.3390/plants10050846.
- Janda K., Wojtkowska K., Jakubczyk K., Antoniewicz J., Skonieczna-Żydecka K. Passiflora incarnata in Neuropsychiatric Disorders – A Systematic Review. *Nutrients*. 2020;12(12):3894. DOI: 10.3390/nu12123894.
- Kaikade A. R., Gurunani S. G., Pandel T. W., Sherekar S. A., Kaikade P. R., Mehare S. R., Gunjarkar S. B., Parate M. W., Jaiswal S. V., Dhawale Y. V., Mohare V. N. Phyto-Pharmacognostic review on Passiflora species. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2023;11(3):35–50.
- Zam W., Quispe C., Sharifi-Rad J., López M. D., Schoebitz M., Martorell M., Sharopov F., Tsouh Fokou P. V., Mishra A. P., Chandran D., Kumar M., Chen J.-T., Pezzani R. An Updated Review on The Properties of Melissa officinalis L.: Not Exclusively Anti-anxiety. *Frontiers in Bioscience Scholar*. 2022;14(2):16. DOI: 10.31083/j.fbs1402016.
- Flora of the European part of the USSR. Volume 5. Leningrad: Science; 1981. 380 p. (In Russ.)
- Tennant D. J. Small cow-wheat Melampyrum sylvaticum L.; Scrophulariaceae in England. *Watsonia*. 2008;27(1):23–36.
- Galishevskaya E. E., Petrichenko V. M., Skryabina E. N. Phenolic compounds of plants of the genus Melampyrum. *Farmatsiya*. 2011;2:25–29. (In Russ.)
- Vinogradova N., Vinogradova E., Chaplygin V., Mandzhieva S., Kumar P., Rajput V. D., Minkina T., Seth C. S., Burachevskaya M., Lysenko D., Singh R. K. Phenolic Compounds of the Medicinal Plants in an Anthropogenically Transformed Environment. *Molecules*. 2023;28(17):6322. DOI: 10.3390/molecules28176322.
- Karadağ A. E., Tosun F. In vitro antimicrobial and antioxidant activity evaluation of Melampyrum arvense L. var. elatius Boiss.

- and *Sedum spurium* M. Bieb. extracts. *Acta Pharmaceutica Scientia*. 2019;57(2):193–201. DOI: 10.23893/1307-2080.APS.05712.
11. Mihoğlu F., Akalgan D., Tosun F. Cytotoxicity screening of some Turkish plants against renal cancer cells. *Journal of Research in Pharmacy*. 2023;27(2):636–641. DOI: 10.29228/jrp.346.
12. Boniface P.K., Elizabeth F.I. Flavonoid-derived privileged scaffolds in anti-trypanosoma brucei drug discovery. *Current Drug Targets*. 2019;20(12):1295–1314. DOI: 10.2174/1389450120666190618114857.
13. Majumder N., Banerjee A., Saha S. A review on new natural and synthetic anti-leishmanial chemotherapeutic agents and current perspective of treatment approaches. *Acta Tropica*. 2023;240:106846. DOI: 10.1016/j.actatropica.2023.106846.
14. Gonçalves G. A., Eifler-Lima V. L., von Poser G. L. Revisiting nature: a review of iridoids as a potential antileishmanial class. *Phytochemistry Reviews*. 2022;21:101–126. DOI: 10.1007/s11101-021-09750-8.
15. Novakovic M., Bukvicki D., Andjelkovic B., Ilic-Tomic T., Veljic M., Tešević V., Asakawa Y. Cytotoxic Activity of Riccardin and Perrottetin Derivatives from the Liverwort *Lunularia cruciata*. *Journal of Natural Products*. 2019;82(4):694–701. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.8b00390.
16. Korkotian E., Botalova A., Odegova T., Galishevskaya E., Skryabina E., Segal M. Complex effects of aqueous extract of *Melampyrum pratense* and of its flavonoids on activity of primary cultured hippocampal neurons. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;163:220–228. DOI: 10.1016/j.jep.2015.01.036.
17. Heide-Jørgensen H. S. Danish and other nordic parasitic plants. 2014. P. 14–16.
18. Mayorov O. Yu. Assessment of individual typological characteristics of behavior and stability of intact white male rats based on a factor model of the normal ethological spectrum of indicators in the open field test. *Clinical informatics and telemedicine*. 2011;7(8):21–32. (In Russ.)
19. Kalueff A. V., Tuohimaa P. The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. *Journal of neuroscience methods*. 2005;143(2):169–177. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2004.10.001.

Гепатопротекторная активность экстракта сосны обыкновенной шишек

Д. К. Гуляев✉, С. С. Зыкова, В. Д. Белоногова, Д. О. Семакин, Н. А. Бузмакова

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: Гуляев Дмитрий Константинович. E-mail: dkg2014@mail.ru

ORCID: Д. К. Гуляев – <https://orcid.org/0000-0001-9464-1869>; С. С. Зыкова – <https://orcid.org/0000-0002-7395-4951>;
В. Д. Белоногова – <https://orcid.org/0000-0001-5193-3976>; Д. О. Семакин – <https://orcid.org/0000-0001-9898-3479>;
Н. А. Бузмакова – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Статья поступила: 16.10.2023

Статья принята в печать: 19.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Жировой гепатоз является широко распространенным метаболическим заболеванием. Происходит ежегодное увеличение случаев выявления жирового гепатоза как в России, так и по все миру. Актуальной задачей является поиск новых лекарственных средств для лечения и профилактики развития жирового гепатоза.

Цель. Исследование состава процианидинов и биологической активности экстракта сосны обыкновенной шишек на модели жирового гепатоза *in vivo*.

Материалы и методы. Для получения экстракта использовали шишки сосны обыкновенной, заготовленные на территории Пермского края в декабре. Экстракт получали путем обработки сырья горячей водой. Компонентный состав процианидинов в экстракте определяли с помощью ультраэффективной жидкостной хроматографии с масс селективным детектором. Гепатопротекторную активность изучали на модели жирового гепатоза, индуцируемого введением тетрахлорметана *in vivo* на белых беспородных крысах. В качестве эталона сравнения использовали силимарин.

Результаты и обсуждение. В результате хроматографического исследования в сухом водном экстракте сосны обыкновенной шишек были идентифицированы следующие процианидины – B2, B3, C1, C2, D1. В результате гепатопротекторной активности установлено, что в контрольной (интактной) группе при патогистологическом исследовании печени изменений не обнаружено. Индекс (степень) стеатоза: 0. В опытной группе, животным которой вводили тетрахлорметан без последующего лечения обнаружено, что порядка 50 % гепатоцитов гистологического среза в состоянии макро- и микровезикулярной жировой дистрофии. Индекс стеатоза равен 2. В группе животных, которым вводили тетрахлорметан и проводили лечение препаратом Карсил®, гепатоциты нормального размера с единичными жировыми микровезикулами в цитоплазме. Индекс стеатоза равен 0. В группе животных, которым вводили тетрахлорметан и проводили лечение экстрактом шишек сосны, гепатоциты нормальных размеров с зухромным ядром, в центральных отделах в состоянии макро- и микровезикулярной жировой дистрофии (около 20–25 % всех гепатоцитов гистологического среза). Индекс стеатоза равен 1.

Заключение. Экстракт шишек сосны обыкновенной способствует умеренному снижению распространенности белковой, мелкоочаговой мелкокапельной жировой дистрофии гепатоцитов. Для увеличения гепатопротекторной активности необходимо исследовать действие экстракта в дозе 30 мг/кг и выше.

Ключевые слова: сосна обыкновенная, шишки, водный экстракт, процианидины, гепатопротекторное действие

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

Вклад авторов. Д. К. Гуляев – получение экстракта и его анализ, написание статьи. С. С. Зыкова – определение биологической активности, обсуждение результатов. В. Д. Белоногова – планирование эксперимента, обсуждение результатов. Н. А. Бузмакова, Д. О. Семакин – литературный обзор, написание статьи.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Гуляев Д. К., Зыкова С. С., Белоногова В. Д., Семакин Д. О., Бузмакова Н. А. Гепатопротекторная активность экстракта сосны обыкновенной шишек. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):128–133. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1613](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1613)

Hepatoprotective Activity of Pine cones Extract

D. K. Gulyaev✉, S. S. Zyкова, V. D. Belonogova, D. O. Semakin, N. A. Buzmakova

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

✉ Corresponding author: Dmitry K. Gulyaev. E-mail: dkg2014@mail.ru

ORCID: D. K. Gulyaev – <https://orcid.org/0000-0001-9464-1869>; S. S. Zyкова – <https://orcid.org/0000-0002-7395-4951>;
V. D. Belonogova – <https://orcid.org/0000-0001-5193-3976>; D. O. Semakin – <https://orcid.org/0000-0001-9898-3479>;
N. A. Buzmakova – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Received: 16.10.2023

Revised: 19.12.2023

Published: 27.12.2023

© Гуляев Д. К., Зыкова С. С., Белоногова В. Д., Семакин Д. О., Бузмакова Н. А., 2023
© Gulyaev D. K., Zyкова S. S., Belonogova V. D., Semakin D. O., Buzmakova N. A., 2023

Abstract

Introduction. Fatty hepatosis is a widespread metabolic disease. There is an annual increase in cases of detection of fatty hepatosis both in Russia and around the world. An urgent task is to search for new medicines for the treatment and prevention of the development of fatty hepatosis.

Aim. Investigation of the composition of procyanidins and the biological activity of pine cones extract on a model of fatty hepatosis *in vivo*.

Materials and methods. To obtain the extract, cones of pine harvested on the territory of the Perm Region in December were used. The extract was obtained by processing raw materials with hot water. The component composition of procyanidins in the extract was determined using ultra-efficient liquid chromatography with a mass selective detector. Hepatoprotective activity was studied on a model of fatty hepatosis induced by the introduction of carbon tetrachloride *in vivo* on white mongrel rats. Silymarin was used as a reference for comparison.

Results and discussion. As a result of chromatographic examination, the following procyanidins were identified in a dry aqueous extract of pine cones – B2, B3, C1, C2, D1. As a result of hepatoprotective activity, it was found that no changes were detected in the control (intact) group during the pathohistological examination of the liver. Index (degree) of steatosis: 0. In the experimental group, whose animals were injected with carbon tetrachloride without subsequent treatment, it was found that about 50 % of hepatocytes of the histological section were in a state of macro- and microvesicular fatty dystrophy. The steatosis index is 2. In the group of animals injected with carbon tetrachloride and treated with Karsil®, normal-sized hepatocytes with single fatty microvesicles in the cytoplasm. The steatosis index is 0. In the group of animals injected with carbon tetrachloride and treated with pine cones extract, hepatocytes of normal size with an euchromic nucleus, in the central parts in a state of macro- and microvesicular fatty dystrophy (about 20-25 % of all hepatocytes of the histological section). The steatosis index is 1.

Conclusion. The extract of pine cones contributes to a moderate decrease in the prevalence of protein, small-focal small-droplet fatty dystrophy of hepatocytes. To increase hepatoprotective activity, it is necessary to investigate the effect of the extract at a dose of 30 mg/kg and above.

Keywords: common pine, cones, aqueous extract, procyanidins, hepatoprotective effect

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. D. K. Gulyaev – extract preparation and analysis, writing an article. S. S. Zykova – determination of biological activity, discussion of results. V. D. Belonogova – experiment planning, discussion of results. N. A. Buzmakova, D. O. Semakin – literary review, writing an article.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Gulyaev D. K., Zykova S. S., Belonogova V. D., Semakin D. O., Buzmakova N. A. Hepatoprotective activity of pine cones extract. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):128–133. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1613](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1613)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной задачей является поиск новых лекарственных средств для лечения и профилактики развития жирового гепатоза. Одним из путей поиска является изучение биологически активных веществ растений для создания фитопрепаратов. На фармацевтическом рынке представлено небольшое количество растительных гепатопротекторов (Карсил, Легалон, Силимар, Бонджигар, Ропрен, Дипана, Кедростат)¹.

Сосна обыкновенная – *Pinus sylvestris* L. семейства сосновые – *Pinaceae*, является широко распространенным растением на территории многих регионов Российской Федерации. Несмотря на огромные ресурсы сосны обыкновенной, необходимо проводить мероприятия по лесовосстановлению. Ежегодно лесничествами проводятся мероприятия по заготовке шишек хвойных растений с получением семян.

После получения семян, шишки в огромных количествах остаются в виде отходов, которые можно использовать в медицине.

Одной из перспективных групп биологически активных веществ с которой часто связывают развитие гепатопротекторного действия являются процианидины. Процианидин В2 показал свою эффективность при лечении неалкогольной жировой болезни печени [1]. Гепатопротекторная активность процианидина В2 показана при остром отравлении aflatoxins [2]. Процианидины обладают выраженной антиоксидантной активностью, в 20 раз большей чем у витамина С [3, 4]. Сообщается о главенствующей роли кишечной микробиоты для развития фармакологического действия процианидинов [5].

При изучении процианидинов рода *Pinus* чаще всего в качестве объекта исследования выбирают кору сосны [6, 7]. Однако, водные и спиртовые экстракты шишек растений рода *Pinus* содержат процианидины и проявляют выраженную антиоксидантную активность, что обуславливает перспективу развития гепатопротекторного действия [8–11]. Процианиди-

¹ Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: <http://grls.rosminzdrav.ru>. Ссылка активна на 16.10.2023

ны шишек сосны обыкновенной могут представлять интерес для создания гепатопротектора и нуждаются в изучении.

Цель – исследование состава процианидинов и биологической активности экстракта сосны обыкновенной шишек на модели жирового гепатоза *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве сырья для получения экстракта использовали сосны обыкновенной шишки, заготовленные на территории Ильинского района Пермского края в декабре. Сосны обыкновенной шишек экстракт сухой получали путем экстракции измельченных шишек водой при нагревании, с последующим отстаиванием, упариванием и сушкой.

Компонентный состав процианидинов в экстракте определяли с помощью ультраэффективной жидкостной хроматографии / МС на хроматографе Waters Acquity с диодно-матричным УФ-детектором и тандемным квадрупольным МС-детектором TQD (Waters Corporation, США).

Подвижная фаза А: смесь вода : ацетонитрил (95:5) с муравьиной кислотой.

Хроматографировали испытуемый раствор и растворы стандартов в следующих условиях: объем пробы 2 мкл; колонка 0,21 × 15,0 см Acquity UPLC BEH C18 (1,7 мкм); температура колонки 35 °С; скорость потока 0,25 мл/мин; УФ-детекция при 220 250 нм.

Гепатопротекторную активность изучали на модели жирового гепатоза, индуцируемого введением тетрахлорметана (ТХМ) *in vivo* на белых беспородных крысах массой от 180 до 420 грамм.

В качестве эталона сравнения использовали препарат «Карсил®» производства Софарма АО, Болгария.

Было сформировано несколько групп: контрольная (8 крыс) – (интактная), 1 группа (8 крыс) – введение ТХМ, 2 группа (8 крыс) – введение ТХМ + «Карсил», 3 группа (8 крыс) – введение ТХМ + экстракт шишек сосны.

Экспериментальный жировой гепатоз вызывали введением перорально крысам тетрахлорметана в дозе 2 г/кг, а через час вводили исследуемые вещества в дозах эквивалентных терапевтическим дозам: для Карсил® – 105 мг/кг, для экстракта шишек сосны – 15 мг/кг согласно схеме эксперимента. Повторное введение ТХМ и экстракта осуществляли на четвертые сутки. В течении 14 дней животные находились на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Через 14 дней крыс подвергали эвтаназии в CO₂-камере и извлекали печень для изучения морфометрических показателей и гистологии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гепатопротекторное действие растительных экстрактов часто связывают с процианидинами. На первом этапе исследования проведен эксперимент по

обнаружению в экстракте процианидинов. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Состав процианидинов экстракта сосны обыкновенной шишек

Table 1. Composition of procyanidins of pine cones extract

Вещество Substance	Время удерживания (t _R) Retention time (t _R)	Длина волны Wavelength	Молекулярный вес Molecular weight
Процианидин В2 Procyanidin B2	3.37	280	578
Процианидин В3 Procyanidin B3	3.86	280	578
Процианидин С1 Procyanidin C1	4,0	280	866
Процианидин С2 Procyanidin C2	5,37	280	866
Процианидин D1 Procyanidin D1	4,79	280	1154

В результате исследования в сухом водном экстракте сосны обыкновенной шишек были идентифицированы несколько процианидинов – В2, В3, С1, С2, D1 (таблица 1).

Следующим этапом исследования являлось определение гепатопротекторной активности на модели жирового гепатоза.

Интактная группа: Весь период опыта крысы контрольной группы (интактные) были активными, хорошо поедали корм, упитанность животных была средняя. Печень – архитектура сохранена. Портальные тракты неравномерного кровенаполнения, со слабой лимфоцитарной инфильтрацией. Желчные протоки не изменены. Пограничная пластинка сохранена. Дольки имеют типичное балочное строение. Синусоидные капилляры со слабой активацией клеток Купфера. Пространства Диссе расширены. Гепатоциты не увеличены, в состоянии микровезикулярного стеатоза преимущественно в центральной зоне долек (рисунки 1, 2). **Индекс (степень) стеатоза: 0** (менее 5 % гепатоцитов гистологического среза в состоянии жировой дистрофии).

Опытная группа (ТХМ): Крысы получавшие ТХМ без лечения были активные, хорошо поедали корм, имели среднюю упитанность. Гистоархитектура сохранена. Гепатоциты в состоянии макро- и микровезикулярной жировой дистрофии во всех отделах долек равномерно (порядка 50 % гепатоцитов гистологического среза). Пространства Диссе и синусоидные капилляры выражено расширены. Центральные вены запустевшие. В портальных трактах слабая инфильтрация мононуклеарами, желчные капилляры сохранного строения (рисунок 3, 4). **Индекс стеатоза равен 2.**

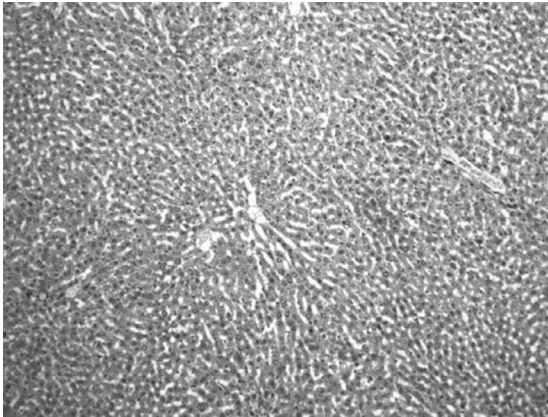


Рисунок 1. Печень, x10

Figure 1. Liver, x10

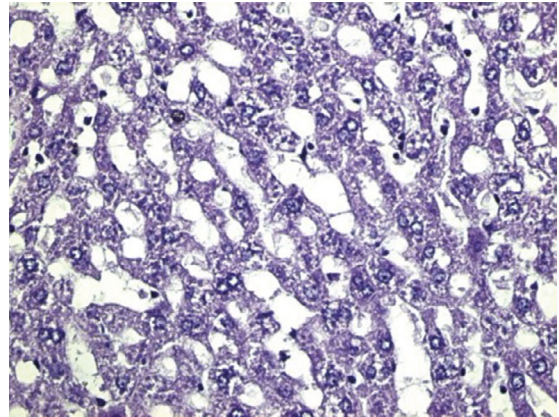


Рисунок 4. Печень, x40

Figure 4. Liver, x40

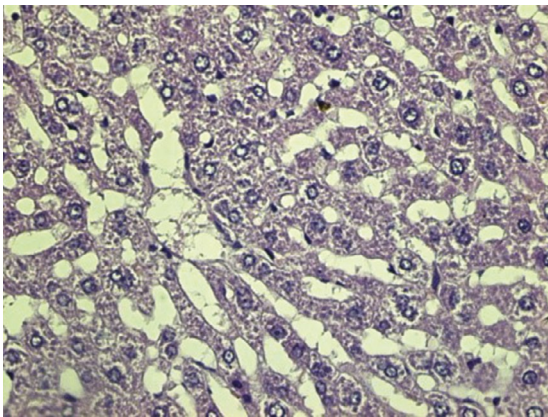


Рисунок 2. Печень, x40

Figure 2. Liver, x40

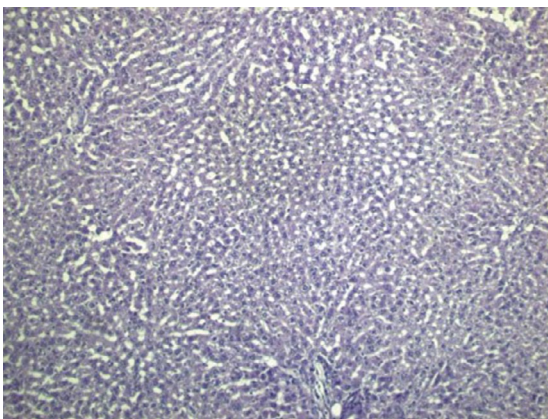


Рисунок 3. Печень, x10

Figure 3. Liver, x10

2 опытная группа (ТХМ + Карсил®): Крысы получавшие ТХМ и «Карсил®» были активные, хорошо поедали корм, имели среднюю упитанность. Балочная структура сохранена. Гепатоциты нормального размера с единичными жировыми микровезикулами в цитоплазме. Пространства Диссе расширены.

Синусоидные капилляры с неравномерным полнокровием. В портальных трактах лимфоциты в малом количестве, желчные протоки не изменены. Центральные вены полнокровные с паравазальными очаговыми кровоизлияниями (рисунки 5, 6). **Индекс стеатоза – 0.**

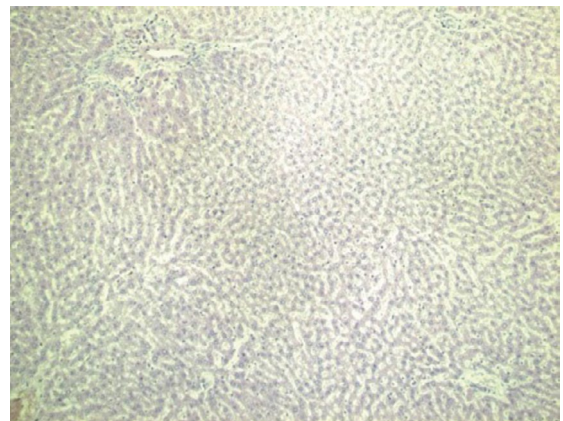


Рисунок 5. Печень, x10

Figure 5. Liver, x10

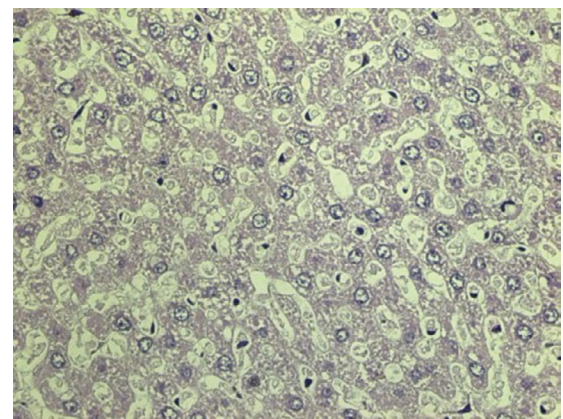


Рисунок 6. Печень, x40

Figure 6. Liver, x40

3 опытная группа (ТХМ + экстракт шишек сосны): Крысы получавшие ТХМ и лечение экстрактом шишек сосны, были активными, хорошо поедали корм, были средней упитанности. Печень – дольковая структура сохранена. Гепатоциты нормальных размеров с эухромным ядром, в центральных отделах в состоянии макро- и микровезикулярной жировой дистрофии (около 20–25 % всех гепатоцитов гистологического среза). Синусоидные капилляры расширены, неравномерного кровенаполнения – более выражено в центральных отделах долек. Центральные венулы полнокровные. Пространства Диссе расширены. В портальных трактах слабая лимфогистиоцитарная инфильтрация без выхода за пределы пограничной пластинки (рисунки 7, 8). **Индекс стеатоза равен 1.**

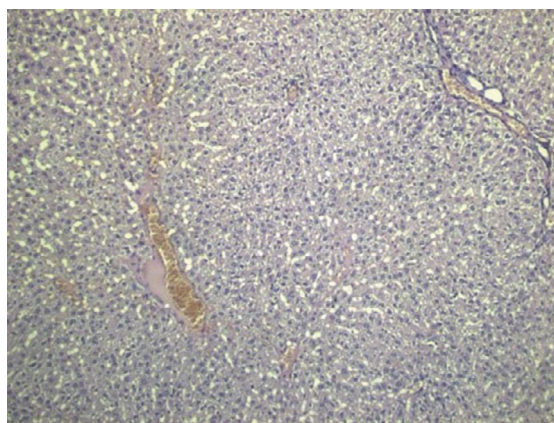


Рисунок 7. Печень x10

Figure 7. Liver, x10

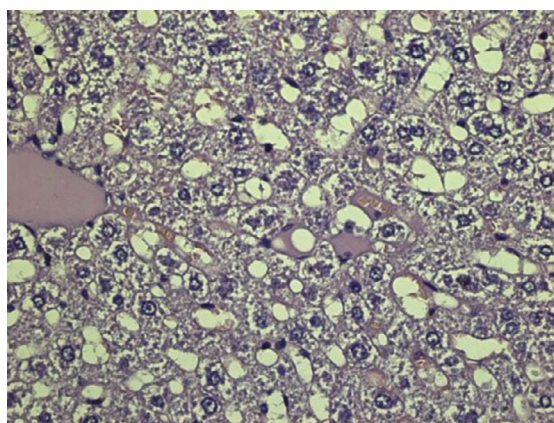


Рисунок 8. Печень x40

Figure 8. Liver, x40

Гистоморфологическая картина гепатоза животных, получавших ТХМ сопровождается выраженной продуктивной воспалительной реакцией и выраженным портальным фиброзом; распространенная бел-

ковая, крупноочаговая среднекапельная жировая дистрофия гепатоцитов; фокусы коагуляционного некроза гепатоцитов.

В гистоморфологической картине гепатоза в печени животных, получавших ТХМ и Карсил® сопровождается умеренно выраженной продуктивной воспалительной реакцией и слабо выраженным портальным фиброзом; распространенная белковая, мелкоочаговая мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов; мелкие фокусы коагуляционного некроза гепатоцитов.

Гистоморфологическая картина гепатоза в печени животных, получавших ТХМ и экстракт шишек сосны обыкновенной сопровождается слабо выраженной продуктивной воспалительной реакцией и слабо выраженным портальным фиброзом; средняя по распространенности белковая, мелкоочаговая мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов; отдельные мелкие фокусы коагуляционного некроза гепатоцитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено хроматографическое исследование сухого водного экстракта сосны обыкновенной шишек в результате которого были идентифицированы несколько процианидинов – B2, B3, C1, C2, D1.

Обнажено, что экстракт шишек сосны обыкновенной способствует умеренному снижению распространенности белковой, мелкоочаговой мелкокапельной жировой дистрофия гепатоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Feng J., Wang C., Liu T., Li T., Wu L., Yu Q., Li S., Zhou Y., Zhang J., Ji J. Procyanidin B2 inhibits the activation of hepatic stellate cells and angiogenesis via the Hedgehog pathway during liver fibrosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2019;23:6479–6493. DOI: 10.1111/jcmm.14543.
2. Jie D.Z., Fang Z.J., Feng H., Li S. G., Wei G., Li L., Qiang X. D. Protective effect of procyanidin B2 on acute liver injury induced by aflatoxin B1 in rats. *Biomedical and Environmental Sciences*. 2020;33(4):238–247. DOI: 10.3967/bes2020.033.
3. Dasiman R., Nor N. M., Eshak Z., Mutalip S. S., Suwandi N. R., Bidin H. A Review of procyanidin: updates on current bioactivities and potential health benefits. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2022;12(5):5918–5940. DOI: 10.33263/BRIAC125.59185940.
4. Zhu X., Tian X., Yang M., Yu Y., Zhou Y., Gao Y., Zhang L., Li Z., Xiao Y., Moses R. E., Li X., Zhang B. Procyanidin B2 promotes intestinal injury repair and attenuates colitis-associated tumorigenesis via suppression of oxidative stress in mouse. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2019;35(2):75–92. DOI: 10.1089/ars.2019.7911.
5. Tao W., Zhang Y., Shen X., Cao Y., Shi J., Ye X., Chen S. Rethinking the mechanism of the health benefits of proanthocyanidins: absorption, metabolism, and interaction with gut microbiota. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019;18(4):971–985. DOI: 10.1111/1541-4337.12444.
6. Athanasiadou S., Almvik M., Hellstrom J., Madland E., Simic N. Steinshamn H. Chemical analysis and anthelmintic activity against *Teladorsagia circumcincta* of Nordic bark extracts in vitro. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021;8:666924. DOI: 10.3389/fvets.2021.666924.
7. Левданский В. А., Королькова И. В., Левданский А. В., Кузнецов Б. Н. Выделение и изучение проантоцианидинов коры сосны *Pinus sylvestris* L. *Химия растительного сырья*. 2020;(4):227–233. DOI: 10.14258/jcprm.2020047749.

8. Wang L., Li X., Wang H. Physicochemical properties, bioaccessibility and antioxidant activity of the polyphenols from pine cones of *Pinus koraiensis*. *International journal of biological macromolecules*. 2019;126:385–391. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.145.
9. Latos-Brozio M., Masek A., Chrzescijanska E., Podsedek A., Kajszyk D. Characteristics of the polyphenolic profile and antioxidant activity of cone extracts from conifers determined using electrochemical and spectrophotometric methods. *Antioxidants*. 2021;10(11):1723–1737. DOI: 10.3390/antiox10111723.
10. Hofman T., Visi-Rajczi E., Levente A. Antioxidant properties assessment of the cones of conifers through the combined evaluation of multiple antioxidant assays. *Industrial Crops and Products*. 2019;145(3):111935–111942. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111935.
11. Topal M. Secondary metabolites of ethanol extracts of *Pinus sylvestris* cones from Eastern Anatolia and their antioxidant, cholinesterase and α -glucosidase activities. *Records of Natural Products*. 2019;14(2):129–138. DOI: 10.25135/rnp.155.19.06.1326.
5. Tao W., Zhang Y., Shen X., Cao Y., Shi J., Ye X., Chen S. Rethinking the mechanism of the health benefits of proanthocyanidins: absorption, metabolism, and interaction with gut microbiota. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019;18(4):971–985. DOI: 10.1111/1541-4337.12444.
6. Athanasiadou S., Almvik M., Hellstrom J., Madland E., Simic N., Steinshamn H. Chemical analysis and anthelmintic activity against *Teladorsagia circumcincta* of Nordic bark extracts in vitro. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021;8:666924. DOI: 10.3389/fvets.2021.666924.
7. Leviansky V. A., Korolkova I. V., Leviansky A. V., Kuznetsov B. N. Isolation and study of proanthocyanidins in the bark of pine *Pinus sylvestris* L. *Chemistry of plant raw material*. 2020;(4):227–233. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.2020047749.
8. Wang L., Li X., Wang H. Physicochemical properties, bioaccessibility and antioxidant activity of the polyphenols from pine cones of *Pinus koraiensis*. *International journal of biological macromolecules*. 2019;126:385–391. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.145.
9. Latos-Brozio M., Masek A., Chrzescijanska E., Podsedek A., Kajszyk D. Characteristics of the polyphenolic profile and antioxidant activity of cone extracts from conifers determined using electrochemical and spectrophotometric methods. *Antioxidants*. 2021;10(11):1723–1737. DOI: 10.3390/antiox10111723.
10. Hofman T., Visi-Rajczi E., Levente A. Antioxidant properties assessment of the cones of conifers through the combined evaluation of multiple antioxidant assays. *Industrial Crops and Products*. 2019;145(3):111935–111942. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111935.
11. Topal M. Secondary metabolites of ethanol extracts of *Pinus sylvestris* cones from Eastern Anatolia and their antioxidant, cholinesterase and α -glucosidase activities. *Records of Natural Products*. 2019;14(2):129–138. DOI: 10.25135/rnp.155.19.06.1326.

REFERENCES

1. Feng J., Wang C., Liu T., Li T., Wu L., Yu Q., Li S., Zhou Y., Zhang J., Ji J. Procyanidin B2 inhibits the activation of hepatic stellate cells and angiogenesis via the Hedgehog pathway during liver fibrosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2019;23:6479–6493. DOI: 10.1111/jcmm.14543.
2. Jie D. Z., Fang Z. J., Feng H., Li S. G., Wei G., Li L., Qiang X. D. Protective effect of procyanidin B2 on acute liver injury induced by aflatoxin B1 in rats. *Biomedical and Environmental Sciences*. 2020;33(4):238–247. DOI: 10.3967/bes2020.033.
3. Dasiman R., Nor N. M., Eshak Z., Mutalip S. S., Suwandi N. R., Bidin H. A Review of procyanidin: updates on current bioactivities and potential health benefits. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2022;12(5):5918–5940. DOI: 10.33263/BRIAC125.59185940.
4. Zhu X., Tian X., Yang M., Yu Y., Zhou Y., Gao Y., Zhang L., Li Z., Xiao Y., Moses R. E., Li X., Zhang B. Procyanidin B2 promotes intestinal injury repair and attenuates colitis-associated tumorigenesis via suppression of oxidative stress in mouse. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2019;35(2):75–92. DOI: 10.1089/ars.2019.7911.

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1655](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1655)
УДК 615.31



Оригинальная статья / Research article

Сравнительная оценка антиоксидантных свойств и цитотоксической активности 2,2-дизамещенных 1,3-диоксолановых производных имидазола

С. С. Зыкова¹✉, М. В. Шустов¹, В. С. Талисманов²

¹ 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

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», 141701, Россия, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер., д. 9

✉ Контактное лицо: Зыкова Светлана Сергеевна. E-mail: zykova.sv@rambler.ru

ORCID: С. С. Зыкова – <https://orcid.org/0000-0002-7395-4951>; М. В. Шустов – <https://orcid.org/0000-0002-3379-3065>;
В. С. Талисманов – <https://orcid.org/0000-0003-0511-9943>.

Статья поступила: 17.11.2023

Статья принята в печать: 18.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Современная химиотерапия широко рассматривает роль активных форм кислорода (АФК) в лечении онкологических заболеваний. Использование средств, вызывающих повышение АФК является актуальным способом уничтожения опухолей. При этом имеются данные о возможности некоторых антиоксидантов приводить к гибели раковых клеток путем генерации свободнорадикальных форм кислорода вследствие нарушения клеточного гомеостаза. Используемая в исследовании комбинация методики применения биосенсора «Эколюм», данных антирадикальной активности и сведений о цитотоксичности соединений позволяет последовательно провести бюджетный скрининг антиоксидантной и антирадикальной активности и потенциально снизить необходимое количество дорогостоящих определений цитотоксичности с использованием опухолевых клеток.

Цель. Целью приведенного исследования является антиоксидантных свойств и цитотоксической активности 1,3-диоксолановых производных имидазола с использованием антиоксидантного, антирадикального и цитотоксического тестов *in vitro*.

Материалы и методы. Для проведения тестов были синтезированы 1,3-диоксолановые производные имидазола. Оценка антирадикальной проводилась посредством теста ДФПГ (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил). Тестирование антиоксидантной активности проводилось с применением биосенсора «Эколюм» в рамках модели окислительного стресса. Цитотоксическая активность исследовалась на культуре клеток GIST-T1 при помощи МТТ-теста (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид).

Результаты и обсуждение. Данные исследования антиоксидантной активности веществ с применением биосенсора «Эколюм» показали различную степень повреждения биосенсора при отсутствии антиоксидантного действия. В то же время, антирадикальный потенциал, изначально используемый для раскрытия возможного механизма антиоксидантного действия, фактически продемонстрировал возможный механизм токсического действия вещества 2с, поскольку оно, имея сравнимое с эталоном (тролокс) антирадикальное действие, обладает наиболее выраженной цитотоксичностью. Тем не менее, свойства вещества 2а показывают, что прямая корреляция, рассмотренная ранее, обнаруживается не во всех случаях.

Заключение. Исследование антиоксидантных свойств и цитотоксической активности 1,3-диоксолановых производных имидазола продемонстрировало актуальность дальнейшего поиска связей между результатами взаимодействия веществ с биосенсором «Эколюм» в условиях окислительного стресса, их антирадикальным потенциалом и цитотоксическими свойствами. Приведенная комбинация тестов потенциально позволит снизить стоимость скрининга, за счет применения доступного биосенсора, установить возможный механизм действия, направленный на окислительно-восстановительный баланс и подтвердить ранее полученные данные путем применения культуры опухолевых клеток.

Ключевые слова: антиоксиданты, культура клеток, *Escherichia coli*, окислительный стресс, химиотерапия

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

Вклад авторов. В. С. Талисманов занимался синтезом исследуемых веществ. С. С. Зыкова обеспечивала исследование как антирадикальной, так и цитотоксической активностей. М. В. Шустов оценивал активность веществ с применением биосенсора «Эколюм».

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Зыкова С. С., Шустов М. В., Талисманов В. С. Сравнительная оценка антиоксидантных свойств и цитотоксической активности 2,2-дизамещенных 1,3-диоксолановых производных имидазола. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):134–138. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1655](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1655)

Evaluation of the Antioxidant Properties and Cytotoxic Activity of 1,3-dioxolane Derivatives Imidazole

Svetlana S. Zykova¹✉, Maxim V. Shustov¹, Vladimir S. Talismanov²

¹ 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

² Moscow Institute of Physics and Technology, 9, Institutsky lane, Dolgoprudny, Moscow Region, 141701, Russia

✉ Corresponding author: Svetlana S. Zykova. E-mail: zykova.sv@rambler.ru

© Зыкова С. С., Шустов М. В., Талисманов В. С., 2023

© Zykova S. S., Shustov M. V., Talismanov V. S., 2023

ORCID: Svetlana S. Zykova – <https://orcid.org/0000-0002-7395-4951>; Maxim V. Shustov – <https://orcid.org/0000-0002-3379-3065>;
Vladimir S. Talismanov – <https://orcid.org/0000-0003-0511-9943>.

Received: 17.11.2023 Revised: 18.12.2023 Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Modern chemotherapy widely considers the role of antioxidant and pro-oxidant methods in the treatment of oncologic pathologies. The use of agents that cause an increase of ROS is a relevant way to destroy tumors. At the same time, there is evidence of the ability of some antioxidants to lead to the cancer cells apoptosis through the generation of free radical forms of oxygen due to disruption of cellular homeostasis. The combination of the «Ecolum» biosensor using technique, antiradical activity data, and information about the cytotoxicity of compounds used in the study allows us to consistently conduct low-cost screening of as antioxidant, as antiradical activities and potentially reduce the required number of expensive cytotoxicity determinations using tumor cells.

Aim. The main target of our work is the evaluation of antioxidant and cytotoxic activities of 1,3-dioxolane derivatives of imidazole using antioxidant, antiradical and cytotoxicity tests *in vitro*.

Materials and methods. To carry out this study, 1,3-dioxolane derivatives of imidazole were obtained. The antiradical tests was performed using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Antioxidant properties were assessed within the Ecolum biosensor in the state of oxidative stress. Cytotoxic activity was assessed in GIST-T1 cell culture using the MTT test (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide).

Results and discussion. Data from studies of the antioxidant activity of substances using the «Ecolum» biosensor showed varying degrees of damage to the biosensor in the absence of antioxidant action. The antiradical potential, initially used to reveal a possible mechanism of antioxidant action, actually demonstrated a possible mechanism of toxic action of substance 2c due to its antiradical effect comparable to the standard (Trolox), but the substance has the highest cytotoxicity. However, the properties of substance 2a shows that the direct correlation discussed earlier is not found in all cases.

Conclusion. The assessment of the antioxidant properties and cytotoxic activity of 1,3-dioxolane derivatives of imidazole demonstrated the relevance of further searching for connections between the results of substances binding with the Ecolum biosensor under conditions of oxidative stress, their antiradical potential and cytotoxic properties. This combination of tests will potentially reduce the cost of screening through the use of an available biosensor, establish a possible mechanism of action aimed at redox balance, and confirm previously obtained data through the use of tumor cell culture.

Keywords: antioxidants, cells, cultured, computer simulation, *Escherichia coli*, oxidative stress, chemotherapy

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. Vladimir S. Talismanov synthesized compounds. Svetlana S. Zykova studied the antiradical and cytotoxic activity of compounds. Maxim V. Shustov studied the activity of compounds using the «Ecolum» biosensor

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Zykova S. S., Shustov M. V., Talismanov V. S. Evaluation of the antioxidant properties and cytotoxic activity of 1,3-dioxolane derivatives imidazole. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):134–138. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1655](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1655)

ВВЕДЕНИЕ

Современная химиотерапия широко рассматривает роль активных форм кислорода (АФК) в лечении онкологических заболеваний. Использование средств, вызывающих повышение АФК является актуальным способом уничтожения опухолей [1, 2]. Применение подобных средств, к сожалению, также приводит к окислительным повреждениям нормальных тканей [3]. При этом имеются данные о возможности некоторых антиоксидантов приводить к гибели раковых клеток путем генерации свободнорадикальных форм кислорода вследствие нарушения клеточного гомеостаза [4–6]. Передовые исследования в области поиска противоопухолевых средств показывают, что ранее рассматриваемые лишь как антиоксиданты, флавоноиды также обладают значительным противоопухолевым потенциалом [7–9]. Используемая в исследовании комбинация методики применения биосенсора «Эколюм», данных антирадикальной ак-

тивности и сведений о цитотоксичности соединений позволяет последовательно провести бюджетный скрининг антиоксидантной и антирадикальной активности [10, 11] и потенциально снизить необходимое количество дорогостоящих определений цитотоксичности с использованием опухолевых клеток [12].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Синтетическая часть

Перед началом исследования были получены 1,3-диоксолановые производные имидазола.

Синтез 1,3-диоксолановых производных имидазола (рисунок 1, таблица 1) проводили в две стадии [11].

На первой стадии синтезировали 2,2-дизамещенные 4-хлорметил-1,3-диоксоланы конденсацией 3-хлор-1,2-пропандиола с кетонами.

Смесь 0,18 моль кетона, 0,36 моль 3хлор-1,2-пропандиола, 0,009 моль моногидрата п-толуолсульфокислоты кипятили в 200 мл бензола до отделения в

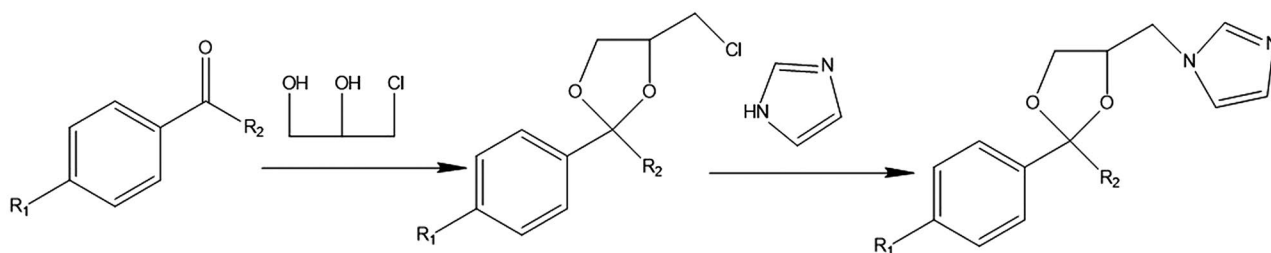


Рисунок 1. Общая схема синтеза 1,3-диоксолановых производных имидазола

Figure 1. General scheme for the synthesis of 1,3-dioxolane derivatives of imidazole

насадке Дина-Старка 3,5 мл воды (~8 ч.). Полученная смесь после охлаждения промывалась 2%-м раствором натрия гидроксида объемом 200 мл, после чего промывка повторялась 200 мл воды. Далее проводилась сушка над безводным магния сульфатом, упаривание бензола. Полученный маслянистый остаток фракционировался в вакууме. Получали продукты с выходами 80–95 %.

Таблица 1. Радикалы соединений 2a–2c

Table 1. Radicals of compounds 2a–2c

Вещество Compound	R ₁	R ₂
2a	Cl	4-хлорбензил 4-chlorobenzyl
2b	Cl	2,4-дихлорфенил 2,4-dichlorophenyl
2c	Br	4-бромфенил 4-bromophenyl

На второй стадии полученными 2,2-дизамещенными 4-хлорметил-1,3-диоксоланами алкилировали натриевые соли имидазола.

Смесь 0,03 моль 2,2-дизамещенного 4-хлорметил-1,3-диоксолана и 0,03 моль натриевой соли имидазола кипятили в 50 мл диметилформамида 16 часов, охлаждали, фильтровали, фильтрат упаривали. Остаток растворяли в 50 мл хлороформа и промывали водой (2 × 25 мл), сушили над сульфатом натрия, хлороформ упаривали. Получали 60–80 % технического продукта, содержащего побочные продукты алкилирования азолов. Технический продукт очищали с помощью градиентной флеш-хроматографии на силикагеле, элюент – смесь гексана и ацетона от 10:1 до 5:2. После элюирования элюаты упаривали. Получали 1,3-диоксолановые производные имидазола с выходами 35–60 % в виде некристаллизующихся масел. При необходимости целевые продукты переводили в кристаллические оксалаты, используя растворы щавелевой кислоты в ацетоне.

Фармакологическая часть

Определение антирадикального потенциала проводилось при помощи спектрофотометрического метода определения – ДФПГ (DPPH, 2,2-дифенилпи-

крил-1-гидразил). Определяемая смесь состояла из 10 микролитров раствора соединения 2a–2c, либо тролокса в диметилсульфоксиде из расчета 1 миллимоль в 1 мл, 1 мл ТРИС-буфера и 1 мл этанола 95%-го. После определения оптической плотности смеси в приборе СФ-2000 (ОКБ Спектр, Россия) при длине волны 517 нанометров происходило добавление 1 мл раствора DPPH концентрации $6,5 \times 10^{-5}$ М. Данная смесь экспонировалась в условиях низкой освещенности и комнатной температуры в течение получаса перед измерением. Ингибирующий эффект рассчитывали по формуле:

$$Q = 100 (D_0 - D_x) / D_0, \quad (1)$$

где D_0 – оптическая плотность контрольного раствора ДФПГ; D_x – оптическая плотность раствора ДФПГ в присутствии исследуемого вещества либо раствора эталона сравнения за вычетом оптической плотности раствора, измеренной до добавления ДФПГ. В качестве эталона сравнения использовался тролокс (Trolox) – водорастворимая форма витамина E (Sigma-Aldrich, США).

Ингибирование флуоресцентной активности при окислительном стрессе биосенсора «Эколюм» в присутствии перекиси водорода проводилось с использованием ридера для микропланшет Synergy H1 (BioTek, США).

В лунку 96-луночного планшета помещались 100 мкл. бульона LB по Ленноксу (ООО «Диаэм», Россия), 50 мкл. культуры клеток биосенсора «Эколюм», 25 мкл раствора исследуемого вещества в диметилсульфоксиде (5 мг вещества растворялось в 1 мл растворителя), либо контрольный объем растворителя, а также 25 мкл 3%-го раствора перекиси водорода. Флуориметрия производилась после 40 минут выдержки смеси при температуре 37 °С при длине волны возбуждения 490 нм и длине волны флуоресценции 585 нм. Полученные значения использовались в формуле:

$$\text{ИФА} = (X_1 - X_2) / X_1 \times 100 \%, \quad (2)$$

где X_1 – флуоресценция лунки контроля ДМСО; X_2 – флуоресценция лунки с исследуемым веществом.

Цитотоксическая активность соединений *in vitro* проводилась спектрофотометрически посредством оценки жизнеспособности культуры клеток гастроинтестинальных стромальных опухолей линии GIST-T1 с помощью МТТ-теста (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид). Тест основан на способности жизнеспособных клеток восстанавливать тетразолиевые красители до нерастворимого формазана, обладающего специфичной детектируемой окраской.

Клеточная культура засеивалась в лунки плоскостонного 96-луночного культурального планшета (Costar, США), в которые также были добавлены среда RPMI-1640 (ООО «ПанЭКО», Россия) с добавлением L-глутамин (Gibco), 1%-ая смесь пенициллина и стрептомицина (ООО «ПанЭКО», Россия) и 10 %-й эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США).

После достижения плотности покрытия поверхности лунок клетками более 70 % в смесь вводили исследуемые соединения и препарат сравнения (Гефитиниб, Sigma-Aldrich, США) в различных концентрациях.

Клетки инкубировали 1–2 суток при 37 градусах Цельсия, во влажной атмосфере, содержащей 5%-го углекислого газа.

МТТ-тест проводили с использованием реагента Cell Titer 96® AQueous MTS Reagent (Promega, США) и ридера для микропланшет SpectraFluor Plus (Tecan, Швейцария).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фармакологическая часть

Как видно из таблицы 1, вещества проявили антирадикальное, а также цитотоксическое действие, которое выражается как соответствующим тестом, так и ослаблением флуоресценции биосенсора. Также, кроме 2b, соединения показали наличие антирадикального потенциала. Цитотоксическое действие соединений выражено на уровне препарата сравнения гефитиниба (таблица 2).

Обсуждение

Таким образом, данные теста антиоксидантной активности с применением биосенсора «Эколюм» показали различную степень повреждения биосенсора.

В то же время, антирадикальный потенциал, изначально используемый для раскрытия возможного механизма антиоксидантного действия, фактически продемонстрировал возможный механизм токсического действия вещества 2c, поскольку оно, имея сравнимое с эталоном (тролокс) антирадикальное действие, обладает наиболее выраженной цитотоксичностью.

Тем не менее, свойства вещества 2a показывают, что прямая корреляция, рассмотренная ранее, обнаруживается не во всех случаях, что может быть

обусловлено различиями сайтов связывания клеток *E. coli* штамма «Эколюм» и культуры GIST-T1, а также различными активными центрами молекул, действующими как во взаимодействии с клетками, так и при оценке антирадикального потенциала.

Таблица 2. Результаты антиоксидантной, антирадикальной активности и цитотоксичность производных 1,3-диоксолановых производных имидазола

Table 2. Results of antioxidant, antiradical activity and cytotoxicity of 1,3-dioxolane derivatives of imidazole

№	Соединения Compounds	Ингибирование флуоресцентной активности, % Fluorescent activity inhibition, %	Убыль радикалов, % Loss of radicals, %	IC ₅₀ , nM
1	2a	11,14	19,5	40735
2	2b	6,77	7,1	47535
3	2c	4,20	21,6	29053
5	Тролокс Trolox	–2,11	43,65	–
6	Гефитиниб Gefitinib	–	–	20611

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование антиоксидантных свойств и цитотоксической активности 2,2-дизамещенных 1,3-диоксолановых производных имидазола продемонстрировало актуальность дальнейшего поиска связей между результатами взаимодействия веществ с биосенсором «Эколюм» в условиях окислительного стресса, их антирадикальным потенциалом и цитотоксическими свойствами. Приведенная комбинация тестов потенциально позволит снизить стоимость скрининга, за счет применения доступного биосенсора, установить возможный механизм действия, направленный на окислительно-восстановительный баланс и подтвердить ранее полученные данные путем применения культуры опухолевых клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sahoo B. M., Banik B. K., Borah P., Jain A. Reactive Oxygen Species (ROS): Key Components in Cancer Therapies. *Anticancer Agents Med Chem.* 2022;22(2):215–222. DOI: 10.2174/1871520621666210608095512.
2. Nakamura H., Takada K. Reactive oxygen species in cancer: Current findings and future directions. *Cancer Sci.* 2021; 112(10):3945–3952. DOI: 10.1111/cas.15068.
3. Perillo B., Di Donato M., Pezone A., Di Zazzo E., Giovannelli P., Galasso G., Castoria G., Migliaccio A. ROS in cancer therapy: the bright side of the moon. *Exp Mol Med.* 2020;52(2):192–203. DOI: 10.1038/s12276-020-0384-2.
4. Вострикова С. М., Гринев А. Б., Гогвадзе В. Г. Активные формы кислорода и антиоксиданты в канцерогенезе и терапии опухолей. *Биохимия.* 2020;85(10):1474–1488.
5. Cheung E. C., Vousden K. H. The role of ROS in tumour development and progression. *Nat Rev Cancer.* 2022;22(5):280–297. DOI: 10.1038/s41568-021-00435-0.

6. Iman M., Taheri M., Bahari Z. The anti-cancer properties of neem (*Azadirachta indica*) through its antioxidant activity in the liver: its pharmaceuticals and toxic dosage forms. A literature review. *J Complement Integr Med.* 2021;19(2):203–211. DOI: 10.1515/jcim-2021-0009.
7. Slika H., Mansour H., Wehbe N., Nasser S. A., Iratni R., Nasrallah G., Shaito A., Ghaddar T., Kobeissy F., Eid A. H. Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms. *Biomed Pharmacother.* 2022;146:112442. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112442.
8. Hazafa A., Rehman K. U., Jahan N., Jabeen Z. The Role of Polyphenol (Flavonoids) Compounds in the Treatment of Cancer Cells. *Nutr Cancer.* 2020;72(3):386–397. DOI: 10.1080/01635581.2019.1637006.
9. Tang S. M., Deng X. T., Zhou J., Li Q. P., Ge X. X., Miao L. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. *Biomed Pharmacother.* 2020;121:109604. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109604.
10. Munteanu, I. G., Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22:3380. DOI: 10.3390/ijms22073380.
11. Talismanov V. S., Popkov. S. V. Synthesis and fungicidal activities of 1-[(2,2-diaryl-1,3-dioxolan-4-yl) methyl]-1H-azoles. *Russian Chemical Bulletin.* 2007;56:975–979. DOI: 10.1007/s11172-007-0147-4.
12. Буйко Е. Е., Зыкова М. В., Иванов В. В. и др. Антиоксидантная активность серебросодержащих бионаноконпозиций на основе гуминовых веществ в культуре клеток. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(4):46–53. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-46-53.
3. Perillo B., Di Donato M., Pezone A., Di Zazzo E., Giovannelli P., Galasso G., Castoria G., Migliaccio A. ROS in cancer therapy: the bright side of the moon. *Exp Mol Med.* 2020;52(2):192–203. DOI: 10.1038/s12276-020-0384-2.
4. Vostrikova S. M., Grinev A. B., Gogvadze V. G. Reactive oxygen species and antioxidants in carcinogenesis and tumor therapy. *Biochemistry.* 2020;85(10):1474–1488. (In Russ.)
5. Cheung E. C., Vousden K. H. The role of ROS in tumour development and progression. *Nat Rev Cancer.* 2022;22(5):280–297. DOI: 10.1038/s41568-021-00435-0.
6. Iman M., Taheri M., Bahari Z. The anti-cancer properties of neem (*Azadirachta indica*) through its antioxidant activity in the liver: its pharmaceuticals and toxic dosage forms. A literature review. *J Complement Integr Med.* 2021;19(2):203–211. DOI: 10.1515/jcim-2021-0009.
7. Slika H., Mansour H., Wehbe N., Nasser S. A., Iratni R., Nasrallah G., Shaito A., Ghaddar T., Kobeissy F., Eid A. H. Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms. *Biomed Pharmacother.* 2022;146:112442. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112442.
8. Hazafa A., Rehman K. U., Jahan N., Jabeen Z. The Role of Polyphenol (Flavonoids) Compounds in the Treatment of Cancer Cells. *Nutr Cancer.* 2020;72(3):386–397. DOI: 10.1080/01635581.2019.1637006.
9. Tang S. M., Deng X. T., Zhou J., Li Q. P., Ge X. X., Miao L. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. *Biomed Pharmacother.* 2020;121:109604. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109604.
10. Munteanu, I. G., Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22:3380. DOI: 10.3390/ijms22073380.
11. Talismanov V. S., Popkov. S. V. Synthesis and fungicidal activities of 1-[(2,2-diaryl-1,3-dioxolan-4-yl) methyl]-1H-azoles. *Russian Chemical Bulletin.* 2007;56:975–979. DOI: 10.1007/s11172-007-0147-4.
12. Buyko E. E., Zykova M. V., Ivanov V. V., Bratishko K. A., Ufandeev A. A., Grigorieva I. O., Tsupko A. V., Mikhalyov D. A., Perminova I. V., Belousov M. V. Antioxidant activity of silver-containing biobionanocompositions based on humic substances in cell culture. *Drug development & registration.* 2021;10(4):46–53. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-46-53.

REFERENCES

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1591](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1591)
УДК 615.262.2 + 615.454.1 + 547.589.4



Оригинальная статья / Research article

Оценка влияния новых производных солей 2,4-диоксобутановых кислот на поведенческие реакции лабораторных животных

А. И. Краснова✉, В. Д. Полежаева, Н. А. Пулина

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: Краснова Анастасия Ивановна. E-mail: krasnova_ai@mail.ru

ORCID: А. И. Краснова – <https://orcid.org/0000-0002-5363-8783>; В. Д. Полежаева – <https://orcid.org/0009-0000-9117-3772>;
Н. А. Пулина – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>.

Статья поступила: 02.10.2023

Статья принята в печать: 19.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Коррекция патологической тревоги является на данный момент важной задачей современной фармакологии, поскольку тревожные расстройства являются одними из наиболее распространенных психических заболеваний. С учетом тенденции постоянного роста уровня заболеваемости тревожно-депрессивными расстройствами (ТДР) в мире, растет актуальность поиска различных инструментов изучения данной группы заболеваний и создания безопасных, высокоэффективных лекарственных препаратов для фармакотерапии ТДР.

Цель. Изучение новых производных солей 2,4-диоксобутановых кислот, содержащих фрагменты бензимидазольного и пиримидинового циклов, на поведенческие реакции животных.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовались синтезированные нами соли 4-метоксифенил-4-оксобут-2-еновой кислоты с гетероциклическими аминами. Поведенческие реакции животных на введение исследуемых соединений были оценены при помощи ряда тестов: «открытое поле», «черно-белая камера», «экстраполяционное избавление», «принудительное плавание».

Результаты и обсуждение. Результаты экспериментов позволили выявить потенциально активное соединение 1b, у которого отмечалось улучшение ряда показателей двигательной активности животных и противотревожное действие. Кроме того, при введении вещества 1b наблюдается проявление антидепрессивной активности в условиях острой стресс-ситуации.

Заключение. Проведено исследование влияния впервые полученных соединений 1a, 1b на поведенческие реакции животных. Осуществлен анализ «структура-активность» с установлением приоритета дальнейшего целенаправленного синтеза солей производных 2,4-диоксобутановых кислот, содержащих фрагмент 2-аминопиримидина. Выявлено соединение с нейрорепрессивным профилем активности, рекомендуемое для дальнейшего углубленного изучения.

Ключевые слова: ароилпировиноградные кислоты, бензимидазол, пиримидин, «открытое поле», «черно-белая камера», «экстраполяционное избавление», «принудительное плавание»

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

Вклад авторов. А. И. Краснова провела фармакологическую часть исследований. В. Д. Полежаева выполнила синтез соединений и проанализировала их спектральные характеристики и физико-химические свойства. Н. А. Пулина являлась куратором исследования и рецензентом текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании статьи.

Для цитирования: Краснова А. И., Полежаева В. Д., Пулина Н. А. Оценка влияния новых производных солей 2,4-диоксобутановых кислот на поведенческие реакции лабораторных животных. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):139–145. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1591](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1591)

Evaluation of New Derivatives of 2,4-dioxobutanoic Acid Salts in Behavioral Studies of Laboratory Animals

Anastasia I. Krasnova✉, Valeria D. Polezhaeva, Natalya A. Pulina

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: Anastasia I. Krasnova. E-mail: krasnova_ai@mail.ru

ORCID: Anastasia I. Krasnova – <https://orcid.org/0000-0002-5363-8783>; Valeria D. Polezhaeva – <https://orcid.org/0009-0000-9117-3772>;
Natalya A. Pulina – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>.

Received: 02.10.2023

Revised: 19.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Correction of pathological anxiety is currently an important task of modern pharmacology, since anxiety disorders are among the most common mental illnesses. Taking into account the trend of a constant increase in the incidence of anxiety and depressive disorders (ADD) in the world, the urgency of searching for various tools for studying this group of diseases and creating safe, highly effective drugs for the pharmacotherapy of ADD is growing.

© Краснова А. И., Полежаева В. Д., Пулина Н. А., 2023

© Krasnova A. I., Polezhaeva V. D., Pulina N. A., 2023

Aim. The study of new derivatives of salts of 2,4-dioxobutanoic acids containing fragments of benzimidazole and pyrimidine cycles on behavioral reactions of animals.

Materials and methods. The salts of 4-methoxyphenyl-4-oxobut-2-enoic acid with heterocyclic amines synthesized by us were used as objects of research. Behavioral reactions of animals to the introduction of the studied compounds were evaluated using a number of tests: "open field", light/dark box", "extrapolation escape task", "forced swim".

Results and discussion. The results of the experiments made it possible to identify a potentially active compound 1b, which showed an improvement in a number of indicators of motor activity of animals and an anti-anxiety effect. In addition, with the introduction of substance 1b, there is a manifestation of antidepressant activity in an acute stress situation.

Conclusion. The effect of compounds 1a, 1b obtained for the first time on the behavioral reactions of animals was studied. The "structure-activity" analysis was carried out with the establishment of the priority of further targeted synthesis of salts of 2,4-dioxobutane acid derivatives containing a fragment of 2-aminopyrimidine. A compound with a neuropsychotropic activity profile has been identified, which is recommended for further in-depth study.

Keywords: aroylpiruvic acids, benzimidazole, pyrimidine, "open field", light/dark box", "extrapolation escape task", "forced swim"

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. Anastasia I. Krasnova carried out the pharmacological part of the research. Valeria D. Polezhaeva performed the synthesis of compounds and analyzed their spectral characteristics and physicochemical properties. Natalya A. Pulina was the curator of the study and reviewer of the article. All authors participated in discussing the results and writing the article.

For citation: Krasnova A. I., Polezhaeva V. D., Pulina N. A. Evaluation of new derivatives of 2,4-dioxobutanoic acid salts in behavioral studies of laboratory animals. *Drug development & registration*. 2023;12(4-1):139-145. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1591](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1591)

ВВЕДЕНИЕ

Коррекция патологической тревоги является на данный момент важной задачей современной фармакологии, поскольку тревожные расстройства являются одними из наиболее распространенных психических заболеваний [1, 2], а тревога как симптом широко распространена при всех психических заболеваниях. Тесная взаимосвязь тревожности и ее проявлений со стрессом – ситуацией, которая объективно или субъективно представляет угрозу для существования организма [3, 4], обуславливает, по-видимому, тенденцию постоянного роста уровня заболеваемости тревожно-депрессивными расстройствами (ТДР) в мире [5]. Учитывая вышесказанное, растет актуальность поиска различных инструментов изучения данной группы заболеваний и создания лекарственных препаратов для фармакотерапии ТДР с максимальным профилем безопасности и приемлемыми фармакокинетическими параметрами.

Перспективным направлением является поиск биологически активных соединений со структурой на основе производных α -оксокарбоновых кислот, поскольку они являются удобными конструкционными блоками в комбинаторном синтезе, обладая при этом выраженным фармакологическим действием [6–9]. Высокая биологическая активность данных производных, возможно, обусловлена присутствием в структуре природного фрагмента пировиноградной кислоты, который обладает способностью включаться в нормальный обмен веществ [10]. Определенный ин-

терес могут представлять производные солей 2,4-диоксобутановых кислот, содержащие бензимидазольный или пириимидиновый фрагменты, поскольку объединение двух привилегированных подструктур – аройлпировиноградной кислоты и фармакофорного гетероцикла, которые обладают самостоятельным широким спектром фармакологических активностей, – позволяет ожидать потенцирование терапевтических эффектов и получение высокоактивных субстанций с низким риском развития неблагоприятных реакций. Представляло интерес осуществление синтеза солей на основе 4-фенил-2,4-диоксобутановых кислот, содержащих фрагменты бензимидазола, пириимидина и изучение их влияния на поведенческие реакции экспериментальных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись впервые синтезированные соли на основе 4-метоксифенил-4-оксобут-2-еновой кислоты, содержащие в качестве фармакофорных фрагментов 2-аминобензимидазол и 2-аминопириимидин – соединения 1a и 1b соответственно. Синтез проводился по известной методике [11]. Структура соединений была доказана с помощью данных ИК-, ЯМР ^1H -спектроскопии. Синтезированные вещества представляли собой аморфные порошки белого цвета, растворимые в воде. Исследования проводили на 90 нелинейных половозрелых белых крысах обоих полов массой 180–220 г и 30 нелинейных половозрелых белых мышах обоих полов

массой 18–22 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария при 12-часовом световом цикле, в пластиковых клетках на подстилке из древесных стружек мягких пород группами не более шести особей в одной клетке со свободным доступом к пище и воде. Содержание животных и все манипуляции с ними во время проведения исследований выполнялись с соблюдением всех правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ¹, в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, а также с учетом Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных. Поведенческие реакции животных изучались путем проведения ряда тестов²: «открытое поле», «черно-белая камера», «экстраполяционное избавление», «принудительное плавание» [12, 13].

Животные были разделены на группы ($n = 6$) методом стратификации (на основании значения массы тела), с индивидуальным значением массы, не отклоняющимся от среднего значения более чем на $\pm 10\%$: 1–3 группы состояли из крыс, получавших соединение 1a с последующим тестированием в установках «открытое поле», «черно-белая камера», «экстраполяционное избавление» соответственно, 4–6 группы крыс получали соединение 1b с последующим проведением экспериментов в указанных тестах соответственно. Группы крыс 7–9 получали препарат сравнения флуоксетин (Флуоксетин Ланнахер, капсулы 20 мг, производства GL Pharma GmbH, Австрия, серия № G02666, срок годности до 12.2025); группы 10–12 – препарат сравнения гидроксизина гидрохлорид (Атаракс®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой 25 мг, производства UCB Pharma S.A., Chemin du Foriest, B-1420 Braine-l'Alleud, Бельгия, серия №370597, срок годности до 10.2027) с последующим тестированием в установках «открытое поле», «черно-белая камера», «экстраполяционное избавление» соответственно; группы крыс 13–15 – получали эквивалентный объем 0,9%-м хлорида натрия (натрия хлорид Solopharm 0,9%-й раствор для инфузий, производства ООО «Гротекс», Россия, серия 5120922, срок годности до 08.2027) с последующим проведением указанных выше поведенческих тестов соответственно. Экспериментальные мыши были разделены на 5 групп ($n = 6$) – 1–4 группы получали соединения 1a, 1b, препараты сравнения флуоксетин, гидроксизина гидрохлорид с последующим тестированием в тесте «принудительное плавание» соответственно; 5-я группа мы-

шей получала получали эквивалентный объем хлорид натрия с последующим проведением указанного теста. Во всех исследованиях изучаемые соединения и препараты сравнения флуоксетин, гидроксизина гидрохлорид вводили однократно внутривентрикулярно за 60 минут до начала тестов в ранее апробированной для подобного ряда соединений скрининговой дозе 50 мг/кг [11]. За 2 дня до начала тестирования животных рассаживали в индивидуальные клетки того же размера, чтобы исключить влияние группового эффекта.

С помощью метода «Открытое поле», оценивали уровень эмоционально-поведенческой реактивности животных. Арена для «Открытого поля» представляет собой круг из белого пластика диаметром 63 см, высотой 32 см, расчерченный на центральный круг и два кольца периферических секторов (6 и 12 соответственно) с 13 отверстиями диаметром 1 см, освещаемый лампой мощностью 100 Вт, подвешенной на высоте 1,5 м от дна арены. Крыс помещали непосредственно в центральный круг (без подготовительного бокса), что создавало условия для регистрации реакции животного на эмоциогенный фактор «неожиданность» и далее в течение 3 минут регистрировали показатели горизонтальной (количество пересеченных квадратов), вертикальной (число подъемов на задние лапы – стоек) и исследовательской (количество исследованных отверстий) двигательной активности животных, а также показатели эмоциональной активности – груминг (число касаний морды лапами, умывание) и дефекация (количество болюсов) [13]. Для изучения поведения в условиях переменной стрессогенности (при свободном выборе комфортных условий) животных помещали в «черно-белую камеру», с последующей регистрацией в течение 3 минут времени, прошедшего от момента посадки животного на светлую сторону до первого перехода в темный отсек установки [латентный период (ЛП)], общего времени пребывания в светлом отсеке [13]. Для изучения поведения крыс в условиях острой стресс-ситуации помещали в установку «Экстраполяционное избавление», представляющую собой цилиндрическую емкость (высота 40 см, диаметр 35 см), в которую до определенного уровня наливается прохладная вода ($t = 18–19\text{ }^{\circ}\text{C}$). В центре емкости вертикально закреплен цилиндр, нижняя часть которого опущена в воду на 2,5 см. Животное помещали хвостом вниз во внутренний цилиндр и в течение 3 минут регистрировали латентный период подныривания под край цилиндра и % животных, решивших экстраполяционную задачу. При осуществлении теста принудительного плавания экспериментальных мышей на 5 минут помещали в установку, представляющую собой прозрачный цилиндр, наполненный водой температурой $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, с последующей оценкой латентного периода времени наступления момента иммобилизации в секундах [13].

¹ Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Зарегистрировано в Минюсте России 15.08.2016, № 43232.

² Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.

Полученные экспериментальные данные статистически обрабатывали с использованием программного обеспечения STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., США для операционной системы Windows) и расширенного пакет-анализа Microsoft Excel 2018, с вычислением среднего значения, стандартного отклонения ($M \pm m$) и стандартной ошибки. Нормальность распределения полученных результатов проверяли с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для оценки средних значений двух независимых групп данных в случае нормального распределения применялся непарный t-критерий Стьюдента, при ненормальном распределении – непараметрический U-критерий Манна – Уитни. Гипотезу о существовании различий между выборками принимали при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что в тесте «открытое поле» введение крысам соединения 1b с 2-аминопиримидиновым фрагментом сопровождалось достоверным превышением ($p < 0,05$) показателей локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности по сравнению с контрольной группой животных, а также препаратами сравнения (рисунок 1).

При этом введение вещества 1a не вызывало существенных изменений поведения экспериментальных животных в «открытом поле» по сравнению с контролем. Следует отметить, что введение флуоксетина вызывало достоверное снижение вер-

тикальных вставаний животных по сравнению с контрольной группой и гидроксизина гидрохлоридом, а также наблюдалась тенденция к уменьшению числа пересеченных квадратов (внешних), что свидетельствует в целом о некотором негативном влиянии препарата на показатели двигательной активности животных. Полученные в «открытом поле» результаты могут свидетельствовать об отсутствии у соединения 1b негативного влияния на двигательную активность животных и возможном анксиолитическом профиле его действия, значимо отличающемся от препаратов сравнения.

Тестирование поведения экспериментальных животных в «черно-белой камере» также позволяет оценить уровень тревожности с выявлением анксиолитического или анксиогенного профиля активности. Согласно полученным данным, при введении вещества 1b наблюдалось достоверное увеличение ($p < 0,05$) общего времени, проведенного крысами в светлом отсеке, по сравнению с контрольной группой и флуоксетином, что согласуется с результатами теста «открытое поле» и может быть расценено как проявление противотревожного действия (рисунок 2).

Полученные данные у соединения 1a были сопоставимы с результатами контрольной группы. Важно, что введение флуоксетина и гидроксизина гидрохлорида также не сопровождалось существенными изменениями в поведении животных, что по-видимому связано с особенностями фармакокинетики препаратов и спектра их психотропной активности.

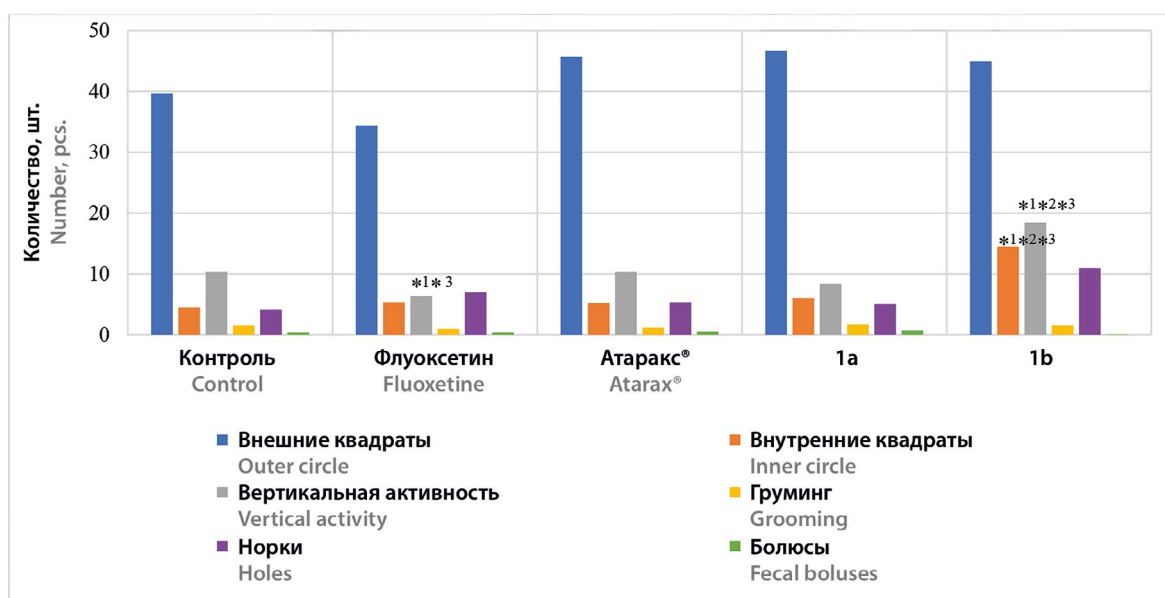


Рисунок 1. Влияние исследуемых веществ на поведенческие реакции в тесте «открытое поле».

Примечание. * $p < 0,05$; 1 – по сравнению с контрольной группой; 2 – по сравнению с флуоксетином; 3 – по сравнению с Атаракс®

Figure 1. Effects of compounds on animal behavior in «open field» test.

Note. * $p < 0,05$; 1 – compared to control group; 2 – compared to fluoxetine; 3 – compared to Atarax®

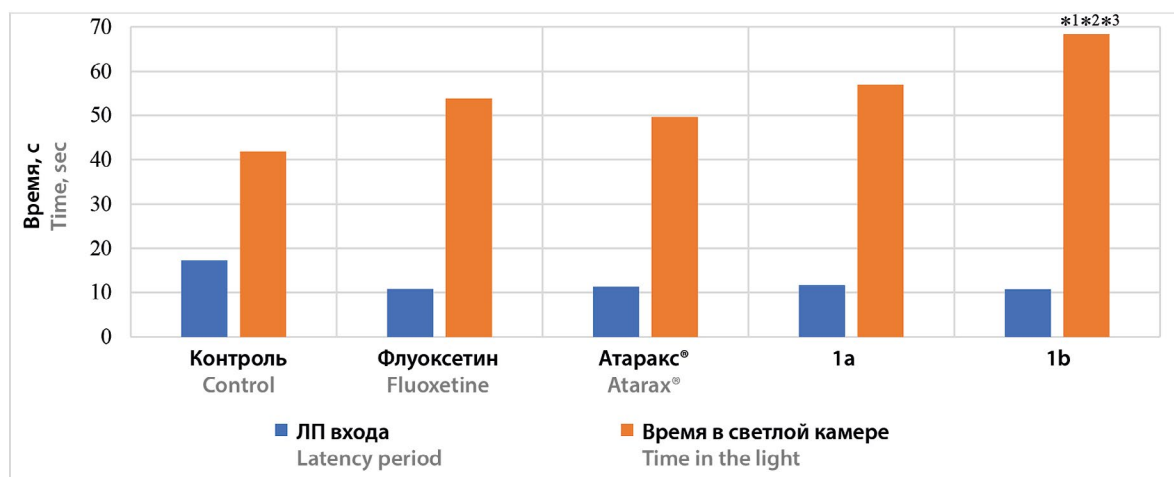


Рисунок 2. Влияние соединений на тревожные реакции животных в тесте «черно-белая камера».

Примечание. * $p < 0,05$; 1 – по сравнению с контрольной группой; 2 – по сравнению с флуоксетином; 3 – по сравнению с Атаракс®

Figure 2. Effects of compounds on the anxiety reactions of animals in the light/dark box test.

Note. * $p < 0,05$; 1 – compared to control group; 2 – compared to fluoxetine; 3 – compared to Atarax®

В тесте «экстраполяционное избавление» все животные, получавшие исследуемые соединения успешно выполнили задачу избавления от аверсивной среды. При этом животные, получавшие вещество 1b, быстрее решали данную задачу по сравнению как с контрольной группой ($p < 0,05$), так и с препаратами сравнения ($p < 0,01$), что может характеризоваться как положительное влияние на когнитивный потенциал животных в условиях острой стресс-ситуации и возможное проявление антидепрессивного действия (рисунок 3).

Для подтверждения наличия возможной антидепрессивной активности соединения 1b нами был проведен тест «принудительное плавание» на мышах (тест Порсолта), который позволяет судить о состоянии животного по наступлению момента его полно-

го отчаяния – прекращения активной деятельности и появлении характерной неподвижности (иммобилизации), при которой оно двигается только для того, чтобы держать голову над водой [14]. Как видно из приведенных в таблице данных, достоверных различий в латентном периоде первого эпизода иммобилизации при введении исследуемых веществ по сравнению с контролем выявлено не было, однако в случае введения соли 1b, наблюдается статистически незначимая тенденция к увеличению данного показателя, что свидетельствует о возможном уменьшении поведенческого отчаяния у экспериментальных животных. Препараты сравнения также не оказали существенного воздействия на продолжительность иммобилизации мышей в указанном тесте (таблица 1).

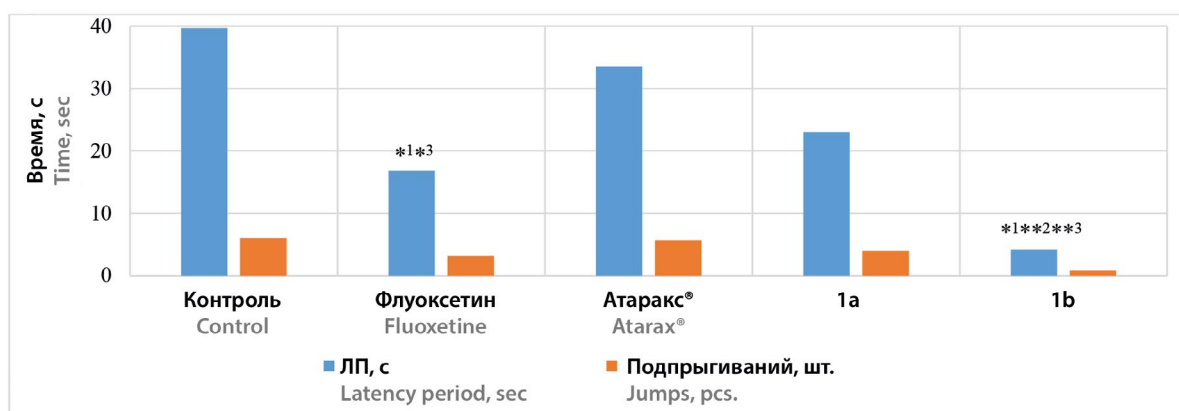


Рисунок 3. Влияние соединений на поведение животных в острой стресс-ситуации в тесте «экстраполяционное избавление».

Примечание. * $p < 0,05$; 1 – по сравнению с контрольной группой; 2 – по сравнению с флуоксетином; 3 – по сравнению с Атаракс®

Figure 3. Effects of compounds on animal behavior in an acute stress situation in the "extrapolation escape task".

Note. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; 1 – compared to control group; 2 – compared to fluoxetine; 3 – compared to Atarax®

Таблица 1. Влияние соединений на поведение животных в тесте принудительное плавание

Table 1. Effects of compounds on animal behavior in the "forced swim" test

Соединение Compound	Латентное время наступления иммобилизации, с Latency period of immobilization, sec
1a	254,2 ± 29,6
1b	296,6 ± 3,4
Атаракс® Atarax®	245,2 ± 18,9
Флуоксетин Fluoxetine	289,3 ± 6,7
Контроль Control group	235,3 ± 14,7

Проведенный анализ показал, что введение исследуемого соединения 1a не оказывает существенного влияния на поведенческие реакции животных (таблица 2).

Таблица 2. Сравнительная характеристика влияния изучаемых соединений на поведение животных

Table 2. Comparative characteristics of the effect of the studied compounds on animal behavior

Соединение Compound	Тесты Tests			
	«Открытое поле» "Open field"	«Черно-белая камера» "Light/dark box"	«Экстраполяционное избавление» "Extrapolation escape task"	«Принудительное плавание» "Forced swim"
1a	0	0	0	0
1b	+	+	+	±
Атаракс® Atarax®	0	0	0	0
Флуоксетин Fluoxetine	-	0	+	±

Примечания. «+» – Наличие позитивного влияния на поведение ($p < 0,05$). «±» – Статистически незначимая тенденция к наличию позитивного влияния на поведение ($p > 0,05$). «0» – Отсутствие влияния на поведение. «-» – Наличие негативного влияния на поведение ($p < 0,05$).

Note. "+" – The positive effects on behavior ($p < 0.05$). "±" – A statistically insignificant tendency towards the presence of the positive effects on behavior ($p > 0.05$). "0" – No effects on behavior. "-" – The negative effects on behavior ($p < 0.05$).

В свою очередь у соединения 1b выявлено проявление некоторых анксиолитических и антидепрессивных свойств, что возможно обусловлено наличием в качестве гетероциклического фрагмента 2-аминопиримидина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами было проведено исследование влияния впервые полученных соединений на основе 4-метоксифенил-4-оксобут-2-еновой кислоты на поведенче-

ские реакции животных. Осуществлен анализ «структура-активность» с установлением приоритета дальнейшего целенаправленного синтеза производных 2,4-диоксобутановых кислот, содержащих фрагмент 2-аминопиримидина. Выявлено соединение-лидер, с некоторым нейропсихотропным профилем активности, рекомендуемое для дальнейшего углубленного изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Stein D. J., Scott K. M., de Jonge P., Kessler R. C. Epidemiology of anxiety disorders: from surveys to nosology and back. *Dialogues Clin. Neurosci.* 2017;19(2):127–136. DOI: 10.31887/DCNS.2017.19.2/dstein.

2. Pinheiro Barcessat A. R., Nolli Bittencourt M., Góes Gonçalves R., Goncalves de Oliveira Cruz A. V., Coelho Pereira J. A., Bechelli F. A., Rinaldi A. REAC Neuromodulation treatments in depression, anxiety and stress. A comparative retrospective study. *Psychol. Res. Behav. Manag.* 2020;13:1247–1256. DOI: 10.2147/PRBM.S287143.

3. Carsten H. P., Härpfer K., Nelson B. D., Kathmann N., Riesel A. Don't worry, it won't be fine. Contributions of worry and anxious arousal to startle responses and event-related potentials in threat anticipation. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* 2023;23(4):1141–1159. DOI: 10.3758/s13415-023-01094-4.

4. Price R. B., Duman R. Neuroplasticity in cognitive and psychological mechanisms of depression: an integrative model. *Mol. Psychiatry.* 2020;25(3):530–543. DOI: 10.1038/s41380-019-0615-x.

5. De Kloet E. R., Joels M., Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005;6(6):463–475. DOI: 10.1038/nrn1683.

6. Пулина Н. А., Кузнецов А. С., Краснова А. И., Новикова В. В. Синтез, антимикробная активность и влияние на поведенческие реакции N-замещенных гидразидов 4-арил-2-гидроксифуран-4-карбоксилат-2-еновых кислот и их комплексных производных. *Химико-фармацевтический журнал.* 2019;53(3): 30–34.

7. Собин Ф. В., Пулина Н. А., Липатников К. В., Старкова А. В., Юшкова Т. А., Наугольных Е. А. Синтез, гемостатическая, противовоспалительная и антигельминтная активность производных 2-гидроксифуран-4-карбоксилат-2-еновой кислоты. *Химико-фармацевтический журнал.* 2020;54(10):21–25. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-10-21-25.

8. Собин Ф. В., Пулина Н. А., Новикова В. В. Изучение противогрибковой активности экспериментальных мягких лекарственных форм на основе гидразинопроизводного гетероцикла 4-фенил-2-гидроксифуран-4-карбоксилат-2-еновой кислоты. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2022;11(54):43–47. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-43-47.

9. Пулина Н. А., Собин Ф. В., Краснова А. И. Поиск отечественных фармацевтических субстанций в ряду металлокомплексов на основе (гет)ариламинов 4-арил-2-гидроксифуран-4-карбоксилат-2-еновых кислот. *Координационная химия.* 2023;49(10):644–650. DOI: 10.31857/S0132344X23600182.

10. Zangari J., Petrelli F., Maillot B., Martinou J. C. The multifaceted pyruvate metabolism: role of the mitochondrial pyruvate carrier. *Biomolecules.* 2020;10(7):1068. DOI: 10.3390/biom10071068.

11. Сыропятов Б. Я., Юшков В. В., Одегова Т. Ф., Залесов В. В., Мокин П. А., Пулина Н. А., Яценко К. В., Собин Ф. В. Синтез и биологическая активность солей гетероциклических аминов и гетероциклических аминов на основе 4-арил-2,4-диоксобутановых кислот. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2008;2:37–40.

12. Petković A., Chaudhury D. Encore: Behavioural animal models of stress, depression and mood disorders. *Front. Behav. Neurosci.* 2022;16:931964. DOI: 10.3389/fnbeh.2022.931964.

13. Самотруева М. А., Теплый Д. Л., Тюренков И. Н. Экспериментальные модели поведения. *Естеств. науки.* 2009;(2):140–152.

14. Kraeuter A. K., Guest P. C., Sarnyai Z. The forced swim test for depression-like behavior in rodents. In: Guest, P. (eds) *Pre-Clinical Models. Methods in Molecular Biology.* 2019;1916:75–80. DOI: 10.1007/978-1-4939-8994-2_5.

REFERENCES

1. Stein D.J., Scott K.M., de Jonge P., Kessler R.C. Epidemiology of anxiety disorders: from surveys to nosology and back. *Dialogues Clin. Neurosci.* 2017;19(2):127–136. DOI: 10.31887/DCNS.2017.19.2/dstein.
2. Pinheiro Barcessat A.R., Nolli Bittencourt M., Góes Gonçalves R., Goncalves de Oliveira Cruz A.V., Coelho Pereira J.A., Bechelli F.A., Rinaldi A. REAC Neuromodulation treatments in depression, anxiety and stress. A comparative retrospective study. *Psychol. Res. Behav. Manag.* 2020;13:1247–1256. DOI: 10.2147/PRBM.S287143.
3. Carsten H.P., Härpfer K., Nelson B.D., Kathmann N., Riesel A. Don't worry, it won't be fine. Contributions of worry and anxious arousal to startle responses and event-related potentials in threat anticipation. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* 2023;23(4):1141–1159. DOI: 10.3758/s13415-023-01094-4.
4. Price R.B., Duman R. Neuroplasticity in cognitive and psychological mechanisms of depression: an integrative model. *Mol. Psychiatry.* 2020;25(3):530–543. DOI: 10.1038/s41380-019-0615-x.
5. De Kloet E.R., Joels M., Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005;6(6):463–475. DOI: 10.1038/nrn1683.
6. Pulina N.A., Kuznetsov A.S., Krasnova A.I., Novikova V.V. Synthesis, antimicrobial activity, and behavioral response effects of N-substituted 4-aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoic acid hydrazides and their metal complexes. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2019;53(3):220–224. (In Russ.)
7. Sobin F.V., Pulina N.A., Lipatnikov K.V., Starkova A.V., Yushkova T.A., Naugol'nykh E.A. Synthesis and hemostatic, anti-inflammatory, and anthelmintic activity of 2-hydroxy-4-oxo-4-(thien-2-yl)but-2-enoic acid derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2021;54(10):1003–1007. (In Russ.)
8. Sobin F.V., Pulina N.A., Novikova V.V. Study of antifungal activity of experimental soft dosage form based on the hydrazone derivative of getarylamine 4-phenyl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acid. *Drug Development and Registration.* 2022;11(54):43–47. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-43-47.
9. Pulina N.A., Sobin F.V., Krasnova A.I. The search for domestic pharmaceutical substances among metal complexes based on (hetero)arylamides of 4-aryl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acids. *Russ. J. Coord. Chem.* 2023;49:672–679. (In Russ.) DOI: 10.1134/S1070328423600584
10. Zangari J., Petrelli F., Maillot B., Martinou J.C. The multifaceted pyruvate metabolism: role of the mitochondrial pyruvate carrier. *Biomolecules.* 2020;10(7):1068. DOI: 10.3390/biom10071068.
11. Syropyatov B.Ya., Yushkov V.V., Odegova T.F., Zalesov V.V., Mokin P.A., Pulina N.A., Yatsenko K.V., Sobin F.V. Synthesis and biological activity of salts of heterocyclic amines and heterarylamides based on 4-aryl-2,4-dioxobutane acids *Quest. of biol., medical and pharm. chemistry.* 2008;2:37–40. (In Russ.)
12. Petković A., Chaudhury D. Encore: Behavioural animal models of stress, depression and mood disorders. *Front. Behav. Neurosci.* 2022;16:931964. DOI: 10.3389/fnbeh.2022.931964.
13. Samotruieva M.A., Teplyy D.L., Tyurenkov I.N. Experimental models of behavior. *Natural Sciences.* 2009;2:140–152. (In Russ.)
14. Kraeuter A.K., Guest P.C., Saranyai Z. The forced swim test for depression-like behavior in rodents. In: Guest, P. (eds) *Pre-Clinical Models. Methods in Molecular Biology.* 2019;1916:75–80. DOI: 10.1007/978-1-4939-8994-2_5.

Оригинальная статья / Research article

Изучение противовоспалительной активности 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноатов гетариламмония, оказывающих действие на свертывающую систему крови

Ф. В. Собин[✉], Н. А. Пулина, С. В. Чашина, А. В. Старкова, И. П. Рудакова, Н. А. Бузмакова

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: Собин Федор Владимирович. E-mail: fff-2005@mail.ru

ORCID: Ф. В. Собин – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>; Н. А. Пулина – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
С. В. Чашина – <https://orcid.org/0000-0003-4427-310X>; А. В. Старкова – <https://orcid.org/0009-0004-2545-5180>;
И. П. Рудакова – <https://orcid.org/0000-0003-2227-8313>; Н. А. Бузмакова – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Статья поступила: 10.11.2023

Статья принята в печать: 19.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Актуально использование антикоагулянтов в терапевтической, кардиологической, неврологической практике, гериатрии, акушерстве и гинекологии, а также при осложнениях, связанных с инфекцией COVID-19 и вакцинацией. Ведутся углубленные исследования дополнительных плейотропных эффектов существующих антикоагулянтов. Обнаружено противовоспалительное действие гепаринов и прямых пероральных антикоагулянтов. Особый акцент делается на существующую тесную связь между коагуляцией и воспалительными процессами. Активно обсуждается взаимодействие антикоагулянтов с нестероидными противовоспалительными средствами при совместном приеме. Сочетание антикоагулянтного и противовоспалительного действия в одной химической молекуле может разрешить проблему полипрагмазии.

Цель. Изучить противовоспалительную активность перспективных 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноатов гетариламмония, оказывающих действие на свертывающую систему крови.

Материалы и методы. Для дальнейшего изучения противовоспалительной активности выбраны 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноаты гетариламмония, оказывающие действие на свертывающую систему крови. Противовоспалительное действие исследовали на модели острого воспалительного отека у беспородных крыс обоего пола массой 180–250 г. Изучаемые соединения вводили внутривенно в дозе 50 мг/кг. В качестве препаратов сравнения использовали субстанции диклофенака натрия и нимесулида, вводимые аналогично. Острую токсичность веществ, показавших активность, исследовали на белых нелинейных мышах обоего пола массой 18–22 г с определением ЛД₅₀.

Результаты и обсуждение. Все изученные 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноаты гетариламмония оказывают противовоспалительное действие различной степени выраженности. Данные по исследованию острой токсичности при внутривенном введении позволяют отнести изученные соединения к 4,5 классу классификации опасности химической продукции.

Заключение. Изучена противовоспалительная активность четырнадцати 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноатов гетариламмония. Пять бутеноатов оказывают действие ниже препаратов сравнения, восемь соединений сопоставимы с действием референтных препаратов, одно соединение превосходит нимесулид. Изученные соединения могут быть отнесены к 4,5 классу классификации опасности химической продукции. Выбраны лекарственные кандидаты для дальнейшего фармакологического, токсикологического и технологического изучения.

Ключевые слова: 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноаты гетариламмония, острая токсичность, противовоспалительная активность

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

Вклад авторов. Ф. В. Собин провел синтез целевых соединений, участвовал в исследовании противовоспалительной активности, принимал непосредственное участие в написании и корректировке статьи. Н. А. Пулина осуществляла научное руководство проведенных исследований, принимала участие в написании и рецензировании статьи. С. В. Чашина, А. В. Старкова, И. П. Рудакова изучили острую токсичность и противовоспалительную активность 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноатов гетариламмония, участвовали в обработке результатов и написании статьи. Н. А. Бузмакова приняла участие в синтезе и изучении исследуемых соединений. Данная статья была написана и согласована при участии всех авторов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке в рамках государственного задания Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (шифр 720000Ф.99.1.БН62АБ06000), 2023 год.

Для цитирования: Собин Ф. В., Пулина Н. А., Чашина С. В., Старкова А. В., Рудакова И. П., Бузмакова Н. А. Изучение противовоспалительной активности 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноатов гетариламмония, оказывающих действие на свертывающую систему крови. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):146–150. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1645](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1645)

Study of the Anti-inflammatory Activity of 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenates of Heterylammonium, which Have an Effect on the Blood Clotting System

Fedor V. Sobin[✉], Natalia A. Pulina, Svetlana V. Chashchina, Alla V. Starkova,
Irina P. Rudakova, Nadezhda A. Buzmakova

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: Fedor V. Sobin. E-mail: fff-2005@mail.ru

ORCID: Fedor V. Sobin – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>; Natalia A. Pulina – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
Svetlana V. Chashchina – <https://orcid.org/0000-0003-4427-310X>; Alla V. Starkova – <https://orcid.org/0009-0004-2545-5180>;
Irina P. Rudakova – <https://orcid.org/0000-0003-2227-8313>; Nadezhda A. Buzmakova – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Received: 10.11.2023

Revised: 19.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. The use of anticoagulants is relevant in therapeutic, cardiological, neurological practice, geriatrics, obstetrics and gynecology, as well as in complications associated with COVID-19 infection and vaccination. In-depth studies of additional pleiotropic effects of existing anticoagulants are being conducted. The anti-inflammatory effect of heparins and direct oral anticoagulants was found. Special emphasis is placed on the existing close relationship between coagulation and inflammatory processes. The interaction of anticoagulants with nonsteroidal anti-inflammatory drugs when taken together is actively discussed. The combination of anticoagulant and anti-inflammatory action in one chemical molecule can solve the problem of polypragmasia.

Aim. To study the anti-inflammatory activity of promising 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenates of heterylammonium, which have an effect on the blood clotting system.

Materials and methods. For further study of anti-inflammatory activity, 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenates of heterylammonium, which have an effect on the blood clotting system, were selected. The anti-inflammatory effect was studied on a model of acute inflammatory edema in mongrel rats of both sexes weighing 180–250 g. The studied compounds were administered intragastrically. Diclofenac sodium and nimesulide substances administered similarly were used as comparison drugs. Acute toxicity of substances that showed activity was studied on white nonlinear mice of both sexes weighing 18–22 g with the definition of LD₅₀.

Results and discussion. All the studied 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenates of heterylammonium have anti-inflammatory effects of varying severity. Data on the study of acute toxicity during intragastric administration, allow us to attribute the studied compounds to the 4.5 class of the hazard classification of chemical products.

Conclusion. The anti-inflammatory activity of 14 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenates of heterylammonium has been studied. Five butanoate have an effect lower than comparison drugs, eight compounds are comparable to the effect of reference drugs, one compound is superior to nimesulide. The studied compounds can be assigned to class 4,5 of the hazard classification of chemical products. Medicinal candidates have been selected for further pharmacological, toxicological and technological study.

Keywords: 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenate of heterylammonium, acute toxicity, anti-inflammatory 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. Fedor V. Sobin carried out the synthesis of target compounds, participated in the study of anti-inflammatory activity, took a direct part in writing and correcting the article. Natalia A. Pulina carried out scientific guidance of the research, took part in writing and reviewing the article. Svetlana V. Chashchina, Alla V. Starkova, Irina P. Rudakova studied acute toxicity and anti-inflammatory activity 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenates of heterylammonium, participated in the processing of the results and writing the article. Nadezhda A. Buzmakova took part in the synthesis and study of the studied compounds. This article was written and agreed upon with the participation of all the authors.

Funding. The study was carried out with financial support within the framework of the state task of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation (code 720000Ф.99.1.5Н62АБ06000), 2023.

For citation: Sobin F. V., Pulina N. A., Chashchina S. V., Starkova A. V., Rudakova I. P., Buzmakova N. A. Study of the anti-inflammatory activity of 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenates of heterylammonium, which have an effect on the blood clotting system. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):146–150. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1645](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1645)

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день использование антикоагулянтов является одним из ключевых направлений фармакотерапии многих патологических состояний. По-прежнему крайне актуально использование данной группы препаратов в терапевтической, кардиологической, неврологической практике, гериатрии, а также в акушерстве и гинекологии [1–4]. Дополнительный интерес связан с большим количеством тромботических осложнений, связанных с инфекцией COVID-19 и вакцинацией [4]. Ведутся углубленные исследования дополнительных плейотропных эффек-

тов существующих антикоагулянтов. Обнаружены противовирусное, противоопухолевое и противовоспалительное действие гепаринов и прямых пероральных антикоагулянтов. Особый акцент делается на существующей тесной связи между коагуляцией и воспалительными процессами в живом организме, вносящих свой вклад в физиопатологию некоторых состояний, таких как повышенная свертываемость крови и атеросклероз [5–9]. Активно обсуждается взаимодействие антикоагулянтов с нестероидными противовоспалительными средствами при совместном приеме, а также необходимость контроля их комплексного употребления и минимизации рис-

ков побочного действия [10–13]. Сочетание антикоагулянтного и противовоспалительного действия в одной химической молекуле может разрешить проблему полипрагмазии. Таким образом, наличие дополнительного выраженного флоголитического эффекта у существующих и разрабатываемых современных антикоагулянтов несомненно является фармакологически обоснованным, а также может стать конкурентным преимуществом перед уже существующими аналогами.

Ранее в процессе фармакологического скрининга по поиску соединений обладающих антикоагулянтным действием нами обнаружен ряд 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноатов гетариламмония, обладающих выраженным действием на систему свертывания крови. Представляется интересным изучить возможное дополнительное противовоспалительное действие перспективных соединений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для дальнейшего изучения противовоспалительной активности нами выделено четырнадцать 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноатов гетариламмония, которым были присвоены условные шифры от А до N. Все перспективные соединения были нами ресинтезированы по методикам, описанным ранее авторским коллективом данной статьи. Структура соединений подтверждена комплексом физико-химических методов исследований. Противовоспалительное действие перспективных соединений исследовали на модели острого воспалительного отека, моделированного введением субплантарно 1%-го водного раствора каррагинина (Zhejiang Top Hydrocolloids Co., Ltd., Китай, срок годности до 03.2024) в объеме 0,1 мл в заднюю левую лапу белым беспородным крысам обоего пола массой 180–250 г. О силе воспалительной реакции во времени делали заключение по изменению объема стопы, регистрируемой онкометрически (плетизмометр Ugo Basile). Изучаемые соединения вводили внутривенно в виде взвеси в 2%-м крахмальном растворе в дозе 50 мг/кг за 1 ч до введения флогенного агента¹. В качестве референтных препаратов применяли субстанцию диклофенака натрия производства АО «Усолье-Сибирский химфармзавод», Россия, срок годности до 11.2025 (ФС 002077-240920) в дозе 10 мг/кг, субстанцию нимесулида производства АО «Усолье-Сибирский химфармзавод», Россия, срок годности до 02.2025 (ФС 002069-100920) в дозе 50 мг/кг, вводимые аналогично. Результаты фармакологических испытаний обработаны статистически с помощью программ Windows XP (Excel) с использованием t-критерия Стьюдента и представлены на рисунке 1.

¹ Миронов А. Н., и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.

Острую токсичность веществ, показавших активность, исследовали на белых нелинейных мышах обоего пола массой 18–22 г с определением ЛД₅₀ на 6 животных (по методу Г. Н. Першина). Соединения вводили внутривенно в возрастающих дозах в виде взвеси в 2%-м крахмальном растворе из расчета 0,1 мл / 10 г однократно, после чего животные находились под наблюдением в течение 14 дней. Контрольным животным вводили эквивалентное количество 2%-го крахмального раствора².

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о том, что все изученные 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноаты гетариламмония оказывают противовоспалительное действие. Обнаружено, что пять бутеноатов А, В, D, F, M показывают действие ниже препаратов сравнения. Соединения С, Е, I оказали действие на уровне диклофенака натрия. Вещество G на первом часу наблюдения существенно уступает по выраженности действия препаратам сравнения, при дальнейшем проведении опыта показывает флоголитическое действие, сопоставимое с нимесулидом. Напротив соединения Н, J, K оказывают рапидный противовоспалительный эффект, сравнимый с нимесулидом на 1 ч наблюдения, затем происходит снижения фармакологического действия до уровня диклофенака натрия. У бутеноата L отмечено постепенное снижение фармакологического действия на протяжении всего времени проведения эксперимента. Наиболее выраженный фармакологический эффект обнаружен у соединения N, которое на 1 ч сопоставимо по эффекту с нимесулидом, а на 3 и 5 ч превосходит его показатели. Установлено, что переход от арильного радикала к фрагменту нафталина способен усилить выраженность противовоспалительного действия. При этом отмечено, что при вариативной смене 1-нафтила на 2-нафтил происходит увеличение флоголитической активности. Например, для пар соединений I и L, J и N.

Установлено, что соединения, содержащие в своей структуре тиазолиновый фрагмент, оказывают выраженное противовоспалительное действие, не зависимо от заместителя в 4 положении пирувата. Производные бензотазола показали свою эффективность на уровне диклофенака натрия. Наиболее выраженное действие оказывают вещества, содержащие в своей структуре фрагмент 1,3,4-тиадиазола. При этом отмечено, что при увеличении алкильной цепи в 5 положении гетероцикла происходит рост противовоспалительного эффекта.

Отмечено, что нет прямой связи выраженности антикоагулянтного действия с силой флоголитического эффекта. Однако, установлено, что все исследованные соединения, показавшие ранее фармако-

² Миронов А. Н., и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.

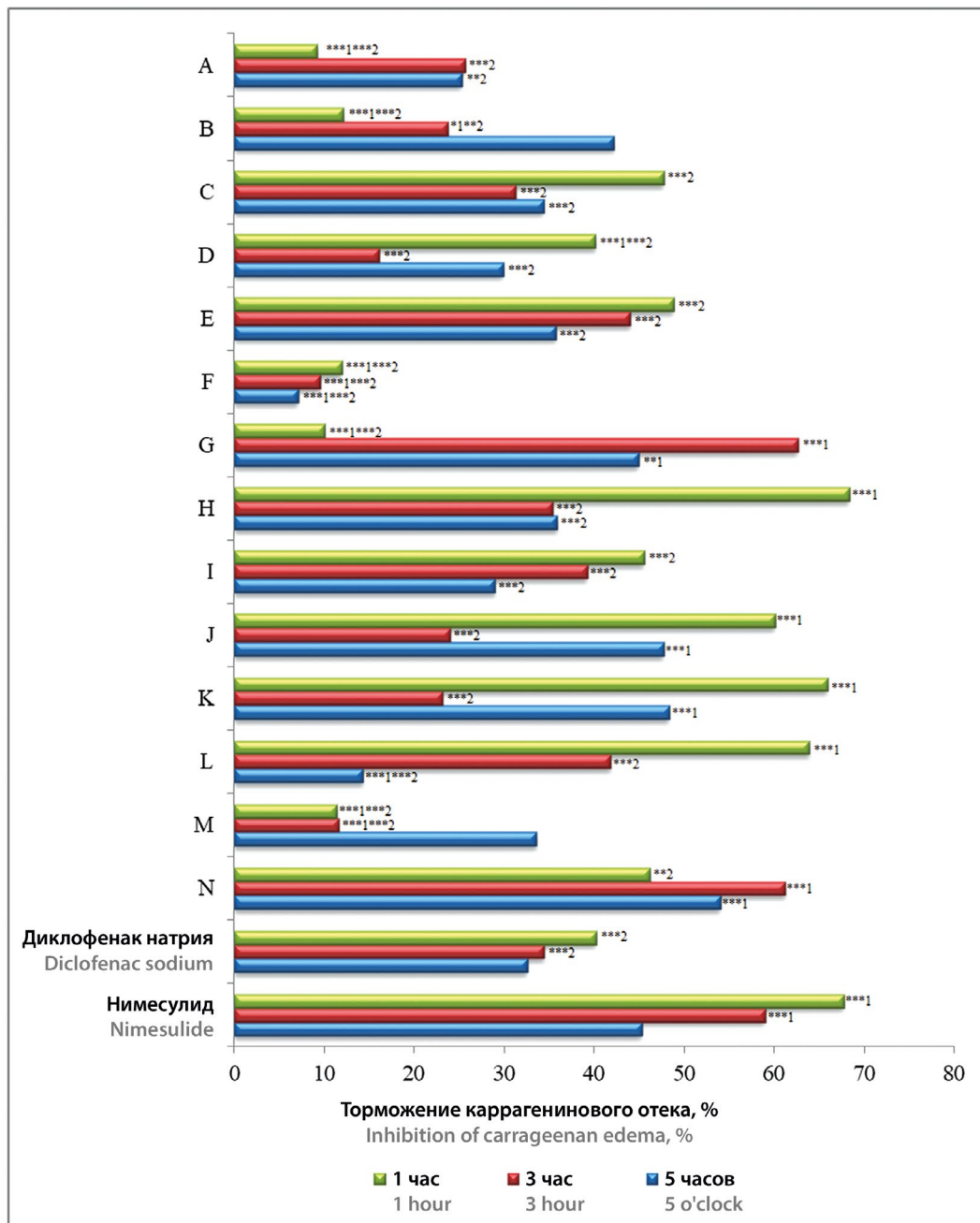


Рисунок 1. Противовоспалительная активность 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноатов гетерилламмония

Примечание. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

1 – по сравнению с диклофенаком натрия; 2 – по сравнению с нимесулидом

Figure 1. Anti-inflammatory activity of 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenates of heterylammonium

Note. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

1 – compared with diclofenac sodium; 2 – compared to nimesulide

логическое действие на систему свертывания крови, обладают выраженной противовоспалительной активностью, что косвенно подтверждает высказанные ранее гипотезы о связи двух фармакологических действий [5–9].

Данные по изучению острой токсичности при внутрижелудочном введении позволяют отнести изученные соединения к 4, 5 классу классификации

опасности химической продукции [14]. Показатели находятся в интервале от 1160 до 4560 мг/кг, что в сочетании с выраженным антикоагулянтным и противовоспалительным действием, может свидетельствовать о возможности создания перспективных лекарственных средств с низкой токсичностью и сочетанным действием на основе 2-гидрокси-4-оксо-4-R-2-бутеноатов гетерилламмония.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучена противовоспалительная активность четырнадцати 2-гидрокси-4-оксо-4-*R*-2-бутеноатов гетариламмония, оказывающих действие на свертывающую систему крови. Пять бутеноатов оказывают действие ниже препаратов сравнения, восемь соединений сопоставимы с действием референтных препаратов на различных временных этапах эксперимента, одно соединение превосходит нимесулид на 3 и 5 ч наблюдения. Изученные соединения могут быть отнесены к 4, 5 классу классификации опасности химической продукции, обладающей острой токсичностью по воздействию на организм. Выбраны лекарственные кандидаты для дальнейшего фармакологического, токсикологического и технологического изучения.

ЛИТЕРАТУРА

- Воробьева Н. М., Ткачева О. Н. Применение пероральных антикоагулянтов у пожилых пациентов с гериатрическими синдромами: что нового? *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2020;16(6):984–993. DOI: 10.20996/1819-6446-2020-12-03.
- Shnayder N. A., Petrova M. M., Shesternya P. A., Savinova A. V., Bochanova E. N., Zimnitskaya O. V., Pozhilenkova E. A., Nasyrova R. F. Using Pharmacogenetics of Direct Oral Anticoagulants to Predict Changes in Their Pharmacokinetics and the Risk of Adverse Drug Reactions. *Biomedicines*. 2021;9:451. DOI: 10.3390/biomedicines9050451.
- Бизадзе В. О., Слуханчук Е. В., Хизроева Д. Х., Третьякова М. В., Цибизова В. И., Гашимова Н. Р., Накаидзе И. А., Элалами И., Гри Ж., Макацария А. Д. Антикоагулянты: методы контроля дозы и ингибиторы. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2022;16(2):158–175. DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.293.
- Hogwood J., Mulloy B., Lever R., Gray E., Page C. P. Pharmacology of Heparin and Related Drugs: An Update. *Pharmacological reviews*. 2023;75:328–379. DOI: 10.1124/pharmrev.122.000684.
- Галаяутдинов Г. С., Фейсханова Л. И., Абдуллаев Ш. П. Плеiotropic эффекты оральных антикоагулянтов. *Гематология и трансфузиология*. 2019;64(1):90–98. DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-1-90-98.
- Бизадзе В. О., Слуханчук Е. В., Хизроева Д. Х., Третьякова М. В., Пятигорская Н. В., Акиншина С. В., Макацария Н. А., Гоцридзе К. Э., Бабаева Н. Н., Григорьева К. Н., Шкода А. С., Элалами И., Гри Ж., Шульман С. Антикоагулянты, противовоспалительные, противовирусные и противоопухолевые свойства гепаринов. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2021;15(3):295–312. DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2021.216.
- Durmaz S., Kurtoğlu T., Rahman Ö. F., Tataroğlu C., Yılmaz M., Barbarus E., Erkan M. H. Direct oral anticoagulant agents attenuate temporary aortic occlusion-induced renal oxidative and inflammatory responses in rats. *Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2022;30(2):184–191. DOI: 10.5606/tgkdc.dergisi.2022.22831.
- Russo V., Fabiani D. Put out the fire: The pleiotropic anti-inflammatory action of non-vitamin K oral anticoagulants. *Pharmacological Research*. 2022;182:106335. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106335.
- Russo V., Falco L., Tessitore V., Mauriello A., Catapano D., Napolitano N., Tariq M., Caturano A., Ciccarelli G., D'Andrea A., Giordano A. Anti-Inflammatory and Anticancer Effects of Anticoagulant Therapy in Patients with Malignancy. *Life*. 2023;13(9):1888. DOI: 10.3390/life13091888.
- Foerster K., Hermann S., Mikus G., Haefeli W. E. Drug–Drug Interactions with Direct Oral Anticoagulants. *Clinical Pharmacokinetics*. 2020;59:967–980. DOI: 10.1007/s40262-020-00879-x.
- Elnour A. A., Komócsi A., Kupó P., El Khidir I. Y., Zachariah S., Sam K. G., Asim S., Sadeq A. The Role of Direct Oral Anticoagulant in Patients with Acute Coronary Syndrome on Single or Dual Antiplatelet Regime: Review of Opportunities and Challenges. *Current Reviews in Clinical and Experimental Pharmacology*. 2021;16:52–63. DOI: 10.2174/1574884715666200518091359.
- Moster M., Bolliger D. Perioperative Guidelines on Antiplatelet and Anticoagulant Agents: 2022 Update. *Current Anesthesiology Reports*. 2022;12:286–296. DOI: 10.1007/s40140-021-00511-z.
- Zheng Y., Zhang N., Tse G., Li G., Lip G. Y. H., Liu T. Co-administered oral anticoagulants with nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of bleeding: A systematic review and meta-analysis. *Thrombosis Research*. 2023;1–29. DOI: 10.1016/j.thromres.2023.10.011.
- Юрасова А. А., Макарова А. С., Скобелев Д. О. Внедрение в Российской Федерации современной модели классификации опасности химической продукции. *Токсикологический вестник*. 2011;1(106):2–10.

REFERENCES

- Vorobyeva N. M., Tkacheva O. N. The Oral Anticoagulants Administration in Elderly Patients with Geriatric Syndromes: What's New? *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2020;16(6):984–993. (In Russ.) DOI: 10.20996/1819-6446-2020-12-03.
- Shnayder N. A., Petrova M. M., Shesternya P. A., Savinova A. V., Bochanova E. N., Zimnitskaya O. V., Pozhilenkova E. A., Nasyrova R. F. Using Pharmacogenetics of Direct Oral Anticoagulants to Predict Changes in Their Pharmacokinetics and the Risk of Adverse Drug Reactions. *Biomedicines*. 2021;9:451. DOI: 10.3390/biomedicines9050451.
- Bitsadze V. O., Slukhanchuk E. V., Khizroeva J. K., Tretyakova M. V., Tsubizova V. I., Gashimova N. R., Nakaidze I. A., Elalamy I., Gris J., Makatsariya A. D. Anticoagulants: dose control methods and inhibitors. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2022;16(2):158–175. (In Russ.) DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.293.
- Hogwood J., Mulloy B., Lever R., Gray E., Page C. P. Pharmacology of Heparin and Related Drugs: An Update. *Pharmacological reviews*. 2023;75:328–379. DOI: 10.1124/pharmrev.122.000684.
- Galyautdinov G. S., Feiskhanova L. I., Abdullaev Sh. P. Pleiotropic effects of oral anticoagulants. *Russian journal of hematology and transfusiology*. 2019;64(1):90–98. (In Russ.) DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-1-90-98.
- Bitsadze V. O., Slukhanchuk E. V., Khizroeva J. K., Tretyakova M. V., Pyatigorskaya N. V., Akinshina S. V., Makatsariya N. A., Gotsiridze K. E., Babaeva N. N., Grigoreva K. N., Shkoda A. S., Elalamy I., Gris J., Shulman S. Anticoagulant, anti-inflammatory, antiviral and antitumor properties of heparins. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2021;15(3):295–312. (In Russ.) DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2021.216.
- Durmaz S., Kurtoğlu T., Rahman Ö. F., Tataroğlu C., Yılmaz M., Barbarus E., Erkan M. H. Direct oral anticoagulant agents attenuate temporary aortic occlusion-induced renal oxidative and inflammatory responses in rats. *Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2022;30(2):184–191. DOI: 10.5606/tgkdc.dergisi.2022.22831.
- Russo V., Fabiani D. Put out the fire: The pleiotropic anti-inflammatory action of non-vitamin K oral anticoagulants. *Pharmacological Research*. 2022;182:106335. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106335.
- Russo V., Falco L., Tessitore V., Mauriello A., Catapano D., Napolitano N., Tariq M., Caturano A., Ciccarelli G., D'Andrea A., Giordano A. Anti-Inflammatory and Anticancer Effects of Anticoagulant Therapy in Patients with Malignancy. *Life*. 2023;13(9):1888. DOI: 10.3390/life13091888.
- Foerster K., Hermann S., Mikus G., Haefeli W. E. Drug–Drug Interactions with Direct Oral Anticoagulants. *Clinical Pharmacokinetics*. 2020;59:967–980. DOI: 10.1007/s40262-020-00879-x.
- Elnour A. A., Komócsi A., Kupó P., El Khidir I. Y., Zachariah S., Sam K. G., Asim S., Sadeq A. The Role of Direct Oral Anticoagulant in Patients with Acute Coronary Syndrome on Single or Dual Antiplatelet Regime: Review of Opportunities and Challenges. *Current Reviews in Clinical and Experimental Pharmacology*. 2021;16:52–63. DOI: 10.2174/1574884715666200518091359.
- Moster M., Bolliger D. Perioperative Guidelines on Antiplatelet and Anticoagulant Agents: 2022 Update. *Current Anesthesiology Reports*. 2022;12:286–296. DOI: 10.1007/s40140-021-00511-z.
- Zheng Y., Zhang N., Tse G., Li G., Lip G. Y. H., Liu T. Co-administered oral anticoagulants with nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of bleeding: A systematic review and meta-analysis. *Thrombosis Research*. 2023;1–29. DOI: 10.1016/j.thromres.2023.10.011.
- Yurasova A. A., Makarova A. S., Skobelev D. O. Implementation in the Russian Federation modern model of classification of danger of chemical products. *Toxicological review*. 2011;1(106):2–10. (In Russ.)

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1679](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1679)
УДК 615.273.52 + 615.273.53



Оригинальная статья / Research article

Влияние на систему гемостаза новых водорастворимых 2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноатов *in vitro*

А. В. Старкова, Ф. В. Собин✉, И. П. Рудакова, Н. А. Пулина,
Н. В. Дозморова, В. Г. Лужанин

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: Собин Федор Владимирович. E-mail: fff-2005@mail.ru

ORCID: А. В. Старкова – <https://orcid.org/0009-0004-2545-5180>; Ф. В. Собин – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>;
И. П. Рудакова – <https://orcid.org/0000-0003-2227-8313>; Н. А. Пулина – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
Н. В. Дозморова – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>; В. Г. Лужанин – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>.

Статья поступила: 10.11.2023

Статья принята в печать: 19.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Система гемостаза – это совокупность функциональных, морфологических и биохимических механизмов живого организма, которые обеспечивают сохранение жидкого состояния крови, предотвращение и остановку кровотечений, а также целостность кровеносных сосудов. Антикоагулянты и кровоостанавливающие средства могут значительно изменить механизм гемостаза. Интерес к синтезу и поиску соединений, оказывающих влияние на систему свертывания крови, остается высоким. Обнаружены вещества, проявляющие антикоагулянтное и гемостатическое действие. Поиск соединений среди продуктов органического синтеза, оказывающих влияние на систему гемостаза, представляется актуальным.

Цель. Изучить *in vitro* влияние на систему гемостаза новых водорастворимых 2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноатов.

Материалы и методы. Прямым взаимодействием 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых кислот с гетероциклическими аминами получены новые водорастворимые 2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноаты. Изучение влияния веществ на систему гемостаза проводилось с использованием коагулометра «АПГ4-02-П». В качестве препаратов сравнения гемостатической и антикоагулянтной активности использовали этамзилат и гепарин натрия соответственно. Острую токсичность соединений определяли при внутривенном введении водных растворов соединений нелинейным белым мышам обоего пола с определением ЛД₅₀.

Результаты и обсуждение. Синтезировано 10 новых 2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноатов. При скрининге *in vitro* влияния на систему гемостаза соединений установлено, что 3 вещества обладают выраженным антикоагулянтным действием, а 4 соединения проявили гемостатическую активность. Обнаружены некоторые закономерности связи «структура-фармакологическое действие». Изученные бутеноаты могут быть отнесены по классификации токсичности химических веществ к умеренно токсичным соединениям.

Заключение. Проведен фармакологический скрининг *in vitro* влияния соединений на систему гемостаза. Обнаружено, что все изученные соединения проявляют действие на систему свертывания крови различной степени выраженности. Сочетание выраженного фармакологического эффекта, низкой острой токсичности и водорастворимости бутеноатов может стать предпосылкой к дальнейшему поиску и возможной разработке новых отечественных лекарственных препаратов, оказывающих действие на систему гемостаза.

Ключевые слова: 2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноаты, острая токсичность, влияние на систему гемостаза

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

Вклад авторов. А. В. Старкова провела исследование влияние соединений на систему гемостаза *in vitro*, обработала данные фармакологического скрининга, участвовала в написании статьи. Ф. В. Собин, провел синтез целевых соединений, принимал непосредственное участие в написании и корректировке статьи. И. П. Рудакова изучила острую токсичность полученных соединений при внутривенном введении. Н. А. Пулина осуществляла научное руководство проведенных исследований, принимала участие в написании и рецензировании статьи. В. Г. Лужанин и Н. В. Дозморова осуществили организационно-технические работы, участвовали написании и рецензировании статьи. Данная статья была написана и согласована при участии всех авторов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке в рамках государственного задания Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Пермская государственная фармацевтическая академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации (шифр 720000Ф.99.1.БН62АБ06000), 2023 год

Для цитирования: Старкова А. В., Собин Ф. В., Рудакова И. П., Пулина Н. А., Дозморова Н. В., Лужанин В. Г. Влияние на систему гемостаза новых водорастворимых 2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноатов *in vitro*. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2023;12(4–1):151–155. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1679](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1679)

The Effect of New Water-soluble 2-aminoheteryl-3-ium 4-(het)aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoates on the Hemostasis System *In vitro*

Alla V. Starkova, Fedor V. Sobin✉, Irina P. Rudakova, Natalia A. Pulina,
Natalia V. Dozmorova, Vladimir G. Luzhanin

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

© Старкова А. В., Собин Ф. В., Рудакова И. П., Пулина Н. А., Дозморова Н. В., Лужанин В. Г., 2023

© Starkova A. V., Sobin F. V., Rudakova I. P., Pulina N. A., Dozmorova N. V., Luzhanin V. G., 2023

✉ Corresponding author: Fedor V. Sobin. E-mail: fff-2005@mail.ru

ORCID: Alla V. Starkova – <https://orcid.org/0009-0004-2545-5180>; Fedor V. Sobin – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>;
Irina P. Rudakova – <https://orcid.org/0000-0003-2227-8313>; Natalia A. Pulina – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
Natalia V. Dozmorova – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>; Vladimir G. Luzhanin – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>.

Received: 10.11.2023

Revised: 19.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. The hemostasis system is a set of functional, morphological and biochemical mechanisms of a living organism that ensure the preservation of the liquid state of the blood, the prevention and stopping of bleeding, as well as the integrity of blood vessels. Anticoagulants and hemostatic agents can significantly change the mechanism of hemostasis. Interest in the synthesis and search for compounds that affect the blood coagulation system remains high. Substances exhibiting anticoagulant and hemostatic effects have been found. The search for compounds among the products of organic synthesis that affect the hemostasis system seems relevant.

Aim. To study the effect of new water-soluble 2-amino heteryl-3-ium 4-(het)aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoates on the hemostasis system using an *in vitro* model.

Materials and methods. Direct interaction 4-(het)aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoic acids with heterocyclic amines have been obtained new water soluble 2-aminoheteryl-3-ium 4-(het)aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoates. The study of the effect of substances on the hemostasis system was carried out using the coagulometer "APK 4-02-P". Ethamsylate and sodium heparin were used as comparison drugs for hemostatic and anticoagulant activity, respectively. Acute toxicity of the compounds was determined by intravenous administration of aqueous solutions of the compounds to non-linear white mice of both sexes with the definition of LD₅₀.

Results and discussion. 10 New 2-aminoheteryl-3-ium 4-(het)aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoates have been synthesized. In vitro screening of the effect of compounds on the hemostasis system found that 3 substances have a pronounced anticoagulant effect, and 4 compounds showed hemostatic activity. Some patterns of the "structure-pharmacological action" relationship have been found. The studied butenoates can be classified as moderately toxic compounds according to the classification of chemical toxicity.

Conclusion. Pharmacological screening *in vitro* of the effect of compounds on the hemostasis system was carried out. It was found that all the studied compounds have an effect on the blood coagulation system of varying degrees of severity. The combination of a pronounced pharmacological effect, low acute toxicity and water solubility of butenoates may become a prerequisite for further search and possible development of new domestic medicines that have an effect on the hemostasis system.

Keywords: 2-aminoheteryl-3-ium 4-(het)aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoates, acute toxicity, effect on the hemostasis system

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. Alla V. Starkova conducted a study of the effect of compounds on the hemostasis system *in vitro*, processed pharmacological screening data, participated in writing the article. Fedor V. Sobin, synthesized target compounds, was directly involved in writing and correcting the article. Irina P. Rudakova studied the acute toxicity of the compounds obtained by intravenous administration. Natalia A. Pulina carried out scientific research the management of the conducted research, participated in the writing and reviewing of the article. Vladimir G. Luzhanin and Natalia V. Dozmorov carried out organizational and technical work, participated in writing and reviewing the article. This article was written and agreed upon with the participation of all the authors.

Funding. The study was carried out with financial support within the framework of the state task of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation (code 720000Ф.99.1.5Н62А.Б06000), 2023

For citation: Starkova A. V., Sobin F. V., Rudakova I. P., Pulina N. A., Dozmorova N. V., Luzhanin V. G. The effect of new water-soluble 2-aminoheteryl-3-ium 4-(het)aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoates on the hemostasis system *in vitro*. *Drug development & registration*. 2023;12(4-1):151–155. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1679](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1679)

ВВЕДЕНИЕ

Система гемостаза – это совокупность функциональных, морфологических и биохимических механизмов живого организма, которые обеспечивают сохранение жидкого состояния крови, предотвращение и остановку кровотечений, а также целостность кровеносных сосудов. Существует точное и деликатное взаимодействие между процессами работы свертывающей и противосвертывающей систем, обеспечивающее нормальный гемостаз. [1]. Антикоагулянты и кровоостанавливающие средства могут значительно изменить механизм гемостаза. Крайне актуально использование комбинаций данных препаратов при сложных хирургических вмешательствах, требующих как серьезной фармакологической подготовки перед операцией, так и лекарственной терапии в послеоперационный период для снижения риска тромбогеморрагических осложнений [2–4].

Интерес к синтезу и поиску соединений, оказывающих влияние на систему свертывания крови, остается высоким. Рядом научных школ за последнее время обнаружены вещества, проявляющие как антикоагулянтное действие [5–10], так и гемостатический эффект [11–14]. Таким образом, поиск соединений оказывающих влияние на систему гемостаза представляется актуальным.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В продолжение исследований с целью поиска биологически активных субстанций, влияющих на систему гемостаза, нами прямым взаимодействием 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых кислот с

гетероциклическими аминами получены новые водорастворимые 2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноаты. Соединения представляют собой бесцветные или светло-желтые кристаллические вещества, растворимые в воде, этиловом спирте, метаноле, диоксане, хлороформе малорастворимые в алканах. Химическую чистоту соединений и протекание реакции контролировали методом ТСХ на пластинках «Sorbfil» тип ПТСХ-АФ-УФ в системе хлороформ-метиловый спирт (1:1), эфир-бензол-ацетон (10:9:1), проявление парами йода. Структура соединений доказана комплексом инструментальных методов анализа, полученные данные хорошо согласуются с родственными структурами [14]. Для проведения биологических испытаний, соединениям были присвоены условные шифры от FS-1 до FS-10.

Изучение влияния соединений на систему гемостаза проводилось с использованием коагулометра «АПГ4-02-П» [15]. Для исследования биологической активности веществ *in vitro* в кювету помещали 50 мкл крови и добавляли 50 мкл 0,2%-го раствора исследуемого вещества, в качестве контроля использовали 50 мкл изотонического раствора хлорида натрия. В качестве препаратов сравнения гемостатической и антикоагулянтной активности использовали этамзилат 0,2%-й раствор для инъекций (Дицинон, Лек д-д., Словения) и гепарин натрия раствор для инъекций 5000 МЕ/мл (ОАО «Синтез», Россия) в концентрации 1 ЕД/мл крови соответственно. Пробы инкубировали в течение 60 с. К пробе вносили 50 мкл 1%-й раствора хлорида кальция (ООО «Технология-Стандарт», Россия). Время свертывания крови фиксировалось коагулометром механическим способом. Результаты фармакологических исследований обработаны статисти-

чески с помощью программ Windows XP (Excel) с использованием t-критерия Стьюдента и представлены в таблице 1.

Острую токсичность соединений определяли при внутривенном введении водных растворов нелинейным белым мышам обоего пола, половозрелым, массой 18–25 г. Результаты обрабатывали методом определения средней летальной дозы и ее стандартной ошибки [16]. Оценку токсичности соединения проводили по величине средней смертельной дозы – ЛД₅₀ [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтезировано 10 новых 2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноатов. При скрининге *in vitro* влияния на систему гемостаза соединений установлено, что 3 вещества обладают выраженным антикоагулянтным действием – это соединения FS 5, FS 8 и FS 10. Данные вещества уступают по силе выраженности фармакологического эффекта гепарину. Также обнаружено 4 соединения, обладающих гемостатическим действием – это соединения FS 1, FS 2, FS 4 и FS 9. При этом активность соединений FS 1 и FS 9 достоверно превышает активность этамзилата, а эффективность вещества FS 2 приближается к показателю препарата сравнения.

При этом отмечено, что соединения, содержащие в своей структуре незамещенный арильный радикал, наиболее активно усиливают свертывание крови в эксперименте. Так, незамещенное производное FS 1 превосходит по данному показателю препарат сравнения этамзилат. Введение же электронодонорных и электроноакцепторных заместителей в 4 положение ароматического кольца приводит к снижению фармакологического эффекта, в некоторых случаях

Таблица 1. Влияние на систему гемостаза 2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноатов *in vitro*

Table 1. Effect on the hemostasis system of 2-aminoheteryl-3-ium 4-(het)aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoates *in vitro*

Шифр соединения Connection cipher	Время свертывания крови, сек; контроль Blood clotting time, sec; control	Время свертывания крови, с; опыт Blood clotting time, sec; experience	Изменения свертываемости крови, % Changes in blood clotting, %	P
FS 1	140,1 ± 5,77	113,6 ± 4,20	+18,9 %	<0,01
FS 2	156,3 ± 5,87	135,5 ± 6,42	+13,3 %	<0,05
FS 3	137,2 ± 4,02	125,9 ± 4,28	+8,2 %	>0,05
FS 4	159,7 ± 5,48	143,7 ± 4,59	+10,0 %	<0,05
FS 5	165,4 ± 4,89	191,5 ± 6,87	–15,8 %	<0,01
FS 6	123,6 ± 5,62	112,9 ± 5,81	+8,7 %	>0,05
FS 7	126,2 ± 4,59	113,9 ± 5,31	+9,7 %	>0,05
FS 8	148,3 ± 10,59	304,4 ± 36,69	–105,3 %	<0,01
FS 9	133,7 ± 5,06	108,4 ± 5,38	+18,9 %	<0,01
FS 10	144,8 ± 12,34	288,9 ± 49,25	–99,5 %	<0,05
Этамзилат Ethamsylate	144,1 ± 7,83	121,0 ± 7,20	+16 %	<0,05
Гепарин натрия Sodium heparin	145,7 ± 9,64	618,3 ± 55,88	–324,4 %	<0,001

практически в два раза. Переход к нафтильным производным, также приводит к уменьшению выраженности гемостатического действия, вплоть до проявления антикоагулянтного действия у соединений FS 5 и FS 8. Существенного влияния гетероциклической части молекулы на выраженность фармакологического эффекта не установлено.

Данные по острой токсичности соединений при внутривенном введении показали, что ЛД₅₀ находится в интервале 129–293 мг/кг. Таким образом, 2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобоут-2-еноаты могут быть отнесены по классификации токсичности химических веществ к 3 классу, т.е. умеренно токсичным соединениям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтезированы 10 новых водорастворимых 2-аминогетерил-3-иум 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксобоут-2-еноатов. Проведен фармакологический скрининг *In vitro* влияния соединений на систему гемостаза. Обнаружено, что все изученные соединения проявляют действие на систему свертывания крови различной степени выраженности. Обнаружено 3 соединения с гепариноподобным действием и 4 вещества, проявляющих гемостатическую активность. Данные по острой токсичности при внутривенном введении свидетельствуют о достаточно высоком профиле безопасности данной группы соединений. Сочетание выраженного фармакологического эффекта, низкой острой токсичности и водорастворимости бутеноатов может стать предпосылкой к дальнейшему поиску и возможной разработке новых отечественных лекарственных препаратов, оказывающих действие на систему гемостаза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Счастливцев И.В., Лобастов К.В., Цаплин С.Н., Мкртычев Д.С. Современный взгляд на систему гемостаза: клеточная теория. *Медицинский Совет*. 2019;(16):72–77. DOI: 10.21518/2079-701X-2019-16-72-77.
2. Golovko L. S., Safronenko A. V., Gantsgorn E. V., Sukhorukova N. V., Kapliev A. V. Development of a risk-oriented algorithm for the combined use of hemostatics and anticoagulants to prevent thrombosis and bleeding cases after total arthroplasty of knee or hip joints. *Research Results in Pharmacology*. 2021;7(1):65–74. DOI: 10.3897/rrpharmacology.7.65708.
3. Montalva E., Rodríguez-Perálvarez M., Blasi A., Bonanad S., Gavín O., Hierro L., Lladó L., Llop E., Pozo-Laderas J. C., Colmenero J. Consensus Statement on Hemostatic Management, Anticoagulation, and Antiplatelet Therapy in Liver Transplantation. *Transplantation*. 2022;106(6):1123–1131. DOI: 10.1097/TP.0000000000004014.
4. Guo Y., Wang M., Liu Q., Liu G., Wang S., Li J. Recent advances in the medical applications of hemostatic materials. *Theranostics*. 2023;13(1):161–196. DOI: 10.7150/thno.79639.
5. Bogdanov A. V., Sirazieva A. R., Voloshina A. D., Abzalilov T. A., Samorodov A. V., Mironov V. L. Synthesis and Antimicrobial, Antiplatelet, and Anticoagulant Activities of New Isatin Derivatives Containing a Hetero-Fused Imidazole Fragment. *Russ J Org Chem*. 2022;58:3: 327–334. DOI: 10.1134/S1070428022030101.

6. Do V. Q., Phung T. Ch., Stolpovskaya N. V., Potapov A. Yu., Shikhaliev Kh. S. Synthesis of new hybrid molecules with 1,3,5-triazine and hydroquinoline moieties. *ChemChemTech*. 2023;66(4):17–26. DOI: 10.6060/ivkkt.20236604.6802.
7. Gurevich K. G., Urakov A. L., Purygin P. P., Abzalilov T. A., Garaev T. M., Zarubin Y. P., Afanasiev V. A., Sakaev V. E., Samorodov A. V., Pavlov V. N., Lovtsova L. V. Synthesis and antiaggregant and anticoagulant activity of amino-acid salts and computer simulation of the interaction of their structures with the surface of cyclooxygenase. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023;56(11):1451–1456. DOI: 10.1007/s11094-023-02812-5.
8. Klen E. E., Nebogatova V. A., Bashirova L. I., Urakov A. L., Samorodov A. V., Khaliullin F. A. Synthesis, antiaggregant and anticoagulant activity of 2-[3-methyl-8-morpholino-7-(thietanyl-3)xanthinyl-1] acetic acid salts. *Problems of Biological Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2020;23(1):23–29. DOI: 10.29296/25877313-2020-01-04.
9. Novichikhina N. P., Skoptsova A. A., Shestakov A. S., Potapov A. Yu., Kosheleva E. A., Kozaderov O. A., Ledenyova I. V., Podoplelova N. A., Panteleev M. A., Shikhaliev Kh. S. Synthesis and Anticoagulant Activity of New Ethylidene and Spiro Derivatives of Pyrrolo[3,2,1-ij]quinolin-2-ones. *Russ J Org Chem*. 2020;56:1550–1556. DOI: 10.1134/S1070428020090080.
10. Sajwan M., Alsuwat B., Asif M. Synthesis, characterization and anticoagulant activity of chitosan derivatives. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2020;28(1):25–32. DOI: 10.1016/j.jsps.2019.11.003.
11. Santhisudha S., Mohan G., Sri Devi C., Bakthavatchala Reddy N., Zyryanov G. V., Suresh Reddy C. Calcium bromide catalysed synthesis and anticoagulant activity of bis(α-aminophosphonates). *AIP Conference Proceedings*. 2020;2280:040043. DOI: 10.1063/5.0018177.
12. Banach L., Janczewski L., Kajdaneck J., Milowska K., Kolodziejczyk-Czepas J., Galita G., Rozpedek-Kaminska W., Kucharska E., Majsterek I., Kolesinska B. Synthesis and Hemostatic Activity of New Amide Derivatives. *Molecules*. 2022;27(7):2271. DOI: 10.3390/molecules27072271.
13. Lipin D. V., Kozlov D. A., Shadrin V. M., Parkoma K. Yu., Starkov A. V., Shipilovskikh D. A., Pulina N. A., Shipilovskikh S. A. Synthesis and Hemostatic Activity of Substituted Potassium 1-Cyano-3-[(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]thiophen-2-yl)amino]-5-oxopenta-1,3-dien-2-olates. *Russ J Org Chem*. 2023;59:1322–1328. DOI: 10.1134/S1070428023080055.
14. Sobin F. V., Pulina N. A., Lipatnikov K. V., Starkova A. V., Yushkova T. A., Naugol'nykh E. A. Synthesis and Hemostatic, Anti-inflammatory, and Anthelmintic Activity of 2-Hydroxy-4-oxo-4-(thien-2-yl)but-2-enoic Acid Derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;54(10):1003–1007. DOI: 10.1007/s11094-021-02310-6.
15. Анализатор показателей гемостаза «АПГ4-02-П». Техническое описание и инструкция по эксплуатации. М.: ЭМКО; 2012. 61 с.
16. Прозоровский В. Б., Прозоровская М. Н., Демченко В. М. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки. *Фармакология и токсикология*. 1978;4:497–502.
17. Березовская И. В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. *Химико-фармацевтический журнал*. 2003;3:32–34.

REFERENCES

1. Schastlivtsev I. V., Lobastov K. V., Tsaplin S. N., Mkrtychev D. S. Modern view on hemostasis system: cell theory. *Medical Council*. 2019;(16):72–77. (In Russ.) DOI: 10.21518/2079-701X-2019-16-72-77.
2. Golovko L. S., Safronenko A. V., Gantsgorn E. V., Sukhorukova N. V., Kapliev A. V. Development of a risk-oriented algorithm for the combined use of hemostatics and anticoagulants to prevent thrombosis and bleeding cases after total arthroplasty of knee or hip joints. *Research Results in Pharmacology*. 2021;7(1):65–74. DOI: 10.3897/rrpharmacology.7.65708.
3. Montalva E., Rodríguez-Perálvarez M., Blasi A., Bonanad S., Gavín O., Hierro L., Lladó L., Llop E., Pozo-Laderas J. C., Colmenero J. Consensus Statement on Hemostatic Management, Anticoagulation, and Antiplatelet Therapy in Liver Transplantation. *Transplantation*. 2022;106(6):1123–1131. DOI: 10.1097/TP.0000000000004014.

4. Guo Y., Wang M., Liu Q., Liu G., Wang S., Li J. Recent advances in the medical applications of hemostatic materials. *Theranostics*. 2023;13(1):161–196. DOI: 10.7150/thno.79639.
5. Bogdanov A. V., Sirazieva A. R., Voloshina A. D., Abzalilov T. A., Samorodov A. V., Mironov V. L. Synthesis and Antimicrobial, Antiplatelet, and Anticoagulant Activities of New Isatin Derivatives Containing a Hetero-Fused Imidazole Fragment. *Russ J Org Chem*. 2022;58:3: 327–334. DOI: 10.1134/S1070428022030101.
6. Do V. Q., Phung T. Ch., Stolpovskaya N. V., Potapov A. Yu., Shikhaliev Kh. S. Synthesis of new hybrid molecules with 1,3,5-triazine and hydroquinoline moieties. *ChemChemTech*. 2023;66(4):17–26. DOI: 10.6060/ivkkt.20236604.6802.
7. Gurevich K. G., Urakov A. L., Purygin P. P., Abzalilov T. A., Garaev T. M., Zarubin Y. P., Afanasiev V. A., Sakaev V. E., Samorodov A. V., Pavlov V. N., Lovtsova L. V. Synthesis and antiaggregant and anticoagulant activity of amino-acid salts and computer simulation of the interaction of their structures with the surface of cyclooxygenase. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023;56(11):1451–1456. DOI: 10.1007/s11094-023-02812-5.
8. Klen E. E., Nebogatova V. A., Bashirova L. I., Urakov A. L., Samorodov A. V., Khaliullin F. A. Synthesis, antiaggregant and anticoagulant activity of 2-[3-methyl-8-morpholino-7-(thietanyl-3) xanthinyl-1] acetic acid salts. *Problems of Biological Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2020;23(1):23–29. DOI: 10.29296/25877313-2020-01-04.
9. Novichikhina N. P., Skoptsova A. A., Shestakov A. S., Potapov A. Yu., Kosheleva E. A., Kozaderov O. A., Ledenyova I. V., Podoplelova N. A., Pantelev M. A., Shikhaliev Kh. S. Synthesis and Anticoagulant Activity of New Ethylidene and Spiro Derivatives of Pyrrolo[3,2,1-ij]quinolin-2-ones. *Russ J Org Chem*. 2020;56:1550–1556. DOI: 10.1134/S1070428020090080.
10. Sajwan M., Alsuwayt B., Asif M. Synthesis, characterization and anticoagulant activity of chitosan derivatives. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2020;28(1):25–32. DOI: 10.1016/j.jsps.2019.11.003.
11. Santhisudha S., Mohan G., Sridevi C., Bakthavatchala Reddy N., Zryanov G. V., Suresh Reddy C. Calcium bromide catalysed synthesis and anticoagulant activity of bis(α -aminophosphonates). *AIP Conference Proceedings*. 2020;2280:040043. DOI: 10.1063/5.0018177.
12. Banach L., Janczewski L., Kajdanek J., Milowska K., Kolodziejczyk-Czepas J., Galita G., Rozpedek-Kaminska W., Kucharska E., Majsterek I., Kolesinska B. Synthesis and Hemostatic Activity of New Amide Derivatives. *Molecules*. 2022;27(7):2271. DOI: 10.3390/molecules27072271.
13. Lipin D. V., Kozlov D. A., Shadrin V. M., Parkoma K. Yu., Starkov A. V., Shipilovskikh D. A., Pulina N. A., Shipilovskikh S. A. Synthesis and Hemostatic Activity of Substituted Potassium 1-Cyano-3-[(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]thiophen-2-yl)amino]-5-oxopenta-1,3-dien-2-olates. *Russ J Org Chem*. 2023;59:1322–1328. DOI: 10.1134/S1070428023080055.
14. Sobin F. V., Pulina N. A., Lipatnikov K. V., Starkova A. V., Yushkova T. A., Naugol'nykh E. A. Synthesis and Hemostatic, Anti-inflammatory, and Anthelmintic Activity of 2-Hydroxy-4-oxo-4-(thien-2-yl)but-2-enoic Acid Derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;54(10):1003–1007. DOI: 10.1007/s11094-021-02310-6.
15. Analyzer of hemostasis indicators "APG4-02-P". Technical description and operating instructions. Moscow: EMKO LLC; 2012. 61 p. (In Russ.)
16. Prozorovsky V. B., Prozorovskaya M. N., Demchenko V. M. Express method for determining the average effective dose and its error. *Pharmacology and toxicology*. 1978;4:497–502. (In Russ.)
17. Berezovskaya I. V. Classification of chemical substances according to acute toxicity parameters for parenteral routes of administration. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2003;3:32–34. (In Russ.)

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1614](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1614)
УДК 303.732:303.039.4:614.275:615.015.6:615.074:615.076.9



Оригинальная статья / Research article

Научно-методические и организационные подходы к проведению доклинических и экспертных исследований веществ, обладающих психоактивными свойствами

Т. Л. Малкова¹✉, П. С. Машченко^{1, 2}, А. И. Андреев^{1, 2}, Д. Ю. Апушкин^{1, 2}, Е. В. Вихарева¹

¹ 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

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет», 614068, Россия, Пермский край, г. Пермь, ул. Букирева, д. 15

✉ Контактное лицо: Малкова Тамара Леонидовна. E-mail: kaftox1@mail.ru

ORCID: Т. Л. Малкова – <https://orcid.org/0000-0002-5795-0803>; П. С. Машченко – <https://orcid.org/0000-0002-2259-7659>;
А. И. Андреев – <https://orcid.org/0000-0002-3718-4830>; Д. Ю. Апушкин – <https://orcid.org/0000-0003-4459-5264>;
Е. В. Вихарева – <https://orcid.org/0000-0002-7202-0073>.

Статья поступила: 16.10.2023

Статья принята в печать: 19.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Изучение психоактивных свойств веществ является важной задачей для регулирования их оборота. Она актуальна как для новых психоактивных веществ (НПВ), находящихся в нелегальном обороте, так и для лекарственных препаратов, выходящих на фармацевтический рынок. В связи с этим не теряет своей актуальности вопрос создания специализированных аналитических центров для проведения комплексных химико-фармакологических исследований.

Цель. Целью работы является формирование научно-методических и организационных подходов к проведению комплексных исследований психоактивных веществ на основании обобщения опыта работы сотрудников Регионального испытательного центра (РИЦ) «Фарматест» Пермской государственной фармацевтической академии (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России), как по исследованию новых психоактивных веществ, изымаемых из нелегального оборота, в рамках экспертных исследований по заданию правоохранительных органов, так и в рамках проведения доклинических исследований новых лекарственных средств.

Материалы и методы. При выполнении работы были использованы экспериментальные и статистические данные за 2010–2023 гг. по исследованию НПВ на базе РИЦ «Фарматест» с целью определения возможности отнесения их к аналогам НС и ПВ, материалы по исследованию новых лекарственных препаратов на предмет возможного наличия у них психоактивных свойств и сродства к определенным рецепторам, оценены и описаны подходы к проведению отдельных этапов экспертных исследований, используемые химические и биологические методы.

Результаты и обсуждение. Определены и научно обоснованы этапы исследования новых психоактивных веществ и методология проведения испытаний на каждом из них, а также необходимое оборудование и подходы к интерпретации полученных результатов. Показана необходимость создания аналитических центров по проведению комплексных экспертных исследований наркотических веществ и доклинических исследований лекарственных препаратов.

Заключение. Разработанные методологические принципы и организационные мероприятия по проведению комплексного исследования новых психоактивных веществ имеют важное значение как для пресечения нелегального оборота наркотических средств в целях выполнения Государственной антинаркотической политики, так и для развития отечественной фармацевтики, призванной обеспечивать использование в медицинской практике эффективных и безопасных лекарственных средств.

Ключевые слова: новое психоактивное вещество, аналоги наркотических средств и психотропных веществ, лекарственное средство, наркогенность

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

Вклад авторов. Т. Л. Малкова провела работу по организации проведения исследований новых психоактивных веществ, выступала в роли ведущего эксперта и научного руководителя. П. С. Машченко, Д. Ю. Апушкин, Е. В. Вихарева обосновали методологию химической части исследования. А. И. Андреев – биологической части исследования. Все авторы проводили выборку, обработку и группировку полученных данных, выработали методологические принципы исследования новых психоактивных веществ, участвовали в написании текста статьи.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Малкова Т. Л., Машченко П. С., Андреев А. И., Апушкин Д. Ю., Вихарева Е. В. Научно-методические и организационные подходы к проведению доклинических и экспертных исследований веществ, обладающих психоактивными свойствами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):156–162. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1614](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1614)

Scientific, Methodological and Organizational Approaches to Conducting Pre-clinical and Expert studies of Substances with Psychoactive Properties

Tamara L. Malkova¹✉, Peter S. Mashchenko^{1, 2}, Alexander I. Andreev^{1, 2},
Danila Yu. Apushkin^{1, 2}, Elena V. Vikhareva¹

© Малкова Т. Л., Машченко П. С., Андреев А. И., Апушкин Д. Ю., Вихарева Е. В., 2023

© Malkova T. L., Mashchenko P. S., Andreev A. I., Apushkin D. Yu., Vikhareva E. V., 2023

¹ 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

² Perm State National Research University. 15, Bukireva str., Perm, Perm region, 614068, Russia

✉ **Corresponding author:** Tamara L. Malkova. E-mail: kaftox1@mail.ru

ORCID: Tamara L. Malkova – <https://orcid.org/0000-0002-5795-0803>; Peter S. Mashchenko – <https://orcid.org/0000-0002-2259-7659>; Alexander I. Andreev – <https://orcid.org/0000-0002-3718-4830>; Danila Yu. Apushkin – <https://orcid.org/0000-0003-4459-5264>; Elena V. Vikhareva – <https://orcid.org/0000-0002-7202-0073>.

Received: 16.10.2023

Revised: 19.12.2023

Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Studying the psychoactive properties of substances is an important task for regulating their circulation. It is relevant both for new psychoactive substances (NPS) that are in illegal circulation and for drugs entering the pharmaceutical market. In this regard, the issue of creating specialized analytical centers for conducting complex chemical and pharmacological studies does not lose its relevance.

Aim. The purpose of the work is to develop scientific, methodological and organizational approaches to conducting comprehensive studies of psychoactive substances based on generalizing the work experience of employees of the Regional Test Center (RTC) "Pharmatest" of the Perm State Pharmaceutical Academy, both in the study of new psychoactive substances, withdrawn from illegal circulation, as part of expert studies on behalf of law enforcement agencies, and as part of preclinical studies of new medicines.

Materials and methods. When performing the work, experimental and statistical data for 2010–2023 were used. on the study of NPS on the basis of the RTC "Pharmatest" in order to determine the possibility of classifying them as analogues of drugs of abuse, materials on the study of new drugs for the possible presence of psychoactive properties and affinity for certain receptors, approaches to conducting individual stages of expert examinations were assessed and described research, chemical and biological methods used.

Results and discussion. The stages of research into new psychoactive substances and the methodology for conducting tests on each of them, as well as the necessary equipment and approaches to interpreting the results obtained, have been determined and scientifically substantiated. The need to create analytical centers to conduct comprehensive expert studies of narcotic substances and preclinical studies of drugs is shown.

Conclusion. The developed methodological principles and organizational measures for conducting a comprehensive study of new psychoactive substances are important both for suppressing illegal drug trafficking in order to implement the State anti-drug policy, and for the development of domestic pharmaceuticals, designed to ensure the use of effective and safe medicines in medical practice.

Keywords: new psychoactive substance, analogues of narcotic drugs and psychotropic substances, medicine, narcogenicity

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. Tamara L. Malkova worked on organizing research on new psychoactive substances, and acted as a leading expert and scientific supervisor. Peter S. Mashchenko, Danila Yu. Apushkin, Elena V. Vikhareva substantiated the methodology of the chemical part of the study. Alexander I. Andreev – biological part of the study. All authors sampled, processed and grouped the data obtained, developed methodological principles for the study of new psychoactive substances, and participated in writing the text of the article.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Malkova T. L., Mashchenko P. S., Andreev A. I., Apushkin D. Yu., Vikhareva E. V. Scientific, methodological and organizational approaches to conducting pre-clinical and expert studies of substances with psychoactive properties. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):156–162. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1614](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1614)

ВВЕДЕНИЕ

Важной социальной проблемой в России, как и во многих зарубежных странах, является постоянно растущее число новых психоактивных веществ (НПВ) на нелегальном рынке наркотических средств (НС) и психотропных веществ (ПВ). Распространение в незаконном обороте НПВ связано с ограничениями в существующих международных и национальных мерах контроля и желанием преступных групп обойти эти законодательные меры [1].

Можно выделить два основных пути появления и распространения НПВ. С одной стороны, это синтез «структурных аналогов» уже известных НС и ПВ, имеющих природное происхождение или являющихся сугубо синтетическими. Логично, что полученные таким образом соединения обладают сходством

структуры с молекулами контролируемых веществ и представляют собой так называемые «дизайнерские наркотики» – синтетические психоактивные вещества, полученные путем модификации химической структуры уже известных наркотиков в целях их дальнейшего распространения в обход действующего законодательства [2].

Второй основной путь создания НПВ заключается в отборе соединений, обладающих необходимым психоактивным эффектом и не контролируемых законодательством, на основании изучения научной литературы, посвященной синтезу и проверке фармакологической активности вновь синтезируемых веществ. Многие соединения, не нашедшие применения в фармации и медицине в связи с наличием психоактивных свойств, переживают через некото-

рое время «второе рождение» и приходят на рынок наркотиков со страниц патентной и научной литературы в области медицинской химии. Неудивительно, что в наше время для синтеза новых, ранее не описанных в литературе соединений, обладающих психоактивными свойствами, используются принципы молекулярного докинга и прогнозирования активности *in silico*. В обоих случаях созданием НПВ организованная преступность стремится достичь обхода существующих мер контроля с целью безнаказанного в течение определенного времени сбыта психоактивных соединений [3].

С целью ограничения нелегального оборота НПВ, помимо непосредственного пополнения перечней контролируемых веществ, в РФ осуществляется процедура отнесения НПВ к «аналогам наркотических средств и психотропных веществ»¹. С 2010 года сотрудниками РИЦ «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, привлекаемыми правоохранительными органами для проведения экспертных исследований НПВ, накоплен колоссальный опыт, который позволил сформировать научно-методические и организационные подходы к такого рода исследованиям, что, в свою очередь, позволило разработать «Методические рекомендации по исследованию новых психоактивных веществ и процедуре отнесения их к аналогам наркотических средств и психотропных веществ», утвержденные ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» и рекомендованные Минздравом России для использования в работе всех регионов Российской Федерации, а также организовать работу специализированного аналитического центра [4, 5].

Разработанная методология была экстраполирована на доклинические исследования вновь создаваемых лекарственных средств на предмет возможного обнаружения у них наркотического потенциала, что имеет важное значение для внедрения в медицинскую практику не только эффективных, но и безопасных препаратов.

Цель работы заключается в формировании научно-методических и организационных подходов к проведению комплексных исследований психоактивных веществ на основании обобщения опыта работы сотрудников Регионального испытательного центра (РИЦ) «Фарматест» Пермской государственной фармацевтической академии (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России), как по исследованию новых психоактивных веществ, изымаемых из нелегального оборота, в рамках экспертных исследований по заданию правоохранительных органов, так и в рамках проведения доклинических исследований новых лекарственных средств.

¹ О наркотических средствах и психотропных веществах. Федеральный закон от 08.01.1998 № 3-ФЗ. Доступно по: <https://base.garant.ru/12107402/> Ссылка активна на 09.10.2023.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

В качестве объектов исследования использованы экспериментальные и статистические данные результатов работы сотрудников РИЦ «Фарматест» по исследованию новых психоактивных веществ с целью определения возможности отнесения их к аналогам НС и ПВ за 2010–2023 гг. Оценены и описаны подходы к проведению отдельных этапов экспертных исследований, используемые химические и биологические методы. Рассмотрены материалы исследования нового лекарственного препарата на предмет возможного наличия у него психоактивных свойств и сродства к определенным рецепторам.

Используемые методы

Нами использованы методы инструментального химического анализа (газовая хромато-масс-спектрометрия, ЯМР-спектроскопия), биологические методы (тесты «Спонтанной двигательной активности», «Открытое поле» и др.), а также статистические и эмпирические методы: наблюдение, описание, изучение, обобщение и группировка, сравнение, доказательство и другие. Все этапы нашего исследования включали те или иные процедуры наблюдения за отдельными сторонами изучения НПВ, выработку общих подходов к изучению химических и биологических свойств таких веществ, а также специфических деталей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Суть исследования НПВ с целью определения возможности отнесения их к аналогам НС и ПВ сводится к определению у вещества двух составляющих в соответствии с требованиями законодательства – установления схожести химической структуры и психоактивных свойств в сравнении с тем веществом или веществами, над которыми уже установлен государственный контроль.

Первая, так называемая «химическая» часть данной работы, сводится к следующим последующим этапам:

- 1) установление химической структуры неизвестного (нового) соединения;
- 2) отождествление аналита с известным химическим веществом путем сопоставления аналитического сигнала аналита со справочными данными или аналогичными сигналами стандартного образца;
- 3) установление подобия химической структуры НПВ со структурой контролируемого вещества.

Оптимальным является случай, когда первый и второй этап можно осуществить, используя удобный для этих целей скрининговый метод газовой хромато-масс-спектрометрии. Однако нередко при-

ходится использовать и другие, более высокоточные подтверждающие методы, такие как ЯМР-спектроскопия, различные варианты жидкостной хроматографии, например, в сочетании с тандемной квадруполь-времяпролетной масс-спектрометрией, и другие [6–11].

Завершающим этапом «химической» части исследования является определение «структурной аналогии» исследуемого НПВ с соответствующим наркотическим средством или психотропным веществом. В связи с тем, что в общем случае принятие решения о сходстве или различии структур остается на усмотрение эксперта, наиболее корректным является использование сочетания нескольких подходов:

- 1) «экспертный подход», основанный на квалификации эксперта и его опыте, а также систематизированных знаниях по предыдущим случаям установления аналогичности. Примером обобщения таких знаний могут служить методические рекомендации В. А. Шевырина с соавторами по установлению химических структур новых психоактивных соединений и их структурной аналогии с наркотическими средствами и психотропными веществами;
- 2) «количественный подход», основанный на оценке различных молекулярных признаков химической структуры, содержащихся в открытом литературном доступе и представляющих собой комплекс описательных средств для однозначной идентификации молекулы в химическом пространстве выбранных признаков, включающий:
 - количественное определение химического сходства исследуемого вещества с НС и ПВ;
 - определение места исследуемого вещества в химическом разнообразии НС и ПВ, либо других веществ из контролируемых списков.

В случаях, когда это целесообразно, возможно проведение вычислительного моделирования взаимодействия исследуемого вещества со специфической мишенью (рецептором) [12, 13].

Для осуществления «количественного подхода» была проведена кропотливая работа по построению цифровых моделей структур контролируемых веществ, поименованных в Перечне НС и ПВ, с помощью программного комплекса «ChemBioOffice 2014 (ChemBio3D Ultra 14.0)». Выполнение «решения» структур, т.е. определения трехмерных конфигураций всех молекул, участвующих в эксперименте, выполнялось с помощью программного комплекса «ChemBioOffice 2014 (ChemBio3D Ultra 14.0)» по средствам последовательного применения специальных средств оптимизации химической структуры в пространстве на основе межмолекулярных силовых полей: «MMFF94 Molecular Dynamics», «MMFF94 Minimization» и др.

Для оценки химического сходства использовался комплекс молекулярных «отпечатков пальцев», выраженных в бинарном виде (далее фингерпринт-

ный комплекс, или фингерпринты), а также комплекс дескрипторов (далее дескрипторы) [12], описывающий молекулы не только с точки зрения ее структуры и функциональных групп, но и вычисляемых физико-химических свойств, а также комплекс признаков молекулярной структуры «Pharmaceutical Data Exploration Laboratory» (PADEL). При анализе данных использовалось неметрическое многомерное шкалирование и ранговые классификации для визуализации наборов признаков, по которым исследованное вещество схоже с веществами, поименованными в соответствующих Списках Перечня НС и ПВ. Проводимые на основании указанного подхода вычисления позволяют получить объективные, научно обоснованные, воспроизводимые результаты установления схожести структур.

Второй важной частью проведения комплексных исследований НПВ является так называемая «фармакологическая» часть исследования, целями которой является:

- 1) определение психической (в т.ч. поведенческой) и (при необходимости) соматической специфики эффекта исследуемого вещества;
- 2) выяснение наличия и доказательство сходства психоактивных свойств объекта исследования с психоактивными свойствами конкретного наименования НС или ПВ, либо класса веществ.

Фармакологическое исследование проводится на лабораторных животных с использованием актуальных научных подходов. При этом эффективным решением является практика использования автоматизированных лабораторий поведенческих исследований, позволяющая при проведении ряда тестов свести к минимуму человеческий фактор и получать при этом объективные результаты. Необходимыми компонентами такой лаборатории являются:

- актографические (актометрические), устройства, позволяющие выполнять тесты изучения спонтанной двигательной активности индивидуальных животных на промежутках времени не менее суток после введения вещества (далее СДА-тест);
- устройства видеотрекинга, позволяющие эффективно документировать и обрабатывать результаты теста «Открытое поле», и других тестов «свободного выбора»;
- устройства контроля физических средовых параметров в лаборатории – температуры, влажности, и других при необходимости;
- оборудование для проведения тестов острой и подострой токсичности.

Можно также отметить, что при необходимости могут быть проведены более узкие тесты, такие как «Приподнятый Т-образный лабиринт», «Радиальный восьмирукавный лабиринт», «Горячая пластинка», «Вращающийся стержень», «Темно-светлая камера», «Темная камера с отверстиями», позволяющие подробнее описать психоактивные свойства объекта.

Именно комбинация тестов изучения спонтанной двигательной активности и теста «Открытое поле» (с видеотрекингом) позволяют обоснованно установить наличие и основную специфику психоактивных свойств изучаемых НПВ [14–17].

Применение лабораторных животных для целей количественной характеристики психоактивного действия НПВ имеет ряд важных достоинств и некоторые определенные недостатки.

Целесообразно отметить 3 положительных аспекта использования лабораторных животных в экспертной практике:

- 1) объективность результатов, получаемых на животных. Обратим внимание на то, что речь идет об объективности сразу двух типов – внешней и внутренней – по отношению к объекту эксперимента;
- 2) количественный характер получаемых данных, в отличие от сугубо качественных субъективных словесных описаний «трипов» под воздействием НПВ, генерируемых добровольцем или наркоманом;
- 3) буквальная количественная сопоставимость измененного веществом поведения с нормальным поведением контрольной группы животных, при условии соблюдения таких важнейших методических требований, как рандомизация животных перед экспериментом и проведение экспериментальной программы.

Внутренняя объективность означает отсутствие эффектов плацебо, ноцебо, а также других эффектов, связанных с ожиданиями от приема вещества. У животного нет конкретных ожиданий того, что будет с ним дальше в связи с приемом психоактивного вещества, поскольку в психике животного нет понятия «психоактивного фактора», а, значит, поведение его нейронной сети не будет самодетерминироваться ожиданием. Важность этой особенности лабораторных животных (возможной, впрочем, только в первичном эксперименте) трудно переоценить.

Внешняя объективность достигается с помощью применения систем автоматизированного наблюдения. Долгое время экспертная дешифровка основывалась на способности человека видеть и понимать действия другого существа, в том числе на основе работы системы зеркальных нейронов, но период сохранения устойчивого внимания у человека-эксперта намного меньше длительности эксперимента. Автоматизация экспериментов сняла часть проблем, связанных с объективностью регистрации, и сейчас необходимо формирование таких наборов поведенческих дескрипторов, которые были бы биологически значимыми, т. е. позволяли бы корректно отображать и «понимать» поведение животных, и при этом эффективно выделялись автоматизированными следящими системами.

Недостатком использования животных традиционно считается отсутствие возможности формально определить уровень транслируемости экспериментального исследования на человека, но это задача скорее субъективно значимая и зачастую носящая мировоззренческий характер, чем требующая срочного и полного решения. Опыт последних десятилетий показал, в частности, после талидомидовой трагедии, что обязательное проведение рандомизированных, воспроизводимых доклинических исследований лекарств, включая исследования на животных, – необходимый элемент обеспечения эффективности и безопасности новых биологически активных веществ. Факт проведения такого рода исследований крайне важен.

Описанные выше подходы к исследованию НПВ осуществимы в организациях, отвечающих ряду требований, основные из которых: наличие лицензии на использование НС и ПВ в экспертной практике и научных целях, наличие современного точного и поверенного аналитического оборудования, наличие вивария и специфических условий для работы с лабораторными животными, наличие компетентного персонала. Это не позволяет заниматься такого рода исследованиями в структурных подразделениях правоохранительных органов, в частности МВД.

С 1993 года при кафедре токсикологической химии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России функционирует как самостоятельное структурное подразделение академии учебно-научно-производственный комплекс Региональный испытательный центр (РИЦ) «Фарматест», в составе которого в настоящее время активно работает 6 отделов, 5 испытательных лабораторий, Центр по исследованию новых психоактивных веществ. Техническая компетентность и высокий уровень проведения исследований по показателям качества и безопасности лекарственных средств для медицинского и ветеринарного применения, растительного сырья, БАД к пище, проведения доклинических, клинических фармакокинетических исследований, научных и экспертных исследований веществ, обладающих психоактивными свойствами подтверждена наличием сертификатов системы менеджмента в соответствии с требованиями международного стандарта ISO 9001:2015 и ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)». Лаборатории центра располагают не только аналитическим оборудованием (ГХ-МС, ВЭЖХ-МС), но и виварием, а также оборудованием для проведения фармакологических исследований, что позволяет работать не только с нативными веществами, но и с метаболитами НПВ.

Исследовано 80 принципиально новых веществ, изъятых из нелегального оборота, проведено около 5000 экспертиз, результаты которых легли в основу принятых судебных решений, устоявшихся, в том

числе, после подачи апелляций в Верховном суде РФ. При этом дополнительным подтверждением достоверности сделанных при проведении экспертиз выводов является тот факт, что все вещества, отнесенные по результатам проведенных исследований к аналогам НС и ПВ, в последующем были включены в Перечень НС, ПВ и их прекурсоров (более 70 из всех исследованных).

Благодаря систематической повседневной работе сотрудниками академии накоплен эксклюзивный опыт в организационно-методической, научной и экспертной работе по установлению сходства химической структуры и психоактивного воздействия новых синтетических соединений с веществами, официально отнесенными к наркотическим или психотропным. Значительно расширился спектр проводимых научных исследований, лежащих в основе дальнейшей экспертной практики: ведется углубленное изучение особенностей проявления эффектов новых психоактивных веществ в живых организмах, проводятся сравнительные исследования особенностей метаболического профиля у человека и лабораторных животных после экспозиции новыми психоактивными веществами.

В Центре по изучению НПВ РИЦ «Фарматест» возможно проведение исследований, связанных с математическим моделированием и количественной оценкой схожести химических структур. При этом будет также выполняться оценка применимости результатов вычислительных экспериментов для получения обоснованного вывода при предварительной квалификации новой химической структуры.

Следует отметить, что институт аналогов наркотических средств и психотропных веществ требует методического развития, в первую очередь, в части биологических эффектов (особенно тут важна автоматизация экспериментов). В настоящее время на сайте компании «Open science» – «Современное оборудование для работы с животными» (Открытая наука, г. Москва) представлен один из образцов разработанного нашими сотрудниками оборудования для проведения теста СДА (спонтанной двигательной активности) – аппаратно-программный комплекс «Активность-2». Что свидетельствует не только о создании в Перми методологии процедуры отнесения новых психоактивных веществ к аналогам, но и о развитии технической оснащенности и программного обеспечения.

Модернизация используемого парка приборов и информационных баз данных по контролируемым, в том числе и в других странах, новым психоактивным веществам, будет способствовать развитию деятельности по предотвращению наркотизации населения России и предотвращению распространения наркотиков.

Опыт существования Центра по изучению НПВ на базе РИЦ «Фарматест» стал востребованным и в рамках исследования лекарственных препаратов, в том числе на доклиническом этапе, с целью установления возможного наличия у них наркотического потенциала. История появления дизайнерских наркотиков и развитие фармацевтической отрасли не исключают появления на рынке лекарственных препаратов (и даже БАДов), потенциально обладающих психоактивными свойствами. В первую очередь это касается лекарственных средств, реализующих свой эффект через центральную нервную систему (ЦНС), а также с неустановленным механизмом действия. Проведение исследований на животных, направленных именно на установление отсутствия наркотического потенциала должно стать нормой практики на этапе введения в оборот новых лекарственных средств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Необходимость оперативного определения юридического статуса появляющихся на территории Российской Федерации новых психоактивных веществ – одна из самых актуальных задач в борьбе с незаконным оборотом наркотиков. Региональный испытательный центр «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, занимающийся исследованием наркотических средств, психотропных веществ и их аналогов на протяжении более 10 лет, доказал свою состоятельность как современный межведомственный аналитический центр, взаимодействующий с органами здравоохранения и правоохранительными органами регионов России.

Обеспечение единого научно-методического и организационного подхода к научной и экспертной деятельности в отношении новых психоактивных веществ, а также взаимодействие со всеми заинтересованными ведомствами России, имеет важное значение как для пресечения незаконного оборота наркотических средств в целях выполнения Государственной антинаркотической политики, так и для развития отечественной фармацевтики, призванной обеспечивать использование в медицинской практике эффективных и безопасных лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рыбакова Л. Н. «Новые наркотики» как междисциплинарная исследовательская задача. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2018;9–2(75):79–84. DOI: 10.23670/IRJ.2018.75.9.041.
2. Мелентьев А. Б., Катаев С. С., Дворская О. Н. Дизайнерские наркотики. Метаболизм и подходы к анализу в биологических средах. М.: Перо; 2016. 326 с.
3. Шевырин В. А. Синтетические каннабиноиды в качестве новых психоактивных соединений. Установление структур, аналитические характеристики, методы определения и идентификация в объектах анализа наркотических средств. М.: Перо; 2015. 275 с.

- Малкова Т. Л. и др. Методические рекомендации по исследованию новых психоактивных веществ и процедуре отнесения их к аналогам наркотических средств и психотропных веществ. Пермь: 2018. 98 с.
- Андреев А. И., Малкова Т. Л., Апушкин Д. Ю., Булатов И. П., Машченко П. С. Комплексное исследование новых психоактивных веществ. Судебно-медицинская экспертиза. 2016;2(59):55–58. DOI: 10.17116/sudmed201659255-58.
- Kupriyanova O. V., Shevyrin V. A., Shafran Yu. M. Potential of chromatography and mass spectrometry for the differentiation of three series of positional isomers of 2-(dimethoxyphenyl)-N-(2-halogenobenzyl) ethanamines. *Drug Testing and Analysis*. 2022;14(6):1102–1115. DOI: 10.1002/dta.3232.
- Машченко П. С., Катаев С. С., Мендограло Е. Ю. Идентификация синтетического каннабиноида N-(адамантан-1-ил)-2-[1-(4-фторбензил)-1H-индол-3-ил]ацетамид. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2023;66(3):29–33. DOI: 10.17116/sudmed20236603129.
- Pasin D., Nedahl M., Mollerup C., Tortzen C., Reitzel L., Dalsgaard P. Identification of the novel synthetic cannabinoid-type new psychoactive substance, CH-PIACA, in seized material. *Toxicologie Analytique et Clinique*. 2022;34(3):S153. DOI: 10.1016/j.toxac.2022.06.258.
- Гофенберг М. А., Шевырин В. А., Дворская О. Н., Катаев С. С., Григорьев А. М. Исследование метаболического профиля 4F-MDMB-BINACA в крови и моче человека с помощью жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной квадруполь-времяпролетной масс-спектрометрией. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2022;25(10):26–37. DOI: 10.29296/25877313-2022-10-04.
- Катаев С. С., Дворская О. Н., Гофенберг М. А. Идентификация метаболитов каннабимиметика MDMB(N)-073F в моче методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. *Фармация и фармакология*. 2019;7(2):70–83. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-2-70-83.
- Долгова О. Б., Грехов И. А. Способ установления действия на центральную нервную систему психоактивных соединений на основе метода молекулярного докинга. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2021;64(4):47–52. DOI: 10.17116/sudmed20216404147.
- Voicu A., Duteanu N., Voicu M., Vlad D., Dumitrascu V. The rcdk and cluster R packages applied to drug candidate selection. *Journal of Cheminformatics*. 2020;12:1–8. DOI: 10.1186/s13321-019-0405-0.
- Андреев А. И., Апушкин Д. Ю., Булатов И. П., Машченко П. С., Малкова Т. Л., Стерн К. И. К вопросу количественного определения химического сходства в задачах химико-фармакологической экспертизы. *Медицинская экспертиза и право*. 2014;5:19–25.
- Deventer M. H., Van Uytanghe K., Vinckier I. M., Reniero F., Guilhou C., Stove C. P. A new cannabinoid receptor 1 selective agonist evading the 2021 «China ban»: ADB-FUBIATA. *Drug Testing and Analysis*. 2022;14(9):1639–1644. DOI: 10.1002/dta.3285.
- Skininider M. A., Wang F., Pasin D., Greiner R., Foster L. J., Dalsgaard P. W., Wishart D. S. A deep generative model enables automated structure elucidation of novel psychoactive substances. *Nature Machine Intelligence*. 2021;3(11):973–984. DOI: 10.1038/s42256-021-00407-x.
- Von Ziegler L., Sturman O., Bohacek J. Big behavior: challenges and opportunities in a new era of deep behavior profiling. *Neuropsychopharmacology*. 2021;46(1):33–44. DOI: 10.1038/s41386-020-0751-7.
- Андреев А., Ахременко Е., Апушкин Д., Кuznetsov I., Kovalenko I., Korkotian E., Kalchenko V. New Approaches to Studying Rodent Behavior Using Deep Machine Learning. *Advances in Digital Science: ICADS 2021. Springer International Publishing*. 2021:365–374. DOI: 10.1007/978-3-030-71782-7_32.
- Melentyev A. B., Kataev S. S., Dvorskaya O. N. Designer drugs. Metabolism and approaches to analysis in biological environments. Moscow: Pero; 2016. 326 p. (In Russ.)
- Shevyrin V. A. Synthetic cannabinoids as new psychoactive compounds. Establishment of structures, analytical characteristics, methods of determination and identification in objects of analysis of narcotic drugs. Moscow: Pero; 2015. 608 p. (In Russ.)
- Malkova T. L. et al. Methodological recommendations for the study of new psychoactive substances and the procedure for classifying them as analogues of narcotic drugs and psychotropic substances. Perm: 2018. 98 p. (In Russ.)
- Андреев А. И., Малкова Т. Л., Апушкин Д. Ю., Булатов И. П., Машченко П. С. The comprehensive investigation of the new psychoactive substances. *Sudebno-Meditsinskaya Ekspertiza*. 2016;59(2):55–58. (In Russ.) DOI: 10.17116/sudmed201659255-58.
- Kupriyanova O. V., Shevyrin V. A., Shafran Yu. M. Potential of chromatography and mass spectrometry for the differentiation of three series of positional isomers of 2-(dimethoxyphenyl)-N-(2-halogenobenzyl) ethanamines. *Drug Testing and Analysis*. 2022;14.6:1102–1115. DOI: 10.1002/dta.3232.
- Mashchenko P. S., Kataev S. S., Mendogralo E. Yu. Identification of synthetic cannabinoid N-(adamantan-1-yl)-2-[1-(4-fluorobenzyl)-1H-indole-3-yl]acetamide. *Sudebno-Meditsinskaya Ekspertiza*. 2023;66(3):2933. (In Russ.) DOI: 10.17116/sudmed20236603129.
- Pasin D., Nedahl M., Mollerup C., Tortzen C., Reitzel L., Dalsgaard P. Identification of the novel synthetic cannabinoid-type new psychoactive substance, CH-PIACA, in seized material. *Toxicologie Analytique et Clinique*. 2022;34(3):S153. DOI: 10.1016/j.toxac.2022.06.258.
- Gofenberg M. A., Shevyrin V. A., Dvorskaya O. N., Kataev S. S., Griгорьев А. М. Identification of 4F-MDMB-BINACA metabolites in human blood and urine with LC-QTOF. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2022;25.10:26-37. (In Russ.) DOI: 10.29296/25877313-2022-10-04.
- Kataev S. S., Dvorskaya O. N., Gofenberg M. A. Identification of cannabimimetic MDMB(N)-073F metabolites in urine by method of gas chromatography with mass spectrometric detection. *Pharmacy and pharmacology*. 2019;7.2:70–83. (In Russ.) DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-2-70-83.
- Dolgova O. B., Grekhov I. A. Method for determination the action of psychoactive agents on the central nervous system based on the molecular docking method. *Sudebno-Meditsinskaya Ekspertiza*. 2021;64(4):47–52. (In Russ.) DOI: 10.17116/sudmed20216404147.
- Voicu A., Duteanu N., Voicu M., Vlad D., Dumitrascu V. The rcdk and cluster R packages applied to drug candidate selection. *Journal of Cheminformatics*. 2020;12:1–8. DOI: 10.1186/s13321-019-0405-0.
- Andreyev A. I., Apushkin D. Yu., Bulatov I. P., Mashchenko P. S., Malkova T. L., Stern K. I. To the question of quantitative determination of chemical similarity at the solution of problems of chemical and pharmacological examination. *Medical Expertise and Law*. 2014;5:19–25. (In Russ.)
- Deventer M. H., Van Uytanghe K., Vinckier I. M., Reniero F., Guilhou C., Stove C. P. A new cannabinoid receptor 1 selective agonist evading the 2021 «China ban»: ADB-FUBIATA. *Drug Testing and Analysis*. 2022;14(9):1639–1644. DOI: 10.1002/dta.3285.
- Skininider M. A., Wang F., Pasin D., Greiner R., Foster L. J., Dalsgaard P. W., Wishart D. S. A deep generative model enables automated structure elucidation of novel psychoactive substances. *Nature Machine Intelligence*. 2021;3(11):973–984. DOI: 10.1038/s42256-021-00407-x.
- Von Ziegler L., Sturman O., Bohacek J. Big behavior: challenges and opportunities in a new era of deep behavior profiling. *Neuropsychopharmacology*. 2021;46(1):33–44. DOI: 10.1038/s41386-020-0751-7.
- Андреев А., Ахременко Е., Апушкин Д., Кuznetsov I., Kovalenko I., Korkotian E., Kalchenko V. New Approaches to Studying Rodent Behavior Using Deep Machine Learning. *Advances in Digital Science: ICADS 2021. Springer International Publishing*. 2021:365–374. DOI: 10.1007/978-3-030-71782-7_32.

REFERENCES

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1618](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1618)
УДК 615.12:001.818



Оригинальная статья / Research article

Создание науковедческой системы анализа научной деятельности вуза как источника инноваций при производстве лекарственных средств

Е. В. Соколова, П. С. Гурьянов✉, А. Г. Сальникова, Т. Л. Малкова

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: Гурьянов Павел Сергеевич. E-mail: laboratory.iot@gmail.com

ORCID: Е. В. Соколова – <https://orcid.org/0000-0002-8415-5696>; П. С. Гурьянов – <https://orcid.org/0000-0003-0275-9937>;
А. Г. Сальникова – <https://orcid.org/0009-0007-9045-9067>; Т. Л. Малкова – <https://orcid.org/0000-0002-5795-0803>.

Статья поступила: 20.10.2023

Статья принята в печать: 19.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Создание новых лекарственных средств и внедрение их в производство зависит, в частности, от организации научных исследований в фармацевтических вузах. Способность полноценно задействовать все имеющиеся в распоряжении вуза материальные, финансовые и кадровые ресурсы определяет возможность эффективной генерации фармацевтических инноваций. Это в свою очередь возможно при наличии методик науковедческого анализа процесса научной деятельности вуза.

Цель. Создание методик науковедческого анализа процесса научной деятельности вуза, позволяющих на основе регулярно собираемой информации о научной деятельности кафедр выявлять направления совершенствования организации научных исследований.

Материалы и методы. В исследовании использовались логический, аналитико-синтетический методы исследования, моделирование, метод экспертных оценок. Изучены научные отчеты кафедр Пермской государственной фармацевтической академии (ПГФА) за 2019 год.

Результаты и обсуждение. Разработана модель функционирования научной деятельности вуза на примере ПГФА, отражающая степень взаимодействия отдельных кафедр друг с другом. Были разработаны оригинальные методики оценки эффективности работы отдельных кафедр исходя из соотношения вложенных в работу кафедр материальных, финансовых, кадровых ресурсов, и полученных в результате научной деятельности научного и практического выхода.

Заключение. Созданная модель организации научной деятельности вуза позволила выделить кафедры «генераторы» и «посредники» научных исследований, а также явления дисбаланса или недостаточности взаимодействия между кафедрами. Созданы оригинальные методики оценки кадрового потенциала, научного выхода кафедр. Для оценки работы кафедры было сформулировано правило баланса между вложенными в работу кафедрой ресурсами и полученным научным результатом, также баланса между собственно научным выходом, выраженном в научных публикациях и практическим выходом, выраженном в полученных патентах, грантах и актах внедрения.

Ключевые слова: науковедение, вуз, исследования, модель, методика, фармацевтика

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

Вклад авторов. Авторы совместно продумывали концепцию статьи, разрабатывали методики оценки научной работы кафедр. Е. В. Соколова провела ретроспективный обзор методик оценки эффективности научных исследований и предложила на основе идей Т. К. Шураевой создать модель функционирования научной деятельности в ПГФА. Затем на основе научных отчетов кафедр ПГФА Е. В. Соколова создала модель научной деятельности вуза на примере ПГФА.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Соколова Е. В., Гурьянов П. С., Сальникова А. Г., Малкова Т. Л. Создание науковедческой системы анализа научной деятельности вуза как источника инноваций при производстве лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):163–170. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1618](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1618)

Creation of a Scientific System for Analyzing the Scientific Activities of a University as a Source of Innovation in the Production of Medicines

Ekaterina V. Sokolova, Pavel S. Guryanov✉, Anna G. Salnikova, Tamara L. Malkova

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: Pavel S. Guryanov. E-mail: laboratory.iot@gmail.com

ORCID: Ekaterina V. Sokolova – <https://orcid.org/0000-0002-8415-5696>; Pavel S. Guryanov – <https://orcid.org/0000-0003-0275-9937>;
Anna G. Salnikova – <https://orcid.org/0009-0007-9045-9067>; Tamara L. Malkova – <https://orcid.org/0000-0002-5795-0803>.

Received: 20.10.2023

Revised: 19.12.2023

Published: 27.12.2023

© Соколова Е. В., Гурьянов П. С., Сальникова А. Г., Малкова Т. Л., 2023

© Sokolova E. V., Guryanov P. S., Salnikova A. G., Malkova T. L., 2023

Abstract

Introduction. The creation of new medicines and their introduction into production depends, in particular, on the organization of scientific research in pharmaceutical universities. The ability to fully utilize all the material, financial and human resources available to a university determines the possibility of effectively generating pharmaceutical innovations. This, in turn, is possible if there are methods of scientific analysis of the process of scientific activity of a university.

Aim. Creation of methods for scientific analysis of the process of scientific activity of a university, allowing, on the basis of regularly collected information about the scientific activity of departments, to identify areas for improving the organization of scientific research.

Materials and methods. The study used logical, analytical-synthetic research methods, modeling, and the method of expert assessments. The scientific reports of the Perm State Pharmaceutical Academy (PSFA) departments for 2019 were studied.

Results and discussion. A model of the functioning of the scientific activities of a university has been developed using the example of PSFA, reflecting the degree of interaction of individual departments with each other. Original methods for assessing the effectiveness of individual departments were developed based on the ratio of material, financial, and human resources invested in the work of the departments, and the scientific and practical output obtained as a result of scientific activities.

Conclusion. The created model for organizing the scientific activities of the university made it possible to identify departments as "generators" and "successors of scientific research", as well as the phenomenon of imbalance or lack of interaction between departments. Original methods for assessing human resources and scientific output of the department have been created. To evaluate the work of the department, a rule was formulated for the balance between the resources invested in the work of the department and the scientific result obtained, as well as the balance between the scientific output itself, expressed in scientific publications, and the practical output, expressed in received patents, grants and implementation acts.

Keywords: scientific studies, university, research, model, methodology, pharmacy

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. The authors jointly thought through the concept of the article and developed methods for assessing the scientific work of departments. Ekaterina V. Sokolova conducted a retrospective review of methods for assessing the effectiveness of scientific research and proposed, based on the ideas of T. K. Shuraeva create a model for the functioning of scientific activity in the PSFA. Then, based on scientific reports from the departments of the Perm State Pedagogical Faculty, Ekaterina V. Sokolova created a model of the university's scientific activities using the example of the PSFA.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Sokolova E. V., Guryanov P. S., Salnikova A. G., Malkova T. L. Creation of a scientific system for analyzing the scientific activities of a university as a source of innovation in the production of medicines. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):163–170. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1618](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1618)

ВВЕДЕНИЕ

Успешное производство новых лекарственных средств возможно в случае эффективной организации научно-исследовательских работ, сопровождающих создание инновационного препарата. В таких условиях важнейшей производственной ценностью является информационно-научный ресурс, а основными структурами его генерации и накопления служат университеты. Так, в исследовании A. Gautam «Меняющаяся модель Big Pharma: влияние ключевых тенденций», в котором были проанализированы тенденции исследований в области фармации за период 1995–2015 гг, отмечалось, что источником главных научных открытий стали академические центры, а не лаборатории крупных фармацевтических предприятий [1]. Таким образом, вузы стали ключевыми элементами инфраструктуры научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ (НИОКР) и основными поставщиками научно-технической продукции на фармацевтический рынок [2, 3].

Поскольку продукция НИОКР становится одной из самых востребованных видов продукции [4], повышается и расширяется уровень требований непо-

средственно к исследованиям [5], а также к человеческому капиталу, который обеспечивает производство, накопление и передачу научного знания. Однако, для эффективного ведения НИОКР очевидна необходимость повышения качества системы организации управления, координации и планирования научной деятельности вузов [6]. Такая система, основанная на наукометрических и науковедческих подходах, позволит вузам производить качественный, востребованный на экономическом рынке научный продукт с использованием минимального количества производственных ресурсов [7, 8].

В настоящем исследовании описаны элементы предлагаемой системы, ответственные за анализ эффективности ведения НИОКР. Предложены подходы к оценке результативности научного процесса вуза на примере Пермской государственной фармацевтической академии (ПГФА).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовались логический, аналитико-синтетический методы исследования, моделирование, метод экспертных оценок. Изучены науч-

ные отчеты кафедр ПГФА за 2019 год, создана модель взаимодействия кафедр при проведении научных исследований. Разработаны оригинальные методики расчета и показатели эффективности научной работы исследуемых кафедр ПГФА.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Предпосылками для создания модели функционирования научных исследований в фармацевтическом вузе стали идеи Т. К. Шураевой, изложенной в диссертации «Наукометрический анализ и моделирование фармацевтической науки» (Харьков, 1984 г.). Она разработала структурно-функциональную модель развития фармацевтической науки (рисунок 1), где F1/F10 – факторы, влияющие на развитие науки, N1/N4 – результаты научной деятельности в виде статей, диссертаций, патентов и внедрений. Выбор данной концепции был осуществлен по итогам ретроспективного анализа отечественной фармацевтической наукометрии в период с 1922 г. по настоящее время [9]. Кроме того, моделирование фармацевтических процессов в настоящее время активно используется для оптимизации научной деятельности [10].

Данная модель показывает, как отдельные виды фармацевтических исследований взаимодействуют между собой в ходе создания научных продуктов, используемых при производстве новых лекарственных средств. Взаимодействие, в частности, выра-

жается в том, что научные продукты одного из научных направлений становятся исходными данными для других.

Используя подход Шураевой, мы предложили создать модель взаимодействия научных структурных подразделений вуза (кафедр) на примере ПГФА (рисунок 2). В ходе моделирования, было установлено, что наблюдается условное деление кафедр на: преимущественно «генераторов» научных направлений и преимущественно «преемников». Так к «генераторам» можно отнести кафедры общей и органической химии, кафедру фармацевтической технологии, кафедру фармакогнозии, чьи научные продукты инициируют научные исследования других кафедр. К «преемникам» же относятся такие кафедры как: микробиологии, фармацевтической химии и фармакологии, которые продолжают исследования «кафедр-генераторов». При этом наблюдается дисбаланс: отдельные кафедры являются только «генераторами» и не продолжают идеи и наработки коллег, а другие только исследуют полученные коллегами соединения, не генерируя собственных идей сотрудничества.

Фактор кооперации ученых отмечается во многих исследованиях как важный фактор повышения эффективности научной работы [11–13].

Анализ степени взаимодействия кафедр в ходе научной деятельности мы предлагаем использовать при управлении научной деятельностью вуза, для усиления кооперации кафедр, там, где не происходит достаточного взаимодействия между ними.

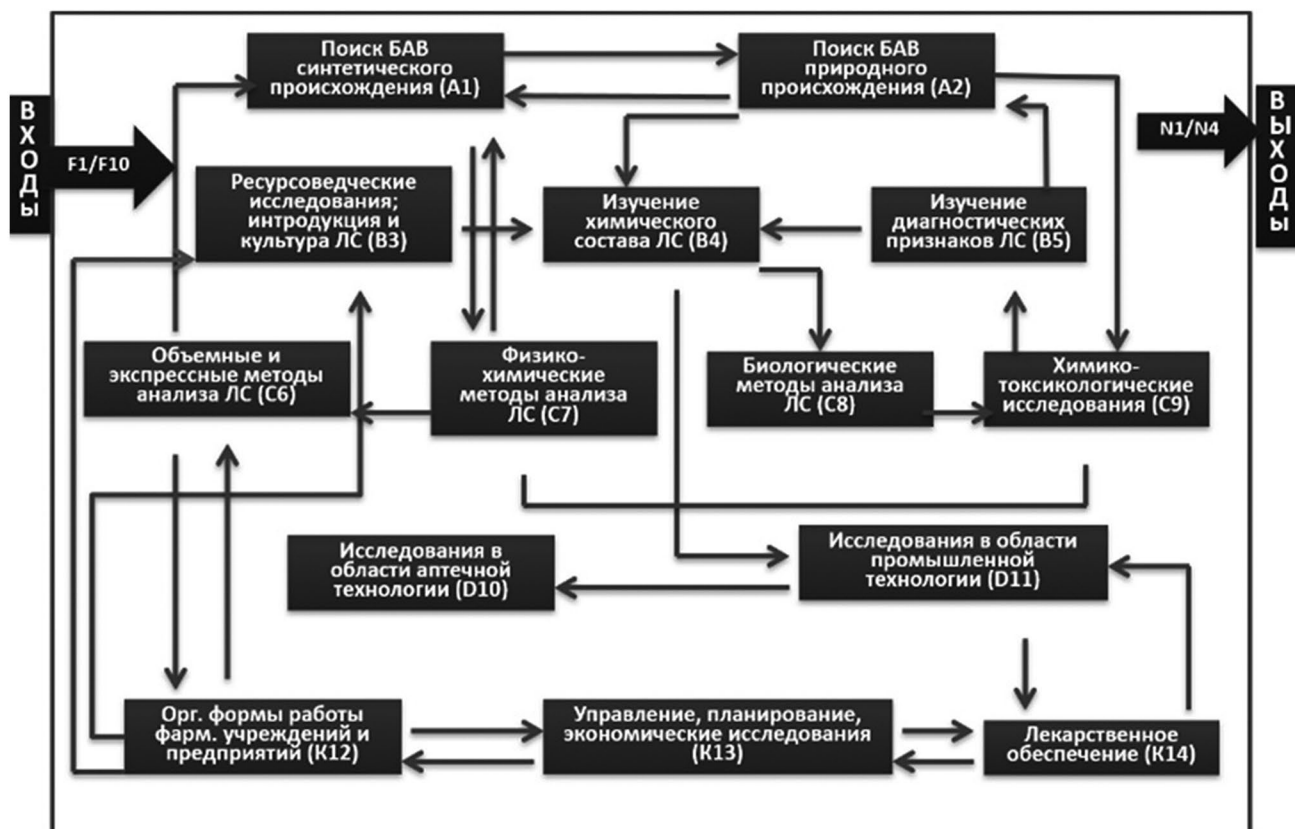


Рисунок 1. Модель развития фармацевтической науки

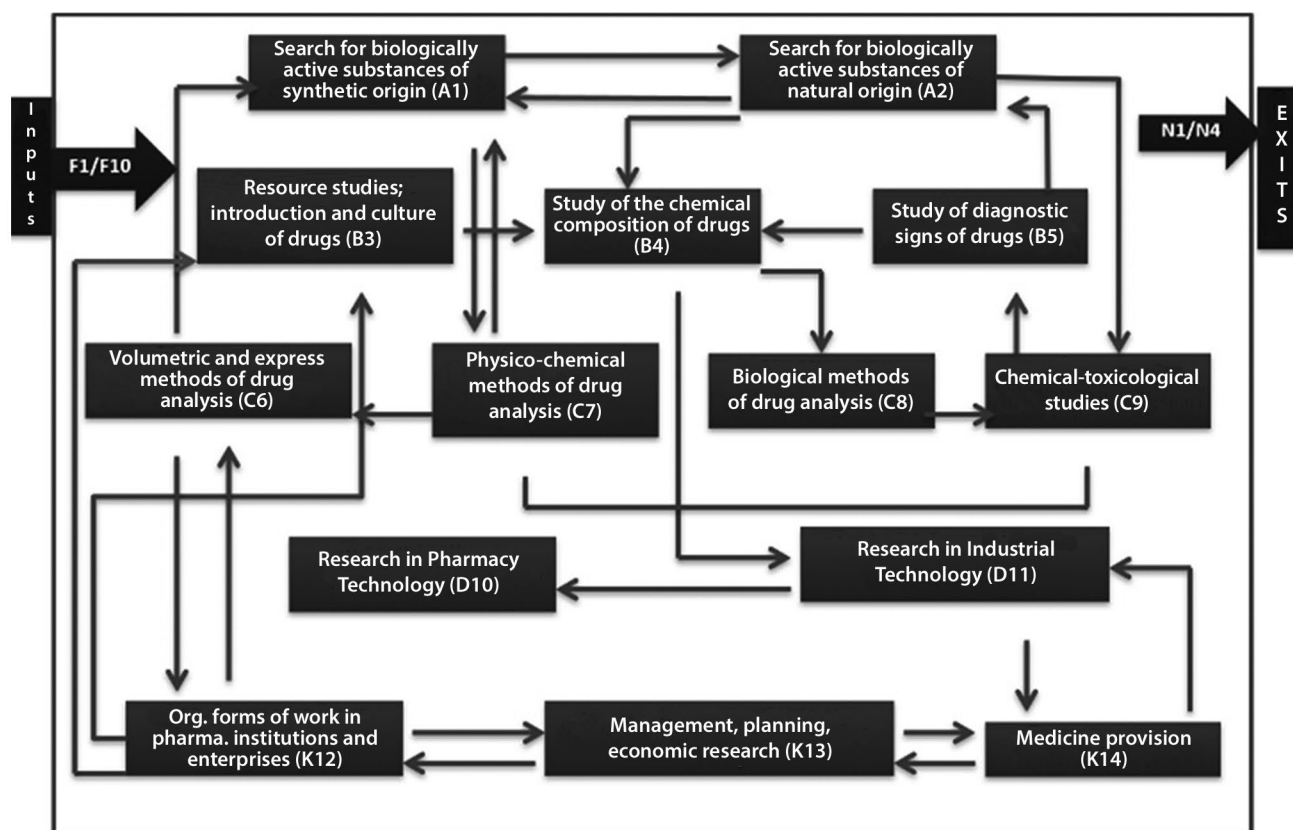


Figure 1. Model of development of pharmaceutical science

Описание взаимодействий кафедр и его влияния на создаваемые ими научные продукты позволит методом моделирования осуществлять прогноза научной деятельности, а также предполагать объем и качество научного продукта при изменениях кадрового, финансового, технического потенциала тех или иных кафедр.

Важно также отметить, что модель функционирования науки в вузе не является закрытой системой. Зачастую кафедры привлекают к работе сторонние организации (другие вузы, НИИ, лаборатории и т. д.), степень взаимодействия с которыми также влияет на эффективность работы кафедры и всей системы научных исследований вуза в целом.

В свою очередь каждая кафедра также представляет собой сложную систему взаимодействий и работает как научно-исследовательский процесс. Для понимания данного процесса и прогнозирования его работы необходимо обозначить входные и выходные параметры работы кафедры (рисунок 3).

Под входными параметрами мы подразумеваем ресурсы, которые вкладываются в работу кафедры. Ресурсное обеспечение кафедр (активы) подразделяется на:

- Материальное (оборудование, приборы, техника и т. д.).

- Финансовое (денежные средства).
- Кадровое (научно-должностной состав кафедры).

Зная количество того или иного вида ресурсного обеспечения кафедры можно рассчитать научную рентабельность кафедры по тому или иному активу. Научная рентабельность = Совокупный научный продукт / Ресурсное обеспечение.

Под выходными параметрами подразумевается непосредственно научный выход (НВ) (количество статей, монографий, диссертаций и т. д.) и практический выход (ПВ) (количество актов внедрения, грантов, патентов и т. д.) кафедры.

Если материальный или финансовый потенциал кафедры в качестве **входных параметров** легко выразить в цифровом эквиваленте, то для кадрового потенциала необходима методика расчета, предусматривающая значимость того или иного сотрудника кафедры. Для расчета кадрового потенциала мы предлагаем учитывать кадровый состав кафедры, который подразделяется на должностной состав (ДС) и на научный состав (НС). Совокупный научно-должностной состав кафедры и будет являться ее кадровым потенциалом (КП).

$$КП = \frac{(ДС + НС)}{2}.$$

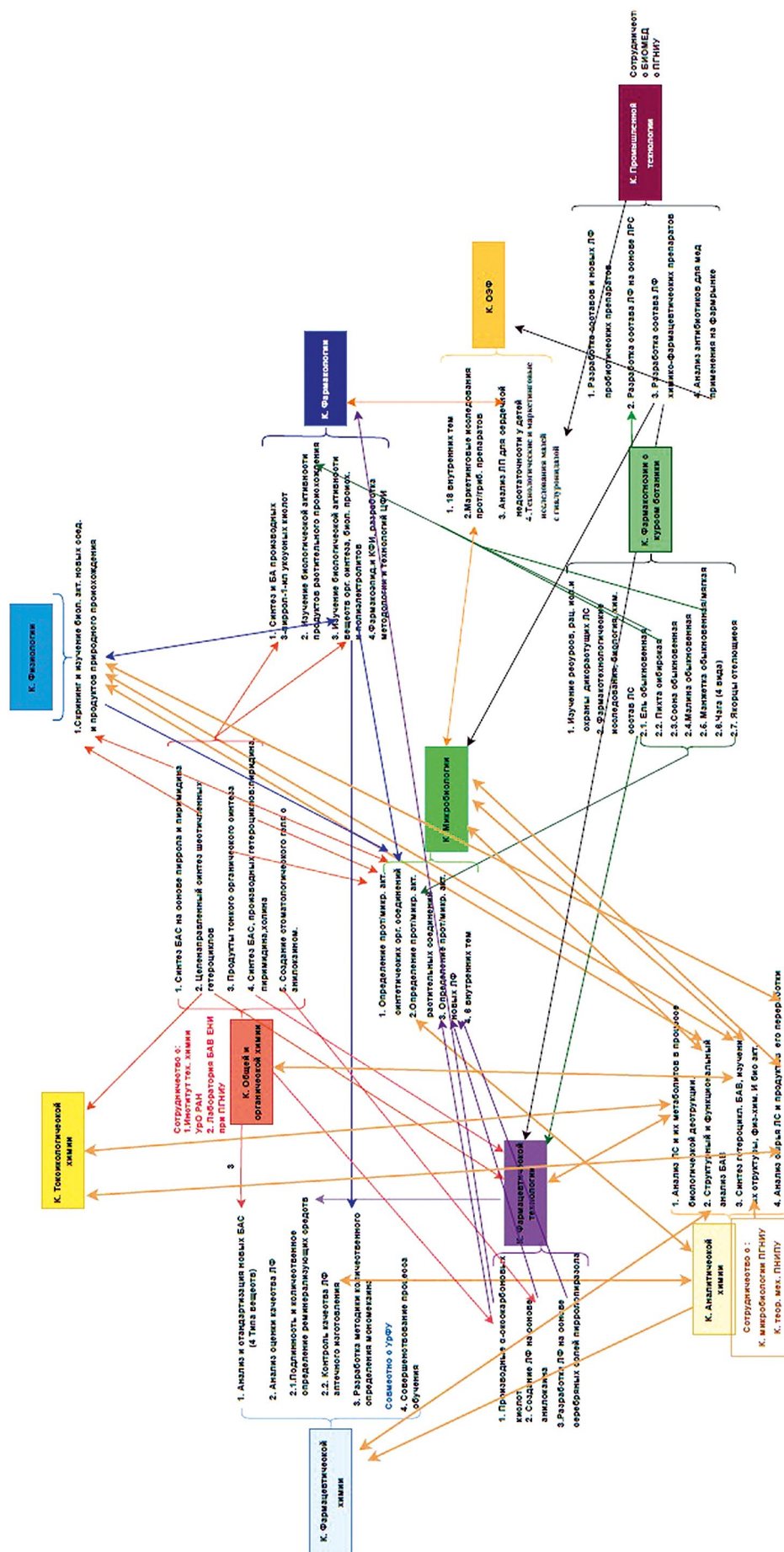


Рисунок 2. Модель научного сотрудничества кафедр вуза на примере ПФА

Figure 2. Model of scientific cooperation between university departments using the example of the PSFA

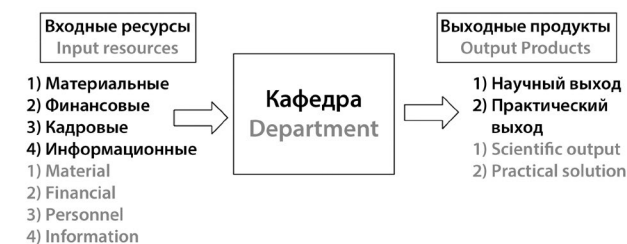


Рисунок 3. Входные и выходные параметры научной деятельности кафедры

Figure 3. Input and output parameters of the department's scientific activities

Для расчета научного состава кафедры необходимо установить **научный коэффициент значимости сотрудника** (ϵ), который зависит от его ученой степени. В ходе предварительной экспертной оценки (опрос 7 сотрудников кафедры организации и экономики фармации ПГФА), было предложено использовать в ориентировочной модели следующие коэффициенты: 3 – для докторов наук; 1 – для кандидатов наук; 0,5 – для остальных сотрудников. Таким образом научный состав будет рассчитан по формуле:

$$НС = \sum (\sum N_{\text{сотр.}} \times \epsilon).$$

Должностной состав кафедры рассчитывается аналогичным образом. Однако, для расчета мы предложили использовать **должностной коэффициент значимости** (ϵ), который зависит от должности каждого сотрудника. В ходе предварительной экспертной оценки, было предложено использовать в ориентировочной модели следующие коэффициенты: 3 – для профессоров, 1 – для доцентов, 0,7 – для старших преподавателей, 0,3 – для ассистентов.

$$ДС = \sum (\sum N_{\text{сотр.}} \times \epsilon)$$

Далее нами были созданы методики для подсчета научного выхода кафедры. **Научный выход** (НВ) – показывает совокупность научного продукта кафедры. Научный выход мы подразделили на Научный основной выход (НОВ) и Научный производный выход (НПВ). Поскольку обязательным научным продуктом кафедры являются статьи, то научный основной выход (НОВ) складывается из объема написанных научных статей.

Научный производный выход (НПВ) складывается из объема научного продукта, созданного на основе статей, и включает в себя доклады, дипломы, монографии, диссертации.

Расчет НОВ предполагает оценку значимости статьи согласно индексу научного цитирования и выражается в коэффициенте значимости статьи (x). Данный показатель следует рассчитывать индивидуально для каждой кафедры вследствие неоднородности трудозатрат на написание статей и доступности публика-

ции статей разного уровня. В ходе предварительной экспертной оценки было предложено использовать в ориентировочной модели следующие коэффициенты: 1,7 – для статей Web of Science и Scopus; 1 – для статей из списка ВАК; 0,5 – для статей РИНЦ; 0,3 – для остальных статей.

$$НОВ = \sum (\sum N_{\text{статей.}} \times x).$$

НПВ мы предложили рассчитывать по аналогичной методике, однако для расчета использовать коэффициент значимости производного продукта (y). Коэффициент значимости производного продукта определяется согласно объему и трудоемкости выполнения той или иной научной работы. В ходе ориентировочной экспертной оценки мы предложили следующие значения: 0,1 – для доклада; 0,8 – для руководства дипломной работы; 3 – для монографии; 5 – для кандидатской диссертации; 10 – для докторской диссертации.

$$НПВ = \sum (\sum N_{\text{статей.}} \times y).$$

Для анализа эффективности научной работы кафедр, мы предложили методики оценки, в ходе которых сопоставляются входные (ресурсы) и выходные параметры (научный выход) работы кафедры между собой.

Так мы предположили, что у эффективно и гармонично работающей кафедры должно действовать **Правило баланса научного выхода**: научный основной выход должен быть равен научному производному выходу: $НОВ = НПВ$.

Дисбаланс данных значений говорит о недостатках научной работы кафедры. К примеру, перевес в сторону основного научного выхода может свидетельствовать о слабом привлечении студентов и аспирантов к научной работе, либо о преувеличении значимости статей, либо о некорректно составленном научном отчете кафедры.

Причем причиной несоответствия научного основного выхода научному производному выходу может также служить отсроченный эффект, заключающийся в том, что статьи не сразу могут выражаться в ряде производных научных работах: монографии, диссертации. А дипломные работы и доклады, наоборот превосходят научный основной выход.

Также при расчете этих показателей и сравнении работы кафедр по ним следует учитывать неэквивалентность коэффициентов значимости статей – разные кафедры будут иметь различные коэффициенты значимости, поскольку специфика научной деятельности предполагает разную трудоемкость публикации в различных системах цитирования в силу различных причин: особенностях научного профиля по данной науке, количеству научных изданий и др.

В качестве выходного параметра научной работы кафедр мы определили Практический выход (ПВ) –

это совокупность документов, которые подтверждают внедрение научного продукта в практической деятельности (на производстве, в клинической практике, в аптеке и т.д.). К практическому выходу относятся гранты, патенты, акты внедрения.

Практический выход рассчитывается согласно предложенной нами методике с учетом коэффициента значимости практического продукта (z), который показывает трудоемкость внедрения научного открытия в практическую деятельность:

$$ПВ = \sum (\sum N_{\text{практ.}} \times z).$$

Мы предположили, что у эффективно и гармонично работающей кафедры должно действовать **Правило баланса выходов**: Практический выход предположительно должен ровняться или пропорционально соотносится с научным выходом ($НВ(НОВ + НПВ)$).

$$ПВ \approx НВ.$$

Зная количество того или иного вида ресурсного обеспечения кафедры можно рассчитать научную рентабельность (НР) кафедры по тому или иному активу (кадровому, материальному, финансовому).

$$НР = \frac{\sum НВ + \sum ПВ}{\text{Актив}}.$$

Для анализа эффективности научной работы кафедры, сопоставляя входные (ресурсы) и выходные параметры (научный выход) ее работы мы предположили, что у эффективно работающей кафедры должно действовать правило баланса: Вложенные ресурсы должны быть равны в соотносимой измеряемой величине полученным результатам (научному и практическому выходам).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе исследования была разработана модель функционирования научной деятельности вуза на примере ПГФА, отражающая степень взаимодействия отдельных кафедр друг с другом. Были разработаны оригинальные методики оценки эффективности работы отдельных кафедр, исходя из соотношения вложенных материальных, финансовых, кадровых ресурсов, и полученных в результате научной деятельности научного и практического выхода. Созданная модель позволила выделить кафедры «генераторы» и «преемники» научных исследований, а также явления дисбаланса или недостаточности взаимодействия между кафедрами. Созданы оригинальные методики оценки кадрового потенциала, научного выхода кафедры. Для оценки работы кафедр было сформулировано правило баланса между вложенными в работу кафедрами ресурсами и полученным научным результатом, также баланс между собственно научным выходом, вы-

раженным в научных публикациях, и практическим выходом, выраженном в полученных патентах, грантах и актах внедрения.

ЛИТЕРАТУРА

- Gautam A. The changing model of big pharma: impact of key trends. *Drug Discovery Today*. 2015;21(3):379–384. DOI: 10.1016/j.drudis.2015.10.002.
- Chair G.K., Bacci J.L., Chui M.A., Farley J., Gannett P.M., Holstad S.G., Livet M., Farrell D. Implementation Science to Advance Practice and Curricular Transformation: Report of the 2019–2020 AACP Research and Graduate Affairs Committee. *American Journal of Pharmaceutical Education*. 2020;84(10). DOI: 10.5688/ajpe848204.
- Smith K., Rickles N., Kiousi C., Burkhardt C., Betharia S., Fernandez J., Fan J., Tolman J., Howard M.L., Kandimalla K., Malinowski J., Rose C., Parker D., Swanson J., Lin A., Hansen D.J. ALFP Debate: Pharmacy Practice Needs Pharmacy Schools to Drive Innovation in the Profession. *American Journal of Pharmaceutical Education*. 2023;87(8). DOI: 10.1016/j.ajpe.2023.100143.
- Bornmann L., Haunschild R., Mutz R. Growth rates of modern science: a latent piecewise growth curve approach to model publication numbers from established and new literature databases. *Humanit Soc Sci Commun*. 2021;8:224. DOI: 10.1057/s41599-021-00903-w.
- Bush A.A., Amechi M., Persky A. An Exploration of Pharmacy Education Researchers' Perceptions and Experiences Conducting Qualitative Research. *American Journal of Pharmaceutical Education*. 2020;84(3). DOI: 10.5688/ajpe7129.
- Yang M., Zhang M., Yin P., Liang L. Performance evaluation of scientific research system in Chinese universities: A view of goal congruence. *Socio-Economic Planning Sciences*. 2023;87(A). DOI: 10.1016/j.seps.2023.101548.
- Kusynová Z., van den Ham H.A., Leufkens H.G.M., Mantel-Teeuwisse A.K. Pharmaceutical Scientists' Perspectives on Capacity Building in Pharmaceutical Sciences. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2023;112(7):1997–2003. DOI: 10.1016/j.xphs.2023.04.015.
- Анфалова Е.В., Гурьянов П.С. Изучение подходов к созданию наукометрической экспертно-просветительской системы анализа инноваций в фармации. *Вестник ПГФА*. 2021;4:127–130.
- Соколова Е.В., Гурьянов П.С. Отечественный опыт наукометрических исследований в фармации. *Фармация*. 2022;71(7):40–48. DOI: 10.29296/25419218-2022-07-06.
- Geremia M., Diab S., Christodoulou C., Bano G., Barolo M., Bezze F. A general procedure for the evaluation of the prediction fidelity of pharmaceutical systems models. *Chemical Engineering Science*. 2023;280. DOI: 10.1016/j.ces.2023.118972.
- Tedersoo L., Küngas R., Oras E., et al. Data sharing practices and data availability upon request differ across scientific disciplines. *Sci Data*. 2021; 8:192. DOI: 10.1038/s41597-021-00981-0.
- Plummer S., Sparks J., Broedel-Zugg K., Brazeau D.A., Krebs K., Brazeau G.A. Trends in the Number of Authors and Institutions in Papers Published in AJPE 2015–2019. *American Journal of Pharmaceutical Education*. 2023;87. DOI: 10.5688/ajpe8972.
- Catalá-López F., Alonso-Arroyo A., Page M.J., Castelló-Cogollos L., Hutton B., Ridao M., Tabarés-Seisdedos R., Aleixandre-Benavent R., Moher D. A cross-sectional analysis identified co-authorship networks and scientific collaboration on reporting guidelines for health research. *Journal of Clinical Epidemiology*. 2023;157:22–34. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2023.02.001.

REFERENCES

- Gautam A. The changing model of big pharma: impact of key trends. *Drug Discovery Today*. 2015;21(3):379–384. DOI: 10.1016/j.drudis.2015.10.002.

2. Chair G. K., Bacci J. L., Chui M. A., Farley J., Gannett P. M., Holstad S. G., Livet M., Farrell D. Implementation Science to Advance Practice and Curricular Transformation: Report of the 2019–2020 AACP Research and Graduate Affairs Committee. *American Journal of Pharmaceutical Education*. 2020;84(10). DOI: 10.5688/ajpe848204.
3. Smith K., Rickles N., Kioussi C., Burkhardt C., Betharia S., Fernandez J., Fan J., Tolman J., Howard M. L., Kandimalla K., Malinowski J., Rose C., Parker D., Swanson J., Lin A., Hansen D. J. ALFP Debate: Pharmacy Practice Needs Pharmacy Schools to Drive Innovation in the Profession. *American Journal of Pharmaceutical Education*. 2023;87(8). DOI: 10.1016/j.ajpe.2023.100143.
4. Bornmann L., Haunschild R., Mutz R. Growth rates of modern science: a latent piecewise growth curve approach to model publication numbers from established and new literature databases. *Humanit Soc Sci Commun*. 2021;8:224. DOI: 10.1057/s41599-021-00903-w.
5. Bush A. A., Amechi M., Persky A. An Exploration of Pharmacy Education Researchers' Perceptions and Experiences Conducting Qualitative Research, *American Journal of Pharmaceutical Education*. 2020;84(3). DOI: 10.5688/ajpe7129.
6. Yang M., Zhang M., Yin P., Liang L. Performance evaluation of scientific research system in Chinese universities: A view of goal congruence. *Socio-Economic Planning Sciences*. 2023;87(A). DOI: 10.1016/j.seps.2023.101548.
7. Kusynová Z., van den Ham H. A., Leufkens H. G. M., Mantel-Teeuwisse A. K. Pharmaceutical Scientists' Perspectives on Capacity Building in Pharmaceutical Sciences, *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2023;112(7):1997–2003. DOI: 10.1016/j.xphs.2023.04.015.
8. Anfalova E. V., Guryanov P. S. Studying approaches to creating a scientometric expert-educational system for analyzing innovations in pharmacy. *Bulletin of the PGFA*. 2021;4:127–130. (In Russ.)
9. Sokolova E. V., Guryanov P. S. Domestic experience of scientometric research in pharmacy. *Pharmacy*. 2022;71(7):40–48. (In Russ.) DOI: 10/29296/25419218-2022-07-06.
10. Geremia M., Diab S., Christodoulou C., Bano G., Barolo M., Bezzeo F. A general procedure for the evaluation of the prediction fidelity of pharmaceutical systems models. *Chemical Engineering Science*. 2023;280. DOI: 10.1016/j.ces.2023.118972.
11. Tedersoo L., Küngas R., Oras E., et al. Data sharing practices and data availability upon request differ across scientific disciplines. *Sci Data*. 2021; 8:192. DOI: 10.1038/s41597-021-00981-0.
12. Plummer S., Sparks J., Broedel-Zaugg K., Brazeau D. A., Krebs K., Brazeau G. A. Trends in the Number of Authors and Institutions in Papers Published in AJPE 2015–2019. *American Journal of Pharmaceutical Education*. 2023;87. DOI: 10.5688/ajpe8972.
13. Catalá-López F., Alonso-Arroyo A., Page M. J., Castelló-Cogollos L., Hutton B., Ridao M., Tabarés-Seisdedos R., Aleixandre-Benavent R., Moher D. A cross-sectional analysis identified co-authorship networks and scientific collaboration on reporting guidelines for health research. *Journal of Clinical Epidemiology*. 2023;157:22–34. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2023.02.001.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

В своей редакционной политике журнал следует принципам целостности публикаций в научных журналах, соответствующим положениям авторитетных международных ассоциаций, таких как Committee on Publication Ethics (COPE), Council of Science Editors (CSE), International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), European Medical Writers Association (EMWA) и World Association of Medical Editors (WAME), устанавливающих стандарты этического поведения всех вовлеченных в публикацию сторон (авторов, редакторов журнала, рецензентов, издательства и научного общества). Журнал с помощью всестороннего, объективного и честного рецензирования стремится отбирать для публикации лишь материалы, касающиеся научных исследований наивысшего качества.

Научно-практический журнал общемедицинского профиля «Разработка и регистрация лекарственных средств» является регулярным рецензируемым печатным изданием, отражающим результаты передовых исследований фармацевтической отрасли.

Журнал публикует оригинальные и обзорные научные статьи по темам:

- поиск и разработка новых лекарственных средств;
- фармацевтическая технология;
- методы анализа лекарственных средств;
- доклинические и клинические исследования;
- регуляторные вопросы.

Наименование и содержание научных работ, публикуемых в журнале «Разработка и регистрация лекарственных средств», должно соответствовать науке:

- 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки);
- 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств (фармацевтические науки);
- 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки).

Публикуемые материалы должны соответствовать следующим критериям:

- Научная актуальность и значимость проблемы, которой посвящена статья (тематика статьи должна представлять интерес для широкого круга исследователей, занимающихся разработкой и регистрацией лекарственных средств).
- Высокая степень доказательности (современная исследовательская база, наличие сертификатов на оборудование, достаточный объем выборок и подходы к математической обработке результатов исследования).
- Концептуальный характер исследования (авторы не должны ограничиваться констатацией фактов, необходим анализ полученного материала с учетом данных литературы, должны быть высказаны новые идеи и гипотезы).

УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ

1. К рассмотрению принимаются материалы только в электронном виде, направленные в редакцию через систему на сайте в формате .doc или .docx (незащищенный формат файлов).
2. Рассматриваются только оригинальные материалы, ранее не публиковавшиеся и не нарушающие авторские права других лиц. Все статьи проходят проверку в системе «Антиплагиат»; уникальность текста статьи должна составлять не менее 75 %. При выявлении подобных текстов одного и того же автора в других печатных и электронных изданиях, статья снимается с публикации.
3. Согласно требованиям Высшей аттестационной комиссии, журнал отдает приоритет аспирантским и докторским работам, срок их публикации зависит от предполагаемой даты защиты, которую авторы должны указать в первичных документах, прилагаемых к рукописи.
4. Авторы должны заполнить и подписать Сопроводительное письмо, отсканировать и загрузить при подаче рукописи в редакцию (в формате *.pdf или *.jpg).

ПОРЯДОК ПУБЛИКАЦИИ РУКОПИСЕЙ

1. Рукопись обязательно проходит первичный отбор на соответствие оформления статьи согласно требованиям журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств». В случае несоответствия правилам оформления Редакция вправе отказать в публикации или прислать свои замечания к статье, которые должны быть исправлены Автором перед рецензированием.

2. Все рукописи, прошедшие первичный отбор, направляются по профилю научного исследования на экспертизу и проходят обязательное конфиденциальное рецензирование. Все рецензенты являются признанными специалистами, имеющими публикации по тематике рецензируемой статьи в течение последних 3 лет или в области обработки данных. Рецензирование проводится конфиденциально как для Автора, так и для самих рецензентов. При получении положительных рецензий работа считается принятой к рассмотрению редакционной коллегией, которая выносит решение, в каком номере журнала будет опубликована статья.

3. Все утвержденные статьи поступают в работу к редактору и корректору.

Окончательный макет статьи согласовывается с автором.

ЕДИНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К РУКОПИСЯМ, ПРЕДСТАВЛЯЕМЫМ В ЖУРНАЛ «Разработка и регистрация лекарственных средств»

Составлены с учетом требований Высшей аттестационной комиссии РФ и «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов.

Оригинальную версию «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов, можно посмотреть на сайте www.ICMJE.org

Проведение и описание всех клинических исследований должно быть в полном соответствии со стандартами CONSORT – <http://www.consort-statement.org>

ОБЩИЕ ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ

Электронный вариант статьи прилагается в формате A4 Microsoft Word (*.doc), Поля 2 см, шрифт Times New Roman, размер шрифта 14 пунктов через 1,5 интервала.

Объем рукописи: обзор – 15–20 страниц; оригинальные статьи – 10–12 страниц, включая литературу, таблицы и подписи к рисункам. Страницы рукописи следует нумеровать.

Перечень документов, подаваемый на рассмотрение в редакцию журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств», должен включать в себя:

1. Сопроводительное письмо.
2. Текст статьи.

1. СОПРОВОДИТЕЛЬНОЕ ПИСЬМО

Авторы должны предоставить заполненное и подписанное сопроводительное письмо, приложив к нему указанные в тексте письма документы.

2. РУКОПИСЬ

РУССКОЯЗЫЧНЫЙ БЛОК

Титульный лист:

1. УДК;
2. название статьи;
3. фамилии и инициалы авторов;
4. полные названия учреждений (надстрочными арабскими цифрами отмечают соответствие учреждений, в которых работают авторы), полный почтовый адрес учреждений;
5. e-mail и телефон автора, ответственного за контакты с редакцией
6. ORCID всех авторов статьи.

Резюме и ключевые слова

Объем резюме должен составлять 250–300 слов.

Резюме оригинальной статьи должно быть структурированным:

Введение (введение работы в сжатой форме).

Цель (цель работы в сжатой форме).

Материалы и методы (методы исследования, если необходимо, то указать их преимущества по сравнению с ранее применявшимися методическими приемами; характеристика материала).

Результаты (основные результаты исследования).

Заключение (основные выводы).

Резюме обзорной статьи также должно быть структурированным:

Введение (введение работы в сжатой форме).

Текст (описание содержания текста статьи в сжатой форме)

Заключение (основные выводы).

Все аббревиатуры в резюме необходимо раскрывать (несмотря на то, что они будут раскрыты в основном тексте статьи). Текст резюме должен быть связанным, с использованием слов «следовательно», «например», «в результате».

На сайте британского издательства Emerald приведены примеры качественных рефератов для различных типов статей (обзоры, научные статьи, концептуальные статьи, практические статьи – <http://www.emeraldinsight.com/authors/guides/write/abstracts.htm?part=2&PHPSESSID=hdac5rtkb73ae013ofk4g8nrv1>)

Ключевые слова: (5–8) помещают под резюме после обозначения «Ключевые слова». Ключевые слова должны использовать термины из текста статьи, определяющие предметную область и способствующие индексированию статьи в поисковых системах, и не повторять название статьи.

Вклад авторов. Авторы должны написать информацию о их вкладе в работу (пример: Авторы X1, X2 и X3 придумали и разработали эксперимент, авторы X4 и X5 синтезировали образцы и провели их электрохимическое исследование. X3 и X4 провели исследования методом спектроскопии комбинационного рассеяния и ЯМР. Авторы X1 и X6 участвовали в обработке данных. Автор X7 проводил теоретические расчеты. Авторы X1, X2 и X7 участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов).

АНГЛОЯЗЫЧНЫЙ БЛОК

Article title

Англоязычное название должно быть грамотно с точки зрения английского языка, при этом по смыслу полностью соответствовать русскоязычному названию.

Affiliation

Необходимо указывать официальное англоязычное название учреждения и почтовый адрес. Наиболее полный список названий учреждений и их официальной англоязычной версии можно найти на сайте РУНЭБ: <http://elibrary.ru>

Образец оформления

Mental Health Research Institute
4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

Abstract

Резюме статьи на английском языке должно по смыслу и структуре (для оригинальной статьи: Introduction, Aim, Materials and methods, Results and discussion, Conclusion; для обзорной статьи: Introduction, Text, Conclusion) соответствовать русскоязычному, по содержанию может быть более полным. Необходимо использовать активный, а не пассивный залог. Во избежание искажения основных понятий желательно иметь соответствующие английские термины. Это особенно важно, когда приводятся названия особых заболеваний, синдромов, упоминаются авторы или конкретные методы.

Keywords

Для выбора ключевых слов на английском языке следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США – Medical Subject Headings (MeSH).

Contribution of the authors. Вклад авторов на английском языке должен соответствовать русскоязычному.

ОСНОВНОЙ ТЕКСТ

Оригинальные статьи должны иметь следующую структуру: а) введение; б) материалы и методы; в) результаты; г) обсуждение; д) заключение.

Обзорные статьи должны иметь следующую структуру а) введение; б) текст; д) заключение.

Текст обзорной статьи следует разделять на соответствующие содержанию статьи подразделы.

Должен быть переведен текст в таблицах и в рисунках. Текст должен быть и на русском, и на английском языках.

Введение

В разделе дается обоснование актуальности исследования и четко формулируется цель исследования.

Материалы и методы

Названия лекарственных средств следует писать со строчной буквы на русском языке с обязательным указанием международного непатентованного названия, а при его отсутствии — группировочного или химического названия. Международные непатентованные названия фармацевтических субстанций и торговые наименования лекарственных средств необходимо оформлять в соответствии с Государственным реестром лекарственных средств (grls.rosminzdrav.ru). При описании в работе результатов клинических исследований необходимо привести номер и дату разрешения на проведение клинического исследования согласно Реестру выданных разрешений на проведение клинических исследований лекарственных препаратов.

При описании используемых общелабораторных реактивов следует приводить их наименование, класс чистоты, фирму-производителя и страну происхождения [пример: хлористоводородная кислота, х.ч. (Сигма Тек, Россия)]. При описании специфических импортных реактивов [пример: из каталога Sigma-Aldrich] необходимо дополнительно приводить каталожный номер реактива.

При описании исследуемых лекарственных средств необходимо приводить их торговое наименование, фирму-производителя, страну происхождения, серию и срок годности [пример: Синдронол таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой 4 мг, производства ФАРМАТЕН С.А., Греция, серия 1100638, срок годности до 05.2013].

При описании используемых стандартных образцов необходимо приводить количественное содержание активного вещества в стандартном образце, фирму-производителя, страну происхождения, серию и срок годности [пример: римантадина гидрохлорид, субстанция-порошок, содержание римантадина 99,9 %, Чжецзян Апелоа Кангю Фармацевтикал Ко.Лтд, Китай, серия KY-RH-M20110116, годен до 27.01.2016 г.].

При описании используемого аналитического оборудования необходимо указывать его название, фирму-производителя и страну происхождения [пример: прибор для теста «Растворение» DT-720 (Erweka GmbH, Германия)].

При описании используемого программного обеспечения необходимо указывать его название, версию, фирму-производителя, страну происхождения [пример: ChemStation (ver. B.04.03), Agilent Technologies, США].

При приведении в работе первичных данных аналитических исследований (спектров, хроматограмм, калибровочных графиков) их необходимо приводить в цвете, в прослеживаемом формате, с четкими, разборчивыми подписями осей, пиков, спектральных максимумов и т. д.). Названия лекарственных средств следует писать со строчной буквы на русском языке с обязательным указанием международного непатентованного названия, а при его отсутствии – группировочного или химического названия.

Числовые данные необходимо указывать цифрами, в десятичных дробях использовать запятые. Математические и химические формулы писать четко, с указанием на полях букв алфавита (русский, латинский, греческий), а также прописных и строчных букв, показателей степени, индексов. К статье может быть приложено необходимое количество таблиц и рисунков. Все таблицы и рисунки должны иметь номер и название, текст статьи должен содержать ссылку на них.

Рукописи статей, в которых при достаточном объеме экспериментальных данных отсутствует статистический анализ, а также некорректно использованы или описаны применяемые статистические методы, могут быть отклонены редакцией журнала.

Необходимо давать определение всем используемым статистическим терминам, сокращениям и символическим обозначениям. Например: M – выборочное среднее; m – ошибка среднего; σ – стандартное квадратичное отклонение; p – достигнутый уровень значимости и т.д. Если используется выражение типа $M \pm m$, указать объем выборки n . Если используемые статистические критерии имеют ограничения по их применению, указать, как проверялись эти ограничения и каковы результаты проверок. При использовании параметрических критериев описывается процедура проверки закона распределения (например, нормального) и результаты этой проверки.

Точность представления результатов расчетных показателей должна соответствовать точности используемых методов измерения. Средние величины не следует приводить точнее, чем на один десятичный знак по сравнению с исходными данными. Рекомендуется проводить округление результатов (средних и показателей вариабельности) измерения показателя до одинакового количества десятичных знаков, так как их разное количество может быть интерпретировано как различная точность измерений.

Согласно современным правилам, рекомендуется вместо термина «достоверность различий» использовать термин «уровень статистической значимости различий». В каждом конкретном случае рекомендуется указывать фактическую величину достигнутого уровня значимости p для используемого статистического критерия. Если показатель может быть рассчитан разными методами и они описаны в работе, то следует указать, какой именно метод расчета применен (например, коэффициент корреляции Пирсона, Спирмена, бисериальный и т. п.).

Результаты и обсуждение

В разделе в логической последовательности представляются результаты исследования в виде текста, таблиц или рисунков (графики, диаграммы). Следует избегать повторения в тексте данных из таблиц или рисунков. В качестве альтернативы таблицам с большим числом данных используются графики. На графиках и диаграммах рекомендуется указывать доверительный интервал или квадратичное отклонение. На графиках обязательно должны быть подписи и разметка осей, указаны единицы измерений.

В разделе следует выделить новые и важные аспекты результатов проведенного исследования, проанализировать возможные механизмы или толкования этих данных, по возможности сопоставить их с данными других исследователей. Не следует повторять сведения, уже приводившиеся в разделе «Введение», и подробные данные из раздела «Результаты». В обсуждение можно включить обоснованные рекомендации и возможное применение полученных результатов в предстоящих исследованиях.

В обзорных статьях рекомендуется описать методы и глубину поиска статей, критерии включения найденных материалов в обзор.

Заключение

В разделе представляются сформулированные в виде выводов результаты решения проблемы, указанной в заголовке и цели статьи. Не следует ссылаться на незавершенную работу. Выводы работы должны подтверждаться результатами проведенного статистического анализа, а не носить декларативный характер, обусловленный общими принципами.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Указать наличие так называемого конфликта интересов, то есть условий и фактов, способных повлиять на результаты исследования (например, финансирование от заинтересованных лиц и компаний, их участие в обсуждении результатов исследования, написание рукописи и т. д.).

При отсутствии таковых использовать следующую формулировку: «Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи».

Источник финансирования

Необходимо указывать источник финансирования как научной работы, так и процесса публикации статьи (фонд, коммерческая или государственная организация, частное лицо и др.). Указывать размер финансирования не требуется. При отсутствии источника финансирования использовать следующую формулировку: «Авторы заявляют об отсутствии финансирования».

Соответствие принципам этики

Научно-исследовательские проекты с участием людей должны соответствовать этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Все лица, участвующие в исследовании, должны дать информированное согласие на участие в исследовании. Для публикации результатов оригинальной работы необходимо указать, подписывали ли участники исследования информированное согласие.

Научно-исследовательские проекты, требующие использования экспериментальных животных, должны выполняться с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

В обоих случаях необходимо указать, был ли протокол исследования одобрен этическим комитетом (с приведением названия соответствующей организации, номера протокола и даты заседания комитета).

Благодарности

Все члены коллектива, не отвечающие критериям авторства, должны быть перечислены с их согласия с подзаголовком «Выражение признательности».

ССЫЛКИ В ТЕКСТЕ СТАТЬИ

В журнале применяется **ванкуверский стиль цитирования**: в списке литературы ссылки нумеруются в порядке упоминания в тексте (независимо от языка, на котором дана работа), а не по ал-

фавиту. Библиографические ссылки в тексте статьи обозначаются цифрами в квадратных скобках (ГОСТ Р 7.0.5-2008).

Библиографическая информация должна быть современной, авторитетной и исчерпывающей. Ссылки должны даваться на первоисточники и не цитировать один обзор, где они были упомянуты. Ссылки должны быть сверены авторами с оригинальными документами.

Каждый научный факт должен сопровождаться отдельной ссылкой на источник. Если в одном предложении упоминается несколько научных фактов, после каждого из них ставится ссылка (не в конце предложения). При множественных ссылках они даются в порядке хронологии [5–9]. Необходимо убедиться в том, что все ссылки, приведенные в тексте, присутствуют в списке литературы (и наоборот).

Не следует ссылаться: на неопубликованные статьи, на диссертации, а также авторефераты диссертаций, правильнее ссылаться на статьи, опубликованные по материалам диссертационных исследований.

Следует избегать ссылок на тезисы и статьи из сборников трудов и материалов конференций, поскольку их названия по требованию зарубежных баз данных должны быть переведены на английский язык. Еще не опубликованные, но принятые к печати статьи указываются «в печати» или «готовится к выходу», с добавлением письменного разрешения автора и издательства.

Недопустимо самоцитирование, кроме случаев, когда это необходимо (в обзоре литературы не более 3–5 ссылок).

Документы (приказы, ГОСТы, медико-санитарные правила, методические указания, положения, постановления, санитарно-эпидемиологические правила, нормативы, федеральные законы) нужно указывать в скобках в тексте.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы под заголовком **Литература/References** размещается в конце статьи и включает библиографическое описание всех работ, которые цитируются в тексте статьи.

Библиографические списки составляются с учетом «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» Международного комитета редакторов медицинских журналов (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals). Правильное описание используемых источников в списках литературы является залогом того, что цитируемая публикация будет учтена при оценке научной деятельности ее авторов и организаций, где они работают.

Учитывая требования международных систем цитирования, библиографические списки входят в англоязычный блок статьи и, соответственно, должны даваться не только на языке оригинала, но и в романском алфавите (латинскими буквами). Поэтому авторы статей должны представлять англоязычные источники латиницей, а русскоязычные – кириллицей и в романском алфавите. Транслитерируются фамилии авторов и русскоязычные названия источников (выделяется курсивом). Переводятся на английский язык названия статей, монографий, сборников статей, конференций с указанием после выходных данных языка источника (In Russ.). Название русскоязычных журналов в REFERENCES дается в *транслитерации*, затем ставится знак = и дается *английское название журнала* (не нужно самостоятельно переводить русское название журнала на английский язык, можно указать лишь ту версию названия на английском языке, которая, как правило, имеется на англоязычном сайте этого журнала. Если же ее нет, можно ограничиться транслитерацией).

Технология подготовки описания с использованием системы автоматической транслитерации и переводчика на сайте <http://www.translit.ru>

1. Войти на сайт translit.ru. В окошке «варианты» выбрать систему транслитерации BGN (Board of Geographic Names). Вставить в специальное поле ФИО авторов, название издания на русском языке и нажать кнопку «в транслит».
2. Копировать транслитерированный текст в готовящийся список.
3. Перевести с помощью переводчика Google название книги, статьи на английский язык, перенести его в готовящийся список. Перевод, безусловно, требует редактирования, поэтому данную часть необходимо готовить человеку, понимающему английский язык.
4. Объединить транслитерируемое и переводное описания, оформляя в соответствии с принятыми правилами.

5. В конце описания в круглых скобках указывается (In Russ.).

Образец оформления списка литературы

Литература/References

1. Литература

Насырова Р. Ф., Иванов М. В., Незнанов Н. Г. Введение в психофармакогенетику. СПб.: Издательский центр СПб НИПНИ им. В. М. Бехтерева; 2015. 272 с.

References

Nasyrova R. F., Ivanov M. V., Neznanov N. G. *Vvedenie v psikhofarmakogenetiku* [Introduction to psychopharmacogenetics]. St. Petersburg: Izdatel'skiy tsentr SPb NIPNI im. V. M. Bekhtereva; 2015. 272 p. (In Russ.).

2. Литература

Колесник А. П. Прогностическое значение экспрессии p53 у больных с ранними стадиями немелкоклеточного рака легкого. *Онкология*. 2013;15(1):20–23

References

Kolesnik A. P. Prognostic value of p53 expression in patients with early non-small cell lung cancer. *Onkologiya*. 2013;15(1):20–23. (In Russ.).

3. Литература

Шульженко М. Г., Василенко И. А., Уграк Б. И., Шохин И. Е., Медведев Ю. В., Малашенко Е. А. Сравнительный анализ методов определения подлинности субстанции-порошок «Даларгин». *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(3):111–117 DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-111-117.

References

Shulzhenko M. G., Vasilenko I. A., Ugrak B. I., Shohin I. E., Medvedev Yu. V., Malashenko E. A. Comparative analysis of methods for determining the authenticity of the substance – «Dalargin» inquiry. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(3):111–117. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-111-117.

4. Литература/References

Üçok A., Gaebel W. Side effects of atypical antipsychotics: a brief overview. *World Psychiatry*. 2008;7(1):58–62. DOI: 10.1002/j.2051-5545.2008.tb00154.x.

5. Литература/References

Cornier M. A., Dabelea D., Hernandez T. L., Lindstrom R. C., Steig A. J., Nicole R. S., Van Pelt R. E., Wang H., Eckel R. H. The metabolic syndrome. *Endocrine Reviews*. 2008;29(7):777–822. DOI: 10.1210/er.2008-0024.

В библиографическом описании каждого источника должны быть представлены ВСЕ АВТОРЫ. Список литературы должен соответствовать формату, рекомендуемому Американской Национальной Организацией по Информационным стандартам (National Information Standards Organisation – NISO), принятому National Library of Medicine (NLM) для баз данных (Library's MEDLINE/PubMed database) NLM: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>.

Названия периодических изданий могут быть написаны в сокращенной форме в соответствии с каталогом названий базы данных MedLine (NLM Catalog). Обычно эта форма написания самостоятельно принимается изданием; ее можно узнать на сайте издательства либо в списке аббревиатур Index Medicus. Если журнал не индексируется в MedLine, необходимо указывать его полное название. Названия отечественных журналов сокращать нельзя. Недопустимо сокращать название статьи.

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Монографии

Выходные данные указываются в следующей последовательности: фамилия и инициалы автора (авторов), название монографии (полностью раскрывая все слова), номер повторного издания, место издания (город), издательство, год издания, количество страниц.

Образец оформления

Для русскоязычных источников

Литература

Соколова Г. Н., Потапова В. Б. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка. М.: Анахарсис; 2009. 328 с.

References

Sokolova G. N., Potapova V. B. *Kliniko-patogeneticheskie aspekty yazvennoy bolezni zheludka* [Clinical and pathogenetic aspects of gastric ulcer]. Moscow: Anacharsis; 2009:328 p. (In Russ.).

Для англоязычных источников

Jenkins P. F. Making sense of the chest x-ray: a hands-on guide. New York: Oxford University Press; 2005. 194 p.

Статья из журнала

Выходные данные указываются в следующей последовательности: автор(ы) (фамилии и инициалы всех авторов). Название статьи. Название журнала (курсивом). Год; том (в скобках номер журнала): цифры первой и последней страниц.

Образец оформления

Для русскоязычных источников

Литература

Шишкин С. В., Мустафина С. В., Щербакова Л. В., Симонова Г. И. Метаболический синдром и риск инсульта в популяции Новосибирска. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2014;13(3):53–57.

References

Shishkin S. V., Mustafina S. V., Shcherbakova L. V., Simonova G. I. Metabolic syndrome and risk of stroke in the population of Novosibirsk. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2014;13(3):53–57. (In Russ.).

Для англоязычных источников

Dickerson F. B., Brown C. H., Kreyenbulh J. A., Fang L., Goldberg R. W., Wohlheiter K., Dixon L.B. Obesity among individuals with serious mental illness. *Acta Psychiatrica Scand*. 2006;113(4):306–313. DOI: 10.1111/j.1600-0447.2005.00637.x.

Варианты библиографического описания материалов конференций: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7272/>

Варианты библиографического описания патентов: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7260/>

Варианты библиографического описания ресурсов удаленного доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7274/>

DOI

Во всех случаях, когда у цитируемого материала есть цифровой идентификатор Digital Object Identifier (DOI), его необходимо указывать в самом конце библиографической ссылки. Проверять наличие DOI статьи следует на сайте <http://search.crossref.org/> или <https://www.citethisforme.citethisforme.com>.

Для получения DOI нужно ввести в поисковую строку название статьи на английском языке. Данный сайт, помимо DOI, автоматически генерирует правильно оформленное библиографическое описание статьи на английском языке в стиле цитирования AMA. Подавляющее большинство зарубежных журнальных статей с 2000 г. и многие русскоязычные статьи (опубликованные после 2013 г.) зарегистрированы в системе CrossRef и имеют уникальный DOI. За достоверность и правильность оформления представляемых библиографических данных авторы несут ответственность вплоть до отказа в праве на публикацию.

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ

Таблицы и рисунки должны быть представлены на русском и английском языках.

Таблицы

Таблицы следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок на русском и английском языке и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию.

Ссылки на таблицы в тексте обязательны. Для сноски применяется символ *. Если используются данные из другого опубликованного или неопубликованного источника, должно быть полностью приведено его название.

Рисунки

Все рисунки (диаграммы, фотографии) нумеруются. В тексте должна быть ссылка на соответствующий рисунок.

Каждый рисунок должен сопровождаться подписью на русском и английском языках. В подписях не должно быть аббревиатур. Внутрисуточные обозначения подписываются цифрами или латинскими буквами.

Если рисунки ранее уже публиковались, необходимо указать оригинальный источник, представить письменное разрешение на их воспроизведение от держателя прав на публикацию.

Список подписей рисунков на русском и английском языках размещается в конце статьи.

Рисунки представляются отдельными файлами в формате *.tif, *.jpg, *.cdr, *.ai, с разрешением не менее 300 dpi.

Каждый файл именуется по фамилии первого автора и номеру рисунка.

Журнал является *Open Access* изданием со свободным бесплатным доступом к научным трудам ученых, с которыми читатель может ознакомиться в интернете.

Журнал предназначен для фармацевтических предприятий-производителей и их сотрудников из отделов разработки, контроля качества, регистрации, производства и развития; сотрудников лабораторных центров, контрактно-исследовательских организаций, научных и образовательных учреждений.

Основные пять тематических разделов журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств» включают цикл развития лекарственного средства от его создания до получения регистрационного удостоверения.

Наименование и содержание научных работ, публикуемых в журнале «Разработка и регистрация лекарственных средств», соответствует отраслям науки:

- ✓ 3.2.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки).
- ✓ 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств (фармацевтические науки).
- ✓ 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки).

Журнал индексируется в ведущих научных базах:

- ✓ Scopus (Q3).
- ✓ Российский индекс научного цитирования (РИНЦ).
- ✓ Высшая аттестационная комиссия (ВАК).
- ✓ А также ВИНТИ, Академия Google (Google Scholar), СОЦИОНЕТ, Base, РГБ, Lens.

Издательские услуги:

Английский перевод статей

- Услуга комплексного перевода.
- Производство англоязычной статьи, включающее верстку и научный перевод.

Специальный выпуск журнала

- При заключении договора сотрудничества возможна публикации специального выпуска журнала.

Специальный выпуск, посвященный 10-летию ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России», был выпущен номером Том 10, № 4 (2021).

Журнал является **Open Access** изданием со свободным бесплатным доступом к научным трудам ученых, с которыми читатель может ознакомиться в интернете.



Основатель журнала и главный редактор – д. фарм. н., генеральный директор ООО «Центр Фармацевтической Аналитики» **Шохин Игорь Евгеньевич**

По вопросам сотрудничества просьба обращаться на почту: **info@cpha.ru**



Печатный журнал

Информационный ресурс

Фармацевтический журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств»

Это интернет-ресурс и печатный научный журнал международного уровня для специалистов, задействованных в сфере обращения лекарственных средств.

Наша аудитория:

Среди наших читателей специалисты и руководители отделов разработки ЛС, контроля и обеспечения качества, специалисты по ДКИ, КИ, отделов регистрации, сотрудники аналитических лабораторий, технологи, инженеры, а также топ-менеджмент фармацевтических компаний.

Разделы журнала:

- ✓ Поиск и разработка новых лекарственных средств.
- ✓ Фармацевтическая технология.
- ✓ Методы анализа лекарственных средств.
- ✓ Доклинические и клинические исследования.
- ✓ Регуляторные вопросы.

Журнал индексируется в ведущих научных базах:

- ✓ Scopus (Q3).
- ✓ Российский индекс научного цитирования (РИНЦ).
- ✓ Высшая аттестационная комиссия (ВАК).
- ✓ А также ВИНИТИ, Академия Google (Google Scholar), СОЦИОНЕТ, Base, РГБ, Lens.

Периодичность выхода номеров журнала 4 раза в год

Мы в Telegram



**По вопросам сотрудничества
info@pharmjournal.ru**